

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

2) フルチアセットメチル原体のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験  
(資料 A-19)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1993 年

検体の純度:

試験動物: Sprague-Dawley 系ラット (SPF) [Hsd:Sprague Dawley (SD)] 6 週齢 (開始時)

投与開始時体重範囲: 雄 167.2~203.4 g、雌 120.0~154.9 g、1 群雌雄各 10 匹、

投与期間: 90 日間 (1991 年 8 月 20 日から 1991 年 11 月 22 日)

投与方法: 検体を 0, 10, 100, 3500, 7000, 20000ppm の濃度となるよう粉末飼料に混入し、90 日間にわたって自由摂取させた。試験飼料は週 1 回調製した。

投与量設定根拠; 投与量を設定するため、1 群雌雄各 8 匹ずつの SD ラットに、検体を 0、500、7000、20000ppm の濃度で 28 日間混餌投与した。その結果、雌雄とも全投与群で死亡は認められず、投与に関連した一般状態の変化も観察されなかった。雄の 7000、20000ppm 群で体重および累積体重増加量の統計学的に有意な抑制が認められたが、雌では投与に関連した影響は認められなかった。摂餌量は、雌雄ともに投与に関連した影響は認められなかったが、雄 7000ppm 以上の群で食餌効率の減少がみられた。血液学的検査において、雌雄の 7000ppm 以上の群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、MCV の減少の貧血所見が認められた。血液生化学的検査では、雌雄の 7000、20000ppm 群で血糖およびコレステロールが増加し、尿素窒素およびアルブミンが減少した。雌では 7000ppm 以上の群で 5'ヌクレオチダーゼが増加した。雄では 7000ppm 以上の群で肺の絶対重量および対脳重量比が減少し、雌では肝臓の絶対重量、対体重比および対脳重量比が増加した。剖検では、投与に関連する変化は認められなかった。従って、本試験の投与量を 0、10、100、3500、7000、20000ppm とした。

試験項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を観察した。

死亡はみられなかった。投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

眼科学的検査; 試験終了時に全動物の眼科学的検査を行った。

投与に関連した影響は認められなかった。

体重; 全動物の体重を毎週 1 回測定した。

次表に群平均体重の対照群と比べ統計学的有意差が認められた測定週を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

性別	雄					雌				
投与量 (ppm)	10	100	3500	7000	20000	10	100	3500	7000	20000
投与期間 (週)	3			90▽	91▽					
	4			89▽	87▽					
	5			88▽	86▽					
	6			89▽	86▽					
	7			87▽	85▽					
	8			87▽	85▽					
	9			86▽	84▽					
	10			93↓	85▽	85▽				
	11			94↓	86▽	85▽				
	12			94↓	86▽	85▽				
13			94↓	86▽	85▽					

↓ : p<0.05、▽ : p<0.01 (Dunnett's-t 検定)

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 (申請者計算)

雄の 7000ppm 以上の群で投与 3 週間目から群平均体重の統計学的有意な減少がみられ、3500ppm では投与 10 週間目から群平均体重の統計学的有意な減少がみられた。

次表に群平均体重増加量の対照群と比べ統計学的有意差が認められた測定週を示す。

性別	雄					雌				
投与量 (ppm)	10	100	3500	7000	20000	10	100	3500	7000	20000
投与期間 (週)	3			75▽	76▽					
	4			89↓	73▽	70▽				
	5			88↓	73▽	69▽				
	6				76▽	70▽				
	7			89↓	72▽	70▽				
	8			89▽	75▽	72▽				
	9			89↓	73▽	69▽				
	10			88▽	72▽	71▽				
	11			88▽	73▽	72▽				
	12			89▽	74▽	73▽				
13			89▽	75▽	74▽					

↓ : p<0.05、▽ : p<0.01 (Dunnett's-t 検定)

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 (申請者計算)。

雄の 3500ppm 以上の群で群平均累積体重増加量の統計学的に有意な減少がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

摂餌量および食餌効率；摂餌量を投与期間中毎週1回測定し、食餌効率も算出した。

次表に摂餌量の対照群と比べ統計学的有意差が認められた測定週を示す。

性別	雄					雌				
投与量 (ppm)	10	100	3500	7000	20000	10	100	3500	7000	20000
投与期間 (週)	3			86▽	83▽					
	4			86↓						
	5				88↓					
	6									
	7				89▽	84▽				
	8				87▽	86▽				113↑
	9				90▽	88▽				
	10				90↓	87▽				
	11				88↓	88↓				
	12					88▽				
	13				89↓	90↓				

↑ ↓ : p<0.05、▽ : p<0.01 (Dunnett's-t 検定)

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(申請者計算)。

雄7000 ppm以上の群で摂餌量の統計学的に有意差の認められる減少がみられた。食餌効率にも統計学的に有意差の認められる時点が散見されたが、一貫性が認められず投与に関連する変化とは考えられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与群 (ppm)		10	100	3500	7000	20000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.60	6.19	216	427	1224
	雌	0.69	6.80	249	490	1424

血液学的検査；投与終了時に検査した。屠殺前1晩絶食し、ペントバルビタールナトリウム麻酔下腹部大動脈より採血し、下記の項目について測定した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間 (PT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)

また、骨髓スメアを屠殺時の全ラットの左大腿骨より調製し、骨髓球：赤血球比 (M:E 比) および赤血球成熟度指数について検査した。

次表に、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

血液学的検査											
項目	雄					雌					
	投与群 (ppm)					投与群 (ppm)					
	10	100	3500	7000	20000	10	100	3500	7000	20000	
ヘマトクリット値			▽93	▽92	▽86						
ヘモグロビン量				▽93	▽90						
MCV			▽92	▽92	▽84						
MCH			▽94	▽93	▽88				▽96	▽96	
MCHC					△105						
血小板数			△120	(112)	(108)						
好酸球数		△284									
プロトロンビン時間			↓89	▽88	▽88						
骨髄検査	M : E 比		▽93	▽83	▽78	▽78			↓94	▽89	
	赤血球成熟指数			▽71	▽59	▽58			↓72	↓73	▽63

↑ ↓ :  $p < 0.05$ 、△▽ :  $p < 0.01$  (Dunnnett's-t 検定)

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の。

カッコ内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、変化の傾向を示すため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の。

雄における統計学的有意差の認められた変化として、100ppm 以上の群で骨髄スメアの M : E 比の減少、3500ppm 以上の群で、ヘマトクリット、MCV、MCH、プロトロンビン時間および赤血球成熟指数の減少、7000ppm 以上の群でヘモグロビン減少がみられた。100ppm 群でみられた M : E 比の減少は、この群の血液学的検査でみられた貧血を示唆する検査項目の変化を伴わないため、毒性学的影響とは考えられなかった。

3500ppm 群のみでみられた血小板数の統計学的に有意な増加は、7000ppm 以上の群においても増加傾向にあることより投与に起因すると考えられた。100ppm 群で統計学的有意差の認められた好酸球数の増加は、用量相関性がないことより投与に関連する変化とは考えられなかった。雌における統計学的有意な変化として、3500ppm 以上の群で赤血球成熟指数の減少、7000ppm 以上の群で MCH および骨髄スメアの M : E 比減少がみられた。

血液生化学的検査；試験終了時に腹部大動脈より採取した血液より得られた血清を用い、以下の項目を測定した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパルテイトアミノトランスフェラーゼ(AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、5'ヌクレオチダーゼ、無機リン、トリグリセリド、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、コレステロール、血糖、尿素窒素、総ビリルビン、直接ビリルビン (総ビリルビンが 0.4 mg/dl 以上の場合)、ソルビトール脱水素酵素、ガンマグルタミルトランスフェラーゼ ( $\gamma$ -GTP)、カルシウム、ナトリウム、カリウム、塩素、クレアチニン、クレアチンキナーゼ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

次表に、血液生化学検査において対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目およびその対照群に対する変動率 (%) を示す。

血液生化学検査										
項目	雄					雌				
	投与群 (ppm)					投与群 (ppm)				
	10	100	3500	7000	20000	10	100	3500	7000	20000
ALT				↑ 143						
AST				↑ 190					↑ 134	
ALP			△ 191	△ 174	△ 161					
5'ヌクレオチダーゼ			△ 254	△ 188	△ 153			△ 161	△ 231	△ 206
総蛋白		↓ 94	▽ 90	▽ 91	▽ 92					
アルブミン			▽ 91	▽ 93	▽ 90				↓ 94	▽ 93
グロブリン			↓ 88	↓ 88						
コレステロール									↑ 129	
血糖								△ 152	△ 154	△ 144
ソルビトール脱水素酵素									△ 293	230
γ-GT						△ 162	△ 159			
ナトリウム							↑ 101			
塩素		△ 103		△ 102	△ 103			△ 102	↑ 102	△ 103

↑ ↓ : p<0.05 △▽ : p<0.01 (Dunnett's-t 検定)

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の。

雄における統計学的に有意な変化および投与に起因する変化として、3500ppm 以上の群で ALP および 5'ヌクレオチダーゼの増加がみられた。ALT、AST、総蛋白、アルブミン、グロブリンおよび塩素においても対照群に比し統計学的に有意に変動したが、変化は僅かな差および/または用量相関性がないことより、投与に関連する変化とは考えられなかった。雌における統計学的に有意な変化および投与に起因する変化として、3500ppm 以上の群で糖および 5'ヌクレオチダーゼの増加、7000ppm 群でソルビトール脱水素酵素の増加がみられた。20000ppm 群ではソルビトール脱水素酵素値に有意差はつかなかったが、対照群の 2 倍以上であった。AST、アルブミン、コレステロール、γ-GT、ナトリウムおよび塩素においても対照群に比し統計学的に有意に変動したが、僅かな差および/または用量相関性がないことより、投与に関連する変化とは考えられなかった。

尿検査；試験終了屠殺前の絶食時に尿を採取し、下記の項目について測定した。

尿量、色調および透明度、pH、比重、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血および尿沈渣（顕微鏡検査）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

次表に、尿検査において対照群と比べて統計学的有意差のみられた項目を示す。

尿検査													
項目	雄						雌						
	投与群 (ppm)						投与群 (ppm)						
	0	10	100	3500	7000	20000	0	10	100	3500	7000	20000	
色調												↑	↑
淡黄色												1	2
黄色												6	3
明るい琥珀色												3	4
琥珀色												0	1
ビリルビン				△	△	△							
正常				1	2	3							
1+				8	8	7							
2+				1	0	0							
ウロビリノーゲン				△	△	△						△	△
正常				0	0	0						4	4
1+				10	10	10						6	6

↑ : p<0.01 (Fisher's exact 検定)      △ : p<0.01 (Dunnett's-t 検定)

表中の数値は動物数

雄の 3500ppm 以上の群でビリルビンおよびウロビリノーゲンのレベルが有意に増加した。雌の 7000ppm 以上の群で尿の色調が淡黄色から黄色・明るい琥珀色・琥珀色に有意に変化した。また雌の 7000ppm 以上の群でウロビリノーゲンのレベルが増加した。  
 [申請者注：ビリルビンおよびウロビリノーゲンの増加は、検体投与の肝臓への影響の結果であり、また尿の色調の変化の原因になっているものと考えられる。]

剖 検；投与終了時にすべての動物を対象として剖検を行った。

投与に関連した肉眼的変化は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に下記の臓器重量を測定し、相対重量（対体重比、対脳重量比）も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、胸腺、精巣（精巣上体を除く）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

次表に、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目を示す。

		臓器重量									
性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		10	100	3500	7000	20000	10	100	3500	7000	20000
最終体重				▽92	▽84	▽83					
脳	対体重比			△108	△118	△118					
腎臓	絶対重量		↑110								
	対体重比			↑109	△115	△125					
	対脳重量比		△113								
肝臓	絶対重量				▽83	↓87				△112	↑109
	対体重比									△115	△112
	対脳重量比				▽83	(88)				△116	(109)
肺	対体重比			↑108	△113	△111					
脾臓	絶対重量				▽87	▽83					
	対脳重量比				▽86	▽83					
精巣	対体重比			△112	△122	△125	-	-	-	-	-

↑ ↓ : p<0.05 △▽ : p<0.01 (Dunnett's-t 検定)

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。

カッコ内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、変化の傾向を示すため対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

雄においては、3500ppm 以上の群で脳、腎臓、肺および精巣の対体重比が統計学的に有意な増加を示したが、絶対重量に影響がなかったことから、これらの変化は同群での体重減少に起因するものと考えられた。雄 7000ppm 以上の群で脾臓および肝臓の絶対重量が減少した。雄 100ppm 群で腎臓の絶対重量が増加したが、用量相関性がないことより投与に関連した変化ではないと考えられた。雌においては、7000ppm 以上の群で肝臓の絶対重量および対体重比が増加した。

[申請者注：雄の 3500ppm 以上の群でみられた脳、腎臓、肺および精巣の対体重比の有意な増加は、絶対重量に影響がなかったことより、検体投与の直接的影響ではなく同群での体重減少に起因するものと考えられた。雄 7000ppm 以上の群で脾臓および肝臓の絶対重量および対脳重量比が減少した。これらの変化は、検体投与の影響であると考えられた。また、雌の 7000ppm 以上の群で肝臓の絶対重量、対体重比および対脳重量比が増加したが、これらは検体投与の影響と考えられる。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

病理組織学的検査；剖検を実施した対照群および 20000ppm 群の全動物を対照として以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作成し、鏡検した。

副腎、大動脈（胸部）、骨髓（胸骨）、骨（胸骨、脛骨/大腿）、脳、盲腸、子宮頸部、凝固腺、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼球、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、大腿骨脛骨の関節、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（顎下、腸間膜、その他）、乳腺、鼻甲介、卵巣、膵臓、副甲状腺、脳下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下腺、耳下腺）、坐骨神経、精囊、骨格筋（大腿）、皮膚（鼠蹊部）、脊髓（頸部、腰部、仙骨、胸部）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮、膣

また、100、3500、7000ppm 群の全動物を対照として肺、肝臓、脾臓および腎臓についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作成し、鏡検した。

さらに、肝臓および脾臓の切片は Perl's 鉄染色を施し、対照群および 20000ppm 群の肝臓は Hall's bile 染色を施して鏡検した。

[非腫瘍性病変]

発生頻度に統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を次表に示す。

性別		雄						雌					
		0	10	100	3500	7000	20000	0	10	100	3500	7000	20000
投与量 (ppm)		0	10	100	3500	7000	20000	0	10	100	3500	7000	20000
臓器	所見/動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
腎臓	色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3△
肝臓	小葉中心性変性/壊死	0	0	0	1	7△	10△	0	0	0	7△	9△	10△
	細胞浸潤	0	0	0	1	5△	7△	0	0	0	6△	9△	10△
	脂肪変性	0	0	0	4△	0	0	0	0	0	4↑	8△	10△
	色素沈着(鉄)	10	10	10	10△	10△	10△	10	10	10	10	10	10↑
脾臓	色素沈着	10	10	10	7↓	8	6↓	10	10	10	10	10↓	10
	色素沈着(鉄)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10↓	10

↑ ↓ : p<0.05    △ : p<0.01    (Dunnett's t-test after ranking the values)



肝臓の鉄色素沈着(Perl's 鉄染色)の程度別発生数

性別		雄						雌						
投与量 (ppm)		0	10	100	3500	7000	20000	0	10	100	3500	7000	20000	
臓器	所見/動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
肝臓	色素沈着 (鉄) グレード	±	8	9	10									
		1	2	1		2	2	7	7	2	4	2	2	
		2				8	8	3	2	5	4	5	5	8
		3							1	3	2	3	3	2

主として小葉中心性の肝細胞の変性、壊死と反応性の細胞浸潤が雌雄の 7000ppm 以上の投与群で明確な発生増加を示した。特に雌では肝細胞の脂肪化を伴うものが多くみられた。雌雄の 3500ppm 群でも軽度ではあるが上記諸病変の発生増加がみられた。肝における色素沈着では鉄色素の沈着がその程度上 3500ppm 以上の群および雌 20000ppm 群に発生増加を示した。

その他雄の 3500 および 20000ppm 群では脾臓の色素沈着の減少がみられ、また腎臓では雌の 20000ppm 群で色素沈着がみられた。

[腫瘍性病変]

3500ppm 群の雌 1 匹の皮膚で乳腺腺腫が認められたが、これは本試験で認められた唯一の腫瘍性病変であり、投与に関連したものとは考えられなかった。

以上の結果から、本検体の 90 日間飼料混入投与によるラット亜急性毒性試験における影響として、雄の 3500ppm 以上の群で平均体重および体重増加量の有意な減少がみられ、雄の 7000ppm 以上の群で摂餌量の有意な低下が認められた。血液学検査では、雄の 3500ppm 以上の群で、ヘマトクリット、MCV、MCH、プロトロンビン時間および赤血球成熟指数の有意な減少、雄の 7000ppm 以上の群でヘモグロビンの有意な減少がみられた。雄の 3500ppm 群のみで血小板数が有意に増加したが、7000ppm 以上の群においても増加傾向がみられたことから投与に起因すると考えられた。

雌では 3500ppm 以上の群で赤血球成熟指数の有意な減少、7000ppm 以上の群で MCH および骨髓スメアの M:E 比の有意な減少がみられた。血液生化学的検査では、雄の 3500ppm 以上の群で ALP および 5'ヌクレオチダーゼの有意な増加がみられた。雌の 3500ppm 以上の群で糖および 5'ヌクレオチダーゼの有意な増加がみられた。雌の 7000ppm 群でソルビトール脱水素酵素活性が有意に増加し、20000ppm でも有意ではないが、増加が認められたことから、投与による影響と考えられた。

尿検査では、雄の 3500ppm 以上の群でビリルビンおよびウロビリノーゲンのレベルが有意に増加し、雌の 7000ppm 以上の群でウロビリノーゲンのレベルが有意に増加した。

臓器重量については、雄 7000ppm 以上の群で脾臓、肝臓の絶対重量が有意に減少し、雌の 7000ppm 以上の群で肝臓の絶対重量および対体重比が増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

病理組織学的検査では、雄の肝臓において 7000ppm 以上の群で小葉中心性の肝細胞変性または壊死、細胞浸潤の発生頻度が有意に増加し、3500ppm 以上の群で肝細胞中の色素沈着の発生頻度が有意に増加した。雌の肝臓において 3500ppm 以上の群で小葉中心性の肝細胞変性または壊死、細胞浸潤および脂肪変性の発生頻度が有意に増加し、20000ppm 群で肝細胞中の色素沈着の発生頻度が有意に増加した。

以上の結果から本試験における無毒性量は、雌雄とも 100ppm（雄：6.19mg/kg/day、雌：6.80mg/kg/day）と判断された。

申請者注：ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験に関する考察

肝臓の変性変化（壊死を伴う小葉中心性の変性、脂肪変性）は、雌雄ラットの 3500ppm 以上の群でみられた。3500ppm 群では、病変は脂肪変性頻度と軽度な壊死を伴う小葉中心性の変性に限定された。7000 および 20000ppm 群では、肝への障害はより多くの頻度と高い程度の変性変化と進行していた。肝の鉄集簇（色素沈着、鉄）の増加は、雄ラット 3500ppm 以上の群でみられた。その他雄 3500 および 2000ppm 群で脾臓色素沈着の減少がみられたが、貧血に対する正常な生物学的反応と考えられた。また、雌 20000ppm 群で腎の色素沈着がみられたが、脈管内の溶血に対する二次的変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

3) イヌを用いた 90 日間反復経口毒性試験

(資料 A-58)

本化合物のイヌを用いた90日間反復経口投与毒性試験は、以下(1)(2)の理由により、6週間反復経口投与慢性毒性予備試験結果から、90日間反復経口投与によるイヌへの毒性が推定可能と考えられるため、試験実施を要しないと考えられる。

理由：

- (1) イヌ 1 年間反復経口投与毒性試験の予備試験として、4~8 週間反復経口投与毒性試験を実施した。その結果、雄では 20000 ppm 以上、雌では 6500 ppm 以上の群で体重増加抑制をエンドポイントとして無毒性量が雄で 6500 ppm、雌で 2000 ppm と求められた。そのほかに被験物質投与による毒性影響は認められなかった。
- (2) 上記試験結果をもとにイヌ 1 年間反復経口投与毒性試験を実施した結果、肝臓および赤血球形成系が主な標的器官であった。実質的毒性として体重増加抑制と標的組織への影響が、最高用量の雄 20000 ppm 群、雌 5000 ppm 群で認められ、無毒性量は 2 番目の高用量である雄 2000 ppm、雌 1000 ppm と決定されている。この間 3 および 6 か月目に血液学検査、血液凝固検査、生化学検査(6 か月目のみ)、尿検査が実施されているが、投与に関連した影響が見られたのは、雄 20000 ppm 群、雌 5000 ppm 群のみであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(資料A-22-1)

4) フルチアセットメチル原体のイヌを用いた飼料混入投与による6週間反復経口投与毒性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1993年

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬、雌雄各15匹、6ヶ月齢（開始時）

試験開始時体重範囲：雄 7.5~9.3 kg、雌 5.0~7.0 kg

1群雌雄各雌雄各3匹（追加最高濃度群雌雄各2匹）

投与期間：4~8週間

投与量(ppm)	投与期間(週)	
	雄	雌
0	8	8
500	6	6
2000	6	6
6500	6	8
20000	8	8
50000	6	4

投与方法：検体を0、500、2000、6500、20000、50000 ppmの濃度となるよう粉末飼料に混入し、4、6または8週間にわたり自由摂取させた。

投与量設定根拠；イヌを用いた100、300、1000および2000 mg/kgのゼラチンカプセル投与による急性経口毒性試験の結果、1000 mg/kg投与群で体重減少が認められた。したがって、本試験開始時点の投与量を500、2000、6500、20000 ppmとした。さらに、投与開始2週間後の時点で20000 ppm群で毒性兆候が認められなかったことから、50000 ppm群を追加し、雄で6週間、雌で4週間投与した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与による死亡例はなかった。投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

眼科学的検査；週1回行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与に関連する影響は、雌雄とも認められなかった。

体重変化；体重は週1回、給餌前に測定した。

群平均体重への投与に関連する影響は、雌雄ともみられなかった。

以下の表に群平均体重増加量の対照群と比べ統計学的有意差が認められた測定週を示す。

性別	雄					雌					
	投与量 (ppm)	500	2000	6500	20000	50000	500	2000	6500	20000	50000
投与期間 (週)	1				63	-396▽			15	-165	25
	2				53	-263▽			0	-152▽	45
	3				34	-188▽			70	-123↓	105
	4				57	-170▽			55	18▽	62
	5				78	-159▽			52	3▽	
	6				56	-135▽			59	21↓	
	7				81				59	10↓	
	8				80				48	13↓	

↓ : p<0.05, ▽ : p<0.01 (Dunnett's-t 検定)

数値は申請者が計算した対照群に対する割合 (%)。

雄の 20000 ppm 以上の投与群、雌の 6500 ppm 以上の投与群において、検体投与が原因と見られる体重増加抑制が認められた。

摂餌量および検体摂取量；投与開始前 1 週から投与終了時まで毎日測定した。検体摂餌量は、平均体重、摂餌量、飼料中検体濃度より算出した。

摂餌量は、試験期間を通じて、雌雄とも全群でおおむね同量であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

性別 \ 投与量 (ppm)	検体摂取量 (mg/kg/day)				
	500	2000	6500	20000	50000
雄	18.1	75.1	236	709	1943
雌	19.6	77.7	232	766	2126

血液学的検査及び血液凝固能検査；投与開始前、投与開始後 2, 4, 6, 8 週後に検査を行った。

血液は約 16 時間絶食後頸静脈より採取し、以下の項目の測定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血小板数、網状赤血球率、プロトロンビン時間、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) 投与に関連すると考えられる統計学的有意差のみられた項目及び対照群を 100 とした場合の値を以下に示す。

性別	投与後経過 期間 (週)	雄		雌	
投与群 (ppm)		20000	50000	20000	50000
MCHC	0				
	2				
	4				
	6		↓96.6		—
	8		—		—
MCH	0				
	2				↓93.7
	4				▽88.5
	6				—
	8		—		—
MCV	0				
	2				
	4				▽91.4
	6				
	8				

↓ : p<0.05    ▽ : p<0.01    (Dunnett の多重比較検定)

— : 測定せず

雄の 50000 ppm 投与群で投与 6 週間後に MCHC の減少が認められた。雌の 50000 ppm 投与群では投与 2 週間後に MCH の減少が、4 週間後に MCH および MCV の減少が見られた。その他、投与に関連する影響と考えられる統計的有意な変化は認められなかった。

血液生化学検査；血液学的検査と同様に、頸静脈から採取した血液より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(ALT)、アスパルテイトアミノトランスフェラーゼ(AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、無機リン、胆汁酸、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、コレステロール、血糖、尿素窒素、総ビリルビン、直接ビリルビン (総ビリルビンが 0.4 mg/dl 以上の場合)、カルシウム、ナトリウム、カリウム、塩素、クレアチニン、クレアチニンキナーゼ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与に関連すると考えられる統計学的有意差のみられた項目及び対照群を 100 とした場合の値を次頁の表に示す。

性別	投与後経過 期間 (週)	雄		雌	
		20000	50000	20000	50000
アルブミン	0				
	2				
	4				
	6		▽90.9		—
	8		—		—

△▽ :  $p < 0.01$  (Dunnett の多重比較検定)

— : 測定せず

雄 50000 ppm 投与群の投与 6 週間後に、血清アルブミンの減少が認められた。  
その他、投与に起因するような変化は認められなかった。

尿検査；投与開始前、投与開始後 6 及び 8 週後に尿を採取し下記の項目について測定した。

尿量、色調および透明度、pH、比重、蛋白、尿糖、ケトン体、ビリルビン、  
ウロビリノーゲン、潜血及び尿沈渣（顕微鏡検査）

検査の結果、投与に起因する変化は認められなかった。

糞便検査；投与開始前、投与開始後 6 及び 8 週後に尿を採取し寄生虫及び潜血について調べた。

検査の結果、投与に起因する変化は認められなかった。

剖検及び臓器重量；投与終了時で剖検し、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、膵臓、胸腺、精巣（精巣上体を除く）、  
甲状腺（副甲状腺含む）

剖検所見では、投与に関連すると考えられる所見は見られなかった。  
雄の 20000 ppm 投与群、50000 ppm 投与群において、肝臓の対体重比がそれぞれ 16、35%増加した。雌の臓器重量では影響がみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与に関連すると考えられる臓器重量検査で対照群と比べて統計学的有意差のみられた項目及び対照群を 100 とした場合の値を次頁の表に示す。

性 別		雄		
投与量 (mg/kg/日)		6500	20000	50000
投与期間 (週)		8	8	6
肝臓	絶対重量			/
	体重比		(116)	△135

△▽ :  $p < 0.01$  (Dunnett の多重比較検定)

病理組織学的検査 ; 剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出し、通常の方法でパラフィン切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色を施したのち鏡検した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、胸腺、精巣 (精巣上体を除く)、  
甲状腺 (副甲状腺含む)

投与に関連する病理組織所見は認められなかった。

以上の結果から、本検体を 4~8 週間にわたりイヌへ混餌投与した際の影響として、雄 50000 ppm 投与群、雌 6500 ppm 以上の投与群での体重増加量減少が、雄 50000 ppm 投与群において MCHC、血清アルブミンの減少が、雌 50000 ppm 投与群において MCH、MCV の減少が、雄 20000 ppm 以上の投与群において相対肝臓重量の増加が見られた。

従って、本試験における無毒性量は雄 6500 ppm (236 mg/kg/day)、雌 2000 ppm (77.7 mg/kg/day) と判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

本化合物におけるラットを用いた急性経皮毒性試験のLD<sub>50</sub>値は2000 mg/kg以上であり、何らの中毒症状も認められなかった。一方、ラットを用いた急性経口毒性試験のLD<sub>50</sub>値は、5000 mg/kg以上であり、急性吸入毒性試験のLC<sub>50</sub>値は5.048 mg/L以上であった。以上から、13生産第3986号記4(2)⑩イの「急性経皮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経皮毒性が認められない場合」に該当し、本試験成績は省略できるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(8) 90日間反復吸入毒性

本化合物における急性吸入毒性試験の  $LC_{50}$  値は 5.048 mg/L 以上であり、なおかつ神経毒性等の特異的な中毒症状は認められなかった。一方、ラットを用いた急性経口毒性試験の  $LD_{50}$  値は 5000 mg/kg 以上、急性経皮毒性試験の  $LD_{50}$  値は 2000 mg/kg 以上であったことから、13生産第3986号記4

(2) ⑩イに基づき、本試験成績は省略できるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

(資料 A-60)

1) フルチアセトメチル原体のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復投与神経毒性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

供試動物：Sprague Dawley (SD)系ラット[Hsd: Sprague Dawley SD]、投与開始時 7 週齢、  
平均体重；雄 135 g 雌 103 g、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：13 週間（1994 年 8 月 1 日～11 月 4 日）

投与方法：検体を 0, 10, 10000 および 20000 ppm の濃度で粉末飼料に混入し、13 週間にわたって自由摂取させた。検体混入飼料は 4℃で保管し調製後 47 日以内に使用した。対照群の動物には基礎飼料を与えた。

用量設定理由；本剤のラット 90 日間反復経口投与毒性試験では、検体を 0, 10, 100, 3500, 7000 または 20000 ppm の濃度で飼料混入して投与した。その結果、雄の 3500 ppm 以上の群では体重減少および体重増加量の減少を認めたが、雌では影響が認められなかった。また 3500 ppm 以上の群では雌雄とも肝臓の壊死を伴う小葉中心性の変性および脂肪変性が認められ、雄では ALP の増加が、雌雄で 5'ヌクレオチダーゼの増加が認められた。雌では 7000 ppm 以上の群で肝臓の絶対および相対重量の増加が認められた。さらに、3500 ppm 以上の群の雄においてヘマトクリット値、MCV、MCH、赤血球成熟指数の減少などの貧血所見が認められ、雌では 7000 ppm 以上の群で MCH の減少が認められた。骨髄スメア検査では雄の 3500 ppm、雌の 7000 ppm 以上の群で骨髄球/赤血球比の減少が認められた。

神経毒性に関する EPA-FIFRA ガイドラインでは、高用量が 1000 mg/kg（約 20000 ppm に相当）を超える必要はない。従って、上記の試験結果と EPA-FIFRA ガイドラインに基づき、本試験の投与量を 0, 10, 10000 および 20000 ppm とした。

観察・検査項目および結果：

死亡率；全動物について生死を少なくとも 1 日 2 回（午前および午後）観察した。

いずれの投与群にも、検体投与期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態；一般状態を 1 日 2 回観察し、午前の観察では外観、行動、毒性兆候について、午後は疾病の有無を観察した。全動物について触診による腫瘤の有無を含めた詳細な身体的検査を毎週実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

雌雄とも検体投与と関連する一般状態の変化はいずれの投与群においても認められなかった。

体重変化；試験開始から毎週1回、個体別にすべての動物の体重を測定した。

10000 ppm および 20000 ppm 群で体重、体重変化および累積体重増加量が統計学的に有意に減少した。体重および累積体重増加量の減少は第3週後から始まり、試験期間中継続した。対照群と比較して雄の体重は最大16%、累積体重増加量は最大33%減少した。雌では投与に関連した影響は認められなかった。

体重の対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を次表に示す。

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		10	10000	20000	10	10000	20000
投 与 期 間 ( 週)	0						
	1						
	2						
	3		91▽	93↓			
	4		90▽	92↓			
	5		88▽	90▽			
	6		88▽	90↓			
	7		88▽	89▽			
	8		85▽	86▽			
	9		84▽	87▽			
	10		85▽	89▽			
	11		85▽	87▽			
	12		85▽	88▽			
	13		84▽	87▽			

↓ : p<0.05    ▽ : p<0.01 (Dunnett の t-検定、両側)

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

体重変化の対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を次表に示す

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		10	10000	20000	10	10000	20000
投 与 期 間 ( 週)	1						
	2						
	3		20▽	18▽			
	4		57↓				
	5		69↓	72↓			
	6						
	7		64▽	64▽			
	8			37▽			
	9						
	10						
	11						
	12						
	13						

↓ : p<0.05    ▽ : p<0.01 (Dunnett の t-検定、両側)

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

平均累積体重増加量の対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を次表に示す。

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		10	10000	20000	10	10000	20000
投 与 期 間 ( 週)	1						
	2						
	3		73▽	76▽			
	4		71▽	75▽			
	5		71▽	73▽			
	6		70▽	75▽			
	7		71▽	72▽			
	8		67▽	68▽			
	9		67▽	71▽			
	10		69▽	74▽			
	11		70▽	72▽			
	12		70▽	75▽			
	13		69▽	73▽			

↓ : p<0.05    ▽ : p<0.01 (Dunnett の t-検定、両側)

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

摂餌量および食餌効率；個体別に摂餌量を毎週測定した。

雄の 10000 ppm および 20000 ppm 群で投与に関連した統計学的に有意な摂餌量の減少が観察され、最大 17%減少した。雌では投与に関連した影響は認められなかった。

食餌効率に投与に関連した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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

摂餌量の対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を次表に示す。

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		10	10000	20000	10	10000	20000
投 与 期 間 ( 週)	1						
	2			107↑			
	3		81▽	87↓			
	4						
	5		88▽	90↓			
	6		84↓	83▽			
	7		84↓	83▽			
	8						
	9		84▽				
	10						
	11		87↓	87↓			
	12						
	13						

↑ ↓ : p<0.05    ▽ : p<0.01 (Dunnett の t-検定、両側)

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

検体摂取量；検体投与期間中の摂餌量と体重から算出した平均検体摂取量は、以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	10000	20000
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.576	556	1128
	雌	0.652	668	1354

詳細な状態の観察および機能検査；投与開始前および投与後第 4, 8, 13 週に以下の観察および機能検査を行った。

#### ホームケージ観察

姿勢、振戦、間代性痙攣、強直性痙攣、常同行動、異常行動、糞便の色、糞便の硬さ、歩行

#### 動物の取り扱い時の観察

ケージからの取り出し易さ、呼吸状態、尾を持ち上げた時の後肢の位置、瞳孔径、流涙、眼球突出、眼瞼閉鎖、耳・目・口および鼻の汚れ、立毛、被毛の状態、流涎、異常発声、取り扱いに対する反応

#### オープンフィールド観察

立ち上がり回数、覚醒レベル、排便数、排尿数、尿の状態 (urine modifier)、頭部位置、振戦、間代性痙攣、強直性痙攣、常同行動、異常行動、歩行数、歩行状態、歩行コメント反射検査、接近反応、触覚反応、クリック音に対する反応、瞳孔反応、眼瞼反応、テールピンチ反応、踏み直り反射、立ち直り反射

#### 神経筋検査

後肢伸筋、握力 (前肢および後肢)、握力のコメント、着地開脚幅、着地開脚幅コメント

#### 生理学的検査

体重、体調 (body tone)、直腸温、筋緊張

雄では、10000 および 20000 ppm 群で統計学的に有意な機能検査所見が観察された。

即ち、第 13 週の 20000 ppm 群で 2 分間あたりの立ち上がり回数が増加したが、これは対照群の範囲内でありごく一部で観察され、覚醒レベルや運動量の増加を伴っていないことから、検体投与に関連しているとは考えられなかった。その他、これらの群では体重減少に有意差がみられた。雌では、統計学的有意差が見られた所見は、20000 ppm 群における第 4 週の体重増加であり、これはみせかけの変化と考えられた。

8 字型迷路運動量 ; 4 匹 1 組の機能検査後、その組の動物を検査室に移動して自動 8 字型迷路を用いて個体別の運動量を測定した。

時間毎の群平均運動数は、すべての群において時間の経過とともに減少した。最終記録時間 (60 分) の終了時の運動量は最初の記録時間 (5 分) と比べ急激に減少した。おおよそ 35 分から 45 分時に雌雄とも運動量は一定に達した。

肉眼的病理検査 ; 投与終了時に全動物を対象にペントバルビタールを腹腔内投与して麻酔し、2.5% 緩衝グルタルアルデヒド液で全身環流により屠殺した。腫瘤の触診検査を含めて外表異常を検査した。神経系組織 (脳、脊髄、末梢神経など)、骨格筋、眼を採取、固定した。観察された剖検所見はすべて投与と関連しない偶発的所見であった。

病理組織学的検査 ; 投与終了時に対照群および高用量群から雌雄各 5 匹を対象に、脳 (レベル 1~10 : 10 個の冠状断ブロック)、脊髄 (頸部、胸部、腰部、仙骨、付属する神経根節)、眼球 (視神経を含む)、骨格筋 (右大腿部骨格筋) についてパラフィン包埋後、ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。また、左側末梢神経 (坐骨、脛骨、仙骨、外側腓腹皮神経) についてはグリコールメタクリル樹脂包埋し、クレシルバイオレット染色した。

検体投与による神経病理学的影響を示す証拠は認められず、観察された病理組織学的所見はすべて自然発生の偶発的な所見であった。

以上の結果から、本剤はラット 90 日間反復経口投与神経毒性試験において最高 20000 ppm まで、神経病理学的証拠、神経毒性を示す機能検査項目や運動量への影響を示さなかった。また、死亡例もなく投与に関連した一般状態の変化も観察されなかった。投与に関連した影響は、雄の 10000 および 20000 ppm 群における体重、累積体重増加量および摂餌量の減少のみであった。全身毒性に関する無毒性量は 10 ppm であり、神経毒性に関する無毒性量は 20000 ppm (雄 1128 mg/kg/日、雌 1354 mg/kg/日) であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(10) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性

本化合物は化学構造上、リン酸エステル及びメチルカルバマート構造を有していないことから、13生産第3986号記4(2)⑬に基づき、本試験成績は省略できるものと考えられる。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(11) 慢性毒性および発がん性

1) マウスを用いた飼料混入投与による 18 ヶ月間発がん性試験

(資料 A-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 系マウス [CrI:CD-1(ICR)BR(Swiss)]、1 群雌雄各 50 匹、開始時 6 週齢

投与開始時体重範囲 : 雄 27.7±1.2 g、雌 21.6±1.2 g

投与期間 : 18 ヶ月間 (1992 年 6 月 30 日から 1994 年 1 月 21 日)

投与方法 : 検体を 0, 1, 10, 100, 300 ppm の濃度となるよう粉末飼料に混入し、18 ヶ月間にわたって自由摂取させた。試験飼料は週 1 回調製した。

[用量設定根拠]

CD-1 系マウスを用い、1 群雌雄各 10 匹ずつに検体を 0、1、10、500 および 5000 ppm の投与量で 90 日間反復経口投与毒性試験を実施した (資料 A-18)。その結果、雌雄共に死亡例はなく、体重、飼料摂取量および飼料効率に検体投与と関連した変化は認められなかった。500 ppm 以上の群の雄に投与と関連した変化として、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、MCV、MCH の減少が認められ、5000 ppm 群雄で血小板数の統計学的に有意な増加が認められた。雌では、500 ppm 以上の群でヘモグロビン量およびヘマトクリット値が統計学的に有意に減少し、血小板数が統計学的に有意に増加した。また、5000 ppm 群雌で MCV および MCH が統計学的に有意に減少した。血液生化学的検査では、雄の 500 ppm 以上の群でソルビトール脱水素酵素、ALT、AST および胆汁酸、また 5000 ppm 以上の群で ALP の統計学的に有意な増加が認められた。雌では、500 ppm 以上の群でソルビトール脱水素酵素、ALT、AST、5'ヌクレオチダーゼ、胆汁酸およびコレステロールの検体投与と関連した増加が認められた。病理組織学的検査では、500 ppm 以上の群の雌雄に肝臓の肝細胞壊死、核の大小不同性、脂肪変性、細胞浸潤および色素沈着が認められた。以上の結果から、500 ppm の群で肝臓および血液学的検査における影響が中等度であったので、300 ppm を本試験の最高の投与量として設定し、無毒性量を求めるために 1 および 10 ppm を設定した。

試験項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 一般状態および生死を毎日 2 回観察した。

試験終了時の生存率 (%) を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

生存率 (%)

投与週	投与量(ppm)									
	雄					雌				
	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
0~78	70	72	70	70	80	65	74	74	82	80

生存率は Kaplan-Meier の修正生存率

生存率に検体投与によると考えられる影響はなかった。一般状態の変化に検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

眼科学的検査；対照群および 300 ppm 群の全生存動物について、12 および 18 ヶ月時に検査を実施した。すべての眼症状（角膜またはレンズの混濁、網膜の淡色化および瞳孔異常）は、300 ppm 群および対照群において、同様の頻度で観察されたことから、すべての所見は偶発的で投与に関連しないものと考えられた。

体重変化；体重は 13 週まで 1 週に 1 回、その後は少なくとも 4 週に 1 回測定し、最終屠殺時も測定した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次表に示す。

体 重

性別	雄				雌			
投与量(ppm)	1	10	100	300	1	10	100	300
投与期間(週)	78			▽92				

Dunnett's t-test ▽ : p<0.01 空欄は統計学的に有意な変化なし

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

累積体重増加量において対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次表に示す。

累積体重増加量

性別	雄				雌				
投与量(ppm)	1	10	100	300	1	10	100	300	
投与期間(週)	1				△157	↑141	↑148	↑148	
	2						△128	↑127	
	3						△116	△119	
	4								
	5							↑115	
	6						△117	↑117	
	7						△117	↑113	
	8						△116	△117	
	9						↑116	↑115	△117
	10							↑116	
	12							↑114	
	24							↑117	
	78				↓81				

Dunnett's t-test ↑ ↓ : p≤0.05, △ : p≤0.01 空欄は統計学的に有意な変化なし

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

300ppm 群雄の 78 週で認められた体重および体重増加量の減少は統計学的に有意な減少は検体投与に関係するものと思われた。雌で投与 12 週までに認められた体重増加量の統計学的に有意な増加は、投与第 1 週で認められた体重増加量の増加によるものと考えられ、検体投与と関係するものとは考えられなかった。

摂餌量および食餌効率；投与期間中 13 週まで 1 週に 1 回、その後は少なくとも 4 週に 1 回測定し、食餌効率も算出した。食餌効率は投与第 40 週まで算出した。

全投与群とも、摂餌量および食餌効率に一貫した傾向は認められず、統計学的に有意な変化は検体投与と関係するものとは考えられなかった。

摂餌量において対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次表に示す。

摂餌量

性 別		雄				雌			
投与量(ppm)		1	10	100	300	1	10	100	300
投与期間(週)	1	↓97	↓96		▽96				
	3								↑107
	5	▽95	↓95				△109		↑107
	7	↓95	↓95						
	8								△111
	9	▽94	▽95						
	10	↓95	↓95			↑107	↑108		△109
	17		▽94						
	24		↓95						
	28		↓94						
	32		↓94						
	60						↑108		
	68	▽93	▽92						
	76					△113	△113		△114
78		↓93							

Dunnett's t-test ↑ ↓:  $p \leq 0.05$ 、△▽:  $p \leq 0.01$  空欄は統計学的に有意な変化なし  
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

食餌効率において対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次表に示す。

食餌効率

性 別		雄				雌			
投与量(ppm)		1	10	100	300	1	10	100	300
投与期間(週)	1					↑141		△157	△156
	5	△143	↑139						
	7				↑132				
	8	▽62	▽63	↓70					
	10	▽37	▽48	▽48	↓61				
	11		↑144						
	24			↑160	↑155				
	32	↓44	↓46	▽24	↓43				

Dunnett's t-test ↑ ↓:  $p \leq 0.05$ 、△▽:  $p \leq 0.01$  空欄は統計学的に有意な変化なし  
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の18ヶ月間平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		1	10	100	300
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.1	1.0	10	32
	雌	0.1	1.2	12	37

血液学的検査；投与後12および18ヶ月のすべての生存動物の尾静脈より採血し、血液塗沫標本を作製し検査した。さらに18ヶ月に各群雌雄各10匹から一晩絶食後、ペントバルビタールナトリウム麻酔下、腹部大動脈より採血し、下記の項目について測定した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球数、血小板数、網状赤血球数（ヘマトクリットが34%以下の場合）、白血球百分率（対照および高濃度投与動物のみ）、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）

雄においては、100 ppm以上の群で、MCVおよびMCHの投与に関連した減少がみられた。雌においては、300 ppm群で投与に関連した赤血球数、ヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少がみられた。

以下に、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目を示す。

#### 血液学的検査

項目	検査月	投与量(ppm)							
		雄				雌			
		1	10	100	300	1	10	100	300
赤血球数	18								▽71
ヘマトクリット値	18								▽74
ヘモグロビン量	18								▽73
MCV	18			▽93	▽93				
MCH	18			▽93	▽93				

Dunnett's t-test ▽:  $p \leq 0.01$  空欄は統計学的に有意な変化なし  
表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

臓器重量；試験終了時生存していた全マウスを屠殺し、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、対脳重量比および剖検時体重から対体重比も算出した。

肝臓、精巣（精巣上体を除く）、腎臓、卵巣、脳、副腎、心臓、脾臓、胸腺

100 ppm以上の群で雌雄共に、肝臓の絶対重量および対体重比で投与に関連した増加がみられた。この重量の増加は非腫瘍性病変および腫瘍の存在に起因するものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

300ppm の群の雄の心臓対体重比の増加は関連のある病理組織変化がなかったことより、投与に起因するとは考えられなかった。また、雄の 1、100 および 300ppm の胸腺の絶対重量および対体重比の減少は、1 匹の対照動物の重量増に起因するものであり、投与とは関連がないと考えられた。

以下に対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目および投与の影響と思われる項目を次表に示す。

#### 臓器重量

項目	検査月	投与量(ppm)							
		雄				雌			
		1	10	100	300	1	10	100	300
最終体重	18				△92				
心臓 対体重比	18				↑111				
肝臓	絶対重量	18		112	△114			△114	△115
	対体重比	18		↑116	△122			↑110	△113
	対脳重量比	18		113	△118			△115	△116
胸腺	絶対重量	18	↓64	↓60	↓60				
	対体重比	18	↓64	↓64	↓66				
	対脳重量比	18	↓64	↓66	↓62	↓63			

Dunnett's t-test ↑ ↓ : p ≤ 0.05、△▽ : p ≤ 0.01 空欄は統計学的に有意な変化なし  
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

剖検 ; 全動物について剖検を行い、肉眼的異常を記録した。

100 および 300ppm 群の雄で、検体投与と関係して肝臓の腫瘍および変色病巣が増加した。雌では肝臓腫瘍の発生増加は見られなかったが、10ppm 以上の群で変色病巣を有する肝臓の発生頻度は僅かに増加した。その他雄 10ppm 以上の群で痂皮、雌 100ppm 以上の群で胸腺肥大および腎臓嚢胞の発生頻度が僅かに増加したが、投与に関連した外観および顕微鏡観察での相関性は見られなかったことより、検体投与に起因するとは考えられなかった。投与の影響と思われる項目を次表に示す。

#### 肉眼的病理所見

検査動物	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
全動物	所見\検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	変色病巣		4	1	4	12	7	1	1	7	6	4
	隆起変色病巣		3	1	2	1	7	1		1	1	4
	腫瘍		12	15	11	23	30					

表中の数値は実際の観察数。

病理組織学的検査 ; 剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出した。10%中性ホルマリンまたは 2.5%緩衝グルタルアルデヒド液で固定し、パラフィン切片を作成してヘマトキシリン-エオジン染色を施し、鏡検した。計画屠殺以外の切迫殺動物や死亡動物についても同様に実施した。

脳、脊髄、坐骨神経、眼球、脳下垂体、甲状腺、胸腺、肺、気管、心、脾、肝、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎、脾、副腎、膀胱、雄の精巣、精囊、前立腺、精巣上体、雌の卵巣、子宮、膣、乳腺、胸骨骨髓、リンパ節（腸間膜、顎下）、大腿骨格筋、骨（脛骨）

以下の組織を検査した。

- ・すべての対照および最高用量群動物から採取した全組織
- ・すべての死亡および切迫屠殺動物から採取した全組織
- ・すべての動物の肉眼的異常組織および腫瘤
- ・すべての動物の胸骨、胸骨骨髓、頸骨および大腿骨、頸骨関節、肺、肝臓、胆嚢、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、脾臓、腎臓および顎下リンパ節
- ・すべての雄の副腎

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に、腫瘍性病変を表2に示す。なお非腫瘍性病変は軽微な変化を除いたものである。

#### [非腫瘍性病変]

10 ppm 以上の群の雌雄の肝臓で、投与に関連した肝細胞変性が程度および出現頻度で増加を示した。その多くは小葉中心部でみられ、変性のほか肝細胞の単細胞性壊死と細胞内色素沈着および核の大小不同性の亢進を伴って増加した。雄でみられたその他の誘発肝病変は、変異細胞巣（100ppm 以上の群）、胆管増生（300ppm 群）であり、雌では変異細胞巣（頻度は低い）と肝細胞の脂肪変性（100ppm 以上の群）であった。また肝細胞の合胞体細胞形成（雄の 100ppm 以上の群）、肝小葉中心性肝細胞肥大（雌の 10 および 100ppm 群）がみられた。その他、雄 300ppm 群で副腎のセロイド／リポフスチン変性が増加したが、一般的にマウスでは副腎中のセロイド／リポフスチンが加齢とともに蓄積する傾向があるので、この病変は加齢性の自然発生、すなわち同群動物での良好な生存率に関係があると思われた。また、雄 10ppm 以上の群で腸間膜リンパ節のリンパ増生が僅かに増加したが、これは肝臓に対する影響に次いで起こったと考えられた。したがって、副腎も腸間膜リンパ節はいずれも標的組織とは考えられなかった。

#### [腫瘍性病変]

肝細胞腫瘍（腺腫および／あるいは肝臓がん）の出現頻度は 100 および 300ppm の群の雌雄で増加した。出現頻度は雄では有意に増加したが、雌では有意ではなかった。腫瘍の多くは試験終了時に屠殺された動物に見られた。その他雌雄でみられた腫瘍性病変は偶発的なものと考えられた。

以上の結果から、本検体の 18 ヶ月間飼料混入投与によるマウス発がん性試験における影響として、雄 300ppm 群で僅かな体重低値および体重増加抑制がみられた。雄 100ppm 以上の群で MCV および MCH の減少が、また雌 300ppm 群で赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

剖検において、雄の 100ppm 以上の群で肝臓の腫瘍と変色病巣が増加し、雌では 10ppm 以上の群で肝臓の変色病巣が僅かに増加した。肝臓の絶対重量および対体重比で用量相関性の増加が雌雄の 100ppm 以上の群で認められた。

非腫瘍性病変では、雌雄とも 10ppm 以上の群で投与に関連して発生頻度と程度の増加を示したのは、肝臓における肝細胞変性と壊死、同細胞内色素沈着、核の大小不同性亢進などで、雄では変異細胞巣、胆管増生、合胞体細胞形成、雌では肝細胞脂肪変性、変異細胞巣、肝細胞肥大なども投与群で増加した。

腫瘍性病変としては、雌雄 100ppm 以上の群で、肝細胞腺腫および／または肝細胞がんの増加、増加傾向がみられた。本試験でみられた肝腫瘍増加は、検体のプロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ(PO)阻害作用に起因するものと考えられた。

おそらく、肝臓中にポルフィリンが蓄積し、それによる酸化ストレスによって、肝細胞腫瘍を誘発したと思われる。しかし、各腫瘍は主に試験終了時の剖検で発見されたものであり、その発生率も低く、本剤が一次発がん物質である可能性は低いと考えられた。

本試験においては、1ppm の用量では雌雄とも検体投与による影響はみられなかった。したがって、無毒性量は雌雄とも 1ppm (雌雄とも 0.1 mg/kg/day) と判断された。

表1. 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
死亡・切迫殺	副腎	所見\検査動物数	15	14	15	14	10	18	13	13	9	10
		アミロイド沈着	6	10	6	4	4	3	2	2	2	3
		セロイド/リポフスチン変性	10	9	10	10	10	13	6	9	5	8
		紡錘細胞の増生	6	5	4	6	3	14	9	13	7	10
	腎臓	所見\検査動物数	15	14	15	14	10	18	12	13	9	10
		アミロイド沈着	6	9	6	5	4	3	4	3	2	4
		細胞浸潤	12	12	9	13	9	7	6	7	2	5
		鉍質沈着, 皮質	4	1	2	2	3		1		1	
		嚢胞	2	6	6	3	2	3	1	1		1
		水腎症	5	4	1	5	5	1		1		
		慢性腎症	10	10	11	11	8	14	9	10	7	9
	肝臓	所見\検査動物数	15	14	15	15	9	18	13	13	9	10
		アミロイド沈着	5	5	5	4	4	3	1	3	1	3
		胆管増生	2				2	1				
		細胞変性	2	1	3	7	4		1	3	1	3
		脂肪化						1				13
		肝細胞肥大	3	1	3	4	1	2	5	5	1	
		単細胞壊死	1	5	△10	△9	△6	2	2	1		4
		凝固壊死	2		2		2	2	2	3		1
		変異細胞巣				3	1					1
		細胞計	6	5	4	10	5	10	8	9	3	5
		浸潤										
		グレート ±	1		1	2	2					
		1	3	3	3	4	1					
		2	1	2		2	1					
		3	1			2	1					
		核大小不同性	6	7	6	14	8	3	1	6	3	5
	合胞体細胞形成				2		1					
	類洞内白血球増多		3	1	3				2	1		
	色素沈着, 細胞質内	2	5	6	9	8	5	2	5	3	8	
	脾臓	所見\検査動物数	15	14	15	15	9	18	13	13	9	10
		アミロイド沈着	3	6	3	2		3		2	1	2
		リンパ欠乏	1									
赤芽球造血		8	3	6	8	7	11	9	10	6	4	
顆粒球増生		5	4	5	4	1	1	1	1	1		
リンパ増生		1		1		1						
壊死						2		1	1			
色素沈着							2	4	4	3	3	
精巣	所見\検査動物数	15	14	15	15	10	—	—	—	—	—	
	アミロイド沈着	4	6	5	2	2						
	細胞変性	10	7	6	3	5						
	間質細胞増生	3			1	1						
	鉍質沈着, 内性動脈		2	1	1							
	鉍質沈着	7	4	5	2	3						

ANOVA/Dunnett's test または Fisher's Exact Probability test    † ; p ≤ 0.05, △ ; p ≤ 0.01



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300	
死亡・切迫殺	甲状腺	所見\検査動物数	15	14	15	15	10	18	13	13	9	10	
		アミロイド沈着	5	10	6	6	4	3	1	3	2	5	
		嚢胞	2	2	1		1	1	1				
		結節性動脈炎			2								
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	18	13	13	9	10	
		アミロイド沈着						1	1	2		3	
萎縮							3						
最終屠殺	副腎	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	1	1	0	40	
		アミロイド沈着	2	1	5	1	5	3				3	
		皮質萎縮		5	2	4						1	
		セロイト/リポフスチン変性	25	16	20	25	↑37	19		1		30	
	腎臓	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40	
		アミロイド沈着	4	2	3	2	9	5	5	5	6	7	
		細胞浸潤	28	25	25	23	34	13	18	13	22	16	
		鉍質沈着, 皮質	19	9	3	6	14						
		嚢胞	17	17	21	20	20	5	7	6	10	10	
		水腎症	7	5	7	10	7	3	4	2	4	2	
		慢性腎症	28	33	26	30	39	21	26	31	26	29	
		色素沈着		4	2	5	4		1	1	1	1	
	肝臓	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40	
		アミロイド沈着	2	1	5	4	6	4	4	6	6	5	
		胆管増生				1	△7			1			
		細胞変性	1		△18	△31	△33		1	↑11	△17	△16	
		脂肪化	2	5	5	5	2		1		8	△17	
		肝細胞肥大	16	12	19	13	↓4	2	1	△12	△10	3	
		単細胞壊死	3	4	△24	△33	△34	4	2	15	18	△23	
		凝固壊死	1	5	1		1	2		4	7	7	
		変異細胞巢	2	5	3	△18	△17	1	1	5	6	5	
		好中球性細胞浸潤			1								
		細胞浸潤	計	33	28	32	30	27	31	32	37	38	35
			グレート ±	7	6	5		3	4	2	2		3
			1	22	13	16	22	11	14	12	8	10	11
			2	3	9	9	8	13	10	11	17	13	15
		3	1		2			3	7	10	15	6	
		核大小不同性	16	18	△32	△31	△37	3	1	△17	△19	△22	
		合胞体細胞形成			1	△7	3	1			1		
		類洞内白血球増多	1				1						
	色素沈着, 細胞質内	12	13	△28	△35	△38	15	21	△28	△32	△34		
	腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40	
		嚢胞	1	2	4	4	1	3					
		出血	2	2	1	7	4	1	5	3	7	2	
		リンパ増生	19	23	25	26	27	23	29	21	29	24	
	脾臓	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40	
		アミロイド沈着			1		2	1	3	5	3	3	
		うっ血	5	2		2	2	2	1	2	5	1	
		赤芽球造血	8	12	9	9	13	15	14	15	24	15	
	顆粒球増生	1	1			4			1		2		

ANOVA/Dunnett's test または Fisher's Exact Probability test ↑ ↓ ; p ≤ 0.05、△ ; p ≤ 0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
最終屠殺	脾臓	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		リンパ増生	3	2	4	2	7	3	2	2	8	3
		色素沈着						12	16	15	17	8
	甲状腺	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		アミロイド沈着	4				3	4	1	1		7
		細胞浸潤	1				2	5				
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	32	21	20	18	40
		アミロイド沈着						2				5
		嚢胞増生						23	17	20	16	30
全動物	副腎	所見\検査動物数	50	50	50	49	50	50	14	14	9	50
		アミロイド沈着	8	11	11	5	9	6	2	2	2	6
		皮質萎縮		5	2	5	2					1
		セロイト/リホプスチン変性	35	25	30	35	↑47	32	6	10	5	39
	十二指腸	所見\検査動物数	50	11	12	14	47	49	12	14	7	50
		アミロイド沈着	10	8	4	4	8	7	2	3	2	12
		増生			1	2	2	1	1	1		
	回腸	所見\検査動物数	49	10	11	14	46	49	11	12	6	50
		アミロイド沈着	11	7	4	5	9	10	1	2	2	13
	空腸	所見\検査動物数	49	10	11	14	46	49	11	12	6	50
		アミロイド沈着	9	8	4	3	8	7	1	2	1	10
	腎臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	49	50	50	50
アミロイド沈着		10	11	9	7	13	8	9	8	8	11	
細胞浸潤		40	37	33	36	42	19	24	20	24	21	
鉍質沈着, 皮質		23	10	5	8	17						
嚢胞		19	23	27	23	22	8	8	7	10	11	
水腎症		12	9	8	15	12	4	4	3	4	2	
慢性腎症		38	43	37	41	47	35	35	41	33	38	
色素沈着			4	2	6	4		1	1	1	2	
肝臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50	50	50	
	アミロイド沈着	7	6	10	8	10	7	5	9	7	8	
	胆管増生	2			1	9	1		1			
	細胞変性	3	1	↑21	△38	△37		2	△14	△18	△19	
	脂肪化	2	5	5	5	2	1	1		8	△20	
	肝細胞肥大	19	13	22	17	↓5	4	6	△17	11	3	
	単細胞壊死	4	9	△34	△42	△40	6	4	16	18	△27	
	凝固壊死	3	5	3		3	4	2	7	7	8	
	変異細胞巢	2	5	3	△21	△18	1	1	5	6	6	
	好中球性細胞浸潤			1								
	細胞浸潤	計	39	33	36	40	32	41	40	46	41	40
		グレード ±	8	6	6	2	5	9	4	6		3
		1	25	16	19	26	12	16	16	12	11	14
		2	4	11	9	10	14	12	12	17	13	16
	3	2		2	2	1	4	8	11	17	7	
	核大小不同性	22	25	△38	△45	△45	7	4	△23	△23	△27	
合胞体細胞形成			1	△9	3	2			1			
類洞内白血球増多	1	3	1	3	1			2	1			
色素沈着, 細胞質内	14	18	△34	△44	△46	20	23	△33	△35	△42		

ANOVA/Dunnett's test または Fisher's Exact Probability test    ↑ ↓ ; p ≤ 0.05, △ ; p ≤ 0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
全動物	腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	49	50	48	50	47	50	49	49	50	50
		形質細胞蓄積			4	2	2	1				
		アミロイド沈着	4	4	2	4	4	3	3	2	5	3
		嚢胞	2	2	5	5	1	3				1
		出血	2	2	3	7	4	2	6	4	8	2
		リンパ増生	20	23	↑30	↑33	↑32	28	31	22	29	26
		結節性動脈炎		3	2	1		1				1
全動物	脾臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50	50	50
		アミロイド沈着	3	6	4	2	2	4	3	7	4	5
		うっ血	5	3				2	1	3	5	1
		赤芽球造血	16	15	15	17	20	26	23	25	30	19
		顆粒球増生	6	5	5	4	5	1	1	2	1	2
		リンパ増生	4	2	5	2	8	3	2	2	8	3
		壊死					2		1	1		
	色素沈着		1	1			14	20	19	20	11	
	甲状腺	所見\検査動物数	50	14	15	15	48	50	14	14	9	50
		アミロイド沈着	9	10	6	4	7	7	2	4	2	12
		嚢胞	4	2	1	1	3	7	2	4	2	12
		傍濾胞細胞増生	1			1	2	6				
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	50	34	33	26	50
		アミロイド沈着						3	1	2		8
出血										1	4	
嚢胞状過形成							30	19	26	20	37	
結節性動脈炎							3	3	2		2	

Fisher's Exact Probability test ↑ ; 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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
死亡・切迫殺	副腎	所見\検査動物数	15	14	15	14	10	18	13	13	9	10
		血管肉腫 (M)	2					2		1		
	骨髄 (胸骨)	所見\検査動物数	15	14	15	15	8	18	13	13	9	10
		リンパ腫 (M)	1	1				3	2	2	2	
	骨髄 (その他)	所見\検査動物数	15	14	15	15	8	18	13	13	9	10
		骨肉腫 (M)										
	脳	所見\検査動物数	15	14	15	15	8	18	13	13	9	10
		髄膜腫 (M)										1
	盲腸	所見\検査動物数	15	14	15	15	8	18	13	13	9	10
		肥満細胞腫 (M)				1						
	子宮頸管	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	18	13	13	8	10
		線維腫 (B)							1			
		組織球肉腫 (M)							1			
	精巣上体	所見\検査動物数	15	14	15	15	10	—	—	—	—	—
		腺腫 (B)				1						
	ハーダー腺	所見\検査動物数	15	13	15	15	9	18	13	13	8	10
		腺腫 (B)		3	1	2	1	2			1	
	空腸	所見\検査動物数	14	11	11	12	6	15	11	10	6	10
		腺がん (M)			1							
	腎臓	所見\検査動物数	15	14	14	15	10	18	12	13	9	10
		皮質腺がん (M)					1					
	肝臓	所見\検査動物数	15	14	15	15	9	18	13	13	9	10
		肝細胞腺腫 (B)	2	1	1	2	3					1
		肝細胞がん (M)	2	1	2	4	5					
		血管腫 (B)	1									
		リンパ腫 (M)						4	2	2		
		血管肉腫 (M)	1						1	1	1	
	肺	所見\検査動物数	15	14	15	15	10	18	13	13	9	10
		気管支腺がん (M)	1	1		2	1	1				
		気管支腺腫 (B)	3				1	4		1		
顎下リンパ節	所見\検査動物数	15	14	15	14	9	18	13	12	7	10	
	リンパ腫 (M)	1					4	2	1	3		
	肥満細胞腫 (M)				1							
腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	14	14	13	15	8	18	12	12	9	10	
	リンパ腫 (M)	1	1	1			4	2	2	2	1	
リンパ節	所見\検査動物数	15	14	15	15	10	18	13	13	9	10	
	リンパ腫 (M)	1		1			3	2	2	3	1	
	肥満細胞腫 (M)				1							
乳腺	所見\検査動物数	4	4	5	4	4	18	11	13	9	10	
	腺がん (M)	1					3					
鼻介	所見\検査動物数	15	14	15	15	10	18	13	13	9	10	
	歯芽腫 (B)				1							

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
死亡・切迫殺	卵巣	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	18	13	13	8	10
		嚢腺腫 (B)						2			1	
		血管腫 (B)						1				
		血管肉腫 (M)							1			
		奇形腫 (B)						1				
	脾臓	所見\検査動物数	15	13	14	15	7	18	13	13	7	10
		島細胞がん (M)		1								
	下垂体	所見\検査動物数	14	14	14	15	10	18	13	13	9	10
		がん				1					1	
	直腸	所見\検査動物数	15	13	12	15	7	18	12	12	7	10
		肥満細胞腫				1						
	皮膚	所見\検査動物数	15	14	15	15	10	18	13	12	9	10
		扁平上皮乳頭腫(B)					1					
		線維肉腫 (M)					1					
		骨肉腫 (M)						1				
	脊椎	所見\検査動物数	15	13	13	15	9	18	12	13	8	10
		骨肉腫			1							
	脾臓	所見\検査動物数	15	14	15	15	9	18	13	13	9	10
		リンパ腫	2	1				4	2	2	3	1
	胃	所見\検査動物数	15	14	14	15	8	18	13	13	8	10
		前胃肥満細胞腫 (M)				1						
	胸腺	所見\検査動物数	15	14	14	15	8	18	13	13	8	10
		リンパ腫	2		1			7	2	6	4	2
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	18	13	13	8	10
		血管腫 (B)									1	
		平滑筋腫 (B)								1		
		血管肉腫 (B)							1	1		
		組織球肉腫 (M)						1				
	膣	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	18	13	13	8	10
		線維腫							1			

表中の数値は実際の観察数 (B) ; 良性腫瘍 (M) ; 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
最終屠殺	副腎	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	1	1	0	40
		皮質腺腫 (B)	1	2	1	1	4	1				
		がん (M)	1									
		褐色細胞腫 (B)				1						1
		皮質被膜下腺腫(B)					1					
	骨髄 (胸骨)	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	39
		リンパ腫 (M)								2	2	
	骨(脛骨、大腿骨)	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		骨髄リンパ腫 (M)										
	子宮頸管	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	31	0	0	0	40
		組織球肉腫 (M)						2				
	胆嚢	所見\検査動物数	35	36	33	35	40	32	37	37	41	40
		乳頭腫 (B)			1							
	ハーダー腺	所見\検査動物数	35	1	2	3	40	32	1	1	3	40
		腺腫 (B)	4	1	2	3	4	3			1	1
	空腸	所見\検査動物数	35	1	0	1	40	32	0	0	0	40
		腺がん (M)		1								
	腎臓	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		皮質腺腫 (B)	1	2								
	肝臓	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		肝細胞腺腫 (B)	10	8	9	17	19	2		1	7	6
		肝細胞がん (M)	1	4	4	↑8	8	1		1	2	2
		血管腫 (B)				1	1					
		血管肉腫 (M)	1	3	2	1	4	1		4	2	1
	肺	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		気管支腺がん (M)	2	2	1	1		1		1		
	顎下リンパ節	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		リンパ腫 (M)	1					1		4	1	1
	腸間膜リンパ腫	所見\検査動物数	35	36	35	35	39	32	37	37	41	40
		血管腫 (B)							1			
		リンパ腫 (M)	6	4		4		1	1	4	2	3
	その他のリンパ節	所見\検査動物数	2	2	4	3	6	3	1	5	4	5
リンパ腫 (M)		1			1		1		1	3	2	
血管肉腫 (M)									1			
乳腺	所見\検査動物数	4	0	0	0	7	32	0	2	1	38	
	腺がん (M)								2	1		
筋肉 (その他)	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
	血管肉腫 (M)										1	
鼻介	所見\検査動物数	35	0	0	0	40	32	0	0	0	40	
	歯芽腫 (B)										1	
卵巣	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	32	28	29	31	40	
	嚢腺腫 (B)									1		
精嚢	所見\検査動物数	35	1	3	7	40	—	—	—	—	—	
	肉腫 (M)	1										

累積  $\chi^2$  および  $\chi^2$  検定 (申請者検定) ↑;  $p < 0.05$

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
最終屠殺	皮膚	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		扁平上皮乳頭腫(B)	1		1	1						
		肉腫 (M)					1					1
		線維肉腫 (M)				1						2
		血管肉腫 (M)								1		
		組織球肉腫 (M)			1							
	脾臓	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	37	37	41	40
		血管腫 (B)		1								
		リンパ腫 (M)	2	1		1		6	2	7	5	6
		血管肉腫 (M)	1							1		
	精巣	所見\検査動物数	35	4	4	2	40	—	—	—	—	—
		血管腫 (B)			1							
		間質細胞腫 (B)	1	1	1							
	胸腺	所見\検査動物数	34	35	35	34	39	31	37	37	41	40
		リンパ腫 (M)	5	1	1	3	2	19	20	21	28	25
	膀胱	所見\検査動物数	35	0	1	0	40	32	0	0	0	40
		移行上皮乳頭腫(B)			1							
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	32	21	20	18	40
		血管腫 (B)							2			
		間質細胞ホリープ(B)						1			2	1
		血管肉腫 (B)							1			
組織球肉腫 (M)							2	2			1	
平滑筋肉腫 (M)											1	

表中の数値は実際の観察数 (B) ; 良性腫瘍 (M) ; 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
全動物	副腎	所見\検査動物数	35	36	35	35	40	32	1	1	0	40
		皮質腺腫 (B)	1	2	1	1	4	1				
		がん (M)	1									
		褐色細胞腫 (B)				1						1
		血管肉腫 (M)							1			
		皮質被膜下腺腫(B)	1				1					
	骨髄 (胸骨)	所見\検査動物数	50	50	50	50	48	50	50	50	50	49
		リンパ腫 (M)	1	1				3	2	3	4	
	骨髄 (その他)	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		骨肉腫 (M)								1		
	骨(脛骨、大腿骨)	所見\検査動物数	50	50	50	50	48	50	50	50	50	49
		骨髄リンパ腫 (M)		1								
	脳	所見\検査動物数	50	50	50	50	48	50	50	50	50	49
		髄膜腫 (M)										1
	盲腸	所見\検査動物数	47	8	12	13	45	49	11	12	6	48
		肥満細胞腫 (M)				1						
	子宮頸管	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	49	13	13	8	50
		線維腫 (B)							1			
		組織球肉腫 (M)						2	1			
	精巣上体	所見\検査動物数	50	15	16	16	50	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)				1						
	胆嚢	所見\検査動物数	49	45	44	49	46	47	48	47	48	47
		乳頭腫 (B)			1							
	ハーダー腺	所見\検査動物数	50	14	17	18	49	50	14	14	11	50
		腺腫 (B)	4	4	3	5	5	5			1	1
	空腸	所見\検査動物数	49	12	11	13	46	47	44	41	5	50
		腺がん (M)		1	1							
	腎臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	49	50	50	50
		皮質腺がん (M)					1					
		皮質腺腫 (B)	1	2								
肝臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50	50	50	
	肝細胞腺腫 (B)	12 <sup>@@</sup>	9	10	19	22	2 <sup>@@</sup>		1	7	7	
	肝細胞がん (M)	3 <sup>@@</sup>	5	6	↑12	↑13	1		1	2	2	
	血管腫 (B)	1			1	1						
	リンパ腫 (M)								1			
	血管肉腫 (M)	2	3	2	1	4	1	1	5	3	1	
肺	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	49	50	50	50	
	気管支腺がん (M)											
	気管支腺腫 (B)											
顎下リンパ節	所見\検査動物数	47	48	50	48	49	50	49	49	50	50	
	リンパ腫 (M)	2					5	2	5	4	1	
	肥満細胞腫 (M)				1							

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定 (申請者検定) ↑; p<0.05

Cochran-Armitage 傾向検定 @; p<0.05、@@; p<0.01

表中の数値は実際の観察数。空欄は当該所見がみられなかった。

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
全動物	腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	49	50	48	50	47	50	49	49	50	50
		血管腫 (B)							1			
		リンパ腫 (M)	7	5	1	4		5	3	6	4	4
	その他のリンパ節	所見\検査動物数	10	2	11	8	6	13	3	10	7	7
		リンパ腫 (M)	2		1	1		4	2	3	6	3
		肥満細胞腫 (M)				1						
	乳腺	所見\検査動物数	7	3	2	3	10	50	11	15	10	48
		腺がん (M)								3	2	
		血管肉腫 (M)								1		
	筋肉(その他)	所見\検査動物数	0	1	0	0	0	2	2	1	1	2
		血管肉腫 (M)										1
	鼻介	所見\検査動物数	50	14	15	15	50	50	13	13	9	50
		歯芽腫				1						1
	卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	50	41	42	39	50
		嚢腺腫 (B)						2				
		血管腫 (B)						1				
		血管肉腫 (M)							1			
	膵臓	所見\検査動物数	50	49	49	50	47	50	50	50	48	50
		島細胞腫 (M)		1								
	下垂体	所見\検査動物数	48	14	14	15	50	48	13	13	8	46
		がん (M)				1						
	直腸	所見\検査動物数	50	13	12	15	47	50	12	12	7	50
		肥満細胞腫 (M)				1						
	精囊	所見\検査動物数	50	14	17	22	49	-	-	-	-	-
		肉腫 (M)	1									
	皮膚	所見\検査動物数	50	17	25	22	50	50	15	15	10	50
		扁平上皮乳頭腫(B)			1	1	1					
		肉腫 (M)					1					1
		線維肉腫 (M)				1						2
		血管肉腫 (M)						1				
骨肉腫 (M)					1		1					
脊椎	所見\検査動物数	50	13	13	15	49	50	12	13	8	50	
	骨肉腫 (M)			1								
脾臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50	50	50	
	血管腫 (B)		1									
	リンパ腫 (M)	4	2		1		10	4	9	8	7	
胃	血管肉腫 (M)	1						1				
	所見\検査動物数	50	15	16	18	48	50	15	14	10	50	
	前胃肥満細胞腫 (M)				1							

表中の数値は実際の観察数 (B) ; 良性腫瘍 (M) ; 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	1	10	100	300	0	1	10	100	300
全動物	精巣	所見\検査動物数	50	18	19	17	50	—	—	—	—	—
		血管腫 (B)			1							
		間質細胞腫 (B)	1	1	1							
	胸腺	所見\検査動物数	47	46	49	48	45	49	48	49	49	49
		リンパ腫 (M)	7	1	2	3	2	26	23	27	32	27
	膀胱	所見\検査動物数	50	14	14	15	48	50	13	13	8	50
		移行上皮乳頭腫(B)			1							
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	50	34	33	26	50
		血管腫 (B)							2		1	
		平滑筋腫 (B)						3				1
		間質細胞ホリープ(B)						1			2	1
		血管肉腫 (M)							2	1		
		組織球肉腫 (M)						3	2			1
	膣	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	49	13	13	8	50
		線維腫 (B)							1			
	合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
良性腫瘍数		35	26	27	42	44	20	12	6	18	17	
悪性腫瘍数		34	23	16	32	23	64	44	69	66	53	
腫瘍総数		130	62	48	85	84	184	91	103	110	97	
担腫瘍動物数		36	30	28	40	43	39	29	35	40	39	

表中の数値は実際の観察数 (B) ; 良性腫瘍 (M) ; 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

申請者注：マウスを用いた飼料混入投与による18ヶ月間発がん性試験についての考察

一般状態では投与に関係した変化はなかった。雄の300ppm群のみで体重増加抑制がみられ、血液学的検査では雄100ppm以上の群でMCVおよびMCHの減少、雌の300ppm群で赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少がみられた。100ppm以上の群で雌雄共に、肝臓の絶対重量または対体重比の増加がみられた。300ppm群の雄で心臓の対体重比が増加した。

病理組織学的検査の結果、10ppm以上の群の雌雄の肝臓で、投与に関連して肝細胞変性が程度および出現頻度の増加を示した。多くは小葉中心部でみられ、変性のほか肝細胞の単細胞性壊死と細胞内色素沈着および核の大小不同性の亢進を伴って増加した。雄でみられたその他の誘発肝病変は、変異細胞巣（100ppm以上の群）、胆管増生（300ppm群）であり、雌ではリンパ球と形質細胞を主体とする反応性の細胞浸潤（10ppm以上の群）と変異細胞巣（頻度は低いが10ppm以上の群）、肝細胞の脂肪変性（100ppm以上の群）であった。また肝細胞の合胞体細胞形成（雄の100ppm以上の群）、小葉中心性肝細胞肥大（雌の10および100ppm群）、副腎のセロイド/リポフスチン沈着の亢進（雄300ppm群）が認められた。その他、リンパ節のリンパ増生が10ppm以上投与雄の腸間膜リンパ節で観察された。肝細胞腫瘍である肝細胞腺腫と肝臓がんの出現頻度は雄の100および300ppm群で統計学的に有意に増加し、同腺腫が雌の両群で増加傾向を示した。大部分の腫瘍は試験終了時の剖検で発見されたものであり、直接肝細胞を標的とする誘発腫瘍ではなく、プロモーション作用によって、自然発生腫瘍の発生亢進を示した可能性が大きいと考えられた。

以上により、無毒性量は雌雄とも1ppm（雌雄ともに0.1 mg/kg/day）と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

2) ラットを用いた飼料混入投与による 24 ヶ月間慢性/発がん併合試験 (資料 A-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 系ラット [Hsd:Sprague-Dawley] (SPF)、1 群雌雄各 60 または 70 (対照および最高用量群) 匹、開始時 6 週齢、投与後 51 週目に中間用量群は雌雄各 10 匹、対照および最高用量群は雌雄各 20 匹を中間評価のために屠殺した。

投与開始時体重範囲 雄 130.3~164.0g、雌 101.7~124.7 g

投与期間: 主群 104 週間 (1992 年 3 月 31 日から 1994 年 4 月 15 日)

中間屠殺群 51 週間 (1992 年 3 月 31 日から 1993 年 4 月 8 日)

投与方法: 検体を 0、5、50、3000、5000 (雄)、7000 (雌) ppm の濃度となるよう粉末飼料に混入し、104 週にわたって自由摂取させた。試験飼料は週 1 回調製した。

[用量設定根拠]

Sprague-Dawley 系ラットを用い、1 群雌雄各 10 匹ずつに検体を 0、10、100、3500、7000、20000 ppm の投与量で 90 日間反復経口投与毒性試験を実施した (資料 A-19)。その結果、雌雄 3500 ppm 以上の群で肝の脂肪変性と小葉中心性壊死がみられた。雄 7000 ppm 以上の群で統計学的に有意な体重増加抑制がみられた。これらより、5000 ppm の濃度は、24 ヶ月間投与で腫瘍発生以外の作用で正常寿命を縮めることなく、有意な体重増加抑制を起こす最大耐量と期待された。次の 3000 ppm は期待される最大耐量の約半分の濃度、50 ppm は最小または無毒性量、最小濃度 5 ppm は無影響量を期待された。2 低用量はヒトへの暴露推察量をもとにして設定した。

試験項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日 2 回観察した。

試験終了時の生存率(%)を下表に示す。

生存率(%)

投与週	投与量(ppm)									
	雄					雌				
	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
0~104	30	42	34	61	69	61	62	51	54	50

生存率は Kaplan-Meier の修正生存率

雄 3000ppm 群で検体投与に関連した生存率の増加がみられ、また雌では投与に関連した生存率の減少傾向がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

一般状態については、雄 5000ppm 群での下痢と雌 3000 および 7000ppm 群における蒼白の頻度が対照群と比較して統計学的に有意に増加し、3000ppm 群雄の腰部腫脹および 5000ppm 群雄の鼻孔からの分泌物、脱水症、低体温および蒼白が統計学的に有意に低値であった。

眼科学的検査；すべてのラットについて、試験前と 12 ヶ月目中間屠殺時に、24 ヶ月目には対照および最高用量群動物について実施した。すべての所見は偶発的で投与に関連しないものと考えられた。

体重変化；体重を 13 週目までは毎週 1 回、その後は 2 週に 1 回測定した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次表に示す。

体 重

性別	雄				雌				
	投与量(ppm)	5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
投与期間(週)	5			▽94	▽92				
	6			▽93	▽90			↓96	
	7			▽92	▽88			▽96	
	8			▽90	▽87			↓96	
	9			▽90	▽88				
	10			▽89	▽86				
	11			▽87	▽85				
	12			▽87	▽84			↓96	
	13			▽88	▽85				
	15			▽87	▽85			↓97	
	17			▽88	▽85				
	19			▽88	▽85				
	21			▽87	▽84				
	23			▽88	▽85				
	25			▽87	▽84			↓96	
	27			▽87	▽84				
	28							↓96	
	29			▽86	▽84				
	31			▽86	▽84				
	33			▽86	▽83				
	35			▽85	▽83				
	37			▽86	▽84				
	39			▽85	▽83				
	41			▽85	▽83				
	43			▽86	▽84				
	45			▽85	▽83				
	47			▽85	▽84				
	49			▽85	▽83				
51			▽85	▽83					
53			▽86	▽83					
55			▽86	▽84					
57			▽87	▽84					

Dunnett's Ttest ↓:  $p \leq 0.05$ 、▽:  $p \leq 0.01$

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

体 重 (続き)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
投 与 期 間 (週)	59			▽86	▽84				
	61			▽87	▽84				
	63			▽87	▽84				
	65			▽87	▽84				
	67			▽88	▽85				
	69			▽88	▽85				
	71			▽89	▽86				
	73			▽90	▽87				
	75			▽90	▽88				
	77			▽91	▽88				
	79			▽89	▽88				
	81			▽90	▽88				
	83			▽91	▽89				
	85			▽93	▽89				
	87			▽93	▽89				
	89			↓94	▽90				
	91				▽92				
	93			↓94	▽90				
95				▽88					
96			↓95	▽91					
98				▽93					
100			↓93	↓92					
102				↓92					

Dunnett's Ttest ↓:  $p \leq 0.05$ , ▽:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

3000 および 5000 ppm 群の雄では投与期間を通じて体重が対照群より低く推移し、ほとんどの測定日において統計学的有意差が認められた。これらは検体投与の影響と考えられた。3000 ppm 群雌で投与 28 週までに散発的に体重が対照群より統計学的に有意に低値を示したが、7000 ppm 群では認められず、また、一時的なものであったので検体投与の影響ではないと考えられた。

累積体重増加量において対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次頁からの表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

累積体重増加量

性別	雄				雌				
	投与量(ppm)	5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
投与期間(週)	1				△107				
	2			↓96	↓96				
	3			▽85	▽81				
	4			▽84	▽79				
	5			▽82	▽76				
	6			▽79	▽75			↓92	
	7			▽80	▽76			▽92	
	8								
	9			▽76	▽73				
	10			▽76	▽72				
	11			▽78	▽73				
	12			▽78	▽73			↓93	
	13			▽79	▽73				
	15			▽79	▽74				
	17			▽78	▽74				
	19			▽80	▽75				
	21			▽79	▽75				
	23			▽79	▽75				
	25			▽78	▽74				
	27			▽78	▽75				
	29			▽78	▽74				
	31			▽78	▽74				
	33			▽78	▽75				
	35			▽78	▽74				
	37			▽77	▽74				
	39			▽78	▽75				
	41			▽79	▽75				
	43			▽78	▽76				
	45			▽78	▽75				
	47			▽78	▽76		△109		
	49			▽78	▽75				
	51			▽78	▽75				
	53			▽79	▽75				
55			▽79	▽76					
57			▽81	▽77					
59			▽79	▽76					
61			▽81	▽77					
63			▽81	▽77					
65			▽81	▽77					
67			▽82	▽78					
69			▽82	▽79					
71			▽83	▽80					
73			▽85	▽82					
75			▽85	▽83					
77			▽86	▽83					
79			▽84	▽82					
81			▽85	▽82					
83			▽86	▽83					

Dunnett's Ttest ↓:  $p \leq 0.05$ , △▽:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

累積体重増加量 (続き)

性 別		雄				雌			
投与量(ppm)		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
投 与 期 間 (週)	85			▽89	▽84				
	87			↓89	▽84				
	89			↓90	▽85				
	91			↓92	▽88				
	93			▽90	▽84				
	95			↓89	▽82				
	96			↓92	▽87				
	98			↓92	▽88				
	100			↓89	↓88				
	102			↓89	↓88				

Dunnett's Ttest ↓:  $p \leq 0.05$ , △▽:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

3000 および 5000 ppm 群の雄では投与 2 週目から投与期間を通じて体重増加量が対照群より低く推移し、ほとんどの測定日において統計学的有意差が認められた。これらは検体投与の影響と考えられた。3000 ppm 群雌で投与 6、7、12 週に体重増加量が対照群より統計学的に有意に低値を示したが、7000 ppm 群では認められず、また、一時的なものであったので検体投与の影響ではないと考えられた。

摂餌量および食餌効率；投与期間中 13 週目まで 1 週に 1 回、その後は 4 週に 1 回測定し、食餌効率も算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

摂餌量

性 別		雄				雌			
投与量(ppm)		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
投 与 期 間 (週)	1			△103	△103				
	3			▽90	▽87				
	4			▽94	▽89				
	5				▽89				
	6			▽91	▽88				
	7			▽94	▽89				
	8			▽94	▽90				
	9			▽91	▽90				
	10			▽93	▽87				
	11			▽93	▽88				
	12			▽91	▽86				
	13			▽93	▽88				
	17			▽91	▽88				
	21			▽92	▽88				
	25			▽90	▽88				
	29			▽89	▽89				
33			▽89	▽89					

Dunnett's Ttest △▽:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

摂餌量 (続き)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
投与期間(週)	37			▽89	▽89				
	41			▽89	▽90				
	45			▽91	▽90		△104		
	49			▽93	▽89				
	51			▽91	▽90				
	55			▽88	▽90				
	59			▽93	▽94				
	63			▽91	▽91				
	71				↓95				
	98		↓89						

Dunnett's Ttest ↓:  $p \leq 0.05$ , △▽:  $p \leq 0.01$

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

3000 および 5000 ppm 群雄では摂餌量が投与第 1 週には対照群と比較して統計学的に有意に増加したが、第 3 週から 63 週にかけて摂餌量が対照群より低く推移し、ほとんどの測定日において統計学的有意差が認められた。これらは検体投与の影響と考えられた。雌では 50 ppm 群で第 45 週に統計学的に有意な高値が認められたが、検体投与とは関係しないと判断された。

食餌効率において対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次表に示す。

食餌効率

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
投与期間(週)	2			▽91	▽86				
	3			▽52	▽34				
	4			▽82	▽71				
	5			▽73	▽63				↓78
	6			▽54	▽64				
	7							↓78	▽72
	8			▽64	▽66				
	9			▽70	▽68				▽55
	10			↓77	57				
	11	151△	214△	166△					
	17			▽72		↑187	↑181		
	21			↓74	73↓				
	25		↓82	▽65	▽74				
	29				▽59			△398	△357
	37			↓6					
49				▽39					

Dunnett's Ttest ↑ ↓:  $p \leq 0.05$ , △▽:  $p \leq 0.01$

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

3000 および 5000 ppm 群雄では食餌効率が検体投与第 2 週から 37 週にかけてほとんどの週で対照群と比べ統計学的に有意に減少し、これらは投与に関係するものと考えられた。雌においても統計学的に有意な変化が散見されたが、これらは検体投与に関連するものとは考えられなかった。

検体摂取量；投与期間中の 2 年間平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与群 (ppm)		5	50	3000	5000	7000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.2	2.1	130	219	—
	雌	0.2	2.5	154	—	368

血液学的検査；投与開始後 3, 6, 18, 24 ヶ月に各群雌雄 20 匹ずつ、12 ヶ月に各群雌雄 30 匹ずつの動物を対照として下記の項目について検査した。中間サンプリングの場合はメトファンまたはイソフルラン麻酔下、後眼窩静脈叢内より採血し、中間屠殺および最終屠殺時にはペントバルビタールナトリウム麻酔下、腹部大動脈より採血した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血小板数、網赤血球数（ヘマトクリット値 37.0%以下の場合）、プロトロンビン時間（12 および 24 ヶ月）、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）、赤血球浸透圧抵抗検査（12 ヶ月）

また、骨髓塗抹は、12 ヶ月中間屠殺時の全ラットの左大腿骨より調製し、骨髓球：赤血球比（M：E）および赤血球成熟度指数について検査した。

以下に、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目およびその対照群に対する変動率（%）を示す。

#### 血液学的検査

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
赤血球数	3			△106	△104			△104	△104
	6			△105	↑104				
	12			△110	△109				
	18			△113	△114				
ヘマトクリット値	3			▽95	▽94				
	6			▽91	▽90				
	12			▽94	▽93				
	24								↓88
ヘモグロビン量	3				▽95				
	6				▽94				
	12				▽94				

Dunnett's Ttest ↑↓ : 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 とした場合の値を示したもの。

血液学的検査 (続き)

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
MCV	3			▽91	▽90	↓98		▽95	▽96
	6			▽87	▽86			↓97	▽96
	12			▽85	▽85				
	18			▽88	▽84				
	24			▽88	▽85				
MCH	3			▽92	▽91			▽96	▽95
	6			▽92	▽90				▽96
	12			▽87	▽86				↓96
	18			▽87	▽86				
	24			▽90	▽86				▽93
MCHC	6			△106	△104				
	12			↑103	↑104		↓98	↓98	▽96
血小板数	3			△123	△124				
	6			△125	△124				△116
	12			△119	△118				
	18			↑115	△124				
好酸球	12			↓33	↓48				
	24				↓44				
プロトロンビン時間	24			↑108	↑107				
赤血球浸透圧抵抗検査	12			↓94	▽92				
骨髓検査	M:E比	12		▽94	▽95			↓96	▽95
	赤血球成熟度	12			▽71				▽66

Dunnett's Ttest    ↑↓ : 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 とした場合の値を示したもの。

雄においては、各検査時期において統計学的有意な変動は 3000 ppm 以上の群でみられ、増加を示したものは、赤血球数、MCHC および血小板数であり、減少を示したものは、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量 (5000 ppm 群)、MCV および MCH であった。好酸球は 12 ヶ月および 24 ヶ月の検査で統計学的有意に減少した。プロトロンビン時間は 24 ヶ月で僅かに増加した。また、赤血球浸透圧抵抗検査では、3000 ppm 以上の群で EC50 の減少がみられ、骨髓塗抹検査において、骨髓球 : 赤血球比 (M : E) は 3000 ppm 以上の群、赤血球成熟度指数は 5000 ppm 群において減少した。3000 ppm 以上の群で、細胞形態検査においてリンパ球細胞質の異型頻度が増加した。

雌においては、各検査時期において統計学的有意な変動は 3000 ppm 以上の群でみられ、増加を示したものは、赤血球数および血小板数 (7000 ppm 群) であり、減少を示したものはヘマトクリット値 (7000 ppm 群)、MCV および MCH であった。3 ヶ月における 5 ppm 群の MCV の有意減少は、背景データの範囲内 (投与群 : 53~55、背景データ : 52.48~55.62) にあることより毒性学的に重要でなく、12 ヶ月の 50 ppm 以上の群の MCHC の有意減少は、投与量の幅が大きいにもかかわらず、その変化は量的に小さく、また一回の検査時のみのものなので投与に関連しないと考えられた。骨髓塗抹検査において、骨髓球 : 赤血球比 (M : E) は 3000 ppm 以上の群、赤血球成熟度指数は 7000 ppm 群において減少した。3000 ppm 以上の群で、細胞形態検査においてリンパ球細胞質の異型頻度が増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

血液生化学的検査；6, 12, 18ヶ月目は眼静脈より一群雌雄各10匹ずつ、24ヶ月目は腹部大動脈より一群雌雄各10匹ずつの動物から採取した血液の血清を用い以下の項目の測定した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アルカリホスファターゼ(ALP)、ソルビトール脱水素酵素、5'ヌクレオチダーゼ、無機リン、トリグリセリド、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、コレステロール、トリグリセリド、血糖、尿素窒素、総ビリルビン、直接ビリルビン（総ビリルビンが0.4 mg/dl 以上の場合）、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(γ-GT)、カルシウム、ナトリウム、カリウム、塩素、クレアチニン、クレアチンキナーゼ

以下に、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目およびその対照群に対する変動率(%)を示す。

血液生化学的検査

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
カルシウム	12			▽93	▽93				
血糖	6			▽76	▽77				
	12			↓75	↓75				
	18	▽78	▽78	▽74	▽68				
総蛋白	6			▽94	▽92				
	12			▽93	▽90				
アルブミン	6				↓94				
	12				↓94				▽88
グロブリン	6				↓89				
	12			↓90	▽87				
総ビリルビン	6			△264	△227				
	6								↑129
コレステロール	12			▽53	▽51				
	18				▽64				
	24				▽65				
	6		▽69	▽71	▽68				
トリグリセリド	12			▽48	▽39				
	18			↓59	▽52				
	6			△225	△204				
ALP	12			△187	△171				
	18			△173	△205				
	24				△204				
	6								

Dunnett's Ttest    ↑↓ : 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とした場合の値を示したものを。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

血液生化学的検査（続き）

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
ALT	6			△173	△161			△140	△147
	12							△138	△144
	18								△172
AST	6			△152	△140				
	12								△148
	18								△202
γ-GT	6			△184	△168				
	12			△163	△147			△197	△181
	18			△194	△179				
	24			△309	△390				
ソルビトール 脱水素酵素	6			△187	△161			△181	△228
	12							↑155	△205
	18			↑281					△160
	24			↑174	△196				
5'ヌクレオ チダーゼ	6			△309	△244			△182	△203
	12			△242	△193			△152	△195
	18			△318	△364				△200
	24			△182	△276				

Dunnett's Ttest    ↑↓ : 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 とした場合の値を示したもの。

雌雄とも 3000 ppm 以上の群で変化がみられ、雄においては、投与に関連して統計学的有意に減少したものとして、カルシウム、血糖、総蛋白、アルブミン（5000 ppm 群のみ）、コレステロール、トリグリセリド、グロブリンであり、増加したものはビリルビン、ALP、ALT、AST、γ-GT、ソルビトール脱水素酵素、5'ヌクレオチダーゼであった。18 ヶ月の 5 および 50 ppm 群でみられた血糖の減少は、2 用量間が 10 倍異なるに於ては小さい差であることと、この検査時期にのみ認められた事より投与には関連しないと考えられた。また、6 ヶ月における 50 ppm 群でみられたトリグリセリドの統計学的有意減少は、その他の測定時期にはみられなかった事より投与に関連しないと考えられた。雌においては、投与に関連する統計学的有意に増加したものとして、ALT、AST（7000 ppm のみ）、γ-GT、ソルビトール脱水素酵素、5'ヌクレオチダーゼであり、減少はアルブミン（7000 ppm のみ）にみられた。6 ヶ月における 7000 ppm 群でみられたコレステロールの増加は、その他の測定時期にはみられなかった事より投与に関連しないと考えられた。

尿検査；投与開始後 3, 6, 18, 24 ヶ月には各群雌雄 10 匹ずつ、12 ヶ月には各群雌雄 10 匹ずつの動物を対照として下記の項目について検査した。

尿量、色調および透明度、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血および尿沈渣（顕微鏡検査）

以下に色調および尿沈渣以外につき、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目を示す。

尿検査

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
pH	6			▽92	▽91	↓92			
	12			▽89	▽89	↓92			
	18				↓89				
尿量	12					↓29			
比重	6					↑101			
	12					↑101			
蛋白*	3			▽	▽				
	6			▽	↓				
ケトン体*	6			△	△	↑			↑
	12			△	△				
	18			△	△				
	24								
ビリルビン*	3			△	△				△
	6			△	△			↑	△
	12			△	△				↑
	18			△	△				
	24			↑	△				
潜血*	3		↓	↓					
ウロビリノーゲン*	3			△	△			△	△
	6			△	△				↑
	12			△	△				
	18			△	△				
	24			↑	△				

↑↓ : p<0.05 △▽ : p<0.01 (pH、尿量、比重は Dunnett's-t 検定

それ以外は Dunnett's test after ranking the values)

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

\* : コンピューター処理による計算で検査値が丸められた結果、対照群または試験群の平均値が 0 となり、対照群に対する試験群の割合は算出不可能となった。

雄においては、投与に関連する統計学的有意に変化した測定項目として、3000 ppm 以上の群で pH と蛋白の減少、ケトン体、ビリルビンおよびウロビリノーゲン増加がみられた。50 および 3000 ppm 群の潜血の減少は用量と関連がなく一時的な変化であった事より投与とは関係しないと考えられた。3000 ppm 以上の群で、試験期間を通した色調変化（黄色から琥珀色）がみられた。

雌においては、投与に関連する統計学的有意に変化したものとして、3000 ppm 以上の群でビリルビンおよびウロビリノーゲン増加がみられた。pH と尿量の減少およびケトン体の僅かな変化を伴う比重の増加は、用量と関連がないことより投与に関係しないと考えられた。3000 ppm 以上の群で色調変化（黄色から琥珀色）がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

臓器重量；投与 12 ヶ月時の中間屠殺群および試験終了時の最終屠殺群の全生存動物について臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比と対脳重量比も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、胸腺、精巣（精巣上体を除く）

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目を次表に示す。

臓器重量

項目		検査時期 (週)	投与量 (ppm)							
			雄				雌			
			5	50	3000	5000	5	50	3000	7000
体重		12			▽84	▽82				
脳	対体重比	12			△116	△120				
脾臓	絶対重量	12			▽80	▽80				
	対脳重量比	12			▽82	▽81				
心臓	絶対重量	12			▽84	↓90				
	対体重比	12				↑109				
	対脳重量比	12			▽85	▽91				
肝臓	絶対重量	12			↓84	▽78				
	対体重比	12		↑110						
	対脳重量比	24			↑115					
腎臓	絶対重量	12			↓89	▽89				
	絶対重量	24				▽83				
	対体重比	12		↑109		△109				
	対脳重量比	12				↓90				
肺	絶対重量	12				↓92				
	対体重比	12			△111	△113				
	絶対重量	24							↑111	
	対脳重量比	24							↑111	
副腎	絶対重量	24				↓79				
精巣	対体重比	12			△119	△122	-	-	-	-

Dunnett's Ttest    ↑↓ : 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 とした場合の値を示したもの

雄において絶対重量が減少したものは、3000 ppm 以上または 5000 ppm 群における脾臓、肝臓、副腎、腎臓、心臓および肺であった。雄 12 ヶ月の 3000 ppm 以上の群における体重の有意減少にともない、3000 および、または 5000 ppm 群で脳、腎臓、心臓、精巣および肺の対体重比が増加した。

雄 50 ppm 群にみられた肺および腎臓の対体重比の増加は、用量相関性が認められないため、検体投与に関係しないと考えられた。

雌における変化は、用量と関連がないことより投与に関係しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

肉眼的病理検査；投与 12 ヶ月時の中間屠殺群および試験終了時の最終屠殺群の全生存動物について臓器・組織の肉眼的観察を行った。

対照群と比べ発生頻度に統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

肉眼的病理所見

検査動物	臓器	性別		雄					雌				
		投与量		0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
中間屠殺	所見\検査動物数		19	9	9	9	19	20	10	9	10	20	
	肝臓	変色	0	0	0	△4	△8	0	0	0	0	△8	
最終屠殺	所見\検査動物数		15	21	17	30	35	30	31	26	27	25	
	膵臓	変色	0	1	1	↑8	6						
		腫瘍	1	0	2	△7	△14						
	肝臓	巣状変色	4	6	4	↑18	△28						
		変色	0	0	0	13	↑21						
	腎臓	変色	2	1	1	10	↑17						
全動物	所見\検査動物数		70	60	60	60	70	70	60	60	60	70	
	被毛	汚れ	3	8	↑11	6	8						
		湿潤						5	8	5	↑11	△16	
	膵臓リンパ節	肥大	1	2	3	↑7	↑7						
		巣状変色	1	1	4	△13	△11						
	胃	巣状変色	1	5	3	3	↑7						
	肝臓	巣状変色	10	9	9	△26	△31	11	11	9	↑20	14	
		変色	0	2	0	△20	△30	0	1	0	2	△12	
	膵臓	腫瘍	2	2	3	△10	△16						
	卵巣	嚢胞						10	11	↑18	15	11	
	子宮	異常内容物						4	3	5	9	△22	

Fisher exact test ↑ : p<0.05、△ : p<0.01

表中の数値は実際の観察数。

肉眼的病理検査において、雄の 3000 および 5000 ppm 群で、膵リンパ節の変色と肥大頻度の増加とともに、膵臓の腫瘍出現頻度が統計学的有意に増加した。雄同群では、肝臓の変色と陥凹および腎臓の変色も統計学的有意に増加した。雌 7000 ppm 群では、肝臓の変色と子宮内異常物質（ほとんどの場合子宮の拡張、凝固血および綿状異物）が統計学的有意に増加した。

なお、雄の 50 ppm 群にみられた被毛の汚れおよび雌の 50 ppm 群にみられた卵巣嚢胞は用量との関係がみられないため、検体投与に関連しないと思われた。

病理組織学的検査；剖検後、以下の組織を全動物から採取した。10%中性ホルマリンまたは 2.5%緩衝グルタルアルデヒドで固定し、パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し鏡検した。

脳、脊髄、坐骨神経、眼球、脳下垂体、甲状腺、胸腺、肺、気管、心臓、膵臓、肝臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、脾臓、副腎、膀胱、雄の精巣、精囊、前立腺、精巣上体、雌の卵巣、子宮、膈、乳腺、胸骨骨髓、リンパ節（腸間膜、顎下）、大腿骨格筋、骨（脛骨）



以下の組織を検査した。

- ・ すべての対照群および最高用量群の動物から採取した全組織
- ・ すべての死亡および切迫屠殺動物から採取した全組織
- ・ すべての動物の肉眼的病変部および腫瘤
- ・ すべての動物の腎臓、肝臓、肺、乳腺および膵臓
- ・ すべての雌の子宮頸管、卵巣、子宮および膣

認められた主要な非腫瘍性病変を表 1 に、腫瘍性病変を表 2 に示す。

#### 〔非腫瘍性病変〕

雄においては、3000 および 5000 ppm 群の肝臓において、特に好酸性と混合型を中心にした変異細胞巢の出現増加と反応性細胞浸潤の出現頻度と程度の亢進、クッパー細胞における色素沈着の増加、胆管増生が観察された。また、3000 ppm 以上の群における膵臓については、腺房細胞過形成、腺房細胞萎縮、脂肪変性および細胞浸潤が統計学的有意に増加した。また、膵リンパ節において、反応性のリンパ系細胞の過形成と色素沈着が増加した。雌では 3000 ppm および 7000 ppm 群の肝臓において、反応性細胞浸潤の頻度の増加、胆管増生、肝細胞内の色素沈着やクッパー細胞色素沈着（7000 ppm 群のみ）の増加傾向が認められた。子宮における所見として、7000 ppm 群で壊死出血性細胞浸潤、3000 ppm 群で出血と細胞浸潤が増加した。認められた主要な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

#### 〔腫瘍性病変〕

雄における膵外分泌腺腺腫および島細胞腺腫の出現頻度が、0, 5, 50, 3000, 5000 ppm 群で各 1/69, 2/59, 1/60, 5/60, 7/69 および各 1/69, 3/59, 2/60, 4/60, 8/69 と、3000 ppm 以上の群において腫瘍発生頻度の増加傾向がみられた。肝臓においては、肝細胞腺腫の出現頻度が 0, 5, 50, 3000, 5000 ppm 群について各 0/70, 0/60, 0/60, 2/60, 3/70 であり、これら群に対応する肝細胞がんの出現頻度は、各 1/70, 1/60, 0/60, 1/60, 0/70 であった。肝細胞腺腫のみでは統計学的に有意な増加傾向にあったが、NCI ガイドライン推奨に沿った腺腫とがんを併せた処理では有意な増加傾向はなく、出現頻度も低かった事より、3000 および 5000 ppm 群における肝細胞腺腫は投与に関連しないものと考えられた。雌においては、対照群も含めすべての投与群に分布したいくつかのタイプの子宮腫瘍がみられたが、これら腫瘍は検体投与とは関連しないものと考えられた。その他雌雄でみられた腫瘍性病変は偶発的なものと考えられた。

観察された腫瘍性病変を表 2 に示す。

以上の結果から、本検体の 24 ヶ月間飼料混入投与によるラット慢性／発がん性試験における影響は、雌雄 3000 ppm 以上の群の肝臓にみられた。血液生化学的検査で、3000 ppm 以上の群にみられた ALP、AST、ALT、 $\gamma$ -GT およびソルビトール脱水素酵素の増加は、肝傷害を示していた。病理組織学的には、肝内胆管増生、細胞浸潤、類洞クッパー細胞の色素沈着がみられた。さらに、雄 3000 および 5000 ppm 群の肝臓では変異細胞巢が増加した。

肝内胆管増生、細胞浸潤、変異細胞巣およびクッパー細胞の色素沈着は老齢ラットの肝臓に自然発生的にも発生し、これらの変化の悪化は、肝実質細胞に対する長期にわたる障害を反映した修復または再生反応と考えられる。本試験における類洞クッパー細胞の色素沈着は、ラット繁殖性およびイヌ慢性毒性試験（資料 A-28, A-22）より、リポフスチンおよび鉄として同定された。リポフスチンは、酸化ストレスによる細胞傷害などを示す加齢性および消耗性色素であり、それはミトコンドリアおよびミクロゾーム膜への傷害を反映する。その他雄の 3000 ppm 以上の群で、膵臓病変（腺房細胞過形成と萎縮、腺房細胞周囲細胞浸潤、脂肪変性、リンパ節の色素沈着、増加と過形成）が有意に増加した。膵腺房細胞は、肝細胞と同様チトクローム P450 酵素を持っており、同様な酸化および過酸化ストレスを受けやすい。膵腺房細胞の過形成、細胞浸潤および脂肪変性の増加は、酸化ストレスによる細胞傷害の後、修復性の結節性過形成が起こったものと考えられた。また、雌の 3000 ppm 群で子宮の出血と細胞浸潤、7000 ppm 群で子宮の壊死、出血性細胞浸潤が増加した。試験で用いた系統のラットは、一般的に子宮内膜腺の扁平上皮化と管腔内角化亢進を伴い、繁殖周期における発情期の異常な長期化を示すことが知られている。このような子宮では壁の厚さが薄くなり、浮腫や巣状潰瘍と出血を伴う充血を示すことから、検体の大量投与により自然発生的なホルモンアンバランスを間接的に助長した事が推察された [申請者註]。

腫瘍性病変としては、雄の 3000 ppm 以上の群で、膵臓外分泌腺細胞と島細胞の腺腫が増加傾向を示した。両タイプ腫瘍の発生頻度は試験終了時付近においてのみ増加したことより、検体が直接膵臓に作用して腫瘍を誘発したとは考えにくい。島細胞腺腫は、雄ラット膵に最もよく発現する腫瘍であり、加齢とともにその頻度が増加する。雄の 3000 ppm 以上の群では生存率が対照群に比較して高く、この老化によって腫瘍発生頻度を高めたことによるものと考えられた。膵外分泌腺細胞腺腫については、上記膵臓の結節性腺房細胞の過形成と同様、長期にわたる膵臓毒性に対する修復および再生性増殖反応であると考えられた。すなわち、腺房細胞に対して細胞浸潤や修復を起こさせるようなメディエーターの作用を通じて（実質細胞萎縮、脂肪変性および細胞浸潤により示されている）自然発生的にイニシエートされた増殖巣の成長やプログレッションを高め、その結果として高用量群において再生/修復的な過形成結節の頻度と程度が増加したと考えられた。細胞浸潤や修復に関連するメディエーターは、再生性結節をプロモートすることがよく知られている。従って、検体には直接的な発がん作用はなく、閾値が存在するものと考えられた。

#### [申請者註]

本試験において、子宮内膜腺の扁平上皮化と管腔内角化亢進といった所見の頻度は、対照群と比較して投与群で増加しなかった。また、卵巣についても Follicular phase、Proliferation、interstitial luteal cell といった加齢性変化はみられているが、その発生頻度には対照群と投薬群間に差はなかった。よって、本剤の大量投与による全身性負荷が加齢を促進した可能性はあっても、性ホルモンアンバランスを助長したとは必ずしも言えないと考えられた。

一方、検体が性ホルモン様物質として生体に作用したかどうかという観点で、あらためて卵巣および子宮病理所見をみると、卵巣では加齢性病変以外目立った所見はなく、子宮についても内膜増殖等の所見はみられなかった。また、検体は催奇形性および繁殖試験において、何ら発生、繁殖への悪影響を起こさなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

これらより、本剤が性ホルモン様内分泌攪乱物質として作用したとは考えられなかった。  
以上、総合的に考察し、子宮で認められた出血性壊死所見に対しては、ホルモン異常の関与の可能性は極めて少ないものと考えられた。

## 結論

フルチアセットメチルを飼料混入して SD 系ラットに 2 年間投与した結果；

- ・ 雄 3000 ppm 群で検体投与に関連した生存率の増加がみられ、また雌では投与に関連した生存率の減少傾向がみられた。
- ・ 雄 5000 ppm 群での下痢と、雌 3000 および 7000 ppm 群における蒼白の頻度が、対照群と比較して統計学的に有意に増加した。
- ・ 雄 3000 ppm 以上の群で有意な体重減少と累積体重増加量の抑制がみられた。これは最大耐量を越えていた。
- ・ 摂餌量および食餌効率は雄 3000 ppm 以上の群で減少していた。
- ・ 雌雄の 3000 ppm 以上の群で、血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査のパラメーターに影響がみられた。
- ・ 雄 3000 ppm 以上または 5000 ppm 群における脾臓、肝臓、副腎、腎臓、心臓および肺で絶対重量が減少した。雄 12 ヶ月の 3000 ppm 以上の群における体重の有意減少にともない、3000 および、または 5000 ppm 群で脳、腎臓、心臓、精巣および肺の対体重比が増加した。
- ・ 雄の 3000 および 5000 ppm 群で、腭リンパ節の変色と肥大頻度の増加とともに、腭臓の腫瘍出現頻度が統計学的有意に増加した。雄同群では、肝臓の変色と陥凹および腎臓の変色も統計学的有意に増加した。雌 7000 ppm 群では、肝臓の変色と子宮内異常物質が統計学的有意に増加した。
- ・ 雌 7000 ppm 群では子宮壊死性出血細胞浸潤、3000 ppm 群では子宮の出血と細胞浸潤の頻度、程度が増加した。
- ・ 雌 3000、およびまたは 7000 ppm 群、雄 3000 ppm 以上の群で肝の胆管増生、細胞浸潤およびクッパー細胞の色素沈着の頻度、程度が増加した。
- ・ 雄 3000 ppm 以上の群で、腭臓の腺房細胞の萎縮、細胞浸潤、脂肪変性および腺房細胞の過形成の頻度、程度が増加した。
- ・ 雄 3000 ppm 以上の群で、色素沈着の見られる肥厚した腭リンパ節の頻度が増加した。
- ・ 雄 3000 ppm 以上の群で、腭外分泌腺の腺種および島細胞腺種は増加傾向を示した。

本試験においては、50 ppm 以下の用量では雌雄とも検体投与による影響はみられなかった。従って、無毒性量は雌雄とも 50 ppm (雄 ; 2.1 mg/kg/day、雌 ; 2.5 mg/kg/day) と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

申請者注：ラットを用いた飼料混入投与による2年間慢性毒性/発がん併合試験の再評価

フルチアセットメチルの24ヶ月間飼料混入投与によるラット慢性/発がん併合試験の結果、雄の3000 ppm以上の群で体重増加抑制がみられた。血液学的検査では、変化は主に雄の3000 ppm以上の群でみられ、増加を示したものは赤血球数、MCHCおよび血小板数であり、減少を示したものは、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量(5000 ppm群)、MCVおよびMCHであった。血液生化学的検査では、雌雄とも3000 ppm以上の群で変化がみられ、ALP、AST、ALT、 $\gamma$ -GT、ソルビトール脱水素酵素、5'ヌクレオチダーゼの増加は肝傷害を示していると考えられた。病理組織学的には、肝臓を中心に再鏡検した結果、元の報告書での記述のように、非腫瘍性病変として雄においては3000および5000 ppm群で肝臓の好酸性または混合型を中心にした変異細胞巣の出現増加、反応性細胞浸潤の出現頻度と程度の亢進、クッパー細胞における色素沈着の増加、胆管増生が観察された。雌では3000および7000 ppm群の肝臓において、反応性細胞浸潤の頻度の増加、胆管増生、肝細胞内の色素沈着やクッパー細胞色素沈着の増加傾向が認められた。また、雄3000 ppm以上の群における膵臓については、腺房細胞過形成、腺房細胞萎縮、脂肪変性および細胞浸潤が統計学的有意に増加した。子宮における所見として、7000 ppm群で壊死出血性細胞浸潤、3000 ppm群で出血と細胞浸潤が増加したが、子宮、卵巣を再検査した結果、卵巣には検体に起因する変化は観察されなかった。子宮においては壊死出血性細胞浸潤所見の程度4のものが対照群にもみられていること、また、90日間のラット試験では内分泌系への影響を示唆する所見はみられなかったことなどより、加齢と大量投与による全身負荷による間接的な影響で、子宮における所見数が増加したものと考えられ、子宮は一次的な標的臓器ではないと判断された。腫瘍性病変のうち、肝臓においては上述のように肝変異細胞巣出現の増加が雄の3000および5000 ppm群で認められた。しかし、肝細胞がんの発生増加はなく、ただ同腺腫のみが両群に2および3例と統計学的に有意差のない少数例の発生を示した。肝細胞腺腫は投与に関連しない偶発所見と考えられた。また、雄における膵外分泌細胞腺腫および島細胞腺腫の出現頻度が3000 ppm以上の群において増加傾向がみられた。このうち島細胞腺腫については自然発生率の範囲内と判断された。膵外分泌細胞腺腫については、結節性腺房細胞の過形成と同様に、慢性の膵傷害に対する修復および再生性増殖反応の結果、自然発生的な増殖巣や腫瘍形成の亢進を示したものと推察され、検体は一次発がん物質ではないものと考えられた。本試験成績の再検討の結果、元の報告書と評価上の変更はなく、無毒性量は雌雄とも50 ppm(雄; 2.1, 雌; 2.5 mg/kg/day)と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1. 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000	
死亡・切迫殺	腎臓	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	25	
		尿細管色素沈着、皮質	27	19	21	2	9	1	4	9	10	4	
		嚢胞	15	18	↑22	4	4					2	
		腎盂上皮増生	1				1	6	5	1	4	3	
		鉍質化	3	1	9	3	1						
		慢性腎症	36	29	34	18	16	11	8	11	8	14	
		腎盂拡張	7	6	6	2		1	1	1	1		
		鉍質化、腎盂						1	3	3	1	1	
	肝臓	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	26	
		変性/壊死、小葉中心性	3	3	1		2	2	2	5	5	8	
		脂肪変性	2	1		2	2	1	1	1	1	1	
		単細胞壊死	1	1	3			1		1	1	1	
		うっ血	4	3	1	3	2	3	2	2	3	4	
		線維化	1	2	3	1							
		変異細胞巣	4	3	1	7	3			1	1		
		髓外造血	1					8	4	9	8	15	
		胆管増生	17	19	22	↑18	↑16	6	9	8	↑16	↑17	
		細胞肥大						2	1		1	1	
		細胞浸潤	計	13	9	8	16	15	3	8	10	14	7
		グレート	±	10	7	4	7	4	3	6	7	8	5
			1	3	2	4	6	10	3	1	2	8	2
			2				3	1		1	1		
			3										
			類洞内白血球増多	2					5	7	7	7	14
			色素沈着、クッパー細胞	1			2	2	1	3	5	↑12	↑17
		色素沈着、細胞質内						1	1		4	1	
	リンパ節	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	26	
		うっ血	8	2	8	4		4	5	5	2	5	
		反応性増生	11	3	8	1	4	9	8	8	7	9	
		動脈内膜鉍質沈着	9	1	3	2							
		反応性増生、傍脾臓リンパ節	1		1	1	1						
		色素沈着、傍脾臓リンパ節					1						
		色素沈着	1		2	1		2	1		1	2	
	脾臓	所見\検査動物数	35	29	34	20	15	20	19	24	20	25	
		腺房萎縮	7	9	16	8	8	3	3	2	6	6	
		腺房過形成	2	6	2	4	2						
		脂肪変性	4	9	5	6	↑7	3	3	2	5	6	
		細胞浸潤	7	12	14	9	9	2	3		3	4	
		島細胞過形成	7	2	2	4	1	1		1	1	1	
		動脈内膜鉍質沈着	1	3	↑12	1							
		色素沈着	3	2	7		1						
	結節性動脈炎	6	↑15	↑19	4	4	1		1				

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定(申請者検定) ↑: p<0.05

表中の数値は実際の観察数。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000	
死亡・切迫殺	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	20	19	25	19	24	
		拡張						6	5	7	5	8	
		角化亢進						6	5	8	10	9	
		子宮内膜嚢胞状増生						6	8	11	3	6	
		細胞浸潤							1	2	4	1	
		出血性壊死を伴う細胞浸潤						2	3	3	3	↑11	
		扁平上皮化生						9	15	13	11	17	
52週計画屠殺	腎臓	所見\検査動物数	19	9	9	10	19	20	10	9	10	19	
		尿細管色素沈着、皮質	6	3	5	2		2				1	
		腎盂上皮増生	2					1	1				
		慢性腎症	19	9	9	10	18	18	8	5	5	15	
		鉍質沈着、腎盂色素沈着	9			1	12	1	1			3	
		所見\検査動物数	19	9	9	10	19	20	10	9	10	19	
	肝臓	うっ血								1		5	
		脂肪変性				↑3	1					2	
		単細胞壊死	1										
		変異細胞巣				2							
		髄外造血						1			2		
		胆管増生	6	3	5	↑10	↑19	7	8	5	↑10	↑19	
		細胞浸潤	計	15	4		10	19	5	6	2	↑10	↑9
		グレート	±	14	4		1	8	4	6	2	7	6
			1			7	11	1			3	3	
			2			2							
		類洞内白血球増多						2			1	↑7	
	小肉芽腫	2		1			4			1	2		
	色素沈着、クッパー細胞	4			↑10	↑19	6	2	2	↑7	↑18		
	色素沈着、細胞質内							1		1	3		
	リンパ節	所見\検査動物数	19	1	2	4	19	20	1	2	3	19	
		うっ血		1		1	2	1		1		1	
		リンパ拡張	2										
		反応性増生	2					2		1	2	1	
		反応性増生、傍腺臓リンパ節				1	4						
		色素沈着、傍腺臓リンパ節			1	3	↑4						
		色素沈着	2		1		2	1					

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定 (申請者検定)  $\uparrow$ :  $p < 0.05$

表中の数値は実際の観察数。

表1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000	
中間屠殺	膵臓	所見\検査動物数	19	9	9	10	19	20	10	9	10	19	
		腺房萎縮	6	1	2	3	6	1	1	1	2	5	
		腺房過形成					1						
		脂肪変性	1		3	4	3	1	1	1	2	7	
		細胞浸潤	7	2	3	3	5		1			1	
		島細胞過形成	5	1	1		2			1			
		色素沈着	5	1	2		1						
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	20	10	9	10	19	
		拡張						5		2	4	5	
		角化亢進						16	2	3	3	10	
		子宮内膜嚢胞状過形成						14	5	4	2	11	
		細胞浸潤						1			3	3	
		出血性壊死を伴う細胞浸潤						2			2	5	
		扁平上皮化生						18	6	7	8	17	
104週最終屠殺	腎臓	所見\検査動物数	15	21	17	30	35	30	31	26	27	25	
		尿細管色素沈着、皮質	14	13	9	19	27	12	4		3	13	
		嚢胞	11	12	13	10	10	2	1	1	1		
		腎盂上皮増生		2	1	2	1	8	5	4	6	5	
		慢性腎症	15	21	17	30	35	28	25	22	23	20	
		腎盂拡張		2	4	4						1	
		鈣質沈着、腎盂						5	4	2	1	3	
	肝臓	所見\検査動物数	15	21	17	30	35	30	31	26	27	25	
		変性/壊死、小葉中心性						1					
		うっ血	1	4		2	↑12	6	7	4	↑16	4	
		脂肪変性	1	3	2	7	6	1	4	2		1	
		単細胞壊死	1	1			2		1			1	
		線維化		1	1	1							
		変異細胞巢	8	8	10	↑21	↑26	6	3	3	1	4	
		髓外造血						3	1	1	3	1	
		胆管増生	13	17	16	29	35	27	26	21	27	25	
		細胞浸潤 プレート	計	11	18	10	29	32	12	21	16	↑24	↑22
			±	5	11	5	2	7	10	17	14	12	16
			1	5	5	3	23	21	2	2	2	11	6
			2	1	2	2	4	4		1		1	
			3							1			
類洞内白血球増多						1			2	5			
色素沈着、クッパー細胞	3	3	6	↑25	↑31	19	13	13	15	21			
色素沈着、細胞質内						2	2	1	5	↑9			

累積  $\chi^2$  および  $\chi^2$  検定 (申請者検定) ↑:  $p < 0.05$

表中の数値は実際の観察数。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
104週最終屠殺	リンパ節	所見\検査動物数	15	7	5	14	35	30	23	17	21	25
		うっ血	3	3	3	5	5	6	3	6	5	8
		リンパ拡張				1	4					
		反応性増生	1	1	1	4	3	2	2	4	↑11	3
		うっ血、傍膵臓リンパ節				1	3					
		反応性増生、傍膵臓リンパ節				3	3					
		色素沈着、傍膵臓リンパ節				6	6					
		色素沈着		2		3	1	2	1	2	2	1
	膵臓	所見\検査動物数	15	21	17	30	35	30	31	26	27	25
		腺房萎縮	8	9	12	↑25	26	12	9	4	4	11
		腺房過形成	1	1	6	↑12	↑13					
		脂肪変性	4	5	5	↑21	↑27	9	11	4	4	9
		細胞浸潤	8	9	10	22	24	2	7	1	2	5
		島細胞過形成	4	3	3	5	10	5	2	5	4	3
		色素沈着	1	2	5	4	1					
		結節性動脈炎	3	5	8	7	3				1	
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	30	31	26	27	25
		拡張						2	11	9	8	7
		出血									1	1
		角化亢進						20	11	10	10	14
		子宮内膜嚢胞状増生						25	25	13	10	15
		細胞浸潤						1	2	1	1	2
		出血性壊死を伴う細胞浸潤						1		1	2	↑7
		扁平上皮化生						26	27	19	18	22

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定 (申請者検定) ↑:  $p<0.05$ 、△:  $p<0.01$

表中の数値は実際の観察数。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000	
全動物	腎臓	所見\検査動物数	70	60	60	60	70	70	60	60	60	69	
		尿細管色素沈着	15	8	9	13	18	47	35	35	23	36	
		嚢胞	2	1	2	2	2	26	30	36	14	14	
		腎盂上皮増生	15	11	5	10	8	3	2	1	2	2	
		鉍質沈着						4	1	9	3	2	
		慢性腎炎	57	41	38	36	49	70	59	60	58	69	
		腎盂拡張	1	1	1	2	1	7	8	10	6		
		鉍質沈着、腎盂				1		7	8	5	2	7	
		色素沈着	9	2		2	12						
	肝臓	所見\検査動物数	70	60	60	60	70	70	60	60	60	70	
		変性/壊死、小葉中心性	3	3	1		2	3	2	5	5	8	
		脂肪変性	3	4	2	△12	9	2	5	3	1	4	
		うっ血	5	7	1	5	14	9	9	7	△19	13	
		単細胞壊死	3	2	3		2	1	1	1	1	2	
		線維化		1	1	1							
		変異細胞巢	12	11	11	△30	△29	6	3	4	2	4	
		髓外造血	1					12	5	10	13	16	
		胆管増生	36	39	43	△57	△70	40	43	34	△53	△61	
		細胞肥大						2	1		1	1	
		細胞浸潤 グレート	計	39	31	18	△55	△66	20	△35	28	△48	△38
			±	29	22	9	10	19	17	30	23	27	28
			1	9	7	7	36	42	3	3	4	20	10
			2	1	2	2	9	5		1	1	1	
		3							1				
		類洞内白血球増多	2					8	7	7	10	△26	
		小肉芽腫	4		1		1	8	1	1	2	4	
		色素沈着、クッパー細胞	12	8	10	△47	△63	26	18	20	34	△56	
	色素沈着、細胞質内						3	4	1	10	△13		
	リンパ節	所見\検査動物数	70	38	41	38	70	70	43	44	47	70	
		うっ血	11	6	11	10	7	11	8	12	7	14	
		反応性増生	14	4	9	5	7						
		動脈内膜鉍質沈着	9	1	3	2							
		うっ血、傍脾臓リンパ節	1		1	2	3						
反応性増生、傍脾臓リンパ節		1		1	↑5	↑8	13	10	13	20	13		
色素沈着、傍脾臓リンパ節		1		1	△11	△11							
色素沈着		5	2	3	4	3	5	2	2	3	3		

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定 (申請者検定) ↑:  $p<0.05$ 、△:  $p<0.01$

表中の数値は実際の観察数。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
全動物	膵臓	所見\検査動物数	69	59	60	60	69	70	60	59	57	69
		腺房萎縮	21	19	30	↑34	↑40	16	13	7	12	22
		腺房過形成	3	7	8	△16	△16					
		脂肪変性	9	14	13	△31	△37	13	15	7	11	22
		細胞浸潤	22	23	27	↑34	↑38	4	11	1	5	10
		島細胞過形成	16	6	6	9	13	6	2	7	5	4
		動脈内膜鈣質化	1	3	12	1						
		色素沈着	9	5	14	4	3					
		結節性動脈炎	9	20	27	11	7	1		1	1	
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	70	60	60	60	70
		拡張						13	16	18	17	20
		出血									↑3	1
		角化亢進						42	18	21	23	33
		子宮内膜嚢胞状増生						45	38	28	15	33
		細胞浸潤						2	3	3	↑8	6
		出血性壊死を伴う細胞浸潤						5	3	4	7	△23
		扁平上皮化生						53	48	39	37	56

累積  $\chi^2$  および  $\chi^2$  検定 (申請者検定) ↑:  $p < 0.05$ 、△:  $p < 0.01$

表中の数値は実際の観察数。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表2. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
死亡・切迫殺	腹腔	所見\検査動物数						1	1	1		1
		間質細胞肉腫 (M)							1			
	副腎	所見\検査動物数	36	30	33	20	16	20	19	25	23	26
		皮質腺癌 (M)						2				1
		皮質腺腫 (B)	2		2				1			1
		褐色細胞腫 (B)	11	5	9	3	6					2
		褐色細胞腫 (M)	3	1	1	1	1					
	骨髄 (胸骨)	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	25
		リンパ腫 (M)							1	2		1
		白血病 (M)	1		1	1			1	1		
	骨 (胸骨)	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	26
		血管肉腫 (M)					1					
	骨 (その他)	所見\検査動物数	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
		軟骨肉腫 (M)	1									
	脳	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	26
		神経膠腫 (M)				1						
		星細胞腫 (M)	1	2	1							
		髄膜腫 (M)								1		
	子宮 頸管	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	20	19	25	23	26
		ポリープ (B)						1				
	眼	所見\検査動物数	35	28	34	19	15	18	19	25	21	23
		毛様体肉腫 (M)		1								
	ハーダー 腺	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	26
		線維肉腫 (M)					1					
	心臓	所見\検査動物数										
		神経鞘腫 (M)								1		
	空腸	所見\検査動物数	24	22	23	11	10	16	13	15	5	10
		腺癌 (M)									1	
		粘液性腺癌 (M)					1					
		平滑筋腫 (M)			1							
	腎臓	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	25
		皮質腺腫 (B)						1				
		腎芽腫 (M)						1		1		2
	肝臓	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	25
		肝細胞癌 (M)	1									
	リンパ節	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	25
		組織球肉腫 (M)				1						
	乳腺	所見\検査動物数	34	30	34	20	15	20	19	25	23	26
		腺癌 (M)						1	2	1	5	3
		線維腺腫 (B)	4	2		1		12	9	16	11	13
		線維肉腫 (M)			1				1			
	筋肉 (その他)	所見\検査動物数	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
組織球肉腫 (M)			1									
脂肪肉腫 (M)				1								
口腔	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	腺癌 (M)										1	

累積  $\chi^2$  および  $\chi^2$  検定 (申請者検定)  $\uparrow$ :  $p < 0.05$ 、 $\Delta$ :  $p < 0.01$

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
死亡・切迫殺	卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	20	19	25	22	26
		顆粒膜/莢膜細胞腫 (M)							1			
		血管肉腫 (M)									1	
	膵臓	所見\検査動物数	35	29	34	20	15	20	19	24	20	25
		外分泌腺腫 (B)		2		↑						
		島細胞腺腫 (B)	1	1		1	2				1	
	下垂体	所見\検査動物数	36	30	34	19	16	20	19	25	23	26
		腺癌 (M)		1	1			1	1			1
		前葉腺腫 (B)	1	3	2	5	2	4	3	4	3	2
	包皮腺	中葉腺腫 (B)						1				
		所見\検査動物数	12	4	5	2	1	-	-	-	-	-
	皮膚	扁平上皮細胞癌 (M)	1									
		所見\検査動物数	35	30	34	20	16	19	19	24	23	26
		神経線維肉腫 (M)						1				
		基底細胞腫 (B)		2								
		線維腫 (B)	1		2		1					
		角化棘細胞腫 (B)	1	4	5	3	1					
		脂肪腫 (B)	1			1						
		骨腫 (B)	1									
		線維肉腫 (M)	2	1	1			1	1	1	1	1
		血管肉腫 (M)					1					
		毛嚢上皮腫 (B)			1						1	
	外耳道腺腫瘍 (M)								1			
	脊椎	所見\検査動物数	36	29	34	20	16	20	19	25	23	26
		軟骨肉腫 (M)	1									
		神経鞘腫 (M)								1		
	脾臓	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	20	19	25	23	26
		血管腫 (B)		1								
		白血病 (M)	1	1								
		リンパ腫 (M)		1				1	1			
胃	所見\検査動物数	35	28	34	20	15	20	17	25	23	26	
	扁平上皮乳頭腫 (B)	1										
精巣	所見\検査動物数	36	30	34	20	16	-	-	-	-	-	
	間質細胞腫 (B)			1		1						
	中皮腫 (M)	2										
胸腺	所見\検査動物数	36	27	30	16	14	18	19	24	23	25	
	リンパ腫			1				1				
甲状腺	所見\検査動物数	36	29	34	19	15	20	19	25	21	25	
	傍濾胞細胞腺癌 (M)	1						2			1	
	傍濾胞細胞腺腫 (B)	6	3	1	2	2	2	3	2	2	2	
子宮	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	20	19	25	19	26	
	腺癌									2		
	扁平上皮乳頭腫										2	
	ポリープ						2	2	1	1	2	
	間質細胞肉腫								1			

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定 (申請者検定) ↑: p<0.05、△: p<0.01

膵臓腫瘍については Fisher の直接確率検定法 (片側検定) を実施 ↑: p<0.05

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

表2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
52週計画屠殺	副腎	所見\検査動物数	19	0	0	0	19	20	0	0	0	19
		褐色細胞腫 (M)	1									
	子宮頸管	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	20	10	9	10	19
		ポリープ (B)									1	
	乳腺	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	20	10	9	10	19
		線維腺腫 (B)						4	1	2	2	1
	筋肉(その他)	所見\検査動物数	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)		1								
甲状腺	所見\検査動物数	19	0	0	0	19	20	0	0	0	19	
	傍濾胞細胞腺腫 (B)	1										
104週最終屠殺	副腎	所見\検査動物数	15	8	4	3	35	30	2	2	5	25
		皮質腺腫 (B)	1				1	2			1	
		褐色細胞腫 (B)	6	3			9	2	1			
		褐色細胞腫 (M)	1	2	4	1					1	
	脳	所見\検査動物数	15	0	2	2	35	30	8	9	4	25
		星細胞腫 (M)	1									
		髄膜腫 (M)			1							
		顆粒細胞腫 (M)					1					
	子宮頸管	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	30	31	26	27	25
		ポリープ (B)						1			2	
	心臓	所見\検査動物数	15	0	0	0	35	30	0	0	0	25
		神経鞘腫						1				
	空腸	所見\検査動物数	15	2	0	0	35	30	1	0	0	25
		腺癌 (M)					1					
		平滑筋腫 (B)							1			
		平滑筋肉腫 (M)		1								
	腎臓	所見\検査動物数	15	21	17	30	35	30	31	26	27	25
		脂肪腫 (B)						1				
	肝臓	所見\検査動物数	15	21	17	30	35	30	31	26	27	25
		肝細胞腺腫 (B)				2	3	1				
		肝細胞癌 (M)		1		1		1				
	肺	所見\検査動物数	15	21	17	30	35	30	31	26	27	25
		腺癌 (M)					1					
	リンパ節	所見\検査動物数	15	7	5	14	35	30	23	17	21	25
リンパ腫 (M)										1		
乳腺	所見\検査動物数	15	17	16	25	35	30	31	26	27	25	
	腺癌 (M)						3	3	4	4	2	
	線維腺腫 (B)	1					15	18	12	18	11	
	線維腫 (B)	1										
脾臓	所見\検査動物数	15	21	17	30	35	30	31	26	27	25	
	外分泌腺腫 (B)	1@		1	2	7						
	島細胞腺癌 (M)	1			1							
	島細胞腺腫 (B)		2	2	3	6			2	1		

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定(申請者検定) ↑:  $p < 0.05$ 、△:  $p < 0.01$

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

@ Cochran-Armitageの傾向検定を実施 @ $< 0.05$

表2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
104週最終屠殺	下垂体	所見\検査動物数	15	2	3	5	35	30	13	17	15	25
		腺癌 (M)				1	1			1		
		前葉腺腫 (B)	5	1	2	2	6	13	10	11	7	6
		後葉腺腫 (B)							1			
	前立腺	所見\検査動物数	15	1	0	3	35	—	—	—	—	—
		組織球肉腫 (M)				1						
	皮膚	所見\検査動物数	15	8	6	7	35	30	2	1	1	25
		基底細胞腫 (B)	3		1	1		1				
		基底細胞癌 (M)	1									
		扁平上皮癌 (M)					1					
		線維腫 (B)		1	2		2		1			
		角化棘細胞腫 (B)	1	2	1	1	2					
		扁平上皮乳頭腫 (B)		1	1							
		線維肉腫 (M)		1								1
		血管肉腫 (M)					1					
	脾臓	所見\検査動物数	15	1	1	2	35	30	1	0	6	25
		血管肉腫 (M)		1								
		白血病 (M)									1	
		リンパ腫 (M)									1	
	精巣	所見\検査動物数	15	4	3	2	35	—	—	—	—	—
		間質細胞腫 (B)					1					
		中皮腫 (M)		1								
	胸腺	所見\検査動物数	15	0	2	0	35	30	0	0	1	25
		リンパ腫 (M)			1							
	甲状腺	所見\検査動物数	15	3	1	1	35	30	3	1	2	25
		傍濾胞細胞腺癌 (M)	2	1	1			3	2	1	2	1
		傍濾胞細胞腺腫 (B)	1	2		1	9	14	1			15
	子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	30	31	26	27	25
		乳頭腫様嚢胞腺腫 (B)						1				
		扁平上皮乳頭腫 (B)						1				
ポリープ (B)							1	3		3	1	
血管肉腫 (M)											2	
膣	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	30	31	26	27	25	
	ポリープ (B)						1					

累積  $\chi^2$  および  $\chi^2$  検定 (申請者検定)  $\uparrow$ :  $p < 0.05$ 、 $\Delta$ :  $p < 0.01$

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

表2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
全動物	腹腔	所見\検査動物数	0	0	1	0	0	3	1	1	3	1
		間質細胞肉腫 (M)							1			
	副腎	所見\検査動物数	70	38	37	23	70	70	21	27	28	70
		皮質腺癌 (M)						2				
		皮質腺腫 (B)	3		2		1	2	1		1	1
		褐色細胞腫 (B)	17	8	9	3	15	2	1			2
		褐色細胞腫 (M)	5	3	5	2	1				1	
	骨髄 (胸骨)	所見\検査動物数	70	30	34	20	70	70	19	25	23	69
		リンパ腫 (M)							1	2		
		白血病 (M)	1		1	1			1	1		
	骨(胸骨)	所見\検査動物数	70	30	34	20	70	70	19	25	23	70
		血管肉腫 (M)					1					
	骨 (その他)	所見\検査動物数	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
		軟骨肉腫 (M)	1									
	脳	所見\検査動物数	70	30	36	22	70	70	27	34	27	70
		神経膠腫 (M)				1						
		星細胞腫 (M)	2	2	1							
		髄膜腫 (M)			1					1		
		顆粒細胞腫瘍 (M)					1					
	子宮頸管	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	70	60	60	60	70
		ポリープ (B)						2			3	
	眼	所見\検査動物数	69	31	40	29	69	68	20	26	21	67
		毛様体肉腫 (M)		1								
	ハーダー腺	所見\検査動物数	70	30	34	20	70	70	19	25	23	70
		線維肉腫 (M)					1					
	心臓	所見\検査動物数	70	30	34	20	70	70	19	25	23	70
		神経鞘腫 (M)						1		1		
	空腸	所見\検査動物数	57	24	23	12	65	66	14	15	5	54
		腺癌 (M)									1	
		粘液性腺癌 (M)			1		1					
		平滑筋腫 (B)					1		1			
		平滑筋肉腫 (B)		1								
	腎臓	所見\検査動物数	70	60	60	60	70	70	60	60	60	69
皮質腺腫 (B)							1					
脂肪腫 (B)							1					
腎芽腫 (M)							1		1		2	
肝臓	所見\検査動物数	70	60	60	60	70	70	60	60	60	70	
	肝細胞腺腫 (B)	0@			2	3	1					
	肝細胞癌 (M)	1	1		1		1					
肺	所見\検査動物数	70	60	60	60	70	70	60	60	60	70	
	腺癌 (M)					1						
リンパ節	所見\検査動物数	70	38	41	38	70	70	43	44	47	70	
	リンパ腫 (M)									1		
	組織球肉腫 (M)				1							

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定 (申請者検定)  $\uparrow$ :  $p<0.05$ 、 $\Delta$ :  $p<0.01$

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

Cochran-Armitageの傾向検定を実施 @ $<0.05$

表2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
全動物	乳腺	所見\検査動物数	68	50	55	54	69	70	60	60	60	70
		腺癌 (M)						4	5	5	9	5
		線維腺腫 (B)	5	2		1		31	28	30	31	25
		線維肉腫 (M)							1			
		線維腫 (B)	1							1		
	筋肉 (その他)	所見\検査動物数	1	4	1	0	0	0	0	0	1	0
		血管腫 (B)		1								
		組織球肉腫 (M)		1								
		脂肪肉腫 (M)			1							
	口腔	所見\検査動物数	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌 (M)										1
	卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	70	60	60	59	70
		顆粒膜/莖膜細胞腫 (M)							1			
		血管肉腫 (M)									1	
	膵臓	所見\検査動物数	69	59	60	60	69	70	60	59	57	69
		外分泌腺腫 (B)	1@	2	1	5	7\$					
		島細胞腺癌 (M)	1			1						
		島細胞腺腫 (B)	1@	3	2	4	8\$			2	2	
	下垂体	所見\検査動物数	70	32	37	24	70	70	32	42	38	70
		腺癌 (M)		1	1	1	1	1	1	1	1	1
		前葉腺腫 (B)	6	4	4	7	8	17	13	15	10	8
		中葉腺腫 (B)						1				
		後葉腺腫 (B)							1			
	包皮腺	所見\検査動物数	20	12	8	10	13	-	-	-	-	-
		扁平上皮細胞癌 (M)	1									
	前立腺	所見\検査動物数	70	31	34	23	70	-	-	-	-	-
		組織球肉腫				1						
	皮膚	所見\検査動物数	69	39	42	27	70	69	21	25	25	70
		神経原線維肉腫 (M)						1				
		基底細胞腫 (B)	3	2	1	1		1				
		基底細胞癌 (M)	1									
		扁平上皮癌 (M)					1					
		線維腫 (B)	1	1	4		3		1			
		角化棘細胞腫 (B)	2	6	6	4	3					
		脂肪腫 (B)	1			1						
		骨腫 (B)	1									
		扁平上皮乳頭腫 (B)		1	1							
		線維肉腫 (M)	2	2	1			1	1	1	1	2
		血管肉腫 (M)					2					
		毛嚢上皮腫 (B)			1						1	
		外耳道腺腫瘍 (M)								1		
	脊椎	所見\検査動物数	70	30	34	20	70	70	19	25	23	70
		軟骨肉腫 (M)	1									
		神経鞘腫 (M)							1			

累積  $\chi^2$  および  $\chi^2$  検定 (申請者検定)  $\uparrow$ :  $p < 0.05$ 、 $\Delta$ :  $p < 0.01$

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

@ Cochran-Armitageの傾向検定を実施 @ $< 0.05$

膵臓腫瘍についてはFisherの直接確率検定法 (片側検定) を実施 \$:  $p < 0.05$



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量	0	5	50	3000	5000	0	5	50	3000	7000
全動物	脾臓	所見\検査動物数	70	31	35	22	70	70	20	25	29	70
		血管腫 (B)		1								
		白血病 (M)	1	1							1	
		リンパ腫 (M)		1				1			1	
		血管肉腫 (M)		1								
	胃	所見\検査動物数	69	30	34	29	69	70	17	26	26	70
		扁平上皮乳頭腫 (B)	1									
	精巣	所見\検査動物数	70	35	37	23	70					
		間質細胞腫 (B)			1		2					
		中皮腫 (M)	2	1								
	胸腺	所見\検査動物数	70	27	32	17	68	68	19	24	24	69
		リンパ腫 (M)			2							
	甲状腺	所見\検査動物数	70	32	35	20	69	70	22	26	23	69
		傍濾胞細胞腺癌 (M)	3	1	1		3	3	4	1	2	2
		傍濾胞細胞腺腫 (B)	8	5	1	3	11	16	4	2	2	18
	子宮	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	70	60	60	54	70
		腺癌 (M)									1	
		乳頭腫様嚢胞腺腫 (B)						1				
		扁平上皮乳頭腫 (B)										3
		ポリープ (B)						3	5	1	4	3
		血管肉腫 (M)										2
		間質細胞肉腫 (M)								1		
	膣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	70	60	60	59	70
ポリープ (B)							1					

合計	検査動物数*	70	60	60	60	70	70	60	60	60	70
	良性腫瘍数	51	36	33	31	62	80	55	51	54	60
	悪性腫瘍数	22	17	15	9	13	16	17	16	21	16
	腫瘍総数	73	53	48	40	75	96	72	67	75	76
	担腫瘍動物総数	39	33	32	27	39	50	45	42	45	43

累積 $\chi^2$ および $\chi^2$ 検定 (申請者検定)  $\uparrow$ :  $p < 0.05$ 、 $\Delta$ :  $p < 0.01$

表中の数値は実際の観察数 (B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

3) イヌを用いた飼料混入投与による 12 ヶ月間慢性毒性試験

(資料 A-22)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1994 年

検体の純度 :

試験動物 : ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始時 6 ヶ月齢、

投与開始時体重範囲 : 雄 8.5~10.7 kg、雌 7.3~9.1 kg

試験期間 : 12 ヶ月間 (1992年11月10日から1993年11月19日)

投与方法 : 検体を飼料混入して 1 年間摂取させた。混餌濃度は雄が 0, 10, 150, 2000 または 20000 ppm で、雌が 0, 10, 150, 1000 または 5000 ppm とした。試験飼料は少なくとも 4 週に 1 回調製した。

[用量設定根拠]

ビーグル犬を用い、高用量群では 1 群雌雄各 2 匹、その他の群では 1 群雌雄 3 匹ずつに検体を 0, 10, 500, 2000, 6500, 20000, 50000 ppm の濃度で 4~8 週間混餌投与した慢性毒性予備試験の結果に基づき選択された。その結果、投与 8 週間後に、雄では 20000ppm 群、雌では 6500 および 20000ppm 群で累積体重増加量の減少がみられた。病理組織学的検査では標的器官は識別されなかった。これらの所見に基づいて、1 年間暴露後に 20000 および 5000 ppm 群が雄と雌それぞれに中等度の体重減少をもたらす最大耐量になりうると予測された。雄 2000 ppm および雌 1000 ppm 群は、雄 20000 ppm 及び雌 5000 ppm 群でみられる反応に用量相関性があるのかどうかを調べるために設定した。10 および 150 ppm の 2 つの低用量はそれぞれ、消費者および作業員への暴露を考慮した際の必要な無影響量を出すために設定された。

試験項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 一般状態および生死を観察した。

対照群、投与群ともすべてのイヌが試験終了まで生存した。投与に関連した一般症状の変化は観察されなかった。

眼科学的検査 ; 投与前および投与終了時にすべての動物について実施した。

投与に関連する変化は観察されなかった。

体重変化 ; 体重は 1 週に 1 回、給餌前に測定した。

投与に関連する体重への影響として、雄の 20000 および雌の 5000 ppm 群のみに明らかな体重増加の抑制が認められた。このような影響は特に試験の最初の時期に明白であり、6 ヶ月 (26 週) の終わりまでに雌雄共に累積体重増加が 41%減少した。

投与期間中の投与群別の累積体重増加を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

累積体重増加量 (kg)

性別		雄					雌				
投与量(ppm)		0	10	150	2000	20000	0	10	150	1000	5000
投与期間(週)	5	0.80 —	0.75 (94)	0.63 (79)	0.63 (45)	↓ 0.0 (0)	0.48 —	0.58 (121)	0.28 (58)	0.23 (48)	-0.10 (-21)
	13	1.58 —	1.43 (91)	1.13 (72)	1.13 (72)	0.60 (38)	1.23 —	1.53 (124)	0.60 (49)	1.13 (92)	0.65 (53)
	26	2.33 —	2.13 (91)	1.70 (73)	1.80 (77)	1.38 (59)	1.75 —	2.13 (122)	1.68 (96)	1.43 (82)	1.03 (59)
	52	2.40 —	2.63 (110)	0.93 (39)	1.68 (70)	1.63 (68)	1.93 —	3.25 (168)	2.58 (134)	2.35 (122)	1.45 (75)

Dunnett's t-Test ↓ ; p<0.05

( )内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

摂餌量および食餌効率；摂餌量 (350±5 g を 2 時間/日与えた) は、最初の 13 週は 5 日間 (月～金曜日)、その後は 4 週毎に少なくとも 1 週 (5 日間) 測定した。摂餌量は、残存した飼料から算出した。摂餌量は対照群と投与群の雄ではおおむね同等であった。しかし、5000 ppm の雌では試験の最初の 4 ヶ月、対照群よりやや少なく、4 週および 17 週で対照群と比較して統計学的に有意であった。食餌効率に投与の影響は認められなかった。

投与期間中の投与群別の摂餌量を次頁の表に示す。

摂餌量

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	10	150	2000	20000	0	10	150	1000	5000
投与期間(週)	4	327.75 —	334.38 (102)	310.24 (95)	307.93 (94)	292.74 (89)	312.05 —	299.56 (96)	319.10 (102)	293.15 (94)	219.00 (70) ↓
	17	311.61 —	334.50 (107)	333.50 (107)	304.77 (98)	306.16 (98)	302.35 —	236.87 (78)	335.87 (111)	322.64 (107)	208.20 (69) ↓
	29	302.12 —	345.99 (115)	311.44 (103)	299.78 (99)	319.93 (106)	237.59 —	217.43 (92)	329.84 (139)	263.01 (111)	255.93 (108)
	53	293.28 —	348.25 (119)	317.06 (108)	309.07 (105)	341.92 (117)	292.24 —	272.38 (93)	309.56 (106)	266.91 (91)	284.78 (97)

Dunnett's t-Test ↓ ; p<0.05

( )内の数値は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。

検体摂取量；投与期間中の 1 年間平均検体摂取量は以下の通りであった。

平均検体摂取量

投与群 (ppm) *		10	150	1000	2000	5000	20000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.351	4.19	—	57.6	—	582
	雌	0.313	5.00	30.3	—	145	—

\*：投与量は、雄で 0, 10, 150, 2000 及び 20000 ppm、雌で 0, 10, 150, 1000 及び 5000 ppm。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

血液学的検査；投与後3,6および12ヶ月目に全動物を対照として16時間絶食後、頸静脈より採血し下記の項目について測定した。血液スメア標本をすべての動物の血液サンプルから白血球百分率のために作製した。また、血液凝固検査も実施した。

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、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)

以下に、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目を示す。

#### 血液学的検査

検査項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	150	2000	20000	10	150	1000	5000
MCV	3				▽92				
	6				▽90				↓93
	12				▽91				↓95
MCH	3				▽90				
	6				▽89				
	12				▽92				
桿状好中球数	6	↑450	↑400			↑400			
好酸球	3								
プロトロンビン時間	6		↓83	↓83	↓83				

Dunnett's t-Test ↑↓ : 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とした場合の値を示したもの。

統計学的に有意な MCV および MCH の減少が、すべての検査時期 (3,6 および 12 ヶ月) で 20000 ppm 試験群の雄に観察された。雌では 5000 ppm 試験群の MCV の減少のみが、6 および 12 ヶ月に限り統計学的に有意であった。その他有意差のみられた項目もあったが、いずれも用量との関連性がなく一時的な所見であることより、偶発的で投与に起因するものとは考えられなかった。

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

ALT、AST、ALP、ソルビトール脱水素酵素、5'ヌクレオチダーゼ、無機リン、トリグリセリド、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、コレステロール、トリグリセリド、血糖、尿素窒素、総ビリルビン、γ-GT、カルシウム、ナトリウム、カリウム、塩素、クレアチニン、クレアチンキナーゼ

次頁の表に、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目およびその対照群に対する変動率 (%) を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

### 血液生化学的検査

検査項目	検査時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	150	2000	20000	10	150	1000	5000
ALP	6				↑170				(159)

Dunnett's t-Test ↑↓: p<0.05、

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

カッコ内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、変化の傾向を示すため対照群の値を 100 とした場合の値を示したもの。

20000ppm 試験群の雄で、アルカリホスファターゼの増加がみられた。また、統計学的に有意ではなかったが、雌 5000ppm 群においてもアルカリホスファターゼの増加傾向がみられた。いずれも検体投与の影響と考えられた。

尿検査；投与後 3, 6 および 12 ヶ月に尿を採取し、下記の項目について測定した。

尿量、色調および透明度、pH、比重、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血および尿沈渣（顕微鏡検査）

投与に関連する影響は認められなかった。

剖検および臓器重量；投与後 12 ヶ月に全動物を屠殺・剖検し、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、胸腺、精巣（精巣上体を除く）、甲状腺

剖検において、検体投与に起因する所見はみられなかった。また、臓器重量についてもいずれの絶対重量あるいは対体重比にも影響は認められなかった。

病理組織学的検査；剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出し、通常の方法でパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し鏡検した。

脳、脊髄、坐骨神経、眼球、脳下垂体、甲状腺、胸腺、肺、気管、心、膵、肝、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胆嚢、腎、脾、副腎、膀胱、精巣、前立腺、精巣上体、雌の卵巣、子宮、膣、乳腺、胸骨骨髓、リンパ節（顎下）、大腿骨格筋、骨（脛骨）、皮膚

認められた主要な病変を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与に関連した顕微鏡所見は、雌雄とも肝臓に認められた。雄 20000ppm、雌 5000ppm 群において、軽微/軽度の肝細胞の褐色色素沈着（リポフスチン）とクッパー細胞黒褐色色素沈着（鉄）の増加が認められた。雌雄の高用量群におけるクッパー細胞の色素沈着は、肝臓の類洞内白血球増多の頻度と程度の増大に関連があると考えられた。これら肝細胞にみられた複数の変化は、最高用量群の雌雄各 1 匹に程度がやや増大したが、その両動物とも肝細胞質内クッパー細胞内色素の顕著な蓄積が認められた。

肝臓の病変程度表

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量(ppm)	0	10	150	2000	20000	0	10	150	1000	5000	
最終屠殺	肝臓	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
		クッパー細胞 黒色色素沈着	軽微	2	3	2	3	3	2	2	1	3	1
			軽度				1	1					3
		細胞質 褐色色素沈着	軽微	1	1	1	2	2	1	1	1	2	3
			軽度					2					1

以上の結果から、本検体の 12 ヶ月間飼料混入投与によるビーグル犬慢性毒性試験における影響として、雄 20000ppm と雌 5000ppm 群における累積体重増加の減少、雌 5000ppm 群における最初の 4 ヶ月の摂餌量の減少、雄 20000ppm 群の MCV と MCH の、また雌 5000ppm 群の MCV の統計学的有意減少、雄 20000ppm 群におけるアルカリホスファターゼの増加、雌雄最高用量群における肝細胞中に黄褐色色素の蓄積、クッパー細胞中に黒褐色色素の蓄積などの肝臓の病理学的変化がみられた。これらより、本試験における無毒性量は雄 2000ppm (57.6 mg/kg/day)、雌 1000ppm (30.3 mg/kg/day) と判断された。

病理組織学的検査

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量(ppm)	0	10	150	2000	20000	0	10	150	1000	5000	
12ヶ月最終屠殺	骨髓 (胸骨)	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		赤血球過形成	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1
		過形成	2	2	0	3	1	1	1	1	0	1	1
	心臓	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		血囊腫	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	腎臓	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		脂肪変性	2	2	0	3	4	3	2	3	4	4	4
		鉍質沈着	3	3	2	3	3	4	1	4	2	3	3
		色素沈着	2	3	0	3	2	2	2	2	4	1	1
	肝臓	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		細胞変性	2	2	0	3	4	3	2	3	4	4	4
		線維化	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		類洞内白血球増多	2	4	2	3	4	2	3	3	3	3	4
		小肉芽腫	4	2	3	2	4	3	2	4	4	4	4
		色素沈着 クッパー細胞	2	3	2	4	4	2	2	1	3	4	4
		色素沈着、細胞質	1	1	1	2	4	1	1	1	2	4	4
	肺	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		細胞浸潤	3	1	2	1	3	1	0	2	0	2	2
		ヘモジデリン沈着	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		うっ血	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	下顎 リンパ 節	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		うっ血	0	0	4	1	0	1	0	0	1	0	0
		組織球増殖症	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	卵巣	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	4	4	4	4	4	4
		嚢胞状変性						1	0	0	0	0	0
	副甲状腺	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		嚢胞	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	下垂体	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		嚢胞	1	3	1	0	3	0	3	2	1	2	2
	唾液腺	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		細胞浸潤	0	2	1	0	0	0	1	2	1	2	2
	脾臓	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		うっ血	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		線維鉄症	0	0	0	1	1	1	0	1	0	2	2
		色素沈着	3	3	1	2	2	3	2	1	1	3	3
	胃	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		リンパ球増生	3	2	1	3	3	3	1	3	4	3	3
	精巣	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		精細管変性	1	0	1	0	0	—	—	—	—	—	—
	胸腺	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		嚢胞	0	0	0	1	2	0	1	1	1	1	1
	甲状腺	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
嚢胞		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	
細胞浸潤		0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

申請者注：ビーグル犬を用いた飼料混入投与による1年間慢性毒性試験についての考察

標的臓器である肝臓の病理スライドを再鏡検した結果、上記類洞内白血球増多と肝細胞の多病巣性変性については程度も軽く、対照群にも同様にみられていることより、毒性学的に意味のあるものとは考えられなかった。また、雄 2000 ppm 群でクッパー細胞内色素沈着の軽度が1例みられたが、対照群例と同程度（minimum）の所見例が最高投与量群（20000 ppm）でも観察されており、単なる食細胞機能による蓄積的なもので直接障害などに結びつく所見とは考えられなかった。また、体重増加抑制や血液学検査値の変化といった全身的影響もなく、この個体は検体投与による毒性を示した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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

## (12) 毒性発現メカニズム

### 1) ラット肝臓が有するプロトポルフィリノーゲン酸化作用への影響 (資料 A-23)

試験機関：

報告書作成年：1990年

検体の純度：

試験期間：1989年11月30日～1989年12月15日

試験目的：フルチアセットメチルは植物体内のプロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ（以下 PO とする）を阻害することで、プロトポルフィリン IX の蓄積を伴う光要求性除草剤であるが、PO 阻害作用が、動物体内においては、ヘム生合成を阻害することにより毒性を引き起こす可能性がありうる。

そこで本試験ではラット肝臓ミトコンドリアを用い、*in vitro* で PO に対するフルチアセットメチルの影響を検討した。

試験方法：ミトコンドリアはラット (F344、雄、7週齢、体重 212 g) 肝臓より調製したものをを用いた。PO 活性測定には基質としてプロトポルフィリン IX (以下プロト IX と略記/PO の反応生成物) を還元したプロトポルフィリノーゲン IX (以下プロトゲンと略記) をを用いた。調製方法は N.J.Jacobs らの方法を若干変更して調製した。酵素反応は、反応液 1 ml (0.2 M, pH 8.0 トリス塩酸緩衝液 0.56 ml, 0.1 M EDTA 0.01 ml, 0.2 M DTT 0.02 ml, 約 0.2 mM プロトゲン溶液 0.3 ml, 酵素溶液 0.1 ml, フルチアセットメチルアセトン溶液 0.1 ml)、反応温度 30°C で行った。フルチアセットメチルの反応液中濃度は 0, 0.01, 0.1, 1, 10 $\mu$ M とし、比較薬剤として、フルチアセットメチルと同様に PO 阻害性のある と をを用いた。前述の反応液は酵素無添加の状態です 3 分間プレインキュベートし、酵素添加により反応を開始した。また反応中はインキュベーターに蓋をし、できるだけ光が当たらないように注意した。60 分反応後、反応液の 0.05～0.2 ml をとり測定用緩衝液 (1 mM EDTA、5 mM DTT、1% (v/v) Tween80 を含む 100 mM トリス塩酸緩衝液 pH 8.7) で 3 ml に希釈し、励起波長 410 nm、蛍光波長 633 nm で生成したプロト IX を蛍光定量した。

結果：ラット肝臓ミトコンドリア PO 活性に及ぼすフルチアセットメチルの影響について次頁に図を示した。ラット肝臓ミトコンドリア PO 活性の場合には反応時間とプロト IX 生成量の間には直線性が成立し、10 $\mu$ M のフルチアセットメチルはほぼ完全に活性を阻害した (図-1)。そこでフルチアセットメチル濃度を変化させ反応時間 60 分間で阻害活性を調べたところ、低濃度でも阻害活性が認められた (IC<sub>50</sub> 値は 10<sup>-7</sup> M オーダー)。また比較薬剤との阻害強度の関係は、よりは若干、よりは約 50 倍程度強いものであった (図-2)。

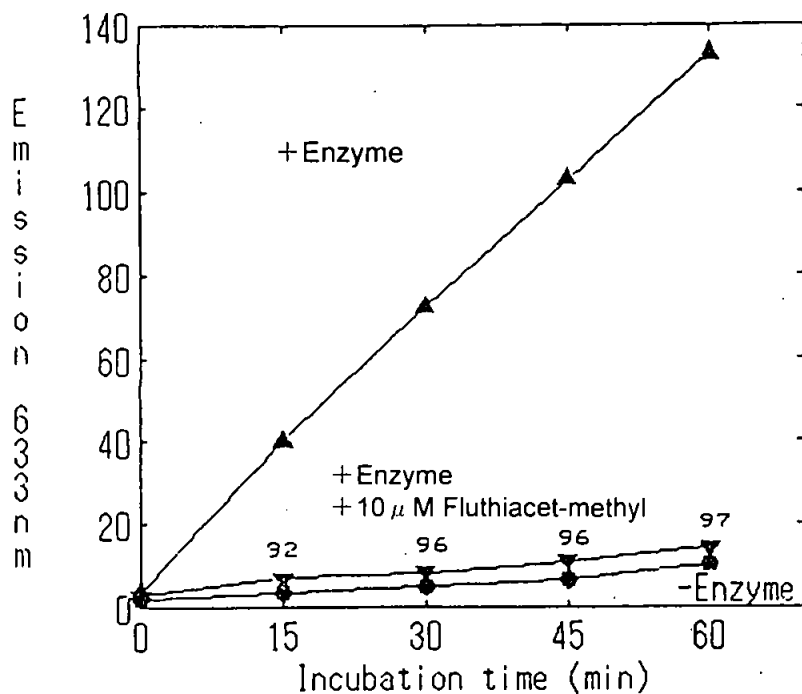


図-1 ラット肝臓ミトコンドリアPOの反応時間と生成物の関係

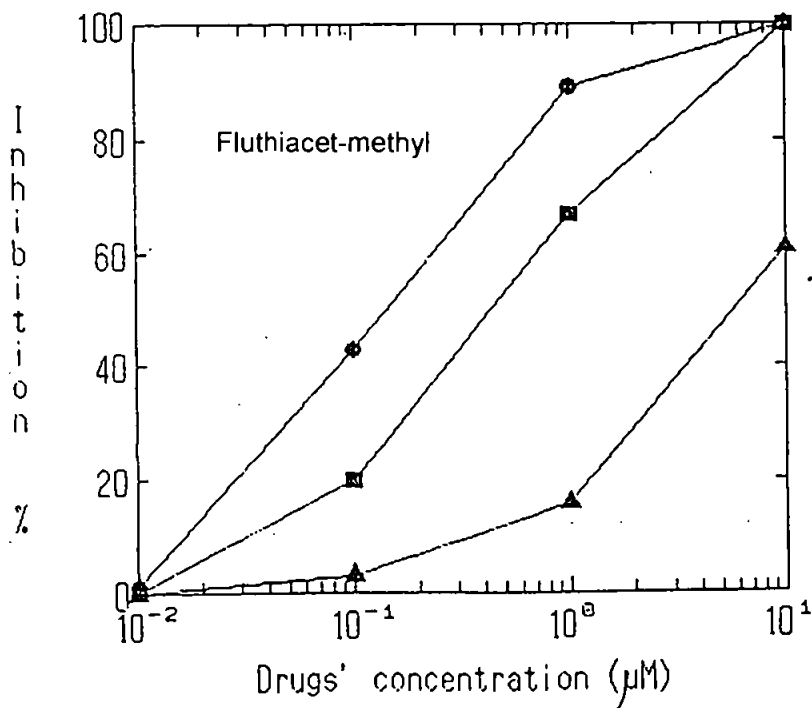


図-2 薬物濃度とラット肝臓ミトコンドリアPO活性阻害との相関

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

考察と結論：ジフェニルエーテル系薬剤の作用点が PO であることを示したのは M.Matringe というフランスの研究者であるが彼は次のようなことを証明した。

- (1) ジフェニルエーテル系薬剤は高度不飽和脂肪酸の過酸化を促し、その結果として細胞膜の破壊をもたらす。過酸化の原因となる物質は異常蓄積したプロトIXであり、プロトIXの蓄積は細胞膜破壊と相関する。
- (2) PO 阻害は直接的にはプロトゲン蓄積につながるが、プロトゲンは速やかに自動酸化されるためプロトIXが蓄積する。PO 阻害の強度は  $10^{-8}$ Mオーダーであり十分に *in vivo* 効果を説明することができる。
- (3) PO は植物由来のものだけでなく動物由来のもの（ヘム生合成に関与）も低濃度で阻害される。

そこで、動物に対する毒性の観点からフルチアセットメチルの PO 阻害について検討し、フルチアセットメチルは低濃度でラット肝ミトコンドリア PO 活性阻害を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

## 2) マウスにおける肝臓内ポルフィリン蓄積性および尿中ポルフィリン排出試験

(資料 A-24)

試験機関：

報告書作成年：1991年

検体の純度：

試験期間：1990年9月28日～1991年4月30日

試験目的：フルチアセットメチルの標的酵素はクロロプラストに局在するクロロフィル合成経路のプロトポルフィリノーゲンIXオキシダーゼ（以下 PO と略記）であるが、ヘム生成系の PO を阻害することによる動物に対する毒性が懸念される。この点を把握するためにフルチアセットメチルをマウスに投与し、蓄積、排出されるポルフィリンの分析を行なった。

試験方法：B6C3F1 系雄マウス (Slc: B6C3F1) を用い、4 週齢で購入し、9 日間馴化後供試し、投与開始時体重は 16～19 g であった。1 群各 5 頭で 4 週間混餌投与を行った。薬量はフルチアセットメチル 0, 10, 50, 500, 5000 ppm、比較薬剤として本検体と同様に PO 阻害作用を有する (500 ppm)、500 ppm) を用いた。投与終了後、1 晩絶食させて肝臓を摘出した。また、尿は剖検前 24 時間蓄尿して採取し、1 群 5 頭分を一緒にした。肝臓内および尿中のポルフィリンを HPLC を用いて蛍光分析した。

結果：肝臓での結果を表 1 に、尿での結果を表 2 に示した。

肝臓では、無処理区ではポルフィリンは検出されなかった。検体投与区では投与量増加にともないプロトポルフィリンIXの顕著な蓄積が認められた。また、僅かながらもコプロポルフィリン I の蓄積も最高投与群で認められた。尚、これらのポルフィリン類の蓄積はより多く、より少なかった。

尿の分析では、検体投与量の増加に従い、色調の黄色から赤色への変化が観察され、また、この色調変化と平行して無処理区には観察されない数種のポルフィリンと考えられる物質の排泄が認められた。この内、ウロポルフィリン I とコプロポルフィリン I の 2 種のポルフィリンが同定されたが、ウロポルフィリン I の排泄が顕著であった。これらのポルフィリンの排泄量はフルチアセットメチル投与量の増大とともに増加した。尚、肝臓ポルフィリンと同様に、ウロポルフィリンの排泄はよりも多く、よりも少なかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1 マウス肝臓におけるポルフィリン含有量へのフルチアセットメチルの影響

薬剤	投与量 (ppm)	ポルフィリン (nmol/g tissue)	
		プロトポルフィリン IX	コプロポルフィリン I
フルチアセットメチル	0	trace <sup>a)</sup>	n.d. <sup>b)</sup>
	10	0.22±0.07 <sup>c)</sup>	n.t. <sup>d)</sup>
	50	1.05±0.52	n.t.
	100	0.96±0.48	n.t.
	500	3.22±1.59	n.t.
	5000	5.27±2.98	1.33±0.30
	500	4.87±1.05	n.t.
	500	0.50±0.18	n.t.

a) trace: detected but could not be quantified      b) n.d.: not detected

c) standard deviation (n=3-5)      d) n.t.: not tested

表2 マウス尿におけるポルフィリン含有量へのフルチアセットメチルの影響

薬剤	投与量 (ppm)	ポルフィリン (nmol/ml)	
		ウロポルフィリン I	コプロポルフィリン I
フルチアセットメチル	0	n.d. <sup>a)</sup>	trace <sup>b)</sup>
	10	trace	0.157
	50	0.230	0.956
	100	8.35	1.11
	500	32.0	5.01
	5000	61.6	4.60
	500	53.6	3.96
	500	trace	1.18

a) n.d.: not detected      b) trace: detected but could not be quantified

考察と結論：本検体はクロロフィル生合成経路の PO を阻害することで、プロトポルフィリンIX（以下プロトIXと略記）を蓄積させ、これが光増感剤となり膜過酸化を引き起こすと言われている。この PO 阻害作用は、動物体内ではヘム生合成経路を阻害することによる毒性が想定されるが、マウスを4週間混餌投与した際にそれを疑わせる知見が得られている。そこで、本検体をマウスへの毒性を把握するため、本検体を4週間混餌投与したマウスの肝臓および尿のポルフィリン分析を行なったところ、肝臓においては薬剤処理濃度に比例したプロトIXの蓄積が認められた。

本検体はラット肝ミトコンドリアの PO を植物 PO と同じように低濃度で阻害する（資料 A-23）が、本試験結果はマウスの体内においても PO 阻害が起こっていることを示唆している。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

尿中にはウロポルフィリンIと考えられる多量のポルフィリンの排泄が認められたが、尿中にはプロトポルフィリンIX等の疎水性の高いポルフィリンは排泄されず、ウロポルフィリン等の水溶性ポルフィリンが排泄されることが知られており、(疎水性の高いポルフィリンは糞中へ排泄される)、今回尿中に認められたポルフィリンの異常排泄はいわゆるポルフィリア (ポルフィリン症) のポルフィリン異常排泄と酷似するものであった。

現在までに PO 阻害作用を有する除草剤の動物毒性について報告されているものとしてのマウスに対する影響を検討したものがある。それによると、尾静脈注射、皮下注射ならびに強制経口の単回投与による、肝臓でのプロトIXの蓄積および *in vivo* での PO 阻害を認めている。しかしプロトIXの蓄積や PO 阻害は一過性のものであり、24 時間後には完全に回復すること、ならびに動物体内には光が届かないことから、

と同様の作用性を有する除草剤は安全な薬剤だと判断されている。一方、フルチアセットメチルについても強制経口の単回投与では安全性が確認されている (資料 A-1, A-2) が、今回の 4 週間連続の混餌経口投与からは、フルチアセットメチルと

によるプロトIXの肝臓への蓄積性は よりも強いことが明らかとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

### 3) マウスおよびラットへの脂質過酸化反応

(資料 A-25)

試験機関：

報告書作成年：1991年

検体の純度：

試験期間：1990年9月28日～1991年5月31日

試験目的：フルチアセットメチルはポルフィリン骨格の生合成に関与するプロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ（以下 PO と略記）を阻害し、植物組織内にプロトプロフィリンIX（以下プロトIXと略記）を蓄積させる。このプロトIXが露光時に一重項酸素 ( $^1O_2$ ) を発生させ、脂質の過酸化を引き起こし植物を枯死に至らしめる。フルチアセットメチルは動物体内においてもプロトIXを蓄積させる（資料 A-23, A-24）ことが判明しているが、本試験ではフルチアセットメチルをマウスおよびラットに単回経口投与および混餌投与し、肝臓の脂質過酸化を引き起こすかどうかを調べた。

試験方法：Fischer F344 (DuCrj) 系雄ラット（投与開始時6週齢、体重90～116g）と B6C3F<sub>1</sub> (Slc:B6C3F<sub>1</sub>) 系雄マウス（投与開始時6週齢、体重16～19g）を使用した。

単回経口投与試験では、検体、比較薬剤、陽性対照物質いずれにおいても0.5% CMCに懸濁した後、ラットおよびマウスに1回強制経口投与した。投与量は、ラットでは検体投与区では0（溶媒対照）、1000、5000 mg/kg を、比較薬剤として同様に PO 阻害性を有する

（1000 mg/kg）及び

（1000 mg/kg）を、陽性対照として

*t*-ブチルヒドロパーオキシド (TBHP) 1000 mg/kg、四塩化炭素 (CCl<sub>4</sub>) 1000、4000 mg/kg を設定した。マウスでは検体0（溶媒対照）、5000 mg/kg、陽性対照として四塩化炭素 4000 mg/kg を設定した。

投与3日後に1晩絶食させた各動物を屠殺後、各動物から肝臓0.2gを採取し、4mlのリン酸緩衝液 (pH 7.4) を加え、均一化した。これを9000 Gで20分遠心後、その上清0.1 mlに蒸留水を加え0.5 mlとし、さらに3%ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム水溶液 (SDS) を0.5 ml混合した。0.1 N 塩酸2 mlと10%リタングステン酸0.3 ml、さらに0.7%チオバルビツール酸1 mlを加えよく混合した後、100°Cで45分間放置した。混合液をアイスバス中で急速に冷却後、チオバルビツール酸反応生成物 (TBARS) を *n*-ブタノールで抽出し、その量を分光光度計 (532 nm) を用いて定量した。TBARSの生成量を脂質過酸化の指標とした。

混餌投与試験では、検体または比較薬剤である たは を  
混合した飼料を B6C3F<sub>1</sub> マウスおよび F344 ラットに4週間投与した。

試験群の構成を次頁に示す。4週間後、各動物から肝臓を摘出し、その肝臓における TBARS およびプロトIX量を測定した。TBARS量は上述の方法で測定し、プロトIX量の測定法は肝臓 (0.5～1g) を水洗した後、水分を拭き取り、脂質抽出溶媒 (CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O = 5 : 10 : 4) 30 ml を加えヒスコトロンでホモジナイズした後、15000 Gで10分間遠心した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

遠心上清を減圧乾固し、1 ml のジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させフィルターろ過した後、HPLC 蛍光分析を行った。なお、マウスについては資料 A-24 で用いた同一の試験動物を用いた。

検体	用量 (ppm)	供試 動物数	平均検体摂取量 (mg/kg/day)
ラット			
Control	0	5	
Fluthiacet-methyl (検体)	500	5	52.6
	7,000	5	680.3
	20,000	5	1977.1
	500	5	51.0
マウス			
Control	0	5	
Fluthiacet-methyl (検体)	10	5	2.0
	50	5	10.5
	100	5	21.7
	500	5	100.8
	5000	5	1071.0
	500	5	107.2
	500	5	110.9

結 果：単回投与試験

肝臓組織中の過酸化脂質量：

動物	検 体	用 量 (mg/kg)	動物数 animals	肝中 TBARS 量 (nmol/g liver)
ラット	Control	0	3	49
	Fluthiacet-methyl	5000	2	36
		1000	1	46
		1000	1	43
		1000	1	42
	CCl <sub>4</sub>	4000	1	1061
		1000	1	44
<i>t</i> -butylhydroperoxide	1000	1	184	

動物	検 体	用 量 (mg/kg)	動物数 animals	肝中 TBARS 量 (nmol/g liver)
マウス	Control	0	2	110
	Fluthiacet-methyl	5000	2	108
	CCl <sub>4</sub>	4000	1	310



検体をラットおよびマウスに単回経口投与し、肝臓組織中の過酸化脂質量の変化を測定した結果、ラット、マウスいずれにおいても肝組織中の TBARS 量は溶媒対照と同レベルであり、  
 および についても同様であった。しかし、CCl<sub>4</sub> および TBHP では、ラットあるいはマウス肝組織中の TBARS 量が溶媒対照の約 3~20 倍に上昇していた。

#### 混餌投与試験

マウス 4 週間混餌投与：

検体	用量 (ppm)	動物数	Liver homogenate	
			TBARS (nmol/g)	ProtoIX <sup>2)</sup> (nmol/g)
	0	5	66 ± 8	trace
	10	5	85 ± 34	0.22 ± 0.07
Fluthiacet-methyl (検体)	50	5	441 ± 143 **	1.05 ± 0.52
	100	5	305 ± 163	0.96 ± 0.48
	500	5	227 ± 129	3.22 ± 1.59
	5000	5	660 ± 280 **	5.27 ± 2.98
	500	5	122 ± 25	4.87 ± 1.05
	500	5	50 ± 13	0.50 ± 0.18

1) TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances

2) ProtoIX : Protoporphyrin IX (資料 A-24 で用いた同一の試験動物を用いた。  
 よって抄録 175 頁の表 1 の結果と同一である。)

Significantly different from control; Dunnett's t-test (\* p<0.05, \*\* p<0.01)

ラット 4 週間混餌投与：

検体	用量 (ppm)	動物数	TBARS <sup>a)</sup> (nmol/g)	ProtoIX <sup>b)</sup> (nmol/g)
	0	5	27 ± 4	0 ± 0
Fluthiacet-methyl (検体)	500	5	28 ± 5	0 ± 0
	7000	5	42 ± 21	0.7 ± 0.7
	20000	5	40 ± 17	1.3 ± 0.3
	500	5	48 ± 23	0.5 ± 0.5

a) TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances

b) ProtoIX : Protoporphyrin IX

4 週間投与試験において、本検体を投与したマウス肝組織中の TBARS 量は無処理と比べ、50 ppm 以上の用量で有意に上昇した (3~10 倍)。また、肝組織中のプロト IX もおおむね用量相関性に上昇した。しかし、10 ppm 投与群においてはいずれの値も無処理群と同等で、特に変化を認めなかった。一方、比較対照薬剤においては、  
 が 500 ppm 投与で、  
 肝組織中の TBARS およびプロト IX 量が高値を示したが、  
 は特に変化を認めなかった。

これらの結果から、B6C3F<sub>1</sub> マウスにおいては、本検体は 50 ppm 以上の濃度で 4 週間混餌投与すると肝組織の脂質過酸化を引き起こすこと、また、10 ppm ではそれが見られないことが明らかになった。ラットに対しては、7000 ppm 以上の投与群では、用量相関性にプロトIXが検出された。

肝組織中の TBARS 量については、7000 ppm 以上の群で用量とともに上昇傾向を示したが各群間に統計的有意差は認められなかった。一方、比較対照薬 (1) においては、500 ppm の濃度で TBARS 量およびプロトIXの軽度の増加がみられた。

結 論：以上の結果、単回投与においては、陽性対照として用いた CCl<sub>4</sub> および TBHP では明らかな脂質過酸化反応を認めたが、本検体は化合物自身が活性酸素を産生することではなく、連続的投与により間接的にマウスおよびラット肝組織の脂質に過酸化反応を引き起こし、おそらくその反応は、本化合物連続投与によって肝臓に蓄積したプロトIXの影響によるものと考えられた。肝組織の脂質過酸化反応およびプロトIXの蓄積ともに、ラットと比較してマウスにおいてその作用は大きく、フルチアセットメチルの毒性反応には種差が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

4) フルチアセットメチルおよび代謝物のヘム生合成に関わる酵素への影響  
*in vitro* でのマウス、ラットおよびヒトにおける種差

(資料A-26)

試験機関：CIBA-GEYGY CORPORATION

報告書作成年：1994年

検体及び純度：

フルチアセットメチル

代謝物M-5

代謝物M-6

代謝物M-12

試験生物試料：・若齢成熟雄ラット (Tif:RAIf(SPF)；体重 230～275 g) から得られたミトコンドリア画分  
・雄マウス (Tif:MAGf(SPF)；体重 21～24 g) から得られたミトコンドリア画分  
・初代培養肝細胞ヒト肝臓ミトコンドリア画分

試験の目的：本化合物のマウスおよびラットを用いた亜急性毒性試験 (資料 A-18、A-19) において、肝臓が主要な標的臓器であることが認められた。また、本化合物により惹起される肝障害はラットよりもマウスの方が高かった。クミアイ化学工業株式会社で実施された試験 (資料 A-23、A-24、A-25) より、本化合物は *in vitro* または *in vivo* においてマウス、ラット肝中プロトポルフィリンノーゲンオキシダーゼ (PO) の阻害作用をもち、肝臓内にプロトポルフィリンIXの蓄積 (肝ポルフィリン症) を惹起させることが明らかとなった。本試験においてはヒトに対する影響を考慮し、フルチアセットメチル及びその代謝物 (M-5、M-12、M-6) がラット、マウス及びヒト肝細胞から得られたミトコンドリア画分中の PO 活性へ及ぼす影響を検討した。更に、ヘム生合成の rate limiting (律速) 酵素である  $\delta$ -aminolevulinic acid synthase ( $\delta$ -ALA 合成酵素) 及びプロトポルフィリン中への鉄の取り込みを行う ferrochelatase に及ぼす影響についても、ラット及びマウス初代培養肝細胞を用いて検討した。

試験方法の概要：フルチアセットメチルおよび代謝物について、マウス、ラット及びヒト肝臓から得たミトコンドリア画分を用いて PO 阻害作用を調べた。マウスおよびラットの初代培養肝細胞を用いて、フルチアセットメチル、代謝物 M-5 および M-6 の細胞毒性作用 (光顕による形態学的検索、細胞から培養液中への乳酸脱水酵素逸脱) を調べるとともに、 $\delta$ -ALA 合成酵素及び ferrochelatase に及ぼす影響を検討した (M-12 は準備できる量が少なかったため、PO 阻害作用試験のみ実施した)。各検体ジメチルスルホキシド (DMSO) 中に溶解して用いた。

試験結果：

1. マウス、ラット及びヒト肝臓ミトコンドリア画分を用いた PO 阻害作用各検体の各ミトコンドリア画分 PO 活性に対する阻害度を IC<sub>50</sub> 値で以下に示す。陽性対照物質として植物中の PO 活性を強力に阻害する を用いた。

マウス、ラット及びヒト肝臓ミトコンドリア画分中の PO 活性阻害、IC<sub>50</sub> 値

検 体	IC <sub>50</sub> 値 (nM)		
	マウス	ラット	ヒト
フルチアセトメチル	18	75	300
代謝物 M-5	53	600	>1000
代謝物 M-12	23	49	147
代謝物 M-6	27	66	140
	2	8	40

2. マウス及びラット初代継代培養肝細胞における細胞毒性作用および  $\delta$ -ALA 合成酵素と ferrochelatase に対する原体、代謝物 M-5 および代謝物 M-6 の作用

2-1. 細胞毒性作用：

下記 2-2 の酵素に対する影響試験の検体処理濃度を決定するため実施した。

マウス；肝細胞を 100  $\mu$ M の濃度まで 1 及び 19 時間の間、各検体をインキュベートしても、細胞の形態に変化はみられなかったが、200 および 300  $\mu$ M では、各検体とも細胞顆粒形成を主な所見とする細胞障害が惹起された。また、300  $\mu$ M では各検体とも約 2 倍以上の乳酸脱水酵素逸脱の増加を示した。

ラット；肝細胞を 300  $\mu$ M の濃度まで 1 及び 19 時間の間、各検体をインキュベートしても、細胞の形態に変化はみられなかった。乳酸脱水酵素逸脱の増加もなかった。

2-2.  $\delta$ -ALA 合成酵素と ferrochelatase に対する作用：

上記 2-1 の結果より、検体は 10 および 100  $\mu$ M を処理した。マウス、ラットとも、各検体の ferrochelatase に対する明らかな阻害または促進作用はみられなかった。一方、 $\delta$ -ALA 合成酵素についてはマウス、ラットにおいて各検体で軽度の誘導作用がみられたが、用量依存性はなくマウス、ラット間の種差もなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

考察：フルチアセットメチル、代謝物 M-5、M-12 および M-6 のマウス、ラット及びヒト肝ミトコンドリア画分中の PO 活性阻害作用を検討した。その結果、マウスで最も強い阻害作用がみられ、ラット及びヒトではそれぞれ軽微およびほとんど感受性がなかった。ラットおよびヒトにおける  $IC_{50}$  はマウスよりもそれぞれ 2~10 倍及び 7~20 倍大きかった。4 種の検体はマウスにおいては同様な阻害作用を示した。その他の検体に比べて、M-5 の阻害作用はラット及びヒト酵素では明らかに弱かった。フルチアセットメチル、代謝物 M-5 および M-6 とともにラット及びマウス肝細胞をインキュベートすると  $\delta$ -ALA 合成酵素活性の軽度上昇がみられた。検体により PO が阻害されたため、ヘム生合成におけるキーとなる本調節酵素が軽度に活性化された事が推測された。ferrochelatase 活性に影響はみられなかった。

フルチアセットメチルをマウスおよびラットに投与した場合、肝ポルフィリン症によるものと思われる肝傷害が観察されるが、それはフルチアセットメチル及びその主要代謝物の強い PO 阻害作用によるものと考えられた。*In vivo* でみられたマウスの感受性がラットよりも高い点は、マウス肝酵素がラットよりも影響を受けやすいという *in vitro* での結果を反映している。フルチアセットメチルおよび代謝物は、ヒト肝 PO に対する阻害作用が大変弱いことから、ヒトに対し肝毒性を惹起する可能性はほとんどないものと考えられる。