

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 8.5 慢性毒性及び発がん性

### 8.5.1 イヌを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験(資料 No. T-3.1)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度: %

供試動物: ビーグル犬、1群雌雄各4匹、開始週齢5または6ヶ月齢

投与期間: 1年間(雄; 2011年1月11日~2012年1月10日または11日)  
(雌; 2011年1月19日~2012年1月19日または20日)

投与方法: 検体を0、60、200、6000 ppmの濃度で飼料に混入し、1年間にわたって毎朝300gを給餌した。検体を混入した飼料は4週間に1回調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般症状及び死亡率; 一般症状及び生死を毎日観察した。

投与群のイヌに飼料または泡沫液の嘔吐、軟便または粘液便、痂皮、皮膚の腫脹、脱毛および膺からの血様分泌液が投与期間中散発的に認められたが、被験物質投与との関連はないと考えられた。数頭の雌で認められた皮膚の創傷や腫瘍および眼の結膜充血や瞬膜脱出も、1例のみに認められたが、その発生に用量依存性が認められなかったことから、被験物質投与との関連はないと考えられた。6000 ppm 投与群の雌1例が投与34週時に横臥位、自発運動低下及び呼吸緩徐が認められたため、動物福祉上の観点から切迫殺した。この動物は自然発生性の循環障害及び呼吸障害が死因であり、検体投与の影響による死亡ではないと判断された。その他の動物にも検体投与に関連のある症状は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

詳細な状態の観察：投与開始前と投与期間中 1 週間に 1 回、全例を対象として、以下の項目について観察した。

ケージ内：活動性、体位・姿勢、異常行動、振戦、痙攣

ケージ外での社交性

オープンフィールド：活動性、体位・姿勢、異常行動、振戦、痙攣、歩行状態、呼吸状態、皮膚・被毛の状態、眼球の状態、眼瞼閉鎖、瞳孔の状態、流涎、流涙、分泌物、眼球結膜・口腔粘膜の状態、異常発声、排便、排尿、聴覚驚愕反応、接触刺激に対する反応

触診： 皮膚の異常、筋肉の状態

検体投与による変化は認められなかった。

体重変化：全動物について投与開始 1 週間前 (-1 週時)、投与直前 (0 週) 及び投与期間中 13 週目までは毎週 1 回、以降は 4 週に 1 回、体重を測定した。さらに、全動物について剖検前に最終体重を記録した。

投与開始時、13 週時及び投与終了時の体重を以下の表に示す。

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0	60	200	6000	0	60	200	6000
0 週		100	100	100	100	100	100	100	100
13 週		100	101	101	99	100	101	98	93
52 週		100	100	103	97	100	95	91	86

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

統計学的に有意差は認められなかったが、雌の 200 及び 6000 ppm 投与群において体重増加抑制傾向が認められた。雄及び雌の 60 ppm 投与群では体重に対する影響は認められなかった。雌で認められた体重増加抑制傾向は、雌動物の対照群における体重増加量 (4.2 kg) が背景値 (1.4~3.9 kg) を逸脱して大きかったため、見かけ上認められた偶発変化と考えられた。雌の 200 及び 6000 ppm 投与群の体重増加量はそれぞれ 3.0 及び 2.4 kg であり、これらの数値は背景範囲であった。従って、雌で認められた体重増加抑制傾向は検体投与に関連しない偶発的变化と考えられた。

雌動物の投与開始時及び 52 週時の個体別体重及び体重増加量、並びに試験実施施設における 2006 年以降の 7 試験の体重増加量の背景値を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与量 (ppm)	雌				
	動物番号	体重 (kg)		0-52 週の 増加量 (kg)	0-52 週の 平均増加量 (kg)
		0 週	52 週		
0	21	9.4	14.4	5.0	4.2
	22	8.5	11.6	3.1	
	23	8.0	13.0	5.0	
	24	9.0	12.5	3.5	
60	25	8.4	10.6	2.2	3.6
	26	8.5	12.0	3.5	
	27	8.9	14.8	5.9	
	28	9.0	11.8	2.8	
200	29	8.2	10.9	2.7	3.0
	30	8.5	12.1	3.6	
	31	9.0	11.2	2.2	
	32	9.1	12.4	3.3	
6000	33	8.5	11.5	3.0	2.4
	34	8.3	—	—	
	35	8.8	10.7	1.9	
	36	9.0	11.2	2.2	
2006 年以降に実施した 7 試験の体重増加量 : 1.4~3.9 kg					

摂餌量； 全動物の摂餌量を馴化期間中及び投与期間中毎日測定した。1 日当たりの個体別摂餌量から 1 週間あたりの個体別平均摂餌量を算出し、そこから群平均摂餌量を算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
	60	200	6000	60	200	6000
43 週	100	100	100	189	100	100

Dunnett 検定 ↑↓ :  $P \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

60 ppm 投与群の雌において、43 週時に統計学的に有意な摂餌量の低下が認められたが、変化が軽微であり継続的ではなかったため、検体投与とは関連のない偶発的な変化と判断した。【申請者注：上記に加え、雌の 200 ppm 以上の投与群では摂餌量の変化は認められていないため、検体投与とは関連のない偶発的な変化と判断した。】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		60	200	6000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.61	5.34	166
	雌	1.57	5.58	178

血液学的検査；投与開始前、投与 13 週、26 週及び 52 週時に全ての生存動物を対象として、橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度、赤血球分布幅、赤血球血色素濃度分布幅(HDW)、血小板数(PLT)、網赤血球数、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(APTT)、白血球数、白血球ディファレンシャルカウント(リンパ球 (L)、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

6000 ppm 投与群において、雄の投与 13 週以降で統計学的に有意な PLT の増加及び APTT の短縮が、雌の投与 13 週時に統計学的に有意な APTT 短縮が認められた。

【申請者注：また、雌では投与 26 週以降で PLT 増加傾向が、投与 52 週時に APTT 短縮傾向が認められた。】これらの変化は検体投与によるものと考えられた。

6000 ppm 投与群において、雄の投与 52 週時に MCH、投与 13 及び 52 週時に HDW の統計学的に有意な増加が認められた。MCH の増加には他の赤血球に関連する検査項目に変化が認められなかったため、毒性学的意義はないと考えられた。HDW の変化は投与開始前にも認められたことから、検体投与に関連しないものと考えられた。また、雄の 60 ppm 以上の投与群で投与 13 週時にリンパ球数の統計学的に有意な増加または増加傾向が認められたが、この変化は試験期間中の一貫性及び用量との関連性を欠くことから、検体投与と関連しない偶発的变化と判断した。

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

アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチターゼ(GGTP)、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン(Alb)、グロブリン、アルブミン／グロブリン比、血糖、総コレステロール(T. Chol)、TG、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

切迫殺動物については、剖検時の採血試料を用いて ALP、GGTP、Alb 及び TG を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

次頁に続く

前頁の続き

6000 ppm 投与群の雌雄において、ALP の統計学的に有意な上昇または上昇傾向が認められた。雄では前述に加えて GGTP、T. Chol 及び TG の有意な増加が、また Alb の有意な減少または減少傾向が認められた。これらの変化は検体投与の影響と考えられた。【申請者注：6000 ppm 投与群の雌において TG の増加傾向が認められた。同群では ALP の上昇傾向や組織学的検査における小葉中心性肝細胞肥大が認められているため、TG の変動も検体投与の影響と判断した。】60 ppm 投与群の雌で 13 週時に認められた統計学的に有意な Alb の増加には、用量との関連性が認められなかったため、検体投与との関連がない偶発的な変化と判断した。

尿検査； 投与開始前、投与 13 週、26 週及び 52 週時に、すべての生存動物の尿について、以下の項目を検査した。

比重、ウロビリノーゲン、蛋白、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、  
ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

26週時に200 ppm以上の投与群の雌において認められた有意な蛋白の増加は、検体投与による影響と考えられたが、関連するその他の検査項目に影響がなかったため、毒性学的意義は不明である。【申請者注：本変化は26週時の検査においてのみ認められたもので52週時には対照群との差は認められず、また関連する検査項目に検体投与による影響は認められなかったため、検体投与との関連のない偶発的な所見であると判断した。】その他の統計学的有意差が認められた項目はいずれも用量との関連性がないため、検体投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。

眼科学的検査；投与開始前及び52週時に全生存動物について、検眼鏡による観察を含む眼科学的検査を実施した。検査では眼の以下の部位を観察した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体／硝子体、眼底

検体投与に関連する変化は認められなかった。60 ppm投与群及び200 ppm投与群の雌において、それぞれ1匹に角膜混濁が認められたが、投与前から認められたものか一過性のものであったため、検体投与と関連がない偶発性の所見と判断した。

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

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心臓、胸腺、肝臓(胆のうを含む)\*、  
腎臓(両側)、脾臓、副腎(両側)、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、  
卵巣(両側)、子宮

\*胆のうから胆汁を排出した後に秤量

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

6000 ppm 投与群の雌雄において、肝臓の絶対重量及び対体重比が有意に増加した。これらは検体投与による影響と考えられた。200 ppm 以下の投与群では雌雄いずれにも有意な臓器重量の増減は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

6000 ppm 投与群の全ての動物で肝臓腫大が有意な差をもって認められ、雌では最終解剖した3例すべてに暗調化が有意に認められた。これらは検体投与による影響と考えられた。200 ppm 以下の投与群では、雌雄いずれにも検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；すべての動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、鏡検した。

脳 (大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄 (頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経 (片側)、下垂体、胸腺、甲状腺 (両側)、上皮小体 (両側)、副腎 (両側)、脾臓 (中央部及び尾部)、骨及び骨髄 (胸骨及び片側大腿骨)、リンパ節 (頸部及び腸間膜)、心臓 (左室壁、右室壁及び弁膜部を含む心室中隔、心房、大血管)、大動脈、咽頭、唾液腺 (下顎腺及び耳下腺)、食道、胃 (噴門部、胃底部及び幽門部)、肝臓 (外側左葉、外側右葉及び肝門部)、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸 (パイエル氏板を含む)、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺 (主要気管支を含む右葉起始部、左後葉及び右後葉)、腎臓 (両側)、膀胱、精巣 (両側)、精巣上体 (両側)、前立腺、卵巣 (両側)、子宮 (角部、体部及び頸管部)、膈、眼球 (網膜及び視神経を含む、両側)、涙腺 (両側)、下腿三頭筋 (片側)、



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

皮膚 (腰背部)、乳腺 (腹部)、肉眼的異常部位

検体投与に関連した病理組織学的変化を次表に示す。

6000 ppm 投与群において、雌雄で小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が有意に増加した。200 ppm 以下の投与群では、雌雄いずれにも検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する飼料混入による1年間反復経口投与毒性試験における影響として、6000 ppm 投与群の雌雄における PLT 増加、APTT 短縮、ALP 上昇、TG の増加、肝臓重量の増加、肝臓の腫大、小葉中心性肝細胞肥大、雄における GGTP、T. Chol の増加、Alb の減少、雌における肝臓の暗調化が認められた。

従って、本試験における無毒性量は雌雄とも 200 ppm (雄: 5.34 mg/kg/day、雌: 5.58 mg/kg/day)であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

### 8.5.2 ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験（資料 No. T-3.2）

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： Wistar Hannover 系ラット、1群雄雌各21匹、投与開始時5週齢

投与期間： 12カ月間（雄；2010年1月18日～2011年1月17日）  
（雌；2010年1月26日～2011年1月25日）

試験方法： 検体を0、30、100、500及び5000 ppmの濃度で飼料に混入し、12カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

雌雄のいずれの投与群においても、対照群と比較して統計学的に有意な発生頻度を示す臨床所見は認められなかった。

試験終了時の死亡数を次表に示す。

性別	雄					雌				
	0	30	100	500	5000	0	30	100	500	5000
投与量 (ppm)	0	30	100	500	5000	0	30	100	500	5000
検査動物数	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21
最終死亡数	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0

500 ppm投与群の雄1例が投与36週、100 ppm投与群の雌1例が投与39週にそれぞれ切迫殺され、対照群の雌1例が投与45週に死後発見された。雌雄ともに死亡率は低く用量との関連性はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

詳細な状態の観察；投与期間中毎週 1 回、全動物を対象として以下の項目の観察を行なった。

ホームケージ：興奮、鎮静、異常姿勢、異常行動

ハンドリング：取り扱い易さ、筋緊張、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径、流涎、流涙、分泌物、眼球突出、体温の変化、異常呼吸音、被毛の変化、皮膚及び粘膜

オープンフィールド：跳躍、旋回、痙攣、異常歩行、自発運動、毛づくろい、立ち上がり、呼吸、啼鳴、立毛、排尿、排便、異常姿勢、異常行動

詳細な状態の観察項目のスコアで対照群と比べ統計学的に有意な変化を示した変化を次表に示す。

性別		雄				雌			
		30	100	500	5000	30	100	500	5000
立ち上がり	1 週			↑		↓	↓		
	2 週						↓		
	13 週				↑		↓		↓
	15 週								↓
	16 週			↑	↑				
	41 週							↓	↓
	43 週							↓	↓
	45 週		↑					↓	↓
	47 週							↓	↓
排尿	17 週		↑						
	38 週							↑	

Dunnett 検定 ↓:  $P \leq 0.05$ , ↑↓:  $P \leq 0.01$

雌の投与群において、オープンフィールドにおける立ち上がり姿勢の頻度が対照群と比較して統計学的に有意に少ない投与週が増加した。反対に、100 ppm以上の投与群の雄では、有意に多い週が認められた。本項目に関して雌雄で逆の変動を示すこと、またその他の検査項目に関連した所見がないことから、立ち上がり姿勢の頻度における変化は偶発的のものと判断した。

また、オープンフィールドにおいて排尿のみられた動物数が100 ppm投与群の雄では投与17週に増加し、500 ppm投与群の雌では投与38週に増加した。しかし、これらの変化に用量依存性はなく偶発性のものと判断した。

機能検査；投与 49 週時に、原則として動物番号の小さい各群雌雄 10 匹を対象として自発運動量、握力（前肢、後肢）、感覚運動反応（位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応、空中立ち直り反射）に関する機能検査を行なった。

雌雄ともに、いずれの検査項目においても対照群と各投与群との間で統計学的に有意な差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

体重変化；投与開始時から 13 週までは毎週 1 回、16 週以降は 4 週に 1 回、さらに剖検直前にすべての生存動物の体重を測定した。

全投与期間を通じて、雌雄のいずれにおいても、対照群と各投与群との間で統計学的に有意な体重の差は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全ケージについて体重と同じ頻度で測定し、さらに 13 週までの食餌効率も算出した。

全投与期間を通じ、雌雄それぞれ摂餌量は対照群と各投与群との間で同等であった。また、試験期間を通じた総平均摂餌量及び食餌効率も同等であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		30	100	500	5000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.39	4.68	22.7	237
	雌	1.82	5.92	30.0	311

血液学的検査；投与 14、26 及び 52 週時に、原則として動物番号の若い順に選んだ各群雌雄 10 例ずつについて実施した。検査動物は採血前に一晩絶食させた。14 及び 26 週の検査にはエーテル麻酔下で頸静脈より採血し、52 週の検査はエーテル麻酔下で後大静脈より採血した。次の項目について測定した。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度、赤血球容積分布幅(RDW)、赤血球血色素濃度分布幅(HDW)、血小板数、網状赤血球数、白血球数(WBC)、白血球ディファレンシャルカウント(リンパ球、好中球(N)、単球、好酸球(E)、好塩基球、大型非染球)

さらに、52 週の検査ではプロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)についても測定した。

対照群と比較して統計学的有意差を示した項目を次頁表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

5000 ppm 投与群の雄で Ht の減少と HDW の増加、雌で Hb と MCH の減少、RDW と HDW の増加が認められ、検体投与に関連する貧血性の変化と考えられた。さらに 52 週後の検査で 5000 ppm 投与群の雄に PT と APTT の有意な延長、同群の雌に APTT の有意な延長が認められ、これらも検体投与の影響と考えられた。

雄で認められた WBC 及び E の増加は一時的で、その他の検査項目に関連した所見がないことから偶発的なものであると判断した。その他の変動は用量との関連性のないものであった。

血液生化学的検査；前記の採取血液から血漿を分離し、次の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ、ALT、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、GGTP、クレアチニン(Creat)、尿素窒素、TP、アルブミン、Glob、アルブミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

／グロブリン比、血糖、T. Chol、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T. Bil)、  
ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム(Ca)、無機リン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

5000 ppm 投与群では GGTP と T. Chol の増加が雌雄に、また雌では TG の増加が認められ、検体投与に関連する変化と考えられた。同群の雌雄に認められた T. Bil の減少は減少であるため、Glob と TP の増加は肝機能の変化に関連するものであり抗原刺激に基づくものではないため、いずれも毒性学的意義がないと判断した。同群の雌における Creat の減少と雄における Ca の増加はいずれも一時的で、他の項目に関連する変化も認められなかったため、偶発的な変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

100 ppm 投与群の雌における TG の増加には用量との関連性がないことから偶発的なものと判断した。

眼科学的検査；投与開始前には全動物、投与 52 週時には 0 及び 5000 ppm 群の全生存動物について検査した。

対照群に比べ、統計学的に有意な発生頻度の増加を示す変化はなく、検体投与に関連のある異常は認められなかった。

尿検査；投与 13、25 及び 51 週時に、原則として血液学的検査に用いた各群雌雄 10 匹の動物より採取した尿について以下の項目を検査した。

比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、ウロビリノーゲン  
外観、尿量、尿沈渣

対照群に比べ、統計学的に有意な変化は認められず、検体投与に関連する変動は認められなかった。

臓器重量；最終計画殺時に、原則として尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査に用いた各群雌雄 10 匹を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、甲状腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣及び子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた変化を次表に示す。

肝臓に関して、5000 ppm 投与群の雌雄で絶対重量及び対体重比の有意な増加が認められた。これらの動物では検体投与に起因する生化学的検査項目の変動や病理組織学的変化が認められており、重量増加も検体投与の影響と判断した。

500 ppm 投与群の雄においても肝臓の絶対重量が有意な高値を示したが、対体重比に有意な変動はなく、他の検査項目においても関連づけられる変動が認められないことから、検体投与に基づく有害作用ではないと判断した。用量との関連性がない 100 ppm 投与群の雄における肝臓の対体重比の増加は、偶発性のものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

5000 ppm 投与群で甲状腺重量の絶対重量及び対体重比の増加が雄、同じく対体重比の増加が雌に認められ、組織学的検査において濾胞上皮細胞肥大が認められていることから検体投与の影響と判断した。

一方、500 ppm 以下の投与群の雄においても甲状腺重量が高値を示したが、用量関連性のあるものではなかった。病理組織学的検査において本系統のラットに重量の増加をもたらす自然発生的の濾胞上皮細胞水腫性変性が 30 と 100 ppm 投与群の雄各 1 例と 500 ppm 投与群の雄 2 例に認められたため、これらを除外して比較したところ、以下の結果となった。

甲状腺重量の有意な増加は 5000 ppm 投与群のみで認められ、他の投与群に有意な変動は認められなかった。したがって、甲状腺に対する検体投与の影響は 5000 ppm のみと判断する。

肉眼的病理検査；全例について常法に従って剖検を実施した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

500 ppm 投与群の雄の最終屠殺動物で甲状腺の腫大の発生頻度が有意に増加し、100 ppm 投与群の雄において皮膚脱毛の有意な減少が認められたが、用量との関連性のないものであり、偶発性のものと判断した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

病理組織学的検査; 0 及び 5000 ppm 群の全動物と投与期間中の死亡・切迫殺動物について、以下の組織及び臓器について病理標本を作成し、検鏡した。さらに 30、100 及び 500 ppm 投与群の最終屠殺動物の肝臓、甲状腺、腎臓及び肉眼的異常部位についても病理組織学的検査を実施した。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓(胸骨及び大腿骨)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、凝固腺、卵巣、子宮、膾、眼球、ハーダー腺、骨格筋(下腿三頭筋)、膝関節、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

(前ページからの続き)

5000 ppm 投与群の雌雄で、肝臓びまん性肝細胞肥大及び甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度に有意な増加が認められた。同群の雄ではさらに、肝臓門脈周囲性肝細胞脂肪化及び細胞質内好酸性封入体、ならびに腎臓尿管好塩基性化の発生頻度も統計学的に有意に増加した。これらの所見は検体投与に関連する変化と判断した。

その他の変動は毒性学的意義のない減少方向のものか、または用量依存性のないものであった。

以上の結果から、本剤の Wistar Hannover 系ラットに対する 12 カ月間飼料混入投与による 1 年間反復投与毒性試験における影響として、5000 ppm 投与群の雄で Ht の減少と HDW の増加、PT と APTT の延長、GGTP と T.Chol の増加、肝臓と甲状腺重量の増加、肝臓の門脈周囲性肝細胞脂肪化、びまん性肝細胞肥大と細胞質内好酸性封入体、甲状腺濾胞上皮細胞肥大並びに腎臓尿管好塩基性化の発生頻度の増加、雌で Hb 及び MCH の減少、RDW と HDW の増加、APTT の延長、GGTP、T.Chol、TG の増加、肝臓と甲状腺重量の増加、肝臓びまん性肝細胞肥大と甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm (雄: 22.7 mg/kg/day、雌: 30.0 mg/kg/day)であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

### 8.5.3 ラットを用いた飼料混入投与による2年間発がん性試験（資料 No. T-3.3）

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： Wistar Hannover 系ラット、1群雄雌各51匹、投与開始時5週齢

投与期間： 24カ月間（雄；2010年1月18日～2012年1月17日）

（雌；2010年1月26日～2012年1月25日）

試験方法： 検体を0、30、100、500及び5000 ppmの濃度で均一に配合した粉末飼料を前記期間中ラットに摂食させて、下記の項目について観察または検査を行った。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた臨床症状を次表に示す。

性別	雄					雌				
	0	30	100	500	5000	0	30	100	500	5000
投与量 (ppm)	0	30	100	500	5000	0	30	100	500	5000
検査動物数	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
脱毛	13	15	17	8	15	25	24	24	26	14*
口：切歯伸長 (下顎)	5	4	3	8	14*	6	5	5	9	11

Fisherの直接確率計算法 \*;  $P \leq 0.05$

5000 ppm 投与群の雄で下顎切歯伸長の発生頻度が有意に増加し、雌も増加傾向であった。しかし雌雄ともに組織学的検査において異常は認められず、偶発性のものと判断した。また同群の雌で認められた脱毛の有意な減少について、毒性学的意義はないものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験終了時の死亡率を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	30	100	500	5000
死亡率 (%)	雄	7.8	11.8	17.6	7.8	15.7
	雌	25.5	27.5	21.6	19.6	29.4

ログランク検定

対照群と比較し統計学的に有意な死亡率の増減は認められなかった。

体重変化；全動物について、投与開始時から13週までは毎週1回、16週以降は4週に1回の頻度、さらに剖検直前に体重を測定した。

対照群と比べ差の認められた週を次表に示す。

性別	雄				雌			
	30	100	500	5000	30	100	500	5000
56週	102	101	104	101	100	102	95	97
60週	103	102	105	102	100	102	96	97
64週	103	102	105	102	99	101	94	95
68週	103	102	105	101	99	101	↓93	95
72週	102	101	104	100	98	101	↓93	95
76週	102	100	103	99	98	101	↓93	94
80週	101	101	103	99	99	102	↓93	93
84週	101	101	103	99	99	101	93	93
88週	101	100	103	98	100	103	94	93
92週	100	100	102	98	100	105	95	95
96週	100	100	102	98	99	104	94	93
100週	102	101	103	98	100	104	94	93
104週	99	100	101	96	104	103	98	95

Dunnett 検定 ↑↓;  $P \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

500及び5000 ppm 投与群の雌では56~104週時に最大7%までの体重増加抑制が認められ、68~80週時は500 ppm 投与群の体重が有意な低下を示した。これらは検体投与の影響と考えられた。一方、雄においては検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全ケージについて体重と同じ頻度で測定し、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摂餌量の変化を次表に示す。

性別	雄				雌			
	30	100	500	5000	30	100	500	5000
投与量 (ppm)	30	100	500	5000	30	100	500	5000
1 週	101	101	99	↓96	101	99	96	↓94
20 週	100	101	102	103	↑107	99	102	104
24 週	101	104	104	104	105	101	103	↑107
52 週	101	101	101	↑105	105	101	98	101
56 週	101	98	103	↑105	99	96	96	100
摂餌量総平均	101	101	103	104	101	99	98	99
食餌効率総平均	97	97	100	93	105	105	95	91

Dunnett 検定 ↑↓;  $P \leq 0.05$ , ↑↓;  $P \leq 0.01$

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

5000 ppm 投与群の雌雄では 1 週時に対照群と比べ統計学的有意な減少が認められたが、逆に 24 週時には雌、52 及び 56 週時には雄で有意な増加が認められた。これらは一時的であり、変動方向に一貫性もないことから、毒性変化ではないと判断した。30 ppm 投与群の雌では 20 週時に有意な増加が認められた。この変動は用量との関連性がなく、偶発性のものと判断した。食餌効率に有意な変動はみられなかった。

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

投与量 (ppm)		30	100	500	5000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.21	4.07	20.3	210
	雌	1.55	5.02	26.1	263

血液学的検査；投与後 54 及び 78 週時に全生存動物を対象としてエーテル麻酔下で尾の先端をカットして採血した。また、104 週時の最終解剖時に全動物を対象としてイソフルラン麻酔下で開腹し、後大静脈から採血した。切迫殺動物は 2011 年 10 月 2 日まではエーテル、以降はイソフルラン麻酔下で尾の先端をカットして採血した。104 週時及び切迫殺動物の血液については次の項目について測定した。

白血球数、白血球ディファレンシャルカウント（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球）

5000 ppm 投与群の雌において LUC の増加傾向が認められたが、これは 1 例の白血病動物に起因するものであり、検体投与との関連はなかった。104 週時及び切迫殺動物には検体投与に関連する変動は認められなかった。54 及び 78 週時の血液からスミア標本は作製したが、104 週時に検体投与の影響が認められなかったため、検査は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

臓器重量；最終計画殺時に、生存動物の原則として動物番号の若い順に選抜した各群雌雄 10 匹ずつについて、以下の臓器重量を測定し対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、甲状腺、副腎、精巣、精巣上体、卵巣及び子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

5000 ppm 投与群の雄で肝臓の絶対及び相対重量の有意な増加が認められ、検体投与の影響と考えられた。

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺、中間屠殺及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

5000 ppm 投与群の雌では、最終屠殺時に肝臓の暗調化が所見され、最終屠殺動物と全動物の発生頻度は対照群と比べ統計学的に有意な増加を示した。組織学的検査の結果、これらの動物の肝細胞中にリポフスチン沈着が所見されたことから、検体投与に起因する可能性がある。【申請者注：従って、肝臓の暗調化は検体投与に起因する有害作用と判断した。】

一方、口腔の下顎切歯不正咬合の発生頻度に関して、同群の雄では最終屠殺例及び全動物、雌では最終屠殺例でそれぞれ有意に増加した。しかし組織学的検査において上下の歯組織に異常は認められず、偶発性のものと判断した。その他の変動は減少方向あるいは用量との関連性のないものであり、偶発性のものと判断した。

病理組織学的検査; 0 及び 5000 ppm 投与群の全動物と投与期間中の死亡・切迫殺動物について、以下の組織及び臓器について病理標本を作成し、検鏡した。さらに 30、100 及び 500 ppm 投与群の最終屠殺動物の肝臓、甲状腺及び肉眼的異常部位について病理組織学的検査を実施した。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓(胸骨及び大腿骨)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、凝固腺、卵巣、子宮、膾、眼球、ハーダー腺、骨格筋(下腿三頭筋)、膝関節、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

#### [非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を別表 1 に示す。

5000 ppm 投与群の雄では、最終屠殺動物の肝臓においてびまん性肝細胞肥大と細胞質内好酸性封入体が所見され、最終屠殺動物と全動物の発生頻度は対照群と比べ統計学的に有意な増加を示した。また、同群の雌では、肝臓において肝細胞褐色色素沈着の発生頻度が最終屠殺動物と全動物で有意に増加した。この色素はシュモール反応陽性でベルリン青染色陰性であることからリポフスチンと判定された。さらに同群の雌雄ともに、甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度が最終屠殺動物と全動物でいずれも有意に増加した。これらの変化はいずれも検体投与の影響と考えられた。

一方、同群の雄の最終屠殺動物において甲状腺濾胞嚢胞化の頻度が有意に増加したが、全動物では有意差はみられないことから、偶発性のものと判断する。

その他の有意な変動は減少方向であるか、用量との関連性が明確ではないことから毒性学的意義のないものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

#### 【腫瘍性病変】

認められたすべての腫瘍性病変を別表 2 に示す。

雄の甲状腺 C 細胞増殖性病変の発生頻度を次表に要約する。

同施設において本系統のラットを用いた 2 年間飼育試験の対照群の雄において 1/51～4/51 例に認められる甲状腺 C 細胞腺腫が本試験の対照群では 0/51 例であった。これに伴い 30 及び 5000 ppm 投与群の雄において統計学的有意差が認められたが、用量との関連性はなかった。したがって、これらは偶発性のものと判断した。

【申請者注：上記表のとおり、認められた C 細胞腺腫の多くは最終屠殺例においてであり、過形成を含む増殖性病変の早期発現や悪性化の傾向は認められなかった。これらことから、C 細胞腺腫の有意な高値は偶発性のものと判断する。】

その他の腫瘍性病変は本系統のラットに通常認められるものであり、対照群との間に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本剤の Wistar Hannover 系ラットに対する 24 ヶ月間飼料混入投与による 2 年間発がん性試験における影響として、5000 ppm 投与群の雄で肝臓重量の増加、肝臓のびまん性肝細胞肥大と肝臓細胞質内好酸性封入体の発生頻度の増加、ならびに甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度の増加を認め、雌では試験後期における体重増加抑制、肝臓の肉眼的暗調化と肝細胞褐色色素沈着の発生頻度の増加、甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度の増加、500 ppm 投与群の雌で試験後期における体重増加抑制が認められたので、無毒性量は、雄は 500 ppm (20.3 mg/kg/day)、雌では 100 ppm (5.02 mg/kg/day) と判断される。

また、催腫瘍性はないものと判断される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-1 (非腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-2 (非腫瘍性病変) 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-1 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-2〔腫瘍性病変〕 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-3〔腫瘍性病変〕 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-4 (腫瘍性病変) 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-5〔腫瘍性病変〕 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-6〔腫瘍性病変〕 続き



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-7 (腫瘍性病変) 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-8 (腫瘍性病変) 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2・9 (腫瘍性病変) 続き

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.3.A IKF-5411 原体：ラットにおける毒性メカニズム試験（資料 No. T-3.3 補遺）

試験機関

報告書作成年 2015 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ラット 90 日間、1 年間及び発がん性試験において認められた甲状腺における被験物質投与に関連した変化は、これらげっ歯類に特異的な作用によるものと考えられた。

#### 8.5.4 マウスを用いた飼料混入投与による 78 週間発がん性試験 (資料 No. T-3.4)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： ICR 系マウス、1 群雌雄各 51 匹、投与開始時 6~7 週齢

試験期間： 78 週間 (2010 年 10 月 28 日~2012 年 5 月 10 日)

投与方法： 検体を雄には 0、100、800 及び 4000 ppm、雌には 0、100、800 及び 3000 ppm となるように飼料に混合し、78 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。動物の外見や行動に対して、投与の影響はなかった。

試験終了時の死亡率を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	100	800	3000	4000
死亡率 (%)	雄	16	20	22	—	16
	雌	22	39	47	25	—

ログランク検定：有意差なし

検体投与による死亡率への影響は認められなかった。

体重変化；投与開始から 16 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回、78 週目及び剖検前に全ての生存動物の体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与期間ごとの体重増加量を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	800	4000	100	800	3000
体重 増加量	0-9 週	108	105	97	102	99	92
	9-78 週	87	↓79	↓70	85	82	72
	0-78 週	95	90	↓82	94	89	↓80

Williams 検定 ↑↓;  $P < 0.05$ , ↑↓;  $P < 0.01$

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

体重増加量では雄の 4000 ppm 投与群で 9-78 週及び 0-78 週に有意な体重増加抑制が認められた。雄の 800 ppm 群では 9-78 週に統計学的に有意な低下が認められた。雌の 3000 ppm 投与群では、0-78 週に有意な体重増加抑制が認められた。これらは検体投与の影響と考えられた。

摂餌量； 全動物の摂餌量を投与開始から 16 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回記録し、78 週目にも測定した。

以下の表に摂餌量を示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	800	4000	100	800	3000
摂餌量	1-78	103	98	103	101	103	97

Williams または Dunnett または Wilcoxon の順位和検定または Shirley または Steel 検定 : 有意差なし  
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

摂餌量に関して投与の影響は認められなかった。

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。

投与量 (ppm)		100	800	3000	4000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	12	92	—	502
	雌	14	118	431	—

血液学的検査； 投与 52 週及び 78 週目に全生存動物を対象として尾静脈から採血し、血液塗抹像を作成し対照群及び高用量群 (雄 4000 ppm、雌 3000 ppm) のみ、以下の項目に関して検査した。

白血球数及び白血球ディファレンシャルカウント (好中球(N)、リンパ球(L)、単球(M)、好酸球(E)、好塩基球)、正赤芽球数、異常形態及び通常認められない細胞種

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。



52 週目の検査で雄の 4000 ppm 投与群の M 及び雌の 3000 ppm 投与群の L 並びに N が有意に増減したが、78 週目の検査では雄の 4000 ppm 投与群に E の有意な低下が認められたのみで、その他の項目に統計学的有意差は認められなかったため、これらは偶発的な変化であると考えられた。

臓器重量；試験終了時の全生存動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。  
副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、子宮及び子宮頸部

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

雄の 4000 ppm 投与群の副腎、肝重量及び副腎、脳、精巣上体、心臓、肝臓の対体重比にて統計学的に有意な増加が認められ、雌の 3000 ppm 投与群の肝臓重量及び心臓、肝臓の対体重比にて統計学的に有意な増加が認められた。このうち雄の 4000 ppm 投与群

における脳、精巣上体、心臓及び雌の 3000 ppm 投与群の心臓重量の対体重比の増加は、最終体重の低値が要因と考えられ、検体投与の影響とは考えられなかった。また、雄の全投与群に認められた副腎の対体重比での上昇には明らかな用量との関連性が認められなかったため、投与の直接的な影響とは考えられなかった。【申請者注：雄の 4000 ppm 及び雌の 3000 ppm 投与群で認められた肝重量の増加は肝細胞肥大などの組織変化を伴っていないため、検体投与への適応反応であり有害作用ではないと考えられた。雄において有意差が認められた肝臓以外の臓器では肉眼的病理検査もしくは組織病理検査にて関連した変化が認められなかったため、投与による影響とは考えなかった。雌の 100 ppm 投与群における副腎重量の高値は、1 例に副腎腫瘍（悪性褐色細胞腫）が発生し重量が 2.59g と著しい高値を示したためである。この一例を除き、申請者にて Williams 検定を実施したところ、有意差は認められなかったため、検体投与との関連はないと判断した。】

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。  
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

4000 ppm投与群の雄及び800 ppm以上の投与群の雌において肝臓腫大の発生頻度が高かった。この他の発生頻度が対照群との間で統計学的有意差を示した所見は用量との関連性が認められないか、一般的に認められる肉眼所見であった。【申請者注：800 ppm以上の投与群で卵巣囊拡張の発生頻度が有意に高かったが、一般的に加齢性に認められる所見であり、本試験においては対照群の雌でも高い発生頻度を示していた。また、卵巣の病理組織学的検査において認められた嚢胞性病変の発生頻度の合計は0、100、800及び3000 ppmでそれぞれ40、35、38及び37であり、対照群と投与群で差は認められなかった。従って卵巣で認められた本肉眼的所見の増加は検体投与との関連のないものと判断した。肉眼的病理検査で認められた肝臓腫大は病理組織学的変化を伴っておらず、検体投与に対する適応反応によるもので有害作用ではないと判断した。】

病理組織学的検査：試験終了時に剖検した対照群と高用量群（雄：4000 ppm、雌：3000 ppm）の全動物及び切迫殺動物、途中死亡動物について以下の組織について検査した。

また、100 及び 800 ppm 投与群の動物については、腎臓、肝臓及び肺を検査した。

副腎、胸部大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼、大腿骨(大腿骨-脛骨関節を含む)、胆のう、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、肝臓、肺、リンパ節(下顎、腸間膜、左腋窩)、食道、視神経、卵巣、膵臓、パリエル板、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺(下顎腺、舌下腺)、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚及び乳腺(鼠径部)、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、舌、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、膈、肉眼的異常部位

#### 〔非腫瘍性病変〕

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目及び肝細胞肥大の発生頻度を次表に示す。

次頁表に続く

前頁表の続き

認められた非腫瘍性病変は全て自然発生または加齢性に一般的に認められる所見であり、明らかな用量との関連性を示さなかったため、検体投与との関連はないと考えられた。【申請者注：雌雄の高投与量群で肝臓の臓器重量増加及び肝臓腫大が認められたため、肝細胞肥大の発生頻度を表中に記載したが、検体投与の影響は認められなかった。統計学的有意差の認められた所見はすべて自然発生または加齢性に認められるものであり、投与用量との関連性がないか、関連するその他の検査項目の変動がないため検体投与との関連がない偶発的な差と判断した。】

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を別表に示す。

投与に起因する腫瘍の発生頻度の増加は認められなかった。

以上の結果から本剤のマウスに対する78週間飼料混入投与による発がん性試験における影響として、雄の800 ppm以上の投与群で体重増加抑制、雌の3000 ppm投与群で体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雄100 ppm、雌は800 ppm(雄12 mg/kg/day、雌118 mg/kg/day)と判断される。また、催腫瘍性は無いものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-1 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1・2 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-3 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-4 (腫瘍性病変)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-5 (腫瘍性病変)

## 8.6 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

### 8.6.1 ラットにおける二世代繁殖毒性試験 (資料 No. T-4.1)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： SD系ラット (CrI:CD(SD))、1群雌雄各24匹、投与開始時4週齢

投与期間： P世代；投与開始からF<sub>1</sub>児離乳時までの約18週間  
F<sub>1</sub>世代；離乳時からF<sub>2</sub>児離乳時までの約18週間  
(2011年2月3日～2011年10月17日)

投与方法： 検体を0、100、1000及び10000 ppmの濃度で含有する飼料を自由に摂取させた。

投与量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

一般症状及び死亡；全動物を投与期間中毎日観察した。

体重； 雄親動物：投与開始日、投与期間中は週1回、及び剖検日に測定した。

雌親動物：投与開始日、生育期間中は週1回、妊娠期間中は妊娠0、7、14及び20日、  
哺育期間中は哺育0、4、7、14及び21日、及び剖検日に測定した。

摂餌量； 体重測定日に測定した。ただし、哺育4日については測定しなかった。

発情周期； P及びF<sub>1</sub>親世代の雌動物について、交配3週間前から交尾確認まで、膣垢を採取し、  
性周期を確認した。

交配及び妊娠の確認；雌雄1対1で同居させ、膣栓又は膣垢塗抹標本中の精子の観察によって交  
尾を確認し、その日を妊娠0日とした。最大交配期間を3週間とした。

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

$$\text{雄または雌の交尾率 (\%)} = (\text{交尾動物数} / \text{交配動物数}) \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = (\text{妊娠動物数} / \text{交尾動物数}) \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = (\text{正常出産動物数} / \text{妊娠動物数}) \times 100$$

分娩時観察；P及びF<sub>1</sub>親世代の妊娠雌は自然分娩させ、分娩後、性別及び外表異常の有無を検査し、死亡及び生存児数を記録した。また、個体ごとに妊娠期間を算出した。

児動物に関する指標；一般状態及び死亡について毎日観察した。体重測定は哺育0、4、7、14及び21日に実施した。生後4日に1腹8匹（雌雄各4匹）となるように児動物数を調整した。以下の指標を算出した。

$$\text{性比} = (\text{総雄産児数} / \text{総産児数})$$

$$\text{哺育0日生存率 (\%)} = (\text{哺育0日の生存児数} / \text{産児数}) \times 100$$

$$\text{哺育4日生存率 (\%)} = (\text{哺育4日の生存児数} / \text{哺育0日の生存児数}) \times 100$$

$$\text{哺育7日生存率 (\%)} = (\text{哺育7日の生存児数} / \text{哺育4日に選抜した児数}) \times 100$$

$$\text{哺育14日生存率 (\%)} = (\text{哺育14日の生存児数} / \text{哺育4日に選抜した児数}) \times 100$$

$$\text{哺育21日生存率 (\%)} = (\text{哺育21日の生存児数} / \text{哺育4日に選抜した児数}) \times 100$$

また、性成熟を評価するため、包皮分離及び膈開口をそれぞれ哺育35日あるいは26日から毎日観察し、完了日齢と体重を記録した。

精子検査；P及びF<sub>1</sub>雄親動物について、屠殺直後、全群を対象として精巢の精子頭部数、精巢上体の精子数、運動性並びに形態を検査した。

肉眼的病理検査；親動物については児動物離乳後に屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。雌親動物については、性周期を確認し、発情間期または後期の動物を剖検し、着床痕数を記録した。

児動物については継代用に選抜されなかったF<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>の離乳児、間引き児及び死亡児について外表及び内臓を肉眼的に検査した。

臓器重量；親動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、甲状腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、卵巣、子宮（頸部と卵管含む）、精巢、精巢上体、精囊（凝固腺含む）、前立腺（腹側葉）

児動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺、子宮

病理組織学的検査；対照群及び10000 ppm投与群の親動物各群雌雄10匹を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、鏡検した。

精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺、前立腺、卵巣、卵管、子宮（角部及び頸部）、  
 膣、下垂体、副腎、肉眼的異常の認められる臓器および組織

さらに、全投与群の親動物の甲状腺及び肝臓、すべてのF<sub>1</sub>雄親動物の腎臓  
 についても病理組織学的検査を実施した。

児動物については、10000 ppm投与群の臓器重量に変化が認められたため、対照群  
 と10000 ppm投与群のF<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>離乳児全例について、脳及び胸腺の病理組織学的検  
 査を実施した。

表 1. 試験手順

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
P	生育 (10 週)	雌雄 1 対 1 で交配。 交配は膣栓または膣垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)。	一般状態及び生死について毎日観察。 体重及び摂餌量を週 1 回測定。
	交配 (3 週)		交配状況の観察。
	妊娠 (3 週)		妊娠 0、7、14、20 日に雌親動物の体重 及び摂餌量を測定。 出産状況の観察
	出産 (F <sub>1</sub> )	出産後 4 日目に、同腹児数を雌 雄各 4 匹に調整 (不可能な場 合、雌雄計 8 匹)。	児の一般状態、生存及び死亡児数の記 録、性別及び外表異常の検査。
	哺育 (21 日)		一般状態及び生死について毎日観察。 哺育 0、4、7、14、21 日に雌親動物の体 重、摂餌量 (哺育 4 日を除く)、生存児動 物の体重測定、生存児数性別の記録。 途中死亡及び哺育 4 日に選抜されなかつ た児動物の肉眼的病理検査。
	離乳	継代用に各腹雌雄各 1 または 2 匹の児動物を無作為に選抜。	全ての親動物及び継代用以外の F <sub>1</sub> 児動 物を剖検。親動物及び児動物の臓器重量 測定、病理組織学的検査。
F <sub>1</sub>	生育 (10 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	交配 (3 週)		(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	出産 (F <sub>2</sub> )	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
哺育 (21 日)	(P 世代に準ずる)		
	離乳		全ての親動物及び児動物を剖検。 親動物及び児動物の臓器重量測定、病理 組織学的検査。
F <sub>2</sub>			

結 果： 概要を表2に示した。

【親動物】

一般状態及び死亡；検体投与に関連した一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

3例の雄親動物が死後発見されたが、これらは事故死（鼻骨骨折）であり、検体投与との関連はなかった。

体重； 10000 ppm投与群のP及びF<sub>1</sub>世代雄親動物の体重（P：投与1週、F<sub>1</sub>：投与0～5週）が対照群と比較して有意に低い値であった。10000 ppm投与群のP世代雌親動物の投与6週の体重は低値であり、哺育21日の体重が統計学的有意に高値であった。この高値の毒性学的意味は明らかではないが、検体投与の影響であると考えた。F<sub>1</sub>世代については、投与0～9週、妊娠0～14日の体重が有意に低値であった。100及び1000 ppm投与群については、雌雄親動物のいずれの世代においても検体投与の影響と考えられる影響は認められなかった。

体重増加量；雄親動物については10000 ppm投与群のP世代の投与0～1及び0～2週、F<sub>1</sub>の投与0～2及び0～3週において対照群と比較して有意に低い値であった。10000 ppm投与群のP世代雌の投与0～4、0～6、0～7、0～8及び0～9週で低値であった。F<sub>1</sub>世代については、哺育0～21日の体重増加量が統計学的有意に高値であった。この高値の毒性学的意味は明らかではないが、検体投与の影響であると考えた。100及び1000 ppm投与群については、雌雄親動物のいずれの世代においても検体投与の影響と考えられる影響は認められなかった。

摂餌量； 全ての検体投与群の摂餌量は、試験期間を通して対照群とほぼ同等であった。

発情周期； いずれの投与群においても発情周期に検体投与に関連した異常は認められなかった。

繁殖性に関する指標；交尾率、交尾までの日数、受胎率、出産率、妊娠期間、着床痕数はいずれの投与群においても対照群と同等であった。

精子検査； いずれのパラメーターについても検体投与群と対照群に有意な差は認められなかった。

肉眼的病理検査；いずれの投与群においても検体投与に起因した異常の増加は認められなかった。

臓器重量； 10000 ppm投与群のP世代雄親動物の肝臓及び甲状腺の絶対重量及び対体重比に有意な増加が認められた。F<sub>1</sub>世代雄親動物についてはすべての検体投与群で肝臓の絶対重量、100及び10000 ppm投与群では肝臓の対体重比の有意な増加が認められた。しかし、100及び1000 ppm投与群については病理組織学的変化が認められなかったことから、肝臓重量の変化は有害影響ではないと判断した。100及び1000 ppm投与群の腎臓の絶対重量が統計学的有意に増加したが、対体重比に有意な変動は認められなかった。10000 ppm投与群では脾臓の絶対重量が統計学的有意に低値であったが、対体重比に影響は認められなかった。100 ppm投与群の精巣上体及び精囊の対体重比が統計学的有意に低値であったが、1000及び10000 ppm投与群では変動は認

められなかった。

【申請者注：100及び1000 ppm投与群のF<sub>1</sub>世代雄親動物における腎臓の絶対重量の増加については、病理組織学的変化もなく、世代間の一致もないため、偶発的な変動であると考えた。100 ppm投与群の精巣上体及び精嚢重量の変化についても、より高い用量で同様の変化が認められず、世代間の一致もないため、偶発的な変動であると考えた。】

P及びF<sub>1</sub>世代雌親動物において肝臓の絶対重量及び対体重比が1000及び10000 ppm投与群で有意に増加したが、1000 ppm投与群の雌親動物については病理組織学的変化が認められなかったことから、肝臓重量の変化は有害影響ではないと判断した。10000 ppm投与群のP及びF<sub>1</sub>世代において甲状腺の対体重比の有意な増加が認められたが、絶対重量の統計学的有意な増加はP世代のみであった。

病理組織学的検査；10000 ppm投与群のP及びF<sub>1</sub>世代雄親動物及びF<sub>1</sub>世代雌親動物において肝臓のびまん性肝細胞肥大の発生頻度の増加が認められた。

10000 ppm投与群のP及びF<sub>1</sub>世代雌雄親動物において甲状腺濾胞上皮細胞肥大の増加が認められた。

原始卵胞数については10000 ppm投与群は対照群と同等であった。

F<sub>1</sub>世代雄親動物の全例を対象として腎臓の病理組織学的検査を実施したが、統計学的有意な所見の増加は認められなかった。

#### 【児動物】

一般状態； 検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。

外表検査において、対照群、1000及び10000 ppm投与群のF<sub>2</sub>児動物に合指/欠指が観察されたが、これらは同様の外表奇形であり、対照群でも認められていることから、検体投与に起因した影響ではなく、遺伝性の所見である可能性が示唆された。奇形児が認められた腹の雌雄親動物を試験系から除外し確認試験を実施した結果、F<sub>2</sub>児動物で認められた合指/欠指は遺伝的要因に起因した奇形であることが証明され、検体投与との関連性はないことが明らかとなった（資料No. T-4.1補遺）。

児動物に関する指標；産児数、生存率、包皮分離完了日齢及び完了時体重については対照群と同等であった。10000 ppm投与群の膻開口完了日齢が対照群と比較して有意に遅延していたが、完了時体重は同等であったことから、膻開口完了日齢の遅延は体重低下による二次的な変動であると考えられた。

100 ppm投与群のF<sub>2</sub>児動物の性比に統計学的有意な変動が認められたが、1000及び10000 ppm投与群で同様の変化が認められないことから、偶発的な変動と判断した。

体重； 10000 ppm投与群のF<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>雌雄児動物で哺育21日の体重が対照群より有意に低い値を示した。その他の投与群には検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡した児動物、哺育4日に安楽死させた児動物及び哺育26日で安楽死させた離乳児に、数例の肉眼的病理所見が各群に散見されたが、それらの剖検所見の腹ごとの頻度の平均値には、対照群と各投与群との間で統計学的有意差は認められず、検体投与に関連した影響はないと判断した。

臓器重量；10000 ppm投与群の雌雄児動物で脳の対体重比が統計学的有意な増加、胸腺の絶対重量の有意な低下が認められ、F<sub>2</sub>雄児動物でのみ胸腺の対体重比の低下が認められた。しかし、病理組織学的検査では検体投与に起因する変化が認められなかったことから、これらは有意な体重低下に起因したものと考えられた。10000 ppm投与群のF<sub>1</sub>雄児動物及びF<sub>2</sub>雌児動物において脾臓の絶対重量の低下が認められたが、対体重比は対照群と同等であったことから、偶発的な変動であると考えられた。

病理組織学的検査；10000 ppm投与群の脳及び胸腺について、検体投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤をラットに二世代にわたって飼料中に混入して投与した場合、10000 ppm投与群の親動物では、体重及び体重増加量の低下、肝臓及び甲状腺重量の増加、肝臓のびまん性肝細胞肥大及び甲状腺濾胞上皮細胞肥大の出現頻度の増加が認められた。児動物については、10000 ppm投与群で哺育21日の体重低下が認められた。繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。

従って、無毒性量は親動物及び児動物に対して1000 ppm (P：雄 57.1 mg/kg/day、雌 90.5 mg/kg/day、F<sub>1</sub>：雄 60.1 mg/kg/day、雌 89.1 mg/kg/day)であり、最高投与量の10000 ppm (P：雄 594 mg/kg/day、雌 908 mg/kg/day、F<sub>1</sub>：雄 643 mg/kg/day、雌 906 mg/kg/day)においても繁殖能に影響を及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表2-1 結果の概要（親動物）



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-2 結果の概要（親動物：続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 結果の概要 (児動物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.1.A 二世世代繁殖毒性試験において F<sub>2</sub> 哺育児に多発した複合奇形への親動物における遺伝的  
変異の関与の検討 (資料 No. T-4.1 補遺)

試験機関

報告書作成年 2012 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

よって、繁殖毒性試験の1000及び10000 ppm 投与群のF<sub>2</sub>哺育児で認められた合指／欠指を含む複合奇形は検体投与との関連はないものと判断した。

## 8.6.2 ラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2)

試験機関

報告書作成年 2010年【GLP 対応】

検体純度： %

供試動物： SD系性成熟未経産雌ラット、約70日齢、1群22匹、試験開始時体重 213~283 g

投与期間： 妊娠6~19日の14日間 (2010年6月14日~6月30日)

投与方法： 検体を0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、100、300及び1000 mg/kgの投与量で妊娠6~19日 (膈垢中の精子の存在または膈栓が確認された日を妊娠0日として起算)の14日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒の0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを投与した。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物： 生死及び一般状態を毎日観察し、妊娠0、3、6~20日に体重を測定し、妊娠0~2、3~5、6~9、10~13、14~17及び18~19日に摂餌量を測定した。妊娠20日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床痕数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数を記録した。また全ての動物について肝臓重量を測定した。

生存胎児： 胎児体重及び胎盤重量測定、性別判定を実施し、外表検査を行った。各腹約1/2の胎児についてブアン液で固定後、内臓異常の有無を検査し、残りの胎児についてはアリザリンレッド及びアルシアンブルーで染色、骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。観察された所見は、奇形 (Major abnormalities：稀で、有害、致死的な所見)、異常 (Minor abnormalities：比較的頻繁に観察される、ごく軽度の有害影響がある、正常からのわずかな逸脱または発達における一時的な段階)及び変異 (Variants：対照集団で観察される代替構造または通常発達中に認められる段階。例：肋骨数の変化、第5及び第6胸骨分節未骨化)に分類した。【申請者注：報告書の胎児検査結果表にVariants (変異)という言葉は記載されていないが、所見の分類定義を考慮するとminor skeletal abnormality and necropsy finding表中のRib and vertebral configuration (肋骨及び脊椎構造)及びIncomplete ossification/

unossified (不完全骨化/未骨化)が変異に該当すると考えられる。】

結 果： 概要を次頁の表に示した。

親動物： 1000 mg/kg/day投与群の1例が投与ミスによる状態悪化のため切迫殺された。

いずれの投与群においても検体投与によると考えられる死亡、一般状態の異常は認められず、体重、体重増加量、補正体重及び補正体重増加量はすべての投与群において同等であった。

【申請者注：妊娠6～8日の体重増加量について100 mg/kg/day投与群で統計学的有意に低値であったが、300 mg/kg/day以上の投与群では有意な低下は認められておらず、以降の体重増加量についてはすべての検体投与群において対照群と同等であったことから、偶発的な変動であると考えた。】

妊娠6～9日の摂餌量が全ての検体投与群において対照群よりもわずかに低い値を示したが、妊娠0～5日の1000 mg/kg/day投与群では摂餌量が有意に低値であることから、投与開始前からの連続した傾向であり、検体投与の影響ではないと判断した。

300及び1000 mg/kg/day投与群において、肝臓重量の増加が認められた。

黄体数、着床痕数、生存胎児数及び着床後胚死亡率については、いずれの群においても検体投与に起因する影響は認められなかった。

胎児動物： 全ての投与群において胎児体重、胎盤重量及び性比、外表、内臓及び骨格検査において、検体投与に関連した影響は認められなかった。

なお、すべての検体投与群において、頭蓋骨中心、胸椎椎体、仙尾椎椎弓及び骨盤骨の骨化程度の増加（不完全骨化／未骨化の発生頻度の低下）が認められたが、これらの所見の発生頻度は背景対照データの範囲内であり、胎児体重の増加または骨化亢進のマーカー（頸椎または仙尾椎椎体または指骨の骨化）の増加ではないため、これらの骨化程度の増加には毒性学的意義はないと考えられた。

また、1000 mg/kg/day投与群において血液貯留 (Haemorrhages)：脳及び臍動脈：脳の室間孔拡張は正常の範囲内であった。また左側臍動脈が認められた胎児/腹の発生頻度が増加していたが、その頻度 (%) は試験実施施設の背景値の範囲内であったため、本所見は正常の範囲内であると考えられた。この左側臍動脈の生物学的意義は不明であるものの、検体投与による有害影響ではないと考えられた。

【申請者注：左側臍動脈の発胎児数あたりの生頻度は、本試験では1000 mg/kg/day投与群で3.3%であるのに対し、背景値は4.5%であった。】

内臓検査において300 mg/kg/day投与群の横隔膜：肝臓突出を伴う菲薄及び肝臓：尾状葉後部裂が有意に増加していたが、1000 mg/kg/day投与群では有意な増加は認められておらず、偶発的な変動であると考えられた。また1000 mg/kg/day投与群の臍動脈：左側については上述の通り、正常の範囲内であることから、300及び1000 mg/kg/day投与群における内臓異常が認められた胎児数及び/または腹数の増加は偶発的な変動であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

骨格検査については、上述した頭蓋骨中心、胸椎椎体、仙尾椎椎弓及び骨盤骨の骨化程度の増加に加えて、舌骨及び頸椎椎弓 (300 mg/kg/day)、胸骨分節 (第5及び/または第6胸骨分節 : 1000 mg/kg/day、その他 : 100、300及び1000 mg/kg/day)の不完全骨化/未骨化の発生頻度が有意に低下していたが、上述の通り、毒性学的意義はないと判断した。】

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに0、100、300及び1000 mg/kgの投与量で経口投与した結果、母動物の無影響量は1000 mg/kg/dayであり、胎児については300 mg/kg/dayと考察した。最高投与量の1000 mg/kg/dayにおいても催奇形性はないと判断された。

【申請者注 : 1000 mg/kg/day群で認められた左側臍動脈の腹あたりの発生頻度には統計学的有意差が認められた。背景値からも左側臍動脈は対照群において一般的に観察される所見であることは明らかであるが、その毒性学的意義は不明である。従って検体投与の影響は否定できないと考え、本試験の胎児における無毒性量を300 mg/kg/dayと考察した。】



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：親動物・胎児動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

### 8.6.3 ウサギにおける催奇形性試験 (資料No. T-4.3)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： 日本白色種ウサギ (Kbl:JW)、性成熟未経産雌、18または19週齢、1群25匹、  
入荷時体重3.00～3.86 kg

投与期間： 妊娠6～27日の22日間 (2011年9月19日～2011年10月19日)

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、100、300及び1000  
mg/kgの投与量で、妊娠6～27日 (人工授精した日を妊娠0日とした)の22日間、毎日  
1回強制経口投与した。なお、対照群には1%カルボキシメチルセルロース水溶液を  
同様に投与した。

投与量設定根拠；

試験項目：

親動物； 生死及び一般状態を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15、18、21、24、27及び28  
日に体重を測定した。摂餌量は妊娠0、3、6、9、12、15、18、21、24、27及び  
28日に測定した。

妊娠28日に帝王切開を行い、肝臓重量及び妊娠子宮重量測定、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床痕数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数を記録した。

生存胎児； 体重測定、性別判定を実施し、外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常  
の有無を検査後、アリザリンレッドSで染色し、骨格標本を作製して骨格異常の有無  
を検査した。認められた所見は奇形及び変異に分類した。

結 果： 概要を次頁の表に示した。

親動物； いずれの投与群においても検体投与によると考えられる死亡の発生は認められなかった。すべての投与群で臨床所見が散見されたが、対照群と比較して出現頻度が有意に増加した所見はなかった。

1000 mg/kg/day投与群で妊娠6～9、6～12及び6～21日の体重増加量及び妊娠6～9日の摂餌量が有意に低い値であった。また、肝臓の絶対重量及び対体重比が統計学的有意に増加した。

300 mg/kg/day投与群において妊娠6～9、9～12日の摂餌量が統計学的有意な低下を示したが、1000 mg/kg/day投与群の妊娠9～12日の摂餌量には影響がなかったため、300 mg/kg/day投与群で認められた変動は生物学的意義がないと考えられた。また、肝臓の肉眼的退色の出現頻度の有意な減少も毒性学的意義のない方向であった。妊娠子宮重量、黄体数、着床痕数、着床前胚死亡率については、対照群と検体投与群の間に統計学的有意な差は認められず、検体投与によると考えられる影響はないと考えられた。

胎児動物； 全ての検体投与群において、生存胎児数、着床後胚死亡率、性比、胎児体重及び胎盤重量は対照群と同等であった。

外表、内臓及び骨格検査において、いずれの投与群においても、検体投与に起因する奇形または変異の発生頻度の増加は認められなかった。

【申請者注：胎児検査において、所見が認められた胎児数及び腹数についてFisherの直接確率計算法により申請者が統計検定を行ったところ、仙椎前椎骨数27が認められた胎児数が300及び1000 mg/kg/day投与群で、さらに過剰肋骨が認められた腹数が100 mg/kg/day投与群において有意に増加していた。しかし以下の表に示すとおり、毒性学的評価上、より適切なパラメーターと考えられる当該所見を認めた胎児の腹あたりの出現頻度をDunnnett型検定で比較したところ、いずれの投与群においても有意差は認められなかった。

以上から、すべての検体投与群において胎児の外表、内臓及び骨格に検体投与に起因した影響はないと判断した。】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに0、100、300及び1000 mg/kg/dayの投与量で経口投与した結果、1000 mg/kg/day投与群の母動物で体重増加量及び摂餌量が低下し、肝臓重量が増加したが、胎児についてはいずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。よって、母動物の無毒性量は300 mg/kg/dayであり、胎児に対する無毒性量は1000 mg/kg/dayであると判断される。なお最高投与量の1000 mg/kg/day投与群においても催奇形性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：親動物・胎児動物



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

## 8.7 変異原性

### 8.7.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. T-5.1)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度 :            %

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

検体は DMSO に溶解し、61.7~5000 µg/プレート の 5 または 6 用量で試験した。試験は 3 連制とし、2 回行った。

用量設定根拠:

結 果 : 結果を次表に示した。

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

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN<sub>3</sub> 及び 9-AA では S9 Mix の非添加で、また 2-AA では S9 Mix の添加によりすべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 本試験 I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 本試験Ⅱ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

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

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の株化細胞である CHL 細胞を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について行い、試験は 2 回行った。

用量設定根拠；

結 果： 結果を次表に示した。

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

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

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

染色体異常試験結果（短時間処理法の非活性化法）

## 染色体異常試験結果（短時間処理法の活性化法）



## 染色体異常試験結果

## 染色体異常試験結果

### 8.7.3 マウスを用いた小核試験 (資料 No. T-5.3)

試験機関

報告書作成年 2010年[GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： CD1 (ICR)系雄マウス、(7 週齢、体重 31.7~41.5 g)

1 群各 5 匹

試験方法： 検体を 0.5 %メチルセルロースに懸濁し、500、1000 及び 2000 mg/kg の投与レベルで強制的に単回経口投与した。なお、対照群に 0.5 %メチルセルロースを同様に投与した。投与後 24 及び 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、3%ギムザ液で染色し骨髓標本を作製した。陽性対照群はマイトマイシン C を用い、24 時間後に動物を屠殺した。各標本について、2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。また、細胞毒性を調べるために 1000 個以上の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

用量設定根拠：

結 果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

いずれの投与群においても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 観察結果

8.7.4 ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (資料 No. T-5.4)

試験機関

報告書作成年 2011年[GLP 対応]

検体純度: %

試験方法: マウスリンパ腫細胞由来の L5178Y TK<sup>+/+</sup>細胞を用いて、代謝活性化系及び非代謝活性化系によって Tymidine kinase 遺伝子座を用いて遺伝子突然変異誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解した。試験には以下の用量を設定した。

試験 I: 2.8、8.3、25、75 及び 225 µg/mL (公比 3)

試験 II: 14.1、28.1、56.3、112.5 及び 225 µg/mL (公比 2)

用量設定根拠:

結果: 結果を次ページ以降の表に示した。

試験 I では、検体処理群代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で突然変異頻度の有意な増加は認められなかった。

試験 II では、代謝活性化の存在下で 112.5 µg/mL 用量で突然変異誘発率に統計学的に有意な増加が認められたが、強い細胞毒性の認められる濃度であることから生物学的意義はないと判断した。

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

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、L5178Y TK<sup>+/+</sup>細胞に対し突然変異を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 試験 I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 試験Ⅱ

## 8.8 生体機能影響

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

試験機関：

報告書作成年： 2012年 [GLP対応]

検体純度： %

#### 1) 中枢神経系に対する作用

##### ① マウスにおける一般状態

供試動物： ICR系マウス、6週齢、体重 雄 26.4~31.6 g、雌 23.0~28.0 g、1群雌雄各3匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して0、500、2000 mg/kgを単回経口投与し、検体投与前日、投与後1、3、6時間、1、2及び3日後に一般症状を多次元観察法 (Irwin法を参考)で観察した。

結果： いずれの用量群の雌雄においても、死亡及び検体投与に起因する著しい体重変化は認められなかった。少数例に一般症状の軽微な変化は見られたが、用量及び出現時間に検体投与との関連性がなく、偶発変化と判断した。500及び2000 mg/kg群の雌雄ともに、いずれも検体投与による一般症状への影響は、認められないと判断した。

##### ② ラットにおける一般状態

供試動物： SD系ラット、8週齢、体重 雄 260~283 g、雌 192~208 g、1群雌雄各5匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して0、500、2000 mg/kgを単回経口投与し、検体投与前日、投与後1、3、6時間、1、2及び3日後に一般症状を多次元観察法 (FOB法を参考)にて観察した。

結果： いずれの用量群の雌雄においても、死亡及び検体投与に起因する著しい体重変化は認められなかった。500及び2000 mg/kgの雌雄ともにいずれの観察時点においても検体投与に起因する一般症状への有意な変化は認められなかった。



## 2) 呼吸・循環器系に対する作用

### ① ラットの呼吸器系に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、8週齢、体重 雄 244~278 g、1群5匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、0、500、2000 mg/kg を単回経口投与し、呼吸を測定した。測定は、検体投与前日、投与1、3、6時間及び1日後に行った。

結果： 2000 mg/kg 群において投与1時間後に有意な呼吸回数の減少が認められた。しかし、この時の呼吸回数値は 158 counts/min で、試験実施施設の背景値 (179±51 counts/min)の変動範囲内であることから、検体投与による影響ではないと判断した。

### ② ラットの循環器系に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、8週齢、体重 雄 278~299 g、1群5匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、0、500、2000 mg/kg の用量を単回経口投与し、収縮期血圧及び心拍数を測定した。測定は、検体投与前日、投与1、3、6時間及び1日後に行った。

結果： いずれの観察時点においても検体投与に起因する変化は認められなかった。

## 3) ラットの消化器系に対する作用

### ① 炭末輸送能に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、8週齢、体重 雄 249~272 g、1群8匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、一晩絶食したラットに0、500、2000 mg/kgの用量を単回経口投与し、3時間後に5%炭末懸濁液を10 mL/kgで経口投与した。炭末懸濁液投与30分後に屠殺し、速やかに消化管（胃から直腸まで）を摘出して伸展した。幽門から回盲口に至る小腸の全長及び幽門から炭末先端までの長さ（炭末移行長）を測った。

結果： 2000 mg/kg投与群において、小腸の全長及び炭末移行長に統計学的有意差が認められたが、炭末移行率には有意差は認められないことから、検体投与による影響ではないと判断した。

以上の試験結果より、本剤は、マウス及びラットに対して一般症状に影響を及ぼさず、ラットの呼吸回数、血圧、心拍数及び消化管への影響も認めなかった。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (媒体)	投与量 (mg/kg)	動物数/ 群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果
一般状態 (多次元 観察法)	マウス	経口 (1%CMC·Na)	0, 500, 2000	雄 3 雌 3	—	2000	雌雄とも 2000 mg/kg で影響なし
	ラット	経口 (1%CMC·Na)	0, 500, 2000	雄 5 雌 5	—	2000	雌雄とも 2000 mg/kg で影響なし
呼吸器系 (呼吸状態, 呼吸数)	ラット	経口 (1%CMC·Na)	0, 500, 2000	雄 5	—	2000	呼吸回数及び呼吸状 態とも、2000 mg/kg で影響なし
循環器系 (血圧, 心拍数)	ラット	経口 (1%CMC·Na)	0, 500, 2000	雄 5	—	2000	血圧及び心拍数とも、 2000 mg/kg で影響な し
消化器系 (小腸炭末 輸送能)	ラット	経口 (1%CMC·Na)	0, 500, 2000	雄 8	—	2000	小腸炭末輸送能検査 の結果、2000 mg/kg で影響なし

1%CMC·Na: 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 8.9 その他の毒性

### 8.9.1 雌マウスを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与免疫毒性試験

(資料 No. T-7.1)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

従って、本剤の雌マウスにおける免疫毒性の無影響量は、7000 ppm (1380 mg/kg/day)より高いと判断される。

## 8.10 代謝物の毒性

### 8.10.1 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-1)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度: %

試験動物: SD系雌ラット、投与時8週齢、体重166~177g、1群3匹

観察期間: 14日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体を0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して経口投与した。投与前に1晩絶食した。検体純度による補正を実施して投与液の調製を行った。

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

結 果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	投与後30分から発現 投与翌日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状としては、鎮静、呼吸緩徐、眼瞼下垂及び流涎が観察された。観察期間中に死亡例はなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

8.10.2 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. TM-2)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体純度： %

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

検体は DMSO に溶解し、本試験 I は 61.7~5000 µg/プレート の 5 用量、本試験 II は 313~5000 µg/プレート の 5 用量で試験した。試験はプレインキュベーション法を用いて 3 連制で 2 回実施した。

用量設定根拠；

結 果： 結果を次表に示した。

本試験 I 及び II において、検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN<sub>3</sub>、9-AA では S9 Mix の非添加で、また 2-AA では S9 Mix の添加によりすべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 I



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 本試験Ⅱ

## 8.11 製剤の毒性

### 8.11.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.1)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体の純度：イソフェタミド 36.0%フロアブル

製剤組成：イソフェタミドを (w/w)含有

試験動物：SD 系ラットの雌動物、投与時 8～12 週齢、体重 211～234 g、6 匹

観察期間：14 日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を 1%w/v メチルセルロース水溶液に懸濁して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与前、投与 8 及び 15 日目に体重を測定した。観察終了時に全供試動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状は観察期間を通じて認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

### 8.11.2 ラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-1.2)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体の純度：イソフェタミド 36.0%フロアブル

製剤組成； イソフェタミドを (w/w)含有

試験動物： SD 系ラット、投与時 8~12 週齢、体重雄 346~371 g、雌 226~249 g、  
1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 検体を背部に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目： 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 8 及び 15 日目に体重を測定した。観察終了時に全供試動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	全身の中毒症状なし 皮膚の紅斑・痲皮 投与後 5 日から発現 投与後 13 日に消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

全身性の中毒症状は観察されなかった。

雌 3 匹で体重増加抑制が認められたが、その他の動物は全て、試験期間を通じて十分な体重増加を達成したと判断した。

剖検所見では、雌雄共に主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に軽微な紅斑や痲皮が認められたが、投与後 13 日目には回復した。

### 8.11.3 ラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 No. TF-1.3)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体の純度：イソフェタミド 36.0%フロアブル  
製剤組成； イソフェタミドを % (w/w)含有

供試動物： Wistar系ラット、雄 8~9週齢、雌 11~12週齢、  
体重；雄 255~257g、雌 201~205g、1群雌雄各3匹

観察期間： 14日間

暴露方法： 純水で80%に希釈した検体をジェットアトマイザーを用いてミストを発生させ、4時間にわたり鼻部を暴露した。なお、5.13 mg/Lはミスト発生可能な最高濃度であった。  
暴露空気はガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。ガラスフィルターを乾燥させたのちに実施した添加回収実験による非揮発性物質の割合は38.8%であった。

暴露条件；

名目濃度 (mg/L)	120
実際濃度 (mg/L)	5.13
粒子径分布 (%) <sup>1)</sup>	
21.3 (µm)	0
14.8	0.8
9.8	10.5
6.0	26.5
3.5	25.5
1.55	28.8
0.93	5.0
0.52	1.3
空気力学的質量中位径 (µm)	4.10
呼吸可能な粒子 (<3.5 µm)の割合 (%)	60.6
チャンバー容量 (L)	40
チャンバー内通気量 (L/分)	25
暴露条件	ミスト、4時間、鼻部暴露

<sup>1)</sup> 重量測定法により、4回測定した平均

観察・検査項目：暴露中及び暴露後14日間、中毒症状及び死亡を観察した。  
観察期間終了時の全生存動物につき肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 果：

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	5.13
LC <sub>50</sub> (mg/L)	雌雄共 >5.13
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 死亡なし
症状発現時間及び消失時間	暴露後 10 分から発現 暴露後 3 時間 30 分に消失
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄共 5.13

雌の全動物で耳介の蒼白が、1例で不活発が、2例で啼鳴が観察された。  
肉眼的病理検査では、6例中5例の動物でわずかな鼻腔の発赤が観察された。

#### 8.11.4 ウサギにおける皮膚刺激性試験 (資料 No. TF-1.4)

試験機関

報告書作成年 2011年 [GLP 対応]

検体の純度：イソフェタミド 36.0%フロアブル

製剤組成：イソフェタミドを % (w/w)含有

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、雌、11週齢、体重 2.166~2.386 kg、  
1群3匹

観察期間： 72時間

投与方法： 検体貼付の約24時間前にウサギの体幹背部を刈毛、除毛して、左右2箇所  
の検体貼付部位 (各 2.54 cm×2.54 cm)を設けた。検体 0.5 mLを左側の貼  
付部位の皮膚に直接塗布し、その上をガーゼパッチ (2.5 cm×2.5 cm)で覆  
った。更にその上をリント布及び非刺激性の粘着テープ (Transpore™, 3M)  
で被覆した。4時間貼付した後、脱イオン水で皮膚に残った検体を拭き取っ  
た。右側の貼付部位は対照皮膚として、検体塗布を除き、同様の処置をした。

観察項目： 貼付除去 1、24、48 及び 72 時間後に貼付部位を観察し、「農薬の登録申請  
に係る試験成績について」(12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)  
別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」記載の基  
準に従って皮膚反応を採点し、その採点結果を基に、GHS分類に従って刺  
激性を評価した。  
また、一般状態の観察を毎日1回、体重の測定を、検体貼付日及び最終観察  
日に実施した。

結 果： 皮膚反応の採点結果を次頁の表に示した。  
すべての動物において、観察期間を通じて検体貼付部位及び対照皮膚のいず  
れにも皮膚反応は認められなかった。  
また、一般状態及び体重変化の異常も認められなかった。

以上の結果から、イソフェタミド36.0%フロアブルは、ウサギの皮膚に対し  
て無刺激性であるものと考えられる。

表 皮膚反応の評価点

動物番号		観察項目	最高評点	暴露開始後における皮膚反応評点			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
2	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
3	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
合計	検体	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
		浮腫	12	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
		浮腫	12	0	0	0	0
平均	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0

#### 8.11.5 ウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-1.5)

試験機関

報告書作成年 2011年 [GLP 対応]

検体の純度：イソフェタミド 36.0%フロアブル

製剤組成； イソフェタミドを % (w/w)含有

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、雌、11 週齢、体重 2.344~2.389 kg、  
1 群 3 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 事前に眼の検査を実施し、眼の異常や角膜の損傷の認められないウサギを試験に用いた。左目の結膜嚢内に検体 0.1 mL を適用し、検体の流失を防ぐため、およそ 1 秒間上下眼瞼を軽く合わせた。適用した側と反対側の眼を無処理対照とした。洗眼は行わなかった。

観察項目： 検体適用 1、24、48、72 時間後に一般状態及び眼の反応を観察した。眼の反応の採点は「農薬の登録申請に係る試験成績について」（12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知）別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」記載の基準に従って行い、GHS 分類に従って刺激性を評価した。

結 果： 眼反応の評点を次頁の表に示した。

すべての動物において、角膜及び虹彩に刺激性反応は認められなかった。また、その他の眼の異常及び一般状態の異常はすべての動物で認められなかった。

以上の結果から、イソフェタミド 36.0%フロアブルは、ウサギの眼粘膜に対して無刺激性であるものと考えられる。



表 眼刺激性採点

動物 番号	観察項目		最高 評点	適用後時間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
2	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
3	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
合計			60	0	0	0	0
平均			20.0	0.0	0.0	0.0	0.0

8.11.6 モルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. TF-1.6)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体の純度：イソフェタミド 36.0%フロアブル

製剤組成；イソフェタミドを % (w/w)含有

供試動物： Hartley 系モルモット、雌、6 週齢、体重 321~423 g  
検体感作群 20 匹、検体非感作群 10 匹

観察期間： 惹起除去後 48 時間

試験操作： [Buehler 法]

投与量設定根拠；

感 作； 感作前日に動物の左側胴部を刈毛、除毛して貼付部位を設け、直径 2.5cm のリント布に塗布した 0.2 mL の検体原液を貼付部位に貼付し、その上をサージカルテープで被覆し、6 時間閉塞貼付した。この操作を 7 日置きに 3 回実施した。非感作群には、検体を除いて、同様の処置をした。  
陽性対照群にはエタノールで 0.1%に希釈した 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (DNCB) 貼付した。

惹 起； 1 回目の感作の 28 日後、前日に刈毛、除毛した右側腹部に、検体原液 0.2 mL を感作時と同様の方法で 6 時間貼付した。  
陽性対照群には、アセトンで 0.25%に希釈した DNCB を検体と同様の操作により貼付した。

観察項目： 惹起貼付除去の 24 時間後及び 48 時間後に貼付部位を観察し、皮膚反応（紅斑及び浮腫）について、以下の基準に従って採点した。採点結果を基に感作率（陽性動物数／感作動物数）を算出し、Magnusson & Kligman (1969)の基準に従って、感作性の強度を分類した。感作率が 0% の場合は感作性陰性とした。感作群において非感作群に認められた最高評点を上回る反応を認めた動物を感作陽性動物とし、24 もしくは 48 時間後のいずれかの観察で認められた最高評点をその動物の皮膚反応評点とした。

皮膚反応	評点
肉眼的に変化なし .....	0
散在性または斑状の紅斑 .....	1
中等度のびまん性紅斑 .....	2
強い紅斑及び浮腫 .....	3

結果： 皮膚反応の観察結果を次頁の表に示す。  
検体感作群、検体非感作群ともに、いずれの観察時間においても皮膚反応は全く認められなかった。従って、検体感作群の感作陽性動物数は 0/20 例であり、感作陽性率は 0% であった。検体の感作性は陰性であった。  
陽性対照群については平行して実施してはいないが、定期的の実施し、適切な結果（陽性率 DNCB 投与群：100%、対照群：0%、実施日：2011 年 9 月 16 日～2011 年 11 月 30 日、試験番号 I-4056）が得られているため、試験の妥当性は証明されたものとする。  
以上の結果から、イソフェタミド 36.0%フロアブルの皮膚感作性は陰性であると判断する。

表 皮膚反応採点結果

試験群				動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)	
		感作	惹起		24時間後					48時間後					時間	
					皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	24	48
					0	1	2	3		0	1	2	3			
検体投与群	感作群	100%	100%	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	対照群	注射用水	100%	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性対照群	感作群	1%	0.25%	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100
	対照群	1%	7セトン	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0

8.11.7 マウスにおける皮膚感作性試験・局所リンパ節増殖性試験 (資料 No. TF-1.7)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体の純度：イソフェタミド 36.0%フロアブル

製剤組成；イソフェタミドを % (w/w)含有

供試動物： CBA/J 系マウス、雌、8 週齢、体重 19.5~22.8 g、1 群 5 匹

観察期間： 感作開始から細胞増殖活性の測定まで 8 日間

試験操作： Local Lymph Node Assay (LLNA)法

投与量設定根拠；

検体塗布液の調製；プロピレングリコールを陰性対照群とし、陽性対照群 (HCA、 $\alpha$ -Hexylcinnamaldehyde)及び検体の希釈溶媒とした。

試験； 初回塗布日を第 1 日として起算した第 1-3 日に、検体投与液、HCA 投与液両耳介背面に各々 1 耳介当り 25  $\mu$ L 塗布した。  
第 6 日に 20  $\mu$ Ci の  $^3$ H-メチルチミジンを含むリン酸緩衝液 (PBS)250  $\mu$ L を各動物に尾静脈内投与した。5 時間後に動物をエーテル麻酔下で安楽殺した。各動物より採取した耳介リンパ節を秤量し、摘出したリンパ節をすり潰し、細胞を単離した。PBS で洗浄後、5%トリクロロ酢酸 (TCA)に再懸濁し、冷蔵下に 18 時間静置した。細胞ペレットを 1 mL の 5%TCA に懸濁し、これをシンチレーションカクテル 9 mL と混合し、 $^3$ H-メチルチミジンの取込量 (dpm)を測定した。

判定； 測定した  $^3$ H-メチルチミジン取込量 (dpm)を基に、陰性対照群の取込量で、各投与群の取込量を除して刺激指数 (Stimulation Index : SI 値)を算出し、試験したいずれかの濃度で SI 値が 3 以上であった場合を感作性ありと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結果： 下記表により、SI 値は検体 10、25 及び 50%投与群それぞれ 1.7、1.6 及び 2.1 であった。

表 各群の刺激指数 (SI 値)及びリンパ節重量

	投与量	SI 値	リンパ節重量 (mg)
陰性対照	0%	1.0	5.0
イソフェタミド 36.0%フロアブル	10%	1.7	5.5
	25%	1.6	5.2
	50%	2.1	6.3
陽性対照	HCA 25%	14.6	↑11.1

陰性対照群測定値：<sup>3</sup>H-メチルチミジン取込量 (dpm)；448 ±327

リンパ節重量 (mg)：5.0 ± 1.3

Student's-*t* 検定 ↑：*P*<0.01

以上の結果より、局所リンパ節試験を用いた本試験条件下で、イソフェタミド 36.0%フロアブルはマウスに対する皮膚感作性能を有しないと結論付けられた。