

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

1) 蚕に対する影響

No.	供試生物 (品種) (齢期)	1群 当りの 供試数	被験物質	投与方法 投与量	結果	試験機関 (報告年)
蚕 -1	蚕 系統：春嶺×鐘月 (3齢2日虫、 蠶蚕1齢)	10頭/ 反復、 3反復	原体(カスガ マイシンと して %)	桑葉浸漬後給餌： 1000、500、250、125、 62.5 ppm 試験1；3齢2日虫 試験2； 蠶蚕1齢2日虫	試験1： LC ₅₀ >1000 ppm 1000 ppmで若干の 成育遅延が認められ た(4日後)が、死 亡例無し、 摂食阻害(2日後) 試験2； LC ₅₀ >1000 ppm 死亡例無し、 影響は認められな かった(48時間)	(1987年)

2) ミツバチに対する影響

No.	供試生物 (品種) (齢期)	1群 当りの 供試数	被験物質	投与方法 投与量	結果	試験機関 (報告年)
ミツバチ -1	セイヨウミツバチ (8日齢)	20頭/ 反復 3反復	原体(カスガ マイシンと して %)	経口毒性：μg/頭 125(2500 μg/20頭) 25(500 μg/20頭)	LD ₅₀ ： >125 μg/頭 影響は認められ なかった(4日間)	(1988年)

3) 天敵に対する影響

No.	供試生物 (品種) (齢期)	1群 当りの 供試数	被験物質	投与方法 投与量	結果	試験機関 (報告年)
天敵 -1	ヤマトクサ カゲロウ (2齢幼虫)	10頭/ 反復 3反復	原体(カスガ マイシンと して %)	虫体に原体 1000、100 ppm 溶液を直接散布	LC ₅₀ ： >1000 ppm/頭 影響は認められな かった (48時間)。	(2001年)
天敵 -2	コレマン アブラバチ (成虫)	10頭/ 反復 3反復	原体(カスガ マイシンと して %)	原体 1000、100 ppm 溶 液を 0.5 mL しみ込ま せた紙及び溶液を 100 L/10a 散布したナス葉 に虫体を接触(濾紙接 触法)	LC ₅₀ ： >1000 ppm/頭 影響は認められな かった (48時間)。	(2001年)
天敵 -3	ハナグモ (雌成虫)	1頭/ 反復 20反復	原体(カスガ マイシンと して %)	原体 1000、100 ppm 溶 液を 5 mg/cm ² 2回直接 散布した虫体を原体 1000、100 ppm 溶液を 100 L/10a 散布した稲 葉に接触させた	LC ₅₀ ： >1000ppm/頭 影響は認められな かった (48時間)。	(2001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北興化学工業株式会社にある。

4) 鳥類に対する影響

No	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1群あたり の供試数	投与 方法	投与量	LD ₅₀ またはLC ₅₀ 及び 無影響量	観察され た影響等	試験機関 (報告年)
鳥 -1	急性経口毒性試験 原体(%、 カスガマイシンとして)	マガモ	♂♀各 5	強制 経口 投与	0、2000 (mg/kg)	LD ₅₀ >2000mg/kg NOEL >2000mg/kg	症状なし	(2006年)
鳥 -2	急性経口毒性試験 原体(%、 カスガマイシンとして)	コリン ウズラ	♂♀各 5	強制 経口 投与	0、2000 (mg/kg)	LD ₅₀ >2000mg/kg NOEL >2000mg/kg	下痢	(2006年)
鳥 -3	混餌投与毒性試験 原体(%、 カスガマイシンとして)	マガモ	投与群 各 12 対照群 24	5日間 混餌 投与	0、675、 1113、1836、 3030、5000 (mg/kg)	LC ₅₀ >5000mg/kg NOEC(死亡率) >5000mg/kg NOEC(体重変化) 1836mg/kg	体重増加 の減少	(2006年)
鳥 -4	混餌投与毒性試験 原体(%、 カスガマイシンとして)	コリン ウズラ	投与群 各 12 対照群 24	5日間 混餌 投与	0、675、 1113、1836、 3030、5000 (mg/kg)	LC ₅₀ >5000mg/kg NOEC(死亡率) >5000mg/kg NOEC(体重変化) >5000mg/kg	症状なし	(2006年)

VII. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

1) カスミン液剤

- (1) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (2) 使用の際は農薬用マスク、不浸透性手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、洗眼・うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (3) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (4) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

2) カスミン粉剤30、カスミン粉剤DL、カスラブサイド粉剤3DL

- (1) 本剤は皮膚に対して弱い刺激性があるので皮膚に付着しないよう注意すること。
付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと。
- (2) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (3) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (4) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

3) カスミンA水和剤（20%水溶剤）

本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗すること。

4) カスミン粒剤

本剤は眼に対して刺激性があるので、眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。

5) カスラブサイド水和剤

- (1) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
使用後は洗眼すること。
- (2) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

6) カスラブサイドゾル

- (1) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗すること。
- (2) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

7) カスミンボルドー

- (1) 誤飲、誤食などのないよう注意すること。
- (2) 本剤は眼に対して強い刺激性があるので、散布液調製時には保護眼鏡を着用して薬剤が眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに十分に水洗し、眼科医の手当を受けること。

8) フタバロンA粉剤

- (1) 誤食などのないよう注意すること。
誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。
本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- (2) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (3) 使用の際は農薬用マスク、手袋、不浸透性防除衣などを着用するとともに保護クリームを使用すること。作業後は直ちに身体を洗い流し、洗眼・うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (4) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。
- (5) かぶれやすい体質の人は作業に従事しないようにし、施用した作物等との接触を避けること。
- (6) 夏期高温時の使用を避けること。

9) 粉衣用ペアーカスミンD

- (1) 医薬用外劇物。取扱いには十分注意すること。
誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。
本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- (2) ダイアジノンの解毒剤としては硫酸アトロピン製剤及びPAM製剤がある。
- (3) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (4) 使用の際は防護マスク、不浸透性手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに洗眼すること。
- (5) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。
- (6) 本剤で処理した種子は食料や飼料として用いないこと。

2. 解毒法及び治療法

- (1) 経口的に摂取した場合、一般的には救急措置として、嘔吐、胃洗浄、下剤等によりできるだけ体外に排除する。
- (2) 皮膚、衣服に付着した場合、汚染した衣服をぬがせ、皮膚を石けんでよく洗い付着した農薬を除去する。
- (3) 眼に入った場合、直ちに流水で洗眼する。

3. 製造時、使用時等における事故例

昭和 39 年から委託試験のため、サンプルの製造、圃場における散布試験を行ったが事故例はなく、また上市から現在まで事故例はない。

Ⅷ. 毒性

< 毒性試験一覧表 >

1. 原体を用いた試験

ADI 設定に係る試験で投与液または飼料を調製する際、純度換算している試験とそうでない試験があり、その結果、各試験で無毒性量が遊離塩基、一塩酸塩または原体で表記され、統一されていない。残留試験では、遊離塩基のカスガマイシンを分析しているため、ADI の設定においては遊離塩基のカスガマイシンとして ADI をするのが妥当であると判断し、各試験において遊離塩基のカスガマイシンとして無毒性量が求められていない試験については換算し、その値を併記した。

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1 群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)		試験機関 (報告年)	記載頁
							報告書	遊離塩基		
毒性-1 (GLP)	1 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ラット	♂♀ 各 5	経口	報告書: 遊離塩基: 3535	♂♀	♂♀ >3535	(1992 年)	毒-12
毒性-2	6	急性毒性 7 日間観察	ラット	♂♀ 各 10	経口	報告書: 遊離塩基: 8000	♂♀	♂♀ >8000	(1977 年)	毒-13
					経皮	報告書: 遊離塩基: 4000	♂♀	♂♀ >4000		
毒性-3-1	7	急性毒性 7 日間観察	ラット	♂♀ 各 6	経口	報告書 (遊離塩基): 8600	♂♀	♂♀ >8600	(1977 年)	毒-14
					経皮	報告書 (遊離塩基): 2150	♂♀	♂♀ >2150		
毒性-3-2	8	急性毒性 7 日間観察	ラット	♂♀ 各 6	経口	報告書 (遊離塩基): 3880	♂♀	♂♀ >3880	(1977 年)	毒-15
					経皮	報告書 (遊離塩基): 970	♂♀	♂♀ >970		
毒性-4 (GLP)	9 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ウサギ	♂♀ 各 5	経皮	報告書: 遊離塩基: 1414	♂♀	♂♀ >1414	(1992 年)	毒-16
毒性-5 (GLP)	10 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ラット	♂♀ 各 5	吸入	報告書: (mg/L) 遊離塩基: 1.5(mg/L)	♂♀ (mg/L)	♂♀ >1.5 (mg/L)	(1983 年)	毒-17
毒性-6 (GLP)	11 (GLP)	皮膚刺激性 14 日間観察	ウサギ	♂ 6	塗布	0.5 g	軽微な刺激性		(1986 年)	毒-18
毒性-7 (GLP)	12 (GLP)	眼刺激性 7 日間観察	ウサギ	♂ 9	点眼	100 mg/片眼	陰性		(1986 年)	毒-19
毒性-8 (GLP)	13 (GLP)	皮膚感作性 Maximization 法 28 日間観察	モルモット	♂ 20	感作: 皮内注射; 1%蒸留水液 塗布; 1%蒸留水液 惹起: 塗布; 1%蒸留水液 (0.1 mL) 塗布; 1%蒸留水液 (0.3 mL)		陰性		(1986 年)	毒-21
毒性-9 (GLP)	-	急性神経毒性	ラット	♂♀ 各 12	経口	500、1000、 2000	2000		(2009 年)	毒-23
毒性-10	14	急性遅発性神経毒性 22 日間観察	ニワトリ	♀ 3	経口	5000	陰性		(1983 年)	毒-28

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)		試験機関 (報告年)	記載頁
							報告書	遊離塩基		
毒性-11 (GLP)	17 (GLP)	90日間 反復経口投与毒性	ラット	♂♀ 各12	混餌	300, 1000, 3000, 6000 (ppm) 報告書 ♂: ♀: 遊離塩基 ♂:11.31, 37.5, 114.0, 228.8 ♀:13.11, 44.6, 129.6, 255.1	♂ ♀	♂ 11.31 ♀ 13.11	(1991年)	毒-29
毒性-12 (GLP)	-	90日間 反復経口投与毒性	マウス	♂♀ 各12	混餌	300, 1000, 3000, 10000 (ppm) 報告書 ♂: ♀: 遊離塩基 ♂:26.67, 87.7, 264.7, 1011 ♀:37.57, 110.7, 366.5, 1188	♂ ♀	♂ 87.7 ♀ 110.7	(1991年)	毒-39
毒性-13 (GLP)	18 (GLP)	90日間 反復経口投与毒性	イヌ	♂♀ 各4	混餌	300, 3000, 6000/4500 (ppm) 報告書 ♂: ♀: 遊離塩基 ♂:9.29, 92.95, 137.84, 186.05 ♀:10.04, 94.64, 151.69, 162.57	♂ ♀	♂ 9.29 ♀ 10.04	(1993年)	毒-47
毒性-14 (GLP)	-	21日間 反復経皮投与毒性	ラット	♂♀ 各10	経皮	報告書 (遊離塩基) 50, 250, 500 ♀8日以降: 50, 100, 200	NOAEL: ♂ 500 ♀ 200 NOEL: ♂♀ 50	NOAEL: ♂ 500 ♀ 200 NOEL: ♂♀ 50	(2009年)	毒-57
除外		90日間反復吸入毒性	急性吸入毒性試験から強い吸入毒性を有するおそれがないと認められることから試験を省略。							
毒性-15 (GLP)	-	90日間 反復経口投与神経毒性	ラット	♂♀ 各12	混餌	300, 3000, 6000 (ppm) 報告書 (遊離塩基) ♂:21, 210, 439 ♀:23, 238, 486	♂ 210 ♀ 238	♂ 210 ♀ 238	(2009年)	毒-64
毒性-16	-	28日間 遅発性神経毒性	急性遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等から見て、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験を省略。							
毒性-17 (GLP)	24 (GLP)	反復経口投与毒性 / 発がん性 (24ヵ月)	ラット	♂♀ 各70	混餌	30, 300, 3000 (ppm) 報告書 (遊離塩基) ♂:1.146, 11.31, 115.9 ♀:1.371, 13.42, 139.8	♂ 11.31 ♀ 13.42	♂ 11.31 ♀ 13.42	(1987年)	毒-73

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)		試験機関 (報告年)	記載頁
							報告書	遊離塩基		
毒性-18 (GLP)	23 (GLP)	発がん性 (78週間)	マウス	♂♀各72	混餌	50, 300, 1500 (ppm)	♂ 300 ppm ♀ 1500 ppm		(1992年)	毒-97
						報告書 ♂: ♀:	♂ 22.68 ♀ 139.66			
						遊離塩基 ♂:3.85, 22.68, 120.91 ♀:4.71, 27.58, 139.66	発がん性なし			
毒性-19 (GLP)	22 (GLP)	反復経口投与毒性 (52週間)	イヌ	♂♀各4	混餌	300, 1000, 3000 (ppm)	1000 ppm		(2003年)	毒-111
						報告書(遊離塩基) ♂:10.5, 30.5, 99.6 ♀:9.4, 33.4, 103.6	♂ 30.5 ♀ 33.4	♂ 30.5 ♀ 33.4		
毒性-20	21	24月間反復経口投与毒性	イヌ	♂♀各4	混餌	200, 800, 4000 (ppm)	♂ 4000 ppm ♀ 800 ppm		(1975年)	毒-118
						♂: a, a, a, ♀: a, a, a, 遊離塩基 ♂:4.6, 19.0, 93.1 ♀:4.8, 18.5, 90.0	♂ 93.1 ♀ 18.5			
毒性-21 (GLP)	26 (GLP)	繁殖毒性	ラット	♂♀各25	混餌	200, 1000, 6000 (ppm)	♂: 200 ppm ♀: 1000 ppm		(1993年)	毒-125
						報告書 F0: ♂; ♀; F1: ♂; ♀;	F0: ♂; ♀; F1: ♂; ♀;	F0: ♂: 10.23 ♀: 88.17 F1: ♂: 9.43 ♀: 87.6		
						遊離塩基 F0: ♂:10.23, 51.02, 314.08 ♀:17.64, 88.17, 561.07 F1: ♂:9.43, 46.02, 293.11 ♀:17.92, 87.6, 538.05				
毒性-22 (GLP)	30 (GLP)	催奇形性	ラット	♀ 24	経口	報告書(遊離塩基) 40, 200, 1000	母動物: 40 胎児: 1000	母動物: 40 胎児: 1000	(1991年)	毒-136
毒性-23 (GLP)	29 (GLP)	催奇形性	ウサギ	♀ 15	経口	報告書(遊離塩基) 1, 3, 10	母動物: 10 胎児: 10	母動物: 10 胎児: 10	(1986年)	毒-140

a: 検体摂取量は報告書に記載がなかったため、申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒性-24 (GLP)	-	変異原性 (復帰突然変異)	ネズミチフス菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537 大腸菌; WP2 <i>urvA</i>		<i>in vitro</i>	1.5, 5, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 (µg/プレート)	陰性	(2009年)	毒-146
毒性-25-1	31	変異原性 (DNA損傷 Rec-assay)	枯草菌; M-45, H-17		<i>in vitro</i>	20, 100, 200, 1000, 2000 (µg/プレート)	陰性	(1976年)	毒-149
毒性-25-2	32	変異原性 (遺伝子突然変異 Ames)	ネズミチフス菌; TA100, TA98, TA1535, A1537, TA1537 大腸菌; WP2 <i>hcr</i> ⁻		<i>in vitro</i>	5, 10, 50, 100, 200 (µg/プレート)	陰性	(1976年)	毒-150
毒性-25-3	33	変異原性 (①宿主経路試験 ②復帰変異試験)	①検体投与したマウスにネズミチフス菌G46株を腹腔内投与し、腹腔内から回収した菌液で復帰変異原性を評価		経口	500, 2000	陰性	(1976年)	毒-152
			②ネズミチフス菌 G46 株		<i>in vitro</i>	10, 50, 100, 500 (µg/disk)	陰性		
毒性-26 (GLP)	34 (GLP)	変異原性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター 卵巣細胞		<i>in vitro</i>	2, 3, 4, 5 (mg/mL)	陰性	(1985年)	毒-154
毒性-27 (GLP)	35 (GLP)	変異原性 (小核試験)	マウス	高用量群 ♂♀各 15 低・中用量群 ♂♀各 5	経口	200, 1000, 5000	陰性	(1985年)	毒-156

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁	
毒性-28 (GLP)	36 (GLP)	生態機能への影響に関する試験	中枢神経系 (一般状態) Irwin法	マウス	♂ 3	経口	500, 1500, 5000	1500	(1994年)	毒-158
			中枢神経系 (睡眠時間)	マウス	♂ 8	経口	500, 1500, 5000	影響なし		
			中枢神経系 (痙攣誘発)	マウス	♂ 10	経口	500, 1500, 5000	影響なし		
			中枢神経系 (体温)	ラット	♂ 6	経口	500, 1500, 5000	500		
			呼吸・循環器系	ウサギ	♂ 4	静脈内	5, 15, 50	5		
			自律神経系 (摘出回腸)	モルモット	♂ 4	<i>in vitro</i>	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻³ (g/mL)	10 ⁻⁴		
			消化器系 (炭末輸送能試験)	マウス	♂ 8	経口	500, 1500, 5000	500		
			骨格筋 (横隔膜神経筋標本に及ぼす影響)	ラット	♂ 4	<i>in vitro</i>	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻³ (g/mL)	10 ⁻⁴		
			血液 (血液凝固に対する作用)	ラット	♂ 6	経口	500, 1500, 5000	影響なし		
			血液 (溶血作用)	ウサギ	♂ 4	<i>in vitro</i>	1, 2.5, 5, 10 (%)	2.5		
毒性-29	-	カスガマイシンのヒト腸内細菌に対する影響 (まとめ) ;							毒-162	
毒性-29-1	-	最小発育阻止濃度 (腸内細菌)						(2009年)	毒-164	
毒性-29-2	-	最小発育阻止濃度 (腸内細菌)						(2009年)	毒-169	
毒性-29-3	-	最小発育阻止濃度 (腸内細菌)						(2009年)	毒-171	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間		供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
代謝物 -1	-	動植物土壌中代謝物	急性毒性 14日間観察	マウス	♀ 3	経口	2000	♀ >2000	(2011年)	毒-173
代謝物 -2	38	動植物土壌中代謝物		マウス	♂♀各6	経口	3000	♂♀ >3000	(1982年)	毒-174
代謝物 -3 (GLP)	-	植物中代謝物		マウス	♀ 3	経口	300、2000	♀ >2000	(2011年)	毒-175
代謝物 -4 (GLP)	-	植物中代謝物		マウス	♀ 3	経口	300、2000	♀ >2000	(2011年)	毒-176
代謝物 -5	39	動植物中代謝物		マウス	♂♀各6	経口	3000	♂♀ >3000	(1982年)	毒-177
代謝物 -6	-	動植物土壌中代謝物	変異原性 復帰突然変異	ネズミチフス菌; TA100、TA98、 TA1535、A1537 大腸菌; WP2 <i>urvA</i>		<i>in vitro</i>	用量設定: 本試験: 39.1、78.1、 156、313、 625、1250、 2500、5000 (µg/プレート)	陰性	(2011年)	毒-178
代謝物 -7 (GLP)	-	植物中代謝物		ネズミチフス菌; TA100、TA98、 TA1535、A1537 大腸菌; WP2 <i>urvA</i>		<i>in vitro</i>	試験Ⅰ: 61.7、185、 556、1667、 5000 試験Ⅱ: 313、625、 1250、2500、 5000 (µg/プレート)	陰性	(2011年)	毒-181
代謝物 -8 (GLP)	-	植物中代謝物		ネズミチフス菌; TA100、TA98、 TA1535、A1537 大腸菌; WP2 <i>urvA</i>		<i>in vitro</i>	試験Ⅰ: 61.7、185、 556、1667、 5000 試験Ⅱ: 313、625、 1250、2500、 5000 (µg/プレート)	陰性	(2011年)	毒-184

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

3. 製剤を用いた試験

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
製-1 (GLP)	急性毒性 0.3%粉剤 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	2500 5000	♂♀>5000	(1986年)	毒-187
製-2 (GLP)	急性毒性 0.3%粉剤 14日間観察	マウス	♂♀各5	経口	2500 5000	♂♀>5000	(1986年)	毒-188
製-3 (GLP)	急性毒性 0.3%粉剤 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮	2500	♂♀>2500	(1986年)	毒-189
製-4 (GLP)	皮膚刺激性 0.3%粉剤 14日間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5g	軽微な刺激性	(1986年)	毒-190
製-5 (GLP)	眼刺激性 0.3%粉剤 72時間観察	ウサギ	♂ 非洗眼群6 洗眼群3	点眼	100mg/片眼	刺激性なし	(1986年)	毒-191
製-6 (GLP)	皮膚感作性 0.3%粉剤 Maximization法 25日間観察	モルモット	♂22	感作: 皮内注射; 1%流動パラフィン懸濁液 経皮貼布; 25%白色ワセリン混合液 惹起: 経皮貼付; 25%白色ワセリン混合液		強度の感作性	(1986年)	毒-193
製-7 (GLP)	皮膚感作性 0.3%粉剤 Buehler法 30日間観察	モルモット	♂ 処理20 対照10	塗布	塗布0.5g	感作性なし	(2003年)	毒-195
製-8 (GLP)	急性毒性 20%水溶剤 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	5000	♂♀>5000	(1986年)	毒-197
製-9 (GLP)	急性毒性 20%水溶剤 14日間観察	マウス	♂♀各10	経口	2367、3077、 4000、5200、 6760、8788	♂4444 ♀4966	(1986年)	毒-198
製-10 (GLP)	急性毒性 20%水溶剤 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮	2000	♂♀>2000	(1986年)	毒-199
製-11 (GLP)	皮膚刺激性 20%水溶剤 72時間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5g	刺激性なし	(1986年)	毒-200
製-12 (GLP)	眼刺激性 20%水溶剤 7日間観察	ウサギ	♂ 非洗眼群6 洗眼群3	点眼	100mg/片眼	軽微な刺激性 (洗眼効果なし)	(1986年)	毒-201
製-13 (GLP)	皮膚感作性 20%水溶剤 Maximization法 25日間観察	モルモット	♂25	感作: 皮内注射;1%蒸留水液 経皮貼布;25%蒸留水液 惹起: 経皮貼付;10%蒸留水液		感作性なし	(1986年)	毒-203

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
製-14 (GLP)	急性毒性 2%液剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経口	5000	♂♀>5000	(1992年)	毒-205
製-15	急性毒性 2%液剤 7日間観察	ラット	♂♀ 各10	経口	20800	♂♀>20800	(1978年)	毒-206
製-16	急性毒性 2%液剤 14日間観察	マウス	♂♀ 各5	経口	5000	♂♀>5000	(1983年)	毒-207
製-17 (GLP)	急性毒性 2%液剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経皮	2000	♂♀>2000	(1992年)	毒-208
製-18	急性毒性 2%液剤 14日間観察	ラット	♂12	経皮	12480	>12480	(1981年)	毒-209
製-19 (GLP)	皮膚刺激性 2%液剤 72時間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5 mL	刺激性なし	(1992年)	毒-210
製-20 (GLP)	眼刺激性 2%液剤 72時間観察	ウサギ	♂ 非洗眼群6 洗眼群3	点眼	0.1 mL/片眼	軽微な刺激性 (洗眼効果なし)	(1992年)	毒-211
製-21 (GLP)	皮膚感作性 2%液剤 Maximization法 25日間観察	モルモット	♂25	感作: 皮内注射;5%蒸留水液 経皮貼布;25%蒸留水液 惹起: 経皮貼付;25%蒸留水液		感作性あり	(1985年)	毒-213
製-22 (GLP)	皮膚感作性 2%液剤 Buehler法 30日間観察	モルモット	♀20	塗布	0.5 mL	感作性なし	(1992年)	毒-215
製-23 (GLP)	急性毒性 3%液剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経口	2500 5000	♂♀>5000	(1986年)	毒-217
製-24 (GLP)	急性毒性 3%液剤 14日間観察	マウス	♂♀ 各5	経口	2500 5000	♂♀>5000	(1986年)	毒-218
製-25 (GLP)	急性毒性 3%液剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経皮	2500	♂♀>2500	(1986年)	毒-219
製-26 (GLP)	皮膚刺激性 3%液剤 72時間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5 mL	極めて軽微な刺激性	(1985年)	毒-220
製-27 (GLP)	眼刺激性 3%液剤 72時間観察	ウサギ	♂6	点眼	0.1 mL/片眼	軽微な刺激性	(1985年)	毒-221
製-28 (GLP)	皮膚感作性 3%液剤 Maximization法 25日間観察	モルモット	♂25	感作: 皮内注射;5%蒸留水液 経皮貼布;100%検体液 惹起: 経皮貼付;100%検体液		中等度の感作性	(1986年)	毒-223

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
製-29 (GLP)	急性毒性 2%粒剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各10	経口	5000	♂♀>5000	(1989年)	毒-225
製-30 (GLP)	急性毒性 2%粒剤 14日間観察	マウス	♂♀ 各10	経口	5000	♂♀>5000	(1989年)	毒-226
製-31 (GLP)	急性毒性 2%粒剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各10	経皮	2000	♂♀>2000	(1989年)	毒-227
製-32 (GLP)	皮膚刺激性 2%粒剤 72時間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5g	極軽度の刺激性	(1989年)	毒-228
製-33 (GLP)	眼刺激性 2%粒剤 72時間観察	ウサギ	♂ 非洗眼群6 洗眼群3	点眼	100mg/片眼	極めて軽微な刺激性 (洗眼効果なし)	(1989年)	毒-229
製-34 (GLP)	皮膚感作性 2%粒剤 Buehler法 31日間観察	モルモット	♂15	塗布	塗布0.5g 感作25% 誘発0.5%	感作性なし	(1989年)	毒-231
製-35 (GLP)	急性毒性 1.2%混合水和剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経口	5000	♂♀>5000	(1999年)	毒-233
製-36 (GLP)	急性毒性 1.2%混合水和剤 14日間観察	マウス	♂♀ 各5	経口	5000	♂♀>5000	(1999年)	毒-234
製-37 (GLP)	急性毒性 1.2%混合水和剤 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経皮	4000	♂♀>4000	(1999年)	毒-235
製-38 (GLP)	皮膚刺激性 1.2%混合水和剤 72時間観察	ウサギ	♂6	塗布	0.5mL	刺激性なし	(1990年)	毒-236
製-39 (GLP)	眼刺激性 1.2%混合水和剤 72時間観察	ウサギ	♂ 非洗眼群6 洗眼群3	点眼	0.1mL/片眼	軽度の刺激性 (洗眼効果あり)	(1990年)	毒-238
製-40 (GLP)	皮膚感作性 1.2%混合水和剤 Buehler法 30日間観察	モルモット	♀20	塗布	塗布0.5mL 感作100% 誘発100%	感作性なし	(1990年)	毒-240

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

4. 参 考

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1 群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁		
参考-1	3	急性毒性 ^{a)}	ラット	♂♀	静脈内			(1968 年)	毒-242		
				♂	腹腔内						
				♂♀	皮下						
				♂	経口						
参考-2	2		マウス	報告書に記載なし		静脈内 ^{c)}				毒-243	
						腹腔内 ^{c)}					
						皮下 ^{c)}					
						経口 ^{c)}					
参考-3	4		ウサギ	♂	静脈内				毒-244		
				♂	筋肉内						
				♂	経口						
参考-4	5		イヌ	♂	静脈内				毒-245		
				♂	筋肉内						
参考-5	16		90 日間 反復経口投与毒性	ラット	♂♀ 各 15	混餌				(1972 年)	毒-246
参考-6	15		90 日間 反復経口投与毒性	マウス	♂♀ 各 20	混餌				(1972 年)	毒-251
参考-7	19		反復投与毒性 ^{b)} (6 ヶ月)	ラット	♂♀ 各 10	皮下				(1968 年)	毒-255
参考-8	20	反復投与毒性 ^{b)} (125 日)	イヌ	♂ 4	筋肉内			(1968 年)	毒-260		

a: 観察期間については報告書に記載なし。ラット、ウサギ、イヌについては硫酸塩で実施した。

b: 硫酸塩で実施

c: 各投与方法において、報告書に投与量の記載はなし。参考までに報告書から読取れる範囲で投与量を記載した。

d: 95%信頼限界が算出されていることから、20000 mg/kg 以外にも投与されていると考えられるが、報告書に明確な投与量の記載がないため、詳細は不明である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

資料 No.	旧資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
参考-9	25	繁殖毒性	ラット	♂30 ♀60	混餌			(1975年)	毒-263
参考-10	28	催奇形性 ^{a)}	ラット	♀20	皮下注射			(1968年)	毒-272
参考-11	27	催奇形性 ^{a)}	マウス	♀20	皮下注射			(1968年)	毒-276
参考-12	37	生態機能への影響に関する試験						文献： The Japanese Journal of Antibiotics Vol. XXI No4 Aug. 1968 カスガマイシンに関する薬理学研究	毒-280

- a: 硫酸塩で実施
- b: 塩酸塩及び硫酸塩で実施
- c: 遊離塩基としての換算値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

1. 原体を用いた試験成績概要

(1) 急性毒性

① ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 毒性-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物：Cr1:CD BR系ラット、体重；雄 248～288 g、雌 220～240 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を蒸留水に懸濁させ 10 mL/kg 体重の容量で強制経口投与した。投与前に 17～20 時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	(3535)
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 (>3535)
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
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 (3535)
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 (3535)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

中毒症状は、観察されなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

② ラットにおける急性経口毒性及び急性経皮毒性試験

(資料 毒性-2)

試験機関：
報告書作成年：1977年

検体の純度：カスガマイシン（塩の種類についての記載はない）（遊離塩基として） %

供試動物：Wister-JCL系ラット（5週齢）、体重；雄110～130g、雌100～120g
一群雌雄各10匹

観察期間：7日間

試験方法：経口投与では、検体（塩の種類についての記載はない）を蒸留水で懸濁して投与した。経皮投与では、0.5%CMC溶液に懸濁し、刈毛した背部に塗布した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。試験終了時の全生存動物について適用部位を含め肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 (8000)	雌雄 (4000)
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 (>8000)	雌雄 (>4000)
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	投与1日後～ 投与7日後	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 (8000)	雌雄 (4000)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

症状において、下痢、軟便化、立毛、体重減少、流涎が認められた。
剖検において、両試験とも異常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北興化学工業株式会社にある。

③ ラットにおける急性経口毒性及び急性経皮毒性試験

(資料 毒性-3-1)

試験機関：

報告書作成年：1977年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物：SD系ラット（7週齢）、体重；雄184～220g、雌151～189g
一群雌雄各6匹

観察期間：7日間

試験方法：経口投与では、検体を脱イオン水に懸濁させて投与した。経皮投与では、検体を脱イオン水に懸濁し、刈毛した背部に塗布した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。

結果：

投与方法	経口	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 8600	雌雄 2150
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >8600	雌雄 >2150
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	症状なし	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 8600	雌雄 2150
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 8600	雌雄 2150

表中の数値はカスガマイシン遊離塩基としての値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

④ ラットにおける急性経口及び経皮毒性試験

(資料 毒性-3-2)

試験機関：

報告書作成年：1977年

検体の純度：カスガマイシン遊離塩基として %

供試動物：SD系ラット（7週齢）、体重；雄184～220g、雌151～189g
一群雌雄各6匹

観察期間：7日間観察

試験方法：経口投与では、検体を脱イオン水に懸濁させて投与した。経皮投与では、検体を脱イオン水に懸濁し、刈毛した背部に塗布した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。

結果：

投与方法	経口	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 3880	雌雄 970
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >3880	雌雄 >970
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	症状なし	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 3880	雌雄 970
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 3880	雌雄 970

表中の数値はカスガマイシン遊離塩基としての値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

⑤ ウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料 毒性-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物：Hra：NZW系ウサギ、体重；雄 2326～2372 g、雌 2288～2488 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を mg/kg の投与量で前日に刈毛し、0.9%生理食塩水で背部皮膚に 24 時間塗布した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について適用部位を含む肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	(1414)
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 (>1414)
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
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 (1414)
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 (1414)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

中毒症状は、観察されなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与後 1 日に雌 1 匹の投与部位皮膚にわずかな紅斑がみられた以外異常は認められなかった。

⑥ ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 毒性-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1983 年

検体の純度： カスガマイシンー塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物： CD 系ラット（雄 11 週齢、雌 8 週齢）、体重；雄 222～252 g、雌 185～198 g
一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間観察

試験方法： 理論的濃度； 29.0 mg/L air
実際濃度（重量測定）； mg/L
粒子径分布； 平均粒子直径 約 3.9 μm
暴露条件； チェンバー容積 100 L
通気量 20 L/min

検体は、水に溶かし、12%水溶液エアロゾール（ミスト）として投与した。

検体を噴射し、4 時間全身暴露した。

対照として空気のみを通気した。

観察・検査項目： 暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状及び生死を観察した。体重は、第 1 日（暴露前）、2 日、3 日、5 日、8 日及び 15 日に測定した。試験終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結果：

投与方法	吸入
投与量 (mg/L)	(1.5)
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄 (>1.5)
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	暴露 2 時間後～終了時
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	(1.5)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

中毒症状としては、暴露期間中ラットに濡れ、皮毛のもつれ、呼吸促拍、皮毛への固形物の付着、背を丸めた姿勢が観察された。暴露後、皮毛への固形物の付着、皮毛のもつれ、流涙及び軟便が引き続き観察された。また、肛門部皮毛に褐色部が観察された。終了時には症状はほとんどなかった。

体重の変化は、暴露後全期間にわたり、注目すべきものはなかった。各組織内の肉眼的病理所見では、数匹の動物に、肺の退色または胸腺の退色が観察されたが、検体に関係するもの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北興化学工業株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

① ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 毒性-6)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度: カスガマイシン一塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物: SPF ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ、体重; 1.86~2.02 kg、一群 6 匹

観察期間: 14 日間観察

試験方法: 検体 0.5 g を蒸留水 0.5 mL で適度に湿らせ、刈毛した動物の背中の皮膚 (2.5 cm 四方) に塗布した。塗布時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は微温水を用いて、拭き取った。

観察項目: 塗布終了後 30 分 (投与後 4.5 時間目)、投与後 24、48、72 時間、7 日及び 14 日後に塗布部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、農林水産省の農薬ガイドラインにおける皮膚反応の評価に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は、以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高評点	塗布後					
			4.5 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	14 日
1	紅斑、痂皮	4	0	0	1	1	4	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
2	紅斑、痂皮	4	1	1	1	1	4	0
	浮腫	4	1	1	0	0	0	0
3	紅斑、痂皮	4	1	1	1	1	4	0
	浮腫	4	1	0	0	0	0	0
4	紅斑、痂皮	4	0	0	1	1	4	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
5	紅斑、痂皮	4	0	1	1	1	4	0
	浮腫	4	0	1	0	0	0	0
6	紅斑、痂皮	4	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑、痂皮	24	2	3	5	5	20	0
	浮腫	24	2	2	0	0	0	0
	合計	48	4	5	5	5	20	0
平均	紅斑、痂皮	4	0.3	0.5	0.8	0.8	3.3	0.0
	浮腫	4	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計	8	0.7	0.8	0.8	0.8	3.3	0.0

塗布後 4.5 時間後に、非常に軽度の紅斑及び浮腫がみられ 48 時間後には、紅斑が認められたが、浮腫はこの時点で消失した。その後この紅斑の認められた部位は硬化し、軽度の痂皮を形成して、剥脱のあと 14 日後には回復した。

以上の結果から、検体のウサギに対する皮膚刺激性は軽度の刺激性があると判断した。

② ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 毒性-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度： カスガマイシンー塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物： SPF ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ、体重；1.76~2.04 kg
 一群 6 匹 (非洗眼群)、3 匹 (洗眼群)

観察期間： 7 日間観察

試験方法： 検体 0.1 g を右眼に投与し、3 匹は 3 分後に微温湯で 1 分間洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。

観察項目： 投与後 1、24、48、72 時間及び 7 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省の農薬ガイドラインにおける眼反応の評価に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目			最高 評点	適用後時間					
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結 膜	発赤	3	1	1	1	0	0
	浮腫		4	0	0	0	0	0	
	動物 番号 2	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結 膜	発赤	3	0	1	1	0	0
	浮腫		4	0	0	0	0	0	
	動物 番号 3	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結 膜	発赤	3	0	1	1	0	0
	浮腫		4	0	0	0	0	0	
動物 番号 4	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	1	1	1	0	
浮腫		4	0	0	0	0	0		
動物 番号 5	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	1	1	0	0	
浮腫		4	0	0	0	0	0		
動物 番号 6	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	0	1	1	0	0	
浮腫		4	0	0	0	0	0		
合 計			78	3	6	6	1	0	
平 均			13	0.5	1.0	1.0	0.2	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北興化学工業株式会社にある。

項 目			最高 評点	適 用 後 時 間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
洗眼群 (3 匹平均)	角膜混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹 彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結 膜	発赤	3	0.7	0.7	0.7	0.0	0.0
		浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合 計			13	0.7	0.7	0.7	0.0

角膜及び虹彩の刺激性変化は、非洗眼群、洗眼群ともに認められなかった。結膜の刺激性変化は、非洗眼群、洗眼群ともに投与 1 時間目より軽度の血管拡張が認められたが、その程度を増すことなく持続し、非洗眼群では 7 日後、洗眼群では 72 時間後に全例回復した。

以上の結果から、検体のウサギに対する眼刺激性は陰性であると判断した。

(3) 皮膚感作性

①モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 毒性-8)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度: カスガマイシン-塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物: Slc: Hartley 系雄性モルモット (5 週齢)、体重; 348~442 g

検体処理群 (I 群) 20 匹

溶媒処理群 (II 群) 20 匹

陽性対照群 (III 群) 20 匹

皮膚刺激性試験検体処理群 (IV 群) 9 匹

皮膚刺激性試験陽性対照群 (V 群) 9 匹

観察期間: 28 日間観察 (惹起後 24 及び 48 時間観察)

試験方法: [Maximization 法]

検体は蒸留水に希釈し、予備試験の結果、感作 I では 1% 溶液を皮内投与に、感作 II、惹起 I、惹起 II では同様に 1% 溶液を経皮投与に用いた。

陽性対照の DNCB は、落花生油に溶解し、感作 I では 1% 溶液を、感作 II では 2% 溶液を、惹起 I では 0.25% 溶液を、惹起 II では 0.5% 溶液を用いた。

感作 I ;

背部を剪毛し、次のように 1 部位につき 0.1 mL (左右各 1 ヶ所、1 ヶ所当り 0.05 mL) を皮内投与した。

I 群(検体処理群)

<u>投与部位No.</u>	<u>投与物質</u>
左 1、右 1	Freund 完全アジュバント (FCA)
左 2、右 2	1%カスガマイシン水溶液
左 3、右 3	2%カスガマイシン水溶液と FCA の等量混合剤

II 群 (溶媒処理群) 及び III 群 (陽性対照群)

<u>投与部位No.</u>	<u>投与物質</u>
左 1、右 1	FCA
左 2、右 2	蒸留水または 1%DNCB 溶液
左 3、右 3	蒸留水または 2%DNCB 溶液と FCA の等量混合剤

SLS 前処置 ;

感作 I の 6 日後、I、II、III 群について感作増強のため剪毛し、10% SLS (ラウリル硫酸ナトリウム) 含有ワセリン 1 g を塗布した。24 時間後 SLS を拭き取った。

感作 II ;

感作 I の 7 日後 (SLS 前処理の 24 時間後)、I 群は 1%カスガマイシン水溶液、II 群は蒸留水、III 群は 2%DNCB 溶液をいずれも 0.5 mL 含ませた濾紙を 48 時間閉

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

塞貼付した。

惹起 I ;

感作Ⅱの2週間後、右腹部にⅠ群は1%カスガマイシン水溶液、Ⅱ群は蒸留水、Ⅲ群は0.25% DNCB 溶液を0.1 mL 吸着させた濾紙を24時間貼付した。

惹起 II ;

惹起Ⅰの7日後、左腹部にⅠ群は1%カスガマイシン水溶液、Ⅱ群は蒸留水、Ⅲ群は0.5%DNCB 溶液を0.3 mL 吸着させたリント布を24時間貼付した。

皮膚刺激性試験 ;

惹起Ⅰの試験時、Ⅳ群は1%カスガマイシン水溶液、Ⅴ群は0.25% DNCB 溶液を右腹部に0.1 mL 貼付した。

さらに、惹起Ⅱの試験時、Ⅳ群は1%カスガマイシン水溶液、Ⅴ群は0.5% DNCB 溶液を左腹部に0.3 mL 貼付した。

観察項目 : 惹起及び皮膚刺激性試験による貼付除去後の24時間及び48時間後に、適用部位の紅斑及び浮腫の有無を観察し、Chungの基準に従い、判定した。

結 果 :

群	感 作		惹 起	供試動物数	感 作 反 応 動 物 数								感 ^{a)} 作率 (%)			
					24 時間				48 時間				24 時間	48 時間		
					皮膚反応評点				計	皮膚反応評点					計	
					0	1	2	3		0	1	2	3			
検体	皮内 : 1%検体 経皮 : 1%検体	I	1% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
			1% 検体		20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	溶 媒 (蒸留水)	I	1% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
			1% 検体		20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
陽性 対照 ^{b)}	皮内 : 1%DNCB 経皮 : 2%DNCB	I	DNCB (0.25%)	20	7	13	0	0	13/20	14	6	0	0	6/20	65	30
			DNCB (0.5%)		2	11	7	0	18/20	3	14	3	0	17/20	90	85

a : 感作率 (%) = (評点1以上の皮膚反応を示した物数 / 使用動物数) × 100

b : 陽性対照物質 : DNCB (2,4-dinitrochlorobenzene)

検体処理群において、第1回目の惹起、第2回目の惹起24時間及び48時間後ともに皮膚に異常は認められなかった。一方陽性対照のDNCB処理群において、第1回目の惹起24及び48時間後ともに皮膚に異常は認められなかった。第2回目の惹起24及び48時間後貼付部位の周囲に軽度の紅斑、びまん性の紅斑が認められた。

惹起時に同時に行った皮膚刺激性試験では、検体処理群、陽性処理群ともに異常は認められなかった。

以上の結果から、検体のモルモットに対する皮膚感作性は陰性であると判断された。

(4) 急性神経毒性

① ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 毒性-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体純度： カスガマイシン一塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物： Sprague-Dawley 系 [Cr1:CD(SD)] ラット (投与時約 6 週齢)
体重；雄 130～216 g、雌 135～179 g、一群雌雄各 12 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 脱イオン水に検体を懸濁し、金属製胃カテーテルを用いて 1 回強制経口投与した。
投与量を遊離塩基として 500、1000 及び 2000 mg/kg とした。また、投与容量を 10 mL/kg とした。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率；

全動物について生死及び瀕死状態を毎日、午前と午後の 2 回観察した。
投与後 15 日間の観察期間に死亡した動物はなかった。

一般状態；

毎日 1 回全動物について一般状態を観察し、個体別に所見を記録した。機能観察総合評価 (FOB) を行った試験日には、通常の一般状態は観察しなかった。投与群で認められた所見はいずれも対照群でも同様の発生頻度で認められ、用量相関性がなく、本系統で同週齢のラットで通常認められるものであった。したがって、検体投与による一般状態の変化はないと判断された。

体重変化；

全供試動物について、投与日の約 1 週間前、投与日及び投与後は 1 週間ごとに体重を測定した。体重増加量及び投与日以降の総体重増加量についても算出した。各測定時の体重及び体重増加量については統計学的に有意な差 (Dunnett の多重比較法) を示す値は認められず、検体投与により体重及び体重増加量が影響されることはないと考えられた。

機能観察総合評価 (FOB) ;

投与開始の1週間前、投与後約1時間、7日後及び14日後に全生存動物を対象として、次の項目を詳細に観察した。なお、別途入手した血中濃度の推移データ(ロット)から、検体投与による影響は投与の約1時間後が最も顕著であると考えられた。

飼育ケージ内での観察

姿勢/体位、噛み付き行動、痙攣/振戦、眼瞼閉鎖、便の性状

取扱操作時の観察

ケージからの取り出し易さ、手の中での取り扱いの容易さ、流涙/色素涙、流涎、立毛、被毛の状態、眼瞼閉鎖、呼吸数/呼吸の状態、眼球突出、粘膜/眼/皮膚の色調、皮膚の発赤あるいは痂皮様付着物、筋緊張度

オープンフィールドでの観察

運動協調性、歩行異常、立ち上がり回数、覚醒状態、痙攣/振戦、排尿/排便、グルーミング回数、歩行スコア、異常行動/常同行動、後ずさり行動、歩行開始所要時間(秒)

刺激反応の観察

接近反応、接触反応、聴覚驚愕反射、尾部痛覚反応、瞳孔反射、瞬目反射、前肢伸展、後肢伸展、空中正向反射、嗅覚性方向反応

神経筋の観察

後肢伸展筋力、握力(前肢及び後肢)、着地時後肢開脚幅、ロータロッド試験

生理学的観察

カタレプシー、体重(FOB用の体重測定)、体温

観察結果

飼育ケージ内での観察結果から、統計学的に有意な差が認められた検査項目について概要を次表に示す。

眼瞼閉鎖について、投与日(Day0)の500 mg/kg群の雌で中程度に眼瞼下垂を示す動物数が減少し、統計学的に有意な差が認められたが、用量相関性のない変化であった。また、投与7日後の1000及び2000 mg/kg群の雄で眼瞼開放を示す動物数が増加し、500及び2000 mg/kg群の雄で眼瞼閉鎖を示す動物数が減少したが、これらの値は投与前に観察された値とほとんど同等であることから検体投与とは関連しないと考えられた。

その他の検査項目に統計学的に有意な変化は認められなかった。

飼育ケージ内観察結果の概要

性		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
(検査動物数)		(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
眼 瞼 閉 鎖									
投 与 前	眼瞼開放	4	5	1	6	4	6	6	3
	眼瞼下垂 (軽度)	0	0	0	0	0	0	0	0
	眼瞼下垂 (中程度)	3	2	2	2	1	3	1	1
	眼瞼閉鎖	5	5	9	4	7	3	5	8
投 与 日	眼瞼開放	1	2	3	0	2	3	2	1
	眼瞼下垂 (軽度)	1	0	2	1	1	2	0	1
	眼瞼下垂 (中程度)	3	5	3	2	6	↓0	2	5
	眼瞼閉鎖	7	5	4	9	3	7	8	5
7 日 後	眼瞼開放	0	4	↑5	↑6	4	9	5	8
	眼瞼下垂 (軽度)	0	0	0	0	0	0	0	0
	眼瞼下垂 (中程度)	1	4	0	3	2	0	0	3
	眼瞼閉鎖	11	↓4	7	↓3	6	3	7	1

Fisher の直接確率計算法 : †↓ P<0.05

神経筋の観察結果については、7日後のロータロッド上の持久時間(秒)において、2000 mg/kg 群の雌で 54.4 秒を示し、統計学的な有意差が認められた (Dunnett の多重比較法 P<0.05)。しかしながら、投与日及び投与 14 日後にはこのような差が認められなかったため、投与 7 日目の変化は検体投与とは関連しないと考えられた。

その他の検査項目においても統計学的に有意な変化は認められなかった (Dunnett の多重比較法または Fisher の直接確率計算法)。

取扱操作時の観察結果、オープンフィールドでの観察結果、刺激反応の観察結果及び生理学的観察結果でも、統計学的に有意な差を示す値は認められず、また、検体投与との関連性を示す変化も認められなかった。

自発運動；

FOB の実施直後に全ての動物について自発運動を測定し、自動記録装置で記録した。自発運動を総運動量 (グルーミング等の細かな動きを含む運動の合計値) 及び歩行運動 (光ビームの連続 2 回以上の遮断) に分けて検討した。また、60 分後までの測定値を 10 分間隔のデータとして検討した。

いずれのデータにおいても、雌雄ともに統計学的に有意な差は認められず (反復測定 ANOVA)、検体投与群の自発運動のパターン (総運動量及び歩行運動) に明らかな変化は認められなかった。したがって、検体投与による自発運動への影響はないと考えられた。

肉眼的病理検査；

投与後 15 日目に全生存動物について、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内注射による深麻酔下で、4%パラホルムアルデヒド/1.4%グルタルアルデヒド混合緩衝液を用いて、臓器及び組織を灌流固定した。固定後に中枢神経系及び末梢神経系の臓器及び組織を摘出した。脳及び脊髄の肉眼的病変について観察した。対照群の雄 2 例の脳に暗赤色の病変部が認められたが、検体投与群の動物に肉眼的病変はまったく認められなかった。

脳のサイズ；

肉眼的病理検査時に灌流固定し、摘出した脳の重量（嗅球を含む）、長さ（嗅球を除く）及び幅を測定した。

500 mg/kg 群の雌で脳の幅が対照群より幾分短く（対照群値の 98%）、統計学的な有意差が認められた（Dunnett の多重比較法 $P < 0.05$ ）。しかしながら、用量相関性のない変化であることから、検体投与には関連しないと考えられた。

脳の重量及び長さについては統計学的に有意な変動を示す値は認められなかった。

病理組織学的検査；

投与後 15 日目に灌流固定した動物から対照群の雌雄各 6 匹及び 2000 mg/kg 群の雌雄各 6 匹についてランダムに選出した。中枢神経系組織についてはパラフィン包埋して薄切し、末梢神経系組織については樹脂包埋して薄切し、いずれもヘマトキシリン・エオジン染色を行って組織標本を作製した後、病理組織学的検査を実施した。検査は次の組織について行った。

脳（嗅球、大脳皮質、海馬/歯状回、大脳基底核、視床、視床下部、中脳、小脳、橋、延髄）、脊髄（ C_3/C_7 頸膨大、 T_{13}/L_4 腰膨大）、三叉神経節/三叉神経、腰部（ T_{13}/L_4 ）後根神経節、腰部（ T_{13}/L_4 ）後根線維、腰部（ T_{13}/L_4 ）前根線維、頸部（ C_3/C_7 ）後根神経節、頸部（ C_3/C_7 ）後根線維、頸部（ C_3/C_7 ）前根線維、頸部脊髄神経、腰部脊髄神経、坐骨神経（大腿中央部、坐骨切痕）、腓腹神経、脛骨神経、総腓骨神経、視神経、眼球、骨格筋（腓腹筋）、その他の組織（必要と思われた場合のみ）

対照群及び 2000 mg/kg 群の雌雄で神経及び神経根の軸索変性が認められた（次表参照）が、軽微な変性であること、発生頻度が低いこと、統計学的に有意な差が認められないこと、また、この病変は自然発生性であることが知られていることから、これらの病変は偶発的な発生で検体投与による影響ではないと考えられた。本病変以外には、対照群の雄で脳に軽微な出血が認められたのみであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

神経組織における軸索変性の発生頻度

性	雄				雌			
	0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
投与量 (mg/kg)	0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
(検査動物数)	(6)	—	—	(6)	(6)	—	—	(6)
腰部後根線維 (軽微)	1	—	—	0	2	—	—	1
総腓骨神経(軽微)	1	—	—	2	1	—	—	1
坐骨神経 (軽微)	3	—	—	1	1	—	—	3
脛骨神経 (軽微)	0	—	—	0	0	—	—	1

Fisher の直接確率計算法

最大薬量である2000 mg/kgでも機能領域のいずれにも影響を及ぼさず、さらに検体投与に関連した神経系に対する組織病理学的影響は認められなかった。
以上の結果から、本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は雌雄ともに 2000 mg/kg であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

① ニワトリを用いた急性遅発性神経毒性試験

(資料 毒性-10)

試験機関:

報告書作成年: 1983 年

検体の純度: カスガマイシン一塩酸塩 (遊離塩基として) %

供試動物: ニワトリ (品種; 白色レグホン種)、体重; 雌 1.45~1.95 kg
一群雌 3 羽

観察期間: 42 日間

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁させ 5000 mg/kg を強制経口投与し、さらに最初の投与から 22 日目に同量を再投与した。

陽性対照として Leptophos の 500 mg/kg を経口投与した。

観察・検査項目: 一般症状、神経毒性症状及び生死を 42 日間毎日観察した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果:

検体において試験期間中、神経毒性を含む異常症状は、観察されなかった。

一方、陽性対照では、投与 12 日後から歩行異常/運動失調が観察され、踵立ち (Standing on hocks) あるいは足の不動 (Immobilization of legs) を経て麻痺にいたった。

以上の結果から検体の急性遅発神経毒性は陰性であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

(6) 90日間反復経口投与毒性

① 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 毒性-11)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991年

検体の純度: カスガマイシン一塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物: Wistar系ラット (Jcl: Wistar)

投与開始時週齢; 6週齢

投与開始時体重; 雄 141~151g、雌 115~126g

一群雌雄各 12匹

投与期間: 91日間

(雄 1989年12月11日~1990年3月12日、

雌 1989年12月19日~1990年3月21日)

投与方法: 検体を0、300、1000、3000及び6000 ppmの濃度で基礎飼料に混入し、91日間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週1回調製した。なお、飼料調製の際、検体純度による補正は行わなかった。

用量設定根拠;

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

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、さらに少なくとも毎週 1 回、詳細な臨床観察を実施した。

Fisher 直接確率計算法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した結果、いずれの用量群の雌雄においても、対照群と比較して有意に高い発生頻度を示す臨床症状は認められなかった。また、いずれの用量群の雌雄においても死亡は認められなかった。

体重変化；

全生存動物について、投与開始直前及び投与期間中毎週 1 回、体重を測定した。体重変化について次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	6000	300	1000	3000	6000
0	100	100	100	100	100	100	100	100
1	100	100	99	97	100	100	99	98
2	100	99	98	↓96	99	99	99	98
3	101	100	99	↓93	99	99	98	97
4	100	100	99	↓91	99	99	98	96
5	101	100	98	↓91	100	99	99	95
6	102	100	98	↓91	100	99	99	↓95
7	102	100	98	↓92	99	99	98	94
8	103	100	99	↓93	100	100	98	95
9	103	101	99	↓94	100	100	99	96
10	102	100	99	↓93	99	99	98	95
11	101	99	98	↓92	99	99	98	94
12	101	100	99	↓93	100	99	98	95
13	102	101	100	↓93	100	100	100	96

Dunnett または Scheffe の多重比較法：↑↓ P<0.05、↑ ↓ P<0.01
 表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

6000 ppm 群では、雄の平均体重が投与 2 週時から投与終了時まで対照群と比較して有意に低い値で推移した。同群の雌の平均体重も投与 3 週時以降、軽度に低い値を示し、投与 6 週時には対照群との間に有意な差が認められた。6000 ppm 群雌雄で認められた体重の増加抑制あるいは抑制傾向は、食餌効率に明瞭な低下が認められなかったことから、検体を含んだ飼料に対する忌避に基づく飼料摂取量の低下が大きな要因と考えられた。

3000 ppm 以下の投与群の体重は、雌雄とも全投与期間を通じて対照群と同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

飼料摂取量；

全ケージについて、投与期間中毎週1回、飼料摂取量を測定した。

各週の平均飼料摂取量及び全投与期間を通じた総平均飼料摂取量について次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	6000	300	1000	3000	6000
1	97	↓88	↓81	↓70	95	↓92	↓80	↓67
2	103	102	103	99	98	105	98	100
3	104	107	104	97	99	105	99	96
4	103	104	102	↓93	103	↑110	99	97
5	99	101	101	93	100	101	100	92
6	98	100	100	96	97	101	95	↓89
7	98	98	99	96	97	102	99	↓91
8	103	98	101	96	97	103	100	95
9	105	101	104	105	106	101	103	98
10	104	101	103	100	101	96	96	98
11	101	97	100	99	101	101	101	99
12	107	102	106	102	101	101	101	100
13	104	106	105	102	106	107	104	103
総平均飼料 摂取量	102	101	101	96	100	101	98	94

Dunnett または Scheffe の多重比較法：↑↓ P<0.05、↑↓ P<0.01

表中の数値は対照群を100とした時の相対値

1000 ppm 以上を投与した群では、雌雄において投与1週時の飼料摂取量が有意に低かった。検体を含んだ飼料に対する忌避に基づくものと考えられた。また、6000 ppm 群の雌雄では、その後も一時期にはあるが有意な飼料摂取量の減少が認められ、全投与期間を通じた総平均飼料摂取量も軽度に低い値となった。

申請者注：1000 ppm 群以上の雌雄で飼料摂取量の減少が認められたが、1000 ppm 群及び3000 ppm 群の雌雄では、投与後1週時のみに認められた一時的なものであり、その後は対照群と同等に推移していることから、検体投与に関連した影響ではないと判断した。一方、6000 ppm 群の雌雄においては、飼料摂取量の減少あるいは減少傾向が投与後8週時まで継続して認められていることから、検体投与に関連した影響と判断した。報告書には詳細な記載が無いため、申請者が判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日) は次表のとおりであった。

用量 (ppm)	雄	雌
300	(11.31)	(13.11)
1000	(37.5)	(44.6)
3000	(114.0)	(129.6)
6000	(228.8)	(255.1)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

食餌効率；

全用量群について、投与期間中毎週、群平均体重増加量を群平均摂餌量で除して群平均食餌効率を算出した。さらに全投与期間を通じた総平均食餌効率を求めた。6000 ppm 群では、雄の投与 2~5 週時の食餌効率、雌の投与 3~5 週時の食餌効率が軽度の低下傾向を示したが、総平均食餌効率は雌雄とも対照群と同等であり、食餌効率に明瞭な影響は認められなかった。3000 ppm 以下の用量群では、食餌効率の変動に一定の傾向は認められず、総平均食餌効率も対照群と同等であった。

飲水量；

全ケージについて、投与期間中毎週 1 回、飲水量を測定した。各週の平均飲水量及び全投与期間を通じた総平均飲水量について次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	6000	300	1000	3000	6000
1	106	108	↑122	↑125	102	101	102	112
2	109	115	↑131	↑134	104	102	104	↑123
3	111	113	↑116	↑116	99	98	99	103
4	108	106	↑112	↑113	97	105	103	104
5	109	109	110	115	99	101	103	104
6	110	108	110	↑117	98	99	99	101
7	107	106	104	115	97	107	105	100
8	110	108	113	117	97	105	109	104
9	108	108	107	↑118	106	107	106	107
10	105	108	107	113	100	103	99	103
11	100	103	105	115	98	99	103	104
12	106	109	108	↑119	103	104	114	105
13	110	109	111	↑119	↑119	111	106	↑117
総平均飲水量	107	109	112	118	101	103	104	106

Dunnett または Scheffe の多重比較法：↑↓ P<0.05、↑↓ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

6000 ppm 群の雌雄及び 3000 ppm 群の雄では統計学的に有意な飲水量の増加が認められ、検体投与に起因するものと考えられた。飲水量の増加の要因として、尿検査及び病理検査において認められた腎臓障害*に伴う飲水欲の亢進ないし検体混入

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

による飼料の味の変化などが考えられる。1000 ppm 及び 300 ppm 群では、雌雄ともに検体投与と関連性のある飲水量の変動は認められなかった。

*申請者注： 飲水量増加の要因の一つとして、本剤の主要な所見である腎機能障害が考えられる。報告書には詳細が示されていないため、申請者が判断し記載した。

眼科学的検査；

投与開始前に全用量群の雌雄の全動物について、投与後 13 週時には対照群及び 6000 ppm (最高用量) 群の雌雄の全動物について、肉眼及び検眼鏡により眼検査を行った。

Fisher の直接確率計算法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した結果、6000 ppm 群の雌雄において、対照群と比較して有意に高い発生頻度を示す異常所見は認められなかった。

尿検査；

投与後 13 週時に、全動物について以下の項目について検査した。

尿比重、pH、タンパク質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、尿色、尿量、尿沈渣

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた尿検査項目を次表に示す。

検査項目	性及び用量 (ppm)									
	雄					雌				
	0	300	1000	3000	6000	0	300	1000	3000	6000
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
pH	6.0				1		1		3	4
	6.5	1		1	3	6	3	3	1	3
	7.0	4	5	5	2	3	1	1	1	3
	7.5	3	1	4	3	1		3	3	2
	8.0	4	4	1	4		7	2	4	1*
	8.5		2	1		1*	1	2	3	
尿沈渣 (上皮細胞)	-			1			1	1	1	
	+	11	10	10	11	9	11	8	9	7
	++	1	2	1	1	3		3	2	5

Mann-Whitney の U 検定：* P < 0.05

表中の数字は所見発生動物数

尿沈渣 (顕微鏡観察)：-；無し、+；数視野に少量有、++；全視野に少量有

Dunnett または Scheffe の多重比較法(尿比重、尿量) あるいは Mann-Whitney の U 検定を用いて危険率 5% 及び 1% で実施した結果、6000 ppm 群の雌雄及び 3000 ppm 群の雌で pH が有意に低下し、6000 ppm 群の雌では尿沈渣中の上皮細胞に有意な増加が認められた。これらの変化は、検体投与による腎臓障害に起因するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

血液学的検査；

13週間投与終了後に、一晩絶食させた全動物の後大静脈より血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値 (Ht)、血色素量 (Hb)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数 (Platelet)、白血球数 (WBC)、ディファレンシャルカウント

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

検査項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	6000	300	1000	3000	6000
ヘマトクリット値	98	↓96	↓96	↓94	99	98	99	↓95
血色素量	99	↓97	↓97	↓95	100	99	99	↓96
赤血球数	98	↓96	↓96	↓93	98	98	101	↓96
平均赤血球容積	100	100	100	101	101	100	↓98	98
分葉核好中球	123	100	87	94	105	133	105	↑148

Dunnett または Scheffe の多重比較法：↑↓ P<0.05、↑ ↓ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

1000 ppm 以上の雄及び 6000 ppm 群の雌で、ヘマトクリット値、血色素量及び赤血球数に軽度の有意な減少が観察された。造血臓器を含むいずれの臓器にもこれらの変化を裏付ける組織学的変化が認められなかったが、用量との関連性が明瞭であるため、この貧血は検体投与に起因した影響と考えられた。その他、6000 ppm 群の雌に分葉核好中球の有意な増加が認められたが、分葉核好中球の増加を引き起こしたと考えられる組織学的変化は認められず、また、この所見は先に行われた 28 日間反復経口投与毒性試験（予備試験）及び 2 年間反復経口投与毒性試験/発がん性併合試験（資料 毒性-17）では観察されていないため、偶発的な変動と考えられた。3000 ppm 群の雌の MCV の有意な減少は、用量相関性がなく偶発的な変動と考えられた。

血液生化学的検査；

血液学的検査のために採取した血液から得られた血漿を用いて、以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、総ビリルビン (T. Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)、血糖 (Glucose)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Creatinine)、総コレステロール (T. Chol)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

検査項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	6000	300	1000	3000	6000
アルカリホスファターゼ	97	91	↓87	102	97	101	85	91
グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)	↓83	↓83	↓83	↓78	85	85	↓77	↓85
総蛋白	99	98	↓94	↓93	100	99	98	↓95
アルブミン	↓96	↓96	↓95	↓94	99	99	97	↓94
グロブリン	100	98	↓93	↓93	100	100	98	↓96
カルシウム	98	↓97	97	↓96	99	98	99	98
塩素	100	101	101	↑102	100	100	101	↑101

Dunnett または Scheffe の多重比較法 : ↑↓ P<0.05, ↑↓ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

6000 ppm 及び 3000 ppm 群の雌雄、1000 ppm 及び 300 ppm 群の雄にグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) の有意な低下が認められたが、GPT 値の低下は毒性学的意義はないとされており、毒性所見とは判断しなかった。6000 ppm 群の雌雄、3000 ppm 群の雄で総蛋白及びグロブリンの有意な減少が認められ、6000 ppm 群の雌雄及び 300 ppm 以上の雄でアルブミンの有意な減少が認められた。総蛋白及びグロブリンの変動は相関しており、総蛋白の減少が主としてグロブリンの減少によることを示していた。総蛋白とグロブリンの減少は、先に行われた 28 日間反復経口投与毒性試験 (予備試験) 及び 2 年間反復経口投与毒性試験/発がん性併合試験 (資料 毒性-17) においても同様に観察されていた。また、アルブミンの減少も 28 日間反復経口投与毒性試験 (予備試験) において総蛋白とグロブリンの減少に伴って観察されたが、アルブミン単独の減少は前述の先行した 2 試験のいずれにも認められなかった。したがって、1000 ppm 及び 300 ppm の雄で観察されたアルブミン単独の減少は偶発的な変動と考えられた。一方、6000 ppm の雌雄及び 3000 ppm の雄では、総蛋白、グロブリン及びアルブミンがそろって減少しており、先行した試験との再現性も見られることから、検体投与に起因した変動を判断した。6000 ppm 群の雌雄では塩素が軽度ながら有意に増加した。塩素は血漿蛋白の尿中放出時に陰イオンを補うために血中に増加すること、腎臓障害に伴って変動することが考えられるため、検体投与による血漿蛋白の低下あるいは腎臓の変化と関連するものと考えられた。その他、6000 ppm 群の雄でカルシウムの統計学的に有意な変動が認められたが、先行した前述の 2 試験では観察されていなかったため、偶発的な変動と判断した。

臓器重量 ;

13 週間投与終了後の全動物について、以下の臓器の重量を測定した (絶対重量)。

また、最終体重を用いて比体重値 (相対重量) を算出した。

脳、肝臓、腎臓 (両側)、副腎 (両側)、盲腸、唾液腺 (舌下腺及び顎下腺を含む)、精巣 (両側)、卵巣 (両側)

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた臓器を次表に示す。

臓器	性及び用量 (ppm)								
	雄				雌				
	300	1000	3000	6000	300	1000	3000	6000	
最終体重	101	101	99	↓93	100	99	99	95	
脳	絶対重量	100	101	99	99	100	100	98	99
	相対重量	98	100	100	↑107	100	100	99	104
唾液腺	絶対重量	102	100	97	100	101	101	98	104
	相対重量	100	100	100	↑111	100	100	100	105
肝臓	絶対重量	101	98	96	↓87	101	102	99	98
	相対重量	100	97	96	↓94	101	103	100	103
腎臓	絶対重量	102	104	103	100	102	104	106	105
	相対重量	100	102	103	↑108	103	107	↑108	↑111
精巣	絶対重量	101	102	95	110	-	-	-	-
	相対重量	99	101	95	↑118	-	-	-	-
卵巣	絶対重量	-	-	-	-	90	87	↓84	94
	相対重量	-	-	-	-	90	↓88	↓85	100
盲腸	絶対重量	108	↑128	↑150	↑181	112	116	↑131	↑164
	相対重量	106	128	↑151	↑196	113	118	↑134	↑173

Dunnett または Scheffe の多重比較法 : † ‡ P<0.05、↑ ↓ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

6000 ppm、3000 ppm 群の雌雄及び 1000 ppm の雄で盲腸重量の増加が認められた。検体投与に起因した腸内細菌叢の変化によって生じたものと考えられた。6000 ppm 群の雌雄及び 3000 ppm 群の雌で腎臓相対重量の有意な増加が認められた。先行した試験の結果から検体の主たる標的臓器は腎臓と考えられ、また、1000 ppm 以上の雄で腎臓の病理組織学的病変が認められていることから、この腎臓重量の増加は検体投与による腎臓障害を示唆するものと考えられた。6000 ppm 群の雄で観察された唾液腺重量の増加は、先に行われた 28 日間反復経口投与毒性試験（予備試験）及び 2 年間反復経口投与毒性試験/発がん性併合試験（資料 毒性-17）でも認められており、検体投与に関連した変動と考えられた。6000 ppm 群の雄で認められた脳、肝臓及び精巣重量の変動は体重増加抑制に伴われる二次的な変動と考えられた。3000 ppm 及び 1000 ppm の雌の卵巣重量の有意な減少は用量相関性がなく、偶発的な変動と考えられた。

申請者注：6000 ppm 群の雄の肝臓では絶対重量及び相対重量ともに統計学的に有意な減少が認められた。しかしながら、肝臓の相対重量（対照群対比 94%）は絶対重量（対照群対比 87%）と比べて対照群との差が明らかに小さくなっており、絶対重量の変動が体重増加抑制に起因した変動であることを示している。また、体重増加抑制の程度とそれに伴う肝臓

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

重量の減少の程度に若干の差があったために相対重量においても統計学的な有意差が残ったものと考えられる。なお、病理組織学的検査において、6000 ppm 群の雄を含む全ての検体投与群で肝臓への影響は認められておらず、検体投与による肝臓への直接的な影響は無いものと判断できる。報告書に詳細な記載は無く、申請者の判断として記載した。

肉眼的病理検査；

13 週間投与終了後の全動物について、エーテル軽麻酔下で放血により安楽死させ、剖検を行った。

Fisher 直接確率計算法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した結果、いずれの用量群の雌雄においても、対照群と比較して有意に高い発生頻度を示す病変は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物について、次に示す臓器・組織を対象にして病理組織学的検査を実施した。

脳、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、末梢神経（坐骨神経）、下垂体、胸腺、甲状腺（上皮小体含む、両側）、副腎（両側）、脾臓、骨及び骨髄（胸骨、大腿骨及び椎骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈（胸部）、唾液腺、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、頭部（鼻腔）、気管、肺、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精のう及び凝固腺、卵巣（両側）、子宮（角部及び頸部）、眼球及びハーダー腺（両側）、骨格筋（下腿三頭筋）、皮膚、乳腺（腹部、雌のみ）、肉眼的異常部位（正常組織との境界部を含む）

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた病理組織学的所見を次表に示す。

臓器・病変	性及び用量 (ppm)									
	雄					雌				
	0	300	1000	3000	6000	0	300	1000	3000	6000
肺：(N=)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
泡沫細胞集簇	6	9	↑12	8	11	3	6	↑8	↑11	↑10
腎臓：(N=)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
近位尿管上皮の好酸性小体増加	0	0	↑7	↑11	↑11	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P<0.05、↑◆ P<0.01
N は検査動物数

1000 ppm 以上の雄において、腎臓の近位尿管上皮の好酸性小体の増加の発生頻度が有意に増加した。発生頻度が投与用量と相関していたため、検体投与に起因した所見と考えられた。1000 ppm 以上の雌では、肺の泡沫細胞集簇の発生頻度の有意な増加が認められた。先に行われた 2 年間反復経口投与毒性試験/発がん性併合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

試験（資料 毒性-17）においても同一病変の発生増加が認められていることから、検体投与に起因した所見と考えられた。

検体を混餌投与方法でラットに91日間（13週間）に投与したところ、6000 ppm 群の雌雄で飼料摂取量の低下を伴う体重増加抑制が認められ、3000 ppm 群以上の雄及び6000 ppm 群の雌で飲水量の増加が認められた。尿検査では、6000 ppm 群の雄及び3000 ppm 群以上の雌で尿 pH が減少し、6000 ppm 群の雌で尿沈渣中の上皮細胞数の増加が認められた。血液学的検査では、1000 ppm 群以上の雄及び6000 ppm 群の雌でヘマトクリット値、血色素量及び赤血球数の減少が認められた。血液生化学的検査では3000 ppm 群以上の雄及び6000 ppm 群の雌で総蛋白、グロブリン及びアルブミンの減少が、6000 ppm 群の雌雄で塩素の増加が認められた。臓器重量では、1000 ppm 群以上の雄及び3000 ppm 群以上の雌で盲腸重量の増加、6000 ppm 群の雄及び3000 ppm 群以上の雌で腎臓重量の増加、さらに6000 ppm 群の雌で唾液腺重量の増加が認められた。病理組織学的所見として、1000 ppm 群以上の雄で腎臓に近位尿細管上皮の好酸性小体増加が、1000 ppm 以上の雌で肺に泡沫細胞集簇の発生頻度の増加が認められた。

したがって、検体のラットにおける無毒性量（NOAEL）は本試験条件下において雌雄とも300 ppm（カスガマイシン原体として、雄 \quad mg/kg 体重/日、雌 mg/kg 体重/日）であると判断された。

申請者注：カスガマイシン（遊離塩基）としてのNOAEL
雄 11.31 mg/kg 体重/日、雌 13.11 mg/kg 体重/日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

② マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 毒性-12)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物：CD-1 系マウス、

投与開始時週齢；約 5 週齢、

投与開始時体重；雄 22~29 g、雌 20~26 g 一群雌雄各 12 匹

投与期間：14 週間 (1989 年 5 月 24 日~1989 年 8 月 31 日)

試験方法：検体を 0、300、1000、3000 及び 10000 ppm の濃度で混入した飼料を 13 週間にわたって、随時摂取させた。検体を混入した飼料は毎週 1 回調製した。なお、飼料調製の際、検体純度による補正は行わなかった。

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；

一般症状及び生死を投与期間中毎日 2 回観察した。また、詳細な状態の観察は投与期間中週 1 回行った。

3000 及び 10000 ppm 投与群の雌雄に、投与 4 週時から肛門周囲の発赤が観察され、これは雄よりも雌で多く認められた。この症状にはその発現時期及び頻度に投与量との明らかな関連性がみられ、数例ではその範囲がより拡大した。なお、1000 ppm 投与群の雌 1 例においても投与後 7 週から 11 週までの期間に同様な症状が認められた。この症状を除いて、検体投与に関連した影響は認められなかった。

申請者注：1000 ppm 投与群の雌 1 例に肛門周囲の発赤が観察されたが、病理組織学的検査において 3000 ppm あるいは 10000 ppm 群で認められた潰瘍にはいたっていなかった。したがって、この雌 1 例の発赤は検体投与との関連性を否定するものではないが、毒性学的に重要な所見ではないと考えられた。報告書では詳細な記載が無いため、申請者が判断した。

屠殺・死亡例として、7 例が認められた。その分布を次表に示す。

性別	供試動物数	屠殺/死亡動物の分布・用量 (ppm)				
		0	300	1000	3000	10000
雄	12	1	0	0	1	2
雌	12	0	0	0	2	1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

10000 ppm 投与群の雄 2 例及び 3000 ppm 投与群の雌 1 例は、各々投与 12 及び 13 週時に、肛門周囲の皮膚傷害が拡大したことにより動物福祉の観点から屠殺された。さらに、10000 ppm 投与群の雌 1 例及び 3000 ppm 投与群の雌雄各 1 例は、各々投与後 6、7 及び 14 週時に死亡して発見された。これらのうち 2 例に肛門周囲の皮膚障害がみられた以外に特記すべき疾病はなく、また、肉眼的病理所見も認められなかった。10000 ppm 投与群の雌 1 例は病理組織学所見として気管支肺炎が認められた。これら投与期間中に死亡した 3 例について、検体投与による死亡原因を明確にすることはできなかった。なお、対照群の雄 1 例は投与 13 週時の採血時に死亡した。

体重変化；

全生存動物について、投与開始日及び投与期間中毎週 1 回、体重を測定した。さらに、解剖直前にも体重を測定した。

体重増加量の結果を次表に示す。

期 間	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	10000	300	1000	3000	10000
0~11 週	108	107	116	♯62	90	102	90	♯58
0~14 週	108	105	99	♯46	71	116	81	♯36

Student の t 検定：↑↓ P<0.05、↑♯ P<0.01、♯↓ P<0.001

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

10000 ppm 投与群の雌雄で、投与 11 週以降の体重増加量が統計学的に有意に低下した。

摂餌量；

投与期間中、毎週 1 回摂餌量を測定した。

13 週間にわたる総摂餌量の結果を次表に示す。

期 間	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	10000	300	1000	3000	10000
1~14 週	104	106	103	105	102	99	102	94

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

10000 ppm 投与群の雌では対照群に比べやや低い傾向が認められた。その他の群及び雄では対照群とほぼ同等であった。

食餌効率；

投与期間中毎週、摂餌量に対する体重増加量比率として群平均食餌効率を算出した。

13 週間にわたる総摂餌効率の結果を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

期 間	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	10000	300	1000	3000	10000
1~14 週	103	100	97	43	72	117	78	39

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

10000 ppm 投与群の雌雄における摂餌効率は、対照群と比較して明らかに低く、検体投与による影響と考えられた。摂餌効率における群間変動は大きいですが、3000 ppm 以下の群では投与による変化はないものと考えられた。

飲水量；

投与 1 週、6 週及び 12 週時にそれぞれ 3 日間以上にわたる飲水量を測定した。

いずれの検体投与群においても、対照群との間に明らかな差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(mg/kg/日)は次表のとおりであった。

用量 (ppm)	雄	雌
300	(26.67)	(37.57)
1000	(87.7)	(110.7)
3000	(264.7)	(366.5)
10000	(1011)	(1188)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

眼科学的検査；

投与開始前は全動物について、投与 12 週時には対照群及び 10000 ppm 投与群の全生存動物について、検眼鏡を用いて眼科学的検査を行った。

同系統マウスにしばしばみられる所見を除いて、検体投与に起因したと考えられる所見は認められなかった。

血液学的検査；

投与 13 週時に、一晩絶食させた全生存動物の眼窩静脈から、抗凝固剤として EDTA を用いて血液を採取し、以下の項目を検査した。

ヘマトクリット値 (PCV)、ヘモグロビン濃度 (Hb)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数 (WBC) 及び白血球百分率 (リンパ球 (L)、単球 (M)、好酸球 (E)、好塩基球 (B)、好中球 (N)、正赤芽球数、血小板数 (PLt))

対照群と比較して統計学的に有意な変動が認められた項目及びその変動に関連する項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	10000	300	1000	3000	10000
ヘマトクリット値 (PCV)	100	98	100	93	98	98	98	↓93
ヘモグロビン濃度 (Hb)	100	97	97	94	99	99	98	↑95
赤血球数 (RBC)	102	98	100	96	99	98	98	96
白血球数 (WBC)	↓73	↓76	99	105	73	95	88	↑132
好中球 (N)	110	120	↑150	↑210	100	78	67	100
リンパ球 (L)	↓68	↓70	94	91	↑67	100	89	↑138
血小板数 (PLt)	91	94	↑89	↑88	97	91	100	104

Student の t 検定 : ↑↓ $P < 0.05$ 、↑ ↓ $P < 0.01$ 、↑ ↓ $P < 0.001$

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

10000 ppm 投与群雌雄において、対照群と比較してヘマトクリット値 (PCV)、ヘモグロビン濃度 (Hb) 及び赤血球数 (RBC) が低く、雌のヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度は統計学的に有意であった。しかしながら、関連した病理組織学的変化はなく、その原因及び意義は明確ではなかった。また、3000 ppm 以上の雄では好中球 (N) の増加が認められた*。その他にも有意な変動が認められる項目があったが、投与量との関連性がないことから、偶発的な変動であると考えられた。

*申請者注 : 3000 ppm 群以上の雄で認められた好中球増加は、その要因は明らかではないが、用量との関連性が認められることから、検体投与による影響と判断した。報告書では詳細な記載が無いため、申請者が判断した。

血液生化学的検査 ;

投与 13 週時に一晚絶食させた全生存動物の眼窩静脈から抗凝固剤としてヘパリンを用いて血液を採取し、この血液から得られた血漿を用いて、以下の項目を検査した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (AP)、グルコース、尿素窒素、総コレステロール、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン ($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 β 、 γ に分画)、アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

対照群と比較して統計学的に有意な変動が認められた項目を次表に示す。

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	300	1000	3000	10000	300	1000	3000	10000
アルカリホスファターゼ (AP)	94	88	112	76	102	107	104	↓72
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)	115	108	127	↑165	97	92	111	122
グルコース	106	↑130	↑132	81	108	↑119	↑117	89
総ビリルビン	↑133	↑133	133	133	100	100	100	↓75
総コレステロール	↓83	↓86	88	↓68	85	87	↓72	↓74
総蛋白	104	102	104	96	97	↓93	97	↓90
アルブミン	107	103	107	↓93	97	↓92	95	↓86
グロブリン (α1)	100	100	114	100	↑80	100	100	↓80
グロブリン (α2)	100	↓100	↑100	100	↓100	↓67	↓67	100
グロブリン (β)	109	↑109	109	109	92	92	100	92
グロブリン (γ)	100	100	100	↑200	50	50	100	100

Student の t 検定 : ↑↓ P<0.05、↑↓ P<0.01、↑↓ P<0.001

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

10000 ppm 投与群の雌雄ともに、対照群と比較して総コレステロール及びアルブミンが有意に低下し、3000 ppm 投与群の雌でも総コレステロールが有意に低下した。その他の項目にも有意な変動が認められたが、投与量との関連性がない偶発的な変動あるいは毒性学的な意義が明確でない変動と考えられた。

尿検査；

投与 12 週時に、全生存動物を代謝ケージに収容し、絶食及び絶水の条件で、一晚採取した尿を用いて、以下の項目を検査した。

外観、尿量、pH、尿比重、蛋白、総還元物質、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリリン、亜硝酸塩、血色素、沈渣の鏡検

いずれの検査項目についても、検体投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

臓器重量；

13 週間の投与終了時に全生存動物を対象に、以下の臓器重量を測定した。また、最終体重を用いて体重比 (相対重量) を算出した。

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

対照群と比較して統計学的に有意な変動が認められた臓器を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

検査項目	性及び用量 (ppm)								
	雄				雌				
	300	1000	3000	10000	300	1000	3000	10000	
検査動物数	12	12	11	10	12	12	10	11	
最終体重	101	103	99	↓76	93	108	95	↓83	
脳	絶対	101	99	100	99	100	99	103	96
	相対	100	97	102	↑134	108	93	108	↑117
心臓	絶対	111	100	94	87	96	103	93	↓80
	相対	110	98	97	114	105	98	98	98
腎臓	絶対	109	106	96	↑81	107	103	97	↓82
	相対	108	103	98	106	↑115	96	102	99
肝臓	絶対	97	96	88	↓71	100	105	96	↓79
	相対	96	93	↑89	92	107	97	100	94
肺/ 気管支	絶対	115	99	100	105	90	92	94	86
	相対	114	97	102	↑142	98	88	100	107
脾臓	絶対	↑126	100	107	106	86	90	92	↓74
	相対	↑124	97	110	141	93	87	97	89
精巣	絶対	99	99	99	107				
	相対	98	96	101	↑142				

Dunnett の多重比較法あるいは Beheren の Fisher 検定 : ↑↓ P<0.05, ↑ ↓ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

臓器重量に有意差な変動が認められる場合があったが、体重変動に起因するか、あるいは投与量との関連性の無い偶発的な変動と考えられた。臓器重量への投与の直接的な影響はないものと考えられた。

肉眼的病理検査；

試験期間中に切迫屠殺した動物あるいは 13 週間の投与終了時の生存していたすべての動物は炭酸ガス吸入により安楽死させた後、肉眼的病理検査を行った。

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた所見を次表に示す。

所見	性及び用量 (ppm)									
	雄					雌				
	0	300	1000	3000	10000	0	300	1000	3000	10000
検査動物数	11	12	12	11	10	12	12	12	10	11
卵巣/ 大型						0	5*	4	3	2
皮膚#/ 蒼色	0	1	0	0	0	0	0	0	2	4*
皮膚#/ 暗色化	0	0	0	0	2	0	0	0	1	4*

Fisher 直接確率計算法 : * P<0.05

表中の数字は所見発生数、# : 生殖器・肛門周囲

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

10000 ppm 投与群の雌雄、特に雌において、生殖器及び肛門周囲の皮膚の着色あるいは皮膚の暗色化の発生頻度が対照群に比べ増加した。10000 ppm 群の雌では統計学的に有意であった。3000 ppm 投与群の雌では、1 ないし 2 例で同様な症状が認められた。

その他に認められた肉眼的病理所見は、投与に起因しない偶発的なものであると考えられた。

病理組織学的検査；

13 週間の投与終了時の対照群及び 10000 ppm 群の全生存動物及び試験期間中に安楽死あるいは死亡した動物を対象に、以下に示す臓器・組織についてパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って組織標本を作製した後、病理組織学的検査を実施した。また、投与終了時の 300、1000 及び 3000 ppm 群の全生存動物を対象に腎臓、肝臓、肺、肛門及び精巣の病理組織学的検査を実施した。

副腎、肛門（周辺を含む）、大動脈（胸部）、脳、盲腸、大腸、十二指腸、精巣上体、眼球及び視神経、大腿骨（関節面を含む）、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、涙腺、肺（気管支の主幹を含む）、リンパ節（下顎、腸管膜）、乳腺（頭側部及び尾側部）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下腺）、坐骨神経、精嚢、骨格筋（大腿部）、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨及び骨髄、胃、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、膀胱、子宮（頸部を含む）、膣

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた組織所見を次表に示す。

臓器 / 組織	所見	性及び用量 (ppm)									
		雄					雌				
		0	300	1000	3000	10000	0	300	1000	3000	10000
	検査動物数	11	12	12	11	10	12	12	12	10	11
腎臓	好塩基性化/過形成:直部	0	0	0	0	0	0	0	0	9***	11***
	検査動物数	11	12	12	11	10	/				
精巣	管腔弛緩	0	0	0	1	7**					
	弛緩に関連した管腔変性	0	0	0	1	4*					
	精液瘤	0	0	0	1	5*					
	検査動物数	10	11	9	10	10	11	11	10	8	10
肛門	慢性炎症	0	0	0	9***	10***	0	0	1	7***	10***
	潰瘍	0	0	0	9***	10***	0	0	0	6**	8***
	検査動物数	11	12	12	11	10	12	12	12	10	11
肺	間質性肺炎	4	3	2	6	5	7	8	9	10*	8

Fisher 直接確率計算法 : * P<0.05、** P<0.01、*** P<0.001

表中の数字は所見発生数

検体投与に関連すると考えられる病理組織学的所見が、腎臓（雌）、精巣及び肛門（雌雄）に認められた。

腎臓では 3000 ppm 以上の投与群の雌で近位尿細管の直部領域で好塩基性化/過形成の発生頻度が対照群に比較して有意に増加した。この所見の程度は 10000 ppm 投与群では顕著であったが、3000 ppm 投与群では軽微あるいは軽度であった。雄ではこれらの所見は認められなかった。

精巣では精細管の管腔弛緩が 10000 ppm 投与群で 7 例、3000 ppm 投与群で 1 例に認められた。この管腔弛緩の数例には、恐らく圧迫萎縮によると考えられる精細管上皮の変性を伴っていた。また、関連する所見として精液瘤が観察された。

肛門では 3000 ppm 以上の投与群の雌雄で、肛門の潰瘍及び炎症がみられた。1000 ppm 投与群雌 1 例に軽微な炎症がみられたが、潰瘍は伴わなかった。

以上の他に、3000 ppm 投与群の雌で間質性肺炎の発生頻度が対照群に比べ有意に増加したが、この所見を含め、その他にみられた所見は同系統マウスに、当該試験機関でしばしば認められる病変であり、投与による影響とは考えられなかった。

検体をマウスに対して 3 ヶ月間混餌投与したところ、3000 ppm 群以上の雌雄において、肛門周囲の発赤が認められ、10000 ppm 群の雌雄では体重増加抑制及び摂餌効率の減少が認められた。血液学的検査では、10000 ppm 群の雌雄でヘマトクリット値、血色素量及び赤血球数の減少ないし減少傾向が、3000 ppm 群以上の雄で好中球の増加が認められた。血液性化学的検査では、10000 ppm 群の雄及び 3000 ppm 群以上の雌で総コレステロールの減少が、10000 ppm 群の雌雄でアルブミンの減少が認められた。剖検所見として、10000 ppm 群の雄及び 3000 ppm 群以上の雌に生殖器あるいは肛門周囲皮膚の着色/暗色化が認められた。病理組織学的所見として、3000 ppm 群以上の雌雄で肛門に潰瘍及び炎症が、3000 ppm 群以上の雌で腎臓に近位尿細管の直部領域における好塩基性化/過形成が、3000 ppm 群以上の雄で精巣の精細管の管腔弛緩及びこれに関連した精細管上皮の変性、精液瘤が認められた。

したがって、本試験における無毒性量 (NOAEL) は 1000 ppm (カスガマイシン原体として、雄 mg/kg 体重/日、雌 mg/kg 体重/日) と判断した。

申請者注：カスガマイシン（遊離塩基）としての NOAEL

雄 87.7 mg/kg 体重/日、雌 110.7 mg/kg 体重/日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

③ イヌ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 毒性-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1993 年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物：ビーグル犬

投与開始時月齢； 4～5 ヲ月齡

開始時体重； 雄 6900～7700 g、雌 4800～7800 g

一群雌雄各 4 匹

投与期間：91 日間（1992 年 10 月 15 日～1993 年 1 月 19 日）

投与方法：検体を 0、300、3000 及び 6000/4500 ppm の濃度で飼料に混入し、91 日間にわたって随時摂食させた。検体混入飼料は純度（一塩酸塩として）で補正し、週 1 回調製した。

なお、6000/4500 ppm 群は試験 1～41 日の間は 6000 ppm の混餌投与を行ったが、摂餌量の低下、体重の減少及び舌の病変のために、これらの動物に対し試験 42～49 日の間は検体混入飼料を給餌せず、軟餌のみを給餌した。その後、試験 50 日からは用量を 4500 ppm に下げて混餌投与を再開した。6000/4500 ppm 群の動物には試験期間中少なくとも 12 週間は検体が投与された。

用量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

全動物について投与期間中、瀕死状態や死亡の有無を 1 日 2 回、一般状態の観察（健康状態または行動の異常）を少なくとも 1 日 1 回行った。

検体投与との関連性があると考え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北興化学工業株式会社にある。

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	300	3000	6000/4500	0	300	3000	6000/4500
検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
口の腫大	0	0	2	2	0	0	2	1
変色(黄色)便	0	1	0	↑4	1	0	0	4
糞ほとんどなし	1	2	4	4	1	3	4	4
舌の病変	0	0	3	↑4	0	0	↑4	↑4
過剰流涎	0	0	↑4	↑4	0	3	↑4	↑4

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ P<0.05 (申請者によって実施された)

試験期間を通じ、死亡例は認められなかった。

3000 ppm 群以上の雌雄で、口の腫大、糞がほとんどない、舌の病変及び過剰流涎が認められ、6000/4500 ppm 群の雌雄で変色便が認められた。いずれも検体投与に関連した所見と考えられた。6000/4500 ppm 群の雌雄では試験 35 日に、3000 ppm の雌雄では試験 50 日に舌の病変が発現した。300 ppm 群では検体の投与に関連があると考えられる所見は認められなかった。

体重変化 :

全動物について、試験開始前 2 週間に毎週 1 回、投与開始日、投与期間中に毎週 1 回、さらに剖検日に体重を測定した。

平均体重の変化及び平均累積体重増加量を次表に示す。

(平均体重の変化)

試験週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000/4500	300	3000	6000/4500
-2	99	99	99	96	100	97
-1	99	99	98	99	97	97
1	100	98	100	99	99	99
2	↑104	100	100	102	101	94
3	104	99	98	99	97	90
4	103	99	97	102	98	↑87
5	103	97	93	101	96	↑84
6	103	97	↓91	105	98	↑81
7	108	98	↑87	105	96	↓78
8	105	94	↑81	105	96	↓73
9	106	94	↓90	107	96	↑85
10	106	95	92	109	98	86
11	105	93	93	109	98	88
12	107	95	93	111	98	88
13	105	92	92	114	100	88
14	106	93	95	112	98	84

Dunnett の多重比較法 : ↑↓ P<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

(平均累積体重増加量)

試験週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000/ 4500	300	3000	6000/ 4500
1	159	129	106	167	142	-8
2	145	110	79	96	79	7
3	120	107	80	119	90	17
4	115	89	62	109	82	↓19
5	111	90	59	126	95	↓10
6	132	99	↓44	125	85	↓1
7	120	81	↓24	123	88	↓-9
8	120	82	64	130	89	↓43
9	119	88	73	137	94	48
10	116	82	77	133	96	59
11	122	87	80	140	97	61
12	114	81	79	152	104	61
13	116	82	85	140	96	51

Dunnett の多重比較法 : †† P<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

試験期間を通じて、3000 ppm 群及び 6000/4500 ppm 群の雌雄の体重及び体重増加量（累積体重増加量を含む）が対照群と比較して対照群より低かった。体重あるいは体重増加量の統計学的に有意な減少は 6000/4500 ppm 群で認められた。検体混入飼料の嗜好性の低下、あるいは検体投与による舌の病変による摂餌量の低下に関連するものと考えられた。

摂餌量；

試験開始前 1 週の初め及び投与期間中には毎週摂餌量を測定した。6000/4500 ppm 群は摂餌量の低下、体重の減少及び舌の病変のために、検体混入飼料の給餌を中断し、試験 42 日（投与 6 週）から 49 日まで軟餌を給餌した（軟餌の摂取量は記録したが、報告書には含めなかった）。試験 50 日（投与 8 週）に検体混入飼料の濃度を 4500 ppm に下げ投与を再開した。

平均摂餌量の変化を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

試験週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000/ 4500 ^{a)}	300	3000	6000/ 4500 ^{a)}
-1	100	94	99	110	113	108
1	102	87	78	101	92	↓71
2	109	98	92	92	83	↓68
3	103	96	94	108	96	↓70
4	103	100	81	101	100	↓70
5	102	91	78	112	90	↓55
6	107	90	b	109	94	b
7	112	93	b	112	95	b
8	110	102	120	114	94	117
9	111	105	104	114	95	93
10	105	88	104	115	104	90
11	105	110	96	111	96	99
12	98	102	90	124	101	91
13	102	96	94	111	94	↓80

Dunnett の多重比較法 : †↓ P<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

a : 投与 8 週より、4500 ppm の検体混入飼料を給餌

b : 軟餌を給餌

試験期間を通じて、3000 ppm 群及び 6000/4500 ppm 群の雌雄の摂餌量が対照群より低かった。摂餌量の統計学的に有意な減少は 6000/4500 ppm 群の雌で認められた。摂餌量の低下は、検体混入飼料の嗜好性の低下、あるいは検体投与による舌の病変に関連するものと考えられた。

検体摂取量 ;

投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日) は以下のとおりであった。

用量 (ppm)	雄	雌
300	(9.29)	(10.04)
3000	(92.95)	(94.64)
4500 ^{a)}	(137.84)	(151.69)
6000 ^{b)}	(186.05)	(162.57)

a : 8~13 週、 b : 1~5 週

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

眼科学的検査；

投与開始前及び投与終了後の計画屠殺前に全動物について、1.0% Mydriacyl を用いて散瞳し、間接検眼鏡を用いて検査した。
 検体投与に起因する変化は認められなかった。

血液学的検査；

投与開始前（試験 2 週間前）、試験 7 週目及び最終屠殺前（試験 14 週）に全動物を対象として、一晚絶食後に頸静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、プロトロンビン時間、白血球数、血球形態、型別白血球数、有核赤血球数、補正白血球数、分葉核好中球、桿状核好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	試験週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		300	3000	6000/ 4500	300	3000	6000/ 4500
平均赤血球 血色素量	14	99	97	↓96	99	99	100

Dunnett の多重比較法：†† P<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

いずれの投与群の雌雄においても、検体投与に関連して変動したと考えられる検査項目はなかった。

申請者注： 6000/4500 ppm 群の雄で、平均赤血球血色素量が試験 14 週に有意な減少となったが、関連するその他の検査項目に変動が認められなかったため、偶発的な変動と判断した。

血液生化学的検査；

投与開始前（試験 2 週間前）、試験 7 週目及び最終屠殺前（試験 14 週）に血液学的検査用に採取した血液を用いて、以下の項目を測定した。

グルコース、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、総ビリルビン、総コレステロール、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、アルカリホスファターゼ、クレアチンキナーゼ、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

項目	試験週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		300	3000	6000/ 4500	300	3000	6000/ 4500
尿素窒素	-2	111	122	111	100	100	120
	7	125	117	125	114	107	↑129
	14	117	125	117	100	107	129
コレステロール	-2	84	101	97	96	108	101
	7	84	76	101	94	81	96
	14	84	↓73	↓72	101	82	↓70
アルカリホスファターゼ	-2	88	92	85	97	101	91
	7	92	80	56	107	98	↓65
	14	95	89	85	115	100	80
カルシウム	14	98	↓93	96	100	103	100
ナトリウム	14	99	98	99	99	↓98	101
塩素	-2	100	101	101	101	99	102
	7	101	102	102	99	100	102
	14	98	100	101	100	98	↑103

Dunnett の多重比較法 : † ‡ P<0.05、▲ ▼ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

検体投与に関連した影響として、6000/4500 ppm 群雌雄でアルカリホスファターゼの軽度低下、3000 ppm 群及び 6000/4500 ppm 群の雌雄でコレステロールの軽度～中等度の低下が認められた。いずれも検体投与による摂餌量の低下及び体重減少に関連のある影響と考えられた。アルカリホスファターゼの低下はおそらく摂餌量の低下及び体重減少に関連した骨芽細胞活性の低下と推察された。

6000/4500 ppm 群雌の試験 7 週時において、尿素窒素の高値が認められたが、試験 2 週前に尿素窒素の値がすでに高かったこと、腎機能障害に起因する他の所見はみられなかったことから、検体投与に関連した影響とは考えられなかった。

申請者注：6000/4500 ppm 群の試験 14 週の雌で、塩素の有意な増加が認められたが、その増加程度は極くわずかであり、試験 2 週前とほぼ同程度の増加であることから偶発的な変動と考えられた。3000 ppm 群の試験 14 週における雄のカルシウム及び雌のナトリウムの有意な低下は、用量との関連性が無く偶発的な変動と考えられた。

尿検査；

投与開始前（試験 2 週前）は 19 時間採取した尿について、試験 7 週及び最終屠殺前（試験 14 週）は 16 時間採取した尿について、以下の項目を測定した。

尿量、比重、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

リノーゲン、外観、尿沈渣

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた尿 pH について次表に示す。

試験週	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	300	3000	6000/ 4500	0	300	3000	6000/ 4500
-2	7.9	7.9	7.8	7.4	7.8	7.0	7.2	7.1
7	7.8	8.4	↓6.8	↓6.9	7.9	7.9	↓7.0	↓7.0
14	7.2	6.8	6.9	6.9	7.0	6.6	7.0	7.0

Dunnett の多重比較法 : †↓ P<0.05

表中の数値は尿 pH の平均値

6000/4500 ppm 群及び 3000 ppm 群の雌雄において試験 7 週時に、尿 pH の低値が認められたが、試験 2 週前の検査において主に雌で対照群との間に差が認められていること、試験 14 週では対照群との差が認められないことから、検体投与に関連した影響ではないと考えられた。

臓器重量；

試験終了時（試験 14 週）の全動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、体重比及び脳重比を算出した。

副腎、脳、腎臓、肝臓、卵巣、精巣、甲状腺(上皮小体を含む)

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた臓器を次表に示す。

臓器		性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		300	3000	6000/ 4500	300	3000	6000/ 4500
副腎 (左)	絶対重量	113	107	108	117	99	119
	体重比	105	114	114	102	100	†135
	脳重比	113	110	113	117	92	114
副腎 (右)	絶対重量	110	92	110	111	91	108
	体重比	102	98	115	100	95	127
	脳重比	109	94	115	110	85	103
脳	絶対重量	100	96	94	101	106	105
	体重比	94	103	102	89	109	†123
卵巣 (左)	絶対重量	-	-	-	120	138	113
	体重比	-	-	-	106	139	133
	脳重比	-	-	-	118	129	109
卵巣 (右)	絶対重量	-	-	-	104	137	133
	体重比	-	-	-	89	138	†151
	脳重比	-	-	-	102	126	126

Dunnett の多重比較法 : †↓ P<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

検体投与に関連した臓器重量の変動は認められなかった。

申請者注：6000/4500 ppm 群の雌で副腎（左）、脳及び卵巣（右）の体重比が統計学的に有意な高値を示したが、脳の絶対臓器重量、副腎及び卵巣の絶対重量あるいは脳重比に明らかな変動はなく、いずれも検体投与に関連した影響ではないと判断した。

肉眼的病理検査；

試験終了時（試験 14 週）の全動物を対象として、剖検を行った。

対照群と比較して発生頻度が増加傾向を示した所見及び検体投与との関連性が疑われた所見を次表に示す。

部位	病変	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	300	3000	6000/4500	0	300	3000	6000/4500
	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
舌	びらん/潰瘍	0	0	3	↑4	0	0	↑4	↑4
	陥没域	0	0	1	0	0	0	0	0
	びまん性発赤	0	0	0	0	0	0	0	1
口腔	びまん性発赤	0	1	1	0	0	0	2	1
皮膚	肥厚	0	0	2	2	0	0	2	2

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P<0.05 (申請者によって実施された)

表中の数値は所見発生数

舌の所見として、6000/4500 ppm 群及び 3000 ppm 群の雌雄でびらん/潰瘍が認められ、その他に 6000/4500 ppm 群の雌の 1 例にびまん性発赤、3000 ppm 群の雄の 1 例に陥没域が認められた。いずれも検体投与に関連した影響と考えられた。

その他、口交連部皮膚の肥厚が 6000/4500 ppm 群の雌雄各 2 例及び 3000 ppm 群の雌雄各 2 例に、口腔のびまん性発赤が 300 ppm 群の雄 1 例、3000 ppm 群の雄 1 例及び雌 1 例、6000/4500 ppm 群の雌 1 に認められた。口腔のびまん性発赤は剖検時の瀉血時に消失した。口交連部あるいは口腔の皮膚に組織学的所見は認められておらず、観察された肉眼所見はおそらくこれら組織のうっ血のため、瀉血時に消失したと考えられた。

申請者注：300 ppm 及び 3000 ppm 群の雄及び 3000 ppm 群以上の雌で観察された口腔のびまん性発赤は、病理組織学的所見を伴っておらず、また用量との関連性も明らかでないため検体投与による影響ではないと判断した。一方、3000 ppm 群以上の雌雄で観察された口交連部皮膚の肥厚は、病理組織学的所見を伴っていないものの、3000 ppm 群及び 6000/4500 ppm 群の各用量で雌雄に各々 2 例ずつ発現しており、用量との関連性も疑われることから、検体投与に関連した影響と判断した。い

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

ずれも報告書に詳細な記載が無いため、申請者が判断した。

病理組織学的検査；

試験終了時（試験 14 週）の全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、病理組織学的検査を実施した。

大動脈、脳、下垂体、胸腺、下顎唾液腺、眼、甲状腺（上皮小体を含む）、肺、気管、心臓、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、食道、胃、膵臓、舌、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、盲腸、膀胱、精巣、精巣上部、前立腺、卵巣、子宮、子宮頸部、膈、骨格筋、脊髄（頸部、中胸部及び腰部）、坐骨神経、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む、遠位末端の関節面）、乳腺、腸間膜リンパ節、皮膚、病変部

対照群と比較して発生頻度が増加傾向を示した所見及び検体投与との関連性が疑われた所見を次表に示す。

部位	病変	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	300	3000	6000/4500	0	300	3000	6000/4500
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
舌	背面上皮萎縮	0	0	1	↑4	0	0	3	↑4
	漿液浸出	0	0	0	3	0	0	0	3
	慢性活性炎症	0	0	0	3	0	0	0	↑4
	炎症性肉芽腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	上皮乳頭消失	0	0	↑4	↑4	0	0	↑4	↑4
	潰瘍	0	0	1	↑4	0	0	0	↑4

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P<0.05（申請者によって実施された）
表中の数値は所見発生数

検体投与に関連のある所見は、3000 及び 6000/4500 ppm 群の舌に限られていた。舌の病変は背面上皮乳頭の消失に始まり、外側部から舌の中心部に進行し、乳頭が消失した後、上皮は完全に消失するまで萎縮し、潰瘍を生じた。潰瘍部ではしばしば漿液、軽微～軽度慢性活性炎症がみられた。

検体をイヌに 13 週間混餌投与したところ、3000 ppm 群以上の雌雄で舌の病変、口の腫大、過剰分泌及び糞がほとんどない状態が認められ、6000/4500 ppm 群の雌雄では変色便も認められた。3000 ppm 群以上の雌雄では、混入飼料の嗜好性の低下あるいは舌の病変による摂餌量の低下が認められ、それに伴う体重増加抑制も認められた。血液生化学的検査では、3000 ppm 群以上の雌雄でコレステロールの減少が、6000/4500 ppm 群の雌雄でアルカリホスファターゼの減少が認められた。剖検所見として、3000 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北興化学工業株式会社にある。

群以上の雌雄で舌のびらん/潰瘍及び口交連部皮膚の肥厚が認められた。病理組織学的所見として、3000 ppm 群以上の雌雄で舌に上皮乳頭消失及び背面上皮萎縮が認められ、3000 ppm 群以上の雄及び6000/4500 ppm 群の雌で舌に潰瘍が認められた。また、舌の潰瘍部では6000/4500 ppm 群の雌雄で漿液浸出及び慢性活性炎症が、同群の雄で炎症性肉芽腫が認められた。

したがって、本試験における無毒性量 (NOEL) は雌雄ともに 300 ppm (カスガマイシン-塩酸塩として、雄 mg/kg 体重/日、雌 mg/kg 体重/日) であった。

申請者注：カスガマイシン (遊離塩基) としての NOEL
雄 9.29 mg/kg 体重/日、雌 10.04 mg/kg 体重/日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

①ラットを用いた21日間反復経皮投与毒性試験

(資料 毒性-14)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2009年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物：Sprague-Dawley系[Cr1:CD(SD)]ラット

投与開始時週齢；約8週齢

投与開始時体重；雄255～307g、雌179～219g

一群雌雄各10匹

投与期間：21日間；雄2009年5月14日～2009年6月3日

雌2009年5月15日～2009年6月4日

投与方法：投与開始の前日に各供試動物の体表の約10%に相当する背部皮膚(側腹部を含む)を刈毛して適用部位とした。塗布開始後は、必要に応じて刈毛した。

1日約6時間、21日間にわたって継続投与した。検体の投与量を0(対照)、50、250及び500mg/kg/日として試験を開始したが、250及び500mg/kg/日群の雌で重度の皮膚変化が認められたため、8日目以降の投与量を次表のように変更した。

投与期間	投与量 ^{a)} (mg/kg/日)							
	雄				雌			
1～7日目	0	50	250	500	0	50	250	500
8～21日目					0	50	100	200

a:投与量は %の純度に基づき、遊離塩基として表している。
表中の数値はカスガマイシン遊離塩基としての値。

検体を脱イオン水で湿潤し、投与部の皮膚に均一に適用してガーゼで覆い、伸縮性の包帯及び非刺激性の絆創膏で固定した。さらに、エリザベス・カラーを装着した。投与6時間後に適用したガーゼ/包帯等及びエリザベス・カラーを取り除き、脱イオン水で湿らせたペーパータオルを用いて適用部位から検体を除去した。投与量は直近の体重に基づき算出した。対照群の動物には脱イオン水のみを投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡の有無及び一般状態；

投与期間中、死亡及び瀕死動物の有無を1日2回観察した。

一般状態は1日3回（投与前、適用したガーゼ/包帯等の除去時及び除去の1時間後）観察し、詳細な状態検査は動物の無作為割付の1週間前、無作為割付時点及び計画剖検前の3回行った。

投与期間中、対照群の雄1例、50 mg/kg/日群の雄1例及び100 mg/kg/日群の雌1例の合計3例が死亡した。いずれも死因は不明であった。死亡に用量相関性が無いこと、対照群においても認められていることから、これらの死亡は検体投与と関連性がないと判断された。

検体投与に関連したと考えられる毒性症状は認められなかった。

皮膚の観察；

皮膚の観察は、詳細な状態の検査の実施時及び試験開始時（投与前）に、紅斑、浮腫、その他の皮膚所見について塗布部位を観察した。紅斑及び浮腫の評価はDraize法に従い、軽微、軽度、中等度、重度の4段階で評価した。

投与部皮膚における所見を次表に示す。

項目	性及び用量 (mg/kg/日)								
	雄				雌				
	0	50	250	500	0	50	250/100	500/200	
延べ観察回数/検査動物数	37/10	37/10	40/10	40/10	40/10	40/10	38/10	40/10	
紅斑	軽微	0/0	0/0	1/1	5/4	0/0	0/0	4/4	5/3
	軽度	0/0	0/0	0/0	6/6	0/0	0/0	3/2	2/2
	中程度	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	1/1	3/3
	重度	0/0	0/0	0/0	4/3	0/0	0/0	0/0	15/7
浮腫	軽微	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	3/2	2/2
	軽度	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	2/2	4/4
	中程度	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	0/0	9/6
	重度	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	5/5
痂皮	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	0/0	8/7	
痂皮形成	0/0	0/0	0/0	5/5	0/0	0/0	0/0	6/6	
点状痂皮	2/2	1/1	2/2	16/8	1/1	0/0	3/3	6/4	
褐色化	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	2/2	5/5	
潰瘍	0/0	0/0	0/0	3/3	0/0	0/0	0/0	7/6	
革質化 (coriaceousness)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	3/2	
癬痕	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2	6/5	

表中数字：延べ所見発現回数/延べ所見発現動物数

500 mg/kg/日群の雄及び500/200 mg/kg/日群の雌で、皮膚に紅斑、浮腫、痂皮、痂皮形成、点状痂皮、褐色化及び潰瘍が認められ、さらに雌では革質化 (coriaceousness) 及び癬痕も認められた。250/100 mg/kg/日群の雌では、発現例数及び程度の軽減が認められるものの紅斑、浮腫、点状痂皮、褐色化及び癬痕が認められた。また、250 mg/kg/日群の雄1例では試験7日に軽微の紅斑が観察さ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

れたが、試験 14 日までに解消した。250 mg/kg/日群以上の雄及び 250/100 mg/kg/日群以上の雌で観察された投与部の皮膚の所見はいずれも検体投与に関連した影響と考えられた。

50 mg/kg/日群では検体投与に関連した皮膚所見は認められなかった。

体重変化；

体重は試験開始前に 3 回、投与開始日に 1 回、投与期間中に週 1 回、剖検の前日に 1 回個体別に測定した。各測定間隔における体重増加量も算出した。投与終了時（21 日目）の計画屠殺前にも絶食後の体重を測定した。

Dunnett の多重比較法を危険率 5%及び 1%レベルで実施した結果、全ての検体投与群の雌雄のいずれにも体重及び体重増加量において統計学的に有意な変動は認められなかった。

摂餌量；

試験開始の 1 週間前から投与期間の終了時まで週 1 回測定し、1 日 1 匹当たりの摂餌量を算出した。

Dunnett の多重比較法を用いて危険率 5%及び 1%レベルで実施した結果、全ての検体投与群の雌雄のいずれにも摂餌量について統計学的に有意な変動は認められなかった。

血液学的検査；

投与終了時（試験 21 日）に全生存動物を対象として、イソフルランの吸入麻酔下で後眼窩静脈叢から採血した。血液凝固時間測定用の血液試料については、屠殺時に炭酸ガス麻酔下で大静脈から採取した。なお、採血前に一晚、供試動物を絶食させた。血液学的検査項目を次に示す。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、赤血球分布幅、網赤血球数（百分率、絶対数）、総白血球数、白血球分画（百分率、絶対数）、ヘモグロビン分布幅、血小板数、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

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

検査項目	性及び用量 (mg/kg/日)					
	雄			雌		
	50	250	500	50	250/100	500/200
網赤血球数 (%)	↓ 60	↓ 70	↓ 63	105	116	111
網赤血球数 (絶対数)	↓ 66	75	↓ 66	106	114	106
総白血球数	↓ 71	85	↓ 79	94	84	87
好中球 (絶対数)	↓ 44	↓ 48	56	93	105	112
好酸球 (絶対数)	↓ 59	↓ 65	65	100	92	154
大型非染色球 (%)	70	↓ 70	↓ 60	100	122	89
大型非染色球 (絶対数)	↓ 46	↓ 54	↓ 46	100	100	88

Dunnett の多重比較法：↑↓ P<0.05、▲◆ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

検体投与群の雄においてのみ、いくつかの検査項目で統計学的に有意に低い値が認められた。しかしながら、対照群の2例において中等度の急性鼻炎及び／または中等度の肝細胞壊死を示し、好中球数、大型非染色球数及び網赤血球数が高い値であったため、対照群の雄の平均値が異常に高くなった。そのため、検体投与群の雄で見られた統計学的に有意な差はいずれも対照群の平均値が高いことによる影響であり、検体投与による影響とは考えられなかった。また、検体投与群の雌の場合には統計学的に有意な変動は認められず、検体投与による影響はないと考えられた。

血液生化学的検査；

血液学的検査時に採取した血液から分離した血清を用いて、以下の項目について測定した。

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、アルカリホスファターゼ、γ-グルタミルトランスフェラーゼ、ソルビトール脱水素酵素、トリグリセリド、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G比、総ビリルビン、総コレステロール、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、塩素

Dunnett 多重比較法を用いて危険率5%及び1%レベルで実施した結果（ただし、γ-グルタミルトランスフェラーゼについてはDunn検定を用いた）、全ての検体投与群の雌雄のいずれにも統計学的に有意な変動の認められた検査項目はなかった。

尿検査；

投与期間の終了時（第21日）の全生存動物を対象として、代謝ケージを用いて採取した蓄尿試料を用いて以下の項目について測定した。

尿量、比重、pH、ウロビリノーゲン、色調、透明度、蛋白、亜硝酸塩、ビリルビン、グルコース、ケトン体、潜血、白血球、沈渣の鏡検

尿量、比重、pH、ウロビリノーゲンについてDunnettの多重比較法を用いて危険率5%及び1%レベルで実施した結果、全ての検体投与群の雌雄のいずれにも統計学的に有意な変動は認められなかった。その他の検査項目では、全ての検体投与群の雌雄のいずれにおいても、検体投与に関連したと考えられる影響は認められなかった。

眼科学的検査；

投与開始前（雄は試験1週間前、雌は試験2週間前）及び投与期間終了近く（試験第2週）に全生存動物について間接検眼鏡及びスリットランプ生体顕微鏡を用いて検査した。

全ての検体投与群の雌雄のいずれにおいても、検体投与に関連したと考えられる影響は認められなかった。

臓器重量；

投与期間終了時の全生存動物を対象として、屠殺後に以下の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重比を算出した。両側性臓器の場合は左右の合計重量とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、胸腺、子宮、卵巣（卵管を含む）、精巣、精巣上体

Dunnett の多重比較法を用いて危険率 5%及び 1%レベルで実施した結果、50 mg/kg/日投与群雄の脳の絶対重量が統計学的に有意に低値であった以外は、全ての検体投与群の雌雄のいずれにも統計学的に有意な変動の認められた臓器はなかった。50 mg/kg/日群の雄で、脳の絶対重量が対照群より 4.4%低かったが、用量相関性が認められないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；

投与終了時に全生存動物を炭酸ガスの吸入後に放血して安楽死させ、詳細な剖検を行った。異常の認められた所見を下表に示す。

臓器：病変		性及び用量 (mg/kg/日)							
		雄				雌			
		0	50	250	500	0	50	250/100	500/200
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
腎臓	圧迫部分 (Area, depressed)	1	1	3	0	1	0	0	0
	腎盂拡張	0	0	1	0	0	0	0	0
肝臓	褐色化	2	0	0	0	0	0	0	0
下顎リンパ節	肥大	0	1	0	0	0	1	0	1
投与部皮膚	痂皮	0	0	0	4	0	0	0	2
	開放性病巣	0	0	0	0	0	0	0	2
脾臓	副脾	0	0	0	0	0	1	0	0
精巣	肥大	0	0	0	1	-	-	-	-
胸腺	暗赤色化	0	1	0	1	0	0	0	0
	萎縮	0	0	1	0	0	0	0	0
膵臓	蒼白	0	0	0	0	0	0	0	1 ^{a)}
子宮	透明液体内容物	-	-	-	-	0	3	2	0

表中の数値は所見の発生数

a：死亡例

投与部皮膚の皮膚においては、500 mg/kg/日群の雄 10 例中の 4 例に痂皮が、また、500/200 mg/kg/日群の雌で痂皮が 10 例中の 2 例に、開放性病巣(皮膚潰瘍)が 10 例中 2 例に認められ、投与による影響と判断された。検体投与群の雌雄において、その他に検体投与によると考えられる変化はまったく認められなかった。

病理組織学的検査；

対照群の雌雄、500 mg/kg/日群の雄及び 500/200 mg/kg/日群の雌の全動物、ならびにすべての途中死亡動物を対象として、以下の臓器及び組織についてパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って組織標本を作製した後、病理組織学的検査を行った。また、50 及び 250 mg/kg/日の雄ならびに 50 及び 250/100 mg/kg/日の雌の全動物を対象として、投与部皮膚及び投与部隣接皮膚

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

について病理組織学的検査を行った。

心臓、大動脈、リンパ節（下顎及び腸間膜）、脾臓、胸腺、骨髓（大腿骨及び胸骨）、唾液腺（顎下）、咽頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、膵臓、鼻甲介、喉頭、気管、肺、腎臓、膀胱、精巢^{a)}、精巢上体^{a)}、前立腺、精嚢、卵巣（卵管を含む）、子宮、子宮頸部、膣、乳房を含む皮膚（雄では存在する場合のみ）、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、脳（大脳、小脳、延髄、橋）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、末梢神経（坐骨）、皮膚（投与部及び隣接する非投与部）、眼球（視神経を含む）^{b)}、眼窩外涙腺、骨格筋（大腿直筋）、肉眼的病変部。

a : Bouin 液で固定 ; b : Davidson 液で固定

投与による影響と考えられる投与部皮膚の所見、ならびにその二次的な影響と考えられる骨髓、胸腺及び副腎の所見を次表に示す。なお、申請者が統計学的検定として Fisher の直接確率計算法を危険率 5% 及び 1% レベルで実施した結果、対照群と比較して統計学的に有意な発生頻度の増加を示したのは次表に示された投与部皮膚の所見に限られていた。

病 変	性及び用量 (mg/kg/日)							
	雄				雌			
	0	50	250	500	0	50	250/ 100	500/ 200
投与部皮膚								
（検査動物数） ^{a)}	(9)	(9)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)
棘細胞増殖(表皮肥厚)	1	2	2	↑7	0	0	1	↑7
急性炎症	0	0	0	↑8	0	0	1	↑6
潰瘍	0	0	0	↑8	0	0	0	↑6
肉芽性炎症	0	0	0	0	0	0	0	2
骨髓（大腿骨）								
（検査動物数）	(9)	—	—	(10)	(10)	—	—	(10)
骨髓過形成	0	—	—	1	0	—	—	0
骨髓（胸骨）								
（検査動物数）	(9)	—	—	(10)	(10)	—	—	(10)
骨髓過形成	0	—	—	1	0	—	—	0
胸腺								
（検査動物数）	(9)	(1)	(1)	(10)	(10)	—	—	(10)
リンパ組織壊死	0	0	0	1	1	—	—	2
副腎								
（検査動物数）	(9)	—	—	(10)	(10)	—	—	(10)
皮質の空胞化	0	—	—	1	0	—	—	0

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ P<0.05、↑↓ P<0.01 (申請者によって実施された)

a : 検査動物数について、途中死亡は含まない。

検体投与による関連した影響

500 mg/kg/日群の雄及び500/200 mg/kg/日群の雌では、投与部の皮膚に棘細胞増殖（表皮肥厚）、急性炎症及び潰瘍が認められ、さらに、同群の雌では2例ではあるが、肉芽性炎症が認められ、検体投与による影響と考えられた。なお、250/100 mg/kg/日の雌で投与期間中に認められた投与部の皮膚の変化に対応する病理組織学的変化は認められなかった。

検体投与による二次的な影響

500 mg/kg/日群の雄1例で大腿骨及び胸骨の骨髄過形成が認められたが、この変化は投与部皮膚における急性炎症を反映していると考えられた。500 mg/kg/日群の雄1例における胸腺皮質のリンパ組織壊死及び副腎皮質の空胞化、ならびに500/200 mg/kg/日群の雌2例及び対照群の雌1例の胸腺皮質のリンパ組織壊死は検体投与によるストレス、あるいは投与時に動物の取り扱いによるストレスを反映していると考えられた。

以上のように、検体をラットに21日間反復経皮投与した結果、投与部の皮膚における所見として、500 mg/kg/日群の雄及び500/200 mg/kg/日群の雌で、紅斑、浮腫、痂皮、痂皮形成、点状痂皮、褐色化及び潰瘍が認められ、さらに雌では革質化及び癒痕も認められた。250/100 mg/kg/日群の雌では、発現例数及び程度の軽減が認められるものの紅斑、浮腫、点状痂皮、褐色化及び癒痕が認められ、250 mg/kg/日群の雄1例では軽微な紅斑が認められた。剖検所見として、投与部皮膚に500 mg/kg/日群の雄で痂皮が、また、500/200 mg/kg/日群の雌で痂皮及び開放性病巣が認められた。病理組織学的所見として、投与部の皮膚に500 mg/kg/日群の雄及び500/200 mg/kg/日群の雌で棘細胞増殖（表皮肥厚）、急性炎症及び潰瘍が認められ、さらに、同群の雌では肉芽性炎症が認められた。

したがって、本試験条件下における無毒性量（NOAEL）は雄ではカスガマイシン（遊離塩基）として500 mg/kg 体重/日、雌ではカスガマイシン（遊離塩基）として200 mg/kg 体重/日であり、無影響量（NOEL）は雌雄ともにカスガマイシン（遊離塩基）として50 mg/kg 体重/日であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

(8) 反復経口投与神経毒性

①ラットを用いた 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 毒性-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体の純度： カスガマイシンー塩酸塩(遊離塩基として) %

供試動物： Sprague-Dawley 系 [Cr1:CD(SD)] ラット、
投与時週齢；6 週齢
投与開始時体重；雄 156～213 g、雌 132～184 g
一群雌雄各 12 匹

投与期間： 13 週間 (2009 年 5 月 26 日～8 月 28 日、90 日間以上)

投与方法： 検体を飼料中に 0、300、3000 及び 6000 ppm (遊離塩基として) の濃度で混入し、
90 日間以上にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は約 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：

死亡率；

全動物の生死及び瀕死状態について毎日、午前と午後の2回観察した。
投与期間中、いずれの群の雌雄にも死亡は認められなかった。

一般状態；

投与開始日の1週間前から最終計画屠殺時まで毎週1回、詳細な一般状態の観察を行った。ただし、機能観察総合検査(FOB)を行った試験日には一般状態の観察所見を記録しなかった。

検体投与群において、体表の種々の部位における脱毛、及び眼、鼻端等における赤色物質の付着が主たる所見として認められたが、その発生頻度は対照群と各投与群で同様であり、また、用量相関性も見られなかった。6000 ppm 群の雌1例が試験3週に体表蒼白、また、6~13週目に曲尾を示したが、これらの所見はいずれの用量群の他の動物には認められなかったことから、検体投与に関連しないと考えられた。したがって、検体投与に関連した一般状態の変化はないと考えられた。

体重変化；

投与開始日の約1週間前から最終計画屠殺時まで週1回、個体別に体重を測定した。各体重測定間隔における体重増加量及び投与期間全体(0~13週)の総体重増加量も算出した。

投与期間中の測定週ごとの平均体重及び平均体重増加量の推移を次表に示す。

平均体重の推移

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000	300	3000	6000
-1 週目	100	100	100	100	100	99
0 週目	100	97	96	105	99	99
1 週目	98	96	94	105	97	97
2 週目	98	96	↓ 90	103	97	94
3 週目	97	96	↓ 89	103	97	93
4 週目	97	95	↓ 89	102	94	↓ 90
5 週目	97	95	↓ 86	102	94	90
6 週目	98	96	↓ 87	104	93	91
7 週目	99	96	↓ 88	104	93	91
8 週目	99	96	↓ 88	105	93	91
9 週目	100	96	↓ 88	105	92	91
10 週目	100	96	↓ 89	103	92	90
11 週目	100	96	↓ 89	104	93	91
12 週目	99	96	↓ 88	104	93	91
13 週目	99	95	↓ 88	104	93	90

Dunnett の多重比較法：↑↓ P<0.05、▲▼ P<0.01

表中の数値は対照群を100とした時の相対値

平均体重増加量の推移

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000	300	3000	6000
-1～0 週目	99	93	↓ 90	↑ 118	100	98
0～1 週目	95	93	86	105	81	81
1～2 週目	95	93	↓ 73	92	96	79
2～3 週目	93	98	82	115	100	77
3～4 週目	94	89	↓ 70	87	↓ 57	↓ 52
4～5 週目	92	95	↓ 76	92	92	100
5～6 週目	117	103	107	175	88	125
6～7 週目	114	107	121	100	100	80
7～8 週目	116	92	88	130	90	100
8～9 週目	110	95	90	113	38	75
9～10 週目	111	95	105	44	89	67
10～11 週目	100	100	94	125	175	150
11～12 週目	77	92	85	100	71	57
12～13 週目	110	90	90	200	50	100
0～13 週目	99	94	↓ 85	103	85	81

Dunnett の多重比較法 : †↓ P<0.05、↑↓ P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

6000 ppm 群の雄の体重は、試験 2～13 週で対照群と比較して統計学的に有意な低値であった（最大 14%）。同群の雌においても試験 4～13 週の体重が対照群と比較して低値であったが（最大 10%）、統計学的に有意な低値は試験 4 週のみであった。

6000 ppm 群の体重増加量は、雌雄で投与開始後 4～5 週間で低く、検体投与に関連した体重増加抑制が認められた。これらの体重増加量の低下を反映して、同群の雌雄では投与期間全体（0～13 週）の体重増加量も対照群と比較して低く、雄では統計学的に有意であった。

3000 ppm 群の体重は、概ね投与期間を通して対照群よりわずかに低かったが（雄で最大 5%、雌で最大 8%の低下）、統計学的に有意な変化ではなく、また、低下の程度がわずかであることから検体投与による明らかな影響とは考えられなかった。

3000 ppm 群の体重増加量は、雄ではいずれの測定時期においても対照群と同等の値で統計学的に有意な差は認められなかった。一方、雌の体重増加量では 3～4 週目の期間で低く、統計学的に有意であったが、一過性の変化であることから検体投与による影響とは考えられなかった。

300 ppm 群では、雌雄ともに投与期間を通して、対照群と同等の体重及び体重増加量の推移を示した。

摂餌量；

投与開始日の1週間前から最終計画屠殺時まで週1回摂餌量を個体別に測定し、動物当たりの摂餌量 (g/animal/日) 及び体重当たりの摂餌量 (g/kg/日) を算出した。

動物当たりの摂餌量 (g/animal/日) は、いずれの検体投与群の雌雄においても対照群と同等であり、統計学的に有意な差は認められなかった。

一方、体重当たりの摂餌量 (g/kg/日) は、統計学的に有意な変動が認められた。体重当たりの平均摂餌量 (g/kg/日) の推移を次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000	300	3000	6000
-1～0 週目	101	101	104	105	101	102
0～1 週目	102	100	101	101	96	95
1～2 週目	101	103	104	102	103	103
2～3 週目	102	103	106	101	102	101
3～4 週目	104	104	↑ 108	101	101	104
4～5 週目	103	101	↑ 109	100	104	107
5～6 週目	105	105	↑ 113	105	104	↑ 111
6～7 週目	105	105	↑ 112	103	103	105
7～8 週目	102	103	↑ 109	100	103	104
8～9 週目	104	104	↑ 109	101	101	107
9～10 週目	100	102	↑ 109	110	118	118
10～11 週目	100	100	↑ 108	102	108	↑ 110
11～12 週目	102	104	↑ 108	100	103	↑ 108
12～13 週目	100	100	↑ 108	98	102	108

Dunnett の多重比較法：↑↓ P<0.05、↑↓ P<0.01

表中の数値は対照群を100とした時の相対値

6000 ppm 群の体重当たりの摂餌量 (g/kg/日) が雌雄ともに増加し、雄では試験 3～13 週の期間で、また、雌では試験 5～6 週及び試験 10～12 週の期間で、対照群と比較して統計学的に有意であった。しかしながら、6000 ppm 群における雌雄の動物当たりの摂餌量 (g/animal/日) は投与期間をとおして対照群と同等であったことから、体重当たりの摂餌量 (g/kg/日) の増加は、6000 ppm 群の雌雄で認められた体重の低値に伴う二次的な影響であり、検体投与による直接的な影響ではないと考えられた。

300 ppm 群及び 3000 ppm 群の雌雄における体重当たりの摂餌量 (g/kg/日) は投与期間をとおして対照群と同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

検体摂取量；

投与期間中の平均検体摂取量(mg/kg/日)は次表のとおりであった。

投与量 (ppm)		300	3000	6000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	21	210	439
	雌	23	238	486

表中の数値はカスガマイシン遊離塩基としての値。

機能観察総合検査 (FOB) ；

全動物を対象に、投与開始の1週間前(-1週)、ならびに試験1、3、7及び12週に次の項目について検査した。

飼育ケージ内での観察

姿勢、自咬、痙攣/振戦、眼瞼閉鎖、糞便の硬さ

取り扱い操作時の観察

ケージからの取り出し易さ、取り扱い易さ、流涙/色素涙、流涎、立毛、被毛の状態、眼瞼閉鎖、呼吸数/呼吸の状態、眼球突出、粘膜/眼/皮膚の色、発赤/痂皮様付着物、筋緊張

オープンフィールドでの観察

移動性、歩調、立ち上がり回数、覚醒状態、痙攣/振戦、排尿/排便、身繕い、歩行スコア、異常行動/常同行動、後ずさり、歩行開始所要(第一歩までの)時間(秒)

刺激反応の観察

接近反応、接触反応、驚愕反射、尾の痛覚反応、瞳孔反射、瞬目反射、前肢開脚、後肢開脚、空中正向反射、嗅覚性方向反応

神経筋の観察

着地時後肢開脚測定、握力(前肢及び後肢)、後肢開張足(Hindlimb foot splay)、ロータロッド試験

生理学的観察

強硬症(カタレプシー)、体重(FOB用の体重測定)、体温

飼育ケージ内での観察、取り扱い操作時の観察及び刺激反応の観察の結果、いずれの検体投与群の雌雄にも統計学的に有意な所見は認められなかった。

オープンフィールドでの観察の結果から、身繕い回数の測定結果及び当該試験機関における身繕い回数の背景データを次表に示す。なお、身繕い回数以外の他の検査項目には対照群と比較して統計学的に有意な変動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北興化学工業株式会社にある。

身繕い回数の測定結果

(単位：回)

投与週	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	300	3000	6000	0	300	3000	6000
(検査動物数)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
第-1週	0.2	0.4	0.2	0.3	0.8	0.3	0.3	0.4
第1週	0.3	0.3	0.0	0.0	0.5	0.1	0.1	↓ 0.0
第3週	0.0	0.2	0.0	0.0	0.3	↓ 0.0	↓ 0.0	↓ 0.0
第7週	0.1	0.0	0.0	0.0	0.7	↓ 0.2	↓ 0.0	↓ 0.2
第12週	0.2	0.3	0.0	0.1	0.3	0.3	0.3	0.0

Dunnettの多重比較法：↑↓ P<0.05、▲◆ P<0.01

当該試験機関の背景データ：雌ラットにおける身繕い回数

(単位：回)

週	齢	6~8	7	8	9~11
試験例数		27	2	2	22
動物数		212	24	10	175
総平均値		0.4	0.1	0.1	0.2
最小平均値		0.0	0.1	0.0	0.0
最大平均値		1.4	0.1	0.2	0.9

すべての検体投与群の雌においてのみ、身繕い回数に統計学的に有意な減少が認められた。しかしながら、これらの値は当該試験機関における背景データの変動の範囲内にあること、また、対照群との差(0.7回以下)がわずかであることから、毒性的意義がないか、あるいは検体投与と関連しないとものと考えられた。

神経筋の観察の結果、3000 ppm 群の雌における第1週の後肢握力が対照群より18%高く、統計学的に有意であった。しかしながら、この変化には用量相関性がないため、検体投与とは関連しないと考えられた。そのほかの検査項目にはいずれの検体投与群においても、対照群と比較して統計学的に有意な変化は認められなかった。

生理学的観察の結果から、平均体重について次表に示す。なお、体重以外の他の検査項目には対照群と比較して統計学的に有意な変動は認められなかった。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000	300	3000	6000
-1週目	101	100	99	103	100	101
1週目	99	97	93	105	98	98
3週目	98	96	↓ 89	103	95	93
7週目	99	97	↓ 88	103	93	91
12週目	99	95	↓ 88	103	92	90

Dunnettの多重比較法：↑↓ P<0.05、▲◆ P<0.01

表中の数値は対照群を100とした時の相対値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

6000 ppm 群の雌雄で低体重が認められ、統計学的には雄の 3~12 週の体重が有意であった。300 ppm 群及び 3000 ppm 群の体重には統計学的に有意な差は認められなかった。

自発運動量の測定；

全動物を対象に、投与開始 1 週間前（-1 週）、ならびに試験 1、3、7 及び 12 週の FOB の終了後に、自発運動を自動記録装置で記録した。自発運動は、歩行運動量（光線を 2 回以上続けて遮断する動き）と総自発運動量とに分けて記録した。総自発運動量は身繕いなど細かな動きを含む運動（光線を 1 回遮断する動き）と歩行運動の合計で示した。

自発運動量の測定結果から、歩行運動量の総量について次表に示す。なお、総自発運動量にはいずれの検体投与群の雌雄にも統計学的に有意な変化は認められなかった。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	6000	300	3000	6000
-1 週目	88	92	89	88	104	137
1 週目	85	88	105	89	89	91
3 週目	83	98	97	91	80	95
7 週目	98	102	85	83	84	108
12 週目	83	103	103	112	118	↑ 132

線形傾向検定：↑↓ P<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

6000 ppm 群の雌における歩行運動の総量（60 分間の合計値）が 12 週目にのみ、対照群より多く、統計学的に有意であった。しかしながら、6000 ppm 群の雌においては、統計学的には有意ではなかったが、投与開始前の歩行運動の総量が対照群より高い値であった。また、いずれの検体投与群においても自発運動のパターン（総自発運動量及び歩行運動量）に明らかなシフトは認められなかった。したがって、6000 ppm 群の雌で試験 12 週に認められた歩行運動量における統計学的に有意な変化は検体投与とは関連しないと考えられた。

肉眼的病理検査；

全生存動物を対象として、投与終了時（試験 13 週）にペントバルビタールナトリウムの腹腔内注射による深麻酔下で、4%パラホルムアルデヒド/1.4%グルタルアルデヒド混合緩衝液を用い、臓器及び組織を灌流固定した。固定後に中枢神経系及び末梢神経系の各組織を詳細に調べた。固定した脳の重量（嗅球を含む）及び脳の寸法（嗅球を除く長さ及び幅）を記録した。脳及び脊髄に肉眼的変化、異常な色彩、または病変があれば記録した。

対照群及び検体投与群の雌雄に肉眼的病変はまったく認められなかった。また、Dunnett の多重比較法を危険率 5%及び 1%レベルで実施した結果、いずれの検体投与群においても、脳重量及び脳寸法に対照群と比較して統計学的に有意な変動は認められなかった。

病理組織学的検査；

投与終了後に灌流固定した動物から対照群の雌雄各 6 匹及び 6000 ppm 群の雌雄各 6 匹を無作為選出し、次の神経組織についてパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って組織標本を作製した後、顕微鏡による神経病理学的検査を行った。

脳（嗅球、大脳皮質、海馬、大脳基底核、視床、視床下部、中脳、小脳、橋、延髄）、脊髄（C₃-C₇ 頸髄腫大部、T₁₃-L₄ 腰髄腫大部）、三叉神経節／三叉神経、腰髄後根神経節（T₁₃-L₄）、腰髄後根神経線維（T₁₃-L₄）、腰髄前根神経線維（T₁₃-L₄）、頸髄後根神経節（C₃-C₇）、頸髄後根神経線維（C₃-C₇）、頸髄前根神経線維（C₃-C₇）、頸髄神経、腰髄神経、坐骨神経（大腿中央部、坐骨切痕）、腓腹神経、脛骨神経、腓骨神経、視神経、眼球、骨格筋（腓腹筋）、その他の組織（必要と思われた場合のみ）

検体投与群（6000 ppm 群）の雌雄で認められた神経組織における軸索変性の発生頻度を次表に示す。なお、Fisher の直接確率計算法により統計学的検定を行ったが、対照群と比較して発生頻度が増加する所見は認められなかった。

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	300	3000	6000	0	300	3000	6000
(検査動物数)	(6)	—	—	(6)	(6)	—	—	(6)
腰部後根線維 (軽微)	1	—	—	1	0	—	—	0
腰部前根線維 (軽微)	2	—	—	0	0	—	—	0
総腓骨神経 (軽微)	1	—	—	0	0	—	—	0
腓腹神経 (軽微)	1	—	—	0	1	—	—	0
脛骨神経 (軽微)	1	—	—	1	0	—	—	2
坐骨神経 (軽微)	5	—	—	2	2	—	—	1

6000 ppm 群の雌雄で認められた所見はいずれも神経組織における軽微な軸索変性であった。これらの病変は、臨床上正常な本系統の同週齢のラットにおいて認められることが知られており、自然発生あるいは偶発的に発生したもので、検体投与とは関連しないと考えられた。

検体をラットに対して 13 週間飼料混入投与した神経毒性試験における影響として、雌雄ともに 6000 ppm で体重増加抑制が認められた。その他の機能観察総合検査 (FOB)、自発運動及び神経系の病理学的検査の結果には検体投与による影響は認められなかった。

したがって、本試験条件下における無毒性量 (NOEL) は 3000 ppm (カスガマイシン (遊離塩基) として、雄 210 mg/kg 体重/日、雌 238 mg/kg 体重/日) であり、神経毒性の無毒性量 (NOEL) は 6000 ppm (カスガマイシン (遊離塩基) として、雄 439 mg/kg 体重/日、雌 486 mg/kg 体重/日) であると判断した。