

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

### VIII.1. 原体

#### VIII.1.1. 急性毒性

##### 1) 急性経口毒性

##### ①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2-1)

試験機関: Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: Fischer 344 ラット, 8~9 週齢 (入荷時), 4 日間以上馴化,  
投与時体重: 雄 185~218 g, 雌 119~147 g, 1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間観察

投与方法: 検体をコーン油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。投与日, 投与後 7 日および 14 日に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存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)	255, 357, 500, 700, 980
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 727 (591~942) 雌: 595 (463~795)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 2 日から開始 投与後 7 日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与 30 分後から発現 投与後 11 日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	357

中毒症状として粗毛および異常姿勢 (円背位) が 1 例を除き全動物に観察された。また, 255mg/kg 群では下痢, 嗜眠, 流涙が, 357mg/kg 群において色素涙, 流涙, 歩行不能, 流涎が観察された。500mg/kg 以上の用量群において下痢, 歩行不能, 運動失調, 色素涙, 流涎, 流涙, 立毛が観察された。さらに 500mg/kg 群では呼吸緩徐, 皮膚色蒼白化, 眼球退色が, 500 および 700mg/kg 群では被毛湿潤が, 500 および 980mg/kg 群では不活発が, 700 および 980mg/kg 群では呼吸亢進が, 980mg/kg 群では体温低下が観察された。

剖検所見では, 死亡動物に肝臓の小葉の退色または肥大, 腎髄質の退色, 脾臓の小型化, 肺のうっ血, 胃および腸の炎症, 異常内容物が認められた。生存動物では, 肝臓の軟化, 腫大, 退色, 縦隔リンパ節の暗調化および充血, 盲腸または直腸の膨張が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 2-1)

試験機関: Sittingbourne Research Centre  
[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: Crl: CD-1 (ICR) BR マウス, 3~4 週齢 (入荷時), 5 日間以上馴化,  
投与時体重: 雄 18~26 g, 雌 16~21 g, 1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間観察

投与方法: 検体をコーン油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。投与日, 投与後 7 日および 14 日に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存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)	391, 625, 1000, 1600
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 718 (536~954) 雌: 410 (364~543)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 2 日から開始 投与後 5 日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後 30 分から発現 投与後 7 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし

中毒症状として運動失調/歩行不能, 異常姿勢 (円背位), 皮膚色蒼白化および眼球退色, 常同行動 (旋回行動) が観察された。また, 低用量群において自発運動の亢進および後肢筋緊張亢進が観察された。さらに, 全投与群において死亡の前兆として不活発, 昏睡, 体温低下, チアノーゼが観察された。その他, 粗毛, 立毛, 嗜眠, 異常姿勢 (傾斜), 常同行動 (横揺れ) が観察され, 1 例に振戦および痙攣が観察された。

死亡動物の剖検では, 肝臓の小葉の暗調化または肥大, 腎髄質の退色, 肺のうっ血, 胃の炎症, 異常内容物であった。生存動物では, 肝臓の腫大および退色, 盲腸の膨張がみられ, 1 例に膀胱の充血が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

## 2) 急性経皮毒性

### ①ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 2-1)

試験機関: Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: Fischer 344 ラット, 8~9 週齢 (入荷時), 4 日間以上馴化,  
投与時体重: 雄 215~250 g, 雌 130~151 g, 1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間観察

投与方法: 検体を背部に塗布し, 脱イオン水で湿らせ 24 時間 閉塞貼付した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与日, 投与後 7 日および 14 日に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存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 皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄: >2000 雌: >2000
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	投与後 2 日から発現* 投与後 5 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

投与に関連した全身性の症状は観察されなかった。検体投与部位においても刺激性反応は認められなかった。

\*投与部位に斑点が観察されたが, テープの巻き方による人為的なものと思われた。剖検においても検体投与に関連する所見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株式会社クレハにある。

②ウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料 2-1)

試験機関 : Sittingbourne Research Centre  
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1990 年

検体の純度 :

供試動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ, 3~5 カ月齢 (入荷時), 12 日間以上馴化,  
投与時体重 : 雄 2.89~3.55 kg, 雌 3.42~3.80 kg, 1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間観察

投与方法 : 検体を背部に塗布し, 脱イオン水で湿らせ 24 時間 閉塞貼付した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与日, 投与後 7 日および 14 日に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存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 皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄 : >2000 雌 : >2000
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	投与後 8 日から発現 回復せず
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

投与に関連した全身性の症状は観察されなかった。検体投与部位においても炎症反応は認められなかったが, 雄 2 例において投与 8 日後から落屑が観察された。

剖検では検体投与に関連した所見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株式会社クレハにある。

3) 急性吸入毒性

①ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 2-2)

試験機関：Hazleton UK

[GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検体の純度：

供試動物：CrI:CD(SD)BR ラット，6～8 週齢（入荷時），入荷時体重：180～200 g，6 日以上馴化，  
投与時体重：195～254g，1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

暴露方法：微粉碎した検体を，水平回転盤式発生装置を用いてダストを発生させ，4 時間鼻部暴露させた。

暴露空気をガラス繊維捕集板を用いて捕集し，重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件：

実際濃度 (mg/L)		5.588			
名目濃度 (mg/L)		18.702			
累積 粒度 分布 (%)	粒径範囲 (μm)	1 時間	2 時間	3 時間	4 時間
	0.5 以下	34.89	0.85	1.15	1.04
	0.5～0.9	37.35	2.62	4.80	3.98
	0.9～1.6	44.79	10.57	18.97	11.01
	1.6～3.5	56.33	32.46	38.55	31.33
	3.5～6.0	77.40	66.86	69.76	68.33
	6.0～9.8	100.00	100.00	100.00	100.00
空気力学的質量中位径 (μm)		1.67	4.65	3.98	4.60
		3.73			
チャンバー容積 (L)		40			
チャンバー内通気量 (L/min)		30.1			
暴露条件		ダスト 4 時間鼻部暴露			

観察・検査項目：暴露中および暴露後 14 日間，臨床症状および生死を観察した。体重測定は暴露直前・直後，暴露 8 および 15 日後，剖検時に行った。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行い，肺重量を測定した。

結果：

投与方法	吸入
暴露濃度 (mg/L)	5.588
LC <sub>50</sub> (mg/L)	雌雄とも 5.588 以上
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現及び消失時間	暴露終了後から発現 暴露後 13 日に消失
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄とも 5.588

死亡例は認められなかった。中毒症状としては，立毛，円背姿勢，両前足先のただれ，粗毛が観察された。雄において肺重量が対照群より減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

### VIII.1.2. 皮膚及び眼に対する刺激性

#### 1) 皮膚刺激性

##### ①ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 2-3)

試験機関: Sittingbourne Research Centre  
[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: ニュージーランドホホワイト種ウサギ, 3~5 カ月齢 (入荷時), 2 週間以上馴化,  
投与時体重 3.68~4.61 kg, 6 匹(雄・雌各 3 匹)

観察期間: 7 日間観察

投与方法: 検体 500mg を刈毛した動物の背部皮膚 (6 cm<sup>2</sup>) に経皮投与し, 脱イオン水で湿らせ,  
半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし, 皮膚に残った検体は水で洗浄した。

観察項目: 暴露終了直後 (0.5 時間), 24, 48, 72 時間, 7 日後に投与部分の刺激性変化 (紅斑, 痂  
皮, 浮腫) の有無等を観察し, OECD および農林水産省ガイドラインに従って採点した。

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*	暴露後時間				
		0.5 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
紅斑	4	0	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0	0

表の点数は 6 匹の平均値である。

\*判定基準の最高評点

いずれの動物においても皮膚刺激性反応, その他の異常も認められなかった。

以上の結果から, 本検体はウサギの皮膚に対し刺激性を有さないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

2) 眼刺激性

①ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 2-3)

試験機関: Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ, 3~5 カ月齢 (入荷時), 2 週間以上馴化,  
体重 3.60~4.30 kg (投与時), 6 匹(雄・雌各 3 匹)

観察期間: 7 日間観察

投与方法: 検体 65 mg (0.1 mL 相当) を片側の眼に投与した。洗眼は行わなかった。

観察項目: 投与後 1, 4, 24, 48, 72 時間および 7 日後に角膜, 虹彩, 結膜の刺激性変化を観察し,  
OECD および農林水産省ガイドラインに従って採点した。

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 <sup>a</sup>	暴露後時間						
			1時間	4時間	24時間	48時間	72時間	7日	
非 洗 眼 群 6 匹	角膜	程度 (A)	4	0	0	0.7	0.3	0.3	0
		面積 (B)	4	0	0	1.2	0.5	0.5	0
	虹彩	(C)	2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	0.5	1.8	2.0	1.0	0.3	0
		浮腫(E)	4	1.3	2.2	1.0	0.5	0	0
		その他(分泌物)(F) <sup>b</sup>	3	0.7	1.0	0.5	0	0	0
合計 <sup>c</sup>		110	5.0	10.0	11.2	3.8	1.4	0.0	

表の点数は 6 匹の平均値である

a 判定基準の最高評点

b 申請者注 ドレイズ法に従い分泌物について最高評点 3 として採点した  
「わずかな分泌物」を評点 1, 「分泌物」を評点 2 とした

c 申請者注 ドレイズ法による評価合計点

群平均値より算出,  $((A) \times (B) \times 5) + ((C) \times 5) + ((D) + (E) + (F)) \times 2$

投与 24 時間以内にすべての動物において発赤, 浮腫が観察され, 24 時間後からは角膜  
の混濁も観察された。これらの刺激性変化は投与 7 日後には消失した。

以上の結果から, 本検体はウサギの眼粘膜に対し軽度の刺激性を有するものと判断され  
た。

申請者注: 報告書では刺激性なしと判断しているが, 適用後 72 時間まで刺激性変化が見られ  
ること, 適用後 7 日までにはすべて回復していることから軽度の刺激性を有するものと判断し  
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株式会社クレハにある。

### VIII.1.3. 皮膚感作性

#### 1) 皮膚感作性

##### ①モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 2-3)

試験機関: Sittingbourne Research Centre  
[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: ダンキン-ハートレー種モルモット, 5~9 週齢 (入荷時), 2 週間以上馴化,  
投与時体重 362~501 g, 投与群及び陽性対照群雌雄各 10 匹, 陰性対照群雌雄各 5 匹

観察期間: 惹起投与後 48 時間観察

試験操作: [Buehler 法]

投与量設定根拠:

感作: 腹側部を刈毛し, ワセリンに懸濁した 60%検体を 1, 3, 6, 8, 10, 13, 15, 17 および  
20 日目に閉塞貼付した。

惹起: 28 日目に刈毛した腹側部に 60%検体を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目: 惹起パッチ除去 24 及び 48 時間後に投与部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し, OECD 及び農林水産省ガイドラインに従って採点した。

結果: 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作	惹起	供試動物数	観察時間	感作反応動物数				感作陽性率 (%)*
					皮膚反応評点				
					0	1	2	3	
検体	60%検体	60%検体	20	24	20	0	0	0	0
				48	20	0	0	0	0
陰性対照 1	溶媒 (ワセリン)	60%検体	10	24	10	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0
陽性対照	DNCB	DNCB	20	24	4	10	6	0	80
				48	5	11	4	0	75
陰性対照 2	溶媒 (コーン油)	DNCB	10	24	10	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0

DNCB: 2,4-dinitrochlorobenzene

\* 申請者計算

検体処理群においては陽性反応のみられた動物はなかった。一方, 陽性対照群においては, 20 例中 16 例に陽性反応が認められた。

以上の結果から, 本検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 2-4)

試験機関：Hazleton Wisconsin.

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度：

供試動物：雄性アルビノモルモット，若齢成獣，投与時体重 350～539 g，7 日以上馴化，検体投与群 20 匹，対照群 1 群 10 匹（追加対照群は 5 匹）

観察期間：惹起後 48 時間観察

試験操作：[Maximization 法]

投与量設定根拠；

感作皮内投与； 第 1 日に肩甲部を刈毛し，正中線をはさんで片側 1 列に 3 箇所ずつ，計 6 箇所に皮内投与液 0.1 mL を投与した。

感作経皮投与； 第 7 日（感作皮内投与 6 日後）に感作皮内投与部位を剃毛し，10%濃度でワセリンと混合したラウリル硫酸ナトリウムで前処理した。翌日ラウリル硫酸ナトリウムをふき取り，感作経皮投与混合物を 48 時間閉塞貼付した。

惹起； 第 22 日，（感作経皮貼付投与から 2 週間後）に剃毛した左右腹側部に惹起投与混合物を 24 時間閉塞貼付した。

再惹起； 惹起貼付に対する反応の結果が疑陽性であったため検体投与群，検体-対照群および新たに追加した追加検体-対照群（5 匹）の動物に初回と同じ用量で未処置部位に再惹起を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

感作，惹起投与液の要約

		感作			経皮投与 (閉塞貼付)	惹起	
		皮内投与				経皮貼付投与 (閉塞貼付)	
		部位 1 (前方)	部位 2 (中間)	部位 3 (後方)			
検体	検体 投与群	FCA と滅菌水 の混合物 (1:1)	5%検体ミネラルオイ ル懸濁液	5%検体 FCA と 滅菌水の混合 物	25% 検体ワセリン 混合物	右：25%検体ワ セリン混合物 左：ワセリン	
	検体- 対照群		ミネラルオイル	ミネラルオイルと FCA の 混 合 物 (1:1)		ワセリン	再惹起： 25%検体ワセリン混 合物
	追加検体- 対照群						
陽性 対照	陽性 対照群	FCA と滅菌水 の混合物 (1:1)	5% sulfathiazole 滅菌水懸濁液	5% sulfathiazole 滅菌水と FCA の 混合物 (1:1)	10% sulfathiazole ワセリン混合物	右：10% sulfathiazole ワセリン混合物 左：ワセリン	
	陽性対照- 対照群		滅菌水	FCA と滅菌水 の混合物 (1:1)		ワセリン	右：10% sulfathiazole ワセリン混合物 左：ワセリン

FCA：フロイントの完全アジュバント  
表中の濃度 (%) は混合物の最終濃度

観察項目： 24 時間の惹起閉塞貼付投与後パッチを取り除き，その 24 ならびに 48 時間後に貼付部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し，下記の基準に従って採点した。

- 0 = 正常，反応なし
- 1 = 散在性の軽度の紅斑
- 2 = 中等度およびびまん性の紅斑
- 3 = 重度の紅斑および浮腫

EC ガイドラインに従い，皮膚反応を有する動物の割合が 30%以上であった場合に感作性陽性と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作	惹起	観察時間	皮膚反応動物数/供試動物数				感作陽性率(%)
				皮膚反応評点				
				0	1	2	3	
検体投与群	皮内： 5%検体 経皮： 25%検体	25%検体 (右側)	24	16/20	4/20	0/20	0/20	20 <sup>a)</sup>
			48	17/20	3/20	0/20	0/20	15 <sup>a)</sup>
		ワレリン (左側)	24	20/20	0/20	0/20	0/20	0
			48	20/20	0/20	0/20	0/20	0
		再惹起 25%検体 (未処置部位)	24	19/20	1/20	0/20	0/20	5
			48	20/20	0/20	0/20	0/20	0
検体- 対照群	皮内： ミネラルオイル 経皮： ワレリン	25%検体 (右側)	24	10/10	0/10	0/10	0/10	0
			48	10/10	0/10	0/10	0/10	0
		ワレリン (左側)	24	10/10	0/10	0/10	0/10	0
			48	10/10	0/10	0/10	0/10	0
		再惹起 25%検体 (未処置部位)	24	9/10	1/10	0/10	0/10	10
			48	10/10	0/10	0/10	0/10	0
追加 検体-対 照群	/	惹起 25%検体 (再惹起時)	24	5/5	0/5	0/5	0/5	0
			48	5/5	0/5	0/5	0/5	0
陽性 対照群	皮内： 5% Sulfa- thiazole 経皮： 10% Sulfa- thiazole	10% Sulfa-thiazole (右側)	24	0/10	3/10	3/10	4/10	100
			48	0/10	2/10	5/10	3/10	100
		ワレリン (左側)	24	10/10	0/10	0/10	0/10	0
			48	10/10	0/10	0/10	0/10	0
陽性 対照-対 照群	皮内： 滅菌水 経皮： ワレリン	10% Sulfa-thiazole (右側)	24	5/5	0/5	0/5	0/5	0
			48	5/5	0/5	0/5	0/5	0
		ワレリン (左側)	24	5/5	0/5	0/5	0/5	0
			48	5/5	0/5	0/5	0/5	0

感作陽性率(%)：皮膚反応陽性動物数 / 供試動物数×100 (申請者実施)。

<sup>a)</sup>：1回目の惹起の結果が疑陽性 (EC ガイドラインに従い、感作陽性率が30%以上である場合に陽性と判定) であったため、再惹起を実施した。

1回目の惹起経皮貼付に対し、検体投与群の20匹中4匹に軽度な皮膚反応 (散在性の軽度な紅斑) が24時間後の観察で認められたが、4匹中1匹は48時間後には皮膚反応が消失した。結果が疑陽性であったために実施した再惹起において、検体投与群の20匹中1匹のみで1回目と同様、散在性の軽度な紅斑が認められたが、48時間後には消失していた。検体-対照群の10匹中1匹にも軽度な皮膚反応が観察されたが、再惹起のための追加検体-対照群の5匹の動物には皮膚反応は認められなかった。1回目の惹起、再惹起共に検体投与群において皮膚反応を示した動物は30%より少なかった。

以上の結果から、本検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

#### VIII.1.4. 急性神経毒性試験

##### ①急性神経毒性試験省略理由書

#### 1. 急性経口毒性試験における一般状態の観察について

##### 1) ラットにおける急性経口毒性試験（資料 2-1, 抄録Ⅶ-10 頁）

粗毛及び異常姿勢（うずくまり）が 1 例を除く全動物に観察され、500 及び 700 mg/kg 投与群の数例及びより高用量群の全例に歩行失調または運動失調が観察された。

500 及び 700 mg/kg 投与群の影響は、死亡が発現しているレベルであり、全身状態の悪化による非特異的な反応と考えられた。

##### 2) 生体機能への影響に関する試験（資料 2-17, 抄録Ⅶ-155～161）

雌雄マウスに検体を単回投与し、投与後の行動変化、神経症状及び中毒症状を Irwin の多元的観察法に準じて観察した。また、雄ラットに検体を投与後神経症状及び中毒症状を機能観察総合評価法（FOB）に準じて観察した。

マウス及びラットの一般症状に対して、メトコナゾールは 128 mg/kg までは影響を及ぼさず、320 mg/kg では、マウスで警戒性、受動性及び正向反射の低下、歩行失調、ラットで正向反射の低下と尿失禁が見られたが、いずれも 24 時間以内に回復した。800 mg/kg 以上の用量では、主として警戒性及び受動性の低下、異常姿勢、歩行失調あるいは歩行不能、刺激に対する各種反応・反射機能の低下、筋緊張度低下、握力低下、呼吸数減少及び体温の低下等の中樞神経系の抑制作用を示唆する症状が認められ、投与 24 時間後でも回復しなかった。

これらの一般症状に対する作用の大部分は検体の大量投与による全身状態の悪化がもたらした非特異的な反応と考えられる。

#### 2. ラットの 28 日間反復投与経口神経毒性試験における詳細な状態の観察、機能検査、病理組織学的検査等について（資料 2-8, 抄録Ⅶ-48～50）

毎日 2 回の観察の他に、詳細な観察を神経行動学的スクリーニング検査の一部として週 1 回行った。ハンドリング観察として、ケージからの取り出しやすさ、流涎、流涙、眼球突出、立毛、被毛、発声およびハンドリングに対する反応を評価した。また、観察台での観察として、覚醒、歩行、みづくろい、活動数、立ち上がり回数、姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、眼瞼閉鎖、排糞数及び尿量を評価した。感覚反応として、接近反応、触覚反応、聴覚反応、痛覚反応、正向反射、体温、接地開脚幅、握力および瞳孔径を測定し、さらに運動量も測定した。病理組織学的検査として、各臓器を詳細観察するとともに、脳重量及び大きさの測定及び神経に関連する組織を固定観察した。

いずれの試験結果からも、神経毒性を示唆する影響は認められなかった。

#### 3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関

現在の科学的知見において、本農薬メトコナゾールは既知神経毒性物質との化学構造相関はない。

以上の結果から、メトコナゾールの急性経口神経毒性試験は省略可能と判断致します。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

#### VIII.15. 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反復経口投与毒性試験

(資料 2-5)

試験機関 : Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検体純度 :

供試動物 : Fischer 344 ラット

主群 : 対照群, 雌雄各 20 匹 ; 投与群, 雌雄各 10 匹

衛星群 : 対照群, 雌雄各 10 匹 ; 投与群, 雌雄各 10 匹

投与開始時 6~8 週齢

投与開始時体重範囲 ; 雄 96.1~142.1 g, 雌 85.9~121.9 g

投与期間 : 主群 : 雄 13 週間 (1989 年 1 月 16 日~1989 年 4 月 21 日)

雌 13 週間 (1989 年 1 月 17 日~1989 年 4 月 21 日)

衛星群 : 雄 20 週間 (1989 年 1 月 16 日~1989 年 6 月 9 日)

雌 20 週間 (1989 年 1 月 17 日~1989 年 6 月 9 日)

13 週間の投与後, 7 週間の回復期間を設けた。

投与方法 : 検体をアセトンに溶解して, 0, 30, 100, 300, 1000 及び 3000ppm の濃度で飼料に混入し, 13 週間にわたって随時摂食させた (30, 100 及び 300ppm 飼料については検体をアセトンに溶解して基礎飼料と混合した。1000 及び 3000ppm 飼料については検体と直接混合後に, また 0ppm 飼料 (対照, 基礎飼料) についても, 出来上がり飼料 1 kg 当り 5 mL のアセトンを加えた)。検体を混入した飼料はほぼ 1 ヶ月間隔で調製した。

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 ; 一般状態及び生死について毎日少なくとも 1 回観察した。

死亡率に検体投与の影響はなく, 全動物が剖検まで生存した。

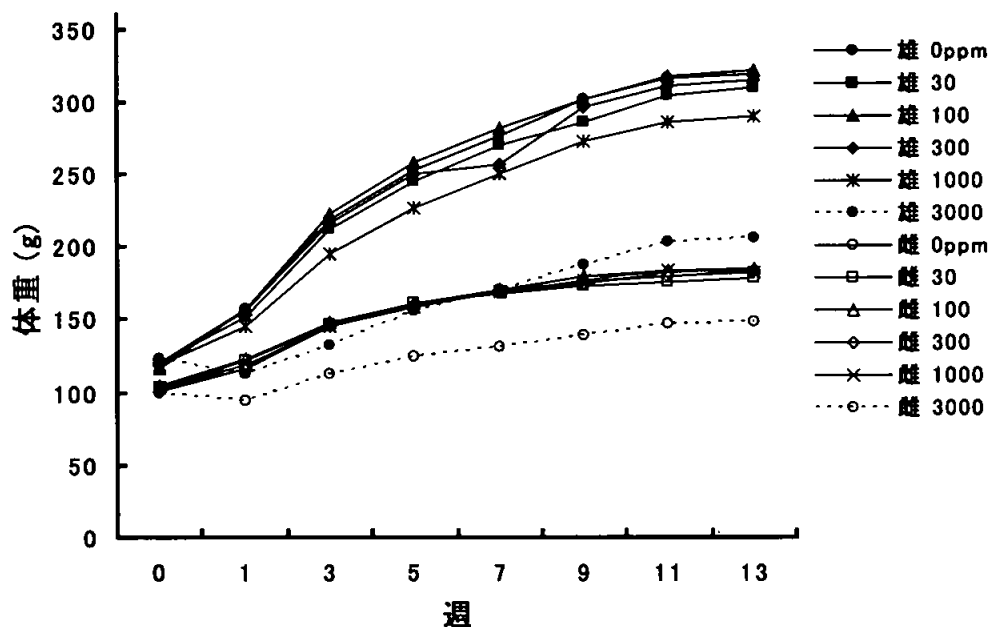
主群及び衛星群の 3000ppm 群の雌雄全例が多量の餌こぼしを示した。多量の餌こぼしは, 1000ppm 群の雌 3 匹にも観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

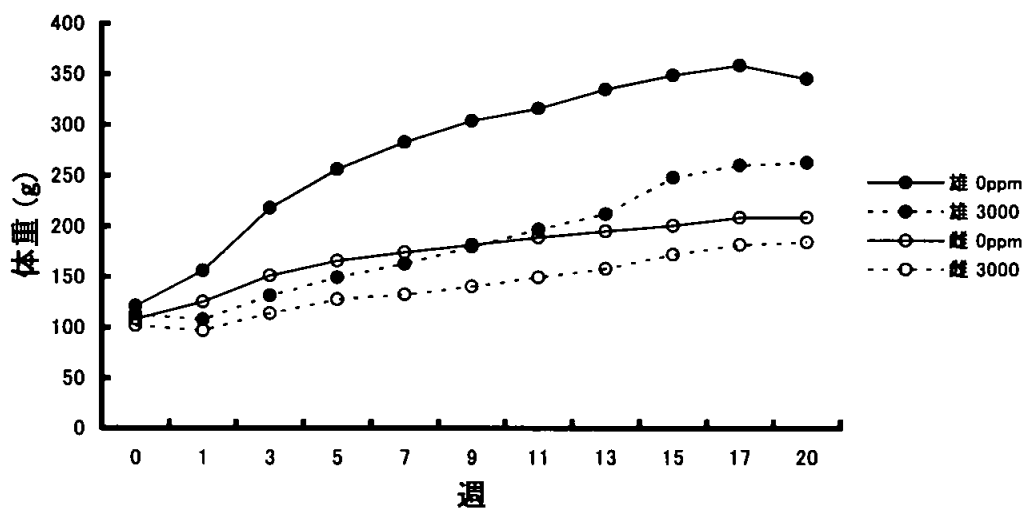
体重変化； 試験期間中全動物の体重を毎週測定した。

体重変化を以下の図に示す。

体重変化(主群)



体重変化(衛星群)



また、主群において対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定週を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

性別	雄					雌					
	投与量	30	100	300	1000	3000	30	100	300	1000	3000
投与期間 (週)	1				↓93	↓72					↓79
	2				↓90	↓62					↓77
	3				↓89	↓60					↓77
	4				↓90	↓61					↓79
	5				↓90	↓62					↓78
	6				↓90	↓61					↓78
	7				↓90	↓62					↓78
	8				↓90	↓61					↓78
	9				↓90	↓62					↓79
	10				↓91	↓63					↓80
	11				↓91	↓64					↓82
	12				↓92	↓65					↓82
	13				↓91	↓65					↓81

表中の数字は対照群に対する百分率 (%)。

Williams 多重比較法, ↓, p<0.05; ↓↓, p<0.01。

主群の 3000ppm 群では雌雄とも平均体重が、投与期間を通じて統計学的に有意に減少した（雄が雌より影響が大）。1000ppm 群の雄の体重も統計学的に有意に減少したが、影響の程度は 3000ppm 群の雄より小さかった。

衛星群の 3000ppm 群でも、雌雄とも統計学的に有意な減少がみられた。衛星群の 3000ppm 飼料を基礎飼料に切り替えた後（回復期間）は、対照値との差は徐々に小さくなったが、十分には回復しなかった。

摂餌量及び食餌効率；試験期間中全動物の摂餌量を 7 日間隔で毎週測定し、各週の体重と摂餌量の平均値に基づいて食餌効率を算出した。（食餌効率は申請者が計算）

対照群と比べ統計学的有意差の認められたものを表 1 に示す。

表 1. 摂餌量

投与量 (ppm)	雄						雌					
	主群			衛星群			主群			衛星群		
	30	100	300	1000	3000	3000	30	100	300	1000	3000	3000
1~5 週				↓84-91	↓54-62	↓54-60					↓65-78	↓64-75
6~7 週				↓92-94	↓63-68	↓54-60					↓74-76	↓75-76
8 週				↓92	↓66	↓61	↓91	↓95	↓96	↓97	↓75	↓78
9 週				↓92	↓68	↓65	↓93				↓80	↓77
10 週			↓95	↓92	↓69	↓69	↓89				↓80	↓78
11 週				↓93	↓73	↓70			↑108		↓85	↓81
12 週					↓75	↓71					↓84	↓83
13 週				↓88	↓67	↓68				↓91	↓78	↓80
14~15 週						↓81-86						
17 週						↓83						
19~20 週						↓90-93						

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

主群の 3000ppm 群で雌雄に、また 1000ppm 群で雄に統計学的に有意な減少がみられた。1000ppm 群の雄の摂餌量は、第 10 週までにはほぼ対照値まで戻った。

衛星群の 3000ppm 群でも、雌雄とも摂餌量に有意な減少がみられたが、第 14 週に基礎飼料に切替えた後は、対照値との差は徐々に小さくなり、試験終了までに対照値とほぼ同じになった。

1000ppm までの用量の雌または 300ppm の用量の雄に、統計学的に有意な低値または高値がみられたが、偶発的であり生物学的に意義のあるものとは考えられなかった。

食餌効率は、3000ppm 群で雌雄とも低下した。

表 2. 総平均食餌効率

		投与量 (ppm)					
		0	30	100	300	1000	3000
総平均食餌効率 (%)	雄	13.2	12.7	13.5	13.0	12.5	8.50
	雌	7.36	6.85	7.24	7.52	7.35	5.74

検体摂取量；主群について、各週の体重と摂餌量の平均値に基づいて群ごとに平均検体摂取量 (mg/kg/日) を算出した。

表 3. 平均検体摂取量

		投与量 (ppm)				
		30	100	300	1000	3000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.94	6.40	19.17	64.32	192.75
	雌	2.13	7.19	22.06	71.42	208.02

眼検査；主群及び衛星群の対照群と 3000ppm 群の全動物について投与開始の前の週に、また主群の対照群と 3000ppm 群の全動物について投与 11 週に、倒像検眼鏡を用いて眼の検査を行った。

観察されたいずれの所見も偶発的で、投与群と対照群の間で同等の発生であり、検体投与に関連する影響はなかった。

血液学的検査；主群の全動物について投与 12 週に、衛星群の全動物について試験 19 週に、動物を酸素と二酸化炭素の混合ガスで麻酔して眼窩静脈叢から採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、白血球数、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球容積、平均血小板容積、赤血球容積分布幅、プレートレットクリット値、血小板容積分布幅、網赤血球数、白血球のディファレンシャルカウント、赤血球の形態。

また剖検時に全動物について、心臓穿刺によって血液を採取し、プロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められたものを表 4 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株式会社クレハにある。

表4. 血液学的検査成績

	雄						雌					
	主群			衛星群			主群			衛星群		
投与量(ppm)	30	100	300	1000	3000	3000	30	100	300	1000	3000	3000
白血球数						↓86.0			↑112	↑106	↑124	
赤血球数						↑106		↓96.3			↑104	↑106
血色素量					↓92.2	↑103				↓96.5	↓90.1	↑102
ヘマトクリット値					↓94.7			↓97.3			↓94.1	
平均赤血球容積					↓93.1	↓93.7			↑101	↑102	↓90.2	↓95.7
平均赤血球血色素量					↓90.6	↓96.5				↓98.4	↓87.0	↓97.3
平均赤血球血色素濃度					↓97.3	↑104				↓97.3	↓96.4	
血小板数					↓73.0	↓79.2					↓77.4	
赤血球容積分布幅				↓93.9	↓92.3						↑102	↑103
血小板容積分布幅					↑121						↑106	
平均血小板容積					↑104	↓98.8						↑101
プレートレットクリット値					↓75.6	↓78.2					↓78.9	
リンパ球数											↑123	
単球数											↑150	
平均赤血球径					↓98.3					↓98.3	↓96.6	
赤血球径標準偏差					↑120						↑140	
プロトロンビン時間				↑103	↑103							
活性化部分トロンボプラスチン時間		↑112			↓89.7		↑109					

Williams 検定または Dunnett 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。

主群の 3000ppm の用量で、軽度の小球性低色素性貧血を示す多くの変化がみられた。この用量では雌雄とも血色素量、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及び平均赤血球径が減少した。さらに、血小板数とプレートレットクリット値も減少しており、貧血に関連する変化と考えられた。平均血小板容積は 3000ppm 群の雄でのみ増加した。赤血球径の標準偏差が雌雄とも大きかった。1000ppm 群の雌において血色素量、平均赤血球血色素量および平均赤血球血色素濃度（報告書では平均赤血球容積となっているが、平均赤血球血色素濃度の誤りと考えられる）にごくわずかな変化がみられた。1000 及び 3000ppm でみられた血液学的変化は、投与に関連していると考えられた。

衛星群の 3000ppm 群で、特に雌において、影響を受けた指標に改善徴候がみられた。7 週間の回復期間後に、血色素量とヘマトクリット値はほぼ対照値まで戻ったが、雄において平均赤血球容積、血小板数およびプレートレットクリット値は低いままであった。

主群または衛星群の血液学的指標における他の統計学的に有意な変化は毒性学的意義のないものと考えられた。

（申請者注）報告書には「他の統計学的に有意な変化」について毒性学的意義あるいは投与との関連性がないと判断した理由は個別に述べられていないが、各変化についてみると投与量に伴った変動がみられないこと、他の項目の変動との関連性がないこと、雌雄あるいは主群・衛星群で一致した変化がみられていないこと、生物学的に意味があるとは考え難い軽微な変化であること、などの理由からその判断は妥当であると認められるため、個々には記載しない。以下の血液生化学的検査、尿検査等についても同様である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

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、以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、ナトリウム、カリウム、塩素、血糖、尿素窒素、カルシウム、無機リン、コレステロール、トリグリセライド、ビリルビン、クレアチニン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、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ダーゼ、アルブミン/グロブリン比（計算値）。総蛋白を電気泳動によって分画した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められたものを表5に示す。

表5. 血液生化学的検査成績

項目	雄						雌					
	主群					衛星群	主群					衛星群
	30	100	300	1000	3000	3000	30	100	300	1000	3000	3000
投与量(ppm)												
アルカリホスファターゼ					↑ 135	↑ 115					↑ 142	
$\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ					↑ 11.0 $\partial$			↑ 155		↑ 264	↑ 1590	↑ 500
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ					↑ 177						↑ 170	
アラニンアミノトランスフェラーゼ				↑ 114	↑ 236		↓ 81.7	↓ 87.5			↑ 194	
コレステロール				↓64.5	↓51.9	↓77.9						↓90.3
血糖												↓85.0
カリウム												↑107
カルシウム												↑104
ビリルビン												↑108 ↓85.3
尿素窒素	↓92.9			↓92.9								↑109
クレアチニン					↓89.8							
トリグリセライド				↓31.1	↓4.2	↓54.1						↓30.0 ↓64.2
総蛋白						↓93.7						↑105
アルブミン (%) (g/l)						↓91.9 ↓96.2						↓92.0 ↑104
$\alpha$ 1グロブリン (%) (g/l)					↓82.6 ↓81.4	↓88.5						
$\alpha$ 2グロブリン (%) (g/l)					↓80.1 ↓78.6	↑122						
$\beta$ グロブリン (%) (g/l)				↑118 ↑118	↑129 ↑127							↑126 ↑133
アルブミン/グロブリン比	↑103				↑106	↑106						↓83.3

Williams 検定または Dunnett 検定検定： $\uparrow\downarrow$   $p < 0.05$ ,  $\uparrow\downarrow$   $p < 0.01$

$\partial$  示した数値は実測値 (I.U./l), 対照値は 0。

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。

主群の 3000ppm の用量で雌雄ともアルカリホスファターゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼが増加した。同用量でコレステロールとクレアチニンの減少が雄に、またトリグリセライドの減少が雌雄にみられた。1000ppm 群の雄ではアラニンアミノトランスフェラーゼの増加及びコレステロールとトリグリセライドの減少、1000ppm 群の雌では $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼの増加がみられた。 $\beta$ グロブリンの増加が 3000ppm の用量で雌雄両方及び 1000ppm 群の雄でみられた。コレステロールとトリグリセライドへの影響は、肝臓の脂質代謝における障害を示していた。酵素と $\beta$ グ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

ロブリンの増加からは、肝臓における毒性影響及び（または）機能的適応の影響が示唆された。これらの徴候はまた、肝臓における病理組織学的所見によっても支持された。

衛星群の3000ppm群では、いくつかの変化が回復期間後にもみられた。コレステロールとトリグリセライドの減少が雌雄両方にみられ、雌においてγ-グルタミルトランスペプチダーゼは増加していた。他の変化は、7週間の回復期間後にほぼ対照値まで戻った。

主群または衛星群における他の統計学的に有意な差は、投与とは無関係と判断した。

尿検査；主群の全動物について投与11週時に、衛星群の全動物について試験20週時に、動物を代謝ケージに収容し、絶食・絶水下で一晩（約16時間）尿を採取し、以下の項目を検査した。

pH、尿量、色、濁度、浸透圧、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン及びウロビリノーゲン。また、尿沈渣について顕微鏡による検査を行った。

検査結果は測定値（半定量的項目を含む）あるいはスコアで表した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められたものを表6に示す。

表6. 尿検査成績

	雄						雌					
	主群					衛星群	主群					衛星群
投与量(ppm)	30	100	300	1000	3000	3000	30	100	300	1000	3000	3000
尿細管上皮細胞					↓30.3						↑240	
白血球					↓61.1							
赤血球						↓39.1	↓23.1			↓46.2	↓23.1	
精子					↓38.7							
円柱					↓0							
三リン酸塩					↓51.4							
浸透圧						↑151						↑124
尿量						↓51.5						
pH			↓96.7									
色					↑120	↑100						
上澄の色					↑120	↑100						
蛋白質					↓66.7							
ケトン体	↓57.1				↑871							
ブドウ糖					↓77.8	↑148						
ビリルビン										↓0	↓0	
血液	(50.0)	↓11.5	↓25.0	↓5.8	↓3.8					↓0	↓0	

Williams 検定または Wilcoxon 2 標本順位和検定：↑↓ p<0.05, ↑↓ p<0.01

( ) は統計学的有意差がないが、参考値として表示。

表中の数値は変動の目安として測定値もしくはスコアの平均を対照群を100とした場合の値で表したものの。

主群のすべての用量の雄において、また1000及び3000ppm群の雌において尿中血液が減少したが、毒性学的意義がある変化とは考えなかった。

(申請者注) 尿中血液が「増加」した場合には尿路系の障害が示唆されるが、今回みられた「減少」にはそのような診断的意味がないため、毒性学的にも意義がないと判断された。

衛星群の3000ppm群の雌雄において、浸透圧の増加がみられたが、主群においては同様の所見はなく、投与に関連するものとは考えなかった。

主群および衛星群におけるその他の統計学的に有意な変化には毒性学的意義はないと判断した。

臓器重量；主群の全動物について投与13週に、衛星群の全動物について試験20週に、以下の臓器重量（絶対重量）を測定し、最終体重について補正した（補正重量，g，体重を共変量とした共分散分析の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。  
 手法による)。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎及び精巣または卵巣  
 対照群と比べ統計学的有意差の認められたものを表7に示す。

表7. 臓器重量

投与量(ppm)	雄						雌					
	主群			衛星群			主群			衛星群		
	30	100	300	1000	3000	3000	30	100	300	1000	3000	3000
肝臓												
絶対重量				↑118	↑111	↓73.6				↑120	↑153	↓88.7
補正重量				↑131	↑159				↑120	↑181		
脾臓												
絶対重量				↓91.9	↓93.5	↓77.6			↑108	↑108	↑105	↓73.9
補正重量					↑120			↑108	↑108	↑124		↓86.0
副腎												
絶対重量			↓93.8	↓89.6	↓77.1	↓80.0					↓76.5	↓89.3
補正重量					↓89.4						(92.0)	
脳												
絶対重量					↓93.4	↓95.7					↓95.8	
補正重量												
心臓												
絶対重量				↓96.3	↓74.4	↓78.8					↓89.1	↓90.8
補正重量												
腎臓												
絶対重量					↓73.6	↓80.5					↓90.8	
補正重量											↑107	
精巣/卵巣												
絶対重量					↓91.9	↓86.4					↓75.0	
補正重量												

Williams 検定: ↑↓ p≤0.05, ↑↓ p≤0.01。() は統計学的有意差がないが、参考値として表示。

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。

300, 1000 及び 3000ppm 群を通じて、種々の臓器の絶対重量に差がみられたが、最終体重に差があったため、以下では補正重量についての評価結果を記載した。

主群の 1000 及び 3000ppm 群の雌雄で肝臓重量の増加がみられた。3000ppm 群の雌雄、また 300ppm 群と 1000ppm 群の雌において脾臓重量が増加した。3000ppm 群の雌雄では副腎重量が減少した(雄でのみ統計学的に有意)。

(申請者注) 上記の変化のうち、肝臓重量の増加は概ね病理組織学的検査における肝細胞の小葉中心性肥大に関連していた。脾臓重量の増加のうち、3000ppm 群の変化は病理組織学的検査での白脾髄辺縁帯食細胞色素沈着増加に一致していた。300 および 1000 ppm 群の雌の脾臓については、関連する異常を組織検査で認めなかったこと、および同系統の動物の背景値に比して軽微な増加であることから報告書では毒性学的意義のない変化としている。しかし、このうち 1000 ppm 群については、血液学的検査において軽微な小球性低色素性贫血を示唆する所見が得られたこと、また、2年間慢性毒性試験(資料番号 2-9)及び発がん性試験(資料番号 2-11)の 1000ppm 群雌雄において脾臓で重量増加を伴う組織球集簇が観察されたことから検体投与の影響と判断できる。一方、雌の 300ppm 群の変化については他の検査で関連する異常を観察できず毒性学的意義はないと判断した。副腎重量については報告書ではストレスによる二次的変化としているが、組織学的変化が観察されており、病理組織学的検査の項で別に考察した。

この他、3000 ppm 群の雌で腎臓重量が増加したが、統計学的には有意であるものの軽度であり、偶発的なものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。  
 衛星群の 3000ppm 群の雌に脾臓重量の減少がみられたが、投与とは関連のない変化と考えられた。  
 7 週間の回復期間後に、この用量群において他の臓器の重量の変化は何もなかった。このことは、  
 臓器重量への検体投与の影響は完全に可逆的であることを示していた。

剖検； 投与期間（主群）あるいは試験期間（衛星群）終了後に全動物について、ペントバルビタール麻酔下で放血屠殺後、以下の部位を検査した。  
 体表、すべての体孔、頭蓋腔、脳の髄膜表面、頸部、胸腔、腹腔及び骨盤腔とそれらに関連する臓器及び組織ならびにカラカス。  
 剖検所見における統計学的に有意な変化を表 8 に示す。

表 8. 剖検所見

	雄								雌							
	主群				衛星群				主群				衛星群			
投与量(ppm)	0	30	100	300	1000	3000	0	3000	0	30	100	300	1000	3000	0	3000
検査動物数	20	10	10	10	10	10	10	10	20	10	10	10	10	10	10	10
全身																
体型小型	0	0	0	0	0	↑9	0	0	0	0	0	0	0	↑9	0	0
肝臓																
退色	0	0	0	1	↑9	↑10	0	0	0	0	0	0	↑3	↑8	0	0
小葉像明瞭	0	0	0	0	↑9	↑9	0	0	0	0	0	0	2	↑9	0	0
腫大	0	0	0	0	↑7	↑8	0	0	0	0	0	0	1	↑9	0	0
胃																
境界線肥厚	0	0	0	0	0	↑5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
脾臓																
表面粗造	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	↑6	0	0
子宮																
萎縮									0	0	0	0	0	↑8	0	0
前立腺																
小型化	0	0	0	0	0	↑7	0	0								
精囊																
小型化	0	0	0	0	0	↑8	0	0								

Fisher の直接確率検定：↑ p<0.05, ↑ p<0.01 (注：申請者が実施)

主群の 3000ppm 群の雌雄、また 1000ppm 群の雄に肝臓の退色、小葉像明瞭および腫大が観察された。1000 ppm 群の雌ではこれらの所見の発生頻度は低かった。3000ppm 群の雌において、脾臓の表面粗造の発生頻度が高かった。3000ppm の用量で胃の境界線肥厚が雌より雄においてより高率にみられた。3000ppm 群の雌に子宮の萎縮が、雄に前立腺と精囊の小型化がみられた。

(申請者注) 主群の 3000 ppm 群の雌雄では体型小型もみられ、低体重を反映するものと考えられた。3000 ppm 群の雌雄及び 1000 ppm 群の雄における肝臓の変化は病理組織学的検査での小葉中心性肝細胞肥大に一致していた。1000ppm 群の雌において肝臓の退色の頻度が有意に増加したが、発生数は 3/10 例で生物学的に意義のある変化とは判断しなかった。脾臓の変化は病理組織学的検査での白脾髄辺縁帯食細胞色素沈着増加に一致していた。胃の変化は病理組織学的検査での前胃および境界線の過形成/角化症と関連していた。子宮の変化は組織学的にも子宮萎縮として認められた。前立腺と精囊には病理組織学的異常は認められなかった。

病理組織学的検査；以下の臓器について対照群を含む全試験群の雌雄全動物を対象とし、ヘマトキシリン・エ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

オジン染色組織標本を作製した。主群と衛星群の対照群及び3000ppm群の全動物の下記全組織を検査した。さらに、30、100、300及び1000ppm群の全動物の腎臓、肝臓及び肺、また1000ppm群の脾臓と副腎を検査した。肝臓の脂肪化を調べるために、対照群と1000及び3000ppm群のそれぞれ雌雄各3匹、また300ppm群の雄3匹について、固定された肝臓の凍結切片をオイルレッドOで染色した。さらに鉄イオン沈着を調べるため、3000ppm群の雌雄各3匹の肝臓の切片をPerlsのプルシアンブルーで染色した。

副腎、大動脈、脳、骨、精巣上体、眼、心臓、腸、腎臓、涙腺、喉頭、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、筋、神経（近位および遠位坐骨神経）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、精囊、脊髄、脾臓、胃、精巣、甲状腺/上皮小体、胸腺、気管、膀胱、子宮  
病理組織学的所見における統計学的に有意な変化を表9に示す。

表9. 病理組織学的所見

臓器	投与量 (ppm)	雄								雌							
		主群						衛星群		主群						衛星群	
		0	30	100	300	1000	3000	0	3000	0	30	100	300	1000	3000	0	3000
肝臓	検査動物数	20	10	10	10	10	10	10	10	20	10	10	10	10	10	10	10
	肝細胞脂肪化	0	0	0	↑4	↑10	↑10	1	4	0	0	0	0	↑5	↑10	0	6
	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	1	↑10	↑10	0	2	0	0	0	0	0	↑10	0	0
	限局性クッパー細胞色素沈着	0	0	0	0	0	↑4	0	0	0	0	0	0	0	↑10	0	2
脾臓	検査動物数	20	—	—	1	10	10	10	10	20	—	—	—	10	10	10	10
	髓外造血低下	0	—	—	0	0	↑10	0	0	0	—	—	—	0	↑10	0	1
	白脾髄辺縁帯食細胞色素沈着増加	0	—	—	0	0	↑9	0	0	0	—	—	—	0	↑10	0	0
	白脾髄萎縮	0	—	—	0	0	↑3	0	0	0	—	—	—	0	↑9	0	0
副腎	検査動物数	20	—	1	—	10	10	10	10	20	1	—	—	10	10	10	10
	皮質空胞化	19	—	1	—	10	10	8	10	0	0	—	—	0	↑6	0	0
	程度 軽微	11	—	0	—	2	↓0	6	3	0	0	—	—	0	↑6	0	0
	程度 軽度	8	—	1	—	7	0	2	↑7	0	0	—	—	0	0	0	0
程度 中等度	0	—	0	—	1	↑10	0	0	0	0	—	—	0	0	0	0	
胃	検査動物数	20	1	—	—	—	10	10	10	20	—	—	1	—	10	10	10
	前胃および境界縁過形成/角化症	0	0	—	—	—	↑6	0	0	0	—	—	0	—	2	0	0
子宮	検査動物数									20	—	—	—	—	10	10	10
	萎縮									0	—	—	—	—	↑9	0	

Fisherの直接確率検定：↑ p<0.05, ↑↓ p<0.01 (注：申請者が実施)

主群では肝臓の変化が300ppm群の雄に、また1000及び3000ppm群の雌雄にみられた。小葉中心性肝細胞肥大と肝細胞脂肪化が3000ppm群雌雄及び1000ppm群雄に認められ、さらに、肝細胞脂肪化は300ppm群雄及び1000ppm群雌にも観察された。3000ppm群雌雄でクッパー細胞の色素沈着がみられた。加えて、3000ppm群の雌雄両方では、脾臓において、髓外造血の低下、白脾髄辺縁帯食細胞色素沈着増加及び白脾髄の萎縮が観察された。3000ppm群の雄では、副腎の皮質空胞化の程度が増加した。3000ppm群の雌雄では、前胃および境界縁の軽微な過形成または角化症が認められた(雄のみ統計学的に有意)。3000ppm群の雌では子宮の萎縮が認められた。

衛星群の3000ppm群において、肝臓病変の程度と発生率に激減がみられた。しかし、雄2匹に小葉中心性肝細胞肥大があり、雌2匹にクッパー細胞の色素沈着が観察された。肝細胞脂肪化は雄4匹と雌6匹においてまだみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

(申請者注) 衛星群の3000 ppm 群の雄では副腎皮質空胞化の程度が回復期間経過後においても対照群よりやや高かった。しかし、主群の同用量の動物に比較すると病変は軽減する傾向がみられた。

主群及び衛星群での病理組織学的変化の発生率にみられた他の差は、検体投与に関連していないと考えられた。

(申請者注) 報告書には記載されていないが、副腎の皮質空胞化については主群の3000 ppm 群の雌でも発生頻度が増加した(程度はいずれも軽微)。本検体の薬理効果はステロール合成における14 $\alpha$ -demethylase 活性阻害であるが、哺乳動物ではコレステロール合成抑制をもたらす<sup>1)</sup>。肝臓でのコレステロール合成抑制が生じた結果、副腎皮質細胞におけるコレステロール合成が活性化すると考えられるが、そこでも14 $\alpha$ -demethylase 活性が阻害されるためコレステロール合成の前駆物質であるLanosterol, Zymosterol あるいは脂質が蓄積し、空胞化としてみられると推察される。したがって、3000 ppm 群の雌雄における副腎皮質空胞化は本検体投与の影響と判断できる。

前胃および境界縁の過形成と角化症については、本検体は軽度の粘膜刺激性を持つため(資料2-3 参照)、刺激性薬物を長期間摂取することによる影響で生じたと推察する。

脾臓の髄外造血低下及び白脾髄萎縮は体重低下による一般状態不良の影響と推察する。

子宮の萎縮も本検体の性ホルモンへの影響というより体重低下による一般状態不良の二次的変化と考える。剖検でみられた精囊・前立腺の小型化(精囊・前立腺については組織学的に異常なし)についても同様である。

#### 参考文献

- 1) Joseph-Horne, T. and Hollomon, D. W. : Molecular mechanisms of azole resistance in fungi. FEMS Microbiol. Lett., 149; 141-149, 1997.
- 2) Zarn, J. A., Brüsweiler, B. J., and Schlatter, J. R. : Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14 $\alpha$ -demethylase and aromatase. Environ. Health Perspect., 111(3); 255-261, 2003.
- 3) Andersen, H. R., Vinggaard, A. M., Rasmussen, E. S., Gjermandsen, I. M., and Bonefeld-Jorgensen, E. C. : Effects of currently used pesticides I assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. Toxicol. Appl. Pharmacol., 179; 1-12., 2002.
- 4) Vinggaard, A. M., Hnida, C., Breinholt, V., and Larsen, J. C. : Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity in vitro. Toxicol. In Vitro, 14;227-234, 2000.

以上, Fischer 344 ラットへの本剤の飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験における影響として, 1000ppm 以上の用量で体重と摂餌量が減少した。また, 軽度の小球性低色素性貧血が認められ, これに関連して脾臓の重量増加, 表面粗造, 白脾髄辺縁帯食細胞色素沈着増加が観察された。さらに, 肝臓における脂質代謝と肝細胞の機能障害を示唆する血液生化学的変化, 肝臓の肉眼的変化, 重量の増加及び小葉中心性肝細胞肥大と肝細胞脂肪化が観察された。肝細胞脂肪化は, 300ppm 群の雄にもみられた。7週間の回復期間後, 血液学的・血液生化学的検査項目及び病理組織学的変化の一部には軽度な変化が残っていたが, その他の変化はみられなくなった。本試験条件下で無毒性量 (NOAEL) は100ppm (雄 6.40 mg/kg/日, 雌 7.19 mg/kg/日) 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株式会社クレハにある。

②マウスを用いた飼料混入投与による反復経口投与毒性試験

(資料 2-6)

試験機関: Hazleton UK

[GLP 対応]

報告書作成年: 1989 年

検体純度:

供試動物: Cr1:CD-1(ICR)BR マウス, 1 群雌雄各 12 匹

開始時 6~7 週齢

試験開始時体重範囲 雄; 24.9~33.5 g, 雌; 19.2~26.1 g

投与期間: 13 週間 (1989 年 4 月 28 日~1989 年 8 月 1 日)

投与方法: 検体を 0, 30, 300 および 2000 (第 1 週のみ 3000) # ppm の濃度で飼料に混入し, 13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定根拠:

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。また, 週 1 回, 詳細な症状観察を実施した。

検体投与に関連するような臨床症状は観察されなかった。また, 死亡率に検体投与の影響は認められなかった。

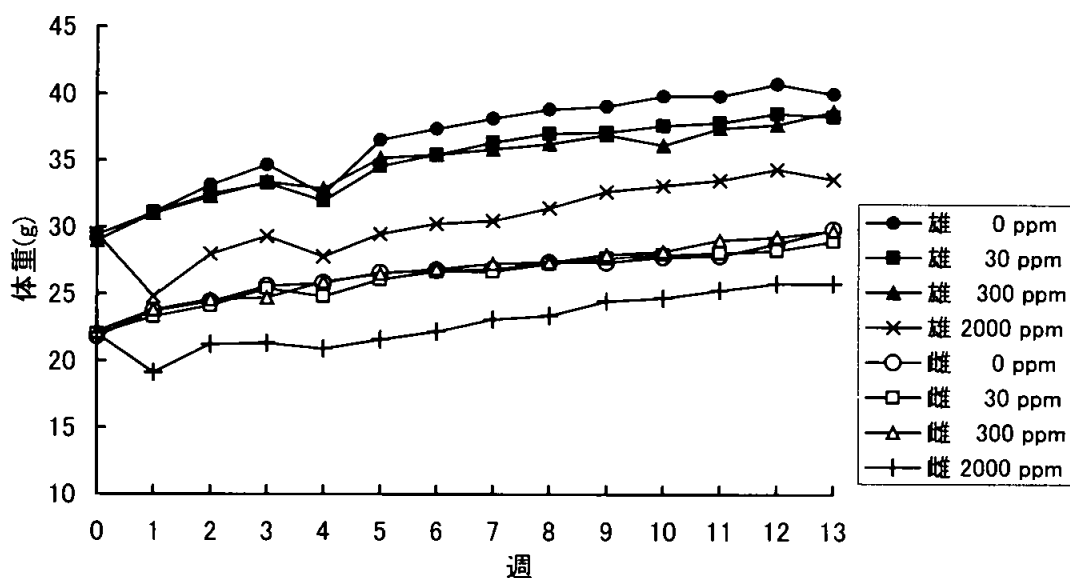
投与第 11 週に 300ppm 投与群の雄 1 例が消瘦および皮膚の腫脹やただれのため切迫殺された。投与第 13 週に 300ppm 投与群の雄 1 例が急性尿道閉塞で死亡した。また, 対照群の雄 3 例, 雌 1 例, 300ppm 群の雄 2 例が投与第 13 週の採血中に採血量過多のために死亡した。

体重変化; 投与開始日および投与期間中毎週全生存動物の体重を測定した。

体重変化を下図に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。



期間ごとの群平均体重増加量を下表に示す。

		群平均体重増加量 (g)							
性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	30	300	2000	0	30	300	2000
投与週	0 - 1	1.6	1.8	2.1	↓ -4.7	1.9	1.3	1.6	↓ -2.9
	1 - 6	6.3	↓ 4.4	↓ 4.4	5.6	3.1	3.3	3.2	3.2
	6 - 13	3.1	2.9	3.3	3.3	2.7	2.4	2.9	3.6
	0 - 13	10.7	9.1	10.0	↓ 4.2	7.8	7.0	7.6	↓ 3.9

t 検定 (両側) ↓, p<0.01 ; ↓, p<0.001

3000ppm の用量で雌雄に投与した結果、第1週に体重が減少した (群平均体重で開始時より雄で16%、雌で13%減少) ため、用量を3000ppm から2000ppm へ引き下げた。その結果、投与第2週では急激に体重が増加したものの、その後も体重は対照群より低く推移し、投与終了時の体重は対照群より雄で16%、雌で14%低下していた。30ppm 群および300ppm 群では雄において投与第1~6週に統計学的に有意な減少が認められたが、総体重増加量は対照群と同程度であった。雌では対照群と同程度に体重が増加した。投与第4週に雄の全群において体重が減少したが、これは飲料水が欠乏したことが原因であった。

摂餌量； 全動物の摂餌量を毎週測定した。  
期間ごとの群平均摂餌量を下表に示す。

		群平均摂餌量 (g/動物)							
性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	30	300	2000	0	30	300	2000
投与週	1 - 6	231.1	227.4	243.2	↓ 204.6	228.8	229.3	219.5	↓ 191.0
	7 - 13	266.4	266.2	293.1	249.4	276.5	284.5	271.0	245.1
	1 - 13	497.5	493.6	536.2	453.9	505.2	513.7	490.5	↓ 436.1

t 検定 (両側) あるいは Wilcoxon の順位和検定 ↓, p<0.05 ; ↓, p<0.001

3000ppm の用量で雌雄に投与した結果、第1週に摂餌量が減少した (群平均値で対照群より雄で22%、雌で8%減少)。投与第2週に用量を2000ppm に引き下げたところ、雄では摂餌量があったん対照群と同程度まで増加したが、それ以降の週では対照群より低く推移した。雌では摂餌量に対

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

する用量軽減の影響はなかった。雌雄とも投与第1~6週、また雌では投与第1~13週の群平均摂取量が対照群と比較し統計学的に有意に減少した。

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	300	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.6	50.5	341.1
	雌	6.5	60.7	438.5

血液学的検査；投与後13週に全生存動物から血液を採取し、以下の項目を測定した。

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

検査項目	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	30	300	300 <sup>1)</sup>	2000	30	300	2000	2000 <sup>2)</sup>
血色素量							↓ 94	
ヘマトクリット値							↓ 91	↓ 94
MCV				↓ 91			↓ 91	↓ 91
MCH				↓ 93			↓ 94	↓ 93
MCHC					↑ 103	↑ 103	↑ 103	↑ 103
白血球数		↑ 165	↓ 54					↑ 111
好中球								↑ 235
リンパ球		↑ 150						↓ 88

t 検定 (両側) あるいは Wilcoxon の順位和検定 ↑↓, p<0.05 ; ↑↓, p<0.01 ; ↑↓, p<0.001  
表中の数字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

- 1): 300ppm 群の雄 1 例 (動物番号 34) の値が平均より大きく外れていたためこの動物を除いた。
- 2): 2000ppm 群の雌 1 例 (動物番号 92) の値が平均より大きく外れていたためこの動物を除いた。

以下の評価は動物番号 34 および 92 を除いた結果について行った。

2000ppm 群では、雌において血色素量及びヘマトクリット値が有意に減少し、白血球数と好中球が有意に増加、リンパ球が有意に減少した。また、雌雄において MCV および MCH が有意に減少した。さらに、雌では全投与群において MCHC が有意に増加した。

(申請者注) 上記の変化のうち、MCH の増加については用量に関連したものではなかったため、投与とは無関係と考えられた。その他 300ppm 群の雄に白血球数の有意な減少が認められたが、高用量群では有意な減少がないことから投与の影響とは考えられなかった。

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 (ALP)、ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン、カルシウム、尿素、クレアチニン、血糖、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)、総コレステロール

次表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	300	2000	30	300	2000
AST	↑ 132	↑ 161	↑ 272			↑ 246
ALT		↑ 161	↑ 555			↑ 608
ALP			↑ 345			↑ 432
ナトリウム						(103)
カリウム						↑ 121
塩素			↑ 103			(103)
カルシウム						↓ 94
無機リン			↑ 118	↓ 82		
総ビリルビン		↓ 72	↓ 54			↓ 72
クレアチニン		↑ 123	↑ 126			
総蛋白		↓ 96	↓ 96		↓ 93	↓ 91
アルブミン				↑ 112		
A/G 比				↑ 122	↑ 122	
総コレステロール		↓ 65	↓ 35		↓ 50	↓ 40

t 検定 (両側) あるいは Wilcoxon の順位和検定 ↑↓, p<0.05 ; ↑↓, p<0.01 ; ↑↓, p<0.001  
( ) は統計学的に有意ではないが、参考値として表示。

表中の数字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

全投与群の雄および 2000ppm 群の雌においてアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 活性が対照群に比して有意に増加した。アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 活性は 2000, 300ppm 群の雄および 2000ppm 群の雌において有意に増加し、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性は 2000ppm 群の雌において有意に増加した。総ビリルビンが 2000, 300ppm 群の雄および 2000ppm 群の雌において有意に減少した。また、総コレステロールは 2000 および 300ppm 群の雌において有意に減少した。これらの変動は検体投与の肝臓に対する影響を示すものと考えられた。

2000 および 300ppm 群の雌において総蛋白が有意に減少し、雄においてクレアチニンが有意に増加した。2000ppm 群において雄では塩素および無機リンが有意に増加し、雌ではカリウムが有意に増加、ナトリウムおよび塩素が増加傾向を示し、カルシウムが有意に減少した。

(申請者注) その他、雌において無機リン、アルブミンおよび A/G 比に統計学的有意差がみられたが高用量群ではみられなかったことから投与の影響とは考えられなかった。

(申請者注) AST が雄の 30ppm 群でも有意に増加した。本試験では後述する病理組織学的検査において 300ppm 以上の投与群の肝臓にびまん性肝細胞肥大/空胞化が観察され、2000ppm 群では肝細胞の単細胞壊死、食細胞色素沈着を伴っていた。これらの組織学的変化は肝細胞に深刻な障害が加わったことを示しており明らかに毒性影響であると判断できる。しかし、30ppm 群ではびまん性肝細胞肥大/空胞化は観察されなかった。このため、同群における検体投与の影響は生体の生理学的適応範囲にあった、すなわち肝細胞に組織学的変化をもたらすほど重度ではなく、毒性影響の閾値に入らない程度であった、と判断できる。したがって、30ppm は無毒性量 (NOAEL) と考えた。

臓器重量： 投与期間終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、精巣、卵巣、脾臓、脳、副腎、心臓

次表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	300	2000	30	300	2000
最終体重			↓ 91	↓ 83			↓ 88
副腎 (左)	対体重比			↑ 217			
副腎 (右)	対体重比			↑ 168			
腎臓 (左)	絶対重量			↓ 85			
腎臓 (右)	絶対重量			↓ 85			
脾臓	絶対重量					↑ 132	↑ 129
	対体重比			↑ 123		↑ 130	↑ 148
肝臓	絶対重量			↑ 178		↑ 127	↑ 195
	対体重比		↑ 122	↑ 213		↑ 124	↑ 221
精巣 (左)	対体重比			↑ 123			
精巣 (右)	対体重比			↑ 126			
卵巣 (左)	絶対重量						↓ 82
	対体重比				↑ 131		
卵巣 (右)	絶対重量						↓ 64
	対体重比				↑ 135		
心臓	絶対重量						↓ 80
	対体重比		↑ 125				
脳	絶対重量	↓ 96	↑ 104				
	対体重比		↑ 114	↑ 118			

t 検定 (両側) ↑↓, p<0.05 ; ↑↓, p<0.01 ; ↑↓, p<0.001

表中の数字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

2000ppm 群の雌雄及び 300ppm 群の雌において肝臓の絶対重量および対体重比が増加し、300ppm 群の雄においても肝臓の対体重比が増加した。2000ppm 群の雄においては脾臓重量の対体重比が有意に増加し、雌では 2000 および 300ppm 群において脾臓の絶対重量および対体重比が有意に増加した。これらの臓器重量の変動は検体投与の影響と考えられ、病理組織学的検査において関連する所見が認められた。

2000ppm 群の雄において副腎の対体重比が増加した。

その他、雄における心臓、脳、精巣重量の対体重比ならびに雌における心臓、卵巣の絶対重量に有意差が認められたが、これらは 2000ppm 群の雌雄および 300ppm 群の雄にみられた体重減少の影響と考えられた。

(申請者注) 報告書には記載されていないが、2000 ppm 群の雄の腎臓の絶対重量の減少も体重減少の影響と考えられる。上記以外にも 30 あるいは 300 ppm 群の雌雄で一部の臓器重量に有意な変動がみられたが高用量群ではみられなかったことから投与の影響とは考えられなかった。

肉眼病理検査；全ての動物について剖検を行った。

最終計画殺動物において発生頻度に統計学的有意差の認められた肉眼病理検査所見を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	30	300	2000	0	30	300	2000
臓器	所見/検査例数	9	12	8	12	11	12	12	12
肝臓	腫大	0	0	0	↑ 6	0	0	0	↑ 8
脾臓	腫大	0	0	1	↑ 5	0	0	0	↑ 5

Fisher の直接確率計算法 ↑↓, p<0.05 ; ↑↓, p<0.01 (申請者実施)

2000ppm 群の雌雄において肝臓の腫大および脾臓の腫大の発生頻度が統計学的に有意に増加した。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した0および2000ppm群の雌雄動物およびその他の群の途中死亡切迫殺動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

全ての肉眼的異常部位、脳、下垂体、甲状腺および上皮小体、胸腺、気管、肺（主要気管支を含む）、心臓、大動脈、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣/卵巣、子宮、精巣上体、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節（下顎および腸間膜）、坐骨神経、胸骨（骨髄を含む）、眼（視神経を含む）

また、30および300ppm群の雌雄動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

全ての肉眼的異常部位、肺、肝臓、腎臓、脾臓

最終計画殺動物において発生頻度に統計学的有意差の認められた病理組織学的所見とその程度を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	30	300	2000	0	30	300	2000
臓器	所見/検査例数	9	12	8	12	11	12	12	12
肝臓	白血球集簇	9	8	↓ 3	9	6	↑ 12	10	11
	程度	0	0	4	5	3	5	0	2
	1	8	8	3	1	6	12	10	0
	2	1	0	0	8	0	0	0	10
	3	0	0	0	0	0	0	0	1
	びまん性肝細胞肥大/ 空胞化	0	0	↑ 8	↑ 12	0	0	↑ 12	↑ 12
	程度	0	9	12	0	0	11	12	0
	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	2	0	0	1	0	0	0	3	0
	3	0	0	7	0	0	0	8	0
脾臓	白脾髄リンパ球過形成	0	0	1	↑ 9	0	0	0	↑ 8
	程度	0	9	12	7	3	11	12	12
	1	0	0	0	8	0	0	0	5
	2	0	0	1	1	0	0	0	3

Fisher の直接確率計算法 ↑↓, p<0.05 ; ↑↓, p<0.01 (申請者実施)

程度0 = 検出せず, 程度1 = 軽微, 程度2 = 軽度, 程度3 = 中等度, 程度4 = 重度, 程度5 = 極度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

2000ppm および 300 ppm 群の雌雄において肝臓の肝細胞肥大および空胞化が有意に増加したが、その程度は 2000ppm 群においてより強く、白血球集簇の程度の増加、単一細胞性肝細胞壊死及び食細胞色素沈着を伴っていた（このうち、単一細胞性肝細胞壊死及び食細胞色素沈着は報告書中では 2000 ppm 群における肝臓の組織像の説明として文章で記載されているもので、個々の動物についてはとられていない）。オイルレッドO 染色により肝細胞の空胞は中性脂肪であることが判明した。この肝臓の所見は臓器重量、血液生化学的検査結果とも関連するものであった。

2000ppm 群の雌雄において脾臓の白脾髄リンパ球過形成が増加した。これに関連した臓器重量の増加も認められた。

（申請者注）肝細胞肥大／空胞化の肝小葉内の部位に関し、肝臓癌誘発のメカニズム試験において、1000ppm を 14 日間雄マウスに投与したところ肝細胞は小葉内でびまん性に肥大していた（資料 2-23）。また、組織写真を撮影したところ、肝細胞の肥大は小葉中心部でやや顕著の印象を受けたが、小葉全体に認められた。したがって、本試験における肝細胞肥大／空胞化もびまん性に生じていたと推察される。本変化が重度となった 2000ppm 群雌雄には単一細胞性肝細胞壊死を伴っていたが、これは資料 2-32 で示すように肝において薬物代謝酵素活性亢進と脂質過酸化（LPO, malone dialdehyde 法）の上昇がみられ、肝細胞への酸化ストレスが増加したことと一致していた。

以上の結果、300ppm 以上の用量において肝臓の酵素活性の増加、臓器重量の増加、肝細胞肥大／空胞化が認められ、本検体の標的臓器は肝臓であると判断される。また、無毒性量（NOEL）は 30ppm（雄 4.6 mg/kg/日、雌 6.5 mg/kg/日）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株式会社クレハにある。

③イヌを用いた飼料混入投与による反復経口投与毒性試験

(資料 2-7)

試験機関：Hazleton UK

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体純度：

供試動物： ビーグル犬 (1 群雌雄各 5 匹)

試験開始時 4~6 カ月齢, 体重範囲 雄, 5.50~8.15 kg ; 雌, 5.20~8.25 kg

投与期間： 13 週間 (1989 年 9 月 18 日~1989 年 12 月 21 日)

投与方法： 検体を 0, 60, 600 または 6000ppm の濃度で粉末飼料に混入し, 各動物に 1 日 1 回 400 g を 13 週間摂食させた。飼料調製は毎週行なった。

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；

試験期間中, 動物の一般状態と生死について毎日, さらに週 1 回は詳細な観察を行ない, 異常の有無を記録した。

投与群では削瘦と被毛の汚れが観察された。被毛の汚れは高用量群の雌 2 例では第 7 週から試験終了時まで認められた。

(申請者注) 削瘦については原文に用量群, 性別等の記載なし。

体重； 各動物の体重を, 試験期間中毎週 1 回測定した。  
以下に体重推移を図示し体重増加量を表 1 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株式会社クレハにある。

### 体重変化

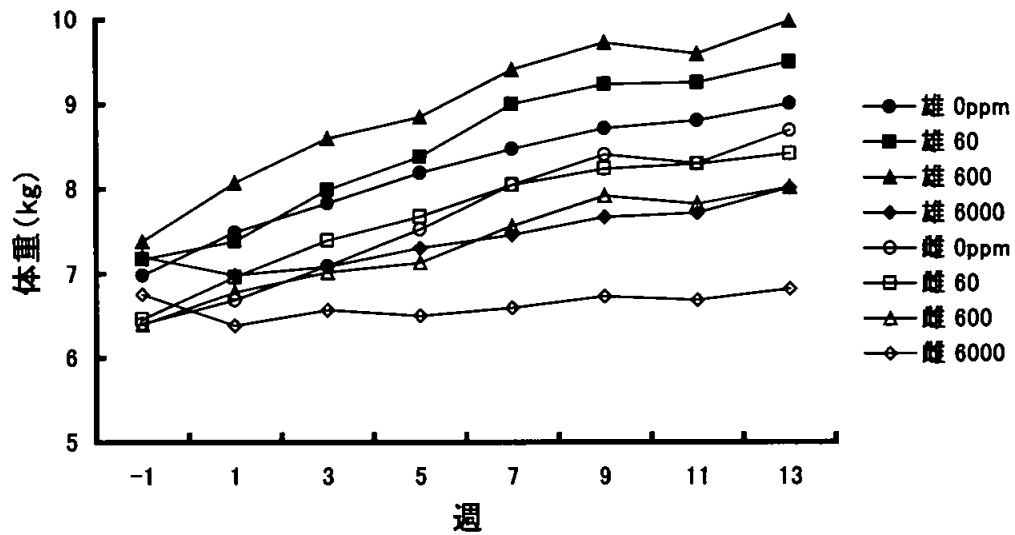


表1. イヌの体重増加量

用量群(ppm) と性	体重増加量 (kg) (期間, 週):				
	-1-4	-1-8	-1-13	4-8	8-13
0 雄	0.93	1.64	2.01	0.71	0.37
60 雄	1.10	1.95	2.31	0.85	0.36
600 雄	1.41↑	2.24	2.58	0.83	0.34
6000 雄	-0.08↓	0.36↓	0.80↓	0.44	0.44
0 雌	1.05	1.80	2.26	0.75	0.46
60 雌	1.11	1.68	1.94	0.57	0.26
600 雌	0.65	1.40	1.61	0.75	0.21
6000 雌	-0.35↓	-0.08↓	0.05↓	0.27↓	0.13

分散分析及びDunnett検定: ↑↓, p < 0.05; ↑↑↓, p < 0.01; ↑↑↓, p < 0.001

6000ppm 群の雌雄の投与期間中における体重増加量は対照群に比し有意に少なかった (13 週間の体重増加量は雄で 800 g, 雌で 50 g)。

600ppm 群の雌でも体重増加量がわずかに減少したが, 対照群との間で統計学的有意差は認められなかった。60ppm 群では, 体重増加量は対照群と比較して同程度ないし多かった。

摂餌量: 各動物の摂餌量を毎日測定し, 週ごとの摂餌量を算出した。給餌量は 1 日 400 g であった。各期間の摂餌量の変化を表 2 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株式会社クレハにある。

表2. イヌの摂餌量

用量群 (ppm)と性	摂餌量 (期間, 週) :				
	1-4	1-8	1-13	5-8	9-13
60 雄	102	103	103	103	103
600 雄	106	106	106	105	106
6000 雄	77↓	81↓	86↓	85↓	94
60 雌	98	96	95	94	93
600 雌	81↓	84	86↓	87	88
6000 雌	63↓	66↓	69↓	69↓	74↓

分散分析および Dunnett 検定 : ↑↓,  $p < 0.05$  ; ↑↓,  $p < 0.01$  ; ↑↓,  $p < 0.001$   
 表中の数値は対照群の値に対する変動率(%)

6000ppm 群の雌雄の摂餌量は統計学的に有意に少なかった。

600ppm 群の雌でもわずかに少なく、統計学的有意差が認められた期間もあったが、この群では投与開始前でも対照群より少なかった。

検体摂取量 ; (申請者計算)

申請者が計算した平均検体摂取量を表3に示す。

表3. 平均検体摂取量

用量群 (ppm)	平均検体摂取量(mg/kg/日)	
	雄	雌
60	2.38	2.47
600	23.1	23.4
6000	229	212

眼検査 ; 投与開始前と第13週に、各動物の眼を直像または倒像検眼鏡を用いて検査した。

第13週に、6000ppm 群のすべての動物に水晶体の変性(白内障)が認められ、検体の影響と考えられた。

血液学的検査 ; 投与開始前、第6週及び第13週に、約18時間絶食させた各動物の頸静脈から血液を採取して、以下の項目について検査した。

血色素量, メトヘモグロビン, ヘマトクリット値, 赤血球数, 平均赤血球血色素量, 平均赤血球血色素濃度, 平均赤血球容積, 白血球数, 白血球ディファレンシャルカウント, 血小板数, 網赤血球数(赤血球に対する%), 網赤血球数(絶対値), 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

対照群と比べて統計学的有意差がみられた変化を表4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株式会社クレハにある。

表 4. 血液学的検査成績

検査項目と性	第 6 週			第 13 週		
	用量群 (ppm)			用量群 (ppm)		
	60	600	6000	60	600	6000
血色素量 雄	93	101	103	93	104	88↓
雌	101	103	102	98	98	86↓
赤血球数 雄	95	104	105	90↓	104	89↓
雌	102	103	105	98	97	88↓
ヘマトクリット値 雄	95	101	104	93	103	90↓
雌	101	102	103	98	97	88↓
網赤血球数 (%) 雄	78	133	89	100	142	133↑DR
雌	80	80	80	115	100	131
血小板数 雄	96	123	164↑	103	121	172↑
雌	107	94	120	97	96	99
PT 雄	101	99	105	103	99	108↑
雌	100	101	120	101	103	124↑
APTT 雄	93	92	98	97	92	93
雌	104	99	81↓DR	106	99	84↓
白血球数 雄	113	118	161↑	94	100	151↑
雌	81	85	107	99	98	121
好中球数 雄	123	100	180↑DR	93	93	153
雌	76	79↓	109	109	95	124

分散分析及びDunnnett 検定, またはWilcoxon 検定: ↑↓,  $p < 0.05$ , ↑↑↓,  $p < 0.01$

DR: 回帰分析またはTerpstra-Jonckheere の傾向検定, ↑↓,  $p < 0.05$

PT: プロトロンビン時間; APTT: 活性化部分トロンボプラスチン時間

表中の数値は対照群の値に対する変動率(%)

6000ppm 群の雌雄で, 第 13 週に血色素量, 赤血球数及びヘマトクリット値が有意に減少した。6000ppm 群と 600ppm 群の雄の網赤血球数の比率が第 13 週に増加した (有意な用量との関連性あり)。同時期, 6000 ppm 群の雌でも, 統計学的有意差はないものの, 網赤血球数の増加傾向がみられた。また, 6000 ppm 群の雄で, 第 6 及び 13 週に血小板数と白血球数が有意に増加した。両検査時期には好中球数も有意に (あるいは有意な用量との関連性を示して) 増加したが, 好中球の比率には変化はみられなかった。さらに, 6000 ppm 群の雌で, 第 6 及び 13 週に活性化部分トロンボプラスチン時間が有意に (あるいは有意な用量との関連性を示して) 短縮した。第 13 週には, 同群の雄でも, 統計学的有意差はないものの, 活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮傾向がみられた。600 ppm 群の雄でも同様の傾向がみられたが, この差は投与開始前から認められていた。

(申請者注) 網赤血球数の増加傾向のうち, 600ppm 群の雄の変化については, 他の赤血球関連値の変化を伴っていなかったことから偶発的な変化と考えた。血小板数と白血球数の増加については, 骨髄像検査並びに病理組織学的検査に対応する異常が観察されず, また, 雌に異常を認めなかったところから, 毒性学的意義はないと判断した。活性化部分トロンボプラスチン時間の延長は毒性とみなされるものの, 短縮については明らかな毒性とは考えなかった。

(申請者注) 上記以外に, 6000 ppm 群の雌雄で第 13 週にプロトロンビン時間が有意に延長したが, 雄の変動は軽微であり, 雌では投与開始前から同様の傾向がみられていた (対照群の 125%) ため, 毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。雌雄の投与群でみられたその他の有意な変動は用量との関連性がないことから, 検体投与の影響とは判断しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。  
 骨髓像検査：剖検時に骨髓の塗抹標本を作製して骨髓像を検査した。  
 投与に関連する変化は認められなかった。

血液生化学的検査：投与開始前、第6週及び第13週に、血液学的検査で使用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。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)、アルカリホスファターゼ、クレアチンホスホキナーゼ、γ-グルタミルトランスフェラーゼ、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、ブドウ糖、尿素、総ビリルビン、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、総コレステロール

対照群と比べて統計学的有意差がみられたか、統計学的には有意でないものの明らかな変化がみられたものを表5に示す。

表5. 血液生化学的検査成績

検査項目と性	第6週			第13週		
	用量群(ppm)			用量群(ppm)		
	60	600	6000	60	600	6000
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	雄 100	雌 105	130	雄 106	雌 109	176↑
アルカリホスファターゼ	雄 98	雌 88	119	雄 113	雌 90	146↑
クレアチンホスホキナーゼ	雄 93	雌 107	1526↑	雄 641	雌 129	2584↑
γ-グルタミルトランスフェラーゼ	雄 119	雌 113	2040↑	雄 115	雌 107	3158↑
カルシウム	雄 89	雌 96	110	雄 123	雌 121	158↑DR
無機リン	雄 83	雌 49	84	雄 114	雌 75	106
ブドウ糖	雄 67	雌 100	200↑	雄 120	雌 100	220↑
尿素	雄 83	雌 83	133↑DR	雄 80	雌 60	160
総蛋白	雄 105	雌 105	110↑	雄 102	雌 102	105
総ビリルビン	雄 98	雌 100	102	雄 98	雌 102	107
アルブミン	雄 105	雌 111	100	雄 100	雌 105	105
アルブミン/グロブリン比	雄 95	雌 100	89	雄 89	雌 79↓	100
ブドウ糖	雄 100	雌 102	93	雄 100	雌 110	94
尿素	雄 96	雌 98	93	雄 98	雌 96	87↓
総蛋白	雄 100	雌 104	81	雄 92	雌 113	85
総ビリルビン	雄 123	雌 113	85	雄 114	雌 109	84
総蛋白	雄 85	雌 80	80↓DR	雄 100	雌 95	125
アルブミン	雄 75	雌 79	75	雄 119	雌 95	133
アルブミン/グロブリン比	雄 102	雌 100	104	雄 100	雌 105	107↑DR
アルブミン	雄 93	雌 93	98	雄 93	雌 95	97
アルブミン/グロブリン比	雄 100	雌 100	87↓	雄 100	雌 103	86↓
アルブミン	雄 100	雌 97	81↓	雄 94	雌 94	75↓
アルブミン/グロブリン比	雄 93	雌 100	71↓	雄 100	雌 100	64↓
アルブミン/グロブリン比	雄 114	雌 107	64↓	雄 100	雌 100	58↓

分散分析及びDunnnett検定、またはWilcoxon検定：↑↓、p<0.05；

↑↓、p<0.01、↑↓；p<0.001

DR：回帰分析またはTerpstra-Jonckheereの傾向検定、↑↓、p<0.05

表中の数値は対照群の値に対する変動率(%)

6000ppm群の雌雄で、第6週及び13週ともアルカリホスファターゼとγ-グルタミルトランスフェラーゼが著しく増加し、多くは統計学的にも有意であった。また、雌雄で第13週にアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼも有意に増加した。雌雄では第6週及び13週に尿素、アル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

ブミン及びアルブミン/グロブリン比が減少し、アルブミン及びアルブミン/グロブリン比には有意差がみられた。雌で第13週にブドウ糖が有意に減少した。

(申請者注) アルカリホスファターゼの増加について、後述する病理組織学的検査で肝細胞肥大が観察されたが、その部位は主として小葉周辺性であった。したがって、アルカリホスファターゼの増加は小葉周辺性肝細胞への検体投与の影響と判断される。

6000ppm 群の雄で第6週にカリウムが有意に増加したが、第13週には対照群との差はみられず、また、雌では両検査時とも異常がなかったところから毒性学的意義はないと判断した。6000ppm 群の雄で第13週にクレアチンホスホキナーゼおよび総蛋白が(有意な用量との関連性を示して)増加したが、これらの項目の無処置動物における変動幅を考慮すると今回みとめられた増加は顕著であるとはいえず、また、第6週あるいは雌では異常がなかったことからいずれも偶発的変化と判断した。6000 および 600ppm 群の雄では第6週に総ビリルビンが(有意な用量との関連性を示して)減少したが、この傾向は投与開始前から認められていた。600ppm 群の雌では第13週に無機リンが低下したが、高用量群ではみられなかったところから検体投与の影響とは判断しなかった。

尿検査： 投与開始前、第6週及び第13週に、各動物の膀胱へ直接カテーテルを挿入して尿を採取し、以下の項目について検査した。

外観(濁度および色調)、比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、総ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、還元物質(reducing substance)、沈渣

6000ppm 群の雄3匹で第13週にビリルビンが検出された。

臓器重量： 試験終了時に、全動物について以下の臓器重量(絶対重量)を測定し、対体重比(相対重量)を算出した。さらに、体重を共変量とした共分散分析の手法により、臓器重量を補正した(補正重量, g)。

副腎(両側)、脳、心臓、腎臓(両側)、肝臓、卵巣(両側)、脾臓、精巣および精巣上体(両側)、甲状腺及び上皮小体(両側)

対照群と比べて統計学的有意差がみられたか、統計学的には有意でないものの明らかな変化がみられたものを表6に示す。

表6. 臓器重量

	絶対重量			相対重量			補正重量		
	用量群(ppm)			用量群(ppm)			用量群(ppm)		
臓器と性	60	600	6000	60	600	6000	60	600	6000
副腎 雄	101	111	112	94	100	127	99	108	115
雌	105	95	116	108	101	148	106	96	121
腎臓 雄	115	108	116	107	99	137	115	109	116
雌	85	81	100	88	89	127	86	85↓	111
脾臓 雄	83	70	99	75	61	113	85	73	96
雌	89	92	175	92	100	219	93	101	206↑
肝臓 雄	105	110	113	98	100	127	96	97	126↑
雌	91	87	99	95	94	125	94	92	114
甲状腺 雄	102	145	109	93	131	125	91	128	125
雌	104	113	120	105	122	150	109	123	146↑
精巣 雄	111	121	112	105	111	127	101	107	126

共分散分析及びDunnett検定(補正重量についてのみ実施)；↑↓, p< 0.05；↑↓, p< 0.001  
表中の数値は対照群の値に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

6000ppm 群では、雌雄で肝臓の相対重量が増加し、雄では補正重量の差が統計学的に有意であった。雌で脾臓の絶対及び相対重量が増加し、補正重量の差は統計学的に有意であった。雌では甲状腺の相対重量も増加し、補正重量の差は統計学的に有意であった。その他、雌雄の副腎および腎臓と雄の精巣の絶対あるいは相対重量に増加がみられたが、補正重量には有意差はみられなかった。

(申請者注) 6000ppm 群で有意に重量が変化した臓器のうち、甲状腺については病理組織学的変化を伴わず、また、雄に異常を認めなかったところから、検体投与による影響とは考えなかった。600ppm 群の雌で腎臓の補正重量が有意に減少したが、高用量群ではみられなかったところから検体投与の影響とは判断しなかった。

肉眼病理学的検査；試験終了時に、全動物を剖検して所見を記録した。

6000ppm 群で、投与に関連する変化として眼の退色部位（雄 1 例、雌 2 例）と肝臓の退色および斑紋（共に雄 2 例、雌 2 例）が認められた。

病理組織学的検査；試験終了時に剖検した各動物の以下の臓器および組織について、病理組織学的に検査して所見を記録した。

副腎(両側)、大動脈(弓及び前腹部)、脳(脳幹を含む)、盲腸、結腸、十二指腸、眼(両側、視神経を含む)、心臓、回腸、空腸、腎臓(両側)、肝臓、肺(主要気管支を含む)、リンパ節(下顎及び腸間膜)、食道、卵巣(両側)、脾臓、下垂体、直腸、唾液腺(下顎及び舌下)、坐骨神経、脾臓、胸骨(骨髄を含む)、胃(噴門部、胃底部、幽門部)、精巣(両側)、甲状腺および上皮小体(両側)、胸腺、膀胱、子宮(体部及び頸部)、すべての肉眼的異常部位  
主な病変発生頻度を表 7 に示す。

表 7. 病理組織学的所見

性	雄				雌			
	0	60	600	6000	0	60	600	6000
所見/用量群 (ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査例数	5	5	5	5	5	5	5	5
肝臓								
肝細胞肥大 (小葉周辺性)	0	0	0	↑5	0	0	0	↑5
脾臓								
残留血液	2	3	3	5	3	3	4	5
髓外造血亢進	0	0	0	↑5	0	0	0	↑5
腎臓								
色素沈着	0	0	0	2	0	0	0	↑4
尿細管上皮空胞化	0	0	0	0	1	2	2	4
胸腺								
退縮	0	1	1	3	0	0	0	0
眼								
水晶体変性	0	0	0	↑5	0	0	0	↑5

統計学的有意差：↑,  $p < 0.05$ , ↑↑  $p < 0.01$  (Fisher の直接確率計算法, 申請者実施)

6000ppm 群で、投与に関連した変化として眼の水晶体の変性(水晶体線維の腫脹及び膨化)、肝臓の肝細胞肥大(小葉周辺性)及び脾臓の髓外造血亢進が雌雄の全動物に認められた。

この他、6000 ppm 群の雌雄で脾臓に放血不十分に起因する残留血液の増加傾向がみられた。腎臓の色素沈着が雌雄ともに増加(雌では有意差あり)し、雌では腎臓の尿細管上皮空胞化にも

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

増加傾向が認められたが、これらはいずれも軽微あるいは軽度であり腎臓に対する直接的な毒性を示すものではないと考えた。雄では胸腺の退縮に増加傾向がみられたが、ストレスに関連した非特異的所見と考えられた。

(申請者注) 眼の水晶体変性(白内障)の原因は明らかでないが、イヌはヒトに比し眼の GSH reductase が 3%<sup>1)</sup>、ビタミンC 含量が 16%<sup>2)</sup> しかないところから種々の原因による酸化ストレスに極めて脆弱であると推察される。このことが、本検体の種々の試験でイヌのみに白内障が生じた原因と考えられる。一方、カニクイサルで試験したところ、摂餌量低下のない最大量を投与しても白内障は認められず、ヒトへの白内障発症のリスクは極めて低いと判断できる(資料 2-19 参照)。脾臓の残留血液は放血不十分の際にしばしば観察される変化で本試験では対照群を含め多く発生したが、イヌの慢性毒性試験では対照群、30、300、3000ppm 群において、雄；1、0、0、0、雌；1、1、1、0 の頻度で、特に投与群に好発することはなく、本変化が偶発的であることを示していた(資料 2-10 参照)。また、髄外造血亢進はこれらの動物で見られた軽度の貧血に対応する変化と推察する。

#### 参考文献

- 1) Rathbun, W.B., Bovis, M.G., and Holleschau, A.M.: Species survey of glutathione peroxidase and glutathione reductase: Search for an animal model of the human lens. *Ophthalmic Res.*, 18: 282-287, 1986.
- 2) Varma, S.D. and Richards, R.D.: Ascorbic acid and the eye lens. *Ophthalmic Res.*, 20: 164-173, 1988.

以上、本検体をイヌに13週間飼料混入投与した場合、6000ppmの用量で体重増加量及び摂餌量の顕著な減少、軽度の貧血と脾臓の重量増加及び髄外造血亢進、肝機能関連血液生化学的検査項目の変化と肝臓の重量増加、退色・斑紋及び肝細胞肥大、さらに眼の水晶体の変性が認められた。その他の変化は、いずれも投与によって二次的に引き起こされたものと考えられた。60及び600ppmの用量では、検体投与に関連する生物学的に意義のある変化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 (NOAEL) は雌雄とも 600ppm (雄 23.1 mg/kg/日、雌 23.4 mg/kg/日) 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株式会社クレハにある。

### VIII.1.6. 反復経口投与神経毒性

①ラットを用いた 28 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 2-8)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体純度：

供試動物： Cr1: CD(SD)系 IGS BR ラット, 1群雌雄各 10 匹, 投与開始時 42 日齢以上,  
投与開始時の体重範囲 雄; 198~248 g, 雌; 147~188 g

投与期間：28 日間 (2002 年 1 月 14 日~2002 年 2 月 14 日)

投与方法：検体を 0, 50, 170 及び 500ppm の用量で飼料に混合し, 28 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。

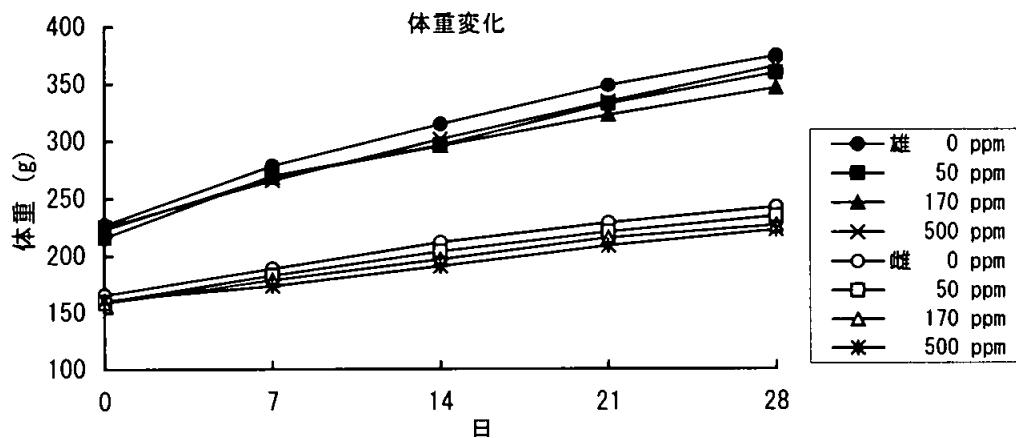
用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死についての観察を 1 日 2 回行った。

検体投与に関連した異常は認められず, 途中死亡もなかった。

体重変化；投与 1 日前及び投与後は週 1 回体重を測定した。Dunnett 法で検定した。平均体重変化を次図に, 体重増加量を次表に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

		群平均体重増加量 (g)							
性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	50	170	500	0	50	170	500
投 与 週	0 - 1	51	53	46	↓ 41	22	22	20	↓ 13
	1 - 4	96	90	↓ 78	100	54	53	48	49
	0 - 4	147	144	124	141	77	75	68	62

Dunnett 検定 (両側) ↓,  $p < 0.05$

体重に投与に関連した影響は認められなかった。

500ppm 群の雌雄において投与第 1 週, 170ppm 群の雄において投与第 1~4 週の体重増加量が対照群と比較して統計学的に有意に低下した。170ppm 群の雌および 50ppm 群の雌雄では検体投与の影響はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率; 全動物の摂餌量を週 1 回測定し, 食餌効率も算出した。

170ppm 及び 500ppm 群において投与第 1 週の摂餌量がわずかに減少したが, 統計学的有意差は認められなかった (Dunnett 検定, 申請者実施)。50ppm 群では雌雄とも検体投与の影響は認められなかった。

食餌効率は 500ppm 群及び 170ppm 群の雄または雌でわずかな減少がみられた。

検体摂取量; 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		50	170	500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.84	15.69	47.08
	雌	5.10	17.62	49.82

詳細な状態の観察; 投与開始前及び投与期間中は毎週, 全動物を対象として, 以下の項目について観察し, 程度付けした。

ハンドリング (ケージからの取り出し易さ, 流涎, 流涙, 眼球突出, 立毛, 被毛, 発声, ハンドリングに対する反応)

観察台 (3 分間) (覚醒, 歩行, 身づくろい, 活動数, 立ち上がり回数, 姿勢, 振戦, 筋攣縮, 痙攣, 眼瞼閉鎖, 糞, 尿)

立ち上がり回数及び活動数について Student の t 検定または Wilcoxon の順位和検定を行った。

いずれの項目においても検体投与の影響は認められなかった。

機能検査; 投与開始前及び投与期間中は毎週, 全動物を対象として, 以下の項目について測定し, 程度付けした。

感覚運動反応/反射 (接近反応, 触覚反応, 聴覚(驚愕反応), 痛覚反応(テイルピンチ), 正向反射, 体温, 接地開脚幅, 握力 (前肢及び後肢), 瞳孔径)

投与開始前及び投与第 4 週に, 全動物を対象として運動量 (6 分×10 回) の測定を行った。

握力, 接地開脚幅, 体温及び運動量について Student の t 検定または Wilcoxon の順位和検定を行った。

いずれの項目についても検体投与の影響は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。  
脳重量；投与終了時に全動物の脳重量を測定した。Dunnett 検定を行った。

検体投与に関連する変動は認められなかった。

解剖学的測定；投与終了時に全動物の大脳半球の大きさ（長さ及び幅）を測定した。

検体投与に関連する変動は認められなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時に全動物を対象として肉眼的病理検査を行った。

検体投与に関連する所見は観察されなかった。

病理組織学的検査；対照群及び最高用量（500ppm）群の各性5匹の動物を対象として、以下の病理標本を製作し、検鏡した。Fisherの直接確率計算法による検定を行った。

- ・脳(前脳横断面3カ所, 中脳, 橋, 小脳, 延髄)
- ・脊髄(頸部膨大部, 腰部膨大部)
- ・末梢神経系(背側根神経節(頸部及び腰部), 背側根神経(頸部及び腰部), 腹部根神経(頸部及び腰部), 坐骨神経(坐骨ノッチ部及び大腿中部), 脛骨神経(膝部及び腓腹筋分岐部))
- ・視神経を含む眼球
- ・骨格筋

坐骨神経及び脛骨神経は樹脂包埋し、トルイジンブルー染色した。その他はパラフィン包埋し、ヘマトキシリンエオジン染色した。

検体投与に関連する所見は観察されなかった。

以上のとおり、本剤のラットに対する28日間飼料混入投与による神経毒性試験における影響として、500ppm群では体重増加量の低下、摂餌量および食餌効率の低下が認められ、170ppm群の雌雄に摂餌量の低下が、雄では体重増加量の減少が認められた。神経病理学的所見はいずれの用量においても認められなかった。

したがって、本剤の神経毒性に関する無毒性量は500ppm（雄：47.08 mg/kg/日、雌：49.82 mg/kg/日）であり、全身毒性の無毒性量は50ppm（雄：4.84 mg/kg/日、雌：5.10 mg/kg/日）であると判断される。

(申請者注)：Fischer 344 ラットの90日反復経口投与毒性試験(0, 30, 100, 300, 1000, 3000ppm；資料2-5)では、体重への影響は雌雄の3000ppmおよび雄の1000ppm群にみられたが、雌の1000ppm群並びに300ppm以下の雌雄には認められなかった。しかし、雄の肝臓に肝細胞脂肪化が観察されたところから、無毒性量は100ppm（雄：6.40 mg/kg/日、雌：7.19 mg/kg/日）と判定された。一方、本試験のCD系ラットでは170ppm群においても雄で試験期間初期に体重増加量が低下したため、上記のごとく無毒性量は前述のFischer 344ラットより低い50ppm（雄：4.84 mg/kg/日、雌：5.10 mg/kg/日）と判断された。また、本試験と同様のCD系ラット、Crj:CD(SD)[IGS]ラットを用いた繁殖試験では、1000ppm群において雌親動物の育成期間中に摂餌量低下を伴う有意な体重増加抑制が観察された(資料2-13)。これらの成績から判断すると、本検体に対する感受性はCD系ラットがFischer 344ラットに比しやや高いと推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

## ②反復経口神経毒性試験省略理由書

1. ラットの28日間反復投与経口神経毒性試験における詳細な状態の観察、機能検査、病理組織学的検査等について(資料2-8, 抄録Ⅶ-48~50)

毎日2回の観察の他に、詳細な観察を神経行動学的スクリーニング検査の一部として週1回行った。ハンドリング観察として、ケージからの取り出しやすさ、流涎、流涙、眼球突出、立毛、被毛、発声およびハンドリングに対する反応を評価した。また、観察台での観察として、覚醒、歩行、みづくろい、活動数、立ち上がり回数、姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、眼瞼閉鎖、排糞数及び尿量を評価した。感覚反応として、接近反応、触覚反応、聴覚反応、痛覚反応、正向反射、体温、接地開脚幅、握力および瞳孔径を測定し、さらに運動量も測定した。

病理組織学的検査として、各臓器を詳細観察するとともに、脳重量及び大きさの測定及び神経に関連する組織を固定観察した。

いずれの試験結果からも、神経毒性を示唆する影響は認められなかった。

2. その他の試験で致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見について(資料2-5, 2-9及び2-11, 抄録Ⅶ-22, 52及び81)

ラットの90日間反復経口投与毒性試験、2年間慢性毒性試験および発がん性試験における一般症状観察で、神経毒性を示唆する影響は認められなかった。

3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関

現在の科学的知見において、本農薬メトコナゾールは既知神経毒性物質との化学構造相関はない。

以上の結果から、メトコナゾールの反復経口神経毒性試験は省略可能と判断致します。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

#### VIII.1.7. 反復経口投与毒性及び発がん性

##### 1) 2年間反復経口投与毒性試験

##### ①ラットを用いた飼料混入投与による2年間慢性毒性試験

(資料 2-9)

試験機関: Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992年

検体の純度:

供試動物: Fischer系ラット, 投与開始時約6~8週齢  
主群(2年間投与群); 1群雌雄各20匹(ただし対照群は雌雄各40匹)  
衛星群(1年間投与群); 1群雌雄各10匹(ただし対照群は雌雄各20匹)

投与期間: 1989年5月30日-1991年6月21日

投与方法: 検体をアセトンにて溶解し, 0, 10, 100, 300, 1000ppmの濃度で飼料に混入し, 2年間にわたって摂食させた。

投与用量設定根拠:

#### 試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 主群及び衛星群の全動物について, 一般状態および死亡・瀕死動物の有無を毎日観察した。

検体投与に関連した臨床症状は認められなかった。

主群の最終剖検時(107-108週)の死亡率を表1に示す。

表1. 死亡率

投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000
死亡率 (%)	雄	63	55	55	50	↓ 30
	雌	35	45	40	45	25

Fisherの直接確率計算法 ↓,  $p < 0.05$ 。

検体投与による死亡率の増加は認められなかった。

体重変化: 投与開始後13週間は毎週1回, 以降は4週間に1回の頻度で体重を測定した。  
1000ppm群の雄において投与開始後13週までの体重増加量が16%減少し, 試験期間を通じた体重増加量では約10%減少した。雌では試験初期には明らかな体重増加量の減少は認められず, 試験期間を通じては6%程度の体重増加量の減少が認められた。  
300ppm以下の投与群に異常はなかった。  
以下に体重推移を図示し, 体重増加量を表2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株式会社クレハにある。

### 体重変化

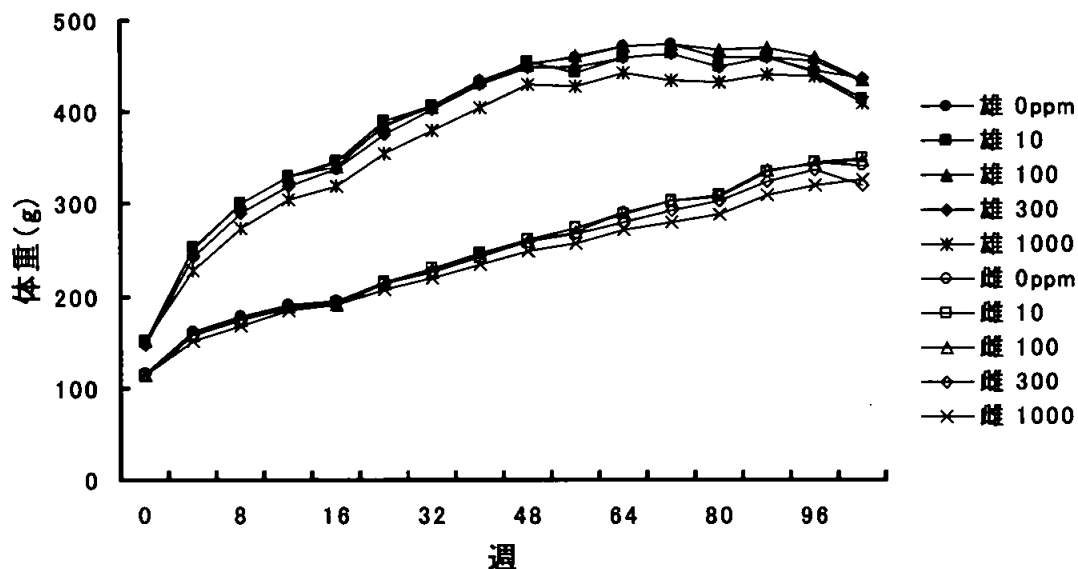


表2. 体重増加量

投与量 (ppm)	雄				雌			
	10	100	300	1000	10	100	300	1000
0-13 週の増加	101	100	97	84	97	101	99	96
13-104 週の増加	81	101	113	102	108	106	88	94
0-80 週の増加	97	102	98	90	101	102	97	91
0-104 週の増加	94	100	103	91	104	104	91	94

表中の数字は対照群に対する百分率。

摂餌量； 投与開始から13週間は週1回、その後は4週間に1回、全動物の摂餌量を測定した。平均摂餌量を表3に示す。

表3. 平均摂餌量

投与量 (ppm)	雄				雌			
	10	100	300	1000	10	100	300	1000
0-13 週	100	99	97	91	99	99	100	95
16-104 週	98	99	98	95	99	99	99	97
1-104 週	102	102	98	93	99	100	100	97

表中の数字は対照群に対する百分率。

1000ppm 群の雌雄で特に投与開始後13週間の摂餌量がわずかに減少し、検体投与の影響と判断した。300ppm 以下の投与群に異常はなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量を表4に示す。

表4. 検体摂取量

投与量 (ppm)		10	100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.44	4.29	13.08	43.95
	雌	0.52	5.27	15.98	53.84

眼検査； 眼窩静脈叢からの採血の繰り返しにより眼検査成績の正確性が損なわれる可能性があったため、眼検査は補完的に行った2年間発癌性試験において実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。  
 血液学的検査；投与 13, 26, 51, 77, 104 週時に主群の全ての生存動物を一晩絶食させた後、O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>麻酔下で眼窩静脈叢より採血した。ただし104 週時には絶食、麻酔後、剖検時に心臓穿刺により採血した。以下の項目を検査した。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、プレートレットクリット、平均血小板容積、赤血球容積分布幅、血小板容積分布幅、平均赤血球径、白血球数、ディファレンシャルカウント  
 また、衛星群の剖検時(52 週時)に心臓血を用いて血液凝固試験を実施した。  
 統計学的に有意差の認められた項目を表 5. に示す。

表 5. 血液学的検査成績

検査項目	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	100	300	1000	10	100	300	1000
白血球数	26				↓ 93				↑112
血色素量	13								↓ 98
	26								↓ 98
	51								↓ 99
平均赤血球容積	13				↑101		↑101	↑101	↑101
	26						↑101	↑101	↑101
	51						↑101	↑101	↑101
	77				↓ 97				
	104				↓ 95				
平均赤血球血色素量	13						↑101 <sup>d</sup>		
	26				↓ 99				↓ 99
	51	↑102 <sup>d</sup>			↓ 98 <sup>d</sup>		↑102 <sup>d</sup>		
	77				↓ 96				↓ 98
	104				↓ 94				
平均赤血球血色素濃度	13								↓ 98
	26	↓ 99 <sup>d</sup>							↓ 98
	51				↓ 99				
	104				↓ 98				↓ 99
赤血球容積分布幅	13				↓ 96				
	26								↓ 98
	77				↓ 95				
血小板数	13		↑102 <sup>w</sup>	↓ 97 <sup>w</sup>	↓ 91 <sup>w</sup>				↓ 86
血小板容積分布幅	26							↓ 96 <sup>d</sup>	
	104								↑105
平均血小板容積	13						↓ 99		↓ 98
	26								↓ 99
プレートレットクリット	13		↑101 <sup>w</sup>	↓ 96 <sup>w</sup>	↓ 90 <sup>w</sup>				↓ 85
	26				↓ 90 <sup>d</sup>				
多形核白血球 (実数)	26								↑144
	77								↑127 <sup>w</sup>
非分葉多形核白血球 (百分率) <sup>a</sup>	13	(↑0.1 <sup>w</sup> )	(↑0.1 <sup>w</sup> )	(0.0)	(↑0.1 <sup>w</sup> )				
	26					(↑0.2 <sup>w</sup> )	(0.1)	(0.2)	(0.1)
非分葉多形核白血球 (実数) <sup>a</sup>	13	(↑0.0 <sup>w</sup> )	(↑0.0 <sup>w</sup> )	(0.0)	(↑0.0 <sup>w</sup> )				
	26					(↑0.0 <sup>w</sup> )	(0.0)	(0.0)	(0.0)

表中の数字は対照群に対する百分率。ただし<sup>w</sup>を添付した項目の( )内数値は対照群の値が0.0だったため実測値を記載、単位は% (百分率) と10<sup>9</sup>/L(実数)。

Williams 多重比較法, ↑↓, p<0.05; ↑↓, p<0.01。

<sup>d</sup>は Dunnett の多重比較法, ↑↓, p<0.05; ↑↓, p<0.01。

<sup>w</sup>は Wilcoxon 検定法, ↑↓, p<0.05; ↑↓, p<0.01。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 5. 血液学的検査成績 (続き)

検査項目	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	100	300	1000	10	100	300	1000
好酸球 (百分率)	51								↓ 36
	104								↓ 37 <sup>*)</sup>
好酸球 (実数)	51								↓ 0
	104								↓ 0 <sup>*)</sup>
単球 (百分率)	77								↑129
	104								↑141 <sup>*)</sup>
単球 (実数)	77								↑167
	104								↑150 <sup>*)</sup>
平均赤血球径	13								↓ 98
	51				↓ 98				↓ 98
	77								↓ 98
赤血球径標準偏差	13								↑100
	26								↑120
	51				↑100				
	104								↑120
プロトロン時間	52 <sup>s</sup>				↑102				
活性化部分トロンボプラスチン時間	52 <sup>s</sup>				↓ 91				

\* は衛星群のデータ。

Williams 多重比較法, ↑↓, p<0.05; ↑↑↓, p<0.01。

\*) は Wilcoxon 検定法, ↑↓, p<0.05; ↑↑↓, p<0.01。

1000ppm 群雌で血色素量が有意に減少したが、その程度はわずかであるため毒性学的意義のないものと判断した。赤血球関連計算値のいくつか (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, 赤血球容積分布幅) にわずかではあるが有意な差が観察されたが、1000ppm 群に認められた血色素量の軽度の減少を除き、これらは実測検査項目の変動を反映するものではなく、毒性学的意義のないものと判断した。1000ppm 群の雌雄で見られた 13 週時の血小板数のわずかな減少 (報告書では増加と記載されているが減少の誤り) と 1000ppm 群雌での試験後半の単球および好酸球のわずかな増減もまた生物学的意義は疑わしいと考えられた。血液塗抹標本で白血球像の形態異常は観察されず、検体投与に関連した白血病も認められなかった。

上記以外にも種々の項目が投与群で対照群に比し有意に変動したが、毒性学的に意義のある変化はなかった。

(申請者注) 他の変化について毒性学的に意義がないと判断した理由としては、投与期間あるいは用量との関連性を欠くことや生物学的に意味があるとは考え難い軽微な変化であることなどが挙げられる。

血液生化学的検査; 投与 13 週時を除く各検査時に、血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

総蛋白, アルブミン, 尿素窒素, ビリルビン, カルシウム, 無機リン, 血糖, クレアチニン, アルカリホスファターゼ, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ), アラニンアミノトランスフェラーゼ (グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ),  $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ, コレステロール, トリグリセライド, ナトリウム, カリウム, 塩素

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

統計学的に有意差の認められた項目を表6. に示す。

表6. 血液生化学的検査成績

検査項目	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	100	300	1000	10	100	300	1000
アルカリホスファターゼ	26				↓ 77	↓ 111			
	51	↓ 91	↓ 97	↓ 90	↓ 73				
	77				↓ 83		↓ 88		
血糖	51				↓ 86				
コレステロール	26				↓ 69			↓ 89	↓ 92
	51				↓ 75				
	77				↓ 65				
	104								↑ 119 <sup>¶</sup>
トリグリセライド	26	↑ 121			↓ 39				↓ 70
	51				↓ 46				↓ 56
	77				↓ 57				↓ 70
ビリルビン	26				↓ 91		↓ 93	↓ 89	↓ 89
	51								↓ 90
	77				↓ 85				
蛋白	26							↓ 97	↓ 98
	51							↓ 97	↓ 97
	104				↑ 103 <sup>¶</sup>				
アルブミン	26							↓ 97	↓ 96
	51							↓ 97	↓ 97
	104				↑ 104				
アルブミン/グロブリン比	26	↓ 97 <sup>d</sup>							
	51				↑ 104				
	77			↑ 105	↑ 104				
カルシウム	26								↓ 97
	51								↓ 97
	77			↓ 97	↓ 98				
カリウム	77								↓ 91
アラニンアミノトランスフェラーゼ	26	↓ 86	↓ 86	↓ 86	↓ 89			↓ 74	↓ 73
	51							↓ 83	↓ 70
	77				↑ 124				↓ 82
γ-グルタミルトランスペプチダーゼ <sup>a</sup>	26	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(↑ 1.6) <sup>¶</sup>				↑ 800 <sup>¶</sup>
	51			↓ 25 <sup>¶</sup>					↑ 280 <sup>¶</sup>
	77								↑ 450 <sup>¶</sup>
塩素	51						↑ 103 <sup>d</sup>		
クレアチニン	77				↓ 94	↓ 91 <sup>d</sup>			
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	77				↑ 113				↓ 85

表中の数字は対照群に対する百分率。ただし<sup>a</sup>を添付した項目の( )内数値は対照群の値が0.0だったため実測値を記載、単位はI.U./L。

Williams 多重比較法, ↑↓, p<0.05; ↑↑, p<0.01。

<sup>a</sup>はDunnettの多重比較法, ↓, p<0.05。

<sup>¶</sup>はWilcoxon 検定法, ↑↓, p<0.05; ↑↑, p<0.01。

300ppm 群雌と 1000ppm 群雌雄で、検体投与に関連した血液生化学的変化が観察された。1000ppm 群で、血漿コレステロール(雄)とトリグリセライド(雌雄)が26~77週時に減少した。1000ppm 群雌では26週時にコレステロールが低かったがその後は対照群と同じか対照群より高値を示

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

した。1000ppm 群雌の $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼが26~77 週時に上昇したが、同群雄では26 週時のみ上昇した。さらに、血漿蛋白とアルブミン値が、300 と1000ppm 群雌で26 と51 週時にごくわずかに低い値となったが、それ以降差はみられなかった。

1000ppm 群雌雄でビリルビンの減少、1000ppm 群雌でアルカリホスファターゼの減少、300ppm 群雌と1000ppm 群の雌雄でアラニンアミノトランスフェラーゼの減少がみられた。しかし、診断学的意味は明らかでないところから毒性ではないと判断した。

上記以外にも種々の項目が投与群で対照群に比し有意に変動したが、投与期間あるいは用量との関連性を欠くところから検体投与の影響とはしなかった。

尿検査： 血液学的検査と同時期に主群の各群雌雄 10 匹ずつから採取した尿について以下の項目を検査した。

pH, 尿量, 色, 濁度, 浸透圧, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン及びウロビリノーゲン, また尿沈渣について顕微鏡による検査を行った。

検査結果は測定値 (半定量的項目を含む) あるいはスコアで表した。

統計学的に有意差の認められた項目を表 7. に示す。

表 7. 尿検査成績

検査項目	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	100	300	1000	10	100	300	1000
尿細管上皮細胞 (A)	25						↑178 <sup>W</sup>		
	102								↓61 <sup>W</sup>
白血球 (A)	102								↓42 <sup>W</sup>
赤血球 (A)	25	↑271 <sup>W</sup>			↑314 <sup>W</sup>				
	102						↑450 <sup>W</sup>		
精子 (A)	12				↓41 <sup>W</sup>				
尿円柱 (A)	102					↓53 <sup>W</sup>			↓53 <sup>W</sup>
細菌 (B)	25		↓78 <sup>W</sup>				↑128 <sup>W</sup>		↑128 <sup>W</sup>
	102					↓50 <sup>W</sup>			
三リン酸塩 (A)	50			↓69 <sup>W</sup>					
浸透圧 (mOsm/kg)	12				↑119	↑121			
	50				↑125				
	76				↑132				
尿量 (mL)	25							↑142	↑125
	50	↓70	↓73	↓80	↓61				
	76				↓73				
pH	50				↓95 <sup>W</sup>				
ビリルビン ( $\mu$ W/L)	12								↓0 <sup>W</sup>
	25			↓33 <sup>W</sup>	↓0 <sup>W</sup>				↓33 <sup>W</sup>
	50				↓0 <sup>W</sup>				↓0 <sup>W</sup>
ブドウ糖 (mM/L)	12		↑119 <sup>W</sup>		↑124 <sup>W</sup>				
	50				↑128 <sup>W</sup>				
	76				↑146 <sup>W</sup>		↑125 <sup>W</sup>		

表中の数字は測定値もしくはスコアの平均の対照群に対する百分率。

Williams 多重比較法, ↑↓,  $p < 0.05$ ; ↑↓,  $p < 0.01$ 。

<sup>W</sup>は Wilcoxon 検定法, ↑↓,  $p < 0.05$ ; ↑↓,  $p < 0.01$ 。

1000ppm 群の雄のブドウ糖は投与期間中高値で推移し、加齢とともに減少することにはなかったが、対照群の値にも検査時期でのばらつきが見られた。これらの動物の尿は対照群と比較して



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

浸透圧が高めで尿量が低い傾向が見られ、腎での濃縮作用が対照群より効果的に行われていることが示された。雌には検体投与に関連する尿検査項目の変動はなかった。

(申請者注) 尿検査の変化について、申請者は、腎の尿濃縮に最も影響すると考えられる腎の加齢性慢性腎症の頻度と程度に対照群と 1000ppm 群で差がないこと、ラットの 90 日間反復経口投与毒性試験の 3000ppm にも検体投与による尿検査の特異的变化がなかったことから、いずれも偶発的变化との判断が妥当と考える。また 1000ppm 群雌雄ではビリルビンが複数の検査時に減少したが、同変化には診断的意義がなかった。投与群でみられたその他の変化はいずれも投与期間あるいは用量との関連性を欠くことから、検体投与の影響とはしなかった。

臓器重量： 投与 52 週（衛星群）及び投与 104 週（主群）の計画殺時の全生存動物及び試験期間中の切迫殺動物について以下の臓器重量（絶対重量）を測定した。計画殺動物の臓器重量は最終体重について補正した（補正重量，g，体重を共変量とした共分散分析の手法による）。

副腎，脳，心臓，腎臓，肝臓，卵巣，脾臓，精巣  
統計学的有意差の認められた項目を表 8. に示す。

表 8. 臓器重量（補正重量）

臓器	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	100	300	1000	10	100	300	1000
脾臓	52								↑109
	104				↑156				↑121
精巣	52	↓ 91 <sup>d</sup>				-	-	-	-
脳	104								↓ 98
肝臓	52			↑105	↑120				
	104								↑112
腎臓	52				↑104				

表中の数字は対照群に対する百分率。

Williams 多重比較法，↑， $p < 0.05$ ；↑↓， $p < 0.01$ 。

<sup>d</sup>は Dunnett の多重比較法，↓， $p < 0.01$ 。

300 及び 1000ppm 群の雄で、52 週時に肝臓重量が増加したが、104 週時には対照群と差がなかった。1000ppm 群の雌では 104 週時に肝臓重量が増加した。1000ppm 群雌雄で脾臓重量が 104 週時に増加したが、52 週時では雌においてのみ増加が見られた。1000ppm 群雌の脳重量が投与 104 週時に減少したが、病理組織学的変化がみられなかったこと、及び同時に実施した発がん性試験では重量の変化がなかったことより、偶発的变化と判断した。

1000 ppm 群雄の腎臓重量が投与 52 週時に増加したが、病理組織学的検査において関連付けられる変化は認められなかったことから偶発性変化であると判断した。300ppm 群の雌及び 100ppm 以下の雌雄の投与群は用量に関連した異常はなかった。

肉眼病理学的検査；途中死亡・切迫殺，中間屠殺及び最終週屠殺動物を対象として剖検した。

発生頻度に統計学的有意差の認められた肉眼的病理所見を表 9 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株式会社クレハにある。

表9. 肉眼病理学的検査成績

衛星群 (1年間投与群)

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
肝臓	所見/検査動物数	20	10	10	10	10	20	10	10	10	10
	退色	2	2	0	3	↑8	0	0	1	0	1
	腫大	0	0	0	0	↑3	0	0	0	0	0
	斑紋	0	0	0	↑3	↑5	0	0	0	0	0

主群 (2年間投与群)

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
脾臓	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
	結節/腫瘤	1	2	↑4	↑5	↑6	3	0	1	1	0

Fisherの直接確率計算法 ↑, p<0.001; ↑, p<0.01; ↑, p<0.05 (申請者実施)

1年間投与後の中間屠殺動物では、1000及び300ppm群の雄で肝臓の斑紋がみられ、さらに1000ppm群の雄に肝臓の退色ないし腫大が観察され、これらの所見は検体投与の影響と考えた。全投与群の雌及び100ppm以下の投与の雄に異常はなかった。

2年間投与後最終屠殺動物では、1000、300及び100ppm群の雄において脾臓の結節/腫瘤の発生頻度が有意に増加したが、病理組織学的検査において対応する所見には特定の腫瘍性あるいは非腫瘍性病変の増加は認められなかったこと及び同時に実施した発がん性試験ではこのような変化はなかったことから、検体投与との関連性はない偶発性変化と判断された。

病理組織学的検査：中間（衛星群）及び最終屠殺群（主群）について、0ppm及び1000ppm群の全動物、ならびに死亡・切迫殺動物を対象として、以下の組織の病理標本作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、骨（膝関節、大腿骨、胸骨、椎骨（報告書では腰椎と記載されているが椎骨の誤り）3カ所）、脳、子宮頸部、精巣上体、眼球、ハーダー腺、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節（腸間膜及び下顎）、乳腺、坐骨神経、食道、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、唾液腺（顎下腺）、精のう、骨格筋（大腿筋）、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺/上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮（角）、肉眼的異常部位

また、10、100及び300ppm群では中間及び最終屠殺動物の肝臓、肺、腎臓及び肉眼的病変部について、さらに、最終屠殺動物の脾臓、副腎及び胃について病理標本作製し、鏡検した。

[非腫瘍性病変]

発生頻度に統計学的有意差が認められた非腫瘍性病変を中間屠殺動物と最終屠殺動物に分けて表10.に示す。

肝臓において、中間屠殺動物では、1000ppm群の雌雄ならびに300ppm群の雄において肝臓の肝細胞脂肪化（大型脂肪滴）が、雄では小葉中間帯、雌では小葉中心性に観察され、さらに小葉中心性肝細胞肥大も認められた。最終屠殺動物では、小葉中心性肝細胞肥大および肝細胞小増殖巣（明細胞）の有意な増加が1000ppm群の雄においてみられた。さらに雄の色素沈着（ク

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

クッパー細胞)及び雌の小葉中心性肝細胞脂肪化が1000 ppm群において観察された。これらの肝臓における所見については検体投与との関連性が認められた。

脾臓の組織球集簇の発生頻度の増加が最終屠殺動物の1000 ppm群の雌雄に認められた。

ラットの発がん性試験(資料2-11)では雄において副腎の皮質空胞化(cortical vacuolation)が増加した。今回の慢性毒性試験では1000ppm群の雌の最終屠殺動物で副腎の限局性皮質空胞化(cortical vacuolated focus)が増加したが、同病変は限局性(focus)であり、ラット発がん性試験ではびまん性であったこと、及び雄では増加がみられなかったことから検体投与の影響とは考えなかった。1000ppm群の雌雄ではその他にも一部病変の発生頻度が有意に増加したが、ラットの90日間反復経口投与毒性試験や発がん性試験ではそのような変化はみられなかったことから、偶発的変化と判断した。投与群で認められたその他の有意な変化は用量との関連がないかあるいは病変の減少であり、毒性学的意義はないと考えた。

(申請者注)肝臓の色素沈着については、報告書ではPigment depositionのみの記載であり、沈着部位の記載がなかった。よって、申請者が組織を鏡検し、クッパー細胞内の沈着であることを確認した。なお、同時に実施した特殊染色においてこの色素はベルリン青陽性及びシュモール反応陽性で、血鉄素(ヘモジドリン)と消耗性色素(リポフスチン)の複合体であることが判明し、血鉄素の沈着がより顕著であった。

また報告書に使用されている「Fatty vacuolated foci/areas」は肝細胞小増殖巣(Cellular alteration)の細胞が脂肪変性を示した像であるため、本抄録では肝細胞小増殖巣(空胞細胞)と記載した。

#### 【腫瘍性病変】

主群および衛星群において観察された腫瘍性病変の発生頻度に分けて表11.に示す。

統計学的有意な腫瘍性病変の発生頻度の変化は認められなかった。

以上のように、本剤のラットに対する2年間飼料混餌投与による慢性毒性試験において、1000ppm群では体重及び摂餌量がわずかに減少した。また血漿コレステロール、トリグリセライド及びアルブミンが減少し、γ-グルタミルトランスぺプチターゼが増加した。さらに肝臓及び脾臓において重量増加を伴う種々の病変の増加が認められた。300ppm群ではアルブミンの減少(雌)及び脾臓重量・肝臓病変の増加(雄)がみられた。従って、無毒性量(NOEL)は100ppm(雄4.29 mg/kg/日、雌5.27 mg/kg/日)であると結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 10. 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000	
衛星群 (1年間投与群)	肝臓	所見/検査動物数	20	10	10	10	10	20	10	10	10	10	
		小葉中心性・中間帯肝細胞脂肪化(大型脂肪滴) <sup>注1,2</sup>	0	0	0	↑10	↑10	0	0	0	0	↑7	
		小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	↑3	↑10	0	0	0	1	↑7	
		壊死性炎症巣	14	9	7	7	↓0	3	1	1	0	0	
		小葉周辺性肝細胞脂肪化 <sup>注2</sup>	0	0	0	0	0	9	3	2	2	↓0	
		小葉中間帯肝細胞脂肪化(小型脂肪滴) <sup>注2</sup>	15	10	7	↓0	↓0	1	0	0	0	0	
		肝細胞小増殖巣(好酸性細胞)	4	0	1	4	3	0	1	↑3	2	0	
	肺	所見/検査動物数	20	10	10	10	10	20	10	10	10	10	
		限局性肺胞上皮過形成	0	1	0	↑3	0	0	0	0	0	0	
	脾臓	所見/検査動物数	20	-	-	-	10	20	-	-	-	10	
		限局性外分泌腺細胞萎縮	3	-	-	-	↑6	6	-	-	-	4	
		ラ氏島肥大	0	-	-	-	↑3	0	-	-	-	0	
	甲状腺	所見/検査動物数	20	-	-	-	10	20	-	-	-	10	
		鰓のうのう胞	2	-	-	-	3	3	-	-	-	↑6	
	主群 (2年間投与群)	肝臓	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
			小葉中心性肝細胞脂肪化	2	1	0	1	3	1	2	0	0	↑9
			小葉中心性肝細胞肥大	2	0	0	0	↑6	0	0	0	0	1
			肝細胞小増殖巣(明細胞)	4	2	3	4	↑8	3	2	0	2	5
色素沈着(クッパー細胞)			2	2	0	1	↑9	0	0	0	0	0	
壊死性炎症巣			2	1	4	↑5	↑5	13	5	9	4	11	
肝細胞小増殖巣(好塩基性細胞)			25	11	9	14	14	35	13	17	↓7	15	
肝細胞小増殖巣(空胞細胞)			4	4	5	4	5	11	3	↓0	3	6	
肝紫斑症			22	12	7	12	↓3	6	1	↑8	1	1	
脾臓		所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20	
	組織球集簇	1	1	0	0	↑8	4	0	2	2	↑14		

Fisher の直接確率計算法 ↑↓, p<0.001 ; ↑↓, p<0.01 ; ↑↓, p<0.05

表中の数字は病変の認められた動物数

注1: 肝臓小葉内の病変部位は雄が小葉中間帯で雌が小葉中心性であった。

注2: 報告書では同時期の肝細胞脂肪化を部位および脂肪滴の大小によって細分化しており、まとめて集計すると群間の差がわからなくなる可能性があったため、上記の表にはそのまま記載した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群 (2年間投与群)	副腎	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		限局性皮質空胞化	8	5	7	1	5	17	11	10	12	↑ 15
		限局性皮質細胞肥大	2	3	2	1	0	1	1	2	1	↑ 6
	脳	所見/検査動物数	40	12	13	12	20	40	11	13	11	20
		下垂体腫瘍による脳底部陥凹	5	↑6	↑6	2	1	7	4	↑8	↑6	3
	肺	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		肉芽腫	0	0	0	0	↑ 3	1	0	0	0	1
	眼球	所見/検査動物数	40	15	12	14	20	40	14	17	15	20
		網膜萎縮	30	9	6	10	15	36	↓9	15	13	20
		水晶体変性	29	10	9	10	16	32	↓7	16	12	16
	ハタ腺	所見/検査動物数	40	12	11	10	20	40	9	8	9	20
		腺腔拡張	2	1	0	1	↑6	5	0	0	0	1
	心臓	所見/検査動物数	40	12	14	12	20	40	10	8	10	20
		血管壁転移性石灰沈着	37	11	10	11	18	29	5	4	↓3	14
	腎臓	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		腎盂上皮石灰沈着	0	↑3	0	0	1	2	1	0	3	0
	前立腺	所見/検査動物数	40	10	12	11	20	-	-	-	-	-
		粘膜上皮細胞空胞化	23	↓1	4	4	15	-	-	-	-	-
	小腸	所見/検査動物数	40	14	14	13	20	20	10	8	9	20
		十二指腸上皮細胞肥大	4	↑5	2	2	3	2	0	2	0	1
前胃	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20	
	境界縁粘膜上皮過形成	3	1	1	↑6	5	7	3	3	1	3	

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.01 ; ↑↓, p<0.05

表中の数字は病変の認められた動物数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
衛星群全動物	副腎 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	20	1	-	-	10	20	-	-	-	10
		神経節細胞腫 (B)	1	0	-	-	0	0	-	-	-	0
	陰核腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	下垂体 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	20	3	2	1	10	20	3	4	5	10
		前葉腺腫 (B)	6	1	2	0	2	3	1	1	2	2
	甲状腺 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	20	-	-	-	10	20	-	-	-	10
		C細胞腺腫 (B)	2	-	-	-	0	0	-	-	-	0
		ろ胞状腺腫 (B)	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
	子宮〔角〕 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	20	2	2	-	10
内膜ポリープ (B)		-	-	-	-	-	2	0	0	-	0	
主群途中死亡切迫殺動物	副腎	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	9	8	9	5
		褐色細胞腫 (B)	2	0	1	3	1	0	0	0	0	0
	子宮頸部	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	14	9	8	9	5
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1
		神経鞘腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
	腎臓	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	9	8	9	5
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	9	8	9	5
		肝細胞腺腫 (B)	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	卵巢	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	14	9	8	9	5
		血管腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
	膵臓	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	8	8	9	5
		島細胞腺腫 (B)	1	1	4	1	0	0	0	0	1	0
上皮小体	所見/検査動物数	25	10	10	10	6	14	9	8	9	5	
	腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群途中死亡切迫殺動物	下垂体	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	9	8	9	5
		前葉腺腫 (B)	15	7	7	3	1	10	3	6	4	3
		前葉癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
	前立腺	所見/検査動物数	25	10	11	10	6	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	-	-	-	-	-
	脊髓	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	9	8	9	5
		星状膠細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	9	8	9	5
		血管肉腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	前胃	所見/検査動物数	15	9	9	10	14	26	11	12	11	15
		角化棘細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	精巣	所見/検査動物数	25	11	11	9	6	-	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	16	5	8	8	5	-	-	-	-	-
	甲状腺	所見/検査動物数	25	11	10	10	6	14	9	8	9	5
		C細胞腺腫 (B)	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
		ろ胞状腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		C細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		ろ胞状癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	子宮 (角)	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	14	9	8	9	5
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	-	3	0	0	2	1
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
		内膜肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0
	骨 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-
		骨肉腫 (M)	0	0	-	-	0	1	-	-	-	-
	口腔 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	2	-	-	-	1	2	-	-	1	-
		口蓋乳頭腫 (B)	0	-	-	-	1	0	-	-	-	-
口唇角化棘細胞腫 (B)		0	-	-	-	0	1	-	0	0	0	
陰核腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	
	腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	0	0	
	腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	
耳 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	3	2	1	-	-	-	-	-	-	-	
	皮脂腺乳頭腫 (B)	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数, (B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群途中死亡切迫殺動物	造血器	所見/検査動物数	25	11	11	10	6	14	9	8	9	5
		LGL 白血病 (M)	13	3	6	7	2	2	0	0	5	0
		リンパ肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	乳腺 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	6	2	2	-	-	3	1	2	3	1
		線維腺腫 (B)	0	0	0	-	-	0	1	2	2	3
		腺腫 (B)	0	0	0	-	-	1	0	0	1	1
	鼻腔 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
		扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
	包皮腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	皮膚 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	2	1	1	-	1	1	1	1	-	1
		毛のう上皮腫 (B)	0	1	0	-	0	0	0	0	-	0
		乳頭腫 (B)	0	0	0	-	0	0	0	0	-	1
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	-	0	1	0	0	-	0
	皮下 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	4	2	1	-	1	1	2	2	3	2
		線維腫 (B)	1	0	0	-	0	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	-	0	0	1	0	0	0
		神経鞘腫 (M)	1	0	0	-	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	0	0	-	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	1	0	0	-	0	0	0	0	0	0
		未分化肉腫 (M)	0	1	0	-	0	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群途中死亡切迫殺動	後腹膜 (鞘膜) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		中皮腫 (M)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ジンバル 腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-
		腺癌 (M)	-	0	1	-	-	-	-	-	-	-
主群最終屠殺動物	副腎	所見/検査動物数	15	9	9	10	14	26	11	12	11	15
		褐色細胞腫 (B)	1	1	0	2	2	0	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	脳 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	1	2	2	14	26	2	5	2	15
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
	子宮 頸部 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	25	-	2	0	15
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	-	1	-	1	0	2
	腎臓	所見/検査動物数	15	9	9	10	14	26	11	12	11	15
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		間葉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	肝臓	所見/検査動物数	15	9	9	10	14	26	11	12	11	15
		肝細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	所見/検査動物数	15	9	9	10	14	26	11	12	11	15
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	卵巣 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	26	1	-	-	15
		顆粒膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	-	-	0
	膵臓 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	1	1	3	14	26	-	-	-	15
島細胞腺腫 (B)		2	1	0	1	1	2	-	-	-	0	
島細胞癌 (M)		0	0	0	0	1	0	-	-	-	0	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群最終屠殺動物	下垂体 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	9	7	6	14	26	9	10	9	15
		前葉腺腫 (B)	7	6	4	3	5	12	5	6	7	3
		前葉癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	前立腺 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	-	1	1	14	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	1	-	0	0	0	-	-	-	-	-
	小腸 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	3	3	3	14	26	1	-	-	15
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	-	-	0
	精巣 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	9	9	10	14	-	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	14	9	8	9	12	-	-	-	-	-
	胸腺 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	1	-	-	14	26	-	-	1	15
		胸腺腫 (M)	0	1	-	-	0	1	-	-	0	0
	甲状腺 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	-	1	1	14	26	-	1	2	15
		C細胞腺腫 (B)	1	-	1	0	1	3	-	1	1	1
		ろ胞状腺腫 (B)	0	-	0	0	0	0	-	0	0	1
	膀胱 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	15	1	-	-	14	26	-	-	-	15
		移行上皮乳頭腫 (B)	0	0	-	-	0	1	-	-	-	0
	子宮 (角) <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	25	5	-	3	15
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	-	3	3	-	2	1
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	0	-	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	0	-	0	0
	口腔 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	1	-	-	1	-	-	-	2	1	2
		口唇乳頭腫 (B)	0	-	-	0	-	-	-	1	1	0
	陰核腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	0	2	-	1	0
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	0	2	-	1	0
耳 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	1	1	-	1	2	-	-	-	-	-	
	乳頭腫 (B)	0	1	-	0	0	-	-	-	-	-	
	腺維肉腫 (M)	1	0	-	0	0	-	-	-	-	-	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群 最終屠殺動物	造血器	所見/検査動物数	15	9	9	10	14	26	11	12	11	15
		LGL 白血病 (M)	8	5	4	3	8	3	2	2	0	1
		リンパ肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	乳腺 (他) <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	3	1	-	1	-	7	3	4	2	5
		線維腺腫 (B)	1	0	-	0	-	4	0	2	1	0
		腺腫 (B)	1	0	-	0	-	0	0	0	1	2
		腺癌 (M)	0	0	-	0	-	0	0	1	0	0
	筋肉 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
		脂肪腫 (腹壁) (B)	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	包皮腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	-	0	1	1	-	-	-	-	-	-
	陰のう <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-
		線維肉腫 (M)	-	0	1	-	-	-	-	-	-	-
	皮膚 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	2	1	1	3	-	2	2	2	-	2
		角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	0	-	0	0	0	-	0
		毛のう上皮腫 (B)	0	0	0	0	-	0	1	0	-	1
		乳頭腫 (B)	0	0	0	0	-	1	0	0	-	0
		基底細胞腫 (B)	0	1	0	0	-	0	1	0	-	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	-	0	0	1	-	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	-	0	0	0	-	1
	皮下 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	3	2	1	1	-	4	2	3	2	4
		線維腫 (B)	2	0	0	0	-	0	0	0	0	0
	主群 全動物	副腎	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20
褐色細胞腫 (B)			3	1	1	5	3	0	0	0	0	0
神経節細胞腫 (B)			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
悪性褐色細胞腫 (M)			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
皮質腺腫 (B)			0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群 全動物	脳 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	12	13	12	20	40	11	13	11	20
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	子宮 頸部 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	39	9	10	9	20
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	-	1	1	1	0	2
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1
		神経鞘腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
	腎臓	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
		間葉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	肝臓	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		肝細胞腺腫 (B)	3	0	0	0	2	0	1	1	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	卵巣 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	40	10	8	9	20
		顆粒膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		血管腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
	膵臓 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	12	12	13	20	40	8	8	9	20
		島細胞腺腫 (B)	3	2	↑4	2	1	2	0	0	1	0
		島細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	上皮 小体 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	10	10	11	20	40	9	8	9	20
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	下垂体 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	20	18	16	20	40	18	18	18	20
		前葉腺腫 (B)	22	13	11	6	6	22	8	12	11	6
		前葉癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	2	1	1

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.05 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主群全動物	前立腺 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	10	12	11	20	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-
	小腸 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	14	14	13	20	40	10	8	9	20
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	脊髄 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	11	11	10	20	40	9	8	9	20
		星状膠細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		血管肉腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	前胃	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		角化棘細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	精巣 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	20	20	19	20	-	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	30	14	16	17	17	-	-	-	-	-
	胸腺 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	12	11	10	20	40	9	8	10	20
		胸腺腫 (M)	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	甲状腺 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	11	11	11	20	40	9	9	11	20
		C細胞腺腫 (B)	2	1	1	0	2	3	0	2	1	1
		ろ胞状腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		C細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		ろ胞状癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱 <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	40	11	11	10	20	40	9	8	9	20
		移行上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮(角) <sup>a)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	39	14	8	12	20
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	-	6	3	0	4	2
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	1	0	0	1
平滑筋肉腫 (M)		-	-	-	-	-	1	0	1	0	0	
内膜肉腫 (M)		-	-	-	-	-	1	0	0	0	0	
骨(他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	
	骨肉腫 (M)	0	0	-	-	0	1	-	-	-	-	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000
主 群 全 動 物	口腔 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	3	-	-	1	1	2	-	2	2	2
		口唇乳頭腫 (B)	0	-	-	0	0	0	-	1	1	0
		口蓋乳頭腫 (B)	0	-	-	0	1	0	-	0	0	0
		口唇角化棘細胞腫 (B)	0	-	-	0	0	1	-	0	0	0
	陰核腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	1	2	-	2	1
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	2	-	1	0
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	-	1	1
	耳 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	4	3	1	1	2	-	-	-	-	-
		皮脂腺乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
		乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-
		線維肉腫 (M)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	造血器	所見/検査動物数	40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		LGL 白血病 (M)	21	8	10	10	10	5	2	2	5	1
		リンパ肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	乳腺 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	9	3	2	1	-	10	4	6	5	6
		線維腺腫 (B)	1	0	0	0	-	4	1	4	3	3
		腺腫 (B)	1	0	0	0	-	1	0	0	2	3
		腺癌 (M)	0	0	0	0	-	0	0	1	0	0
	筋肉 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-
		脂肪腫 (腹壁) (B)	0	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	鼻腔 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
		扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
	包皮腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	1	2	1	-	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	-	0	2	1	-	-	-	-	-	-
	陰のう <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-
		線維肉腫 (M)	-	0	1	-	-	-	-	-	-	-

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	10	100	300	1000	0	10	100	300	1000	
主群全動物	皮膚 (他) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	4	2	2	3	1	3	3	3	-	3	
		角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
		毛のう上皮腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	-	1
		乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	1
		基底細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	-	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	-	0
	皮下 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	7	4	2	1	1	5	4	5	5	6	
		線維腫 (B)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
		神経鞘腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		未分化肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	後腹膜 (鞘膜) <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		中皮腫 (M)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ジンバル 腺 <sup>b)</sup>	所見/検査動物数	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	
		腺腫 (B)	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	
		腺癌 (M)	-	0	1	-	-	-	-	-	-	-	
	合計	検査動物数		40	20	20	20	20	40	20	20	20	20
		腫瘍数	良性	72	36	37	33	33	45	19	22	25	20
			悪性	26	12	14	11	13	14	6	9	8	8
		腫瘍総数		98	48	51	44	46	59	25	31	33	28
		担腫瘍動物数	良性	38	19	19	19	19	30	14	15	13	15
			悪性	26	10	13	10	12	14	6	7	7	8
	担腫瘍動物総数		39	19	20	20	19	33	17	18	17	17	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍