

VIII. 毒性

<毒性試験一覧表>

A. 原体を用いた試験成績

| 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 値又は無毒性量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|-----------|--------------------------|---|----------------------|-----------------------|--|--|---|-----|
| 1-1 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀:0, 1000, 1250, 1560, 1950, 2440 | ♂:1680 ♀:1575 | (株)臨床医科学研究所 (1990) | 84 |
| 1-2 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | マウス | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀:0, 500, 650, 850, 1100, 1430 | ♂:867 ♀:1281 | (株)臨床医科学研究所 (1990) | 86 |
| 1-3 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経皮 | ♂♀:0, 2000 | ♂♀:>2000 | (株)臨床医科学研究所 (1990) | 88 |
| 1-4 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各5 | 吸入 ガス (4時間全身曝露) | ♂♀:5800 mg/m ³ | LC ₅₀ ♂♀:>5800 mg/m ³ | Bio/dynamics, Inc. (1993) | 89 |
| 2-1 (GLP) | 皮膚刺激性 72時間観察 | ウサギ | ♀6 | 皮膚貼付 | 0.5 g/皮膚 | 刺激性なし | (株)臨床医科学研究所 (1990) | 91 |
| 2-2 (GLP) | 眼刺激性 72時間観察 | ウサギ | ♀ 6(非洗眼) 3(洗眼) | 眼への適用 | 0.1 g/眼 | 軽度の刺激性あり 洗眼効果あり | (株)臨床医科学研究所 (1990) | 93 |
| 3 (GLP) | 皮膚感作性 感作開始後 31日間観察 | モルモット | ♂10 または15 | Buehler法 | 感作:25%精製水溶液 0.5mL貼付 惹起:25%精製水溶液 0.5mL貼付 | 皮膚感作性なし | (株)臨床医科学研究所 (1990) | 95 |
| 4 | 急性神経毒性 | ラットの急性経口毒性試験における一般症状観察では1000 mg/kg以下では特異的な神経毒性を示唆する所見はなく、ラットの反復経口毒性試験においても神経毒性を示唆する所見はなかった。また、同系類剤(ネオニコチノイド系:ピリジルメチルアミン系)と同様、病理組織学的な検査において検体投与に起因すると考えられる器質的な変化は認められていない。以上のことから、試験省略 | | | | | | 97 |
| 5-1 (GLP) | 亜急性毒性 3ヵ月 | ラット | ♂♀各10 | 飼料混入 | ♂:0, 154.9, 307.7, 616.6, 1263.6 ♀:0, 181.9, 382.8, 732.5, 1564.3 (0, 2500, 5000, 10000, 20000ppm) | ♂:307.7 (5000ppm) ♀:382.8 (5000ppm) | International Research and Development Corporation (1991) | 100 |
| 5-2 (GLP) | 亜急性毒性 3ヵ月 | マウス | ♂♀各10 | 飼料混入 | ♂:0, 245.5, 498.8, 987.4, 2029.5 ♀:0, 306.9, 588.5, 1213.3, 2635.7 (0, 1500, 3000, 6000, 12000ppm) | ♂:245.5 (1500ppm) ♀:306.9 (1500ppm) | International Research and Development Corporation (1991) | 110 |

| 資料 No. | 試験の種類・期間 | 供試生物 | 1群当り供試数 | 投与方法 | 投与量(mg/kg) | LD ₅₀ 値又は無毒性量(mg/kg) | 試験機関(報告年) | 記載頁 | |
|--------------|---------------------|--|---|----------|--|--|---|-----|-----|
| 5-3 (GLP) | 亜急性毒性 4週間 | イヌ | ♂♀各2 | ガマシ | ♂♀:0, 225/12.5, 450/25, 50, 112 | ♂♀:>25 | International Research and Development Corporation (1992) | 118 | |
| | 亜急性毒性 3ヵ月 | イヌ | 慢性毒性試験の予備試験(4週間投与)並びに慢性毒性試験成績で代替可能と考えられることから、試験省略 | | | | | | |
| 6 | 反復経口投与 神経毒性 | ニテンピラムは、ニコチン性アセチルコリン受容体の阻害作用を有するネオニコチノイド系(ピリジリメチルアミン系)の化合物であるが、ラットを用いた反復投与毒性試験において、特異的な神経毒性を示唆する所見ならびに病理組織学的変化は認められなかった。以上のことから、試験省略 | | | | | | | 124 |
| 7-1 (GLP) | 慢性毒性 発癌性 104週 | ラット | ♂♀各80 | 飼料 混入 | ♂:0, 42.9, 129, 403 ♀:0, 53.7, 164, 529 (0, 1000, 3000, 9000ppm) | ♂:129(3000ppm) ♀:53.7(1000ppm) | International Research and Development Corporation (1994) | 127 | |
| 7-2 (GLP) | 発癌性 78週間 | マウス | ♂♀各50 | 飼料 混入 | ♂:0, 46.0, 143.4, 440.3 ♀:0, 56.1, 187.4, 551.3 (0, 300, 1000, 3000ppm) | ♂:>440.3 (>3000 ppm) ♀:>551.3 (>3000 ppm) | International Research and Development Corporation (1994) | 162 | |
| 7-3 (GLP) | 慢性毒性 1年間 | イヌ | ♂♀各4 | ガマシ | ♂♀:0, 7, 20, 60 | ♂♀:60 | International Research and Development Corporation (1994) | 181 | |
| 8-1 (GLP) | 繁殖性 2世代 | ラット | ♂♀各26 | 飼料 混入 | 親世代(P) ♂:0, 71.4, 426.0, 1397.1 ♀:0, 95.6, 579.7, 1827.5 児世代(F1) ♂:0, 73.0, 440.6, 1788.9 ♀:0, 90.3, 557.4, 2043.8 (0, 1000, 6000, 20000 ppm) | 親動物: P:(1000 ppm) ♂:71.4 ♀:95.6 F ₁ :(1000 ppm) ♂:73.0 ♀:90.3 児動物・繁殖性: P:(6000 ppm) ♂:426.0 ♀:579.7 F ₁ :(6000 ppm) ♂:440.6 ♀:557.4 | International Research and Development Corporation (1994) (1995改訂) | 190 | |
| 8-2 (GLP) | 催奇形性 | ラット | ♀30 | 経口 | 0, 90, 300, 800 | 母動物:90 胎児:300 催奇形性なし | International Research and Development Corporation (1993) | 196 | |

資料 No. 欄のアンダーラインは、残留農薬安全性評価委員会及び食品衛生調査会で未評価の試験成績を示す。

| 資料 No. | 試験の種類・期間 | 供試生物 | 1群当り供試数 | 投与方法 | 投与量 (mg/kg) | LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|-----------|---------------|---|---------|-----------------|--|----------------------------------|---|-----|
| 8-3 (GLP) | 催奇形性 | ウサギ | ♀15~20 | 経口 | 0、25、80、250、 | 母動物：80 胎児：80 催奇形性なし | Pharmaco LSR Ltd. (1995) | 200 |
| 9-1 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) | ネズミチフス菌：TA98、TA100、TA1535、TA1537 株 大腸菌：WP2uvrA 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0、313、625、1250、2500、5000µg/plate | 陰性 | (財) 化学品検査協会 (1990) | 208 |
| 9-2 (GLP) | 変異原性 (染色体異常) | チャイン・ス・ハムスターの肺由来 CHL 培養細胞 | | <i>in vitro</i> | (-S9、24 および 48h 処理) 0、675、1350、2700 µg/mL (±S9、6h 処理) 0、675、1350、2700 µg/mL | 陰性 | (財) 化学品検査協会 (1990) | 211 |
| 9-3 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) | 枯草菌：H17、M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0、625、1250、2500、5000、10000 µg/disk | 陰性 | (財) 化学品検査協会 (1990) | 214 |
| 9-4 (GLP) | 変異原性 (小核) | マウス | ♂♀各 5 | 腹腔内 | ♂♀：0、125、250、500 単回投与 | 陰性 | Microbiological Associates, Inc. (1993) | 216 |

資料 No. 欄のアンダーラインは、残留農薬安全性評価委員会及び食品衛生調査会で未評価の試験成績を示す。

| 資料 No. | 試験の種類・ 期間 | | 供試 生物 | 1群当り 供試数 | 投与 方法 | 投与量(mg/kg) | LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年) | 記 載 頁 | |
|-------------|--------------|-------------|----------------------------|--------------|--------------|---|---|------------------------------|---------------------------|-----|
| 10 (GLP) | 薬理作用 | 中枢神経系 | 一般症状 | マウス | ♂9 | 経口 | 100、300、1000 | 100 | (株)臨床医 科学研究所 (1990) | 218 |
| | | | | ウサギ | ♂3 | 経口 | 300、1000、3000 | 300 | | |
| | | | 筋弛緩作用 (斜板法) | マウス | ♂11~14 | 経口 | 100、300、1000 | 300 | | |
| | | | 運動協調性 (Rota-rod法) | マウス | ♂12 | 経口 | 100、300、1000 | 300 | | |
| | | | ペントバルビ タール睡眠 | マウス | ♂10 | 経口 | 30、100、300、1000 | 1000 | | |
| | | 呼吸・ 循環器系 | 呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図 | ウサギ (麻酔下) | ♂4 | 静脈内 | 30、300 | 30 | | |
| | | 自律神経系 | 腸出回腸 | モルモッ ト | ♂4 | <i>in vitro</i> (直接 作用) | 1 × 10 ⁻⁵ 、1 × 10 ⁻⁴ 、 1 × 10 ⁻³ g/mL | 1 × 10 ⁻³ g/mL | | |
| | | | | | ♂4 | (抗ACh ¹⁾ および 抗His ²⁾ 作用) | 1 × 10 ⁻⁵ 、1 × 10 ⁻⁴ 、 1 × 10 ⁻³ g/mL | 1 × 10 ⁻⁴ g/mL | | |
| | | 消化器系 | 腸管輸送能 | マウス | ♂10 | 経口 | 100、300、1000 | 100 | | |
| | | 骨格筋 | 坐骨神経- 腓腹筋標本 | ラット (麻酔下) | ♂4~5 | 静脈内 | 100、1000 | 100 | | |
| 血液 | 血液凝固 | ラット | ♂9~10 | 経口 | 100、300、1000 | 1000 | | | | |

1) acetylcholine

2) histamine

B. 原体混在物および代謝物を用いた試験成績

| 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 値又は無毒性量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|------------|---------------------------|--|---------|-----------------|--|----------------------------------|---------------------------|-----|
| 混 1 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 原体混在物 | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀ : 0, 800, 1040, 1350, 1760, 2280 | ♂:1182 ♀:1426 | (株)臨床医 科学研究所 (1990) | 226 |
| 混 2 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 原体混在物 | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1990) | 228 |
| 混 3 (GLP) | 変異原性 (DNA 修復) 原体混在物 | 枯草菌 : H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 187.5, 375, 750, 1500, 3000 µg/disk | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1990) | 231 |
| 混 4 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 原体混在物 | ラット | ♂♀各5 | 経口 | ♂♀ : 0, 346, 588, 1000, 1700, 2890 | ♂:2645 ♀:2231 | (財) 化学品 検査協会 (1994) | 233 |
| 混 5 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 原体混在物 | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1994) | 235 |
| 混 6 (GLP) | 変異原性 (DNA 修復) 原体混在物 | 枯草菌 : H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 100, 200, 400, 800, 1600 µg/disk | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1994) | 238 |
| 混 7 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 原体混在物 | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀ : 0, 300, 400, 520, 680, 900 | ♂:534 ♀:480 | (株)臨床医 科学研究所 (1990) | 240 |
| 混 8 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 原体混在物 | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1990) | 242 |
| 混 9 (GLP) | 変異原性 (DNA 修復) 原体混在物 | 枯草菌 : H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1990) | 245 |
| 混 10 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 原体混在物 | ラット | ♂♀各5 | 経口 | ♂♀ : 0, 3950, 5000, 6300, 7950, 10000 | ♂:6548 ♀:5610 | (株)臨床医 科学研究所 (1990) | 247 |
| 混 11 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 原体混在物 | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1993) | 249 |
| 混 12 (GLP) | 変異原性 (DNA 修復) 原体混在物 | 枯草菌 : H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 625, 1250, 2500, 5000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財) 化学品 検査協会 (1993) | 252 |

| 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 値又は無毒性量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|-----------|--------------------------------|--|---------|-----------------|--|----------------------------------|------------------------------|-----|
| 代1 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (CPCF) | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀: 0, 1500, 2000, 2600, 3400, 4500 | ♂: 2543 ♀: 2666 | (株)臨床医 科学研究所 (1992) | 254 |
| 代2 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (CPCF) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (-S9) 0, 31.3, 62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000 µg/disk (+S9) 0, 62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1992) | 256 |
| 代3 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (CPCF) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 625, 1250, 2500, 5000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1992) | 260 |
| 代4 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (CEMU) | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀: 0, 500, 660, 870, 1140, 1500 | ♂: 1067 ♀: 972 | (株)臨床医 科学研究所 (1991) | 262 |
| 代5 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (CEMU) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1992) | 264 |
| 代6 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (CEMU) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1992) | 267 |
| 代7 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (CPMA) | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀: 0, 5000 | ♂♀: >5000 | (株)臨床医 科学研究所 (1993) | 269 |
| 代8 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (CPMA) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1993) | 270 |
| 代9 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (CPMA) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 625, 1250, 2500, 5000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1993) | 273 |
| 代10 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (CPOA) | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀: 0, 5000 | ♂♀: >5000 | (株)臨床医 科学研究所 (1992) | 275 |
| 代11 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (CPOA) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1992) | 276 |
| 代12 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (CPOA) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1992) | 279 |

| 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 値又は無毒性量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|------------|-----------------------------------|--|---------|-----------------|--|----------------------------------|------------------------------|-----|
| 代 13 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (NAMI) | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀: 0, 150, 200, 270, 370, 500 | ♂: 291 ♀: 287 | (株)臨床医 科学研究所 (1990) | 281 |
| 代 14 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (NAMI) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1990) | 283 |
| 代 15 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (NAMI) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 625, 1250, 2500, 5000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1990) | 286 |
| 代 16 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (CPMF) | ラット | ♂♀各5 | 経口 | ♂♀: 0, 300, 420, 590, 820, 1150 | ♂: 689 ♀: 616 | (株)臨床医 科学研究所 (1993) | 288 |
| 代 17 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (CPMF) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1994) | 290 |
| 代 18 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (CPMF) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 3000, 4000, 5000, 6000, 8000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1994) | 293 |
| 代 19 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (CPU) | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂: 0, 1410, 2000, 2830, 4000 ♀: 0, 1410, 2000, 2830, 4000, 5650 | ♂: 1800 ♀: 1864 | (株)臨床医 科学研究所 (1995) | 295 |
| 代 20 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (CPU) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1995) | 297 |
| 代 21 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (CPU) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 625, 1250, 2500, 5000, 10000 µg/disk | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1995) | 300 |
| 代 22 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 代謝物 (CPEO) | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀: 0, 1000, 1410, 2000, 2830 | ♂: 1739 ♀: 1801 | (株)臨床医 科学研究所 (1995) | 302 |
| 代 23 (GLP) | 変異原性 (復帰突然変異) 代謝物 (CPEO) | ネズミチフス菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 大腸菌: WP2 <i>uvrA</i> 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1995) | 304 |
| 代 24 (GLP) | 変異原性 (DNA修復) 代謝物 (CPEO) | 枯草菌: H17, M45 株 | | <i>in vitro</i> | (±S9) 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate | 陰性 | (財)化学 品検査協 会 (1995) | 307 |

C. 製剤を用いた試験成績

1. ニテンピラム 10%水溶液

| 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 1-1 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀ : 0, 5000 | ♂♀ : >5000 | (株)臨床医科学研究所 (1993) | 309 |
| 製 1-2 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | マウス | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀ : 0, 5000 | ♂♀ : >5000 | (株)臨床医科学研究所 (1993) | 310 |
| 製 1-3 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経皮 | ♂♀ : 0, 2000 | ♂♀ : > 2000 | ㈱臨床医科学研究所 (1993) | 311 |
| 製 1-4 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各5 | 吸入 ミスト 4時間 全身曝露 | ♂♀ : 0, 1686 | LC ₅₀ ♂♀ : > 1686 mg / m ³ | Exxon Biomedical Sciences, Inc. (1994) | 312 |
| 製 1-5 (GLP) | 皮膚刺激性 72時間観察 | ウサギ | ♂6 | 皮膚貼付 | 0.5g/皮膚 | 刺激性なし | ㈱臨床医科学研究所 (1993) | 314 |
| 製 1-6 (GLP) | 眼刺激性 72時間観察 | ウサギ | 非洗眼♂6 洗眼♂3 | 眼への適用 | 0.1g/眼 | 刺激性なし | ㈱臨床医科学研究所 (1993) | 316 |
| 製 1-7 (GLP) | 皮膚感作性 感作開始後 24日間観察 | モルモット | ♂10または 20 | Maximization 法 | 一次感作(皮内): 5%水溶液、10% 水溶液と FCA の 等量乳化物 二次感作(経皮): 25%水溶液 惹起: 25%水溶液貼付 | 皮膚感作性 なし | ㈱臨床医科学研究所 (1993) | 318 |

2. ニテンピラム 0.25%粉剤

| 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 2-1 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀ : 0, 5000 | ♂♀ : >5000 | ㈱臨床医科学研究所 (1994) | 321 |
| 製 2-2 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | マウス | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀ : 0, 5000 | ♂♀ : >5000 | ㈱臨床医科学研究所 (1994) | 322 |
| 製 2-3 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経皮 | ♂♀ : 0, 2000 | ♂♀ : > 2000 | ㈱臨床医科学研究所 (1994) | 323 |
| 製 2-4 (GLP) | 皮膚刺激性 10日間観察 | ウサギ | ♂6 | 皮膚貼付 | 0.5g/皮膚 | 軽度の刺激性 あり | ㈱臨床医科学研究所 (1994) | 325 |
| 製 2-5 (GLP) | 眼刺激性 7日間観察 | ウサギ | 非洗眼♂6 洗眼♂3 | 眼への適用 | 0.1g/眼 | 非常に軽度の 刺激性あり 洗眼効果あり | ㈱臨床医科学研究所 (1994) | 327 |

| 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2-6 (GLP) | 皮膚感作性感作開始後30日間観察 | モルモット | ♂10 または 20 | Buehler法 | 感作：75%落花生油懸濁液 0.5mL 貼付 惹起：75%および50%落花生油懸濁液 0.5mL 貼付 | 弱い皮膚感作性あり | Safepfarm Laboratories Limited (1994) | 329 |

3. ニテンピラム1%粒剤

| 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3-1 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀：0、5000 | ♂♀：>5000 | ㈱臨床医学研究所 (1993) | 332 |
| 製3-2 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | マウス | ♂♀各10 | 経口 | ♂♀：0、5000 | ♂♀：>5000 | ㈱臨床医学研究所 (1993) | 333 |
| 製3-3 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各10 | 経皮 | ♂♀：0、2000 | ♂♀：>2000 | ㈱臨床医学研究所 (1993) | 334 |
| 製3-4 (GLP) | 急性毒性 14日間観察 | ラット | ♂♀各5 | 吸入 ダズ 4時間 全身曝露 | ♂♀：0、889 | LC ₅₀ ♂♀：>889 mg/m ³ | Exxon Biomedical Sciences, Inc. (1994) | 335 |
| 製3-5 (GLP) | 皮膚刺激性 72時間観察 | ウサギ | ♂6 | 皮膚貼付 | 0.5g/皮膚 | 刺激性なし | ㈱臨床医学研究所 (1993) | 337 |
| 製3-6 (GLP) | 眼刺激性 72時間観察 | ウサギ | 非洗眼♂6 洗眼♂3 | 眼への適用 | 0.1g/眼 | ごく軽度の刺激性あり 洗眼効果あり | ㈱臨床医学研究所 (1993) | 339 |
| 製3-7 (GLP) | 皮膚感作性感作開始後24日間観察 | モルモット | ♂10 または 20 | Maximization 法 | 一次感作(皮内)： 2%懸濁液、4% 懸濁液とFCAの 等量乳化物 二次感作(経皮)： 25%懸濁液 惹起： 25%懸濁液貼付 | 皮膚感作性 なし | ㈱臨床医学研究所 (1993) | 341 |

A. 原体を用いた試験成績

1. 急性毒性

(1) ニテンピラム原体のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1-1)

試験機関：(株) 臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体：ニテンピラム原体

検体純度：'

供試動物：Wistar/KY 系ラット、6 週齢、体重：雄 145~168 g、雌 118~138 g、

1 群雌雄各 10 匹

観察期間：14 日間

試験方法：対照群および 5 濃度の検体投与群を設け、それらの死亡率から Probit 法により LD₅₀ 値を求めた。

投与方法：検体の所定量を精製水に溶解調製し、金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。対照群には精製水のみを投与した。投与前は約 17 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間（投与日は投与後 10 分、20 分、30 分および以後 6 時間まで 1 時間毎、投与後 1 日以降 1 日 1 回）、観察した。体重は投与前、投与後 3、7、10 および 14 日ならびに死亡発見時に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について臓器の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

| 投与方法 | 経 口 |
|---------------------------------------|--|
| 投与量 (mg/kg) | 0、1000、1250、1560、1950、2440 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 雄 1680 (1492~1910) 雌 1575 (1410~1758) |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 投与後 2 時間より開始、 投与後 5 時間に終了 |
| 症状発現時間 および消失時間 | 投与後 20 分より発現、 投与後 3 日に消失 |
| 毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 1000 |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 1000 |

中毒症状として、雌雄ともに痙攣、よろめき歩行および自発運動の低下が認め

られ、さらに雄では流涎が認められた。

体重について、検体投与による影響は認められなかった。

剖検では、雌雄とも死亡動物に肺の出血およびうっ血、腺胃の糜爛および点状出血が認められた。生存動物に異常は認められなかった。

(2) ニテンピラム原体のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 1-2)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検体：ニテンピラム原体

検体純度：

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重：雄 28.4~32.5 g、雌 20.1~24.8 g、
1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

試験方法：対照群および5濃度の検体投与群を設け、それらの死亡率からLD₅₀値をProbit法により求めた。

投与方法：検体の所定量を精製水に溶解調製し、金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与液量は10 mL/kgとした。対照群には精製水のみを投与した。投与前は約17時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間（投与日は投与後10分、20分、30分および以後6時間まで1時間毎、投与後1日以降1日1回）、観察した。体重は投与前、投与後3、7、10および14日ならびに死亡発見時に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について臓器の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

| 投与方法 | 経口 |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 0、500、650、850、1100、1430 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 雄 867 (774~974) 雌 1281 (1122~1659) |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 投与後30分より開始、 投与後3時間に終了 |
| 症状発現時間 および消失時間 | 投与後10分より発現、 投与後5時間に消失 |
| 毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 <500 (全ての検体投与群で症状が発現した) |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 雄 500 雌 650 |

中毒症状として、雌雄ともに痙攣および自発運動の低下が認められ、雄ではさらに鎮静が、雌ではよろめき歩行が認められた。

体重について、検体投与による影響は認められなかった。

剖検では、雌雄とも死亡動物に肺のうっ血および腺胃の糜爛が認められ、雌ではさらに腺胃の出血が認められた。生存動物に異常は認められなかった。

(3) ニテンピラム原体のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 1-3)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検体：ニテンピラム原体

検体純度：

供試動物：Wistar/KY系ラット、雄7週齢、雌10週齢、体重：雄212~236g、
雌200~216g、1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

試験方法：対照群および2000mg/kg投与群を設け、その死亡率からLD₅₀値を求めた。

投与方法：検体を約20cm²(4×5cm)のリント布に所定量のせ、均一に広げて精製水0.5mlで湿らせた後、剃毛した動物の背部約30cm²(5×6cm)に適用し、サージカルテープを用いて固定した。24時間後にリント布を除去し、適用部位を微温水で洗浄しガーゼで拭き取った。対照群には検体を除き同様の処置をした。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間(投与日は投与後6時間まで1時間毎、投与後1日以降1日1回)、観察した。体重は投与前、投与後3、7、10および14日に測定した。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。

試験結果：

| 投与方法 | 経皮 |
|--------------------------------|-----------|
| 投与量 (mg/kg) | 0、2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雌雄共 >2000 |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例なし |
| 症状発現時間 および消失時間 | 症状発現なし |
| 毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 2000 |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 2000 |

中毒症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検について検体投与による影響は認められなかった。また、適用部位の皮膚にも刺激性変化およびその他の異常は認められなかった。

(4) ニテンピラム原体のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 1-4)

試験機関: Bio/dynamics, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1993年

検体: ニテンピラム原体

検体純度:

供試動物: Sprague-Dawley 系ラット、雄 9 週齢、雌 10 週齢、体重: 雄 299~318 g、雌 236~251 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

曝露方法: 粉碎し、篩通した検体用いて Spengler Dust Feeder によりダストを発生させ、4 時間全身曝露させた。なお、曝露濃度は発生可能な最大濃度であった。

曝露空気をグラスファイバーフィルターペーパーに捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

曝露条件:

| | |
|---------------------------|---------------|
| 設定濃度 (mg/m ³) | 5000 |
| 実際濃度 (mg/m ³) | 5800 |
| 粒子径分布 (%) ¹⁾ | |
| ≤ 10 (μm) | 79 |
| ≤ 7 | 64 |
| ≤ 5 | 48 |
| ≤ 3 | 24 |
| ≤ 1 | 1.5 |
| 空気力学的質量中位径 (μm) | 5.3 |
| チャンバー容積 (L) | 100 |
| チャンバー内通気量 (L/分) | 20 |
| 曝露条件 | ダスト 4 時間 全身曝露 |

1) カスケードインパクターを用いて 4 回測定した平均

観察・検査項目: 曝露中 (15 分毎に 1 時間まで、その後 1 時間毎) および曝露後 30 分、1 時間、2 時間、以後 14 日までは 1 日 2 回、中毒症状および生死を観察した。体重は曝露直前、曝露後 1、2、4、7 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

| 投与方法 | 吸 入 |
|--|---|
| 曝露濃度 (mg/m ³) | 5800 |
| LC ₅₀ (mg/m ³) | 雌雄共 >5800 |
| 死亡開始時間 および終了時間 | 死亡例なし |
| 症状発現時間 および消失時間 | 曝露開始後 30 分より発現、 曝露後 7 日に消失 ²⁾ |
| 毒性兆候の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³) | 雌雄共 < 5800 |
| 死亡例の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³) | 雌雄共 5800 |

2) 持続した反応の消失時期を記載

中毒症状として、曝露開始後 30 分から呼吸困難、あえぎ呼吸、流涎および活動の低下が、曝露終了後 30 分から流涙、鼻粘液分泌および肛門・性器周囲の汚れなどが認められた。また、曝露中から被毛上に白色物の付着が認められた。曝露後 2 日以降も顔面に乾燥褐色物の付着および肛門・性器周囲の汚れなどが散見された。

曝露後 1 日にわずかに体重減少を示す動物が認められた。

剖検では検体曝露による影響は認められなかった。

2. 皮膚および眼に対する刺激性

(1) ニテンピラム原体のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 2-1)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体：ニテンピラム原体

検体純度：

供試動物：日本白色種雌ウサギ、13～14 週齢、体重 2.35～2.62 kg、1 群 6 匹

観察期間：検体除去後 72 時間

投与方法：動物の背部を刈毛後、剃毛し、2 × 3 cm の適用部位を左右 2 ヶ所設けた。右側には粉碎した検体 0.5 g を 0.1 mL の精製水で湿らせて 2 × 3 cm のリント布に塗布して適用した。左側には 0.1 mL の精製水を 2 × 3 cm のリント布に湿らせて適用した。リント布をサージカルテープで固定し、4 時間閉塞適用した。適用 4 時間後にリント布を取り除き、皮膚に付着した検体を精製水を含ませた脱脂綿で清拭した。

観察項目：検体適用前、リント布除去 1、24、48 および 72 時間後に適用部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察し、農林水産省のガイドライン（1985 年）に示された判定基準に従って採点した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、リント布除去 24、48 および 72 時間後に測定した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。

検体適用部位には、各観察時において紅斑、浮腫および痂皮形成等の刺激性変化は認められなかった。一般状態および体重に異常は認められなかった。

以上の結果から、ニテンピラム原体はウサギの皮膚に対して、刺激性はないと判断された。

| 動物 番号 | 適用物質 | 項 目 | 最高 評点 | 検体除去後時間 | | | |
|----------|-------|-------|----------|---------|-------|-------|-------|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 |
| 1 | 検体 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 精製水 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 検体 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 精製水 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 検体 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 精製水 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 検体 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 精製水 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 検体 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 精製水 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 検体 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 精製水 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 小計 | 紅斑・痂皮 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 浮腫 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

(2) ニテンピラム原体のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 2-2)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検体：ニテンピラム原体

検体純度：

供試動物：日本白色種雌ウサギ、13～14週齢、体重 2.42～2.65 kg、

非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：粉砕した検体 0.1 g を右眼に適用し、左眼はそのまま対照とした。洗眼群 3 匹は適用 2 分後に約 20 mL の生理食塩液で洗眼した。

観察項目：検体適用前、適用後 1、24、48 および 72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省のガイドライン（1985 年）に示された判定基準に従って採点した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、適用後 24、48 および 72 時間に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

非洗眼群では、適用後 1 時間に評点 1 の結膜発赤が 2/6 例、評点 1 または 2 の結膜浮腫が 4/6 例で認められた。24 時間には評点 1 の角膜混濁が 2/6 例、評点 1 の結膜発赤が全例、評点 1 の結膜浮腫が 2/6 例で認められた。しかし、これらの所見は漸次回復に向かい、結膜発赤および浮腫は 48 時間、角膜混濁は 72 時間までに消失した。

洗眼群では、適用後 1 時間に評点 1 の結膜発赤が 2/3 例で認められた。24 時間には評点 1 の角膜混濁が 1/3 例で認められた。その後、これらの所見は漸次回復に向かい、結膜発赤は 48 時間、角膜混濁は 72 時間までに消失した。

一般状態および体重に異常は認められなかった。

以上の結果より、ニテンピラム原体は軽度の刺激性を有すると判断された¹⁾。

申請者注 1: 洗眼群では、非洗眼群に比べ、反応が低減していたことから、洗浄効果はあると判断した。

| 項目 | | 最高 評点 | 適用後時間 | | | | | |
|------------------|---------------|----------|-------|------|------|------|---|---|
| | | | 1時間 | 24時間 | 48時間 | 72時間 | | |
| 非 洗 眼 群 | 動物 番号 1 | 角膜混濁 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| | 動物 番号 2 | 角膜混濁 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 動物 番号 3 | 角膜混濁 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 動物 番号 4 | 角膜混濁 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 動物 番号 5 | 角膜混濁 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 動物 番号 6 | 角膜混濁 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 虹彩 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 陽性 例数 | 角膜 | | 0 | 2 | 1 | 0 | | |
| | 虹彩 | | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | 結膜 | | 2 | 0 | 0 | 0 | | |
| 洗 眼 群 | 陽性 例数 | 角膜 | | 0 | 1 | 1 | 0 | |
| | | 虹彩 | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 結膜 | | 0 | 0 | 0 | 0 | |

結膜は評点2以上を陽性とした。

3. 皮膚感作性

ニテンピラム原体のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 3)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体：ニテンピラム原体

検体純度：

供試動物：Hartley 系雄モルモット、5 週齢、体重 332~384 g、

1 群 10 または 15 匹

観察期間：感作開始後 31 日間

試験操作：[Buehler 法]

[投与量設定根拠]

感作；検体処置群、検体対照群、無処置群、陽性対照 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) 処置群および DNCB 対照群の 5 群とした。

刈毛・剃毛した動物の左腹側部に、検体処置群では検体の 25%精製水溶液を、検体対照群では精製水を、0.5 mL ずつ 2×2 cm のリント布に塗布して、サージカルテープで被覆固定し、6 時間閉塞貼付した。DNCB 処置群では 1%DNCB 白色ワセリン混合物を、DNCB 対照群では白色ワセリンを、0.5 g ずつ同様に処置した。別に無処置群を設けた。この処置を週 1 回、3 週にわたり実施した。

惹起；最終感作から 2 週間後に刈毛・剃毛した動物の右腹側部に、検体処置群、検体対照群および無処置群では検体の 25%精製水溶液を、DNCB 処置群および DNCB 対照群では 0.1% DNCB40%エタノール水溶液を、0.5 mL ずつ 2×2 cm のリント布に塗布して、サージカルテープで被覆固定し、24 時間閉塞貼付した。

観察項目：惹起貼付除去の 24 および 48 時間後に貼付部位を肉眼的に観察し、皮膚反応を次の評点に従って採点した。

| 評点 | 判定基準 |
|----|------------|
| 0 | 無反応 |
| *1 | まばらな軽い紅斑 |
| *2 | 中等度の紅斑 |
| *3 | 強度の紅斑および浮腫 |

* 陽性反応

結果：観察時間における皮膚反応が認められた動物数を下表に示した。

検体処置群、検体対照群および無処置群には、惹起貼付除去 24 および 48 時間後のいずれの観察でも適用部位に皮膚反応は認められなかった。

一方、DNCB 処置群には、惹起貼付除去 24 および 48 時間後のいずれの観察でも適用部位に評点 1 から 3 の皮膚反応が全例で認められた。DNCB 対照群では、適用部位に皮膚反応は認められなかった。

| 群 | 感作 | 惹起 | 供試動物数 | 感作反応動物数 | | | | | | | | | | 陽性率 (%) | | |
|------|-----------------|-----------------|-------|---------|---|---|---|-------|--------|---|---|---|-------|---------|-----|-----|
| | | | | 24 時間後 | | | | | 48 時間後 | | | | | 時間 | | 合計 |
| | | | | 皮膚反応評点 | | | | | 皮膚反応評点 | | | | | 24 | 48 | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 計 | 0 | 1 | 2 | 3 | 計 | | | | | | | |
| 検体 | 25% ニテンピラム原体 | 25% ニテンピラム原体 | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0/15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0/15 | 0 | 0 | 0 |
| | 精製水 | 25% ニテンピラム原体 | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0/15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0/15 | 0 | 0 | 0 |
| | 無処置 | 25% ニテンピラム原体 | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0/15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0/15 | 0 | 0 | 0 |
| 陽性対照 | 1%DNCB | 0.1%DNCB | 10 | 0 | 5 | 5 | 0 | 10/10 | 0 | 5 | 3 | 2 | 10/10 | 100 | 100 | 100 |
| | 白色ワセリン | 0.1%DNCB | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 0 | 0 | 0 |

以上の結果から、ニテンピラム原体は Buehler 法で皮膚感作性は陰性であると判断した。

4. 急性神経毒性

ニテンピラム原体の急性神経毒性試験の省略理由

(資料 4)

ニテンピラムの急性神経毒性について、ラットに関連する毒性試験の結果から考察した。

1. ラット急性経口毒性試験からの考察

ラット急性経口毒性試験(資料番号1-1)は、雌雄ともに0、1000、1250、1560、1950および2440 mg/kgの用量にて実施された。雌雄共に1250 mg/kg以上の用量から死亡が認められ、雄および雌のLD₅₀値はそれぞれ1680 mg/kgおよび1575 mg/kgであった。1250 mg/kg以上の投与群では、雌雄共によるめき歩行および痙攣が認められ、1250 mg/kg投与群の雄および1560 mg/kg以上の投与群の雌雄で自発運動減少が認められた。その他、1250 mg/kg以上の投与群の雄で流涎が認められた。これらの症状は1250および1560 mg/kg群では投与翌日に、1950および2440 mg/kg群では投与後2日には消失した。

上記所見は、いずれも全身状態が悪化している1250 mg/kg以上の致死用量でのみ認められた。また、これらすべての症状は投与後2日には回復する一過性のものであった。なお、2440 mg/kgの用量は限界用量(2000 mg/kg)を上回る高い用量であった。

以上、ラットの急性経口毒性試験において、1000 mg/kg以下では特異的な神経毒性を示唆する所見はないと考えられた。

2. ラットの90日間反復経口毒性試験からの考察

ラットの90日間反復経口毒性試験(資料番号5-1)において、以下のとおり特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(1) 詳細な状態の観察項目

① 外観

特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

2500 ppm群の雄1例ならびに雌2例および10000 ppm群の雌2例が投与13週の採血後に死亡した。また、5000 ppm群の雄1匹が投与42日に死亡したが不慮の死亡であった。

② 体位

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

③ 姿勢

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

④ 自律神経系機能

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑤歩行の異常

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑥動物の取り扱い操作及び環境刺激に対する反応

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑦神経系

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑧異常行動

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

(2) 機能検査項目

自発運動量、刺激に対する感覚運動、握力について実施されていない。

(3) 病理組織学的検査項目

①脳

「脳」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

②坐骨神経

「坐骨神経」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

③骨格筋

「骨格筋」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

④脊髄

「脊髄」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

⑤下垂体

「下垂体」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

⑥眼球及びその付属器

「眼球及びその付属器」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

(4) その他の検査における特異的な神経毒性を示唆する所見

①脳重量

「脳重量」に関して、検体投与の影響は認められなかった。

②眼科学的検査

「眼科学的検査」に関して、検体投与の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について

ニテンピラムはネオニコチノイド系（ピリジルメチルアミン系）の化合物であり、ニコチン性アセチルコリン受容体の阻害剤として作用することが知られている。同系類剤には、急性神経毒性試験において、神経症状を呈する物質もあるが、病理組織学的な検査において器質的な変化は認められていない。また、その他の既知神経毒性物質との化学構造に相関はないと考えられた。

4 考察・結論

ラットの急性経口毒性試験における一般症状観察では1000 mg/kg以下では特異的な神経毒性を示唆する所見はなく、ラットの反復経口毒性試験においても神経毒性を示唆する所見はなかった。また、同系類剤（ネオニコチノイド系：ピリジルメチルアミン系）と同様、病理組織学的な検査において検体投与に起因すると考えられる器質的な変化は認められていない。

以上のことから、ニテンピラムの急性神経毒性試験の実施の必要性はないものと考えられる。

5. 亜急性毒性

(1) ニテンピラム原体のラットにおける 90 日間混餌投与亜急性毒性試験

(資料 5-1)

試験機関 : International Research and
Development Corporation
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検 体 : ニテンピラム原体

検体純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時約 6 週齢、
群平均体重 ; 雄 168~200 g、雌 124~143 g

投与期間 : 90 日間 (1990 年 3 月 27 日~1990 年 6 月 26、27 日)

投与方法 : 検体を 0、2500、5000、10000 および 20000 ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって随時投食させた。飼料は 1 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠 :

観察・検査項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 一般状態および生死を毎日観察した。

生存率について検体投与による影響はみられなかった。

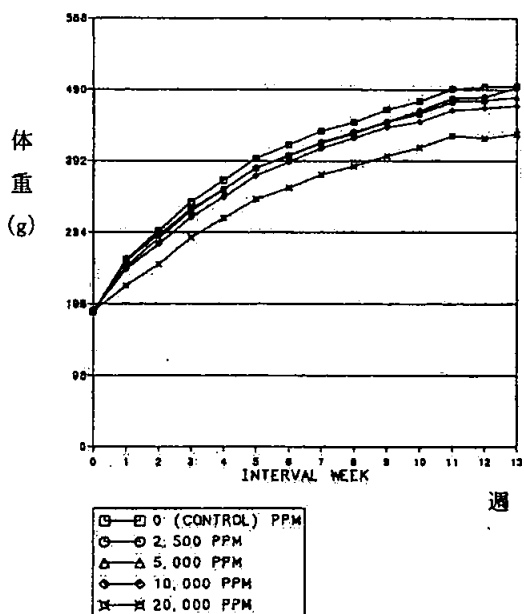
2500 ppm 群の雄 1 例ならびに雌 2 例および 10000 ppm 群の雌 2 例が投与 13 週の採血後に死亡した。また、5000 ppm 群の雄 1 匹が投与 42 日に死亡したが事故による死亡であった。

一般状態については検体投与による影響はみられなかった。

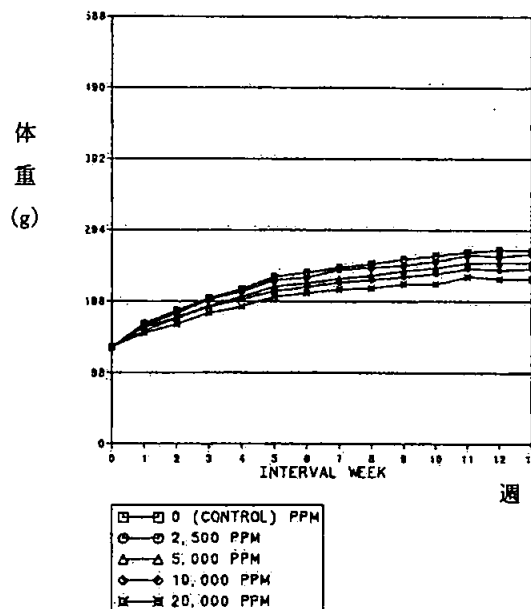
体重変化 ; 全動物の体重を週 1 回測定した。

投与期間を通じて 20000 ppm 群の雌雄および 10000 ppm 群の雌で体重が対照群に比べ有意に低下したほか、10000 ppm 群の雄では投与 2 週で体重が対照群に比べ有意に低下した (Dunnett の多重比較検定を用いて対照群との有意差検定を行った)。その他の投与群の体重は対照群と同等であった。

体重変化を次の図に示した。



雄の体重変化



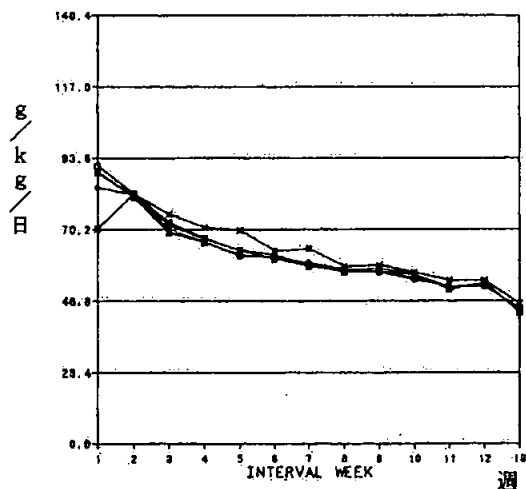
雌の体重変化

摂餌量および摂餌効率；全動物の摂餌量を週1回測定し、摂餌効率を週1回算出した。

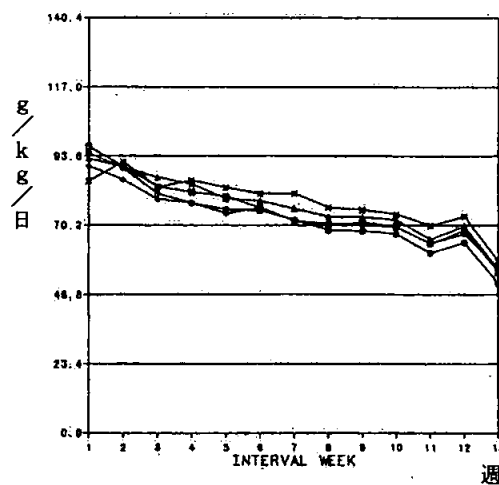
摂餌量については、10000 および 20000 ppm 群で投与1週のみ低値を示し、一過性ながら検体投与による影響と考えられた。その後はほぼ対照群と差はなかった。ただし、20000 ppm 群の雌では時折高値がみられた。その他の投与群の摂餌量は対照群と差はなかった。

摂餌効率については、20000 ppm 群および 10000 ppm 群雌で投与1週に有意に減少し、検体投与による影響と考えられた。20000 ppm 群雌では投与2週でも有意に低値を示し、その後の数週でも低値傾向を示した (Dunnett の多重比較検定を用いて対照群との有意差検定を行った)。その他に特記すべき点はみられなかった。

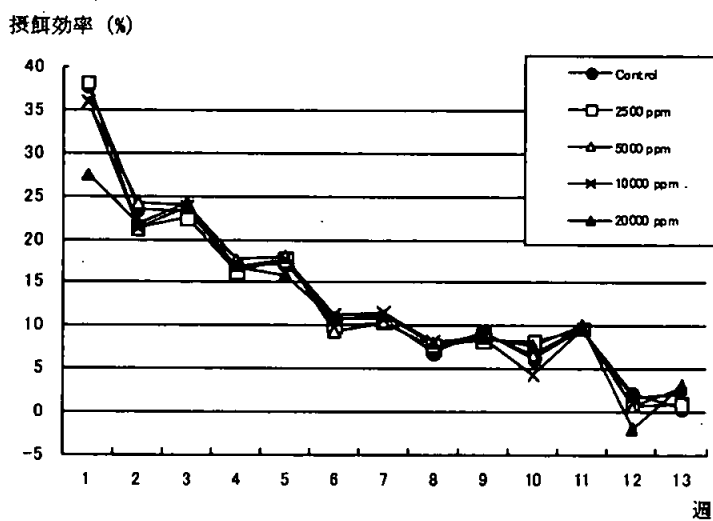
摂餌量および摂餌効率の推移を次の図に示した。



雄の摂餌量の推移

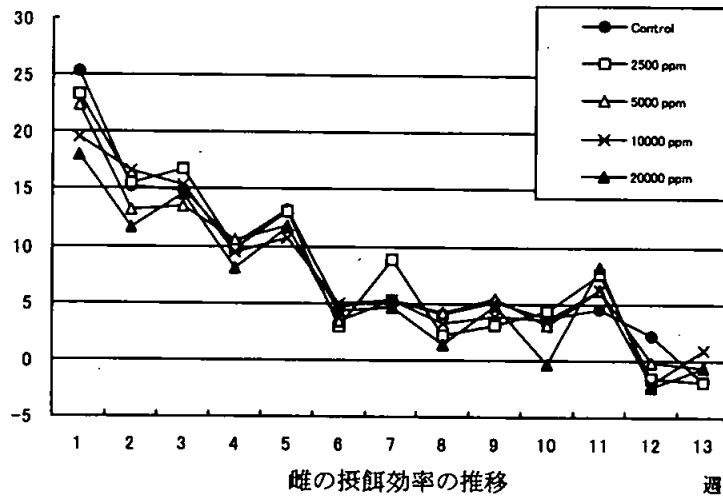


雌の摂餌量の推移



雄の摂餌効率の推移

摂餌効率 (%)



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。

| 投与群 (ppm) | | 0 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 |
|--------------------|---|---|-------|-------|-------|--------|
| 検体摂取量 (mg/kg/日) | 雄 | 0 | 154.9 | 307.7 | 616.6 | 1263.6 |
| | 雌 | 0 | 181.9 | 382.8 | 732.5 | 1564.3 |

申請者注：報告書の数値の小数点第2位を四捨五入した。

血液学的検査；投与13週に、一夜絶食させた全生存動物の眼窩から採血し、以下の項目の測定を行った。なお、プロトロンビン時間については採取した血液から得られた血漿を用いて検査した。

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数、白血球百分率、血小板数、網赤血球数、プロトロンビン時間 (PT)、全血凝固時間

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した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------|-------|------|-------|-------|------|------|-------|-------|
| | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 |
| 赤血球数 | 106 | 105 | 105 | 108 | ↓ 95 | 96 | 98 | 102 |
| ヘモグロビン | 107 | 105 | 108 | 108 | ↓ 97 | 97 | 100 | 99 |
| MCHC | ↑ 102 | 101 | 102 | 100 | 101 | 100 | 101 | 98 |
| 血小板数 | 97 | 96 | 104 | ↑ 111 | 101 | 92 | 107 | 112 |

Dunnett 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓: P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

2500 ppm 群雄でMCHCが、20000 ppm 群雄で血小板数がわずかだが有意に増加したほか、2500 ppm 群雌で赤血球数およびヘモグロビン量がわずかだが有意に減少した。これらの変化は軽微であり、検体投与に関連しないと考えられた。

血液生化学検査；投与 13 週に、血液学的検査と同時に採血した血液から得られた血清を用い、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)、アルカリフォスファターゼ、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンフォスフォキナーゼ (CPK)、グルコース、尿素窒素、総ビリルビン、コレステロール、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、総蛋白、蛋白電気泳動、クレアチニン、トリグリセライド、リン脂質、尿酸、カルシウム、ナトリウム、カリウム、塩化物、無機リン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------------------------------|------|------|-------|-------|------|------|-------|-------|
| | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 |
| 投与群 (ppm) | | | | | | | | |
| アルカリフォスファターゼ | 108 | 90 | 98 | 109 | 82 | 114 | 104 | ↑141 |
| 総ビリルビン | 67 | 100 | 100 | ↓ 67 | 100 | 100 | 67 | 100 |
| コレステロール | 85 | 85 | 102 | ↑ 121 | 107 | 111 | 101 | 115 |
| 総蛋白 | 106 | 102 | 102 | ↑ 108 | 97 | 97 | 99 | 100 |
| 蛋白電気泳動ピーク 2 (%比) (α1-グロブリン) | 95 | 99 | 99 | 96 | 96 | 90 | 91 | ↓ 85 |

Dunnett 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓ : 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

20000 ppm 群の雄でコレステロールおよび総蛋白値がわずかに増加したほか、総ビリルビン値がわずかに減少した。20000 ppm 群雌でアルカリフォスファターゼ値がわずかに増加した一方で、蛋白電気泳動でのピーク 2 (α1-グロブリン) の%比がわずかに減少した。これらの変化はいずれも有意であったが、軽微であり、検体投与には関連しないと考えられた。

尿検査；投与 13 週に、血液学的検査で用いた動物について絶食期間中に採取した尿について以下の項目を検査した。

尿量、色および外観、浸透圧、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩、ビリルビン、潜血、尿沈渣

すべての検査項目について重要な変化はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与 13 週に全生存動物について検眼鏡を用いて検査した。

検体投与に関連のあると考えられる異常所見は認められなかった。対照群の雄で角膜炎（片眼：1/10 例）が、5000ppm 群の雄で結膜炎（片眼：1/10 例）が 10000ppm 群の雄で結膜炎（片眼：1/10 例、両眼 1/10 例）および脈絡網膜形成不全（片眼：1/10 例）が認められた。しかしながら、認められた所見は、週齢、性別および系統を考慮すると、本試験で用いたラットで起こり得る頻度の所見と考えられた。

臓器重量；13 週間投与後に屠殺した全動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比および対脳重量比も算出した。

脳（脳幹を含む）、肺、心臓、腎臓、肝臓、精巣、胸腺、副腎、卵巣、下垂体、脾臓、前立腺、顎下/舌下唾液腺

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した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | | |
|-----------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 | |
| 投与群 (ppm) | | | | | | | | | |
| 最終体重 | 98 | 93 | 95 | 87 | 100 | 95 | ↓ 91 | ↓ 86 | |
| 脳 | 重量 | 100 | 99 | 103 | 99 | 97 | 98 | 98 | 95 |
| | 対体重比 | 102 | 111 | 109 | ↑ 114 | 99 | 105 | 107 | ↑ 111 |
| 肝臓 | 重量 | 94 | 96 | 97 | 103 | 103 | 103 | 96 | 94 |
| | 対体重比 | 96 | 106 | 101 | ↑ 118 | 104 | ↑ 110 | 105 | ↑ 109 |
| | 対脳重量比 | 94 | 96 | 92 | 103 | 106 | 104 | 98 | 98 |
| 肺 | 重量 | 102 | 92 | 89 | 92 | ↓ 90 | 98 | 95 | ↓ 90 |
| | 対体重比 | 106 | 105 | 95 | 107 | ↓ 92 | 105 | 104 | 104 |
| | 対脳重量比 | 103 | 93 | 86 | 93 | 93 | 99 | 97 | 94 |
| 卵巣 | 重量 | — | — | — | — | 105 | 98 | ↓ 85 | 91 |
| | 対体重比 | — | — | — | — | 103 | 101 | 93 | 106 |
| | 対脳重量比 | — | — | — | — | 108 | 99 | 87 | 95 |
| 前立腺 | 重量 | 79 | 89 | 78 | 89 | — | — | — | — |
| | 対体重比 | 81 | 97 | ↓ 82 | 106 | — | — | — | — |
| | 対脳重量比 | 79 | 90 | 75 | 91 | — | — | — | — |
| 胸腺 | 重量 | 86 | 100 | 110 | 83 | 125 | 83 | ↓ 75 | 100 |
| | 対体重比 | 85 | 108 | 115 | 95 | 138 | 88 | 83 | 117 |
| | 対脳重量比 | 84 | 100 | 104 | 83 | 129 | 86 | ↓ 77 | 107 |

Dunnett 検定を用いて対照群との有意差検定を行った（↑ ↓ : $P < 0.05$, ↑ ↓ : $P < 0.01$ ）。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

— : 該当せず

10000 および 20000 ppm 群雌では最終体重の有意な低値がみられた。雌の投与群では累加的に用量相関性の体重低下を示していたことから、投与に関連した影響と考えられた。20000 ppm 群雌の最終体重も低値を示したが有意な差ではなかった。脳および肝臓の対体重比が有意な高値を示したが^{申請者注}、臓器重量（絶対値）には有意な差はみられなかった。脳および肝臓には投与に関連した組織形態学的変化は認められず、対体重比の高値は体重低下を反映したものと考えられた。その他、雄では前立腺、雌では肺、卵巣および胸腺に差がみられたが、用量相関性はなかった。これらの臓器は生理学および生物学的に変動が起りやすく、関連する組織形態学的変化はみられていないことから、生物学的あるいは生理学的変動であると考えられた。よって、検体投与による臓器重量の変化はみられなかった。

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行った。また、試験終了時の剖検時に骨髄塗抹標本作製した。

検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。みられた肉眼的所見は、すべて自然発生または瀕死状態でのものと考えられた。

申請者注：肝臓重量（対体重比）および脳重量（対体重比）の高値について

雌雄 20000ppm 群で認められた肝臓および脳の重量（対体重比）の高値は、いずれも背景値の範囲内であり、かつ、明確な用量相関性を示していない変化であった[20000ppm 群雌の脳 4.84%×10、雄背景値平均値 3.980%×10、雄背景値範囲 2.29~5.16%×10、雌の脳 8.13%×10、雌背景値平均値 6.604%×10、雌背景値範囲 4.76~10.14%×10][20000ppm 群雄の肝臓 4.75%、雄背景値平均値 3.839%、雄背景値範囲 2.39~5.71%、雌の肝臓 4.10%、雌背景値平均値 4.034%、雌背景値範囲 2.65~9.27%] こと、および上述の通り病理組織学的検査において関連した変化が認められていないことから、毒性的意義のない変化であると考えられた。

| 性別 | | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|-----------|-----------------------|----|------|------|-------|-------|----|------|------|-------|-------|
| 投与群 (ppm) | | 0 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 | 0 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 胸腔 | 液体貯留、赤色 ¹⁾ | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 眼球 | 結膜変色、赤色 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜腫脹 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 角膜混濁 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 心臓 | 変色、赤色 ¹⁾ | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 肝臓 | 分葉異常 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 腎臓 | 水腎症 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 肺 | うっ血 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 口腔 組織 | 歯の不正咬合 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 皮膚/ 皮下 | 嚢胞 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 脱毛 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 精巣 | 小型/軟化 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | - | - | - | - | - |
| 子宮 | 拡張 | - | - | - | - | - | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 膨満 | - | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |

1) 死亡動物でのみ認められた変化

- : 該当せず

申請者注3 : 申請者が Fisher の正確確率法による対照群との有意差検定を実施したが、有意差は認められなかった。

病理組織学的検査 ; 肉眼的病理検査を実施した動物について以下の組織を保存した。その内、試験終了時に屠殺した 0 および 20000 ppm 群の全動物ならびに途中死亡または切迫屠殺した全動物の全組織について病理標本作製し、鏡検した。更に、全動物の肉眼的病変と、13 週間投与後に屠殺した 2500、5000 および 10000 ppm 群の全動物の肝臓、腎臓および肺について病理標本作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、骨 (大腿骨)、骨髓 (大腿骨)、脳 (前、中、後)、眼 (視神経および隣接ハーダー腺を含む)、食道、胃 (腺胃および前胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、卵巣、精巣および精巣上体、心臓、腎臓、喉頭、肝臓、肺および気管支幹、リンパ節 (頸下、縦隔、腸間膜)、乳腺、脾臓、下垂体、前立腺および精囊、唾液腺 (顎下/舌下)、坐骨神経、骨格筋 (大腿部)、皮膚、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、脾臓、胸骨、胸腺、甲状腺/上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮および子宮頸部、陰

認められた主要な病理組織学的所見を表 1 に示した。

検体投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。みられたすべての病理組織学的変化は自然発生または瀕死状態でのものと考えられた。

以上の結果から、ニテンピラム原体のラットに対する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、10000 および 20000 ppm 群で体重増加抑制および摂餌量の低値がみられたほか、20000 ppm 群および 10000 ppm 群雌で摂餌効率の低下が認められた。従って無毒性量は雌雄とも 5000 ppm (雄 307.7 mg/kg/日、雌 382.8 mg/kg/日) と判断された。

表1 主要な病理組織学的所見

| 性別 | | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|-----------|------------------|----|------|------|-------|-------|----|------|------|-------|-------|
| | | 0 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 | 0 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 |
| 投与群 (ppm) | | 0 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 | 0 | 2500 | 5000 | 10000 | 20000 |
| 心臓 | 所見\検査動物数 | 10 | 1 | 1 | 0 | 10 | 10 | 2 | 0 | 1 | 10 |
| | 出血 ¹⁾ | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 心筋炎 | 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 鉍質沈着 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 腎臓 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | 慢性腎症 | 10 | 5* | 8 | 4* | 8 | 2 | 1 | 5 | 1 | 3 |
| | 結晶 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 拡張 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | リンパ球浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 鉍質沈着 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| | 血管周囲リンパ球浸潤 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| | 腎盂炎 脂肪組織炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 肝臓 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | 胆管増生 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 髓外造血 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 9 | 7 | 9 | 7 | 7 |
| | 炎症 | 6 | 4 | 6 | 7 | 5 | 1 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| | 壊死 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 空胞状変化 | 6 | 3 | 7 | 3 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 肺 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | 肺泡マクロファージ | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | うっ血 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 出血 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 間質性肺炎 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | 血管周囲リンパ球浸潤 | 4 | 3 | 2 | 3 | 4 | 1 | 1 | 0 | 2 | 3 |
| | 胸膜炎 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 血管鉍質沈着 | 3 | 4 | 6 | 7 | 2 | 1 | 2 | 5 | 2 | 2 |
| 脾臓 | 所見\検査動物数 | 10 | 1 | 1 | 0 | 10 | 10 | 2 | 0 | 1 | 10 |
| | 髓外造血亢進 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 2 |

1) 死亡動物でのみ認められた変化

申請者注4: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05 Fisherの正確確率法

(2) ニテンピラム原体のマウスにおける 90 日間混餌投与亜急性毒性試験

(資料 5-2)

試験機関：International Research and
Development Corporation

報告書作成年：1991 年

検体：ニテンピラム原体

検体純度：

供試動物：ICR 系マウス、1 群雌雄各 10 匹、6 週齢、

群平均体重；雄 22~27 g、雌 17~24 g

投与期間：90 日間（1990 年 4 月 2 日~1990 年 7 月 1、2 日）

投与方法：検体を 0、1500、3000、6000 および 12000 ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって随時投食させた。飼料は 1 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

12000 ppm 群雌 5 匹が瀕死状態となり、切迫殺もしくは死亡した。これらの全例が努力性呼吸および排便減少を示し、うち 4 匹は活動性の低下を示した。また、1 匹が振戦、1 匹が体温低下、1 匹が傾斜姿勢を示した。

生存動物においても、12000 ppm 群雌 2 匹および雄 1 匹が努力性呼吸を示し、検体投与による変化であると考えられた。

| 性別 | | 雌 | | | | |
|-----------|-------|----|------|------|------|-------|
| 投与群 (ppm) | | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| 所見\検査動物数 | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 外観、状態 | 瀕死 | 0 | 0 | 0 | 0 | ↑5 |
| 排泄 | 排便減少 | 0 | 0 | 0 | 0 | ↑5 |
| 呼吸 | 努力性呼吸 | 0 | 0 | 0 | 0 | ↑7 |

申請者注：申請者が Fisher の正確確率法を用いて対照群との有意差検定を行った。

(↑: $P < 0.05$ 、↑↑: $P < 0.01$)

体重変化；全動物の体重を投与開始前および週 1 回測定した。

12000 ppm 群の体重が雌雄とも試験期間を通じて、対照群に比べ有意に低値を示した (Dunnett 検定: $P < 0.01$)。その他の投与群の体重は対照群と比べて差はなかった。

摂餌量および摂餌効率；全動物の摂餌量を週1回測定し、摂餌効率を週1回算出した。

摂餌量については、12000 ppm 群雄では投与1週に低値、雌では投与1および2週に高値を示したが、その後はほぼ対照群と差はなく、検体投与による影響とは考えられなかった。その他の投与群の摂餌量は対照群と同等であった。

摂餌効率については、12000 ppm 群雌ではほとんどの週で対照群よりも低値を示し、投与1週、6週および11週には有意差が認められ、検体投与による変化と考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

| 投与群 (ppm) | | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
|--------------------|---|---|-------|-------|--------|--------|
| 検体摂取量 (mg/kg/日) | 雄 | 0 | 245.5 | 498.8 | 987.4 | 2029.5 |
| | 雌 | 0 | 306.9 | 588.5 | 1213.3 | 2635.7 |

申請者注：報告書に記載された数値の小数点以下2桁目を四捨五入した。

血液学的検査；試験終了時に、一夜絶食させた全生存動物の眼窩から採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数、白血球百分率、血小板数、網赤血球数、全血凝固時間

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した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|---------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|
| | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| ヘマトクリット | 98 | 93 | 98 | 95 | 96 | 96 | 87 | ↓ 91 |

Dunnett 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↓: P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

12000 ppm 群の雌でヘマトクリット値がわずかに減少した。この変化は軽微なものであり、検体投与に関連するものとは考えられなかった。その他に重要な変化はみられなかった。

血液生化学検査；試験終了時に、血液学的検査と同時に採血した血液から得られた血清を用い、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)、アルカリフォスファターゼ、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンフォスフォキナーゼ (CPK)、グルコース、尿素窒素、総ビリルビン、コレステ

ロール、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、総蛋白、クレアチニン、トリグリセライド、リン脂質、尿酸、カルシウム、無機リン
 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

| 性 別 投与群 (ppm) | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|
| | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| アルカリフォスファターゼ | 105 | 153 | ↑155 | 121 | 97 | 90 | ↓60 | 112 |
| A/G 比 | 91 | 91 | 91 | 100 | 92 | 133 | 100 | ↑125 |

Dunnett 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓: P < 0.05)。
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

6000 ppm 群雄でアルカリフォスファターゼがわずかに増加したが、同群の雌ではわずかに減少した。12000 ppm 群雌では A/G 比がわずかに増加した。これらの変化はいずれも検体投与に関連するとは考えられなかった^{申請者注}。

尿検査；試験終了時に、血液学的検査で用いた動物について絶食期間中に採取した尿について以下の項目を検査した。

尿量、色および外観、浸透圧、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩、ビリルビン、潜血、尿沈渣、白血球

すべての検査項目について重要な変化はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与 13 週に全生存動物について検眼鏡を用いて検査した。
 所見は認められなかった。

臓器重量；13 週間投与後に屠殺した全動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比および対脳重量比も算出した。

脳 (脳幹を含む)、肺および気管支幹、心臓、腎臓、肝臓および胆嚢、精巣、胸腺、副腎、卵巣、下垂体、脾臓、前立腺、顎下/舌下唾液腺

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次ページの表に示した。

申請者注：血液生化学的検査における変化について

有意差の認められた変化は、用量相関性が明確でない変化、雌雄で一貫しない変化あるいは軽度な変化であり、その他の関連するパラメータや病理組織学的検査においても毒性学的に関連すると考えられる変化が認められていないことから、検体投与による影響ではないと判断した。

| 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|
| 投与群 (ppm) | | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| 最終体重 | | 100 | 100 | 93 | ↓ 83 | 104 | 96 | 96 | ↓ 79 |
| 脳 | 重量 | 106 | 100 | 104 | 106 | 100 | 98 | 102 | ↓ 88 |
| | 対体重比 | 105 | 100 | ↑111 | ↑127 | 100 | 103 | ↑109 | 115 |
| 下垂体 | 重量 | ↓ 76 | 87 | 92 | ↓ 76 | 87 | 107 | 87 | ↓ 53 |
| | 対体重比 | 75 | 88 | 97 | 92 | 86 | 112 | 93 | ↓ 69 |
| | 対脳重量比 | ↓ 72 | 87 | 87 | ↓ 71 | 88 | 108 | 85 | ↓ 61 |
| 心臓 | 重量 | 89 | 84 | 84 | 116 | 87 | 93 | 107 | 120 |
| | 対体重比 | 86 | 83 | 90 | 135 | 84 | 98 | 113 | ↑151 |
| | 対脳重量比 | 82 | 83 | ↓ 81 | 108 | 85 | 96 | 104 | 134 |
| 腎臓 | 重量 | 100 | 102 | 96 | ↓ 83 | 95 | 95 | 93 | 88 |
| | 対体重比 | 98 | 102 | 103 | 99 | 96 | 102 | 99 | ↑114 |
| | 対脳重量比 | 100 | 100 | 91 | ↓ 82 | 100 | 100 | 88 | 100 |
| 肝臓 | 重量 | 106 | 103 | 105 | 96 | 98 | 97 | 100 | 94 |
| | 対体重比 | 104 | 103 | ↑111 | ↑114 | 97 | 102 | 106 | ↑121 |
| | 対脳重量比 | 100 | 103 | 100 | 90 | 98 | 99 | 98 | 106 |
| 顎下/ 舌下 唾液腺 | 重量 | 110 | 100 | 100 | 100 | 100 | 125 | 88 | ↓ 63 |
| | 対体重比 | 103 | 95 | 107 | 113 | 96 | 127 | 94 | ↓ 73 |
| | 対脳重量比 | 100 | 96 | 96 | 90 | 96 | 122 | 88 | ↓ 63 |
| 卵巣 | 重量 | — | — | — | — | 77 | 70 | 74 | ↓ 55 |
| | 対体重比 | — | — | — | — | 77 | 73 | 77 | 68 |
| | 対脳重量比 | — | — | — | — | 73 | 64 | 73 | 55 |
| 胸腺 | 重量 | 100 | 106 | 107 | 75 | 86 | 105 | 87 | 79 |
| | 対体重比 | 99 | 108 | 114 | 87 | 84 | 110 | 93 | 102 |
| | 対脳重量比 | 94 | 108 | 103 | ↓ 70 | 86 | 109 | 85 | 89 |

Dunnett 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓: 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

—: 該当せず

12000 ppm 群の腎臓で検体投与に関連すると考えられる変化がみられた。

雄では重量および対脳重量比の低値、雌では対体重比の高値がみられ、病理組織学的検査でのネフローゼと相関がみられた。

また、12000 ppm 群雄の胸腺で対脳重量比の低値がみられたが、恐らくこの群の雄 1 匹でみられたリンパ球壊死に関連するものと考えられた^{申請者注}。

その他、雄では 6000 および 12000 ppm 群で脳および肝臓、6000 ppm 群で心臓、1500

申請者注: 雄 12000ppm 群で認められた胸腺脳重量比の有意な低下について

雄の 12000ppm 群では病理組織学的検査において胸腺のリンパ球壊死が認められた動物(動物番号 39038)に加え、7 週目以降に体重が減少し、投与初期よりも体重が減少している動物(動物番号 39035)が存在し、その胸腺重量は非常に小さい。該当動物の病理組織学的検査では胸腺に何も認められておらず、強いストレスによる胸腺の萎縮を反映したものであり、毒性学的意義のない変化であると考えられた。

および 12000 ppm 群で下垂体の対体重比の有意な変化がみられた。雌では 6000 および 12000 ppm 群で脳、12000 ppm 群で心臓、肝臓、顎下/舌下唾液腺、下垂体および卵巣の重量および対体重比の有意な変化がみられた。これらの臓器はいずれも検体投与に関連した肉眼的または病理組織学的変化を示していないことから、6000 および 12000 ppm 群でみられた体重増加抑制に関連するものと思われた。^{申請者注 1}

肉眼的病理検査；試験終了時に全動物について剖検を行った。また、剖検時に骨髄塗抹標本作製した。

死亡もしくは切迫殺した動物および試験終了時に剖検した動物のいずれにおいても、検体投与に関連した変化は認められなかった。みられた肉眼的所見は自然発生のもと考えられた。

| 性別 | | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|-----------|----------|----|------|------|------|-------|----|------|------|------|-------|
| 投与群 (ppm) | | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 盲腸 | 結節 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 眼球 | 角膜混濁 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 腎臓 | 嚢胞、透明 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 卵巣 | 嚢胞、透明 | - | - | - | - | - | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 胃 | 黒色巣 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

- : 該当せず

申請者注 2 : 申請者が Fisher の正確確率法による対照群との有意差検定を実施したが、有意差は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物について以下の組織を保存した。その内、試験終了時に屠殺した 0 および 12000 ppm 群の全動物ならびに途中死亡または切迫屠殺した全動物の全組織について病理標本作製し、鏡検した。更に、全動物の肉眼的病変と、13 週間投与後に屠殺した 1500、3000 および 6000 ppm 群の全動物の肝臓、腎臓および肺について病理標本作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、骨 (大腿骨)、骨髄 (大腿骨)、脳 (前、中、後)、眼 (視神経および隣接ハーダー腺を含む)、胆嚢、食道、胃 (腺胃および前胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、卵巣、精巣および精巣上体、心臓、腎臓、喉頭、肝臓、肺および気管支幹、リンパ節 (顎下、縦隔、腸間膜)、乳腺、膵臓、下垂

申請者注 1 : 雄 6000 および雌 12000 ppm 群で認められた肝臓重量 (対体重比) の有意な高値について肝臓の対体重比について、雌雄とも用量相関的な増加を示したが、その値は背景値の範囲内にあり、さらに病理組織学的検査において関連した変化が認められていないことから、毒性学的意義のない変化であると考えられた (雄 6000 ppm 群 4.53%、雄 12000 ppm 群 4.62%、雄背景値 5.031%、雄背景値範囲 3.55~7.27%、雌 12000 ppm 群 5.45%、雌背景値 5.342%、雌背景値範囲 3.23~7.63%)。

体、前立腺および精嚢、唾液腺（顎下／舌下）、坐骨神経、骨格筋（大腿部）、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胸骨、胸腺、甲状腺／上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮および子宮頸部、膣

認められた主要な病理組織学的所見を表1に示した。

検体投与に関連した変化として、切迫殺した12000 ppm群雌1匹と、試験終了時剖検した12000 ppm群雄2匹および雌1匹、6000 ppm群の雌2匹ならびに3000 ppm群雌1匹でネフローゼがみられた。

対照群と投与群の両方で慢性腎炎がみられたが、本試験で用いた週齢および系統のマウスでは珍しいものではなく、自然発生のもと考えられた^{申請者注}

また、試験終了時剖検した12000 ppm群雄1匹および雌2匹の胸腺でリンパ組織の巣状壊死がみられた。死亡または切迫殺した12000 ppm群雌の胸腺および脾臓でもリンパ球減少がみられていたが、これらはストレスに関連した変化であり、検体投与による一次的な障害ではないと考えられた。

本試験でみられたその他のすべての病理組織学的変化は、自然発生のものであり、検体投与に関連しないと考えられた。

12000 ppm群雌5匹が死亡または切迫殺されたが、ネフローゼが認められた1匹以外の動物では胸腺あるいは脾臓においてリンパ球減少がみられたほかは特記すべき変化はみられなかった。

申請者注：

該当機関における慢性腎炎の背景値(1986年-1997年)は、雄3.4%(n=207, 0-40%)、雌2.4%(n=207, 0-30%)であった。

以上の結果から、ニテンピラム原体のマウスに対する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、12000 ppm 群の雌5匹が瀕死状態となり、死亡または切迫殺された。瀕死例を含むこの群では、努力性呼吸がみられたほか、死亡・切迫殺例では、排便減少活動性の低下、振戦、体温低下、傾斜姿勢を示した。12000 ppm 群では、体重の低値および雌で摂餌効率の低値がみられたほか、腎臓重量の変化〔雄では重量および対脳重量比の低値、雌では対体重比の高値〕がみられた。病理組織学的検査では、ネフローゼが3000、6000 および 12000 ppm 群雌と 12000 ppm 群雄でみられた^{申請者注1}。

従って無毒性量は雄 6000 ppm (987.4 mg/kg/日)、雌 1500 ppm (306.9 mg/kg/日) と判断された^{申請者注2}。

申請者注1：腎臓の病理組織学的検査のピアレビューについて

本試験において、ネフローゼが、雄 12000ppm、雌 3000ppm 以上の投与群で認められたが、雄 3000ppm 群、6000ppm 群では観察されなかった。しかしながら、本剤の腎臓への影響について性差があるとは考えられなかったため、第三者(実施機関：Pathology Associates, INC)による腎臓の病理組織学的検査のピアレビューが実施された。

その結果、当該試験の病理担当責任者とピアレビュー実施責任者の個々の所見の病理診断基準に違いはあったが、双方が合意された所見および発現頻度は下表のとおりであり、雌雄 3000ppm 以上の投与群で腎臓への影響(ネフローゼおよび尿細管変性/腎炎併発も含む)が観察された(Pathology Associates, INC, USA, 1993)。

| 性別 | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|------------------------|----|------|------|------|-------|----|------|------|------|-------|
| | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| 投与群 (ppm) | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| ネフローゼおよび尿細管変性(腎炎併発も含む) | 0 | 0 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 |

申請者注2：無毒性量について：

腎臓の病理組織学的検査のピアレビューの結果に基づき、無毒性量は雌雄ともに1500ppm(雄245.5 mg/kg/日、雌：306.9 mg/kg/日)と判断された。

表1 主要な病理組織学的所見

| 性別 | | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|-----------|----------------------|----|------|------|------|-------|----|------|------|------|-------|
| 投与群 (ppm) | | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 | 0 | 1500 | 3000 | 6000 | 12000 |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 腎臓 | リンパ球浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| | 慢性腎炎 | 3 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | ネフローゼ | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| | 腎盂炎 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 肝臓 | 壊死 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 空胞状変化 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 肺 | 間質性肺炎 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1 | 0 |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| 脾臓 | リンパ球減少 ¹⁾ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 胸腺 | リンパ球減少 ¹⁾ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5* |
| | 壊死 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |

1) 死亡動物で認められた変化

申請者注8: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05 Fisherの正確確率法

(3) ニテンピラム原体のイヌを用いた4週間反復経口投与毒性試験

(資料 5-3)

試験機関：International Research and
Development Corporation
[GLP 対応]

報告書作成年：1992年

ニテンピラムのイヌにおける90日間反復経口投与毒性試験成績については、以下のとおり、慢性毒性試験の予備試験として実施された4週間投与試験の成績および1年間投与による慢性毒性試験の成績で代替できるものと考えます。

検体：ニテンピラム原体

検体純度：

供試動物：純系ビーグル犬、1群雌雄各2匹、投与開始時5~5.5ヵ月齢、
投与開始時体重；雄6.7~9.9 kg、雌6.7~10.1 kg

投与期間：4週間（1992年1月22日投与開始~1992年2月19日最終剖検）

投与方法：検体をゼラチンカプセルに充填し、2群については50および112 mg/kgの投与量で28日間にわたり1日1回経口投与した。また別の2群については、当初225および450 mg/kgの投与量で2日間投与したが、極度の毒性が認められたために1日投与を休止し、それぞれ12.5および25.0 mg/kgに減量して投与4日から28日まで1日1回経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを1日1回経口投与した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を1日2回観察し、詳細な観察を週1回実施した。

いずれの群においても死亡例は認められなかった。

225 および 450 mg/kg 群では、投与開始後2日間に運動失調、活動低下、振戦、嘔吐、排便異常、流涎、瞳孔散大等が認められた。更に痙攣、虚脱、努力性呼吸も認められたことから、1日投与を休止した後、投与4日から12.5 および 25 mg/kg に減量した。

12.5 および 25 mg/kg では顕著な臨床所見は認められなかった。

112 mg/kg 群では活動低下、運動失調、痙攣、嘔吐、排便異常、瞳孔散大、流涎、瞬膜弛緩が認められた。50 mg/kg 群でも時々排便異常、瞬膜弛緩が認められた。

これらの所見の発現動物数を次頁の表に示した。

| 性別 | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|-------------|---|-----------------|-----------------|----|-----|---|-----------------|-----------------|----|-----|
| | 0 | 225/12.5 | 450/25 | 50 | 112 | 0 | 225/12.5 | 450/25 | 50 | 112 |
| 投与量 (mg/kg) | 0 | 225/12.5 | 450/25 | 50 | 112 | 0 | 225/12.5 | 450/25 | 50 | 112 |
| 所見\検査動物数 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 虚脱 | 0 | 1 ^{a)} | 1 ^{b)} | 0 | 0 | 0 | 1 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 0 |
| 運動失調 | 0 | 1 ^{a)} | 1 ^{b)} | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 ^{b)} | 0 | 1 |
| 痙攣 | 0 | 1 ^{a)} | 1 ^{b)} | 0 | 1 | 0 | 1 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 1 |
| 活動低下 | 0 | 2 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 2 | 0 | 2 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 2 |
| 振戦 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 ^{b)} | 0 | 0 |
| 飼料様嘔吐 | 0 | 2 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 2 | 0 | 1 | 2 ^{b)} | 2 | 2 |
| 泡状嘔吐 | 0 | 2 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 1 | 0 | 1 ^{a)} | 2 ^{b)} | 1 | 2 |
| 下痢 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| 排便減少 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 ^{b)} | 1 | 1 |
| 粘液便 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 軟便 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 ^{a)} | 2 | 2 | 2 |
| 退色便 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 流涎 | 0 | 2 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 2 | 0 | 1 ^{a)} | 2 ^{b)} | 0 | 2 |
| 瞳孔拡散 | 0 | 2 ^{a)} | 1 ^{b)} | 0 | 2 | 0 | 1 ^{a)} | 1 ^{b)} | 0 | 1 |
| 瞬膜弛緩 | 0 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| 努力性呼吸 | 0 | 1 ^{a)} | 1 ^{b)} | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 ^{b)} | 0 | 0 |

a) 225 mg/kg を投与した 2 日間にみられた。

b) 450 mg/kg を投与した 2 日間にみられた。

体重変化；投与開始前および投与期間中は週 1 回測定した。

結果を次表に示した。供試動物数が少ないことから統計解析は実施しなかった。

| 性別 | 投与量 (mg/kg) | 雄 | | | | 雌 | | | |
|----|-------------|------|-----|-----|-----|------|----|----|-----|
| | | 12.5 | 25 | 50 | 112 | 12.5 | 25 | 50 | 112 |
| 体重 | 1 週 | 108 | 99 | 94 | 85 | 100 | 94 | 91 | 77 |
| | 2 週 | 109 | 99 | 99 | 88 | 98 | 90 | 88 | 84 |
| | 3 週 | 115 | 103 | 102 | 93 | 98 | 86 | 90 | 80 |
| | 4 週 | 113 | 107 | 102 | 94 | 104 | 92 | 93 | 78 |

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

112 mg/kg 群雌で体重増加抑制あるいは体重の減少が投与期間を通じて認められた。

摂餌量；投与期間中、週 1 回測定した。

体重に基づいた摂餌量 (mg/kg/日) を次表に示した。供試動物数が少ないことから統計解析は実施しなかった。

| 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-------------|----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| 投与量 (mg/kg) | | 12.5 | 25 | 50 | 112 | 12.5 | 25 | 50 | 112 |
| 相対 摂餌量 | 1週 | 89 | 111 | 117 | 94 | 90 | 109 | 96 | 39 |
| | 2週 | 95 | 106 | 109 | 122 | 103 | 109 | 103 | 123 |
| | 3週 | 166 | 177 | 200 | 192 | 78 | 81 | 85 | 58 |
| | 4週 | 86 | 93 | 100 | 104 | 105 | 109 | 109 | 85 |

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

112 mg/kg/群雌の摂餌量は対照群と比較して顕著に減少した。この顕著な減少は投与 1週にみられた。

身体検査；全動物について獣医師による頭部、頸部、胸部、腹部、外部生殖器、皮膚および四肢等の検査に加え、打診および聴診器による心音と肺音の検査を試験前と試験最後の週に 1回ずつ実施した。

投与に関連すると考えられる所見として、112 mg/kg 群の雌 1例で中程度の体重低下、極度の流涎および両眼脂^{申請者注}がみられた。

臓器重量；試験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、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、精巣、脳、卵巣、甲状腺/上皮小体

供試動物数が少ないことから統計解析は実施しなかったが、検体投与に関連した影響と思われる臓器重量の変化はみられなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与に関連した肉眼的変化は認められなかった。

申請者注：身体検査で見られた眼脂について

この試験では対照群を含め、眼脂が散発的に認められたが、投与開始前から見られた例や片側眼に一過性に認められたものであり、検体投与による変化とは考えられなかった。一方、112mg/kg 群の雌 1例では、投与終了後の詳細な身体検査のみではあるが両眼に眼脂が認められ、この例に見られた全身状態の悪化に関連した変化であると考えられた。

以上の結果から、ニテンピラム原体のビーグル犬に対する4週間反復経口投与試験における影響として、225および450 mg/kg群で投与開始後2日以内に顕著な影響が認められた。112 mg/kg群でも、症状の程度はかなり軽減されたが活動低下、運動失調、痙攣、嘔吐、排便異常、瞳孔散大、流涎、体重減少および摂餌量減少が認められた。50 mg/kg群においては嘔吐、排便異常および瞬膜弛緩がみられた。

したがって、無毒性量は雌雄とも25 mg/kg/日と判断された^{申請者注}。

申請者注：ニテンピラムのイヌにおける90日間反復経口投与毒性試験成績について

1. イヌにおける4週間投与試験（投与量：50および112 mg/kgの投与量で28日間投与した2群、当初225および450 mg/kgの投与量で2日間投与し、極度の毒性が認められたために1日投与を休止し、それぞれ12.5および25.0 mg/kgに減量して投与4日から28日まで投与した2群、資料5-3）を実施した結果は、次のとおりであった。
 - (1) いずれの群においても死亡は認められなかった。
 - (2) 一般状態では、225および450 mg/kg群において、運動失調、活動低下、振戦、嘔吐、排便異常、流涎、瞳孔散大等が認められた。更に痙攣、虚脱、努力性呼吸も認められたことから、1日投与を休止した後、12.5および25 mg/kgに投与量を減量した。112 mg/kg群では活動低下、運動失調、痙攣、嘔吐、排便異常、瞳孔散大、流涎が認められた。50 mg/kg群でも排便異常が認められた。112mg/kg群ではさらに体重および摂餌量の減少も認められた。
 - (3) 臓器重量および肉眼的病理検査では、いずれの群においても検体投与に関連した影響は認められなかった。
 - (4) 以上のように、50mg/kg以上の投与において一般状態、112mg/kg群において体重あるいは摂餌量に検体投与による毒性変化が認められた。これらのことから、本試験における無毒性量は25mg/kg/日と考えられた。

2. イヌを用いた1年間経口投与毒性試験（投与量：0、7、20、60mg/kg/日、資料7-3）の結果は次のとおりである。
 - (1) いずれの群においても死亡は認められなかった。
 - (2) 一般状態では、いずれの群においても検体投与に関連した影響は認められなかった。また、体重、摂餌量および摂水量については毒性学的意義のある変化は認められなかった。
 - (3) 眼科学的検査および心電図検査では検体投与に関連した影響は認められなかった。
 - (4) 血液学的検査および血液生化学的検査では、いずれの群においても毒性学的意義のある変化は認められなかった。尿検査では検体投与に関連した影響は認められなかった。
 - (5) 臓器重量では、いずれの群においても毒性学的意義のある変化は認められなかった。肉眼的病理検査では、いずれの群においても検体投与に関連した影響は認められなかった。
 - (6) 病理組織学的検査では、いずれの群においても毒性学的意義のある変化は認められなかった。
 - (7) 以上のように、いずれの投与群においても検体投与に起因した毒性変化は認められなかったことから、本試験における無毒性量は60mg/kg/日であると考えられた。

3. 上記1、2にも記載の通り、4週間投与試験では50mg/kg以上の投与で一般状態に検体投与による毒性変化が認められ、さらに112mg/kg/日の投与では運動失調や痙攣等が認められるとともに体重や摂餌量も低値であったため、無毒性量は25mg/kg/日と考えられた。しかしながら、

50mg/kg の投与で認められた毒性変化は排便異常等の軽度な症状のみであり、その他重篤な毒性変化は認められず、また、1年間投与試験では60mg/kg/日投与においてこうした症状は認められなかったことから、50~60mg/kg/日が毒性発現の境界用量と考えられ、実質的には、無毒性量は25mg/kg/日より高い用量であると推定された。血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査および眼検査については、1年間投与試験において、3ヶ月投与時に実施されており、最高用量の60mg/kg/日において検体投与に関連した影響は認められなかった。臓器重量および病理組織学的検査については、中間屠殺による3ヶ月投与時の検査は未実施であるが、1年間投与終了時に臓器重量および病理組織学的検査において60mg/kg/日投与によってもなんら毒性変化が認められていないことから、投与3ヶ月後においても、これら検査において毒性変化は認められないと考えられた。以上のことから、ニテンピラム原体をイヌに90日間投与する試験を実施した場合の無毒性量は、50mg/kg/日以上かつ112mg/kg/日を下回るものと推定された。

4. 以上のように、4週間投与と1年間投与の比較から50~60mg/kg/日が反復投与時の毒性発現の境界用量となることが推定され、ニテンピラム原体をそれより高用量でイヌに90日間投与したと仮定した場合の毒性変化としては、4週間投与試験の高用量群で発現した諸症状や体重ならびに摂餌に対する影響などが同様に認められると想定され、その無毒性量は112mg/kg/日を下回るものと考えられた。したがって、イヌを用いた90日間投与による亜急性毒性試験については、4週間投与試験（資料5-3）および1年間投与試験（資料7-3）での結果から代替可能であり、試験実施の必要はないものと考えられる。

6. 反復経口投与神経毒性

ニテンピラム原体の反復経口投与神経毒性試験の省略理由

(資料 6)

ニテンピラムの反復経口投与神経毒性について、ラットに関連する毒性試験の結果から考察した。

1. ラットの90日間反復経口毒性試験からの考察

ラットの90日間反復経口毒性試験(資料番号5-1)において、以下のとおり特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(1) 詳細な状態の観察項目

① 外観

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

なお、2500 ppm 群(雄1例、雌2例)、5000 ppm 群(雄1例) および 10000 ppm 群(雌2例)が死亡したが、いずれも飼育あるいは検査に起因する事故によるものであった。

② 体位

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

③ 姿勢

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

④ 自律神経系機能

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑤ 歩行の異常

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑥ 動物の取り扱い操作及び環境刺激に対する反応

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑦ 神経系

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

⑧ 異常行動

特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

(2) 機能検査項目

自発運動量、刺激に対する感覚運動、握力について実施されていない。

(3) 病理組織学的検査項目

①脳

「脳」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

②坐骨神経

「坐骨神経」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

③骨格筋

「骨格筋」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

④脊髄

「脊髄」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

⑤下垂体

「下垂体」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

⑥眼球及びその付属器

「眼球及びその付属器」に関して、病理組織学的な異常を示す所見はなかった。

(4) その他の検査における特異的な神経毒性を示唆する所見

①脳重量

「脳重量」に関して、検体投与の影響は認められなかった。

②眼科学的検査

「眼科学的検査」に関して、検体投与の影響は認められなかった。

2. その他のラット反復投与試験からの考察

(1) ラットの2年間慢性毒性・発がん性試験(資料番号7-1)

最高用量群(雄:403 mg/kg/日、雌:529 mg/kg/日)においても、特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

(2) ラットの2世代繁殖試験(資料番号8-1)

最高用量群(親世代の雄:1397.1 mg/kg/日、
同雌:1827.5 mg/kg/日、児世代の雄:1788.9 mg/kg/日、同雌:2043.8 mg/kg/日)に
おいても、特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。

4. 既知神経毒性物質との化学構造の相関について

ニテンピラムはネオニコチノイド系（ピリジルメチルアミン系）の化合物である。同系類剤はニコチン性アセチルコリン受容体の阻害剤として作用することが知られている。その他の既知神経毒性物質との化学構造に相関はないものと考えられた。

5. 考察・結論

ニテンピラムは、ニコチン性アセチルコリン受容体の阻害作用を有するネオニコチノイド系（ピリジルメチルアミン系）の化合物であるが、ラットを用いた反復投与毒性試験において、特異的な神経毒性を示唆する所見ならびに病理組織学的変化は認められなかった。

以上のことから、ニテンピラムの反復経口投与神経毒性試験の実施の必要性はないものと考えられる。