

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

ラットを用いた混餌経口投与による13週亜急性神経毒性試験

(資料№49)

試験機関：ハンティントンライフサイエンス
(英国) [GLP 対応]
報告書作成年：1999年

供試薬剤： ホサロン

検体純度： %

供試動物： CrI:CD BR系ラット，1群雌雄各10匹，開始時約35日齢

投与期間： 13週間（1998年8月17日～1998年11月16日）

投与方法： 検体を60℃にてアセトン100gに溶解し，その溶液を300gの飼育飼料に混合，アセトンを除去後，この混合物を無添加飼料に所定量混ぜて，0、50、150および600ppmの濃度になるように調製した。13週間に亘って随時摂食させた。検体を混入した飼料は2週間に一回調製した。飼料中の検体投与濃度の実測値は，ほぼ設定通りであった。

用量設定根拠： 0、10、100/2400、300/4800、600および1200ppmの投与量で実施されたラット8週間反復経口投与毒性試験（資料№32）において，600ppm投与群雄は1、2週時に摂餌量が抑制されたこと，同用量雌雄において血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性が抑制されたこと，5週まで投与された100ppmでは体重，摂餌量に影響なく，血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性の抑制が僅かに見られたこと，10ppmはNOELであったことから，この試験の用量として，600ppmを最高用量，150ppmを中用量，50ppmを無作用量が得られる最低用量として選択した。

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を毎日観察した。死亡は認められなかった。

一般状態；一般状態を毎日観察した。投与の反応による症状はみられなかった。

体重変化；投与開始前，開始から毎週1回すべての動物の体重を測定した。

表1 体重変化（検体投与開始時から13週目までの体重増加量g）

投与量 ppm	雄				雌			
	0	50	150	600	0	50	150	600
体重増加量	300	299	307	275	152	138	136	110
比		100	102	92		91	89	72↓

Studentの検定及びWilliamsの検定 ↓：p>0.05、↓：p>0.01

600ppm群において，累積体重増が，雄で僅かに低下し，雌で統計学的に有意に低下した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

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。

摂餌量に影響はみられなかったが、投与開始後最初の数週間に雌の食餌効率の明白な初期の減少がみられた。

表2 食餌効率 = 摂餌量/体重増

週	雄				雌			
	0	50	150	600	0	50	150	600
1	3.8	4.0	4.3	5.0	5.5	6.4	5.7	13.7
2	5.2	5.4	5.5	5.4	7.7	10.6	8.8	10.6
3	6.1	5.8	5.6	6.2	11.0	10.8	12.6	12.1

統計検定未実施

表3 平均検体摂取量

投与量(ppm)		50	150	600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	3.9	11.5	45.9
	雌	4.4	12.6	56.0

神経毒性学的検査

機能観察バッテリーデータ

詳細な状態観察；投与開始前、投与後4、8及び13週時に各群雌雄各10匹を対象として、以下の項目の測定を行った。

飼育ケージ観察：①ケージ内での姿勢 ②痙攣、振戦、筋攣縮の存在 ③自発発声の存在 ④眼瞼閉鎖状態

手 中 での 観 察：⑤ラットをケージから容易に取り出せる ⑥ラットを容易にハンドリングできる ⑦痙攣、振戦、筋攣縮の存在 ⑧流涎/流涙 ⑨眼瞼閉鎖状態 ⑩眼球突出 ⑪立毛 ⑫ハンドリング時の発声

アリーナでの観察：⑬痙攣、振戦、筋攣縮の発現 ⑭アリーナでの運動レベル ⑮覚醒レベル ⑯立ち上がり回数 ⑰グルーミング ⑱歩行評価 ⑲糞便、尿の存在の記録

操 作：接近反応 接触反応 驚愕反応 立ち直り反射 テイルピンチ反応 瞳孔反応

握 力：前肢及び後肢

着 地 開 脚

体 温

体 重

自発運動量：Coulbourn 赤外線自発運動モニタリングシステム (Infra-Red Activity Monitoring System) を用いて測定した。

対照区と比較して統計学的有意差が認められた項目を以下の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

機能観察バッテリーデータ

表4 観察評価項目のうち有意な差異があったもの

性別	検査時期(週)	4				8				13			
	投与量(ppm)	0	50	150	600	0	50	150	600	0	50	150	600
雄	つま先歩行	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2
	脱毛の発生	-	-	-	-	-	-	-	-	2	7	3	2
	異常な毛づくろい	-	-	-	-	-	-	-	-	8	5	8	8
雌	つま先歩行	7	7	6	8	5	9	10 b	9 a	8	8	8	9
	脱毛の発生	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	3	3c
	異常な毛づくろい	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	3	5d

Williamsの検定: aip \geq 0.012 b \geq 0.005 c \geq 0.032 d \geq 0.003

∴観察されなかった

第8週目において他の変化がない中で対照群と比較して投与群の雌の多くにつま先歩行が観察され、150ppmあるいは600ppm投与群で統計学的に有意に増加したが、前後の検査で観察されず、また雄では全く観察されていないことから偶発的なものであると考えられた。又、第13週に、600ppm投与群で雌の脱毛及び毛づくろいの悪い外観の発生率が対照群に比較して統計学的に有意に増加したが、同様の症状は雄では見られなかった。この症状は、非特異的な症状であると考えられた。

表5 握力(前肢,後肢)(kg)、着地開脚(cm)及び体重(kg)

性別	検査時期(週)	4				8				13			
	投与量(ppm)	0	50	150	600	0	50	150	600	0	50	150	600
雄	握力 前肢	1.12	1.15	1.10	0.94↓	1.01	0.93	1.03	0.90	1.11	0.97	1.13	0.87
	握力 後肢	0.49	0.46	0.47	0.46	0.80	0.74	0.70	0.75	0.90	0.74	0.82	0.87
	着地開脚	9.1	8.7	8.3	7.9	9.9	8.9	9.0	8.6	9.9	9.7	8.7	8.0↓
	平均体重	334	334	331	320	429	431	433	412	500	504	509	480
雌	握力 前肢	0.96	0.95	1.07	0.85	0.90	0.80	0.90	0.76	0.94	0.84	0.80	0.79
	握力 後肢	0.41	0.35	0.48	0.32↓	0.80	0.71	0.79	0.62↓	0.82	0.71	0.79	0.65↓
	着地開脚	8.5	7.3	8.5	7.0	8.9	8.2	8.9	8.0	10.1	8.1↓	8.8↓	8.5↓
	平均体重	242	239	241	220↓	294	283	281	258↓	325	312	310	286↓

Williamsの検定: ↓p>0.05、↓p>0.01

ホサロン投与による影響は、600mg投与群においてのみ有意に観察された。

先ず、雄については、前肢握力が対照群に比べ全期間低い値を示した。特に初期の第4週目は統計学的に有意な差だった。

次に雌については、前肢握力が対照群に比べ有意差がなかったが、後肢握力が各検査時期において対照群と比べ統計学的に有意に低下した。

ホサロンの13週間投与後、600ppmを投与した雌の間で後肢握力が全期間で低下したが、この変化は平均体重が低い条件下で観察された。これは体重の共分散分析から、体重低下が低い握力に関与した要因であったと考えられた。

雄の着地開脚が、第13週で対応する対照群に比べて統計学的に有意に低下した。雌の着地開脚が、全投与群の平均値が対照群より低かった。

体重については、雄の体重はわずかに低い傾向を示したが、差異は統計学的に有意ではなかった。雌の場合いずれの検査時期も600ppm投与群が対照群と比較して統計学的に有意に減少した。

第13週の着地開脚について雄の600ppm群及び雌の全投与群において統計学的に有意に低下した。雌に関して、ホサロンの効果を再検討すると、第13週の対照群の雌のベースラインが、それ以前(第4週及び第8週)のベースラインよりも高かつ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

たことが判明した。また用量相関性も認められなかった。

600ppm 群の雄の開脚に関しては、投与前の開脚値 (7.5cm) が対照群 (8.1cm) と比較してこれらの動物の間で小さかったことが認められたので、その影響だったと考えられる。

従って、神経毒性を示唆すると考えられる行動変化は観察されなかったと判断された。

コリンエステラーゼ活性の測定：

コリンエステラーゼレベルの測定のために、雌雄各 10 匹のラットで構成された追加動物群を本試験に使用した。

投与前(全動物)、第 4 週及び第 8 週 (追加動物群のみ)、第 13 週に主群から各 5 匹ずつから血液を採取して血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性を測定した。第 4 週の採血後に追加動物群の半数を殺処分し、第 8 週の血液採取後、追加動物群の残りの半数を殺処分し、脳を摘出し、脳のコリンエステラーゼレベルを測定した。第 13 週は主群の半数を殺処分し脳のコリンエステラーゼレベルを測定した。

表 6 コリンエステラーゼ活性 (血漿<P-ChE>, 赤血球<E-ChE>, 脳<脳 ChE>)

検査時期	雌雄別	雄			雌		
		50	150	600	50	150	600
投与前	P-ChE						
	E-ChE	↑150	↑146				
4w	P-ChE	↓92	↓67	↓25	↓66	↓43	↓12
	E-ChE				↓80	↓67	↓64
	脳 ChE			↓47		↓72	↓20
8w	P-ChE		↓64	↓25	↓57	↓39	↓10
	E-ChE		↓63	↓71			
	脳 ChE	↓75	↓64	↓28		↓71	↓23
13w	P-ChE		↓60	↓24	↓68	↓39	↓11
	E-ChE		↓51	↓41	↓63	↓64	↓63
	脳 ChE		↓84	↓40		↓86	↓23

活性を無処理に対する割合%で表した

Williamsの検定： ↓ p>0.05、 ↑↓ p>0.01

600ppm 群において、血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性は、片性のみが影響を受けるといった若干の変動はあったが、全体的に有意に低下した。また、投与量が増えるに伴って低下する関係が認められた。

脳コリンエステラーゼレベルは全ての検査時期において統計学的に有意に低下した。150ppm 群において、雄の第 4 週の赤血球及び脳のコリンエステラーゼ活性と雌の第 8 週の赤血球のコリンエステラーゼ活性を除いた、血漿、赤血球及び脳のコリンエステラーゼ活性が有意に低下した。

50ppm 群において、第 4 週の雄及び試験期間全体におよぶ雌の血漿コリンエステラーゼレベルが低下した。赤血球レベルは第 4 週及び第 13 週の雌においてのみ影響がみられた。

50ppm 群の雄の脳コリンエステラーゼレベルが第 8 週において有意な減少が認められたが末梢コリンエステラーゼの抑制がなかったこと、第 13 週においては影響が存在しなかったこと。そしてより感受性の高い雌において影響が見られなかったこと等により第 8 週雄の脳コリンエステラーゼレベルの有意な減少は生物学的意義の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C B C株式会社にある。

脳検査項目：脳は第1頸神経上の脊髄から横に切断され、嗅葉を取り除いた。大脳半球の前部と小脳の最も尾部の間の長さを測定し、大脳半球の最も広い部分の間の幅を測定した。脳重量も測定した。

脳重量及び脳の測定項目は投与群及び対照群の間で概して同程度であった。

神経病理学：対照群及び高用量群の雌雄各5匹を灌流固定し、脳、脊髄、神経節及び神経線維の背根及び腹側根を光学顕微鏡検査した。

検査した神経組織切片においてホサロンの投与に関連すると考えられた病理組織学的所見は認められなかった。

結論：一般毒性に基づく無影響量は150ppm（雄：11.5mg/kg/日及び雌：12.6mg/kg/日に相当）であった。試験実施中に神経毒性（行動変化）の証拠は認められず、投与13週後の神経病理学的影響もみられなかったため、神経毒性及び神経病理学的無影響量は600ppm（雄で45.9mg/kg/日及び雌で56mg/kg/日）以上であった。

血漿及び赤血球レベルのコリンエステラーゼ活性に対する影響は全投与レベルで統計学的に有意な低下を示した。本試験においてはコリンエステラーゼの全測定時において脳コリンエステラーゼも合わせて測定されており、50ppmにおいて影響が見られなかったことから血漿及び赤血球レベルのコリンエステラーゼ活性の低下は毒性学的に有意とは考えなかった。

脳コリンエステラーゼ活性に対する影響は、150及び600ppm群に認められたため無毒性量（NOAEL）は、50ppm（雄で3.9mg/kg/日及び雌で4.4mg/kg/日に相当）であると決定された。

(7) 反復投与遅発性神経毒性

ニワトリにおける神経脱髄試験

(資料No.11)

試験機関：Woodard Research (米国)

報告書作成年：1966年

検体純度：ホサロン原体

試験動物：ニワトリ (品種White Leghorn雌鶏)、2~3年齢
(体重約2 kg)、1群10羽

投与期間：45日間

方法：検体及び陽性対照TOCPをあらかじめアセトンに溶解し、少量の麦芽汁と混合したのち飼料を十分混合した。飼料中の濃度を50、163、500ppmに調整し、この飼料を1日当たり125gを45日間投与した。実摂取量は残存飼料を毎日測定して算出した。陽性対照化合物のTOCPの飼料中濃度は500ppmとしホサロンの場合と同様の方法で投与した。

検体摂取量(申請者が計算)

投与群	検体摂取量 mg/kg/日
50ppm	2.82
163ppm	8.60
500ppm	29.01

試験項目：投与開始前3週間の馴化期間をおいた。飼料摂取量、産卵量、糞の硬さを毎日記録した。観察はとさか、肉垂、脚、羽の位置、捕捉の状態及び卵の品質などを毎日観察した。更に週1回、体重測定、総排泄孔の検査、神経筋の衰弱及び脚の麻痺の徴候等を観察した。実験終了時には全生存鶏を断首して剖検を行うとともに、肝及び脳の重量を記録し対照群、検体500ppm投与群およびTOCP群の脳、脊髓及び坐骨神経の切片について組織病理学検査を行った。

産卵量

ホサロン投与群の産卵量は500及び163ppm両群についてやや少なかった。TOCP投与群の産卵数は、実験の2週目以降ほとんど0になった。各群の産卵数の合計の比較は下記の通りである。

飼料中の化合物濃度 (ppm)	総産卵数
無処理	181
ホサロン 50	197
ホサロン 163	164
ホサロン 500	121
TOCP 500	↓40

Dunnet 検定 \downarrow : $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

臓器重量

肝臓及び脳の重量表

飼料中の化合物濃度 (ppm)	絶対臓器重量の平均値 (対対照群%)	
	肝臓	脳
ホサロン 50	111	99
ホサロン 163	↓ 129	99
ホサロン 500	↓ 127	100
TOCP 500	↓ 52	94

Dunnet検定 ↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01

結果：陽性対照群以外で実験期間中に死亡した動物はいなかった。対照TOCP群では半数の5羽が死亡した。163ppmおよび50ppm投与群の平均体重増加は、対照群と変わらないが、500ppm投与群では体重減少が認められた。TOCP群では、著しい体重減少が認められた。飼料摂取量は、500ppm投与群の2羽を除けば、対照群と同じであった。TOCP群では飼料摂取量は著しく抑制された。産卵量は500、163ppm両投与群でやや影響があり、TOCP群では投与2週目以降ほとんど産卵しなかった。麻痺作用は、TOCP群では実験13日目に趾の下方屈曲等の麻痺が認められ、バランスを失ったり立ち直り反射が異常になり、次いで全身の衰弱などが認められ死亡動物が発生した。検体投与群では麻痺の徴候は認められず、500および163ppm投与群の一部の動物に、とさか及び肉垂の淡色化及び間欠的な下痢を認めた以外は対照群との差はなかった。肝及び脳の重量を測定した結果は500、163ppm投与群で肝の重量がやや増加した。TOCP群では肝、脳ともに重量の減少が明らかであった。組織病理検査の結果、検体投与群では脳、脊髓及び末梢神経ともに特記すべき異常はなく、TOCP群では末梢神経及び脊髓前側柱に軽度の病巣的脱随が疑われた。

以上の結果から、ホサロンを飼料混入し45日間の連続経口投与したが、500ppm投与群および163ppm投与群に産卵数の軽度の減少、肝の軽度の重量増加が認められた以外は対照群と差はなく臨床像も組織病理所見も正常の範囲内にあることから、ホサロンの神経毒性はないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

(8) 慢性毒性及び発がん性

ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料No.14)

試験機関：Woodard Research (米国)

報告書作成年：1967年

検体の純度：原体

試験動物：Charles River/CD アルビノラット 一群雌雄各 30 匹

試験期間：104 週間

投与方法：検体を 0、25、50 及び 250ppm になるように飼料に混合し、投与した。検体を混入した飼料の調製は 4 週間に 1 度行った。なお、検体摂取量 (mg/kg/日) を一定にするために投与量 0、2.5、5 および 25 mg/kg を指標として、最初の 4 週間は飼料中の検体濃度をそれぞれ 0、12.5、25、および 125ppm として 5 週目からは、倍量の 0、25、50 および 250ppm とした。

検体摂取量

群	1~4 週 ppm	5~53 週 ppm	検体摂取量 mg/kg
II	12.5	25	2.5
III	25	50	5
IV	125	250	25

試験項目及び結果

一般状態及び死亡率：一般状態及び行動を週に一回体重測定時に観察した。呼吸困難、軟便等の症状が観察されたが、中高用量では認められないので、検体投与に起因するものとは考えられなかった。

	0		25ppm		50ppm		250ppm	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
呼吸困難	13	4	↓5	3	7	1	11	1
軟便	5	0	↑13	3	8	1	5	4

Fisher の正確確率検定 ↑↓ $p < 0.05\%$ (申請者による検定)

試験終了時の死亡率は次表のとおりで投与群と対照群の間に差はみられなかった。

群(ppm)	0	25	50	250
雄	43	43	50	43
雌	27	27	27	23

体重変化：週 1 回測定した。いずれの投与群とも、対照群との差はみられなかった。

摂餌量：体重測定時に前週の摂餌量を測定した。投与群と対照群に差はみられなかった。

血液学的検査：各群より雌雄各 5 匹を選び、対照群と 250ppm 投与群では、投与開始後 7、13、20、26、41、52、78、90、104 週に、50ppm 投与群では 13、52、78、104 週に、25ppm 投与群では、54、104 週にヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数及び白血球分画について測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

週	用量群 ppm	ヘモグロビン		ヘマトクリット		白血球数		桿状核球		分葉核球		好酸球	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
7	250			↓94		(82)	(100)					↓17	↑500
13	50					(72)	(72)					↓54	↓32
	250			↓95		(88)	(104)					↓62	
20	250				↓97	(102)	(108)						↓13
26	250	↑108		↑105		(87)	(116)		↑139				
41	250					(98)	(101)						
52	25	↓85		↓92		(99)	(140)						
	50	↓90				(108)	(92)						
	250					(95)	(110)						
78	50			↓92		(103)	(84)						
	250					(70)	(97)						
90	250					(92)	(101)						
104	25					(70)	(119)						
	50					(103)	(135)					↓22	
	250					(99)	(115)					↓22	

Student-t 検定 或は Dunnett検定 ↑↓: p<0.05、↓↑: p<0.01 (申請者による検定)

() 参考値。表中の数値は対照群を100とした場合の値

ヘモグロビンの低下が散発的に認められた。また白血球数のわずかな増加が全群の動物に散発的に観察されたがこれらは老化と関連したものであった。

申請者注: 統計計算が申請者によって実施された。統計的に有意な変化が認められたが、いずれも散発的であり、検体投与による影響とは認められなかった。

血液生化学的検査: 各群より雌雄各5匹を選び、6、13、26、39、53および74週に、赤血球および血漿コリンエステラーゼ (ChE) について Flawley 等の方法により測定した。また試験終了時に各群雌雄各12匹について同様の検査を行った。脳 ChE 活性は試験終了時に各群雌雄各5匹について測定した。

週	雄 (ppm)			雌 (ppm)		
	25	50	250	25	50	250
血漿コリンエステラーゼ (%対照値)						
6			↓49			↓36
13			↓46			↓67
26	↓63	↓62	↓33			↓58
39			↓26			↓58
53						↓44
74						↓61
104				↑134		
赤血球コリンエステラーゼ (%対照値)						
6	↓86	↓75	↓36	↓77	↓75	↓29
13		↓80	↓37			↓48
26		↓78	↓25		↓77	↓29
39		↓78	↓37		↓83	↓32
53		↓84	↓32			↓39
74			↓57		↓77	↓57
104		↓66			↓70	↓33
脳コリンエステラーゼ (%対照値)						
104	(99)	(86)	↓78	(91)	(105)	(85)

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05、↓↑: p<0.01 で有意差あり (申請者による検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

250ppm 投与群において雌雄ともに血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性阻害の抑制が認められ、雄の脳コリンエステラーゼ阻害が認められた。50ppm では血漿コリンエステラーゼ活性阻害は雌雄ともにほとんど抑制は認められなかったが、赤血球コリンエステラーゼは軽度の阻害が認められた。しかし脳コリンエステラーゼ活性阻害は認められなかった。25ppm では血漿、赤血球および脳コリンエステラーゼ活性阻害は認められなかった。

臓器重量： 試験終了時、全生存動物を対象として解剖ののち、下垂体、甲状腺、肝、腎、副腎、卵巣、子宮、精巣、前立腺、精嚢、肺、心、脾及び脳の重量を測定した。又、体重比も算出した。年齢に相関した変化が認められたが、検体投与による影響は認められなかった。

		雄			雌		
		25	50	250	25	50	250
副腎	絶対重量		↑ 127				
	相対重量		↑ 136				

Dunnett 検定 ↑↓ : p<0.05、⇕⇓ : p<0.01 (申請者による検定)

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

申請者注：申請者により臓器重量の統計検定を実施した結果、副腎重量の有意な増加がみられたが、用量依存性は認められず、投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査：試験終了時（103～104 週）の全生存動物および途中死亡動物について肉眼的病理検査を行った。主な所見とし、肺のうっ血が各投与群の動物に共通して認められた。

所見	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	25	50	250	0	25	50	250
検査動物数	30	30	30	30	30	30	30	30
肺の出血	1	1	0	0	0	0	0	1
肺のうっ血	0	2	1	1	1	1	0	0

病理組織学的検査：上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として重量測定臓器を含め、リンパ節、胃、小腸*、脾、膀胱*、骨髄、骨格筋*、眼、皮膚、脊髄*、乳腺、および腫瘤について病理標本作製し検鏡した。

*：対照群と 250ppm 群のみ。

観察された全ての非腫瘍性病変を表 1 (最終屠殺) および表 2 (死亡・切迫屠殺) に、観察された全ての腫瘍性病変を表 3 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C B C株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変

		性別		雄				雌			
		投与群(ppm)		0	25	50	250	0	25	50	250
		所見/検査動物数		17	17	16	17	23	22	23	23
最終屠殺	肝臓	うっ血	軽度	0	0	0	1	0	0	0	1
			中等度	11	10	7	15	13	19	20	20
			高度	5	3	8	1	6	2	0	0
			合計	16	13	15	17	19	21	20	21
		実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巣		5	4	5	7	6	6	7	10
		実質細胞空胞化	極軽微	8	3	7	6	11	7	13	8
			軽微	0	0	3	0	1	2	2	3
			中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
			合計	8	3	10	6	12	9	15	12
		過形成	極軽微	0	0	0	0	2	2	2	3
			軽微	0	0	1	0	1	2	1	0
	中等度		0	0	0	0	0	0	1	1	
	合計		0	0	1	0	3	4	4	4	
	毛細血管拡張症		0	0	0	1	0	0	0	0	
	肝細胞肥大	極軽微	9	5	3	11	10	9	4	11	
		軽微	4	11	9	5	11	12	15	10	
		中等度	1	0	3	1	1	1	3	2	
		合計	14	16	15	17	21	22	22	23	
	巣状壊死		1	0	0	1	1	0	0	1	
	髄外造血の亢進		0	0	0	0	2	0	2	3	
腎臓	うっ血	中等度	9	6	2	9	13	17	14	12	
		重度	0	0	1	0	0	0	0	0	
		合計	9	6	3	9	13	17	14	12	
	実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巣		16	14	15	16	13	14	11	17	
	石灰化巣；結石		1	2	0	0	4	5	4	5	
	尿細管変性	極軽微	9	7	2	9	15	18	13	17	
		軽微	4	3	4	5	5	2	3	4	
		中等度	3	4	5	3	2	1	3	2	
		重度	2	2	2	0	0	0	1	0	
		強度	0	0	2	0	0	0	2	0	
	合計	18	16	15	17	22	21	22	23		
水腎症		0	1	0	0	0	1	0	1		
嚢胞		1	0	0	0	0	0	1	0		
心臓	うっ血	軽度	0	0	0	0	0	0	0	1	
		中等度	14	8	7	13	12	9	10	6	
		重度	1	1	0	0	0	1	1	0	
		合計	15	9	7	13	12	10	11	7	
	実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巣		14	6	10	11	7	1	11	0	
毛細血管拡張症		0	1	0	0	0	0	0	0		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変 (続き)

		性別		雄				雌			
		投与群(ppm)		0	25	50	250	0	25	50	250
		所見/検査動物数		17	17	16	17	23	22	23	23
最終屠殺	脾臓	出血		0	0	1	0	0	0	0	0
		色素沈着	極軽微	0	0	0	1	2	0	0	0
			軽微	0	0	0	1	2	0	0	1
			中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
			合計	0	0	0	2	5	0	0	1
		髄外造血の亢進		0	0	0	2	2	0	0	2
	肺	うっ血	軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
			中等度	1	1	0	1	2	0	0	2
			重度	0	0	0	0	0	1	0	0
			強度	1	1	0	0	1	0	0	0
			合計	2	2	0	1	3	1	0	3
		膿瘍		1	1	0	1	0	0	0	0
		細動脈硬化症		0	0	0	1	0	0	0	0
		限局性肺炎		2	0	0	1	0	0	0	1
		肺胞中隔の肥厚、気管支周囲および細気管支周囲細胞の限局性マクロファージ及び円形細胞浸潤	極軽微	3	0	0	5	3	1	0	5
			軽微	10	2	0	2	5	2	0	5
	中等度		0	0	0	0	1	0	0	0	
	合計		13	2	0	7	9	3	0	10	
	副腎	うっ血	中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
			重度	0	0	0	0	1	0	0	1
			合計	0	0	0	0	1	0	0	2
		実質細胞空胞化		重度	0	0	1	0	0	0	0
		過形成 ^a	軽微	0	0	1	0	0	0	0	0
			中等度	0	0	1	0	0	0	0	0
			合計	0	0	2	0	0	0	0	0
	出血性嚢胞		0	1	1	0	7	5	8	6	
	嚢胞		0	0	0	0	1	1	0	0	
	甲状腺	出血性嚢胞		1	0	0	0	0	0	0	0
		嚢胞		1	0	0	0	0	0	0	0
	脳下垂体	過形成	軽微	0	0	0	0	0	1	0	0
リンパ節	うっ血		重度	1	0	0	0	0	0	0	
	肉芽腫		0	0	0	0	0	0	0	1	
	過形成	中等度	0	0	0	0	0	0	0	1	
	浮腫		0	0	0	0	0	0	0	1	
生殖腺	細動脈硬化症		3	0	0	4	0	0	0	0	
	精細管の変性および精子形成の低下	軽微	1*	0	0	0	0	0	0	0	
		中等度	0	0	0	1	0	0	0	0	
		重度	0	0	1	0	0	0	0	0	
		合計	1	0	1	1	0	0	0	0	
嚢胞		0	0	0	0	0	0	1*	1*		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変 (続き)

		性別		雄				雌			
		投与群(ppm)		0	25	50	250	0	25	50	250
		所見/検査動物数		17	17	16	17	23	22	23	23
最終屠殺	子宮/ 前立腺	急性炎症細胞湿潤		0	0	0	0	1	0	0	0
		膿瘍		0	1	0	1	0	1	1	0
		萎縮		1	0	0	0	0	0	0	0
		嚢胞		0	0	0	0	0	0	1	1
	膵臓	うっ血	中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
		動脈炎		0	1	0	0	0	0	0	0
	脳	実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巢		0	0	0	0	0	0	0	1
		軟化症の小病巣		4	0	0	2	4	0	0	0
	脊髄	軟化症の小病巣		2**/8	0	0	8	9	0	0	1**/8
	骨髄	過形成 ^b	極軽微	0	1	0	0	1	1	0	0
			軽微	0	0	1	0	1	0	0	2
			合計	0	1	1	0	2	1	0	2
	皮膚	肉芽腫		0	1	1	0	1	0	0	0
		嚢胞		0	0	0	0	0	0	1	0
		潰瘍		0	1	1	0	0	0	0	0
	眼	萎縮		0	0	1	0	0	0	0	0
		涙腺炎		1	0	4	4	2	1	3	4
		全眼球炎		0	1	0	0	0	0	0	0
		限局性脈絡網膜症		0	1*	0	0	0	0	0	0
	乳腺	過形成	極軽微	0	0	0	0	0	1	0	0
	腫瘤	肉芽腫		0	0	0	1	0	0	0	0
		巣状壊死		0	0	0	1	0	0	0	0
		腸間膜動脈：血管炎		0	0	1	0	0	0	0	0

*正常範囲 **脊髄神経根

Fisher の正確確率検定：↑↓：p<0.05 ↑↓：p<0.01 (申請者が計算)

a：本報告書においては皮質か髄質かの記載なし

b：本報告書においては赤芽球系か顆粒球系かの記載なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 2 非腫瘍性病変

		性別	雄				雌				
		投与群(ppm)	0	25	50	250	0	25	50	250	
		所見/検査動物数	13	13	14	13	7	8	7	7	
死亡・切迫屠殺	肝臓	うっ血	中等度	1	0	2	1	1	0	1	0
			重度	3	3	1	1	1	3	0	1
			強度	0	1	1	2	3	1	1	0
			合計	4	4	4	4	5	4	2	1
		実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巣		0	0	1	0	0	1	0	0
		実質細胞空胞化	極軽微	0	2	2	0	1	0	0	0
			軽微	0	1	0	1	2	0	0	0
			中等度	0	0	1	0	1	1	0	0
			重度	0	0	0	0	0	0	2	0
			合計	0	3	3	1	4	1	2	0
	過形成	極軽微	0	0	0	0	0	0	0	1	
	肝細胞肥大	極軽微	1	0	0	0	0	0	0	0	
		軽微	1	1	3	1	0	1	1	0	
		中等度	2	3	3	3	2	3	1	1	
		重度	0	1	0	0	3	0	0	0	
	合計	4	5	6	4	5	4	2	1		
	髓外造血の亢進		1	0	0	0	0	0	0	0	
自己融解		0	0	2	2	0	1	0	0		
腎臓	うっ血	中等度	1	0	1	2	0	2	1	0	
		重度	1	1	2	2	5	3	0	1	
		強度	0	1	0	0	0	0	1	0	
		合計	2	2	3	4	5	5	2	1	
	出血		0	0	1	0	0	0	0	0	
	実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巣		2	4	3	2	1	2	0	0	
	膿瘍		0	0	1	0	0	0	0	0	
	石灰化巣；結石		1	1	0	0	0	0	1	0	
	尿細管変性	極軽微	2	0	3	3	3	0	1	0	
		軽微	1	1	1	0	0	2	1	0	
		中等度	0	1	0	1	0	0	0	1	
		重度	0	2	1	0	0	0	0	0	
		強度	0	1	0	0	0	0	0	0	
合計	3	4	5	4	3	2	2	1			
巣状壊死		0	0	1	0	0	0	0	0		
自己融解		1	1	2	3	1	3	0	1		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表2 非腫瘍性病変 (続き)

		性別		雄				雌			
		投与群(ppm)		0	25	50	250	0	25	50	250
		所見/検査動物数		13	13	14	13	7	8	7	7
死亡・切迫屠殺	心臓	うっ血	中等度	0	1	2	0	0	0	1	1
			重度	0	1	0	0	0	1	0	0
			合計	0	2	2	0	0	1	1	1
		実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巣		0	2	0	1	0	0	1	0
		石灰化巣；結石		0	1	0	0	0	0	0	0
		自己融解		1	1	0	2	0	2	0	0
	脾臓	うっ血	中等度	0	0	1	0	0	0	0	0
			実質の慢性炎症、マクロファージ及び円形細胞巣		0	0	1	0	0	0	0
		色素沈着	極軽微	0	0	0	0	0	1	0	0
			軽微	0	2	1	2	2	0	0	0
			中等度	0	0	0	0	0	1	0	1
			合計	0	2	1	2	2	2	0	1
	髓外造血の亢進		1	1	2	0	2	0	0	0	
	自己融解		1	0	1	2	0	1	0	0	
	肺	うっ血	中等度	1	0	0	0	0	0	0	0
			重度	1	4	0	0	3	2	0	0
			強度	1	1	3	2	0	3	1	0
			合計	3	5	3	2	3	5	1	0
		膿瘍		0	1	0	0	2	0	0	0
		細動脈硬化症		0	0	0	0	1	0	0	0
限局性肺炎		0	2	0	1	0	0	0	0		
浮腫		2	0	1	0	0	0	1	0		
肺胞中隔の肥厚、気管支周囲および細気管支周囲細胞の限局性マクロファージ及び円形細胞浸潤		極軽微	0	0	1	1	2	2	0	1	
		軽微	0	2	0	0	0	0	0	0	
	合計	0	2	1	1	2	2	0	1		
自己融解		2	1	1	2	0	0	0	0		
副腎	うっ血	強度	0	0	0	0	1	1	0	1	
		萎縮	0	0	0	1	0	0	0	0	
	出血性嚢胞		0	0	0	0	2	0	0	0	
	自己融解		2	0	0	3	0	3	0	0	
甲状腺	自己融解		0	0	1	3	0	1	0	0	
脳下垂体	過形成	軽微	0	0	1	0	0	0	0	0	
	自己融解		1	0	0	1	0	0	0	0	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 2 非腫瘍性病変 (続き)

		性別		雄				雌			
		投与群(ppm)		0	25	50	250	0	25	50	250
		所見/検査動物数		13	13	14	13	7	8	7	7
死亡・ 切迫屠殺	生殖腺	うっ血	重度	0	0	1	0	0	0	0	0
		精細管の変性および精子形成低下	軽微	1	0	0	1	0	0	0	0
			重度	0	0	1	0	0	0	0	0
			合計	1	0	1	1	0	0	0	0
		自己融解		0	1	0	2	0	0	0	0
	胃	潰瘍		0	0	0	0	0	1	0	0
		自己融解		0	0	0	4	0	1	0	0
	小腸	自己融解		0	0	0	1	0	0	0	0
	膵臓	自己融解		0	0	0	1	0	0	0	0
	膀胱	自己融解		0	0	0	1	0	1	0	0
	脳	うっ血	重度	0	0	0	1	0	0	0	0
		軟化性小病巣		1	0	2	1	0	0	1	0
		自己融解		0	0	0	1	1	0	0	0
	脊髄	軟化性小病巣		0	0	0	0	0	0	1	0
	骨髄	うっ血	重度	0	0	1	0	0	0	0	0
		過形成	軽微	0	0	0	1	0	0	0	0
			中等度	0	0	0	1	0	0	0	0
			合計	0	0	0	2	0	0	0	0
	皮膚	肉芽腫		0	0	0	2	0	0	0	0
		潰瘍		0	0	0	3	0	0	0	0
		自己融解		0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	うっ血	強度	0	0	0	0	0	0	0	1
	腫瘍	膿瘍		0	0	1	0	0	0	0	0
		自己融解		0	1	0	0	0	0	0	0

Fisher の正確確率検定 : $\uparrow\downarrow$: $p < 0.05$ $\uparrow\downarrow$: $p < 0.01$ (申請者が計算)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 3 腫瘍性病変

	性別	雄				雌					
		投与群 (ppm)		0	25	50	250	0	25	50	250
		所見/検査動物数		17	17	16	17	23	22	23	23
最終屠殺	肝臓	リンパ腫	1	0	0	0	0	0	0	0	
	腎臓	腺癌	0	0	2	0	0	0	0	0	
		脂肪腫	0	0	0	0	0	0	0	1	
	脾臓	リンパ腫	1	0	0	0	0	0	0	0	
	副腎	神経芽細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0	
	甲状腺	腺腫	0	0	1	0	0	1	0	0	
		腺癌	0	2	1	0	1	1	1	0	
	脳下垂体	腺腫	3	5	3	1	12	8	7	6	
	リンパ節	肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	
	生殖腺	顆粒膜/莢膜細胞腫	0	0	0	0	0	1*	0	0	
	子宮/ 前立腺	ポリープ	0	0	0	0	0	↑5	0	0	
	膀胱	ポリープ	0	0	0	0	0	0	0	1	
	脳	神経膠腫	0	0	0	1	0	0	0	0	
	皮膚	肉腫	0	1	0	0	0	1	0	0	
		類表皮癌	0	1	0	0	0	0	0	0	
	乳腺	線維腺腫	0	1	0	1	4	3	0	1	
		腺腫	0	0	0	0	7	7	2	2	
		腺癌	0	0	0	0	2	0	2	1	
嚢胞腺腫		0	0	0	0	0	0	0	2		
腫瘤	腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0		
	肉腫	0	0	0	1	0	1	0	1		
	脂肪腫	0	0	0	2	0	1	0	2		
	線維腫	0	1	0	0	0	0	0	0		
死亡・ 切迫屠殺	肝臓	転移性腫瘍	0	1	0	0	0	0	0	0	
	腎臓	腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0	
		脂肪腫	0	0	1	0	0	0	0	0	
	甲状腺	腺癌	0	0	1	0	0	0	0	0	
	脳下垂体	腺腫	1	1	1	1	1	3	1	0	
	脳	神経膠腫	0	0	0	0	0	0	0	0	
	表皮	肉腫	0	0	0	2	0	0	0	0	
	乳腺	線維腺腫	0	0	0	0	0	1	1	1	
		腺腫	0	0	0	0	1	2	1	0	
	腫瘤	肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	
脂肪腫		1	0	0	0	0	0	0	0		

Fisher の正確確率検定 : $\uparrow\downarrow$: $p < 0.05$ $\uparrow\downarrow$: $p < 0.01$ (申請者が計算)

*正常範囲内

非腫瘍性病変

検体投与によると思われる所見は認められなかった。

腫瘍性病変

腫瘍発生頻度に関して検体投与による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C B C株式会社にある。

以上の結果より、250ppm 投与群雌雄で赤血球および血漿 ChE の顕著な阻害が認められ、雄の脳コリンエステラーゼ活性阻害が認められた。50 ppm 投与群では雄にわずかな赤血球 ChE の阻害（25～33%）が認められたのみで、脳コリンエステラーゼには影響が認められなかった。体重、摂餌量、血液学的検査、臓器重量および肉眼的検査において検体投与による影響は認められなかった。

従って、本試験では本剤の最大無作用量は 50ppm と考えられる。また、どの投与用量群でも腫瘍性は認められず、本剤の催腫瘍性はないものと考えられる。

申請者注：

本試験ではNOAELが求められなかったが、JMPR1993では250 ppm 投与群雌雄で脳ChEの阻害が認められたことよりNOAELは50ppmとしており、申請者もこの用量をNOAELと考える(雌雄5 mg /kg bw/日)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験

(資料No.37)

試験機関：Huntingdon Research Centre
(英国) [GLP 対応]

報告書作成年：1993年

検体純度：ホサロン原体 %

供試動物：Charles River (USA) CD ラット (Sprague-Dailey 系) 開始時 6 週齢

主群 雌雄各 50 匹、

衛星群 雌雄各 15 匹 (対照群、低中用量群) ~25 匹 (高用量群)

*衛星群は投与 52 週目に中間屠殺した。

試験期間：104 週 (1990 年 8 月 29 日~1992 年 9 月 11 日)

投与方法：検体は、0、5、50 及び 1000/500ppm*の濃度で飼料に混入し摂食投与した。飼料は毎週調製した。

*高用量群は、体重増加量の顕著な減少が認められたため、27 週目より 1000ppm から 500ppm に低減された。

用量設定の根拠：不記載。申請者注：1967 年実施の 0、25、50 及び 250ppm の投与量で実施された慢性毒性試験ではコリンエステラーゼ活性の抑制以外には顕著な影響は見られなかった。その程度は 250ppm では血漿及び赤血球コリンエステラーゼの顕著な抑制と脳コリンエステラーゼの抑制が認められ、一方 25ppm では血漿及び赤血球コリンエステラーゼの僅かな抑制が認められたことから、無影響を 5ppm とし公比を 10-20 とし 50 及び 1000/500ppm の濃度で実施したのは妥当な用量設定であったと考える。

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率：一般症状の観察及び触診を 4 週目までは毎日、4 週目以降は週一回実施した。生死の確認は毎日 2 回実施した。投与に関連すると考えられる症状は主に高用量群雌に認められ、過敏症、うずくまり、毛づくろいの減少、立毛及び削瘦であった。過敏症の頻度については 96~98 週に動物の投与内容を知らされていない実験者によるブラインドテストを実施した。過敏症のブラインドテストの結果では、高用量群の雌雄に主に認められ、投与に関連した変化と考えられた。低中用量群でもその症状が認められたが、頻度は極めて低く、また、対照群でも時折認められたため、投与の影響とは断定できなかった。

試験期間中に観察された一般症状の回数

	雄				雌			
	0	5	50	1000/500	0	5	50	1000/500
うずくまり	0	0	0	0	13	8	17	855
毛づくろいの減少	0	0	0	0	14	16	0	240
立毛	0	0	0	0	13	16	7	177
削瘦	0	0	0	0	18	6	11	204
過敏症*1	3	6	2	20	0	0	9	20

*1 96~98 週に実施されたブラインドテストの結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

死亡率：試験終了時の死亡率%を下表に示す。

投与量(ppm)		0	5	50	1000/500
死亡率(%)	雄	42	32	40	14
	雌	72	50	60	34

統計検定未実施

投与による死亡率への影響は認められなかった。

体重変化；各動物の体重は投与期間中毎日測定した。

各群の平均体重増加量（対照群に対する%）は以下の通りであった。

性別	雄			雌		
	投与量(ppm)	5	50	1000/500	5	50
0~1週	98	100	57*	110	110	-9*
1~26週	99	101	90*	102	101	68*
27~104週	88	90	115	132	108	130

Student t および Williams 検定 * ; <0.01

投与開始より 26 週目迄に、顕著な体重増加量の減少が高用量群、特に雌で認められた。低中用量群における体重増加量は、雌雄とも投与期間を通じて対照群と同等であった。

摂餌量；摂餌量は週 1 回ケージ毎に測定した。

	摂餌量（無処理区対比%）					
	雄			雌		
投与量 (ppm)	5	50	1000/500	5	50	1000/500
1 週	101	100	89↓	94	98	75↓
2~26 週	101	100	98	99	94↓	93↓
27~104 週	101	102	99	98	96	105

Student t および Williams 検定↑↓ : p<0.05 ↓↓ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

投与第 1 週に、高用量群雌雄における摂餌量の有意な減少が観察され、この傾向は特に雌で顕著であった。以降 26 週まで、高用量及び中用量群雌において僅かながら摂餌量が減少した。その他の用量、期間においては何れも対照群と差は認められなかった。

食餌効率；26 週目迄の食餌効率を算出した。

投与 1 週から 26 週の期間、高用量群雌雄において食餌効率の低下が認められた。この傾向は特に雌で顕著であった。低中用量群では対照群と同等であった。

食餌効率=摂餌量 g/体重増 g(%無処理)

週	雄			雌		
	5	50	1000/500	5	50	1000/500
1	102	100	158	87	90	n/a
2-26	102	100	109	97	93	136

n/a:データなし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

検体摂取量；投与 1～26 週及び 27～104 週の平均検体摂取量は下表の通りであった。

性	検体摂取量 mg/kg/日					
	雄			雌		
投与量 ppm	5	50	1000/ 500	5	50	1000/ 500
1～26 週目	0.3	3.2	69	0.4	3.9	93
27～104 週目	0.2	1.8	20	0.4	2.5	31

摂水量； 12,25 及び 51 週目に毎日の摂水量が正確に測定された。他の期間は、毎日の摂水量が目視調査された。12,25 及び 51 週目の調査では、高用量群雌雄、特に雌において対照群に比べ、摂水量の減少が認められた。

性	摂水量 (無処理区対比%)					
	雄			雌		
投与量 ppm	5	50	1000/ 500	5	50	1000/ 500
12 週	109	101	95	100	97↓	90↓
25 週	106	104	87↓	97	100	77↓
51 週	101	102	91↓	92	93	75↓

Student's t および Williams 検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01
表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

眼検査； 眼検査は 52 週と 103 週に対照群及び高用量群について実施した。

何れにおいても投与に関連すると思われる所見は認められなかった。

血液学的検査； 13、26、52、78 及び 104 週に各群 10 匹を一晩絶食後、眼窩静脈から血液を採取し、以下の項目を測定及び算出した。

血球容積 (PCV)、ヘモグロビン (Hb)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、平均赤血球数容積 (MCV)、総白血球数 (WBC Total)、血小板数 (Plts)、トロンボテスト (TT)、白血球百分比;好中球 (N)、リンパ球 (L)、好酸球 (E)、好塩基球、単球 (M)、細胞形態

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

対照群と比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

血液学的検査 (無処理区対比%)								
性		雄			雌			
投与量 ppm	検査時期	5	50	1000/ 500	5	50	1000/ 500	
PCV	13						92↓	
	52					93↓	94↓	
Hb	13						94↓	
	26			93↓			95↓	
RBC	13						94↓	
MCHC	26						96↓	
	52				102↑	102↑	102↑	
MCV	13			97↓			97↓	
	26			97↓				
	52						97↓	
	104			96↓				
W B C	Total	13		81↓				
	N	13					208↑	
		26		57↓	67↓			181↑
		52						197↑
	L	13			81↓			
M	78		10↓	20↓				
Plts	13						150↑	
TT	26			110↑				
	78					111↑	106↑	
	104	96↓	91↓	96↓				

Student-t および Williams 検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

*2 高用量群は 27 週目より 1000ppm から 500ppm に低減された。

毒性学的に重要な所見は認められなかった。いくつかの項目で有意差が認められたが、調査時期及び雌雄間で一定の傾向はなく、程度は僅かであり、また概して変動の範囲内であると考えられ、毒性学的な意義はない、又は、投与の影響ではないと考えられた。

生化学的検査 ; 血液学的検査と同時に採取した血液につき以下の項目を測定及び算出した。

総タンパク質、アルブミン(Alb)、グロブリン(Glob)、

尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム(Na)

カリウム(K)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、塩素(Cl)

コレステロール(Chol)、アルカリフォスファターゼ

グルコース、グルタミンピルビン酸トランスアミラーゼ(GPT)

グルタミンオキザロ酢酸トランスアミラーゼ(GOT)

血漿コリンエステラーゼ(P-ChE)、赤血球コリンエステラーゼ(E-ChE)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

対照群と比べて有意差の認められた項目を以下に示す。
表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		5	50	1000 /500	5	50	1000 /500
検査時期							
グルコース			88↓	86↓			79↓ 78↓
タンパク質	総タンパク	26 週目				92↓	93↓
		78 週目		94↓			
	Alb	26 週目		117↓		89↓	83↓
	Glob	78 週目		91↓			
尿素窒素		13 週目					140↑
		26 週目		115↑			
		52 週目					131↑
GPT		52 週目	215↑	210↑			178↑
GOT		13 週目		118↑			118↑
		52 週目					169↑
		78 週目					138↑
Na		26 週目		99↓			102↑
		104 週目					99↓
K		26 週目			111↑	126↑	103↑
		104 週目					119↑
Ca		26 週目		104↑			95↓
		78 週目		98↓			
P		26 週目		91↓		125↑	107↑
		78 週目					111↑
Cl		78 週目	93↓	93↓	99↓		98↓
Chol		78 週目				127↑	120↑
P-ChE		13 週目		51↓		70↓	26↓
		26 週目		51↓		75↓	23↓
		52 週目		56↓		76↓	32↓
		78 週目		50↓		75↓	34↓
		104 週目		33↓		78↓	37↓
E-ChE		13 週目		35↓			40↓
		26 週目	58↓	37↓		67↓	42↓
		52 週目		45↓		52↓	32↓
		78 週目	66↓	24↓		65↓	42↓
		104 週目		34↓		57↓	52↓

Student t および Williams 検定 ↑↓:p<0.05, ↓↑:p<0.01

血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性阻害が高用量群雌雄で、また、僅かながら中用量群雌で認められた。赤血球コリンエステラーゼ活性阻害は26及び78週目の中用量群雌でも認められた。その他、高用量群雌で13及び26週に、中高用量雄で13週におけるグルコース濃度の低下が認められたが、これは摂餌量の低下に関連するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

尿検査； 13、26、52、78 及び 104 週目に各群雌雄最高 10 匹から一夜尿を採取し以下の項目につき測定、調査した。

尿量、pH、比重 (SG)、タンパク質
総還元物質、グルコース、ケトン、胆汁色素、ウロビリノーゲン、血色素

また、遠心分離後の沈渣につき、以下の項目を調査した。

上皮細胞、多形核白血球、単核白血球、赤血球、
微生物、尿細管円柱、精子、他の異常成分

対照群と比べて有意差の認められた項目を以下に示す。表中の数値は対照群に対する変動率 (体無処理%)

性別	検査時期	雄				雌			
		0	5	50	1000/500	0	5	50	1000/500
尿量	13 週目				62↓				
	52 週目								48↓
pH	26 週目				96↓				97↓
	52 週目								93↓
	104 週目				94↓				
SG	13 週目				101↑				
	26 週目				101↑				
	52 週目								101↑
タンパク質	13 週目 実測値	(201)	(93) (186)	(97) (195)	(149) (300)	(79)	(97) (77)	(84) (66)	(103) (81)
	26 週目 実測値	(147)	(102) (150)	(101) (148)	(110) (161)	(74)	(126) (93)	(89) (66)	(126) (93)
	52 週目 実測値	(227)	(57) (129)	(125) (283)	(92) (208)	(77)	(88) (68)	(92) (71)	(200) (154)
	78 週目 実測値	(237)	(169) (401)	(212) (502)	(88) (208)	(86)	(81) (70)	(88) (76)	(84) (72)
	104 週目 実測値	(935)	(225) (2108)	(121) (1135)	(63) (585)	(61)	366↑ 223	1879↑ 1146	590↑ 360

Student t および Williams 検定 ↑↓; p<0.05, ↓↑; p<0.01

高用量群の雄 13 週および雌の 52 週に尿量の減少、関連して雄の 13 週および 26 週、雌の 52 週に比重の僅かな増加が認められた。

104 週目のタンパク質量では全投与群雌で対照群に比べ増加したが、これは高齢のラットにしばしば認められる所見であり、投与の影響ではなく雌対照群の値 (61mg/dl) が低かったことに起因するものと考えられた。

他の有意差が認められた所見に関しては、程度が僅かであり、調査時期による一貫性がないため、投与の影響とは考えられなかった。

脳コリンエステラーゼ；最終剖検時に各群雌雄 10 匹の脳の半分を秤量、冷凍保存後、コリンエステラーゼ活性を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

対照群と比べて有意差の認められた項目を以下に示す。表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

性別	雄			雌			
	投与量(ppm)	5	50	1000/500	5	50	1000/500
脳コリンエステラーゼ活性				↓27			40↓

Student t および Williams 検定 ↑ ↓; p<0.05, ∅; p<0.01

最終屠殺時において高用量群雌雄で脳コリンエステラーゼ活性が低下した。他の投与群では対照群と同等であった。

臓器重量； 中間及び最終屠殺時に解剖した動物から、以下の臓器について、脂肪を除去し重量を測定し、体重比（相対重量）を算出した。

副腎、腎臓、下垂体、脳、肝臓、精巣（精巣上体も含む）、心臓、卵巣、甲状腺

対照群と比べて有意差の認められた項目を以下に示す。

臓器重量（無処理区対比%）

性		雄			雌		
投与量 ppm	検査時期	5	50	1000/500	5	50	1000/500
52 週屠殺							
脳	絶対重						103↑
副腎	絶対重						80∅
104 週屠殺							
精巣/精巣上体	絶対重		90↓	84∅			
心臓	相対重						93↓
副腎	相対重						76∅

Student t および Williams 検定 ↑ ↓ : p<0.05 ∅ ∅; p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

52 週屠殺動物に於いて、高用量群雌の副腎重量が対照群に比べて低値を示した。高用量群雌の副腎重量の低下は、104 週屠殺時にも認められた。

精巣（及び精巣上体）重量の低下が、104 週投与後の中高用量雄（4.51・4.22g）において認められた。この値は歴史的背景データの範囲内であった。

申請者注：この系統の精巣及び精巣上体の背景データは約 4.0g～5.6 g

（出典：チャールズリバー社 CD(SD)ラット長期飼育試験臓器実重量 97 週背景データ集を参照）

肉眼病理検査；

中間屠殺の高用量群雌における肺の胸膜下退色巣及び高用量群雄における前胃陥凹部の発生が増加した。

投与期間中に死亡あるいは切迫屠殺した動物、あるいは最終屠殺した動物に以下の変化の発生率が増加した；高用量群雌において肺の胸膜下退色巣。高用量群雌にお

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

いて前胃の陥凹部、雄において精巢の萎縮、青色化及び肝臓皮膜下の退色の増加が見られた。

	雄				雌			
	0	5	50	1000/ 500	0	5	50	1000/ 500
中間屠殺								
検査動物数	14	15	15	25	15	14	15	25
肺の胸膜下退色巣	1	0	0	0	0	1	0	↑7
前胃の陥凹部	2	1	1	8	1	1	0	1
途中死亡								
検査動物数	23	16	20	8	36	25	30	17
肺の胸膜下退色巣	0	0	0	0	2	2	1	3
前胃の陥凹部	5	4	7	1	5	8	8	↑8

	雄				雌			
	0	5	50	1000/ 500	0	5	50	1000/ 500
最終屠殺								
検査動物数	27	34	30	42	14	25	20	33
肺の胸膜下退色巣	2	0	0	5	1	0	1	5
前胃の陥凹部	3	1	2	4	1	1	3	6
肝臓皮膜下部の退色	4	7	4	14	6	5	4	6
精巢の萎縮	0	5	↑7	↑12				
精巢の青色化	1	6	6	↑10				

Fisher の正確確率検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01 (申請者による検定)

病理組織学的検査；試験途中で死亡あるいは切迫屠殺された全動物及び定期屠殺された高用量群及び対照群の動物の下記組織を検査した。

副腎、消化管、脳、眼、大腿骨、心臓、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊柱、脾臓、胸骨、精巢、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮、他の肉眼的異常組織

定期屠殺された低中用量群の動物については肉眼的異常が認められた、及び高用量群で投与に関連した異常を示した組織を検査した。

非腫瘍性病変および腫瘍性病変の発生率及び主な病理所見を次頁以降の表に示す。

記録された腫瘍性病変の所見から、投与に関連した催腫瘍性は認められなかった。

非腫瘍性病変として、中間屠殺動物の観察では、高用量群の雌雄の副腎に投与に関連した変化が認められた。この変化は、球状層細胞の肥大と泡沫変性及び一部、束状層の泡沫細胞であった。最終屠殺時には、軽度から中程度の副腎皮質細胞の空胞変性が高用量群雄で高頻度に観察され、球状層、束状層で認められた。

投与期間中に死亡又は屠殺した主群の動物及び最終屠殺動物の観察では以下の投与に関連する変化が認められた：

最終屠殺時において精巢（片側及び両側）の精細管萎縮の発生が高用量と中用量群で増加した。この変化は最終屠殺個体のみに見られ、途中死亡個体においては無処理と差がなかった。また、途中死亡と最終死亡を合計した場合の頻度は、高用量群の 14/50 および中用量の 13/50 は当該研究所の背景データ 13/50、10/50、21/50、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

7/50、11/52、10/50、5/51 および 5/51 の範囲内に入ることを示した。

元の報告書データ

用量 mg/kg/日	0		5		50		1000/500	
標本	途中	最終	途中	最終	途中	最終	途中	最終
検査数	23	27	15*	34	20	30	8	42
精子形成の減少 合計	0	0	2	1	1	1	0	3
中抑制	0	0	2	1	1	1	0	3
精細管萎縮 合計	2	2	4	3	5	8	2	12
小	0	0	0	0	0	0	0	1
中	0	1	0	0	2	2	2	1
顕著	2	1	4	3	3	6	0	10

* : 途中死亡は 16 匹であったが、15 匹を検査した。

1996 年試験委託者の依頼により上記の毒性学的意義を調べるために萎縮病片の片側、両側に注意を払って再調査された。診断基準として胚上皮の萎縮は精細管の特定断面に機能的な上皮が存在しない場合とした。また、精子生成の減少も調べた。その結果を下表に示す。

用量 mg/kg/日	0		5		50		1000/500	
標本	途中	最終	途中	最終	途中	最終	途中	最終
検査数	23	27	16	34	20	30	8	42
精子形成の減少	0	0	1	1	1	2	0	1
精細管萎縮 片側	3	5	1	7	6	10	1	12
両側	2	2	3	1	3	2	1	5

以上の結果この増加は、投与の影響ではないと考えられる片側萎縮によるものが主であること、精巣萎縮は高齢ラットに自然発生的に発生し、本試験では高用量群において最終屠殺までの生存率が高かったことおよびこれらの発生率は背景データの範囲内であること等から、この増加は投与の影響ではないと考えられた。

高用量群雄で、中間屠殺時において肝臓に軽度の小葉中心性空胞変性が認められた。最終屠殺時には、小葉中心性及び周辺性の脂肪蓄積と肝細胞の空胞化の発生がやや増加した。小葉中心性、周辺性の両方に認められ、統計的に有意でなかったため、この増加は偶発的なもので、毒性学的に意味がないものと考えられた。

下垂体の過形成が高用量群で僅かに認められたが（統計的有意差なし）、下垂体腺腫の発生率とあわせ比較した場合、対照群と差はなく、催腫瘍性的にも毒性学的にも意味がないものと考えられた。

中間屠殺動物において肺、胃、子宮及び卵巣の軽微な異常が散見されたが、最終屠殺時には認められず、毒性学的に意味のないものと考えられた。

結論 :

ホサロン投与による催腫瘍性を示す所見は認められなかった。投与に関連した所見は主に高用量群に限られ、一般所見、体重増加抑制、摂餌・摂水量の低下、血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ値の低下、副腎重量の減少および副腎の非腫瘍性病変が認められた。中用量群で認められた投与関連の唯一の所見は、血漿及び赤血球コリンエステラーゼ値の低下のみであった。しかし、この血漿及び赤血球コリンエステラーゼ値の低下は、脳コリンエステラーゼに対する影響を全く随伴しなかったため、この濃度（50ppm）はNOAELを示している。これらの結果から、高用量（1000/500 ppm）が本試験の最大耐量であることを確認した。5ppmが無作用量（NOEL）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C B C株式会社にある。

申請者注：本試験は1993年および1997年の2度に亘ってJMPRで評価され、1997年では1996年に病理標本の精査により精巣の萎縮及び精巣重量の減少について検討され、その結果としてこれらの毒性学的な有意性は否定され、NOAELは最高用量における脳アセチルコリンエステラーゼの抑制を基に、50ppm（雄1.8 mg/kg bw/日、雌2.5 mg/kg bw/日）とされた。申請者はこれを支持する。

腫瘍性病変発生率 1

	投薬量 ppm		雄				雌				
			0	5	50	1000/500	0	5	50	1000/500	
		検査動物数	23	16	20	8	36	25	30	17	
途中死亡	腸間膜リンパ腺	血管腫	良性	0/23	0/15	0/20	0/8	0/36	0/25	0/30	0/17
	リンパ節	濾胞中心細胞リンパ腫	悪性	—	—	—	—	0/1	—	1/2	—
		組織球肉腫	悪性	—	0/1	—	1/1	0/1	—	0/2	—
		リンパ性白血病	悪性	—	1/1	—	0/1	0/1	—	0/2	—
		骨髄性白血病	悪性	—	—	—	—	0/1	—	1/2	—
		中皮腫	悪性	—	—	—	—	1/1	—	0/2	—
	肺	肺腺腫	良性	—	—	—	—	0/36	0/25	0/30	0/17
	脾臓	血管腫	良性	0/23	0/16	0/20	0/8	—	—	—	—
	肝臓	肝細胞腺腫	良性	1/23	1/16	0/20	0/8	0/36	1/25	0/30	0/17
		肝細胞癌	悪性	0/23	0/16	0/20	0/8	—	—	—	—
		胆管腫	良性	0/23	0/16	0/20	0/8	—	—	—	—
		胆管癌	悪性	0/23	0/16	1/20	0/8	—	—	—	—
		血管肉腫	悪性	1/23	0/16	0/20	0/8	—	—	—	—
	膵臓	外分泌腺腺腫	良性	0/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—
		島細胞腺腫	良性	1/23	0/15	3/20	1/8	1/35	1/25	0/30	0/17
		島細胞癌	悪性	0/23	0/15	0/20	0/8	0/35	0/25	0/30	0/17
	腎臓	腎腺腫	良性	—	—	—	—	0/36	0/25	0/30	0/17
	精巣	間細胞腫	良性	0/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—
		腺癌	悪性	0/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—
	卵巣	管状腺腫	良性	—	—	—	—	0/36	0/25	0/30	0/17
顆粒膜細胞腫		良性	—	—	—	—	0/36	0/25	0/30	0/17	
子宮	腺腫	良性	—	—	—	—	0/36	1/25	0/30	0/17	
甲状腺	濾胞腺腫	良性	0/23	0/16	2/20	0/8	1/36	1/24	0/30	0/17	
	濾胞癌	悪性	0/23	0/16	0/20	0/8	—	—	—	—	
	傍濾胞細胞癌	悪性	1/23	3/16	1/20	3/8	2/36	2/24	1/30	2/17	
副腎皮質	褐色細胞腫	悪性	0/23	0/16	0/20	0/8	—	—	—	—	
	褐色細胞腫	良性	2/23	0/16	2/20	0/8	0/36	0/25	0/30	0/17	
	皮質腺腫	良性	0/23	1/16	0/20	0/8	0/36	0/25	0/30	1/17	
脳下垂体	下垂体腺腫	良性	14/23	6/15	9/20	5/8	31/36	18/25	19/30	11/17	
	下垂体腺癌	悪性	0/23	1/15	1/20	0/8	1/36	2/25	3/30	0/17	
骨格筋	線維肉腫	悪性	0/23	1/15	0/20	0/8	—	—	—	—	
	血管腫	良性	0/23	1/15	0/20	0/8	—	—	—	—	
皮膚	内反性扁平上皮乳頭腫	良性	1/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—	
	皮脂腺腺腫	良性	0/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—	
	基底扁平乳頭症	良性	0/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—	
	基底細胞癌	悪性	1/23	0/15	0/20	0/8	0/36	0/25	0/30	0/17	
	線維腫	良性	0/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—	
	線維肉腫	悪性	0/23	0/15	0/20	0/8	—	—	—	—	
	皮膚線維腫	良性	0/23	1/15	2/20	1/8	—	—	—	—	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

腫瘍性病変発生率 1 (続き)

		投薬量 ppm	雄				雌			
			0	5	50	1000/500	0	5	50	1000/500
検査動物数			23	16	20	8	36	25	30	17
皮下組織	線維腫	良性	3/6	1/3	1/4	1/3	1/4	-	1/4	1/1
	線維肉腫	悪性	3/6	0/3	1/4	0/3	0/4	-	1/4	0/1
	脂肪腫	良性	0/6	2/3	1/4	0/3	3/4	-	0/4	0/1
	骨肉腫	悪性	-	-	-	-	0/4	-	1/4	0/1
	脂肪肉腫	悪性	0/6	0/3	0/4	1/3	0/4	-	1/4	0/1
	平滑筋腫	良性	0/6	1/3	0/4	0/3	-	-	-	-
	平滑筋肉腫	悪性	0/6	0/3	0/4	0/3	-	-	-	-
途中死亡	乳腺腫	良性	0/23	0/15	0/20	0/8	1/36	1/25	1/30	0/17
	上皮異型を伴う乳腺腫	良性	-	-	-	-	0/36	0/25	1/30	0/17
	乳腺線維腺腫	良性	1/23	0/15	0/20	0/8	14/36	6/25	5/30	5/17
	上皮異型を伴う乳腺線維腺腫	良性	-	-	-	-	1/36	0/25	0/30	0/17
	線維腫	良性	-	-	-	-	0/36	0/25	2/30	0/17
	腺癌	悪性	-	-	-	-	4/36	3/25	4/30	1/17
	脂肪腫	良性	-	-	-	-	0/36	1/25	0/30	0/17
骨	未分化骨肉腫	悪性	-	-	-	-	0/1	-	1/2	-
頭	外耳道皮脂腺の扁平上皮癌	悪性	-	-	1/1	-	-	-	-	-
脂肪組織	未分化肉腫	悪性	0/1	1/2	0/4	-	-	-	-	-
胸腔	脂肪腫	良性	-	-	-	0/8	-	-	-	-

Fisher の正確確率検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↓ : p<0.01

腫瘍性病変発生率 2

		投薬量 ppm	雄				雌				
			0	5	50	1000/500	0	5	50	1000/500	
検査動物数			27	34	30	42	14	25	20	33	
リンパ節	組織球性肉腫	悪性	-	0/1	-	-	-	1/1	-	0/1	
	リンパ性白血病	悪性	-	1/1	-	-	-	0/1	-	1/1	
	濾胞中心細胞リンパ腫	悪性	-	-	-	-	-	0/1	-	0/1	
	骨髄性白血病	悪性	-	-	-	-	-	0/1	-	0/1	
	中皮腫	悪性	-	-	-	-	-	0/1	-	0/1	
最終屠殺	腸間膜リンパ腺	血管腫	0/27	-	1/1	2/42	0/14	-	-	1/33	
	脾臓	血管腫	0/27	0/3	-	1/42	-	-	-	-	
	腎臓	腎腺腫	0/27	-	-	-	0/14	0/2	0/4	1/33	
	肺	肺腺腫	0/27	-	-	-	0/14	0/15	0/8	1/33	
	肝臓	肝細胞腺腫	良性	1/27	0/34	3/30	0/42	0/14	2/25	1/20	1/33
		肝細胞癌	悪性	0/27	0/34	0/30	2/42	-	-	-	-
		胆管腫	良性	0/27	0/34	0/30	1/42	-	-	-	-
		胆管癌	悪性	0/27	0/34	0/30	0/42	-	-	-	-
		肝血管肉腫	悪性	0/27	0/34	0/30	0/42	-	-	-	-
	膵臓	外分泌腺腺腫	良性	0/27	0/8	0/7	2/42	-	-	-	-
島細胞腺腫		良性	4/27	0/8	0/7	1/42	0/14	1/3	0/2	0/33	
	島細胞癌	悪性	0/27	0/8	0/7	1/42	0/14	1/3	1/2	0/33	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

腫瘍性病変発生率 2 (続き)

			雄				雌			
			0	5	50	1000 /500	0	5	50	1000 /500
		投薬量 ppm	0	5	50	1000 /500	0	5	50	1000 /500
		検査動物数	27	34	30	42	14	25	20	33
精巣	間細胞腫	良性	1/27	2/34	3/30	2/42	—	—	—	—
	腺癌	悪性	1/27	0/34	0/30	0/42	—	—	—	—
甲状腺	濾胞腺腫	良性	3/27	0/6	0/4	2/42	0/14	1/1	1/3	0/33
	濾胞癌	悪性	0/27	0/6	1/4	0/42	—	—	—	—
	傍濾胞細胞癌	悪性	2/27	↑3/6	2/4	3/42	2/14	0/1	1/3	5/33
副腎皮質	褐色細胞腫	良性	2/27	5/34	3/30	3/42	1/14	1/25	0/20	0/33
	褐色細胞腫	悪性	0/27	1/34	0/30	2/42	—	—	—	—
	副腎皮質腺腫	良性	0/27	2/34	0/30	1/42	0/14	0/25	1/20	0/33
脳下垂体	下垂体腺腫	良性	12/26	12/15	13/14	17/42	10/14	17/21	12/15	21/33
	下垂体腺癌	悪性	0/26	2/15	0/14	0/42	0/14	0/21	0/15	0/33
骨格筋	線維肉腫	悪性	0/27	—	—	0/42	—	—	—	—
	血管腫	良性	0/27	—	—	0/42	—	—	—	—
卵巣	管状腺腫	良性	—	—	—	—	1/14	0/10	0/10	0/33
	顆粒膜細胞腫	良性	—	—	—	—	0/14	1/10	0/10	0/33
子宮	腺腫	良性	—	—	—	—	0/14	0/10	0/8	0/33
皮膚	内反性扁平上皮乳頭腫	良性	0/27	0/15	0/11	1/42	—	—	—	—
	皮脂腺腺腫	良性	0/27	0/15	1/11	1/42	—	—	—	—
	基底扁平乳頭腫	良性	0/27	0/15	1/11	0/42	—	—	—	—
	基底細胞癌	悪性	0/27	0/15	0/11	1/42	—	—	1/1	—
	線維腫	良性	2/27	0/15	1/11	0/42	—	—	—	—
	線維肉腫	悪性	0/27	0/15	1/11	0/42	—	—	—	—
	皮膚線維腫	良性	0/27	0/15	1/11	1/42	—	—	—	—
皮下組織	線維腫	良性	0/4	1/5	2/7	3/9	—	0/2	1/4	—
	線維肉腫	悪性	0/4	0/5	1/7	1/9	—	0/2	0/4	—
	脂肪腫	良性	4/4	5/5	4/7	4/9	—	0/2	3/4	—
	脂肪肉腫	悪性	0/4	0/5	0/7	0/9	—	0/2	0/4	—
	平滑筋腫	良性	0/4	0/5	0/7	0/9	—	—	—	—
	平滑筋肉腫	悪性	0/4	0/5	1/7	0/9	—	—	—	—
	骨肉腫	悪性	—	—	—	—	—	0/2	0/4	—
乳腺	乳腺腫	良性	0/27	0/2	—	0/42	0/14	1/23	2/16	0/33
	乳腺線維腺腫	良性	0/27	1/2	—	0/42	5/14	14/23	6/16	8/33
	上皮異型を伴う乳腺腫	良性	—	—	—	—	0/14	1/23	0/16	0/33
	上皮異型を伴う乳腺線維腺腫	良性	—	—	—	—	0/14	0/23	0/16	0/33
	線維腫	良性	—	—	—	—	0/14	1/23	1/16	0/33
	腺癌	悪性	—	—	—	—	0/14	3/23	2/16	1/33
	脂肪腫	良性	—	—	—	—	0/14	0/23	0/16	0/33
	骨	未分化骨肉腫	悪性	—	—	1/1	—	—	—	—
頭	外耳道皮脂腺の扁平上皮癌	悪性	0/1	—	—	0/2	—	—	—	
脂肪組織	未分化肉腫	悪性	—	0/2	0/1	0/3	—	—	—	
胸腔	脂肪腫	良性	—	1/1	—	—	—	—	—	

Fisher の正確確率検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↓ : p<0.01 (申請者による検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

非腫瘍性病理所見

	投薬量 ppm	雄				雌				
		0	5	50	1000 /500	0	5	50	1000 /500	
中間屠殺	副腎	球状層細胞肥大/ 泡沫化	1/14	2/15	1/15	♯13/25	0/15	1/14	0/15	♯13/25
		束状層細胞泡沫化	0/14	0/15	0/15	2/25	1/15	2/14	2/15	↑11/25
	肝臓	小葉中心性の空胞 変性	2/14	2/10	1/4	10/25	0/15	0/5	0/15	0/25
	卵巣	黄体欠除	—	—	—	—	9/15	7/9	9/10	22/25
	子宮	子宮拡張	—	—	—	—	0/15	2/4	3/4	4/25
		局所性子宮内膜腺 様扁平上皮化生	—	—	—	—	0/15	0/4	1/4	6/25
	肺	肺胞マクロファージ 集合	1/14	0/0	0/9	0/25	0/15	0/5	0/6	5/25
胃	糜爛	0/14	0/15	1/15	2/25	0/15	0/14	0/15	0/25	
	潰瘍	0/14	0/15	0/15	2/25	0/15	1/14	0/15	1/25	
途中死亡	副腎	副腎皮質細胞空胞 変性	1/23	0/16	2/20	3/8	0/36	0/25	1/30	0/17
	精巣	片側萎縮	3/23	1/16	6/20	1/8	—	—	—	—
		両側萎縮	2/23	3/16	3/20	1/8	—	—	—	—
	肝臓	小葉中心性空胞化	6/23	3/16	2/20	0/8	0/36	0/25	0/30	1/17
		小葉周辺性空胞化	3/23	2/16	8/20	↑5/8	7/36	5/25	5/30	5/17
		小葉中心性脂肪蓄 積	6/23	2/16	3/20	0/8	0/36	0/25	0/30	1/17
	小葉周辺性脂肪蓄 積	8/23	6/16	11/20	6/8	15/36	14/25	19/30	8/17	
下垂体	過形成	1/23	0/16	1/20	1/8	2/36	1/25	1/30	2/17	
最終屠殺	副腎	副腎皮質細胞空胞 変性	2/27	1/34	1/30	9/42	0/14	0/25	0/20	0/33
	精巣	片側萎縮	5/27	7/34	10/30	12/42	—	—	—	—
		両側萎縮	2/27	1/34	2/30	5/42	—	—	—	—
	肝臓	小葉中心性空胞化	2/27	7/34	6/30	14/42	0/14	0/25	0/20	1/17
		小葉周辺性空胞化	7/27	8/34	7/30	12/42	4/14	4/25	2/20	5/33
		小葉中心性脂肪蓄 積	1/27	0/34	1/30	↑13/42	0/14	1/25	1/20	2/33
	小葉周辺性脂肪蓄 積	17/27	18/34	13/30	24/42	7/14	14/25	19/20	8/33	
下垂体	過形成	7/26	0/15	0/14	13/42	0/14	2/25	1/20	5/33	

Fisher の正確確率検定 ↓↓ : p<0.05 ♯♯ : p<0.01(申請者による検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

ホサロンの犬における慢性毒性試験

(資料No.15)

試験機関：Woodard Research Coop (米国)
報告書作成年：1967年

検体の純度：原体

試験動物：ビーグル犬(生後4~8ヶ月)1群雌雄各4頭

試験期間：107週

試験方法：ホサロンを0、100、200および1000ppmになるように飼料中に混合し与えた。

検体摂取量：

投与群(ppm)	100	200	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	2	4	20

用量設定の根拠：不記載

試験項目及び試験結果：

- (1) 一般状態および死亡率：毎日観察した。1000ppm投与群の雌1頭が93週目に死亡した以外は、死亡例は認められなかった。1000ppm投与群の雌雄各1頭に継続的に機能亢進、筋線維束攣縮と神経過敏症が認められた。このような症状は100ppm投与群雌1頭にも断続的にではあるが観察された。他に認められた症状は1000ppm投与群で認められた下痢、軟便、流涙、羞明、浮腫・結膜の充血、200ppm投与群で認められた流涎等であった。投与前と投与6、13、26、39、52、81および104週目に測定した血圧、および心電図には投与による異常は認められなかった。
- (2) 体重：週1回測定した。1000ppm群において雌雄合わせた場合に39週以降に有意な減少が認められた。

体重(無処理区対比%、雌雄合わせて評価)

週	100	200	1000
39		(94)	↓82
52		(91)	↓80
78		(90)	↓74
104		(97)	↓79

Dunnett 検定↑↓; p<0.05 (申請者による検定)

- (3) 血液学的検査：投与6、13、19、26、40、52、78、92および104週目に次の項目について検査した。

ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血沈、白血球の総数と分画および血小板数
次頁に結果の表を示した。

死亡した1000ppm投与群雌では78週から死亡までの間にヘモグロビンおよびヘマトクリット値の低下が認められ、死亡前には白血球数の増加、速い赤血球沈降速度および好中球の増加を伴ったリンパ球減少が観察された。

申請者注：申請者により各週の測定結果が統計検定された。無処理と有意差のある検査結果はいずれも散発的であり、また、用量と相関性が認められず、処理による影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

血液学検査結果

週	用量 ppm	雄					雌			
		ヘモグ ロビン	ヘマトク リット	血沈	好中 球	好酸 球	ヘモグ ロビン	ヘマトク リット	血沈	リンパ 球
6	100	084	088		↓77	↑279				
	200	↓87	↓92				↓81	↓87		
	1000									
26	100									
	200	↓85	085				086	↓90		
	1000						085	↓91		
40	100									058
	200	085	087							
	1000									
52	100									
	200	↓88	↓89	↑625					↑720	
	1000									
78	100		096		↓73					
	200	↓87								
	1000									
92	100									
	200		↓88	↑309						
	1000						↓84	083		
104	100									
	200	079	085							
	1000									

Dunnett 検定 ↓↓ : p<0.05 00 : p<0.01(申請者による検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

血液学的検査結果—雌雄併合検定結果 (%無処理)

週	用量	雌雄						
	ppm	Hb	Hct	ESR30	ESR60	Neut	Eo	Lymp
6	100						↑ 209	
	200	↓ 91	↓ 89					
	1000							
14	100							
	200	↓ 84						
	1000							
19	100							
	200	↓ 90						
	1000							
26	100						↑ 278	↓ 71
	200							
	1000							
40	100							
	200	↓ 88	↓ 90	↑ 1300	↑ 412			
	1000							
52	100							
	200	↓ 91	↓ 92		↑ 453			
	1000							
78	100					↑ 196		
	200		↓ 90	↑ 767				
	1000		↓ 90					

Dunnett 検定 ↑↓ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (申請者による検定)

(4) 生化学的検査：投与開始時および投与後 6、13、19、26、40、52、78、92 および 104 週目に次の項目について観察した。

血中グルコース (BG)、血中尿素窒素 (BU)、血清 (S-GOT)、血清 (S-GPT)、血清アルカリフォスファターゼ (S-AP)

次頁に結果の表を示した。

血中尿素窒素および血清 GOT 値は投与群と対照群の間に差は認められなかった。血清 GPT 値は 1000ppm 投与群の雄 1 頭が 104 週目に、200ppm 投与群の全動物が 19 週目に高い値を示したが、これらは溶血した血液サンプルに起因したものであった。血清アルカリフォスファターゼは 1000ppm 投与群で散発的にわずかに高い値を示した。

申請者注：統計検定が申請者により実施された。各群で散発的に有意差がみられたが、いずれも一定の傾向がなく投与に起因するものとは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

(血液生化学検査結果 無処理区対比%)

		雄					雌			雌雄併合					
		BU	S-AP	S-GOT	S-GPT	TT	BG	BU	S-AP	BG	BU	S-AP	S-GOT	S-GPT	TT
6	0										↑124		↓77		
	100							↑139			↑136				
	200	↑143					↓87	↑129							
	100 0														
13	0														
	100														
	200														
	100 0													↑292	
19	0														
	100									↑114					
	200				↑610									↑576	
	100 0											↑299			
26	0														
	100					↓61				↓88					
	200					↓61							↑214		↓67
	100 0								↑173			↑172		↑270	
40	0														
	100														
	200				↑120					↓93					
	100 0									↓92		↑245			↑157
52	0														
	100														↑142
	200														
	100 0											↑233		↑366	↑152
78	0														
	100														
	200	↑142													
	100 0													↑247	
92	0														
	100														
	200	↑123													
	100 0								↑151			↑129	↑206		
104	0														
	100														
	200														
	100 0												↑237		

Dunnett 検定 ↑↓ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (申請者による検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

- (5) コリンエステラーゼ活性：赤血球コリンエステラーゼ及び血漿コリンエステラーゼ活性については投与後 6、13、19、26、40、52、78、92 および 104 週目にまた脳コリンエステラーゼ活性については最終屠殺時に測定した。

コリンエステラーゼ活性 (無処理区対比%)

週	雄			雌			雌雄		
	100	200	1000	100	200	1000	100	200	1000
血漿コリンエステラーゼ									
6	↓43	↓36	↓9	↓52	↓32	↓17	↓47	↓34	↓13
13	↓59	↓52	↓28	↓48	↓53	↓28	↓53	↓53	↓28
19	↓49	↓47	↓34	↓62	↓57	↓29	↓56	↓52	↓31
26	↓68	↓47	↓21		↓54	↓17	↓79	↓51	↓19
40	↓45	↓43	↓25	↓50	↓48	↓21	↓47	↓45	↓23
52	↓52	↓36	↓21	↓65	↓38	↓19	↓59	↓37	↓20
78	↓53	↓44	↓41	74	↓51	↓49	↓64	↓48	↓45
92	↓52	↓39	↓14	↓57	↓40	↓17	↓55	↓39	↓15
104	↓37	↓40	↓15	↓43	↓36	↓4	↓40	↓38	↓10
赤血球コリンエステラーゼ									
6			↓21		↓64	↓9		↓72	↓15
13	↓69	↓59	↓2		↓54	↓8	↓75	↓57	↓5
19	↓72	↓54	↓5		↓67	↓13	↓83	↓60	↓9
26			↓23			↓8			↓16
40	↓66	↓45	↓0	↓86	↓66	↓1		↓55	↓1
52	↓82	↓64	↓0		↓66	↓4	↓88	↓65	↓2
78		↓61	↓6		↓82	↓15		↓71	↓10
92	↓82	↓59	↓0		↓65	↓0	↓86	↓62	↓0
104	↓75	↓59	↓9			↓9	↓83	↓72	↓9
脳コリンエステラーゼ									
104									↓61

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05 ↓↑: p<0.01 (申請者による検定)

- a) 血漿コリンエステラーゼ活性：各投与群で活性は低下し、1000ppm 投与群では対照群の 25%に、100ppm 投与群では 50%に低下し、200ppm 投与群ではこの中間であった。
- b) 赤血球コリンエステラーゼ活性：200ppm 投与群では対照に比較し 1/4~1/3 の低下が認められ、1000ppm 投与群ではほとんど完全に活性は抑制された。
申請者注：100ppm 投与群では軽度の抑制があり、時々対照群との間に有意差を示した。
- c) 脳コリンエステラーゼ活性：1000ppm 投与群の雄 2 頭及び雌 1 頭に抑制が認められた以外は対照群との間に差は認められなかった。
申請者注：雌雄併せて検定を実施した場合に 1000ppm が有意差を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

(6)尿 検 査：投与前および投与後 6、13、19、26、39、52、78、91 および 104 週目にケージ毎について、外観、pH、比重、アルブミン、グルコースおよび沈澱物の検鏡を行った。各投与群と対照群との間にそれぞれの項目について差は認められなかった。

(7)臓器重量：投与後 107 週目にペントバルビタールナトリウムを静脈注射して屠殺し、次の臓器について重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓・腎臓・心臓・脾臓・肺・副腎・甲状腺・脳下垂体・生殖腺・子宮／前立腺・脳

1000ppm 投与群の雌雄で肝臓体重比が増加したが（雄 155%、雌 174%対処理）、これらは本群の体重増加の抑制に起因するものであった。他の臓器重量・体重比には投与群と対照群の間に差は認められなかった。

(8)剖検所見：92 週に死亡した動物を除く、全動物について投与後 107 週目に屠殺し剖検した。検体投与に起因すると思われる異常は認められなかった。

(9)病理組織学的所見：最終屠殺時、各投与群で下記の臓器を 10%ホルマリン中に固定しパラフィン包埋した。なお眼は Zenker の固定液に固定しパラフィン包埋した。切片はヘマトキシリンおよびエオシンで染色し検鏡した。

全動物；肝・腎・心・肺・副腎・甲状腺・脳下垂体・生殖腺・胃・小腸・脳・骨髄

対照群、1000・100ppm 投与群；皮膚・乳腺・子宮／前立腺

対照群、1000ppm 投与群；脾臓・リンパ結節・痔臓・膀胱・骨格筋・眼・気管・大動脈・神経・食道・唾液腺・胸腺・結腸・盲腸・脊髄・胆のう

非腫瘍性病変および腫瘍性病変の発生率及び主な病理所見を次頁の表に示す。

小腸の平滑筋の変化を除けば、検体投与に関連する変化は認められなかった。筋肉の筋原線維細胞質における好塩基性顆粒数の増加は 1000ppm 投与群で最も明確に観察されたが、200 および 100ppm 投与群ではそれ程明確ではなかった。小腸の平滑筋細胞の空胞化及び色素を沈着したマクロファージの軽い浸潤は 1000ppm 投与群のみで観察された。

1000ppm 群では、39 週以降で体重の有意な減少、肝臓体重比の増加、血漿・赤血球・脳コリンエステラーゼの抑制が見られた。

200ppm では、血漿・赤血球コリンエステラーゼの抑制が見られた。

100ppm では、血漿コリンエステラーゼの抑制が見られた。雄の赤血球コリンエステラーゼの抑制が見られ、雌では 40 週のみ抑制がみられた。

以上の結果から、無作用量は血漿コリンエステラーゼの抑制および小腸平滑筋の軽い変化を除けば 100ppm と考えられる。

申請者注：JMPR1993 はこの試験の無毒性量を 1000ppm で各種の臨床症状および脳コリンエステラーゼの抑制が認められたことから 200ppm (4mg/kg/日) と評価した。申請者はこの結論を支持し NOAEL を 200ppm (4mg/kg/日) と考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

腫瘍性病変

投与群 (ppm)		雄				雌			
		0	100	200	1000	0	100	200	1000
所見/検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
甲状腺	ヒュルトレ細胞変化*	0	0	0	0	0	1	0	0
子宮	ポリープ	0	0	0	0	1	0	0	0

*申請者注：ヒュルトレ細胞変化（原文：hurthle cell change）

ヒュルトレ細胞は、通常、甲状腺腫瘍及び甲状腺炎などの病態で観察されるが、本試験では腫瘍及び甲状腺炎を示唆するような所見はみられていないことから、本ヒュルトレ細胞変化は、甲状腺濾胞上皮細胞が好酸性顆粒に富む豊富な細胞質を有する肥大した細胞になった状態を表現したものと考えられます。しかしながら、本所見に関する詳細な記載は無く、明確にすることができないため、原文の hurthle cell change を併記した。

非腫瘍性病変

投与群 (ppm)		雄				雌			
		0	100	200	1000	0	100	200	1000
所見/検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓	うっ血 軽度	1	0	1	0	0	0	2	1
	うっ血 中度	2	2	1	0	3	2	2	2
	実質慢性炎症マクロファージ および円形細胞病巣	0	0	1	0	0	0	1	0
	グリコーゲン枯渇 軽度	1	2	1	1	0	0	2	0
	グリコーゲン枯渇 中度	0	0	0	1	0	0	0	1
	門脈マクロファージの増加	2	1	1	1	1	0	1	*3
	自己融解	0	0	0	0	0	0	0	*1
	腎臓	うっ血 軽度	0	0	0	0	0	0	1
腎臓	うっ血 中度	1	0	1	0	0	1	1	1
腎臓	実質慢性炎症マクロファージ および円形細胞病巣	0	0	2	0	1	1	0	2
腎臓	髓質円柱石灰化	2	3	2	1	3	1	3	2
腎臓	肉芽腫	0	0	0	0	0	1	0	0
腎臓	皮質肉芽腫	0	0	0	0	1	0	1	1
腎臓	尿細管変性 軽度	1	2	1	1	0	0	0	1
腎臓	尿細管変性 中度	0	0	0	0	0	0	0	*1
腎臓	自己融解	0	0	0	0	0	0	0	*1
小腸	小腸平滑筋の空胞化	0	0	0	2	0	0	0	*2
	小腸の平滑筋細胞質内の好塩 基性顆粒の増加	0	2	2	↑4	0	1	↑4	↑*4
	色素を沈着したマクロファージ の軽度な浸潤	0	0	0	1	0	0	0	*2
	自己融解	0	0	0	0	0	0	0	*1

Fisher の正確確率検定 ↑↓ : p<0.05 (申請者による検定)

*1 匹途中死亡

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

イヌを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料No.38)

試験機関：Huntingdon Research Centre
(英国) [GLP 対応]

報告書作成年：1992年

検体の純度： %

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各6匹(25~28週齢)

投与開始時体重範囲 雄；8.4~11.7kg, 雌；7.1~10.4kg

試験期間：52週間(1990年3月15日~1991年3月14~19日)

投与方法：検体を0、5、25および300 ppmの濃度で基礎飼料に毎週1回混合・調製し、52週間投与した。

投与量設定根拠：ビーグル犬における予備試験結果をもとに濃度を決定したとあるが、詳細の記載なし。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率；イヌの毒性症状、生死を土曜、日曜および祭日を除き毎日観察した。

対照群も含め全群に嘔吐および下痢が散発的に認められ、投与43週の300ppm投与群に1日以上嘔吐が認められた。

300ppmの雄1匹は、飼料非摂取による体重減少のために第4週目に屠殺し、25ppmの雄1匹は鼠径ヘルニアの縮小後に人道的理由により第25週目に、また、対照群の雌1匹は狭窄性ヘルニア発生後に腹膜炎となり第8週目に人道的理由により屠殺した。これらは、検体投与の影響とは考えられなかった。

体重変化；個体別体重を投与開始前および投与期間中に毎週1回摂餌前に測定した。体重変化量を毎週計算した。

体重増 kg (0-52週)

性	投与量 ppm			
	0	5	25	300
雄	1.8	1.8	1.7	0.9
雌	2.3	1.9	1.5	1.7
雌雄の平均	2.0	1.8	1.6	↓1.3

Williams 検定 ↓ : p<0.05

300ppm群の雄および42週以降の全投与群雌に僅かな体重抑制が認められたが、対照群に比し統計学的に有意ではなかった。投与期間中の体重増加が雌雄併せて検定した場合に無処理に対して有意な減少を示した。

飼料摂取量および飼料効率；個体別飼料摂取量を毎日測定した。

週間摂餌量 g (0-52週)

性	投与量 ppm			
	0	5	25	300
雄	2800	2800	2800	2781 ↓
雌	2797	2766	2798	2788
雌雄の平均	2799	2783	2799	2785 ↓

Fisher の正確確率検定 ↓ : p<0.05 Williams 検定 ↓ : p<0.01

300ppm群雄に対照群雄と比較して統計学的に有意な減少が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

食餌効率は、43 および 44 週において高用量群の動物に残余の増加があったのを除いて、影響はなかった。

検体摂取量；投与期間中の群平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		5	25	300
検体平均摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.17	0.89	11.15
	雌	0.19	0.97	11.48

一般的に動物体重が減少したため、実際の検体摂取量は試験期間中わずかに減少した。

眼 検 査；すべてのイヌについて、獣医眼科専門家が投与開始前、13、26 および 52 週日に間接顕微鏡を用いて検査した。眼検査に検体投与の影響は観察されなかった。

血液学的検査；投与開始前、投与期間中は 13、26 および 52 週日に対照群と投与群の全例を検査した。1 晩絶食後、全動物の頸静脈または頭側静脈から血液を採取し以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値 (PCV)、ヘモグロビン (Hb)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積、総白血球数 (WBC Total)、血小板数、網状赤血球数、白血球百分率、好中球 (N)、リンパ球 (L)、好酸球 (E)、好塩基球、単球 (M)、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

次表に有意差がみられた項目を示す。

投与量 ppm	5				25				300				
	週	2	13	26	52	2	13	26	52	2	13	26	52
雄													
Hb													↓89
MCHC										+97			↓95 ↓96
WBC	N												↓69
	E				↓5				↓62				↓38
雌													
PCV						+109							
RBC						+109				↑107			
WBC	L				↓68				↓60				↓83
	M											↓26	

student の t 検定 + p<0.05

Williams 検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

いくつかのパラメータにおいて、統計学的有意差がみられたが、偶発的な変化と判断した。毒性学的に重要な検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；投与開始前、投与期間中は 13、26 および 52 週日に対照群と投与群の全例を検査した。1 晩絶食後、全動物の頸静脈または頭側静脈から血液を採取し、その血清を用いて以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、尿素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、塩素、コレステロール、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、グルコース、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (GOT)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ、オルニチンカル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

パモイルトランスフェラーゼ (OCT)、血漿コリンエステラーゼ、赤血球コリンエステラーゼ

以下の表に有意差の認められた項目を示す。

性別	雄											
	5				25				300			
投与量(ppm)												
検査項目/ 検査時期(週)	2	13	26	52	2	13	26	52	2	13	26	52
グルコース												↑106
アルブミン										↓88		↓96
クレアチニン					+85							
OCT									+219			
塩素											↑102	
性別	雌											
投与量(ppm)	5				25				300			
検査項目/ 検査時期(週)	2	13	26	52	2	13	26	52	2	13	26	52
グルコース					++110				+107			
GOT												↑140
カリウム												↑112

student の t 検定 + p<0.05 ++p<0.01

Williams 検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

いずれの投与群雌雄にも毒性学的に重要な変化は認められなかった。

尿検査 ; 投与開始前、投与 13、26 および 52 週日に対照群と投与群全例について以下の項目を検査した。

尿量、pH、比重、蛋白質、グルコース、ケトン、胆汁色素、ウロビリノーゲン、ヘム色素、尿沈殿

以下の表に有意差の認められた項目を示す。

性別	雄														
	5					25					300				
投与量(ppm)															
検査項目/ 検査時期(週)	2	13	26	52	52.1	2	13	26	52	52.1	2	13	26	52	52.1
尿量															↑298
pH										↓91					↓95
比重							↑101					↑101		↓98	
蛋白質		↑167					↑222					↑144		↓37	
性別	雌														
投与量(ppm)	5					25					300				
検査項目/ 検査時期(週)	2	13	26	52	52.1	2	13	26	52	52.1	2	13	26	52	52.1
尿量		↓46					↓52		↑201			↓59		↑219	
比重		↑101					↑101					↑101		↓99	
蛋白質							↑255					↑182			

Williams 検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

尿量、pH、比重および蛋白質に有意差が散見されたが、血液生化学および病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的に重要ではないものと考えられた。

コリンエステラーゼ活性；投与開始前、投与2、4、13、26および52週日に対照群と投与群の全例について血漿コリンエステラーゼおよび赤血球コリンエステラーゼ濃度を測定した。また、屠殺時に脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

以下の表に有意差の認められた項目を示す。

検査項目	検査 時期 (週)	雄			雌		
		5 ppm	25 ppm	300 ppm	5ppm	25 ppm	300 ppm
血漿コリン エステラー ゼ活性	2		↓74	↓34		↓68	↓38
	4	↓82	↓66	↓33		↓62	↓34
	13		↓54	↓31		↓60	↓35
	26	↓82	↓58	↓25		↓57	↓32
	52	↓81	↓60	↓27		↓53	↓30
赤血球コリ ンエステラ ーゼ活性	2						↓60
	4			↓64			↓49
	13			↓30			↓28
	26		↓72	↓36			↓44
	62			↓24			↓35
脳コリンエ ステラーゼ 活性	52			↓65			↓66

Williams 検定 ↑↓ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01
表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

血漿コリンエステラーゼ活性は、25 および 300ppm 群雌雄において投与期間中一貫して有意に減少した。赤血球コリンエステラーゼ活性は、300ppm 群雌雄において投与期間中一貫して有意に減少した。

脳コリンエステラーゼ活性は、300ppm 群雌雄において有意に減少した。

剖検所見； 52 週後の試験終了時、生存動物をペントバルビタール麻酔にかけ放血屠殺した。投与に関連すると思われる肉眼的変化は認められなかった。

臓器重量； 52 週後の試験終了時に全生存動物について剖検後、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、膵臓、下垂体、脾臓、精巣または卵巣、胸腺、甲状腺および上皮小体、子宮または前立腺の重量を測定した。

いずれの臓器重量も対照群と投与群との間に統計学的有意差がなかった (Williams 検定)。

病理組織学的検査； 52 週後の試験終了時に全生存動物について剖検後、以下の臓器・組織について病理組織標本作製し、顕微鏡検査を行った。

副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、盲腸、回腸、結腸、直腸、大動脈、脳、眼、大腿骨および関節、胆嚢、心臓、腎臓、肝臓、肺(気管を含む)、リンパ節(頸部および腸間膜)、乳腺、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺(顎下)、坐骨神経、骨格筋(大腿二頭筋)、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、胸骨(骨髄を含む)、精巣および精巣上体、胸腺、甲状腺および上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮、膣

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

検体投与に関連した病理組織学的所見は、いずれの投与群にも認められなかった。

本検体のビーグル犬に対する52週間混餌投与による慢性毒性試験における影響として、300ppmおよび25ppm投与群雌雄において血漿コリンエステラーゼ活性の投与に関連した減少が認められた。なお、5ppm投与群雄にのみ認められた本パラメータの減少は、対照群に対し20%以内のわずかなものであった。赤血球および脳コリンエステラーゼ活性は、300ppm投与群雌雄においてのみ減少した。

以上の結果、本検体の本試験条件下における最大無作用量 (NOEL) は5ppm (雄 ; 0.17mg/kg/日、雌 ; 0.19mg/kg/日) と考えられた。

申請者注:JMPR1993では無毒性量は300ppmにおける脳コリンエステラーゼ抑制に基づいて、25ppmと評価され、申請者はそれを支持しNOAELを25ppm (雄0.89mg/kg bw/日 雌0.97mg/kg bw/日)と考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

マウスにおける発がん性試験

(資料No.16)

試験機関：IRDC (米国)

報告書作成年：1980年

検体純度：ホサロン原体 %

試験動物：チャールズリバーCD-1系マウス

15*及び50ppm投与群;雌雄各60匹、対照群及び150ppm投与群;雌雄各65匹
(*15ppm投与群の雌の1匹は第5週目に死亡したため予備のマウスと入れ替えた。)

試験期間：104週間(1976年10月7日~1978年10月12日)

投与方法：適量の検体と基礎飼料少量とを乳鉢で混合し、さらに基礎飼料で希釈する方法で、15、50及び150ppmの濃度の混合飼料を作成し随時摂食させた。混合飼料は毎週調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。角膜混濁、肛門性器部に湿性の黄色物が付着、皮膚露出部分の蒼白、低体温(触った時に冷たく感じる)、動物取り扱い時の強直性痙攣、腫瘤等が対照群、投与群ともに観察された。試験終了時の死亡率を下記に示す。

投与量(ppm)	雄(%)	雌(%)
0	50	52
15	45	44
50	54	60
150	47	57

一般状態、外観、あるいは生存率は、いずれの投与群も対照群と大差はなく、投与による影響は認められなかった。

体重変化；試験開始後12週までは毎週、それ以降14週間は隔週、それ以降は毎月測定した。検体投与による体重の変化は認められなかった。

摂餌量；試験開始後12週までは毎週、それ以降14週間は隔週、それ以降は毎月測定した。検体の投与によると考えられる摂餌量の差は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量及び検体濃度より1日あたりの平均検体摂取量を算出し、下記に示した。

投与量	平均検体摂取量 (mg/kg/日)	
	雄	雌
0ppm	0	0
15ppm	2.3	3.0
50ppm	8	11
150ppm	23	31

コリンエステラーゼ値；投与6週目及び投与終了時に、対照群及び150ppm群の雌雄マウス各5匹を屠殺し、血液及び脳組織サンプルを採取し、血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性を測定した。血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性は150ppm投与群で、投与6週目及び終了時ともに対照群に比べ低下した。また脳コリンエステラーゼ活性は、投与6週目に亢進した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

週	コリンエステラーゼ活性 (%無処理)					
	血漿		赤血球		脳	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
6	45	52	81	71	138	133
105	19	20	39	76	90	109

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

臓器重量； 試験終了時の全生存動物を対象として、各臓器を摘出し、固定後重量を測定した。下表に対照群と比べ、統計学的有意差を示した項目をまとめた。

臓器		15ppm		50ppm		150ppm	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
体重	(g)	40	37	39	36	39	36
副腎	絶対重量 (g)	↑117		↑167	↑136	↑167	↑118
	相対重量(%)	↑126		↑179	↑143	↑169	↑128
脳	絶対重量 (g)			↓96		↓96	
	相対重量(%)						
精巣 / 卵巣	絶対重量 (g)						
	相対重量(%)			↑137			
腎	絶対重量 (g)						
	相対重量(%)		↑109				
下垂体	絶対重量 (g)	↑133					
	相対重量(%)	↑130					

Steel あるいは Torrie の t-test ↑ ↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

50 及び 150ppm 投与群の副腎では、明らかに投与に関係した重量増加が認められたが、組織学的影響は認められなかった。その他の臓器については用量依存性が見られず、また病理学的変化は認められないことから、毒性学的意義があるとは考えられなかった。

肉眼的病理検査； 投与終了時の全生存動物及び途中死亡動物、切迫屠殺動物を対象として剖検した。肺の結節及び腫瘤、肺及び肝の変色した病巣、卵巣の嚢胞、嚢胞性子宮及び子宮の腫大等が散見されたが、これらはこの種のマウスに通常認められるもので、検体投与に起因する影響は認められなかった。

病理組織学的検査； 剖検後、組織及び臓器を摘出し、ホルマリンで固定後、検鏡した。対象は、脳、胆嚢、脊髄、脾、眼、腎、涙腺（ハーダー腺）、膀胱、下垂体、胃、甲状腺及び上皮小体、膵、副腎、小腸、唾液腺、大腸、下顎リンパ節、精巣、腸間膜リンパ節、前立腺、気管、精嚢、食道、卵巣、胸腺、子宮、子宮頸部、大動脈、皮膚／乳腺、心、骨格筋、肺、末梢神経、肝、骨髓（胸骨）及びその他肉眼的病変部位。

その結果、非腫瘍性病変としては、どの所見も自然発生的あるいは、偶発的なものであり、検体投与との関係はないと考えられた。主な所見は副腎での A 型細胞増殖、甲状腺でのアミロイドーシス、肺での気管支周囲リンパ細胞過形成及び限局性リンパ球浸潤、脾での髄外造血、腎でのリンパ球浸潤と尿管管拡張を伴った慢性腎炎、肝での限局性リンパ球浸潤及び子宮での嚢胞性腺増殖症等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

主要な非腫瘍性病理所見

	0ppm		15ppm		50ppm		150ppm	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎 A型細胞過形成	21/60	46/54	28/57	53/59	18/58	54/59	21/58	55/59
アミロイドーシス	12/60	23/54	10/57	23/59	11/58	23/59	13/58	23/59
甲状腺 アミロイドーシス	6/51	15/52	7/48	7/45	6/47	5/43	7/46	10/56
肺 気管支周囲リンパ組織過形成	41/60	44/60	39/60	42/61	36/60	36/60	38/59	36/58
巣状リンパ球浸潤	40/60	41/60	38/60	39/61	37/60	37/60	33/59	44/58
脾臓 髓外造血、うっ血	56/59	59/59	59/59	61/61	58/58	58/58	57/59	60/60
腎臓 慢性腎炎	53/60	55/60	55/60	55/61	51/60	52/60	52/60	56/60
アミロイドーシス	20/60	22/60	14/60	18/61	14/60	25/60	18/60	18/60
肝臓 限局性リンパ球浸潤	36/60	46/59	35/60	48/61	31/60	40/60	36/60	45/60
子宮 嚢胞性腺増殖症	-	55/60	-	57/61	-	56/60	-	57/60

Fisherの正確確率検定 ↑↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01 (申請者が計算)

- : 未実施

腫瘍性病変については、表1のとおりである。主な所見として、肺の限局性腺腫、肺胞細胞での侵襲性癌、肝細胞癌、及び造血系の悪性リンパ腫等が認められた。しかし、これら腫瘍の種類及び発現率はこの種のマウスに通常観察されるものであり、検体の発癌性を示唆するものではなかった。各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は表2のとおりである。

表1

投与群 (ppm)	所見	0		15		50		150	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
脳	神経膠腫	1/60			1/61			1/60	
ハーダー腺	腺腫	9/60	2/60	7/60	4/61	2/60	3/60	10/60	7/60
下垂体	腺腫		1/51		3/59		3/55		2/55
	神経線維腫					1/48			
甲状腺	濾胞細胞腺腫					1/47		1/46	
副腎	A細胞腺腫				1/59				
	副腎皮質腺腫					1/58			
唾液腺	神経線維腫							1/60	
心臓	線維肉腫						1/60		
肺	腺腫	21/60	9/60	15/60	15/61	19/60	12/60	16/59	6/58
	癌	5/60	6/60	4/60	2/61	1/60	1/60	5/59	5/58
肝臓	腺腫					2/60			
	肝細胞癌	10/60		8/60	1/61	7/60	2/60	6/60	
胆のう	乳頭腫					1/54			
腎臓	腺腫		1/60					1/60	
胃	腺腫							1/60	
	腺癌							1/60	
膵臓	膵島細胞腺腫							1/60	
小腸	ポリープ						1/60	1/60	
	腺癌								1/60
精巣	間細胞腫	1/60		1/60		2/60			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

	投与群 (ppm)	0		15		50		150	
	所見	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
卵巣	顆粒膜細胞腺腫								1/60
	莢膜細胞腺腫	1/60							
	乳頭状腺腫				2/61		1/60		
	癌	1/60							
子宮	ポリープ		4/60		4/61		3/60		1/60
	平滑筋腫		1/60		1/61		2/60		3/60
	平滑筋肉腫		1/60		2/61		2/60		4/60
	腺癌		2/60						
頸部	平滑筋腫		1/54						2/58
	平滑筋肉腫		1/54						
乳腺	腺腫								1/59
	腺癌		2/60		2/60		1/60		
造血器	悪性リンパ腫	9/60	9/60	5/60	6/61	6/60	13/60	8/60	4/60
	顆粒球性肉腫	3/60	1/60	2/60		1/60		1/60	
	細網細胞肉腫		1/60	1/60	4/61	4/60	3/60		1/60
	血管肉腫	1/60	1/60	1/60	3/61	1/60	1/60	3/60	1/60
	血管腫	3/60		1/60		2/60		2/60	1/60
皮下組織	線維肉腫		1/2						
	毛嚢上皮腫				1/3				
頭蓋骨	骨肉腫		1/1						
肢	骨腫			1/2					
胸骨	骨肉腫				1/1				
椎骨	骨腫				1/1				

Fisher の正確確率検定 ↑ ↓ : p<0.05 (申請者が計算)

表 2 腫瘍発生数の合計

性別	投与群(ppm)	雄				雌			
		対照	15	50	150	対照	15	50	150
	検査動物数	60	60	60	60	60	61	60	60
腫瘍数	良性	35	25	31	35	20	33	25	24
	悪性	28	21	20	24	27	21	24	16
	腫瘍総数	63	46	51	59	47	54	49	40
	腫瘍動物数	39	32	36	38	29	37	33	27

以上の結果より、本剤の 24 ケ月間飼料混入投与による発癌性試験において、150ppm 投与群においても検体による発癌性は認められなかったため、最大無作用量は 150ppm であると判断される。

申請者注：本試験では NOAEL は求められなかった。JMPR1993 の NOAEL の評価では最高用量の 150ppm において血漿及び赤血球細胞コリンエステラーゼ活性阻害が認められたが、脳コリンエステラーゼ活性の阻害が見られなかった事により 150ppm とされた。申請者はこれを採用して NOAEL を 150ppm (雄 23 mg/kg bw/日、雌 31 mg/kg bw/日) と考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

(9) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性

①ラットを用いた繁殖試験

(資料No.17)

試験機関: Woodard Research Corporation (米国)

報告書作成年: 1967年

検体の純度: ホサロン

試験動物: チャールズリバー社より入手のアルビノラット (系統不記載)

1群雄 10匹雌 20匹

投与開始時 5週齢

投与期間: P世代; 交配までの検体混入飼料摂取日数 74日

F1世代; 交配までの検体混入飼料摂取日数 77日

F2世代; 交配までの検体混入飼料摂取日数 71日

投与方法: 検体を 25ppm 及び 50ppm となるように飼料に混合し、自由に摂取させた。

用量設定の根拠: 不記載

方法及び試験項目:

一般状態及び死亡率: 全動物について生死及び一般状態を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認: 交配は、雌雄 1対1で 10日間同居させ、F0及びF1世代で 2回、F2世代で 3回行った。

妊娠は出産により確認した。

(申請者注: 妊娠 0日の定義はなされていなかった。)

繁殖性に関する指標

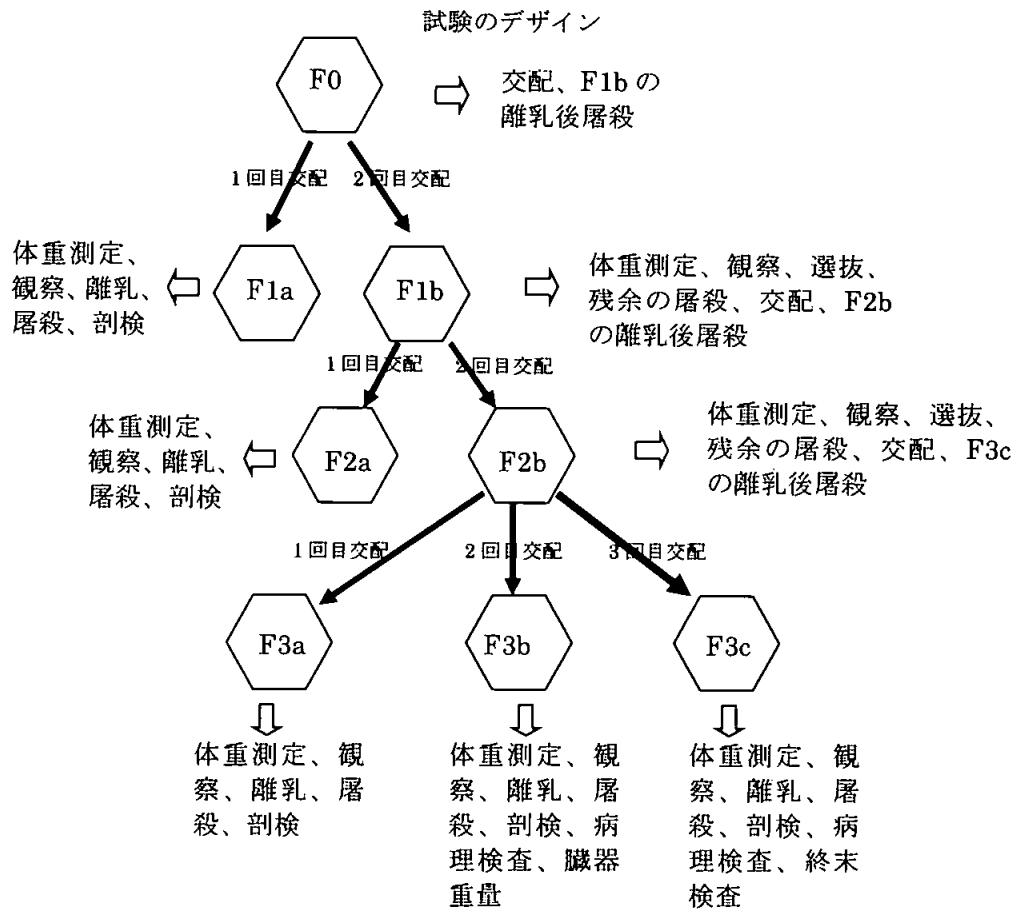
$$\text{出産率} = \frac{\text{出産した雌動物数}}{\text{交配させた雌動物数}}$$

・生存児数、死産児数、腹当りの生存児数、離乳時の生存児数、出生時の平均体重、離乳時平均体重

臓器重量

F 3b 及び F3c について腹毎に雌雄 2匹の心、肝、腎の重量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

親 児	期間 (日)	作業手順	試験項目
F0	生育 (74)		体重を2週間おきに測定 但し、雌は妊娠及び 哺育期間は測定せず
	交配 (10+10)	雌20匹を10匹ずつ2回にわ け、雌雄1対1で交配	
F1a	妊 娠 F1a		出産状況の観察 外表異常、生存及び死亡児数 平均体重及び健康状態の検査 生存児数、平均体重、外表異常 及び健康状態、及び内臓検査
	出産 " (哺育) 離乳 "	離乳時屠殺(F1a)	
F1b	交配	F0に準ずる	出産状況の観察 F0に準ずる
	妊 娠 出産 (哺育) 離乳	継代用として雄10匹雌20匹 選抜、残余は検査後、屠殺、 F0両親も屠殺	
F1b	生育 (71日)	(最初の3週間は半濃度の 飼料を投与)	2回の交配で妊娠しなかった母 獣は着床数を調べた。 F0に準ずる。
	交配 (10+4+10)	F0に準ずる (1回目と2回目の間に14 日間の休憩)	
F2a	妊 娠 出産 (哺乳)		出産状況の観察 F0に準ずる
	離乳	離乳時屠殺(F2a)	
F2b	交配	F0に準ずる	出産状況の観察 F0に準ずる
	妊 娠 出産 (哺育) 離乳	F1bに準ずる	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表続き

親 児	期間 (日)	作業手順	試験項目
F2b	生育 交配	F1bに準ずる F0に準ずる	
	妊娠 出産 F3a (哺育) 離乳	F1aに準ずる	出産状況の観察 F0に準ずる
F3b	交配 妊娠 出産 哺育	F0に準ずる	F0に準ずる
	離乳	F1aに準ずる	腹毎に雌雄別2匹選抜し、期間重量測定、さらに腹毎に雌雄各1匹を選抜し病理組織学的検査
F3c	交配 妊娠 出産 F3c (哺育) 離乳	F0に準ずる	出産状況の観察 F0に準ずる
		F1aに準ずる	F3bに準ずる 肉眼的剖検 3回の交配で妊娠しなかった母獣は着床数を調べた。 雄：3回共妊娠させられなかった動物の精巣について病理組織学的検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

結果

世代	親 : P 児 : F1a, F1b			親 : F1b 児 : F2a, F2b			親 : F2b 児 : F3a, F3b, F3c			
投与量(ppm)	对照群	25	50	对照群	25	50	对照群	25	50	
動物数	雄	10	10	10	10	10	10	10	10	
	雌	20	20	20	20	20	20	20	20	
一般状態	特に異常なし									
死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	4	2	6
	雌	0	1	3	0	1	0	3	4	3
*体重	雄	♂89 ↓90 6W 6W								
(%無処理)	雌	↑107 8W		↓89 2W			♂114 ♀114 32W 32W			
肉眼的病理検査	異常所見なし									
**出産率	(a)	17/20	16/20	16/20	17/20	19/20	17/20	9/20	8/20	12/20
	(b)	19/20	17/19	16/18	10/20	10/20	10/20	15/20	12/19	13/20
	(c)							5/17	11/17	9/19
受精動物数	(1)	10	10	9	9	10	10	10	10	10
生存児数	(a)	190	174	157	183	165	168	69	64	91
	(b)	204	195	194	105	96	93	118	109	114
	(c)	—	—	—	—	—	—	36	85	68
死産児数	(a)	2	2	1	4	11	0	8	8	8
	(b)	17	2	0	0	1	1	8	9	8
	(c)	—	—	—	—	—	—	7	8	8
*生存児/腹	(a)	11.2	10.9	↓9.8	10.8	↓8.7	9.9	7.7	8	7.6
	(b)	10.7	11.5	12.1	10.5	9.6	9.3	7.7	9.1	8.8
	(c)	—	—	—	—	—	—	7.2	7.7	7.6
離乳時	(a)	173	147	138	152	146	146	60	50	90
生存児数	(b)	155	138	173	92	87	79	94	98	112
	(c)	—	—	—	—	—	—	25	62	50
離乳時	(a)	17	27	19	31	19	22	9	14	1
死亡児数	(b)	49	57	21	13	9	14	24	11	2
	(c)	—	—	—	—	—	—	11	23	18
*出生時平均体重 (g)	(a)	5.6	5.9	5.7	6.2	6.5	6.5	5.4	6.1	6.2
	(b)	6.5	6.2	6.2	5.8	5.8	6.0	6.1	6.2	6.2
	(c)	—	—	—	—	—	—	6.8	↓5.5	5.9
*離乳時平均体重	(a)	37.5	38.0	37.4	34.5	35.6	37.4	36.4	36.3	34.7
	(b)	43.1	39.3	↓37.6	39.3	37.5	40.4	38.1	34.1	33.5
	(c)	—	—	—	—	—	—	43.3	↓29.5	31.4
肉眼的剖検(全群児動物)	異常所見 — なし									
病理組織学的検査(F3b, F3c)	異常所見 — なし									

(1) : 4回交尾させたうち、少なくとも1回は妊娠させた動物数 (a) : 第1回目の出産 (b) : 第2回目の出産 (F2bは、4回以上の交尾) (c) : 第3回目 "

*Dunnett検定 ↑↓ : p<0.05 ♂♀ : p<0.01 (申請者が計算)

**Fisherの正確確率検定 (申請者が計算、有意差なし)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

病理組織学的検査

F3b 及び F3c 児に、腹毎に雌雄各 1 匹の心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、甲状腺、生殖腺、骨髄を検査した。

着床痕の検査

F0 及び F1 親において、第 2 産まで得られなかった雌、及び F2 親の第 3 産まで得られなかった雌について、子宮内の着床痕を数えた。

結果

親動物

体重変化は、F0 世代の雄で 6 週目に各投与群とも対照群より有意に低く、F1 世代の 50ppm 雌で 2 週目に対照群より有意に低かった。また腹当りの生存児数で、F0 世代の 50ppm および F1 世代の 25ppm で対照群と比べ低かった。これらの散発的な低値は、処理による影響とは考えなかった。生存率、一般症状ともに対照群と差がなかった。

F2b 世代は、対照、投与群とも実験室内で発生した感染症のため死亡数が増加し、(死亡数 22 匹)、さらに生存全動物の肉眼的剖検でも肺の病変が認められた。F0、F1 世代で第 2 産まで得られなかった動物についての子宮着床痕の検査では、胎児吸収に与えるホサロンの影響は認められなかった。

児動物

出生時平均体重において、F2 世代・25ppm の 3 回目出産の児動物は対照群と比べて低く、離乳時平均体重では、F0 世代・50ppm の 2 回目出産の児動物と F2 世代・25ppm の 3 回目出産の児動物が対照群と比べて低かった。一般状態、生産児数、生存胎児数、哺育率、肉眼的剖検において投与群と対照群で差は認められなかった。25ppm 投与群の F2a 児で 1 匹の雌の 6 離乳児中 3 匹に後肢の弛緩性麻痺が観察されたが、その原因は明らかにできなかった。また、50ppm 投与群の F2a 児 1 匹に心臓転位があった。しかしその他については、奇形は認められなかった。F3b 及び F3c の器官重量では、投与群と対照群では差がなかった。また病理組織学的検査でも、検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、3 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、最高用量 (50ppm) でも、繁殖に及ぼす影響は認められなかった。

申請者注:本試験において親、児に対する NOAEL は求められなかったが、JMPR1993 では 50ppm で毒性が認められなかったので NOAEL は 50ppm (2.5 mg/kg bw/日*)以上とし、申請者もそれを支持する。

* JMPR default による換算 (Guidelines for the preparation of toxicological working papers for the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Appendix F : Approximate relation of parts per million in the diet to mg/kg of body weight per day (Geneva, December 2000))

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

②ラットを用いた繁殖試験

(資料No.39)

試験機関：Huntingdon Research Centre

(英国) [GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度：ホサロン原体 %

試験動物：SPF 雌雄ラット (CrI : CD (SD) VAF/Plus BR 系)、

F0 ; 雌雄 32 匹/群, F1 ; 雌雄 28 匹/群、

F0 投与開始時 6 週齢

投与期間：F0 世代；投与開始から交配前 10 週間及び F1 児離乳まで

F1 世代：離乳から交配前 16 週間及び F2 児離乳まで

投与方法：検体を 10、50、400ppm の混餌飼料を投与期間中、自由に摂食させた。

用量設定の予備試験は 0、25、100、200、400 および 800ppm で行われ、800ppm では振戦、妊娠 1 日目に 1 匹の雌が屠殺された。摂餌量が抑制され、初期において体重増の減少が認められた。全腹児の欠損が起り、胎児の死亡率が増加し、残る腹児の成長も抑制された。400ppm においては上記の影響が軽度に現われた。200ppm 以下の濃度ではコリンエステラーゼの抑制を除いては、有害な影響は認められなかった。親動物に対する毒性が確実に誘起されると考えられる 400ppm を高用量、明瞭な毒性が認められないと考えられる 10ppm を低用量として設定した。

検体摂取量：

F0 世代

投与群(ppm)	雄			雌		
	10	50	400	10	50	400
摂取量(mg/kg/日)	0.7	3.6	29.4	0.8	3.9	32.8

F1 世代

投与群(ppm)	雄			雌		
	10	50	400	10	50	400
摂取量(mg/kg/日)	0.8	4.0	33.6	0.9	4.3	36.7

方法および試験項目：概要を表 1 にまとめた。

親動物 F0 及び F1 親動物について以下について調査した。

症 状；少なくとも 1 日 1 回観察された。

死 亡 率；1 日 2 回観察し、すべての死亡個体は重量を測定し、剖検を実施して死亡の原因を調べた。

摂 水 量；F0 世代の投与開始前及び両世代の生育期間の最初及び最後の 2 週間、毎日測定した。

摂 餌 量；F0 世代は投与 1 週間前、F2 世代は第 4 週から生育期間中毎週測定した。

体 重 変 化；両世代とも、生育期間以降、毎週測定した。

更に、全雌動物については、両世代とも、交配期間から分娩時まで体重を毎日測定し、妊娠 0、7、14、17 及び 20 日目を測定した。また、哺育児を有する母動物は分娩後 0、1、7、14 および 21 日目を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

妊娠率；交配した雌動物に対する妊娠した雌動物の割合(%)を算出した。

交配日；交配期間中、膣スメアを毎日調査し、交配日を決定した。
交尾が確認（精子または膣栓）された日を妊娠0日とした。

妊娠期間；交配日から分娩日までの期間を妊娠期間とした。

生化学的検査；両世代親動物の最終屠殺前に、採血し、赤血球コリンエステラーゼ (E-Che) および血漿コリンエステラーゼ (P-Che) 活性を測定した。また、屠殺直後に採取した脳より脳コリンエステラーゼ (Brain-Che) 活性を測定した。

臓器重量；各世代とも全親動物について最終屠殺後、以下の臓器の重量を測定した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、前立腺、精巣、胸腺

着床数；分娩を認めた雌の子宮は肉眼的に着床部位を検査し、着床数を記録した。

病理組織学的検査；対照群および高用量群の全てのF0、F1世代親動物、低中用量群の明らかに不妊と判定された全ての雌雄の下記組織につき実施した。

卵巣、下垂体、前立腺、精嚢腺、精巣、子宮、膣および肉眼的に異常の認められた組織また、全産児が死亡した全ての雌動物の乳腺についても実施した。

児動物

産児数、性別、外表異常；分娩後なるべく早い時期に調査した。

生死；毎日確認した。

体重；分娩後なるべく早い時期及び、分娩後、4、8、12及び21日に測定した。

離乳前発育；全ての腹の全児動物について、正向反射、驚愕反応、空中立ち直り反応、瞳孔反射を哺育期間中に調べた。

離乳後発育；分娩28日後より全てのF1選抜雌動物について膣開口を調べた。分娩35日後より全てのF1選抜雄動物につき亀頭包皮裂の発現を調べた。

離乳時まで哺育した各腹につき以下のパラメータを算出した；

$$\text{着床後損失率} = (\text{着床数} - \text{総産児数}) / \text{着床数} \times 100$$

$$\text{出生時児動物損失率} = (\text{出生時の総産児数} - \text{生存産児数}) / \text{出生時の総産児数} \times 100$$

$$\text{累積児動物損失率} = (\text{出生時の総産児数} - \text{X日の生存児数}) / \text{出生時の総産児数} \times 100$$

$$\text{性比} = \text{雄総数} / \text{総児動物数} \times 100$$

F1余剰動物の屠殺；F1において選抜されなかった余剰動物については、分娩21日以降に屠殺し、外表および内臓異常を調査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
F0	生育 (10 週間)	・ 雌雄 1 対 1 で交配 (精子又は膣栓で交配確認) (交配の確認された日を 妊娠 0 日とする) ・ 分娩 4 日後に各腹の児動物 を可能な限り雄 4、雌 4 匹に 調整 ・ F1 各群雌雄 28 匹ずつ選抜 ・ F0 雌雄屠殺	・ 一般症状、死亡率調査 ・ 摂水量；生育期間始め及び最後の 2 週 間は毎日 ・ 摂餌量；毎週 ・ 雌雄体重；毎週（雄は屠殺時まで毎週 測定） ・ 雌体重；毎日
	交配 (20 日間)		・ 雌体重；妊娠 0,7,14,17,20 日 ・ 妊娠期間確認
	妊娠		・ 産児数、性別、外表異常調査 ・ 死亡児動物剖検
	分娩 哺育 (3 週間)		・ 母動物体重；分娩後 0,7,14, 21 日 ・ 児動物の生死、体重； 分娩後 0,4,8,12,21 日
F1	離乳	(F0 世代に準ずる)	・ F1 余剰動物の肉眼的検査 ・ F0 世代；肉眼的検査、臓器重量、 病理組織学的検査、 生化学的検査
	生育 (12 週間)		・ 雌膣開口調査 ・ 雄亀頭包皮裂の発現調査
	交配 (20 日間)		(F0 世代に準ずる)
	妊娠		(F0 世代に準ずる)
	哺育 (3 週間)		・ F2 児動物肉眼的検査 ・ F1 親動物；肉眼的検査、 臓器重量、病理組織学的検査、 生化学的検査
	離乳		・ F2 児動物屠殺 ・ F1 親動物屠殺

結果：概要を表 2 に示した。

一般症状および死亡率；

F0 世代 400ppm 群雌雄に第 2～7 週にかけて糞便量が少ない傾向が認められた。F1 世代ではこの傾向は顕著には認められなかった。

次表に示すように死亡が認められた。

投与量(ppm)	0	10	50	400
F0 世代	1♂	1♀	1♂	—
F1 世代	—	2♂	1♀	—

これら動物には死亡前何ら異常は認められず、死後剖検においても死因と思われる変化はなかった。従って、これらの死亡は投与とは関係のないものと考えられた。

摂水量；

両世代において、400ppm 群雌雄の平均摂水量は対照群と比較して僅かに少なかつ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

た。(統計的有意差は、F1雌15週時のみ認められた(無処理の92%($p < 0.05$))。50及び10ppm群については投与の影響は認められなかった。

摂餌量；

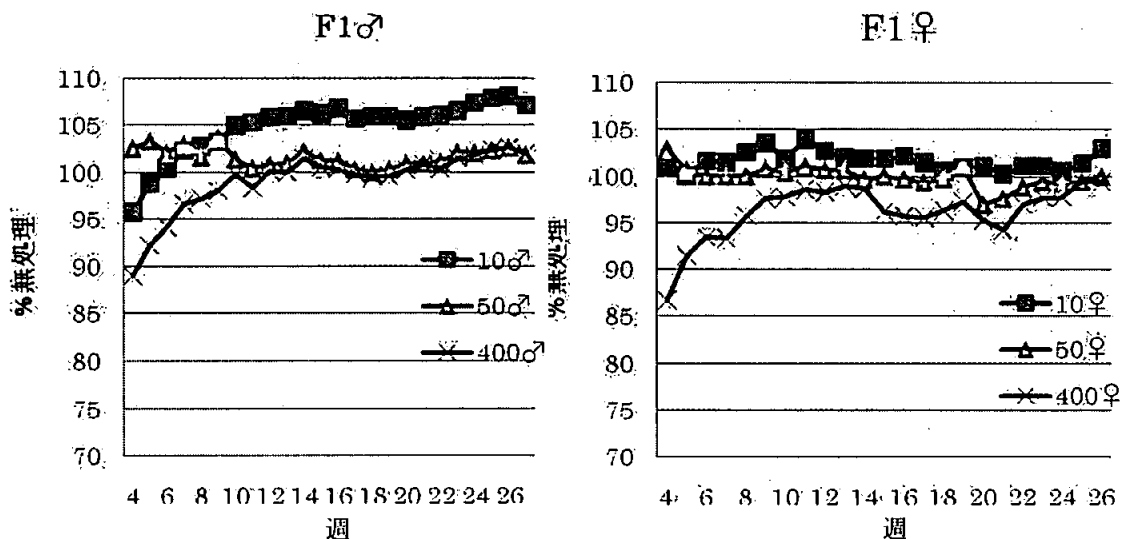
両世代雌雄において、投与群の平均摂餌量は対照群と同等かあるいは僅かに増加した。しかしながら、投与量との関係、世代間での一定の傾向は認められなかったため、これらの変化は偶発的なものであり、投与に関連しないものと考えられた。

体重；

F0世代400ppm群雌において8週目に平均週間体重が対照群と比べ低く、妊娠時から妊娠17日まで平均体重増加が低かった。

F1世代400ppm群雄において12週まで、また400ppm雌では投与期間を通して対照群に比べて体重が低かった。10及び50ppm群では対照群と大差は認められなかった。両世代とも、哺育期間中の母動物の体重変化のパターンに投与群と対照群間に大差は認められなかった。

F1世代の体重の推移



食餌効率；投与の影響は認められなかった。

交配能力、妊娠率、妊娠期間；投与による影響は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性；

10ppm群では、血漿コリンエステラーゼ活性に影響は見られず、赤血球コリンエステラーゼ活性の低下がF0雄およびF1雌で有意に認められたものの、18%を超えるものではなかった。50ppm群および400ppm群では、何れの世代においても有意な血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。但し、何れの時点においても、この酵素活性の低下に関連した一般症状の変化は認められなかった。

最終肉眼的検査；投与の影響と考えられる所見は認められなかった。

各腹のパラメータ；

着床後損失 投与の影響は認められなかった。

1腹死亡 1腹死亡例は両世代の合計で対照群～400ppm群でそれぞれ1、1、1及

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

び5例であり、400ppm群での発生数の増加は投与の影響が示唆された。

産児数 投与の影響は認められなかった。

死亡児動物数 分娩後4日調整前までの累積死亡率が、F1児動物400ppm群で有意に増加した。50ppm及び10ppm群では両世代とも投与の影響は認められなかった。

1腹重量及び平均児体重 世代とも、分娩後4日調整直前の1腹重量及び平均児体重が400ppm群で有意に低下し、10ppmおよび50ppm群では対照群と有意な差は認められなかった。

性比 投与の影響は認められなかった。

離乳前発育 投与による悪影響は認められなかった。F1児動物に関して、400ppm群は正向反射で統計上の有意差が認められたが、実質半日の差もないので生物学的意義は少ないと考えられた。

離乳後発育 400ppm群雄では、亀頭割離の平均日齢に若干遅延がみられたが、有意差はなかった。400ppm群雌では発育遅延がみられたにもかかわらず、膣開口日齢に投与の有意な影響はなかった。雌雄ともに50および10ppm群では対照群と同等であった。

児動物に関する肉眼的異常 投与の影響と思われる所見はなかった。

臓器重量；

両世代で、400ppm群雌雄の肝重量が僅かに増加した（F1雌のみ有意差が認められた）。F0世代400ppm群雌の心臓重量が有意に低下したが、F1雌では認められず、投与の影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査；投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

結論：ホサロン400ppm投与群において認められた所見は、主に血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性の低下、摂水量の低下、全産児死亡頻度の僅かな増加、児動物の死亡率増加、児動物の発育遅延及び肝重量の僅かな増加であり、これらの所見は、両性に認められ、両世代間で再現性が認められた。また、F0世代の妊娠中の体重増加の減少およびF1世代の4週に有意な体重低下が認められた。

50ppm群では、両世代における血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。

10ppm群では、赤血球コリンエステラーゼ活性の極僅かな低下が見られただけであった。

繁殖に関するパラメータについて、50ppm以下の投与群では、交配能力、妊娠率または出産から哺育に至るまで母動物の能力に投与の影響は認められなかった。

以上より、親児に対するNOELは10ppmであり、50ppmまで繁殖性に影響はないと考えられた。

申請者注：JMPR1993は本試験のNOAELを、400ppmで児の生長が抑制されたこと及び赤血球コリンエステラーゼの抑制を基に親、児に対して50ppm(2.5 mg/kg bw/日)とし、申請者はそれを支持する。

* JMPR defaultによる換算 (Guidelines for the preparation of toxicological working papers for the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Appendix F : Approximate relation of parts per million in the diet to mg/kg of body weight per day¹ (Geneva, December 2000))

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 2 (空欄部：有意差なし)

世代		親；F0、児；F1				親；F1、児；F2			
投与量(ppm)		0	10	50	400	0	10	50	400
動物数	雄	32	32	32	32	28	28	28	28
	雌	32	32	32	32	28	28	28	28
摂水量(対照比%) 1)									
	雄	-	98	96	96	-	110	104	95
	雌	-	108	106	98	-	102	98	94
摂餌量(g/rat/week)									
	雄 7週	205	213	209	216*				
	8	205	213	212	220*				
	9	209	215	211	221*				
	10	206	213	209	218*				
	雌 5週	162	166	166	173*				
	6	152	152	152	161*				
	9	150	144	144	160*	143	150	146	154*
	13					141	141	143	150*
	15					143	142	143	123**
体重(g/rat/week)									
	雄 4					118	113	121	105**
	雌 4					105	106	108	93*
	8					321	332	323	335*
食餌効率 1)									
	雄	6.0	6.0	6.0	6.2	5.2	5.0	5.3	5.2
	雌	10.3	9.6	9.8	9.3	7.8	7.8	8.0	8.0
交尾能力		87.5	81.3	93.8	84.3	85.7	89.3	96.4	82.1
妊娠率		3.0	4.0	2.0	3.5	3.0	3.0	3.0	3.0
妊娠までの平均日数		22.0	22.0	22.1	22.2	22.1	22.0	21.9	21.9
妊娠期間									
	E-Che 雄	1.71	1.47*	0.99**	0.37**	1.59	1.53	0.99**	0.40**
	雌	1.60	1.46	0.78**	0.42**	1.76	1.45**	0.74**	0.49**
	阻害率 (%) 雄	-	86	58	22	-	96	62	25
	(%) 雌	-	91	49	26	-	82	42	28
	P-Che 雄	0.50	0.48	0.42**	0.18**	0.45	0.50	0.41	0.17**
	雌	1.38	1.32	1.97**	0.29**	1.45	1.32	1.03**	0.27**
	阻害率 (%) 雄	-	96	84	36	-	111	91	38
	(%) 雌	-	96	143	21	-	91	71	19
臓器重量(対照%)									
	心臓 雌 絶対	-	98	96	97				
	相対	-	96	96	94**				
	肝臓 雄 絶対	-	96	97	106	-	102	95	109
	相対	-	96	97	104	-	95	93	106
	肝臓 雌 絶対	-				-	99	98	106
	相対	-				-	98	98	107*
病理組織学的検査									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 2 (続き)

世代		親 ; F0、児 ; F1				親 ; F1、児 ; F2			
投与量(ppm)		0	10	50	400	0	10	50	400
児 動 物	分娩時								
	着床後損失率(%)	11.7	10.1	12.5	12.0	4.3	4.6	4.4	7.7
	1腹全児死亡	1	0	0	2	0	1	1	3
	平均腹児数	15.2	14.6	14.4	15.0	14.0	13.5	14.6	14.6
	平均生存腹児数	14.8	14.5	14.2	14.5	13.7	13.3	14.4	14.3
	児死亡率(%)	3.2	0.8	1.4	3.1	1.8	1.3	1.4	2.0
	平均腹重量(g)	92.8	92.4	91.3	89.7	84.6	82.5	86.4	85.4
	平均児体重(g)	6.3	6.4	6.5	6.3	6.3	6.3	6.1	6.0
	性比(雄%)	50.1	46.3	48.7	47.4	46.9	49.0	49.2	50.7
	分娩後 4 日後調整前								
	平均生存腹児数	14.3	14.3	14.0	12.7	13.4	13.1	14.2	13.6
	累積児死亡率(%)	6.4	1.8	3.1	14.4#	3.9	2.7	2.6	7.2
	平均腹重量(g)	147	150	148	122##	135	133	136	122#
	平均児体重(g)	10.3	10.6	10.8	9.4#	10.4	10.5	9.7	9.0#
	離乳前発育								
	正向反射(達成日齢)	24.9	24.7	24.8	25.3#	24.7	24.5	24.6	24.7
	驚愕反射(")	34.6	34.5	34.6	35.0	34.7	34.5	34.6	34.7
	空中立ち直り反応 (")	37.3	37.1	37.0	37.4	37.5	37.5	37.3	37.8
	瞳孔反射(%)	100	100	100	100	100	100	100	100
	離乳後発育								
	臍開口(平均日齢)	33.2	33.0	33.8	33.6				
	亀頭包皮裂 (")	41.6	41.7	41.5	42.8				

1) F0 ; 1-10 週、F1 ; 5-16 週

*p<0.05, **p<0.01 ; Williams' test, #p<0.05 ## p<0.01 ; Kruiskal-Wallis test

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

2) 催奇形性

①鶏胚における催奇形性試験

(資料No.18)

試験機関：ローヌ・プーラン社研究所 (仏国)

報告書作成年：1962年

検体純度：

試験動物： 白色レグホン・受精卵 1群 30個

試験期間： 18日間観察

方法： 検体をDMSOに溶解し、1卵あたり0.2、0.6および1.8mgの用量で、3日齢の発育鶏卵の卵黄内に0.05mlの容量を1回注入した。

試験項目： 処理後2~3日間検卵し、18日間胎児の奇形について肉眼観察した。

結果：

投与群 (mg/卵)	無処理対照	溶媒対照	0.2	0.6	1.8
1群あたり動物数 (個)	30	30	30	30	30
生存胎児数	29	28	29	30	27
死亡率 (%)	3.3	6.6	3.3	0	10.0
奇形胎児数	0	0	0	0	0
生存胎児平均重・ {±標準誤差(g)}	21.5±0.3	20.2±0.2	19.8±0.3	19.8±0.2	19.7±0.3

統計検定記載なし

ホサロン処理卵の死亡率において、投与群と対照の溶媒処理群との間に明らかな差は認められなかった。また、平均重量や発育状態においても投与群と溶媒対照群の間には差は認められなかった。いずれの群においても鶏胎児には何ら異常が観察されなかった。

以上の結果より、ホサロンを鶏卵の卵黄内に投与したとき最高濃度の1.8mg/卵においても胎児に対する催奇形性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

②ウサギにおける催奇形性試験

(資料No.18)

試験機関：ローヌ・プーラン社研究所（仏国）

報告書作成年：1962年

検体純度：

試験動物：ブルゴーニュ地方の淡黄褐色ウサギ（体重 2.5～3.5kg）1群 25匹

試験期間：投与期間（11日間）

方法：検体を結晶のまま 0、2、6、18mg/kg の投与レベルで妊娠後6日目から16日目までの11日間、毎日1回経口投与した。陽性対照としてサリドマイドを同様に投与した。

なお、妊娠日齢は交配日を0日とした

試験項目：

母体：妊娠28日目に解剖し、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児：性別・体重及び外表異常の観察を行い内臓異常、骨格異常について検査した。

結果：

母動物：全群で死亡例はなかった。

着床所見については、6、18 mg/kg 投与群では対照群と差がなかった。2mg/kg 投与群で吸収率が対照群より高かったが有意差は認められなかった。

サリドマイド対照群では、吸収率が対照群よりはるかに高かった。

胎児動物：生存胎児数、性別、体重ともにホサロン投与に関する影響はみられなかった。また奇形胎児出生率も非常に低く、奇形も一般的なものであった。これに対してサリドマイド対照群では、生存胎児数は対照群と比較して有意に少なく、また、奇形胎児出生率も非常に高かった。

以上の結果より、ホサロンは妊娠ウサギに投与したとき、最高投与量の18mg/kg/日でも胎児に対し催奇形性を及ぼさないと判断される。

申請者注：JMPR1993はNOAELを母親、胎児ともに最高用量の18mg/kg/日とし、申請者はそれを支持する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

投与群(mg/kg/日)		対照	サト [*] マイト [*] 対照	2	6	18	
1群あたりの動物数		25	25	25	25	25	
母動物	死亡率	0	0	0	0	0	
	妊娠率(数)	80% (20/25)	76% (19/25)	88% (22/25)	92% (23/25)	76% (19/25)	
	流産数	2	1	1	0	0	
	(a) 着床数	7.8	9.1	8.2	8.5	8.5	
	生存胎児数	7.5	5.3	6.9	7.4	7.4	
着床所見	吸収胚数	1.1	4.1	1.1	1.1	1.6	
	死亡胎児数(%)	0	0.1	0	0	0	
	体重(g)	35.0	34.4	34.0	33.5	34.9	
	性比(♂/♀)	0.96	0.96	0.86	1.02	1.04	
総奇形胎児数(率)		4(3%)	30(31%)	2(1%)	6(3%)	6(4%)	
外表異常(发育不良を含む)		0.7%		0.7%		0.7%	
内臓異常							
胎児動物	心臓・血管の奇形		10.4%			0.7%	
	腎臓の萎縮又は发育不全		7.3%	0.7%			
	臍帯ヘルニア	0.7%					
	結腸末端部ヘルニア		5.2%				
	脳水腫		4.2%			0.7%	
	辜丸の发育不全又は辜丸逸所症	1.4%	2.1%				
	骨格異常						
	尾椎の萎縮又は欠除		8.3%				
	親指の萎縮又は欠除		6.3%				
	四肢の奇形		1.0%				
脊椎通り症				2.3%			
胸骨の変成		1.0%			2.1%		

(a) 1腹あたり平均数
空欄部発現なし
統計検定未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

③ ウサギにおける催奇形性試験

(資料No.40)

試験機関：Research & Consulting Company Ag
(スイス国) [GLP 対応]

報告書作成年：1989年

検体の純度：ホサロン原体 %

試験動物：チンチラ種妊娠ウサギ(Kfm:CHIN、交雑種、SPF 品質、5~7月齢)、
1群雌16匹

試験期間：交配開始；1998年3月30日、終了日；1998年5月18日

投与方法：ホサロン原体は0、1、10及び20mg/kg/日の用量で、交尾後6~18日に毎日1回強制経口投与された。交配日を交尾後0日とした。対照群は、溶媒のみを投与した(4% CMC 蒸留水)。

用量設定根拠：用量設定試験結果(RCCプロジェクト082991および204423)に基づいて設定した。

1回目の試験において(RCCプロジェクト082991)、1群当たり4匹の交配雌ウサギに交尾後6~18日に0、10、20または40mg/kgの用量で毎日投与した。20および40mg/kg投与群の各雌1匹が妊娠しなかった。20mg/kg投与群のもう1匹を肺組織の広範囲の硬化のために除外した。高用量群(40mg/kg)における毒性症状には、伸展性痙攣、呼吸困難、摂餌量の減少および体重減少が含まれていた。剖検時にこれら動物の2匹に脾臓の肥大および/または腎臓皮質のくぼみが観察された。一般症状を除き、同様な所見が20mg/kg群に観察された。少数の群をできるだけ評価したところ、40mg/kg群には母体の繁殖パラメーターに悪影響は認められなかったが、20mg/kg群において前期吸収胚数の増加が、10mg/kg群において後期吸収胚数の増加が認められた。胎児パラメーター(性比、胎児平均体重および胎児の外表/内臓検査)には投与による悪影響がなかった。2回目の試験では(RCCプロジェクト204423)、各群8匹の交配雌ウサギに0、1、20または40mg/kgの用量で交尾後6~18日に毎日投与した。40mg/kg投与群の毒性症状には、伸展性痙攣、呼吸困難、摂餌量減少、体重減少、腎臓皮質のくぼみおよび青味がかかった肝臓が含まれていた。同様な症状が20mg/kg群にも観察されたが、程度は軽かった。4匹の動物が全同腹児を失っており、内訳は対照群1匹、20mg/kg群2匹、40mg/kg群1匹であった。胎児パラメーターは投与による影響を受けなかった。

試験項目：親動物について、生死、一般症状及び体重を毎日観察測定した。摂餌量は交尾6、11、15、19、24及び28日後に記録した。親動物を交尾後28日に屠殺、胎児を帝王切開で取り出し、子宮、子宮内容物、子宮内胎児位置及び黄体数の検査を実施した。

胎児の検査は、体重、性別及び肉眼的外表異常の観察、内臓異常所見の記録、頭蓋の骨化程度の検査、骨格標本による骨格異常の観察、頭部の連続切片を作製し、検査を実施した。

結果：概要を表1に記した。

試験期間中死亡は認められず、最終剖検時に投与に関連した肉眼的変化も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

呼吸困難、伸長性痙攣、痙攣、虚脱状態および腹部痙攣からなる一般症状が、20mg/kg 群の投与期間に観察された。

投与期間中に摂餌量減少およびわずかな全体的な体重減少が、20mg/kg 群に観察された。1 および 10mg/kg 群における摂餌量および体重増加量は、対照群と同様であった。

高用量群で、2 匹が全胚吸収を示し、他の母体パラメーターの結果と併せて考慮した場合、投与の影響が示唆された。全胚吸収は、10mg/kg 群でも 1 匹で認められたが、歴史的背景データ(0~1/13)の範囲内であり、投与の影響ではないものと考えられた。

10 および 20mg/kg 群の全親動物に対する着床後死亡率が、対照群に比べ有意に増加したが、歴史的背景データ(0.7~16.4%)の範囲内であり、投与の影響とは考えられなかった。

胎児パラメーターについて、幾つかの骨格異常の頻度に関し対照群との間に有意差が認められたが、生物学的に意義のあるものではなく、性比、胎児平均体重、ならびに外表および内臓には、何れの用量においてもホサロン原体の投与による悪影響は認められなかった。

以上、ホサロン原体を 20mg/kg/日の用量で妊娠チンチラウサギに交尾後 6~18 日に経口投与した場合、著しい一般症状、有意な摂餌量の減少、投与期間のわずかな体重減少、および全胚吸収の動物数の増加の増加が認められた。

1 および 10mg/kg/日では、投与の影響は認められなかった。

本試験条件下では、ホサロン原体は催奇形性がないことが確認された。母体毒性の NOEL は 10mg/kg/日と考えられた。

申請者注：胎児におけるパラメーターは、性比、体重、外表・内臓・頭部・骨格とも全ての処理群で影響がみられていないことから、胎児毒性の NOAEL を 20mg/kg/日と申請者は考える。

なお、本試験においては投与期間が出産前日までとする最新のガイドラインに比して短かったが、ウサギの催奇形性にとって最も重要な時期に投与されており、また離乳期まで継続して投与されたラット繁殖毒性試験 2 試験（資料番号 17 および 39）において P2 世代が正常に生育し、資料番号 17 のラット繁殖毒性試験では正常に P3 世代が得られていることより、種は異なるが本剤の出産前日までの投与によっても特に重要な催奇形性の障害はないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1

投与群(mg/kg/日)		0	1	10	20	
1群当たり動物数		16	16	16	16	
親動物	一般症状	異常なし	異常なし	異常なし	1)	
	死亡数	0	0	0	0	
	妊娠数	15	16	16	16	
	摂餌量 (g/動物/日)	交尾後				
		0-6 日	186	175	205	194
		6-11 日	178	169	200	140*
		11-15 日	174	172	183	141
		15-19 日	186	173	186	142*
		19-24 日	161	149	183	193
	体重増加量 (g/動物)	交尾後				
		0-6 日	142	160	179	165
		6-11 日	27	27	8	-101
11-15 日		44	30	0	14	
15-19 日		57	45	84	61	
19-24 日		86	54	80	137	
剖検所見		投与に関連すると思われる肉眼的変化は認められなかった。				
着床所見	検査親動物数	15	16	16	16	
	全胚吸収親動物数	0	0	1	2	
	黄体数	140	148	151	150	
	着床数	126	137	146	141	
	着床後胚死亡率(%)	5.6	10.9	13.0#	15.6##	
胎児	総胎児数	119	122	127	119	
	生存胎児数	119	122	127	119	
	死亡胎児数	0	0	0	0	
	奇形胎児数	1	0	0	0	
	性別	雄	58	62	61	68
		雌	61	60	66	51
		性比(雄/合計,%)	48.7	50.8	48.0	57.1
	体重(g)	雄	35.1	35.0	34.6	35.3
		雌	34.4	33.7	34.5	34.3
	外表及び内臓検査	心臓欠落	1	0	0	0
		小胎児(<20.0g)	0	1	3	1
		頭部異常所見	0	0	0	1 ²⁾

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1 (続き)

投与群(mg/kg/日)		0	1	10	20
1 群当たり動物数		16	16	16	16
胎 児	骨格異常 (%)				
	胸骨				
	不完全骨化				
	第 2 胸骨分節	24	39	32	31
	第 3 胸骨分節	0	0	0	1
	第 4 胸骨分節	2	0	0	4
	第 5 胸骨分節	83	89	91	78
	未骨化				
	第 5 胸骨分節	17	9	7	20
	二分				
	第 5 胸骨分節	0	2	0	0
	肋骨				
	未骨化				
	第 13 肋骨、左	81	89	86	80
	第 13 肋骨、右	85	87	91	83
	短縮				
	第 13 肋骨、左	13	8	6	10
	第 13 肋骨、右	12	10	4	8
	前肢				
	不完全骨化				
	第一中手骨、左	61	59	64	66
	基節骨第 1 指骨、左	46	46	35	35
	中節骨第 2 指骨、左	17	20	10	14
	中節骨第 3 指骨、左	24	15	22	19
	基節骨第 4 指骨、左	0	0	0	1
	中節骨第 4 指骨、左	76	70	75	71
	第 5 中手骨、左	1	0	1	0
基節骨第 5 指骨、左	7	9	7	2	
中節骨第 5 指骨、左	15	27	28	34###	
第 1 中手骨、右	62	61	64	67	
基節骨第 1 指骨、右	46	46	35	36	
中節骨第 2 指骨、右	17	20	10	15	
中節骨第 3 指骨、右	24	15	21	19	
基節骨第 4 指骨、右	0	0	0	1	
中節骨第 4 指骨、右	78	72	77	71	
第 5 中手骨、右	1	0	1	0	
基節骨第 5 指骨、右	7	9	7	3	
中節骨第 5 指骨、右	17	33###	31	34###	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1 (続き)

投与群(mg/kg/日)		0	1	10	20
1 群当たり動物数		16	16	16	16
胎 児	前肢				
	未骨化				
	第 1 中手骨、左	20	16	15	12
	基節骨第 1 指骨、左	3	0	1	2
	中節骨第 2 指骨、左	5	1	2	3
	中節骨第 3 指骨、左	1	0	0	1
	中節骨第 4 指骨、左	10	3	5	7
	基節骨第 5 指骨、左	0	0	0	1
	中節骨第 5 指骨、左	85	73	72	66##
	第 1 中手骨、右	18	14	14	11
	基節骨第 1 指骨、右	3	0	1	1
	中節骨第 2 指骨、右	5	1	2	1
	中節骨第 3 指骨、右	1	0	0	1
	中節骨第 4 指骨、右	9	2	3	7
	基節骨第 5 指骨、右	0	0	0	1
	中節骨第 5 指骨、右	83	67##	69	66##
	後肢				
	不完全骨化				
	踵骨、左	2	2	2	1
	中節骨第 1 趾骨、左	7	5	3	1
	基節骨第 2 趾骨、左	1	0	0	0
	中節骨第 2 趾骨、左	12	6	8	3##
	基節骨第 3 趾骨、左	1	0	0	0
	中節骨第 3 趾骨、左	19	12	20	15
	基節骨第 4 趾骨、左	6	2	3	1
	中節骨第 4 趾骨、左	66	80	83##	81
	踵骨、右	2	2	2	1
中節骨第 1 趾骨、右	7	5	3	1	
基節骨第 2 趾骨、右	1	0	0	1	
中節骨第 2 趾骨、右	12	6	8	3##	
基節骨第 3 趾骨、右	19	11	20	15	
中節骨第 3 趾骨、右	1	1	0	1	
基節骨第 4 趾骨、右	5	2	3	1	
中節骨第 4 趾骨、右	65	80	82##	82##	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はC B C株式会社にある。

表 1 (続き)

投与群(mg/kg/日)	0	1	10	20
1 群当たり動物数	16	16	16	16
後肢				
未骨化				
中節骨第 1 趾骨、左	0	0	0	1
基節骨第 2 趾骨、左	0	0	0	1
中節骨第 2 趾骨、左	0	0	0	1
基節骨第 3 趾骨、左	0	0	0	1
中節骨第 3 趾骨、左	0	0	0	1
基節骨第 4 趾骨、左	0	0	0	1
中節骨第 4 趾骨、左	34	20	17##	18
中節骨第 1 趾骨、右	0	0	0	1
中節骨第 2 趾骨、右	0	0	0	1
中節骨第 3 趾骨、右	0	0	0	1
基節骨第 4 趾骨、右	0	0	0	1
中節骨第 4 趾骨、右	34	20	18##	18##

1) 複数の動物に呼吸困難、腹部痙攣及び伸展性痙攣/痙攣/虚脱症状が認められた。

2) 左側脳室、第三脳室の拡大、頭蓋腔への血液の存在

* ; p<0.05, ** ; p<0.01, Dunnett の検定、

; p<0.05, ## ; p<0.01, Fisher の正確確率検定