

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(6) イヌを用いた経口投与による亜急性毒性試験

(資料 35)

試験機関

(G.L.P対応)

報告書作成年 1998年

検体純度：

試験動物：ビーグル犬，1群雌雄各4頭，投与開始時約6カ月齢（体重；雄 7.9～10.0 kg，雌 6.7～8.5 kg）。

試験期間：3カ月（1995年9月20日～1995年12月19, 20, 21日）

投与方法：プロベナゾールをゼラチンカプセルに充填し，0，5，15及び50 mg/kgの用量で1日1回経口投与した。

投与量設定根拠；同研究所で一群2匹のビーグル犬を用いてプロベナゾール原末の0，25，50，100，200，400 mg/kgの投与量で実施した「プロベナゾール原末の経口投与による雄性ビーグル犬を用いる4週間反復投与予備試験」において、400 mg/kg群の2例、200 mg/kg群の1例が死亡した。50 mg/kg以上の投与群では摂餌量の低下、体重増加抑制または減少が認められ、血液生化学検査においてはGOT, GPT, ALPおよび γ -GTPの高値傾向もみられるなど、被験物質の肝臓への影響が示唆された。病理学的検査では、50 mg/kg以上の投与群で肝臓の色調変化（淡色化または黄色化）が認められた。以上の結果より、本試験の用量群の構成は、明らかな毒性が認められると考えられる50 mg/kgを最高用量とし、以下公比約3で除した15および5 mg/kgの計3用量群を設定した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び死亡率を毎日観察した。

50 mg/kg 群の雌の1例が投与13週に死亡した。飼料摂取の廃絶に伴う消瘦を除き、同群の他の例と特に異なる変化は投与6週までの諸検査および病理学的検査において認められず、死因は飼料摂取の廃絶および慢性的な下痢に伴う栄養状態の悪化による衰弱死と考えられた。

一般状態の観察において、対照群では、軟便が雌雄の各3例に1ないし11回、嘔吐および粘液便が雄の各1例に1回、観察された。

5 mg/kg 群では、軟便が雄の全例および雌の2例に1ないし5回、嘔吐が雄の2例および雌の1例に1回観察された。

15 mg/kg 群では、軟便が雌雄の全例に2ないし10回、流涎が雄の2例に1回、嘔吐が雌雄各1例に1回観察された。また雄の1例に投与前から観察された頭部の痂皮形成が投与7日まで観察された。

50 mg/kg 群の雌の死亡例（動物番号2302）では、投与開始後、軟便または水様便が散見され、投与4週頃から摂餌量の減少または飼料摂取の廃絶を示し、体重が漸次減少し、投与7週から黒色便の排泄、投与8週の後半から消瘦が認められた。その後、自発運動の低下、振戦および円背位が加わり、さらに瀕死期には側臥位、眼球乾燥、結膜蒼白、口腔粘膜蒼白、瞬膜露出および体温低下が認められた。その他、投与前からみられる一過性の流涎が投与6から11週の間観察され、また、被験物質と考えられる便中の混入物が単発的に観察された。

一方、同群の生存例では、軟便を主とする便の異常が雄の2例および雌の全例に高頻度に観察された。すなわち、雄の4例中2例（動物番号1301, 1304）では、軟便の発現は5および6回と対照群とほぼ同様であったが、他の2例（動物番号1302, 1303）では、38および63回と多発し、加えて1例に水様便が2回観察された。また、雌の3例では軟便が14ないし36回観察され、加えて2例（動物番号2303, 2304）に水様便が1および5回、他の1例（動物番号2301）に黒色便が1回観察された。しかし、病理学的検査において消化管の器質的な障害は認められなかった。その他、投与直前あるいは投与時からの一過性の流涎が雄の1例（動物番号1301）に投与10週から、雌の1例（動物番号2304）に投与4週から観察されたが、同群のその他の例では観察されなかったことなどから、プロベナゾールの自律神経系へ直接的な作用ではなく、プロベナゾール投与による何らかの刺激に対する条件反射によるものと考えられた。また、嘔吐が雄の1例および雌の2例に1または2回、被験物質と考えられる便中の混入物が雄の全例および雌の2例に1ないし4回観察された。

次表に生存例の被験物質投与により増加したと考えられる便の異常の発現状況および死亡例の一般状態の変化を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

生存例

所見	0		5		15		50	
	発現例数 雄/雌	各例の 発現日数	発現例数 雄/雌	各例の 発現日数	発現例数 雄/雌	各例の 発現日数	発現例数 雄/雌	各例の 発現日数
軟便	3/3	1~11	4/4	1~5	4/4	2~10	4/3	5~63 ☆
水様便	0/0	—	0/0	—	0/0	—	1/2	1~5 ☆
黒色便	0/0	—	0/0	—	0/0	—	0/1	1 ☆
粘液便	1/0	1	0/0	—	0/0	—	0/0	—

☆：被験物質投与により発現が増加したと考えられる所見

死亡例（50mg/kg/day，雌，動物番号 2302，投与 13 週の 3 日目に死亡）

所見/ 週内発現日数	投与週												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
軟便	2		1			2		1					
水様便		1											
黒色便							1	3	2	3	1	4	1
削瘦								2	7	7	7	7	3
自発運動低下										1	3	7	3
振戦												2	
円背位												4	2
側臥位*													2
眼球乾燥*													3
結膜蒼白*													3
口腔粘膜蒼白*													3
瞬膜露出*													2
体温低下*													1
摂餌量減少													→

*：瀕死期発現所見

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

体重変化；全動物について、投与開始前1週から投与期間を通じ、週1回測定した。

50 mg/kg 群では、対照群と比較し雌雄ともに体重の増加抑制傾向が認められた。個体別の推移では雌の2例（動物番号 2301, 2302）の体重がそれぞれ投与 10 あるいは5週から漸次減少し、投与開始時から投与終了または死亡時までの間にそれぞれ 2.1 あるいは 4.3 kg 減少した。

5 および 15 mg/kg 群では、雌雄ともに投与期間を通じ、対照群とほぼ同様な推移を示した。

摂餌量；全動物について、投与開始前1週から解剖時まで毎日測定した。

5 および 15 mg/kg 群の雌雄ならびに 50 mg/kg 群の雄では投与期間を通じ対照群と差は認められなかった。

50 mg/kg 群の雌では、3例に摂餌量の減少および飼料摂取の廃絶が認められた。すなわち、死亡例（動物番号 2302）においては、投与4週の後半から摂餌量が漸次減少し、投与6週の後半から死亡時まで飼料摂取の廃絶が認められた。また、他の2例（動物番号 2301, 2304）では、それぞれ投与10週の前半あるいは13週の中頃から摂餌量が減少し、このうち1例（動物番号 2301）においては、10週の中頃から飼料摂取の廃絶が認められた。

血液学的検査；全動物について投与開始前、投与開始後 26 および 52 週に、検体投与前に橈側皮静脈から採血し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数、白血球百分率、網状赤血球率 (Retic%)

以下に、対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 別	雄						雌					
	5		15		50		5		45		50	
用量 (mg/kg/day)												
検査時期 (週)	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13
MCV		102↑										
MCH												104↑
MCHC			103↑	103↑	104↑	103↑	101↑				103↑	
血小板数												140↑
白血球数						153↑						
リン球比率						80↓						
Retic%						(237)						

t検定法 (F検定後 Student あるいは Aspin-Welch, 片側検定)

↓↑: P ≤ 0.05 ↓↑↑: P ≤ 0.01 ↓↑↑↑: P ≤ 0.001

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) ()内数字は有意差なく高値傾向

投与6週の検査

雄では、対照群と比較し、15 および 50 mg/kg 群で MCHC が高値を示した。

雌では、対照群と比較し、5 および 50 mg/kg 群で MCHC が高値を示したが、5 mg/kg 群の MCHC の高値は投与前から継続する変化であった。

投与13週の検査

雄では、対照群と比較し、15 および 50 mg/kg 群で MCHC が高値を示した。さらに、50 mg/kg 群では、網赤血球率が高値傾向を示し、同群の1例（動物番号 1301）にヘマトクリット値、ヘモグロビン量および赤血球数の低値が認められた。その他、50 mg/kg 群で白血球数の高値およびリンパ球比率の低値が、5 mg/kg 群で MCV の高値が認められたが、いずれも検査時期によって変動する範囲の軽微な変化であった。

雌では、対照群と比較し、50 mg/kg 群の1例（動物番号 2304）で網赤血球率が高値を示した。その他、同群では MCH および血小板数の高値が認められたが、いずれも検査時期によって変動する範囲の軽微な変化であった。

血液生化学検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清について、多項目生化学自動分析装置を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、血糖、リン脂質、総コレステロール、中性脂肪、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、GOT、GPT、ALP、 γ -GTP、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

以下に、対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 別	雄									雌								
	5			15			50			5			15			50		
検査時期 (週)	-1	6	13	-1	6	13	-1	6	13	-1	6	13	-1	6	13	-1	6	13
総ビリルビン					117↑			144↑	113↑								116↑	113↑
GOT			128↑					135↑	172↑									
GPT	138↑							179↑	186↑									125↑
ALP								261↑	270↑								208↑	179↑
クレアチニン			91↓		89↓			89↓	77↓									83↓
総コレステロール								154↑	(122)								183↑	(171)
総タンパク							104↑	115↑	110↑								112↑	(109)
無機リン					90↓						119↑	126↑					119↑	
血糖																		87↓
リン脂質								123↑	119↑								133↑	129↑
γ-GTP									58↓									136↑
ナトリウム			102↑															
カリウム				91↓	92↓													
尿素窒素																		85↓
アルブミン								115↑	(110)		107↑	108↑	107↑				118↑	(116)
塩素																		96↓
カルシウム								107↑			103↑							107↑

t-検定法 (F-検定後 Student あるいは Aspin-Welch, 片側検定)

↑↑: P ≤ 0.05 ↓↑: P ≤ 0.01 ↓↑↑: P ≤ 0.001

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) ()内数字は有意差なく高値傾向

投与6週の検査

雄では、対照群と比較し、15 および 50 mg/kg 群で総ビリルビンが、50 mg/kg 群で GOT, GPT, アルカリホスファターゼ, 総蛋白, アルブミン, 総コレステロールおよびリン脂質がそれぞれ高値を示した。その他、15 および 50 mg/kg 群でクレアチニンが低値を、50 mg/kg 群でカルシウムが高値を、15 mg/kg 群で無機リンおよびカリウムが低値を示したが、いずれも軽微または用量に対応しない変化であった。

雌では、対照群と比較し、50 mg/kg 群でアルカリホスファターゼ, 総ビリルビン, 総蛋白, アルブミン, 総コレステロールおよびリン脂質がそれぞれ高値を示した。その他、5 および 15 mg/kg 群でアルブミンが、5 および 50 mg/kg 群で無機リンおよびカルシウムが高値を、50 mg/kg 群で血糖および BUN が低値を示したが、いずれも軽微または投与前から継続する変化であった。

投与 13 週の検査

雄では、対照群と比較し、5 および 50 mg/kg 群で GOT が、50 mg/kg 群で GPT、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、総コレステロールおよびリン脂質がそれぞれ高値または高値傾向を示したが、5 mg/kg 群の GOT の高値は、投与前の検査からの継続した傾向であった。その他、5 および 50 mg/kg 群でクレアチニンが、50 mg/kg 群で γ -GTP が低値を、5 mg/kg 群でナトリウムが高値を示したが、いずれも動物の検査時期で変動する範囲の軽微な変化であった。

雌では、対照群と比較し、50 mg/kg 群でアルカリホスファターゼ、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、総コレステロールおよびリン脂質がそれぞれ高値または高値傾向を示した。また、同群の 1 例 (動物番号 2301) に中性脂肪の高値が認められた。その他、50 mg/kg 群で GPT および γ -GTP が高値を、塩素およびクレアチニンが低値を、5 mg/kg 群でアルブミンおよび無機リンがそれぞれ高値を示したが、いずれも軽微または投与前から継続する変化であった。

血清蛋白電気泳検査；ヘレナ電気泳動装置を用い、タイタンⅢセルロースアセテート膜を支持体とし、泳動した。泳動終了後ボンソーS溶液で染色し、同装置のデンストメータを用いて各分画の比率を測定した。

以下に、対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 別	雄						雌					
	5		15		50		5		15		50	
用量 (mg/kg/day)	5		15		50		5		15		50	
検査時期 (週)	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13
アルブミン										109↑		
α_1 グロブリン	90↓		79↓		88↓		88↓		88↓		80↓	77↓
α_2 グロブリン											119↑	
β グロブリン									81↓		74↓	
γ グロブリン										85↓		
A/G比												125↑

t検定法 (F検定後 Student あるいは Aspin-Welch, 片側検定)

↓↑: $P \leq 0.05$

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

投与 6 週の検査

雄では、対照群と比較し、すべての投与群で α_1 グロブリン分画が低値を示したが、軽微な変化であった。

雌では、対照群と比較し、すべての投与群で α_1 グロブリン分画が、15 および 50 mg/kg 群で β グロブリン分画が低値を示した。また、50 mg/kg 群で α_2 グロブリン分画が高値を示したが、軽微かつ一過性の変化であった。

投与 13 週の検査

雄では、各検査項目において対照群と被験物質投与群との間に差は認められず、各個体の値にも明らかな異常値は認められなかった。

雌では、対照群と比較し、50 mg/kg 群で α_1 グロブリン分画が低値を、A/Gが高値を、15 mg/kg 群でアルブミン分画が高値を、 γ グロブリン分画が低値を示したが、いずれも軽微あるいは用量に対応しない変化であった。

尿検査；全動物について投与開始前、投与開始後 26 および 52 週に、採尿器を用いて 24 時間尿を採取し、以下の項目について検査した。

但し、*印の項目については排尿後 3 時間以内の新鮮尿を用いた。

尿量、色調、尿比重、沈渣*、pH*、潜血*、ケトン体*、糖*、蛋白*、ビリルビン*、ウロビリノーゲン*

50 mg/kg 群では、雌雄ともに各検査時期を通じて pH の低下傾向が観察された。

なお、50 mg/kg 群の雌の死亡例（動物番号 2302）には、尿量の低値および暗褐色尿が投与 13 週の検査時に認められた。

眼科学的検査；全動物について、投与開始前 1 週、投与開始後 6 および 13 週に行った。

投与 6 週の検査では、雌雄のいずれの個体においても前眼部、中間透光体および眼底の異常は認められなかった。

投与 13 週の検査では、左眼水晶体後位の白斑が 50 mg/kg 群の雄の 1 例（動物番号 1301）に、眼球乾燥および結膜蒼白が雌の死亡例（動物番号 2302）に観察された。

臓器重量；投与終了時の全生存動物を対照として、以下の臓器重量を測定するとともに、対体重比を算出した。

脳、顎下腺（左、右）、甲状腺（左、右）、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓（左、右）、副腎（左、右）、脾臓、精巣（左、右）、卵巣（左、右）

次表に、対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

性 別		雄			雌		
用量 (mg/kg/day)		5	15	50	5	15	50
肝臓	実重量			123 ↑			(105)
	体重比	91 ↓		131 ↑			124 ↑
甲状腺 (右)	実重量		68 ↓	70 ↓		174 ↑	
	体重比					184 ↑	
胸腺	実重量			46 ↓			
	体重比			50 ↓			
心臓	実重量		93 ↓	88 ↓			
	体重比						
腎臓 (右)	実重量					92 ↓	
	体重比		106 ↑				
腎臓 (左)	実重量						
	体重比						128 ↑
副腎 (右)	実重量				120 ↑		140 ↑
	体重比						169 ↑
副腎 (左)	実重量						139 ↑
	体重比					127 ↑	166 ↑
脾臓	実重量	147 ↑					
	体重比	139 ↑					
卵巣 (右)	実重量					124 ↑	
	体重比						
顎下腺 (右)	実重量	69 ↓		75 ↓			
	体重比	66 ↓					136 ↑
顎下腺 (左)	実重量	68 ↓					
	体重比						138 ↑

t検定法 (F検定後 Student あるいは Aspin-Welch, 片側検定)

↑↑: P ≤ 0.05 ↓↑: P ≤ 0.01 ↓↑↑: P ≤ 0.001

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) ()内数字は有意差なく高値傾向

雄では、50 mg/kg 群で肝臓の実重量および体重比が高値、胸腺の実重量および体重比が低値を示し、また、15 および 50 mg/kg 群の心臓の実重量が低値を示した。その他、15 および 50 mg/kg 群の右の甲状腺、50 mg/kg 群の右の顎下腺の実重量が低値を示し、検体投与の影響が考えられた。そのほか 15 mg/kg 群の右の腎臓の体重比が高値を、5 mg/kg 群の脾臓の実重量および体重比が高値を、左右の顎下腺の実重量ならびに肝臓および右の顎下腺の体重比が低値を示したが、いずれも軽微かつ用量に対応しない変化であった。雌では、50 mg/kg 群で肝臓および左右の副腎の実重量および体重比が高値または高値傾向を示し、15 mg/kg 群の左の副腎の体重比が高値を、50 mg/kg 群の左の腎臓および左右の顎下腺の体重比が高値を示し、検体投与の影響が考えられた。そのほか 15 mg/kg 群の右の甲状腺の実重量および体重比が高値を、右の卵巣の実重量が高値を、右の腎臓の実重量が低値を、5 mg/kg 群の右の副腎の実重量が高値を示したが、いずれも軽微かつ用量に対応しない変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

肉眼的病理検査；全動物について、投与終了時に剖検した。動物の外観、口腔、鼻孔および頭蓋腔、骨格、脳および脊髄の外観と切断面、胸腔、腹腔および骨盤腔とその内臓、頸部の器官および組織を検査した。

50 mg/kg 群では、肝臓の肥大が雄の2例、雌の1例に、肝臓の黄色化が雌の1例に認められた。また、胸腺の小型化が雄で3例に観察され、他群に比べ発生数が増加した。さらに同群では、腎臓皮質の白色化が雌の1例に、脾臓の肥大が雄の1例に観察された。その他の所見は、いずれも自然発生的な病変であった。

なお、50 mg/kg 群の死亡例（動物番号 2302）では、肝臓の黄色化、胆嚢の内腔拡大、脾臓の淡色化、胸腺の小型化、肺の赤色斑／区域、削瘦が観察された。

病理組織学的検査；全動物について、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、眼（角膜、水晶体、網膜）および視神経、顎下腺、耳下腺、頸部リンパ節、甲状腺および上皮小体、舌および咽頭、心臓、胸腺、肺および気管支、気管、食道、大動脈、胃（噴門部、胃底部、幽門部）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、膵臓、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、膀胱、前立腺、卵巣、子宮、膣、骨格筋（下腿三頭筋）、脊髄、骨および骨髄（大腿骨および胸骨）、坐骨神経（左大腿部）、皮膚（右下腹部、雌は乳腺を含む）、その他病変部位

被験物質投与群で観察された所見として、肝臓の小葉中心部などの脂肪化が 50 mg/kg 群で雄の2例、雌の1例に、肝臓のクッパー細胞への色素沈着が 50 mg/kg 群で雄の3例、雌の1例に観察された。[申請者追記：後の検査で沈着色素はリポフスチン（消耗性色素）あるいはヘモシデリン（鉄）陽性であることが確認された。]さらに、腎臓の皮髄境界部の尿細管の空胞化が対照群、5、15 および 50 mg/kg 群で雌雄ともに、それぞれ1、1、1 および3例に観察され、50 mg/kg 群の雌雄で発生数が増加し、その程度も増強する傾向にあった。また、胸腺の萎縮が対照群、5、15 および 50 mg/kg 群の雄で、それぞれ1、0、1 および2例に、雌でそれぞれ0、1、0 および1例に観察された。これらのほとんどは軽度の萎縮だったが、50 mg/kg 群の雌雄各1例ではその程度は中等度から強度であった。脾臓の濾胞の萎縮が 5 mg/kg 群の雄の1例および胸腺に中等度以上の萎縮を示した 50 mg/kg 群の雌雄各1例に観察された。なお、剖検所見で雄の 50 mg/kg 群の1例にみられた脾臓の肥大は、組織学的には鬱血および変性を示した。その他の所見は、いずれも自然発生的な病変であった。

検体投与に起因して増加あるいは増強した組織変化を次表に示す（生存例）。

性 別	雄				雌			
	対照	5	15	50	対照	5	15	50
投与群 (mg/kg/day)								
所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓：								
脂肪化				2				1
クッパー細胞色素沈着				3				1
腎臓：								
尿細管空胞化（軽度）	1	1	1	1	1	1	1	1
尿細管空胞化（中等度）				2				1
尿細管空胞化（強度）								1
胸腺：								
萎縮（軽度）	1		1	1		1		
萎縮（中等度または強度）				1				1
脾臓：								
濾胞萎縮		1		1				1
鬱血・変性				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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

なお、50 mg/kg 群の死亡例（動物番号 2302）で観察された所見は、腎臓の皮髄境界部の尿細管の空胞化、肝臓の脂肪化およびクッパー細胞への色素沈着、胸腺の萎縮、脾臓の濾胞の萎縮、骨髄の低形成などであった。

本剤をビーグル犬に3カ月間反復経口投与することにより、50 mg/kg 群では、雌の1例が死亡し、一般状態の観察で雌雄に軟便および水様便を主とする便の異常が観察され、死亡例に消瘦、自発運動の低下、振戦、円背位、側臥位、眼球乾燥、結膜蒼白、口腔粘膜蒼白、瞬膜露出および体温低下が認められた。また、雌に体重の増加抑制、摂餌量の減少が認められた。さらに、血液生化学検査で雌雄ともにアルカリホスファターゼ、総ビリルビン、総蛋白、アルブミンおよび総コレステロールが、加えて雄で GOT、GPT およびリン脂質などが高値を示し、尿検査で雌雄ともに pH の低下傾向が認められた。器官重量の測定では雌雄ともに肝臓の実重量および体重比が高値または高値傾向を、雄で胸腺の実重量および体重比が低値を、雌で副腎の実重量および体重比が高値を示し、病理学的検査では雌雄ともに剖検所見として肝臓の肥大および黄色化が、組織所見として肝臓の脂肪化ならびにクッパー細胞の消耗性色素および鉄沈着が観察された。また、腎臓の皮髄境界部の尿細管の空胞化の発現頻度が増加し、その程度も増強する傾向を示した。その他、胸腺および脾臓の濾胞の萎縮が観察された。5 および 15 mg/kg 群にはプロベナゾール投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、プロベナゾールを雌雄のビーグル犬に13週間反復経口投与したときの影響量は 50 mg/kg/day であり、無影響量は 15 mg/kg/day であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

7) 21 日間反復経皮投与毒性試験 (試験省略)

急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められるため。

8) 90 日間反復吸入毒性試験 (試験省略)

急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと認められるため。

9) 反復経口投与神経毒性試験 (試験省略理由)

①ラットの 90 日間反復経口毒性試験 (概要書 資料 34 報告書 2006 年) からの考察

プロベナゾール原体のラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験において、以下の通り、致死量以下の用量で特異な神経毒性を示唆する所見はない。

ア. 詳細な症状観察 (抄録記載: 109-111 頁、報告書記載: 13, 21, 24 頁)

投与開始前および投与期間中は週 1 回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ケージ内における観察項目: 姿勢、身悶え、旋回、咬み行動、痙攣、異常発声

ケージから取り出した時の観察項目: 出し易さ、扱い易さ、異常発声、筋緊張、立毛、被毛の状態、眼瞼状態、咬傷、流涙、流涎、呼吸、眼球、可視粘膜、尿失禁、カタレプシー

オープンフィールドにおける観察項目: 空中正向反射、呼吸、協調運動、痙攣、毛繕い、歩行、歩行異常、眼瞼状態、立ち上がり、常同行動、異常行動、異常発声、移動量、覚醒度、脱糞、排尿

雄のケージ内の姿勢の観察およびオープンフィールド上での移動量において有意な発生数の増減を示す所見が認められたが、用量に関連しない、あるいは投与期間中に一貫した変化ではなかった。また、オープンフィールド上でのつかまり立ち回数が投与 11 週に全ての被験物質投与群で、投与 12 週に 2000 ppm 群でそれぞれ有意に減少した。しかし、いずれも一貫性のない変化であった。

雌のケージ内の姿勢の観察、オープンフィールド上での移動量および覚醒度において有意な発生数の増減を示す所見が認められたが、用量に関連しない、あるいは投与期間中に一貫した変化ではなかった。オープンフィールド上でのつかまり立ち上がり回数が 2000 ppm 群で投与期間を通じて減少を示した。この変化は、投与 8 および 11 週の検査を除き、全て有意な変化であった。

しかし、雌のつかまり立ち上がり回数の減少に関連すると考えられる筋力や運動量の低下あるいは中枢神経系の抑制を示す変化は、他の指標や検査項目には認められないため、この変化は被験物質投与による神経毒性とは判断しなかった。

イ. 神経機能検査項目 (抄録記載: 111 頁、報告書記載: 14, 21, 24 頁)

投与開始前および試験 13 週時に、全動物を対象として以下の項目を検査した。

瞳孔反射、接近反応、触覚反応、聴覚反応、痛覚反応、握力 (前後肢)、着地開足幅測定、自発運動量測定

検体投与に関連する神経毒性の徴候は認められなかった。

ウ. 病理組織学的検査 (概要書記載: 122-124 頁、報告書記載: 18-19, 23-24 頁)

脳、脊髄 (頸髄、胸髄、腰髄)、坐骨神経、骨格筋 (大腿部)、眼球およびその付属器について病理組織学的検査を実施したが、致死量以下の用量でこれらの組織に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はみられなかった。

エ. その他の検査項目

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

①脳重量（抄録記載：121-122 頁、報告書記載：18,23 頁）

致死量以下の用量で脳重量に対して特異的な神経毒性を示唆する変化はみられなかった。

②眼科学的検査（抄録記載：116 頁、報告書記載：17-18,23 頁）

眼科学的検査の結果、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はみられなかった。

②その他の試験（90 日より長期の試験）からの考察において以下のとおり致死量以下の容量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

- | | |
|----------------------|-------------------------------|
| ア. 強制経口投与による亜急性毒性試験 | (ラット; 1970 年 資料 15) |
| イ. 強制経口投与による亜急性毒性試験 | (ラット; 1970 年 資料 16) |
| ウ. 経口投与による亜急性毒性試験 | (イヌ; 1998 年 資料 35) |
| エ. 慢性毒性および発がん性試験 | (ラット; 1972 年、改定 1983 年 資料 17) |
| オ. 慢性毒性および発がん性試験 | (マウス; 1972 年、改定 1983 年 資料 18) |
| カ. 1 年間反復経口投与毒性試験 | (イヌ; 1998 年 資料 36) |
| キ. 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性試験 | (マウス; 1976 年、改定 1983 年 資料 21) |
| ク. 催奇形性試験 | (ウサギ; 1987 年 資料 22) |
| ケ. 催奇形性試験 | (ラット; 1986 年 資料 23) |

ア. ～ケ. の試験におけるレポートの要約、考察及び結論の中に致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

③既知神経毒性物質との化学構造の相関

現在の科学的知見において、プロベナゾール原体は既知神経毒性物質との化学的構造相関はない。

10) 28 日間反復経口投与遅発性神経毒性試験（試験省略）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

1 1) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

(1) ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 17)

報告書作成年 1972年 (1983年改訂)

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：Wistar系ラット、1群 雌雄各12匹 (対照群のみ20匹)

開始時5週令

投与後40週経過時に1群5匹(100及び1000ppm投与群雄は3匹)を中間屠殺した。

試験期間：104週 (1970年9月～1972年9月)

投与方法：検体はオリエンタル酵母工業(株)製粉末飼料(NM)に、5、25、50、100、500及び1000ppmの濃度に混和し、24ヵ月にわたって自由摂食させた。

投与量設定根拠：Wistarラットを用いた亜急性毒性試験(資料15)の結果を参考とした。上記試験ではラットに91日間反復強制経口投与した結果、200mg/kg用量で体重減少および死亡がみられた。この用量をラットの体重および摂餌量から換算すると混餌での2000ppmに相当する。今回の試験は投与期間がより長期(24ヵ月)に及ぶことを考慮し、何らかの毒性が認められると予想される1000ppmを最高用量とし、以下500、100、50、25、5ppmを本試験の用量に設定した。

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；

一般状態及び生死を日曜日を除いて毎日観察した。

ごく少数例に血尿、腹部の腫瘍発生及び下顎部の脱毛などを認めたが、検体投与の有無及び投与量との関連はなかった。

試験終了時までの途中死亡例数(試験終了時の生存率)は、対照群、5、25、50、100、500および1000ppm投与群の雄で各々13匹(65%)、5匹(41.7%)、7匹(58.3%)、5匹(41.7%)、8匹(66.7%)、5匹(41.7%)及び7匹(58.3%)、また雌で各々10匹(50%)、3匹(25%)、3匹(25%)、5匹(41.7%)、3匹(25%)、6匹(50%)及び3匹(25%)であった。

以下に死亡率を表で示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
対照群	13/20 (65.0%)	10/20 (50.0%)
5	5/12 (41.7%)	3/12 (25.0%)
25	7/12(58.3%)	3/12 (25.0%)
50	5/12 (41.7%)	5/12 (41.7%)
100	8/12 (66.7%)	3/12 (25.0%)
500	5/12 (41.7%)	6/12 (50.0%)
1000	7/12(58.3%)	3/12 (25.0%)

死亡率には雌雄とも検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

体重変化；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

投与開始から週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；

対照群を含めた各群について、群別に週 2 回摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量及び食餌効率には雌雄各群とも単発的な変動が認められたが、検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

検体摂取量；

摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は、5、25、50、100、500 及び 1000 ppm 投与群で、雄が各々 0.3、1.4、3.2、5.9、30.5 及び 61.2 mg/kg、また、雌が 0.3、1.6、3.4、6.4、33.2 及び 65.7 mg/kg であった。

血液学的検査；

投与 40 週経過時の各群 5 匹（100 及び 1000 ppm 投与群雄は 3 匹）と投与 104 週経過時の全生存動物を対象として下大静脈から採取し、ヘマクリット (Hct)、ヘモグロビン (Hgb)、赤血球 (RBC)、白血球 (WBC)、リンパ球 (Ly)、好中球 (Ne)、単球 (Mon) 及び好酸球 (Eo) を測定した。

変動項目が散見されたが、検体投与の有無及び投与量との関連をもった変動は認められなかった。

血液生化学検査；

上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、カルシウム (Ca)、無機磷 (InP)、コレステロール (Chol)、ブドウ糖 (Glu)、尿素窒素 (BUN)、尿酸 (UA)、アルカリリン酸酵素 (Alp)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、ナトリウム (Na)、カリウム (K) 及び塩素 (Cl) を測定した。変動項目が散見されたが、検体投与の有無及び投与量との関連をもった変動は認められなかった。

次頁表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

	5ppm				25ppm				50ppm				100ppm				500ppm				1000ppm			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104	40	104
TP			↓																					↓
Alp																								↓
Ca								↑							↓		↑							
Inp							↓	↑				↓												
Chol									↓		↓													↓
Glu							↓										↓							
BUN										↑														
UA							↓			↓														↓
AIP					↓		↓		↓				↓				↓				↓			
GOT							↑																	↑
Na	↑				↑																			
K																								
Cl																	↑				↑			↓
LDH ^{a)}				↓			↓											↑						↓
GPT ^{a)}																								↓

↑ ↓ : p < 0.05

a) : 104 週経過時のみ測定した項目

b) : 試験終了時まで全動物死亡

尿検査 ;

投与開始後 4 週間に 1 回各群別に水素指数 (pH)、蛋白 (P)、ブドウ糖 (Glu)、ケトン体 (Ket)、潜血 (OB)、胆色素 (Bili)、ウロビリノーゲン (Ub)、浸透圧 (OP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K) 及び塩素 (Cl) を測定した。

雌雄各投与群とも対照群とほとんど差が認められず、検体投与の有無及び投与量との関連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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

臓器重量；

投与 40 週経過時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち脳、胸腺、心、肺、肝、脾、腎、副腎及び生殖器（睾丸又は卵巣）の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

表 1、2 に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

表 1 投与 40 週経過時の臓器重量

性 別	雄						雌					
	40						40					
検査時期 (週)	40						40					
投与群 (ppm)	5	25	50	100	500	1000	5	25	50	100	500	1000
体 重												
脳 重 量												
対体重比									↓			
胸腺 重 量		↑										
対体重比		↑										
心 重 量												
対体重比												
肺 重 量									↓	↓		
対体重比				↑					↓			
肝 重 量												
対体重比									↓			
脾 重 量		↓			↓							
対体重比							↓			↑		
腎 重 量												
対体重比												
副腎 重 量												
対体重比											↑	
睾丸 重 量												
対体重比												
卵巣 重 量												
対体重比												

↑ ↓ : p < 0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表2 投与 104 週経過時の臓器重量

性 別	雄						雌					
	104						104					
検査時期 (週)	104						104					
投与群 (ppm)	5	25 ^{a)}	50	100	500	1000	5	25	50	100	500	1000
体 重												
脳 重 量												
対体重比												
胸腺 重 量												
対体重比												
心 重 量	↓							↑	↑			
対体重比									↑			↑
肺 重 量												
対体重比												
肝 重 量									↑	↑		
対体重比									↑	↑		↑
脾 重 量												
対体重比												
腎 重 量										↑		
(左) 対体重比						↑						↑
腎 重 量	↓		↑						↑	↑		
(右) 対体重比						↑			↑			↑
副腎 重 量												
(左) 対体重比						↑						↑
副腎 重 量								↑		↑		
(右) 対体重比								↑				
辜丸 重 量												
(左) 対体重比												
辜丸 重 量												
(右) 対体重比												
卵巣 重 量												
(左) 対体重比												
卵巣 重 量												
(右) 対体重比								↑				

↑ ↓ : p < 0.05

a) : 雄の 25ppm 投与群は 103 週目までに全動物死亡。

変動項目が散見されたが、特に検体投与の有無及び投与量との関連をもった変動は認められなかった。

肉眼的病理検査：

投与 40 週経過時及び 104 週経過時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物を対象として

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

脳、脊髄、甲状腺（104週のみ）、胸腺、心、肺、胃、十二指腸、回腸、肝、脾、膵、腎、副腎、生殖器（睾丸または卵巣）検査をした。

検体投与に起因する肉眼的異常は認められなかった。

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、脳、脊髄、胸腺、心、肺、胃、十二指腸、回腸、肝、脾、膵、腎、副腎、生殖器（睾丸又は卵巣）について、病理標本を作成し、検鏡した。

非腫瘍性変化

40週経過時に中間屠殺した動物では、主な変化が肺、胃、肝、腎に認められた。肺では肺炎ないしその類似所見を各投与群の雌雄に散発的に認めた。胃では粘膜カタル性変化を500ppm投与群及び1000ppm投与群の雌雄に認めた。肝では単核細胞の集簇性増殖ないし肉芽腫様変化を、対照群を含む全群に散発的に認めた。腎では皮髄間質域あるいは腎盂粘膜下に円形細胞浸潤、濾胞様集簇を対照群を含めた全群に散発的に認めた。しかし、いずれの変化も薬物投与によるものとは考えられなかった。

104週経過時に屠殺した動物では、主な変化が肺、肝及び腎に認められた。肺では、気管支肺炎、剥落性肺炎及び嚙下性肺炎を対照群を含む全群に認めた。また、これらに伴う限局性無気肺性変化、うっ血、水腫、旁気管支リンパ濾胞腫大などを認めた。肝では、胆管炎あるいは胆管周囲炎に関連するグリソン氏鞘内単核細胞浸潤、小肉芽腫様変化、クッパー氏星細胞肥大増殖ないしは活性化集簇などを対照群を含めた全群に認めた。腎では、慢性腎盂腎炎に関連するボーマン氏嚢の線維性肥厚を伴う糸球体の線維性硬化、間質域円形細胞浸潤、腎盂粘膜下ないし周囲脂肪組織内円形細胞浸潤、尿細管内円柱滞留などを対照群を含めた全群に認めた。これらのいずれの所見も検体投与の有無及び投与量に関連はないと考えたが、500ppm以上投与群においてその程度がわずかながら強い傾向が認められた。

投与40週時における所見発現例数

性別	雄							雌						
	対照	5	25	50	100	500	1000	対照	5	25	50	100	500	1000
投与群 (ppm)	対照	5	25	50	100	500	1000	対照	5	25	50	100	500	1000
検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
肺：														
肺炎		1	1	2	3	1	1					1	2	4
胃：														
粘膜カタル性変化						3	3						1	2
肝臓：														
単核細胞集簇性増殖・肉芽腫様変化	3	3	5	2	1	1	2	4	2	3		2	5	4
腎臓：														
円形細胞浸潤・濾胞様集簇	4	2	3	3	2	4	2	4	1	2	2	2	1	1

投与104週時における所見発現例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

性 別	雄							雌						
	対照	5	25	50	100	500	1000	対照	5	25	50	100	500	1000
投与群 (ppm)														
検査動物数	7	7	5	7	4	7	5	10	9	9	7	9	6	9
肺：														
肺炎 ¹⁾	1	1		2	1	1	2	4	3	2	2	3	1	3
肝臓：														
胆管炎・胆管周囲炎 ²⁾	2	2		2	1	2	2	5	4	4	2	4	1	4
腎臓：														
慢性腎盂腎炎 ³⁾	2	2		2	1	2	2	3	2	3	2	2	1	2

1): 気管支肺炎、剥落性肺炎、嚥下性肺炎を包含

2): 胆管周囲炎に伴うグリソン氏鞘内単核細胞浸潤、小肉芽腫様変化、クッパー氏星細胞肥大増殖または活性化集簇などの変化を包含

3): 慢性腎盂腎炎に伴うボーマン氏囊の線維性肥厚、糸球体の線維性硬化、間質域円形細胞浸潤、腎盂粘膜下あるいは周囲脂肪組織内の円形細胞浸潤、尿細管内円柱滞留などの変化を包含

腫瘍性変化

腫瘍性病変として雄の 500 ppm 投与群で肺腺腫 (1 例) と、1000 ppm 投与群で肝血管腫 (1 例) が認められたが、検体投与によるものとは考えられなかった。

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下表のとおりであり、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。

性 別	雄							雌						
	対照	5	25	50	100	500	1000	対照	5	25	50	100	500	1000
投与群 (ppm)														
検査動物数	7	7	5	7	4	7	5	10	9	9	7	9	6	9
腫瘍数	良性					1	1							
	悪性													
腫瘍総数						1	1							
腫瘍動物数	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0

以上の結果から、本剤の 104 週間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、500 ppm 投与群以上で、病理組織学的検査により肺、肝及び腎の変化が認められたので、最大無作用量は、100 ppm (雄 5.9 mg/kg/day、雌 6.4 mg/kg/day) であると判断した。

また、催腫瘍性はないものと考えられる。

(2) マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 18)

試験機関

(1983年改訂)

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：ICR-JCL系マウス1群 雌雄各12匹(対照群のみ20匹) 開始時4週令

試験期間：100週間(1970年10月～1972年8月)

投与方法：検体をオリエンタル酵母工業(株)製粉末飼料(NM)で、5.7、28.5、57、114、570及び1140 ppmの濃度に混和し、100週にわたって自由摂食させた。

投与量設定根拠：ICRマウスを用いた亜急性毒性試験(資料16)の結果を参考とした。この試験ではマウスに91日間反復強制経口投与した結果、200 mg/kg用量で振せん、衰弱、体重減少がみられた。この用量をマウスの体重および摂餌量から換算すると混餌での1500 ppmに相当する。今回の試験では、投与期間がより長期(100週間)に及ぶことを考慮し、明らかな毒性が認められると予想される1140 ppmを最高用量とし、以下570、114、57、28.5、5.7 ppmを本試験の用量に設定した。

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日曜日を除いて毎日観察した。

一般状態では、少数例に脱毛や腫瘍発生を認めたが、検体投与の有無及び投与量との関連はなかった。

試験終了時までの途中死亡例数(試験終了時の生存率)は、対照群、5.7、28.5、57、114、570、及び1140 ppm投与群の雄で、各々9匹(45%)、3匹(25%)、5匹(41.7%)、5匹(41.7%)、4匹(33.3%)、4匹(33.3%)及び7匹(58.3%)、また雌で、各々12匹(60%)、5匹(41.7%)、4匹(33.3%)、4匹(33.3%)、5匹(41.7%)、5匹(41.7%)及び6匹(50%)であった。死亡率を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
対照群	9/20 (45.0%)	12/20 (60.0%)
5.7	3/12 (25.0%)	5/12 (41.7%)
28.5	5/12 (41.7%)	4/12 (33.3%)
57	5/12 (41.7%)	4/12 (33.3%)
114	4/12 (33.3%)	5/12 (41.7%)
570	4/12 (33.3%)	5/12 (41.7%)
1140	7/12 (58.3%)	6/12 (50.0%)

死亡率は1140 ppm群で対照群と比べて高い傾向がみられたが、雌では検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

体重変化：

投与開始から週1回すべての生存動物の体重を測定した。

検体投与の有無及び投与量との関連を持った変動は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率：

対照群を含めた各群について、群別に測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量及び食餌効率は雌雄各群とも単発的な変動が認められたが、検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

検体摂取量：

摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日当りの平均検体摂取量は、5.7、28.5、57、114、570 及び 1140 ppm 投与群で雄が各々0.7、3.5、6.3、14.9、65.8 及び 149.2 mg/kg、また、雌が 0.7、3.7、7.0、16.3、73.6 及び 170.6 mg/kg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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

臓器重量：

投与後 40 週経過時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち脳、胸腺、心、肺、肝、脾、腎、副腎、生殖器（睾丸又は卵巣）について臓器重量、体重比を算出した。

以下に対照と比して統計学的に有意差を示したものを表記する。

性別 投与群 (ppm) 検査時期 (週)	雄												雌											
	5.7		28.5		57		114		570		1140		5.7		28.5		57		114		570		1140	
	40	100	40	100	40	100	40	100	40	100	40	100*	40	100	40	100	40	100	40	100	40	100	40	100
体重									↓		↓	-												
脳重量	↑		↑		↑			↓		↓		-												
対体重	↑								↑		↑	-												
胸腺重量				↓								-												
対体重												-												
心重量	↑		↑		↑							-												
対体重	↑				↑				↑			-			↓									
肺重量	↑		↑									-								↓				
対体重	↑				↑						↑	-												
肝重量									↑	↑		-	↓				↓						↑	
対体重									↑	↓		-											↑	
脾重量												-												
対体重												-												
腎重量	↑		↑		↑		↑		↓			-											↓	
対体重	↑		↑		↑							-												
副腎重量												-												
対体重												-												
睾丸重量										↓		-												
対体重												-												
卵巣重量												-			↑									
対体重												-												

↑ ↓ : P < 0.05

a) : 雄の 1140ppm 投与群は 88 週目までに全動物死亡

投与 100 週経過時の 1140 ppm 投与群の雌で、肝重量の増加が、投与 100 週経過時の 570 ppm 投与群の雄で、肝重量の増加が認められ、体重比も同様に増加しており、検体投与によると考えられた。それ以外の変化は用量相関性が認められず、投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査：

投与後 40 週及び 100 週経過時の中間屠殺、試験終了時の全動物を対象として検査を行った。投与量及び投与期間と関連した変化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を対象として、脳、脊髄、胸腺、心、肺、胃、十二指腸、回腸、肝、脾、膵、腎、副腎、生殖器（睾丸又は卵巣）及び肉眼的病変部について、病理標本を作成し、検鏡した。

非腫瘍性病変

40 週経過時に中間屠殺した 1140 ppm 投与群の雌雄で肝臓に炎症性単核細胞の集簇巢ないし肉芽腫様変化を認めた。これらには概してクッパー氏星細胞増殖、グリソン氏鞘内あるいは中心静脈周囲における単核細胞浸潤、肝細胞変性などの変化が目立つ傾向を示した。全般的に 570 ppm 及び 1140 ppm 投与群の変化の程度は 114 ppm 投与群以下の各群より重かった。

その他、肺炎、腎の皮髄間質域あるいは腎盂粘膜下に円形細胞浸潤を対照群を含めた各群で認めたが、検体投与による影響が認められなかった。

100 週経過時では肺、肝、腎に変化を認めたが、いずれの所見も検体投与の有無ないしは投与量との関連は認められなかった。

投与 40 週時における所見発現例数

性 別	雄							雌						
	対照	5.7	28.5	57	114	570	1140	対照	5.7	28.5	57	114	570	1140
投与群 (ppm)														
検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
肺： 肺炎	1		1			1				1			1	4
肝臓： 炎症性単核細胞集 簇巢・肉芽腫様変化	2	3	2	3	4	3	4	4	5	2	3	5	5	5
腎臓： 円形細胞浸潤	4	5	3	4	4	4	2	5	5	4	5	4	5	4

投与 100 週時における所見発現例数

性 別	雄							雌						
	対照	5.7	28.5	57	114	570	1140	対照	5.7	28.5	57	114	570	1140
投与群 (ppm)														
検査動物数	11	9	7	7	8	8	5	8	7	8	8	7	7	6
肺： 肺炎 ¹⁾	3	1	1	1	1					1	1		1	1
肝臓： 胆管炎・胆管周囲炎 ²⁾	6	4	2	2	3	3		3	2	3	3	2	2	1
腎臓： 慢性腎盂腎炎 ³⁾	11	9	7	7	8	7	5	8	7	8	8	7	7	6

1)：気管支肺炎、剥落性肺炎、嚥下性肺炎を包含

2)：胆管周囲炎に伴うグリソン氏鞘内単核細胞浸潤、小肉芽腫様変化、クッパー氏星細胞肥大増殖または活性化集簇などの変化を包含

3)：慢性腎盂腎炎に伴うボーマン氏囊の線維性肥厚、糸球体の線維性硬化、間質域円形細胞浸潤、腎盂粘膜

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

下あるいは周囲脂肪組織内の円形細胞浸潤、尿細管内円柱滞留などの変化を包含

腫瘍性病変

腫瘍性病変としては、肺腺腫、肝血管腫、皮膚基底細胞腫、白血病及び類白血病を認めたが、検体投与との相関は認められなかった。

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下表のとおりであり、腫瘍の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。

性別	雄							雌						
投与群 (ppm)	対照	5.7	28.5	57	114	570	1140	対照	5.7	28.5	57	114	570	1140
検査動物数	11	9	7	7	8	8	5	8	7	8	8	7	7	6
腫瘍数	良性	4	2	1	2	2	0	0	0	1	1	0	0	0
	悪性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
腫瘍総数	4	2	1	2	2	2	0	0	0	1	2	0	2	0
腫瘍動物数	4	1	1	2	2	2	0	0	0	1	2	0	2	0

以上の結果から、本剤の 100 週間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、570 ppm 投与群以上で肝重量の増加とそれに伴う単核細胞の集簇性増殖ないし肉芽腫様変化がみられたので、最大無作用量は 114 ppm (雄 14.9mg/kg/日、雌 16.3mg/kg/日) であると判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

(3) ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 19)

試験機関

報告書作成年

(1983 年改訂)

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：Fischer 系ラット、1 群 雌雄各 40 匹、開始時 5 週令

投与 52 週経過時に各群 8~10 匹を中間屠殺した。

試験期間：104 週間 (1979 年 10 月~1981 年 10 月)

投与方法：検体はオリエンタル酵母工業 (株) 製粉末飼料 (NM) に、50、100、500 及び 1000 ppm の濃度に混和し、104 週間にわたって自由摂食させた。

投与量設定根拠：ラットを用いた慢性毒性試験 (資料 17) の結果を参考とした。上記試験では Wistar ラットに検体を 5、25、50、100、500 及び 1000 ppm の濃度に混和し、104 週間にわたって自由摂食させた。その結果、500 ppm 投与群以上で、病理組織学的検査により肺、肝及び腎の変化が認められた。この結果を参考として今回の試験の投与量は、何らかの毒性が認められると予想される 1000 ppm を最高用量とし、以下 500、100、50 ppm を設定した。

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日曜日を除く毎日観察した。

一般状態では、脱毛、眼球の白濁、混濁等が認められたが、検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

試験終了時の死亡率は、対照群、50、100、500 及び 1000 ppm 投与群の雄で各々 7.5 %、25.0 %、20.0 %、25.0 % 及び 12.5 %、また、雌で各々 30.0 %、42.5 %、30.0 %、22.5 % 及び 17.5 % であった。

死亡率を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
対照群	3/40 (7.5%)	12/40 (30.0%)
50	10/40(25.0%)	17/40(42.5%)
100	8/40(20.0%)	12/40 (.30.0%)
500	10/40 (25.0%)	9/40 (22.5%)
1000	5/40(12.5%)	7/40 (17.5%)

いずれの群においても死亡率では、検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

体重変化：

投与開始から週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

雌雄とも 1000 ppm 投与群で体重の増加度の鈍化が認められた以外検体投与に伴う変化はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率：

各群別に摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

雄では 50 ppm 投与群で全般的に対照群を上回り、1000 ppm 投与群で 16 週目以降 55 週目まで、62 週目以降投与終了時までそれぞれ対照群を下回った。雌では、一定の傾向を持った変動は認められなかった。

食餌効率では、各投与群とも対照群との差は認められなかった。

検体摂餌量：

検体摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は、50、100、500 及び 1000 ppm 投与群で各々雄で 2、4、22 及び 44 mg/kg、また、雌で 2、5、27 及び 55 mg/kg であった。

血液学的検査：

投与後 52 週経過時に各群 8~10 匹と 104 週経過時の全生存動物を対象として、ネンブタール麻酔下で開腹し、下大静脈より採血し、血小板 (PBC)、白血球 (WBC)、赤血球 (RBC)、ヘモグロビン (Hgb)、ヘマトクリット (Hct)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、好塩基球 (Bas)、好酸球 (Eos)、杆状核好中球 [Ne (st)]、分葉核好中球 [Ne (seg)]、リンパ球 (Ly) 及び単球 (Mon) を測定した。52 週経過時では、雄の 50 ppm 投与群で MCV の増加が、500 ppm 投与群で MCV 及び MCH の増加が、1000 ppm 投与群で RBC、Hgb、Hct の減少及び MCV、MCH の増加がそれぞれ認められた。雌の 500 ppm 投与群で PBC の増加が、1000 ppm 投与群で PBC、Ne (seg) の増加及び Ly の減少が認められた。

104 週経過時では、雄の 50 ppm 投与群で MCHC、Ne (seg) の増加及び Ly の減少が、500 ppm 投与群で PBC の増加が、1000 ppm 投与群で Eos、Ne (seg) の増加及び Ly、Mon の減少が認められた。雌の 50 ppm 投与群で Ne (st) の減少が、500 ppm 投与群で MCH、Eos、Ne (st) の減少が、1000 ppm 投与群で Eos の減少及び Ne (seg) の増加がそれぞれ認められた。これらの変動は病理組織学検査で造血臓器に異常が認められなかったので、長期間飼育による摂餌量の変動や栄養状態の変化に原因して発現したと考えられた。

下表に対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与群、性別	50 ppm				100 ppm				500 ppm				1000 ppm			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
検査時期 (週)	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104
PBC										↑	↑					↑
RBC														↓		
Hgb														↓		
Hct														↓		
MCV	↑								↑				↑			
MCH									↑			↓	↑			
MCHC		↑														
Eos												↓		↑		↓
Ne (st)				↓								↓				
Ne (seg)		↑												↑	↑	↑
Ly		↓												↓	↓	
Mon														↓		

↓ ↑ : p < 0.05 ↓ ↑ : p < 0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

血液生化学検査：

上記の検査学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて、GPT、GOT、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)、コリンエステラーゼ (ChE)、アルカリフォスファターゼ (AIP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンフォスフォキナーゼ (CPK)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CRE)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)・カルシウム (Ca)、コレステロール (Chol)、トリグリセリド (TG)、ブドウ糖 (Glu)、アルブミン/グロブリン (A/G)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl) 及び炭酸ガス (CO₂) を測定した。

下表に对照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与群、性別	50 ppm				100 ppm				500 ppm				1000 ppm			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104
項目																
GPT									↓				↓			
GOT									↓				↓			
ChE			↑				↑				↑					↑
Alp									↑							
LDH					↑		↓	↓			↓		↓		↓	
CPK			↓				↓	↓		↓	↓				↓	
BUN		↑			↑	↑				↑		↑	↑	↑		↑
CRE											↓	↑	↓			
Alb													↑			
Chol									↓				↓			
TG									↓				↓		↓	
Glu									↓		↓		↓	↓		
A/G													↑			
Na	↑				↑					↑			↑	↑		
Cl							↑	↑					↑	↑		

↓ ↑ : p<0.05 ↓ ↑ : p<0.01

上記のうち、104 週経過時に雄の 100、500 及び 1000 ppm 投与群、雌の 500 及び 1000ppm 投与群で認められた BUN の増加は加齢性変化を主体したものと推定されるが、検体投与に起因しないとは断言できなかった。それ以外の変化は検体投与の有無及び投与量との相関はなく偶発性変化と考えられた。

尿検査：

投与後 1 ヶ月に 1 回、各群別にナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、水素指数 (pH)、蛋白 (P)、ブドウ糖 (Glu)、ケトン体 (Ket)、ビリルビン (Bili)、潜血 (OB)、ウロビリノーゲン (Ub) 及び浸透圧 (OP) を検査した。

各検査時期また各投与群とも検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

臓器重量：

投与 52 週経過時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち脳、胸腺、心、肺、肝、脾、腎、副腎、生殖器（睾丸、前立腺または卵巣、子宮）、脳下垂体及び腸管（小腸、大腸）について臓器重量を測定し、また、対体重比も算出した。

以下に対照と比して統計学的に有意差を示した項目を表記する。

性別	雄								雌							
	52				104				52				104			
検査時期(週)	50		100		500		1000		50		100		500		1000	
投与群 (ppm)	50	100	500	1000	50	100	500	1000	50	100	500	1000	50	100	500	1000
体重			↓	↓				↓								
脳重量				↓				↓								
対体重比			↑	↑												
胸腺重量																↓
対体重比																↓
心重量	↑							↓		↑						
対体重比																
肺重量																
対体重比				↑												↓
肝重量																
対体重比				↑												
脾重量			↓													
対体重比				↑												
腎重量																↑
(左) 対体重比																
腎重量																
(右) 対体重比								↑								
副腎重量								↓								
(両側) 対体重比			↑													
睾丸重量																
(左) 対体重比				↑												
睾丸重量			↓													
(右) 対体重比																
脳下垂体重量																↑
対体重比																↑
腸管重量			↓	↓		↓		↓								
対体重比																

↓ ↑ : p < 0.05 ↓ ↑ : p < 0.01

臓器重量及び臓器相対重量の変化が諸臓器にみられたが、他の検査項目ではそれらに関連する異常は認められなかったことから、検体投与との関連はなく偶発的变化と判断した。

肉眼的病理検査：

投与 52 週経過時及び 104 週経過時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。

雌雄とも各投与群で、皮下の腫瘍形成が認められたが、検体投与の有無及び投与量との関連は認められなかった。

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、脳、脊髄、胸腺、心、肺、肝、脾、腎、副腎、生殖器（睾丸、前立腺または卵巣、子宮）、甲状腺、脳下垂体、消化管、膵、膀胱、腸間膜リンパ節、その他（皮膚、乳腺、皮下及その他の肉眼的病変部）について病理標本を作成し、検鏡した。

非腫瘍性変化

52 週経過時に中間屠殺した 1000 ppm 投与群の雄で肝細胞の空胞化が認められた。

104 週経過時に屠殺した動物または途中死亡した動物では、雌雄の 100 ppm 以上の投与群で肝細胞の空胞化、泡沫状化あるいは膵腺房細胞の萎縮が認められた。

投与 52 週時における所見発現例数

性別	雄					雌				
投与群 (ppm)	対照	50	100	500	1000	対照	50	100	500	1000
所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	8	10	10	10
肝臓： 肝細胞空胞化					4					

投与 104 週時における所見発現例数

性別	雄					雌				
投与群 (ppm)	対照	50	100	500	1000	対照	50	100	500	1000
所見\検査動物数	27	20	22	20	25	18	15	18	21	23
肝臓： 肝細胞空胞化				1	1			1		
肝細胞泡沫状化			1	4	12					5
膵臓： 膵腺房細胞萎縮			1	2	4				1	3

肝細胞の空胞化、泡沫状化は慢性的な栄養障害をきたした時にしばしば認められる変化で、しかも、体重増加度の鈍化、摂餌量の減少が認められることから、検体投与に起因していると考えられた。膵腺房細胞の萎縮は通常加齢性にみられる変化であるが、雄の 100ppm 以上、雌の 500ppm 以上の投与群でみられていることから、被験物質投与に起因する体重増加抑制の影響も考えられた。

そのほか各群で腎臓に硝子様円柱の出現がみられたが、これらは加齢性腎症に伴う自然発生性変化と考えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

腫瘍性変化

腫瘍に関しては、特に睾丸の間質細胞腫、脳下垂体の嫌色素性腺腫、白血病の発現を認めたが、それらのいずれもが対照群にも認められ、しかも腫瘍発生率と検体投与量との相関も認められなかった。

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下表のとおりであり、腫瘍の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。

性別	雄					雌					
投与群 (ppm)	対照	50	100	500	1000	対照	50	100	500	1000	
検査動物数	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
腫瘍数	良性	37	35	41	29	32	7	5	6	5	6
	悪性	4	3	6	6	7	3	5	4	3	2
腫瘍総数	41	38	47	35	39	10	10	10	8	8	
腫瘍動物数	28	29	30	26	30	10	8	10	7	6	

以上の結果から、本剤の 104 週間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、1000 ppm 投与群に体重の増加度の鈍化及び摂餌量の低下がみられた。また、雄の 100ppm、雌の 500ppm 以上の投与群で血中 BUN の増加傾向がみられ、雌雄とも 100ppm 以上の投与群で肝細胞の空胞化や泡沫状変化がみとめられたことから、最大無作用量は雌雄ともに 50ppm (雄 2 mg/kg/日、雌 2 mg/kg/日) であると判断された。

また、催腫瘍性はないものと考えられる。

(4) マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 20)

試験機関

報告書作成年

(1983 年改訂)

検体の純度：

試験動物：B6C3F1 マウス(SPF)、1 群 雌雄各 40 匹、開始時 5 週令

試験期間：24 ヶ月 (1979 年 11 月 27 日～1981 年 11 月 26 日)

投与方法：検体は 0、50、100、500 及び 1000ppm 含むよう基礎飼料に混合し、24 ヶ月間にわたって随時摂食させた。

投与量設定根拠：ICR マウスを用いた慢性毒性試験(資料 18)の結果を参考とした。この試験では、検体をマウスに 5.7、28.5、57、114、570 及び 1140ppm の濃度で 100 週間混餌投与し、その結果 570 ppm 投与群以上で肝重量の増加とそれに伴う単核細胞の集簇性増殖ないし肉芽腫様変化がみられた。従って、今回の試験では明らかな毒性が認められると予想される 1000ppm を最高用量とし、以下 500、100、50ppm を投与用量に設定した。

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。

一般状態は投与後 52 週まで雌雄とも正常であった。それ以後検体投与群のみに認められた症状としては、前肢部貧血様蒼白、耳貧血様蒼白、体温下降、旋回であった。また、対照群を含む全群において認められた立毛、削瘦、被毛光沢消失、運動不活発等の症状については、500ppm 投与群以上の雌雄でその発現頻度が検体量依存的に増加した。

試験終了時の死亡率は対照群、50、100、500 及び 1000ppm 投与群の雄で、各々 10.0%、30.0%、26.7%、36.7% 及び 96.7%、雌で 13.3%、22.7%、23.3%、26.7% 及び 100% であった。1000ppm 投与群では、投与 78 週以後に漸増した。

体重変化：

投与開始から投与後 26 週まで毎週 1 回測定、投与後 26 週から投与終了時まで隔週 1 回測定した。500ppm 及び 1000ppm 投与群の雌雄で、体重増加の抑制が認められた。

摂餌量及び食餌効率：

飼料摂餌量は毎週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

飼料摂餌量は雌雄とも 1000ppm 投与群で有意に少なく、それ以外は各群間に差はなかった。

食餌効率は 1000ppm 投与群でやや低かった。

検体摂取量：

擬餌量及び投与濃度から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は 50、100、500 及び 1000ppm 投与群で雄が各々 7、14、76、148 mg/kg、また、雌が 7、15、84、183 mg/kg であった。

血液学的検査：

検査は投与後 52 週と 104 週の 2 回、生存例について行った。52 週目の検査はあらかじめ定めた各群の雌雄 10 匹の生存例について行った。それらの動物の下静脈より採血し、白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

血小板数 (PLT) を測定した。

各群の雌雄とも異常は認められず、検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学検査：

上記血液学的検査時期における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて、血糖 (Glu)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Crea)、カルシウム (Ca)、総蛋白 (TP)・アルブミン (Alb)、総コレステロール (T-Chol)、トリグリセライド (TG)、アルカリ性ホスファターゼ (ALP)、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)、コリンエステラーゼ (ChE)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (SGPT)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (SGOT)、乳酸脱水素酵素 (P-LDH)、アルブミン/グロブリン (A/G) を測定した。

上記のうち、雌雄とも 1000ppm 投与群に高血糖と ALP の上昇が目立った。ALP は 500ppm 以上の群で有意に上昇した。Glu はほとんどすべての検体投与群で有意な高値を示したが、それらの値はいずれも試験実施施設における同系統での背景データ (雄 100.1~236.6 mg/dL、雌 80.4~177.1 mg/dL) の範囲内であり、変動幅も投与量と相関がなかったことから、正常値域内の変化であり、検体投与による影響とは考えられなかった。

下表には対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

投与群、性別 検査時期(週) 項目	50 ppm				100 ppm				500 ppm				1000 ppm			
	52 週		104 週		52 週		104 週		52 週		104 週		52 週		104 週	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄 ^{a)}	雌 ^{b)}
Ca	♂				↑	♂			↑	↓	↑	♂	♂	♂	♂	♂
Glu	↑		↑		↑	♂	♂	♂	↑	↑	↑	♂	♂	♂		
BUN			↓	↓	♂	♂	↓	↓	↓	↓		↓	↓			
Crea								↓		↑		♂				
T-Chol						↓				♂			↓	↓		
TP	↑	♂			↑					↓			↓	↓		
Alb										↓			↓	♂		
ALP									♂	↑		↑	↑	↑		
SGOT	♂		↓		↑											
SGPT	↑		↓		♂								↑			
P-LDH							↓				↓		♂			
TG		♂					↓	↓		↑	↓	↓	♂	♂		
LAP			↓											↓		
CPK											♂					
ChE						↓				↓				↓		

↑ ↓ : p < 0.05 ♂ ♀ : p < 0.01 ↑ ↓ : p < 0.001

a) : 試験終了時の生存動物は 1 匹のみで統計処理せず。

b) : 試験終了までに全動物死亡。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

尿検査：

投与後 52 週時に各投与群雌雄 10 匹ずつ、投与後 104 週時には対照群、50、100、500 及び 1000ppm で、雄は各々 27 匹、21 匹、22 匹、20 匹及び 1 匹、雌は各々 26 匹、24 匹、23 匹、22 匹及び 0 匹について、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビンにつき検査した。

各検査時期とも各投与群で対照群と統計学的有意差はなく、異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

臓器重量：

投与後 52 週時及び 104 週時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物及び途中死亡 動物を対象として、解剖ののち脳、心、肺、肝、腎、脾、副腎、生殖器（精巣または卵巣）及び胸腺について、臓器重量を測定し、又、対体重比も算出した。

以下に対照群と比して統計学的有意差を示すものを表記する。

性別 検査時期(週) 投与群(ppm)	雄								雌							
	52 週				104 週				52 週				104 週			
	50	100	500	1000	50	100	500	1000 ^{a)}	50	100	500	1000	50	100	500	1000 ^{b)}
体 重			↓	↓			↓			↓	↓	↓			↓	
脳 重量												↓			↓	
対体重比			↑	↑			↑			↑	↑	↑			○	
心 重量			○	↓							↓	○				
対体重比				↑			↑			○	↑	↑			↑	
肺 重量											↓	↓			↓	
対体重比			○	↑						↑	↑	↑			↑	
肝 重量			○	↓								↓				
対体重比										○	↑	↑				
腎 重量			↓	↓			↓				○	↓			↓	
対体重比				↑						○	↑	↑				
脾 重量			○	↓								○			↓	
対体重比											○	↑				
副腎重量										↓		○			○	
対体重比				↑							↑					
精巣重量				↓												
対体重比			○	↑			↑									
卵巣重量												↓				
対体重比											↑					
胸腺重量			↓	↓								↓			○	
対体重比				↓							↑					

↑ ↓ : p < 0.05 ○ ○ : p < 0.01 ↑ ↓ : p < 0.001

a) : 試験終了時の生存動物は 1 匹のみで統計処理せず。

b) : 試験終了時まで全動物死亡。

投与後 52 週時に雄の 1000ppm 投与群で胸腺重量に対照群に比して絶対重量及び相対重量とも有意な減少を認めた。500ppm 投与群でみられた胸腺絶対重量の有意な減少（雄 52 週時、雌 104 週時）は、相対重量に有意差が認められないことから、最終体重の有意な減少に伴う変化と考えられた。その他には雄の 500ppm、雌の 100ppm 以上の投与群で心臓、肝臓、肺、腎臓および精巣（雄）の絶対重量の減少、相対重量の有意な増加が認められた。この変化は用量の増加に伴っており、投与による影響と考えられた。脳の相対重量も、雄は 500ppm、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

雌は 100ppm 以上の投与群で有意に増加した。脳は体重減少の影響を最も受けにくい臓器であること、およびこれらの群の最終体重が有意に低下していた事を考慮すると、脳の相対重量の増加は検体の影響によるものではないと考えられた。

肉眼的病理検査及び病理組織学的検査：

投与後 52 週及び 104 週経過時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物をを対象として、病理解剖を行い肉眼的病理検査を行った。また、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、胆嚢、気管支、脳下垂体、甲状腺（副甲状腺を含む）、生殖腺、脊髄、眼、唾液腺、気管、食道、胃、小腸、大腸、脾、膀胱、前立腺、子宮体部及び頸管、リンパ節、坐骨神経、皮膚、乳腺、骨（骨髄を含む）骨格筋、大動脈及び肉眼的の病変部について、病理標本を作成し、検鏡した。

非腫瘍性病変

肉眼的及び組織学的検査の結果・検体投与によると考えられる器質的障害像は、52 週時においては 500, 1000ppm 投与群の雄で腎皮質境界部の石灰沈着が増加し、1000ppm 投与群の雌で骨髄の造血低下が認められた。104 週時においては、上記の変化に加えて 1000ppm 投与群の多くの動物に心臓及び肺の変化が認められた。すなわち、肺浮腫、肺胞 II 型細胞の増多と心の拡張性肥大で、死亡例の死因は心肺機能不全と考えられた。500ppm 以下の投与群では、心臓あるいは肺の器質的变化は認められなかった。

以下に上記の組織所見発現数を示す。

投与 52 週時における所見発現例数

性別	雄					雌				
	対照	50	100	500	1000	対照	50	100	500	1000
投与群 (ppm)										
所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
腎臓：										
皮髄境界部石灰沈着	1	1	1	7	6					2
骨髄：										
造血機能低下					1					9

投与 104 週時における所見発現例数

性別	雄					雌				
	対照	50	100	500	1000	対照	50	100	500	1000
投与群 (ppm)										
所見\検査動物数	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
肺：										
肺浮腫		2			25				4	29
肺胞 II 型細胞増多	4	4	5	3	27			2	3	30
心臓：										
拡張性肥大		1		1	23		3	2	6	28
腎臓：										
皮髄境界部石灰沈着	2	2	5	6	16		2		1	7
骨髄：										
造血機能低下										7

それ以外に認められた各種病変はいずれも自然発生的なもので、加齢による増加であり、薬

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

剤投与に起因するものとは考えられなかった。

腫瘍性病変

薬剤投与に関連した腫瘍病変の発生率の増加及び発生時期の促進は対照群と比較して認められなかった。

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下表のとおりであり、腫瘍の発生頻度に関して、検体投与による影響はなかった。

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		対照	50	100	500	1000	対照	50	100	500	1000
検査動物数		40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
腫瘍数	良性	18	22	35	22	18	11	15	12	10	3
	悪性	11	16	16	16	7	7	6	13	10	0
腫瘍総数		29	38	51	38	25	18	21	25	20	3
腫瘍動物数		19	23	29	26	20	14	13	18	15	3

以上の結果から、本剤の 24 ヶ月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、500ppm 投与群以上に体重抑制、立毛、消瘦等の一般状態の変化、ALP の増加、心重量及び肺重量の増加が認められ、また、52 週経過時に雄の 500ppm、雌の 100ppm 以上の投与群で心臓、肝臓、肺、腎臓および精巣（雄）の絶対重量の減少、相対重量の有意な増加が認められたので、最大無作用量は 50ppm（雄 7mg/kg/日、雌 7mg/kg/日）であると判断される。