

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(2) 皮膚および眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.T-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体の純度：

供試動物： HC：NZW 系白色ウサギ、体重； 3.2～3.8 kg、雌 3 匹

[申請者注： ]

観察期間： 7 日間

投与方法： 検体 0.5 mL を低刺激性包帯に塗布し、刈毛した動物の脇腹の皮膚（6 cm<sup>2</sup>）に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は水で洗浄した。

観察項目： 暴露終了後 1、24、48、72 時間及び 7 日目に、適用部分の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。刺激性は、適用約 24、48 及び 72 時間後の平均評点から、最も感受性の強い 2 匹の評点を選択し下表に従って評価した。

評価基準

評価	平均評点
刺激性なし	0.0 — 0.99
わずかな刺激性	1.0 — 1.99
中等度の刺激性	2.0 — 2.99
重度の刺激性	3.0 — 4.0 (最大値)

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高評点	暴露後時間				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	2	3	3	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.7	1	1	0	0
	浮腫	4	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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

暴露後2日目まで軽度な紅斑が認められたが、3日目には全て消失した。暴露後24～72時間の平均皮膚一次刺激性評価点は、0.7（無刺激性）であった。

以上の結果から、プロチオホス原体はウサギの皮膚に対して、刺激性がないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.T-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987 年

検体の純度：

供試動物： HC: NZW 系白色ウサギ、体重； 3.1~4.0 kg、雌 3 匹  
[申請者注： ]

観察期間： 7 日間

投与方法： 検体 0.1 mL を一方の眼瞼結膜嚢に適用し、適用後、約 1 秒間眼瞼を閉じた。もう一方の眼には被験物質を適用せず対照とした。適用眼は 24 時間後に生理食塩水で洗眼した。

観察項目： 洗眼後 1、24、48、72 時間及び 7 日後に、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。刺激性は、適用約 24、48 及び 72 時間後の平均評点から、最も感受性の強い 2 匹の評点を選択し下表に従って評価した。

評価基準

評価	平均評点
—わずかな刺激性	
角膜混濁	1.00 — 1.99
虹彩の充血、光反応	≥0.5
結膜紅斑	1.00 — 2.49
結膜浮腫	1.00 — 1.99
24 時間以上持続し、7 日間以内の可逆性	
—中等度の刺激性	
角膜混濁	2.00 — 2.99
虹彩の充血、光反応	1.00 — 1.50
—3 匹使用の場合	1.00 — 1.99
結膜紅斑	≥2.5
結膜浮腫	≥2.0
24 時間以上持続し、14 日間以内の可逆性	
—重度の刺激性	
中等度の刺激を参照、ただし、21 日間以内の可逆性	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

---

—腐食（重篤な眼損傷の危険）性

角膜混濁  $\geq 3.0$

虹彩の充血、光反応  $\geq 1.5$

—3匹使用の場合  $= 2.0$

又は、他の重大な眼所見に21日間以内の可逆性がない

---

結 果： 観察した刺激性変化の採点を次頁の表に示す。

角膜及び虹彩の刺激性変化は、認められなかった。結膜の刺激性変化として、洗眼後1時間より全例に分泌物が認められたが、この変化は24時間以上継続して観察されなかった。また、軽度の発赤及び浮腫が洗眼後1時間より全例に認められたが、1例を除き、72時間後には消失した。この1例の結膜の発赤は洗眼後7日に消失した。

暴露後24～72時間の平均眼一次刺激性評価点は、結膜紅斑0.85（無刺激性）及び結膜浮腫0.15（無刺激性）であった。

以上の結果から、プロチオホス原体は、ウサギの眼粘膜に対して刺激性が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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

項目			最高 評点	適用後時間					評点
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	
動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0.0
		面積	(4)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0.7
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0.3
		分泌物	(3)	(3)	(1)	(0)	(0)	(0)	-
動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0.0
		面積	(4)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	0	1.0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0.3
		分泌物	(3)	(2)	(1)	(0)	(0)	(0)	-
動物 番号 3	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0.0
		面積	(4)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0.7
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0.0
		分泌物	(3)	(2)	(1)	(0)	(0)	(0)	-

( ) 内は参考データとして評価からは除外。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

### (3) 皮膚感作性

#### 1) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.T-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

供試動物： DHPW 系モルモット、4～7 週齢、体重； 293～378 g  
検体投与群；雄 20 匹、陰性対照群；雄 10 匹

観察期間： 6 週間

試験方法： [Maximization 法]

投与量設定根拠；経皮投与後の局所及び全身性の耐量及び皮膚一次刺激性に対する閾値濃度を求めた予備試験の結果に基づき、以下の濃度を選択した。

皮内感作： 1%

経皮感作： 100%

惹起： 100%

皮内感作；投与 24 時間前にモルモットの腹側部と背部を刈毛し、正中線の両側に 3 ヶ所皮内投与（1 ヶ所当たり 0.1 mL）した。検体投与群の各皮内投与部位の処理溶液は次のとおり；

- ① 頭側 - FCA + 生理食塩液（1：1）
- ② 中間部 - 検体 1%液（媒体；Cremophor EL（2% v/v）含有生理食塩液）
- ③ 尾側 - FCA + 上記の検体 1%液（1：1）

対照群には、②、③で検体を含まない媒体のみを使用した以外は、検体投与群と同様の手順で皮内投与した。

経皮感作；皮内感作の 1 週間後に検体（100%）0.5 mL を含んだパッチを 48 時間閉塞貼付した。

対照群には Cremophor EL（2% v/v）含有生理食塩液を適用した。なお、経皮感作の 24 時間前に刈毛し、10%ラウリル硫酸ナトリウム含有パラフィンオイルを適用した。

惹起；皮内感作 3 週間後に惹起を行った。惹起の 24 時間前に刈毛し、化学的に脱毛した。左側腹部に検体（100%）を 0.5 mL 含んだパッチを、右側腹部には対照としてパッチのみを適用し、24 時間閉塞貼付した。

試験の概要を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

### 試験の概要

群	供試動物数	投 与		
		皮内感作 (皮内投与)	経皮感作 (48時間閉塞貼付)	経皮惹起 (24時間閉塞貼付)
検体投与	雄 20匹	① FCA + 生理食塩液 (1:1) ② 検体 1%液 (媒体; Cremophor EL (2% v/v) 含有生理食塩液) ③ FCA + 上記の検体 1% 液 (1:1)	検体 (100%) 0.5mL	左側; 検体 (100%) 0.5mL 右側; パッチのみ
陰性対照	雄 10匹	① FCA + 生理食塩液 (1:1) ② 媒体; Cremophor EL (2% v/v) 含有生理食塩液 ③ FCA + 上記の媒体 (1:1)	媒体; Cremophor EL (2% v/v) 含有生理食塩液	左側; 検体 (100%) 0.5mL 右側; パッチのみ

①、②、③ : 1ヵ所当たり 0.1 mL

観察項目 : 惹起 24 時間及び 48 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。  
判定基準は以下のとおりである。

- 0 = 変化なし
- 1 = 軽度の紅斑
- 2 = 中等度の紅斑
- 3 = 重度の紅斑

結 果 : 各観察時間における感作変化が認められた動物数及び皮膚反応評点を以下に示す。

群	感作		供試動物数	24 時間					48 時間					陽性率 (%)	
				皮膚反応評点				陽性動物数	皮膚反応評点				陽性動物数	24 時間	48 時間
				0	1	2	3		0	1	2	3			
検体投与群	検体 1% (皮内)	検体 100% (貼付)	20	2	16	2	0	18	5	15	0	0	15	90	75
	検体 100% (経皮)	パッチのみ貼付		20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
陰性対照群	媒体* (皮内)	検体 100% (貼付)	10	7	3	0	0	3	8	2	0	0	2	30	20
	媒体* (経皮)	パッチのみ貼付		10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0

\* Cremophor EL (2% v/v) 含有生理食塩液

検体投与群において、惹起 24 時間後に 20 例中 18 例で軽度から中等度の紅斑が認められた。陰性対照群においては、10 例中 3 例で軽度の紅斑が認められた。検体投与群の陽性率は陰性対照群の陽性率の 2 倍を超えて増加した。

以上の結果から、本試験において、プロチオホス原体のモルモットにおける皮膚感作性は陽性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.T-11)

試験機関：

報告書作成年：1977年

検体の純度： (原体)

20%乳剤

組成 プロチオホス ; 20.0%

有機溶剤、乳化剤 ; 80.0%

供試動物： ハートレー系白色モルモット、一群雌 20 匹 (無感作群 ; 10~20 匹、陽性対照群 ; 5 匹、陽性対照群の無感作群 ; 7 匹)

[申請者注：

]

観察期間： 惹起後 72 時間

試験操作： [高瀬法の変法]

用量設定試験；

注射感作；設定した感作濃度の 2 倍濃度液を、免疫補助剤 (FCA ; Freund's complete adjuvant) と 1 : 1 の割合で混合し、毎回 0.1 mL を背頸部、左後肢、右後肢の順に、1 日 1 ヲ所、1 週間で 3 ヲ所に皮下 (背頸部) あるいは筋肉 (左右後肢) 内注射した。

塗布感作；設定した感作濃度試験液を、毎回 0.2 mL/100 g 体重の割合で動物の背部刈毛部に、1 日おきに 1 回、1 週間に合計 3 回塗布した。プロチオホス原体の場合は、塗布後に、急性の経皮毒性による中毒症状がみられたため、2 回塗布にとどめた。

惹起；感作 3 週後に、注射感作群ではこれを 2 群に分け、ツベルクリン性のアレルギー反応をみるために、背部刈毛皮膚に皮内注射により惹起した群と接触皮膚アレルギー反応をみるために、背部抜毛部の左側を損傷皮膚、右側を正常皮膚とし、被験物質等を閉塞貼布惹起した群とを設けた。

一方、塗布感作群では、上記閉塞貼布による惹起のみを行った。

同時に、非感作の動物に対しても、感作群の動物と同様の方法で惹起処理した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

観察・検査項目： 惹起後の皮膚症状の判定は、注射惹起群は処理 48 時間後、貼布惹起群は、処理 24、48、72 時間後に行った。

感作性の有無は、感作群と無感作群の惹起濃度による皮膚炎症陽性例数を  $\chi^2$  検定及び Fisher の直接確率検定で検定した。

皮内注射； 皮膚の炎症について、外観を肉眼的に判定後、動物を屠殺して皮膚を剥離し紅斑径を測定した（透視判定）。紅斑径  $\geq 2.6$  mm を炎症陽性とした。

貼布；肉眼的判定で炎症評点を求めた。平均評点 $\geq 0.6$  の場合を炎症陽性とした。

#### 肉眼的判定基準

炎症の程度	点数
全く変化なし	0
発赤	1
発赤 + 浮腫	2
発赤 + 浮腫 + 出血、水疱丘疹又は膿疱	3
単一水疱	4
表皮剥離、壊疽	5

結果： ①用量設定試験  
結果を表 1 に示す。

表 1. 炎症の認められなかった最高濃度

化合物	皮内注射	貼布（正常及び損傷皮膚）
プロチオホス原体	1000 倍液	原液
プロチオホス 20%乳剤	2000 倍液	20 倍液
乳剤媒体	1000 倍液	20 倍液
キャプタン 80%水和剤	20000 倍液	—

以上の結果から、注射感作の場合、プロチオホス原体では軽い一次刺激性の認められた 100 倍液と疑陽性の 500 倍液、プロチオホス 20%乳剤では起炎症濃度の 100 倍液と疑陽性の 1000 倍液、乳剤媒体は乳剤との比較のため 100 及び 1000 倍液、陽性対照のキャプタン 80%水和剤は 2000 倍希釈液を感作濃度とした。

同様に、塗布感作の場合は、プロチオホス原体では原液を、プロチオホス 20%乳剤と乳剤媒体は 2 倍希釈液を感作濃度とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

## ②感作アレルギー試験

注射感作の場合、皮内惹起の惹起濃度をプロチオホス原体で 1000、5000、10000、50000、100000 及び 500000 倍液の 6 濃度、プロチオホス 20%乳剤及び乳剤媒体で 1000、2000、10000、20000 及び 100000 倍液の 5 濃度、キャプタン 80%水和剤で 20000、40000 及び 200000 倍液の 3 濃度とした。また、塗布感作の場合、貼付惹起の惹起濃度をプロチオホス原体で 10、20 及び 100 倍液の 6 濃度、プロチオホス 20%乳剤及び乳剤媒体で 20、100 及び 200 倍液の 3 濃度とした。

結果を表 2～4 に示す。

表 2. 注射感作－皮内惹起試験

化合物	希釈倍数	感作法	皮内惹起注射 (最高濃度)	感作成立 /不成立
プロチオホス原体	100、500 倍	免疫補助剤 と共に注射	1000、5000、 10000、50000、 100000、500000 倍液	不成立
プロチオホス 20%乳剤	100、1000 倍		1000、2000、 10000、20000、 100000 倍液	
乳剤媒体	100、1000 倍		1000、2000、 10000、20000、 100000 倍液	
キャプタン 80%水和剤	2000 倍		↑20000、 ↑40000 倍液 200000 倍液	成立 不成立

$\chi^2$  検定又は Fisher の直接確率検定 ↑↓:  $p < 0.05$ 、↑↑:  $p < 0.01$

表 3. 注射感作－貼布惹起試験\*

化合物	希釈倍数	感作法	貼布惹起	感作成立 /不成立
プロチオホス原体	100、500 倍	免疫補助剤 と共に注射	↑10、↑20 ↑100 倍液	プロチオ ホス原体 のみ成立
プロチオホス 20%乳剤	100、1000 倍		↑**10、↑**100、 1000 倍液	
乳剤媒体	100、1000 倍		↑**10、100、 1000 倍液	

\*: 損傷皮膚、正常皮膚を含む。

\*\* : 非感作群にも同様の反応が認められた。

$\chi^2$  検定又は Fisher の直接確率検定 ↑↓:  $p < 0.05$ 、↑↑:  $p < 0.01$

表 4. 塗布感作-貼布惹起試験\*

化合物	希釈倍数	感作法	貼布惹起	感作成立 /不成立
プロチオホス原体	原液	背部刈毛部皮膚 に塗布感作	10、20、100 倍液	いずれも 不成立
プロチオホス 20%乳剤	2 倍		20、100、200 倍液	
乳剤媒体	2 倍		20、100、200 倍液	

\*: 損傷皮膚、正常皮膚を含む。

注射感作-皮内惹起の場合、キャプタン 80%水和剤のみで感作が成立した。すなわち、2000 倍希釈で感作し、20000 及び 40000 倍液で惹起した場合に感作群が全例炎症反応を示し非感作群と有意な差を示した。プロチオホス原体、プロチオホス 20%乳剤及び乳剤媒体では感作反応が認められなかった。

注射感作-貼付惹起の場合は、プロチオホス原体でのみで感作が成立した。100 倍液感作群で 10、20 及び 100 倍液いずれの惹起濃度においても炎症反応が認められ、非感作群と有意な差を示した。また、500 倍液感作群でも 10 倍液惹起で陽性反応が認められた。なお、プロチオホス 20%乳剤でも炎症反応が認められたが、比較対照の乳剤媒体でも同様に反応が認められたことから、乳化剤や灯油による影響と判断された。

塗布感作-貼付惹起の場合は、いずれの検体においても感作反応が認められなかった。

さらに、表 3 で感作陽性反応が認められたプロチオホス原体注射感作-貼布惹起試験の詳細を表 5 及び 6 に示す。

表 5. 損傷皮膚におけるプロチオホス原体の注射感作-貼布惹起による無感作群と感作群との間の結果の比較

感作濃度 (希釈倍数)	惹起濃度 (希釈倍数)	感作の 有無	惹起後の経過時間					
			24 時間		48 時間		72 時間	
			I	II	I	II	I	II
100 倍	10 倍	無感作	11	9	10	10	3	17
		感作	↑19	1	↑19	1	↑19	1
	20 倍	無感作	16	4	2	18	2	13
		感作	20	0	↑20	0	↑15	0
	100 倍	無感作	15	5	2	18	2	13
		感作	↑20	0	↑20	0	↑14	0
500 倍	10 倍	無感作	11	9	10	10	3	17
		感作	12	8	8	12	4	16
	20 倍	無感作	16	4	2	18	2	13
		感作	12	8	7	13	2	12
	100 倍	無感作	15	5	2	18	2	13
		感作	8	12	4	16	0	14

I: 炎症例数、II: 非炎症例数

$\chi^2$  検定又は Fisher の直接確率検定 ↑↓:  $p < 0.05$ 、↑↑:  $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 6. 正常皮膚におけるプロチオホス原体の注射感作-貼布惹起による無感作群と感作群との間の結果の比較

感作濃度 (希釈倍数)	惹起濃度 (希釈倍数)	感作の有無	惹起後の経過時間					
			24 時間		48 時間		72 時間	
			I	II	I	II	I	II
100 倍	10 倍	無感作 感作	0 ↑19	20 1	0 ↑19	20 1	0 ↑19	20 1
	20 倍	無感作 感作	1 ↑20	19 0	0 ↑20	20 0	0 ↑15	20 0
	100 倍	無感作 感作	1 ↑20	19 0	0 ↑20	20 0	0 ↑14	20 1
500 倍	10 倍	無感作 感作	0 ↑6	20 14	0 4	20 16	0 2	20 18
	20 倍	無感作 感作	1 1	19 19	0 1	20 19	0 0	20 15
	100 倍	無感作 感作	1 1	19 19	0 1	20 19	0 0	20 15

I: 炎症例数、II: 非炎症例数

$\chi^2$ 検定又は Fisher の直接確率検定 ↑↓:  $p < 0.05$ , ↑↑:  $p < 0.01$

以上の結果から、プロチオホス原体は供試動物の皮膚に対して刺激性を有しないと判断する。プロチオホス原体の 100 及び 500 倍希釈液を免疫補助剤と共に直接体内に注入した場合には皮膚感作性は陽性であるが、塗布感作では皮膚感作性は陰性であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 No.T-12)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

検体の純度:

供試動物: Wistar 系ラット [Wistar HAN CRL:WI (HAN)]、開始時 9 週齢以上

体重; 雄 236.2~304.7 g、雌 165.1~221.3 g

主試験; 一群雌雄各 12 匹、コリンエステラーゼ (AChE/ChE) 測定; 一群雌雄各 6 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を Cremophor EL 2% (v/v) 含有脱イオン水に懸濁し、0、2 (AChE/ChE 測定のみ)、5、50 及び 500 mg/kg の用量で、非絶食下で単回強制経口投与した。投与容量は 10 mg/mL/kg とした。各試験群への動物の割付け数を次表に示す。

設定投与量 (mg/kg)	0		2		5		50		500	
実測投与量 <sup>a)</sup> (mg/kg)	0		1.94		4.92		48.4		486	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験 <sup>b)</sup>	12	12	0	0	12	12	12	12	12	12
AChE/ChE 試験	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

a) HPLC/UV 分析

b) 神経行動学的検査を行い、半数について病理組織学的検査を行った。最高用量で投与に関連した神経病理学的所見が認められなかったことから、中及び低用量群での検査は行なわなかった。

用量設定根拠;

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を1日1回以上観察した。

すべての動物が投与期間終了時まで生存した。

一般状態；一般状態を毎日観察した。主試験の動物については、1日1回詳細な身体検査を実施した。

検体投与の影響と考えられた所見を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	5	50	500	0	5	50	500
投与量 (mg/kg)								
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
振戦								2
自発運動協調不全 (運動失調)								5
筋線維束性収縮								10
尿による汚れ				3				12
鼻部の赤い汚れ		1	2	5				10
口の汚れ				1				11
紅涙による汚れ								2
両前肢の赤い汚れ				1				3

表中の数値は、観察期間中に1回以上症状を発現した動物数。空欄は発現無しを示す。

投与に関連した影響として、500 mg/kg 投与群の雌雄で尿による汚れ、鼻部の赤い汚れ、両前肢の赤い汚れ及び口の汚れが認められ、同群雌で振戦、運動失調、筋線維束性収縮、紅涙による汚れが認められた。また、50 mg/kg 投与群の雄でも鼻部の赤い汚れが認められた。

5 mg/kg 投与群雄の1例でも鼻部の赤い汚れが認められたが、発生率が低いことから投与に関連した影響ではないと判断された。

体重変化；投与開始前に全動物について1回、投与後は週1回、主試験の動物の体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

投与 7 日後に 500 mg/kg 投与群の雌で体重の有意な低下が認められた以外、検体投与に関連した影響は認められなかった。投与 7 日後の雌の体重を次表に示す。

性別	雌		
	5	50	500
投与 7 日後	99.5	99.0	↓93.4

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
一元配置型分散分析 ↑↓: p ≤ 0.05

摂餌量；測定しなかった。

機能観察総合評価（FOB）；投与開始前、投与後 4 時間目、7 日目及び 14 日目に主試験の動物を対象として、以下の項目を検査した。

ホームケージ観察	取扱い時観察	オープンフィールド観察
姿勢* 立毛 不随意運動：（症状例） （反復性咀嚼） （痙攣）* （振戦）* 異常行動* 歩行異常 異常発声 活動性低下 反復性頭部上下運動 反応性の亢進  感覚観察 接近反応性+ 接触反応性+ 聴覚反応性* 痛覚反応性* 瞳孔反応性* 瞳孔サイズ 正向反射+	反応性* 筋緊張* 眼瞼閉鎖状態* 流涙*/紅涙 流涎* 鼻汁 赤色/痂皮様の汚れ 被毛状態 痩せ 咬創 眼球突出* 歯の破折/不正咬合 爪の欠損 脱水症 接触時の体感体温低下	立ち上がり + 立毛* 呼吸異常 姿勢* 不随意運動：（症状例） （反復性咀嚼） （痙攣）* （振戦）* 常同行動* 突飛な行動* 異常行動* 歩行異常*/歩数* 異常発声 覚醒/一般的活動量* 排尿/脱糞*
	生理学的観察	神経筋観察
	体重* 体温+	前肢握力* 後肢握力* 着地開脚幅*

\*：必須項目、+：推奨項目

投与に関連した影響として、ホームケージ観察において、投与後 4 時間目に 50 及び 500 mg/kg 投与群の雄で、鼻部の赤い汚れが、それぞれ 2 例及び 3 例に認められた。その他に認められた所見は、用量相関性がなく偶発的であったことから、投与に関連した影響とは考えられなかった。

運動量；センサーを備えた 8 方向迷路を用い、投与開始前及び投与後 4 時間目、7 日目及び 14

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

日目に主試験の動物を対象として、60 分間 (=1 セッション) の運動量 (センサーを遮断した回数) 及び自発運動量 (1 センサー当たりの運動量から連続した遮断回数を除いたもの) を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

#### セッション全体での運動量

性 別		雄			雌		
投与量 (mg/kg)		5	50	500	5	50	500
観察時期	投与後 4 時間			↓36			↓52
	投与後 7 日						↓63

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
一元配置型分散分析 ↓↓:  $p \leq 0.05$

#### セッション全体での自発運動量

性 別		雄			雌		
投与量 (mg/kg)		5	50	500	5	50	500
観察時期	投与後 4 時間			↓26			↓40
	投与後 7 日						↓57

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
一元配置型分散分析 ↓↓:  $p \leq 0.05$

500 mg/kg 投与群では投与後 4 時間目の運動量及び自発運動量が雌雄で有意に低下し、雌では投与後 7 日目でも有意な低下が認められた。これら運動量の低下は、雄では投与後 7 日目、雌では投与後 14 日目までに対照レベルに回復した。

肉眼的病理検査；観察期間終了時に主試験の全動物を対象として検査した。

組織の灌流固定用として各群雌雄各 6 匹以上を選抜し、ペントバルビタールを腹腔内投与して麻酔し、亜硝酸ナトリウム・リン酸緩衝液で灌流し、さらに、Universal 固定液 (1% (w/v) グルタルアルデヒド + 4% (w/v) 電顕用ホルムアルデヒド) ・リン酸緩衝液で洗浄した。以下の組織を採取し、10%緩衝ホルマリンで後固定をした。

脳全体、脊髄、両眼 (視神経も含む)、特定の (両側) 末梢神経 (坐骨、脛骨及び腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、左右前肢、神経組織あるいは骨格筋の肉眼的病変

5 mg/kg 群雄 1 例の偶発所見 (肝臓中葉の奇形) を含め、検体投与に関連した影響は認められなかった。

脳重量；灌流固定した動物の脳を取り出し、10%緩衝ホルマリンに入れる前に重量を測定し、対体重比を算出した。

いずれの群においても統計学的有意差はなく、検体投与に関連した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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

病理組織学的検査；灌流固定した 500 mg/kg 投与群及び対照群の動物を対照として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

脳の冠状断面（8 切片）、脊髄（頸椎、胸椎及び腰椎）、馬尾、頸部及び腰部隆起の後根神経節（後根と前根線維を含む）、ガッセル神経節、眼、視神経、腓腹筋及び末梢神経（坐骨、脛骨及び腓腹神経）

結果を次表に示す。

病理組織所見

性 別		雄		雌	
投与量 (mg/kg)		0	500	0	500
所見/検査動物数		6	6	6	6
後根神経節	神経線維変性	2	0	2	2
左腓腹神経	神経線維変性	1	0	0	0
左坐骨神経	神経線維変性	2	2	3	3
右坐骨神経	神経線維変性	0	2	2	2
右脛骨神経	神経線維変性	1	1	1	1
胸椎	神経線維変性	2	2	3	1

500 mg/kg 投与群及び対照群の数匹で、末梢神経、後根神経節及び脊髄に、限局性及び多巣性の神経線維変性が認められたが、いずれも発生頻度が低く、対照群にも認められたことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

コリンエステラーゼ (AChE/ChE) 活性；AChE/ChE 測定群の動物（各群雌雄各 6 匹）を対象に、投与約 2 週間前（赤血球アセチルコリンエステラーゼ (AChE) のみ）及び用量設定試験から ChE への影響がピークになると想定された投与約 24 時間後に、赤血球及び脳 AChE 及び血漿 ChE 活性を測定した。血液サンプルは眼窩静脈叢から採血し、測定には Ellman 法の変法を用いた。

結果を次表に示す。

コリンエステラーゼ (AChE/ChE) 活性

性 別	雄				雌			
	2	5	50	500	2	5	50	500
血漿 ChE			↓49	↓12		↓58	↓12	↓3
赤血球 AChE	↓87		↓46	↓11			↓45	↓10
脳 AChE			↓84	↓30			↓a 80	↓a 26

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

ANOVA+ダネット検定（両側）↑↓：p≤0.05

Kruskal-Wallis + ANOVA + Mann-Whitney U 検定（両側）↑↓：p≤0.05

a：5 匹の平均値（他は 6 匹の平均）

50 及び 500 mg/kg 投与群で雌雄の赤血球及び脳 AChE 活性に対照群と比較して統計学

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

的並びに生物学的に有意な減少が認められた。2 mg/kg 投与群雄で赤血球 AChE 活性に对照群と比較して有意な減少がみられたが、用量相関性がなかったこと及び雄のみに認められたことから、検体投与に起因した影響ではないと考えられた。

雄の 50 mg/kg 以上、雌の 5 mg/kg 以上の投与群で血漿 ChE のみに有意な減少が認められたが、毒性学的意義があるとは考えられなかった。

以上の結果から、本剤のラットを用いた急性神経毒性試験における影響として、500 mg/kg 投与群の雌雄で尿の着色、鼻部の赤い汚れ、口の汚れ、両前肢の赤い汚れ、赤血球及び脳 AChE の阻害、さらに同群の雌では体重増加抑制、紅涙による赤い汚れ、振戦、運動失調及び筋線維束性収縮が認められた。また、50 mg/kg 投与群の雌雄で赤血球及び脳 AChE の阻害、さらに同群雄で鼻部の赤い汚れが認められたことから、本剤の急性神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 5 mg/kg (実測値として 4.92 mg/kg) であると判断された。

[申請者注：

]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

1) ニワトリを用いた急性遅発性神経毒性試験

(資料 No.T-13)

試験機関：

報告書作成年：1973年

検体の純度：

供試動物： ニワトリ（品種：白色レグホン種）、16～20ヵ月齢、平均体重；1.6 kg

急性毒性試験：一群雌6羽

保護剤投与下での遅発性神経毒性試験：一群雌20羽（陽性対照群は雌10羽）

観察期間： 30日間

投与方法：

- ① 急性毒性試験；検体をキシロール及びオリーブ油に希釈し、50、100、200及び400 mg/kgの投与用量で胃カテーテルを用いて単回強制経口投与した。投与容量は1 mL/kgとした。
- ② 保護剤投与下での遅発性神経毒性試験；急性経口毒性試験の結果、約150 mg/kgが本検体の雌ニワトリに対する急性経口LD<sub>50</sub>値と推定された。これに基づき、遅発性神経毒性試験では、検体のLD<sub>50</sub>値以上の致死量である150、300及び500 mg/kgの投与用量を設定し、急性毒性試験と同様の方法で単回強制経口投与した。  
保護剤として硫酸アトロピンを生理食塩水に溶解し、0.1 mL/kgの容量で後肢に筋注射した。投与量は1回50 mg/kgとし、検体投与直前及び投与4、24時間後に投与した。  
陽性対照として、オリーブ油に希釈した tri-ortho-cresylphosphate (TOCP) の非致死量(200 mg/kg)を経口投与した。

観察・検査項目：

- ① 急性毒性試験；死亡・中毒症状を投与後30日間観察し、投与7日後の死亡率よりLD<sub>50</sub>値を推定した。
- ② 保護剤投与下での遅発性神経毒性試験；死亡・中毒症状を投与後30日間観察した。

結果：

① 急性毒性試験

投与量 (mg/kg)	死亡動物数/供試動物数	死亡発現時期	遅発性神経毒性 症状発現数*
50	0/6	—	0/6
100	1/6	1日	0/5
200	5/6	1～3日	0/1
400	6/6	6時間～1日	—

\*：分子は遅発性神経毒性発現例数、分母は投与後7日目における生存動物数

—：該当せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

中毒症状として検体投与 1 時間後から多くの個体で鎮静状態が、数時間後には数例で流涎が観察され、重篤な個体は呼吸困難を呈し死亡した。投与 7 日後の死亡率より本検体の雌ニワトリに対する急性経口 LD<sub>50</sub> 値は約 150 mg/kg と推定された。更に投与後 30 日目まで生存例を観察したが、歩行失調、後肢麻痺などの遅発性神経毒性症状は認められなかった。

## ② 保護剤投与下での遅発性神経毒性試験

投与量	死亡動物数/供試動物数	死亡発現時期	遅発性神経毒性 症状発現数*
150 mg/kg + アトロピン**	5/20	2～3 日	0/15
300 mg/kg + アトロピン**	15/20	2～3 日	0/5
500 mg/kg + アトロピン**	18/20	1～3 日	0/2
TOCP 200 mg/kg	8/10	30 日	10/10

\*：分子は遅発性神経毒性発現例数、分母は投与後 7 日目における生存動物数

\*\*：アトロピン 50 mg/kg 投与（検体投与直前及び検体投与 4、24 時間後）

アトロピン投与下では、中毒症状として検体投与 2～3 時間後より活動性の低下、鎮静、6 時間後で流涎が観察され、徐々に腹臥を示す個体が観察された。これら中毒症状は投与後 4 日目には消失した。その後、投与後 30 日目まで生存個体を観察したが、歩行失調、ふらつき、後肢麻痺に代表される遅発性の神経毒性症状は全く認められなかった。一方、陽性対照群（TOCP）では、投与後 11～30 日目にかけて全例に明らかな遅発性神経毒性症状（歩行失調、ふらつき、後肢麻痺）が認められた。

以上の結果から、本剤の急性遅発性神経毒性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ニワトリを用いた急性遅発性神経毒性試験

(資料 No.T-14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体の純度：

供試動物： 産卵ニワトリ（白色レグホン種）、約 8 ヶ月齢、体重；1.40～1.69 kg  
一群雌 20 羽（媒体対照群は雌 6 羽、陽性対照群は雌 5 羽）

観察期間： 投与後 21 日間×2 回（陽性対照群は 17 日間）

投与方法： 検体を 2 v/v % Cremophor EL 水を用いて懸濁し、非絶食下のニワトリに 200（1 回目投与）及び 120 mg/kg（2 回目投与、1 回目投与から 3 週間後）の用量で強制経口投与した。

保護剤として、硫酸アトロピン単独及び硫酸アトロピンと塩化プラリドキシムの併用（硫酸アトロピン+塩化プラリドキシム）の 2 種類を以下のように投与した。

硫酸アトロピン；検体投与 30 分前に 20 mg/kg で皮下投与した。

硫酸アトロピン+塩化プラリドキシム；検体投与と同時に各 50 mg/kg、検体投与から約 6 時間後に各 25 mg/kg を皮下投与した。さらに、検体投与から約 24、30、48 及び 54 時間後に生存動物に対して各 25 mg/kg を皮下投与した。

陽性対照として tri-ortho-cresylphosphate（TOCP）の 400 mg/kg を単回強制経口投与した。

媒体対照群には、2 v/v % Cremophor EL 水 5 mL/kg を、投与開始時及び 3 週間後の 2 回経口投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率及び一般状態；投与日は数回及びそれ以降は投与後少なくとも 1 日 1 回観察した。

結果を次表に示す。

検体投与群では、1 回目投与後の急性毒性期に 12 羽が、2 回目投与後 1 羽が死亡した。

媒体対照群には、全く死亡が認められなかった。また、陽性対照群では、顕著な神経毒性症状が認められ瀕死状態に陥ったため、投与 17 日後に屠殺し、下記の病理検査を行った。

死亡率及び症状発現状況

群	投与量 (mg/kg)	各投与後 死亡数	通算死亡 率 <sup>注</sup> (%)	死亡時期	症状 発現例数	症状 発現時期
検体投与	1回目 200	12/20	60	6時間～ 3日後	20/20	2時間～ 12日後
	2回目 120	1/8	65	1日後*	8/8	1時間～ 9日後*
媒体対照	0	0/6	0	—	0/6	—
	0	0/6	0	—	0/6	—
陽性対照	400	0/5**	0	—	5/5	7～ 17日後

注：1回目投与後からの通算死亡率を示す。

\*：2回目投与後の経過時間

\*\*：顕著な神経毒性症状が認められ瀕死状態となったことから、投与後17日に屠殺し、剖検した。

—：該当なし

検体投与群の症状発現鳥数を次表に示す。毒性症状として、検体の初回投与後に、よろめき歩行、羽の逆立、無欲、孤発性の呼吸障害（呼吸困難）、下痢、衰弱/側臥位、呼吸障害（浅呼吸）、反射抑制、喘鳴及び乾燥羽の症状が認められた。投与5日目以降、生存動物では回復の兆しが見え始め、12日後にはいずれの動物にも症状は認められなかった。

2回目投与後、よろめき歩行、羽の逆立、無欲、下痢、呼吸障害（浅呼吸）及び痙攣等が認められたが、第2回投与3日後から回復が始まり9日後には症状は認められなかった。

媒体対照群では、行動又は外観に変化は認められなかった。陽性対照群では、乾燥羽、無欲及び羽の逆立が認められたが、不全麻痺による二次的な影響であり、急性毒性症状とは考えられなかった。同群では、投与7日後から運動協調性障害が認められた。

検体投与群の症状発現鳥数

投与量	① 1回目投与：200 mg/kg ② 2回目投与（1回目投与21日後）：120 mg/kg												
	観察日	0	1	3	5	7	9	11	14	21	22	24	29
検査鳥数	20	19	9	8	8	8	8	8	8	8	7	7	7
よろめき歩行	20	6	8	8	8	1	1	0	8	7	7	0	
羽の逆立	20	13	5	6	2	1	0	0	8	7	7	0	
無欲	20	14	8	7	8	2	1	0	5	7	7	0	
呼吸困難	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
浅呼吸	0	1	2	1	0	0	0	0	0	4	0	0	
下痢	14	14	8	8	8	0	0	0	5	7	0	0	
衰弱/側臥位	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
喘鳴	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
反射抑制	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
乾燥羽	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	1	
痙攣	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

体重変化；投与開始前及び投与開始後は週1回測定した。

検体投与群では、1回目及び2回目の投与後に顕著な体重低下が認められたが、観察期間中に投与開始時の体重に回復した。媒体対照群では体重への影響は認められなかった。陽性対照群では、すべての動物に顕著な体重低下が認められた。

体重変化

群	1回目投与後日数							
	-1*	7	14	17	21	28	35	42
媒体対照群	1.55	1.57	1.61	—	1.70	1.67	1.69	1.68
検体投与群	1.51	1.13	1.36	—	1.54	1.27	1.49	1.60
陽性対照群	1.51	1.40	1.23	1.14**	—	—	—	—

表中の数値は平均値 (kg) を示す。

\*: 1回目投与前1日

\*\* : 顕著な神経毒性症状が認められ瀕死状態となったことから、投与後17日に屠殺し、剖検した。

— : 該当なし

神経毒性に関する臨床検査；運動協調性（特に運動失調及び不全麻痺）を評価するため、週2回以上ニワトリの走行状態を観察し、以下の評点に基づいて採点した。

正常	= 0
軽度に異常な歩行	= 1
運動失調、運動協調性の障害	= 2
顕著な運動失調、不全麻痺	= 3
完全麻痺（走行不能）	= 4

観察された症状の採点結果を次表に示す。

検体投与群及び媒体対照群では、遅発性神経毒性を示唆する症状は認められなかった。

陽性対照群では、典型的な遅発性神経毒性症状が認められた。

検体投与群 [① 1回目投与：200 mg/kg ② 2回目投与（1回目投与21日後）：120 mg/kg]												
観察日	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35	38
検査鳥数	0	0	0	8	8	8	0	0	7	7	7	7
評点1	—	—	—	0	0	0	—	—	0	0	0	0
評点2	—	—	—	0	0	0	—	—	0	0	0	0
評点3	—	—	—	0	0	0	—	—	0	0	0	0
評点4	—	—	—	0	0	0	—	—	0	0	0	0

表中の数値は評点を示した動物数を表す。

— : 急性症状の発現あるいは保護剤投与の影響により検査せず。

媒体対照群												
観察日	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35	38
検査鳥数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
評点1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
評点2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
評点3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
評点4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表中の数値は評点を示した動物数を表す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

陽性対照群							
観察日	0	3	7	10	14	17	21
検査鳥数	5	5	5	5	5	5	0**
評点1	0	0	2	3	0	0	—
評点2	0	0	0	2	2	0	—
評点3	0	0	0	0	3	5	—
評点4	0	0	0	0	0	0	—

表中の数値は評点を示した動物数を表す。

—：該当なし

\*\*：顕著な神経毒性症状が認められ瀕死状態となったことから、投与後17日に屠殺し、剖検した。

肉眼的病理検査；検体投与群及び媒体対照群について、途中死亡動物及び観察期間終了後の全生存動物を検査した。陽性対照群の動物は投与17日後に屠殺して、同様に検査した。観察された所見を以下の表に示す。

検体投与群では、途中死亡動物で肺の膨張・水腫状、脾臓の退色、嚔囊の膨張、胃粘膜の潰瘍様病巣、十二指腸粘膜の紅斑及び腎臓のモザイク斑等が認められた。観察期間終了時の生存動物には、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

媒体対照群及び陽性対照群では、肉眼的に明らかな臓器の変化は認められなかった。

#### 剖検所見

臓器	所見	媒体対照群	検体投与群	陽性対照群
途中死亡・切迫屠殺				
検査対象鳥数		0	13	5
所見なし		0	0	4
嚔囊	膨張	0	7	0
肺	拡張	0	11	0
	水腫状	0	13	0
	赤色斑	0	1	0
	潰瘍様病巣（腺胃,筋胃）	0	3	0
心臓	囲心腔の血液が充満したクルミ大の嚔状結節	0	0	1
脾臓	退色	0	13	0
肝臓	退色	0	1	0
	ゲル様膜被覆	0	1	0
	分葉化	0	1	0
	小型化	0	0	1
	浸潤物充満	0	0	1
膵臓	退色	0	1	0
十二指腸	紅斑	0	5	0
消化管	自己融解	0	6	0
腎臓	モザイク斑	0	5	0
最終屠殺				
検査対象鳥数		6	7	—
所見なし		6	7	—

—：該当なし



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査終了後、全生存動物について、以下の神経組織を10%ホルムアルデヒド水溶液で固定し、病理標本を作成してHE染色を施した後検鏡した。

脛骨及び外側膝窩神経への分枝を含む坐骨神経、全脳及び全脊髄  
 検体投与群及び媒体対照群では神経毒性を示唆するような変化は認められなかった。  
 陽性対照群では、全動物の頸部脊髄及び坐骨神経の神経線維の変性が、数例で胸部及び腰部の神経線維の変性が認められた。

病理組織所見

群		媒体対照群	検体投与群	陽性対照群
検査対象鳥数		6	7	5
脳	検査鳥数	6	7	5
	変性	0	0	5
	神経膠症、巣状	1	1	1
脊髄頸部	検査鳥数	5	7	5
	変性	0	0	5
	円形細胞浸潤	1	0	0
	血管周囲白血球集簇	0	0	1
脊髄胸部	検査鳥数	6	7	5
	変性	0	0	3
	神経膠腫	0	0	1
	血管周囲白血球集簇	0	1	0
脊髄腰部	検査鳥数	6	7	5
	変性	0	0	4
	ニッスル虎斑融解	1	0	0
	血管周囲白血球集簇	1	1	0
坐骨神経	検査鳥数	6	7	5
	変性	0	0	5
	血管周囲白血球集簇	0	1	0

以上の結果から、検体は急性遅発性神経毒性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(6) 90 日間反復経口投与毒性

1) ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

供試動物： Wistar 系ラット (Bor:WISW (SPF-Cpb))、実験開始時 6~8 週齢  
平均体重；雄 141 g、雌 127 g、一群雌雄各 20 匹 (うち回復群 10 匹)

投与期間： 4 週間 (1987 年 4 月 7 日~1987 年 5 月 4 日) 及び回復期間 4 週間

投与方法： 検体を 2% (v/v) Cremophor EL 含有脱塩水に懸濁し、0、1、5 及び 25 mg/kg/日の投与  
量で 1 日 1 回強制経口投与した。対照群の動物には、2% (v/v) Cremophor EL 含有脱塩  
水を同様に投与した。投与容量は 10 mg/kg とした。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

いずれの投与群においても投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。実験期  
間を通じて死亡例は認められなかった。

体重変化；投与開始前、投与期間及び回復期間中は週 1 回、全動物の体重を測定した。

投与期間中はいずれの投与群にも、検体投与に関連する変化は認められなかった。

回復期間終了時 (56 日目) において、25 mg/kg 日投与群雄の体重は対照群よりも約 5%  
低く、統計学的 (Mann & Whitney の U 検定) に有意 ( $p \leq 0.05$ ) であった。

[申請者注：

]

摂餌量；投与開始前、投与期間及び回復期間中は週 1 回、投与群毎の摂餌量を測定した。

いずれの投与群においても、摂餌量はほぼ同量で、検体投与に関連する変化は認められ

なかった。

血液学的検査；投与期間終了時及び回復期間終了時に各群雌雄各 5 匹を対象として、心臓穿刺により血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、平均赤血球色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、凝固時間、白血球分画

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液学的検査結果

検査時期	性別	雄			雌		
		投与量 (mg/kg/日)	1	5	25	1	5
投与期間終了時	ヘマトクリット値					↑ 110	
回復期間終了時	赤血球数	↓ 95		↓ 95			
	ヘモグロビン量	↓ 94		↓ 95			
	ヘマトクリット値	↓ 94		↓ 94			
	凝固時間		↑ 111	↑ 110		↑ 108	↑ 111

Mann & Whitney の U 検定    ↑↓ :  $p \leq 0.05$ ,    ↑↓ :  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与期間終了時、5 mg/kg/日投与群雌のヘマトクリット値は有意に高かった。

回復期間終了時、5 mg/kg/日以上投与群雌雄の凝固時間が対照群にくらべて有意に長かった (約 10%)。また、1 及び 25 mg/kg/日投与群雄で赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリット値にわずかな低下 (< 10%) が認められた。

しかしながら、これらはいずれもわずかな変化であり、明確な用量相関性が認められないことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、尿素、グルコース、クレアチニン、ビリルビン、総タンパク、無機リン、塩素、ナトリウム、カリウム、カルシウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液生化学的検査結果

検査時期	性別	雄			雌		
	投与量 (mg/kg/日)	1	5	25	1	5	25
投与期間終了時	AST			↓78			
	クレアチニン		↓84	↓79			
	ALP				↓77		
	尿素				↑126		
	ナトリウム						↓99
回復期間終了時	AST			↓76			
	ALT		↓76				↓66
	ALP					↓65	
	尿素						↓91
	クレアチニン	↓89	↓79		↓88		↓84
	総タンパク			↓93			
	カルシウム		↓97				
	無機リン	↓90					

Mann & Whitney の U 検定    ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↓:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

投与期間終了時、25 mg/kg/日投与群雄で AST 及びクレアチニンの低下が、同群雌でナトリウムの低下が認められ、5 mg/kg/日投与群雄でもクレアチニンの低下が認められた。これらは変化の程度が小さく、1 例のクレアチニンを除く全ての個体値が生理的変動の範囲内にあったことから、これらの変化は毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

回復期間終了時、25 mg/kg/日投与群雄で AST 及び総タンパクが、また同群雌で ALT、尿素及びクレアチニンが低値を示したが、これらの変化は雌雄のいずれか一方で認められた変化であること、変化の程度が小さかったことから、毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

その他に認められた変化は、用量相関性が認められなかったことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。

コリンエステラーゼ (ChE) 活性；眼窩静脈叢から採取した血液試料を用いて、赤血球及び血漿中の ChE 活性を測定した。また、計画屠殺時に採取した脳の ChE 活性を測定した。対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

ChE 活性

投与開始後日数		性別	雄			雌				
			投与量 (mg/kg/日)			1	5	25		
投与期間	7	血漿 ChE			↓54	(79)	↓51	↓30		
	28				↓56	(78)	↓48	↓22		
回復期間	35									
	42									
	56									
投与期間	7		赤血球 ChE			↓83		↓91	↓74	
	28					↓89		↓81	↓73	
回復期間	35					↓85			↓83	
	42			↑116				↓90	↓82	
	56			↑112						
投与期間	7			脳 ChE						
	28						↓80			↓58
回復期間	35									
	42									
	56									

Mann & Whitney の U 検定 ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

25 mg/kg/日投与群雌雄及び 5 mg/kg/日投与群雌で投与 7 及び 28 日後に血漿 ChE 活性及び赤血球 ChE 活性の低下が認められた。さらに、25 mg/kg/日投与群雌雄で投与 28 日後に脳 ChE 活性の低下が認められた。

回復期間中にも統計学的に有意な変化が散見されたが、いずれも対照群値の 20%未満の阻害であり、毒性学的意義はないものと考えられた。また、ChE 阻害は可逆的であると考えられた。

[申請者注:]

]

肝酵素活性；剖検時に臓器片を採取し、以下の酵素活性を測定した。

N-ジメチラーゼ、O-ジメチラーゼ、チトクローム P 450、トリグリセリド  
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

肝酵素活性

検査時期	性別	雄			雌		
	投与量 (mg/kg/日)	1	5	25	1	5	25
投与期間終了時	N-ジメチラーゼ	↑138	↑139				
	O-ジメチラーゼ	↑130					
	P-450			↑118			
	トリグリセリド		↑110				
回復期間終了時	O-ジメチラーゼ	↓74	↓76				

Mann & Whitney の U 検定 ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

25 mg/kg/日投与群雄で投与期間終了時に P-450 の有意な上昇が認められたが、変化の程度が小さく生理的変動の範囲内にあったことから、毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。他に認められた変化は、用量相関性がなく、投与に関連した変化とは考えられなかった。

尿検査；血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

pH、ウロビリノーゲン、血液、タンパク、グルコース、尿沈査

投与及び回復期間を通じて、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

眼科学的検査；回復期間終了時に 25 mg/kg/日投与群の全動物（雌雄各 10 匹）を対象に検査した。

検体投与に関連のある異常所見は認められなかった。

臓器重量；投与期間終了時及び回復期間終了時に各群の全動物（雌雄各 10 匹）を対象として以下の臓器重量を測定した。

脳、心臓、精巣、肝臓、肺、脾臓、副腎、腎臓、卵巣、甲状腺、胸腺

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

臓器重量

検査時期	性別	雄			雌			
	投与量 (mg/kg/日)	1	5	25	1	5	25	
投与期間 終了時	脾臓	重量	↓84				↑117	
		対体重比	↓82	↓81			↑116	↑115
	腎臓	重量				↑111		
		対体重比				↑107	↑105	
	肺	対体重比		↓90				
	回復期間 終了時	体重				↓95		
肝臓		重量			↓92			
		対体重比		↓95				
胸腺		対体重比			↑118			
副腎		対体重比			↑109			

Mann & Whitney の U 検定 ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与期間終了時、5 mg/kg/日及び25 mg/kg/日投与群雌で、脾臓の重量及びあるいは対体重比が有意に上昇した。しかしながら、雄では逆の傾向が認められ、雌雄共対体重比に用量との関連は認められず、病理組織学的検査で脾臓に影響は認められなかったことから、毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

回復期間終了時、25 mg/kg/日投与群雄で、肝の重量が有意に低く、胸腺及び副腎の対体重比が有意に高かったが、この投与群の体重が対照群と比較して有意に低かったことから、この臓器重量の低下は体重低下に起因するものであり、毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

その他の臓器重量あるいは対体重比に統計学的に有意な変化が散見されたが、用量相関性がないことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；投与期間終了時及び回復期間終了時に各群の全動物（雌雄各 10 匹）について剖検を行った。

観察された病変の発現頻度に用量に関連した増加は認められていないことから、検体投与に関連する影響はないと判断された。

病理組織学的検査；投与期間終了時の対照群及び25 mg/kg/日投与群雌雄各 5 匹を対象にして、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、心臓、甲状腺、副腎、肺、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、肝臓、胃、腸管、胸腺、脾臓、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、骨格筋、大腿骨、胸骨  
さらに、投与期間終了時の 1 及び 5 mg/kg/日投与群雌雄各 5 匹並びに回復期間終了時の 25 mg/kg/日投与群雌雄各 5 匹の肝臓についても、病理組織学的検査を実施した。  
主な病理組織学的所見を次表に示す。

病理組織学的検査結果

期間	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/日)		0	1	5	25	0	1	5	25
	臓器	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5*
投与期間 終了時	肝臓	肝細胞脂肪沈着	1	0	0	2	0	1	3	14
	肺	無気肺	1	—	—	0	0	—	—	0
		肺気腫	0	—	—	0	0	—	—	1
	腎臓	細胞浸潤	0	—	—	0	0	—	—	1
	精巣上体	細胞浸潤	1	—	—	0	/	/	/	/
		精子肉芽腫	0	—	—	1	/	/	/	/
リンパ節	洞組織球症	0	—	—	0	1	—	—	0	

Fisher の直接確率検定 [申請者実施]  $\uparrow$ :  $p \leq 0.05$  \* リンパ節は検査動物数 3 —: 検査せず。  
表中の数値は有所見動物数を表したものの。

投与期間終了時、25 mg/kg/日投与群雌雄並びに 5 mg/kg/日投与群雌の 2~4 例で肝細胞

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

の細胞質に軽微から軽度の脂肪沈着が認められたが、回復期間終了時には当該変化を含め、病変は何ら観察されなかった。その他の所見は、対照群を含めて単発性に認められたのみであり、検体投与に関連しないと判断された。

[申請者注:

]

以上の結果から、本剤のマウスに対する 28 日間反復経口投与毒性試験における影響として、25 mg/kg/日投与群雌雄及び 5 mg/kg/日投与群雌で肝細胞に軽微から軽度の脂肪沈着が認められ、25 mg/kg/日投与群雌雄で血漿、赤血球及び脳 ChE 活性の有意な阻害が、5 mg/kg/日投与群雌で血漿及び赤血球 ChE の活性の有意な阻害が認められたことから、本試験における無毒性量は 1 mg/kg/日であると判断された。なお、投与期間中に認められた変化は、全般的に可逆性であった。

[申請者注]



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-16)

試験機関:

報告書作成年: 1974 年

検体の純度:

供試動物: SD 系ラット、平均体重; 雄 約 130 g、雌 約 125 g、一群雌雄各 10 匹

[申請者注: ]

投与期間: 3 ヶ月間

投与方法: 検体を 0、8、40、200、1000 及び 5000 ppm の濃度で飼料に混入し、3 ヶ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 3 日ごとに調製した。

[申請者注: ]

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

5000 ppm 投与群雌雄で立毛及び神経過敏の症状が認められた。5000 ppm 投与群雌雄で投与 21 日に 1 例が死亡し、死亡時に鼻出血及び多量の流涎が認められた。

[申請者注:

]

体重変化; 投与開始後から週 1 回、体重を測定した。

5000 ppm 投与群雌雄で対照群に比較して顕著な体重増加抑制が、1000 ppm 投与群雌雄で体重増加抑制傾向が認められた [申請者注: ]。

摂餌量及び食餌効率; 摂餌量を週 2 回測定し、食餌効率を算出した。

1000 ppm 以上の投与群雌雄で摂餌量及び食餌効率の低下傾向が認められた [申請者注: ]。

検体摂取量; 投与期間中の検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		8	40	200	1000	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.45	2.26	11.42	58.51	303.88
	雌	0.53	2.78	12.82	69.78	352.81

血液学的検査; 実験最終日に心臓穿刺により血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

全血比重、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球分画  
対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

### 血液学的検査値

性別	雄					雌				
	8	40	200	1000	5000	8	40	200	1000	5000
投与量 (ppm)										
全血比重	↑100.2				↓99.5	↑100.2				↓99.8
ヘマトクリット値	(106.9)	(97.5)	(99.4)	(91.8)	(93.0)	↑110.4	(101.0)	(103.3)	(101.5)	(97.0)
ヘモグロビン量	(104.8)	(100.0)	(93.2)	(104.1)	(89.7)	↑107.4	(100.0)	(105.7)	(102.5)	(95.9)
赤血球数						↑107.9				↑107.8
白血球数						↑129.3			↑131.3	↑142.9

↑↓:  $p < 0.05$ 、↑↓:  $p < 0.01$  [申請者注: ]

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

5000 ppm 投与群雌雄で、全血比重に有意な低下が、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の低下傾向が認められた。同群の雌で白血球数の有意な増加、雄で増加傾向が認められた。8 ppm 投与群雌雄では、全血比重、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の増加又は増加傾向が認められた。

[申請者注:

]

血液化学的検査;血液学的検査で使用した血液から血清を分離し、以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、コレステロール、尿素窒素 (BUN)、尿酸、糖、総タンパク、A/G 比、カルシウム (Ca)、無機リン (P)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

### 血液生化学検査値

性別	雄					雌				
	8	40	200	1000	5000	8	40	200	1000	5000
投与量 (ppm)	8	40	200	1000	5000	8	40	200	1000	5000
総タンパク	↑115				↓90					↓89
A/G 比			↓91		↓91					↓72
Ca	↑111			↑109	(96)					↓68
ALT					↓77					↓74
ALP					↓69					(58)

↑↓:  $p < 0.05$ , ↑↑:  $p < 0.01$  [申請者注: ]  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。  
 ( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

5000 ppm 投与群雌雄で総タンパク、A/G 比、Ca (雄は低下傾向)、ALT、ALP (雌は低下傾向) の低下が認められた以外、検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

コリンエステラーゼ (ChE) 活性; 血液学的検査で使用した血液を用い、赤血球、血漿の ChE 活性を測定した。また、動物を解剖後、脳ホモジナイズ液を用いて、脳 ChE 活性も測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

### ChE 活性

性別	雄					雌				
	8	40	200	1000	5000	8	40	200	1000	5000
投与量 (ppm)	8	40	200	1000	5000	8	40	200	1000	5000
血漿 ChE		↓71	↓37	↓28	↓22		↓52	↓16	↓12	↓9
赤血球 ChE		↓54	↓35	↓15	↓14		↓61	↓25	↓11	↓11
脳 ChE			↓82	↓51	↓38			↓93	↓46	↓36

↑↓:  $p < 0.05$ , ↑↑:  $p < 0.01$  [申請者注: ]  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

40 ppm 以上の投与群雌雄で血漿及び赤血球 ChE 活性に顕著な阻害が認められた。脳 ChE 活性は 1000 ppm 以上の投与群雌雄で顕著に阻害され、200 ppm 投与群で中等度に阻害されたが、40 ppm 以下の投与群では影響は認められなかった。

[申請者注:

]

臓器重量; 実験終了後に屠殺した動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、顎下腺、精巣、卵巣  
 対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次頁の表に示す。

臓器重量

性別	雄					雌				
	8	40	200	1000	5000	8	40	200	1000	5000
投与量 (ppm)										
肝臓 (対体重比)					↑130				↑124	↑163
腎臓 (対体重比)									↑112	↑120
脾臓 (対体重比)					↑122					↑117
胸腺 (対体重比)							↑125		↑127	

↑↓:  $p < 0.05$ 、↑↑:  $p < 0.01$  [申請者注: ]

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

検体の影響として、5000 ppm 投与群雌雄で肝臓及び脾臓の対体重比の増加、5000 ppm 投与群雌で腎臓の対体重比の増加、1000 ppm 投与群雌で肝臓、腎臓及び胸腺の対体重比の増加が認められた。

[申請者注:

]

肉眼的病理検査; [申請者注:

]

病理組織学的検査; 以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、顎下腺、甲状腺、精巣、卵巣、胃、直腸、小腸、骨髄

40 ppm 以上の投与群雄で胸腺の髄質出血が全投与群に認められた (40 ppm 投与群: 3 例 (軽度)、200 ppm 投与群: 5 例 (軽度 4 例、高度 1 例)、1000 ppm 投与群: 1 例 (中等度)、5000 ppm 投与群: 2 例 (軽度 1 例、中等度 1 例))。

[申請者注:

]

以上の結果から、本検体のラットに対する飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、5000 ppm 投与群雌雄で立毛、神經過敏の発現、顕著な体重増加抑制、摂餌量・食餌効率の低下傾向、全血比重の低下、総タンパク・A/G 比・カルシウム・ALT・ALP の低下、肝臓・脾臓の対体重比の増加が認められ、同群雌で鼻出血及び多量の流涎を伴う死亡、腎臓の対体重比の増加が認められた。また、1000 ppm 投与群雌雄で体重増加抑制傾向及び摂餌量・食餌効率の低下傾向が、同群雌では肝臓・腎臓の対体重比の増加が認められた。ChE 検査では、40 ppm 以上の投与群雌雄で赤血球 ChE 活性阻害が、1000 ppm 以上の投与群雌雄で脳 ChE 活性阻害が認められたことから、本試

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

験における無毒性量は 8 ppm（雄：0.45 mg/kg/日、雌：0.53 mg/kg/日）であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) ラットを用いた飼料混入投与による 6 ヶ月間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-17)

試験機関：

報告書作成年：1978 年

検体の純度：

供試動物： SD 系ラット、入手時 4 週齢、開始時体重；雄 約 95 g、雌 約 87 g、  
一群雌雄各 30 匹 (途中検査群：雌雄各 10 匹；5000 ppm 雌のみ 20 匹)

投与期間： 6 ヶ月間投与 + 1 ヶ月間回復 (途中検査群のみ)

投与方法： 検体を 0、5、50、500 及び 5000 ppm の濃度で飼料に混入し、6 ヶ月間にわたって随時摂食させた。途中検査群として、各群雌雄各 10 匹 (5000 ppm 雌のみ 20 匹) について、尿検査及びコリンエステラーゼ (ChE) 活性を経時的に測定し、検体投与終了後通常飼料に戻し、さらに 1 ヶ月間回復試験に供した。

[申請者注： ]

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

50 ppm 以上の投与群で投与開始 1 週間目から運動失調、被毛粗剛、便秘、音・接触刺激への過敏性などの症状が認められ、5000 ppm 投与群は全投与期間、500 ppm 投与群は 3~5 ヶ月間、50 ppm 投与群は 2~3 ヶ月間症状が継続した。5 ppm 投与群に検体投与の影響は認められなかった。5000 ppm 投与群雌 1 例に検体投与に起因すると思われる途中死亡が認められた。

検体投与と関連しない、飼育上の操作ミス並びに自然発生腫瘍に起因する死亡が、50 ppm 投与群雌で 3 例、5000 ppm 投与群雌で 1 例認められた。

回復期間中においても、50 ppm 以上の投与群で被毛の粗剛、音・接触刺激への過敏性などの症状が認められたが、5000 ppm 投与群を除き、回復期間の終了までには症状の消失がみられた。

体重変化；投与開始から週 1 回、体重を測定した。

5000 ppm 投与群雌雄で、投与初期から終了時まで体重増加の抑制が認められた (対照群と比較して 10%以上の抑制)。500 ppm 投与群雄で、投与 7~11 週目に一時的に体重増加の抑制が認められたが、12 週以降は対照群と差は認められなかった。その他の投与群では、検体投与に関連する体重変化は認められなかった。

回復期間中では、雄の 5 及び 500 ppm 投与群で体重増加量の軽度な増加がみられた。

しかし、5000 ppm 投与群の雌雄では、回復期間の終了まで対照群と比較して有意な体重増加の抑制が認められた。

体重変化

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		5	50	500	5000	5	50	500	5000
投与期間	投与開始時								
	1 週				↓76				↓78
	2 週				↓77				↓81
	1 カ月				↓82				↓84
	2 カ月				↓86				↓84
	3 カ月				↓88				↓81
	4 カ月				↓86				↓80
	5 カ月				↓85				↓77
	6 カ月				↓85				↓75
回復期間	1 週				↓83				↓75
	2 週				↓84				↓76
	3 週				↓83				↓77
	4 週				↓85				↓82

表中の数値は対照群の値を 100 とした場合の値。

Student T 検定 ↑↓:  $p \leq 0.05$ 、↑↓:  $p \leq 0.01$

摂餌量；摂餌量を週 2 回測定した。統計処理は Student T 検定を実施した。

5000 ppm 投与群雄では投与 1~8 週まで、雌では投与 1~26 週まで、対照群と比較して摂餌量が減少した。その他の投与群では変化はみられなかった。

回復期間終了時には、5000 ppm 投与群の摂餌量は対照群と同等であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		5	50	500	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.24	2.46	24.99	268.24
	雌	0.30	3.02	28.82	296.39

尿検査；途中検査群の全生存例（雄 4~5 匹、雌 3~5 匹；4 週間の回復期間後は雄 8~10 匹、雌 7~11 匹）を用いて、投与開始前、投与開始 1、2 週及び 1、2、3、4、5、6 カ月目並びに回復試験開始 3 日目、1、2、3、4 週目に採取した 18 時間の尿について、以下の項目を検査した。

グルコース、タンパク、潜血、pH、ウロビリノーゲン、ケトン体、尿沈渣  
5000 ppm 投与群雌雄の投与後期のケトン体の出現を除き、検体投与に関連のある変化は認められなかった [申請者注：

]

その他の項目に対照群と比較して変化は認められなかった。

ChE 活性；途中検査群の全生存例（雄 4~5 匹、雌 3~5 匹；4 週間の回復期間後は雄 8~10 匹、雌 7~11 匹）を用いて、投与開始前、投与開始 1、2 週及び 1、2、3、4、5、6 カ

月目及び回復試験開始3日目、1、2、3、4週目に、眼窩静脈叢より採血し、全血 ChE 活性を測定した。また、投与終了時及び回復期間終了時に、脳ホモジネートを用いて脳 ChE 活性を測定した。

対照群と比較して 20%以上の阻害が認められた項目及び統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

全血 ChE 活性

性別		雄				雌			
		5	50	500	5000	5	50	500	5000
投与量 (ppm)		5	50	500	5000	5	50	500	5000
投与前		(102)	(102)	(102)	(96)	(96)	(98)	(99)	(93)
投与期間	1 週		↓74	↓38	↓19		↓76	↓37	↓24
	2 週			34	↓19		74	↓35	↓19
	1 カ月		↓77	↓45	↓30		↓68	↓31	↓20
	2 カ月		↓84	↓46	↓29		66	↓24	↓11
	3 カ月			↓47	↓43		↓67	↓28	↓20
	4 カ月		↓72	↓56	↓35		↓57	↓34	↓17
	5 カ月	↓88	↓77	↓45	↓33		↓62	↓29	↓13
回復期間	6 カ月		↓75	↓50	↓32		↓56	↓28	↓14
	回復 3 日		↓67	↓41	↓27		↓53	↓27	10
	1 週		↓77	↓63	↓47		↓80	↓53	↓18
	2 週			↓71	↓49		(80)	↓67	↓30
	3 週	↓84		↓78	↓67				↓53
	4 週	↓88	↓85	↓81	↓69			↓83	↓57

表中の数値は対照群の値を 100 とした場合の値。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

Dunnett の多重比較検定 (申請者が実施) ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑↓:  $p \leq 0.01$

脳 ChE 活性

投与量 (ppm)	雄				雌			
	5	50	500	5000	5	50	500	5000
投与期間終了時	(102)	(107)	↓61	↓28	(99)	↓93	↓57	↓16
回復期間終了時				↓75			↓76	↓71

表中の数値は対照群の値を 100 とした場合の値。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

Dunnett の多重比較 T 検定 (申請者が実施) ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑↓:  $p \leq 0.01$

全血 ChE 活性は、50 ppm 以上の投与群雌雄で投与 1 週目から低下が認められたが、5000 ppm 投与群を除き 4 週間の回復期間内に回復した [申請者注：

]

脳 ChE 活性は、500 ppm 以上の投与群雌雄で対照群に比較して 20%以上の低下が認められたが、雄の 500 ppm 投与群は 4 週間の回復期間内に回復した。



血液学的検査；投与期間終了時及び回復期間終了時に全生存動物（投与終了時：雄各 20 匹、雌 8～20 匹、回復終了時：雄 8～10 匹、雌 7～11 匹）を対象として後大静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

全血比重、ヘマトクリット値 (Ht)、ヘモグロビン (Hb) 赤血球数、白血球数、血小板数、白血球分画、網状赤血球数、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液学的検査結果（投与期間終了時）

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	5	50	500	5000	5	50	500	5000
Ht				↓ 92			↓ 94	↓ 87	
Hb			↓ 97	↓ 89			↓ 95	↓ 85	
赤血球数			↓ 95	↓ 89		↑ 105		↓ 91	
白血球数			↑ 133	↑ 130				↑ 123	
血小板数			↑ 135	↑ 129					
網状赤血球数			↑ 153	↑ 149			↑ 139	↑ 148	
MCHC				↓ 97		↑ 103	↑ 102	↓ 97	
MCV						↓ 94		↓ 95	
MCH						↓ 97		↓ 93	

Student T 検定 ↑ ↓ :  $p \leq 0.05$ 、↑↓ :  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与期間終了時において、500 ppm 以上の投与群雌雄で Hb の減少、網状赤血球数の増加など、いくつかの検査項目で対照群と比較して有意な差が認められた。50 ppm 投与群雌雄でも対照群と比較して有意な差を示した検査項目が認められたが、これらは用量依存性がなく、生理的変動の範囲内と考えられた。

回復期間終了時の検査では、検体投与に関連する影響は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。なお、投与終了時の 500 ppm 群雄 1 例は採血ミスにより検査できなかった。

総タンパク、アルブミン、カルシウム、無機リン、コレステロール、グルコース、血液尿素窒素 (BUN)、尿酸、アルカリホスファターゼ (ALP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (GOT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT)、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比) 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液生化学的検査結果（投与期間終了時）

性別	雄				雌			
	5	50	500	5000	5	50	500	5000
総タンパク		↓96	↓95	↓92				↓88
アルブミン	↓96			↓89				↓78
カルシウム								↓93
無機リン		↑107	↑114	↑126			↑119	↑142
グルコース								↓75
コレステロール		↓88	↓90					↑130
BUN				↑114			↑109	↑143
ALP		↓86					↑122	↑151
LDH	↓74			↓36				↓58
GPT	↓86	↓77						↓54
A/G 比		↑107	↑109	↓94				↓76

Student T 検定 ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑↓:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

血液生化学的検査結果（回復期間終了時）

性別	雄				雌			
	5	50	500	5000	5	50	500	5000
グルコース								↓73
ALP								↑208

Student T 検定 ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑↓:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与期間終了時において、500 ppm 以上の投与群雌雄で無機リンの増加及び 5000 ppm 投与群雌で総タンパク、アルブミン、A/G 比、グルコース、LDH の低下、コレステロール、BUN 及び ALP の増加、同群雄で LDH の低下など、多くの検査項目で対照群と比較して有意な差が認められ、検体投与の影響と考えられた。他に対照群と比較して有意な差を示した検査項目が散見されたが、これらは用量相関性がない、雌雄の変化に一貫性がないあるいは変化が軽微で生理的変動の範囲内と考えられる等の理由から毒性影響とは考えられなかった。

回復期間終了時の検査では、5000 ppm 投与群雌で認められたグルコース及び ALP の変化を除いて回復した。

臓器重量；投与期間終了時及び回復期間終了時に全生存動物（投与終了時：雄各 20 匹、雌 8～20 匹、回復終了時：雄 8～10 匹、雌 7～11 匹を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、下垂体、甲状腺、顎下腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、  
精巣/卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

臓器重量 (投与期間終了時)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		5	50	500	5000	5	50	500	5000
体重					↓ 87				↓ 78
肝臓	重量				↑ 132				↑ 118
	対体重比		↑ 106	↑ 109	↑ 155				↑ 150
甲状腺	重量				↑ 113				
	対体重比				↑ 132				↑ 142
心臓	重量				↓ 92			↓ 92	↓ 91
	対体重比				↑ 108			↓ 88	↑ 116
肺	重量			↓ 93	↓ 92		↓ 94	↓ 94	↓ 78
	対体重比							↓ 90	
脳	重量								↓ 89
	対体重比				↑ 116				↑ 112
副腎	重量								↓ 87
	対体重比				↑ 117			↓ 91	
脾臓	重量								↓ 89
	対体重比				↑ 110				
腎臓	重量								
	対体重比		↑ 106		↑ 121			↓ 93	↑ 129
精巣	重量	↓ 95							
	対体重比				↑ 111				
下垂体	重量			↓ 91				↓ 86	↓ 79
	対体重比							↓ 83	
顎下腺	重量				↓ 91				↓ 88
	対体重比							↓ 91	

Student T 検定 ↑↓ :  $p \leq 0.05$ 、↑↓ :  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

臓器重量（回復期間終了時）

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		5	50	500	5000	5	50	500	5000
体重					↓ 87				↓ 78
肝臓	重量								
	対体重比								↑ 114
甲状腺	重量								
	対体重比						↑ 120		↑ 126
心臓	重量								↓ 89
	対体重比								↑ 111
肺	重量				↓ 88			↓ 89	
	対体重比							↓ 92	
脳	重量					↓ 96	↓ 94	↓ 96	↓ 85
	対体重比				↑ 116				
副腎	重量								↓ 86
	対体重比								
脾臓	重量			↑ 112	↑ 114				
	対体重比				↑ 134				↑ 119
腎臓	重量						↓ 89		↓ 87
	対体重比								↑ 108
精巣	重量		↓ 71						
	対体重比								↑ 131
下垂体	重量					↓ 88			
	対体重比								
顎下腺	重量				↓ 81			↓ 88	↓ 77
	対体重比								

Student T 検定 ↓:  $p \leq 0.05$ , ↑ ↓:  $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与期間終了時には、5000 ppm 投与群雌雄の肝重量及び対体重比に検体投与に関連すると思われる増加が認められた。このほかに、雌雄各群でいくつかの臓器の重量及び対体重比に統計学的に有意な増減が認められたが、いずれも用量相関性が無いか、病理組織学的検査において検体投与に起因する変化がみられなかったことから、検体の影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査；投与及び回復期間終了時の全生存動物について剖検を行なった。

いずれの投与群でも、検体投与に関連する変化は認められなかった。

病理組織学的検査；投与期間終了時及び回復試験終了時の全生存動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

脳、下垂体、甲状腺、顎下腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、膵臓、腸間膜リンパ節、胃、十二指腸、空腸、腎臓、副腎、膀胱、脾臓、骨格筋、精巣/卵巣、骨髄変化の認められた 500 ppm と 5000 ppm 投与群の肝臓の病理組織学的所見を次表に示す。

検体投与に起因する変化として、500 及び 5000 ppm 投与群雌雄で肝臓に軽度から中度の変化（胆管増生、核の変性、単細胞壊死など）が認められ、用量相関性が認められた。これらの組織変化は、4 週間の休薬期間後には回復傾向が認められた。

病理組織学的検査

検査時期	性別		雄			雌		
	投与量 (ppm)		0	500	5000	0	500	5000
臓器	所見\剖検動物数		10	10	10	10	10	8
投与期間終了時	肝臓	軽度の核多形成・細胞の腫脹及び軽度の脂肪滴	0	↑8	↑4	0	1	2
		軽度の核多形成・軽度の核変性・軽度の脂肪滴・単細胞壊死・細胞の腫脹	0	1	↑4	0	0	↑4
		中度の核多形成・中度の脂肪滴・単細胞壊死・胆管増生・星細胞内の色素沈着・細胞の腫脹及び中度の核変性	0	0	2	0	0	↑2
回復期間終了時	性別		雄			雌		
	投与量 (ppm)		0	500	5000	0	500	5000
	臓器	所見\剖検動物数	10	10	10	10	9	10
	肝臓	軽度の核多形成・細胞の腫脹及び軽度の脂肪滴	0	↑6	2	0	0	3
		軽度の核多形成・軽度の核変性・軽度の脂肪滴・単細胞壊死・細胞の腫脹	0	1	↑8	0	0	2
		中度の核多形成・中度の脂肪滴・単細胞壊死・胆管増生・星細胞内の色素沈着・細胞の腫脹及び中度の核変性	0	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率検定 [申請者実施] ↑↓:  $p < 0.05$

表中の数値は有所見動物数を表したものの。

[申請者注:

]

以上の結果から、本剤のラットに対する 6 ヶ月間飼料混入投与による反復経口投与試験における影響として、50 ppm 以上の投与群で運動失調、被毛粗剛、便秘、音・接触過敏及び全血 ChE 活性阻害が認められた。500 ppm 以上の投与群の雌雄では Ht、Hb、赤血球数等の減少、網状赤血球

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

数、白血球数あるいは血小板数、無機リンの増加及び脳 ChE 活性阻害が認められた。また、500 ppm 投与群の雄では試験期間中に一過性の体重増加抑制が認められた。最高用量の 5000 ppm 投与群雌雄では、体重増加抑制、摂餌量減少、尿中ケトン体出現、肝臓臓器重量及び対体重比の増加が認められた。同群雌では、死亡、血清生化学検査において総タンパク、アルブミン、A/G 比、グルコース、LDH の減少、コレステロール、BUN 及び ALP の増加が認められた。病理組織学的検査では、主に肝に影響が認められ、500 ppm 投与群雄で多核、細胞腫脹、脂肪滴の蓄積が、5000 ppm 投与群雄ではさらに単細胞壊死が認められ、雌では病変程度が強くなるとともに、変性、星細胞内の色素沈着が認められた。以上のことから、肝機能への影響が懸念されたが、1 ヶ月間の休薬により回復する傾向にはあった。

したがって、50 ppm 以上の投与群で一般状態変化や ChE 活性阻害などが認められたことから、無毒性量は 5 ppm (雄 0.24 mg/kg/日、雌 0.30 mg/kg/日) であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

4) マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-18)

試験機関：

報告書作成年：1974 年

検体の純度：

供試動物： ICR 系マウス、平均体重；雄 約 18 g、雌 約 16 g、一群雌雄各 10 匹

投与期間： 3 ヶ月間

投与方法： 検体を 0、1、5、25、125、625 及び 3125 ppm の濃度で飼料に混入し、3 ヶ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 2 回調製した。

[申請者注： ]

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；全ての動物について、一般状態及び生死を毎日観察した。

3125 ppm 投与群雌雄で投与開始 2~3 日後以降に、食欲不振、飲水量の減少、動作緩慢、うずくまり、痙攣、立毛が、雌 1 例で眼球突出が認められ、同群雄で、投与 13~29 日に 5 例が死亡した。625 ppm 投与群雄 3 例が、投与後 3 週間ほど動作が不活発となった。いずれも検体投与の影響と考えられた。

体重変化；投与開始後から毎週 1 回、すべての動物の体重を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

体重変化

性別	雄						雌						
	投与量 (ppm)	1	5	25	125	625	3125	1	5	25	125	625	3125
投与 期間 (週)	1												
	2						↓62						↓62
	3						↓58						↓60
	4						↓62						↓67
	8						↓72						↓80
	12						↓78						↓75
	15						↓78						↓73
1~15 増加量						↓61						↓53	

↑↓： p < 0.05、↑↑↓： p < 0.01 [申請者注： ]。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

3125 ppm 投与群雌雄に体重の低下及び体重増加抑制が認められた。その他の投与群では

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

体重に影響は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を週 2 回測定し、食餌効率を算出した。試験期間を通しての摂餌量及び食餌効率を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	1	5	25	125	625	3125
摂餌量 (g/動物/日)	雄	5.95	6.59	7.13	6.06	5.76	6.56	5.17
	雌	7.26	7.23	7.48	7.77	7.70	8.07	6.28
食餌効率 (%)	雄	4.35	4.18	3.69	4.26	4.11	3.66	3.21
	雌	3.06	3.56	2.77	2.77	2.74	2.76	2.17

3125 ppm 投与群雌雄で摂餌量の減少及び食餌効率の低下（有意差なし）が、625ppm 群雄で食餌効率の低下（有意差なし）が認められた。その他の群では対照群と比較して差は認められなかった。

[申請者注： ]

検体摂取量；投与期間中の検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		1	5	25	125	625	3125
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.20	0.97	4.20	20.96	118.60	601.20
	雌	0.23	1.25	6.55	31.65	163.37	830.58

血液学的検査；実験最終日に心臓穿刺により血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

全血比重、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球分画  
対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

#### 血液学的検査値

性別	雄						雌					
	1	5	25	125	625	3125	1	5	25	125	625	3125
全血比重					(99.8)	(99.8)						↓99
ヘマト クリット値						↓94						↓96
ヘモグロ ビン量		↑118	↑139	↑140	↑137	↑136						↓95
赤血球数					↓90	↓88				↓94	↓93	↓91
白血球数					↑117	↑127						↑128

↑↓： p < 0.05、↑↑↓： p < 0.01 [申請者注： ]。

( ) 内の数値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

3125 ppm 投与群雌雄で全血比重及びヘマトクリット値にわずかな低下あるいは低下傾向が認められた。

その他の検査項目に、対照群と比較して差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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

[申請者注：

]

血液化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、コレステロール、A/G 比  
対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

#### 血液化学的検査値

性別	雄						雌					
	1	5	25	125	625	3125	1	5	25	125	625	3125
AST				↓65	(79)	(81)				↓67	↓71	↓70
ALP				↓70	↓55	↓57				(72)	↓50	(71)
ALT				↓58	↓60							
A/G 比			↑121			↓90				↑119		↑120
コレステ ロール		↑115		↑115	↑113	↑117						

↑↓： p<0.05、↑↑↓： p<0.01 [申請者注： ]

( ) 内の数値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

125 ppm 以上の投与群雌雄で AST 及び ALP の低下の傾向が認められた。

[申請者注：

]

コリンエステラーゼ (ChE) 活性；赤血球、血漿及び脳の ChE 活性を測定した。

対照群と比較して 20%以上の阻害が認められた項目及び統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

#### ChE 活性

性別	雄						雌					
	1	5	25	125	625	3125	1	5	25	125	625	3125
血漿 ChE		↓71	↓27	↓19	↓19	↓16		↓82	↓22	↓12	↓9	↓12
赤血球 ChE		(80)	↓29	↓14	↓14	↓14		↓76	↓36	↓17	↓12	↓12
脳 ChE				↓85	↓55	↓38			↓89	↓80	↓53	↓25

↑↑↓： p<0.01 [申請者注： ]

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

25 ppm 以上の投与群雌雄で血漿及び赤血球 ChE 活性に顕著な阻害が認められ、5 ppm 投与群でも低下の傾向が認められた。脳コリンエステラーゼ活性は、125 ppm 以上の投与群で顕著な阻害が認められた。

[申請者注：

]

臓器重量；投与終了後に屠殺した動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、顎下腺、精巣、卵巣  
 対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

臓器重量

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		1	5	25	125	625	3125	1	5	25	125	625	3125
肝臓	重量			↑113		↑114	↑137						↑136
	対体重比		↑111	↑111	↑112	↑119	↑170				↑111	↑113	↑173
顎下腺	重量				(107)	(100)	↓73				↑121	↑116	↓39
	対体重比				↑112	(104)	↓91				↑123	(114)	↓49
脳	重量							↑107		↑106	↑109	↑110	
	対体重比							↑115			↑113		↑132
心臓	重量		↑132	↑115					↑114				↓81
	対体重比		↑130	↑115				↓86	↑119				
腎臓	重量		↑114				↓83						↓84
	対体重比		↑112										
脾臓	重量				↑117								
	対体重比				↑123		↑124						
精巣	重量							—	—	—	—	—	—
	対体重比						↑111	—	—	—	—	—	—
卵巣	重量	—	—	—	—	—	—	↓80	↓78	↓78			
	対体重比	—	—	—	—	—	—				↓78	↓78	
副腎	重量						↑162						↑125
	対体重比	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

↑↓： p ≤ 0.05, ↑↓↓： p ≤ 0.01 [申請者注： ] —：測定/算出せず。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

3125 ppm の投与群雌雄で肝臓の重量及び対体重比に増加あるいは増加傾向並びに顎下腺の重量及び対体重比に減少が認められた。

その他の臓器の重量及び対重量比あるいは投与量にも統計学的に有意な増減が認めら

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

れたが、変動幅が小さいか、用量相関性がないか、上位の投与量と傾向が異なることから、検体投与の影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査；以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、顎下腺、甲状腺、精巣、卵巣、  
胃、大腸、小腸、骨髄

主な所見として、肺うっ血、肝脂肪沈着、グリソン鞘細胞浸潤、腎盂粘膜下細胞浸潤、副腎髄質泡沫細胞出現等が認められたが、対照群にも認められているか、用量相関性がないかあるいは発生率が低いとの理由で、検体投与に起因する影響とは考えられなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する3ヵ月間飼料混入投与による反復経口投与毒性試験における影響として、5 ppm以上の投与群で認められたChE活性への影響などから、無毒性量は1 ppm（雄：0.20 mg/kg/日、雌：0.23 mg/kg/日）であると判断された。

[申請者注：

]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

5) イヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-19)

試験機関 :

報告書作成年 : 1976 年

検体の純度 :

供試動物 : ビーグル犬、開始時 22~46 週齢、開始時体重 ; 雄 6.6~8.7 kg、雌 6.4~8.3 kg  
一群雌雄各 4 匹

投与期間 : 13 週間 (1975 年 4 月~7 月)

投与方法 : 検体を 0、2、20 及び 200 ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

なお、血漿コリンエステラーゼ (ChE) 活性阻害が 2 ppm を含む全投与群で認められたことから、ChE 活性阻害に関する無影響量を確認するため、2 年間反復経口投与毒性試験 (1976 年春実施 : 資料 No. T-28) の 0.3 ppm 投与群における 90 日間までの結果を引用して考察した。

[申請者注 : ]

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。

200 ppm 投与群の 1 匹でやや痩せが認められ、対照群及び 20 ppm 投与群の各 1 匹に投与開始時に軟便が認められたが、単発あるいは一時的変化で検体投与の影響とは考えられなかった。その他、一般状態に検体投与に関連する変化は認められなかった。すべての動物が投与期間終了時まで生存した。

体重変化 ; 投与開始から投与期間中は週 1 回、全動物の体重を測定した。

対照群と比較して検体投与群に統計学的有意差 (Wilcoxon 検定) の認められた変化はなかった。

検体投与に関連する変化は認められなかった。

摂餌量 ; 全動物の摂餌量を週 1 回測定した。

投与第 1 週に全群の動物に残餌が認められたが、その後、大部分の動物が飼料を完全に摂食した。摂餌量に関して、対照群と検体投与群に統計学的有意差 (Wilcoxon 検定) は認められなかった。又、投与群と対照群との間に、摂餌に要する時間の差はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

投与量 (ppm)		0	0.3*	2	20	200
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0	0.01*	0.07	0.72	7.29
	雌	0	0.01*	0.08	0.74	7.52

各群の一動物当たりの平均検体摂取量と平均体重から申請者が計算した。

\* 2年間反復経口投与毒性試験（資料 No.T-28）から引用（ChE 活性に対する無影響量確認のため）

血液学的検査；投与前、投与 6 週目及び投与終了時にすべての動物を対象として、頸静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、赤血球数、白血球数、網赤血球数、血小板数、白血球分画、赤血球沈降速度、トロンボプラスチン時間

投与終了時に、20 ppm 投与群の雌 1 匹にヘマトクリット値、ヘモグロビン量及び赤血球数の減少、赤血球沈降速度の上昇が認められたが、これらは散発的なものであり、群平均では対照群との間に有意差 (Wilcoxon 検定) が認められていないため、検体投与による影響とは考えられなかった。他のすべての動物で、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；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用いて以下の項目の測定を行った。

グルコース、尿素、コレステロール、クレアチニン、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、総タンパク、ビリルビン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、ブロムスルファレイン (BSP) 検査、フェノールレッド (PSP) 検査

各投与群において対照群との間に有意差 (Wilcoxon 検定) が認められていないため、検体投与に関連のある変化は認められなかった。

ChE 活性；投与前及び投与 1、3、6、9、12 週目にすべての動物を対象として赤血球及び血漿 ChE 活性を測定した。又、投与 13 週目の剖検時に脳 ChE 活性を測定した。

対照群と比較して 20%以上の阻害が認められた項目及び統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。なお、ChE 活性阻害の無影響量を決定するために、イヌを用いた 2 年間反復経口投与毒性試験（資料 No.T-28）で、13 週までに得られた 0.3 ppm 投与群の赤血球及び血漿 ChE 活性の測定値も引用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

### 赤血球 ChE 活性

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0.3*	2	20	200	0.3*	2	20	200
投与前									
1 週									
3 週									
6 週				↓ 63					↓ 79
9 週				↓ 69					↓ 73
12 週			↓ 85	↓ 67					↓ 71

表中の数値は変動の目安として対照群の ChE 活性値を 100 とした場合の割合を申請者が算出した。

\* イヌを用いた 2 年間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-28) からの引用

Step-down 調整した Dunnett 検定 [申請者が実施]     ↑↓:  $p \leq 0.05$ 、↑↑:  $p \leq 0.01$

### 血漿 ChE 活性

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0.3*	2	20	200	0.3*	2	20	200
投与前									
1 週			↓ 62	↓ 48			↓ 61	↓ 40	
3 週		↓ 82	↓ 53	↓ 43		↓ 68	↓ 49	↓ 36	
6 週		↓ 76	↓ 51	↓ 35		↓ 60	↓ 49	↓ 30	
9 週		↓ 69	↓ 49	↓ 37		↓ 62	↓ 51	↓ 33	
12 週		↓ 71	↓ 49	↓ 38		↓ 62	↓ 44	↓ 35	

表中の数値は変動の目安として対照群の ChE 活性値を 100 とした場合の割合を申請者が算出した。

\* イヌを用いた 2 年間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-28) からの引用

Step-down 調整した Dunnett 検定 (申請者が実施)     ↑↓:  $p \leq 0.05$ 、↑↑:  $p \leq 0.01$

赤血球 ChE 活性は、200 ppm 投与群雌雄では、投与 6 週目より約 30%の低下が認められた。 [申請者注 :

]

血漿 ChE 活性は、2 ppm 以上の投与群雌雄で低下が認められ、阻害作用は雌が雄よりも早く認められた。血漿 ChE 活性低下が認められた動物に、関連した一般状態の変化は観察されなかった [申請者注 :

]

。なお、イヌを用いた 2 年間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-28) の 0.3 ppm 投与群では、赤血球及び血漿 ChE 活性の低下は認められなかった。脳 ChE 活性に投与による低下 (阻害) は認められなかった。

尿検査 ; 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

アルブミン、グルコース、潜血、ビリルビン、尿量、pH、比重、沈渣  
検体投与に関連した変化 (有意差検定を実施しなかった) 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

肉眼的病理検査；投与終了時にすべての生存動物について剖検を行った。

検体投与に関連した変化（有意差検定を実施しなかった）は認められなかった。

臓器重量；剖検時にすべての生存動物を対象として以下の臓器の重量を測定し、対体重比を算出した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、甲状腺、副腎、前立腺、脳、下垂体、  
膵臓

200 ppm 投与群において脾重量にわずかな増加（雌雄合算値；重量 127%、対体重比 133%）が認められたが、統計学的（Wilcoxon 検定）に有意ではなく、同群雌 1 例で脾重量の増加が特に大きかったことによるものであった。この動物の脾では肥大が認められ、屠殺に起因するものと考えられた。

その他の臓器にも検体投与に関連した臓器重量の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、以下の組織について病理組織標本を作製し検鏡した。

全ての投与群：心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、下垂体、甲状腺、精巣、精巣  
上体、前立腺、卵巣、子宮

対照群及び 200 ppm 投与群：耳下腺、膵臓、胸腺、食道、胃、腸、リンパ節、胆嚢、  
膀胱、脳、眼、視神経、坐骨神経、大動脈、骨格筋、骨及び骨髄

検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、イヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験では、200ppm 投与群においても検体の身体に及ぼす影響は認められなかった。ChE 活性に対する無影響量は、赤血球のデータから 20 ppm と考えられた。

[申請者注]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(7) 21 日間反復経皮投与毒性

1) ウサギにおける亜急性経皮毒性試験

(資料 No.T-21)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ (HC : NZW 系)、開始時 10~16 週齢  
体重； 雄 2.91~3.33 kg、雌 2.63~3.18 kg、一群雌雄各 5 匹

投与期間： 21 日間 (6 時間/日、週 5 回投与、投与日数は 15 業務日)  
実験期間； 1988 年 2 月 3 日~1988 年 2 月 26 日

投与方法： 検体を Cremophor EL (2%v/v) 含有脱イオン水中に乳化し、ガーゼパッチに含ませて剪毛した背部及び脇腹部に、0、1、2 及び 5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 6 時間、週 5 回の閉塞貼付を 3 週間にわたり反復した (投与日数は 15 業務日)。6 時間の暴露終了後、投与部位を石鹼と水で洗浄した。

溶媒対照群には、投与群と同容量の Cremophor EL (2%v/v) を適用した。

[申請者注： ]

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間を通して死亡はみられなかった。対照群の動物 1 例で粘液便、2 mg/kg 投与群の動物 1 例で流涎の増加、呼吸困難、頻呼吸及び喘鳴が認められたが、用量相関性が認められなかったことから、検体投与によるものとは考えられなかった。その他の動物には症状は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎週測定した。

試験 14 日目のみに、5 mg/kg/日投与群雄で摂餌量の統計学的 (Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定) に有意な増加 ( $\uparrow 108\%$ ,  $P < 0.01$ ) が認められたが、単発性の変化であり、減少ではなかったことから、毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。その他の群では検体投与に関連する影響は認められなかった。

体重変化；投与開始前 (試験 0 日) 及び試験 7、14、22 日に全動物の体重を測定した。

3 週間の投与期間中、検体投与による影響は認められなかった。試験 7 日目の 1 mg/kg/日投与群雌で、対照群と比較して統計学的 (Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定) に有意な増加 ( $\uparrow 106\%$ ,  $P < 0.05$ ) が認められたが、用量相関性が認められなかったことから、検体投与の影響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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

局所皮膚刺激性；投与開始前（試験 0 日）に 1 回、それ以降は週 2 回、各適用から 24 時間後に皮膚の炎症（発赤及び腫脹）の徴候を調べ、発赤は Draize 法で評価した。腫脹については、投与領域の中心部の皮膚厚をノギスで測定して評価した。

発赤；いずれの動物にも発赤は認められなかった。

皮膚厚；対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

#### 皮膚厚

性別	雄			雌		
	1	2	5	1	2	5
投与量 (mg/kg/日)						
0 日						↓ 81
2 日						↓ 81
4 日						↓ 79
7 日						↓ 79
9 日	↓ 78					
12 日	↓ 83		↓ 83			
14 日			↓ 82			

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↓↑ : P<0.05、↑↓ : P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

検体投与群で複数の検査日において対照群と比較して有意に薄かったが、検体の刺激性とは関係のない変化と考えられた。

血液学的検査；投与開始前（-1 日）及び投与期間終了時（21 日目）に、全動物について、耳静脈から採取した血液を用いて以下の項目の測定を行った。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量（Hb）、平均赤血球容積（MCV）、ヘマトクリット値（Ht）、血小板、平均赤血球色素量（MCH）、平均赤血球色素濃度（MCHC）、白血球分画

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

#### 血液学的検査

性別	雄			雌		
	1	2	5	1	2	5
投与量 (mg/kg/日)						
Hb	-1 日					
	21 日				↓ 93	
MCV	-1 日					↓ 97
	21 日					
好塩基球比	-1 日					
	21 日				↓ 64	
単球比	-1 日					
	21 日					↑ 400

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↓↑ : P<0.05、↑↓ : P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

投与期間終了時に、5 mg/kg/日投与群雌に単球比の増加が、1 mg/kg/日投与群雌でヘモグロビン量及び好塩基球比の減少が認められたが、これらはいずれも生理的変動の範囲内であった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液を用いて以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、血漿コリンエステラーゼ、赤血球アセチルコリンエステラーゼ、尿素、グルコース、クレアチニン、総ビリルビン、総タンパク、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロライド

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

#### 血液生化学的検査

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		1	2	5	1	2	5
ALT	-1日						
	21日			↑166 (23.1)			

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↑↓ : P<0.05,    ↑↓ : P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

( ) 内は、平均実測値 (U/L)

投与期間終了時に、5 mg/kg/日投与群雄で ALT の有意な上昇が認められたが、これはバイエル社のウサギの背景データ (雄の ALT : 平均値±2SD、2.1~53 U/L、n = 104) を考慮すると、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

ChE 活性測定；血漿及び血液 ChE 活性は、投与開始前 (-1日)、試験9日目及び投与期間終了時 (21日) に、全動物について、耳静脈から採取した血液を用いて測定した。脳 ChE 活性は、剖検後に測定した。

いずれの投与群及び検査時期においても、対照群と比較して統計学的 (Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定) に有意な変化は認められなかった。

肝ホモジネート；剖検後、肝の試料について、以下の項目の測定を行った。

N-デメチラーゼ、O-デメチラーゼ、チトクローム P-450、トリグリセリド類  
いずれの項目についても検体投与群と対照群の間に有意な差 (Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定) はなく、検体に起因する酵素系の誘導は認められなかった。

肉眼的病理検査；投与終了の2日あるいは3日後に剖検を行った。

検体投与による影響は認められなかった。

対照群を含む全群数例で、腎表面が主に噴火口状に変化し、色の変化も認められた。

又、対照群、2 mg/kg/日投与群及び 5 mg/kg/日投与群のそれぞれ雌 1 例で、骨盤腔の中

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

の直腸の両側と膀胱側の子宮の両側に直径 1.5 cm 程の乾酪性化膿性病巣が認められた。これらの所見は対照群にも観察されており、用量との関係も明らかではなかったことから、自然発生性の変化と考えられた。

臓器重量；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器重量を測定し対体重比を算出した。

脳、甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣及び卵巣  
いずれの臓器についても検体投与群と対照群の間に有意な差（Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定）はなく、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び最高用量（5 mg/kg/日）群の動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し鏡検した。なお、低及び中間用量群の肉眼的異常部位についても同様に鏡検した。

適用部位及び非適用部位の皮膚、甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣及び子宮  
得られた病理組織学的所見を次頁に記す。

多くの動物の腎臓に、慢性間質性腎炎が認められた。数例の動物の肝臓に軽～中程度の胆管周囲炎が認められた。5例の動物に軽度の間質性肺炎が認められた。これらの所見は対照群の動物においても認められたことから、自然発生的な変化であり、検体投与との関連はなかった。

以上の結果及び別途実施された 21 日間反復経皮投与毒性試験（資料 No.T-20）の結果を考慮すると、本試験における最高用量である 5 mg/kg/日が 21 日間反復経皮投与毒性試験における無毒性量（NOAEL）であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

主な病理所見

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/日)		0	1	2	5	0	1	2	5
臓器	剖検動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
肝臓	所見\検査動物数	5	—	—	5	5	—	—	5
	胆管周囲炎	2	—	—	5	1	—	—	3
	円形細胞浸潤巣	2	—	—	3	1	—	—	2
	結節性クッパー細胞増殖	2	—	—	1	1	—	—	1
	再生巣	1	—	—	2	1	—	—	0
適用皮膚	所見\検査動物数	5	—	—	5	5	—	—	5
	円形細胞浸潤巣	0	—	—	0	1	—	—	1
非適用皮膚	所見\検査動物数	5	—	—	5	5	—	—	5
	円形細胞浸潤巣	0	—	—	0	1	—	—	1
心臓	所見\検査動物数	5	—	—	5	5	—	—	5
	心筋炎巣	1	—	—	0	1	—	—	0
	心筋線維症	0	—	—	1	0	—	—	0
	円形細胞浸潤巣	0	—	—	2	0	—	—	1
腎臓	所見\検査動物数	5	4	3	5	5	4	3	5
	慢性間質性腎炎	3	4	1	5	4	4	3	3
	細胞質内寄生虫	1	2	0	2	0	1	0	1
	非化膿性腎盂炎	1	2	0	1	0	0	0	1
甲状腺	所見\検査動物数	5	—	—	5	5	—	—	5
	嚢胞	1	—	—	0	0	—	—	1
	C細胞増殖巣	0	—	—	0	1	—	—	0
副腎	所見\検査動物数	5	—	—	5	5	—	—	5
	円形細胞浸潤巣	0	—	—	1	3	—	—	0
精巣	所見\検査動物数	5	—	—	5	—	—	—	—
	管状精液過少巣	0	—	—	1	—	—	—	—
肺	所見\検査動物数	5	—	—	5	5	—	1	5
	間質性肺炎	2	—	—	2	0	—	0	1
	結節性気管支周囲炎	1	—	—	1	0	—	0	0
	肺胞性肺気腫	1	—	—	0	1	—	1	1
脾臓	所見\検査動物数	5	1	—	5	5	—	1	5
	うっ血増加	1	1	—	1	1	—	0	1
	濾胞過形成	0	0	—	0	1	—	0	0

— : 検査せず

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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ウサギにおける亜急性経皮毒性試験

(資料 No.T-20)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

目的：

検体の純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ (HC : NZW 系)、開始時 10~16 週齢  
体重；雄 2.86~3.30 kg、雌 2.62~3.24 kg、一群雌雄各 5 匹

投与期間： 投与期間；雄 21 日間、雌 22 日間 (6 時間/日、最初の 2 週間は週 5 日投与、3 週目は週 7 日投与)

回復期間；14 日間 (対照群及び 360 mg/kg/日投与群のみ)

実験期間；1989 年 1 月 30 日~1989 年 3 月 8 日

投与方法： 検体を Cremophor EL (2%v/v) 含有脱イオン水中に乳化し、ガーゼパッチに含ませて剪毛した背部及び脇腹部に、0、10、60 及び 360 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 6 時間の閉塞貼付を 21 日間 (雌は 22 日間) 反復した (最初の 2 週間は週 5 日投与、3 週目は週 7 日間投与)。6 時間の暴露終了後、投与部位を石鹼と水で洗浄した。

媒体対照群には、投与群と同容量の Cremophor EL (2%v/v) を適用した。

[申請者注： ]

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間、回復期間を通して死亡及び一般状態の変化 [申請者注：

] はみられなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎週測定した。

いずれの投与群においても対照群と比較し、摂餌量に有意 (Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定) な差はなかった。

体重変化；投与直前 (0 日)、投与開始後 (7 日、14 日)、投与終了時 (22/23 日) 及び回復期間 (28 日及び 37 日) に全動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

体重変化

性別 投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
	10	60	360	10	60	360
0 日		↓ 95	(97)			
7 日		↓ 95	(97)			
14 日		↓ 94	↓ 95			
22/23 日*		↓ 95	↓ 94			
28 日			↓ 94			
37 日						

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↓↓: P<0.05, ↓↑: P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

\*: 雄は 22 日、雌は 23 日。

60 mg/kg/日及び 360 mg/kg/日投与群の雄で、対照群と比較して有意な変化が認められたが、群分け時の無作為化の基準に体重ではなく、投与 5 日前の血漿コリンエステラーゼ (ChE) 活性を使用したために体重にばらつきが生じたものであり、検体投与の影響とは考えられなかった。

[申請者注:

]

皮膚局所刺激性；投与直前 (0 日) 及び各投与の 24 時間後に投与部位の皮膚領域の発赤及び腫脹を観察した。発赤を Draize 法で評価した。腫脹は、投与 0、1、4、8、11、15、18、及び 22 日目に投与領域の中心部の皮膚厚をノギスで測定して評価した。

発赤；360 mg/kg 投与群雌雄で投与 2 日目から発赤が認められ、軽度～中等度の発赤が主に第 1 週目にみられたが、時間の経過とともに程度は軽減した。

皮膚厚；皮膚厚の測定結果を次頁の表に示す。360 mg/kg/日投与群では、投与開始 1 日後 (雄) あるいは 4 日後 (雌) から投与終了時まで、対照群と比較して皮膚厚が有意に増加した。60 mg/kg/日投与群では皮膚厚がわずかではあるが有意に増加したが、雄で発現 7 日後、雌で発現 4 日後には症状が消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

### 皮膚厚

性別	雄			雌		
	10	60	360	10	60	360
投与量 (mg/kg/日)						
0 日						
1 日		↑ 117	↑ 110			
4 日		↑ 127	↑ 137			↑ 140
8 日		↑ 123	↑ 133			↑ 140
11 日			↑ 131		↑ 128	↑ 140
15 日			↑ 136			↑ 128
18 日			↑ 134			↑ 131
22 日			↑ 137			↑ 133

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↓: P<0.05, ↑: P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを示す。

その他の所見として、360 mg/kg/日投与群の雌雄に皮膚剥離、痂皮、浮腫、皮膚肥厚及び膿疱が認められ、60 mg/kg/日投与群でもこれらの所見が散発的に認められた。

血液学的検査； 投与開始 3 日前（-3 日）、投与終了後（22/23 日）及び 2 週間の回復期間の終了時（36 日）に、全動物について、耳静脈から採取した血液を用いて以下の項目の測定を行った。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量（Hb）、平均赤血球容積（MCV）、ヘマトクリット値（Ht）、血小板数、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、白血球分画

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

### 血液学的検査

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		10	60	360	10	60	360
赤血球数	-3日				↓91		
	22/23日*						↓96
Ht	-3日				↓93		
	22/23日*						
Hb	-3日				↓92		↓94
	22/23日*						↓95
MCV	-3日						
	22/23日*				↑103		
MCHC	-3日					↓98	↓97
	22/23日*						
リンパ球	-3日						↑124
	22/23日*						
偽好酸球	-3日						↓69
	22/23日*						

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↑↓ : P<0.05, ↑↑ : P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

\* : 雄は 22 日、雌は 23 日。

投与前に対照群と比較して有意な変化が散見されたが、投与前よりみられた変化あるいは用量相関性のない変化であり、投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査と同時期に採取した血液を用いて以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、血漿 ChE、赤血球アセチルコリンエステラーゼ (AChE)、尿素、グルコース、クレアチニン、総ビリルビン、総タンパク、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロライド

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。



血液生化学的検査

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		10	60	360	10	60	360
ALT	-3日						
	22/23日*						↓66
グルコース	-3日	↓90					
	22/23日*				↓87	↓87	↓87
尿素	-3日				↑118		
	22/23日*				↑115	↑118	
クレアチニン	-3日						
	22/23日*					↑114	
ナトリウム	-3日						↓99
	22/23日*						
カリウム	-3日		↑113				↑110
	22/23日*						
リン	-3日						↑111
	22/23日*						

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↑↓: P<0.05, ↑↓↓: P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

\*: 雄は 22 日、雌は 23 日。

投与終了時に雌で ALT 活性及びグルコースの減少、尿素及びクレアチニンの増加が散見されたが、ALT 活性の減少は毒性学的に重要ではないこと、変化の程度が小さいこと、並びに用量相関性が認められなかったことから検体投与による影響とは考えられなかった。雄では影響は認められなかった。

ChE 活性測定; 投与前 (-3 日)、投与開始 11 日後、21/22 日後、22/23 日後及び 2 週間の回復期間の終了時 (36 日) に、耳静脈から採取した血液を用いて血漿及び血液 ChE 活性を測定した。脳 ChE 活性は、投与終了時及び回復期間終了時の剖検後 (22/23 日後及び 37 日後) に測定した。

対照群と比較して 20%以上の阻害が認められた項目及び統計学的有意差が認められた項目を次頁の表に示す。

### 血漿 ChE 活性

性別	雄			雌		
	10	60	360	10	60	360
投与量 (mg/kg/日)						
-3 日						
11 日		↓ 60	↓ 33		↓ 62	↓ 36
21/22 日*	↓ 74	↓ 54	↓ 32	↓ 82	↓ 56	↓ 40
22/23 日**	↓ 80	↓ 54	↓ 34	↓ 78	↓ 51	↓ 41

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定 ↑↓: P<0.05, ↑↑↓: P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

\*: 雄は 21 日、雌は 22 日 (血液試料は投与開始 5 時間後に採取)。

\*\* : 雄は 22 日、雌は 23 日 (血液試料は投与終了 19 時間後に採取)。

### 赤血球 ChE 活性

性別	雄			雌		
	10	60	360	10	60	360
投与量 (mg/kg/日)						
-3 日	↓ 68	(80)				
11 日	↓ 61	↓ 32	↓ 14		64	↓ 15
21/22 日*	↓ 64	↓ 37	↓ 11	↓ 73	↓ 38	↓ 11
22/23 日**	↓ 53	↓ 23	↓ 15	↓ 65	↓ 31	↓ 10
37 日			↓ 17			↓ 18

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定 ↑↓: P<0.05, ↑↑↓: P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

\*: 雄は 21 日、雌は 22 日 (血液試料は投与開始 5 時間後に採取)。

\*\* : 雄は 22 日、雌は 23 日 (血液試料は投与終了 19 時間後に採取)。

### 脳 ChE 活性

性別	雄			雌		
	10	60	360	10	60	360
投与量 (mg/kg/日)						
22/23 日*				(80)	(75)	↓ 64
37 日						(78)

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定 ↑↓: P<0.05, ↑↑↓: P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示。

\*: 雄は 22 日、雌は 23 日。

10 mg/kg/日以上 の投与群雌雄で血漿及び赤血球 ChE に用量依存性に活性阻害が認められた。また、360 mg/kg/日投与群の雌で脳 ChE に活性阻害が認められた。血漿 ChE 及び脳 ChE 活性は、回復期間後には検体の影響は認められないか、ごく軽度の影響であっ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

た。[申請者注：

]

肝ホモジネート；投与終了時及び回復期間終了時の剖検後（22/23 日後及び 37 日後）に肝試料について、以下の項目の測定を実施した。

N- デメチラーゼ、O- デメチラーゼ、チトクローム P-450、トリグリセリド類投与終了時に、360 mg/kg/日投与群の雄で、O- デメチラーゼ活性に対照群と比較して有意な低下（↓82%、 $P < 0.01$ ）が認められたが、毒性学的に意義があるとは考えられなかった。

[申請者注：

]

肉眼的病理検査；最終投与の翌日（投与開始 22/23 日後）及び回復期間の終了時（投与開始 37 日後）に、全動物を対象として剖検を行った。

幾つかの動物の特に腎臓に変化がみられたが、それは、表面の変化すなわち退色の様な一次クレーターを形成していた。また、360mg/kg 投与群の雄 1 匹、60mg/kg 投与群の 1 匹、回復群の対照群の 1 匹、360mg/kg 投与群の回復群の 1 匹は、皮下脂肪組織、腸間膜脂肪及び頸筋の脂肪がやや黄色に変色していた。しかしながら検体投与による影響は認められなかった。

投与部位の皮膚及び非投与部位の皮膚のいずれにも肉眼的変化はみられなかった。

臓器重量；最終投与の翌日（投与開始 22/23 日後）及び回復期間終了時（投与開始 37 日後）に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣及び卵巣  
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

臓器重量

性別			雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)			10	60	360	10	60	360
脳	37 日	対体重比			↑ 106			
腎臓	22/23 日*	重量						↑ 119
心臓	37 日	重量			↓ 90			
脾臓	22/23 日*	重量						↑ 152
		対体重比						↑ 151
甲状腺	37 日	重量			↓ 70			

Wilcoxon - Mann - Whitney U 検定    ↑↓ : P<0.05, ↑↑ : P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

\* : 雄は 22 日、雌は 23 日。

360 mg/kg/日投与群雌の脾臓重量及び対体重比に有意な増加が認められたが、関連する病理組織学的所見が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。360 mg/kg/日投与群雌の腎臓、360 mg/kg/日投与群雄の心臓及び甲状腺の絶対重量並びに脳の相対重量で認められた変化は、個体別測定値に大きな変動があったことに伴うものであり、検体投与の影響とは考えられなかった。

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、以下の組織について病理標本を作成し鏡検した。

適用部位及びその他の部位の皮膚、甲状腺（上皮小体含む）、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮及び胸骨

得られた病理組織学的所見を次頁以降の表に示す。

投与期間終了時に、検体を投与した皮膚に 10 mg/kg/日以上投与群で表皮肥厚、角化亢進、表皮下炎症細胞浸潤などの変化が用量に相関して認められたが、回復期間終了時にはほぼ回復した。

以上の結果から、本剤のウサギに対する 21 日間反復経皮投与毒性試験における影響として、10 mg/kg/日以上投与群雌雄で血漿及び赤血球 ChE 活性阻害及び病理組織検査における表皮肥厚、角化亢進、表皮下炎症細胞浸潤などの所見、360 mg/kg/日投与群雌雄で皮膚発赤、皮膚厚増加、皮膚剥離、痂皮、浮腫、皮膚肥厚及び膿疱が認められ、60 mg/kg/日投与群でもこれらの所見が散発的に認められた。さらに、360 mg/kg/日投与群雄では体重低下が、同群雌では脳 ChE 活性阻害が認められた。10 mg/kg/日投与群で血漿及び赤血球 ChE 活性阻害及び病理組織検査における皮膚局所刺激性変化が認められたことから、無毒性量 (NOAEL) は求められなかった。 [申請者注：

]

投与期間終了後の病理組織所見

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/体重/日)		0	10	60	360	0	10	60	360
臓器	剖検動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	胆管周囲炎	3	5	5	4	4	5	5	5
	胆管増殖	2	1	1	1	2	2	3	1
	間質性肝炎	1	2	4	3	2	5	5	1
	限局的クッパー細胞増殖	2	2	1	4	5	3	2	3
	限局性壊死	2	2	1	3	1	4	4	4
	再生病巣	2	1	3	1	1	3	3	3
	血管周囲性色素性 マクロファージ	2	0	3	1	1	0	0	0
	肝細胞萎縮	0	0	0	0	1	1	0	0
	擬似メラノーシス	0	0	2	1	0	0	0	0
	腎臓	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5
限局性慢性間質性腎炎		3	4	2	3	1	5	5	5
細胞質内寄生虫		0	1	0	0	1	0	0	0
非化膿性腎盂炎		0	0	1	1	0	0	0	0
腎盂腎炎		0	0	1	1	0	1	1	0
血液含量減少		1	0	0	0	0	0	0	0
心臓	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	限局性円形細胞浸潤	2	1	2	2	1	4	2	3
	限局性心内膜炎	1	0	1	0	0	0	0	1
	限局性心筋線維症	1	0	1	0	0	0	0	1
	限局性心筋炎	0	1	2	2	0	0	2	1
肺	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	気管支肺炎	3	2	3	3	3	5	2	3
	結節性気管支周囲炎	4	2	1	1	1	0	1	2
	血管周囲円形細胞	2	3	2	2	1	3	3	3
	末梢肺気腫	0	0	1	0	0	0	0	0
	限局性肺気腫	0	0	0	0	0	0	1	0
	限局性充血	0	0	0	0	0	0	1	0
精巣	所見\検査動物数	5	5	5	5	—	—	—	—
	限局性精細管内精液過少	1	3	0	1	—	—	—	—
	巨細胞増加	0	0	0	1	—	—	—	—
	精巣未発達	0	1	0	0	—	—	—	—
精巣上体	所見\検査動物数	5	5	5	5	—	—	—	—
	限局性精液過少	0	1	0	0	—	—	—	—
	無精子症	0	1	0	0	—	—	—	—
	転移性副腎	0	1	0	0	—	—	—	—
脾臓	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	濾胞活性化	0	0	1	3	2	1	0	1
	濾胞硝子変性	0	0	0	0	0	0	1	0
	脾髄過形成	0	0	0	1	0	0	0	0

—：検査せず、統計検定未実施。

表中の数値は有所見動物数を表したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

投与期間終了後の病理組織所見（続き）

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/体重/日)		0	10	60	360	0	10	60	360
臓器	剖検動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
甲状腺	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	限局性間質性円形細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	1	0
	上皮小体過形成	0	0	0	0	0	0	1	0
副腎	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	限局性円形細胞浸潤	2	2	1	2	3	4	2	5
適用部 皮膚	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	表皮下炎症細胞浸潤	1	3	4	5	3	1	5	5
	角化亢進	0	0	4	5	0	4	5	5
	表皮肥厚	0	3	4	5	0	5	5	5
	限局性毛嚢炎	0	0	0	1	0	0	0	1
	膿瘍性皮膚炎	1	0	0	1	0	0	0	1
	皮下浮腫	0	0	0	1	0	0	0	3
非適用部 皮膚	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	表皮下炎症細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	0	2
	皮下浮腫	0	0	0	0	0	0	0	1
胸骨	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	細胞数減少	1	1	0	0	0	0	0	0

—：検査せず、統計検定未実施。

表中の数値は有所見動物数を表したものの。

回復期間終了後の病理組織所見

性別		雄		雌	
投与量 (mg/kg/体重/日)		0	360	0	360
臓器	剖検動物数	5	5	5	5
肝臓	所見\検査動物数	5	5	5	5
	胆管周囲炎	3	4	5	4
	胆管増殖	0	1	1	1
	間質性肝炎	1	3	5	3
	限局的クッパー細胞増殖	2	2	4	3
	限局性壊死	1	3	1	3
	再生病巣	2	3	3	2
	血管周囲性色素性マクロファージ	2	1	1	0
	擬似メラノーシス	0	1	0	0
腎臓	所見\検査動物数	5	5	5	5
	限局性慢性間質性腎炎	1	4	4	4
	細胞質内寄生虫	0	1	0	1
	非化膿性腎盂炎	1	1	0	1
心臓	所見\検査動物数	5	5	5	5
	限局性円形細胞浸潤	1	3	1	4
	限局性心内膜炎	0	0	0	1
	限局性心筋線維化	0	0	0	1
	限局性心筋炎	0	0	1	2
肺	所見\検査動物数	5	5	5	5
	気管支肺炎	4	3	4	3
	結節性気管支周囲炎	1	2	3	3
	血管周囲円形細胞	1	1	3	2
精巣	所見\検査動物数	5	5	—	—
	限局性精細管内精液過少	1	2	—	—
	巨細胞増加	0	1	—	—
	精巣未発達	0	1	—	—
精巣上部	所見\検査動物数	5	5	—	—
	限局性精液過少	0	1	—	—
子宮	所見\検査動物数	—	—	5	5
	偽妊娠	—	—	0	1
	異常抑制	—	—	1	0
脾臓	所見\検査動物数	5	5	5	5
	濾胞活性化	2	1	1	0
	うっ血増加	0	1	0	0
甲状腺	所見\検査動物数	5	5	5	5
	限局性間質性円形細胞浸潤	0	1	0	0
	コロイド甲状腺腫	0	0	0	1
	副甲状腺過形成	1	0	0	0
副腎	所見\検査動物数	5	5	5	5
	限局性円形細胞浸潤	2	3	5	3
	副副腎組織	1	0	0	0

—：検査せず、統計検定未実施。

表中の数値は有所見動物数を表したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

回復期間終了後の病理組織所見（続き）

性別		雄		雌	
投与量 (mg/kg/体重/日)		0	360	0	360
臓器	剖検動物数	5	5	5	5
適用部 皮膚	所見\検査動物数	5	5	5	5
	表皮下炎症細胞浸潤	1	0	1	1
	角化亢進	0	0	0	1
	表皮肥厚	0	0	0	1
	角質嚢胞	0	0	0	1
非適用部 皮膚	所見\検査動物数	5	5	5	5
	表皮下炎症細胞浸潤	0	0	1	0
胸骨	所見\検査動物数	5	5	5	5
	細胞数減少	1	0	0	0
	破骨細胞活性化	1	0	0	0

—：検査せず、統計検定未実施。

表中の数値は有所見動物数を表したものの。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(8) 90 日間反復吸入毒性

1) ラットを用いた 4 週間反復吸入毒性試験

(資料 No.T-22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体の純度：

供試動物： Bor：WISW (SPF-Cpb) Wistar 系ラット、開始時約 3 ヶ月齢、平均体重；雄：約 190g、  
雌：約 175g、一群雌雄各 10 匹

投与期間： 4 週間 (6 時間/日、週 5 回暴露、1987 年 11 月 17 日～1987 年 12 月 18 日)

暴露方法： 検体をポリエチレングリコール-エタノール等量混合溶液に溶解し、エアロゾル化し、  
鼻部暴露させた。暴露空気をフロリジルを詰めたガラス管を用いて捕集しアセトニトリ  
ルで溶出後、HPLC で分析して実際濃度を求めた。

なお、対照群として、大気暴露群及び溶媒暴露群の 2 群を設定した。

用量設定根拠；

暴露条件；次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

暴露条件

設定濃度 (mg/m <sup>3</sup> )		0*	8	60	360
実際濃度 (mg/m <sup>3</sup> )		0	0.76	8.85	39.27
粒子径分布 (%)	0.06 ~ 0.12	0.00	0.00	0.00	0.00
( $\mu\text{m}$ )	0.12 ~ 0.25	0.60	0.43	0.85	1.01
	0.25 ~ 0.49	3.87	4.72	8.22	5.05
	0.49 ~ 0.90	14.88	21.03	30.59	15.15
	0.90 ~ 1.85	45.24	37.77	45.04	38.38
	1.85 ~ 3.96	29.17	28.76	11.33	29.80
	3.96 ~ 7.42	5.95	6.87	3.12	10.10
	7.42 ~ 14.8	0.00	0.43	0.85	0.51
	14.8 ~ 30	0.30	0.00	0.00	0.00
空気力学的質量中位径 ( $\mu\text{m}$ )		1.45	1.51	1.18	1.51
呼吸可能な粒子 ( $\leq 5 \mu\text{m}$ ) の割合 (%)		99.1	98.3	99.7	98.5
チャンバー容積	20 L				
チャンバー内通気量	10 L/分				
噴射圧	6.19 kg/cm <sup>2</sup>				
暴露方法、期間	ミスト 6時間/日 5日/週 4週間				

\* 溶媒暴露対照群

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

いずれの投与群においても一般状態の変化は何もみられなかった。又、投与期間を通じて死亡例もなかった。

体重変化及び摂餌量；体重を毎週1回測定した。

検体投与群の体重及び体重増加量には、溶媒対照群との間に有意差（一元配置分散分析、 $p \leq 0.05$ ）がみられなかった。そのため、摂餌量の解析は行わなかった。

血液学的検査；剖検時に各群雌雄10匹を対象として、麻酔下（ジエチルエーテル）で心臓穿刺により血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球数、赤血球数、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、血小板数、白血球分画、網状赤血球

溶媒対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

#### 血液学的検査

性別	雄			雌		
	8	60	360	8	60	360
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )						
MCV			↓ 95			
MCHC			↑ 105			
好中球				↓ 54	↓ 62	↓ 54
リンパ球				↑ 108		↑ 107

Mann & Whitney の U 検定    ↑↓ : p ≤ 0.05, ↑↑ : p ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として溶媒対照群を 100 とした場合の値を表したもの

溶媒対照群と比較して有意な変化が散発的に認められたが、MCV、MCHC 及びリンパ球数では変化量が小さく、好中球数では空気対照と大差がないなど、いずれも毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

コリンエステラーゼ (ChE) 活性 ; 投与 1 週、2 又は 3 週 (雄は 3 週、雌は 2 週) の中間時に、各群雌雄 5 匹を対象として、眼窩静脈叢から血液を採取し、赤血球及び血漿の ChE 活性を測定した。投与 4 週には、各群雌 10 匹及び雄 6 あるいは 10 匹を対象として、血液学的検査で使用した血液を用いて赤血球及び血漿の ChE 活性を測定した。又、剖検時に、脳の ChE 活性を測定した。

溶媒対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

#### 血漿 ChE 活性

性別	雄			雌		
	8	60	360	8	60	360
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )						
1 週			↓ 77	(76)		↓ 36
2/3 週*						↓ 35
4 週					↓ 69	↓ 29

\* 雄は 3 週、雌は 2 週    Mann & Whitney の U 検定    ↑↓ : p ≤ 0.05, ↑↑ : p ≤ 0.01

( ) 内の値は統計学的有意差はないが、参考値として表示

表中の数値は変動の目安として溶媒対照群を 100 とした場合の値を表したもの

#### 赤血球 ChE 活性

性別	雄			雌		
	8	60	360	8	60	360
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )						
1 週			↓ 91		↓ 95	↓ 84
2/3 週*						↓ 89
4 週			↓ 88		↓ 95	↓ 80

\* 雄は 3 週、雌は 2 週    Mann & Whitney の U 検定    ↑↓ : p ≤ 0.05, ↑↑ : p ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として溶媒対照群を 100 とした場合の値を表したもの

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

360 mg/m<sup>3</sup> 投与群の雄、60 mg/m<sup>3</sup> 以上の投与群の雌で、赤血球及び血漿 ChE 活性有意な阻害が認められた。しかし、血漿 ChE 活性阻害は毒性学的に意義が乏しいといわれており、赤血球 ChE 活性でも 20%以上あるいは 20%程度の阻害を示しているのは 360 mg/m<sup>3</sup> 投与群の雌雄のみのため、この用量の反応を検体投与に関連する影響と判断した。脳 ChE 活性には、検体投与群と溶媒対照群との間に有意差 (Mann & Whitney の U 検定) は認められず、また、活性の阻害傾向も認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清/血漿を用い、以下の項目の測定を行った。グルコース測定用の血液は、投与 3 週目に絶食動物の尾静脈から無麻酔下で採取した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (GOT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT)、グルタミン酸脱水素酵素 (GLDH)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、ソルビトール脱水素酵素 (IDH)、ロイシンアリルアミダーゼ (LAP)、アルカリホスファターゼ (ALP)、グルコース、尿素、ビリルビン、クレアチニン、総タンパク、トリグリセリド、コレステロール、トロンボプラスチン時間、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、リン酸塩、クロライド、  
溶媒対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

#### 血液生化学的検査

性別	雄			雌			
	投与量 (mg/m <sup>3</sup> )	8	60	360	8	60	360
クレアチニン			↓ 86	↓ 85			↓ 75
グルコース							↑ 110
マグネシウム							↓ 89
カルシウム							↓ 96
塩素				↑ 101			
尿素							↓ 86
GPT							↓ 82
LDH			↓ 72				
IDH				↑ 156			

Mann & Whitney の U 検定    ↑↓ : p ≤ 0.05、↑↑ : p ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として溶媒対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

360 mg/m<sup>3</sup> 投与群で GPT、尿素、マグネシウム、クレアチニンの軽度な減少が認められたが、尿検査や病理検査等で関連する毒性所見が認められなかったことから、適応性の変化であると考えられた。

肝酵素活性：剖検時に臓器片を採取し、以下の酵素活性を測定した。

チトクローム P-450、N-デメチラーゼ (アミノピリン-N-デメチラーゼ)、O-デメ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

チラーゼ (*p*-ニトロアニソール-*O*-デメチラーゼ)

溶媒対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

肝酵素活性

性別	雄			雌		
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )	8	60	360	8	60	360
<i>N</i> -デメチラーゼ						↓ 75
<i>O</i> -デメチラーゼ			↓ 75			

Mann & Whitney の U 検定    ↑↓ : p ≤ 0.05, ↑↑ : p ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として溶媒対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

360 mg/m<sup>3</sup> 投与群で *O*-デメチラーゼ及び *N*-デメチラーゼの活性低下が認められたが、適応性変化であり、検体投与に関連した変化であるとは考えられなかった。

尿検査； 投与 3 週目に、各群雌雄 10 匹を対象として一夜尿を採集し、以下の項目を検査した。

pH、タンパク、グルコース、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン、ケトン体、沈渣

いずれの項目にも、検体投与群と溶媒対照群との間に有意差 (pH；一元配置分散分析、p ≤ 0.05) あるいは明確な変化は認められなかった。

眼科学的検査； 暴露開始前及び暴露期間終了前に各群雌雄 5 匹ずつを検査した。

斑点状角膜ジストロフィーや網膜変性 (Grainy retina) が多数の動物で観察されたが、検体投与群と溶媒対照群とでその発生率に大差なく、検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

臓器重量； 投与終了時の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、心臓、精巣、肝臓、肺、脾臓、副腎、腎臓、卵巣、甲状腺、胸腺

溶媒対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )		8	60	360	8	60	360
肝	対体重比			↓ 92			
腎 (両側)	対体重比				↓ 97		
肺	対体重比						↑ 105
甲状腺	対体重比		↓ 67				

Mann & Whitney の U 検定    ↑↓ : p ≤ 0.05, ↑↑ : p ≤ 0.01

表中の数値は変動の目安として溶媒対照群を 100 とした場合の値を表したもの

臓器重量に投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。対体重比に若干の変化が認められたが、いずれもごく軽度であるか用量相関性が見られず、検体投与の影響

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

であるとは考えられなかった。

肺機能検査；投与終了直前に、各群雄 5 匹の肺機能を全身流量プレチスモグラフを用いて以下の項目について検査した。

呼吸数、分時拍出量、食道内圧、動的コンプライアンス、準静的コンプライアンス、特異的コンプライアンス、肺抵抗、アセチルコリン投与後の抵抗変化、努力呼気、1 回換気量、深吸気量、深呼気量、肺活量、全肺気量、残気量、機能的残気量、一酸化炭素拡散能

いずれの項目についても検体投与群と溶媒対照群とで有意差（デルタ抵抗及び Cstat 値；一元配置分散分析、 $p \leq 0.05$ ）あるいは値に大差なく、検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時に全動物について剖検を行った。

精巣の萎縮、肺の収縮あるいは唾液腺の水腫が散見されたのみで、投与に関連すると考えられる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にして、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

大動脈、眼及び眼瞼、輸精管、精巣上部、眼窩外涙腺、大脳、小脳、皮膚（鼻口部、乳房部）、ハーダー腺、膀胱、心臓、精巣、下垂体、胃、十二指腸、空腸、結腸、直腸、骨髄（大腿骨及び胸骨）、骨（大腿骨）、凝固腺、鼻咽頭、口腔咽頭、鼻腔及び副鼻腔、喉頭、肝臓、肺（主要な気管支とともに）、縦隔リンパ節、肺関連リンパ節、頸部/下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、乳房、脾臓、大腿四頭筋、上皮小体、副腎、坐骨神経、腎臓（腎盂を含む）、食道、卵巣、膵臓、前立腺、脊髄、精囊、唾液腺、胸骨、気管、涙腺、甲状腺、胸腺、子宮（卵管を含む）、舌、その他肉眼的病変部

認められた主な病理組織学的所見を次頁以降の表に示す。

呼吸器（咽頭鼻腔部、中咽頭、喉頭、気管、肺）、リンパ節を中心に溶媒対照群及び各検体投与群ともほぼ同様の所見が認められ、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果から、プロチオホス原体をラットに 4 週間（6 時間／日、週 5 回）鼻腔吸入暴露した結果、 $360 \text{ mg/m}^3$ （実測濃度  $39.27 \text{ mg/m}^3$ ）投与群雌雄で、赤血球 ChE 活性に顕著な阻害が認められたことから、無毒性量は  $60 \text{ mg/m}^3$ （実測濃度  $8.85 \text{ mg/m}^3$ ）であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

病理組織学的所見

性別		雄					雌				
投与群 (mg/m <sup>3</sup> )		0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360	0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360
大脳	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0
小脳	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10
	充血	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
下垂体	所見\検査動物数	10	8	10	9	9	10	10	10	10	9
	充血	1	1	2	0	0	0	1	0	0	0
	出血	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	小嚢胞	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
眼瞼	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	出血	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	上皮過形成	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ハーダー腺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	5	5	1	↓0	1	2	3	0	3	2
	円形細胞浸潤	1	3	0	1	0	1	1	0	0	2
	ヘモジデリン沈着	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
	出血	1	1	5	3	5	4	5	6	5	6
	増殖	2	2	0	2	0	0	0	2	0	1
涙腺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	円形細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
鼻腔 及び 副鼻腔	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	7	4	8	8	4	6	6	5	6	4
	内腔細胞破片	1	3	2	3	2	2	1	0	1	1
下顎 リンパ節	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	活性化	6	3	5	5	6	6	9	6	2	5
	洞カタル	4	6	4	5	2	3	1	4	7	4
	嚢胞	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
舌	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10
	上皮過形成	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0
喉頭	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	円形細胞浸潤	3	4	3	4	1	0	1	2	1	2
	内腔細胞破片	6	2	2	2	2	1	4	4	2	2
	過形成	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1

a) 大気暴露対照群 b) 溶媒暴露対照群

Fisherの正確検定法〔申請者が実施； ↑↓: p<0.05〕

表中の数値は有所見動物数を表したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

性別		雄					雌				
		0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360	0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360
投与群 (mg/m <sup>3</sup> )		0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360	0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360
咽頭 (喉頭咽頭)	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	上皮過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
甲状腺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体	所見\検査動物数	10	9	7	10	9	10	9	8	8	10
	線維化	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
気管	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	円形細胞浸潤	2	2	0	1	1	0	0	0	1	0
	内腔細胞破片	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0
胸腺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
	嚢胞	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
縦隔 リンパ節	所見\検査動物数	8	9	10	10	10	10	9	9	9	10
	充血	1	4	3	4	1	3	2	1	0	0
	活性化	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	洞カタル	2	3	2	3	3	0	1	1	3	5
	ヘモジデリン沈着	0	0	0	0	0	2	2	1	0	1
心臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	5	3	2	3	2	3	0	0	0	1
肺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	8	8	10	9	7	3	5	7	5	9
	気管支周囲円形細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	血管周囲円形細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	辺縁部肺気腫	2	1	1	2	1	1	0	1	2	1
	マクロファージ増加	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	中隔肥厚	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
	気管支/肺胞の増殖	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	胸膜の限局性線維化	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
主気管支	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	気管支周囲円形細胞浸潤	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
前胃	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	1	3	2	1	0	0	0	0	1	0
肝臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	9	4	7	7	6	5	5	6	8	6
	門脈周囲円形細胞浸潤	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1
	髄外造血	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

a) 大気暴露対照群 b) 溶媒暴露対照群

Fisherの正確検定法〔申請者が実施；p<0.05〕で有意差なし。

表中の数値は有所見動物数を表したものの。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

性別		雄					雌				
投与群 (mg/m <sup>3</sup> )		0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360	0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360
脾臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	活性化	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	ヘモジデリン沈着	0	0	0	0	0	7	10	7	8	10
腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	活性化	1	0	0	1	2	0	1	0	0	0
	洞カタル	9	10	10	9	8	10	9	10	10	10
十二指腸	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	リンパ組織過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
空腸	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	リンパ組織過形成	1	0	0	1	0	3	0	0	0	0
回腸	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	リンパ組織過形成	6	4	4	6	5	10	9	6	7	6
盲腸	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	リンパ組織過形成	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0
結腸	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	リンパ組織過形成	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
直腸	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ組織過形成	4	0	3	0	1	3	4	2	3	3
腎臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10
	石灰化	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	尿細管内蛋白様円柱	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
腎盂	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	拡張	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
膀胱	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	円形細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	結石	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	尿路上皮過形成	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
副腎	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	3	1	2	5	1	3	3	2	5	2
卵巣	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	10	10	10	10	10
	充血	—	—	—	—	—	6	6	7	7	7
	ヘモジデリン沈着	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
	嚢胞	—	—	—	—	—	0	1	0	1	0
子宮	所見\検査動物数	—	—	—	—	—	10	10	10	10	10
	充血	—	—	—	—	—	1	1	2	5	4

a) 大気暴露対照群 b) 溶媒暴露対照群 — : 検査せず。

Fisherの正確検定法〔申請者が実施；p<0.05〕で有意差なし。

表中の数値は有所見動物数を表したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

性 別		雄					雌				
投与群 (mg/m <sup>3</sup> )		0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360	0 <sup>a)</sup>	0 <sup>b)</sup>	8	60	360
精巣	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	—	—	—	—	—
	萎縮	1	1	0	0	1	—	—	—	—	—
精巣上体	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	—	—	—	—	—
	萎縮	1	1	0	0	1	—	—	—	—	—
前立腺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	—	—	—	—	—
	円形細胞浸潤	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—
	結石	0	2	1	0	0	—	—	—	—	—
皮膚	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	皮下円形細胞浸潤	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	痂皮形成	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
鼻口部皮膚	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	充血	6	6	6	7	5	7	5	3	7	7
脊髄	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	頸部脊髄充血	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腰部脊髄充血	1	2	3	0	0	0	0	1	0	0
末梢神経	所見\検査動物数	10	10	9	10	10	10	10	10	10	10
	充血	2	2	1	1	2	4	3	2	4	3

a) 大気暴露対照群 b) 溶媒暴露対照群 — : 検査せず。

Fisherの正確検定法〔申請者が実施； $p < 0.05$ 〕で有意差なし。

表中の数値は有所見動物数を表したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ラットを用いた3週間反復吸入毒性試験

(資料 No.T-23)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体の純度：

供試動物： Wistar II系雌雄ラット、平均体重； 雄 181～185 g、雌 177～179 g、  
一群雌雄各 10 匹 [申請者注： ]

投与期間： 3週間（1日6時間、週5回、計15回）

暴露方法： 検体をエタノール及びポリエチレングリコール 400（1：1）の混液に溶解して、連続吸入装置により 0（溶媒対照）、5、23 及び 142 mg/m<sup>3</sup>の濃度（分析値）のエアロゾルを吸入チェンバー内のラットに1日6時間、週5回、計15回暴露させた。暴露空気を脱脂綿に捕集しアセトンで溶出後、ガスクロマトグラフィーで分析して実際濃度を求めた。なお、対照群として、溶媒暴露群を設定した。  
[申請者注： ]

暴露条件

実際濃度 (mg/m <sup>3</sup> )	0	5	23	142
空気力学的質量中位径 (µm)	—	—	—	—
呼吸可能な粒子の割合 (%)	—	—	—	—
粒子径分布 (%)	1.0 ± 0.5 µm : 94% < 5.0 µm : 6%			
チャンバー容積 (L)	[申請者注： ]			
チャンバー内通気量 (L/分)	[申請者注： ]			
噴射圧 (kg/cm <sup>2</sup> )	[申請者注： ]			
暴露方法、期間	ミスト 6時間/日 5日/週 3週間			

\* 溶媒暴露対照群 — : 測定せず。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び行動を毎日観察した。

142 mg/m<sup>3</sup> 投与群のラットのみ、3週目に一般状態にわずかな影響 [申請者注： ]がみられ、その他の群では一般状態の変化を認めなかった。

体重変化；投与開始から毎週、体重を測定した。

検体投与群の体重及び体重増加量には、溶媒対照群との間に有意差（Wilcoxon 検定、p < 0.05）はみられず、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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

血液学的検査；最終暴露 24 時間後に各群雌雄各 5 匹を対象として、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、血小板数及び白血球分画

いずれの項目においても、溶媒対照群との間に有意差 (Wilcoxon 検定、 $p < 0.05$ ) はみられず、検体投与に関連する影響は認められなかった。

血液化学的検査；最終暴露 24 時間後に各群雌雄各 5 匹を対象として、以下の項目の測定を行った。

血糖、GPT、GOT、アルカリフォスファターゼ、尿素、クレアチニン

142 mg/m<sup>3</sup> 投与群雌ラットのクレアチニンに対照群と比較して統計学的 (Wilcoxon の検定) に有意な低値 (↓84%、 $p < 0.05$ ) を示したが、偶発的な変化と判断された [申請者注：

]。その他の検査項目には、検体投与による影響は認められなかった。

血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ (ChE) 活性；5、10 及び 15 回目の暴露直後に各群雌雄各 5 匹を対象として、血漿及び赤血球 ChE 活性を測定した。又、剖検時に脳 ChE 活性を測定した。

対照群と比較して 20%以上の阻害が認められた項目を次表に示す。

血漿 ChE 活性

性別	雄			雌		
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )	5	23	142	5	23	142
5 回*		64	40		48	30
10 回*		66	59		44	28
15 回*		63	31		39	24

\* 暴露回数

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの統計検定未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

赤血球 ChE 活性

性別	雄			雌		
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )	5	23	142	5	23	142
5 回*		77	—		57	26
10 回*			—		66	30
15 回*		80	53		65	33

\* 暴露回数 — : データなし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの統計検定未実施

脳 ChE 活性

性別	雄			雌		
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )	5	23	142	5	23	142
15 回*			48			62

\* 暴露回数

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの統計検定未実施

23 及び 142 mg/m<sup>3</sup> 投与群雌雄で血漿及び赤血球 ChE 活性が顕著に低下し、142 mg/m<sup>3</sup> の投与群雌雄で脳 ChE 活性が顕著に低下した。 [申請者注 : ]

尿検査 ; 最終暴露 24 時間後に各群雌雄各 5 匹を対象として、以下の項目を検査した。

アルブミン、グルコース、潜血、pH、ビリルビン、ウロビリノーゲン、尿沈渣  
検体投与に関連する影響は認められなかった。

[申請者注 : ]

肉眼的病理検査及び臓器重量 ; 最終暴露後 24 時間に、全てのラットを炭酸ガスで麻酔後、放血  
屠殺して剖検し、以下の臓器重量を測定した。

甲状腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎及び生殖腺  
検体投与に起因する肉眼的病理所見は認められなかった。

[申請者注 : ]

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

#### 臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )		5	23	142	5	23	142
肝臓	絶対重量			↓90			
	相対重量			↓93			
腎臓	絶対重量			↓91			
肺	絶対重量						↓92

Wilcoxon のノンパラメトリック順位検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

142 mg/m<sup>3</sup> 投与群雄の肝臓絶対及び相対重量、腎臓の絶対重量及び同群雌の肺絶対重量で有意な減少が認められた。その他に検体投与に関連する影響は認められなかった。

病理組織学的検査；各群雌雄各 5 匹を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検査した。

肺、甲状腺、心臓、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、食道、精巣、卵巣、脳、喉頭及び気管

主な病理組織学的所見を次表に示す。

#### 病理組織学的所見

性別		雄				雌			
投与量 (mg/m <sup>3</sup> )		0	5	23	142	0	5	23	142
肺	所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	泡沫細胞巣	3	0	1	0	0	1	0	0
	気管支周囲円形細胞浸潤	2	0	1	1	1	1	2	0
	感染後血管周囲肉芽腫	2	2	1	0	1	2	2	0
	気腫	2	2	2	2	4	1	1	2
	感染後胸膜下肉芽腫	1	2	1	0	1	1	1	0
	無気肺	0	0	0	1	1	0	0	0

統計未実施。

表中の数値は有所見動物数を表したもの。

観察された所見は対照群においても同様に発現しており、いずれも検体投与に関連した変化ではないと判断した。

以上の結果から、本剤のラットに対する反復吸入毒性試験における影響として、142 mg/m<sup>3</sup> 投与群で一般状態への軽度の影響、雄の肝臓、腎臓及び雌の肺重量の減少並びに赤血球及び脳 ChE 活性阻害が認められ、23 mg/m<sup>3</sup> 投与群で赤血球 ChE 活性の阻害が認められたことから、本試験の無毒性量は 5 mg/m<sup>3</sup> 濃度であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

1) ラットを用いた飼料混入投与による 13 週間反復経口投与神経毒性試験 (資料 No.T-25)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2005 年

検体の純度 :

供試動物 : ウィスター系ラット、開始時 8 週齢、体重 ; 雄 219~273 g、雌 147~180 g、一群雌雄各 12 匹

投与期間 : 13 週間 (2003 年 8 月 18 日~2003 年 11 月 20 日)

投与方法 : 検体をアセトン及びトウモロコシ油に溶解して、0、5、200 及び 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は、1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠 :

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日 2 回 (週末、祝日は 1 回) 観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検体投与に起因した症状を次表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	5	200	1000	0	5	200	1000
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
尿の着色	0	0	0	1	0	0	0	5
歩行異常	0	0	0	0	0	0	0	4

表中の数値は症状の認められた動物数を示す。

1000 ppm 投与群雌で尿の着色及び歩行異常（後躯屈曲）が認められた。これらの結果は機能観察総合評価（FOB）においても認められた。投与期間を通じて死亡は認められなかった。

体重変化； 投与開始前、開始から週1回すべての動物の体重を測定した。

検体投与群の体重及び体重増加量には、対照群との間に有意差（分散分析、 $p \leq 0.05$ ）はみられず、投与に関連した変化は認められなかった。

摂餌量； すべての動物の摂餌量を週1回測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた変化を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		5	200	1000	5	200	1000
測定時期	投与前						
	投与1~4週目						
	投与5週目						↑109
	投与6週目						↑109
	投与7週目						↑110
	投与8週目						↑109
	投与9~13週目						

分散分析+Dunnnett検定（両側） ↑↓:  $p \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

1000 ppm 投与群雌で、投与5~8週目において対照群と比較して摂餌量が有意に増加（9~10%）した。しかし、体重において対応する変化が認められないこと、摂餌量においては増加よりむしろ低下に毒性学的意義があることより、この変化は投与に関連したものとは考えられなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		5	200	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.37	11.2	59.2
	雌	0.46	13.6	73.4



機能検査；投与開始前、投与後 2、4、8 及び 13 週時に各群雌雄各 12 匹を対象として、以下の項目について検査を行った。

ケージ内観察：姿勢、立毛、不随意運動、歩行異常、発声、その他

ハンドリング時の観察：ケージからの取り出しやすさ、ハンドリング時の反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、鼻汁、汚れ、その他

オープンフィールド観察：立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異様行動、歩行異常、発声、覚醒/興奮、立ち上がり、排便、排尿、その他

反射/生理学的観察：接近反応、接触反応、音響反応、尾刺激反応、瞳孔の大きさ、瞳孔反射、正向反射、握力、体重、体温、着地時開脚幅

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

観察項目	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	5	200	1000	0	5	200	1000
正常立位	測定時期	投与前								
		投与 2 週目								
		投与 4 週目								
		投与 8 週目	(0)			↑25				
		投与 13 週目								
尿の着色 (黄色尿)	測定時期	投与前								
		投与 2 週目								
		投与 4 週目								
		投与 8 週目					(0)			↑25
		投与 13 週目					(0)			↑33
歩行異常 (後軀屈曲)	測定時期	投与前								
		投与 2 週目								
		投与 4 週目								
		投与 8 週目					(0)			↑33
		投与 13 週目					(0)			↑42

Dunnett 検定あるいは対照比較法 (両側) ↑↓:  $p \leq 0.05$

表中の数値は有所見動物の発生率 (%) を示す。

( ) 内の値は参考値として表示。

1000 ppm 投与群の雄において投与 8 週目に正常立位を示した動物数が増加したが、正常数の増加であるため、検体投与に関連する変化ではなかった。

検体投与に起因した症状として、1000 ppm 投与群の雌において尿の着色 (黄色尿) 及び歩行異常 (後軀屈曲) を示す動物数が投与 8 及び 13 週目に有意に増加した。

運動量及び自発運動量；8 方向迷路を用い投与開始前及び 2、4、8、13 週時にすべての動物を対

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

象として、10 分間のインターバルで 60 分間 (= 1セッション) にわたり運動量及び自発運動量を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

#### 運動量

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		5	200	1000	5	200	1000
測定時期	投与前						
	投与 2 週目						
	投与 4 週目						
	投与 8 週目			↓ 75			
	投与 13 週目			↓ 77			

分散分析 (両側) ↑↓: p≤0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

#### 自発運動量

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		5	200	1000	5	200	1000
測定時期	投与前						
	投与 2 週目						↓ 66
	投与 4 週目						
	投与 8 週目						
	投与 13 週目						

分散分析 (両側) ↑↓: p≤0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

検体投与に起因した変化として、1000 ppm 投与群の雄で投与 8 及び 13 週目に有意な運動量の低下が認められ、1000 ppm 投与群の雌で投与 2 週目に有意な自発運動量の低下が認められた。

眼科学的検査；投与開始前及び 12 週目に、すべての動物を対象として検査した。

投与 12 週目に認められた所見を次表に示す。

性 別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	5	200	1000	0	5	200	1000
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
角膜混濁	1	1	0	1	0	1	0	0
網膜変性	0	1	0	0	0	1	0	2

表中の数値は所見の認められた動物数を示す。

対照群を含め少数例 (1~2 例/群) に角膜混濁及び網膜変性が認められたが、用量との

相関がなかったことからいずれも検体投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時の計画屠殺後に、すべての動物を対象として検査した。又、脳は頭蓋骨から切り離して重量を測定し対体重比（相対重量）を計算した。

肉眼所見及び脳重量のいずれにおいても、検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物の内、雌雄各群の初めの6匹を対象として、グルタルアルデヒド及びホルムアルデヒドを用いて灌流固定後、以下の組織について病理標本を作製した。対照群及び1000 ppm 投与群について検鏡した。

脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、馬尾、末梢神経（坐骨、頸骨、腓腹神経）、ガッセル神経節、眼球、視神経、腓腹筋及び全ての肉眼的病変部

海馬の単細胞壊死、末梢神経及び/あるいは脊髄における散在性神経線維の軸索変性、脊髄神経根及び髄膜の単核細胞浸潤及び眼球の網膜変性が散発的に認められたが、いずれも用量相関性がなく、検体投与による影響とは考えられなかった。

コリンエステラーゼ（ChE）活性；投与終了時に各投与群当たり雌雄各5～6匹の非灌流固定用動物を対象として、赤血球、脳及び血漿 ChE 活性を測定した。血液サンプルは眼窩静脈叢から採取した。

対照群と比較して20%以上の阻害が認められた項目及び統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	5	200	1000	5	200	1000
検査動物数	5	6	6	5	5	5
血漿 ChE		↓45.8	↓22.9		↓7.8	↓3.5
赤血球 ChE		↓16.5	↓16.5		↓23.0	↓12.7
脳 ChE		↓83.0	↓37.5		↓66.7	↓16.7

分散分析及び Dunnett 検定 ↑↓:  $p \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

血漿、赤血球及び脳 ChE 活性は、200 及び 1000 ppm 投与群の雌雄で対照群と比較して有意な低下を示し、これらの変化は検体投与に関連したものと考えられた。5 ppm 投与群の雌雄では検体の影響を受けなかった。[ 申請者注：

]

以上の結果より、本剤のラットを用いた飼料混入投与による13週間反復経口投与神経毒性試験において1000 ppm 投与群雌で尿の着色、歩行異常並びに同群雄で運動量及び雌で自発運動量の低下が認められた。さらに、200 ppm 以上の投与群雌雄で赤血球 ChE 及び 200 ppm 以上の投与群の雌で脳 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

活性阻害が認められた。また、1000 ppm 投与群の雄で脳 ChE 活性阻害が認められた。これらのことから、一般毒性の無毒性量は雌雄とも 200 ppm（雄：11.2 mg/kg/日、雌：13.6 mg/kg/日）、神経毒性の無毒性量は雌雄とも 5 ppm（雄：0.37 mg/kg/日、雌：0.46 mg/kg/日）であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(10) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性試験

(資料 No.T-26)

試験省略。