

②-a ピリダリル原体のラットにおける2週間経口毒性試験 (資料 4-2 a)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 非対応]

報告書作成年：1995年

検 体：ピリダリル原体

純 度：

試験動物：SD (Cj:CD(SD)) ラット (1群あたり雄6匹、投与開始時5週齢)

投与期間：2週間

投与開始：1995年3月21日

最終屠殺：1995年4月5日

投与方法：検体を0および7000ppmの濃度で基礎飼料に混入し、自由に摂取させた。検体を混入した飼料は1週間に1回の頻度で調製した。

投与量設定根拠：

試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；全例について毎日午前中に1回、さらに休日を除き、生死確認を実施した。

投与期間中の死亡および投与に関連する臨床所見は認められなかった。

体重変化；投与1、4、8および投与終了日に全例について測定した。また、解剖日に、屠殺動物全例について測定した。全測定日について、体重増加量を算出した。有意差の検定は、Studentのt検定により実施した。

表1 体重成績

投与量 (ppm)		7000
投 与 日	4	↓90
	8	↓87
	15	↓81

表2 体重増加量成績

投与量 (ppm)		7000
投 与 日	4	↓27
	8	↓69
	15	↓60
	総体重 増加量	↓56

(↓, $p \leq 0.05$; ↓↓, $p \leq 0.01$).

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した。

投与期間を通じて、体重および体重増加量の低値がみられた。2週間の総体重増加量は、対照群と比較して 44%の減少であった。

摂餌量；投与 1～3日および 8～10日に全例について体重測定日を含む連続約 48時間の摂餌量をケージごとに測定した。

表3 摂餌量成績

投与量 (ppm)		7000
投 与 日	3	76
	10	70

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した。

2週間の平均摂餌量は、対照群と比較して 27%の減少であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次の通りであった。

表4 平均検体摂取量

投与量 (ppm)	7000
検体摂取量 (mg/kg/day)	603

血液学的検査；投与期間終了後に、全生存例について、約 16 時間絶食させた後、エーテル麻酔下で腹大動脈より血液サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素量濃度(MCHC)、血小板数、白血球数、白血球分類、網赤血球数、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、フィブリノーゲン量
 対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向が認められた項目を次表に示す。

表5 血液学的検査成績

投与量 (ppm)	7000
赤血球数	107▲
血色素量	106▲
ヘマトクリット値	106▲
網赤血球数	79▼
白血球数	137△
リンパ球数	140↑
好酸球数	200△
PT	145▲
APTT	138▲

有意差の検定は、Student の t 検定により実施した。

(△▽ : p<0.05、▲▼ : p<0.01、↑ : 傾向あり)

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

白血球数、リンパ球数および好酸球数の高値または高値傾向がみられ、さらに、赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の高値、網赤血球数の低値がみられた。また、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。

血液生化学的検査 ; 血液学的検査と同様にして採取した血液の一部から血漿を分取し、以下の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比(A/G 比)、血糖、総コレステロール、トリグリセリド、リン脂質、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ、乳酸脱水素酵素、クレアチンホスホキナーゼ、コリンエステラーゼ、総ビリルビン、直接ビリルビン、尿酸窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

対照群に比べ統計学的に有意な差が認められた項目を次表に示す。

表6 血液生化学的検査成績

投与量 (ppm)	7000
総コレステロール	167▲
トリグリセライド	164△
リン脂質	166▲
尿素窒素	127▲
アラニンアミノトランスフェラーゼ	171▲
無機リン	114▲
カリウム	87▽

有意差の検定は、Student の t 検定により実施した。
 (△▽: p<0.05、▲▼: p<0.01、↑: 高値傾向)。
 表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

総コレステロール、リン脂質、トリグリセライド、尿素窒素、アラニンアミノトランスフェラーゼおよび無機リンの高値、カリウムの低値が認められた。

肉眼的病理検査；最終投与翌日に屠殺した全動物について剖検を行った。主な所見の発現頻度を次表に示す。

表7 肉眼的病理検査成績

所見	投与量 (ppm)	
	0	7000
肺； 淡赤色巣	0	1
肝臓； 色調暗化	0	5
小葉像明瞭化	0	1
精囊； 小型化	0	4
前立腺；小型化	0	1

肺で淡赤色巣が 1/6 例に、肝臓で色調の暗化が 5/6 例、小葉像明瞭化が 1/6 例に認められた。また、精囊の小型化が 4/6 例、前立腺の小型化が 1/6 例に認められた。

臓器重量；剖検後、全動物について以下の臓器の重量を測定した。

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、胸腺、副腎、精巣、脳、下垂体

対照群に比べ統計学的に有意な差の認められた項目を次表に示す。

表8 臓器重量

投与量(ppm)		7000
肺	相対重量	127△
肝臓	相対重量	115▲
脳	絶対重量	93▼
	相対重量	118▲
精巣	相対重量	120▲
副腎	相対重量	122△
腎臓	絶対重量	85▽
脾臓	絶対重量	78▽
心臓	絶対重量	87▽
下垂体	絶対重量	80▽

有意差の検定は、Studentのt検定により実施した。

(△▽: p<0.05、▲▼: p<0.01)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

相対重量で、肺、肝臓、脳、精巣および副腎の高値がみられた。絶対重量では、腎臓、脾臓、心臓、脳および下垂体の低値が認められた。

病理組織学的検査；全動物の肺のパラフィン薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・

エオジン染色を施し、光学顕微鏡による検査を実施した。

主な所見の発現頻度を次表に示す。

表9 病理組織学的検査

所見 (程度)	投与量(ppm)	
	0	7000
肺；泡沫細胞/好酸性細胞集簇 (1)	0	3
	(2)	2
	(3)	1
水腫 (1)	0	2
	(2)	1
肥厚 (動脈中膜) (1)	0	3

程度：1=軽微、2=軽度、3=中等度

肺胞内の泡沫細胞あるいは好酸性細胞の集簇が全例に認められた。その程度は、軽微な変化が3/6例、軽度な変化が2/6例、中等度な変化が1/6例であった。また、軽微あるいは軽度な水腫が3/6例にみられた他、動脈中膜の軽微な肥厚が3/6例に認められた。

ピリダリルの亜急性毒性を7000ppmの投与量で検討したところ、投与に起因すると考えられる体重増加抑制、白血球数および脂質系パラメータの高値、肝臓の相対重量高値、色調暗化、肺胞の泡沫あるいは好酸性細胞の集簇、水腫および動脈中膜の肥厚が認められた。

③ピリダリルのイヌを用いた亜急性毒性試験

(資料4-3)

試験機関：パナファーム ラボラトリーズ
報告書作成年：2000年 [GLP 対応]

検体：ピリダリル

純度：

試験動物：ビーグル犬（投与開始時6～7ヵ月齢、体重；雄7.4～9.9kg、雌6.5～8.8kg）
1群あたり雌雄各4頭（死亡により動物数が減少したため、最高用量群には雌雄各1頭を追加した）

投与期間：90日間

投与開始；1998年9月18日（雄）、25日（雌）、10月16日（追加動物）

最終屠殺；1998年12月17日（雄）、24日（雌）、1999年1月14日（追加動物）

投与方法：検体をゼラチンカプセルに充填し、10、100および300mg/kg/dayの用量で1日1回、週7日反復経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

[投与量設定根拠]

試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；1日3回、症状所見および生死の有無を観察した。

1000mg/kg/dayの用量で投与した雄1例および雌1例が投与2および3日に、300mg/kg/day群の雌1例が投与38日にそれぞれ死亡した。また、100mg/kg/day群の雌1例が投与10日に瀕死状態となり、その後回復した。死因は呼吸不全と考えられた。

投与に関連する症状所見として呼吸促進、喘鳴、腹式呼吸、呼吸困難などの呼吸の異常が300mg/kg/day以上の群の雄および100mg/kg/day以上の群の雌で認められた。

詳細な症状観察；投与開始前に1回、投与期間中は週1回の頻度で以下の項目について観察した。

ケージ内観察；姿勢、歩行、振戦、痙攣、常同行動、異常行動、
活動性レベル

検査台観察；取り扱い易さ、筋緊張、振戦、痙攣、筋攣縮、呼吸、流涎、
流涙、瞳孔径、眼球突出、目・鼻の分泌物、皮膚、毛並み、
可視粘膜

途中死亡動物を含めて投与に関連する変化は認められなかった。

体重；投与期間中には週1回の頻度で測定し、さらに投与最終日および剖検日にも測定した。また、これを基に投与開始前からの体重増加量も算出した。

対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別	検査項目	検査時期 (日)	投与量 (mg/kg/day)		
			10	100	300
雄	体重増加量	49			74
		56		79	67
		89		74	53
雌	体重増加量	7			-114▽
		77		82	59
		89		66	51

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (▽: p<0.05)。
表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

途中死亡動物を含めて 300mg/kg/day 群の雌では投与期間を通じて、
300mg/kg/day 群の雄では投与 49 日以降に体重増加量の減少傾向が認められ
た。また、同様の変化は 100mg/kg/day 群の雌雄でも投与 56 (雄) および 77
(雌) 日以降に認められた。

摂餌量；投与期間中には週1回の頻度で測定し、さらに投与開始前日および投与最終日
にも測定した。

途中死亡動物を含めて投与に関連する変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与 13 週に、計画屠殺全動物の両眼について検査を
実施した。

投与に関連する変化は認められなかった。

尿検査；投与開始前、および投与 4、8 ならびに 13 週に新鮮尿および 24 時間蓄尿を採
取し、以下の項目について測定した。

蓄尿サンプル；尿量、色調、尿比重

新鮮尿サンプル；pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、
ウロビリノーゲン、尿沈渣

途中死亡動物を含めて投与に関連する変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前、および投与 4、8 ならびに 13 週に、さらに、300mg/kg/day 群の追加動物を除いて投与 3（雄）および 2（雌）週に橈側皮静脈より血液サンプルを採取し以下の項目を測定した。

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

網状赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間
対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別	検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/day)		
			10	100	300
雄	赤血球数	3			86
		4			90
	ヘモグロビン量	3			85▽
		4			89
	ヘマトクリット値	3			86▽
		4			90

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (▽: p<0.05)。
表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

300mg/kg/day 群の雄では赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少または減少傾向が投与 3 および 4 週に認められた。同様な変化は 300mg/kg/day 群の雌 1 例でも投与 8 および 13 週に認められた。

また、途中死亡動物のうち 1000mg/kg/day の用量で投与した雄 1 例および 300mg/kg/day 群の雌 1 例ではそれぞれ投与 2 および 37 日に、また、投与期間中に瀕死状態となった 100mg/kg/day 群の雌 1 例については投与 10 日に、いずれも瀕死状態時における計画外検査として同様の項目を測定した。

その結果、1000mg/kg/day 投与の雄 1 例、300mg/kg/day 群の雌 1 例および 100mg/kg/day 群の雌 1 例ともに分葉核好中球の増加による白血球数の増加が認められた。また、1000mg/kg/day 投与の雄 1 例および 100mg/kg/day 群の雌

1例ではヘモグロビン量およびヘマトクリット値の増加が、300mg/kg/day 群の雌1例では血小板数の減少が認められた。さらに、100mg/kg/day 群の雌1例では活性化部分トロンボプラスチン時間の延長も認められた。

これらの変化については、投与検体の直接的な影響ではなく全身状態の悪化に起因するものと考えられた。

骨髄検査；第4肋骨の骨髄を採取して有核細胞数を測定するとともに、骨髄塗抹標本作製して細胞分類を実施した。

計画屠殺動物では投与に関連する変化は認められなかった。

また、途中死亡動物のうち1000mg/kg/dayの用量で投与した雄1例および300mg/kg/day 群の雌1例については上記と同様に検査を実施した。

その結果、いずれにおいても多染性および正染性赤芽球比率の増加、ならびにM/E比の減少が認められた。

これらの変化については、投与検体の直接的な影響ではなく全身状態の悪化に起因するものと考えられた。

血液生化学的検査；投与開始前、および投与4、8ならびに13週に、さらに、300mg/kg/day 群の追加動物を除いて投与3（雄）および2（雌）週に橈側皮静脈より血液サンプルを採取し以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、
総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスアミナーゼ(AST)、
アラニンアミノトランスアミナーゼ(ALT)、アルカリ性ホスファターゼ
(ALP)、

γ-グルタミルトランスベプチターゼ(γ-GTP)、総コレステロール、血糖、
尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム、
クロライド

ALPの増加が300mg/kg/day 群の雌1例で投与4、8および13週に、ALTの増加が100mg/kg/day 群の雌1例で投与8および13週に認められた。また、総蛋白の減少が100mg/kg/day 群の雌1例で投与8および13週に、300mg/kg/day 群の雌1例では投与4、8および13週にそれぞれ認められた。

このほかに、次表に示した通り各項目で対照群に比べ統計学的に有意な平均値の差が認められたが、いずれも投与と関連のない変化と考えられた。すなわち、総蛋白、血糖、尿素窒素、無機リンおよびカルシウムの変化はいずれも軽微で、投与開始前に得られたデータの変動範囲内あるいは背景値の範囲内であった。また、γ-GTP、カリウムおよびアルブミンの変化については、いずれも明らか

な用量相関性のない変化あるいは投与開始前に得られたデータの変動範囲内の変化であった。

性別	検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/day)		
			10	100	300
雄	総蛋白	4		96▽ ¹⁾	
	血糖	3		109△ ²⁾	114▲ ³⁾
	無機リン	13			83▽ ⁴⁾
	γ-GTP	3	53▽		
		8	59▽		59▽
	カリウム	3		84▼	
4			88▽		
雌	血糖	4		109△ ⁵⁾	
		8		116▲ ⁶⁾	
	尿素窒素	8			73▽ ⁷⁾
	カルシウム	13		96▽ ⁸⁾	95▼ ⁹⁾
	カリウム	8		92▽	
		13	90▼	87▼	
	アルブミン	4		106△	

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (△▽ : p<0.05、▲▼ : p<0.01)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

- 1) : 5.0 g/dL (群平均値)、4.7~5.9 g/dL (背景値)
 - 2) : 94 mg/dL (群平均値)、84~112 mg/dL (背景値)
 - 3) : 98 mg/dL (群平均値)、84~112 mg/dL (背景値)
 - 4) : 4.8 mg/dL (群平均値)、3.8~6.2 mg/dL (背景値)
 - 5) : 97 mg/dL (群平均値)、79~110 mg/dL (背景値)
 - 6) : 95 mg/dL (群平均値)、79~110 mg/dL (背景値)
 - 7) : 13.7 mg/dL (群平均値)、7.2~19.5 mg/dL (背景値)
 - 8) : 10.8 mg/dL (群平均値)、9.8~11.7 mg/dL (背景値)
 - 9) : 10.6 mg/dL (群平均値)、9.8~11.7 mg/dL (背景値)
- 1)~9)の背景値は平均値±2SDを示す。

また、途中死亡動物のうち 1000mg/kg/day の用量で投与した雄 1 例および 300mg/kg/day 群の雌 1 例ではそれぞれ投与 2 および 37 日に、また、投与期間中に瀕死状態となった 100mg/kg/day 群の雌 1 例については投与 10 日に、いずれも瀕死状態時における計画外検査として同様の項目を測定した。

その結果、1000mg/kg/day 投与の雄 1 例では AST、尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウムおよびカリウムの増加が、300mg/kg/day 群の雌 1 例では ALT および尿素窒素の増加ならびにナトリウムの減少が、100mg/kg/day 群の雌 1 例では ALP の増加およびナトリウムの減少が認められた。

これらの変化については、投与検体の直接的な影響ではなく全身状態の悪化に起因するものと考えられた。

剖 検；最終投与翌日に全生存動物を屠殺し、剖検を行った。

計画屠殺動物では自然発生所見である瞬膜の肥厚、あるいは明らかな用量相関性のない肝臓の葉間の癒着、心膜と大動脈壁の癒着や盲腸の暗赤色化を伴った嵌頓が認められたが、投与に関連した変化は認められなかった。

また、途中死亡動物についても計画屠殺動物と同様に検査を実施し、投与に関連した変化として 1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例および 300mg/kg 群の雌 1 例で肺の暗赤色化および拡張、気管内泡沫液貯留、ならびに食道、大動脈または胸腺周囲組織の浮腫が認められ、1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例では胸腔内液貯留も認められた。

臓器重量；剖検後、計画屠殺全動物について以下の臓器の重量を測定した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓（胆嚢を含む）、肺（気管支を含む）、
卵巣、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、子宮

対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別	投与量 (mg/kg/day)	雄			雌		
		10	100	300	10	100	300
肺	絶対重量		125	133△		135▲	124
	相対重量		134△	144△		142▲	139△
肝臓	絶対重量			107			123▲
	相対重量			118			138
腎臓	相対重量						126△

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った(△:p<0.05、▲:p<0.01)。表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

100 および 300mg/kg/day 群の雌雄で、絶対および相対肺重量の増加または増加傾向が認められた。また、300mg/kg/day 群の雌雄では絶対および相対肝臓重量の増加または増加傾向が、100mg/kg/day 群の雌雄各 1 例では相対肝臓重

量の増加が、300mg/kg/day 群の雌では相対腎臓重量の増加がそれぞれ認められた。

また、途中死亡動物についても計画屠殺動物と同様に検査を実施し、投与に関連した変化として1000mg/kg/day 投与の雌雄各1例および300mg/kg 群の雌1例で絶対および相対肺重量の増加が認められた。

病理組織学的検査；全動物の以下の全臓器について病理組織学的検査を行った。

副腎、大動脈（胸部）、骨髄（大腿骨および胸骨）、
 脳および脳幹（延髄／橋、小脳および大脳）、盲腸、結腸、十二指腸、
 精巣上体、食道、眼球（網膜）、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、
 腎臓、涙腺、喉頭、肝臓、肺および気管支、乳腺（雌のみ）、
 腸間膜リンパ節、鼻甲介骨、視神経、卵巣、膝臓、上皮小体、咽頭、
 下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下、舌下）、坐骨神経、
 骨格筋（大腿二頭筋）、皮膚（下腹部）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾
 臓、胸骨、胃、顎下リンパ節、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、
 子宮、膈および子宮頸管、肉眼的病変部位

検体投与に関連する所見の計画屠殺動物における発現頻度を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	10	100	300	0	10	100	300
投与量 (mg/kg/day)	0	10	100	300	0	10	100	300
検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	3
肺： 動脈壁肥厚	0	0	0	1	0	0	1	1
細動脈壁肥厚	0	0	0	1	0	0	1	1
血管周囲部リンパ球浸潤	0	0	0	1	0	0	1	0
副腎： 束状帯皮質細胞空胞化	0	0	0	4	0	0	3	3
肝臓： 小葉中間帯肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	1	1
小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	2
腎臓： 近位尿細管褐色色素沈着	0	0	0	0	0	0	1	1

肺の変化としては、動脈および細動脈壁の肥厚、血管周囲部でのリンパ球の細胞浸潤が100mg/kg/day 以上の群の雌、300mg/kg/day 以上の群の雄で認められた。さらに1000mg/kg/day 投与時の死亡を含む途中死亡動物では、肺での血管周囲部および肺胞の浮腫、血管周囲部の出血、肺胞におけるマクロファージまたは好中球浸潤、リンパ管の拡張ならびに細動脈壁の壊死も認められた。

副腎では、束状帯の皮質細胞空胞化が 100 および 300mg/kg/day 群の雌および 300mg/kg/day 群の雄で認められた。また、途中死亡動物のうち 300mg/kg/day 群の雌 1 例では束状帯の皮質細胞肥大も認められた。肝臓では、小葉中間帯の肝細胞空胞化が 100 および 300mg/kg/day 群の雌に、小葉中心性の肝細胞肥大が 300mg/kg/day 群の雌に認められた。腎臓では、近位尿細管の褐色色素沈着が 100 および 300mg/kg/day 群の雌に認められた。

また、途中死亡動物についても計画屠殺動物と同様に検査を実施し、投与に関連した所見として次の変化が認められた。すなわち、肺では血管周囲部および肺胞の浮腫（フィブリンを含む）、血管周囲部の出血、肺胞におけるマクロファージまたは好中球浸潤、ならびにリンパ管の拡張が 1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例および 300mg/kg 群の雌 1 例で認められ、さらに動脈壁の肥厚が 1000mg/kg/day および 300mg/kg/day 群の各雌 1 例で、細動脈壁の肥厚および壊死、血管周囲部のリンパ球浸潤が 300mg/kg/day 群の雌 1 例でそれぞれ認められた。副腎では束状帯の皮質細胞の肥大および空胞化が 300mg/kg/day 群の雌 1 例で認められた。胸腔では食道、大動脈または胸腺の結合組織の浮腫が 1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例および 300mg/kg 群の雌 1 例で認められた。

以上のように、ピリダリルの投与により肺に対する影響を示唆する所見が 100mg/kg/day 以上で認められこれらに起因すると考えられる死亡が 1000mg/kg/day を投与した雌雄各 1 例および 300mg/kg/day 群の雌 1 例にみられた。また、副腎、肝臓および腎臓に対する影響、ならびに体重増加抑制や総蛋白の減少が 100mg/kg/day 以上で認められた。このほか、赤血球系パラメータの変動が 300mg/kg/day で認められた。

このように、検体投与の影響は 100mg/kg/day 以上の群で認められたことから、本試験条件下でのビーグル犬における無毒性量（NOAEL）は雌雄ともに 10mg/kg/day であると考えられた。

(4 a) 反復経口投与神経毒性

ピリダリルの反復経口投与神経毒性試験の省略理由

(資料 4 a - 1)

ピリダリルの反復経口投与神経毒性試験について、次のとおり、関連する試験結果から考察した。

1. ラットの90日間反復経口投与毒性試験(資料4-1)

詳細な状態の観察、自発運動量、刺激に対する感覚運動反応、握力に対する影響、各種脳・神経の病理組織学的検査、脳重量測定、眼科学的観察が行なわれたが、本剤が関連したと思われる所見はない。

2. その他の試験(90日より長期の試験)

下記の長期の試験において、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本剤が関連したと思われる特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

- (1) 亜急性毒性試験(イヌ; 2000年、資料4-3)
- (2) 慢性毒性試験(イヌ; 2001年、資料5-3)
- (3) 慢性・発癌性試験*(ラット; 2002年、資料5-1)
- (4) 発癌性試験(マウス; 2002年、資料5-2)
- (5) 繁殖性試験(ラット; 2002年、資料6-1)

*: 詳細な症状観察が週1回の頻度で実施され、自発運動量を含む神経機能検査が投与1年時(49週時)に実施された。詳細な症状観察において、1000ppm群の雌で立ち上がりのスコア(頻度)が有意に増加した。また、投与1年時の神経機能検査において、1000ppm群の雌雄において自発運動量の増加が認められた。しかしながら、他の神経毒性検査項目もにおいて何ら影響はなく、また、病理組織学的検査においても異常は認められず、影響とは考えられなかった。

3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関

既知神経毒性物質との化学構造に相関はないものと考えられる。

4. 考察・結論

ラット及びイヌの90日間反復経口投与毒性試験において特異的な神経症状を示唆する毒性症状および神経毒性に関わる病理組織学的異常所見は認められていない。

90日より長期の試験においても、致死用量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。なお、ラット慢性・発癌性毒性試験において、立ち上がり行動の頻度増加および投与1年時での自発運動量増加が認められた。しかしながら、同時期に実施された他の神経項目(ホームケージ内の観察、ハンドリングにおける扱い易さ、オープンフィールドにおける自発運動等)に影響は認められず、より高用量で実施された13週間反復経口投与毒性試験における詳細な症状観察および自発運動量測定においても影響を認めず、イヌを用いた13週間強制経口投与毒性試験および12ヶ月強制経口投与毒性試験における詳細な症状観察においても影響を認めなかった。さらに、ラット慢性毒性試験を含め、いずれの試験においても脳の重量測定、脳・末梢神経の病理組織学的検査において、ピリダリル投与の影響は認めておらず、特異的な神経毒性を有するとは言い難いと考えられた。

また、本剤の化学構造も既知神経毒性物質と相関はない。従って、本剤には特異的な神経毒性作用はないものと判断される。

以上のことから、ピリダリルの反復経口投与神経毒性試験実施の必要性はないものと考えられ、省略した。

(5) 1年間反復経口投与毒性及び発癌性

①ピリダリルのラットにおける慢性毒性・発癌性併合試験

(資料 5-1)

試験機関：残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2002年

検体： ピリダリル原体

検体純度：

試験動物： SD (Crj:CD(SD)) ラット，主群 1 群雌雄各 50 匹，衛星群 1 群雌雄各 20 匹，投与開始時雌雄 5 週齢

投与開始時体重範囲 (主群雄 155~181 g, 雌 128~159 g; 衛星群雄 162~186 g, 雌 127~154 g)

14, 26 及び 52 週間投与終了後に衛星群から, 78 及び 104 週後に主群から選択した雌雄各 10 匹について採血した。動物は一晩絶食し, 14, 26 及び 78 週間投与終了後には眼窩静脈叢から, 52 及び 104 週間投与終了後には腹腔大静脈から採血した。これらの血液試料を用いて血液学及び血液生化学的検査を実施した。さらに, 投与 14 ないし 15, 25, 51, 77 及び 103 週時に各群雌雄各 10 匹について強制排尿ないし自然排尿及び代謝ケージを用いて採尿した尿について尿検査を実施した。神経機能検査を投与 49 週時に衛星群の各群雌雄 10 匹について実施した。眼検査を投与開始前に全動物について, また, 投与 52 週時に衛星群の, 投与終了前の投与 104 週時に主群のうち対照群と 1000 ppm 群の全生存動物について行った。52 及び 104 週間投与終了後に各群雌雄 10 匹について臓器重量を測定した。途中死亡・切迫屠殺動物を含めた全動物について剖検及び病理組織学的検査を実施した。ただし, 衛星群の途中死亡・切迫屠殺動物については, 剖検・病理組織学的検査を実施し個別成績を記録したが, 統計学的解析の集計から除外した。

投与期間： 24 カ月間 (1999年6月7日~2001年6月14日)

投与方法： 検体を 0, 30, 100, 500 及び 1000 ppm の濃度で飼料に混入し, 24 カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 から 3 週に一度調製した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

死亡率； 投与期間中毎日生死を観察した。
 検体投与に関連する死亡率の増加は認められなかった。
 表 1 に各群雌雄の死亡動物数を示す。

表 1. 死亡動物数 (主群)

用量群 (ppm)	雄					雌				
	0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡動物数	22	21	20	13	25	33	31	23	29	22

生命表解析で有意差を検定した。

臨床症状； 一般状態を毎日観察し、週 1 回、触診を含む詳細な臨床症状を観察した。
 表 2 に統計学的有意差の認められた所見を示す。

表 2. 臨床症状 (主群)

所見	性別 用量(ppm) 検査動物数	雄					雌				
		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
行動: 自発行動の低下	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
呼吸: 呼吸緩徐	17	11	12	↓8	12	25 ^a	26	↓15	24	↓14	
皮膚: 赤色物付着	14	14	10	↓3	7	21	20	↓11	15	↓7	
肥厚						0	1	1	2	↑6	
脱毛	14	12	15	↓5	14						
被毛の汚れ						22	20	16	16	↓11	
眼球: 退色						8	9	9	7	↓2	
後肢趾部: 胼胝	26	28	34	22	↓16						

a: 所見を呈した動物数

統計学的有意差： ↑ $P < 0.05$, ↓ $P < 0.01$ (Fisher の直接確率計算法 (片側検定))

1000 ppm 群の雌において皮膚の肥厚の発生頻度が有意に増加したが、この肥厚は耳介のみに見られたものである。病理組織学的検査において、対応所見として軟骨過形成が

観察された。軟骨過形成は、軟骨炎に特徴的な所見であり、SD系を含めたラットで自然発生的に発生するものである。軟骨炎は自己免疫によって起こるとされているが、本試験においては免疫組織における異常は血液、血液生化学ならびに病理学的検査で認められなかったため、この変化は偶発性のものと判断した。

その他の臨床症状における発生頻度の変動は、対照群で認められた所見が、その発現頻度が有意に減少して認められたものであり、毒性学的意義のない変化であった。

詳細な症状観察：投与期間中週1回、詳細な症状観察を実施した。以下の項目についてスコアリングを用いて動物を観察した。

ホームケージ内：興奮、沈静、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）

ハンドリング：取り扱い難さ、筋緊張の変化（亢進、低下）、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化（散瞳、縮瞳）、流涎、流涙、分泌物（鼻孔、耳孔、膣などからの分泌物）、眼球突出、体温の変化（上昇、下降）、呼吸異常音、被毛の変化（外陰部湿潤）、皮膚及び可視粘膜の変化（充血）

オープンフィールド：跳躍、旋回、痙攣、歩行異常（運動失調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など）、自発運動（亢進、低下）、毛づくろい動作（頻度）、立ち上がり（頻度）、呼吸（促迫、緩和）、発声、立毛、排尿（回数）、排便（回数）、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）

表3に統計学的有意差の認められた項目及び発生週を示す。

表 3. 詳細な症状観察
主群

性別・用量 (ppm)	症状・変化	雄				雌			
		30	100	500	1000	30	100	500	1000
自発運動	増加					93 ^a	93	93	93
毛づくろい	増加		23,24			23	11		18,68
	減少					97	97	97	
立ち上がり	増加		18,80	5,10, 16,18, 26		4,7,9, 23,53	9,21	24	2,7-9, 25,32, 33,40, 48,51, 53,56, 59,61, 74
	減少					60			
排尿	増加	99	15,20	11,12	32,48	21,51	5	1	12,47, 53
	減少	5,7,8, 13,30, 39,75	5,8, 10,14, 21,30, 46,75	3,8, 22,41	8,10, 75	35,42, 69	23,34, 35,42, 54,64, 69	23,34, 35,42, 54	42,64
排糞	増加		16		37				
	減少	47		47	47				

a: 変化が認められた投与週

衛星群

性別・用量 (ppm)	症状・変化	雄				雌			
		30	100	500	1000	30	100	500	1000
立ち上がり	増加					9		9	9
	減少		8					25	
排尿	増加						18		
	減少	5,13	5						

a: 変化が認められた投与週 (Kruskal-Wallis の検定および Dunnet 型の順位和検定法)

1000 ppm 群の雌において立ち上がりのスコア (頻度) の有意な増加が観察され、検体投与の影響と考えた。 **

全群で認められた雌における自発運動の増加は、対照群の動物に極端に自発運動の少ない動物がいたことによる偶発的な変化であった。500 ppm 群の雄及び 30 ppm 群の雌における立ち上がりの増加ならびに 500 群及び 100 ppm 群の雌雄と 30 ppm 群の雌における排尿の減少は、その所見が発生した週の数に用量との関連がないことから偶発的な変化と判断した。

その他スコアが有意に増減した所見は投与期間中 3 回以下のみに認められた偶発的な変化であった。

神経機能検査：投与 49 週時に衛星群から選択した各群雌雄 10 匹について、神経機能検査を実施した。

以下の項目について検査を行った。

自発運動量、握力（前肢及び後肢）、感覚運動反応（接近反応、聴覚反応、接触反応、痛覚反応、空中正向反射）

神経機能検査において統計学的有意差の認められた項目を表 4 に示す。

表 4. 神経機能検査成績

性別・用量 (ppm) 検査項目	雄				雌			
	30	100	500	1000	30	100	500	1000
自発運動量								
0-10 分	95	111	108	↑120	111	103	117	↑124
10-20 分	112	111	113	133	110	115	127	↑129
20-30 分	120	111	112	144	115	101	138	↑141
合計(1 時間)	110	101	110	124	117	107	130	↑138

統計学的有意差：↑P<0.05, ↑P<0.01 (Dunnett の多重比較法)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

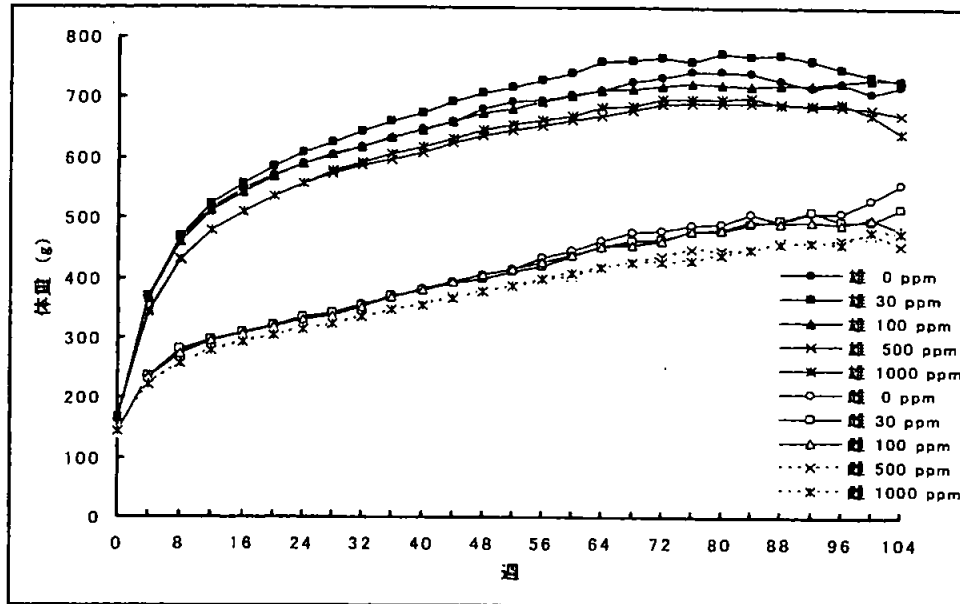
1000 ppm 群の雄において 10 分までの、雌において 30 分まで、および 1 時間の総自発運動量が有意に増加し、検体の影響と判断した。*

その他の投与群では、神経機能検査に異常はなかった。

体重変化： 全動物について、投与開始から 13 週までは毎週 1 回、16 週及びそれ以降は 4 週に 1 回の頻度で、さらに剖検前に体重を測定した。体重変化を図 1 に示す。

* 申請者註： 上記のように 1000ppm の雌でレアリングの発現頻度の増加、雌雄で自発運動量の増加が認められた。レアリングにおいては対照群でも認められるスコア 1 を示す動物の発現頻度が増加した。雌雄で自発運動量が投与初期に増加し、雌では立ち上がりも増加したことは、同群の動物において対照群でも認められる探索活動(動物がなじみのない環境に置かれたときに示す活動)が増加したことを示している。しかし病理組織学的検査ではこれらの動物の神経組織に異常はなく、他の神経毒性検査項目においても何等影響はなかった。また、ラットにおける 3 ヶ月間反復投与毒性試験において、2000ppm の投与量でも、自発運動量およびレアリングを含む、全ての神経毒性検査項目に影響が認められなかった。さらに、他のいずれの試験においても、神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

図1. 体重変化 (主群)



1000 及び 500 ppm 群の雌雄において投与期間を通じて体重増加抑制が認められた。1000 ppm 群の雄では投与 1 から 24 及び 104 週に、雌では投与 1 から 84 及び 104 週に对照群に比較し有意に低い体重値を示した。500 ppm 群では雌雄とも投与 1 から 84 週に对照群に比較し低い体重値を示した。これらの変動は検体投与の影響と判断した。100 及び 30 ppm 群の雌雄の体重と体重増加量は对照群と同程度だった。体重および体重増加量の有意差検定は、Bartlett の等分散分析により行った。

○ 飼料摂取量及び食餌効率；

全動物の摂餌量を投与期間最初の 13 週間は毎週 1 回、16 週及びそれ以降は 4 週間に 1 回測定した。食餌効率も算出した。

1000 及び 500 ppm 群の雌雄で主に投与開始後 2 から 3 カ月間摂餌量が減少した。食餌効率も投与開始直後の数週に低値を示し、検体投与の影響と判断した。

100 及び 30 ppm 群の雌雄の摂餌量及び食餌効率は对照群と同程度であった。飼料摂取量の有意差検定は、Bartlett の等分散分析を行った。

検体摂取量；全投与期間における平均 1 日検体摂取量 (mg/kg 体重) を下表に示す。

表 5. 平均 1 日検体摂取量

主群

投与用量 (ppm)	平均 1 日検体摂取量, mg/kg 体重	
	雄	雌
30	1.01	1.23
100	3.40	4.10
500	17.1	21.1
1000	34.3	42.8

衛星群

投与用量 (ppm)	平均 1 日検体摂取量, mg/kg 体重	
	雄	雌
30	1.15	1.46
100	2.87	4.81
500	19.5	24.7
1000	39.4	49.1

血液学的検査 ; 14, 26 及び 52 週間投与終了後に衛星群から, 78 及び 104 週後に主群から選択した雌雄各 10 匹について採血した。動物は一晩絶食し, 14, 26 及び 78 週間投与終了後には眼窩静脈叢から, 52 及び 104 週間投与終了後には腹腔後大静脈より採血した。これらの血液試料を用いて以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値, 血色素量, 赤血球数, 平均赤血球容積, 平均赤血球血色素量, 平均赤血球素濃度, 血小板数, 白血球, 白血球百分率, 網赤血球数, プロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間

表 6 に統計学的有意差の認められた項目を示す。

表 6. 血液学的検査成績

項目及び検査時期	性別・用量(ppm)	雄				雌			
		30	100	500	1000	30	100	500	1000
ヘマトクリット値(Ht)	52 ^a	95	99	95	↓90				
	78	101	103	↑108	106				
血色素濃度(Hb)	52	94	99	94	↓92				
	78	101	102	↑106	105				
赤血球数(RBC)	52	95	99	92	↓90				
プロトロンビン時間(PT)	52	103	99	106	↑105				
活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	52					↑111	105	98	103

a: 検査週。14, 26 及び 104 週間投与終了後には有意に変動した項目なし。

表中の数字は対照群に対する変動率

統計学的有意差：↑↓ P<0.05，↓ P<0.01 (Dunnettの多重比較法)

1000 ppm 群の雄で 52 週間投与終了後にヘマトクリット、血色素濃度及び赤血球数が有意に減少し、検体投与の影響と判断した。同群の同時期にプロトロンビン時間の有意な延長が認められたが、他の検査時期および全検査時期の雌にはこの変化は認められず、また凝固因子の生成に影響する肝機能障害は認められなかったため、本変化は検体投与の影響ではないと判断した。

500 ppm 群の雄におけるヘマトクリット値及び血色素濃度の有意な増加ならびに 30 ppm の雌における活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長は用量に関連しない変動であるため偶発的なものと判断した。

1000 ppm 及び 500 ppm 群の雌、100 ppm 群の雌雄ならびに 30 ppm 群の雄には異常はなかった。

○ 血液生化学的検査：血液学的検査に供した血液の血漿を用い以下の項目を検査した。

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、γ-グルタミルトランスベプチダーゼ、クレアチニン、血中尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

表 7 に統計学的有意差の認められた項目を示す。

表 7. 血液生化学的検査成績

項目・検査週	性別・用量 (ppm)	雄				雌			
		30	100	500	1000	30	100	500	1000
クレアチニン (Creat)	14 ^a	104	↑117	100	104				
血中尿素窒素 (BUN)	14					109	103	↑122	↑122
	26					111	114	119	↑132
	78					121	113	↑126	115
アルブミン (Alb)	78	109	101	↑112	106				
アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)	78	112	100	↑119	110				
トリグリセライド (TG)	78					70	63	↓45	48
総ビリルビン (T.Bil)	14	106	↑119	106	↑113				
	52	100	113	↑127	113				

a: 検査週。104 週間投与終了後には有意に変動した項目なし。

表中の数字は対照群に対する変動率

統計学的有意差：↑ P<0.05，↑ P<0.01 (Dunnettの多重比較法)

1000 ppm 群の雄において、14 週間投与終了後に総ビリルビンが有意に増加したが、同じ検査時期の 100 ppm 群の増加幅のほうが大きかったことから、この変動は検体投与と関連するものではないと判断した。血中尿素窒素が 500 及び 1000 ppm 群の雌で 14 ないし 26 週間投与終了後に有意に増加したが、それ以降の検査時期の雌及び全検査

時期の雄にはこの変化は認められず、先に実施された90日間反復経口投与毒性試験における2000ppm群の動物にも血中尿素窒素の変動はなかったことから、この変化は偶発性のものと判断した。

その他の変動は投与用量に関連しない偶発的なものであった。

尿検査； 投与14ないし15、25、51、77及び103週時に各群雌雄各10匹について強制排尿ないし自然排尿及び代謝ケージを用いて採尿した尿について以下の項目を検査した。
尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白、ウロビリノーゲン、尿量、尿色、尿沈渣
表8に統計学的有意差の認められた項目を示す。

表8. 尿検査成績

性別・用量 (ppm)		雄				雌			
		30	100	500	1000	30	100	500	1000
尿比重	14/15 ^a					100	↑102	102	↑102
ケトン体	14/15		↑	↑					
尿量	14/15	76	↓65	↓66	77				
	25	102	69	↓64	88				

a: 検査週。51、77 or 103週間投与終了後には有意に変動した項目なし。

表中の数字は対照群に対する変動率

統計学的有意差： ↑↓P<0.05， ↑ P<0.01 (Dunnettの多重比較法ないしDunnett型の順位検定法)

尿検査において、1000ppm群の雌で14/15週に尿比重が有意に増加した。しかし同時期に検査した100ppm群雌においても同程度に変化が認められ、さらに90日間経口亜急性毒性試験における2000ppm以上の投与群の雌では本変化が観察されなかったところから、投与の影響とは考えなかった。

眼科学的検査； 投与開始前1回雌雄の全動物について、また、投与52週時に衛星群の、投与期間終了直前の104週時に主群のうち、対照群及び1000ppm群雌雄の全生存例について眼検査を実施した。

眼検査に検体投与の影響はなかった。

臓器重量； 52週間投与終了後に衛星群から、104週間投与終了後に主群から選択した雌雄各10匹を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓(両側)、肺、脾臓、副腎(両側)、精巣(両側)、精巣上体(両側)、卵巣(両側)、子宮

統計学的有意差の認められた項目を表9に示す。

表 9. 臓器重量

性別・用量 (ppm)		雄				雌			
		30	100	500	1000	30	100	500	1000
(最終体重)	104*	(93)	(93)	(↓86)	(↓81)				
脳	絶対重量	52	103	↑105	101				
	相対重量	104	106	106	116	↑122			
心臓	絶対重量	104	95	↓90	↓89	↓86			
肝臓	絶対重量	104	81	82	↓75	↓72			
肺	絶対重量	104	98	99	89	↓88			
精巣	相対重量	104	107	115	117	↑130			
卵巣	絶対重量	104				60	35	↓30	70

a: 検査週

表中の数字は対照群に対する変動率

統計学的有意差: $\uparrow\downarrow P < 0.05$, $\uparrow\downarrow P < 0.01$ (Dunnettの多重比較法)

1000ないし500ppm群の雄において、脳、心臓、肝臓、肺ないし精巣の重量が有意に変動したが、これらの変化は絶対ないし相対どちらかのみの変化であり、またこれらの臓器に病理組織学的な異常は認められなかった。したがって、これらの臓器重量の有意な変動は、1000及び500ppm群の雄において見られた低体重による二次的な変化と判断した。

その他の臓器重量における有意な変動は、用量に関連しない偶発的なものであった。

肉眼病理学的検査; 途中死亡・切迫屠殺動物を含む全動物について剖検した。ただし、衛星群の途中死亡・切迫屠殺動物については個別成績を記録したが、統計学的解析の集計から除外した。

発生頻度に統計学的有意差の認められた肉眼所見を表10に示す。

表 10. 肉眼所見

転帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
Tk	検査動物数		28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
	臓器	所見										
	肝臓	腫瘤						4	↓0	1	2	1
	関節	腫脹	2	↑8	3	2	4					
	筋肉	萎縮	0	↑5	↑5	3	2					
	下垂体	腫瘤						6	12	16	↑14	17
	副腎	腫瘤						0	↑5	1	1	1
ke/ Fd	検査動物数		22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
	臓器	所見										
	全身/外観	削瘦						3	5	↑7	5	4
		赤色眼脂	10	7	7	↓1	6	16	15	10	12	↓5
乳腺	肥大						5	↑14	↑9	↑11	8	
all	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	臓器	所見										
	全身/外観	鼻吻部被毛汚れ						6	5	3	7	↓0
		赤色眼脂	12	11	8	↓3	6	17	18	10	14	↓6
	乳腺	肥大						9	↑19	13	16	12
	筋肉	萎縮	0	↑5	↑6	3	4					
	腎臓	退色	9	3	7	↓2	5					
表面粗造		13	↓5	↓5	11	8						
耳介	肥厚						0	1	1	2	↑6	

転帰：tk, 104 週間投与終了後最終計画殺動物（主群）；ke/fd, 途中死亡・切迫屠殺動物（主群）；all, 全動物（主群）

統計学的有意差：↑↓ p<0.05, ↑↑ p<0.01（Fisher の直接確率計算法（片側検定））

1000 ppm 群の雌において耳介の肥厚の発生頻度が有意に増加した。この所見は臨床症状における皮膚の肥厚と一致するものであり、前述したとおり検体投与と関連しない変化であると判断した。

その他発生頻度の有意な増減は、毒性学的意義のない減少かあるいは投与用量に関連しない偶発性のものであった。

病理組織学的検査；対照群及び 1000 ppm 群の全動物、並びにその他の投与群の投与途中死亡・切迫殺動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨及び骨髓（胸骨、椎骨3箇所及び片側大腿骨）、膝関節（片側）リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、舌、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部（鼻腔及び副鼻腔）、咽頭、喉頭、気管、肺、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精のう（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（角部及び頸部）、膾、眼球（網膜及び視神経を含む、両側）、ハーダ一腺（両側）、外涙腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部、雌のみ）、肉眼的異常部位

また、30、100及び500 ppm群の全動物を対象として以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

肝臓、腎臓（両側）、肺、脾臓、副腎（両側）、精巣（両側）、卵巣（両側）、子宮、膾及び肉眼的異常部位

ただし、衛星群の途中死亡・切迫屠殺動物については個体別成績を記録したが、統計学的解析の集計から除外した。

中間用量群の途中及び最終計画殺ならびに全動物の病理組織学的所見の集計においては、肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮及び膾についてのみ有意差検定を実施した。また、肉眼的異常部位（上記した臓器・組織を除く）については、全検査時期・全投与群について有意差検定は実施しなかった。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変を表11に示す。

表 11. 腫瘍性病変

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
ik	臓器											
	全身	所見/検査例数	20	19	20	20	19	18	20	20	20	18
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	皮膚	所見/検査例数	20	2	4	3	19	18	4	0	1	18
		乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	-	0	0
		基底細胞癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	-	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	-	0	0
	皮膚 (その他)	所見/検査例数	1	2	4	3	2	1	4	0	1	1
		基底細胞癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	-	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	-	0	0
	乳腺	所見/検査例数	0	0	0	0	0	18	5	4	2	18
		腺腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	0	2	1	0	0
		線維腺腫(B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	骨	所見/検査例数	20	0	0	0	19	18	0	0	2	18
		骨軟骨腫(B)	0	-	-	-	0	0	-	-	2	0
	肺	所見/検査例数	20	19	20	20	19	18	20	20	20	18
		腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	心臓	所見/検査例数	20	0	0	0	19	18	0	0	0	18
		悪性神経鞘腫(M)	0	-	-	-	1	0	-	-	-	0
	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	18	20	20	20	18
		内膜ポリープ(M)	-	-	-	-	-	3	0	0	0	1
	下垂体	所見/検査例数	20	1	4	2	19	18	9	11	5	18
前葉腺腫(B)		1	1	2	2	1	2	2	3	0	0	
甲状腺	所見/検査例数	20	0	0	0	19	18	1	0	0	18	
	C細胞腺腫(B)	1	-	-	-	0	0	1	-	-	0	

転帰: ik, 52週間投与終了後途中計画殺動物 (衛星群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

雄の皮膚 (その他) および雌の皮膚については付表より集計。

対照群との有意差検定は、100ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000	
tk	臓器	全身	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		組織球性細胞肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚	所見/検査例数	28	21	21	22	25	17	8	17	10	28	
		乳頭腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
		扁平上皮癌(M)	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1	
		角化棘細胞腫(B)	0	1	2	0	0	0	0	1	1	1	
		基底細胞腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
		基底細胞癌(M)	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		皮脂腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		線維腫(B)	1	0	1	3	0	2	0	1	1	0	
		脂肪腫(B)	2	2	0	1	0	1	0	1	2	2	
		脂肪肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	
		横紋筋肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	2	0	1	0	0	0	0	1	
		皮膚 (その他)	所見/検査例数	22	21	21	22	15	10	8	17	9	13
	乳頭腫(B)		0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	扁平上皮癌(M)		0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	
	角化棘細胞腫(B)		0	1	2	0	0	0	0	1	1	1	
	基底細胞腺腫(B)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	基底細胞癌(M)		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	皮脂腺癌(M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	線維腫(B)		1	0	1	3	0	1	0	1	0	0	
	脂肪腫(B)		2	2	0	1	0	1	0	1	2	2	
	脂肪肉腫(M)		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	横紋筋肉腫(M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	血管肉腫(M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	悪性神経鞘腫(M)		0	0	2	0	1	0	0	0	0	1	

転帰: tk, 104週間投与終了後最終計画殺動物(主群)

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍

雄の皮膚(その他)ならびに雌の皮膚については付表より集計。

対照群との有意差検定は、100ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膈について Fisher の直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
tk	臓器											
	乳腺	所見/検査例数	3	0	0	2	4	17	9	18	14	28
		腺腫(B)	0	-	-	0	0	0	0	0	1	1
		腺癌(M)	1	-	-	0	0	3	3	4	6	4
		線維腺腫(B)	0	-	-	0	0	9	5	15	10	11
	骨	所見/検査例数	28	2	0	1	25	17	2	1	1	28
		骨腫(B)	0	0	-	1	0	0	2	1	1	2
		骨肉腫(M)	0	0	-	0	1	0	0	0	0	0
		骨軟骨腫(B)	1	0	-	0	0	0	0	0	0	0
	骨 (その他)	所見/検査例数	1	2	0	1	2	0	2	1	1	2
		骨腫(B)	0	0	-	1	0	-	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	-	0	1	-	0	0	0	0
		骨軟骨腫(B)	1	0	-	0	0	-	2	1	1	2
	関節	所見/検査例数	28	8	3	3	25	17	3	2	2	28
		骨軟骨腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	肺	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	口腔	所見/検査例数	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	十二指腸	所見/検査例数	28	1	1	0	25	17	0	0	0	28
		腺癌(M)	0	0	0	-	1	0	-	-	-	0
	空腸	所見/検査例数	28	0	0	0	25	17	0	0	0	28
		平滑筋肉腫(M)	1	-	-	-	0	0	-	-	-	1
	肝臓	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		肝細胞腺腫(B)	3	0	0	2	2	2	0	2	0	0
		肝細胞癌(M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

転帰: tk, 104週間投与終了後最終計画殺動物(主群)

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍

雄の関節ならびに雌の骨(その他)については付表より集計。

対照群との有意差検定は、100ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、脳について Fisher の直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
tk	臓器											
	膵臓	所見/検査例数	28	7	7	10	25	17	1	1	2	28
		島細胞腺腫(B)	7	7	6	7	↓1	1	0	1	1	3
		島細胞癌(M)	2	0	0	2	1	0	1	0	1	0
		外分泌腺細胞腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		島細胞外分泌腺細胞 混合腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見/検査例数	28	29	30	37	25	0	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	0	1	1	0	0	-	-	-	-	-
	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	17	19	27	20	28
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	1	2	1	2	3
	子宮頸	所見/検査例数	0	0	0	0	0	17	19	27	20	28
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	陰核腺	所見/検査例数	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
		腺腫(B)	-	-	-	-	-	0	-	1	-	-
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	1	-	0	-	-
	下垂体	所見/検査例数	28	22	22	22	25	17	18	23	18	28
		前葉腺腫(B)	22	19	19	21	15	13	13	22	16	20
		前葉腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		中間部腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	所見/検査例数	28	2	4	3	25	17	0	3	1	28
		C細胞腺腫(B)	3	1	1	2	6	0	-	3	0	1
		C細胞癌(M)	0	0	3	0	0	0	-	0	0	1

転帰: tk, 104週間投与終了後最終計画殺動物(主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

有意差の検定は、Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った(↓ $p < 0.05$)。

対照群との有意差検定は、100ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
tk	臓器											
	甲状腺	所見/検査例数	28	2	4	3	25	17	0	3	1	28
		濾胞状腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	-	0	0	0
		濾胞状腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	-	0	1	0
	副腎	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		皮質腺腫(B)	0	1	1	1	0	2	0	0	1	0
		褐色細胞腫(B)	2	2	2	6	3	0	0	0	1	0
	大脳	所見/検査例数	28	0	0	0	25	17	0	0	0	28
		稀突起細胞腫(B)	0	-	-	-	1	0	-	-	-	1
		顆粒細胞腫(B)	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
	ジンバル腺	所見/検査例数	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺腫(B)	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		ジンバル腺癌(M)	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	耳介	所見/検査例数	0	0	0	0	0	1	0	1	0	4
		悪性神経鞘腫(M)	-	-	-	-	-	1	-	0	-	0
腹腔	所見/検査例数	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	
	脂肪腫(B)	-	-	-	-	-	-	1	-	0	0	
ke/ fd	全身	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
	悪性リンパ腫 (リンパ球型)(M)	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	
	骨髄性白血病(M)	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	
	組織球性細胞肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	

転帰: tk, 104週間投与終了後最終計画殺動物(主群); ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物(主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

tk, 104週間投与終了後最終計画殺動物(主群)の有意差検定は、1000ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物(主群)の有意差検定は、肉眼的異常部位を除く病理組織学的検査対象組織・臓器についてのみ実施した。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
ke/ fd	臓器											
	皮膚	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	29	22
		乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維腫(B)	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0
		線維肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		横紋筋肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	0	0	0	0	0	1	3	1	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
		組織球性細胞肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性顆粒細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	乳腺	所見/検査例数	1	1	0	1	3	33	31	23	29	22
		腺腫(B)	0	0	-	0	1	2	3	3	2	1
		腺癌(M)	0	0	-	0	0	2	7	5	6	↑6
		線維腺腫(B)	0	0	-	0	0	8	7	6	8	5
	胸腺	所見/検査例数	22	21	18	12	25	33	30	23	30	22
		胸腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	頸部	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	22	30	22
	リンパ節	組織球系細胞肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	骨	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		骨軟骨腫(B)	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	骨 (その他)	所見/検査例数	1	0	0	0	2	0	1	0	1	0
		骨軟骨腫(B)	1	-	-	-	1	-	0	-	1	-

転帰: ke/fd, 途中死亡・切迫屠殺動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

雄の骨 (その他) ならびに雌の骨については付表より集計。

有意差の検定は、Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った (↑ p<0.05)。

対照群との有意差検定は病理組織学的検査対象組織・臓器についてのみ実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
ke/ fd	臓器											
	膝関節	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		骨軟骨腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	鼻腔	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		組織球性細胞肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肺	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	心臓	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		悪性線維性組織球腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	空腸	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	21
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	盲腸	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	21
		平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		肝細胞腺腫(B)	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0
		肝細胞癌(M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
		悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	膵臓	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	21
		島細胞腺腫(B)	1	1	4	1	2	1	0	0	0	1
		島細胞癌(M)	0	2	0	2	2	0	0	0	0	0
	腎臓	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		脂肪腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	前立腺	所見/検査例数	22	21	20	13	25	0	0	0	0	0
		癌(M)	0	0	1	0	0	-	-	-	-	-
	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	33	31	23	30	22
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	1	1	0
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	1	2	3	1	0

転帰： ke/fd, 途中死亡・切迫屠殺動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は病理組織学的検査対象組織・臓器についてのみ Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000	
ke/ fd	臓器												
	子宮頸	所見/検査例数	0	0	0	0	0	33	31	23	30	22	
		内膜ポリープ(M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0	
		悪性神経鞘腫(M)	-	-	-	-	-	2	0	0	0	1	
	膣	所見/検査例数	0	0	0	0	0	33	31	23	30	22	
			扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	下垂体	所見/検査例数	22	19	19	13	25	33	31	23	30	22	
			前葉腺腫(B)	16	14	14	9	19	25	25	20	22	19
			前葉腺癌(M)	0	0	0	0	0	4	3	1	3	1
	甲状腺	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22	
			C細胞腺腫(B)	1	3	2	1	1	3	4	2	4	2
			濾胞状腺腫(B)	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22	
			皮質腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
			皮質腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
			褐色細胞腫(B)	1	1	0	1	1	2	1	0	0	1
			悪性褐色細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
	大脳	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22	
			稀突起細胞腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
			悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
			悪性細網症(M)	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
			顆粒細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	小脳	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22	
			悪性細網症(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	H-ター腺	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22	
			腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	ジンバル腺	所見/検査例数	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
			ジンバル腺癌(M)	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-
	耳介	所見/検査例数	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2	
			悪性神経鞘腫(M)	-	-	-	-	-	1	0	-	0	0

転帰: ke/fd, 途中死亡・切迫屠殺動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は病理組織学的検査対象組織・臓器についてのみ Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000	
all	臓器	全身	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		悪性リンパ腫(リンパ球型)(M)	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
		組織球性細胞肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		骨髄性白血病(M)	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	皮膚	全身	所見/検査例数	50	42	41	35	50	50	39	40	38	50
		乳頭腫(B)	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(M)	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1
		角化棘細胞腫(B)	2	3	2	1	0	0	0	1	1	1	1
		基底細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		基底細胞癌(M)	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		皮脂腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維腫(B)	2	1	1	3	1	1	0	1	1	1	0
		線維肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	2	2	0	1	0	2	3	2	2	2	2
		脂肪肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
		横紋筋肉腫(M)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	1	0	2	0	2	0	0	1	0	0	1
		組織球性細胞肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		顆粒細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

転帰 : all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は, 1000 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について, 中間用量群では肝臓, 腎臓, 肺, 脾臓, 副腎, 精巣, 卵巣, 子宮, 膣について Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
all	臓器											
	乳腺	所見/検査例数	4	1	0	3	7	50	40	41	43	50
		腺腫(B)	0	0	-	0	1	2	3	3	3	2
		腺癌(M)	1	0	-	0	0	5	10	9	12	10
		線維腺腫(B)	0	0	-	0	0	17	12	21	18	16
	胸腺	所見/検査例数	50	21	18	12	49	50	30	23	30	49
		胸腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	頸部 リンパ節	所見/検査例数	50	23	21	13	50	50	32	24	30	50
		組織球性細胞肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	骨	所見/検査例数	50	23	20	14	50	50	33	24	31	50
		骨腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		骨軟骨腫(B)	2	0	0	0	1	0	2	1	2	2
	関節	所見/検査例数	50	29	23	16	50	50	34	25	32	50
		骨軟骨腫(B)	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	関節 (膝関節)	所見/検査例数	50	21	20	13	50	50	32	23	30	50
		骨軟骨腫(B)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	鼻腔	所見/検査例数	50	21	20	13	50	50	31	23	30	50
		組織球性細胞肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肺	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

転帰: all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

雄の関節ならびに雌の関節 (膝関節) については付表より集計。

対照群との有意差検定は、1000 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
all	臓器											
	心臓	所見/検査例数	50	21	20	14	50	50	31	23	30	50
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	口腔	所見/検査例数	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-
	十二指腸	所見/検査例数	50	22	21	13	50	50	31	23	30	49
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	空腸	所見/検査例数	50	21	20	13	50	50	31	23	30	49
		平滑筋肉腫(M)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	盲腸	所見/検査例数	50	21	21	13	50	50	31	23	30	49
		平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫(B)	4	0	1	2	2	2	0	3	0	0
		肝細胞癌(M)	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	膵臓	所見/検査例数	50	28	27	23	50	50	32	24	32	49
		島細胞腺腫(B)	8	8	10	8	3	2	0	1	1	4
		島細胞癌(M)	2	2	0	4	3	0	1	0	1	0
		外分泌腺細胞腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		島細胞外分泌腺細胞混合腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

転帰: all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は、1000 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
all	臓器											
	腎臓	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見/検査例数	50	50	50	50	50	0	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	0	1	1	0	0	-	-	-	-	-
	前立腺	所見/検査例数	50	22	20	13	50	0	0	0	0	0
		癌(M)	0	0	1	0	0	-	-	-	-	-
	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	1	1	0
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	2	4	4	3	3
	子宮頸	所見/検査例数	0	0	0	0	0	50	50	50	50	50
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	0	0	1	1	0
		悪性神経鞘腫(M)	-	-	-	-	-	2	0	0	0	1
	膣	所見/検査例数	0	0	0	0	0	50	50	49	50	50
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	陰核腺	所見/検査例数	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
		腺腫(B)	-	-	-	-	-	0	-	1	-	-
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	1	-	0	-	-
	下垂体	所見/検査例数	50	41	41	35	50	50	49	46	48	50
		前葉腺腫(B)	38	33	33	30	34	38	38	42	38	39
		前葉腺癌(M)	0	0	0	0	1	4	3	1	3	1
		中間部腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

転帰： all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は、1000 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
all	臓器											
	甲状腺	所見/検査例数	50	23	24	16	50	50	31	26	31	50
		C細胞腺腫(B)	4	4	3	3	7	3	4	5	4	3
		C細胞癌(M)	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1
		濾胞状腺腫(B)	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0
		濾胞状腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	副腎	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		皮質腺腫(B)	0	1	1	1	1	2	1	0	1	0
		皮質腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		褐色細胞腫(B)	3	3	2	7	4	2	1	0	1	1
		悪性褐色細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
	大脳	所見/検査例数	50	21	20	13	50	50	31	23	30	50
		稀突起細胞腫(B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性細網症(M)	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
		顆粒細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	小脳	所見/検査例数	50	21	20	13	50	50	31	23	30	50
		悪性細網症(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	ハダ腺	所見/検査例数	50	21	20	13	50	50	31	23	30	50
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	ジンバル腺	所見/検査例数	2	1	0	0	0	0	0	0	1	0
		腺腫(B)	0	1	-	-	-	-	-	-	0	-
		ジンバル腺癌(M)	2	0	-	-	-	-	-	-	1	-
	耳介	所見/検査例数	0	0	0	0	0	2	1	1	2	6
		悪性神経鞘腫(M)	-	-	-	-	-	2	0	0	0	0
	腹腔	所見/検査例数	0	0	0	0	0	1	2	0	2	1
		脂肪腫(B)	-	-	-	-	-	0	1	-	0	0

転帰: all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は、1000 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 11. 腫瘍性病変(続き)

転帰	性別	雄					雌				
	投与量 (ppm)	0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	良性腫瘍数	68	61	56	60	55	74	73	87	78	74
	悪性腫瘍数	14	9	12	9	21	21	19	13	27	19
	腫瘍総数	82	70	68	69	76	95	92	100	105	93
	担良性腫瘍動物数	44	40	40	41	41	46	42	47	44	43
	担悪性腫瘍動物数	12	8	12	9	17	17	16	11	20	17
	担腫瘍動物数	47	42	44	43	44	50	45	49	48	48

主群および衛星群（衛星群の死亡・切迫屠殺動物は個別成績を記録したが、統計学的解析の集計から除外した）の全検査動物において、腫瘍性病変の発生頻度に対照群と投与群間で有意差を認めなかった。

対照群と投与群間で腫瘍発生数、担腫瘍動物数、担良性・悪性腫瘍動物数に差は見られなかった。

〔非腫瘍性病変〕

発生頻度に有意差の認められた所見を表 12 に示す。

表 12. 非腫瘍性病変

転帰	性別	雄					雌					
	投与量 (ppm)	0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000	
ik	臓器											
	脾臓	所見/検査例数	20	19	20	20	19	18	20	20	20	18
		褐色色素沈着	4	1	2	4	3	4	4	5	3	↑11
tk	脾臓	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		褐色色素沈着	2	0	0	3	5	2	3	9	↑10	↑16
		類洞拡張	3	1	0	6	2	0	0	2	2	↑7
	肝臓	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		胆管過形成	10	13	14	13	14	8	5	7	5	↓3
		慢性腎症	21	↓11	↓10	↓17	15	4	2	2	4	7
	腎臓	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
慢性腎症		21	↓11	↓10	↓17	15	4	2	2	4	7	

転帰：ik, 52 週間投与終了後途中計画殺動物（衛星群）；tk, 104 週間投与終了後最終計画殺動物（主群）
 有意差の検定は、Fisher の直接確率計算法（片側検定）を用いて行った（↑↓ $P < 0.05$, ↑↑ $P < 0.01$ ）。

表 12. 非腫瘍性病変 (続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	30	100	500	1000	0	30	100	500	1000
tk	副腎	所見/検査例数	28	29	30	37	25	17	19	27	20	28
		皮質過形成	17	17	14	17	17	7	↑15	14	9	11
		髓質過形成	9	10	9	12	8	0	0	5	↑6	3
	精巣	所見/検査例数	28	29	30	37	25	0	0	0	0	0
		動脈炎	6	↓1	3	3	3	-	-	-	-	-
ke/ fd	肺	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
		肺胞内泡沫細胞集簇	0	↑4	1	1	2	1	2	0	1	1
	前胃	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	21
		びらん・潰瘍	8	↓0	3	3	7	3	5	3	4	5
	副腎	所見/検査例数	22	21	20	13	25	33	31	23	30	22
のう胞状変性		4	0	1	1	1	19	20	↑21	13	9	
all	脾臓	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		褐色色素沈着	9	9	4	10	↑18	22	20	24	27	31
	肝臓	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		胆管増生	16	17	15	15	18	14	13	11	9	↓5
	腎臓	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		慢性腎症	31	↓19	↓18	24	29	6	6	7	9	9
	副腎	所見/検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		のう胞状変性	6	4	3	2	1	34	35	↑45	29	35
		皮質過形成	23	26	22	23	23	19	↑30	18	17	19
		髓質過形成	13	13	12	13	12	0	3	↑6	↑6	4
	精巣	所見/検査例数	50	50	50	50	50	0	0	0	0	0
		精細管萎縮	11	12	13	↓4	12	-	-	-	-	-
		動脈炎	11	5	↓4	5	↓4	-	-	-	-	-

転帰: tk, 104 週間投与終了後最終計画殺動物 (主群); ke/fd, 途中死亡・切迫屠殺動物 (主群);

all, 全動物 (主群)

有意差の検定は, Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った (↑↓ $P < 0.05$, ↑↑↓ $P < 0.01$)。

投与 52 週終了後の雌および投与 104 週終了後の雌雄の 1000 ppm 群において, 脾臓の褐色色素沈着の発生頻度が有意に増加した。ベルリンブルー染色の結果, この褐色色素はヘモジデリンであることが証明された。ヘモジデリンの沈着の増加は赤血球の破壊の亢進を示唆する変化ではあるが, 本試験では血液ないし血液生化学的検査において溶血性貧血を示唆する異常はなく, また, 脾臓以外の臓器に褐色色素沈着の増加はなかった。また, 52 週間投与終了後の雄の血液学的検査においてヘマトクリット, 血色素濃度及

び赤血球数の有意な減少が見られているが、この転帰での病理組織学的検査では脾臓の褐色色素沈着増加の発生頻度が増加しなかったことから、貧血を示唆する血液学的検査項目の変動は溶血性貧血を示唆するものではないと考えられた。本変化と被験物質投与との関連は必ずしも明らかでない。

また、1000 ppm 群の雌において 104 週間投与終了後に肝臓の類洞拡張の発生頻度が有意に増加した。類洞拡張は肝毒性物質、特に血管内皮に毒性を示す物質を投与した場合に特徴的に認められる所見であるが、本試験では他に血管内皮に対する毒性を示すような所見は得られていない。さらに、当研究所における 2 試験の背景データでは、類洞拡張の発生頻度は 9/50 及び 1/49 であり、本試験における発生頻度と一致する数値が得られている。したがって、これらの動物における肝臓の類洞拡張は検体投与に関連しない変化であると判断した。

以上の結果から、本剤のラットに対する 24 カ月間混餌経口慢性毒性試験において、1000 及び 500 ppm 群の雌雄に毒性影響が認められた。100 及び 30ppm 群には検体の影響は認められなかった。したがって、本試験における無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 100 ppm (雄 3.40 mg/kg/日, 雌 4.10 mg/kg/日) と判断される。

②ピリダリルのマウスにおける発癌性試験

(資料 5-2)

試験機関：残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検 体： ピリダリル原体

純 度：

試験動物： ICR (Crj:CD-1) マウス，主群 1 群雌雄各 52 匹，衛星群 1 群雌雄各 12 匹，開始時 5 週齢

投与開始時体重範囲 (雄；27.2~34.7 g，雌；20.9~26.7 g)

52 週間投与終了後には衛星群の、78 週間投与終了後には主群の全生存動物から、剖検時に後大静脈より採血し、白血球分類測定用に血液塗抹標本を作製した。52 及び 78 週間投与終了後に各群雌雄 10 匹について臓器重量を測定した。途中死亡・切迫殺動物を含めた全動物について剖検後、病理学的検査を実施したが、衛星群の途中死亡・切迫殺動物については、剖検・病理組織学的検査を実施し個別成績を記録したが、統計学的解析の集計から除外した。

投与期間： 78 週間 (1999 年 10 月 28 日~2001 年 5 月 11 日)

投与方法： 検体を 0, 15, 50, 1000 及び 2500 ppm の濃度で飼料に混入し、78 週間にわたり随時摂食させた。検体を混入した飼料は 4 週間毎に調製した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

臨床症状及び死亡率；臨床症状及び生死を毎日観察した。さらに週1回，触診を含む詳細な臨床症状を，少なくとも以下の症状について観察した。これらの観察はスコアリングにより評価した。

皮膚，被毛，眼球，粘膜の変化；自律神経機能（流涎，流涙，瞳孔径，異常呼吸）；行動，歩行，姿勢，ハンドリングや感覚刺激に対する反応；間代性ないし強直性痙攣の有無，常同行動，異常行動

有意に発生頻度に変動した臨床症状を表1に示す。

表1. 臨床症状
主群

症状	性 投与量 (ppm) 検査動物数	雄					雌				
		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
		52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
皮膚： 腫瘍 被毛湿潤	3 1	↑17 ↑8	9 5	2 4	5 6						
眼球： 混濁						2	5	6	↑8	4	
鼻吻部： 触毛脱毛	2	0	3	0	↑8						

衛星群

症状	性 投与量 (ppm) 検査動物数	雌				
		0	15	50	1000	2500
		12	12	12	12	12
皮膚： 脱毛	6	3	5	6	↓0	
鼻吻部： 触毛脱毛	7	4	5	3	↓2	

表中の数字は症状を示す動物数

有意差の検定は，Fisher の直接確率計算法（片側検定）を用いて行った（↑↓ $P < 0.05$ ，↑↓ $P < 0.01$ ）。

2500 ppm 群の雄において、触毛脱毛の発生頻度が有意に増加した。この所見は、無処置の動物にもさまざまな頻度で偶発的に観察される所見である。病理組織学的検査では毛のう萎縮およびびらん/潰瘍が対応所見として考えられるが、本群におけるこの組織所見の発生頻度は対照群と同程度であった。さらに、同投与量の衛星群の雌では触毛脱毛の発生頻度は有意に減少していた。したがって雄における触毛脱毛の発生頻度の増加は偶発的なものと判断した。その他投与群に見られた一般症状の発生頻度における有意な増減は用量に関連しない偶発的な変化であった。

表 2 に各群雌雄の死亡動物数を示す。

表 2. 死亡動物数

性	雄					雌				
	0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
投与量 (ppm)										
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
死亡動物数	18	15	20	20	16	14	11	11	12	7

生命表解析で有意差を検定した。

被験物質投与に起因する死亡率の上昇はなかった。

体重変化： 全動物について、投与開始前、投与開始から 13 週までは毎週 1 回、16 週から 76 週までは 4 週に 1 回、及び 78 週、さらに剖検前に体重を測定した。剖検前を除く全測定週について体重増加量も算出した。有意差の検定は、Bartlett の等分散検定の結果、等分散であれば一元配置分散分析および Dunnett の多重比較法、不等分散であれば、Kruskal-Wallis の検定および Dunnett 型の順位和検定法を用いて行った。主群の体重変化を図 1 に示す。

図 1. 体重変化(雄)

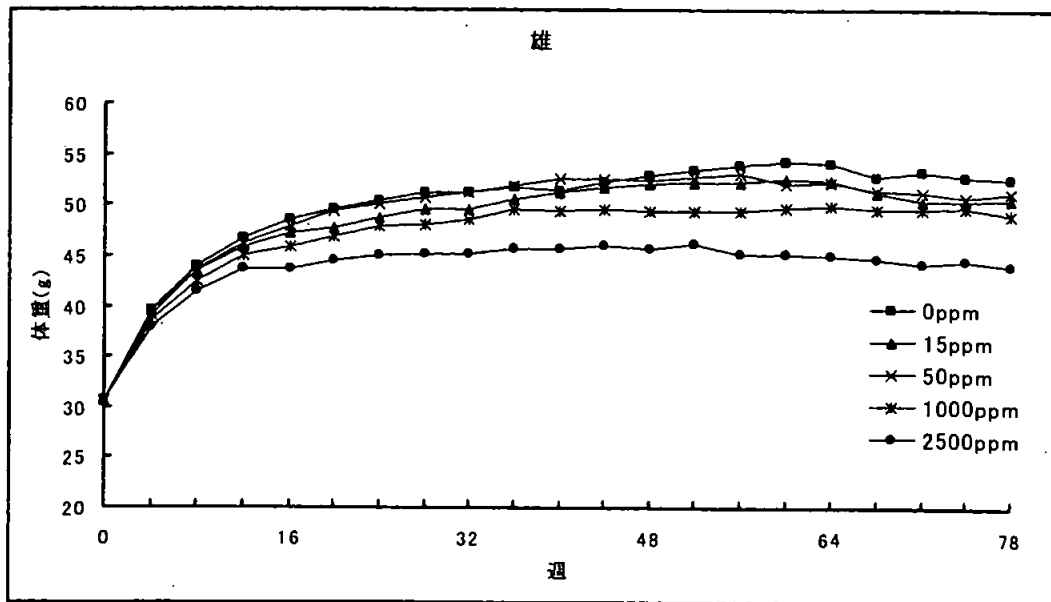
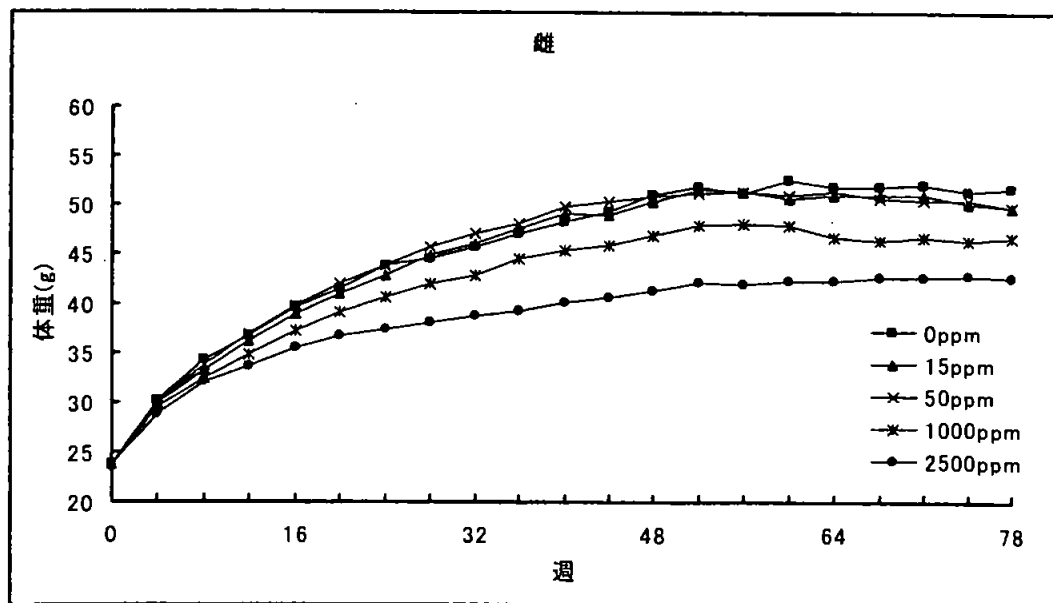


図 1. 体重変化(雌)



体重および体重増加量の有意差検定は、Bartlett の等分散分析により行った。
 1000 ppm 以上の投与群の雌雄において、投与期間を通じて体重増加抑制がみられた。
 2500 ppm 群の雌雄では投与開始直後数週を除くほとんどの計測週で、1000 ppm 群
 の雄では 16 から 32 及び 48 から 68 週に、雌では 8, 10, 12 から 16, 24, 48 から
 52 及び 60 から 78 週に有意差が見られた。この変化は検体投与の影響と判断した。

50 及び 15 ppm 群の雌雄の体重は投与期間を通じ対照群とほぼ同様に変動した。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始から 13 週までは毎週 1 回、16 週から 76 週までは 4 週に 1 回、摂餌量を測定した。また、食餌効率も算出した。有意差の検定は、Bartlett の等分散検定の結果、等分散であれば一元配置分散分析および Dunnett の多重比較法、不等分散であれば、Kruskal-Wallis の検定および Dunnett 型の順位和検定法を用いて行った。

2500 ppm 群における主群雄の摂餌量は投与期間を通じて対照群よりもやや低い値で変動し、1, 5, 7 から 12, 16, 36, 52 から 64 及び 72 週に統計学的有意差が見られ、検体投与の影響と判断した。一方、同群主群の雌の摂餌量は投与期間中 1, 24, 44 及び 72 週に対照群に比し有意に減少したが、その他の時期に異常はなかった。同群の衛星群雌雄の摂餌量は、一部時期に減少したが概ね対照群と同様であった。

1000 ppm 以下の投与群の雌雄では、主群、衛星群ともに統計学的に有意な変動が投与期間中数点見られたが、一定の方向を示す変動ではなく、これらの動物の摂餌量は対照群と同様に変動したと判断した。

2500ppm の雌雄における食餌効率は、投与第 1 週に対照群に比し軽度低下した。その後一定の傾向は認められなかったが、投与 13 週間の雌雄の平均食餌効率はそれぞれ対照群に比し 24 および 17%低かった。1000ppm 以下の投与量では、顕著でかつ用量に対応した変化は認められなかった。

検体摂取量； 全投与期間における一日あたりの平均検体摂取量は以下の通りであった。

表 3. 平均検体摂取量
主群

投与濃度 (ppm)	検体摂取量, mg/kg/day	
	雄	雌
15	1.57	1.46
50	5.04	4.78
1000	103	99
2500	267	264

衛星群

投与濃度 (ppm)	検体摂取量, mg/kg/day	
	雄	雌
15	1.53	1.50
50	5.40	4.87
1000	99	104
2500	270	264

血液学的検査；52週間投与終了後に衛星群の、78週間投与終了後に主群の全生存動物について、剖検前後大静脈から採血し、以下の項目について測定した。総白血球数および白血球分類を全血液試料について測定した。赤血球系の項目および血小板数は52週後の衛星群および78週後の主群について、原則として動物番号の若い順から選んだ各群各性10匹について測定した。

ヘマトクリット値，色素量，赤血球数，平均赤血球容積，平均赤血球色素量，平均赤血球色素濃度，血小板数，白血球数，白血球分類統計学的有意差の認められた項目を表4に示す。

表4. 血液学的検査成績

性別・用量 (ppm) 検査項目・検査週		雄			
		15	50	1000	2500
平均赤血球容積 (MCV)	78 ^a	102	↑104	100	101
リンパ球数 (L)	78	-	-	-	↓72

a: 変化の見られた投与週。52週間投与終了後に統計学的有意差の認められた項目はなかった。

表中の数字は対照群に対する変動率 (%)

有意差の検定は、Studentのt検定ないしDunnettの多重比較法を用いて行った (↑↓: $p \leq 0.05$ - : 検査せず)。

2500 ppm 群の雄において78週間投与終了後にリンパ球数が有意に減少したが、この変化は52週間投与終了後の雄ならびに52及び78週間投与終了後の雌には見られなかった。また病理組織学的検査でリンパ組織には異常が見られなかったことから、このリンパ球数の減少は偶発性のものと判断した。平均赤血球容積の増加には用量との関連がなかったことから偶発性の変化と判断した。

臓器重量；

原則として動物番号の若い順から選んだ各群各性10例について、52週間投与終了後には衛星群の、78週間投与終了後には主群について以下の臓器重量を測定し、相対重量も算出した。

脳，心臓，肝臓/胆のう，腎臓 (両側)，肺，脾臓，副腎 (両側)，精巣 (両側)，精巣上体 (両側)，卵巣 (両側)，子宮

統計学的有意差の認められた項目を表5に示す。

表 5. 臓器重量

臓器・検査週		性別・用量 (ppm)		雄				雌			
		15	50	1000	2500	15	50	1000	2500		
(最終体重)		52 ^a	(101)	(94)	(103)	(↓87)	(99)	(97)	(97)	(89)	
		78	(100)	(97)	(99)	(↓88)	(105)	(99)	(102)	(88)	
脳	相対重量	52	102	112	102	↑120					
		78	100	103	99	↑113	95	102	99	↑117	
心臓	絶対重量	78	93	98	93	↓87					
肝臓	相対重量	52					122	109	116	↑130	
腎臓	相対重量	52					113	112	112	↑128	
脾臓	絶対重量	78					123	201	161	↓57	
肺	相対重量	52	102	↑121	102	↑119					
	絶対重量	78	88	88	88	↑103†					
副腎	相対重量	52	100	↑150	2450	110					
精巣	相対重量	78	106	118	118	↑135					
精巣上体	絶対重量	52	109	↑122	108	109					
	相対重量	52	110	↑133	110	↑129					

a: 変化の見られた投与週

表中の数字は対照群に対する変動率 (%)

有意差の検定は、Dunnettの多重比較法を用いて行った (↑↓, $p \leq 0.05$; ↑↓, $p \leq 0.01$)。

†: 顕著に肺重量の重い個体がいたため、この群の群平均値は対照群よりも高くなったが、その他の個体の肺重量は概ね対照群よりも低かった。

2500 ppm 群の雌において 52 週間投与終了後に肝臓及び腎臓の相対重量が増加した。肝臓及び腎臓重量の増加は本検体のマウスにおける亜急性毒性試験でも観察されているため検体投与の影響と考えた。しかし、病理組織学的変化を伴わないところから、その毒性学的影響はごく軽微であると判断した。2500 ppm 群の雄において 52 週間投与終了後に精巣上体の相対重量が有意に増加したが、この変動は同じ検査時期の 50 ppm 群の雄における変動よりも小さく、また、組織学的異常を伴わないところから偶発的变化と判断した。また、78 週間投与終了後に雄の精巣の相対重量が有意に増加したが、この変化に相当すると考えられる病理組織学的異常は観察されなかった。試験実施研究所における 9 本の発癌試験の背景データの精巣重量は、絶対重量で 215 ~ 249 mg, 相対重量で 0.41 ~ 0.51 (平均体重は 48.9 から 52.7g, 1 試験あたり 10 あるいは 12 匹) であった。一方、本試験の対照群では、精巣の絶対及び相対重量はそれぞれ 175 mg 及び 0.34 であった (平均体重は 51.1g)。したがって、2500 ppm 群における精巣重量の増加は、対照群の精巣重量が低かったことによるものと判断した。2500 ppm 群の雌雄におけるその他の臓器重量の有意な変動は、血液学的検査あるいは病理組織学的検査において検体投与に関連すると考えられる所見が当該臓器に見られなかったことから、この群の動物に見られた低体重による二次的な変化であると判断した。

肉眼病理学的検査：途中死亡、切迫殺、投与期間終了時の全生存動物について剖検した。

ただし、衛星群の途中死亡・切迫殺動物については個別成績を記録したが、統計学

的解析の集計から除外した。

統計学的有意差の認められた所見を表6に示す。

表6. 肉眼病理学的検査

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
ik	検査動物数		9	10	10	11	12	11	11	12	12	11
	臓器	所見										
	腎臓	腎盂拡張	4	1	↓0	1	1					
	皮膚	脱毛						5	3	5	3	↓0
	卵巣	のう胞						7	4	5	3	↓2
tk	検査動物数		33	37	32	32	36	38	41	41	39	45
	臓器	所見										
	皮膚	脱毛						13	8	12	12	↓6
	脾臓	大型化						1	6	↑9	↑8	2
	胸腺	大型化						1	↑9	↑9	5	5
	腺腎	肥厚	5	5	↓0	1	↓0					
	精のう	肥大	22	19	18	14	↓8					
	凝固腺	肥大	22	17	17	13	↓8					
	子宮	腫瘤						0	↑7	1	3	4
ke/ fd	検査動物数		19	15	20	20	16	14	11	11	13	7
	臓器	所見										
	外観/外表	削瘦	0	↑4	4	2	3	4	3	5	↑10	3
	皮膚	脱毛	1	↑5	5	4	↑7					
	脾臓	大型化						3	↑7	↑9	6	3
	腎臓	腎盂拡張	1	↑7	4	2	1					
	精のう	肥大	3	↑9	5	6	5					
	凝固腺	肥大	3	↑9	4	6	5					
	卵巣	のう胞						5	↓0	3	7	2

転帰 : ik, 52週間投与終了後途中計画殺動物 (衛星群) ; tk, 78週間投与終了後最終計画殺動物 (主群) ;

ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物 (主群)

有意差の検定は, Fisherの直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った (↑↓P<0.05, ↑↑P<0.01)。

表 6. 肉眼病理学的検査(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
all	検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
	臓器	所見										
	外観/外表	触毛脱毛	0	0	3	0	↑5					
	皮膚	脱毛	4	8	7	9	↑14	17	9	13	17	↓7
		腫瘍						2	3	4	↑8	1
	脾臓	大型化						4	↑13	↑18	↑14	5
	胸腺	大型化						2	↑12	↑12	7	↑8
	腺胃	肥厚	5	5	↓0	1	↓0					
	肝臓	腫瘍	18	18	16	17	↓9					
	腎臓	腎盂拡張	6	↑14	8	5	4					
	精のう	肥大	25	28	23	20	↓13					
	凝固腺	肥大	25	26	21	19	↓13					
	子宮	腫瘍						2	↑10	2	3	4
	眼球	混濁						2	5	6	↑8	4

転帰: all, 全動物 (主群)

有意差の検定は, Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った (↑↓P<0.05, ↑↓P<0.01)。

2500 ppm 群の雄の死亡・切迫殺動物で, 皮膚の脱毛の発生頻度が有意に増加した。また, 皮膚の脱毛及び触毛脱毛が雄の全動物で有意に増加した。これらの所見は, 無処理の動物でもさまざまな頻度で見られる。これらの肉眼所見に対応する病理組織学的所見である毛のう拡張や皮膚のびらん・潰瘍があげられるが, 本試験におけるこれら組織所見の発生頻度は対照群と同程度であった。また, 52 週間投与終了後途中計画殺動物では, 雌において触毛脱毛と皮膚の脱毛の発生頻度が有意に減少した。したがって, 雄における触毛脱毛と皮膚脱毛の発生頻度の増加は偶発的な変化と判断した。同群の雌では胸腺の大型化の発生頻度が全動物で有意に増加したが, その発生頻度は 50 ないし 15 ppm 群よりも低く, 血液ないし病理組織学的検査においてリンパ系組織に異常が認められなかったことから, 胸腺の大型化の発生頻度の増加は偶発性的の変化であると判断した。その他投与群で認められた発生頻度の統計学的に有意な変動は, 用量に関連しない偶発性的の変化であった。

病理組織学的検査; 対照群及び 2500 ppm 群の全動物, 並びにその他の投与群の途中死亡・切迫殺動物を対象として, 以下の組織について病理標本を作製し, 鏡検した。

脳 (大脳, 小脳, 橋及び延髄), 脊髄 (頸部, 胸部及び腰部), 坐骨神経, 下垂体, 胸腺, 甲状腺 (両側), 上皮小体 (両側), 副腎 (両側), 脾臓, 骨及び骨髓 (胸骨, 椎骨 3 箇所及び片側大腿骨), リンパ節 (頸部及び腸間膜), 心臓, 大動脈, 唾液腺 (顎下

腺及び舌下腺), 舌, 食道, 胃 (前胃及び腺胃), 肝臓, 胆のう, 膵臓, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 頭部 (鼻腔及び副鼻腔), 咽頭, 喉頭, 気管, 肺, 腎臓 (両側), 膀胱, 精巣 (両側), 精巣上体 (両側), 前立腺, 精のう (両側), 凝固腺 (両側), 卵巣 (両側), 子宮 (角部及び頸部), 膣, 眼球 (網膜及び視神経を含む, 両側), ハーダー腺 (両側), 下腿三頭筋 (片側), 外涙腺 (両側), 皮膚 (腰背部), 乳腺 (腹部, 雌のみ), 肉眼的異常部位

また, 15, 50 及び 1000 ppm 群の全動物を対象として以下の組織について病理標本を作製し, 鏡検した。

肝臓, 腎臓 (両側), 肺, 副腎 (両側), 精巣 (両側), 卵巣 (両側), 子宮, 膣及び肉眼的異常部位

ただし, 衛星群の途中死亡・切迫殺動物については個体別成績を記録したが, 統計学的解析の集計から除外した。

対照群との有意差検定は, 2500ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について実施した。中間用量群においては, 途中・切迫殺動物は全病理組織学的検査対象組織・臓器について行ったが, 計画殺動物では肝臓, 腎臓, 肺, 副腎, 精巣, 卵巣, 子宮, 膣についてのみ実施した。なお, 上記以外の組織・臓器の肉眼的異常部位における病変については有意差検定を実施しなかった。

【腫瘍性病変】

認められた腫瘍性病変を表7に示した。

表7. 腫瘍性病変

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
ik	臓器											
	全身	所見/検査例数	9	10	10	11	12	11	11	12	12	11
		悪性リンパ腫 (リンパ球型)(M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
		悪性リンパ腫 (混合型)(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	所見/検査例数	9	10	10	11	12	11	11	12	12	11
		腺腫(B)	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0

転帰: ik, 52 週間投与終了後途中計画殺動物 (衛星群)

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は, 2500ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について, 中間用量群では肝臓, 腎臓, 肺, 副腎, 精巣, 卵巣, 子宮, 膣について, Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表7. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
ik	臓器	所見/検査例数										
		肺	9	10	10	11	12	11	11	12	12	11
		腺腫(B)	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1
	腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	
	臓器	所見/検査例数	9	10	10	11	12	11	11	12	12	11
		肝細胞腺腫(B)	1	1	0	2	2	0	0	0	0	1
		血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	11	11	12	12	11
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0
	副腎	所見/検査例数	9	10	10	11	12	11	11	12	12	11
		皮質腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
tk	全身	所見/検査例数	33	37	32	32	36	38	41	41	39	45
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性リンパ腫(リンパ球型)(M)	1	0	0	0	0	3	1	4	4	3
		悪性リンパ腫(混合型)(M)	0	0	1	0	0	1	2	1	0	0
		組織球性細胞肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0
	皮膚	所見/検査例数	33	10	5	6	36	38	9	13	15	45
		線維肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		扁平基底細胞腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
悪性神経鞘腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0		

転帰: ik, 52週間投与終了後途中計画殺動物(衛星群); tk, 78週間投与終了後最終計画殺動物(主群)
 (B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は、2500ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について、Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 7. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
tk	臓器											
	乳腺	所見/検査例数	0	0	0	0	0	38	0	0	1	45
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	0	-	-	1	1
	脾臓	所見/検査例数	33	7	4	0	36	38	7	9	9	45
		血管肉腫(M)	0	0	0	-	0	0	0	0	1	0
	骨	所見/検査例数	11	0	0	0	11	38	1	0	0	45
		骨腫(B)	0	-	-	-	0	0	1	-	-	0
	肺	所見/検査例数	33	37	32	32	36	38	41	41	39	45
		腺腫(B)	5	3	6	4	3	5	2	3	6	8
		腺癌(M)	4	3	7	7	6	3	4	4	3	5
	結腸	所見/検査例数	33	0	0	0	36	38	0	0	0	45
		腺癌(M)	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
	肝臓	所見/検査例数	33	37	32	32	36	38	41	41	39	45
		肝細胞腺腫(B)	13	13	12	11	8	1	0	0	0	0
		肝細胞癌(M)	0	1	2	1	2	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	1	2	1	0	1	0	2	0	0	0
	膀胱	所見/検査例数	33	6	5	3	36	38	0	0	0	45
		間葉腫(B)	1	0	0	0	1	0	-	-	-	0
	精巣	所見/検査例数	33	37	32	32	36	0	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-
	卵巢	所見/検査例数	0	0	0	0	0	38	41	41	39	45
		のう胞状腺腫(B)	-	-	-	-	-	1	1	1	0	0
		莢膜細胞腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
		黄体腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
		悪性顆粒細胞腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0

転帰: tk, 78週間投与終了後最終計画殺動物(主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

雄の骨については付表より集計。

対照群との有意差検定は、2500ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、副腎、精巣、卵巢、子宮、膣について、Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 7. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500	
tk	臓器	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	38	41	41	39	45
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0	
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	1	
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	2	1	4	2	2	
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	3	0	0	0	
		悪性神経鞘腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
		組織球性細胞肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0	
	子宮頸	所見/検査例数	0	0	0	0	0	38	41	41	39	45	
	平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	1		
	内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0		
	下垂体	所見/検査例数	33	0	0	0	36	38	2	0	2	45	
	前葉腺腫(B)	0	-	-	-	0	2	1	-	2	3		
	甲状腺	所見/検査例数	33	0	0	0	36	38	0	0	0	45	
	濾胞状腺腫(B)	0	-	-	-	1	0	-	-	-	2		
	副腎	所見/検査例数	33	37	32	32	36	38	41	41	39	45	
	皮質腺腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0		
	ハダ腺	所見/検査例数	33	0	0	0	36	38	0	0	0	45	
	腺腫(B)	4	-	-	-	2	2	-	-	-	2		
ke/ fd	全身	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7	
		悪性リンパ腫(リンパ球型)(M)	2	1	1	2	1	1	3	1	2	3	
		悪性リンパ腫(混合型)(M)	0	0	1	0	0	0	1	2	1	1	
		組織球性細胞肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
	骨髄性白血病(M)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		

転帰: tk, 78週間投与終了後最終計画殺動物(主群); ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物(主群)

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は、2500ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について、Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 7. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
ke/ fd	臓器	所見/検査例数										
		皮膚										
		所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7
		乳頭腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	悪性神経鞘腫(B)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	
	乳腺	所見/検査例数	0	0	0	0	0	14	11	11	13	7
	腺癌(M)	-	-	-	-	-	0	3	2	3	0	
	脾臓	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7
	血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	腸間膜リ ンパ節	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7
	血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	骨	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7
	骨腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	肺	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7
	腺腫(B)	2	2	3	4	2	1	1	1	0	2	
	腺癌(M)	2	0	1	4	1	1	0	0	3	2	
	肝臓	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7
	肝細胞腺腫(B)	4	1	4	7	0	0	0	0	0	0	
	肝細胞癌(M)	3	1	3	1	1	0	0	0	0	0	
	血管腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	精巣	所見/検査例数	19	15	20	20	16	0	0	0	0	0
血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-		
精巣上体	所見/検査例数	19	15	20	20	16	0	0	0	0	0	
間細胞腫(B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-		
卵巣	所見/検査例数	0	0	0	0	0	14	11	11	13	7	
黄体腫(B)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0		
血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0		

転帰： ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

雄の骨については付表より集計。

有意差検定は、肉眼的異常部位を除く病理組織学的検査対象組織・臓器についてのみ、Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。肉眼的異常部位については全投与群について有意差検定を実施していない。

表 7. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500	
ke/ fd	臓器	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	14	11	11	13	7
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	2	
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
		顆粒細胞腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
	子宮頸	所見/検査例数	0	0	0	0	0	14	11	11	13	7	
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
	ハダノ腺	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7	
		腺腫(B)	2	2	1	0	1	1	0	0	0	0	
	腹腔	所見/検査例数	2	3	1	1	1	0	0	0	0	0	
		平滑筋肉腫(M)	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	
	all	全身	所見/検査例数	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
			悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
悪性リンパ腫 (リンパ球型)(M)			3	1	1	2	1	4	4	5	6	6	
悪性リンパ腫 (混合型)(M)			0	0	2	0	0	1	3	3	1	1	
組織球性細胞肉腫(M)			0	0	0	0	0	1	2	0	2	0	
骨髄性白血病(M)			1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
皮膚		所見/検査例数	52	25	25	26	52	52	20	24	28	52	
		乳頭腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		角化棘細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
		扁平基底細胞腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		線維肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		脂肪腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

転帰: ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物(主群); all, 全動物(主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物の有意差検定は、肉眼的異常部位を除く病理組織学的検査対象組織・臓器についてのみ、Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。

all, 全動物の有意差検定は、2500ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について、Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 7. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
all	臓器											
	皮膚	所見/検査例数	52	25	25	26	52	52	20	24	28	52
		血管腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0
	乳腺	所見/検査例数	0	0	0	0	0	52	11	11	14	52
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	0	3	2	4	1
	脾臓	所見/検査例数	52	22	24	20	52	52	18	20	22	52
		血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
	骨	所見/検査例数	52	17	21	20	52	52	13	11	13	52
		骨腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	腸間膜リ ンパ節	所見/検査例数	52	15	21	20	52	52	13	13	14	52
		血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	肺	所見/検査例数	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
		腺腫(B)	7	5	9	8	5	6	3	4	6	10
		腺癌(M)	6	3	8	11	7	4	4	4	6	7
	結腸	所見/検査例数	52	15	20	20	52	52	11	11	13	52
		腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見/検査例数	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
		肝細胞腺腫(B)	17	14	16	18	↓8	1	0	0	0	0
		肝細胞癌(M)	3	2	5	2	3	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	1	2	1	0	1	0	2	0	0	0
	膀胱	所見/検査例数	52	21	25	23	52	52	11	11	13	52
		間葉腫(B)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見/検査例数	52	52	52	52	52	0	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-
		血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-

転帰: all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

雄の骨については付表より集計。

有意差の検定は、Fisherの直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った (↓ p<0.05)。

対照群との有意差検定は、2500ppm群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について、Fisherの直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 7. 腫瘍性病変(続き)

転 帰	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
all	臓器											
	精巣上体	所見/検査例数	52	16	20	21	52	0	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	卵巣	所見/検査例数	0	0	0	0	0	52	52	52	52	52
		のう胞状腺腫(B)	-	-	-	-	-	1	1	1	0	0
		莢膜細胞腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
		黄体腫(B)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	1
		悪性顆粒細胞腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	子宮角	所見/検査例数	0	0	0	0	0	52	52	52	52	52
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	1
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	2	1	4	3	4
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	4	0	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		顆粒細胞腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		組織球性細胞肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0
	子宮頸	所見/検査例数	0	0	0	0	0	52	52	52	52	52
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	0	2	0	0	1
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	下垂体	所見/検査例数	52	15	20	20	52	52	12	11	15	52
		前葉腺腫(B)	0	0	0	0	0	2	1	0	2	3
	甲状腺	所見/検査例数	52	15	20	20	52	52	11	11	13	52
		濾胞状腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
	副腎	所見/検査例数	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
		皮質腺腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0

転帰: all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は、2500ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、副腎、精巣、卵巣、子宮、膣について、Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った。実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

表 7. 腫瘍性病変(続き)

転 婦	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500
all	臓器											
	ハ-ダ-腺	所見/検査例数	52	15	20	20	52	52	11	11	13	52
		腺腫(B)	6	2	1	0	3	3	0	0	0	2
	腹腔	所見/検査例数	2	4	2	1	1	0	0	0	0	0
血管肉腫(M)		0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	
合 計	検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
	良性腫瘍数		35	21	29	27	19	16	9	11	15	25
	悪性腫瘍数		15	13	17	17	13	12	24	17	25	15
	腫瘍総数		50	34	46	44	32	28	33	28	40	40
	担良性腫瘍動物数		26	18	25	24	16	15	9	10	12	18
	担悪性腫瘍動物数		15	13	16	16	13	11	21	17	22	14
	担腫瘍動物数		33	26	35	31	24	23	25	23	27	28

転婦: all, 全動物 (主群)

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は, 2500ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について, 中間用量群では肝臓, 腎臓, 肺, 副腎, 精巣, 卵巣, 子宮, 膣について, Fisherの直接確率計算法(片側検定)を用いて行った。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施しなかった。

主群および衛星群(衛星群の死亡・切迫殺動物は個別成績を記録したが, 統計学的解析の集計から除外した)の全検査動物において, 腫瘍性病変の発生頻度に対照群と投与群間で有意差を認めなかった。

対照群と投与群間で腫瘍発生数, 担腫瘍動物数, 担良性・悪性腫瘍動物数に差は見られなかった。

[非腫瘍性病変]

発生頻度に有意差の見られた非腫瘍性病変を表 8 に示した。

本文表 8. 非腫瘍性病変

転帰	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	15	50	1000	2500	0	15	50	1000	2500	
tk	腸間膜リンパ節	所見/検査例数	33	0	1	0	36	38	2	2	1	45	
		髓外造血亢進	4	-	0	-	↓0	2	0	0	0	0	
	腺胃	所見/検査例数	33	5	0	1	36	38	1	1	0	45	
		粘膜上皮過形成	8	5	-	1	3	4	0	1	-	↓0	
	腎臓	所見/検査例数	33	37	32	32	36	38	41	41	39	45	
		糸球体腎炎	21	↓16	19	16	18	16	20	14	16	16	
ke/ fd	骨髓 脊椎(椎骨)	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7	
		造血亢進	2	↑9	5	4	5	1	3	4	2	0	
	骨髓 (胸骨)	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7	
		造血亢進	2	↑9	5	4	5	1	3	4	2	0	
	骨髓 (大腿骨)	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7	
		造血亢進	2	↑9	5	4	5	1	3	4	2	0	
	脾臓	所見/検査例数	19	15	20	20	16	14	11	11	13	7	
		髓外造血亢進	3	↑9	8	4	5	2	4	5	3	0	
	卵巣	所見/検査例数	0	0	0	0	0	14	11	11	13	7	
		動脈炎	-	-	-	-	-	5	1	↓0	1	0	
	all	腎臓	所見/検査例数	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
			腎盂炎/腎盂腎炎	0	3	↑6	1	0	0	0	0	0	0
卵巣		所見/検査例数	0	0	0	0	0	52	52	52	52	52	
		動脈炎	-	-	-	-	-	6	1	↓0	1	↓0	

転帰: tk, 78 週間投与終了後最終計画殺動物 (主群); ke/fd, 途中死亡・切迫殺動物 (主群); all, 全動物 (主群)

有意差の検定は, Fisher の直接確率計算法 (片側検定) を用いて行った (↑↓P<0.05, ↑↓P<0.01)。

すべての投与群の雌雄において, 検体投与に関連するような非腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。

以上の結果から, ICR マウスを用いた 78 週間経口発癌性試験では, 本検体に発癌性は認められなかった。本試験における無毒性量 (NOAEL) は雌雄ともに 50 ppm (雄 5.04 mg/kg/day, 雌 4.78 mg/kg/day) と判断された。

③ピリダリルのイヌを用いた慢性毒性試験

(資料5-3)

試験機関：バナファーム ラボラトリーズ

報告書作成年：2001年 [GLP対応]

検体：ピリダリル

純度：

試験動物：ビーグル犬（投与開始時6ヵ月齢、体重；雄7.1～9.5kg、雌7.3～9.6kg）

1群あたり雌雄各4頭

投与期間：12ヵ月間

投与開始；1999年11月19日（雄）、26日（雌）

最終屠殺；2000年11月17日（雄）、24日（雌）

投与方法：検体をゼラチンカプセルに充填し、1.5、5、20および80mg/kg/dayの用量で1日1回、週7日反復経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

[投与量設定根拠]

試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；1日3回、症状所見および生死の有無を観察した。

投与期間中の死亡および投与に関連する症状所見は認められなかった。

詳細な症状観察；投与開始前に1回、投与期間中は週1回に頻度で以下の項目について観察した。

ケージ内観察；姿勢、歩行、振戦、痙攣、常同行動、異常行動、

活動性レベル

検査台観察；取り扱い易さ、筋緊張、振戦、痙攣、筋攣縮、呼吸、流涎、

流涙、瞳孔径、眼球突出、目・鼻の分泌物、皮膚、毛並み、

可視粘膜

投与に関連する変化は認められなかった。

体重；投与期間中には週1回の頻度で測定し、さらに投与開始前に1回、投与最終日および剖検日にも測定した。また、これを基に投与開始前からの体重増加量も算出した。

投与に関連する変化は認められなかった。

摂餌量；投与期間中には週1回の頻度で測定し、さらに投与開始前に1回および投与最終日にも測定した。また、体重増加量および摂餌量から摂餌効率も算出した。

投与に関連する変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与26および52週に、全動物の両眼について検査を実施した。

投与に関連する変化は認められなかった。

尿検査；投与開始の2および1週間前、投与13、26、39ならびに52週に新鮮尿および24時間蓄尿を採取し、以下の項目について測定した。

蓄尿サンプル；尿量、色調、尿比重

新鮮尿サンプル；pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、
ウロビリノーゲン、尿沈渣

対照群に比べ統計学的に有意な平均値の差が認められた項目を次表に示す。

性別	検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/day)			
			1.5	5	20	80
雌	尿比重	13		103▲ ¹⁾		

有意差の検定はDunnettの多重比較検定を用いて行った(▲：p<0.01)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

1)：1.070(群平均値)、1.016~1.076(背景値：平均値±2SD)

本変化は背景値の範囲内であり、20または80mg/kg/day群では同様の変化が認められていないことから、投与に関連しないものと考えられた。

血液学的検査；全動物について投与開始の2および1週間前、投与13、26、39ならびに52週に模側皮静脈より血液サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、
 平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、
 平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、白血球分類、
 プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

対照群に比べ統計学的に有意な平均値の差が認められた項目を次表に示す。

性別	検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/day)			
			1.5	5	20	80
雄	MCH	13				93▽ ¹⁾
	ヘモグロビン量	13		82▼ ²⁾		
	ヘマトクリット値	13		84▽ ³⁾		
	血小板数	39	135△ ⁴⁾			
	単球%	26		222△ ⁵⁾		
雌	MCH	13				95▽ ⁶⁾
		26	96△ ⁷⁾			96▽ ⁸⁾
		39				95▽ ⁹⁾
	血小板数	26				146△ ¹⁰⁾
	分葉核好中球%	52				80▽ ¹¹⁾

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (△▽ : p<0.05、▼ : p<0.01)。
 表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

- 1) : 20.4 pg (群平均値)、20.5~23.7 pg (背景値)
 - 2) : 13.1 g/dL (群平均値)、12.7~18.5 g/dL (背景値)
 - 3) : 40.0 % (群平均値)、37.9~54.4 % (背景値)
 - 4) : 31.6 10⁴/μL (群平均値)、14.8~31.2 10⁴/μL (背景値)
 - 5) : 4.0 % (群平均値)、-0.3~8.1 % (背景値)
 - 6) : 21.0 pg (群平均値)、20.5~23.7 pg (背景値)
 - 7) : 22.0 pg (群平均値)、21.2~24.4 pg (背景値)
 - 8) : 22.0 pg (群平均値)、21.2~24.4 pg (背景値)
 - 9) : 21.8 pg (群平均値)、22.0~24.4 pg (背景値)
 - 10) : 28.3 10⁴/μL (群平均値)、16.0~38.0 10⁴/μL (背景値)
 - 11) : 50.0 % (群平均値)、36.5~77.7 % (背景値)
- 1)~11)の背景値は平均値±2SDを示す。

平均 MCH の低値が 80mg/kg/day 群の雌雄に認められた。しかし、他の赤血球系パラメータおよび造血器に変化は認められず、背景値の範囲をわずかに外れる程度の変化であったことから、この変化に毒性学的意義はないと考えられた。

80mg/kg/day 群の雌で認められた平均血小板数の高値は、投与前のデータと明確な差がなく、背景値の範囲内であったことから、投与に関連しない変化と考えられた。この他の変化については明確な用量相関性がなく、ほぼ背景値の範囲内であったことから、いず

れも投与に関連しない変化と考えられた。

骨髄検査；剖検後、全動物から第4肋骨の骨髄を採取して有核細胞数を測定した。

投与に関連する変化は認められなかった。

血液生化学的検査；全動物について投与開始の2および1週間前、投与13、26、39ならびに52

週に橈側皮静脈より血液サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、
総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスアミナーゼ(AST)、
アラニンアミノトランスアミナーゼ(ALT)、アルカリ性ホスファターゼ(ALP)、
γ-グルタミルトランスペプチターゼ(γ-GPT)、総コレステロール、
血糖、尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウム、ナトリウム、
カリウム、クロライド

対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別	検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/day)			
			1.5	5	20	80
雄	ALP	13				157
		26				204
		39				202 Δ
		52				218
	AST	13				73 ∇ ¹⁾
	血糖	39				111 Δ ²⁾
	ナトリウム	13		99 ∇ ³⁾		
		26		99 ∇ ⁴⁾		
雌	ALP	39				191
	A/G 比	13		116 Δ ⁵⁾		
	カルシウム	26		95 ∇ ⁶⁾		
	無機リン	52			80 ∇ ⁷⁾	

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (Δ ∇ : $p < 0.05$)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

- 1) : 19 IU/L (群平均値)、20~32 IU/L (背景値)
 - 2) : 97 mg/dL (群平均値)、62~102 mg/dL (背景値)
 - 3) : 146.6 mEq/L (群平均値)、145.9~151.1 mEq/L (背景値)
 - 4) : 146.7 mEq/L (群平均値)、143.0~150.6 mEq/L (背景値)
 - 5) : 1.84 (群平均値)、1.14~1.82 (背景値)
 - 6) : 10.4 mg/dL (群平均値)、9.0~11.8 mg/dL (背景値)
 - 7) : 2.8 mg/dL (群平均値)、2.6~4.6 mg/dL (背景値)
- 1)~7)の背景値は平均値 \pm 2SDを示す。

対照群と比較して、平均 ALP の高値または高値傾向が 80mg/kg/day 群の雄で投与 13、26、39 および 52 週に、同群の雌で投与 39 週に認められた。また、ALT の高値が 80mg/kg/day 群の雄 1 例で投与 52 週に認められた。

平均 AST および血糖値の変化が 80mg/kg/day 群の雄で認められたが、投与前のデータと明確な差がなく、ほぼ背景値の範囲内の変化であったことから、投与に関連しない変化と考えられた。この他の変化についても明確な用量相関性がなく、背景値の範囲内の変化であったことから、いずれも投与に関連しない変化と考えられた。

剖 検 ; 最終投与翌日に全動物を屠殺し、剖検を行った。

自然発生所見と考えられる下垂体の嚢胞や空腸粘膜の赤色点が認められたが、投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量；剖検後、全動物について以下の臓器の重量を測定した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓（胆嚢を含む）、肺（気管支を含む）、
 卵巣、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、子宮

対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別	臓器		投与量 (mg/kg/day)			
			1.5	5	20	80
雌	肝臓	絶対重量				130
		相対重量				132△

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (△: p<0.05)。
 表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

絶対および相対肝重量の高値または高値傾向が 80mg/kg/day 群の雌に認められた。

病理組織学的検査；全動物の以下の全臓器について病理組織学的検査を行った。

副腎、大動脈（胸部）、骨髄（大腿骨および胸骨）、
 脳および脳幹（延髄／橋、小脳および大脳）、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上
 体、食道、眼球（網膜）、大腿骨（関節を含む）、胆嚢、心臓、回腸、空腸、
 腎臓、涙腺、喉頭、肝臓、肺および気管支、乳腺（雌のみ）、
 腸間膜リンパ節、鼻甲介骨、視神経、卵巣、脾臓、上皮小体、咽頭、
 下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下、舌下）、坐骨神経、
 骨格筋（大腿二頭筋）、皮膚（下腹部）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、
 胸骨、胃、顎下リンパ節、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、
 子宮、膈および子宮頸管

自然発生所見と考えられる前立腺のリンパ球浸潤や下垂体の嚢胞、あるいは空腸の
 粘膜固有層の出血が認められたが、投与に関連した変化は認められなかった。

以上のように、ピリダリルの投与により肝臓に対する影響が 80mg/kg/day で認められた。しかしな
 がら、肝臓の病理組織学的検査では異常は認められず、これらの影響は軽微であると考えられた。
 このことから、本試験条件下でのビーグル犬における無毒性量 (NOAEL) は雌雄ともに 20mg/kg/day
 であると考えられた。

(6) 繁殖毒性及び催奇形性

①ピリダリルのラットにおける繁殖性試験

(資料 6-1)

試験機関：財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検 体：ピリダリル原体

純 度：

試験動物：Sprague-Dawley 系 (Crj:CD (SD)) ラット， 1 群当り雄 24 匹， 雌 24 匹
投与開始時 5 週齢， 体重範囲；雄 133~145 g， 雌 112~125 g

試験期間：2000 年 7 月 11 日 P 世代投与開始
2001 年 4 月 13 日 F2 世代児動物最終剖検

投与期間：P 世代； 交配の 10 週間前から F1 児動物の離乳まで
F1 世代； 交配の 10 週間前（離乳時）から F2 児動物の離乳まで
F2 世代； 雌， 離乳時から剖検までの約 5 週間

投与方法：検体を 0， 40， 200 または 1000 ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。飼料は 2~4 週間に 1 度調製し， 使用時まで低温， 暗所で保存した。なお， 対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

[用量設定根拠]

方法及び試験項目：概要を以下の表にまとめた。

試験の概要

世代	期間 (週)	作業手順	試験項目
P	育成 (10)	一般状態及び死亡の有無の観察(投与期間中毎日) 体重及び摂餌量測定 (投与期間中原則として毎週)	一般状態, 死亡 体重, 体重増加量, 摂餌量, 検体採取量 食餌効率
	交配 (2)	性周期観察 (交配前少なくとも 3 週間) 雌雄 1 対 1 で交配, 腔垢中の精子で	性周期の長さ, 正常 性周期の出現率 交尾成立までの日数, 交尾率
	妊娠 (3)		
	出産 哺育 (3)	出産状況の観察 (哺育 0 日) 出産児の生死, 性, 外表観察, 生存(哺育 0,4,21 日)の観察, 体重測定 (哺育 0,4,7,14,21 日), 死亡児の剖検 同腹児数調整 (生後 4 日, 雌雄各 4 匹) 選抜されなかった 4 日齢児の剖検 生後 21 日	出産率, 妊娠期間 産児数, 児の一般状 態, 死亡, 性比, 生存 率, 体重 剖検所見 剖検所見
	離乳	F1 親動物の選抜 (各腹各性 1 匹または 2 匹を選抜) 選抜されなかった F1 離乳児の剖検 P 親動物の剖検, 臓器重量測定, 精子検査, 病理組織学的検査 (卵胞数を含む)	剖検所見, 臓器重量 剖検所見, 着床数, 臓 器重量, 精子数, 運動 率形態, 病理組織学的 所見(卵胞数を含む) 包皮分離, 腔開口
F1	育成 (10) 交配 (2) 妊娠 (3) 出産 哺育 (3) 離乳	性成熟の観察 (雄 35 日齢, 雌 27 日齢から) (兄妹交配は避けた) (P 親動物及び F1 児動物に準ずる) 一般状態及び死亡の有無の観察(投与期間中毎日) 体重及び摂餌量測定 (投与期間中毎週) 性成熟の観察 (雌 27 日齢から) 剖検, 子宮重量測定	(P 親動物及び F1 児動物に準ずる) 一般状態, 死亡 体重, 摂餌量 腔開口 剖検所見, 子宮重量
F2	育成 (5)		

P及びF1親動物：

一般状態及び死亡；

各動物の一般状態及び死亡について毎日少なくとも1回（妊娠21日から分娩完了までは2回）ケージの外から観察した。体重測定時には、詳細な身体検査を行った。

体重；

雄の体重を投与開始日、交配前育成期間中と繁殖期間中は毎週、及び剖検日に測定した。雌の体重を投与開始日、交配前育成期間中は毎週、繁殖期間中は妊娠0、7、14、20日と哺育0、4、7、14、21日及び剖検日に測定した。交尾しなかった雌及び出産しなかった雌は、それぞれ交配期間終了日及び交尾後25日に、その後は毎週及び剖検日に測定した。

体重増加量；

雄は、投与開始時の体重を基準値として、交配前育成期間中、繁殖期間中及び剖検日の体重増加量を各々算出した。

雌は、投与開始時、妊娠0日及び哺育0日の体重を基準値として、交配前育成期、妊娠期及び哺育期の各期間中の体重増加量を各々算出した。剖検日の体重増加量は、投与開始時の体重を基準値として算出した。

摂餌量；

哺育4日の雌を除いて、体重測定日に飼料の給与量と残量を測定し、飼料総消費量を給与日数で除して各動物の1日当りの摂餌量（g/rat/日）を算出した。哺育期間中の摂餌量については、母動物と児動物によって消費された総量として表した。交配期間中は雌雄とも摂餌量を測定しなかった。

検体摂取量；

各投与群の雌雄親動物それぞれについて、交配前育成期間および繁殖期間中の検体摂取量（mg/kg/日）を次の式から週ごとに求めた。

$$\text{検体摂取量 (mg/kg/日)} = \frac{\text{平均摂餌量 (g/rat/日)} \times \text{投与量 (ppm)}}{\text{平均体重 (g)}}$$

食餌効率；

交配前育成期間中及び繁殖期間中の各群の平均食餌効率を平均摂餌量に対する平均体重増加量の割合（%）として算出した。

交配及び妊娠の確認；

雌を同群の雄と1対1で同居させて交配を行った。F1動物については、兄妹交配を避けた。同居後、膣栓または膣垢中の精子を認めた場合に交配成立と判断した（膣栓／精子確認日＝妊娠0日）。妊娠の有無を分娩、また子宮内の着床痕によって確認した。

繁殖性に関する指標；

育成、交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

性成熟；F1雄の包皮分離について35日齢から、F1雌の膣開口について27日齢からそれぞれ完了するまで観察した。包皮分離または膣開口が完了した時点の動物の体重を測定した。

性周期；交配前に少なくとも3週間、各雌から膣垢を採取し、発情の周期性と性周期の長さを調べた。各雌の性周期の長さは、発情の第1日から次の発情の前日までの平均日数として表した。正常性周期は、発情前期または発情期の膣垢像を示した雌の百分率として表した。但し、発情前期または発情期の膣垢像を7日以上示す雌は正常とはみなさなかった。

交配成立までの期間；雌雄を同居後、膣栓または膣垢中の精子が確認されるまでの日数として表した。

交尾率 (%) = (交尾を認めた雄(雌)数 / 交配に用いた雄(雌)数) x 100

受胎率 (%) = (妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数) x 100

出産率 (%) = (正常出産雌数 / 妊娠雌数) x 100

1匹以上の生存児を出産したものを正常出産とした。

妊娠期間；交尾成立日(妊娠0日)から分娩完了日(哺育0日)までの期間を日数で表した。

着床数；剖検時に各雌の子宮内の着床痕を数えた。

精子検査；精巣の精子頭部数は精巣から精子頭部を採取し、血球計算盤を用いて測定した。精子頭部数は、精巣当り及び精巣1g当りの数として表した。精巣上体の精子の数、運動性及び形態性は精巣上体尾部から精子を採取し、数と運動性については精子自動解析装置を用いて計測し、形態は10%中性緩衝ホルマリンで固定後、顕微鏡で観察した。精子数は、精巣上体尾部当り及び精巣上体尾部1g当りの数として表した。精子の運動性は、自動性を示す精子の百分率を精子運動率として表した。精子の形態は、各雄で観察した200個当りの正常形態精子の百分率として表した。

病理学的検査；

剖検所見；雄は交尾した雌が児を出産した後に、雌は児動物が離乳した後に性周期の段階を調べ、発情休止期または発情後期の膣垢像を示しているものを安楽死させて、体表、すべての体孔ならびに頭蓋腔、胸腔及び腹腔とそれらの内容物を含む各動物の全身を肉眼で検査した。

試験途中で死亡または瀕死状態のため安楽死させた動物についても、発見後速やかに剖検して、すべての病理学的所見を記録した。

臓器重量；最終剖検時まで生存した全親動物の以下の臓器を秤量した。脳、下垂体、甲状腺、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精嚢(凝固腺含む)及び前立腺。臓器重量は、絶対重量と体重比重量の両方で表した。腎臓、副腎、卵巣、精巣および精巣上体については、両側の平均値として表した。精巣を除く臓器、膣及び肉眼的に変化の認められた臓器または組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定して保存した。精巣はFSA液(ホルマリン-ショ糖-酢酸混合液)で固定した。試験途中で死亡または瀕死状態のため安楽死させた動物については、上記の臓器または組織を固定して保存したが、重量は測定しなかった。

病理組織学的所見；対照群と高用量群において児の得られた雌雄各10匹を無作為に選抜して、以下の臓器を病理組織学的に検査した。下垂体、甲状腺、副腎及び

生殖器官（卵巣、卵管、子宮、陰、精巣、精巣上体、精囊、凝固腺または前立腺）。また、標的臓器である肺及び肝臓も病理組織学的に検査した。精巣は精子形成の異常について精査した。

F1雌親動物の卵巣については原始卵胞数の測定も行った。また、すべての群において交配不成立あるいは児の得られなかった交配ペアの雌雄、及び1腹の全哺育児が死亡した母動物について、下垂体、副腎及び生殖器官を病理組織学的に検査した。

また、1000 ppm群で甲状腺、肺及び卵巣に病理組織学的異常が認められたため、全親動物のこれらの臓器を病理組織学的に検査した。

F1及びF2児動物：

一般状態及び死亡；

哺育期間中毎日、ケージの外から児動物を観察した。また、体重測定の際に詳細な外表検査を行った。

産児数；

哺育0日における生存児と死亡児の合計として表した。

性比；

哺育0日に雌雄の児数を記録し、次式から求めた。性比＝総雄産児数／総産児数
生存率；哺育0、4及び21日における生存率を次の式から求めた。

哺育0日の生存率（％）＝（哺育0日の生存児数／産児数）×100

哺育4日の生存率（％）＝（哺育4日の生存児数／哺育0日の生存児数）×100

哺育21日の生存率（％）＝（哺育21日の生存児数／生後4日に選抜した児数）×100

体重；

各腹について哺育0、4、7、14及び21日に児動物の体重を測定した。哺育0日は雌雄別に腹ごとに、哺育4日の選抜後は個体別に体重を測定し、それらの値から腹当りの平均体重を求めた。また、母動物を標本単位として各群の平均値を算出した。

肛門生殖突起間距離；

200及び1000 ppm群においてF1雌の膣開口日が高値であったため、F2全児動物の肛門生殖突起間距離を哺育0日に測定した。肛門生殖突起間距離は、各腹の雌雄別に絶対値及び体重の3乗根に対する相対値として表し、それらの値から各群の平均値を求めた。

剖検所見；

哺育4日の哺育児数調整時に選抜されなかった哺育児はその日に、F1世代の親動物に選抜されなかったF1離乳児と性成熟の観察用に選抜されなかったF2離乳児はそれぞれ26日齢で剖検した。哺育期間中に死亡した児動物は、発見後速やかに剖検した。

臓器重量；

各腹で雌雄それぞれ1匹（同腹児のなかに片方の性がない場合は他方の性のみ1匹）について、脳、脾臓、胸腺及び子宮を測定した。また、1000 ppm群のF2離乳児雄において胸腺重量（絶対および相対）の低値が認められたことから、F2離乳児

のうち、対照群および 1000 ppm 群の雄児各 10 例の胸腺を病理組織学的検査に供した。

腔開口観察のため選抜された F2 雌：

一般状態及び死亡；

毎日少なくとも 1 回ケージの外から観察した。また、体重測定の際に詳細な身体検査を行った。

体重；

選抜日、その後は毎週及び剖検日に測定した。

摂餌量；

体重測定日に各ケージについて飼料の給与量と残量を測定し、1 日当りの摂餌量 (g/rat/日) を算出した。

性成熟；

腔開口について 27 日齢から毎日観察し、完了日を確認した。腔開口の完了時に体重を測定した。

病理学的検査

剖検；約 8 週齢で性周期を調べ、発情前期の腔垢像を示しているものを剖検した。

臓器重量；選抜された全 F2 雌の子宮を秤量し、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定して保存した。

結果：概要を以下の表に示す。

結果：

世代		親：P 児：F1				親：F1 児：F2				
投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった								
	死亡数	雄	0	0	0	1	0	1	0	0
		雌	0	0	0	0	1	0	0	0
	体重	雄	-	有意差なし	↓第2,3,9,10週, ↓第4,7,8週, ↓第5,6週	↓第16週, ↓第1,15週	-	有意差なし	有意差なし	↓第5,11,12週, ↓第6,10週
		雌	-	有意差なし	有意差なし	↓第4,8,9週, 妊娠20日, 哺育4,14日	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし
	体重増加量	雄	-	有意差なし	↓第1,10,11週, ↓第2,4,7,9週, ↓第5,6週	↓第1,16週	-	有意差なし	有意差なし	↓第11,12週, ↓第5,10週
		雌	-	有意差なし	有意差なし	↓第1,3,5,10週, ↑哺育21日, ↓第4週	-	有意差なし	有意差なし	↑妊娠20日, ↓第1週, ↑哺育21日
	摂餌量	雄	-	有意差なし	↓第1,3,8週, ↓第4,5,7週, ↓第6週	↓第14,15週, ↓第9,10週, ↓第1,8週	-	有意差なし	有意差なし	↓第5,7週
		雌	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	↓妊娠7,14日	↑哺育7,14日
	検体摂取量 ^a (mg/kg/日)	雄	-	2.80	13.78	68.7	-	3.40	16.96	83.7
雌		-	3.11	15.7	79.1	-	3.62	18.3	91.4	
食餌効率 ^a (%)	雄	21.21	20.97	20.93	20.33	27.56	27.19	26.91	26.66	
	雌	12.81	13.67	12.69	12.18	19.53	19.49	18.73	19.49	

太枠内は検体の影響であることを示す。-:対照群。

a: 交配前育成期間 (10 週間) の平均

Dunnett の多重比較法: 体重, 体重増加量, 摂餌量

Fisher の直接確立計算法: 一般状態

↑↓: P ≤ 0.05, ↑↓: P ≤ 0.01, ↓↓: P ≤ 0.001 で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

結果 (続き) :

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000
親動物	臓器重量								
	脳								
	雄 A(mg)	2227	2183	2212	2177	2157	2143	2170	2152
	R(%)	0.398	0.392	0.412	↑0.425	0.363	0.361	0.376	0.387
	雌 A(mg)	1989	1964	2010	1982	1946	1961	1976	↑2014
	R(%)	0.667	0.652	0.684	0.687	0.620	0.626	↑0.656	0.646
	甲状腺								
	雄 A(mg)	30.8	32.3	30.0	30.2	30.0	30.4	31.5	32.4
	R(%)	0.00546	0.00576	0.00560	0.00584	0.00504	0.00509	0.00541	↑0.00578
	雌 A(mg)	23.2	23.3	23.8	25.8	22.9	22.7	22.2	25.2
	R(%)	0.00778	0.00774	0.00812	↑0.00891	0.00730	0.00725	0.00737	0.00807
	肺								
	雄 A(mg)	2034	1950	1951	1835	2015	2025	2063	2184
	R(%)	0.360	0.350	0.361	0.356	0.336	0.337	0.354	0.391
	雌 A(mg)	1403	1555	1570	1562	1507	1607	1460	1789
	R(%)	0.469	0.517	0.529	↑0.542	0.482	0.514	0.486	0.571
	肝臓								
	雄 A(mg)	20016	19675	18692	↓18424	23362	22670	22653	22187
	R(%)	3.54	3.51	3.46	3.58	3.86	3.76	3.86	3.94
	雌 A(mg)	13427	13287	13392	13163	14788	15186	13441	14994
	R(%)	4.49	4.39	4.53	4.55	4.69	4.82	4.44	4.80
	脾臓								
	雄 A(mg)	834	837	836	↓731	907	881	863	↓785
	R(%)	0.149	0.150	0.154	0.143	0.151	0.147	0.149	0.140
	雌 A(mg)	607	611	622	562	633	625	627	651
	R(%)	0.203	0.202	0.211	0.194	0.201	0.199	0.208	0.208
	腎臓								
	雄 A(mg)	1630	1632	1620	1604	1779	1770	1806	1752
	R(%)	0.290	0.292	0.300	↑0.312	0.297	0.295	0.310	↑0.313
	雌 A(mg)	1103	1083	1077	1083	1182	1185	1144	1189
R(%)	0.369	0.358	0.366	0.375	0.375	0.378	0.379	0.380	
精巣									
雄 A(mg)	1716	1666	1741	1711	1754	1800	↑1849	↑1889	
R(%)	0.3071	0.2990	0.3234	↑0.3342	0.2970	0.3027	0.3193	↑0.3394	
精巣上体									
雄 A(mg)	683	683	700	684	685	677	692	693	
R(%)	0.1222	0.1225	0.1301	↑0.1335	0.1155	0.1137	0.1195	0.1247	
精嚢									
雄 A(mg)	2490	2577	2507	2401	2388	2489	2591	2583	
R(%)	0.444	0.462	0.467	0.470	0.405	0.418	0.448	↑0.465	
卵巣									
雌 A(mg)	55.1	56.7	58.8	↑61.2	57.0	57.4	↑64.0	↑69.5	
R(%)	0.01847	0.01878	0.01995	↑0.02123	0.01818	0.01836	↑0.02117	↑0.02224	

太枠内は検体の影響であることを示す。

a 平均数, A 絶対重量, R 体重比重量

Dunnett の多重比較法 : 臓器重量

↑ ↓ : P ≤ 0.05, ↑ ↓ : P ≤ 0.01, ↑ ↓ : P ≤ 0.001で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

結果 (続き) :

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000	
親動物	原始卵胞数 ^a	/				384	/			462
	剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった								
	病理組織学的所見 :									
	甲状腺小型濾胞増加									
	雄	1/24	2/24	2/24	2/24	3/24	2/24	2/24	3/24	
	雌	1/23	2/24	0/24	↑7/24	1/23	3/23	2/24	↑7/24	
	卵巢間質腺細胞空胞化									
雌	1/23	1/24	0/24	6/24	1/23	0/23	0/24	↑8/24		

太枠内は検体の影響であることを示す。斜線:未測定。

^a 平均

Fisher の直接確率計算法 : 剖検所見, 病理組織学的所見

t検定 : 原始卵胞数

↑: $P \leq 0.05$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

結果 (続き) :

世代	親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2					
投与量 (ppm)	0	40	200	1000	0	40	200	1000		
親動物	繁殖能力									
	雄	包皮分離								
		日齢 ^a					41.9	42.1	42.5	41.5
		体重 ^a					202.3	196.0	196.8	↓185.5
		交尾率(%)	100.0	100.0	100.0	100.0	95.7	100.0	100.0	100.0
		精子頭部数 (x10 ⁶) ^{a,b}	211 133	204 128	218 134	202 127	231 143	235 141	247 144	248 142
		精子数 (x10 ⁶) ^{a,c}	259 746	250 703	293 829	293 868	254 743	255 757	255 747	278 821
		精子運動率 (%) ^a	70.6	75.2	↑76.8	75.4	77.2	78.6	76.1	78.5
		正常形態精子 (%) ^a	97.8	98.8	↑99.2	99.0	98.8	98.7	96.6	98.5
		雌	腔開口							
	日齢 ^a						29.0	29.8	↑31.0	↑31.1
	体重 ^a						90.5	93.8	94.8	94.4
	性周期の長さ(日) ^a		4.2	4.4	4.2	4.3	4.3	4.4	4.1	4.4
	交配成立までの日数 ^a		2.9	2.8	2.7	2.5	2.9	3.9	2.5	3.1
	正常性周期 (%)		100.0	100.0	100.0	95.8	100.0	100.0	100.0	100.0
	交尾率(%)		100.0	100.0	100.0	100.0	95.7	100.0	100.0	100.0
	受胎率(%)		91.7	95.8	91.7	100.0	95.5	91.7	95.8	100.0
	出産率(%)		100.0	100.0	100.0	100.0	95.2	100.0	100.0	100.0
	妊娠期間 (日) ^a		22.2	22.1	22.0	22.0	22.4	22.1	↓22.0	↓22.0
着床数 ^a	15.9	16.0	15.6	14.8	13.3	15.7	15.2	16.5		

太枠内は検体の影響であることを示す。斜線：未測定。

a 平均,

b 上段は精巣当りの精子頭部数, 下段は精巣 1g 当りの精子頭部数

c 上段は精巣上体尾部当りの精子数, 下段は精巣上体尾部 1g 当りの精子数

Dunnett の多重比較法: 包皮分離日体重, 腔開口日体重, 精子頭部数, 精子数, 着床数

Fisher の直接確立計算法: 交尾率, 受胎率, 出産率, 正常性周期

Mann-Whitney の U 検定: 包皮分離日, 腔開口日, 精子運動率, 正常形態精子, 性周期の長さ, 交配成立までの日数, 妊娠期間

↑ ↓: P ≤ 0.05, ↑ ↓: P ≤ 0.01, ↑ ↓: P ≤ 0.001 で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

結果 (続き) :

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000	
児動物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった								
	産児数 ^a	14.4	14.9	14.4	13.5	12.7	14.4	14.0	15.3	
	性比 (%) ^b	0.485	0.526	0.498	0.502	0.444	0.492	0.512	0.499	
	生存率 (%)									
	哺育0日	98.8	99.2	98.9	97.9	98.4	96.7	98.0	98.0	
	哺育4日	98.6	99.5	97.5	98.9	94.4	94.1	95.8	99.5	
	哺育21日	99.4	100	99.4	100	100	99.4	100	99.5	
	体重 (g) ^a									
	雄	生後 0日	6.4	6.2	6.4	6.3	6.8	6.4	6.4	↓6.1
		生後 4日 ^b	10.4	10.0	10.0	10.0	11.3	10.4	10.5	10.2
		生後 7日	17.4	17.0	16.5	16.6	18.8	17.6	17.6	↓17.1
		生後14日	35.1	34.5	33.4	34.0	38.8	37.6	36.8	37.4
		生後21日	58.5	56.8	↓53.5	↓52.9	63.8	61.8	↓59.2	↓57.9
	雌	生後 0日	6.1	5.9	6.0	5.9	6.3	6.1	6.1	5.9
		生後 4日 ^b	9.9	9.7	9.5	9.6	10.9	10.0	9.9	9.8
	生後 7日	16.6	16.4	15.7	15.8	18.2	17.1	16.9	↓16.4	
	生後14日	33.8	33.3	32.4	32.7	37.6	36.7	↓35.3	36.2	
	生後21日	55.9	54.6	↓51.3	↓50.5	60.4	59.3	↓56.4	↓55.8	
	肛門生殖突起間距離 ^a (哺育0日)									
	絶対値 (mm)					2.88	2.84	2.86	2.81	
	相対値					1.524	1.532	1.544	1.536	
	体重 ^a (g)					6.8	6.4	6.4	↓6.1	
	剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった								
	臓器重量 ^a :									
	脳									
	雄 A (mg)	1553	1517	1526	1521	1593	1577	1571	1569	
	R (%)	1.86	1.90	↑2.06	↑2.11	1.83	1.86	↑1.94	↑2.00	
	雌 A (mg)	1491	1467	1474	1467	1527	1521	1525	1510	
	R (%)	1.97	2.00	↑2.15	↑2.22	1.89	1.93	↑2.04	↑2.07	
	胸腺									
	雄 A (mg)	312	301	↓261	↓251	351	342	↓297	↓280	
	R (%)	0.371	0.375	0.350	0.345	0.401	0.403	0.364	↓0.354	
	雌 A (mg)	311	282	↓257	↓239	337	320	299	↓283	
	R (%)	0.410	0.380	0.371	0.360	0.414	0.405	0.399	0.386	
	病理組織学的検査 : 胸腺					異常なし			異常なし	

太枠内は検体の影響であることを示す。斜線 : 未測定。

a 平均, b 児数調整前

A 絶対重量, R 体重比重量

Dunnettの多重比較法 : 産児数, 体重, 肛門生殖突起間距離, 臓器重量

Fisherの直接確立計算法 : 性比

Mann-WhitneyのU検定 : 一般状態, 生存率, 剖検所見

↑↓: P ≤ 0.05, ↓: P ≤ 0.01, ↑↓: P ≤ 0.001で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

結果 (続き) :

世代	選抜されたF2雌			
	0	40	200	1000
投与量 (ppm)	0	40	200	1000
動物数	18	20	23	24
一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった			
死亡	0	0	0	0
体重	-	↑第5週	有意差なし	有意差なし
摂餌量	-	↑第3週	有意差なし	↑第2,3週
腔開口				
日齢 ^a	29.6	29.5	30.3	↑31.3
体重 ^a	95.4	98.2	97.5	↑104.6
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった			
子宮重量 ^a				
A(mg)	612	634	690	597
R(%)	0.312	0.301	0.339	0.291

太枠内は検体の影響であることを示す。

- : 対照群

a 平均

A 絶対重量, R 体重比重量

Dunnett の多重比較法 : 体重, 摂餌量, 腔開口日体重, 臓器重量

Fisher の直接確立計算法 : 一般状態

Mann-Whitney の U 検定 : 腔開口日

↑: $P \leq 0.05$, ↑↑: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

P及びF1親動物において、200 ppm群でP雄の体重、体重増加量及び摂餌量が主に交配前育成期間中に有意に低下した。剖検で卵巣 (F1雌の絶対と体重比) と精巣 (F1雄の絶対) の重量が有意に増加したが、病理組織学的にはこれらの臓器に異常は認められなかった。1000 ppm群で影響はより明らかとなり、P及びF1雄とP雌の体重、P及びF1雌雄の体重増加量ならびにP及びF1雄の摂餌量が有意に低下した。臓器重量の測定で、甲状腺 (P雌とF1雄の体重比)、卵巣 (P及びF1雌の絶対と体重比)、肺 (P雌の体重比) ならびに精巣 (P雄の体重比、F1雄の絶対と体重比) の重量が有意に増加した。なお、有意差の認められた精巣および卵巣の絶対重量は、いずれも背景データの範囲内あるいは若干上回る程度の変化であった (絶対重量の背景データは、精巣 : 1627-1875 mg, 卵巣 : 45.3-67.9 mg)。病理組織学的検査で、1000 ppm群のP及びF1雌の甲状腺に小型濾胞増加の出現頻度の有意な増加とP及びF1雌の卵巣に間質腺細胞の空胞化の出現頻度の増加 (F1雌で有意差あり) が認められた。しかし、卵巣の原始卵胞数は対照群とほぼ同じであった。甲状腺の変化は、ラットでの90日間亜急性経口毒性試験及び慢性毒性・発がん性併合試験において観察されていないことから、経産雌に特有な現象である可能性が考えられた^(参照文献1)。一方、肺 (P雌)、甲状腺 (F1雌) 及び精巣 (P及びF1雄) の臓器重量に統計学的な有意差がみられたが、病理組織学的な異常はみられず、これら臓器重量の変化の毒性学的意味は明らかでなかった。なお、その他の臓器に

においても絶対あるいは体重比重量に統計学的な差が認められたが、いずれも体重の低値に起因した変化と考えられた。

親動物の繁殖指標に関して、F1雌の200及び1000 ppm群において腔開口が有意に遅延したが、完了日の平均体重に有意差はみられなかった。一方、F2世代の1000 ppm群では、腔開口時の体重の有意な増加を伴う腔開口の遅延が認められた。しかしながら、いずれの投与群の腔開口日も背景データの範囲(29.6~31.5日)内であり、さらに子宮重量、性周期、妊娠状態、分娩及び哺育にも異常はみられないことから、雌の繁殖に及ぼす影響は非常に軽微なものであったことが示唆される^①。一方、1000 ppm群で、包皮分離完了時のF1雄の平均体重が軽度ではあるものの、統計学的に有意に低かった。しかし、包皮分離完了の平均日齢は対照群とほぼ同じであった。これらの雄の妊性、精子検査時の所見及び精巢の病理組織学的所見にも異常は認められなかったことから、包皮分離日体重の軽度の低値に毒性学的意味はないと思われる。なお、妊娠期間の短縮がF1世代の200及び1000 ppm群でみられたが、背景データの範囲内(22.0~22.6日)であることから、明らかな検体投与との関連はないと考えられた。

F1及びF2児動物については、200及び1000 ppm群で体重が有意に減少した。胸腺^②および脳重量において変化が認められたが、いずれも体重の低値に起因した変化と考えられた。また、胸腺の病理組織学的検査に異常はみられなかった。その他、臨床所見、剖検所見、F2児の肛門生殖突起間距離及び臓器重量など他の指標に検体投与に関連する変化は観察されなかった。また、40 ppm群の児動物に検体投与の影響はなかった。

以上の結果から、親動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は40 ppm(雄:平均3.10 mg/kg/日(2.80~3.40 mg/kg/日), 雌:平均3.37 mg/kg/日(3.11~3.62 mg/kg/日))であり、繁殖能力及び児動物に対する無毒性量は各々40 ppm(雄:平均3.10 mg/kg/日(2.80~3.40 mg/kg/日), 雌:平均3.37 mg/kg/日(3.11~3.62 mg/kg/日))であった。

申請者註1 甲状腺小型濾胞について:

- 1000ppm群において甲状腺小型濾胞の増加(P雌、F1雌)が有意に認められたが、次の点を考慮すると当該所見は毒性学的に重篤な変化ではないと考えられた。
- (1) 本所見は対照群でもみられている変化である。
 - (2) 有意差の認められた高用量群(1000 ppm)においても児動物の脳重量ならびに生存性などに影響はみられなかった。
 - (3) 妊娠動物において、甲状腺機能が亢進すると胎児体重および胎盤重量の増加がみられ、機能低下すると胎児体重の低値がみられるといわれている(Kumar R and Chaudhuri B. N., 1989)が、ピリダリル原体を高用量投与(250 mg/kg/day;本試験の1000ppmより高用量)したラット催奇形性試験(資料6-2)では、胎児体重ならびに胎盤重量には影響は認められなかった。

(4)従って、P雌、F1雌でみられた甲状腺の変化について、その発生機序は明らかではないが、妊娠動物の甲状腺機能に重篤な影響を及ぼしているとは考えられなかった。

尚、ラットに3500 ppm (雄: 232 mg/kg/day、雌: 253 mg/kg/day) という高用量を3ヶ月間投与した試験、ならびに2年間にわたり1000 ppm (雄: 34.3 mg/kg/day、雌: 42.8 mg/kg/day) を投与した試験においても甲状腺に異常がみられなかったことから、ピリダリルは甲状腺に対し直接的な作用は及ぼすものではないと考えられる。

引用文献:

Kumar R and Chaudhuri B. N., Altered maternal thyroid function: Fetal and neonatal development of rat, *Ind. J. Physiol. Pharmac.*, **33**, 233-238 (1989)

申請者註2. ピリダリルは *in vitro* ラット性ホルモン生合成系に対する影響検討試験 (資料9-2) の結果、 17β -HSD活性の阻害を介した非常に弱いテストステロン生合成阻害活性を有することが判明した。しかし、アロマターゼやエストラジオール生合成の阻害は $30\mu\text{M}$ という高濃度でも認められなかった。また、ラットを用いた4週間投与によるホルモン検討試験 (資料9-3) の結果、高用量 (2000ppm群、雄で94.9mg/kg/day、雌で102.2mg/kg/day) においても、テストステロンおよびエストラジオールの血中濃度に影響は認められなかった。以上のことから、今回認められた腔開口の遅延はエストラジオール等のホルモン変動を介した変化である可能性は低いと考えられた。

申請者註3 200 ppm以上の群で胸腺の絶対重量の低値がみられたほか、1000 ppm群のF2雄児では体重比重量の低値が認められた。ラットの成獣および児動物において、体重増加抑制がみられた場合、体重の増加抑制よりも胸腺重量の増加抑制の程度の方がより大きくなることが知られている (Oishi et al., 1979; Menendez-Patterson et al., 1987)。また、当試験のF2雄児および一般毒性試験において、胸腺の病理組織学的検査に異常がみられないことから、S-1812が胸腺に対し直接的に作用するものではないと考えられる。したがって、今回認められた胸腺重量の低値は、児体重の低値に関連した二次的な変化であると考えられた。

引用文献:

Oishi, S. et al., The effect of food restriction for 4 weeks on common toxicity parameters in male rats, *Toxicol. Allp. Pharm.*, **47**, 15-22 (1979)

Menendez-Patterson A. et al., Malnutrition in rats during pregnancy and lactation period: A study on body, spleen and thymus weights and hematologic parameters in dams and their offspring, *Rev. Esp. Fisiol.*, **43**, 287-296 (1987)

②ピリダリルのラットにおける催奇形性試験

(資料 6-2)

試験機関 財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検 体：ピリダリル原体
純 度：

供試動物：Sprague-Dawley 系 (Crj:CD (SD)) ラット, 1 群当り雌 24 匹
(入荷時 12 週齢, 体重 210~270 g)

試験期間：2001 年 5 月 28 日 交配開始
2001 年 6 月 22 日 最終帝王切開

投与方法：検体をコーンオイルに溶解し, 0 (対照), 10, 50 または 250 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間, 1 日 1 回経口投与した (陰栓/精子確認日=妊娠 0 日)。なお, 対照群の動物にはコーンオイルのみを同様に投与した。投与容量は体重 1 kg あたり 1 mL とし, 最新体重に基づいて算出した。

観察・検査項目：

母動物；一般状態及び死亡について毎日少なくとも 1 回 (投与期間中は 1 日 2 回) 観察して所見を記録した。各動物の体重を妊娠 0, 6, 9, 12, 15, 18 及び 20 日に測定した。妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じて補正体重を算出した。妊娠 9, 12, 15, 18 及び 20 日の各体重から妊娠 6 日の体重を減じて体重増加量を算出した。また, 補正体重値から妊娠 6 日の体重値を減じて補正体重増加量を算出した。各体重測定日間の飼料総消費量を日数で除して 1 日当りの摂餌量を算出した。妊娠 20 日に, 母動物を安楽死させて剖検し, 妊娠の成否と肉眼による病理学的変化について調べた。卵巣と子宮を摘出して, 卵巣については妊娠黄体数, 子宮については妊娠子宮重量, 着床数, 死亡胚・胎児数, 生存胎児数及び胎盤重量を記録した。

胎児；各生存胎児の性を判定して性比を算出するとともに, 体重を測定し, 外表の異常について肉眼で検査した。各腹約半数の胎児を Stuckhardt と Poppe の未固定内臓検査法に従って胸部及び腹部内臓の, 頭部は, ブアン液で固定した後に Wilson 法に準じて軟組織の奇形及び変異についてそれぞれ調べた。各腹の残り約半数の胎児は, エタノールで固定した後, アリザリン・レッド S とアルシアン・ブルーで骨・軟骨の二重染色を施し, 骨格の奇形及び変異について検査した。

結果：概要を次ページ以下の表に示す。

結果：
母動物；

投与量 (mg/kg/日)	0	10	50	250	
1群当り雌動物数	24	24	23 ^b	24	
死亡雌動物数	0	0	0	0	
非妊娠動物数	0	0	0	1	
妊娠動物数	24	24	23	23	
生存胎児のある雌動物数	24	24	23	23	
一般状態： 脱毛	0/24	3/24	↑4/23	↑4/23	
体重	—	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 15 日	
補正体重 ^a (g)	318	320	313	310	
体重増加量	—	有意差なし	↓妊娠 15, 18 日	↓妊娠 9~20 日	
補正体重増加量 ^a (g)	22	21	15	↓9	
摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 6-9, 9-12, 12-15 日	
剖検所見： 脱毛	0/24	3/24	↑4/23	↑4/23	
妊娠子宮重量 ^a (g)	82	83	81	79	
着床所見	妊娠黄体数 ^a	18.1	18.3	18.0	18.7
	着床数 ^a	16.3	16.2	15.4	16.0
	着床前胚死亡率 ^a (%)	9.0	10.9	13.2	13.1
	胚・胎児死亡率 ^a (%)	7.7	5.2	5.8	11.3
	生存胎児数 ^a	15.1	15.3	14.5	14.1
	性比	0.494	0.505	0.483	0.462
	胎児体重 ^a (mg)：雄	3497	3506	3681	3574
	雌	3326	3341	3484	3443
胎盤重量 ^a (mg)	524	511	519	532	
検査胎児 (腹) 数	362(24)	368(24)	333(23)	325(23)	
奇形胎児のある腹数 (%)	6(25.0)	↓1(4.2)	↓0(0.0)	2(8.7)	
変異胎児のある腹数 (%)	15(62.5)	15(62.5)	11(47.8)	14(60.9)	

太枠内は検体の影響であることを示す。—：対照群

a 平均

b 妊娠 20 日の剖検において、1 例の雌動物で挿管ミスによると思われる胸腹内臓器の癒着がみられたことから、この動物を評価から除外した。

着床前胚死亡率 (%) = (黄体数 - 着床数) x 100 / 黄体数

胚・胎児死亡率 (%) = (胚・胎児死亡数 / 着床数) x 100

性比 = 総雄胎児数 / 総生存胎児数

Dunnett の多重比較検定法：体重、補正体重、体重増加量、補正体重増加量、摂餌量、黄体数、着床数、生存胎児数、妊娠子宮重量、胎児体重、胎盤重量

カイ二乗検定または Fisher の直接確率計算法：一般状態、剖検所見、奇形および変異胎児を有する腹数、性比

Mann-Whitney の U 検定：着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率

↑↓：p ≤ 0.05, ↓：p ≤ 0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり

結果：(続き)

胎児；

投与量 (mg/kg/日)	0	10	50	250
外表奇形：				
検査胎児(腹)数	362(24)	368(24)	333(23)	325(23)
小下顎	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
臍帯ヘルニア	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
合計	0(0)	2(1)	0(0)	1(1)
内臓奇形：				
検査胎児(腹)数	174(24)	179(24)	162(23)	156(23)
内臓逆位	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
水頭	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
肺低形成	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
肺葉癒合(右葉)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
肺葉欠損(中葉)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
横隔膜ヘルニア	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
合計	3(3)	0(0)	0(0)	0(0)
内臓変異：				
検査胎児(腹)数	174(24)	179(24)	162(23)	156(23)
胸腺頸部残留	15(10)	10(7)	10(7)	↓1(↓1)
腎盂拡張	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
左臍動脈	1(1)	0(0)	0(0)	2(2)
合計	16(11)	11(8)	10(7)	↓4(4)
骨格奇形：				
検査胎児(腹)数	188(24)	189(24)	171(23)	169(23)
小下顎骨	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
外後頭骨および第1頸椎椎弓の癒合	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
肋軟骨分岐	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
胸椎体ダンベル状軟骨	2(2)	0(0)	0(0)	1(1)
合計	3(3)	1(1)	0(0)	2(2)
骨格変異：				
検査胎児(腹)数	188(24)	189(24)	171(23)	169(23)
頸肋	1(1)	0(0)	0(0)	2(2)
過剰肋骨	6(5)	6(5)	5(4)	6(6)
短小肋骨	0(0)	0(0)	2(2)	2(2)
波状肋骨	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
肋骨欠損(第13肋骨)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
胸椎体二分骨化	4(2)	1(1)	2(1)	4(4)
胸椎体ダンベル状骨化	3(3)	3(3)	4(4)	4(4)
腰椎弓未骨化	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
仙椎前椎骨数 25	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
合計	12(9)	11(8)	10(6)	17(13)

カイ二乗検定または Fisher の直接確率計算法：奇形および変異の出現頻度

↓：p ≤ 0.05, ↓↓：p ≤ 0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり

母動物への影響は、50及び250 mg/kg 群で認められた。50 mg/kg 群で、体重増加量が妊娠15日と18日に有意に抑制された。250 mg/kg 群で、妊娠15日の体重、投与期間を通じた体重増加量、補正体重増加量ならびに妊娠6～9日、9～12日及び12～15日の摂餌量に有意な低値がみられた。これらの群で投与期間中または投与終了後の期間中、また剖検時に脱毛の出現頻度が有意に高かった（それぞれ4/23例、17.4%；背景値は0.0～16.7%）が、脱毛はこの種の試験で通常みられる所見であることから、検体投与との関連は明らかでなかった。10 mg/kg 群では、検査したどの指標にも影響はみられなかった。

帝王切開では、卵巣と子宮またそのほかの臓器にも投与に関連する異常は何も認められなかった。妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率は、いずれの投与群においても、対照群とほぼ同じであった。

胎児に関しては、いずれの投与群においても生存胎児数、胚・胎児死亡率、胎児体重、胎盤重量及び性比に影響はみられなかった。生存胎児の外表、内臓及び骨格の奇形と変異の出現頻度に、検体投与に関連する増加はなかった。

以上の結果から、母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は10 mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は250 mg/kg/日であった。また、胚・胎児致死作用及び催奇形作用は認められなかった。

③ピリダリルのウサギにおける催奇形性試験

(資料 6-3)

試験機関 財団法人 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 2001 年

検 体：ピリダリル原体
純 度：

供試動物：日本白色種 (Kbl:JW) ウサギ, 1 群当り雌 25 匹 (高用量群は 30 匹)
(入荷時 17 週齢, 体重 3.60~3.70 kg)

試験期間：2001 年 2 月 12 日 交配開始
2001 年 3 月 16 日 最終帝王切開

投与方法：検体をコーンオイルに懸濁し, 0 (対照), 15, 50 または 150 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日から 27 日までの 22 日間, 1 日 1 回経口投与した (人工授精日=妊娠 0 日)。なお, 対照群の動物にはコーンオイルのみを同様に投与した。投与容量は体重 1 kg あたり 0.5 mL とし, 最新体重に基づいて算出した。

観察・検査項目：

母動物：一般状態及び死亡について毎日少なくとも 1 回 (投与期間中は投与の前後にそれぞれ少なくとも 1 回) 観察して所見を記録した。死亡または流早産動物は, 発見後速やかに剖検した。体重は妊娠 0, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 及び 28 日に測定した。妊娠 28 日の体重から妊娠子宮重量を減じて補正体重を算出した。妊娠 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 及び 28 日の各体重から妊娠 6 日の体重を減じて体重増加量を算出した。また, 補正体重値から妊娠 6 日の体重値を減じて補正体重増加量を算出した。妊娠 0 日から 27 日までの 3 日間隔と妊娠 27~28 日に, 各測定日間の飼料総消費量を日数で除して 1 日当りの摂餌量を算出した。妊娠 28 日に, 母動物を安楽死させて剖検し, 妊娠の成否と肉眼による病理学的変化について調べた。卵巣と子宮を摘出して, 卵巣については妊娠黄体数, 子宮については妊娠子宮重量, 着床数, 胚・胎児死亡数, 生存胎児数及び胎盤重量を記録した。

胎児：各生存胎児の体重を測定し, 外表の異常について肉眼で検査した。各胎児について, Stuckhardt と Poppe の未固定内臓検査法に従って胸部と腹部の内臓を検査した。その際内部生殖器を観察して性を判定し, 性比を算出した。各腹で約半数の胎児の頭部をブアン液で固定した後に, Wilson 法に準じて頭部軟組織の奇形及び変異について調べた。各腹残り約半数の胎児の頭部は, 剥皮して眼と脳の断面を検査した。すべての胎児 (ブアン液で固定した頭部を除く) をエタノールで固定した後, アリザリン・レッド S とアルシアン・ブルーで骨・軟骨の二重染色を施し, 骨格の奇形及び変異について検査した。

結果：概要を次ページ以下の表に示す。

結果：
母動物；

投与量 (mg/kg/日)	0	15	50	150	
人工授精実施雌動物数	25	25	25	30	
死亡雌動物数	0	0	0	1 (妊娠 26 日)	
生存雌動物数	25	25	25	29	
非妊娠雌動物数	0	0	1	1	
全胚・胎児死亡雌動物数	1	1	2	1	
流産雌動物数	0	0	0	3	
早産雌動物数	0	0	0	1	
生存胎児のある雌動物数	24	24	22	23	
一般状態： 脱毛	0/24	1/24	↑4/22	2/25	
体重	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
補正体重 ^a (g)	3641	3667	3608	3521	
体重増加量	-	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 18,24 日 ↓妊娠 15,21,28 日	
補正体重増加量 ^a (g)	-212	-197	-246	-363	
摂餌量	-	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 12-15,18-21 日	
剖検所見： 脱毛	0/24	1/24	↑4/22	2/24	
妊娠子宮重量 ^a (g)	416	410	407	364	
着床所見	検査腹数	24	24	22	24
	妊娠黄体数 ^a	10.8	10.4	10.9	10.1
	着床数 ^a	8.4	8.3	8.8	8.0
	着床前胚死亡率 ^a (%)	22.5	19.7	19.5	20.0
	胚・胎児死亡率 ^a (%)	9.0	9.8	13.5	13.5
	生存胎児数 ^a	7.6	7.5	7.9	7.3
	検査腹数	24	24	22	23
	性比	0.516	0.497	0.509	0.500
	胎児体重 ^a (g)： 雄	38.0	37.6	35.9	34.6
	雌	37.6	37.5	36.9	↓33.1
胎盤重量 ^a (mg)	5538	5561	5593	5376	
検査胎児 (腹) 数	182(24)	181(24)	173(22)	174(23)	
奇形胎児のある腹数 (%)	3(12.5)	5(20.8)	2(9.1)	4(17.4)	
変異胎児のある腹数 (%)	22(91.7)	20(83.3)	20(90.9)	23(100.0)	

太枠は検体の影響であることを示す。-：対照群

^a 平均

着床前胚死亡率 (%) = (黄体数 - 着床数) x 100 / 黄体数

胚・胎児死亡率 (%) = (胚・胎児死亡数 / 着床数) x 100

性比 = 総雄胎児数 / 総生存胎児数

Dunnnett の多重比較検定法：体重増加量，摂餌量，黄体数，着床数，生存胎児数，妊娠子宮重量，胎児体重，胎盤重量

カイ二乗検定または Fisher の直接確率計算法：一般状態，剖検所見，奇形および変異胎児を有する腹数，性比

Mann-Whitney の U 検定：着床前胚死亡率，胚・胎児死亡率

↑↓：p ≤ 0.05，↓：p ≤ 0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり

結果：(続き)

胎児：

投与量 (mg/kg/日)	0	15	50	150
外表奇形：				
検査胎児 (腹) 数	182(24)	181(24)	173(22)	174(23)
頭頂部皮膚菲薄化	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
部分的眼瞼開存	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
鉤爪欠損	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
合計	0(0)	0(0)	1(1)	2(2)
内臓奇形：				
検査胎児 (腹) 数	182(24)	181(24)	173(22)	174(23)
水頭症	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
第四脳室拡張	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
合計	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
内臓変異：				
検査胎児 (腹) 数	182(24)	181(24)	173(22)	174(23)
胸腺頸部残留	12(9)	8(6)	9(4)	14(9)
頸動脈分岐位置異常	8(3)	8(4)	14(6)	5(4)
肝臓切痕	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
合計	19(11)	16(9)	23(8)	19(11)
骨格奇形：				
頭部検査胎児 (腹) 数	84(24)	85(24)	80(22)	82(23)
前頭骨癒合	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
体幹・体支部検査胎児 (腹) 数	182(24)	181(24)	173(22)	174(23)
胸骨分節癒合	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
胸骨裂	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
肋軟骨分岐	1(1)	5(4)	0(0)	0(0)
肋軟骨癒合	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
胸肋関節不整	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
腰椎半椎	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
指骨欠損	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
合計	2(2)	6(5)	1(1)	3(3)
骨格変異：				
検査胎児 (腹) 数	182(24)	181(24)	173(22)	174(23)
胸骨分節配列不整	0(0)	1(1)	1(1)	0(0)
頸肋	1(1)	1(1)	2(2)	2(2)
過剰肋骨	87(19)	72(20)	79(20)	82(22)
胸椎体ダンベル状骨化	0(0)	0(0)	0(0)	2(2)
仙椎前椎骨数 25	0(0)	2(2)	0(0)	0(0)
仙椎前椎骨数 27	10(7)	9(6)	12(8)	4(3)
腰仙部移行椎	1(1)	3(2)	1(1)	2(2)
合計	88(19)	76(20)	81(20)	86(22)

カイ二乗検定または Fisher の直接確率計算法：奇形および変異の出現頻度

母動物に及ぼす検体投与の影響は、15及び50 mg/kg 群において何も観察されなかった。150 mg/kg 群では、妊娠 15 日以降の体重増加量と摂餌量が減少し、殆どの値に統計学的有意差が認められた。また、母動物 5 匹に死亡、流産または早産も観察された。母動物の死亡、流産および早産は、摂餌量の著しい減少と体重減少に関連していると考えられる。帝王切開時に、15 及び 50 mg/kg 群で影響は認められなかったが、150 mg/kg 群で、胎児体重の低値（雌のみ）が認められた。その他、投与に関連する異常は認められなかった。生存胎児の外表面、内臓および骨格検査では、いずれの投与群においても検体投与の影響はみられなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量及び次世代に対する無毒性量はいずれも 50 mg/kg/日であった。また、胚・胎児致死作用及び催奇形作用は認められなかった。

(7) 変異原性

①ピリダリルの細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料7-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：ピリダリル原体

純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA98、TA1535、TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、S-9 Mix 存在下では 39.1~1250 μ g/プレート

、S-9 Mix 非存在下では 9.77~313 μ g/プレートの範囲の6濃度で実施した。

各試験は3連制とし、2回行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS-9 Mixの有無にかかわらず、検体の析出が認められた最高用量 (S-9 Mix 存在下 1250 μ g/プレート、S-9 Mix 非存在下 313 μ g/プレート) においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン及び2-アミノアントラセンではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数 ^{b)} /プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	107	10	17	20	6
			106	8	25	17	6
ピリダリル	9.77	-	130	7	16	16	6
			104	9	22	20	6
	19.5	-	115	6	14	18	7
			111	9	23	13	7
	39.1	-	113	8	17	21	7
			108	8	22	25	7
	78.1	-	113	8	19	21	11
			100	12	25	14	8
	156*	-	116	7	11	19	6
			115	7	22	22	7
313*	-	122	9	17	19	9	
		94	6	28	15	8	
陽性対照	c)	-	811	306	139	387	880
			845	299	160	281	647
対照 (DMSO)	0	+	106	8	24	38	15
			91	7	36	26	14
ピリダリル	39.1	+	118	8	25	33	7
			86	7	36	32	11
	78.1	+	122	6	28	24	8
			102	8	35	32	14
	156	+	113	11	24	24	9
			95	8	26	27	10
	313	+	107	11	25	23	12
			107	9	39	24	9
	625	+	116	7	27	30	14
			98	8	30	25	9
1250*	+	118	9	28	34	11	
		109	6	29	34	11	
陽性対照	c)	+	673	174	443	289	123
			760	200	476	285	173

b) 3 反復の平均値、上段は 1 回目試験、下段は 2 回目試験の結果を示す。

c) 陽性対照物質($\mu\text{g}/$ プレート) :

	S-9 Mix 非存在下	S-9 Mix 存在下
TA100	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)	2-アミノアントレン (1)
TA1535	アジ化ナトリウム (0.5)	2-アミノアントレン (2)
WP2uvrA	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)	2-アミノアントレン (10)
TA98	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.1)	2-アミノアントレン (0.5)
TA1537	9-アミノアクリジン (80)	2-アミノアントレン (2)

* : 検体の析出が認められた。

②ピリダリルのチャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) を用いた染色体異常試験

(資料 7-2)

試験施設：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2000 年[GLP 対応]

検 体：ピリダリル原体

純 度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来の培養細胞 (CHL/IU) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解して用いた。観察は 1 濃度あたり 200 個の分裂中期像について行い、試験は 3 回行った (3 回目は確認試験)。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示す。試験 1 (6 時間処理後 18 時間培養) の S9 mix 非存在下では染色体異常細胞 (構造異常あるいは数的異常) の出現頻度の上昇は認められなかった。S9 mix 存在下では、構造異常及び倍数体細胞の出現頻度が軽度上昇した。

試験 2 (24 及び 48 時間処理) では、被験物質は染色体異常細胞 (構造異常あるいは数的異常) の出現頻度を上昇させなかった。

試験 1 の結果確認のために行った試験 3 では、S9 mix 存在下で構造異常細胞の出現頻度が軽度上昇し、再現性が確認された。

陽性対照化合物のマイトマイシン C 及びシクロホスファミド群では、構造異常を示す細胞の出現頻度の明らかな増加が誘発された。

以上の結果から、検体は本試験条件下で、チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) に対して染色体異常を軽度に誘発すると結論された。

試験	S9 Mix 有無	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	薬物	濃度 (μg/mL)	増殖率 (%)	観察細胞数	構造異常								数的異常		
								異常数					異常細胞(%)			判定	(%)	判定
								ギャップ	染色体分体型		染色体体型		他	+G	-G			
									切断	交換	切断	交換						
1	無	6	24	溶媒対照 (DMSO)	1%	100	200	2	5	1	0	0	0	4.0	3.0	-	0.0	-
				ビリガリル	20	102.9	200	1	1	0	0	0	1.0	0.5	-	1.0	-	
					40	104.4	200	2	2	1	0	0	2.5	1.5	-	0.0	-	
					80*	103.0	200	3	3	1	0	0	3.0	1.5	-	0.5	-	
				陽性対照 (MMC)	0.06	101.1	200	13	50	61	0	1	0	38.0	37.0	+	0.0	-
	有	6	24	溶媒対照 (DMSO)	1%	100	200	3	3	1	0	0	3.5	2.0	-	1.0	-	
				ビリガリル	15	79.1	200	1	5	6	0	1	0	5.5	5.0	±	0.5	-
					20	51.0	200	4	11	11	0	0	1	9.0	7.5	±	4.5	-
					25	38.4	200	2	12	1	0	1	1	7.0	6.0	±	6.5	±
				陽性対照 (CP)	10	70.9	200	7	73	85	0	0	0	52.5	50.5	+	0.0	-

他：10個以上の異常を有する細胞 +G：ギャップを含む異常 -G：ギャップを除く異常
 DMSO：ジメチルスルホキシド MMC：マイトマイシンC CP：シクロホスファミド
 数的異常：倍数体細胞及び核内倍加細胞
 判定：- 陰性（5%未満） ± 疑陽性（5%以上10%未満） + 陽性（10%以上）
 *：検体の析出が認められた。

	S9 Mix 有無	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	薬物	濃度 (μg/mL)	増殖率 (%)	観察細胞数	構造異常							数的異常			
								異常数				異常細胞(%)			判定	判定		
								ギャップ	染色体型 切 断	染色体型 交 換	染色体型 切 断	染色体型 交 換	他	+G			-G	
試験 2	無	24	24	溶媒対照 (DMSO)	1%	100	200	1	4	0	0	0	0	2.5	2.0	-	0.5	-
				ビ'リガ'リ	625 *	71.1	200	2	4	0	0	0	0	2.5	1.5	-	0.0	-
					938 *	63.5	200	1	3	1	0	0	0	2.5	2.0	-	0.5	-
					1250 *	44.5	200	3	6	2	0	0	0	4.5	3.5	-	0.0	-
	陽性対照 (MMC)	0.02	86.3	200	8	46	27	0	0	0	31.0	27.5	+	0.5	-			
	無	48	48	溶媒対照 (DMSO)	1%	100	200	1	2	0	0	0	0	1.5	1.0	-	0.5	-
				ビ'リガ'リ	39.1	82.0	200	1	3	0	0	0	0	2.0	1.5	-	1.0	-
					78.1	59.9	200	0	3	0	0	0	0	1.5	1.5	-	0.0	-
156 *					45.8	200	1	3	0	0	0	0	2.0	1.5	-	0.0	-	
陽性対照 (MMC)	0.02	96.4	200	7	59	46	0	1	1	37.0	36.0	+	0.0	-				
試験 3	有	6	24	溶媒対照 (DMSO)	1%	100	200	2	4	1	0	0	0	3.0	2.0	-	0.0	-
				ビ'リガ'リ	15	82.3	200	8	9	6	0	1	0	8.5	5.0	±	3.0	-
					20	51.6	200	6	14	13	0	0	1	10.0	8.0	±	1.0	-
					25	38.0	200	10	7	15	0	0	2	13.5	9.5	±	4.5	-
				陽性対照 (CP)	10	66.3	200	14	103	197	0	0	1	73.5	71.0	+	0.0	-

他：10個以上の異常を有する細胞 +G：ギャップを含む異常 -G：ギャップを除く異常
 DMSO：ジメチルスルホキシド MMC：マイトマイシンC CP：シクロホスファミド
 数的異常：倍数体細胞及び核内倍加細胞
 判定：- 陰性（5%未満） ± 疑陽性（5%以上10%未満） + 陽性（10%以上）
 *：検体の析出が認められた。

③ピリダリルのマウスを用いた小核試験

(資料7-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：ピリダリル原体

純度：

供試動物：CD-1(ICR)系マウス (8週齢, 体重 32.8~38.1g)

1群雄5匹

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、500、1000及び2000mg/kgの用量で単回経口投与した。投与24時間後(500、1000及び2000mg/kg)及び48時間後(2000mg/kg)に各動物から大腿骨を採取して骨髓塗抹標本を作製した。陽性対照群にはシクロホスファミド60mg/kgを経口投与して24時間後に標本を作製した。標本は、メタノールで固定後、5%ギムザ液で染色した。

各動物当たり2000個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞の出現頻度を求め、1000個の赤血球(多染性赤血球及び正染性赤血球)中の多染性赤血球の割合も求めた。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示す。いずれの投与群においても死亡は認められなかった。一般症状では2000mg/kg投与群において軟便が投与後1日以内に認められた。いずれの投与群においても、溶媒対照群と比較して全赤血球に対する多染性赤血球の割合に有意な減少は認められず、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の有意な増加も認められなかった。陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度が溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した。

以上の結果から、本試験条件下において、ピリダリルはマウス骨髓細胞に対して小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と結論した。

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNPCE ^{a)} (%, 平均±SD)	PCE/(PCE+NCE) ^{b)} (%, 平均±SD)
24	陰性対照 (コ-ンオイル)	- ^{c)}	5	0.14±0.07	52.2±8.8
	ピリタリル	500	5	0.19±0.14	51.6±7.2
		1000	5	0.14±0.12	53.7±4.4
		2000	5	0.19±0.09	52.7±3.3
	陽性対照 (シロホスファミド)	60	5	3.76±0.93**	54.6±7.6
48	陰性対照 (コ-ンオイル)	-	5	0.18±0.08	49.0±4.3
	ピリタリル	2000	5	0.12±0.08	51.0±2.6

PCE：多染性赤血球 NCE：正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

a) 1個体につき2000個の多染性赤血球を観察した

b) 1個体につき1000個の赤血球を観察した

c) 10mL/kg

統計学的解析：小核を有する多染性赤血球の出現頻度は Kastenbaum and Bowman の方法で行い、全赤血球に対する多染性赤血球の割合については t 検定を行った。

**p<0.01

④ピリダリルのチャイニーズハムスターの卵巣由来細胞 (CHO-K1-BH4) を用いた
遺伝子突然変異試験

(資料7-4)

試験機関: Covance Laboratories Inc.

報告書作成年: 2000年 [GLP 対応]

検体: ピリダリル原体

純度:

試験方法: チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣由来細胞 (CHO-K1-BH4) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Hsie らの方法に従って、6-チオグアニン存在下でのコロニー増殖を指標とする HGPRT 遺伝子座の遺伝子突然変異誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用い、S-9 Mix 非存在下では 9.4~300 $\mu\text{g/mL}$ 、S-9 Mix 存在下では 2.0~10.0 $\mu\text{g/mL}$ の範囲の濃度で試験を実施した。試験は2連制とし、2回行った。

用量設定根拠:

試験結果: 結果を次表に示した。

S-9 Mix 存在下及び非存在下の評価対象とした6または7濃度の遺伝子突然変異誘発性を検定した。2回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらずいずれの条件においても、突然変異率を有意に増加させず、濃度依存性も認められなかった。

一方、陽性対照として用いた5-プロモ-2'-デオキシウリジン及び20-メチルコラントレンは、突然変異率を有意に増加させた。

以上の結果より、検体は代謝活性化存在下及び非存在下で遺伝子突然変異誘発性は有しないものと判断される。

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 Mix の有無	突然変異 コロニー数 ^{a)}	コロニー形成率 ^{b)} (%)	突然変異 率 ^{c)} ($\times 10^{-6}$)
対照 (DMSO)	0	-	5, 5	96.5, 86.5	2.2, 2.4
			4, 7	110.0, 102.3	1.5, 2.9
ピリダリル	9.40	-	2, 1	93.7, 103.0	0.9, 0.4
			5, 4	89.8, 84.8	2.3, 2.0
	18.8	-	22, 8	118.3, 102.8	7.7**, 3.2
			13, 8	85.0, 97.2	6.4*, 3.4
	37.5	-	9, 2	105.5, 101.3	3.6, 0.8
			5, 1	104.0, 95.2	2.0, 0.4
	75.0	-	2, 13	119.2, 92.7	0.7, 5.8
8, 12			104.5, 101.5	3.2, 4.9	
150	-	6, 10	99.7, 98.8	2.5, 4.2	
		9, 1	109.3, 118.2	3.4, 0.4	
300 †	-	10, 8	87.7, 104.2	4.8, 3.2	
		13, 7	130.8, 101.8	4.1, 2.9	
陽性対照 (BrdU)	50	-	248	96.8	106.7#
			228	125.3	75.8#
対照 (DMSO)	0	+	3, 1	98.0, 119.7	1.3, 0.3
			14, 9	116.2, 94.3	5.0, 4.0
ピリダリル	2.00	+	16, 1	123.8, 98.7	5.4**, 0.4
			4, 1	99.7, 87.7	1.7, 0.5
	4.00	+	12, 9	99.2, 96.5	5.0**, 3.9*
			4, 13	81.0, 78.7	2.1, 6.9
	5.00	+	4, 3	125.5, 109.2	1.3, 1.1
			2, 2	79.7, 73.5	1.0, 1.1
	6.00	+	5, 4	97.7, 98.5	2.1, 1.7
			18, 10	94.0, 97.8	8.0, 4.3
7.00	+	4, 0	105.7, 92.5	1.6, 0.0	
		2, 9	93.3, 78.3	0.9, 4.8	
8.00	+	4, 14	101.7, 98.5	1.6, 5.9**	
		8, 10	81.5, 93.5	4.1, 4.5	
10.0	+	-	-	-	
		3, 5	91.8, 85.3	1.4, 2.4	
陽性対照 (MCA)	5	+	386	96.0	167.5#
			284	94.7	125.0#

- a) 12枚のプレートの合計
 - b) 3枚のプレートの平均値
 - c) 突然変異率=突然変異コロニー数/(プレート数 $\times 2 \times 10^5 \times$ コロニー形成率)
- 注) BrdU : 5-ブromo-2'-デオキシウリジン MCA : 20-メチルコラントレン
† : 検体の析出が認められた。

上段は1回目試験、下段は2回目試験のそれぞれ2反復の各結果を示す。

統計処理 (Kastenbaum Bowman 検定)

- * $p \leq 0.05$, 突然変異率 $< 15 \times 10^{-6}$
- ** $p \leq 0.01$, 突然変異率 $< 15 \times 10^{-6}$
- # (有意な増加あり) $p \leq 0.01$, 突然変異率 $\geq 15 \times 10^{-6}$