

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.2 ラットにおける1年間反復経口投与毒性試験（資料 No. T-3.2）

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： Fischer 系ラット、1群雄雌各20匹、投与開始時5週齢

投与期間： 12ヵ月（雄；2007年3月22日～2008年3月21日）
（雌；2007年3月30日～2008年3月31日）

試験方法： 検体を0、200、1000及び5000 ppmの濃度で飼料に混入し、12ヵ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週間に1回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡； 生死を毎日観察した。
以下に最終死亡数を示す。

性 別	雄				雌			
	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
投与量 (ppm)	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
最終死亡数	0	1	0	1	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

200 及び 5000 ppm 群において雄がそれぞれ 1 例ずつ死後発見されたが、検体投与によるものではなかった。

一般状態；全動物について一般状態を毎日観察した。

以下に有意差のみられた項目を掲げた。

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
外陰部被毛汚れ	2	0	0	4	0	1	1	12**

Fisher の直接確率検定 **: p<0.01

5000 ppm 群の雌で外陰部被毛汚れを示す個体が増加した。これは盲腸の重量増加と膨満に関連する検体投与の影響と考えた。

1000 ppm 群の雌ならびに雄では投与に関連する臨床症状はみられなかった。

詳細な状態の観察；投与期間中毎週 1 回、全動物について詳細な観察を行なった。

以下に有意差のみられた項目を掲げた。

性別	雄				雌				
投与量 (ppm)	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	
検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	
身づくろい	1 週	0	0	0	2	3	0↓	0↓	0↓
	10 週	0	0	0	0	0	0	3↑	0
立ち上がり	9 週	1	1	0	1	0	0	1	5↑
	13 週	1	0	1	1	0	0	4	5↑
	14 週	3	1	0	4	0	1	2	6↑

Dunnett 検定 ↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01.

表中の数値は有所見動物数を示す。

投与 1 週時に、200、1000 及び 5000 ppm 群の雌で身づくろい動作が減少し、10 週時には 1000 ppm 群の雌で身づくろい動作が増加した。さらに 5000 ppm 群の雌では 9、13 及び 14 週時に立ち上がりが増加した。これらの変化は一貫性が無いため、偶発性のものと判断した。

雄では投与に起因する変化は認められなかった。

機能検査；投与 49 週時に、原則として動物番号の若い順に選んだ各群雌雄 10 例ずつについて、次の項目を観察・記録した。

自発運動量、握力(前後肢)、感覚運動反応(位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応、空中立ち直り反射)

検体投与に起因する変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

体重変化；全動物について、投与開始時から 13 週までは毎週 1 回、16 週以降は 4 週に 1 回の頻度、さらに剖検の直前に体重を測定した。

以下に有意な変動がみられた週を示す。

性別	雄			雌		
	200	1000	5000	200	1000	5000
投与量 (ppm)						
1 週	98	98	97↓	100	100	102
3 週	100	101	99	101	100	103↑
16 週	98	101	98	102	97	96↓
20 週	97	100	98	100	97↓	96↓
24 週	98	101	98	99	96↓	94↓
28 週	98	100	98	100	97	94↓
32 週	99	101	98	100	96↓	92↓
36 週	98	100	98	99	96↓	93↓
40 週	98	101	98	100	97	93↓
44 週	99	101	98	100	97	93↓
48 週	99	101	98	100	97	92↓
52 週	99	101	99	100	97	93↓

Dunnett 検定 ↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

5000 ppm 群の雌では 16~52 週時、1000 ppm 群の雌では 20、24、32 及び 36 週時にそれぞれ低体重が認められ、検体投与の影響と考えられた。【申請者注：1 週時に雄でみられた減少と 3 週時に雌でみられた増加は単発的に認められた変化であり、試験期間を通した一貫性が認められなかったため、偶発性のものと判断した。】

摂餌量；全ケージについて体重と同じ頻度で測定した。

以下に変化のみられた週を示す。

性別	雄			雌		
	200	1000	5000	200	1000	5000
投与量 (ppm)						
5 週	101	101	107↑	102	105	101
6 週	98	100	105↑	100	100	98
20 週	101	104	107↑	102	98	104
24 週	99	103	106↑	98	95	98
32 週	100	104	108↑	101	98	99
40 週	102	105	108↑	105	101	101
44 週	98	106↑	111↑	101	100	100
48 週	99	104	111↑	101	100	101
52 週	102	104	113↑	104	104	108

Dunnett 検定 ↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

5000 ppm 群の雄において、5、6、20、24、32 及び 40~52 週時に摂餌量が増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

1000 ppm 群の雄においては 44 週時に増加した。これらの変化は体重に影響が無いことから毒性学的意義はないものと判断した。雌では影響はみられなかった。

食餌効率；投与 13 週までの間、週ごとの平均増体量を平均摂餌量で除して各週の食餌効率を算出し、総平均も算出した。

食餌効率に影響はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の週ごとの平均体重、摂餌量及び飼料中検体濃度から平均検体摂取量を次の通り算出した。

群 (ppm)		200	1000	5000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	8.51	42.9	226
	雌	10.6	53.5	275

眼検査；投与 52 週時に対照群と 5000 ppm 群の生存動物全例について行った。

検体投与に起因するとみられる所見はなかった。

血液学的検査；投与 14、26 及び 52 週時に、原則として動物番号の若い順に選んだ各群雌雄 10 例ずつについて実施した。検査動物は採血前に一晩絶食させた。14 及び 26 週の検査にはエーテル麻酔下で頸静脈より採血し、52 週の検査はエーテル麻酔下で後大静脈より採血した。次の項目について測定した。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、赤血球分布幅(RDW)、赤血球血色素濃度分布幅(HDW)、血小板数(PLT)、網状赤血球数(Retics)、白血球数(WBC)、白血球ディファレンシャルカウント(リンパ球(L)、好中球(N)、単球(M)、好酸球(E)、好塩基球(B)、大型非染球(LUC))

52 週の検査では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)についても測定した。以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

次ページに続く

(続き)

5000 ppm 群では、Ht、Hb および RBC がほぼ全ての検査時期で雌雄ともに有意に減少した。また MCV、MCH、MCHC および HDW が雄で、RDW と Retics が雌で有意に減少した。これらの変化は投与に関連するものと考えられた。さらに雌雄ともに PLT が有意に増加し、APTT の延長が認められ、投与との関連性が推察された。雌雄でみられた PT の延長あるいは短縮は雌雄で逆方向であり偶発性のものと思われた。投与 52 週後の雄の E の有意な減少は他項目との関連性がないことから偶発的な変化であると考えられた。

1000 ppm 群における雌の PT の短縮は上述と同じ理由で、また雄における RDW、Retics、WBC および L の有意な減少は用量に関連しない偶発性のものと判断した。200 ppm 群の雌における Hb の有意な減少も用量に関連しない偶発性のものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

血液生化学的検査；前記の採取血液から血漿を分離し、次の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(GGTP)、クレアチニン (Creat)、尿素窒素(BUN)、総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、グロブリン(Glob)、アルブミン/グロブリン比(A/G ratio)、血糖(Gluc)、総コレステロール(T.Chol)、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T.Bil)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)

以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

(続き)

5000 ppm 群の雌雄で、Alb、Glob、TP、GGTP、T.Chol および Ca が有意に増加し、Cl が有意に減少した。雄はさらに BUN および P が有意に増加した。また、1000 ppm 群の雌で GGTP が有意に増加した。これらは検体投与に関連する肝臓あるいは腎臓への影響と考えられた。

5000 ppm 群における ALP、AST、Creat、GGTP、Glob および TG の減少、ならびに 1000 および 5000 ppm 群における T.Bil の減少は毒性学的意義のないものと考えられた。

尿検査； 投与開始後 13、25、51 週時に、血液学および血液生化学的検査に供した 10 匹/性/用量群について個別採尿ケージで新鮮尿を採取し、尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、ウロビリノーゲンを検査した。また、24 時間の蓄積尿試料から尿色、尿量及び尿沈渣を検査した。
以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

5000 ppm 群では、雄で 51 週時に尿量の有意な増加が認められ、雌では 13 および 51 週時にケトン体の有意な増加が認められた。これらは検体投与による腎機能障害に起因すると考えられた。

1000 および 200 ppm 群では有意な変動は認められなかった。

臓器重量；最終計画殺時に、尿検査、血液学および血液生化学的検査に供した 10 匹/性/用量群について、脳、甲状腺及び上皮小体、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮及び盲腸の重量を秤量した。

以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

5000 ppm 群では、雌雄ともに肝臓および腎臓の絶対および相対重量が有意に増加した。これらは組織学的変化を伴った変動であり、検体投与によるものと考えられた。また盲腸の絶対および相対重量の有意な増加は、28 日間（予備試験）および 90 日間試験（資料 No. T-2.2）においても所見されており、検体投与に関連する変化と考えられた。雌雄でみられた副腎の相対重量の有意な増加と脾臓の絶対重量の有意な減少、雄の精巣の相対重量ならびに精巣上体の絶対および相対重量の有意な増加、雌の脳の相

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

対重量および心臓の絶対および相対重量の有意な増加は、いずれも病理組織学的検査において検体投与に関連する変動が認められないことから、毒性学的意義は不明であった。

200 ppm 群の雌でみられた脳および心臓の絶対重量の有意な増加は、用量との関連性がないことから偶発性のものと判断した。

肉眼病理学的検査；全例について常法に従って剖検を実施した。

以下に統計学的有意差を示した項目を示す。

5000 ppm 群では雄 5 例と雌 10 例に盲腸の膨満が認められ、盲腸重量の有意な増加とともに検体投与に関連するものと判断した。また、雌 9 例でみられた外陰部の被毛汚れは糞便による着染と思われ、盲腸膨満と関連する変化と考察した。

1000 ppm 群の雌において肝横隔膜結節の頻度が統計学的有意に増加したが、用量との関連性が認められなかった。[申請者注：肝横隔膜結節は先天性のものであるため、偶発性と判断した。]

200 ppm 群では有意な変動はみられなかった。

病理組織学的検査；最終計画された対照群と最高用量群、投与期間中の死亡動物（200 および 5000 ppm 群の雄各 1 例）を対象に以下の臓器・組織について常法に従って HE 染色標本を作製し鏡検した。肝臓及び腎臓、ならびに雄の骨髄は全ての投与群において検査した。また雌の腎臓に沈着した褐色色素を同定する目的で、一部の個体についてシュモール反応とベルリン青染色を行った。

脳(大脳、小脳、橋、延髄)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺、舌下腺)、食道、胃(前胃、腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺及び気管支、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、凝固腺、卵巣、子宮(子宮角、子宮頸)、膾、眼球、ハーダー腺、下腿三頭筋、膝関節、皮膚(腰背部)、乳腺、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下に統計学的有意差を示した項目を示す。

5000 ppm 群の雄では、骨髓（大腿骨および胸骨）の造血亢進、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大および腎臓の尿細管好塩基性化が有意に増加し、雌では腎臓の尿細管上皮褐色色素（リポフスチン）沈着が有意に増加した。これらは検体投与に関連する変化と考えた。一方、雄では肝臓の胆管過形成、雌では骨髓（大腿骨および胸骨）の肉芽腫、肝臓の変異細胞巣（好塩基性）と小肉芽腫、ならびに下垂体の前葉細胞の発生頻度がそれぞれ有意に減少した。これらは減少方向への変動であることから投与に関連する有害作用ではないと判断した。〔申請者注：1000 ppm の雌で肝横隔膜結節の発生頻度が有意に増加したが、本変化は先天性のものであり、用量との関連性が認められないことから偶発性のものと判断した。〕

以上の結果から、本剤の Fischer 系ラットに対する 12 カ月間飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験における検体投与の影響として、5000 ppm 群の雄では尿量の増加、Ht、Hb、RBC、MCV、MCH、MCHC および HDW の減少、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、血小板数の増加、肝臓及び腎臓機能に対する血液生化学的検査項目の変動、盲腸の肉眼的膨満を伴う重量増加、肝細胞肥大を伴う肝臓重量の増加、好塩基性尿細管の増加を伴う腎臓重量の増加、骨髓の造血亢進、同群の雌では、外陰部の被毛汚れ、体重増加抑制、尿ケトンの増加、Ht、Hb、RBC、RDW および Retic 数の減少、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、血小板数の増加、盲腸の肉眼的膨満を伴う重量増加、肝臓重量増加、尿細管上皮褐色色素沈着増加を伴う腎臓重量の増加が認められた。また、1000 ppm 群の雌では、一時的であるものの体重増加抑制と γ-グルタミルトランスペプチダーゼの増加が認められた。従って、無毒性量は雄が 1000 ppm (42.9 mg/kg/day)、雌は 200 ppm (10.6 mg/kg/day) であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.3 ラットにおける2年間発がん性試験（資料 No. T-3.3）

試験機関

報告書作成年 2010年【GLP対応】

検体純度： %

供試動物： Fischer系ラット、1群雄雌各50匹、投与開始時5週齢

投与期間： 24ヵ月間（雄；2007年3月22日～2009年3月24日）
（雌；2007年3月30日～2009年3月31日）

試験方法： 検体を0、200、1000及び5000ppmの濃度で均一に配合した粉末飼料を前記期間中ラットに摂食させて、下記の項目について観察又は検査を行った。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡； 生死を毎日観察した。
次頁に最終死亡数を示す。

最終死亡数

性別	雄				雌			
	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
投与量 (ppm)	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
1~100 週	有意差なし							
101 週	5	6	5	14*	13	14	11	9
102 週	5	9	5	15*	14	15	13	9
103 週	7	9	7	17*	14	15	14	11
104 週	7	10	7	17*	14	16	14	12
最終死亡数	7	11	7	17*	15	16	14	12

Logrank test *; p<0.05, **; p<0.01

Fisher の直接確率検定 *; p<0.05, **; p<0.01

5000 ppm 群の雄では 101~104 週時に死亡・切迫動物数が Logrank test において有意な増加を示し、最終死亡数についても Fisher の直接確率計算法にて有意な増加が認められた。この死亡数の増加は検体投与に関連するものと考えられた。

一般状態；全動物について一般状態を毎日観察した。

以下に有意差のみられた項目を掲げた。

性別	雄				雌			
	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
投与量 (ppm)	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
呼吸緩徐	5	6	5	8	6	14*	9	10
皮膚：赤色物付着	8	10	9	6	16	30**	20	14
皮膚：腫瘤	27	29	34	23	20	12	11*	18
脱毛	16	10	13	18	26	21	25	37*
外陰部被毛汚れ	4	6	6	16**	7	13	8	27**

Fisher の直接確率検定 *; p<0.05, **; p<0.01

5000 ppm 群の雌雄で外陰部被毛汚れを示す個体が増加し、雌ではさらに脱毛を示す個体が有意に増加した。これらは検体投与に関連する変化と考察した。

その他の変動は用量関連性がなく、偶発性のものと判断した。

体重変化；全動物について、投与開始時から 13 週までは毎週 1 回、16 週以降は 4 週に 1 回の頻度、さらに剖検直前に体重を測定した。

次頁に有意な変動がみられた週を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

性別	雄			雌		
	200	1000	5000	200	1000	5000
11週			97↓			
12週			97↓			
13週			97↓			
16週			96↓			96↓
20週			96↓			95↓
24週			96↓			94↓
28週			96↓			94↓
32週			97↓			93↓
36週			96↓			93↓
40週			97↓			93↓
44週			96↓			93↓
48週			97↓			93↓
52週			97↓			93↓
56週			97↓			92↓
60週			97↓			92↓
64週			96↓			91↓
68週			96↓			90↓
72週			96↓			90↓
76週			95↓			89↓
80週			96↓			88↓
84週			96↓			88↓
88週			96↓			88↓
92週			93↓			89↓
96週			95↓			90↓
100週			94↓			89↓
104週			93↓			87↓

Dunnett 検定 ↑↓; p < 0.05、↑↓; p < 0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

5000 ppm 群の雄では 11~104 週時、雌では 16~104 週時に低体重が認められ、検体投与の影響と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

摂餌量； 全ケージについて体重と同じ頻度で測定した。以下に変化のみられた週を示す。

性別 投与量 (ppm)	雄			雌		
	200	1000	5000	200	1000	5000
1 週						94↓
2 週						104↑
3 週			104↑			106↑
4 週			103↑			
5 週			105↑	104↑	106↑	
8 週						104↑
11 週			104↑			
12 週			104↑			106↑
20 週			104↑			
28 週	104↑		108↑			
32 週		104↑	107↑			
36 週			106↑			
40 週			108↑			
44 週			107↑			
48 週			108↑			
52 週			109↑	96↓		
56 週		104↑	109↑			
60 週			106↑			
64 週			104↑			
68 週			107↑			
72 週			106↑			
76 週			104↑			
80 週			108↑			
88 週			106↑		106↑	106↑
92 週			107↑			
96 週			110↑			110↑
100 週			108↑			
104 週			110↑			

Dunnett 検定 ↑↓; p < 0.05, ↑↓; p < 0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

5000 ppm 群の雄において、3~5、11、12、20、28~80、88~104 週時に摂餌量が有意に増加した。同群の雌においては 1 週時に有意に減少したが、2、3、8、12、88 及び 96 週時は有意に増加した。また、1000 ppm 群の雄においては 32 及び 56 週時、雌では 5 及び 88 週時に有意に増加した。これらの変動は有害作用とは判断しなかった。

200 ppm 群の雄では 28 週時に有意に増加し、雌では 5 週時に有意に増加し、52 週時は有意に減少した。これらの変動は用量との関連性がなく、偶発性のものと判断した。

食餌効率； 投与 13 週までの間、週ごとの平均増体量を平均摂餌量で除して各週の食餌効率を算出し、総平均も算出した。その結果、食餌効率に有意な変動はみられなかった。

検体摂取量； 投与期間中の週ごとの平均体重、摂餌量及び飼料中検体濃度から平均検体摂取量を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

次の通り算出した。

群 (ppm)		200	1000	5000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	7.25	36.4	197
	雌	9.13	46.5	254

血液学的検査；104週時に、全生存動物について実施した。検査動物は採血前に一晩絶食させた。エーテル麻酔下で後大静脈より採血した。次の項目について測定した。

白血球数(WBC)、白血球ディファレンシャルカウント (リンパ球(L)、好中球(N)、単球(M)、好酸球(E)、好塩基球(B)、大型非染球(LUC))

検体投与に関連する変動は認められなかった。

臓器重量；最終計画殺時に、生存動物の動物番号の若い順に選抜した10匹/性/用量群について、脳、甲状腺及び上皮小体、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮及び盲腸の重量を秤量した。甲状腺、脾臓、副腎及び卵巣については、腫瘤の存在などで明らかに正常から逸脱した重量を示した動物を除外し、統計検定を実施した。以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

5000 ppm では、雌雄ともに最終体重が有意に減少し、腎臓と盲腸の絶対および相対重量が有意に増加した。さらに肝臓の相対重量が雌雄で、絶対重量が雌で有意に増加し、これらの変化は検体投与に関連するものと考えられた。一方、雌雄における脳と

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

心臓、ならびに雄における副腎の相対重量の有意な増加については、病理組織学的検査で関連する所見が認められず、主に体重増加抑制に起因するものと考えられた。雄における精巣の相対重量の増加は、間細胞腫に相当するさまざまな大きさの腫瘍が高頻度で全群に自然発生したことによる偶発性のものと判断した。

200 ppm の雄で精巣上体の絶対および相対重量の有意な減少が認められたが用量に関連性のないことから偶発性のものと判断した。

肉眼病理学的検査；全例について常法に従って剖検を実施した。

認められた主要な肉眼所見を以下に示す。

(続き)

5000 ppm 群では、雌雄ともに皮膚の脱毛、大腸(盲腸)の膨満、ならびに雄で外陰部被毛の汚れ、大腸の黒色内容物および腎臓の表面粗造の全動物の発生頻度が有意に増加し、検体投与に関連する変化と考えられた。一方、肝臓の点・斑および精巣萎縮の発生頻度が雄の最終計画殺動物で有意に増加したが、病理組織学的検査でこれらに関連する所見の有意な変動は認められず、全動物の発生頻度には有意な増加はないことから、偶発性のものと判断した。

1000 ppm 群では、雌の最終計画殺動物において脱毛の発生頻度が有意に増加したが、病理組織学的検査で関連する所見の変動は認められず、全動物の発生頻度には有意な増加はないことから、偶発性のものと判断した。

その他の有意な変動は用量に関連のないもの、あるいは発生頻度の減少であり、毒性学的意義はないものと判断した。

病理組織学的検査; 0 および 5000 ppm 群の全動物の以下の組織および臓器、ならびに 200 および 1000 ppm 群の全動物の肝臓と腎臓について病理組織学的検査を実施した。また、200 および 1000 ppm 群のすべての雄のリンパ節(腸間膜)も検査した。さらに投与期間中の死亡・切迫殺動物については、以下のすべての組織および臓器について病理組織学的検査を実施した。

脳(大脳、小脳、橋および延髄)、脊髄(頸部、胸部および腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨および骨髄(胸骨および大腿骨)、リンパ節(頸部および腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺および舌下腺)、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、凝固腺、卵巣、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、骨格筋(下腿三頭

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

筋)、膝関節、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を別表 1-1～別表 1-3 に示す。

5000 ppm 群の雌雄と 1000 ppm 群の雌でそれぞれ最終解剖に供された動物を中心に皮膚の毛嚢萎縮または毛嚢周囲炎の発生頻度が有意に増加し、投与に関連するものと考えられた。

5000 ppm 群では、雌雄ともに小葉中心性肝細胞肥大および小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度に有意な増加が認められ、さらに雄では小葉中心性肝細胞壊死の発生頻度が有意に増加した。これらの変化は検体投与に起因する変化と考えられた。雌では限局性うっ血が肝臓の表面における小さな病変として認められ、発生頻度が有意に増加した。この病変も投与に関連すると思われるが、毒性学的意義は低いと考えられた。

同群の雄では、腸間膜リンパ節の洞拡張の発生頻度が有意に増加した。同群の雄 3 例および雌 1 例の盲腸にびらん・潰瘍が認められ、いずれの個体にも腸間膜リンパ節に重度の洞拡張が併発してみられた。これらは検体投与に関連する変化と考えられた。

5000 および 1000 ppm 群の雌の腎臓において、慢性腎症の発生頻度に有意な増加が認められた。雄では総発生頻度に有意差はみられなかったが、下記のとおり病変の程度に関する統計検定を実施した結果、5000 ppm において有意な増強が認められた。

表 1 雄の慢性腎症の発生頻度及び程度

別表 1 にみられたその他の有意な変動は、減少方向であることから毒性学的意義のな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

いもの、あるいは総発生頻度において有意差はない偶発性のものと判断した。

【腫瘍性病変】

認められたすべての腫瘍性病変を別表 2-1～別表 2-8 に示す。

腫瘍性病変の発生頻度において認められた統計学的に有意な変化は、全て減少方向へのものであることから偶発性あるいは毒性学的意義のないものと考えられた。5000 ppm 群の雄において、当該試験の最終段階で死亡率に統計学的有意差が認められたため、雄に関して少なくとも 1 投与群で 4 例以上の発生が認められた腫瘍性病変について下記のとおり Peto 検定を行った。その結果、投与に関連した腫瘍性病変の増加傾向は認められなかった。

表 2 主な腫瘍性病変の Peto 検定結果

以上の結果から、本剤を Fischer 系ラットに対し 24 カ月間飼料混入投与による 2 年間発がん性試験を実施した結果、5000 ppm 群で死亡率の増加(雄)、被毛汚れ(雌雄)、脱毛(雌雄)を伴う毛囊萎縮/毛囊周囲炎(雌雄)、体重増加抑制(雌雄)、肝臓重量増加(雌雄)、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大(雌雄)、小葉中心性肝細胞脂肪化(雌雄)、小葉中心性肝細胞壊死(雄)、腎臓重量増加(雌雄)、腎臓肉眼的表面粗造(雄)、腎臓の慢性腎症の増加(雌)あるいは悪化(雄)、盲腸の肉眼的膨満を伴う重量増加(雌雄)、腸間膜リンパ節の洞拡張(雄)、ならびに大腸の肉眼的黒色内容物(雄)が認められた。1000 ppm 群の雌では慢性腎症が増加したが、雄では有害な影響は認められなかった。従って、当該試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は、雄では 1000 ppm (36.4 mg/kg/day)、雌では 200 ppm (9.13 mg/kg/day) であった。また、発がん性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-1 (非腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-2〔非腫瘍性病変〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 1-3〔非腫瘍性病変〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-1 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-2 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-3〔腫瘍性病変〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-4 [腫瘍性病変]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-5 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-6〔腫瘍性病変〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-7 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-8〔腫瘍性病変〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.4 マウスにおける発がん性試験 (資料 No. T-3.4)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度: %

供試動物: ICR 系マウス、1 群雌雄各 52 匹、投与開始時 5 週齢

試験期間: 78 週間 (2007 年 10 月 17 日~2009 年 4 月 15 日)

投与方法: 検体を雄には 0、600、1800 及び 5400 ppm、雌には 0、300、1000 及び 3000 ppm と
なるように飼料に混合し、78 週間にわたって自由に摂取させた。検体を混入した飼料は
1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び生存率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

試験終了時の生存率を下表に示す。

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0	600	1800	5400	0	300	1000	3000
供試動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	52
死亡動物数	11	13	11	15	17	12	13	12	12
生存率 (%)	79	75	79	71	67	77	75	77	77

Kaplan-Meier の生存曲線

検体投与による生存率への影響は認められなかった。

統計学的に有意差の認められた所見を下表に示す。

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0	600	1800	5400	0	300	1000	3000
供試動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	52
被毛黄色化、生殖器周囲	7	7	13	24**	3	1	1	1	1

Fisher の直接確率検定 **: $p < 0.001$ [申請者注: 統計検定は申請者にて実施]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

1800及び5400 ppm 投与群の雄において、生殖器周囲の被毛の黄色化の頻度が増加した。その他には検体投与に関連する変化は認められなかった。

体重； 投与開始から16週間は週1回、その後は4週間に1回、全ての生存動物の体重を測定した。

以下の表に投与期間ごとの体重増加量を示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		600	1800	5400	300	1000	3000
体重 増加量	0-36週	104	100	100	89	91	79↓
	36-76週	171	129	179	121	121	100
	0-76週	114	101	108	97	98	83

Williams/Dunnett 検定 ↓; p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

3000 ppm 投与群の雌において、投与開始から36週目までの体重増加量が統計学的に有意に減少した。雄では投与による影響は認められなかった。

摂餌量； 全動物の摂餌量を投与開始から16週間は週1回、その後は4週間に1回測定した。

以下の表に投与期間ごとの摂餌量を示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		600	1800	5400	300	1000	3000
摂餌量	0-36週	95	98	100	98	102	93↓
	36-76週	93	95	98	95	100	95
	0-76週	95	98	100	98	102	95↓

Williams/Dunnett 検定 ↓; p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

3000 ppm 投与群の雌において、投与開始から36週目まで及び投与開始から76週目までの摂餌量が統計学的に有意に減少した。雄では投与による影響は認められなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		600	1800	5400	300	1000	3000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)		77.6	237.2	716.2	49.4	166.8	486.0

血液学的検査； 投与52週及び78週目に全生存マウスから尾静脈採血し、血液塗抹像を観察した。

切迫殺動物からも同様に採血した。対照群及び高用量群（雄5400 ppm、雌3000 ppm）のみ、白血球ディファレンシャルカウント、正赤芽球及び異常細胞形態について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物について、脳、肝臓、腎臓、副腎、心臓、脾臓、精巣、精巣上体、卵巣及び子宮（子宮頸管を含む）の重量を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検体投与の影響として、5400 ppm 投与群の雄で肝臓重量の増加が認められた。雌では肝臓の重量変化はなかった。雌の 300 ppm 投与群で認められた脳重量のわずかな増加には用量相関性がなく、偶発的なものと考えられた。

肉眼病理学的検査；全ての動物について剖検を行った。

主な所見を下表に、対照群と比べ統計学的有意差の認められたすべての所見を表 1 に示す。

雄の最終解剖動物においてすべての投与群で肝臓腫瘍が、また 5400 ppm 投与群で腎臓の顆粒化が統計学的に有意に増加し、雄の全動物でも 1800 及び 5400 ppm 投与群の肝臓腫瘍及び 5400 ppm 投与群の腎臓の顆粒化が統計学的に有意に増加した。病理組織学的検査では雄の肝臓腫瘍のうち、肝細胞腺腫または肝細胞癌によるものが対照群、600、1800、5400ppm 群でそれぞれ 4、9、9、12 例であった。5400 ppm 投与群の雄で認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

られた腎臓の顆粒化は、組織学的検査で認められた好塩基性尿細管、皮質の癒痕及び皮質のう胞の増加に対応すると考えられた。その他の有意差が認められた所見は、通常のCD-1 マウスを用いた長期試験において観察される所見であり、用量関連性もないため検体投与による影響とはみなさなかつた。

病理組織学的検査：対照群と最高投与群の動物と、試験途中で死亡または切迫殺した全ての動物の下記組織を切り出して包埋し、薄切してヘマトキシリン・エオジン染色を施し、病理組織学的検査を実施した。また、低投与群と中間投与群の肝臓、腎臓、肺および肉眼的異常組織についても標本を作製し鏡検した。

副腎、動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼及び視神経、大腿骨、胆のう、心臓、空腸、回腸、腎臓、涙腺、肝臓、肺、リンパ節(頸部、腸間膜、左腋窩)、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、肉眼的異常部位

〔非腫瘍性病変〕

有意差の認められたすべての非腫瘍性病変を表2に示す。

検体投与による影響と考えられる所見は以下の通りであった。

肝臓において、雄のすべての投与群で用量との関連性はないものの小葉中心性肝細胞肥大が有意に増加し、検体投与に関連した薬物代謝酵素誘導による適応反応と考えられた。さらに、雄のすべての投与群で単細胞性肝細胞壊死の発生頻度が有意な増加、または増加傾向を示した。また、1800及び5400 ppm投与群の雄では、好塩基性変異肝細胞巢

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

及び好酸性変異肝細胞巣が増加傾向を示した。これらの変化も投与との関連性が示唆された。雌では同様の所見は認められなかった。雌の 3000 ppm 投与群でマクロファージ内色素沈着が有意に増加したが、発生頻度に用量との関連性がなく、またその他の所見に関連する変化がなかったため、検体投与による影響ではないと判断した。[申請者注：雄の肝臓で認められた小葉中心性肝細胞肥大及び単細胞性肝細胞壊死は全ての投与群で有意に増加あるいは増加傾向を示しており、NOAEL は得られていない。小葉中心性肝細胞肥大は、メカニズム試験（資料 No. T7.1）で示されたように Cytochrome P450 誘導による適応反応と考えられ、肝細胞壊死は肝細胞障害に関連した変化であると考えられる。類似した変化はラットでも認められており、ラット 1 年間慢性毒性試験（資料 No. T3.2）では 1000 ppm (42.9 mg/kg/day)、発がん性試験（資料 No. T3.3）では 1000 ppm (36.4 mg/kg/day) で NOAEL が得られている。本試験において低用量である 600 ppm (77.6 mg/kg/day) においても認められた肝臓の変化はメカニズムが明らかで催腫瘍性につながるものではなく、かつ同様の所見についてラットで NOAEL が得られているため、毒性の評価は可能であると考えられる。]

雄の 1800 ppm 以上の投与群において、腎臓の変性性／再生性変化（好塩基性尿細管・皮質癒痕化・皮質のう胞）の発生頻度が有意な増加または増加傾向を示し、重篤化傾向を示した。これらは検体及び／または代謝物の排泄による影響と考えられた。また、投与群の雄で皮質の鉍質沈着の発生頻度が増加傾向を示したが、頻度及び重篤度に用量との関連性がないため、投与との関連は不明であった。

その他の有意差が認められた所見には用量との関連性がなく、ICR 系マウスで一般に認められる所見であるため、偶発性の変化と考えられた。[申請者注：最終解剖動物の雌の 3000 ppm 投与群において、胸腺の萎縮／退縮及び子宮腺拡張の発生頻度が有意に増加

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

したが、これらは加齢性の変化が検体投与により加速されたものであると考えられた。]

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を表 3 に、肝細胞腫瘍を以下の表に示す。

雄において、すべての投与群で肝細胞腫瘍の発生頻度が増加傾向を示し、5400 ppm 投与群では有意に増加した。しかしながら、投与群における肝細胞腫瘍発生頻度は全て試験実施機関の背景データ内であり、また対照群の肝細胞腫瘍発生頻度は背景データの最低発生率より低かった。

試験実施機関における雄マウスの肝細胞腫瘍の背景データ

背景データの個別値

その他の認められた全ての腫瘍は、ICR 系マウスに通常見られるものであり、その発生率には投与との関連性は認められなかった。

結 論： 本剤のICR系マウスに対する18ヶ月飼料混入による発がん性試験における影響として、雄の全ての投与群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大及び単細胞性肝細胞壊死の増加または増加傾向、1800 ppm以上の投与群で検体/代謝物の排泄による腎臓の変性性/再生性変化の増加または増加傾向が認められた。雌の3000 ppm投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。従って、無毒性量 (NOAEL)は雄で600 ppm (77.6 mg/kg/day)、雌で1000 ppm (167 mg/kg/day)と考えられた。[申請者注：雄の肝臓で認められた小葉中心性肝細胞肥大及び単細胞性肝細胞壊死は全ての投与群で有意に増加あるいは増加傾向を示しており、NOAELは得られていない。小葉中心性肝細胞肥大はCytochrome P450誘導による適応反応であり、肝細胞壊死は肝細胞障害に関連した変化であると考えられる。類似した変化はラットでも認められており、NOAELが得られている。これらの肝臓の変化はメカニズムが明らかで催腫瘍性につながるものではなく、かつ同様の所見についてラットでNOAELが得られているため、毒性の評価は可能であると判断した。]

雄の5400 ppm投与群において肝細胞腫瘍が統計学的に有意に増加したが、その発生率は無処置背景データの範囲内であり、一方、同時に試験した対照群における発生率は背景データの範囲を下回った。雌では検体投与による腫瘍の発生は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 1 肉眼所見

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2 (非腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 3-1〔腫瘍性病変；死亡・切迫殺〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 3-1 (腫瘍性病変；死亡・切迫殺 (続き))

表 3-2 (腫瘍性病変：最終解剖)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 3-2 (腫瘍性病変：最終解剖 (続き))

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 3-3 (腫瘍性病変：全動物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 3-3 (腫瘍性病変：全動物 (続き))

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

全動物における腫瘍結果：

8.6 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

8.6.1 ラットにおける二世世代繁殖毒性試験 (資料 No. T-4.1)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： Wistar 系ラット、1 群雌雄各 24 匹
投与開始時 5 週齢、体重 雄 143~167 g、雌 113~132 g

投与期間： P 世代；投与開始から F₁ 児離乳時までの約 18 週間
F₁ 世代；離乳時から F₂ 児離乳時までの約 18 週間
2007 年 11 月 13 日~2008 年 7 月 31 日

投与方法： 検体を 0、150、1000 および 5000 ppm の濃度で含有する飼料を自由に摂取させた。
投与量設定根拠；

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。
一般症状および死亡；全動物を投与期間中毎日観察した。

体 重； 雄親動物：投与期間中、週 1 回測定した。
雌親動物：生育期間中は週 1 回、妊娠期間中は妊娠 0、7、14 および 20 日、哺育期
間中は哺育 0、4、7、14 および 21 日に測定した。

摂餌量； 体重測定日に測定した。ただし、哺育 4 日については測定しなかった。

発情周期；P および F₁ 親世代の雌動物について、交配 3 週間前から交尾確認まで、膣垢を採取し、発情周期に伴う膣垢像の変化を確認し、以下の指標を算出した。

発情周期長 (日)：発情期から次の発情期の前日までの平均日数

正常発情周期 (%)：発情期の膣垢像が繰り返される雌を発情周期正常とし、それらの雌の群ごとの百分率

離乳後の母動物については、性周期を確認し、解剖時のステージを確定した。

交配および妊娠の確認；雌雄1対1で同居させ、膣栓又は膣垢塗抹標本中の精子の観察によって交尾を確認し、その日を妊娠0日とした。最大交配期間を3週間とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、分娩及び哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

なお、1匹以上の生存児を出産した場合に正常出産とした。

雄/雌交尾率 (%) = (交尾動物数 / 交配動物数) × 100

受胎率 (%) = (妊娠動物数 / 交尾動物数) × 100

出産率 (%) = (正常出産動物数 / 妊娠動物数) × 100

分娩時観察；P および F₁ 親世代の妊娠雌は自然分娩させ、分娩後、性別および外表異常の有無を検査し、死亡および生存児数を記録した。

また、個体ごとに妊娠期間を算出した。

児動物に関する指標；一般状態および死亡について毎日観察した。体重測定は哺育0、4、7、14 および21日に実施した。生後4日に1腹8匹 (雌雄各4匹) となるように児動物数を調整した。以下の指標を算出した

性比 = 総雄産児数 / 総産児数

哺育 0日生存率 (%) = (哺育0日の生存児数 / 産児数) × 100

哺育 4日生存率 (%) = (哺育4日の生存児数 / 哺育0日の生存児数) × 100

哺育 7日生存率 (%) = (哺育7日の生存児数 / 哺育4日に調整した児数) × 100

哺育14日生存率 (%) = (哺育14日の生存児数 / 哺育4日に調整した児数) × 100

哺育21日生存率 (%) = (哺育21日の生存児数 / 哺育4日に調整した児数) × 100

また、性成熟を評価するため、包皮分離および膣開口をそれぞれ哺育35日あるいは26日から毎日観察し、完了日齢と体重を記録した。

精子検査；P および F₁ 雄親動物について、屠殺直後、全群を対象として精子の運動性並びに精子 (精巣上体) および精子細胞数 (精巣) を調べ、精子形態を検査した。

肉眼的病理検査；親動物：児動物離乳後に屠殺し、肉眼病理学的検査を実施した。

児動物：継代用に選抜されなかった F₁ および F₂ 離乳児、間引き児および死亡児について外表および内臓を肉眼的に検査した。

血液学的検査；剖検時に、P および F₁ 世代の親動物各群雌雄10匹を対象として、後大静脈から採血し、以下の項目について検査した。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、赤血球分布幅(RDW)、赤血球血色素量分布幅(HDW)、血小板数(PLT)、網赤血球数(Retics)、

白血球数(WBC)、白血球のディファレンシャルカウント

臓器重量；親動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、甲状腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、盲腸、卵巢、子宮(頸部と卵管含む)、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺含む)、前立腺(腹側葉)

各腹雌雄各1匹の児動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺、子宮

病理組織学的検査；対照群および5000 ppm群の親動物各群雌雄10匹を対象として、以下の組織について病理組織学的検査を実施した。

精巣、精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺、卵巢、卵管、子宮(角部および頸部)、
膈、下垂体、副腎

さらに、対照群および5000 ppm群全例について盲腸(雌雄)および腎臓(雌)を、全群の親動物の甲状腺(P世代雄は除く)、肝臓および腎臓(雄のみ)について病理組織学的検査を実施した。

児動物については、5000 ppm群の臓器重量に変化が認められたため、対照群と5000 ppm群のF₂雌の離乳児全例について、脾臓の病理組織学的検査を実施した。

表 1 試験手順

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
P	生育(10週)	雌雄 1 対 1 で交配。交配は膣栓 または膣垢中の精子で確認。 (妊娠 0 日)	一般状態および生死について毎日観察。 体重および摂餌量を週 1 回測定。 交配状況の観察。
	交配(3週)		
	妊娠(3週)		妊娠 0、7、14、20 日に雌親動物の体重を測定。 出産状況の観察
	出産		児の一般状態、生存および死亡児数の記録、性別および外表異常の検査。
F ₁	哺育(21日)	出産後 4 日目に、同腹児数を雌雄各 4 匹に調整 (不可能な場合、雌雄計 8 匹)	一般状態および生死について毎日観察。 哺育 0、4、7、14、21 日に雌親動物の体重および生存児動物の体重測定、生存児数、性別の記録。 途中死亡及び哺育 4 日に選抜されなかった児動物の肉眼的病理検査。
	離乳	継代用に各腹雌雄各 1 または 2 匹の児動物を無作為に選抜。 (P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる)	全ての親動物および継代用以外の F ₁ 児動物の剖検を実施。 親動物の臓器重量測定、病理組織学的検査を実施。
	生育(10週)		(P 世代に準ずる)
	交配(3週)		(P 世代に準ずる)
	妊娠(3週)		(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
哺育(21日)	(P 世代に準ずる)		
F ₂	離乳		全ての親動物および児動物の剖検を実施。 親動物および児動物の臓器重量測定、病理組織学的検査を実施。

試験結果： 概要を表2に示した。

親動物

一般状態および死亡；検体投与に関連した一般状態の変化および死亡は認められなかった。

体重； 5000 ppm群のPおよびF₁世代雌の哺育21日の体重、F₁世代雌の妊娠0～7日および哺育0～21日の体重増加量が有意に増加していたが、毒性学的意味はないと考えられた。

摂餌量； 5000 ppm群のPおよびF₁世代雄、PおよびF₁世代雌の投与1週または妊娠14～20日に摂餌量の有意な増加が認められたが、これらの所見に毒性学的意味はないと考えられた。

発情周期；いずれの投与群においても発情周期に検体投与に関連した異常は認められなかった。

繁殖性に関する指標；交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間、着床数はいずれの群においても対照群と同等であった。

精子検査；いずれのパラメーターについても検体投与群と対照群に有意な差は認められなかった。

血液学的検査；5000 ppm群のF₁世代雄のヘマトクリット値(Ht)および血色素量(Hb)、PおよびF₁世代雌のHtおよびHb、F₁世代雌の赤血球数(RBC)の有意な低下が認められた。また、F₁世代雌の赤血球血色素量分布幅(HDW)および血小板数(PLT)の増加が認められた。

1000および5000 ppm群のP世代雌における好塩基球(B)および5000 ppm群のP世代雌におけるリンパ球(L)の有意な低下が認められたが、これらの所見はF₁世代で再現されなかったことから、偶発的な所見であると考えられた。

肉眼病理学的検査；5000 ppm群のP世代雌雄で肝臓の暗調化およびF₁世代雌雄の大腸膨満の発生率増加が認められた。

甲状腺腫大の発生率が150 ppm群のF₁世代雄で増加していたが、病理組織学的検査でこれらのほとんどが濾胞細胞の水腫性変性を示し、この所見は本系統のラットにおいて自然発生的に認められる甲状腺重量の増加を伴う病理組織学的変化として知られていることから、これは検体投与に起因する影響ではないと考えられた。

臓器重量；1000 ppm群のP世代雄の肝臓相対重量に有意な増加が認められた。5000 ppm群のPおよびF₁世代雄において肝臓、腎臓、甲状腺および盲腸の絶対または相対重量の増加が認められた。

150および1000 ppm群のP世代雌において肝臓の絶対および相対重量の増加が認められた。5000 ppm群のPおよびF₁世代雌においては肝臓、副腎、腎臓、甲状腺および盲腸の絶対または相対重量の増加が認められた。

1000 ppm群のP世代雄 (相対3.13%)と150 (絶対11554 mg, 相対4.33%)および1000 ppm群 (絶対11301 mg, 相対4.26%)のP世代雌における肝臓の絶対または相対重量の増加は、F₁世代では再現されず、病理組織学的検査においても検体投与に関連した変化は認められなかった。また、肝臓重量は背景データの範囲内 (雄：相対2.96～3.17%、雌：絶対9487～11864 mg, 相対3.66～4.42%)にあることから、これらの

投与群の肝臓重量にみられた変化は偶発的なものと考えられた。

病理組織学的検査；5000 ppm群のPおよびF₁世代雄において肝臓のグリソン鞘の褐色色素沈着、びまん性肝細胞肥大および腎臓の近位尿管上皮細胞硝子滴沈着、F₁世代雄における甲状腺濾胞上皮細胞肥大の増加が認められた。肝臓のグリソン鞘の褐色色素の沈着は、シュモール染色で陽性、Hale methodおよびベルリン青染色で陰性が示されたことから、リポフスチンによるものと考えられた。

5000 ppm群のPおよびF₁世代雌において小葉中心性肝細胞肥大および甲状腺濾胞上皮細胞肥大の増加が認められた。

児動物

一般状態；検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。

児動物に関する指標；産児数、生存率、包皮分離および陰開口完了日および完了時体重については対照群と同等であった。

150 ppm群のF₁児動物の性比が対照群と比較して低値であったが、1000および5000 ppm群で同様の変化が認められないことから、偶発的なものと考えられた。

体重； 5000 ppm群のF₁雌雄で哺育21日の体重がわずかに対照群より低い値を示したが、F₂児動物の体重には影響が認められなかったため、偶発的所見であると考えられた。

肉眼病理学的検査；検体投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量；5000 ppm群のF₁雌雄の脾臓絶対重量、F₂雌の脾臓の絶対および相対重量の低下が認められた。F₁児動物で認められた変化は、軽度の体重低下に起因するものと考えられた。また、この群のF₁雄の脳の相対重量が有意に増加したが、これについても体重低下に起因するものと考えられた。

病理組織学的検査；F₂雌の脾臓について、検体投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤をラットに二世にわたって飼料中に混入して投与した場合、5000 ppm群の親動物では、ヘマトクリット値、血色素量または赤血球数の減少、赤血球血色素量分布幅および血小板の増加が認められ、肝臓の剖検所見および病理組織学的所見の出現頻度、臓器重量の有意な増加が認められた。また、腎臓および甲状腺についても病理組織学的所見の出現頻度と臓器重量の増加が認められ、副腎および盲腸の臓器重量ならびに大腸膨満の出現頻度が増加した。児動物については、5000 ppm群の雌の脾臓重量が有意に低下したが、病理組織学的異常は認められなかった。また、5000 ppm投与群の児動物の肝臓には、投与の影響が及んでいる可能性が示唆された。

よって、親および児動物に関する無毒性量は、共に1000 ppm (P：雄 64.1 mg/kg/day、雌 79.2 mg/kg/day、F₁：雄76.8 mg/kg/day、雌 84.4 mg/kg/day)であり、最高投与量の5000 ppm (P：雄 334 mg/kg/day、雌 395 mg/kg/day、F₁：雄 393 mg/kg/day、雌 434 mg/kg/day)においても繁殖能に影響を及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表2-1 結果の概要（親動物）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-2 結果の概要（親動物：続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 結果の概要（繁殖能力・児動物）

8.6.2 ラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度: %

供試動物: Wistar 系性成熟未経産雌ラット、13 週齢、1 群 24 匹、入荷時体重 180~240 g

投与期間: 妊娠 6~19 日の 14 日間 (2008 年 2 月 11 日~2 月 28 日)

投与方法: 検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、30、300 および 1000 mg/kg の投与量で妊娠 6~19 日 (膈垢中の精子の存在または膈栓が確認された日を妊娠 0 日として起算)の 14 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒の 1%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを投与した。

用量設定根拠:

試験項目:

親動物: 生死および一般状態を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18 および 20 日に体重および摂餌量を測定した。妊娠 20 日に帝王切開を行い、肉眼病理学的検査を実施し、肝臓および盲腸重量を測定し、黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数を記録した。

生存胎児: 胎児体重および胎盤重量測定、性別判定を実施し、外表検査を行った。各腹約 1/2 の胎児について内臓を検査し、残りの胎児について骨格検査を実施した。

試験結果: 概要を表に示した。

親動物: いずれの群においても検体投与によると考えられる死亡、一般状態の異常は認められなかった。

1000 mg/kg/day 群において、妊娠 6~9 および 9~12 日の摂餌量の低下、肝臓および盲腸重量の増加が認められた。また、300 mg/kg/day 群において肝臓および盲腸重量の増加が認められた。

黄体数、着床数、吸収胚数、生存および死亡胎児数については、いずれの群においても検体投与に起因する影響は認められなかった。

胎児動物；全ての群において胎児体重、胎盤重量および性比に、検体投与に関連した影響は認められなかった。

いずれの群においても検体投与に起因する奇形は認められなかった。

300 および 1000 mg/kg 投与群において、骨格変異を認めた胎児の出現頻度の有意な増加が認められ、腹ごとの出現率で評価した場合でも 1000 mg/kg 投与群では有意な高値がみられた。胎児にみられた骨格変異の内訳をみると、300 および 1000 mg/kg 投与群での過剰肋骨の有意な増加が、これらの投与群における骨格変異を認めた胎児の出現頻度の有意な増加に帰したものであった。しかし、過剰肋骨については、300 mg/kg/day 群の出現頻度 (57.4%)は背景対照データ (35.7~61.0%)の範囲内であり、偶発的所見であると考えられた。

また、1000 mg/kg/day 群の出現頻度 (62.4%)についても以下の理由から偶発的なものである可能性が考えられた：1000 mg/kg/day 群の出現頻度 (62.4%) は背景対照データの上限值 (61.0%)とほぼ同じであり、胎児の出現頻度と比べて毒性学的評価上より適切なパラメーターと考えられる過剰肋骨を認めた胎児の腹あたりの出現頻度 (対照群 42.9%、30 mg/kg/day 群 33.4%、300 mg/kg/day 群 57.3%、1000 mg/kg/day 群 63.8%)では、統計学的に有意な差は認められなかった。さらに、1000 mg/kg/day 群における過剰肋骨の有意な増加は、母動物に対する毒性影響 (摂餌量の有意な減少、肝臓と盲腸への影響)と関連して二次的に生じたのかもしれないと考えられた。

1000 mg/kg/day 群において肋軟骨：不連続の出現頻度 (39.4%)が有意に増加していたが、腹ごとの出現率を求めてより適切な統計学的手法であらためて評価すると、いずれの投与群においても対照群との間で統計学的に有意な差は認められなかったことから、この有意差は被験物質投与とは関連性の低い偶発的なものと考えられた。その他の骨格変異についても、各々の所見を腹ごとの出現率で評価した場合、いずれの投与群においても対照群との間で統計学的に有意な差は認められなかった。[申請者注：1000 mg/kg/day 投与群において有意差はないものの腰仙移行椎および仙椎前椎骨数 27 が増加傾向にあり、中軸骨格系の骨格変異の出現頻度増加が示唆された。よって、1000 mg/kg/day 投与群における骨格変異を認めた胎児の腹ごとの出現率の統計学的有意な増加および中軸骨格に関する骨格変異の増加傾向は、検体投与に起因する可能性が考えられた。]

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに 0、30、300 および 1000 mg/kg の投与量で経口投与した結果、母動物については 300 および 1000 mg/kg/day 投与群で肝臓および盲腸重量の増加、1000 mg/kg/day 投与群においては摂餌量の低下が認められた。

よって、無毒性量 (NOAEL)は母動物で 30 mg/kg/day、胎児においては 1000 mg/kg/day であり、最高投与量の 1000 mg/kg/day においても催奇形性はないと判断された。[申請者注：1000 mg/kg/day において、骨格変異を認めた胎児数の増加、中軸骨格に関連する過剰肋骨、腰仙移行椎、仙椎前椎骨数 27 の発生頻度の増加傾向が認められることから、胎児に対する無毒性量は 300 mg/kg/day であると判断した。なお、1000 mg/kg/day においても催奇形性はないと判断した。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

短期暴露評価に関して、1000 mg/kg/day 投与群における妊娠 6～9 日の親動物の摂餌量の低下、骨格変異を認めた胎児数の増加、中軸骨格に関連する過剰肋骨、腰仙移行椎、仙椎前椎骨数 27 の発生頻度の増加傾向が認められたことから、無毒性量は 300 mg/kg/day であると考えられる。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：親動物・胎児動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

8.6.3 ウサギにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.3)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

検体純度 : %

試験動物 : 日本白色種ウサギ (Kbl:JW)、性成熟未経産雌、18~19 週齢、1 群 25 匹、
入荷時体重 3.12~3.74 kg

投与期間 : 妊娠 6~27 日の 22 日間 (2008 年 6 月 1 日~2008 年 6 月 26 日)

投与方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、30、100 および 300
mg/kg の投与量で、妊娠 6~27 日 (人工授精した日を妊娠 0 日とした)の 22 日間、
毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 1%カルボキシメチルセルロース水
溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠 :

試験項目 :

親動物 ; 生死および一般状態を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24、27 およ
び 28 日に体重を測定し、体重増加量を算出した。摂餌量は妊娠 0、3、6、9、12、
15、18、21、24、27 および 28 日に測定した。

妊娠 28 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、吸収胚数、
生存および死亡胎児数およびその子宮内位置を調べた。

生存胎児 ; 体重測定、性別判定を実施し、外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常
の有無を検査し、その後、骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。認めら
れた所見は奇形および変異に分類した。

試験結果： 概要を次表に示した。

親動物： 300 mg/kg/day 群で妊娠 12-15 日の摂餌量が有意に低く、投与期間中に 2 例が流産した。

妊娠子宮重量、黄体数、着床数、着床前および着床後胚死亡率について、いずれの群においても検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

胎児動物： 30 mg/kg/day 群において雄胎児率が増加していたが、他の群ではそのような影響は認められないことから、検体投与に起因するものではないと考えられた。

300 mg/kg/day 群の雄胎児の体重が対照群の値よりも有意に高かったが、用量設定試験の 300 および 1000 mg/kg/day 群では胎児体重が対照群よりも低かったという点を考慮すると、今回の所見は偶発的なものであり、検体投与の影響ではないと考えられた。また、胸腺頸部残留の発生頻度が他の群と比較して有意に低い値を示したが、これは有害な変化ではないと考えられた。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに 0、30、100 および 300 mg/kg/day の投与量で経口投与した結果、300 mg/kg/day の母動物で、流産および摂餌量低下が認められた。

よって、無毒性量 (NOAEL) は母動物で 100 mg/kg/day、胎児においては 300 mg/kg/day であると判断される。なお最高投与量の 300 mg/kg/day 群においても催奇形性はないと判断された。

[申請者注：短期暴露評価に関し、300 mg/kg/day の母動物の摂餌量低下は妊娠 12-15 日で認められており、投与初期の影響ではない。同群では流産も認められたが、用量設定試験で妊娠 12 日目以降に 300 mg/kg/day 群で体重、体重増加量および摂餌量が低下していることから、流産はこうした連続投与による影響によるものであると考えられる。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：親動物・胎児動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

8.7 変異原性

8.7.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. T-5.1)

試験機関

報告書作成年 2007年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 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、5~5000 µg/プレート の7用量で試験した。試験は3連制で2回実施した。なお、試験Ⅰはプレート法、試験Ⅱはプレインキュベーション法を用いた。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

本試験において、検体はS9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/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NaN₃、AAC、2NF及びNQOではS9 Mixの非添加で、またAAN及びB[a]PではS9 Mixの添加によりすべての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において復帰突然変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 I (プレート法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験Ⅱ（プレインキュベーション法）

8.7.2 チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. T-5.2)

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度 : %

試験方法 : チャイニーズハムスター肺由来の株化細胞である CHL 細胞を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を調べた。

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、本試験 I (代謝活性化非存在下および存在下での短時間処理)および本試験 II (代謝活性化非存在下連続処理法及び存在下短時間処理法)を行った。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次表に示した。

本試験 I の代謝活性化非存在下において、70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で溶媒対照に比べギャップを除いた染色体異常を有する分裂中期細胞の割合の統計学的に有意な増加 ($P < 0.01$) が観察された。しかし、この増加は細胞毒性のある用量でのみ観察されたため、生物学的に関連はないと考えられた。代謝活性化存在下ではいずれの用量においても、溶媒対照に比べ染色体異常を有する分裂中期細胞の割合の有意な増加を示さなかった。

本試験 II では、いずれの用量においても溶媒対照に比べ染色体異常を有する分裂中期細胞の割合の有意な増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (MMC) 及びシクロフォスファミド (CP) では染色体異常を示す分裂中期細胞の割合の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

染色体異常試験結果（本試験 I）

染色体異常試験結果（本試験 II）

8.7.3 マウスを用いた小核試験 (資料 No. T-5.3)

試験機関

報告書作成年 2008 年[GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： CD-1 (ICR)系雌雄マウス、試験開始時約 40 日齢、1 群雌雄各 5 匹

試験方法： 検体を 1%メチルセルロースに懸濁し、雌雄共に 2000、1000 及び 500 mg/kg の投与レベルで強制的に単回経口投与した。なお、対照群に 1%メチルセルロースを同様に投与した。投与後 24 および 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取してスライドガラス上にメタノール固定後、アクリジンオレンジで染色し骨髓標本を作製した。陽性対照群はマイトマイシン C を用い、24 時間後に動物を屠殺した。各標本について、2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。

また、細胞毒性を調べるために 1000 個以上の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

用量設定根拠；

試験結果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

雌雄のいずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。雌雄のいずれの投与群においても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

観察結果

8.7.4 ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（資料 No. T-5.4）

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験方法： マウスリンパ腫細胞由来の L5178Y 細胞を用いて、代謝活性化系及び非代謝活性化系によって Tymidine kinase 遺伝子座を用いて遺伝子突然変異誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解した。試験は 2 連制で行った。

用量設定根拠；

試験結果： 結果を次表に示した。

検体処理群において代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で突然変異頻度の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたメタンスルホン酸メチル (MMS) またはベンツピレン (BaP) 処理群では、突然変異頻度の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、L5178Y 細胞に対し突然変異を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験 1

試験 2

8.7.5 ラット肝細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (資料 No. T-5.5)

試験機関

報告書作成年

2010 年 [GLP 対応]

検体純度 : %

供試動物 : Sprague-Dawley 系ラット (8 週齢、雄、体重 296~338g)、1 群 3 匹

試験方法 : 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、500、1000 及び 2000 mg/kg の投与レベルで 1 回強制経口投与した。なお、陰性対照群には 1%メチルセルロース水溶液を、陽性対照群には Dimethylnitrosamine および 2-acetylaminofluorene をそれぞれ 10 および 50 mg/kg の用量で、同様に投与した。

検体投与群で死亡が認められなかったため、1000 及び 2000 mg/kg 群および対照群の動物について、投与 2 及び 16 時間後に麻酔下で肝コラゲナーゼ灌流法によって肝細胞を遊離した。遊離肝細胞をプラスチック製スライドグラスに播種し、DNA 修復合成を放射能標識するためにトリチウムラベルしたチミジンを加えて 4 時間培養し、更に、非標識チミジンを添加して 18 時間培養した。固定後オートラジオグラムを作製し、1 匹当たり 100 個の細胞を観察して肝細胞におけるネットグレイ数及び修復細胞率を評価した。結果の評価は、検体投与群において平均ネットグレイ数が 5 以上であり、かつ平均修復細胞率が 20%以上の群が見られる場合を陽性と判定した。

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

全ての検体投与群で死亡は認められなかった。

1000 および 2000 mg/kg 投与群のいずれのサンプリング時間においても、平均ネットグレイ数及び平均修復細胞率は溶媒対照群と同程度の値を示した。一方、陽性対照群の Dimethylnitrosoamine 及び 2-acetylaminifluorene では明らかな UDS の誘発が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、本剤はラットの肝臓に対して DNA 損傷を誘発しないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ラット肝細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験結果

8.8 生体機能影響

8.8.1 生体の機能に及ぼす影響に関する試験 (資料 No. T-6.1)

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度: %

1) 中枢神経系に対する作用

①マウスにおける電撃痙攣に対する作用

供試動物: ICR 系マウス、雄性、投与時 7 週齢、体重 雄 27.5~32.2 g、1 群 8 匹

試験方法: 検体を 1% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、10 mL/kg の投与容量で 0、200、2000 mg/kg の用量を単回経口投与し、投与 6 時間後にマウスの両眼瞼に予め生理食塩水に浸した電極を当て、小動物用電撃刺激痙攣装置を用いて電気ショックを与えた。電気ショックの刺激条件はパルス幅 5 msec、周波数 100 Hz とし、1 秒間に 0.5 mA ずつ電流を段階的に上昇させ、間代性痙攣 (CL) 及び強直性伸展痙攣 (T.E) が発現する時の電流値を読みとった。

試験結果: ピリオフェノン原体の 200 および 2000 mg/kg は電撃痙攣における間代性痙攣 (CL) および強直性伸展痙攣 (T.E) の出現電流閾値に対して対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

2) 呼吸、循環器系に対する作用

①ラットにおける血圧及び心拍数に対する作用

供試動物: SD 系ラット、雄、投与時 7 週齢、体重 208.5~235.3 g、1 群 5 匹

試験方法: 検体を 1% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、10 mL/kg の投与容量で 0、200、2000 mg/kg の用量を単回経口投与し、収縮期血圧ならびに心拍数を投与前、投与 1、3、6 および 24 時間後に無麻酔で測定した。

試験結果: ピリオフェノン原体の 200 および 2000 mg/kg は血圧および心拍数に対して投与 1、3、6 及び 24 時間後のいずれも媒体群と比較して有意な変化は認められなかった。

②モルモットにおける心電図および呼吸に対する作用

供試動物：Hartley系モルモット、雄、投与時5週齢、体重320.4～358.6g、1群5匹

試験方法：検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、10 mL/kgの投与容量で0、200、2000 mg/kgの用量を単回経口投与し投与1、3、6および24時間後に無麻酔で心電図の測定および異常呼吸の有無を肉眼的に確認した。心電図の測定は、A・B誘導（右肩甲骨—胸部）測定用アンプを用い、ポリグラフシステムを介して、心電図の電気信号を循環動態解析ソフトウェアに各測定ポイントにつき2秒間以上取り込み、その中の安定した波形の2秒間を採用した。呼吸についてはラットのFOB観察法のスコアを引用した。

試験結果：ピリオフェノン原体の200および2000 mg/kgは心電図（PR、QT、QTc、QRS間隔）および呼吸（異常呼吸の有無）に対して投与1、3、6及び24時間後のいずれも媒体群と比較して有意な変化は認められなかった。

3) ラットの腎機能に対する作用

供試動物：SD系ラット、雄、投与時7週齢、体重218.5～238.0g、1群5匹

試験方法：検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、10 mL/kgの投与容量で0、200及び2000 mg/kgの用量を単回経口投与し、その直後に生理食塩水を2.5 mL/100g体重の割合で経口負荷した。投与直後から6時間後までおよび6時間後から24時間後までのそれぞれの尿を採取し、尿量、Na⁺濃度、K⁺濃度、Na⁺/K⁺比、Cl⁻濃度及び浸透圧について検査した。

試験結果：ピリオフェノン原体の200 mg/kg経口投与は、投与直後から投与6時間後および投与6から24時間後までの尿量、尿中電解質排泄量及び浸透圧に対して対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

ピリオフェノン原体の2000 mg/kgは投与6時間後までの尿量、尿中電解質排泄量及び浸透圧に対して対照群と比較して有意な変化は認められなかった。投与6から24時間後までにおいては対照群と比較して尿中のNa⁺排泄量の有意な低下が認められた。尿量、尿中のK⁺、Cl⁻排泄量、Na⁺/K⁺比および浸透圧に対して対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

結論：以上より、ピリオフェノン原体は無麻酔ラットの血圧および心拍数、無麻酔モルモットの心電図、呼吸およびマウスの電撃痙攣に対して影響が無いことが確認された。また、ラットの腎機能に対する作用では2000 mg/kgで投与6から24時間後までのNa⁺排泄量に低下が認められたものの尿量、尿中電解質（K⁺、Cl⁻）排泄量、Na⁺/K⁺比および浸透圧には作用を認められなかったことから腎機能への影響は比較的軽微なものと考えられた。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
1. 中枢神経系 ① 電撃痙攣 (マウス)	経口 (1%CMC-Na)	0 200 2000	♂8	2000	—	2000 mg/kg まで 作用なし
2. 呼吸,循環器系 ① 血圧,心拍数 (ラット)	経口 (1%CMC-Na)	0 200 2000	♂5	2000	—	2000 mg/kg まで 作用なし
② 心電図,呼吸 (モルモット)	経口 (1%CMC-Na)	0 200 2000	♂5	2000	—	2000 mg/kg まで 作用なし
3. 腎機能系 尿量・電解質・ 浸透圧 (ラット)	経口 (1%CMC-Na)	0 200 2000	♂5	200	2000	2000 mg/kg の 6～24 時間尿で Na ⁺ 排泄量の有意 な低下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9 その他の毒性

8.9.1 ICR 系雄マウスを用いた 28 日間混餌投与時の薬物代謝酵素誘導および肝細胞増殖に関する影響評価試験 (資料 No. T-7.1)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.2 ラットにおける肝臓毒性メカニズム試験 (資料 No. T-7.2)

試験機関

報告書作成年 2011 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

られるため、短期暴露評価に関するエンドポイントとして選出すべきではない。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.3 マウスにおける混餌投与による 28 日間免疫毒性試験 (資料 No. T-7.3)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.4 ラットにおける飼料混入による 28 日間反復経口投与免疫毒性試験 (資料 No. T-7.4)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10 代謝物の毒性

8.10.1 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-1)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度: %

試験動物: SD系雌ラット、投与時8週齢、体重196~208g、1群雌3匹

試験期間: 単回投与後14日間観察

試験方法: 毒性等級法; 2000 mg/kg を3匹に経口投与した結果、死亡がなかった為、2000 mg/kg を別の3匹に投与した。

投与方法: コーン油を媒体として用い、濃度100 mg/mL に調製し、20 mL/kg の容量で一晩絶食後のラットに経口投与した。投与は胃ゾンデを用いて1時間おきに2回に分けて行った。

試験項目: 中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。投与前、投与後7及び14日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	異常を認めず
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

観察期間中に死亡例はなく、試験期間を通じて中毒症状も認められなかった。剖検所見では、主要な組織・器官に特記すべき変化は認められなかった。

8.10.2 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. TM-2)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度 : %

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の非存在下及び存在下で、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、本試験 I は 6.9~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量、本試験 II は 39.1~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量で試験した。試験はプレインキュベーション法を用いて 3 連制で 2 回実施した。

用量設定根拠 ;

試験結果 : 結果を次表に示した。

本試験 I および II において、検体は S9 Mix の有無にかかわらず、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 AF-2、 NaN_3 、9-AA では S9 Mix の非添加で、また 2-AA では S9 Mix の添加によりすべての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において復帰突然変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験Ⅱ

8.11 製剤の毒性

8.11.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.1)

試験機関

報告書作成年 2008年 [GLP 対応]

検体純度： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試動物： SD系ラット、約8~12週齢、体重：178~212g、1群雌3匹

観察期間： 14日間

試験方法： 毒性等級法：2000 mg/kgを3匹に経口投与した結果、死亡がなかった為、2000 mg/kgを別の3匹に投与した。

投与方法： 検体を1%メチルセルロース水溶液に溶解してプラスチック製カテーテルを用い経口投与した。
投与前一晩及び投与後約4時間絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。投与直前、投与後7及び14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	異常を認めず
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

観察期間中に死亡例はなく中毒症状も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

8.11.2 ラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-1.2)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

検体純度： ピリオフェノン 26.8%フロアブル
製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試動物： SD系ラット、約8~12週齢、
体重；雄 373~494 g、雌 240~271 g、1群雌雄各5匹

観察期間： 14日間

投与方法： 検体を攪拌し、刈毛した腰背部に24時間にわたり閉塞貼付した。

観察・検査項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。体重を投与直前、投与後7及び14日に測定した。試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雄 投与後1日から発現、投与後3日までに消失 雌 投与後1日から発現、投与後5日までに消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

中毒症状としては、貼付部位の紅斑が投与後1日から投与後4日にかけて観察された。投与後7日に雄1例及び雌3例で、投与後14日に雄1例で体重増加量の低下がみられた。その他に異常は認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

[申請者注：認められた症状は検体貼付部位の皮膚紅斑のみであり、これらは刺激性変化で中毒症状ではないと判断した。従って、毒性徴候の認められなかった最高投与量を雌雄ともに2000 mg/kgとした。]

8.11.3 ラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 No. TF-1.3)

試験機関

報告書作成年 2008 年 [GLP 対応]

検体純度： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試動物： SD 系ラット、9~10 週齢、

体重；雄 297~324 g、雌 214~240 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

暴露方法： 蒸留水で50%に希釈した検体を2.78 mg/Lの濃度でミストを発生させ、4時間にわたり鼻部を暴露した。なお、2.78 mg/Lはミスト発生可能な最高濃度であった。暴露空気はガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件；

実測濃度に対する名目濃度 (mg/L)	5.0
実測濃度 (mg/L)	2.78
粒子径分布 (%) ¹⁾	
9.0 (μm)	4.4
5.8	10.9
4.7	12.6
3.3	13.2
2.1	26.9
1.1	20.4
0.7	8.5
0.4	3.1
空気力学的質量中位径 (μm)	2.8
呼吸可能な粒子 (<3.3 μm)の割合 (%)	72.1
チャンバー容量 (L)	40
チャンバー内通気量 (L/分)	25.7
暴露条件	ミスト、4時間、鼻部暴露

¹⁾アンダーセンカスケードサンプラーを用い、4回測定した平均

観察・検査項目： 暴露中及び暴露後14日間、中毒症状及び生死を観察した。

観察期間終了時の全生存動物につき肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果：

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	2.78
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄共 >2.78
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 死亡なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共 中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄共 2.78

雌雄共、中毒症状は見られなかった。雌の1例で、暴露後3日から14日まで頸部に痂皮が見られた。

肉眼的病理検査において、全例に異常は認められなかった。

8.11.4 ウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料 No. TF-1.4)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

検体純度： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、雌、11週齢、体重 2.280~2.731 kg、1群 3匹

観察期間： 72時間

投与方法： 検体貼付の約26時間前にウサギの体幹背部を刈毛、除毛して、左右2箇所 of 検体貼付部位 (各2.54 cm×2.54 cm)を設けた。検体0.5 mLを左側の貼付部位の皮膚に直接塗布し、その上をガーゼパッチ (2.5 cm×2.5 cm)で覆った。更にその上をリント布及び非刺激性の粘着テープ (Transpore™, 3M)で被覆した。4時間貼付した後、脱イオン水で皮膚に残った検体を拭き取った。右側の貼付部位は対照皮膚として、検体塗布を除き、同様の処置をした。

観察項目： 貼付除去1、24、48及び72時間後に貼付部位を観察し、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」記載の基準に従って皮膚反応を採点し、その採点結果を基に、GHS分類に従って刺激性を評価した。
また、一般状態の観察を毎日1回、体重の測定を、検体貼付日及び最終観察日に実施した。

試験結果： 皮膚反応の採点結果を次頁の表に示した。

すべての動物において、観察期間を通じて検体貼付部位及び対照皮膚のいずれにも皮膚反応は認められなかった。

また、一般状態及び体重変化の異常も認められなかった。

以上の結果から、ピリオフェノン26.8%フロアブルはウサギの皮膚に対して無刺激性であると判断した。

表 皮膚反応の評価点

動物番号	観察項目	最高評点	暴露開始後における皮膚反応評点				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
1	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
2	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
3	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
合計	検体	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
		浮腫	12	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
		浮腫	12	0	0	0	0
平均	検体	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	対照	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0

8.11.5 ウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-1.5)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成；ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、雌、11 週齢、体重 2.400~2.667 kg

非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： それぞれのウサギの結膜嚢内に検体 0.1 mL を適用した。事前に眼の検査を実施し、眼の異常や角膜の損傷の認められない側の眼を試験に用いた。検体適用後、検体の流失を防ぐため、およそ 1 秒間上下眼瞼を軽く合わせた。洗眼群では、適用 30 秒後に 30 秒間微温湯で洗眼した。適用した側と反対側の眼を無処理対照とした。

観察項目： 検体適用 1、24、48、72 時間後に一般状態及び眼の反応を観察した。眼の反応の採点は「農薬の登録申請に係る試験成績について」(12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知) 別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」記載の基準に従って行い、GHS 分類に従って刺激性を評価した。

試験結果： 眼反応の評点を次頁の表に示した。

非洗眼群、洗眼群ともに角膜及び虹彩には刺激性反応は認められなかった。

結膜では、発赤 (評点 1) が両群の全例に、浮腫 (評点 1) が非洗眼群の 2/3 例に、評点 2 の分泌物が非洗眼群の全例に、評点 1 の分泌物が洗眼群の全例に適用 1 時間後から認められたが、結膜の発赤は適用 48 時間後までに、その他の反応は適用 24 時間後までに全例とも消失した。

その他の眼の異常及び一般状態の異常はすべての動物で認められなかった。

以上の結果から、本剤のウサギに対する眼刺激性は、GHS の分類によると区分外となり、ピリオフェノン 26.8%フロアブルはウサギの眼に対し、軽微な刺激性があると判断した。また、投与 30 秒後の洗眼に 26.8%フロアブルの眼刺激性変化を軽減する効果が認められた。

眼刺激性採点表

動物番号	観察項目		最高 評点	適用後時間				
				1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群	1	角膜	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物	3	2	0	0	0
	2	角膜	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物	3	2	0	0	0
	3	角膜	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物	3	2	0	0	0
	合計		60	11	1	0	0	
	平均		20.0	3.7	0.3	0.0	0.0	
	洗眼群 (3匹平均)	角膜	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0
面積			4	0.0	0.0	0.0	0.0	
虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0		
結膜		発赤	3	1.0	0.3	0.0	0.0	
		浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	
		分泌物	3	1.0	0.0	0.0	0.0	
合計		20.0	2.0	0.3	0.0	0.0		

8.11.6 モルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. TF-1.6)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

検体純度： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成； ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試動物： Hartley 系モルモット、雌、7 週齢、

検体感作群 20 匹、検体非感作群 10 匹、

陽性対照感作群 10 匹、陽性対照非感作群 10 匹

体重 393~489 g

観察期間： 惹起除去後 48 時間

試験操作： [Buehler 法]

投与量設定根拠；

感 作； 感作前日に動物の肩背部を刈毛、除毛して貼付部位を設け、サージカルテープ (Blenderm TM, 3M) 上に付着させたリント布 (2 cm×2 cm) に塗布した 0.2 mL の検体原液を貼付部位に貼付した。その上を別のサージカルテープ (Transpore TM, 3M) で被覆し、6 時間閉塞貼付した。この操作を 7 日置きに 3 回実施した。非感作群には、検体を除いて、同様の処置をした。

陽性対照群には α -hexylcinnamic aldehyde (HCA) を用い、HCA 原液 (100%) 0.2 mL を検体処理と同様の操作により貼付した。

惹 起； 1 回目の感作の 28 日後、前日に刈毛、除毛した左側腹部に、蒸留水で 50% に希釈した検体 0.2 mL を感作時と同様の方法で 6 時間貼付した。

陽性対照群には、流動パラフィンで 50% に希釈した HCA を検体と同様の操作により貼付した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

観察項目： 惹起貼付除去の 24 時間後及び 48 時間後に貼付部位を観察し、皮膚反応（紅斑及び浮腫）について、以下の基準に従って採点した。貼付部位は観察のおよそ 8 時間前に除毛した。採点結果を基に感作率（陽性動物数／感作動物数）を算出し、Magnusson & Kligman (1969)の基準に従って、感作性の強度を分類した。感作率が 0% の場合は感作性陰性とした。感作群において非感作群に認められた最高評点を上回る反応を認めた動物を感作陽性動物とし、24 もしくは 48 時間後のいずれかの観察で認められた最高評点をその動物の皮膚反応評点とした。

皮膚反応	評点
肉眼的に変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑.....	1
中等度のびまん性紅斑	2
強い紅斑及び浮腫.....	3

試験結果： 皮膚反応の観察結果を次頁の表に示す。

検体感作群、検体非感作群ともに、いずれの観察時間においても皮膚反応は全く認められなかった。従って、検体感作群の感作陽性動物数は 0/20 例であり、感作陽性率は 0% であった。検体の感作性は陰性であった。

一方、HCA 感作群では、6/10 例に評点 2、4/10 例に評点 1 の皮膚反応が認められ、感作陽性動物数は 10/10 例、感作陽性率は 100% であった。

以上の結果から、ピリオフェノン 26.8%フロアブルは、モルモットを用いた感作性試験 (Buehler 法)において、皮膚感作性を有さないものと判断した。

表 皮膚反応採点結果

試験群			動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)	
				24時間後					48時間後						
感作	惹起	皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	時間			
		0	1	2	3		0	1	2	3		24	48		
検体	検体 100%	検体 50%	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	蒸留水	検体 50%	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性 対照群	HCA 100%	HCA 50%	10	0	4	6	0	10/10	0	6	4	0	10/10	100	100
	流動 パラフィン	HCA 50%	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.7 モルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法 9 回感作処置) (資料 No. TF-1.7)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度： ピリオフェノン 26.8%フロアブル

製剤組成； ピリオフェノンを % (w/w)含有

供試動物： Hartley 系モルモット、雌、6 週齢、体重 320~417 g (感作開始時)

群構成は以下の通り

試験群	動物数
被験物質感作群	20
被験物質非感作群	10
陽性対照物質感作群	5
陽性対照物質非感作群	5

観察期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 35 日間

試験操作： Buehler 法 (9 回感作処置)

投与量設定根拠；

感 作； 肩背部を刈毛し検体の 100%を 0.2 mL、6 時間閉塞貼付した。

陽性対照には 1% 2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB)エタノールを用いた。

感作は 0 (感作開始日)、2、5、7、9、12、14、16 及び 19 日の 9 回行った。

惹 起； 最終感作の 2 週間後に刈毛した腹部に検体 100%を 0.2 mL、6 時間閉塞貼付した。

陽性対照では 0.25%DNCB エタノールを用いた。

観察項目： 惹起 24 時間および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。評価は Magnusson & Kligman の基準をもとに行った。

Magnusson & Kligman の基準 (1969 年)

皮膚反応の程度	評点
肉眼的変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

試験結果：

一般状態； いずれの動物においても、観察期間中の一般状態に何ら変化は認められなかった。
 体重； いずれの動物においても、著変は認められなかった。

皮膚反応：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群			供試動物数	感作反応動物数												陽性率	
				24 時間後						48 時間後						24 時間	48 時間
				0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計		
検体	検体 100%	検体 100%	20	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	0
	注射 用水	検体 100%	10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0
陽性 対 照	DNCB イタノール 1%	DNCB イタノール 0.25%	5	0	0	0	5	0	5/5	0	0	0	5	0	5/5	100	100
	イタノール	DNCB イタノール 0.25%	5	5	0	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0	0/5	0	0

検体感作群、検体非感作群ともに皮膚反応を示す個体は認められなかった。これらの結果より、感作率は0%とみなされた。陽性対照感作群では24、48時間後全例で評点3の反応が認められた。陽性対照非感作群では皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、ピリオフェノン 26.8%フロアブルの皮膚感作性は陰性であると判断する。