

テブコナゾール原体の急性毒性試験

(毒性資料 No. 原体-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1983 年

検体の純度：

供試動物：ウイスター系雌雄ラット (Bor:WISW, SPF-Cpb)、試験開始時体重；160～200g
NMRI マウス、試験開始時体重；17～23g
New Zealand 系白色ウサギ (HC:NZW)、

観察期間：経口、腹腔内、経皮、吸入投与；14 日間
眼一次刺激性、皮膚刺激性；21 日間

投与方法：

経口投与

投与日に検体を秤量し、クレモホアEL水溶液を加えて懸濁液を調製した。
投与前日の夕方より絶食させたラット、ウサギ、マウスあるいは非絶食ラットに、強制的に経口投与した。動物数および投与容量を以下に示す。

供試動物	一群動物数	投与容量 体重100g当たり
ラット、絶食	雌雄 5	1mL
ラット、非絶食	雌雄 5 あるいは 10	1mL
マウス	雌雄 5	1mL
ウサギ	雌雄 3	0.5mL

腹腔内投与

投与日に検体を秤量し、クレモホアEL水溶液を加えて懸濁液を調製した。一群雌雄 5 あるいは 10 匹のラットに腹腔内注射した。投与容量は体重100g当たり 1.0mL とした。

経皮投与

投与日に検体5000mg/kg体重を秤量し、生理食塩水を加えてペースト状にした。雌雄 5 匹のラットに、閉塞貼付した。対照群には生理食塩水を処理した。暴露時間は24時間とした。

吸入投与

流動式吸入装置による吸入毒性試験を頭鼻部暴露により行った。暴露は 1 日 4 時間を単回あるいは 5 日連続で行った。1 群雌雄各 10 匹 (単回暴露 100mg/m³ のみ 1 群 5 匹) とした。

検体は調製可能最大濃度の溶液の噴霧化して行い、噴霧化にはポリエチレングリコール 400 とエタノールを 1:1 に混ぜた溶液を用いた。

皮膚刺激性

ウサギ3匹を用いて投与前日に動物の背部から横腹部にかけて(6×6 cm²) 剃毛した。適用皮膚部位には検体の0.5gを水で湿らせセルロースパッチ(2.5×2.5cm)にのせたものを適用しテープで固定した。無処理部位には水で湿らせたセルロースパッチのみを貼布した。これらの被験部位は4時間暴露させた。また、他の病変および毒性症状も記録した。

眼一次刺激性

3匹の動物の一侧の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体の100 μg(約50mg)をそのまま結膜嚢内に投与し、検体の損失を防ぐため、約1秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。無処置の他眼は対照群とした。24時間後に生理食塩水で処置眼を洗浄した。

観察・検査項目：

経口、腹腔内、経皮、吸入毒性については観察期間は14日間とし、検体投与日は頻繁に、その後からは毎日1回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、2、3、7、10および14日に行った。

観察終了時の全生存動物はエーテル麻酔下で放血して屠殺し剖検した。

皮膚反応の判定；パッチ除去後1時間、24時間、48時間、72時間、7日および14日に紅斑と浮腫の形成について Draize の判定基準に従って採点した。

眼刺激反応の判定；検体投与後1時間、24時間、48時間、72時間、7日、14日および21日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を Draize の判定基準に従って採点した。

結果：

経口投与：ラット

投与方法	経口	
	ラット絶食	ラット非絶食
投与量 (mg/kg)	♂♀： 1000, 2500, 4500, 5000	♂：500, 1000, 3550, 3750, 4000, 5000 ♀：500, 1000, 2500, 3550, 4250, 4500
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	♂：>5000 ♀：3933(3316-5665)	♂：4264(3952.3-5330.2) ♀：3352(2341.4-3977.5)
死亡開始時間および 終了時間	♂：7日～11日 ♀：2日～8日	♂：4日～7日 ♀：3日～9日
症状発現時間および 消失時間	♂：4時間～14日 ♀：4時間～10日	♂：4時間～14日 ♀：4時間～11日
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂♀：1000	♂♀：500
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂：4500 ♀：2500	♂：3750 ♀：1000

絶食および非絶食を問わず、ラットでは活動性の低下、呼吸困難、運動能不全、歩行異常、痙攣性歩行、腹臥、横臥、脱毛、痙攣、尿量増加、反射性の低下および体重減少がみられた。

死亡例の剖検では肺の斑点、虚脱しない状態、肝臓の斑点、表面にレンズ豆大の黄色の領域、淡色化、小葉構造顕著、肥大、脾臓および腎臓の斑点、腺胃の赤色化がみられた。生存動物の剖検では所見は認められなかった。

経口投与：マウス、ウサギ

投与方法	経口	
	マウス(絶食)	ウサギ(絶食)
投与量 (mg/kg)	♂ : 100, 500, 1000, 1800, 2500, 3150, 3550 ♀ : 500, 1000, 1800, 2500, 3550, 5000	♂ : 500, 1000 ♀ : 500, 1000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ : 1615 (1057.2-2179.6) ♀ : 3023 (2127.4-5072.7)	♂ : >1000 ♀ : >1000
死亡開始時間および 終了時間	♂ : 1日～3日 ♀ : 1日～9日	♂ : - ♀ : -
症状発現時間および 消失時間	♂ : 23分～8日 ♀ : 22分～13日	♂ : 1日～3日 ♀ : 6日
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量(mg/kg)	♂ : 100 ♀ : 500	♂ : 500 ♀ : 500
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂ : 1000 ♀ : 1000	♂ : 1000 ♀ : 1000

マウスでは活動性の低下、呼吸困難、運動能不全、歩行異常、痙攣歩行、痙攣状態、反応性の低下、腹臥、横臥、回転、一時的な痙攣がみられた。雄のみで体重減少がみられた。死亡例の剖検では肺の暗赤色斑点および虚脱しない状態、肝臓、脾臓、腎の淡色化および斑点、腺胃の赤色化がみられた。生存動物の剖検では所見は認められなかった。

ウサギでは摂餌量の低下のみが観察された。中毒症状および死亡は雌雄共に認められなかった。剖検において、肺の軽度の虚脱しない状態、斑点、腎臓の軽度の斑点が認められた。

腹腔内投与

投与方法	腹腔内 ラット
投与量 (mg/kg)	♂ : 50, 100, 500, 630, 710, 800, 900, 1000 ♀ : 50, 100, 355, 400, 450, 560
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	♂ : 751 (670.9-826.8) ♀ : 395 (329.9-430.0)
死亡開始時間および終了時間	♂ : 2時間～3日、♀ : 1日～4日
症状発現時間および 消失時間	♂ : 7分～10日 ♀ : 7分～6日
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量(mg/kg)	雄 : 50 雌 : 50
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	雄 : 500 雌 : 100

活動性の低下、呼吸困難、運動能不全、歩行異常、痙攣性歩行、非協調性の動き、反射性の低下、昏睡、痙攣、腹臥、横臥がみられた。死亡例の剖検では肺の暗赤色斑点および虚脱しない状態、脾臓および腎臓の淡色化および斑点、肝臓の斑点および腫大、肝臓の各葉および膵臓、横隔膜、胃、脂肪組織が癒着、腺胃の赤色化、胃壁が薄化し構造が保たれていない状態、腹腔内に澄明な液体が貯留、腹腔内の全臓器に白色沈着物がみられた。生存動物の剖検では肝臓の腫大および癒着、脾臓に白色沈着物が認められた。

経皮投与

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 0, 5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄： >5000
死亡開始時間および終了時間	雌雄： -
症状発現時間および消失時間	雌雄： -
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄： 5000 雌： 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄： 5000 雌： 5000

中毒症状および死亡は雌雄共に認められなかった。適用部位においても、発赤などの皮膚刺激所見は認められなかった。剖検において、雌雄共に検体に起因する所見は認められなかった。

吸入投与

動物種	ウィスター系ラット	
	1回	5回連続
投与回数	1回	5回連続
投与方法	吸入	吸入
投与量 mg/m ³ (実測濃度)	♂♀： 100, 250, 2500, 5000 (16, 49, 387, 818)	♂♀： 100, 300, 1000 (24, 60, 240)
暴露時間	4	6
LC ₅₀ (mg/m ³)	♂♀： >818	♂♀： >240
死亡開始時間および終了時間	♂♀： -	♂♀： -
症状発現時間および消失時間	♂♀： 4時間～6時間	♂♀： 6時間～7日
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/m ³)	♂♀： 16.0	♂♀： -
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/m ³)	♂♀： 818	♂♀： 240

中毒症状として活動性の低下が認められた。死亡は雌雄共に認められなかった。剖検において、一回投与では検体に起因する所見は認められなかった。5回投与では肺に時に虚脱しない状態を伴った赤灰色化、暗赤色の肝片化しゼリー状の部分が認められた。

皮膚刺激性

いずれの観察時点でも、適用部位に何ら皮膚反応はみられなかった。

眼一次刺激性

眼 刺 激 性 の 平 均 評 点									
検査部位		最高 評点	判定時間						
			1時間	24時間	48時間	72時間	7日	14日	21日
角膜	程度 a	4	0	0	0	0	0	0	0
	混濁 面積 b	4	0	0	0	0	0	0	0
虹彩 c		2	0	0	0	0	0	0	0
結 膜	発赤 d	3	2	0.33	0	0	0	0	0
	浮腫 e	4	1	0	0	0	0	0	0
	分泌物 f	3	0.33	0	0	0	0	0	0
刺激指数*		110	6.67	0.67	0	0	0	0	0

*刺激指数 = $\{(a \times b) \times 5\} + (c \times 5) + \{(d + e + f) \times 2\}$ 。申請者が算出した。

眼に対して刺激性はないと判断された。角膜および虹彩に変化はみられなかった。

以上のことから経口投与によりラットおよびマウスでは同様の症状が観察された。ウサギでは摂餌量の低下のみが認められた。ラットでは絶食に比べ非絶食動物での感受性が高かった。

ラットにおける症状の強さは投与経路によって以下に示すように異なった。腹腔内投与では活動性の低下、呼吸困難、運動能不全、歩行異常、痙攣性歩行、非協調性動作、反射性の低下、昏睡、痙攣、腹臥、横臥がみられた。経口投与ではこれらの症状は弱かった。吸入投与では一時的に活動性の低下がみられた。経皮投与では悪影響はみられなかった。

また、ウサギの皮膚および眼に対して刺激性を有さなかった。

(2) 皮膚および眼に対する刺激性

テブコナゾールのウサギを用いた皮膚刺激性試験

(毒性資料 No. 原体-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988年

検体の純度：

供試動物：New Zealand 系白色ウサギ 雌雄 1群6匹 (雌雄各3匹)
(試験開始時 約17週齢)

観察期間：72時間観察

投与方法：

投与前日に動物の背部から横腹部にかけて剃毛した。適用部位には検体の0.5gを水で湿らせ、皮膚(6cm²)に適用し、ガーゼパッチで覆いテープで固定した。無処理部位にはガーゼパッチのみを貼布した。これらの被験部は4時間暴露させた。また、他の病変および毒性症状も記録した。

観察項目：

皮膚反応の判定

パッチ除去後0.5~1時間、24時間、48時間および72時間に紅斑と浮腫の形成について [US-EPA-FIFRA および US-EPA-TSCA] の判定基準に従って採点した。

刺激性の評価

パッチ除去後の各判定時間について、(1)紅斑と痂皮の形成、(2)浮腫の形成の個体ごとの評点から平均評点を求めた。また、各個体の一次刺激性指標を

$\frac{\text{紅斑と浮腫に関する評点の和}}{4}$ で求めて、下記評価基準で評価した。

評価基準	一次刺激性評点
刺激性なし	0.0
軽度刺激性	0.1~1.9
中程度刺激性	2.0~5.0
重度刺激性	>5.0

結果：

皮膚刺激性の平均評点				
所見	判定時間			
	1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑 [4]	0	0	0	0
浮腫 [4]	0	0	0	0

[]: 最高評点

パッチ除去後いずれの観察時間においても動物の投与部位にまったく刺激性の所見(紅斑と浮腫)を認めず、一次刺激性の評点は0であった。また、他の病変や中毒症状も認められなかった、以上のことから、検体は皮膚一次刺激性を有さないものと判断された。

テブコナゾールのウサギを用いた眼刺激性試験

(毒性資料 No. 原体-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988年

検体の純度：

供試動物：New Zealand 系白色ウサギ 雌雄 1群6匹 (雌雄各3匹)

観察期間：21日間観察

投与方法：

6匹の動物の一侧の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体の0.1gをそのまま結膜嚢内に投与し、検体の損失を防ぐため、約1秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。

無処置の他眼は対照群とした。

観察項目：

検体投与後1時間、24時間、48時間、72時間、7日、8日、14日および21日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を[US-EPA-FIFRA および US-EPA-TSCA]の判定基準に従って採点した。また、眼以外の病変も記録した。

結果：

角膜の混濁および虹彩に刺激の所見を認めなかった。結膜の分泌物(評点2~3)、発赤(評点1)および粘膜炎(評点1~2)を全てのウサギで投与後1~24時間目に認めた。分泌物と粘膜炎は投与後7日目までに全ての動物で消失した。結膜の発赤は投与後8日目までに消失した。また試験中、眼以外の病変は認めなかった。

以上のことから、検体は軽度の眼刺激性を有すると判断された。

眼 刺 激 性 の 平 均 評 点								
検査部位		最高 評点	判定時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間	7日	8日
角膜	程度 a	4	0	0	0	0	0	0
	混濁面積 b	4	0	0	0	0	0	0
虹彩 c		2	0	0	0	0	0	0
結膜	発赤 d	3	1.0(0)	1.0(0)	1.0(0)	0.3(0)	0.2(0)	0
	浮腫 e	4	1.2(2)	1.2(1)	0.2(0)	0.2(0)	0	0
	分泌物 f	3	2.7	1.5	0.2	0	0	0
刺激指数*		110	8.67	7.33	2.67	1.0	0.33	0

*刺激指数 = $\{(a \times b) \times 5\} + \{(c \times 5)\} + \{(d+e+f) \times 2\}$ 。申請者が算出した。

() : 陽性効果(評点2以上)を示した動物数

(3) 皮膚感作性

テブコナゾールのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 原体-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度：

供試動物：Hsd Poc:DH系モルモット 雌、約5～7週齢(試験開始時体重306～326g)
感作群20匹または無感作群10匹

観察期間：約3週間

試験操作：マキシミゼーション法

試験濃度の設定根拠：

予備試験において、モルモットに0、1、2.5および5%を皮内注射した結果、反応は認められなかった。また、0、12、25および50%液を24時間貼付した結果、皮膚反応は50%液の5匹中1匹に認められた。

従って感作濃度は、皮内注射を5%、貼付を50%とし、惹起濃度は40%とした。

皮内感作

投与前24時間に刈毛した試験動物の背頸部の各長軸方向に、背骨をはさんで2ヶ所ずつ、平行に3部位に皮内注射を行った。注射部位間の距離は約1～2cm、注射部位あたりの投与容量は0.1mLとした。

感作群

第1注射部位(頭方)

Freundの完全アジュバントと滅菌生理食塩水の1:1混液

第2注射部位(中央)

クレモホアELを2%(v/v)含む滅菌生理食塩水で調製した検体の5%液

第3注射部位(尾方)

クレモホアELを2%(v/v)含む滅菌生理食塩水で調製した検体の5%液と Freundの完全アジュバントとの等量混合液

無感作群

対照群の動物は検体群の動物と同様に処理したが、第2と第3注射部位の調製液には検体を含まなかった。

貼付感作(皮内注射1週間後)

貼付部は、貼付感作1日前に刈毛した。以下の調製液0.5mLを塗布した低アレルギー性のプラスター(2×4cm)を皮内感作部位をかぶせるように貼付し、アルミホイルで覆い粘着性テープで48時間皮膚に固定した。暴露終了時、残った検体を滅菌生理食塩水で除去した。

感作群：クレモホアELを2%(v/v)含む滅菌生理食塩水で調製した検体の50%液

無感作群：検体を含まない上記の溶媒

貼付惹起（貼付感作から2週間後）

投与24時間前に剃毛し、左側腹部に、クレモホアELを2%(v/v)含む滅菌生理食塩水で調製した検体の40%液0.5mLで湿らせた低アレルギー性のプラスターを貼付し、24時間粘着性テープで皮膚に固定した。右側の腹部には比較のための溶媒のみの対照プラスターを適用した。暴露終了時には滅菌生理食塩水で検体の残余を除去した。

反応の評価

貼付惹起した検体を除去後24時間および48時間に、以下の判定基準に従って炎症の程度を肉眼的に判定した。

皮膚反応の評価は次の基準に従って行った。

- 0 = 所見なし
- 1 = 部分的に軽度な紅斑
- 2 = 中程度の融合性紅斑
- 3 = 強度の紅斑および腫脹

試験結果

一般観察

すべての動物が中毒症状の徴候を示さず、死亡例も認められなかった。

感作性

結果の要約は以下のとおりである。

40%液惹起（皮膚反応を示した動物数）

判定時間*	感作群 20匹		無感作群 10匹	
	検体	溶媒対照	検体	溶媒対照
24時間	0	0	0	0
48時間	0	0	0	0

*：貼付除去後

表に示されるように、検体の40%液で惹起したとき、無感作群、感作群のいずれにも皮膚反応は認められなかった。

従って、検体のモルモットに対する皮膚感作性は陰性であると考えられた。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質の 2-メルカプトベンゾチアゾール[#]について、別
に実施したマキシミゼーション法による試験結果を以下に示す。

皮膚反応を示した動物数(試験期間：1996年4月23日～5月17日)

群	感作 濃度 (%)	惹起 濃度 (%)	動物 数	感 作 反 応 動 物 数								平均 評点		陽性 動物数		感作 陽性率 (%)	
				惹起後 24 時間				惹起後 48 時間				24 時 間	48 時 間	24 時 間	48 時 間	24 時 間	48 時 間
				皮 膚 反 応 評 点													
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作 群	皮内:2.5 貼布:40	40	10	4	5	1	0	7	3	0	0	0.7	0.3	6	3	60	30
無感 作群	皮内:0 貼布:0	40	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0

上記に示すように、既知の皮膚感作性陽性物質の 2-メルカプトベンゾチアゾールには
明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性が確認された。

[#]: 2-メルカプトベンゾチアゾール。OECD ガイドラインで推奨されている軽度から中程度の感作
性を有する既知の陽性対照物質の1つ

テブコナゾールのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 原体-9)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：

供試動物：PIRBRIGHT WHITE W 58系モルモット 雌 (試験開始時体重 255～335g)
感作群、無感作群各 20 匹

観察期間：約 3 週間

試験操作：マキシミゼーション法

試験濃度の設定根拠：

予備試験において、モルモットに 0、1、2.5 および 5% の皮内注射を行った結果、1% を皮内注射濃度として選択した。また 3、6、12 および 25% 液を 24 時間貼付した結果、25% 液を貼付による感作および惹起濃度とした。

皮内感作

投与前 24 時間に刈毛し、脱毛クリームで脱毛した試験動物の背頸部の各長軸方向に、背骨をはさんで 2ヶ所、平行に 3 部位に皮内注射を行った。注射部位間の距離は約 1～2cm、注射部位あたりの投与容量は 0.1mL とした。

感作群

第 1 注射部位 (頭方)

Freund の完全アジュバントとパラフィン油の 1:1 混液

第 2 注射部位 (中央)

クレモホア EL (5 滴/10mL) を含む蒸留水で調製した検体の 1% 液

第 3 注射部位 (尾方)

クレモホア EL (5 滴/10mL) を含む蒸留水で調製した検体の 1% 液と Freund の完全アジュバントとの等量混合液

無感作群

対照群の動物は検体群の動物と同様に処理したが、第 2 と第 3 注射部位の調製液には検体を含まなかった。

貼付感作 (皮内注射 1 週間後)

貼付部は、貼付感作 1 日前に毛刈りし、ラウリル硫酸ナトリウムを 10% 含有したワセリンを塗り脱毛した。以下の調製液を塗布した低アレルギー性のプラスター (2×2cm) を皮内感作部位をかぶせるように貼付し、アルミホイルで覆い粘着性テープで 48 時間皮膚に固定した。

感作群

クレモホア EL (5 滴/10mL) を含む蒸留水で調製した検体の 25% 液

無感作群

検体を含まない上記の溶媒

貼付惹起（貼付感作から2週間後）

投与24時間前に毛刈りし、ラウリル硫酸ナトリウムを10%含有したワセリンを塗り脱毛した。左側腹部に、クレモホア EL（5滴/10mL）を含む蒸留水で調製した検体の25%液で湿らせた低アレルギー性のプラスターを貼付し、24時間粘着性テープで皮膚に固定した。右側の腹部には比較のための溶媒のみの対照プラスターを適用した。

反応の評価

検体除去後24時間と48時間に投与した皮膚部位を肉眼的に観察した。

皮膚反応の評価は次の基準に従って行った。

- 0 = 所見なし
- 1 = 軽度で散在性の紅斑
- 2 = 散在性で軽度な融合性紅斑
- 3 = 中程度の広範囲な紅斑
- 4 = 強度の広範囲な紅斑および腫脹

検体投与部位で反応を示した動物数から対照部位で反応を示した動物数を減じる（調整値）ことによって感作性を評価した。

試験結果：

一般観察

2例の感作群と、5例（1例は皮膚症状観察後死亡）の対照群が試験中に死亡した。

感作性

結果の要約は以下のとおりである。

皮膚反応を示した動物数

感作群 18匹		無感作群 16匹	
検体	担体対照	検体	担体対照
8	8	3	3
0*		0*	

*調整値

表に示されるように、検体の25%液で惹起したとき、感作群も無感作群ともに陽性反応を示した動物の数が検体処理および単体処理で同じであったため、検体のモルモットに対する皮膚感作性は陰性であると考えられた。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質のホルムアルデヒドについて、別に実施したマキシミゼーション法による試験結果を以下に示す。

皮膚反応を示した動物数(1985年2月1日)

第一回目惹起; 2%

感作群 18匹		無感作群 16匹	
検体	担体対照	検体	担体対照
15	8	4	4
7*		0*	

*調整値

皮内感作; 5%, 貼付感作; 5%

第二回目惹起; 0.5%

感作群 18匹		無感作群 16匹	
検体	担体対照	検体	担体対照
16	9	3	4
7*		-1*	

*調整値

皮内感作; 5%, 貼付感作; 5%

上記に示すように、既知の皮膚感作性陽性物質のホルムアルデヒドには明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性が確認された。

テブコナゾールのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 原体-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検体の純度：

供試動物：ハートレー系モルモット 雄、約7週齢、体重：359～542g

検体感作群；15匹，無感作群(検体，DNCB)；1群5匹，DNCB感作群；5匹

観察期間：約5週間

試験操作：ビューラー法

試験濃度の設定根拠；

1、10、50%液、100%の検体を皮膚に24時間貼付したところ、皮膚刺激性は認められなかった。この予備試験の結果から100%の非希釈検体を感作および惹起に用いた。

感作；貼付前日に左肩部を毛刈りし、非希釈検体(100%)0.4g(脱イオン水で湿らす)を6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼布した。

惹起；最後の感作から2週間後に毛刈りした左臀部に非希釈検体(100%)0.4g(脱イオン水で湿らす)を24時間閉塞貼付した。

観察項目：

貼付惹起した検体を除去後24時間および48時間に、以下の判定基準に従って炎症の程度を肉眼的に判定した。

判定基準

炎症の程度	刺激性評点
紅斑なし	0
軽度、かろうじてわかる紅斑	1
中程度、明らかにわかる紅斑	2
重度、投与部位周辺に及ぶ著しい紅斑	3

体重測定：

0および30日目に体重を測定した。

試験結果

検体を3回感作したどの場合にも動物に紅斑は認められず、また惹起後でも紅斑は認められなかった。検体は体重増加に影響を与えなかった。

陽性対照 (DNCB) 群では5匹とも紅斑が認められ、感作性が確認された。

以上のことから、検体に皮膚感作性は陰性であると考えられた。

群	動物数	反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率 (%)
		24時間				48時間				24時間	48時間		
		皮膚反応評点											
0	1	2	3	0	1	2	3						
検体感作群	15	15	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0
無感作群	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
DNCB 感作群	5	0	0	3	2	1	2	2	0	1.4	1.2	5	100
無感作群	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0

DNCB;感作, 惹起濃度 ; 0.1%

テブコナゾールのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 原体-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体の純度：

供試動物：DHPW 系雄モルモット、1群 12匹

試験開始時体重；290～363g(4-7週齢)

観察期間：約5週間

試験操作：ビューラー法

試験濃度の設定根拠；

予備試験において、5匹のモルモットに検体を2%クレモホア EL 水溶液に3、6、12および25%の濃度で希釈し、モルモットに6時間閉塞貼付したとき、各濃度とも皮膚反応は認められなかった。25%は投与可能な最高濃度であった。従って、感作濃度および惹起濃度は25%とした。

試験試料の調製

検体を、所定濃度に2%クレモホア EL 滅菌水溶液に懸濁させた。無感作群には2%クレモホア EL 滅菌水溶液を感作および惹起用試料として用いた。

感作処置

感作開始前日に背胴部を刈毛した。感作試料0.5mLを6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。

最初の感作から5週間後に惹起処置を行った。惹起試料0.5mLを6時間貼付した。惹起処置

左側部位を検体投与部位とし、右側部位を溶媒対照とした。なお、惹起24時間前に全動物の背胴部を毛刈りし、脱毛クリームを用いて脱毛した。

観察項目：

皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後48および72時間に行い、以下の評価表に従って判定した。

皮膚反応の評価法

反応なし	0
散在性の軽度の紅斑	+
軽度の紅斑	1
中等度の紅斑	2
強度紅斑	3

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、試験開始前、その後は毎週全動物について行った。

試験結果

一般観察

全例とも一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

皮膚症状

3回の感作処置によって、いずれの動物も皮膚反応を示さなかった
次に、惹起語の各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応動物数										平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)		
				貼付除去後 48 時間					貼付除去後 72 時間											
				皮膚反応評点										24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	
				0	+	1	2	3	0	+	1	2	3							
感作	25	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		25		12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		25		12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表に示した様に、検体 25%で惹起したとき、皮膚反応は全く認められず、陽性率は0%であった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると考えられた。

(4) 急性神経毒性

テブコナゾールのラットを用いた急性経口神経毒性

(毒性資料No.原体-12)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1997年（本試験）

1998年（追加試験）

検体の純度：

供試動物： Fisher 344 (CDF(F-344)/BR系)ラット、1群雌雄各12匹

試験開始時；雄9週齢（平均体重157g）

雌9週齢（平均体重123g）

観察期間： 15日間（追加試験；2日間）

試験方法：

投与方法

絶食させたラットに、雄には0(担体)、20、50、100、500及び1000mg/kgの用量を、雌には0(担体)、20、50、100、250及び500mg/kgの用量を強制的に単回経口投与した。投与液は、0.5%メチルセルローズ/0.4% Tween 80を含む脱イオン水に懸濁し調製した。投与容量は、体重100gあたり1mLとした。

臨床症状の観察及び体重の測定

観察期間は14日間とし、少なくとも1日1回、詳細な身体検査を含め臨床観察を機能観察検査(FOB)と並行して行った。

体重は、FOBの一環として週1回測定した。ただし、50mg/kg以下で実施した追加試験では、試験前の1回のみ体重を測定した。

機能観察検査(FOB)及び運動能試験

本試験に割り当てられた動物について、FOB 及び運動能試験を 4 回（被験物質投与 1 週間前、投与 4 時間（神経行動学的影響がみられる予想ピーク時間）、7 日及び 14 日後）行った。ただし、50mg/kg 以下で実施した追加試験では、FOB 及び運動能試験を投与 4 時間後のみ行った。

FOB は個々の動物について Moser*により記述された一連の試験法に準拠した。

運動能と移動運動能については 8 の字型迷路を用いた自動化運動能測定装置で各々 10 分間隔で 90 分間の試験を行った。運動能は、試験時間中に赤外線ビームを遮断する回数を計測して測定した。移動運動能は、ラットが迷路中で新しい場所に移動し、別のビームの一つを遮断する回数を計測して測定した。なお、90 分間中の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

剖検及び脳重量の測定

投与 14 日後に、臓器組織採取用の動物（各用量群から雌雄各 6 匹）は、ペントバルビタールを腹腔内投与し麻酔後、アルデヒド固定液の血管内注入によって安楽死させた。そして 0.7%亜硝酸ナトリウムを含むリン酸緩衝液で速やかに灌流した後、続いて 4%ホルマリン(EMグレード)及び1%グルタルアルデヒドリン酸緩衝液で灌流した。その後 10%緩衝ホルマリン溶液で灌流した。残りの動物は、CO₂を用いて窒息によって屠殺した。剖検は、全ての動物の全臓器、体腔、断面、天然孔及び体表の検査を行った。

脳は灌流固定後頭蓋骨から摘出し、ホルマリンによる固定前に重量を測定して脳：体重比を算出した。最終体重の測定は灌流固定前の麻酔後に行った。

尚、追加試験の動物(50mg/kg 以下の群)については、剖検、脳重量の測定は行わなかった。

病理組織学的検査

最高用量群（1000mg/kg）の雌雄動物の組織を、対照群動物の組織と比較検討した。検体に起因した病変が認められなかったため、中、低用量群の動物及び追加試験の動物については検査を行わなかった。尚、病理組織学的検査を行った臓器は脳（8カ所）、脊髄（4カ所）、ガッセル神経節、脊髄神経根および背根神経節、坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経、視神経、眼および腓腹筋であった。

結果：

臨床観察及び体重の測定

検体に関連した臨床症状は雄では 500 あるいは 1000mg/kg 群、雌では 250 あるいは 500mg/kg 群でみられたが、雌雄の 100mg/kg では何も認められなかった。また、追加試験 50mg/kg 以下の用量でも何れの症状も認められなかった。雄の 500mg/kg 群以上でみられた症状は歩行失調、活動性の低下、触診による冷感、流涎、流涙及び種々の汚れであった。総じて臨床症状の出現頻度は用量に伴って増加した。雌の 250mg/kg 群以上でみられた症状は歩行失調、鼻部周囲の赤色化及び口の汚れであった。これらの症状は雌雄で投与当日にみられ、投与 3 日目には回復した。

死亡は雄の 500mg/kg 群(1/12 例)と 1000mg/kg 群(6/12 例)で投与後 2 日以内にみられた。雌では死亡例は認められなかった。

体重では雄の 500mg/kg 群の生存例で投与 7 日目に増体重抑制がみられたが、14 日目には順調な増加がみられた。雄の 1000mg/kg では影響はみられなかった。これは 1000mg/kg の重篤であった動物が投与 7 日目の体重測定まで生存していなかったためと考えられる。雌ではいずれの群でも影響受けなかった。

これらの結果に基づき、臨床観察に基づく無影響量は雌雄で 100mg/kg であった。また体重に関する無影響量は雄で 100mg/kg、雌では 500mg/kg であった。

機能観察検査(FOB)

検体に関連した所見は雄では 500mg/kg 以上、雌では 100mg/kg 以上の用量群で投与当日の神経行動学的影響のピーク時に明瞭であり、雄では 100mg/kg 以下、雌では 50mg/kg 以下では何ら影響は認められなかった。

100mg/kg の雌でみられた影響は、対照群に比べてオープンフィールドでの活動性の増加(arousal)のみであった。この症状に加え、250mg/kg 雌群では、歩行失調(ケージ内、オープンフィールド)、ケージ内での立ち上がり回数の頻度の増加、アプローチ(接近)、触覚、聴覚応答の減少、正向反射のわずかな乱れ、低体温、肛門周囲の黄色のよごれなどがみられた。雌雄 500mg/kg では上記の所見に加え、活動性の低下、ホームケージでの立ち上がり回数の増加、紅涙、アプローチ(接近)、触覚、聴覚及び尾に対するピンチ刺激に対する応答の減少、正向反射の乱れ、低体温、後肢握力の減少であった。1000mg/kg 群雄における検体に関連した影響は、ホームケージ及びオープンフィールドでの歩行失調、活動性の減少、オープンフィールドでの立ち上がり回数の減少、アプローチ(接近)、触覚、聴覚及び尾のピンチ刺激に対する応答の減少、正向反射の乱れ、低体温、後肢の握力の低下、流涙、紅涙、透明な流涎、肛門周囲の黄色の汚れ、鼻周りの赤色の汚れであった。次回観察時である 7 日目には何ら異常所見は認められなかった。これらの結果に基づき、無影響量は雄で 100mg/kg、雌で 50mg/kg であった。

運動能及び移動運動能

8の字型迷路における運動能及び移動運動能には雄の100mg/kg以上、雌の100および500mg/kg群で投与当日に検体に関連した影響がみられ、雌雄とも100mg/kg群では活動性が増加したが、雌雄500あるいは雄1000mg/kgでは低下した。活性測定値におけるこの2相性の影響は、本検体と構造的に類似しているトリアジメホンの結果と一致していた。トリアジメホンの運動量の増加はドーパミンの再取り込みの阻害を介したシナプスでのドーパミンの濃度の増加によって一時的な精神運動刺激作用を起こすことに関連していると言われていたことから、本検体の急性投与後に起こる活性の一時的な増加は同様な薬理学的メカニズムを伴う可能性も推察された。一方高用量でみられた活動性の低下は非特異的な毒性作用によって、活動性の増加という薬理作用がマスクされたものと考えられた。一方、50mg/kg雄での対照群に比べ20%以上の変化については統計学的に有意ではないことや雌では明らかな差が認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

また、7日目の検査において、雄の500mg/kgで運動能に統計学的に有意な低下がみられているが、より高用量の1000mg/kgで影響が認められていないこと、雌ではいずれの投与群でも影響がみられていないことから、検体に関連した影響は投与後7日に完全に回復したものと判断した。

順応性は雌雄とも検体の投与によって影響を受けなかった。

これらの結果に基づいて、運動能および移動運動能の無影響量は雌雄共に50mg/kgであった。

運動能の要約（対照群からの差(%)）^a

投与量 mg/kg	雄				投与量 mg/kg	雌			
	投与前	0日	7日	14日		投与前	0日	7日	14日
1000	+5	<u>-63*</u>	+22	+19	500	-7	<u>-51*</u>	+4	-14
500	-8	<u>-50*</u>	-26*	-23	250	+6	-14	+8	-7
100	+6	<u>+40*</u>	-3	+7	100	-4	<u>+54*</u>	-9	-7
50	/	+24	/	/	50	/	-3	/	/
20	/	+7	/	/	20	/	+7	/	/

^a当該対照より(+)多い、(-)少ない

*セッションの運動能が対照群に比較し統計学的な有意差あり(p<0.05;ANOVA)、生物学的に意味があると考えられた対照群からの有意差を下線で示した。

[当研究所で1群あたり10~12匹/性/用量の場合、目安として±20%以内の差は正常な変動範囲内であり生物学的意義はないものと判断している。]

剖検

投与後1~2日目に死亡した1000mg/kg群の6例の雄(鼻分泌および/あるいは腹部の湿り気あるいは汚れ)および500mg/kgの雄1例(肺両側赤色部位)では投与に関連したと考えられる所見が認められた。投与15日後の計画屠殺まで生存した例には、検体に関連した異常所見は見られなかった。

脳重量

雌の全群及び雄の生存例に影響は見られなかった。

病理組織学的検査

雌の 500mg/kg 群、雄の 1000mg/kg 群の生存例で病理組織学的異常所見は認められなかった。

これらの結果に基づいて、病理組織学的所見の無影響量は最高用量群の雄では 1000mg/kg、雌では 500mg/kg であった。

以上、臨床観察では雄の 500mg/kg、雌の 250mg/kg 以上で投与当日から歩行失調、活動性の低下、流涎、流涙などが観察され、雄では 500mg/kg 以上で死亡例が認められた。機能検査 (FOB) では、雄では 500mg/kg 以上、雌では 100mg/kg 以上で神経行動学的作用に基づく影響のみられるピーク時間である投与約 4 時間後に以下のような検体に起因した変化 (オープンフィールドでの活動性の増加、ケージ内での立ち上がり回数の頻度の増加、歩行失調、活動性の減少、低体温、刺激に対する応答の減少) がみられた。また投与約 4 時間後に行われた運動能・移動運動能の検査では、雌雄とも 100mg/kg 群では活動性が増加したが、雌雄 500 あるいは雄 1000mg/kg では低下するというように、2 相性の影響がみられた。運動能の増加はドーパミンの再取り込みの阻害を介したシナプスでのドーパミンの濃度の増加による可能性が推察された。一方、高用量でみられた活動性の低下は非特異的な毒性作用によって、活動性の増加という薬理作用がマスクされたものと考えられた。

FOB 検査、運動能・移動能の検査ではいずれも次の観察時期である 7 日目には影響は認められなかった。

剖検、脳重量、神経組織学的検査において、何ら異常は認められなかった。

本剤の投与により神経行動学的影響は認められたが、回復性があり、神経組織に対する異常所見は認められなかった。

検体の本試験における総合的な無毒性量 (無影響量) は、雌雄共に 50mg/kg と判断した。

(5) 急性遅発性神経毒性

テブコナゾールの急性遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-13)

試験成績の提出除外

本薬についての急性遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」

(2) の⑧のイ」の試験成績の提出の除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、本急性遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(6) 90 日間反復経口投与毒性

テブコナゾールのラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料No.原体-14)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度：

供試動物：ウイスター系ラット BOR:WISW(SPF Cpb)、1群雌雄各10匹
(試験開始時約6週齢、平均体重 雄79g、雌77g)

投与期間：投与期間3ヶ月間(1984年2～5月)

投与方法：

検体を0(対照群)、100、400および1600ppmとなるように粉末試料に混ぜ、3ヶ月間ラットに投与した。

観察・検査項目および結果：

1. 臨床症状

動物は少なくとも1日2回(週末と休日は1回)観察し、臨床症状と異常を記録した。各個体の詳細な検査は週1回実施した。

その結果、症状および行動は投与群と対照群の間で差を認めなかった。

2. 眼検査

試験4週間後および試験終了時に対照群と1600ppm群の雌雄各10匹について瞳孔反射と眼周囲および前眼部の変化、更に間接検眼鏡を用いて角膜および眼底を検査した。

その結果、検体に起因した所見はみられなかった。

3. 死亡率

試験期間中、対照群の雄2匹(血液採取に関連)と1600ppm群の雌雄各1匹が死亡した。

4. 体重

動物の体重は投与開始前とその後は毎週測定した。

400ppm群の雌の体重は試験開始から6週間、また1600ppm群の雌雄では試験の

全期間にわたって、対照群よりも有意に低かった。

申請者注) 投与 0 週および投与後 1 週目の雌の平均体重は以下に示す通りであった。

	0ppm	100ppm	400ppm	1600ppm
0 週 (g)	78	78	74	77
1 週 (g)	106	102	89	103

以上に示すとおり、400ppm の雌の体重は投与後 1 週目に体重増加量が対照群に比べ少なかったが、1600ppm 群では対照群とほぼ同様な増加が認められた。従って、400ppm の 1 週目の体重の増加抑制は偶発的なものと考えられた。

図 1 体重 雄

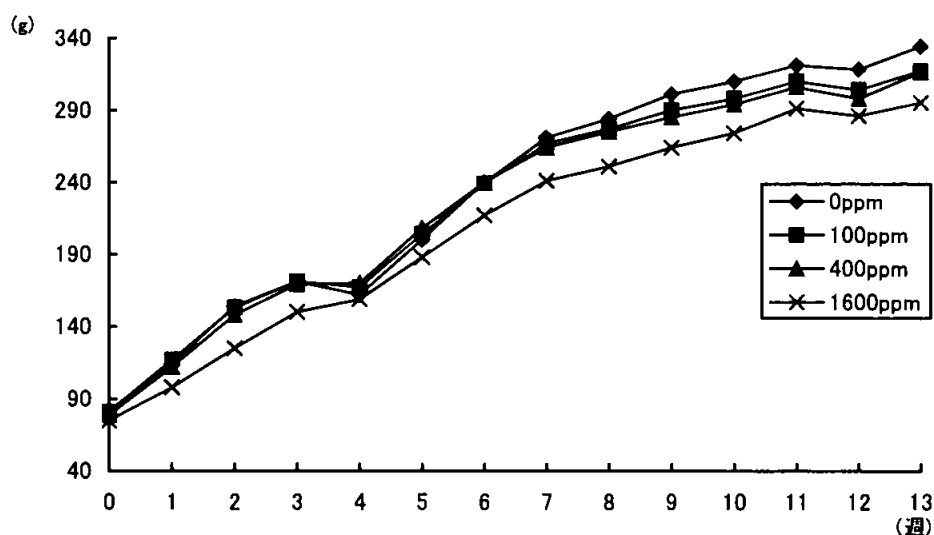
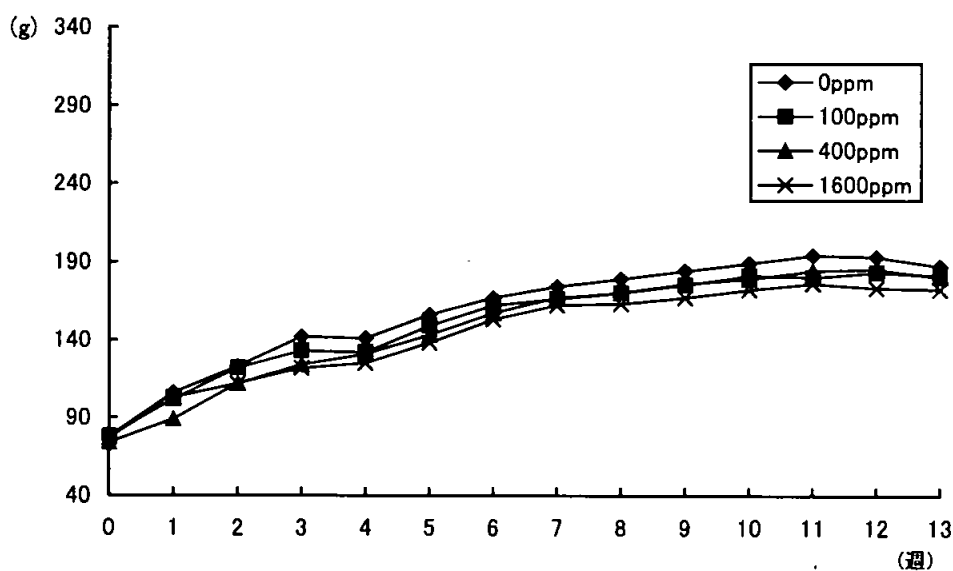


図 2 体重(主群) 雌



5. 摂餌量および検体摂取量

摂餌量は試験開始から 13 週目まで毎週測定した。

100 および 400ppm 群の雌雄は対照群とほぼ同じ摂餌量を示し、1600ppm 群では雌雄とも対照群に比べ摂餌量の増加を認めた。

表 1. 検体摂取量(mg/kg /日)

投与量(ppm)		100	400	1600
検体摂取量	雄	8.6	34.8	171.7
	雌	10.8	46.5	235.2

6. 飲水量

試験開始から 13 週目まで飲水量を毎週測定した。

飲水量に対照群といずれの投与群との間に有意な差および用量に関連した差は認められなかった。

7. 臨床生化学的検査

各群雌雄 5 匹について試験開始 4 週時と試験終了時に臨床性化学検査を行った。

7.1. 血液学的検査

エーテル麻酔下で後眼窩静脈叢から採取した末梢血において、血小板、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、平均血球容積(MCV)、トロンボプラスチン時間、ヘマトクリット、平均血球血色素量(MCH)および平均血球血色素濃度(MCHC)を測定又は算定し、白血球分画についても検査した。

投与群では一時的な有意差がみられたが用量相関性を認めず、また対照群との差は著しく小さかったことから、検体に起因した変化ではないものと考えた。

表 2. 血液学的検査 (有意差を認めた項目)

性 別	雄			雌					
	4 週			4 週			13 週		
検 査 週	100	400	1600	100	400	1600	100	400	1600
項目/ppm	100	400	1600	100	400	1600	100	400	1600
白血球	▲131				↓80		▼79		
ヘモグロビン				▼92		↓94			
MCV							↓98	↓98	
トロンボプラスチン時間									▼92
ヘマトクリット		↓96		▼92		↓94			
MCH							↓98		

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

↓ : p<0.05、 ▲▼ : p<0.01 (U 検定による)

7.2. 血液生化学的検査

エーテル麻酔下で後眼窩静脈叢から採取し、アルカリホスホターゼ (ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、ビリルビン (BIL)、総蛋白 (PROT)、尿素、クレアチニン (CREA)、コレステロール (CHOL)、グルコース (無麻酔下で尾静から採血)、トリグリセリド (TGL) および鉄 (試験終了時のみ) を測定した。

表 3 に示したように、統計学的に有意な差がいくつかの項目で認められた。これらの値は背景データ範囲内にあり、対照群との差が小さく、また用量相関性がないことから、毒性学的に意味のあるものとは考えなかった。尚、4 週で統計学的に有意な増加の認められた雌 1600ppm の尿素値は、背景データ (2S 幅) をわずかに超えたが、13 週では対照群に比べ差が認められなかったことから、偶発的な変化と考えた。

表 3. 血液学的検査 (有意差を認めた項目)

性別	雄						雌					
	4 週			13 週			4 週			13 週		
検査週	100	400	1600	100	400	1600	100	400	1600	100	400	1600
ALAT		↓77	↓81									
BIL				↓91		↓82						
CHOL		↓80										
GLU											↓91	
PROT						↓96	↓96	↓92	↓92			
TGL			↓55					↓67				
UREA									↑139			
CREA			↓79	↓78	↓71	↓67				↓75		

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

↓ : p<0.05、 ▲▼ : p<0.01 (U 検定による)

7.3. 尿検査

尿は採血前に 16 時間(夜間)かけて採取し、尿採取期間中は水を自由に与えたが、餌は与えなかった。

半定量検査

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

定量検査

蛋白質、尿量、比重

半定量検査において、グルコース、潜血、ケトン体、ビリルビンについて陽性反応を示した動物は認められなかった。また、蛋白、pH、ウロビリノーゲン、沈渣においても 1600ppm まで、対照群との差は雌雄共に認められなかった。

定量検査において、尿中タンパク排泄量および比重は、雌雄のいずれの投与群においても統計学的もしくは毒性学的に有意な変化はみられなかった。尿量については、4 週時に 1600ppm 群の雌で統計学的に有意な減少(対照群を 100 とした場合の値；57%； $p < 0.05$)がみられたが、13 週では影響は認められず、また用量に関連した影響は認められなかったことから、検体の影響とは考えられなかった。

8. 肝臓組織中の肝薬物代謝酵素の測定

投与終了後に全動物の肝臓組織について、以下の酵素を測定した。

N-デメチラーゼ (N-DEM)^{*}、チトクロム P-450 (P-450)

(^{*}N-デメチラーゼ測定の基質：アミノピリン)

N-DEM では統計学的に有意な増加が雄 1600ppm 群で認められた。また P-450 については雄の 400ppm 群以上、雌の 100ppm 群以上で統計学的に有意な増加が認められた。しかしながら、背景データ範囲を逸脱した上昇は雄 1600ppm 群の N-DEM、P-450 のみであり、雌 100ppm 群の N-DEM の有意な減少も含め、その他の活性値については、全て背景データ範囲内にあった。さらに後で示すように雄では肝重量の増加は認められず、また剖検および病理組織学的検査においても異常所見は認められなかったことから、この酵素誘導は、毒性反応というよりはむしろ異物代謝による適応反応と考えられた。

表 4. 肝薬物代謝酵素誘導 (有意差を認めた項目)

性別	雄			雌			
	項目/ppm	100	400	1600	100	400	1600
N-DEM				↑151	↓79		
P-450			↑126	↑207	↑110	↑115	↑119

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

↑ ↓ : $p < 0.05$ 、 ↑ : $p < 0.01$ (U 検定による)

9. 剖検

途中死亡および最終屠殺(3ヶ月後)動物の全動物を剖検した。最終屠殺動物はジエチルエーテルで麻酔し、放血により屠殺した。

1600ppm 群の 2 匹の死亡動物（雌雄各 1 匹）に腺胃部の粘膜赤色化（雌雄）と盲腸の赤褐色化（雄のみ）を認めた。対照群で雄 2 例の死亡が認められたが、いずれも血液サンプル採取によるもので検体に起因したものではなかった。試験終了時に屠殺した動物の剖検では検体に起因した変化は認められなかった。

10. 大腿骨の直径の測定

試験終了時(3ヶ月後)に大腿骨の中心部の直径を測定した。

1600ppm 群の雌雄で骨の直径の統計学的に有意な減少を認めたが、剖検では認識できず、また病理組織学的検査では骨形成の特異的な障害の兆候は何も認められなかった。1600ppm 群の雌雄に観察された大腿骨直径の統計学的に有意な減少は、これらの動物の体重減少とほぼ相関しており、これらのことから投与の直接の影響とは考えられなかった。

表 5. 大腿骨の直径

性別	雄			雌		
	100	400	1600	100	400	1600
項目/ppm						
直径			↓96			↓95
最終体重		↓95	↓88			↓92

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
↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 (U 検定による)

11. 臓器重量

試験終了時(3ヶ月後)の剖検時に心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および精巣の臓器重量を測定した。

肝重量のわずかな増加が 1600ppm 群の雌で認められ、酵素誘導に関連したものとも考えられた。雄ラットの場合は特に、体重の変化によりいくつかの臓器重量が対照群よりも統計学的に有意に減少したが、その他にみられた有意に低い値は、全て対照群からの差は軽度であり、検体の影響とは考えられなかった。

表 4. 臓器実および対体重比 (有意差を示した臓器)

性別	雄			雌		
	100	400	1600	100	400	1600
項目/ppm						
体重		↓95	↓88			↓92
肺実重量			↓86			
肝実重量		↓87	↓84	↓89	↓87	
肝対体重比		↓92		↓91	↓91	↑111
脾実重量			↓87			
腎実重量			↓84		↓92	↓91
精巣実重量			↓94	—	—	—

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
↑ ↓ : p<0.05、 ↓ : p<0.01 (U 検定による)

12. 病理組織学的検査

対照群および 1600ppm 群の全動物について、大動脈、眼、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、骨格筋および坐骨神経を含む大腿骨、脳、皮膚、膀胱、心臓、精巣、下垂体、唾液腺、肝臓、肺、リンパ節（腸間膜および頸部）、胃、脾臓、副腎、腎臓、精巣上体、食道、卵巣、睪臓、前立腺、精のう、甲状腺、胸骨、胸腺、気管、子宮、そして全ての肉眼的異常変化を検査した。100 および 400ppm 群の動物については脾臓および副腎のみを検査した。

400ppm 群の雌（4 匹）および 1600ppm 群の雌（ほぼ全例）において副腎束状帯の細胞質内空胞化（脂肪滴）の増加を認め、また 1600ppm 群の雌（3 匹）において脾臓の赤脾髄における食細胞中の鉄色素のわずかな増加がみられた。しかし、他の全ての所見は偶発的なものと考えられた。

表 5. 主要な病理所見

項目	ppm	雄				雌			
		0	100	400	1600	0	100	400	1600
【検査数】		10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓		10	0	0	10	10	0	0	10
・単細胞壊死		1	—	—	0	0	—	—	0
・脂肪の蓄積		1	—	—	0	2	—	—	2
脾臓		10	10	10	10	10	10	10	10
・食細胞中の鉄色素の増加		1	6	3	5	5	3	5	9
副腎		10	10	10	10	10	10	10	10
・束状帯／空胞化		4	4	5	6	0	0	4	9
・うっ血		1	0	0	0	0	0	0	0
肺		10			10	10	0	0	10
・うっ血		1	—	—	0	0	—	—	1
・無気肺		0	—	—	1	1	—	—	0
腎		10			10	10	0	0	10
・皮質尿細管／好塩基球増加		4	—	—	5	0	—	—	0
・うっ血		2	—	—	0	0	—	—	0
下垂体		8			9	10	0	0	9
・嚢胞性変化		1	—	—	0	0	—	—	0

以上のことから、1600ppm 群の雌雄で各 1 例に死亡がみられ、体重増加の抑制が確認された。また同群雄で肝薬物代謝酵素 (P450, N-DEM) の統計学的に有意な誘導がみられたほか、雌では肝対体重比の増加、赤脾髄の食細胞中の鉄色素のわずかな増加そして副腎束状帯の細胞質内空胞化の増加等が明らかとなった。雌では更に 400ppm 群で体重増加の抑制(試験前半)および副腎束状帯の細胞質内空胞化の増加を認めた。

従って、無毒性量は雄 400ppm (34.8mg/kg/日)、雌 100ppm(10.8mg/kg/日)であった。

テブコナゾールのイヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987 年

検体の純度：

供試動物：純血ビーグル犬雌雄 (bor:beag)、1 群雌雄各 4 匹
(試験開始時 24~27 週齢、体重 6.3~9.0kg)

投与期間：投与期間 13 週間 (1984 年 3 月~6 月)

投与方法：

検体を 0 (対照群)、200、1000 及び 5000ppm となるように飼料に混ぜ、13 週間イヌに投与した。

観察・検査項目及び結果：

1) 臨床症状

動物は 1 日に数回観察した。体温、脈拍数 (大腿動脈) を測定し、反射試験 (瞳孔反応、角膜反射、膝蓋腱反射、屈伸正向反射) を実施した。

動物の外観及び行動も正常であった。体温、脈拍数及び反射試験では検体に起因した影響は認められなかった。栄養状態では 1000ppm 群以上の雌雄で試験終了時に消瘦傾向が認められ、検体に起因したものと考えられた。

2) 眼検査

試験 1 週間目及び試験 3、7、10、12 週目に全動物で、また 14 週目に 1000ppm および 5000ppm 群のみで検査を行った。

200 及び 1000ppm 群では変化はみられなかった。5000ppm 群では水晶体混濁が試験 7 週目に雄 2 例、雌 1 例に認められ、10 週目には同群の全例にみられた。この所見は若齢犬では通常みられないことから、検体に起因したものと考えられた。

3) 死亡率

5000ppm 群において雌 1 匹が試験 2 日目に死亡した (予備の動物を代替した)。

4) 体重

動物の体重は投与開始 1 週間前から試験終了 (13 週) まで毎週 1 回測定した。

表 1. 体重 (平均値 kg)

項目/(ppm)	雄				雌			
	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
1. 試験開始前 (-1 週目)	7.9	7.9	8.0	7.9	7.7	7.0	7.5	7.2
2. 試験終了時 (13 週目)	10.3	10.2	9.8	9.2	10.3	9.6	9.7	↓8.6
3. 増加量	+2.4	+2.3	+1.8	+1.3	+2.6	+2.6	+2.2	+1.4

↓ : p<0.05 (non-parametric 型多重比較検定 : 申請者により実施)

1000ppm 群以上では対照群に比べ平均体重増加量の減少を示し、検体に起因したものと考えられた。また、投与開始から 1 週間後における体重増加量については、全投与群と対照群との間に差は認められなかった。

5) 飼料及び検体摂取量

摂餌量は試験期間中、毎日測定した。

5000ppm 群の雌雄では餌を頻回に残し、検体に起因した影響と考えられた。検体摂取量を次表に示す。

表 2. 検体摂取量

項目/(ppm)	雄				雌			
	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
mg/kg/日*	0	8.3	41.5	205.1	0	8.8	41.3	220.5

* 申請者が検体摂取量と平均体重から算出

6) 飲水量

試験中、飲水量を測定し、異常な飲水行動を記録した。

飲水量の検査では何ら変化を認めなかった。

7) 臨床検査

試験前 2 週目及び試験 3、7、及び 13 週目に対照群と投与群の全ての動物で検査を行った。

7-1) 血液学的検査

頸静脈から採取した血液において、ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球数、平均血球容積 (MCV)、平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃

度 (MCHC)、血小板数、網状赤血球数、トロンボプラスチン時間、血液沈降速度及び白血球分画を測定又は算定した。

表 4-1 血液学的検査 (有意差の認められた項目) : 血小板数

検査週	3 週			7 週			13 週		
性別/(ppm)	200	1000	5000	200	1000	5000	200	1000	5000
雄	↓62								
雌	↑142			↑154			↑145		

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。

↑ : p<0.05、↓ : p<0.01 (Dunnett 多重比較検定 : 申請者により実施)

表 4-2 血液学的検査 : 赤血球大小不同

検査週	3 週				7 週				13 週				
性別/(ppm)	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	
雄	合計*	4	4	4	4	2	4	4	4	4	3	4	4
	軽度	4	1	3	0	2	4	4	2	4	3	3	0
	中等度	0	3	1	4	0	0	0	2	0	0	1	2
	重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
雌	合計*	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	4
	軽度	1	2	2	2	4	4	4	2	3	3	2	0
	中等度	2	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	0
	重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4

表中の数値は認められた例数を示す。*所見のみられた例数

雌 5000ppm 群では試験 3 週目からの血小板の増加が、さらに同群の雌雄に投与終了時において赤血球大小不同の増加が認められ、検体に起因した影響であると考えられた。

7-2) 血液生化学的検査

頸静脈から採取した血液 (血漿) において、血糖、尿素、クレアチニン、総蛋白、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、グルタミン酸脱水素酵素 (GLDH)、ビリルビン、コレステロール、血清電解質 (ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素)、また屠殺時の肝でチトクローム P-450、N-デメチラーゼ (N-DEM) 及びトリグリセリドを測定した。

表5 血液生化学的検査（有意差の認められた項目）

検査週	3週			7週			13週			
	項目 / (ppm)	200	1000	5000	200	1000	5000	200	1000	5000
雄	ALP			↑156						↑329
	アルブミン									↓92
	β-グロブリン									▲120
	N-DEM		—			—			↑186	▲355
	P-450		—			—				▲174
雌	ALP			↑157			↑275			↑220
	アルブミン									
	β-グロブリン					↑108	▲124			
	N-DEM		—			—				▲308
	P-450		—			—				↑197

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である。

↑↓ : p<0.05, ▲▼ : p<0.01 (Dunnnett 多重比較検定又は non-parametric 型多重比較検定 : 申請者により実施)

N-デメチラーゼ測定の基質 : アミノピリン

1000ppm 群の雄で N-デメチラーゼの軽度の増加(試験 13 週目)が認められた。また 5000ppm 群では 7 週目の雄を除く全検査時に雌雄で ALP 活性の上昇、試験 13 週目の N-DEM の上昇及び P-450 の軽度の増加が認められ、これらは検体に起因した変化と考えられた。また 1000ppm 以上の群の雌雄で、いずれも軽度の β-グロブリン濃度の増加とアルブミン濃度の減少の傾向がみられ、投与との関連性は否定できなかった。

7-3) 尿検査

尿は約 8~12 時間かけて採取し、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、比重、pH、沈査及び尿量を測定した。

尿の組成への検体に起因する影響は認められなかった。

8) 剖検

試験終了時に全動物を剖検した。

剖検による全ての臓器所見からは検体に起因した所見はみられなかった。

9) 臓器重量

試験終了時に脳、精巣、心、肝、肺、脾、副腎、腎、卵巣、膵、前立腺及び甲状腺(上皮小体も含む)の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

5000ppm 群では脾の実重量及び対体重比が雌雄ともに増加していたことから、検体に起因したものと考えられる。肝臓重量の変化は雌雄で一貫性がなかった。これを含め、他の臓器重量の対照群と投与群の間の差はほとんど小さく、個体差と考えられる。

表6 臓器重量 (変化の認められた項目)

項目 (ppm)	雄			雌		
	200	1000	5000	200	1000	5000
脾臓 実重量			↑144			119
対体重比			↑167			143
肝臓 実重量			108			90
対体重比			↑123			108

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。

↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01 (Dunnett 多重比較検定又は non-parametric 型多重比較検定: 申請者により実施)

10) 病理組織学的検査

検査は以下の臓器で行った。

心、肺、肝、脾、腎、大脳 (脳幹を含む)、小脳 (延髄を含む)、副腎、甲状腺 (副甲状腺を含む)、下垂体、両眼、視神経、坐骨神経、脾臓、大動脈、胆のう、膀胱、骨格筋、骨 (大腿骨、胸骨)、唾液腺 (耳下腺)、食道、胃、腸管、リンパ節、胸腺、精巣、精巣上部、前立腺、卵巣、子宮、皮膚、乳腺、骨髄、著変のあった臓器又はその一部。

雌雄 5000ppm 群では眼の水晶体変性 (後膜の軽度の変性又は被膜下の白内障性水晶体炎)、雌 5000ppm 群における肝のクッパー細胞内のヘモジデリンのやや多めの沈着及び副腎の束状層細胞内の軽度から中程度の空胞化、雄 5000ppm 群における脾 (赤脾髄内) のヘモジデリンのやや多めの沈着が認められ、検体に起因する所見と考えられた。

表3. 主要な病理所見

項目 (ppm)	雄				雌			
	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
【検査数】	4	4	4	4	4	4	4	4
肝								
・ヘモジデリン沈着	1	1	0	1	0	0	0	4*
・うっ血	1	0	0	0	0	0	0	0
脾								
・ヘモジデリン沈着	0	1	0	3	1	1	1	1
副腎								
・束状帯/空胞化	0	0	0	0	1	1	1	2
・球状帯/過形成	0	0	0	2	2	1	1	0
肺								
・細胞浸潤	0	0	1	0	0	1	0	1
腎								
・萎縮	1	0	1	0	0	1	1	0
眼								
・変性 (水晶体)	0	0	0	4*	0	0	0	1
・白内障 (水晶体)	0	0	0	0	0	0	0	3

*: P<0.05 (χ²片側検定: 申請者により実施)

以上のことから、5000ppm 群では消瘦傾向（雌雄）、水晶体混濁（雌雄）、死亡（雌）、体重増加の抑制（雌雄）、摂餌量の低下（雌雄）、血小板数の増加（雌）、赤血球大小不同を示す例の増加（雌雄）、ALP 活性の上昇（雌雄）、N-DEM 活性の上昇（雌雄）、P-450 活性の上昇（雌雄）、 β -グロブリンの増加（雌雄）、脾臓重量の増加（雌雄）及び病理組織学的所見として眼の水晶体変性（雌雄）、肝のクッパー細胞内のヘモジデリン沈着（雌）、脾のヘモジデリン沈着（雄）及び副腎の空胞化（雌）、また1000ppm 群では消瘦傾向（雌雄）、体重増加の抑制（雌雄）、及びN-DEM 活性の上昇（雄）が認められた。従って、無毒性量は雌雄とも200ppm（雄：8.3mg/kg/日、雌：8.8mg/kg/日）であった。

(7)21 日間反復経皮投与毒性

テブコナゾールの 21 日間反復経皮投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-16)

試験成績の提出除外

本薬についての 21 日間反復経皮投与毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑩イの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体の急性経皮毒性試験の結果から、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い経皮毒性は認められていない。

このようなことから、21 日間反復経皮投与毒性試験の提出は不要であると判断した。

3 週間反復経皮投与毒性

テブコナゾールのウサギを用いた経皮投与による 3 週間亜急性毒性試験

(毒性資料No.原体-17)

試験機関：第一試験：

第二試験：

[GLP 対応]

報告書作成年：第一試験：1984 年

第二試験：1988 年

検体の純度：

供試動物：New Zealand White ウサギ

第一試験：1 群雌雄各 6 匹(体重:2.4~3.0 kg)

第二試験：1 群雌雄各 5 匹(体重:雄 2.91~3.63 kg、雌 2.91~3.35 kg)

投与期間：3 週間

投与方法：

第一試験：

背部及び側腹部を刈毛し、無傷あるいは擦過皮膚に体重 1kg あたり 0.5mL を以下の用量で毎日 6 時間、週 5 日間、3 週間にわたり経皮投与した。

0 (対照群)、50 及び 250mg/kg

第二試験：

背部及び側腹部を刈毛し、無傷皮膚に体重 1kg あたり 4ml を以下の用量で毎日 6 時間、週 5 日間、3 週間にわたり経皮投与した。

0 (対照群) 及び 1000mg/kg

いずれの試験も動物は個体別に收容した。

投与用量設定の根拠：

第一試験は、本投与条件での投与可能最大量が 250mg/kg 体重であったため、これを最高用量とした。第二試験ではガイドラインで限度試験において要求される最大用量である 1000mg/kg 体重/日を設定した。

観察・検査項目及び結果

1) 臨床症状及び死亡率

臨床症状及び生死を少なくとも 1 日 1 回観察した。

その結果、投与に関連した異常は観察されず、計画解剖日まで投与に関連した死亡例は認められなかった。

2) 体重

各動物の体重は、試験開始日の初回投与前に測定し、その後は週 1 回測定した。

投与に関連した影響は認められなかった。

3) 皮膚反応

発赤と浮腫について、以下の方法で採点し記録した。

発赤

赤味が認められない	0
軽度のようによく判別できる発赤	1
容易に判別できる発赤（軽度～中等度）	2
中等度～重度の発赤	3
重度の発赤、びらんを伴う場合もある	4

浮腫

処理部位をつまんで厚さを Cutimeter で測定した。

いずれの試験でも、投与群に投与の物理的刺激によると考えられる皮膚反応がみられたが、250 mg/kg 体重の投与まででは対照群と投与群の間に差異はみられなかった。雄の 1000mg/kg 群で投与 5 日～14 日にかけて、軽度の発赤がみられた。雌では同程度の発赤が 1 例で 6 から 11 日にかけて、また、より軽度の発赤が投与 14 日目のみにみられた。軽度な背部皮膚の肥厚が投与 4 日目から雄のみでみられた。

4) 臨床検査

投与開始前及び投与終了時に血液学的、血液生化学的検査及び尿検査を実施した。

4-1) 血液学的検査

動物の耳介静脈から採血し以下の項目について測定又は算定した。

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

投与に関連した変化は認められなかった。

4-2) 血液生化学的検査

血液学的検査と同様に採血し以下の項目について測定を行った。

尿素，グルコース，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)，アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)，アルカリホスファターゼ(ALP)，クレアチニン

投与に関連した変化は認められなかった。

4-3) 肝臓試料生化学的検査

N-デメチラーゼ, O-デメチラーゼ, チトクローム P-450 について測定を行った。

投与に関連した変化は認められなかった。

4-4) 尿検査

pH, ウロビリノーゲン、血球、蛋白、尿糖、沈渣について測定を行った。

投与に関連した変化は認められなかった。

8) 剖検

投与終了時にヘキソバルビタールの深麻酔下で放血致死させた。動物を解剖し、臓器・組織の詳細な病理解剖学的検査を実施した。変化が認められた場合には、その位置、大きさ、色及び硬さについて記録した。

投与に関連した肉眼的異常は認められなかった。

9) 臓器重量

試験終了時、全生存動物の甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、生殖腺、の臓器重量を測定した。

投与に関連した変化は認められなかった。

10) 病理組織学的検査

以下の臓器についてブアン液で固定し、HE 染色の後病理組織学的検査に供した。

皮膚（投与部位及び無処理部位）、甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮。

また、肝臓と腎臓の一部はホルマリンカルシウム液に固定し、凍結切片作成後、オイルレッド O で染色し、病理組織学的検査に供した。

250 mg/kg までの投与では投与に関連した所見は認められなかった。
1000mg/kg 群の皮膚において雌雄各 2 例の表皮の軽度な肥厚、雌 4 例に僅かな角化症がみられた。

検体テブコナゾール原体を最高 1000mg/kg の用量でラットに連続 3 週間経皮投与したところ、投与に関連した変化は認められなかった。従って、無毒性量は 1000mg/kg/日と考えられた。

(8) 90 日間反復吸入毒性

テブコナゾールの 90 日間反復吸入毒性試験

(毒性資料 No. 原体-18)

試験成績の提出除外

本薬についての 90 日間反復吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑪イの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体の急性吸入毒性試験の結果から、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い吸入毒性は認められていない。

このようなことから、90 日間反復吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

3 週間反復吸入毒性

テブコナゾールのラットを用いた吸入による 3 週間亜急性毒性試験

(毒性資料No.原体-19)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1985 年，1987 年

検体の純度：

供試動物：Bor:WISW(SPF-Cpb)ラット、体重 160~200 g、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：3 週間

投与方法：

投与用量設定の根拠：

以前に実施した急性吸入試験（毒性資料No.原体-5）に基づき設定した。

[吸入条件]

流動式吸入装置により頭鼻部暴露を行った。検体の溶液を噴霧化し毎日 6 時間で週 5 日間、3 週間にわたり以下の用量で吸入試験を行った。

0 (空気、及び溶媒対照)、5、50、500 mg/m³

溶液はポリエチレングリコール E400 とエタノールの 1 : 1 に混合液を用いた。

	吸入	
設定濃度 (mg/m ³)	5, 50, 500	
実際濃度 (mg/m ³)	1.2, 10.6, 155.8	
粒子径分布 (%)	3.2 μm > : 97.76% 3.2~4.2 μm : 1.72% >6.0 μm : 0.52%	3.96 μm > : 99.37% 3.96~14.8 μm : 0.63% >14.8 μm : 0.0%
空気力学的中位径	2.0~2.1 μm	
呼吸可能な粒子 (<5 μm) の割合 (%)	100	
チャンバー容積 (L)	20	
チャンバー内通気量	10L/分	
暴露条件	エアロゾルとして 6 時間、頭鼻部暴露	

観察・検査項目及び結果

1) 臨床症状及び死亡率

暴露時間を除き、全動物の外観と行動を投与期間中毎日数回観察した。

雌雄の高用量群で粗毛が認められた。投与に起因する死亡は認められなかった。

2) 体重変化

投与前、その後は週に 1 回体重を測定した。

投与に起因する影響は認められなかった。

3) 臨床検査

投与終了時に尿検査を実施した。また剖検時に心臓穿針により採血し、血液学的検査、血液生化学検査を実施した。血糖測定用試料は尾静脈から採血した。肝臓試料を採取し生化学検査も実施した。

3-1) 血液学的検査

以下の項目について測定又は算定した。

ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 赤血球数, 血小板, 白血球数, 白血球百分率, 平均赤血球血色素量(MCH), 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球血色素濃度(MCHC), トロンボプラスチン時間

投与に関連した変化は認められなかった。

3-2) 血液生化学的検査

以下の項目について測定を行った。

尿素, グルコース, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT), アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT), アルカリホスファターゼ(ALP), クレアチニン, 乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH), グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GLDH), クレアチンキナーゼ(CPK)

投与に関連した変化は認められなかった。

3-3) 肝臓生化学的検査

以下の項目について測定を行った。

N-デメチラーゼ(N-DEM), O-デメチラーゼ(O-DEM), チトクロームP-450(P-450)

実際濃度 (mg/m ³)		N-DEM	O-DEM	P-450M
雄	0(溶媒対照)	93	87	100
	1.2	109	89	99
	10.6	113	92	99
	155.8	↑148	↑116	108
雌	0(溶媒対照)	998	96	105
	1.2	104	99	97
	10.6	104	99	98
	155.8	↑142	105	110

表中の数値は変動の目安として空気対照を100とした場合の値を表したもの。

↑: p<0.01, ↓: p<0.05 (U検定による)

基質/N-デメチラーゼ測定; アミノピリン, O-デメチラーゼ測定; 4-ニトロアニソール

155.8mg/m³ 群の雌雄で N-DEM が上昇した。同群の雄では O-DEM も軽度に上昇した。これらの変化は肝臓の病理学的異常所見が認められなかったことから適応反応と考えられ、毒性作用とはみなさなかった。その他の変化は認められなかった。

3-4) 尿検査

投与終了時に、約 16 時間絶食後採尿し以下の項目について測定を行った。

pH, 血球, 蛋白, グルコース

投与に関連した変化は認められなかった。

4) 剖検

投与終了時にすべての動物を、心臓穿針で放血致死させた。動物を解剖し、臓器・組織の詳細な病理解剖学的検査を実施した。変化が認められた場合には、その位置、大きさ、色及び硬さについて記録した。

投与に関連した肉眼的異常は認められなかった。

5) 病理組織学的検査

以下の臓器について 10%ホルマリンで固定し、HE 染色の後病理組織学的検査に供した。

眼球、脳（大脳及び小脳）、十二指腸、肺門リンパ節、心臓、精巣／卵巣、頭部、鼻部（鼻腔及び副鼻腔）、肝臓、肺、胃（腺胃及び前胃）、脾臓、骨格筋、坐骨神経、副腎、腎臓、食道、咽頭、喉頭、気管、甲状腺及び上皮小体。

投与に関連した変化は認められなかった。

155.8mg/m³ 群の雌雄で粗毛が認められることから、無毒性量 (NOEL) は 10.6mg/m³/日と判断された。

(9) 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた混餌投与による90日間反復経口投与神経毒性試験

(毒性資料No.原体-20)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体純度：

供試動物：Fischer344(CDF(F-344))ラット、1群雌雄各12匹、
開始時8週齢、体重 雄225～301g、雌151g～191g

投与期間：90日間(1996年5月～1996年8月14日)

投与方法：検体を0、100、400および1600ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって随時摂食させた。

観察・検査項目および結果：

1. 臨床観察及び死亡

ケージサイド観察は少なくとも1日2回(休日及び週末は1日1回)行い、死亡又は瀕死の臨床症状について観察を行った。詳細な身体的観察は1週間に1回行った。

試験期間を通じて投与に関連した一般状態の変化は認められず、また死亡例も認められなかった。

2. 体重

毎週、個体毎に体重の測定を行った。灌流固定する動物については屠殺日にも体重を測定した。

1600ppm群雌雄では低体重を示し、雄では投与全週で、雌ではほとんどの投与期間で対照群と比較して統計学的に有意に低下(雌雄とも13週間の投与期間中平均6～7%の減少)していた。

400および100ppm群雌雄は投与の影響は認められなかった。

3. 摂餌量及び検体摂取量(表1)

全動物の摂餌量を週1回測定した。

1600ppm群雌雄に摂餌量の減少が認められた。

雄では投与期間の6回の測定時、雌では13週目を除き統計学的な有意差が認められた。400及び100ppm群では投与による影響は認められなかった。

摂取量を表1に示した。

表1. 検体摂取量(mg/kg体重/日)

用量	100ppm	400ppm	1600ppm
雄	7.57	29.2	107.0
雌	8.81	34.0	122.0

4. 機能観察検査(FOB)

投与前1週、投与4、8及び13週の4回、全動物について行った。

全動物についてFOBを行った。

このFOBは、Moser¹⁾により記述された一連の試験方に準拠した。なお、着地開脚幅及び握力の測定には、確立されている方法²⁾を用いた。

いずれの投与群においても、投与に関連した影響は雌雄ともに認められなかった。

5. 運動能及び移動運動能試験

投与前1週、投与4、8及び13週の4回、全動物について行った。

運動能及び移動運動能は、8の字型迷路法を用い、90分間のセッション及び各々10分間のインターバルで自動化運動能測定装置によって評価した。90分間のセッション間中の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

90分のセッションでは、総じていずれの用量群においても雌雄ともに運動能あるいは移動運動能に統計学的に有意な差は認められなかった。

運動能及び移動運動能のデータを10分間のインターバルでさらに解析した。投与群の運動能及び移動運動能は、各性、何れの検査時期においても、統計学的な有意差は認められなかった。

順応性も、どの用量においても雌雄共に検体投与による影響は認められなかった。

6. 眼科学的検査

投与開始前及び終了前（12週目）に全動物について検査した。

投与の影響は認められなかった。

7. 脳重量の測定

灌流固定を行った各群雌雄各6匹を対象に、最終体重及び脳重量を測定した。最終体重は麻酔後、灌流固定前に測定した。脳については、灌流固定後、後固定前に重量を測定した。また体重比重量も求めた。

1600ppm群雌雄の対体重比が増加し、雄では有意差が認められた。これは体重減少に起因したものと考えられた。

性	雄			雌		
	100	400	1600	100	400	1600
投与群 (ppm)	100	400	1600	100	400	1600
最終体重			↓ 91			
脳重量						
対体重比			↑ 110			

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

↑ ↓ : P < 0.05 (Dunnett 検定)

8. 肉眼的病理検査

試験終了時に全動物について剖検を行った。

投与に関連した肉眼的変化は認められなかった。

9. 病理組織学的検査

試験終了時に各群雌雄各6匹を対象に、ペントバルビタールの腹腔内投与により麻酔し、左心室より亜硝酸ナトリウムで洗浄、次いでリン酸緩衝液に溶解させた固定液（グルタルアルデヒド4%およびEM用ホルムアルデヒド4%）で *in situ* 灌流固定した。以下の組織を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。

脳および脊髄、両眼（視神経付）、坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経、ガッセル神経節、腓腹筋、肉眼的異常部位。

対照群及び1600ppm群について以下の組織について病理組織学的標本を作製し、神経病理組織学的検査を行った。

以下の組織はパラフィン包埋しHE染色、ルクソールファストブルー/クレシルバイオレット（LFB/CV）、Sevier-Munger銀染色法で染色した。

脳(8部位)、脊髄(4部位/頸部、胸部、腰部及び馬尾)

以下の組織はメタクリル酸グリコール(GMA)に包埋し、Lee染色した。

脊髄後根神経節(頸膨大および腰膨大、後根神経および前根神経)、カッセル神経節、眼球および視神経、腓腹筋

以下の組織はエポキシ樹脂に包埋し、トルイジンブルー染色した。

末梢神経(坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経)

病理組織学的検査の結果、検体に関連した所見は1600ppm群の雌雄共に認められなかった。

以上の結果、1600ppm群の雌雄に体重増加量の減少、摂餌量の減少が認められたことから、無毒性量は雌雄とも400ppm(雄29.2mg/kg体重/日、雌34.0mg/kg体重/日)と判断された。

本剤の神経毒性に関しては、最高用量の1600ppmでも雌雄とも神経行動学的変化および病理組織学的変化は認められなかった。

(10) 28 日間反復投与遅発性神経毒性

テブコナゾールの 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-21)

試験成績の提出除外

本薬についての 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑬の規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、28 日間反復投与遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(11) 一年間反復経口投与毒性および発がん性

テブコナゾールのラットを用いた二年間反復経口毒性/発がん性併合試験

(毒性資料 No. 原体-22)

試験機関：

B. S. & S (英国) (病理)

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

試験動物：

ウィスター系 (Bor : WISW) ラット

(試験開始時 5~6 週齢、平均体重 雄 97g、雌 90g)

1 群雌雄各 50 匹+雌雄各 10 匹 (中間検査用：12 ヶ月後に屠殺)

試験期間：

投与期間 2 年間 (1984 年 10 月 29 日-1986 年 10 月 31 日)

試験方法：

検体を 0 (対照群)、100、300 及び 1000ppm となるように粉末飼料に混ぜ、2 年間ラットに投与した (主群)。さらに、各群雌雄各 10 匹を 1 年目の中間屠殺用として同様に処理した (衛星群)。

投与量設定の理由

投与量は 0、100、400 及び 1600ppm をラットに 13 週間混餌投与した毒性試験 (毒性資料 No. 原体-14) から、1600ppm 群で雌雄各 1 例の死亡、400ppm 群の雌と 1600ppm 群の雌雄で増体重抑制、1600ppm 群で肝薬物代謝酵素系の誘導を認めた。また、400ppm 群以上の雌と 1600ppm 群の雄で副腎皮質 (束状帯) における細胞質空胞化の増加を認めたことから、上記の投与量を選択した。

試験項目及び試験結果：

1. 臨床症状

動物は少なくとも 1 日 2 回 (週末と休日は 1 回) 観察し、臨床症状と異常を記録した。各個体の詳細な検査は週 1 回実施した。

その結果、検体に起因する異常所見はどの群でも認められなかった。

2. 眼科学的検査

試験開始時、中間時 (12 ヶ月後) 及び最終時 (24 ヶ月後) に対照群と 1000ppm 群の雌雄各 10 匹について瞳孔反射と眼周囲及び前眼部の変化、更に間接検眼鏡を用いて透明媒体及び眼底を検査した。

その結果、1000ppm 群と対照群の間に差は認められなかった。

3. 死亡率

死亡率において検体に起因する増加は認められなかった。

4. 体重

動物の体重は投与開始前とその後 12 週目までは毎週、15 週目から試験終了時まででは隔週に測定した。また臓器対体重比を求める目的で、剖検前に体重を測定した。

主群の雄では体重増加に検体投与に起因した影響を認めなかった。

雌では 100ppm 群において対照群と体重の増加に差を認めず、また、一部で対照群と比べ有意差がみられたが、非常にわずかなものであったことから検体に起因した影響でないと考える。300ppm 群では 21 週目から体重の有意な減少がみられたが、衛星群の同投与群では差は見られなかったことと軽微な変化であったことから、検体に起因した作用とはみなされなかった。1000ppm 群では全期間にわたって有意な減少が認められた(約 8%まで)。

衛星群の雌では体重増加に検体投与に起因した影響を認めなかった。雄では 1000ppm 群において第 1 週目から軽度の増体重抑制(第 1、2 週目は対照群と比べ有意差あり)があり、その後 43 週目から統計学的に有意な増体重抑制を認めた

図 1. 雄 (主群)

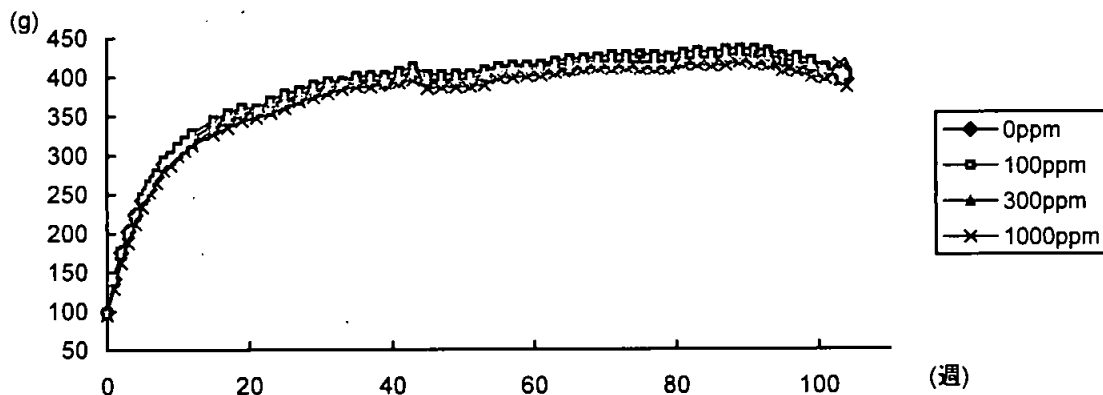


図 2. 雌 (主群)

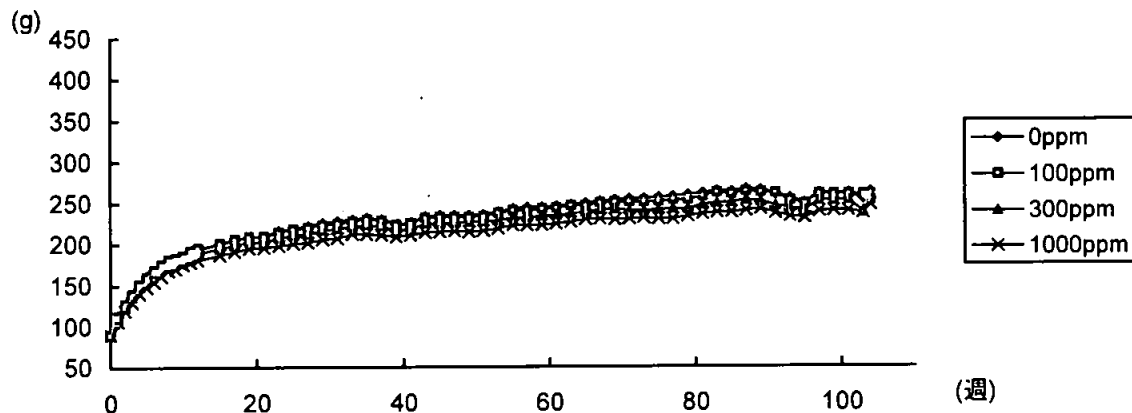


図 3. 雄 (衛星群)

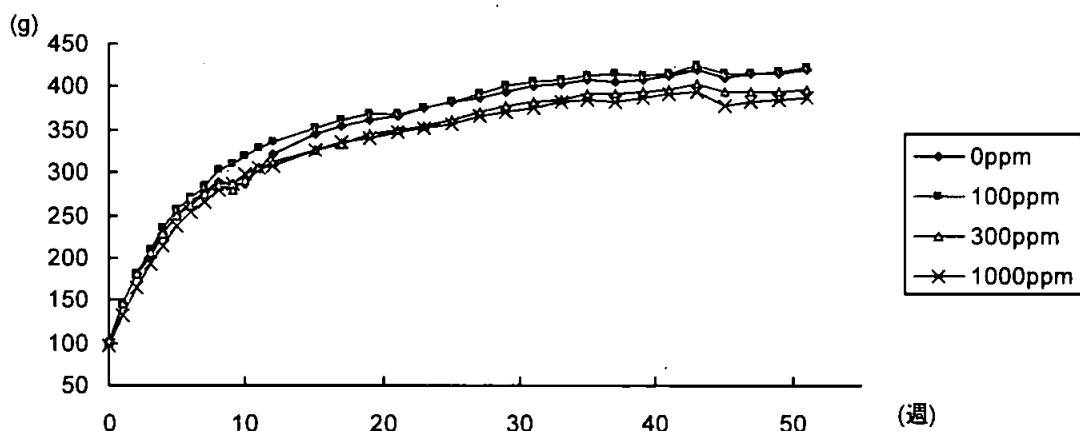
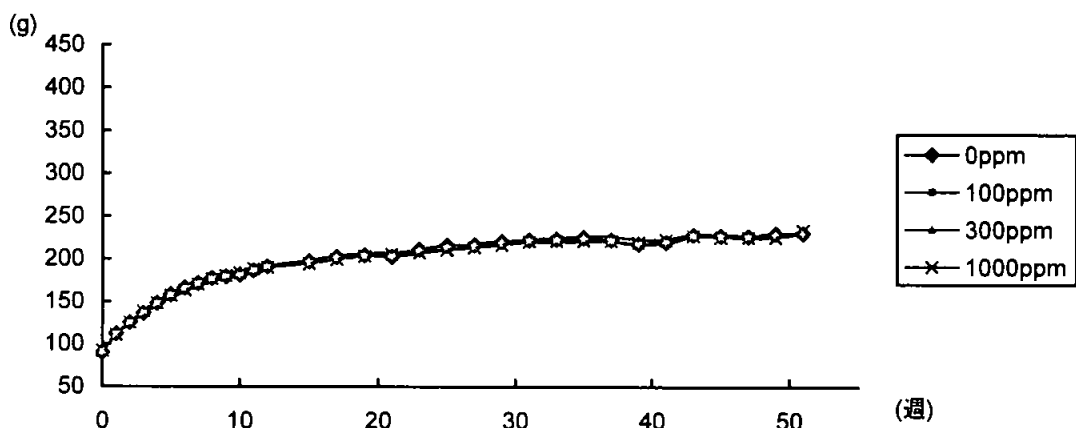


図 4. 雌 (衛星群)



5. 摂餌量および検体摂取量

試験開始から 13 週までは週 1 回、15 週目から 103 週目までは隔週に群単位で測定し、飼料供給量および残餌量の差から摂餌量を算出した。

全ての雄群の摂取量は対照群のそれと差はなかった。雌の 1000ppm 群の摂餌量は他の群よりも幾らか多かったが、その差は小さなものだった。体重あたりの摂餌量では、1000ppm の雌では約 15% 多く、従って検体摂取量はその設定用量幅より多くなったが、これは 1000ppm 群の雌の体重が対照群に比べて低体重であったことに起因していた。

表 1. 検体摂取量 (mg/kg/日)

項目 (ppm)	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
mg/kg/日	—	5.30	15.9	55.0	—	7.4	22.8	86.3

6. 飲水量

試験開始から 13 週目までは毎週、15 週目から 103 週目までは隔週に飲水量を測定した。

雄では全検体投与群と対照群で飲水量はほぼ同じであった。雌の 1000ppm 群ではわずかな減少を認めたが、体重あたりで比べるとその差はわずかであった。

表 2 飲水量

項目	性別 ppm	雄				雌			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
g/動物/日		24.9	25.1	24.2	24.0	23.1	23.0	21.8	20.0
g/kg/日		72.4	71.4	70.2	71.2	105.0	105.4	103.2	99.6

7. 臨床検査

各群 10 匹について 6、12、18 及び 24 ヶ月後に臨床検査を実施した。

グルコースの測定を除き、その他の項目については飽食状態でエーテル麻酔された動物の後眼窩静脈叢から血液を採取した。グルコースの測定は、絶食状態で無麻酔の動物の尾静脈から血液を採取した(尿サンプル採取後)。

尿はおよそ 16 時間(夜通し)かけて採取した。採取時間中、飲水は自由であったが、給餌はしなかった。

7-1. 血液学的検査

白血球分画、赤血球形態、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット、トロンボプラスチン時間、白血球数、平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃度 (MCHC)、平均血球容積 (MCV)、網状赤血球数、血小板を測定または算定した。

いくつかの項目に有意差がみられたが、背景データの範囲に入っており、また用量との関連性、時間的な関連性もみられなかったことから、いずれも検体に起因する変化とはみなさなかった。

表 3. 血液学的検査 (有意差を認めた所見)

雄												
検査週	27 週			52 週			79 週			104 週		
項目 \ ppm	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000
赤血球			▲106									
ヘモグロビン					↓97							
ヘマトクリット					↓97							
MCH			▼96									
MCHC			↓98									
網状赤血球			↑130						↓74			
トロンボプラスチン 時間												↓93
雌												
ヘモグロビン								▼97	↓97			
ヘマトクリット						↓95		▼97	↓97			
MCV			↓97			▼93		▼94	▼92			
MCH			↓97					↓95	▼93		↓94	▼94
MCHC					↑105	↑104	▲108					
網状赤血球						↓82						
トロンボプラスチン 時間								▼90	▼91			

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

↑ ↓ : p < 0.05, ▲ ▼ : p < 0.01 (U 検定による)

7-2. 臨床生化学的検査

アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンキナーゼ (CK)、アルブミン、ビリルビン、コレステロール、クレアチニン、総蛋白、尿素、トリグリセリド、糖、無機リン酸塩 (P)、カルシウム (Ca)、カリウム (K)、ナトリウム (Na)、クロリド、鉄 (Fe) を測定した。

いくつかの項目で対照群に比べ、検体投与群に統計学的有意差が認められたが、いずれも正常値の変動範囲内にあり、用量との関連性が認められなかったり、あるいは時間的な関連性がなかった。これらのことから、認められた統計学的有意差は意味のあるものではないと考えられた。

表 4. 血液生化学的検査 (有意差を認めた所見)

雄												
検査週	27 週			52 週			79 週			104 週		
項目_ppm	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000
ASAT		↓ 87			↑ 113	↑ 183						
ALAT						↑ 137						↑ 126
LDH						↑ 1242						↓ 66
コレステロール		↑ 115			↑ 116					↑ 146		
トリグリセリド						↓ 74						
クレアチニン					↓ 90		↑ 128			↑ 117		
総蛋白			↑ 103									
K				↓ 95								
Ca	↑ 102	↑ 102	↑ 103									
Fe				↓ 83		↓ 80						
雌												
ASAT										↑ 126		
ALAT										↑ 128	↑ 118	
LDH	↓ 75	↓ 57	↓ 38				↑ 287			↑ 158		
CK	↓ 64	↓ 43	↓ 38				↑ 227	↑ 211		↑ 231		↑ 175
糖										↑ 109		
コレステロール							↑ 132					
トリグリセリド			↓ 78		↓ 76	↓ 73						
クレアチニン	↓ 95		↓ 92				↓ 83	↓ 73	↓ 89			
尿素				↓ 84	↓ 84	↓ 84						
ビリルビン						↓ 82						
総蛋白		↓ 96			↓ 96	↓ 95						
アルブミン					↓ 92	↓ 91						
Na		↓ 99										
Ca		↓ 97	↓ 98				↑ 103	↑ 102	↑ 103			
P						↑ 116	↑ 112	↑ 123	↑ 132			
Fe	↑ 119											

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
 ↑ ↓ : p < 0.05、 ↑ ↓ : p < 0.01 (U 検定による)

7-3. 尿検査

潜血、蛋白、糖、ビリルビン、ケトン体、pH、ウロビリノーゲンは尿試験紙により半定量的に、沈渣は顕微鏡的に、蛋白、比重及び尿量は定量的に測定した。

試験紙及び顕微鏡による検査では異常値は認められなかった。

雌の 300ppm と 1000ppm で蛋白排泄の低下がみられたが、組織学的に糸球体や尿細管に異常がみられなかったことから病的変化とはみなさなかった。

表 5. 血液生化学的検査 (有意差を認めた所見)

雄												
検査週	27 週			52 週			79 週			104 週		
項目 \ ppm	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000
尿量							↑133					
比重	↓98						↓97	↓97				
蛋白										↑196		
蛋白量*				↑156						↑160		
雌												
尿量			↓83									
蛋白						↓52			↓34			↓33
蛋白量*		↓63	↓63			↓63						↓45

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

↑↓ : $p < 0.05$ 、 ↑↓ : $p < 0.01$ (U 検定による)

採取した尿中の蛋白量

8. 剖検

途中死亡 (または切迫屠殺動物)、中間屠殺 (12 ヶ月後) 動物及び最終屠殺 (24 ヶ月後) 動物の全動物を剖検した。

検体に起因すると考えられる特異的な所見は認められなかった。

9. 臓器重量

中間剖検時 (12 ヶ月後) 及び試験終了時 (24 ヶ月後) の剖検時に脳、心、肺、肝、脾、副腎、精巣及び卵巣の臓器重量を測定した。

肺及び脾重量は 1000ppm 群の雌で中間剖検時に実重量及び対体重比ともに対照群に比べ有意に高かったが、最終剖検時ではその差は明らかでなかった。

肝重量は 300ppm (対体重比) と 1000ppm (実重量及び対体重比) 群の雌で 12 ヶ月後では対照群に比べて統計学的に有意な低下を示したが、24 ヶ月後の最終屠殺時にはそのような差は明らかとはならなかった。逆に 1000ppm 群の雌の対体重比はわずかではあるが統計学的に有意な増加を示した。

精巣重量 (対体重比) では 1000ppm 群の雄で対照群よりも有意な低値を示したが、これは対照群に 1 例の異常値 (腫瘍) があったため、対照群の平均値が高値であったためである。

剖検及び病理組織学的検査では検体に起因した臓器障害は何らみられなかったことから、肺、脾、肝、副腎及び精巣でみられた有意な差は検体によるものでないとみなされる。

表 6. 臓器実重量(A)及び対体重比(R) (有意差を示した臓器)

性別	雄						雌					
	53			104			53			104		
検査週	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000	100	300	1000
体重			↓92									↓93
脳 R												↑107
心 A		↓88										
肺 A									↑116			
R									↑114			
肝 A									↓90			
R							↓92		↓89			↑106
脾 A									↑117			
R							↑108		↑115			
副腎 A										↓83	↓82	↓73
R										↓81	↓84	↓77
精巣 R						↓90						

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

↑ ↓ : p<0.05、 ↑↓ : p<0.01 (U検定による)

10. 病理組織学的検査

検査は全群の全動物から以下の臓器で行った。

大動脈、眼、盲腸、結腸、十二指腸、外涙腺、大腿骨、脳、ハーダー氏腺、膀胱、尿道、皮膚、心、精巣、下垂体、回腸、空腸、咽頭、骨髓 (大腿骨と胸骨)、頭蓋、肝、肺、リンパ節 (下顎と腸間膜)、胃、乳腺、脾、筋肉 (大腿部)、精巣上体、副腎、視神経、坐骨神経、腎、食道、卵巣 (卵管付き)、膵、前立腺、直腸、脊髓 (頸部、胸部、腰部)、精嚢、甲状腺、胸骨、胸腺 (認めた場合)、気管、子宮、膈、舌、及び全ての肉眼的異常部位衛星群の非腫瘍性変化や腫瘍と疑われる全ての組織。

10-1. 中間計画屠殺用全動物 (衛星群) の非腫瘍性病変

全投与群において検体に起因した非腫瘍性病変はみられなかった。

10-2. 中間計画屠殺用全動物 (衛星群) の腫瘍性病変

1000ppm 群の雌 (1例) において、下垂体腺腫 (良性) を認めたが、本腫瘍は自然発生的なものであることから検体に起因した所見ではなかった。

10-3. 最終計画屠殺用全動物(主群)の非腫瘍性病変(表 7, 9)

雌において、統計学的に有意な所見が以下に示すように認められた。

肝において、クッパー細胞中の色素沈着を示す例数が 1000ppm 群の雌で増加したが、統計学的な有意差は認められなかった。

脾臓では、雌の 1000ppm 群で他の群と比べヘモジデリン沈着を示す例に統計学的に有意な増加が認められた。しかしながら、6、12、18、24 ヶ月間投与後に実施した血液学的検査は全投与群の雌雄で血液障害または血液凝固への影響を何も示さなかった。また、ヘモジデリンは通常脾臓において非常に量が variability やすく、変動した量をヘマトキシリンエオジン染色切片では容易に検出できないことから、この観察の意義は不確実である。

副腎では雌の 1000ppm 群では年齢に関係した副腎皮質の出血性変性の頻度の減少がみられた。

甲状腺 C-細胞過形成は背景データ* 範囲内(雄; 0.0~96.0%, 雌; 0.0~95.0%)にあった。

その他、本試験で認められた非腫瘍性病変は頻度、特徴、程度においてこの系統の老齢ラットの正常範囲内にあり、検体の影響とは考えられなかった。

表 7. 最終計画屠殺用全動物における主な非腫瘍性病変

性別	雄				雌				
	0	100	300	1000	0	100	300	1000	
用量(ppm)									
臓器/所見									
肝臓	検査数	49	49	50	50	49	50	50	50
クッパー細胞色素沈着		0	1	0	1	2	2	1	7
脾臓	検査数	49	49	50	50	50	50	50	50
ヘモジデリン沈着		0	0	1	0	2	3	3	19**
副腎皮質	検査数	49	49	50	49	50	50	50	50
出血性変性		3	4	4	1	23	15	13*	4**
甲状腺	検査数	50	50	50	59	49	50	50	50
C-細胞過形成		1	3	7*	6	1	2	3	0

*= p < 0.05, **= p < 0.01 (Fisher 検定(片側))

10-4. 最終計画屠殺用全動物(主群)の腫瘍性病変(表 8, 10)

腫瘍の発現率、種類、良悪、部位について分類した。

表 7 に示す様に、投与群の原発性腫瘍の分布からは、投与に起因した変動は認められなかった。特に全群の雄で悪性腫瘍を伴った例数は近似しており、雌では投与用量に関連してに頻度の減少する傾向が認められた。1000ppm 群の雄で原発性腫瘍の数が多いのは、良性腫瘍の数が多いことによるものであり、同時にこの系統でいつもみられる変動範囲内の頻度と殆ど同じであった (Bomhard, E., Karbe, E., Löser, E., JEPTO 7, 35(1986))。

表 8 担腫瘍動物数

項目	性別	雄				雌			
	ppm	0	100	300	1000	0	100	300	1000
途中死亡動物									
検査動物数		8	8	8	3	10	12	11	9
担腫瘍動物数		4	5	6	3	6	12	9	3
担良性腫瘍動物数		2	3	3	1	2	6	3	1
担悪性腫瘍動物数		2	3	3	2	4	9	6	3
担良悪腫瘍動物数		1	2	1	0	0	3	0	1
最終解剖動物									
検査動物数		42	41	42	47	40	38	39	41
担腫瘍動物数		14	14	15	23	20	15	20	17
担良性腫瘍動物数		11	9	13	20	17	14	19	16
担悪性腫瘍動物数		4	6	2	4	7	1	1	1
担良悪腫瘍動物数		4	3	0	4	8	2	3	0
全動物									
検査動物数		50	49	50	50	50	50	50	50
担腫瘍動物数		18	19	21	26	26	27	29	20
担良性腫瘍動物数		13	12	16	21	19	20	22	17
担悪性腫瘍動物数		6	9	5	6	11	10	7	4
担良悪腫瘍動物数		5	5	1	4	8	5	3	1

主群の腫瘍の数、発生部位、種類に関して、全ての部位における良性あるいは悪性腫瘍の頻度は用量に関連性が認められなかった。異常な腫瘍は投与群において増加していなかった。自然発生し難い腫瘍は全ての群で用量相関性を示さなかった。

内分泌臓器(下垂体、甲状腺、副腎)および生殖器(精巣、卵巣、子宮)で多数の腫瘍が認められたが、この系統のラットでは普通に認められるものであった。

主な腫瘍性病変については以下のとおりであった。

雄では、甲状腺 C-細胞腫瘍の頻度は対照群に比べて全ての投与群の雄で増加していた(発生頻度; 0, 2, 3, 3。用量昇順; 腺腫、癌合算値)。さらに C-細胞過形成と腫瘍の分類は主に病変の大きさに基づいているため、合計した頻度を考慮にいと、300ppm 以上で増加が認められた(発生頻度; 1, 5, 10**, 9**, **== p < 0.01(Fisher 検定(片側)))。用量昇順)。しかしながら、C-細胞の増殖性病変の発生頻度はウィスター系ラットの雄で自然発生する甲状腺 C-細胞腫瘍

の範囲内にあり、本検体の影響によるものとは考えられなかった。

※； 背景データ

	雄	雌
C-細胞腺腫	0.0～18.1%	0.0～21.2%
C-細胞癌	0.0～16.0%	0.0～6.0%

(参考-JEPTO 7:1/2:35-52, 当該施設背景データ, RITA データベース(1992))

副腎では褐色細胞腫の頻度は対照群に比べ 300ppm と 1000ppm 群の雄で減少していた。しかしながら、統計学的な有意差は認められず、偶発性のものと考えられた。

子宮では 100ppm の 3 例、300ppm の 2 例そして 1000ppm の 1 例、合計 6 例に転移を伴う悪性の癌が認められ、膵臓、腸間膜リンパ節、肝そして肺に転移していた。この所見には統計学的有意差がなく、用量相関性がないことと、ウィスターラットでは比較的高い頻度で自然発生性の子宮癌が起こると考えると、本検体によるとは考えられなかった。

その他の腫瘍の頻度は投与群と対照群で類似しており散発的に単一に認められ、注目に値するものと考えられるものは何もなかった。

以上のことから、1000ppm 群雌雄で体重増加抑制、雌で脾のヘモジデリン沈着の頻度の増加および肝のクッパー細胞の色素沈着の頻度の増加が認められた。従って、無毒性量は雄 300ppm(15.9mg/kg/日)、雌 300ppm(22.8mg/kg/日)であり、本検体には発がん作用を認めなかった。

表 9. 主な非腫瘍性病変

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
所見/検査数									
途中死亡動物	肝臓	8	8	8	3	10	12	11	9
	クッパー細胞色素沈着	0	1	0	1	0	0	0	0
	胆管過形成	1	1	0	0	0	0	0	0
	好塩基性細胞巢	0	1	0	0	1	0	1	1
	明細胞巢	1	0	1	0	1	0	1	1
	脾臓	8	8	8	3	11	12	11	9
	ヘモジデリン沈着	0	0	1	0	2	1	3	2
	髓外造血	2	1	1	1	2	7	4	1
	副腎皮質	8	8	8	3	11	12	11	9
	出血性変性	0	1	0	1	2	3	4	0
	甲状腺	9	9	8	3	11	12	11	9
	C-細胞過形成	0	0	2	0	0	0	0	0
最終屠殺動物	肝臓	41	41	42	47	39	38	39	41
	クッパー細胞色素沈着	0	0	0	0	2 ⁺	2	1	7
	胆管過形成	12	12	14	7	1	0	1	1
	好塩基性細胞巢	4	3	3	5	15	12	11	17
	好酸性細胞巢	0	0	0	0	0	1	0	0
	明細胞巢	34	28	29	34	7	8	6	10
	脾臓	41	41	42	47	39	38	39	41
	ヘモジデリン沈着	0	0	0	0	0 ⁺⁺	2	0	17 ^{**}
	髓外造血	0	0	0	0	0	4	1	0
	副腎皮質	41	41	42	46	39	38	39	41
	出血性変性	3	3	4	0	21 ⁺⁺	12 [*]	9 ^{**}	4 ^{**}
	甲状腺	41	41	42	47	39	38	39	41
C-細胞過形成	1	3	5	6	1	2	3	0	
全動物	肝臓	49	49	50	50	49	50	50	50
	クッパー細胞色素沈着	0	1	0	1	2 ⁺	2	1	7
	胆管過形成	13	13	14	7	1	0	1	1
	好塩基性細胞巢	4	4	3	5	15	12	12	19
	好酸性細胞巢	0	0	0	0	0	1	0	0
	明細胞巢	35	28	30	34	8	8	7	11
	脾臓	49	49	50	50	50	50	50	50
	ヘモジデリン沈着	0	0	1	0	2 ⁺⁺	3	3	19 ^{**}
	髓外造血	2	1	1	1	2	11 ^{**}	5	1
	副腎皮質	49	49	50	49	50	50	50	50
	出血性変性	3	4	4	1	23 ⁺⁺	15	13 [*]	4 ^{**}
	甲状腺	50	50	50	50	49	50	50	50
C-細胞過形成	1	3	7 [*]	6	1	2	3	0	

*= p < 0.05, **= p < 0.01 (Fisher 検定 (片側)),

+= p < 0.05, ++= p < 0.01 (コクランアーミテージの傾向検定 (両側検定))

表 10-1. 腫瘍性病変

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	所見/検査数								
途中死亡動物	肝臓	8	8	8	3	10	12	11	9
	肝細胞癌 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	胃	8	7	8	3	11	12	11	9
	平滑筋肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	リンパ節 (腸間膜)	8	8	8	3	11	12	11	9
	血管腫 (b)	1	3	0	0	0	0	1	0
	脾臓	8	7	8	3	10	12	11	9
	島細胞腺腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	リンパ網内系	9	9	8	3	11	12	11	9
	リンパ腫 (m)	1	1	1	1	0	0	0	0
	脳	9	9	8	3	11	12	11	9
	顆粒細胞腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	顆粒細胞腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	下垂体	9	9	8	3	11	12	11	9
	腺腫 (b)	1	0	1	0	1	4	1	2
	腺癌 (m)	1	0	0	0	0	0	2	1
	副腎	8	8	8	3	11	12	11	9
	褐色細胞腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	胸腺	6	8	8	3	10	9	11	7
	胸腺腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣	8	8	8	3	—	—	—	—
	ライディット細胞腫 (b)	0	0	0	1	—	—	—	—
	前立腺	8	8	8	3	—	—	—	—
	腺癌 (m)	0	1	0	0	—	—	—	—
	乳腺	6	5	4	2	10	11	9	8
	線維腺腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	腺癌 (m)	0	0	0	0	1	2	2	1
	子宮	—	—	—	—	11	12	11	9
	腺癌 (m)	—	—	—	—	0	1	0	0
	平滑筋肉腫 (m)	—	—	—	—	1	0	0	0
間質肉腫 (m)	—	—	—	—	0	2	1	0	
血管腫 (b)	—	—	—	—	0	0	1	0	
癌, 異型性 (m)	—	—	—	—	0	3	2	1	
骨格筋	8	8	8	3	11	12	11	9	
横紋筋肉腫 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0	

*= p < 0.05, **= p < 0.01 (Fisher 検定 (片側)),

+ = p < 0.05, ++ = p < 0.01 (コクランアーミテージの傾向検定 (両側検定))

肉眼的に異常が認められた臓器

表 10-2. 腫瘍性病変

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
所見/検査数									
途中死亡動物	皮膚/皮下	8	8	8	3	11	12	11	9
	角化棘細胞腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
	線維腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	基底細胞癌 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	骨	8	8	8	3	11	12	11	9
	骨肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	胸腔肉腫 (m)	—	—	—	—	1	—	—	—
最終屠殺動物	肺	41	41	42	47	39	38	39	41
	癌; 肺胞/細気管支 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	41	41	42	47	39	38	39	41
	肝細胞腺腫 (b)	0	0	0	0	0	1	3	0
	肝細胞癌 (m)	0	1	0	0	1	0	0	0
	胃	41	41	42	47	39	38	39	41
	扁平上皮乳頭腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	線維腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	回腸	41	41	42	47	39	38	39	41
	平滑筋腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	リンパ節 (腸間膜)	41	41	42	47	39	38	39	41
	血管腫 (b)	2	3	2	6	0	1	0	0
	リンパ網内系	41	41	42	47	39	38	39	41
	リンパ腫 (m)	1	0	1	1	0	0	0	0
	下垂体	41	41	42	47	39	38	39	41
	腺腫 (b)	5	3	5	6	12	10	13	9
	副腎	41	41	42	46	39	38	39	41
	神経節神経腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	褐色細胞腫 (b)	3	2	1	1	1	2	0	0
	褐色細胞腫 (m)	1	2	0	0	1	0	0	0
	精巣	41	41	42	47	—	—	—	—
	ライディット細胞腫 (b)	3	1	1	4	—	—	—	—
	精巣上体	41	41	42	47	—	—	—	—
	中皮腫 (m)	0	0	0	1	—	—	—	—
	間質肉腫 (m)	1	0	0	0	—	—	—	—
	胞皮腺 [#]	—	1	—	—	—	—	—	—
	腺癌 (m)	—	1	—	—	—	—	—	—
	乳腺	18	25	27	24	38	38	38	41
	線維腺腫 (b)	0	0	0	0	4	1	3	2
	腺癌 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0

*= p < 0.05, **= p < 0.01 (Fisher 検定 (片側)),

+= p < 0.05, ++= p < 0.01 (コクランアーミテージの傾向検定 (両側検定))

肉眼的に異常が認められた臓器

表 10-3. 腫瘍性病変

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	所見/検査数								
最終屠殺動物	卵巣	—	—	—	—	39	38	39	41
	顆粒膜細胞腫 (b)	—	—	—	—	2	0	0	1
	莢膜細胞腫 (b)	—	—	—	—	0	0	1	0
	莢膜細胞腫 (m)	—	—	—	—	0	1	0	0
	顆粒膜/莢膜細胞腫 (b)	—	—	—	—	1	0	0	0
	子宮	—	—	—	—	39	38	39	41
	腺腫 (b)	—	—	—	—	0	0	1	0
	腺癌 (m)	—	—	—	—	2	0	0	1
	間質肉腫 (m)	—	—	—	—	2	0	0	0
	血管腫 (b)	—	—	—	—	1	0	0	0
	血管肉腫 (m)	—	—	—	—	0	1	0	0
	腎臓	41	41	42	47	39	38	39	41
	移行上皮乳頭腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脂肪肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	甲状腺	41	41	42	47	39	38	39	41
	ろ胞細胞腺腫 (b)	0	1	0	3	0	0	1	2
	C-細胞腺腫 (b)	0	1	3	2	1	0	1	1
	C-細胞腺癌 (m)	0	1	0	1	0	0	0	0
	上皮小体#	1	1	—	1	—	1	1	—
	腺腫 (b)	1	1	—	1	—	1	1	—
	皮膚/皮下	41	41	42	47	39	38	39	41
	線維腫 (b)	0	1	0	1	0	0	0	0
	基底細胞癌 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0
皮膚付属器の上皮腫 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0	
肉腫, 鑑別診断なし (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	
全動物	肺	49	49	50	50	50	50	50	50
	癌; 肺胞/細気管支 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	49	49	50	50	49	50	50	50
	肝細胞腺腫 (b)	0	0	0	0	0	1	3	0
	肝細胞癌 (m)	1	1	0	0	1	0	0	0
	胃	49	48	50	50	50	50	50	50
	扁平上皮乳頭腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	線維腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	平滑筋肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	回腸	48	48	49	50	50	50	50	50
	平滑筋腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	リンパ節 (腸間膜)	49	49	50	50	50	50	50	50
	血管腫 (b)	3	6	2	6	0	1	1	0
	膵臓	49	48	50	50	49	50	50	50
	島細胞腺腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0

*= p < 0.05, **= p < 0.01 (Fisher 検定(片側)), # 肉眼的に異常が認められた臓器

+= p < 0.05, ++= p < 0.01 (コクランアーミテージの傾向検定(両側検定))

表 10-4. 腫瘍性病変

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
所見/検査数									
全動物	リンパ網内系	50	50	50	50	50	50	50	50
	リンパ腫 (m)	2	1	2	2	0	0	0	0
	脳	50	49	50	50	50	50	50	50
	顆粒細胞腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	顆粒細胞腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	下垂体	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺腫 (b)	6	3	6	6	13	14	14	11
	腺癌 (m)	1	0	0	0	0	0	2	1
	副腎	49	49	50	49	50	50	50	50
	神経節神経腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	褐色細胞腫 (b)	3	2	1	1	1	2	0	0
	褐色細胞腫 (m)	1	2	1	0	1	0	0	0
	胸腺	44	49	50	49	48	45	50	48
	胸腺腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣	49	49	50	50	—	—	—	—
	ライディヒ細胞腫 (b)	3	1	1	5	—	—	—	—
	精巣上体	49	49	50	50	—	—	—	—
	中皮腫 (m)	0	0	0	1	—	—	—	—
	間質肉腫 (m)	1	0	0	0	—	—	—	—
	前立腺	49	49	50	50	—	—	—	—
	腺癌 (m)	0	1	0	0	—	—	—	—
	胞皮腺 [#]	—	1	—	—	—	—	—	—
	腺癌 (m)	—	1	—	—	—	—	—	—
	乳腺	24	30	31	26	48	49	47	49
	線維腺腫 (b)	0	0	0	0	5	1	3	2
	腺癌 (m)	0	0	0	0	2	2	2	1
	卵巣	—	—	—	—	50	49	50	50
	顆粒膜細胞腫 (b)	—	—	—	—	2	0	0	1
	莢膜細胞腫 (b)	—	—	—	—	0	0	1	0
	莢膜細胞腫 (m)	—	—	—	—	0	1	0	0
	顆粒膜/莢膜細胞腫 (b)	—	—	—	—	1	0	0	0
	子宮	—	—	—	—	50	50	50	50
	腺腫 (b)	—	—	—	—	0	0	1	0
	腺癌 (m)	—	—	—	—	2	1	0	1
	平滑筋肉腫 (m)	—	—	—	—	1	0	0	0
	間質肉腫 (m)	—	—	—	—	2	2	1	0
血管腫 (b)	—	—	—	—	1	0	1	0	
血管肉腫 (m)	—	—	—	—	0	1	0	0	
癌, 異型性 (m)	—	—	—	—	0	3	2	1	

*= p < 0.05, **= p < 0.01 (Fisher 検定 (片側)),

+ = p < 0.05, ++ = p < 0.01 (コクランアーミテージの傾向検定 (両側検定))

肉眼的に異常が認められた臓器

表 10-5. 腫瘍性病変

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
所見/検査数									
全動物	腎臓	49	49	50	50	50	50	50	50
	移行上皮乳頭腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脂肪肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	甲状腺	50	49	50	50	49	50	50	50
	ろ胞細胞腺腫 (b)	0 ⁺	1	0	3	0	0	1	2
	C-細胞腺腫 (b)	0	1	3	2	1	0	1	1
	C-細胞腺癌 (m)	0	1	0	1	0	0	0	0
	上皮小体 [#]	1	1	—	1	—	1	1	—
	腺腫 (b)	1	1	—	1	—	1	1	—
	骨格筋	49	49	50	50	50	50	50	50
	横紋筋肉腫 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚/皮下	49	49	50	50	50	50	50	50
	角化棘細胞腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
	線維腫 (b)	0	1	1	1	0	0	0	0
	基底細胞癌 (m)	0	2	0	0	0	0	0	0
	皮膚付属器の上皮腫 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肉腫, 鑑別診断なし (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	骨	49	49	50	50	50	50	50	50
	骨肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	胸腔	50	49	50	50	50	50	50	50
	肉腫 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0

*= p < 0.05, **= p < 0.01 (Fisher 検定 (片側)),

+ = p < 0.05, ++ = p < 0.01 (コクランアーミテージの傾向検定 (両側検定))

肉眼的に異常が認められた臓器

テブコナゾールのイヌを用いた1年間経口投与慢性毒性試験

(毒性資料 No. 原体-23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体の純度：

供試動物：純血ビーグル犬雌雄(Bor:Beag)、1群雌雄各4匹
(試験開始時24~28週齢、体重7.1~10.5kg)

投与期間：投与期間12ヶ月間(1984年8月~1985年8月)

投与方法：

検体を0(対照群)、40、200および1000ppm(但し、高濃度の許容量の確認および明らかな毒性を求めるため、40~52週は2000ppmを投与)となるように飼料に混ぜ、1年間イヌに投与した。

観察・検査項目：

1) 臨床症状

動物は1日に数回観察し、生理学的な異常を記録した。また試験前2週目および試験6、13、26、39および52週目に体温、脈拍数(大腿動脈)を測定し、反射試験(瞳孔反応、角膜反射、膝蓋腱反射、屈伸正向反射)を検査した。

全ての投与群の全ての動物において、栄養状態はほぼ正常で動物の外観および行動も正常で、また、いずれの検査時期とも体温、脈拍および反射試験に顕著な変化がみられず、用量との関連性はみられなかった。従って検体に起因した影響は認められなかった。

2) 眼検査

試験前2週目および試験13、26、32、39、46および52週目に対照群と投与群の全ての動物で眼検査を行った。

200ppm群の雌2匹で水晶体の変化(水晶体中央部の混濁または水晶体星芒)をそれぞれ26または32週目から試験終了時まで、1000/2000ppm群の雌1匹で26週から32週までに認め、検体との関連性を無視することはできなかった。他に検体に起因する所見は何ら認められなかった。

3) 死亡率

全ての投与群において、試験期間中、死亡を認めなかった。

4) 体重

体重は投与開始3週間前から試験終了(52週)時まで毎週1回測定した。

全群において、検体の体重増加に対する影響は認められなかった。

表1. 平均体重 (kg)

項目 (ppm)	雄				雌			
	0	40	200	1000/2000*	0	40	200	1000/2000*
1. 試験開始時 (1週間前)	8.9	9.1	8.9	9.2	8.7	8.5	8.2	8.3
2. 試験終了時 (52週目)	12.0	12.7	12.1	12.3	11.3	12.5	12.0	11.1
3. 増加量	+3.1	+3.6	+3.2	+3.1	+2.6	+4.0	+3.8	+2.8

*40週から2000ppmを投与した。

5) 飼料および検体摂取量

摂餌量は試験期間中、毎日測定した。

摂餌量では用量に関連した減少を認めなかったことから、検体に起因した影響は認められなかった。検体摂取量を次表に示す。

表2. 検体摂取量

項目 (ppm)	雄				雌			
	0	40	200	1000/2000*	0	40	200	1000/2000*
mg/kg/日**	0	1.4	7.2	44.6	0	1.4	7.5	47.5

*40週から2000ppm投与した。 **申請者によって算出。

6) 飲水量

試験中、飲水量を測定し、異常な飲水行動は記録した。

飲水量の検査では何ら変化を認めなかった。

7) 臨床検査

試験前2週目および試験6、13、26、39、46(対照群と1000/2000ppm群のみ)および52週目に対照群と投与群の全ての動物で検査を行った。

7-1) 血液学的検査

頸静脈から採取した血液において、ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球数、平均血球容積(MCV)、平均血球血色素量(MCH)、平均血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、網状赤血球数、トロンボプラスチン時間、血液沈降速度および白血球分画を測定または算定した。

全ての検査項目において、検体に起因する影響は認められなかった。

7-2) 血液生化学的検査

頸静脈から採取した血液（血漿）において、血糖、尿素、クレアチニン、総蛋白、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ASAT）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALAT）、アルカリホスファターゼ（ALP）、グルタミン酸脱水素酵素（GLDH）、ビリルビン、コレステロール、血清電解質（ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素）を、最終屠殺時に肝のチトクローム P-450、N-デメチラーゼ（N-DEM）およびトリグリセリド(TG)を測定した。

表3. 血液生化学的検査（有意差の認められた項目）

検査週	6週			13週			26週			39週			46週			52週		
項目(ppm)	40	200	1000	40	200	1000	40	200	1000	40	200	1000	40	200	1000	40	200	1000
雄	N-DEM		—		—		—		—		—		—		—	72	98	▲191
	TG		—		—		—		—		—		—		—	95	102	120
雌	N-DEM		—		—		—		—		—		—		—	75	98	▲199
	TG		—		—		—		—		—		—		—	118	119	▲161

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。

▲：p<0.01（Dunnett 多重比較検定又は non-parametric 型多重比較検定：申請者により実施）

N-デメチラーゼ測定の基質：アミノピリン

O-デメチラーゼ測定の基質：4-ニトロアニソール

また、1000/2000ppm 群では N-DEM 活性のわずかな上昇およびトリグリセリド濃度の増加が認められたことから、検体に起因した肝への影響が考えられた。他の検査項目では何ら検体に起因した所見はみられなかった。

7-3) 尿検査

尿は6時間かけて採取し、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、比重、pH、沈渣および尿素を測定した。

検体に起因する影響は認められなかった。

8) 剖検

試験終了時に全動物を剖検した。

200 および 1000/2000ppm 群の雌雄で肝に用量に関連した小葉構造の明瞭な例がそれぞれ2匹（雌）と5匹（雄2匹、雌3匹）に認められた。しかし病理組織学的検査では肝障害を示唆する所見は認められず、剖検所見と病理組織学的所見に一致は認められなかった。

9) 臓器重量

試験終了時に脳、精巣、心、肝、肺、脾、副腎、腎、卵巣、膵、前立腺および甲状腺（上皮小体も含む）の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

全ての投与群において、検体に起因した臓器重量への影響はみられなかった。

10) 病理組織学的検査

検査は以下の臓器で行った。

骨、骨髄（大腿骨、胸骨）、副腎、甲状腺（上皮小体も含む）、坐骨神経、視神

経、下垂体、胃、食道、大動脈、膀胱、胆のう、腸管、皮膚、乳房、骨格筋、唾液腺（耳下腺）、膵、リンパ節（腸間膜）、胸腺、扁桃、脳（大脳、小脳、脳幹）、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、肝、肺、脾、心、眼、腎、その他変化のある臓器またはその一部。

雌の 200 および 1000/2000ppm 群で副腎の束状帯に細胞質内空胞化（軽～重度）がみられ、検体に起因した所見と考えられた。

雌雄 1000/2000ppm 群での脾におけるシデリン沈着の増加（軽度）は毒性学的に重要ではないが、発生率（5/8；1000/2000ppm の雄 2/4、雌 3/4）の点から、検体に起因した所見と考えられた。

表 4. 病理組織所見

項目 (ppm)	雄				雌			
	0	40	200	1000/2000	0	40	200	1000/2000
【検査数】	4	4	4	4	4	4	4	4
甲状腺								
実質の緻密化	1	1	0	1	0	2	1	1
嚢胞	0	1	1	0	0	0	0	0
円形細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0
肺								
円形細胞浸潤	2	0	0	0	0	0	0	1
線維化	0	0	0	0	1	0	1	1
扁平上皮化生	0	0	0	0	1	0	1	0
肝								
グリソン鞘肥大	1	0	1	0	0	0	0	0
胆管周囲円形細胞浸潤	1	0	0	0	0	0	0	1
色素貪食	0	0	1	3	2	2	2	0
脂肪を貪食したクッパー細胞	0	0	1	1	0	0	0	0
胸腺								
退縮	1	3	0	3	2	1	0	0
脾								
色素沈着	1	0	1	2	1	3	2	3
下垂体/前葉								
嚢胞	0	0	1	0	1	0	1	0
腎								
円形細胞浸潤	0	0	1	0	1	0	0	0
眼/角膜								
円形細胞浸潤	0	1	1	0	0	0	0	0

Fischer 片側検定：申請者により実施。

表 3. 病理組織所見 (続き)

項目 (ppm)	雄				雌			
	0	40	200	1000/2000	0	40	200	1000/2000
【検査数】	4	4	4	4	4	4	4	4
前立腺								
円形細胞浸潤	0	1	1	2	—	—	—	—
精巣上体								
円形細胞浸潤	0	1	1	0	—	—	—	—
肉芽様炎症	0	0	0	1	—	—	—	—
精巣								
円形細胞浸潤	0	1	0	0	—	—	—	—
低精子症	0	1	0	0	—	—	—	—
耳下腺								
円形細胞浸潤	0	1	0	1	0	0	0	0
リンパ節								
赤血球貪食	0	1	0	0	0	0	0	0
血液充満	0	1	0	0	0	0	0	0
扁桃								
血液充満	0	1	0	0	0	0	0	0
リンパ組織拡張	0	0	1	1	0	0	0	0
乳腺								
乳汁分泌	0	0	0	0	0	2	1	1
胆嚢								
浮腫	0	0	1	0	0	0	0	0
卵巣								
黄体嚢胞	—	—	—	—	0	0	1	1
副腎/束状帯								
空胞化	0	0	0	0	0	0	2	2
膀胱								
寄生虫症	0	0	0	0	0	0	1	0
胃/幽門								
粘膜出血	0	0	0	1	0	0	0	0
円形細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1
腸管/回腸								
寄生虫症	0	0	0	0	0	0	1	0

Fischer 片側検定：申請者により実施。

以上のことから、1000/2000ppm 群において ALP 活性の高値 (雌雄)、N-DEM 活性の増加 (雌雄)、トリグリセリド濃度の上昇 (雌雄)、肝の小葉構造の明瞭化 (雌雄)、脾のシデリン沈着の増加 (雌雄)、水晶体の変化 (混濁または星芒) (雌) および副腎の変化 (束状帯の細胞質内空胞化の増加) (雌)、また 200ppm 群で水晶体の変化 (混濁または星芒) (雌) と副腎の変化 (束状帯の細胞質内空胞化の増加) (雌) が認められた。従って、無毒性量は雄が 200ppm (7.2mg/kg/日)、雌が 40ppm (1.4mg/kg/日) であった。