

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

4) トリホリン原体のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No. T-12)

試験機関：Inveresk Research International Ltd. (英国)

報告書作成年：1989 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時週齢；雌雄約 5 週齢、
試験開始時体重範囲；雄 98～122 g、雌 72～95 g

投与期間：13 週間 (1989 年 2 月 9 日～5 月 12 日)

投与方法：検体を 0 および 20000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は試験開始後 5 週までは毎週、それ以降は 2 週間毎に調製した。

用量設定根拠；EPA ガイドラインの限度濃度である 1000 mg/kg に相当する 20000 ppm を最大耐用量とした。本試験は RCC で実施した 4 週間反復経口投与毒性試験の結果を検証し、次の慢性/発がん性併合試験のための用量設定を行うために実施した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；生死は 1 日 2 回、全動物の投与に対する反応は毎日観察し、詳細な状態観察は週 1 回行った。

投与期間中に途中死亡、投与に起因した一般症状の変化は認められなかった。

体重変化；全動物の個々の体重を投与開始前および投与期間中は週 1 回測定した。いずれの投与群においても対照群との間に有意差は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を投与開始前および投与期間中は週 1 回ケージ毎に測定した。いずれの投与群においても対照群との間に有意差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 (mg/kg/日) は以下の通りである。

投与量		20000 ppm
検体摂取量(mg/kg/日) ；平均 (範囲)	雄	
	雌	

飲水量； 飲水量の変化を目視により毎日観察した。

検体投与の影響は認められなかった。

血液学的検査； 投与 13 週中に全動物を対象として、エーテル軽麻酔下で眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、赤血球恒数；平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

投与量 (ppm)	20000	
性別	雄	雌
赤血球数		↓95
MCV		↑104
MCHC	↓99	↓98

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、
表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

20000 ppm 投与群の雌雄に MCHC の低値がみられ、雌ではさらに赤血球数の低値および MCV の高値もみられた。

臓器重量； 投与期間終了後に全動物を対象として以下の臓器重量(絶対重量)を測定し、体重を条件とした共分散分析も行った。

心臓、卵巣、腎臓、脾臓、肝臓、精巣 (精巣上体を含む)、肺

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		20000	
性別		雄	雌
肝臓	絶対重量	↑114	▲129
	体重補正*	▲118	▲125
	相対重量**	▲118	▲125
卵巣	絶対重量	—	↑127
	体重補正*	—	↑125
	相対重量**	—	↑126
脾臓	絶対重量	↑116	↑126
	体重補正*	↑118	↑122
	相対重量**	↑118	↑125

— : 対象臓器なし

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

* : 臓器重量と体重を考慮した共分散分析の結果を示す。

** : 申請者が相対重量を算出し、F&t 検定(Student, Welch;両側)を実施した(↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)。

20000 ppm 投与群の雌雄に肝臓および脾臓の絶対重量あるいは体重補正の重量で高値がみられ、雌では卵巣の絶対重量および体重補正の重量で高値もみられた。

[申請者注]

20000 ppm 投与群の雌で認められた卵巣重量の高値は、ラット反復経口投与毒性／発がん性併合試験（資料 No. T-21）では認められなかったことから、有害な影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査； 試験終了時、全動物に二酸化炭素を過吸引させ、放血致死後、剖検した。
検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、先行する 4 週間反復経口投与毒性試験との整合性が認められ、本検体のラットに対する飼料混入投与による 13 週間反復経口投与毒性試験における影響として、20000 ppm 投与群の雌雄に赤血球関連項目（雌雄では MCHC の低値、雌では赤血球数の低値、MCV の高値）のわずかな変化および脾臓ならびに肝臓重量の増加が認められたが、その他の毒性影響はみられなかった。従って、本試験条件下において、本検体の無毒性量（NOAEL）は 20000 ppm（雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日）以下と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

5) トリホリン原体のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験/神経毒性試験併合試験

(資料 No. T-13)

試験機関：(株)化合物安全性研究所

報告書作成年：2007 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Crl:CD(SD)系ラット、1 群雌雄各 15 匹、投与開始時週齢；雌雄約 5 週齢、
試験開始時体重範囲； 雄 134～161 g、雌 115～145 g

投与期間： 90 日間（雄 2006 年 4 月 5 日～7 月 7 日、雌 2006 年 4 月 6 日～7 月 8 日）

投与方法： 検体を 0、200、2000 および 20000 ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2～12 日間隔で合計 14 回調製した。対照
群には基礎飼料を給餌した。

用量設定根拠； 検体の LD₅₀ 値(ラット、急性経口)は 5000 mg/kg 以上であり、低毒性であるこ
とから、本試験の最高用量には限度濃度である 1000 mg/kg/日に相当する 20000 ppm
を選択し、中および低用量は公比 10 で除した 2000 および 200 ppm を設定した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率； 生死および動物の外観、行動等の一般状態観察は、1 日 2 回行った。
投与期間中に途中死亡、投与に起因した一般症状の変化は認められなかった。

体重変化； 投与 1（投与直前）、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85 および
91 日の午前中に全動物の体重を測定した。また剖検時に臓器重量を測定した動物
の最終体重も測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた測定日を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	200	2000	20000	200	2000	20000
4日				↓96			
57日				↓92			
64日				↓92			
71日				↓91			
78日				↓91			
85日				↓91			
91日				↓90			

Dunnett の検定 ↓↓ : p≤0.05

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

20000 ppm 投与群の雄のみに投与 4 日および投与 57 日以降に有意な体重低下が認められ、検体投与による影響と考えられた。

2000 ppm 以下の投与群の雄および全投与群の雌では検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の個々の摂餌量を投与 1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85 および 91 日の午前中に測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた測定日を次表に示す。

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	200	2000	20000	200	2000	20000
4日			↓86	↓83		↓90	↓89
8日			↓93	↓93		↓91	
29日				↓92			
36日				↓88			
50日				↓91			
57日				↓91			
64日		↓92		↓89			
71日		↓93		↓90			
78日				↓92		↓88	
85日				↓92			

Dunnett の検定 ↓↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

20000 ppm 投与群の雄で投与 4、8、29、36 日、50～85 日に有意な摂餌量の低値がみられ、体重増加抑制がみられていることから、検体投与による影響と考えられた。

その他、雄では 200 ppm 投与群で投与 64 および 71 日に、2000 ppm 投与群で投与 4 および 8 日、雌では 20000 ppm 投与群で投与 4 日、2000 ppm 投与群で投与 4、8 および 78 日に有意な摂餌量の低値が認められたが、いずれも一過性であり、体重変化に影響がみられていないことから、毒性学的な意義は乏しいと考えられた。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日)は以下の通りである。

投与量 (ppm)		200	2000	20000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	13	133	1334
	雌	15	150	1540

詳細な状態の観察； 投与開始前、投与 2、4、8 および 13 週に全動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

ケージ脇からの観察 (体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動/回転・旋回、異常行動/自咬)

ケージから取出し時 (取り出し易さ、取扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、皮膚、眼・眼球および粘膜の外観、瞳孔径、流涙、流涎、その他分泌物の有無)

オープンフィールド内 (歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動、排泄状態/排尿・排糞、常同行動/身づくろい・くびふり、異常行動/後ずさり・異常発声、攻撃性)

いずれの検査時にも各投与群の雌雄とも各項目に有意差は認められず、鎮静、興奮あるいは行動異常等の神経行動学的な異常も認められなかった。

機能検査； 投与開始前、投与 2、4、8 および 13 週に、全動物を対象として、以下の機能検査および測定を行った。

刺激・反射； 作業台上で次の項目を観察および記録した。

視覚刺激(接近反応)、触覚刺激(接触反応)、聴覚刺激(音に対する反応)、痛覚刺激(尾根部を挟む)、固有受容器刺激(強制姿勢からの復帰)、空中正向反射

握力； 前肢および後肢握力を各 3 回測定した。

後肢の着地開脚幅； 2 回測定した。

自発運動量； 10 分間隔で 1 時間測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		200	2000	20000	200	2000	20000
検査項目	検査時期 (週)						
前肢握力	8	↑114	↑112				
	13	↑107	↑106				
後肢握力	13						↓89
自発運動量	0-10分	4			↑139		
	10-20分	4			↑158		

Dunnett の検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

刺激・反射および後肢の着地開脚幅において、検体投与の影響はみられなかった。握力では、20000 ppm 投与群の雌で投与 13 週に後肢握力が有意に低下し、同群の雄では変化はみられなかった。200 および 2000 ppm 投与群の雄で投与 8 および 13 週に前肢握力が有意に増加した。

自発運動量では、200 ppm 投与群の雌で投与 4 週に測定間隔 0-10 分および 10-20 分の自発運動量が有意に増加した。

しかし、これらの変化は一過性あるいは用量反応的な有意差ではないこと、すなわちより高用量群に有意差がみられなかったこと、また、いずれも神経系に病理組織学的な異常所見がみられていないことから、毒性学的意義のない偶発的变化と考えられた。

血液学的検査； 剖検時に絶食させた各群雌雄各 10 匹の動物(浸漬固定例)を対象として、エーテル麻酔下で腹部大動脈より採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、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)、網状赤血球数、血小板数、白血球数、白血球型別百分率、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)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
	200	2000	20000	200	2000	20000
投与量 (ppm)	200	2000	20000	200	2000	20000
赤血球数	↓96	<95>	↓95		<99>	↓92
ヘマトクリット値		↓95	<97>		↓97	↓95
ヘモグロビン濃度		↓96	<97>		<97>	↓95
網状赤血球数		<103>	<114>		<121>	↑154
PT						↓95
APTT		↓90				

Dunnett の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、Mann-Whitney の U-検定 ↓↓ : p<0.05

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

20000 ppm 投与群の雌雄に赤血球数の低値、雌にヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の低値、網状赤血球数の高値およびプロトロンビン時間の有意な短縮が認められた。

2000 ppm 投与群では、雄に赤血球数の低値傾向およびヘマトクリット値ならびにヘモグロビン濃度の低値、活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な短縮も認められた。雌ではヘマトクリット値の低値のみが認められた。

200 ppm 投与群では、雄に赤血球数の低値が認められた。同群の雌では有意差は認められなかった。

2000 ppm 以上の投与群に認められた赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の低値あるいは低値傾向は、軽度ながら貧血傾向が示唆されることから、この変化は検体投与による変化と考えられた。

[申請者註]

200 ppm 投与群の雄で赤血球数の低値が認められたが、2000 ppm 投与群では影響がなく、他の項目に変化がなかったことから、当該変化は有害な影響ではないと考えられた。

2000 ppm 投与群の雄で認められた活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な短縮は、最高用量 20000 ppm 投与群ではみられず、散発的と考えられ、検体投与による影響ではないと考えられた。

血液生化学的検査；血液学的検査と同時に採取した各群雌雄各 10 匹の血液から得られた血清または血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミントランスペプチターゼ (γ-GTP)、グルコース、トリグリセリド、総コレステロール、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、

総蛋白、蛋白分画、アルブミン、A/G 比

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
	200	2000	20000	200	2000	20000
投与量 (ppm)	200	2000	20000	200	2000	20000
総蛋白		<104>	↑105		↑107	↑110
アルブミン		<103>	↑107		<100>	<98>
α ₁ グロブリン		<101>	<96>		<107>	↑117
AST			↓84			↓76
γ-GTP		<362>	↑162		<122>	↑244
総ビリルビン					↓78	↓56
総コレステロール		↑127	↑128		<123>	<110>
トリグリセリド		<100>	<64>		<40>	↓27
尿素窒素		<108>	↑114		<104>	<109>

Dunnett の検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01、Mann-Whitney の U-検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

20000 ppm 投与群の雌雄に総蛋白およびγ-GTP の高値ならびに AST の低値、雄にアルブミン、総コレステロールおよび尿素窒素の高値、雌に総ビリルビンおよびトリグリセリドの低値および蛋白分画のα₁-グロブリン比の高値が認められた。

2000 ppm 投与群の雄に総コレステロール、雌に総蛋白の高値および総ビリルビンの低値がみられた。

総ビリルビンおよび AST の低値を除く各変化は、肝機能に関連した項目であり、肝臓の絶対あるいは相対重量に高値がみられていること、20000 ppm 群の雌の肝臓に小葉周辺性脂肪化の発生率の増加がみられていることから、検体投与による肝機能への影響と考えられた。

一方、20000 ppm 投与群の雌雄にみられた AST の低値、2000 ppm 群の雌にみられた総ビリルビンの低値については、いずれも臨床的意義に乏しいことから、毒性的意義はないと考えられた。

200 ppm 投与群では雌雄とも検体投与の影響は認められなかった。

尿 検 査 ; 投与 13 週中に非絶食下で代謝ケージを用いて各群雌雄各 7 匹(浸漬固定例)から採取した 3 時間蓄尿を対象として以下の項目を検査し、21 時間蓄尿を対象として尿量および比重を測定した。

pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、尿沈渣
対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
比 重	1.021-1.030	0	0	0	0	2	0	0	1
	1.031-1.040	0	2	1	1	2	4	1	3
	1.041-1.050	0	3	5	1	2	2	5	2
	1.051 ≤	7	2	1	5	1	1	1	1
	統計処理結果		↓	↓	—		—	—	—
潜 血	—	6	3	5	5	2	6	6	7
	±	1	4	2	1	5	1	1	0
	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	1	0	0	0	0
	統計処理結果		—	—	—		—	—	↓

Mann-Whitney の U-検定 ↓↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、
— : 有意差なし

200 および 2000 ppm 投与群の雄で尿比重の有意な低下傾向がみられ、雌では有意な変化はみられなかった。この変化は、病理組織学的検査において、2000 ppm 以上の投与群の雄に近位尿細管上皮の硝子滴および好酸性小体の発現例数の有意な増加がみられ、また、20000 ppm 投与群の雄では尿素窒素の高値がみられていることから、検体投与による腎臓への影響と考えられた。しかし、200 ppm 投与群の雄の尿比重の低下傾向については、病理組織学的所見およびその他の項目の変化がみられていないことから、毒性学的意義に乏しいと考えられた。

20000 ppm 投与群では、雌に潜血陽性例の有意な減少がみられたが、この減少には臨床的意義はなかった。

眼科学的検査； 投与開始前の全供試動物および投与 13 週における対照群と高用量群の全動物について、眼科学的検査を実施した。個々の動物の両眼を散瞳させ、前眼部および中間透光体をスリットランプで観察し、同様に、眼底カメラを使用して両眼底を観察した。高用量群で異常がみられなかったため、低・中用量群については検査しなかった。

投与 13 週の検査で雌雄とも投与による影響は認められなかった。

臓器重量； 投与期間終了後に各群雌雄各 10 匹(浸漬固定例)を対象として以下の臓器重量(絶対重量)を測定し、最終体重を用いて相対重量を算出した。

脳、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体含む)、副腎、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、精巣、前立腺、卵巣

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		200	2000	20000	200	2000	20000
肝臓	絶対						↑119
	相対		↑110	↑117		↑109	↑128
腎臓	相対						↑113
脳	相対			↑110			

Dunnett の検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

* : 表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

2000 および 20000 ppm 投与群の雌雄に肝臓の相対重量の高値および 20000 ppm 投与群の雌に肝臓の絶対重量の高値がみられ、検体投与に関連した変化と考えられた。また、20000 ppm 投与群の雄で脳の相対重量および雌で腎臓の相対重量の高値もみられたが、いずれも病理組織学的所見を伴っていないことから、体重増加抑制に伴う統計上の変化であり、毒性学的意義はないと考えられた。

肉眼的病理検査；

灌流固定例…投与 94 日に、各群雌雄各 5 匹について、体外表を観察後、ペントバルビタールナトリウムの深麻酔下で心臓全身灌流固定を行った。外表検査以外は実施しなかった。

浸漬固定例…投与 91 日の翌日、灌流固定例以外の各群雌雄各 10 匹について、体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血致死させ、剖検した。

いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査；

灌流固定例…全灌流固定例を対象として、以下の組織について常法に従って病理標本作製し、対照群および最高用量群について鏡検した。末梢神経については、樹脂包埋後薄切し、トルイジン・ブルー染色標本も作製して検査した。脊髄および末梢神経の切片は、横断面と縦断面の両方を含めた。

前脳および海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経および網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大および腰膨大、脊髄神経節、神経線維の前根および後根、近位の坐骨神経、近位の脛骨神経（膝部）および脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋（腓腹筋）

浸漬固定例…全浸漬固定例を対象として、以下の組織について常法に従って病理標本を製作し、対照群および最高用量群について鏡検した。20000 ppm 投与群で影響がみられた肝臓および腎臓については低および中間用量群についても鏡検した。また対照群の雌雄各 2 匹、低および中用量群の雌各 1 匹、高用量群の雌 7 匹に対し、オイルレッド O 染色を施して中性脂肪の有無を検査した。

脳、下垂体、脊髄(頸部、胸部、腰部)、胸腺、甲状腺、上皮小体、脾臓、心臓、胸部大動脈、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板含む)、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(気管支含む)、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊(凝固腺含む)、卵巣、子宮(角部および頸部)、膈、眼球、ハーダー腺、乳腺(右腹部、雌のみ)、皮膚(腹部)、胸骨(骨髄含む)、大腿骨(骨髄含む、右)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、唾液腺、坐骨神経、骨格筋(外側広筋)

2000 ppm 以上の投与群の雄に腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴および好酸性小体の発現例数の有意な増加がみられ、20000 ppm 投与群の雄では重篤度の増強も認められた。また、20000 ppm 投与群の雌の肝臓に有意差はみられなかったが、小葉周辺性脂肪化の例数増加がみられ、これらの変化は検体投与による変化と考えられた。これらの所見を下表に示す。

その他、検体投与に起因すると考えられた所見は認められなかった。

灌流固定例を含む神経系の病理組織学的所見において、視神経を含む中枢神経および末梢神経系の神経組織に異常所見は認められなかった。

性別			雄				雌			
投与群 (ppm)			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
臓器	所見	程度								
肝臓	小葉周辺性脂肪化	軽度	2	0	0	0	2	1	1	7
腎臓	近位尿細管上皮の硝子滴	軽度	3	2	10	8	0	0	0	0
		中等度	0	0	0	2	0	0	0	0
		合計	3	2	↑10	↑10	0	0	0	0
	近位尿細管上皮の好酸性小体	軽度	3	2	10	8	0	0	0	0
		中等度	0	0	0	2	0	0	0	0
		合計	3	2	↑10	↑10	0	0	0	0

Mann-Whitney の U-検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

以上のことから、検体投与に関連した変化として、2000 ppm 投与群の雌雄に貧血傾向（赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の低値あるいは低値傾向）、肝臓の相対重量の高値がみられ、雄では尿比重の有意な低下傾向、近位尿細管上皮の硝子滴および好酸性小体の発現例数の高値および総コレステロールの高値、雌では総蛋白の高値が認められた。20000 ppm 投与群では、さらに雌雄に総蛋白および γ -GTPの高値、肝臓の絶対重量あるいは相対重量の高値がみられ、雄では体重変化および摂餌量の低値、尿素窒素、アルブミンの有意な高値、雌ではトリグリセリドの低値、蛋白分画に α_1 -グロブリン比の高値および雌の肝臓に小葉周辺性脂肪化の例数増加が認められた。

一方、神経系への影響は、いずれの投与群においても認められなかった。

従って、本試験条件下において、本剤のラットにおける飼料混入投与による90日間反復投与における無毒性量(NOEL)は、雌雄ともに200 ppm(雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日)と判断される。また、神経系への影響は認められなかったことから、神経毒性における無毒性量(NOEL)は、雄雌ともに20000 ppm(雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日)と判断される。

6) トリホリン原体のイヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-14)

試験機関：ハンブルグ薬学毒性学研究所（ドイツ）

報告書作成年：1971 年

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、投与開始時月齢；雄 9~10 ヶ月齢、雌 8~9 ヶ月齢
試験開始時体重範囲；雄 10.7~12.1 kg、雌 8.0~9.3 kg

投与期間：13 週間

投与方法：検体を 0、100、600 および 3500 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって毎日午前 8 時から 10 時の間に摂食させた。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死は毎日観察した。
投与に関連する一般症状および死亡は認められなかった。

体重変化；投与期間中、毎週 1 回体重を測定した。
いずれの投与群にも検体投与の影響はみられなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。
いずれの投与群にも検体投与の影響はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日)は以下の通りである。

投与量 (ppm)		100	600	3500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄			
	雌			

申請者の算出による。

飲水量；全動物について毎日観察した。
飲水量の変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前、投与後 4 週、8 週および 13 週目に全動物を対象として静脈より採血し、以下の項目を測定した。

ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数、白血球型別百分率、ヘマトクリット値、

血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間、血液凝固時間、血液沈降速度、赤血球抗浸透圧性

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別		雄*			雌*			雌雄合算		
投与量 (ppm)		100	600	3500	100	600	3500	100	600	3500
検査項目	測定週									
ヘモグロビン濃度	4						↓88			↓91
	8			↓↓84			↓88			↓86
	13			↓↓81			↓↓81			↓81
赤血球数	4			↓83			↓77			↓78
	8			↓↓71			↓78			↓74
	13			↓74			↓↓72			↓73
ヘマトクリット値	4									↓91
	8						↓88			↓89
	13						↓87			↓89
血小板	8				↑130					
血液沈降速度 (1時間値)	8						↑200			

Student の t 検定 ↑↓ : p<0.01

* : 雌雄別の統計検定(多重比較検定/Dunnnett 又は Steel : ↑↓ : p<0.05, ↑↑↓↓ : p<0.01) は申請者が実施した。

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

3500 ppm 投与群で投与 4 週以降にヘモグロビン濃度、赤血球数およびヘマトクリット値の低値(雌雄合算)が認められた。

[申請者註]

雌雄別に統計検定を実施した結果、雄の投与群でヘマトクリット値の変動は認められなかった。なお、投与 8 週検査時に雌の投与群で血小板、血液沈降速度で変動がみられたが、散発的であるため、検体投与による影響ではないと考えられた。

血液生化学的検査 ; 血液学的検査と同時に採取した血液から得られた試料について以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、蛋白分画 (セルロースアセテート膜電気泳動)、総コレステロール、グルコース、尿素窒素、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、総ビリルビン、総蛋白、尿酸、クレアチニン、炭酸ガス、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別		雄*			雌*			雌雄合算		
投与量 (ppm)		100	600	3500	100	600	3500	100	600	3500
検査項目	測定週									
総蛋白	4						↓↓91			↓94
	8						↓91			↓93
	13						↓90			↓91
アルブミン	4						↓92			
	8			↓91						↓90
	13			↓88						<91>
β-グロブリン	4						↓↓72			↓82
	8						↓87			
	13						↓75			
ALT	4			↓66						
尿素窒素	13						↑↑143			
ナトリウム	4		↓96							

Student の t 検定 ↑↓ : p<0.01

* : 雌雄別の統計検定(多重比較検定/Dunnnett 又は Steel : ↑↓ : p<0.05, ↑↑↓↓ : p<0.01)
は申請者が実施した。

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示。

3500 ppm 投与群の投与 4 週以降の検査において、雌雄合算で、総蛋白の低値がみられ、アルブミン画分の低値が 8 週時にみられ、有意ではないが 13 週にも低値が認められ、さらに 4 週時に β-グロブリン画分の低値も認められた。A/G 比に影響はみられなかった。

その他の項目はいずれも有意差は認められなかった。

[申請者註]

雌雄別に統計検定を実施した結果、3500 ppm 投与群において、雄では投与 8 週検査時よりアルブミン画分の低値がみられ、雌では投与 4 週検査時より総蛋白の低値、β-グロブリン画分の低値が認められた。

なお、ALT、尿素窒素およびナトリウムの変動も散見されたが、用量反応性もないため、検体投与による影響ではなかった。

尿検査：血液検査と同一時期に全動物を対象として、以下の項目を検査した。動物には 50 mL/kg の割合で水を強制経口投与し、1 時間後に尿カテーテルを用いて採尿し、剖検時は穿刺により採尿した。なお、統計解析は雌雄の値を統合して行った。

色調、比重、pH、蛋白、グルコース、ヘモグロビン、ビリルビン、ケトン体、尿沈渣

いずれの検査時期においても検体投与の影響は認められなかった。

眼、聴覚および歯牙検査；血液学的検査と同一時期に全動物を対象として検査した。なお、眼は検眼鏡を用いて検査し、聴覚は簡易騒音試験法でチェックし、歯は目視検査した。

検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

臓器重量；投与期間終了時の全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比（相対重量）を算出して比較した。なお、統計解析は雌雄の値を統合して行った。

心臓、肝臓、肺、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、精巣、卵巣、甲状腺、脳

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別		雄*			雌*			雌雄合算		
投与量 (ppm)		100	600	3500	100	600	3500	100	600	3500
脾臓	相対									↑141

Student の t 検定 ↑↓ : p≤0.01

* : 雌雄別の統計検定(多重比較検定/Dunnnett 又は Steel)を申請者が実施したが、有意差は認められなかった。

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

3500 ppm 投与群で脾臓相対重量の高値(雌雄合算)が認められた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、肝臓、脾臓、腎臓および骨髄の病理標本作製し、ベルリンブルー染色を施して鏡検した。

600 ppm 以上の投与群で肝臓のクッパー細胞、脾臓の洞細胞および骨髄のヘモジリン沈着の発生頻度あるいは程度の増加が認められた。これらの所見を下表に示す。

性別			雄				雌			
投与群 (ppm)			0	100	600	3500	0	100	600	3500
臓器	所見	程度								
肝臓 (クッパー細胞)	ヘモジデリン沈着	(+)	0	2	4	0	0	0	3	0
		+	0	0	0	0	0	0	1	0
		+ / ++	0	0	0	2	0	0	0	3
		++	0	0	0	2	0	0	0	1
脾臓	ヘモジデリン沈着	(+)	4	2	0	0	4	4	0	0
		+	0	2	2	2	0	0	4	0
		+ / ++	0	0	1	2	0	0	0	3
		++	0	0	0	0	0	0	0	1
		+++	0	0	1	0	0	0	0	0
骨髄	ヘモジデリン沈着	(+)	0	0	4	0	0	4	0	
		+	0	0	0	4	0	0	0	

程度：0；異常なし、(+)；有意性のない変化、+；弱い変化、++；強い変化、+++；非常に強い変化
 申請者注：統計検定は申請者が実施した。

* $P < 0.05$ Wilcoxon 検定

以上の結果から、本剤のイヌに対する飼料混入投与による 13 週間反復経口投与毒性試験における影響として、600 ppm 以上の投与群に肝臓、脾臓および骨髄のヘモジデリン沈着が認められ、さらに 3500 ppm 投与群に赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値(雌、雌雄合算)の低値、血液生化学的検査で総蛋白(雌、雌雄合算)、アルブミン(雄)およびβ-グロブリン(雌)の低値、脾臓重量の高値(雌雄合算)がみられたため、無毒性量(NOEL)は、雌雄とも 100 ppm(雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日)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全農グリーンリソース株式会社にある

7) トリホリン原体のマウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-15)

試験機関： Inveresk Research International Ltd. (英国)

報告書作成年： 1989 年[GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： CD-1 系マウス、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時週齢；雌雄約 5 週齢、
試験開始時体重範囲；雄 23~28 g、雌 19~23 g

投与期間： 13 週間 (1989 年 2 月 10 日~5 月 12 日)

投与方法： 検体を 0 および 7000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は試験開始後 5 週までは毎週、それ以降は 2 週間毎に調製した。

用量設定根拠； EPA ガイドラインの限度濃度である 1000 mg/kg に相当する 7000 ppm を最大耐用量とした。本試験は RCC で実施した 4 週間反復経口投与毒性試験の結果を検証し、次の発がん性試験のための用量設定を行うために実施された。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率； 生死は 1 日 2 回、全動物の投与に対する反応は毎日観察し、詳細な状態観察は週 1 回行った。

投与期間中に途中死亡、投与に起因した一般症状の変化は認められなかった。

体重変化； 全動物の個々の体重を投与開始前および投与期間中は週 1 回測定した。

7000 ppm 群の雌の全期間における体重増加量が対照群より 25%減少したが、有意差は認められず、これは最終週のみ体重減少に起因するものであり、偶発的変化と考えられた。雄では変化は認められなかった。

摂餌量； 全動物の個々の摂餌量を投与開始前および投与期間中は週 1 回ケージ毎に測定した。検体投与の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 (mg/kg/日)は以下の通りである。

投与量		7000 ppm
検体摂取量 (mg/kg/日) ; 平均 (範囲)	雄	
	雌	

飲水量; 飲水量の変化を目視により毎日観察した。

検体投与の影響は認められなかった。

血液学的検査; 投与後 13 週中に全動物を対象として、エーテル軽麻酔下で眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、赤血球恒数; 平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別	雄	雌
投与量 (ppm)	7000	7000
ヘモグロビン濃度	↓94	▼92
赤血球数	↓94	▼93
ヘマトクリット値	↓95	↓94
MCHC	↓98	

ANOVA の検定 ↓: p<0.05、↑↓: p<0.01、▲▼: p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

7000 ppm 群の雌雄にヘモグロビン濃度、赤血球数およびヘマトクリット値の有意な減少がみられ、雄ではさらに MCHC の有意な減少もみられた。

臓器重量; 投与期間終了後に全動物を対象として以下の臓器重量(絶対重量)を測定し、体重を条件とした共分散分析も行った。

心臓、卵巣、腎臓、脾臓、肝臓、精巣 (精巣上体を含む)、肺

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別		雄	雌
投与量 (ppm)		7000	7000
肝臓	絶対重量	↑117	<110>
	体重補正*	↑117	↑113
	相対重量**	↑117	↑114
卵巣	体重補正*		↓64
	相対重量**		<70>
脾臓	絶対重量	↑138	↑156
	体重補正*	↑140	↑156
	相対重量**	↑140	↑152

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

* : 臓器重量と体重を考慮した共分散分析の結果を示す。

** : 申請者が相対重量を算出し、ANOVA 検定を実施した。

7000 ppm 群の雌雄に肝臓および脾臓の絶対重量あるいは体重補正重量の有意な高値がみられ、雌では卵巣の体重補正重量で低値もみられた。

[申請者註]

雌の卵巣の体重補正した重量で低値がみられたが、相対重量では有意な変動ではなく、マウスを用いて実施した 105 週間発がん性試験 (資料 No.T-23) においても影響がなかったため、当該変化は、特段有害なものではないと考えられた。

肉眼的病理検査 ; 試験終了時、全動物を二酸化炭素で窒息・放血殺し、剖検した。

検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する飼料混入投与による 13 週間反復経口投与毒性試験における影響として、7000 ppm 群の雌雄に赤血球関連項目 (雌雄では赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の低値、雄では MCHC の低値) のわずかな変化および脾臓ならびに肝臓重量の増加が認められたが、その他の毒性影響はみられなかった。

従って、本試験条件下において、本剤の無毒性量 (NOAEL) は 7000 ppm (雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日) 未満と判断される。

(7) 21 日間反復経皮投与毒性試験

トリホリン原体のラットを用いた 21 日間反復経皮投与毒性試験

(資料 No. T-16)

試験機関：Sittingbourne Research Centre (英国)

報告書作成年：1992 年[GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Fischer 344 系ラット、1 群雌雄各 7 匹、投与開始時週齢；雌雄約 5 週齢、

試験開始時体重範囲；雄 245.6～290.4 g、雌 159.7～189.1 g

投与期間： 21 日間（雄 1991 年 8 月 8 日～8 月 29 日、雌 1991 年 8 月 9 日～8 月 30 日）

投与方法： 検体をコーン油に設定濃度で懸濁し、剪毛した背部皮膚に 3.0 mL/kg の用量で直接塗布し、5 cm × 6 cm のガーゼパッチおよび包帯で覆って 1 日 6 時間、週 5 日の頻度で 3 週間にわたり曝露した。投与物質は週 1 回調製した。

用量設定根拠；雌雄各 2 匹のラットを用い 0、350、1000 および 1500 mg/kg の濃度を週 5 日で 10 日間投与した予備試験の結果、1000 および 1500 mg/kg 投与群で僅かな肝臓重量の増加および盲腸の腫大が認められた。従って、本試験の投与量を 0、110、350 および 1100 mg/kg とした。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；塗布部位皮膚の観察を含む一般状態観察および動物の生死は、週末および休日は 1 日 1 回、それ以外は 1 日 2 回観察した。

投与期間中に途中死亡、投与に起因した一般症状および塗布部位皮膚の刺激性変化は認められなかった。

体重変化；投与開始日、投与期間中は毎週 1 回および剖検時に全動物の体重を測定した。

対照群を含む各群の測定値は次表に示した。

性別	雄				雌			
	0	110	350	1100	0	110	350	1100
投与量 (mg/kg)	0	110	350	1100	0	110	350	1100
投与前	272.5	268.6	265.3	269.6	167.5	170.9	173.9	167.5
1 週	256.0	254.1	248.0	257.2	152.7	↑161.1	↑163.4	↑160.3
2 週	252.1	249.8	241.9	257.6	154.0	160.1	↑164.8	↑163.7
3 週	244.3	244.0	237.0	251.3	152.1	158.4	↑162.9	↑165.0

Williams 検定 ↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01
表中の数字は実際の平均測定値(g)を示す。

投与1週時に、対照群を含む全群において、包帯のストレスと思われる体重減少がみられ、特に雌の対照群の体重減少が顕著であった。そのため、投与1週時110 mg/kg以上の投与群の雌、投与2、3週時350 mg/kg以上の投与群の雌において、対照群と比較して有意な体重の高値が認められた。しかしながら、これらの変化は、検体投与に関連した影響ではないと考えられた。なお、雄においては、有意な変化は認められなかった。

摂餌量； 摂餌量を週1回測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた測定週を次表に示す。

性別	雄			雌		
	110	350	1100	110	350	1100
投与量 (mg/kg)						
3週			↑115			

Williams 検定 ↑↓ : p≤0.05

表中の数字は対照群を100とした場合の値を示す

1100 mg/kg 投与群の雄で第3週の摂餌量が有意に増加したが、偶発的と考えられた。

[申請者註]雄1100 mg/kg 投与群でみられた摂餌量の高値は、3週時の対照群の雄の摂餌量が著しく減少したことに起因する変化であり、検体投与によるものではないと考えられた。

血液学的検査； 剖検時に絶食させた全動物を対象として、心穿刺により採血し、以下の項目を測定した。

赤血球、白血球、血小板数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均血小板容積 (MPV)、赤血球容積分布幅、血小板クリット値 (PCT)、血小板分布幅 (PDW)、白血球型別百分率、赤血球形態学、網状赤血球数

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg)		110	350	1100	110	350	1100
MCV					↓99		
血小板数							↑111
PDW			↓95				
MPV			↓96				↓99
PCT							↑109
好酸球数	相対			↑1600			<275>
	絶対			↑-			
赤血球形態学	正赤芽球						↑-

Williams 検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01、Dunnett 検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01
 表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。- : 値が"0"の場合を示す。
 <>内の数値 : 統計学的有意差はないが参考値として示す。

血液学的検査において、検体投与の影響はみられなかった。

1100 mg/kg 投与群の雌において、血小板数および血小板クリット値 (PCT) の高値が認められたが、下表のとおり、当該測定値は、背景値の範囲内であったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

項目	雌 1100 mg/kg 群 平均測定値	背景値 (9 試験 : 平均値±SD)
血小板数 (10 ⁹ /L)	801	777.3±35.9
血小板クリット値(%)	0.639	0.616±0.038

また、同群の雌雄にみられた好酸球数の高値 (雄のみ有意な変化) は、関連する病理学的変化がないことから、検体の毒性的影響とは考えられなかった。

[申請者註] 1100 mg/kg 投与群の雌で正赤芽球の有意な増加が認められたが、赤血球数への影響がみられなかったことから、検体投与による影響とは考えなかった。

血液生化学的検査 ; 血液学的検査と同時に採取した血液から得られた試料 (あるいは血清および血漿) を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、A/G 比、尿素窒素、グルコース、Ca、Na、K、Cl、無機リン、コレステロール、トリグリセリド、ビリルビン、クレアチニン、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)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミントランスペプチダーゼ (γ-GTP)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
	110	350	1100	110	350	1100
投与量 (mg/kg)						
総蛋白			↑106			
アルブミン			↑104			
ALP		↓85	↓79			↓75
ナトリウム					↓99	↓99
ビリルビン					↑127	↑113
コレステロール					↑113	↑122
トリグリセリド					↑131	↑140

Williams 検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

1100 mg/kg 投与群の雄において、総蛋白およびアルブミンの高値、350 mg/kg 以上の投与群の雌においてビリルビンの高値、コレステロールの高値、トリグリセリドの高値およびナトリウムの低値が認められた。また、アルカリホスファターゼ活性 (ALP) の低値が 350 mg/kg 以上の雄および 1100 mg/kg 投与群の雌でみられた。しかしながら、それらの変動は僅かであり、病理組織学的検査では影響が認められなかったことから、当該変動は有害な影響ではないと考えられた。

[申請者註]報告書においては、血液生化学的パラメーターの変動は僅かであり、肝臓の病理組織学的検査では影響がなかったことから、検体投与による有害な影響ではないと考察されているが、1100 mg/kg 投与群の雄における総蛋白、アルブミンの高値、350 mg/kg 以上の投与群の雌におけるコレステロールの高値は、その他の 90 日間反復経口投与毒性試験あるいは反復経口投与毒性/発がん性併合試験においても観察された変動であることから、検体投与による影響と考えられた。ビリルビンの高値、トリグリセリドの高値およびナトリウムの低値は、その他の 90 日間反復経口投与毒性試験でも観察されていないことから、有害な影響ではないと考えられた。なお、アルカリホスファターゼ活性 (ALP) の変動については、高値ではなく、低値であることから有害なものとは考えなかった。

臓器重量； 投与期間終了後に、全動物を対象として以下の臓器重量(絶対および相対重量)を測定した。

最終体重、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg)		110	350	1100	110	350	1100
最終体重					<105>	↑108	↑108
脾臓	絶対				↑111	↑119	↑114
	相対				<108>	↑116	↑111
肝臓	絶対			↑113	↑109	↑117	↑121
	相対			↑112	↑104	↑109	↑113
副腎	絶対			↑114			
	相対			↑116		↓79	↓81

Williams 検定 ↓↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

全投与群において、検体投与による有害な影響は認められなかった。

1100 mg/kg 投与群の雄において、肝臓および副腎の絶対、相対重量の高値が認められ、110 mg/kg 以上の投与群の雌において、肝臓の絶対および相対重量、脾臓の絶対重量の高値、350 mg/kg 以上の投与群の雌で脾臓の相対重量の高値がそれぞれ観察された。なお、350 mg/kg 以上の投与群の雌で副腎の相対重量の低値がみられた。

肝臓および脾臓重量の変化は、病理組織学的変化がみられなかったことから、対照群の雌の体重増加量の減少および適応反応によると考えられ、検体投与による有害な影響ではないと考えられた。また、副腎重量の変化については、雌雄で異なる反応がみられたこと、雌では中間用量群で最も強くみられたことから、投与によるものではないと考えられた。

[申請者註]

1. 肝臓重量の高値について

1100 mg/kg 投与群の雄で総蛋白、アルブミンの高値、350 mg/kg 以上の投与群の雌でコレステロールの高値がみられたことから、同投与群での肝臓重量の高値は検体投与による影響と考えられた。

110 および 350 mg/kg 投与群の雄、110 mg/kg 投与群の雌では、その他の検査で特記すべき変化がみられなかったことから、同投与群の肝臓重量の高値は、検体投与による有害な影響ではないと考えられた。

2. 脾臓重量の高値について

110 mg/kg 以上の投与群の雌で脾臓重量の高値がみられたが、血液学的検査および病理組織学的検査では特記すべき変化がみられなかったことから、検体投与による有害な影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査； 途中死亡、切迫屠殺および投与期間終了時の全生存動物について剖検を行った。21日間の投与終了後に全動物をペントバルビタールの腹腔内注射により屠殺し、剖検を行った。

適用皮膚部位を含めて検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査； 全動物を対象として、以下の組織について常法に従って病理標本を作製し、対照群および最高用量群について鏡検した。

副腎、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣、適用皮膚部位、無処置皮膚(背部)、肉眼的病変部位

検体投与に起因すると判断される所見は認められなかった(統計検定：Fisherの正確検定による)。

以上の結果から、本剤のラットにおける経皮投与による21日間反復投与毒性試験において雌雄ともいずれの投与群にも毒性影響は認められなかったことから、無毒性量(NOEL)は雌雄とも1100 mg/kgと判断される。

[申請者註] 無毒性量について

1100 mg/kg 投与群の雄で認められた総蛋白、アルブミンの高値、肝臓重量(絶対、相対)の高値は、検体投与による影響と考え、雄の無毒性量は350 mg/kgと考えた。

350 mg/kg 以上の投与群の雌で認められたコレステロールの高値、肝臓重量(絶対、相対)の高値は、検体投与による影響と考え、雌の無毒性量は110 mg/kgと考えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

(8)90日間反復吸入投与毒性

(資料 No. T-17)

試験省略

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

(9) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性

(資料 No. T-18)

試験省略

試験省略理由: 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。

(10) 慢性毒性および発がん性

1) トリホリン原体のイヌを用いた飼料混入投与による 104 週間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-19)

試験機関：ミュンヘン大学、CH ベーリンガー研究所（ドイツ）

Inveresk Research International Ltd.（英国）

報告書作成年：1974 年、1994 年* [GLP 下で改訂]

*：本試験は、ミュンヘン大学および CH ベーリンガー研究所で実施され、1974 年に報告書が発行されたが、米国 EPA あるいは JMPR における再評価に際し、当該試験の病理検査を中心に見直しが Inveresk Research International Ltd.（英国）にて行われ、1994 年に GLP 下で報告書改訂が行われた。

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、投与開始時月齢；雌雄約 10 月齢、

試験開始時体重；雄約 14 kg、雌約 11 kg

投与期間：104 週間（1971 年 8 月 26 日～1973 年 8 月 28 日）

投与方法：検体を 0、10、40、100 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、1 日当り 200 g を牛肉 100 g と一緒に 104 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週 1 回調製した。対照群には基礎飼料のみを与えた。

用量設定根拠；同系のビーグル犬を用いて実施した 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 No. T-14）の結果から選択した。同試験で、100、600 および 3500 ppm を混餌経口投与した結果、600 ppm 以上の投与群で肝臓/クッパー細胞、脾臓/洞細胞および骨髄にヘモジデリン沈着および 3500 ppm 投与群で赤血球数(雌雄)、ヘモグロビン濃度(雌雄)およびヘマトクリット値(雌)の低値、総蛋白(雌)、アルブミン(雄)、グロブリン(雌)の低値、脾臓の相対重量(雌雄合算)の高値がみられ、無影響量 (NOEL) は 100 ppm と判断された。従って、本試験では 0、10、40、100 および 1000 ppm の濃度を選択した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；動物の生死を 1 日 2 回および一般状態を毎日観察した。

投与期間中に対照群を含む全群に水様便、嘔吐および発情が認められたが、投与に起因した一般症状は認められなかった。

100 ppm 投与群の雄 1 例が 225 日目に死亡したが、病理診断の結果、急性肺炎と判

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

断され、検体投与による影響ではないと考えられた。

体重変化； 全生存動物の個々の体重を毎週 1 回測定した。

検体投与に関連した影響は認められなかった。

摂餌量； 各動物の摂餌量を毎日測定した。給餌量は、1 日当たり 300 g (検体混入飼料 200 g+乾燥牛肉 100 g) とし、残量を測定して摂餌量を算出し、さらに 1 週間間隔で群平均摂餌量を算出した。

検体投与の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 (mg/kg/日)は以下の通りである。

投与量 (ppm)		10	40	100	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.23	0.93	2.39	22.50
	雌	0.25	0.99	2.56	23.60
雌雄平均		0.24	0.96	2.48	23.05

血液学的検査； 投与開始前、投与 6、13、26、52、78 および 104 週時に全生存動物から採血し、以下の項目について検査した。なお、最終剖検時に全生存動物を対象に骨髓塗末標本作製し、検査した。

ヘモグロビン濃度、赤血球数、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、網状赤血球数、総白血球数、白血球型別百分率、血小板数、プロトロンビン時間 (PT)、赤血球沈降速度、浸透抵抗性、担鉄赤血球数

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		10	40	100	1000	10	40	100	1000
検査項目	測定週								
血液学的検査									
PT	6	↓95		↓89					
	52						↑114	↑113	↑110
	78			↓87	↓87				
MCV	13				↑112				
	26								↑103
MCHC	13				↓91	↓92	↓93	↓91	↓89
	52		↑104						
網状赤血球数	13	↑175	↑150		▲200				
	52							↑175	
担鉄赤血球数	13			↓25					
	104							↓-	
白血球 型別 百分率	好中球	6					↓75	↓70	↓71
		78					↓62	↓66	↓59
	リンパ球	78				▲226	▲247	<125>	↑201
		104		↑139		↑139			
骨髓塗沫標本検査 (104 週)									
リンパ球数		↑119			↑116				
網状赤血球数						↑128			↑119
総赤血球数									▲138
骨髓球/赤血球比									▼53
骨髓球 (好中球性)			↓81		↓78		↓77	↓74	↓72
後骨髓球 (好中球性)					↑130				
杆状球 (好酸球性)			↑120	↑120					
総顆粒球数									↓77

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

- : 値が"0"の場合を示す。

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示

試験 6 週時に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値および赤血球関連細胞の低値傾向がみられたが、いずれも有意差は認められなかった。

試験 13 週時には 1000 ppm 投与群の雄で統計学的に有意な平均赤血球容積 (MCV) の高値および平均赤血球血色素濃度 (MCHC) の低値がみられ、更に 10、40 および 1000 ppm 投与群の雄で網状赤血球数の高値も認められた。また、試験 13 週時における全投与群の雌で平均赤血球血色素濃度 (MCHC) の低値がみられたが、

それ以降の検査では変動は認められなかった。

その他の検査項目に統計学的に有意な変動が散見されたが、検体投与に関連する所見ではないと判断された。

試験終了時の骨髄検査では、雌 1000 ppm 投与群で赤血球産生増加傾向を示唆する骨髄球/赤血球比の低値がみられ、同投与群の個体別データをみると雄 2 例および雌 3 例で顕著であった。そのうち、雌 1 例は造血性有糸分裂像の増加も観察された。

[申請者註]

13 週時 10、40 および 100 ppm 投与群の雌で認められた平均赤血球血色素濃度 (MCHC) の低値は、その他貧血を示唆するパラメータの変動がなかったことから、有害な影響ではないと考えられた。

骨髄検査において、種々の顆粒球の変化が散見されたが、一貫性のない変化と考えられ、検体投与に関連した所見ではないと思われた。

血液生化学的検査；血液学的検査と同時に採取した血液から得られた試料を用い、以下の項目の測定を行った。なお、蛋白分画には電気泳動法を用いた。

尿素窒素、グルコース、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、ナトリウム、カリウム、カルシウム、二酸化炭素、塩素、クレアチニン、鉄、コレステロール、アルカリホスファターゼ (ALP)、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G 比 (計算値)、 α 1-グロブリン、 α 2-グロブリン、 β -グロブリン、 γ -グロブリン

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		10	40	100	1000	10	40	100	1000
検査項目	測定週								
コレステロール	6						↑136		
クレアチニン	6				▲971				
	13	↑136	↑129	↑140			↑140		
	52						↑116	↑114	
ナトリウム	6		↑103	↑103					
	13		▼97						
	104				↓98				
カルシウム	6				↑104			↑105	↑106
	52	↓92		↓90					
塩素	6							↑103	↑103
	13				↓97				
	26						↓98	↑102	
二酸化炭素	6				↑110				
	13				↑117				
	52		↑114						↑109
グルコース	13				↓88				
	26						↑114		
総ビリルビン	13			↑160	↑160		▲160	↑140	▲180
	26	↑129			▲143				
	104				▲160		↑120	↑120	▲140
ALP	104				↑179				
アルブミン	26					▲122	▲119		↑109
アルブミン (%)	13		↓91		↓95				
	26			↑111		▲118	▲118	↑112	↑111
グロブリン	26			↓88		↓81	↓84	↓88	↓91
グロブリン (%)	13		↑109		↑105				
	26			↓90		▼82	▼82	↓88	↓89
A/G 比	13	↓92	▼85		↓91				
	26			↑123		▲144	▲144	↑126	↑123
α1-グロブリン	26		▼46	▼55	▼61	▼49	▼48	▼55	▼62
β-グロブリン	13	↑110	↑112						
	26	↑109			↑110				

ANOVA の検定 ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001
 表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

検体投与と考えられる有害な影響は認められなかった。

[申請者註]

報告書では、血液生化学的検査結果について、検体投与と考えられる有害な影響は認められなかったと考察しているが、各検査結果については、以下のように考えられる。

1. 総ビリルビンの高値について、

1000 ppm 投与群において、雄 13、26、104 週時、雌 13、104 週時に総ビリルビンの高値が認められた。同群の病理組織学的検査において、クッパー細胞にヘモジデリン沈着の程度の増加および赤血球産生亢進など関連する所見がみられていることから、検体投与に関連する変化と考えられた。

総ビリルビンの高値については、100 ppm 投与群の雄、40、100 ppm 投与群の雌でも観察されたが、軽微な変化であり、100 ppm 以下の投与群での病理組織学的検査では関連する顕著な異常所見がみられなかったことから、有害な変化ではないと考えられた。

2. ALP の高値について

1000 ppm 投与群の雄の 104 週時に ALP の高値が認められた。本剤は肝臓への影響が考えられることから、当該変化は検体投与による影響と考えられた。

3. その他の変動については、一過性であるか、一貫性のないものであったため、検体投与による有害な影響ではないと考えられた。

尿検査；血液学的検査と同時期に、全ての動物を対象として個体別ケージで 24 時間蓄尿試料について以下の項目を検査した。

pH、比重、蛋白、グルコース、アセトン、ビリルビン、尿沈渣（上皮細胞、白血球、赤血球、微生物(虫卵、細菌)、円柱、無機物質)

いずれの検査時および検査項目においても、検体投与に関連する変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与 13、26、52、78 および 104 週に全生存動物の散瞳させた両眼の眼底を対象に眼底カメラを用いて検査した。

検体投与に関連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全農グリーンリソース株式会社にある

少数例に網膜の褪色あるいは出血ならびに角膜炎が観察されたが、それぞれ 1 例のみの変化であり、検体投与に関連する変化ではないと考えられた。

臓器重量； 投与期間終了後、全生存動物を対象として以下の臓器重量(絶対および相対重量)を測定した。

副腎、卵巣、甲状腺、下垂体、脳、心臓、腎臓、肺、脾臓、前立腺、精巣(精巣上体を含む)、肝臓

いずれの投与群においても、対照群と比較して統計学的に有意な臓器重量の変化は認められなかった。

肉眼的病理検査； 途中死亡および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

投与終了後に全生存動物をペントバルビタール ナトリウムの静脈内投与による深麻酔下で放血致死させ、剖検を行った。

対照群を含む全群のいずれの動物にも検体投与による肉眼的異常はみられなかった。

病理組織学的検査； 全動物を対象として、以下の組織について常法に従って病理標本を作製し、鏡検した。心臓は Von GIESON 法(筋線維の染色)により染色し、更に心臓、肝臓、腎臓および副腎については凍結切片を作製して脂肪染色(fat red 7b)を行い、また、心臓、肺、肝臓、腎臓および脾臓については鉄染色(ベルリンブルー染色)を施した。

副腎、卵巣、甲状腺、下垂体、脳、心臓、腎臓、肺、脾臓、前立腺、精巣(精巣上体を含む)、肝臓、脊髄(頸部、腰部)、骨格筋、唾液腺、膀胱、舌、大動脈弓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、胸腺、胆嚢、直腸、結腸、リンパ節(頸部、腸間膜)、皮膚および乳腺、気管、食道、胃(噴門部、幽門部)、骨髄、末梢神経、膵臓、脳(前頭葉、脳幹、橋、小脳、延髄、視神経交叉)

1000 ppm 投与群において、肝臓のクッパー細胞にヘモジデリン沈着の増加がみられ、骨髄では 1000 ppm 投与群の雌にヘモジデリン沈着がみられた。

これらの所見を下表に示す。

その他検体投与に関連する所見は認められなかった。

肝臓および骨髄のヘモジデリン沈着所見の発生頻度

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	10	40	100	1000	0	10	40	100	1000
臓器	程度										
肝臓 (クッパー細胞)	検査動物数	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4
	0	3	0	0	1	0	0	0	0	2	0
	+	1	2*	2*	1	1*	0	3	2	1	0
	++	0	2	0	0	2	3	1	2	1	1
	+++	0	0	2	0	1	1	0	0	0	3
骨髄	検査動物数	4	4	3	3	4	4	4	4	3	4
	0	0	0	1	0	1	2	1	2	0	0
	+	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1
	++	2	3	0	1	2	0	1	0	1	2
	+++	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

所見の程度：0；変化なし、+；軽度、++；中等度、+++；重度

* P<0.05 Wilcoxon 順位和検定（両側）

統計検定は申請者が実施した。

[申請者註]

肝臓および骨髄のヘモジデリン沈着所見の発生頻度について、統計検定(Wilcoxon 順位和検定/両側)を実施した。その結果、10、40 ppm および 1000 ppm 投与群の雄において、肝臓のヘモジデリン沈着の発現頻度に有意差が認められた。

雄 10、40 ppm 投与群での有意差については、100 ppm 投与群では影響が認められず、用量反応性がないことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

なお、骨髄のヘモジデリン沈着については、雌雄とも発現頻度に統計的に有意な差はなかったことから、有害な影響ではないと考えられた。

以上の結果から、本剤のイヌに対する飼料混入投与による 104 週間反復経口投与毒性試験における影響として、1000 ppm 投与群の肝臓のクッパー細胞にヘモジデリン沈着の増加(雄)がみられ、骨髄でもヘモジデリン沈着がみられ、血液に対する影響から軽度の赤血球産生亢進が生じたものと考えられた。従って、本試験における無毒性量 (NOAEL) は 100 ppm(雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日)と考えられる。

3) トリホリン原体のラットを用いた混餌投与による反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 No. T-20)

試験機関： ヨハネス・グーテンベルグ大学 (ドイツ)

報告書作成年： 1974 年

検体の純度：

供試動物： Chbb:THOM 系ラット、対照群および 3125 ppm 群は雌雄各 50 匹、25、125 および 625 ppm 群は雌雄各 35 匹、投与開始時週齢；雌雄 8 週齢、試験開始時平均体重；雄約 210 g、雌約 165 g

投与期間： 104 週間 (1971 年 10 月 4 日～1973 年 10 月 5 日)

投与方法： 検体を 0、25、125、625 および 3125 ppm の濃度で飼料に混入し、104 週間ラットに自由摂取させた。なお、対照群には基礎飼料のみを与えた。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率； 一般状態および生死を毎日観察した。
検体投与に関連した一般症状は認められなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	25	125	625	3125
死亡率 (%)	雄	28.0	14.3	22.9	17.1	16.0
	雌	14.0	22.9	25.7	48.6	30.0

Wilcoxon 検定

死亡率において、検体投与による影響は認められなかった。

625 ppm 投与群の雌の死亡率がやや高値を示したが、偶発的であり、検体投与によるものではないと考えられた。

体重変化； 全生存動物の体重を投与開始から 26 週までは毎週 1 回測定し、それ以降は 2 週間に 1 回測定した。

検体投与に関連した体重増加抑制は認められなかった。

摂餌量； 全生存動物の摂餌量を週 1 回測定した。

各群間に差はなく、検体投与に関連した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 (mg/kg/日)は以下の通りである。

投与量 (ppm)		25	125	625	3125
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄				
	雌				

飲水量； 投与 51 週および 104 週時に飲水量を測定した。

各群間に差はみられず、投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査； 投与開始前、投与開始後 6、13、26、52、78 および 104 週時に、対照群からは雌雄各 20 匹、各投与群からは雌雄各 15 匹を対象に、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を検査した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、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)、網状赤血球数、血小板数、血液凝固時間、白血球数、白血球型別百分率

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		25	125	625	3125	25	125	625	3125
検査項目	測定週								
赤血球数	6				↓91				
	52							↓97	↓94
ヘマトクリット値	52	↓96						↓96	↓95
	78								↓94
	104				↓95				
ヘモグロビン濃度	6				↓94				
	13							↓96	
	26								↓97
	52								↓97
	78				↓96				↓94
MCV	6		↑102		↑106				
MCH	13								↑103
	26			↑103					↓96
	52						↑102	↑102	↑102

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		25	125	625	3125	25	125	625	3125
検査項目	測定週								
MCHC	6						↑102		
	52						↑103	↑103	
	78		↓97	↓97	↓98				
網状赤血球数	6	↑116	↑114	↑132	↑140	↑114	↑112	↑114	↑129
	13					↑116	↑130	↑122	↑120
	26				↑110			↑118	↑133
	52		↑112		↑122				
	78		↑121						
血小板数	78	↓90							
血液凝固時間	6	↓77	↓84	↑129	↑127	↑122		↑170	↑153
	13	↓81	↓94	↓87	↓82	↓88	↓84	↓93	↓84
	26		↓82	↓85	↓88			↓86	↓82
	52				↑122				
	78				↓91				↑109
白血球数	6					↓69	↓72	↓74	↓72
	13	↓77						↓71	
	26		↑122	↑122					
	52						↓72	↓75	
	78						↓63		

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001
 表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

投与 6 および 52 週時の 3125 ppm 投与群の雌雄において赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の低値が認められ、同時期の同群雌雄に網状赤血球の高値が認められた。90 日間反復経口投与毒性試験（資料 No.T-09）において貧血傾向が認められていることから検体投与の影響と考えられた。その他、統計学的有意差が散見された項目もあったが、いずれも検体投与に関連した生物学意義のある変化とは考えられなかった。

[申請者註]

3125 ppm 投与群の雌雄で一過性の貧血が認められた。すなわち、同群において、赤血球数の低値(雄：6 週時、雌：52 週時)、ヘマトクリット値の低値(雄：104 週時、雌：52、78 週時)、ヘモグロビン濃度の低値(雄：6、78 週時、雌：26、52、78 週時)が観察されたが、雄のヘマトクリット値の低値を除き、104 週時の検査では影響がみられなかったことから、軽度な影響であると考えられた。625 ppm 投与群の雌においても、赤血球数の低値(52 週時)、ヘマトクリット値の低値(52 週時)あるいはヘモグロビン濃度の低値(13 週時)が

散見されたが、78週、104週時の検査では影響がなく、軽微な変化であり、病理組織学的検査でも特記すべき所見は観察されなかったことから、同投与群での変化は有害な影響と考えなかった。また、一過性の貧血発現に関連して、ほぼ同時期に網状赤血球数の高値が、25 ppm以上の投与群の雌雄で観察されたが、雄104週時、雌52週時以降の検査では影響が認められず、回復性の変化であった。

全投与群の雄で単球の絶対および相対数の有意な低値が認められたが、1992年に実施した1年間反復投与毒性/発がん性併合試験(資料 No.T-21)において認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

なお、その他、いくつかの測定項目で変動は認められたが、散発的あるいは一貫性のない変動であることから、検体投与による影響ではないと考えられた。

血液学的検査(続) - 白血球型別百分率

性別		雄				雌				
投与量 (ppm)		25	125	625	3125	25	125	625	3125	
検査項目	測定週									
分葉核球	絶対	6				↓66			↓57	
		13						↓62		
リンパ球	絶対	6				↓70	↓70	↓75	↓74	
		13			↓77			↓74		
		26		↑129						
		52					↓80	↓68	↓73	
		78					↓63	↓64		
	相対	26				↑107			↑107	
単球	絶対	6						↓39		
		26			↑361	↑232	↓48		↓35	↓27
		104	↓41	↓19	↓29	↓33				
	相対	26		↑189		↑222	↓48		↓40	↓24
		52				↓50			↑258	
		104	↓47	↓22	↓33	↓24				
杆状球	絶対	13					↓35	↓13		
		26				↓19	↓19	↓28	↓-	
	相対	13						↓20		
		26					↓30	↓20	↓30	↓-
		52							↑350	↑300

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

- : 値が"0"の場合を示す

血液生化学的検査；上記の血液学的検査と同一時期の同一動物の血清を用いて以下の項目を測定した。

グルコース、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、尿素窒素(BUN)、アルカリホスファターゼ(ALP)

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		25	125	625	3125	25	125	625	3125
検査項目	測定週								
グルコース	26			↓91				↓87	
	52			↓91		↓92		↓83	↓88
	104				↓92				
ALT	52						↑137		
	78				↓76				
BUN	6	↑107	↑113						
	13				↓91				
	26						↓80		
	104								↑126
ALP	6				↓81				
	13			↓82	↓84	↓79			↓79
	26			↓80	↓74			↓80	↓75
	52				↓80				↓72
	78				↓77			↓81	↓78
	104				↓78				

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

3125 ppm 投与群の雄において、ALP の低値が一貫して認められた。

その他、統計学的有意差が散見されたが、検体投与に関連した影響は認められなかった。

[申請者註]

625 ppm 以上の投与群において、グルコースの有意な低値が認められたが、散発的であり、用量反応性も認められないため、偶発的な変化と考えられた。3125 ppm 投与群の雌で BUN の有意な高値がみられたが、1992 年に実施した 1 年間反復投与毒性/発がん性併合試験 (資料 No.T-21) において認められなかったことから、偶発的と判断された。

ALP の有意な低値が 625 ppm 以上の投与群の雌雄で散見され、3125 ppm 投

与群では、雄で全検査時期、雌で6、104週時を除く検査時期で観察された。しかしながら、当該変化については、1992年に実施した1年間反復投与毒性/発がん性併合試験(資料 No.T-21)において認められなかったこともあり、毒性学的意義は低いと考えられた。

尿検査：投与開始前および投与終了時に対照群および3125 ppm投与群の雌雄各10匹を対象に下腹部圧迫により新鮮尿を採取し、以下の項目について検査した。

比重、アセトン値、ビリルビン、pH、蛋白、グルコース、ヘモグロビン、ミオグロビン、尿沈渣

検体投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量：投与終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量(絶対および相対重量)を測定した。

心臓、肺、胸腺、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、前立腺、生殖器、副腎、下垂体、脳、唾液腺

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目について下表に示した。

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		25	125	625	3125	25	125	625	3125
肝臓	絶対重量				↓87				
胸腺	絶対重量							↑508	
	相対重量							↑494	
脳	絶対重量						↓97		
	相対重量				↑107				
唾液腺	相対重量				↑112				
肺	相対重量						↑112		↑113

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表中の数字は対照群を100とした場合の値を示す

上記の表のとおり、絶対および相対臓器重量に統計学的有意差が散見されたが、いずれも偶発的なものであり、これらの変化は自然発生性であると考えられた。検体投与による影響は認められなかった。

[申請者註]

3125 ppm 投与群において、雄で肝臓の絶対重量の有意な低値、脳および唾液腺の相対重量の有意な高値、雌で肺の相対重量の有意な高値が認められたが、いずれも 1992 年に実施した 1 年間反復投与毒性/発がん性併合試験(資料 No.T-21) において認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

肉眼的病理検査：途中死亡、切迫屠殺および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。
検体投与に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。

病理組織学的検査：全動物を対象として、以下の組織について常法に従って病理標本を作成し、心臓、肝臓、腎臓および副腎については凍結切片を作製して脂肪染色(fat red 7b)を行い、また、心臓、肺、肝臓、腎臓および脾臓については鉄染色(Berlin blue 染色)および Masson trichrom 染色を施した。全途中死亡・切迫殺動物、腫瘍を有した動物、対照群および 3125 ppm 群については雌雄各 20 匹、25、125 および 625 ppm 投与群については雌雄各 15 匹を対象に、鏡検した。対照群の精巣に関しては全動物について鏡検した。

心臓、肺、胸腺、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、前立腺、生殖器、副腎、下垂体、脳、唾液腺、膵臓、胃、小腸、結腸、腸間膜リンパ節、膀胱、子宮、大動脈、気管、食道、骨格筋、脳、坐骨神経、視神経を含む眼球

[非腫瘍性病変]

認められた主要非腫瘍性病変を表 1 に示した。

対照群を含む全群の肝臓に脂肪変性、脾臓および腎臓にヘモジデリン沈着が認められたが、その発生率および発生頻度において有意差は認められなかった。

全群の雌動物の副腎に類洞拡張およびその一部に血栓が認められ、これらの所見は対照群に比較して検体投与群に多く発現した。また、小胆管の結節性過形成も検体投与群雄に比較的多く認められたが有意差はみられなかった。これらの所見は加齢によるものと考えられた。また、各臓器に認められたその他の所見は自然発生性病変と考えられた。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

各腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果により、トリホリンの104週間飼料混入投与によるラットに対する慢性毒性・発がん性試験では、検体投与に関連する影響として、雌雄とも3125 ppm投与群で一過性の貧血（赤血球数の低値：雄6週時、雌52週時、ヘマトクリット値の低値：雄104週時、雌52、78週時、ヘモグロビン濃度の低値：雄6、78週時、雌26、52、78週時）が認められたことから無毒性量（NOAEL）は625 ppm（雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日）であると判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

表 1-1 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
死亡・切迫殺	検査動物数		14	5	6	6	7	7	7	8	17	13
	肝臓	脂肪変性	13	4	6	2	2	2	4	3	4	4
		ヘモジデリン沈着	3	1	4	2	1	2	3	3	7	1
		胆管過形成	2	3	2	0	0	1	0	1	2	2
		肝炎	1	0	0	1	0	1	0	1	2	1
		クッパー細胞過形成	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1
		肝臓ペリオーシス	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		壊死	0	0	0	0	0	3	1	0	3	1
	脾臓	ヘモジデリン沈着	12	6	8	6	3	5	3	5	12	10
		壊死	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
		限局性造血	1	0	1	0	1	4	1	2	2	10
		脾炎	0	0	0	2	0	0	0	0	1	7
		リンパ球増生	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0
	腎臓	ヘモジデリン沈着	12	3	6	3	3	7	8	7	13	10
		脂肪変性	2	0	0	1	0	1	3	2	6	4
		間質性腎炎	1	2	2	2	2	0	0	0	2	2
		腎盂腎炎	0	1	2	0	0	0	0	0	1	0
		水腎症	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
		乳頭壊死	0	1	3	0	0	1	0	1	0	1
		蛋白円柱	8	1	2	2	3	2	2	1	7	6
	心臓	脂肪変性	2	0	2	1	0	0	1	0	2	1
		間質性心内膜炎	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
	肺	無気肺、拡張異常	4	2	3	2	0	0	2	1	2	3
		肺水腫	2	1	1	4	3	1	1	4	2	2
		肺炎	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1
		肺胞内泡沫細胞	0	0	0	1	1	0	1	1	1	2
		ヘモジデリン沈着	0	2	0	0	1	0	1	1	0	0

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表 1-2 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
死亡・ 切迫殺	検査動物数		14	5	6	6	7	7	7	8	17	13
	副腎	過形成	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		類洞拡張、血栓	1	0	0	0	0	3	3	4	9	6
		脂肪枯渇、萎縮	5	2	1	0	5	4	3	3	5	4
	リンパ節	リンパ節炎	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0
		ヘンジテリン沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
	乳腺	嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	眼	網膜萎縮	0	0	0	1	0	1	0	0	2	0
	精巣	ライディツヒ細胞	1	0	0	0	0					
		過形成										
		睪丸萎縮	1	1	2	0	1					
	前立腺	前立腺炎	1	2	2	3	0					
		扁平上皮化生	0	1	1	2	0					
	卵巣	嚢胞						0	0	0	0	1
		萎縮						0	1	2	4	0
	子宮	嚢胞状過形成						0	0	1	2	0
	膀胱	膀胱炎	2	2	2	3	0	1	0	0	0	2
	膵臓	膵炎	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	大腸	寄生虫	1	0	0	0	0	0	0	1	3	1
骨格筋	筋炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
最終屠殺	検査動物数		21	21	18	21	30	35	24	21	11	26
	肝臓	脂肪変性	18	18	14	14	25	15	10	10	6	13
		ヘンジテリン沈着	0	5	2	3	2	5	4	3	1	5
		胆管過形成	1	7	5	9	11	2	1	1	3	3
		肝炎	2	0	0	1	2	0	0	0	0	0
		クッパー細胞過形成	4	7	4	4	12	0	5	1	1	2
		肝臓ペリオーシス	0	4	0	0	2	0	0	0	0	0
壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表 1-3 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
最終屠殺	検査動物数		21	21	18	21	30	35	24	21	11	26
	脾臓	ヘモグロビン沈着	17	12	10	11	19	17	11	12	7	11
		限局性造血	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		脾炎	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
		リンパ球増生	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
	腎臓	ヘモグロビン沈着	17	13	12	11	18	18	11	10	5	10
		脂肪変性	0	0	1	0	6	4	1	2	2	7
		間質性腎炎	11	12	9	5	17	3	3	1	1	3
		腎盂腎炎	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		水腎症	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		乳頭壊死	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		蛋白円柱	15	15	13	12	17	5	7	9	6	10
	心臓	間質性心内膜炎	0	1	3	3	5	0	0	0	0	2
	肺	無気肺、拡張異常	2	4	5	3	9	3	4	5	1	6
		肺炎	0	2	1	2	2	0	0	0	0	0
		気管支肺炎	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		肺胞内泡沫細胞	0	1	1	0	6	3	1	1	0	2
	副腎	過形成	0	1	4	4	1	1	0	4	0	0
		類洞拡張、血栓	0	0	0	0	1	8	12	11	9	10
		褐色細胞過形成	0	1	1	0	2	0	0	0	0	1
		脂肪枯渇、萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	リンパ節	リンパ節炎	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
		ヘモグロビン沈着	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	嚢胞	0	0	0	0	0	8	7	3	5	10
		過形成	0	0	0	0	0	6	4	0	1	2
	眼	網膜萎縮	0	1	0	3	1	0	1	3	3	2
	精巣	ライディツヒ細胞過形成	5	4	1	3	4					
睪丸萎縮		6	3	5	6	9						

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表 1-4 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
最終屠殺	検査動物数		21	21	18	21	30	35	24	21	11	26
	前立腺	前立腺炎	1	4	2	3	3					
		扁平上皮化生	0	0	1	3	0					
	卵巣	嚢胞						6	4	9	3	5
	子宮	嚢胞状過形成						5	7	4	2	1
	膀胱	膀胱炎	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0
	膵臓	膵炎	1	2	0	0	0	0	0	1	0	0
	大腸	寄生虫	1	3	2	1	0	1	1	5	0	1
	骨格筋	筋炎	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
全動物	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39
	肝臓	脂肪変性	31	22	20	16	27	17	14	13	10	17
		ヘミデリン沈着	3	6	6	5	3	7	7	6	8	6
		胆管過形成	3	10	7	9	11	3	1	2	5	5
		肝炎	3	0	0	2	2	1	0	1	2	1
		クッパー細胞過形成	4	7	4	4	12	2	6	1	1	3
		肝臓ペリオシス	0	4	0	1	2	0	0	0	0	0
		壊死	0	0	0	0	0	3	1	0	3	2
	脾臓	ヘミデリン沈着	29	18	18	17	22	22	14	17	19	21
		壊死	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
		限局性造血	1	0	1	0	1	4	1	2	3	10
		脾炎	0	1	0	2	1	0	1	0	1	7
		リンパ球増生	0	1	0	1	0	1	1	0	3	0
	腎臓	ヘミデリン沈着	29	16	18	14	21	25	19	17	18	20
		脂肪変性	2	0	1	1	6	5	4	4	8	11
		間質性腎炎	12	14	11	7	19	3	3	1	3	5
		腎盂腎炎	0	1	2	0	0	0	0	1	1	0
		水腎症	0	0	1	0	0	0	0	2	1	0
		乳頭壊死	0	2	3	0	0	1	0	1	0	1
		蛋白円柱	23	16	15	14	20	7	9	10	13	16

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表 1-5 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
全動物	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39
	心臓	脂肪変性	2	0	2	1	0	0	1	0	2	1
		間質性心内膜炎	1	2	4	3	5	0	0	0	0	3
	肺	無気肺、拡張異常	6	6	8	5	9	3	6	6	3	9
		肺水腫	2	1	1	4	3	1	1	4	2	2
		肺炎	0	3	1	2	2	0	0	1	1	1
		気管支肺炎	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		肺胞内泡沫細胞	0	1	1	1	7	3	2	2	1	4
		ヘモジデリン沈着	0	2	0	0	1	0	1	1	0	0
	副腎	過形成	0	1	4	5	1	1	0	5	0	0
		類洞拡張、血栓	1	0	0	0	1	11	15	15	18	16
		褐色細胞過形成	0	1	1	0	2	0	0	0	0	1
		脂肪枯渇、萎縮	5	2	1	0	5	4	3	3	6	4
	リンパ節	リンパ節炎	2	0	0	2	1	1	0	0	2	0
		ヘモジデリン沈着	0	1	0	0	1	0	0	0	2	0
	眼	網膜萎縮	0	1	0	4	1	1	1	3	5	2
	精巣	ライディツヒ細胞過形成	6	4	1	3	4					
		睾丸萎縮	7	4	7	6	10					
	前立腺	前立腺炎	2	6	4	6	3					
		扁平上皮化生	0	1	2	5	0					
	卵巣	嚢胞						6	4	9	3	6
		萎縮						0	1	2	4	0
	子宮	嚢胞状過形成						5	7	5	4	1
	膀胱	膀胱炎	2	4	2	4	0	1	0	0	0	2
	脾臓	脾炎	2	2	0	0	0	0	0	1	0	0
	大腸	寄生虫	2	3	2	1	0	1	1	6	3	2
	骨格筋	筋炎	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3

Student-t 検定 ↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表 2-1 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌					
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125	
	臓器	所見											
死亡・ 切迫殺	検査動物数		14	5	6	6	7	7	7	8	17	13	
	肺	中皮腫 (MB)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		肺胸膜中皮の腫瘍 (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	1	0	0	1	2	2	1	2	0	1	0
	肝臓	肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
		白血病 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		細網細胞性腫瘍 (MB)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		癌 (M)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	脾臓	組織球性腫瘍 (MB)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		白血病 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	腺癌 (M)	0	0	0	0	1	2	1	0	1	0	0
		細網肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	大腸	リンパ腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 (B)	0	0	0	1	1						
	卵巢	囊腫 (B)						0	0	0	1	0	0
		腺癌 (M)						1	0	0	0	1	0
		癌、腺癌 (M)						0	0	0	1	0	0
		細網肉腫 (M)						1	0	0	0	0	0
	子宮	組織球性腫瘍 (MB)						0	0	0	1	1	0
		細網肉腫 (M)						1	0	0	0	0	0
	甲状腺	腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性甲状腺腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	下垂体	色素嫌性腺腫 (B)	1	0	0	0	0	1	1	0	3	0	0
		充実性腺腫 (B)	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
同形細胞の腺腫 (B)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
細網肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	

Student-t 検定 ↓↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

表 2-2 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
死亡・切迫殺	検査動物数		14	5	6	6	7	7	7	8	17	13
	副腎	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
		癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		細網肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		白血病 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	皮膚および皮膚腺	線維腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		乳頭状上皮腫 (MB)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	胸腺	組織球性/リンパ球性胸腺腫 (B)	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1
		充実性癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		心臓	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	リンパ節	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
		白血病 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	不明	間葉腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
最終屠殺	検査動物数		21	21	18	21	30	35	24	21	11	26
	肺	組織球性腫瘍 (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	1	1	1	2	1	0	0	1
		白血病 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

表 2-3 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
最終屠殺	検査動物数		21	21	18	21	30	35	24	21	11	26
	肝臓	胆管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		白血病 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		分類不能 (中皮腫、血管腫、胆管腫)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3
	腎臓	腫瘍 (MB)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	白血病 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	大腸	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		ポリープ (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		組織球性腫瘍 (MB)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		細網肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	小腸	網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		細網肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 (B)	0	6	8	8	6					
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0					
	卵巣	莢膜細胞腫 (B)						1	0	0	0	0
		間細胞腫 (B)						2	0	0	0	1
		嚢腺腫 (B)						2	0	1	0	1
		腺癌 (M)						2	2	0	1	0
		平滑筋肉腫 (M)						0	0	0	1	0
	膀胱	線維上皮過形成 (腫瘍) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	前立腺	細網肉腫 (M)	1	0	0	0	0					

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

表 2-4 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
最終屠殺	検査動物数		21	21	18	21	30	35	24	21	11	26
	子宮	ポリープ (B)						0	1	1	0	0
		線維腫 (B)						1	1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)						1	0	0	0	0
		腺癌 (M)						0	1	1	0	0
	甲状腺	腺腫 (B)	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	下垂体	色素嫌性腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		充実性腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
		索状腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
		その他腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	2	0	2	4
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎	腺腫 (B)	1	0	1	0	0	2	0	0	0	0
		褐色細胞腫 (B)	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
	大動脈	血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	皮膚および皮膚腺	線維腺腫 (B)	1	0	0	0	0	1	7	2	0	2
		線維腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		嚢腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		硬性癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		肥満細胞肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
	脳	シュワン細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Student-t 検定 ↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍、(MB): 良性、悪性の判別不能腫瘍

表 2-5 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌					
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125	
	臓器	所見											
最終屠殺	検査動物数		21	21	18	21	30	35	24	21	11	26	
	胸腺	組織球性/リンパ球性胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
		リンパ球性胸腺腫 (B)	1	2	0	2	1	0	1	0	1	2	
		組織球性胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		リンパ腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	
		網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	リンパ節	リンパ腺腫 (B)	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		リンパ腫、血管腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	不明	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	全動物	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39
		肺	中皮腫 (MB)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
肺胸膜中皮の腫瘍 (MB)			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
組織球性腫瘍 (MB)			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
腺癌 (M)			1	0	1	2	3	4	2	2	0	2	
白血病 (M)			0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
肝臓		胆管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	
		白血病 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	
	分類不能 (中皮腫、血管腫、胆管腫)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3		

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

表 2-6 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
全動物	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39
	腎臓	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		細網細胞性腫瘍(MB)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		腫瘍 (MB)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		癌 (M)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	脾臓	組織球性腫瘍 (MB)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		白血病 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	2	2	0	1	0
		細網肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	大腸	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		ポリープ (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		組織球性腫瘍 (MB)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		リンパ腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		細網肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	小腸	網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		細網肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 (B)	10+	6	8	9	7					
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0					
	卵巢	嚢腫 (B)						0	0	0	1	0
		莢膜細胞腫 (B)						1	0	0	0	0
		間細胞腫 (B)						2	0	0	0	1
		嚢腺腫 (B)						2	0	1	0	1
		腺癌 (M)						3	2	0	1	1
		癌、腺癌 (M)						0	0	0	1	0
		細網肉腫 (M)						1	0	0	0	0
平滑筋肉腫 (M)							0	0	0	1	0	

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

+ : 動物番号が不明な動物に認められた腫瘍数 (死亡・切迫殺および最終屠殺への記載なし)

表 2-7 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌					
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125	
	臓器	所見											
全動物	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39	
	膀胱	線維上皮過形成 (腫瘍) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	前立腺	細網肉腫 (M)	1	0	0	0	0						
	子宮	ポリープ (B)							0	1	1	0	0
		線維腫 (B)							1	1	0	0	0
		組織球性腫瘍 (MB)							0	0	0	1	1
		細網肉腫 (M)							1	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)							1	0	0	0	0
		腺癌 (M)							0	1	1	0	0
	甲状腺	腺腫 (B)		1	0	2	0	1	0	1	0	0	0
		悪性甲状腺腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	下垂体	色素嫌性腺腫 (B)		1	0	1	0	0	1	1	0	3	0
		充実性腺腫 (B)		1	0	1	1	0	0	1	1	1	0
		索状腺腫 (B)		0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
		その他腺腫 (B)		0	0	0	0	0	0	2	0	2	5
		細網肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		腺癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎	腺腫 (B)		1	0	1	0	0	3	0	0	0	0
		褐色細胞腫 (B)		0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
		腺癌 (M)		0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
		癌 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		細網肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		白血病 (M)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	大動脈	血管腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

表 2-8 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
全動物	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39
	皮膚および皮膚腺	線維腺腫 (B)	1	0	0	0	0	1	7	3	2	2
		線維腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		嚢腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
		硬性癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		肥満細胞肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		乳頭状上皮腫 (MB)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	3	1	2	2
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	脳	シュワン細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	胸腺	組織球性/リンパ球性胸腺腫 (B)	0	1	0	0	1	0	0	2	1	1
		リンパ球性胸腺腫 (B)	1	2	0	2	1	0	1	0	1	2
		組織球性胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		リンパ腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		網状赤血球増多症 (腫瘍性) (MB)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		充実性癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

表 2-9 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	125	625	3125	0	25	125	625	3125
	臓器	所見										
全動物	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39
	リンパ節	リンパ腺腫 (B)	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		リンパ腫、血管腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
	不明	白血病 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
間葉腫瘍 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
合計	検査動物数		35	26	24	27	37	42	31	29	28	39
	総腫瘍数		22	13	19	26	27	39	38	16	23	29
	担腫瘍動物数	良性	7	10	14	16	18	17	18	9	14	17
		悪性*	15	3	5	10	9	22	17	7	9	12
担腫瘍動物数		13	11	15	17	17	27	23	14	19	20	

Student-t 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、(MB) : 良性、悪性の判別不能腫瘍

* : 良性、悪性の判別不明な腫瘍を含む。

4) トリホリン原体のラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 No. T-21)

試験機関：Inveresk Research International Ltd. (英国)

報告書作成年：1992年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Cri:CD-1(SD)BR系ラット、1年間反復経口投与毒性試験（慢性毒性群）；1群雌雄各20匹、発がん性試験（発がん性群）；1群雌雄各50匹、投与開始時週齢；雌雄約7週齢、試験開始時体重範囲；雄216～225g、雌141～147g

投与期間：1年間反復経口投与毒性試験；52週間（1989年7月19日～1990年7月20日）
発がん性試験；104週間（1989年7月19日～1991年7月23日）

投与方法：検体を0、200、2000および20000ppmの濃度で飼料に混入し、1年間反復経口投与毒性試験では52週間、発がん性試験では104週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；同試験機関で同系のラットに0および20000ppmの濃度の混合飼料を13週間反復経口投与した90日間反復経口投与毒性試験（資料No. T-12）の結果、全般的に毒性の発現は低く、わずかに20000ppm投与群に赤血球項目の変動、脾臓および肝臓重量の高値が認められ、長期投与で腫瘍以外の理由による死亡が認められない用量として用いることができると考えた。これにより、本試験では公比10のもと投与濃度を、0、200、2000および20000ppmと設定した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；動物の生死は1日2回、一般状態観察は1日1回および腫瘍の触診を含む詳細な状態観察は1週間に1回実施した。

投与期間中に投与に起因した一般症状は認められなかった。

52週間および104週間の投与終了までの累積死亡動物数を下表に示す。

性別		雄				雌			
		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
死亡動物数 (死亡率、%)	慢性毒性群 (52週)	0 (0)	1 (5)	1 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)
	発がん性群 (104週)	25 (50)	24 (48)	19 (38)	19 (38)	22 (44)	20 (40)	21 (42)	23 (46)

Wilcoxon 検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

動物死亡の発現において、一貫した傾向は認められず、検体投与の影響は認められなかった。

体重変化； 全動物の個々の体重を投与開始 1 週間前から投与後 13 週までは毎週 1 回測定し、それ以降は 4 週間に 1 回測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた測定週を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		200	2000	20000	200	2000	20000
試験群	測定週						
慢性 毒性群	32					↓93	↓91
	体重増加量(%)(0-52 週)	105	103	93	89	87	79
発 がん 性 群	1			↓95	↑104		
	2	↑104					
	3			↓95			↓96
	4			▼93			↓96
	5			↓96	↑104		
	6		↓96	↓94			↓95
	7			↓95			
	8			↓95			↓96
	9		↓96	▼93	↑104		↓96
	10			↓94	↑104		↓96
	11			↓95	↑105		
	12		↓94	▼91			↓95
	13		↓95	↓94	↑104		
	16		↓95	▼93			↓95
	20		↓95	↓93			↓94
	24		↓96	↓94	↑105		↓95
	28		↓95	↓94	↑104		↓95
	32				↑106		
	36				↑105		↓94
	40~104 (77, 96 週は有 意差なし)				↑105 ~ ↑112		
体重増加量(%)(0-104 週)	103	93	93	115	101	97	

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001
表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

[慢性毒性群]

投与 32 週に 2000 ppm 以上の投与群の雌で有意な体重の低値が認められた以外に有意差はみられなかったが、全期間 (0-52 週) の体重増加量において、20000 ppm 投与群の雄および全投与群の雌で対照群より低かった。しかしながら、200 および 2000 ppm 投与群の雌の体重増加量の低値は発がん性群では認められなかったことから、偶発的なものと考えられた。

[発がん性群]

2000 および 20000 ppm 投与群の雄で投与初期 (1~28 週) に有意な体重低値がみられ、体重増加量 (0-104 週) の軽度な低値も認められた。20000 ppm 投与群の雌でも 3~36 週の間には有意な体重低値がみられ、体重増加量はやや対照群より低かった。200 ppm 投与群の雌では、試験期間を通して有意な体重の高値が散見された。

摂 餌 量 ; 摂餌量は、投与開始 1 週間前から投与後 13 週までは週 1 回測定し、それ以降は 4 週間に 1 回ケージ毎に測定した。

慢性毒性群および発がん性群とも検体投与の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 (mg/kg/日)は以下の通りである。

性別		雄			雌		
		200	2000	20000	200	2000	20000
投与量 (ppm)		200	2000	20000	200	2000	20000
検体摂取量 (mg/kg/日)	慢性毒性群 (1-52 週)	12.0	118	1225	15.3	158	1671
	発がん性群 (1-104 週)	10.3	101	1038	13.1	136	1436

飲 水 量 ; 投与期間中、飲水量の変化を目視により毎日観察した。

慢性毒性群および発がん性群とも検体投与の影響は認められなかった。

血液学的検査 ; 投与 26 週(雌)/28 週(雄)および 51 週時に慢性毒性群の各群雌雄各 10 匹、投与 103 週に発がん性群の各群雌雄各 10 匹を対象として、軽麻酔下で眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について検査した。さらに投与 52 週/53 週、78 週/79 週および 102 週時に発がん性群の全動物の尾静脈から採血し、血液塗末標本を作製して対照群および最高用量群について白血球型別百分率を観察した。

ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数、白血球型別百分率、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、血液凝固時間

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別			雄			雌		
投与量 (ppm)			200	2000	20000	200	2000	20000
試験群	検査項目	測定週						
慢性 毒性群	赤血球数	26/28						↓93
	ヘモグロビン濃度	26/28		↓96	↓95			
		51	↓96	↓96	↓94			
	MCV	26/28						↑105
	MCHC	26/28			↓98		↓98	▼98
	白血球数	51					↑129	
リンパ球数	51					↑122		
発がん 性群	リンパ球数	103	↓75	▼64				

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

[慢性毒性群]

20000 ppm 投与群の雄で投与 28 週および 51 週時にヘモグロビン濃度および投与 28 週時に平均赤血球血色素濃度 (MCHC) の有意な低値がみられた。雌では、26 週時に赤血球数および MCHC の有意な低値、さらに平均赤血球容積 (MCV) の有意な高値が認められた。2000 ppm 投与群でも同様に投与 28 週および 51 週時に雄のヘモグロビン濃度の有意な低値がみられ、雌では投与 26 週時に MCHC の有意な低値がみられた。また雌では 51 週時に白血球数およびリンパ球数の有意な高値が認められたが、これらの変化は 20000 ppm 投与群では認められなかった。200 ppm 投与群では雄のみに投与 51 週時にヘモグロビン濃度の有意な低値が認められた。

[発がん性群]

20000 ppm 投与群に有意な変化は認められなかった。200 および 2000 ppm 投与群の雄でリンパ球数の有意な低値が認められたが、20000 ppm 投与群に変化がみられなかったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

慢性毒性群にみられた各種変化は、いずれも軽度なものであり、発がん性群では認められなかった。

[申請者註]

200 ppm 投与群の雄において、51 週時にヘモグロビン濃度の低値が認められたが、当該投与群の測定値は、次のとおり、当該試験機関の背景値と同等であり、また、その他血液学的検査のパラメータの変動はなく、103 週時の検査では特段影響がみられなかった。そのため、当該変動は有害な影響とは考えなかった。

51 週時測定 of 雄ヘモグロビン濃度および背景値 (単位: g/dL)

	0 ppm	200 ppm	2000 ppm	20000 ppm	背景値 a)
平均値±SD	16.1±0.6	15.5±0.7*	15.4±0.4*	15.2±0.4**	14.8±0.6
測定値範囲	15.2~17.1	14.2~16.5	14.8~16.0	14.6~15.9	

ANOVA の検定 * : p<0.05、** : p<0.01

a) : 当該試験機関における同一系統、同一週齢の背景値

血液生化学的検査 ; 血液学的検査と同時に採取した血液から得られた試料を用い、以下の項目の測定を行った。

尿素窒素、グルコース、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素、無機リン、総蛋白、アルブミン、A/G 比 (計算値)、アルカリホスファターゼ (ALP)、クレアチニン、クレアチニンホスホキナーゼ (CPK)、総ビリルビン、コレステロール

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を次表に示す。

性別			雄			雌		
投与量 (ppm)			200	2000	20000	200	2000	20000
試験群	検査項目	測定週						
慢性 毒性群	AST	26/28	↑128				↓71	▼59
	ALT	26/28					↓72	↓64
		51			↓55			
	LDH	26/28						▼29
	CPK	26/28						↓36
	ナトリウム	26/28			↑101			
	カルシウム	26/28			↑103			
発がん 性群	グルコース	51			↓86			
	AST	103			↓44			↓65
	カルシウム	103					↑104	↑104
	総蛋白	103			↑109			
	総ビリルビン	103		↓70	↓56	↓55	↓45	↓55
コレステロール	103						↑139	

ANOVA の検定 ↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

[慢性毒性群]

20000 ppm 投与群の雄において、ALT、グルコース(51 週時)の低値およびナトリウム、カルシウム(28 週時)の高値がそれぞれ認められた。2000 ppm 以上の投与群の雌において、AST、ALT(26 週時)の低値がみられ、20000 ppm 投与群の雌では LDH、CPK(26 週時)の低値も観察された。しかしながら、これらの変動は、病理組織学的所見など関連する検査で異常所見は認められておらず、一貫性のないものであった。

[発がん性群]

2000 ppm 以上の投与群の雄および全投与群の雌において、総ビリルビンの低値が認められた。また、20000 ppm 投与群の雌雄において、AST の低値が認められ、20000 ppm 投与群の雄では総蛋白の高値、20000 ppm 投与群の雌でコレステロールの高値がそれぞれ認められた。さらに 2000 ppm 以上の投与群の雌ではカルシウムの高値もみられた。しかしながら、これらの変動は、病理組織学的所見など関連する検査で異常所見は認められておらず、一貫性のないものであった。

[申請者註]

- ①AST、ALT および総ビリルビンの低値が散見されたが、これらのパラメータの低値については、毒性学的意義は小さいと考え、有害な影響ではないと考えた。
- ②ナトリウムの高値、グルコースの低値については、慢性毒性群のみ観察されたもので、発がん性群では認められず、一過性の変化であるため、有害な影響ではないと考えられた。また、カルシウムの高値については、軽微であり、関連する所見もみられないことから、有害な影響とは考えなかった。
- ③総蛋白の高値、コレステロールの高値については、90 日間反復経口投与毒性試験(資料 No.T-09、11 および 13)においても観察されているため、検体投与による影響と考えた。

尿検査；血液検査と同時期に絶食および絶水条件下で代謝ケージを用いて各群雌雄各 10 匹から採取した 4 時間蓄尿を対象として以下の項目を検査した。

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

慢性毒性群および発がん性群とも検体投与による影響は認められなかった。

眼科学的検査；慢性毒性群の対照群および高用量群の全動物を対象として、投与開始前および投与 51 週に眼科学的検査を実施した。個々の動物の両眼を散瞳させ、前眼房、レンズおよび眼底を、間接検眼鏡を用いて検査した。

検体投与の影響はみられなかった。

臓器重量； 52 週および 104 週間の投与期間終了後、慢性毒性群の全生存動物および発がん性群の各群雌雄各 10 匹の動物を対象として以下の臓器重量を測定した。また、体重を条件とした共分散分析も行った。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣（精巣上体を含む）、胸腺、子宮

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別			雄			雌		
投与量 (ppm)			200	2000	20000	200	2000	20000
試験群	臓器	種類						
慢性 毒性群	供試動物数		20	20	20	20	20	20
	副腎	絶対重量	↓85	↓87	↓85			
		相対重量*	↓80	↓79	<89>		<141>	↑159
		体重補正**	↓85	↓87	↓85		↑135	↑140
	脳	絶対重量						<100>
		相対重量*						↑114
	心臓	絶対重量				<99>	<100>	<96>
		相対重量*				↑110	↑110	↑111
	肝臓	絶対重量			<105>			<99>
		相対重量*			↑112			↑114
		体重補正**			↑111			↑115
	腎臓	絶対重量				<100>	<103>	<104>
		相対重量*				↑110	↑114	↑121
		体重補正**				↑109	▲112	▲117
	肺	相対重量*				↑109	↑116	<108>
	脾臓	絶対重量					↑106	▲123
		相対重量*					↑116	↑145
		体重補正**					↑117	▲142

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 ▲▼ : p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示。

* : 申請者が相対重量を算出し、ANOVA 検定を実施した。

** : 臓器重量と体重を考慮した共分散分析の結果を示す。

性別			雄			雌		
投与量 (ppm)			200	2000	20000	200	2000	20000
試験群	臓器	種類						
発がん性群	供試動物数		10 ^{a)}	10	11	10	11	10
	肝臓	絶対重量	↑131	↑123		↑131	↑126	▲143
		相対重量*				<113>	↑123	↑145
		体重補正**				↑118	↑124	▲143
	脾臓	絶対重量						<120>
		相対重量*						<119>
		体重補正**						↑121
	胸腺	絶対重量			<178>			
		相対重量*			↑186			
		体重補正**			↑170			

ANOVA の検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 ▲▼ : p<0.001

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

a) : 胸腺重量については、9 例。

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示。

* : 申請者が相対重量を算出し、ANOVA 検定を実施した。

** : 臓器重量と体重を考慮した共分散分析の結果を示す。

[慢性毒性群]

20000 ppm 投与群の雌雄において、肝臓重量(体重補正)の有意な高値がみられた。副腎重量については、雄では全投与群で絶対重量、体重補正とも有意な低値を示したが、雌では体重補正で有意な高値を示した。また、雌の全投与群で腎臓重量(体重補正)の有意な高値がみられ、2000 ppm 以上の投与群の雌で脾臓重量(絶対、体重補正)の有意な高値が認められた。

副腎および腎臓の変化は、発がん性群で観察されておらず、病理組織学的異常所見も認められなかったことから、検体投与による有害な影響ではないと考えられた。

[申請者註]

臓器重量の相対重量については、申請者が算出し、ANOVA 検定を実施した。その結果、200 ppm 以上の投与群の雌で心臓、肺の相対重量の高値、20000 ppm 投与群の雌で脳相対重量の高値がそれぞれ認められた。しかしながら、これらの臓器の病理組織学的検査では異常所見は認められなかったことから、当該変化は、検体投与による有害な影響ではないと考えられた。

[発がん性群]

200 ppm および 2000 ppm 投与群の雄で肝臓重量(絶対)の高値、200 ppm 以上の投与群の雌で肝臓重量(絶対、体重補正)の高値がそれぞれ認められた。しかしながら、雄については最高用量 20000 ppm 投与群では影響がなく、雌雄とも肝臓の病理組

組織学的検査では関連する異常所見は認められなかったため、当該変化は有害な影響ではないと考えられた。

20000 ppm 投与群の雄において、胸腺重量(体重補正)の有意な高値が認められたが、病理組織学的異常所見がみられなかったため、当該変化も有害な影響ではないと考えられた。

また、20000 ppm 投与群の雌において、脾臓重量(体重補正)の有意な高値が認められた。

慢性毒性群および発がん性群の 20000 ppm 投与群の雌にみられた脾臓重量の増加は、病理組織学的検査におけるヘモジデリン沈着例数に関連したものであった。

肉眼的病理検査； 途中死亡・切迫殺動物および 52 週および 104 週の試験終了時の全生存動物について剖検を行った。投与終了後に全生存動物を二酸化炭素吸引させた後、放血致死させ、剖検を行った。

慢性毒性群および発がん性群とも検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査； 全動物を対象として、以下の組織について常法に従って病理標本を作製し、全途中死亡・切迫殺動物、慢性毒性群および発がん性群の対照群および最高用量群の全生存動物、中間および低用量群の雌雄の腎臓、肝臓、肺および脾臓について鏡検した。

副腎、大動脈弓、膀胱、骨（胸骨）、脳、眼球、心臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、肝臓、肺、乳腺、腸間膜リンパ節、骨格筋（大腿部）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、皮膚、脊髄、脾臓、胃（腺胃、前胃）、顎下腺、精巣（精巣上体含む）、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）気管、子宮、肉眼的病変部位

[非腫瘍性病変]

統計学的有意差の認められた慢性毒性試験群の非腫瘍性病変を表 1、発がん性試験の非腫瘍性病変を表 2 に示す。

慢性毒性群：

雄の全投与群に脾臓のヘモジデリン沈着の程度および発現頻度の増加が認められ、20000 ppm 投与群の雌で同所見の程度の増加がみられた。20000 ppm 投与群の雌雄において、肝臓のクッパー細胞のヘモジデリン沈着の程度および発現頻度の増加が認められ、2000 ppm 投与群の雌では同所見の程度および発現頻度の増加傾向が認められた。さらに 20000 ppm 投与群の雄では肝臓の蒼白細胞巢の発現頻度の増

加、雌で胆管過形成の程度と発現頻度の増加も認められた。しかしながら、雌の脾臓のヘモジデリン沈着の発現頻度増加を除いて、これらの所見の増加は、発がん性群では認められなかった。

発がん性群：

20000 ppm 投与群の雄において、限局性肺炎の発現頻度の増加がみられ、同群の雌においても増加傾向が認められた。2000 および 20000 ppm 投与群の雌で脾臓のヘモジデリン沈着の発現頻度増加が認められた。その他の有意差の認められた所見は、いずれも高用量群で有意差は認められなかったため、偶発的なものと判断された。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を慢性毒性群については表 3、発がん性群については表 4 に示す。

2000 ppm 投与群の雌において、甲状腺の C-細胞腺腫に発現頻度の有意な増加がみられ、200 ppm 投与群の雌では下垂体腺腫の発現頻度の有意な増加が認められた。しかしながら、いずれも 20000 ppm 投与群では対照群と同等であったことから、偶発的な変化と考えられた。

いずれの腫瘍の発現頻度および担腫瘍動物数にも検体投与によると思われる増加はみられなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験/発がん性試験併合試験における影響として、2000 ppm 投与群に赤血球項目に対する軽微な影響、脾臓のヘモジデリン沈着の増加がみられ、20000 ppm 投与群では、さらに体重増加抑制、肝臓および脾臓重量の増加、肝臓のクッパー細胞におけるヘモジデリン沈着の増加、胆管過形成、限局性肺炎の増加がみられた。200 ppm 投与群では検体投与に関連する変化はみられなかった。

従って、無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 200 ppm (雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日) と判断される。また催腫瘍性はないものと判断された。

表1 非腫瘍性病変-慢性毒性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
全動物	検査動物数		20	20	19	20	20	20	20	20
	蒼白細胞巣	グレード+/-	1	5	1	5	1	3	0	2
		グレード+	1	0	1	4	0	1	0	0
		合計	2	5	2	↑9	1	4	0	2
	クッパー細胞/大食細胞	グレード+/-	6	7	3	5	3	3	5	8
		グレード+	0	3	1	↑5	0	0	4	2
		グレード++	0	0	1	1	0	0	0	0
		合計	6	10	5	↑11	3	3	9	↑10
	ヘモジテリン沈着	グレード+/-	3	6	6	1	2	4	3	3
		グレード+	1	1	2	2	0	0	2	↑5
		グレード++	0	0	0	1	0	0	0	0
		合計	4	7	8	4	2	4	5	8
	胆管過形成	グレード+/-	3	6	6	1	2	4	3	3
		グレード+	1	1	2	2	0	0	2	↑5
		グレード++	0	0	0	1	0	0	0	0
		合計	4	7	8	4	2	4	5	8
	壊死巣	グレード+/-	5	6	1	2	5	5	10	7
		グレード+	3	7	2	3	3	2	6	1
		グレード++	1	1	1	1	0	0	0	2
		合計	9	14	4	6	8	7	↑16	10
炎症細胞巣	グレード+/-	12	10	15	12	10	12	15	4	
	グレード+	3	9	2	7	4	3	5	10	
	グレード++	3	0	0	0	1	0	0	0	
	合計	18	19	17	19	15	15	↑20	14	
中葉：泡沫肝細胞		0	↑7	0	1	1	1	2	1	
脾臓	検査動物数		20	19	19	20	20	20	20	20
	ヘモジテリン沈着	グレード+	3	↑8	↑11	▲14	14	12	11	↓3
		グレード++	1	0	0	4	4	4	3	↑13
		グレード+++	0	0	0	0	0	0	0	1
		合計	4	8	↑11	▲18	18	16	14	17
検査動物数		19	1	0	20	19	0	0	19	
胸腺	上皮過形成		0	0	-	0	2	-	-	↑9

Fisherの正確検定 ↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01、▲▼: p<0.001

-: 該当なし

グレード+/-: 軽微、グレード+: 軽度、グレード++: 中等度、グレード+++ : 重度

(申請者註: 同時期に Inveresk 社で行なわれた、ラット繁殖試験で用いられたグレードの定義を表記した。)

表 2-1 非腫瘍性病変-発がん性群

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000	
	臓器	所見									
死亡・切迫殺	脳	検査動物数		25	24	19	19	21	20	21	23
		下垂体による圧迫		0	1	↑7	0	0	↑5	2	3
		脳室拡張		4	7	↑9	5	2	4	4	4
	心臓	検査動物数		25	24	19	19	20	20	21	23
		心筋症	グレード+/-	0	0	2	0	0	0	0	1
			グレード+	9	3	4	↓1	0	1	0	0
			グレード++	2	1	0	1	0	0	0	0
			合計	11	4	6	↓2	0	1	0	1
	肝臓	検査動物数		25	24	19	19	22	20	21	23
		蒼白細胞巣	グレード+/-	1	0	0	0	0	0	0	1
			グレード+	0	3	2	1	1	1	1	3
			グレード++	1	1	0	0	1	0	1	0
			合計	2	4	2	1	2	1	2	4
		好塩基性細胞巣	グレード+/-	0	0	0	0	1	0	1	0
			グレード+	6	↓0	2	4	4	2	3	1
			グレード++	0	0	0	1	3	1	1	0
			合計	6	↓0	2	5	8	3	5	↓1
		空胞化		13	↓5	7	6	3	8	5	3
		血管拡張	グレード+/-	0	0	0	0	1	0	0	0
			グレード+	2	5	0	1	1	1	1	3
			グレード++	1	2	0	1	0	1	1	1
	合計		3	7	0	2	2	2	2	4	
	肺	検査動物数		25	24	19	19	21	20	21	23
		限局性肺炎	グレード+/-	0	0	0	0	0	0	0	1
			グレード+	2	1	0	5	0	2	3	↑6
			グレード++	1	0	1	1	0	0	2	0
			グレード+++	1	0	0	0	1	0	0	0
合計			4	1	1	6	1	2	5	↑7	
血管周囲性炎症細胞浸潤		0	0	0	0	0	0	0	0		

Fisher の正確検定 ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

- : 該当なし

グレード+/- : 軽微、グレード+ : 軽度、グレード++ : 中等度、グレード+++ : 重度

(申請者註 : 同時期に Inveresk 社で行なわれた、ラット繁殖試験で用いられたグレードの定義を表記した。)

表 2-2 非腫瘍性病変-発がん性群

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000	
	臓器	所見									
死亡・切迫殺	脾臓	検査動物数		25	24	19	19	21	20	21	23
		随外造血	グレード+	3	5	1	2	0	3	↑6	0
			グレード++	6	1	1	3	1	3	5	2
			グレード+++	1	1	1	0	2	0	0	5
			合計	10	7	3	5	3	6	↑11	7
		ヘモジデリン沈着	グレード+	5	6	6	3	7	2	8	4
			グレード++	5	6	9	8	9	10	8	10
			グレード+++	0	0	2	0	1	1	1	2
	合計		10	12	↑17	11	17	13	17	16	
	乳腺	検査動物数		25	24	19	19	21	20	21	23
		分泌物		9	10	10	7	14	16	16	14
	甲状腺	検査動物数		24	23	18	18	21	20	21	23
		拡張性/嚢胞状濾胞		3	1	2	1	1	2	1	1
	最終屠殺	脳	検査動物数		25	0	0	31	28	0	0
下垂体による圧迫			0	-	-	0	1	-	-	0	
脳室拡張			1	-	-	0	2	-	-	0	
心臓		検査動物数		25	0	0	31	28	0	0	27
		心筋症	グレード+/-	0	-	-	1	0	-	-	1
			グレード+	6	-	-	10	3	-	-	2
			グレード++	0	-	-	2	0	-	-	0
合計			6	-	-	13	3	-	-	3	
肝臓		検査動物数		25	26	31	31	28	30	29	27
		蒼白細胞巣	グレード+/-	0	1	0	0	1	0	1	0
	グレード+		6	10	15	7	3	3	5	5	
	グレード++		3	4	8	5	1	2	0	2	
	グレード+++		1	1	0	1	0	0	0	0	
合計	10	16	↑23	13	5	5	6	7			

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

- : 該当なし

グレード+/- : 軽微、グレード+ : 軽度、グレード++ : 中等度、グレード+++ : 重度

(申請者註 : 同時期に Inveresk 社で行なわれた、ラット繁殖試験で用いられたグレードの定義を表記した。)

表 2-3 非腫瘍性病変-発がん性群

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000	
	臓器	所見									
最終屠殺	肝臓	好塩基性細胞巢	グレード+/-	3	1	2	1	0	1	0	0
			グレード+	4	4	4	12	9	10	8	5
			グレード++	1	3	1	1	2	6	3	2
			グレード+++	0	0	0	0	2	0	0	0
			合計	8	8	7	14	13	17	11	7
		空胞化	4	2	1	5	2	4	0	4	
		血管拡張	グレード+/-	0	0	0	0	1	0	0	1
			グレード+	0	2	5	3	6	3	4	10
			グレード++	0	1	0	0	0	5	3	3
			グレード+++	0	1	0	0	0	0	0	0
	合計		0	4	5	3	8	8	7	14	
	肺	検査動物数		25	26	31	31	28	30	29	27
		限局性肺炎	グレード+/-	1	0	1	0	0	1	2	0
			グレード+	4	4	6	↑14	3	2	5	8
			グレード++	3	1	0	4	2	2	1	1
			グレード+++	0	0	0	0	0	0	0	1
			合計	8	5	7	18	5	5	8	10
	血管周囲性炎症細胞浸潤	6	3	↓1	6	7	3	5	4		
	脾臓	検査動物数		25	26	31	31	28	30	29	27
		髄外造血	グレード+/-	0	0	0	0	0	1	0	0
			グレード+	8	9	10	↓3	11	9	14	7
			グレード++	2	1	1	2	1	4	3	0
			グレード+++	0	0	0	0	1	0	0	0
			合計	10	10	11	5	13	14	17	7
		ヘモジデリン沈着	グレード+/-	0	5	4	0	0	3	1	0
グレード+			3	3	4	9	10	6	16	14	
グレード++			2	1	2	2	1	↑8	6	▲13	
グレード+++			0	0	0	0	0	0	1	0	
合計			5	9	10	11	11	17	↑24	▲27	

Fisherの正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

— : 該当なし

グレード+/- : 軽微、グレード+ : 軽度、グレード++ : 中等度、グレード+++ : 重度

(申請者註 : 同時期に Inveresk 社で行なわれた、ラット繁殖試験で用いられたグレードの定義を表記した。)

表 2-4 非腫瘍性病変-発がん性群

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000	
臓器	所見		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000	
最終屠殺	乳腺	検査動物数	24	0	0	31	28	0	0	27	
		分泌物	8	-	-	↓3	23	-	-	19	
	甲状腺	検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27	
		拡張性/嚢胞状濾胞	3	-	-	3	1	-	-	↑7	
全動物	脳	検査動物数	50	24	19	50	49	20	21	50	
		下垂体による圧迫	0	1	7	0	1	5	2	3	
		脳室拡張	5	7	9	5	4	4	4	4	
	心臓	検査動物数	50	24	19	50	48	20	21	50	
		心筋症	グレード+/-	0	0	2	1	0	0	0	2
			グレード+	15	3	4	11	3	1	0	2
			グレード++	2	1	0	3	0	0	0	0
			合計	17	4	6	15	3	1	0	4
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
		蒼白細胞巢	グレード+/-	1	1	0	0	1	0	1	1
			グレード+	6	13	↑17	8	4	4	6	8
			グレード++	4	5	8	5	2	2	1	2
			グレード+++	1	1	0	1	0	0	0	0
			合計	12	20	↑25	14	7	6	8	11
好塩基性細胞巢		グレード+/-	3	1	2	1	1	1	1	0	
		グレード+	10	4	6	16	13	12	11	6	
		グレード++	1	3	1	2	5	7	4	2	
		グレード+++	0	0	0	0	2	0	0	0	
		合計	14	8	9	19	21	20	16	↓8	
空胞化		17	↓7	8	11	5	12	5	7		
血管拡張		グレード+/-	0	0	0	0	2	0	0	1	
		グレード+	2	7	5	4	7	4	5	13	
		グレード++	1	3	0	1	0	↑6	4	4	
		グレード+++	0	1	0	0	0	0	0	0	
	合計	3	↑11	5	5	10	10	9	18		

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

- : 該当なし

グレード+/- : 軽微、グレード+ : 軽度、グレード++ : 中等度、グレード+++ : 重度

(申請者註 : 同時期に Inveresk 社で行なわれた、ラット繁殖試験で用いられたグレードの定義を表記した。)

表 2-4 非腫瘍性病変-発がん性群

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000	
	臓器	所見									
全動物	肺	検査動物数		50	50	50	50	49	50	50	50
		限局性肺炎	グレード+/-	1	0	1	0	0	1	2	1
			グレード+	6	5	6	19	3	4	8	14
			グレード++	4	1	1	5	2	2	3	1
			グレード+++	1	0	0	0	1	0	0	1
			合計	12	6	8	↑24	6	7	13	↑17
	血管周囲性炎症細胞浸潤		6	3	1	6	7	3	5	4	
	脾臓	検査動物数		50	50	50	50	49	50	50	50
		髓外造血	グレード+/-	0	0	0	0	0	1	0	0
			グレード+	11	14	11	5	11	12	20	7
			グレード++	8	2	2	5	2	7	8	2
			グレード+++	1	1	1	0	3	0	0	5
			合計	20	17	14	↓10	16	20	↑28	14
		ヘミデリン沈着	グレード+/-	0	5	4	0	0	3	1	0
			グレード+	8	9	10	12	17	↓8	24	18
			グレード++	7	7	11	10	10	18	14	↑23
			グレード+++	0	0	2	0	1	1	2	2
	合計		15	21	↑27	22	28	30	↑41	↑43	
	乳腺	検査動物数		49	24	19	50	49	20	21	50
		分泌物		17	10	10	10	37	16	16	33
甲状腺	検査動物数		49	23	18	49	49	20	21	50	
	拡張性/嚢胞状濾胞		6	1	2	4	2	2	1	8	

Fisher の正確検定 ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

— : 該当なし

グレード+/- : 軽微、グレード+ : 軽度、グレード++ : 中等度、グレード+++ : 重度

(申請者註 : 同時期に Inveresk 社で行なわれた、ラット繁殖試験で用いられたグレードの定義を表記した。)

表3 腫瘍性病変－慢性毒性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
慢性毒性群	脳	検査動物数	20	1	0	20	20	0	0	20
		神経膠腫 (M)	0	0	-	0	0	-	-	1
慢性毒性群	下垂体	検査動物数	20	1	0	20	20	0	0	20
		腺腫 (B)	0	0	-	2	2	-	-	3
		腺癌 (M)	0	0	-	1	0	-	-	0
全動物	甲状腺	検査動物数	20	1	0	20	20	0	0	20
		C-細胞腺腫 (B)	0	0	-	1	0	-	-	0
全動物	子宮	検査動物数					20	0	0	20
		ポリープ (B)					1	-	-	0

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

表 4-1 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
死亡・切迫殺	腹腔	検査動物数	1	1	2	1	0	2	0	1
		線維腫 (B)	0	0	1	0	-	0	-	0
		中皮腫 (M)	0	0	1	0	-	0	-	1
	包皮腺	検査動物数	2	2	1	0				
		腺腫 (B)	0	0	1	-				
		癌 (M)	1	0	0	-				
	副腎	検査動物数	25	24	19	19	21	20	21	23
		褐色細胞腫 (B)	3	2	0	2	0	1	1	0
	骨	検査動物数	0	1	0	0	0	0	1	0
		転移性骨肉腫 (M)	-	1	-	-	-	-	0	-
	脳	検査動物数	25	24	19	19	21	20	21	23
		神経膠腫 (M)	1	1	0	1	0	0	0	1
	子宮頸管	検査動物数					0	1	0	0
		多発性間質性肉腫 (M)					-	1	-	-
	眼球	検査動物数	18	18	14	15	15	15	16	20
		シュワン細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	25	24	19	19	22	20	21	23
		肝細胞腺腫 (B)	1	1	0	0	1	0	1	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	2	0	0	0	0
		胆管癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	25	24	19	19	21	20	21	23
		肺泡/細気管支腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	リンパ網内/造血系	検査動物数	1	0	1	4	1	1	0	0
		組織球性肉腫 (M)	1	-	1	2	1	1	-	-
		リンパ腫 (M)	0	-	0	2	0	0	-	-
	乳腺	検査動物数	25	24	19	19	21	20	21	23
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	6	6	10	6
腺腫 (B)		0	0	0	0	0	1	2	0	
癌 (M)		0	0	0	0	1	0	3	2	
腸間膜	検査動物数	25	23	19	18	21	20	21	23	
リンパ節	血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	1	0	

Fisher の正確検定 ↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、

- : 該当なし

表 4-2 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
死亡・切迫殺	膵臓	検査動物数	25	24	19	19	20	20	21	23
		島細胞腺腫 (B)	2	0	1	1	0	0	0	1
	咽頭	検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	0	-	-	-
	下垂体	検査動物数	24	24	19	19	21	20	21	23
		腺腫 (B)	17	17	16	12	14	↑19	16	16
		癌 (M)	0	1	1	1	3	1	2	3
	前立腺	検査動物数	25	24	19	19				
		癌 (M)	1	0	0	0				
	骨格筋	検査動物数	25	24	19	19	22	20	21	23
		横紋筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚/皮下	検査動物数	25	24	19	19	22	20	21	23
		皮脂腺腫瘍 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		毛嚢上皮腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		多発性シュワン細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		線維腫 (B)	5	1	4	0	1	0	2	0
		脂肪腫 (B)	1	1	0	1	0	0	0	0
		皮内石灰化上皮腫 (B)	4	1	4	2	0	0	0	0
		基底細胞腫瘍 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		シュワン細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		線維肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	1
	脊髄	検査動物数	25	24	19	19	22	20	21	23
		神経膠腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	検査動物数	25	24	19	19	21	20	21	23
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	胃	検査動物数	23	23	19	16	19	20	21	23
癌 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0	

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

表 4-3 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
死亡・切迫殺	精巣	検査動物数	25	24	19	19				
		間細胞腺腫 (B)	1	0	0	0				
	甲状腺	検査動物数	24	23	18	18	21	20	21	23
		濾胞細胞腺腫 (B)	1	3	4	1	0	0	2	1
		C-細胞腺腫 (B)	0	1	2	1	0	3	↑8	0
	子宮	検査動物数					21	20	21	23
		ポリープ (B)					0	0	2	1
		間質肉腫 (M)					0	0	1	2
		扁平上皮癌 (M)					2	0	0	1
		転移性子宮内膜癌 (M)					0	1	0	0
	膈	検査動物数					1	0	1	0
		ポリープ (B)					1	-	0	-
	血管系	検査動物数	2	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	2	-	-	1	-	-	-	-
	最終屠殺	腹腔	検査動物数	1	0	0	1	1	0	0
脂肪腫 (B)			0	-	-	0	0	-	-	1
中皮腫 (M)			0	-	-	1	1	-	-	0
副腎		検査動物数	25	0	2	31	28	0	0	27
		褐色細胞腫 (B)	5	-	0	3	1	-	-	0
		皮質腺腫 (B)	1	-	0	0	1	-	-	0
		転移性皮質癌 (M)	0	-	2	0	0	-	-	0
		褐色細胞腫 (M)	0	-	0	1	0	-	-	0
脳		検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
		顆粒細胞腫瘍 (B)	0	-	-	0	1	-	-	0
		転移性神経膠腫 (M)	1	-	-	0	0	-	-	0
子宮頸管		検査動物数					1	0	0	0
		ポリープ (B)					1	-	-	-
心臓		検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
		壁在性シュワン細胞腫(B)	0	-	-	1	0	-	-	1
腎臓	検査動物数	25	26	31	31	28	30	29	27	
	脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

表 4-4 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
最終屠殺	肝臓	検査動物数	25	26	31	31	28	30	29	27
		肝細胞腺腫 (B)	1	1	1	4	1	1	3	2
		肝細胞癌 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	検査動物数	24	0	0	31	28	0	0	27
		線維腺腫 (B)	0	-	-	0	11	-	-	15
		腺腫 (B)	0	-	-	0	2	-	-	0
		癌 (M)	0	-	-	0	3	-	-	3
	腸間膜リンパ節	検査動物数	24	0	0	31	28	0	0	27
		血管腫 (B)	1	-	-	0	0	-	-	0
	口	検査動物数	0	0	0	2	1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	-	-	-	0	1	-	-	-
	膵臓	検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
		島細胞腺腫 (B)	3	-	-	1	0	-	-	3
		島細胞癌 (M)	1	-	-	0	0	-	-	0
	下垂体	検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
		腺腫 (B)	16	-	-	19	22	-	-	21
		癌 (M)	2	-	-	1	1	-	-	2
	前立腺	検査動物数	25	-	-	31				
		腺腫 (B)	1	-	-	0				
	皮膚/皮下	検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
		皮脂腺腫瘍 (B)	0	-	-	1	0	-	-	0
		乳頭腫 (B)	2	-	-	2	0	-	-	0
		線維腫 (B)	3	-	-	6	2	-	-	4
		脂肪腫 (B)	0	-	-	1	0	-	-	1
		皮内石灰化上皮腫 (B)	6	-	-	4	1	-	-	0
		基底細胞腫瘍 (M)	0	-	-	1	1	-	-	0
		転移性シュワン細胞腫(M)	0	-	-	1	0	-	-	0
		線維肉腫 (M)	2	-	-	1	0	-	-	0
精巣	検査動物数	25	0	0	31					
	間細胞腺腫 (B)	2	-	-	4					

Fisher の正確検定 ↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

表 4-5 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
最終屠殺	甲状腺	検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
		濾胞細胞腺腫 (B)	1	-	-	3	0	-	-	2
		C-細胞腺腫 (B)	5	-	-	5	2	-	-	4
		C-細胞癌 (M)	0	-	-	1	1	-	-	0
	膀胱	検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
		移行上皮乳頭腫 (B)	0	-	-	0	0	-	-	1
	子宮	検査動物数					28	0	0	27
		ポリープ (B)					4	-	-	2
		子宮内膜腺腫 (B)					0	-	-	1
		扁平上皮癌 (M)					0	-	-	1
全動物	腹腔	検査動物数	2	1	2	2	1	2	0	2
		線維腫 (B)	0	0	1	0	0	0	-	0
		脂肪腫(B)	0	0	0	0	0	0	-	1
		中皮腫 (M)	0	0	1	1	1	0	-	1
	包皮腺	検査動物数	2	2	1	2				
		腺腫 (B)	0	0	1	0				
		癌 (M)	1	0	0	0				
	副腎	検査動物数	50	24	21	50	49	20	21	50
		皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	1	0	0	0
		褐色細胞腫 (B)	8	2	0	5	1	1	1	0
		転移性皮質癌 (M)	0	0	2	0	0	0	0	0
		褐色細胞腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	骨	検査動物数	0	1	0	0	0	0	1	0
		転移性骨肉腫 (M)	-	1	-	-	-	-	0	-
	脳	検査動物数	50	24	19	50	49	20	21	50
		顆粒細胞腫瘍 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		神経膠腫 (M)	2	1	0	1	0	0	0	1
	眼球	検査動物数	43	18	14	46	43	15	16	47
		シュワン細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0

Fisher の正確検定 ↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

表 4-6 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
全動物	甲状腺	検査動物数	25	0	0	31	28	0	0	27
	子宮頸管	検査動物数					1	1	0	0
		ポリープ (B)					1	0	-	-
		多発性間質性肉腫 (M)					0	1	-	-
	心臓	検査動物数	50	24	19	50	48	20	21	50
		壁在性シュワン細胞腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	1
	腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫 (B)	2	2	1	4	2	1	4	2
		肝細胞癌 (M)	1	0	0	3	0	0	0	0
		胆管癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50
		肺泡/細気管支腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	リンパ	検査動物数	1	0	1	4	1	1	0	0
	網内/造血系	組織球性肉腫 (M)	1	-	1	2	1	1	-	-
		リンパ腫 (M)	0	-	0	2	0	0	-	-
	乳腺	検査動物数	49	24	19	50	49	20	21	50
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	17	6	10	21
		腺腫 (B)	0	0	0	0	2	1	2	0
		癌 (M)	0	0	0	0	4	0	3	5
	腸間膜	検査動物数	49	23	19	49	49	20	21	50
	リンパ節	血管腫 (B)	1	0	0	1	0	0	1	0
口	検査動物数	0	0	0	3	2	0	0	0	
	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	0	1	-	-	-	
膵臓	検査動物数	50	24	19	50	48	20	21	50	
	島細胞腺腫 (B)	5	0	1	2	0	0	0	4	
	島細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

表 4-7 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
全動物	咽頭	検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平細胞癌 (M)	-	-	-	-	1	-	-	-
	下垂体	検査動物数	49	24	19	50	49	20	21	50
		腺腫 (B)	33	17	16	31	36	19	16	37
		癌 (M)	2	1	1	2	4	1	2	5
	前立腺	検査動物数	50	24	19	50				
		腺腫 (B)	1	0	0	0				
		癌 (M)	1	0	0	0				
	骨格筋	検査動物数	50	24	19	50	50	20	21	50
		横紋筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚/ 皮下	検査動物数	50	24	19	50	50	20	21	50
		皮脂腺腫瘍 (B)	0	0	0	2	0	0	0	0
		毛嚢上皮腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		多発性シュワン細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		乳頭腫 (B)	3	0	0	2	0	0	0	0
		線維腫 (B)	8	1	4	6	3	0	2	4
		脂肪腫 (B)	1	1	0	2	0	0	0	1
		皮内石灰化上皮腫 (B)	10	1	4	6	1	0	0	0
		基底細胞腫瘍 (M)	1	0	0	1	1	0	0	0
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		シュワン細胞腫 (M)	0	0	0	1	0	1	0	0
		線維肉腫 (M)	2	1	0	1	0	0	0	1
	脊髄	検査動物数	50	24	19	50	50	20	21	50
		神経膠腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	胃	検査動物数	48	23	19	47	47	20	21	50
		癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

表 4-8 腫瘍性病変一発がん性群

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
	臓器	所見								
全動物	精巣	検査動物数	50	24	19	50				
		間細胞腺腫 (B)	3	0	0	4				
	甲状腺	検査動物数	49	23	18	49	49	20	21	50
		濾胞細胞腺腫 (B)	2	3	4	4	0	0	2	3
		C-細胞腺腫 (B)	5	1	2	6	2	3	8	4
		C-細胞癌 (M)	0	0	0	1	1	0	0	0
	膀胱	検査動物数	49	24	19	50	49	20	20	50
		移行上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	子宮	検査動物数					49	20	21	50
		子宮内膜腺腫 (B)					0	0	0	1
		ポリープ (B)					4	0	2	3
		間質肉腫 (M)					0	0	1	2
		扁平上皮癌 (M)					2	0	0	2
		転移性子宮内膜癌 (M)					0	1	0	0
	膣	検査動物数					1	0	1	0
		ポリープ (B)					1	-	0	-
	血管系	検査動物数	2	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	2	-	-	1	-	-	-	-
合計	供試動物数		50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	85	28	35	77	72	31	48	84
		悪性	17	6	7	17	16	5	6	17
	総腫瘍数		102	34	42	94	88	36	54	101
	担腫瘍動物数	良性	43	21	20	39	41	21	22	44
		悪性	17	6	5	16	13	5	5	15
	担腫瘍動物数		47	24	23	47	46	21	23	47

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

5) トリホリン原体のマウスを用いた飼料混入投与による 81 週間発がん性試験

(資料 No. T-22)

試験機関：E メルク 毒性研究所、
CH ベーリンガー研究所（ドイツ）

報告書作成年：1975 年

検体の純度：

供試動物：NMRI-EMD 系マウス、1 群雌雄各 40 匹、投与開始時週齢；雌雄 4～5 週齢
試験開始時平均体重；雄約 24 g、雌約 21 g

投与期間：81 週間（1973 年 3 月 27 日～1974 年 10 月 16 日）

投与方法：検体を 0、30、150 および 750 ppm の濃度で飼料に混入し、81 週間にわたって随時
摂食させた。検体を混入した飼料は週 1 回調製した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般症状および生死を毎日 2 回（週末は 1 回）観察した。

被毛粗剛、呼吸数増加、腹部膨満（リンパ節あるいは脾臓の腫大による）、限局性の脱毛および頸部、腋窩リンパ節の腫大等の症状がみられたが、いずれも検体投与に関連する異常所見とは認められなかった。従って、投与期間中に投与に起因した一般症状は認められなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	30	150	750
死亡率 (%)	雄	32.5	20.0	35.0	50.0
	雌	30.0	40.0	26.3	32.5

Fisher の正確検定実施

750 ppm 投与群の雄の死亡率において、有意差はみられなかったが他の群と比較して高い傾向がみられたが、平均寿命（生存期間）では対照群との間に差がみられなかったことから、有害な影響ではないと考えられる（途中死亡例の平均寿命は対照群の雄で 440 日、750 ppm 投与群の雄で 481 日）。

体重変化；全生存動物の体重を投与後 12 週までは毎週 1 回測定し、13～52 週までは 2 週間に 1 回およびその後試験終了時までは月 1 回測定した。

雌雄動物の平均体重の推移を以下の図に示した。

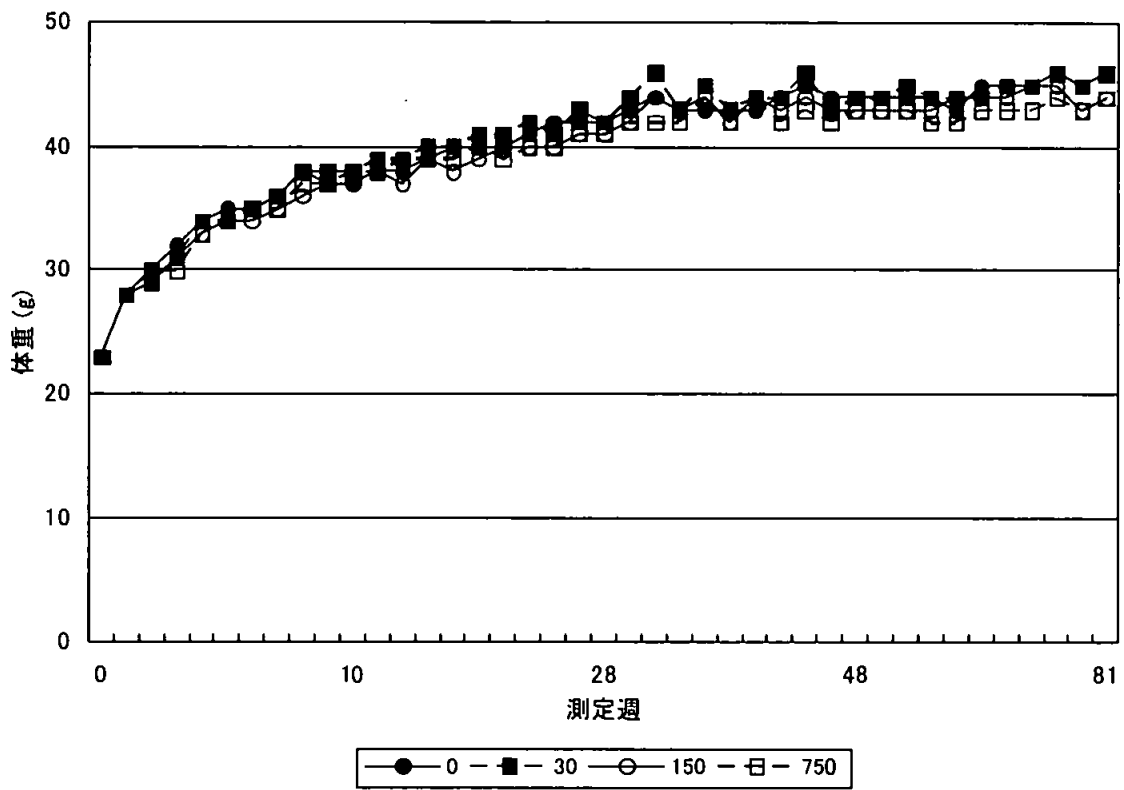


図1 雄の平均体重

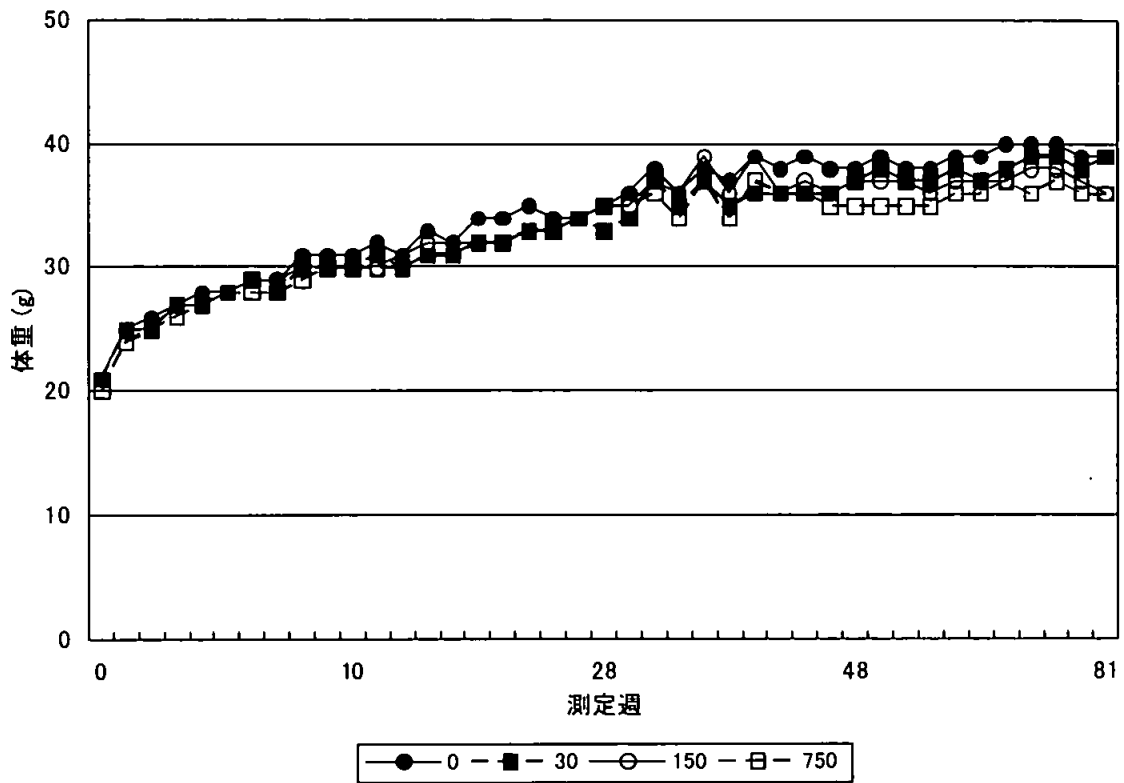


図2 雌の平均体重

150 および 750 ppm 投与群の雌雄の平均体重は、対照群に比してやや低い値を示したが、生物学的な意義はないものと考えられた。

[申請者註]

試験終了時の平均体重では、有意差は認められたが、実際の値はほぼ同程度であり、投与の影響はなかったと思われた。

摂餌量；試験期間中、週1回測定した。

対照群と比較して統計学的に有意な減少のみを次表に示す。

性別 投与量 (ppm)	雄			雌		
	30	150	750	30	150	750
1 週			↓96			↓91
12 週						↓91
14 週	↓96					
15 週		↓89				
20 週	↓93			↓92		
31 週			↓95	↓91	↓91	↓91
37 週			↓89			
44 週						↓90
57 週						↓95
60 週				↓92		↓92
61 週						↓93
62 週		↓93				
67 週					↓93	↓85
73 週			↓88			
77 週	↓89					
78 週						↓83
81 週		↓85				

Student の t 検定 ↑↓ : p≤0.05、↑↓ : p≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

対照群と比較した場合に各投与群の摂餌量は、試験期間を通じて有意な増加を示し、有意な減少は、散発的であった。全体として、試験期間を通じて対照群と各投与群間に摂餌量の顕著な差は認められなかったことから、検体投与の影響はないものと考えられた。

検体摂取量；摂餌量および飼料中の検体濃度から算出した投与第 4、8、14、26、52 および 80 週時における検体摂取量 (mg/kg/日) は以下の通りである。

投与量 (ppm)		30	150	750	
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4週	6.4	31.8	166
		8週	5.2	27.5	140
		14週	4.8	25.4	129
		26週	4.5	23.0	112
		52週	3.7	18.8	99
		80週	3.8	19.9	98
		平均*	4.7	24.4	124
	雌	4週	7.4	37.2	186
		8週	6.0	30.0	155
		14週	5.9	28.1	148
		26週	5.2	26	130
		52週	4.4	21.5	116
		80週	4.7	24.7	117
		平均*	5.6	27.9	142

*: 申請者の計算による (各測定週の検体摂取量の合計を測定週の合計 (6) で割って算出した)

肉眼的病理検査; 試験終了時 (81 週) における全生存動物および途中死亡・切迫殺動物を対象に剖検した。認められた主な剖検所見を表 1 に示す。

胸腺、脾臓および肝臓の腫大とリンパ節のび慢性腫大が認められた。肺実質には充実性灰白色病巣がみられた。さらに乳腺、卵巣、子宮、精巣、肝臓、肺および胃に散発的に腫瘍が認められた。

[申請者註]

これらの所見は 750 ppm 投与群の発現頻度が対照群より 1-2 例増加したに過ぎず、検体投与の影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査; 自己融解が認められた動物又は臓器を除いて、全動物の以下の組織について常法に従って病理標本を作製し、腫瘍性変化を鏡検・分類した。

心臓、肺、肝臓 (胆嚢を含む)、脾臓、腎臓 (副腎を伴う)、生殖器、膀胱、脳、腫瘍性変化と思われる肉眼的異常部位

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、良性および悪性腫瘍数が示す通り、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響は認められなかった。また、個々の腫瘍においても検体投与の影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

以上の結果から、本剤のマウスに対する 105 週間飼料混入投与による発がん性試験において、750 ppm までの濃度で腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかったため、発がん性に関する無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 750 ppm (雄平均 mg/kg/日、雌平均 mg/kg/日) と判断される。

表 1-1 剖検所見

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
死亡・ 切迫殺	肝臓	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		充実性褐色腫瘍	1	0	0	0	0	0	0	0
		多発性充実性病巣	0	0	1	0	0	0	0	0
		腫大	3	1	0	2	2	5	0	4
		多発性灰白色結節	1	0	0	0	0	0	0	0
		豚脂様灰白色結節	0	0	0	0	0	1	0	0
		限局性豚脂様結節	0	0	0	0	0	0	1	0
		多発性白色病巣	0	0	0	0	0	1	0	0
		多発性灰白色病巣	0	0	1	0	0	0	0	0
		灰白色浸潤部	0	0	2	0	0	0	1	0
		腫瘍(嚢胞)	0	0	1	0	0	0	0	0
	脾臓	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		腫大	7	3	5	2	5	6	2	6
		多発性充実性灰黄色病巣	0	0	0	0	0	0	0	1
	リン パ節	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		び慢性腫大	7	3	5	2	4	3	0	4
		腫大	0	0	0	0	0	0	1	2
	胸腺	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		腫大	2	1	2	0	2	0	0	2
	肺	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		多発性灰白色結節	1	0	0	0	0	0	0	0
		多発性豚脂様灰白色結節	0	0	0	0	0	1	0	0
		多発性豚脂様黄灰色結節	0	0	0	0	0	0	1	0
		限局性隆起性灰白色病巣	0	1	0	0	3	1	0	0
		隆起性灰白色病巣	0	0	1	0	0	0	0	0
		豚脂様隆起性灰白色病巣	0	0	0	1	0	0	0	0
	腫瘍	0	0	1	0	0	0	0	0	
	腸間 膜リン パ節	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		腫大	1	0	1	0	1	2	0	0
	胃	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		浸潤性灰白色腫瘍	0	1	0	0	0	0	0	0

表 1-2 剖検所見

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
死亡・ 切迫殺	卵巣	検査動物数					12	16	11	13
		腫大					0	1	0	0
		実質性灰白色					0	1	0	0
		多発性嚢胞					0	1	0	1
		出血					0	1	0	0
		腫瘍					0	1	0	0
		腫瘍性変性					0	0	0	1
	子宮	検査動物数					12	16	11	13
		腫瘍					0	1	0	0
	乳腺	検査動物数					12	16	11	13
		腫瘍					0	1	0	0
	腹膜	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		充実性灰白色腫瘍	0	0	0	0	0	0	1	0
	81 週 最 終 屠 殺	肝臓	検査動物数	26	31	26	19	27	21	26
クレーター状退縮部			0	0	0	1	0	0	0	0
うっ血性灰褐色腫瘍			0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓		検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26
		腫大	3	0	0	0	2	1	0	3
		増殖性白髄	0	0	0	0	1	0	0	2
リン パ節		検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26
		び慢性腫大	0	0	0	0	1	0	0	1
胸腺		検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26
		腫大	2	0	0	0	1	1	0	1
肺		検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26
		豚脂様隆起性灰白色病巣	0	0	0	0	0	0	0	1
		隆起性灰白色病巣	0	3	1	0	0	1	1	1
		灰白色腫瘍	0	0	1	0	0	0	0	0
	灰褐色病巣	0	1	0	0	0	0	0	0	
	隆起性灰褐色病巣	0	0	0	0	0	1	0	0	
	充実性隆起性灰白色病巣	0	0	1	0	0	0	0	2	
隆起性灰赤色病巣	0	0	0	0	0	0	2	0		

表 1-3 剖検所見

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
81 週 最 終 屠 殺	卵巣	検査動物数					27	21	26	26
		腫瘍性変性					1	0	0	0
	精巣	検査動物数	26	31	26	19				
		腫大	1	0	0	0				
		腫瘍	0	1	0	0				
	腎臓	検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26
嚢胞		0	0	1	0	0	0	0	0	
全 動 物	肝臓	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		充実性褐色腫瘍	1	0	0	0	0	0	0	0
		多発性充実性病巣	0	0	1	0	0	0	0	0
		腫大	3	1	0	2	2	5	0	4
		多発性灰白色結節	1	0	0	0	0	0	0	0
		豚脂様灰白色結節	0	0	0	0	0	1	0	0
		限局性豚脂様結節	0	0	0	0	0	0	1	0
		多発性白色病巣	0	0	0	0	0	1	0	0
		多発性灰白色病巣	0	0	1	0	0	0	0	0
		灰白色浸潤部	0	0	2	0	0	0	1	0
		腫瘍 (嚢胞)	0	0	1	0	0	0	0	0
		クレーター状退縮部	0	0	0	1	0	0	0	0
		うっ血性灰褐色腫瘍	0	0	0	0	0	0	1	0
	脾臓	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		腫大	10	3	5	2	7	7	2	9
		多発性充実性灰黄色病巣	0	0	0	0	0	0	0	1
		増殖性白髄	0	0	0	0	1	0	0	2
	リン パ 節	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		び漫性腫大	7	3	5	2	5	3	0	5
		腫大	0	0	0	0	0	0	1	2
胸腺	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39	
	腫大	4	1	2	0	3	1	0	3	

表 1-4 剖検所見

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
全 動 物	肺	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		多発性灰白色結節	1	0	0	0	0	0	0	0
		多発性豚脂様灰白色結節	0	0	0	0	0	1	0	0
		多発性豚脂様黄灰色結節	0	0	0	0	0	0	1	0
		限局性隆起性灰白色病巣	0	1	0	0	3	1	0	0
		隆起性灰白色病巣	0	3	2	0	0	1	1	1
		豚脂様隆起性灰白色病巣	0	0	0	1	0	0	0	1
		腫瘍	0	0	1	0	0	0	0	0
		灰白色腫瘍	0	0	1	0	0	0	0	0
		灰褐色病巣	0	1	0	0	0	0	0	0
		隆起性灰褐色病巣	0	0	0	0	0	1	0	0
		充実性隆起性灰白色病巣	0	0	1	0	0	0	0	2
		充実性隆起性灰赤色病巣	0	0	0	0	0	0	2	0
	腸間 膜リン パノ節	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		腫大	1	0	1	0	1	2	0	0
	胃	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		浸潤性灰白色腫瘍	0	1	0	0	0	0	0	0
	卵巣	検査動物数					27	21	26	26
		腫大					0	1	0	0
		実質性灰白色					0	1	0	0
		多発性嚢胞					0	1	0	1
		出血					0	1	0	0
		腫瘍 腫瘍性変性					0	1	0	0
	精巣	検査動物数	39	39	39	39				
		腫大	1	0	0	0				
		腫瘍	0	1	0	0				
	腎臓	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
嚢胞		0	0	1	0	0	0	0	0	

表 1-5 剖検所見

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
全 動 物	子宮	検査動物数					39	37	37	39
		腫瘍					0	1	0	0
	乳腺	検査動物数					39	37	37	39
		腫瘍					0	1	0	0
	腹膜	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		充実性灰白色腫瘍	0	0	0	0	0	0	1	0

表 2-1 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
死亡・ 切迫殺	全身	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		リンパ性白血病 (M)	2	1	3	2	2	4	0	2
		分類不能白血病 (M)	5	1	0	1	0	1	0	1
		細網細胞腫；タイプ A(M)	0	0	0	0	0	0	0	0
		細網細胞腫；タイプ B(M)	2	1	2	0	3	1	2	2
	肺	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		原発性肺腫瘍；タイプ A(*)	0	0	0	0	0	2	0	0
		原発性肺腫瘍；タイプ B(*)	0	0	0	1	0	0	0	0
		原発性肺腫瘍；タイプ I(*)	0	0	1	0	0	0	0	0
	卵巣	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		顆粒膜細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		悪性血管内皮腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	1
		多形細胞肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	肝臓	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		悪性血管内皮腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	子宮	検査動物数					12	16	11	13
		平滑筋肉腫 (M)					0	1	0	0
	骨	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	2	0
	乳腺	検査動物数					12	16	11	13
		腺癌 (M)					0	2	0	0
	胃	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		多形細胞肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脳	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13
		髄膜腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍、(*)：良性および悪性腫瘍

表 2-2 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750	
	臓器	所見									
81 週 最 終 屠 殺	全身	検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26	
		リンパ性白血病 (M)	4	0	0	0	1	0	0	0	
		細網細胞腫；タイプ A(M)	1	0	0	0	1	0	0	1	
		細網細胞腫；タイプ B(M)	0	0	0	0	0	0	0	2	
	肺	検査動物数	13	8	13	20	12	16	11	13	
		原発性肺腫瘍；タイプ A(*)	1	2	1	0	2	1	2	0	
		原発性肺腫瘍；タイプ B(*)	0	4	1	0	0	0	1	4	
		原発性肺腫瘍；タイプ I(*)	0	1	0	0	0	1	0	1	
	卵巣	検査動物数					27	21	26	26	
		顆粒膜細胞腫 (B)					1	0	0	0	
		平滑筋腫 (B)					1	0	0	0	
		未分化腺癌 (M)					1	0	0	0	
	膀胱	検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26	
		未分化移行上皮癌 (M)	0	1	3	0	1	1	0	0	
	肝臓	検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26	
		悪性血管内皮腫 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0	
	腎臓	検査動物数	26	31	26	19	27	21	26	26	
		腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
	精巣	検査動物数	26	31	26	19					
		間細胞腫 (B)	1	0	0	0					
		悪性血管内皮腫 (M)	0	1	0	0					
	子宮	検査動物数					27	21	26	26	
		平滑筋腫 (B)					2	0	0	0	
	全 動 物	全身	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
			リンパ性白血病 (M)	6	1	3	2	3	4	0	2
			分類不能白血病 (M)	5	1	0	1	0	1	0	1
			細網細胞腫；タイプ A(M)	1	0	0	0	1	0	0	1
			細網細胞腫；タイプ B(M)	2	1	2	0	3	1	2	4
肺		検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39	
		原発性肺腫瘍；タイプ A(*)	1	2	1	0	2	3	2	0	
		原発性肺腫瘍；タイプ B(*)	0	4	1	1	0	0	1	4	
		原発性肺腫瘍；タイプ I(*)	0	1	1	0	0	1	0	1	

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍、(*)：良性および悪性腫瘍

表 2-3 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
全 動 物	卵巣	検査動物数					39	37	37	39
		平滑筋腫 (B)					1	0	0	0
		悪性血管内皮腫 (M)					0	1	0	1
		多形細胞肉腫 (M)					0	1	0	0
		顆粒膜細胞腫 (M)					1	1	0	0
		未分化腺癌 (M)					1	0	0	0
	膀胱	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		未分化移行上皮癌 (M)	0	1	3	0	1	1	0	0
	肝臓	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		悪性血管内皮腫 (M)	0	0	1	1	0	0	1	0
	腎臓	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		腺癌 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	検査動物数	39	39	39	39				
		間細胞腫 (B)	1	0	0	0				
		悪性血管内皮腫 (M)	0	1	0	0				
	子宮	検査動物数					39	37	37	39
		平滑筋腫 (B)					1	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)					0	1	0	0
	骨	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	2	0
	乳腺	検査動物数					39	37	37	39
		腺癌 (M)					0	2	0	0
	胃	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		多形細胞肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脳	検査動物数	39	39	39	39	39	37	37	39
		髄膜腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

表 2-4 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750
	臓器	所見								
合計	供試動物数		40	40	40	40	40	40	40	40
	検査動物数*		39	39	39	39	39	37	37	39
	腫瘍数	良性	1	0	0	0	2	0	0	1
		悪性	16	13	13	5	12	17	8	14
	腫瘍総数		17	13	13	5	14	17	8	15
	担腫瘍動物数	良性	1	0	0	0	2	0	0	1
		悪性	16	13	12	5	11	14	8	13
担腫瘍動物数		17	13	12	5	12	14	8	14	

* : 申請者にて記載した。