

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

Ⅷ. 毒性

<毒性試験一覧表>

1. 原体を用いた試験成績

(網掛け部分の試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済み)

資料No. (IDNo.)	試験の種類 期間	供試 動物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録 頁
1 (1)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂10 ♀10	経口	♂ 1500, 1750, 2000, 2250 2500, 2750 ♀ 2000, 2250, 2500, 2750	♂ 2160 ♀ 2310	(1969年)	88
				皮下	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5,000 ♀ >5,000		
				腹腔内	♂ 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 ♀ 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200	♂ 880 ♀ 850		
2 (1)	急性毒性 14日間観察	マウス	♂10 ♀10	経口	♂ 1500, 2000, 2500, 3000 3500, 4000, 4500 ♀ 1000, 1500, 2000, 2500 3000, 3500, 4000	♂ 2750 ♀ 2220	(1969年)	89
				皮下	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000		
				腹腔内	♂ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 ♀ 700, 800, 900, 1000, 1100	♂ 825 ♀ 900		
3 (2)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂10 ♀10	経口	♂ 1500, 1750, 2000, 2250 2500, 2750 ♀ 1250, 1500, 1750, 2000 2250, 2500, 2750, 3000	♂ 2030 ♀ 2030	(1969年)	90
				皮下	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000		
				腹腔内	♂ 700, 800, 900, 1,000, 1100 1200, 1300 ♀ 700, 800, 900, 1000, 1100 1200, 1300, 1400	♂ 900 ♀ 980		
4 (2)	急性毒性 14日間観察	マウス	♂10 ♀10	経口	♂ 1600, 2,000, 2400, 2800 3200, 3600, 4000 ♀ 1500, 2000, 2500, 3000 3500, 4000, 4500, 5000	♂ 2750 ♀ 3000	(1969年)	92
				皮下	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000		
				腹腔内	♂ 500, 600, 700, 800, 900 1000 ♀ 400, 600, 800, 1000, 1000, 1200	♂ 745 ♀ 750		
5 (3)	急性毒性 7日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000	(1980年)	94
9 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	吸入	♂ 5.03 mg/L ♀ 5.03 mg/L	♂ >5.03 mg/L ♀ >5.03 mg/L	(1987年)	95
10 (参考)	刺激性	ウサギ	♂ 3	腹腔内に滴下	1, 10, 30, 50 %液を 0.1 cc	陰性	(1969年)	96
				胃内に投与	10 %液を 100, 300, 500 mg/kg	陰性		
				背部皮膚に塗布	10, 30, 50 %液を 0.1 cc	陰性		
				腹腔内に	0.01, 0.1, 1, 10, 20 %液を 0.1 cc	陰性		
13 (参考)	皮膚感作性	モルモット	♀ 10	頸下部腹 側に塗布	0.5 ml	陽性	(1981年)	97
省略	急性神経毒性試験	試験除外理由書						99

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

資料No. (IDNo.)	試験の種類 期間	供試 動物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録 頁
省略	急性遅発性神経毒 性試験	急性毒性試験等の他の試験成績から、当該農薬の有効成分がコリンエステラーゼ阻害性を有しないと認められるため、 試験成績提出の除外に該当						100
15 (4)	90日間反復経口投 与毒性	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 20, 100, 200, 400 ♀ 20, 100, 200, 400	♂ 20 ♀ 20	(1970年)	101
15 (4)	90日間反復経口投 与毒性	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 20, 200, 400 ♀ 20, 200, 400	♂ 算出不能 ♀ 算出不能	(1970年)	103
16 (5)	90日間反復経口投 与毒性	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 20, 100, 200, 400 ♀ 20, 100, 200, 400	♂ 20 ♀ 20	研 究所 (1970年)	105
16 (5)	90日間反復経口投 与毒性	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 20, 200, 400 ♀ 20, 200, 400	♂ 20 ♀ 算出不能	研 究所 (1970年)	107
34 (GLP)	90日間反復経口投 与毒性	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 6.71, 19.76, 66.94, 131.21 ♀ 7.44, 21.78, 66.97, 142.39 (♂♀ 100, 300, 1000, 2000ppm)	♂ 6.71 (100ppm) ♀ 21.78 (300ppm)	(2006 年)	109
35 (GLP)	90日間反復経口投 与毒性	イヌ	♂ 4 ♀ 4	経口	♂ 5, 15, 50 ♀ 5, 15, 50	♂ 15 ♀ 15	財食品農医薬品安 全性評価センター (1998 年)	125
省略	21日間反復経皮投 与毒性	急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験成績提出の除外に該当						...
省略	90日間反復吸入毒性	急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験成績提出の除外に該当						136
省略	反復経口投与 神経毒性	試験成績提出除外理由書						137
省略	28日間反復経口投 与遅発性神経毒性	急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと認められるため、試験成績提出の除外に該当						138
17 (7)	1年間反復経口投 与毒性及び発がん 性 (104週)	ラット	♂ 12 ♀ 12	飼料混入	♂ 0.3, 1.4, 3.2, 5.9, 30.5, 61.2 ♀ 0.3, 1.6, 3.4, 6.4, 33.2, 65.7 (♂♀ 5, 25, 50, 100, 500, 1000ppm)	♂ 5.9 (100ppm) ♀ 6.4 (100ppm)	(1972年)	139
18 (6)	1年間反復経口投 与毒性及び発がん 性 (100週)	マウス	♂ 12 ♀ 12	飼料混入	♂ 0.7, 3.5, 6.3, 14.9, 65.8, 149.2 ♀ 0.7, 3.7, 7.0, 16.3, 73.6, 170.6 (♂♀ 5.7, 28.5, 57, 114, 570, 1140ppm)	♂ 14.9 (114ppm) ♀ 16.3 (114ppm)	(1972年)	146
19 (9)	1年間反復経口投 与毒性及び発がん 性 (104週)	ラット	♂ 40 ♀ 40	飼料混入	♂ 2, 4, 22, 44 ♀ 2, 5, 27, 55 (♂♀ 50, 100, 500, 1000ppm)	♂ 2 (50ppm) ♀ 2 (50ppm)	(1982年)	151
20 (8)	1年間反復経口投 与毒性及び発がん 性 (104週)	マウス	♂ 40 ♀ 40	飼料混入	♂ 7, 14, 76, 148 ♀ 7, 15, 84, 183 (♂♀ 50, 100, 500, 1000ppm)	♂ 7 (50ppm) ♀ 7 (50ppm)	(1982 年)	151
36 (GLP)	1年間反復経口投与 毒性 (12ヶ月)	イヌ	♂ 4 ♀ 4	経口	♂ 1, 5, 25 ♀ 1, 5, 25	♂ 1 ♀ 1	(1998年)	165
21 (10)	繁殖毒性 2世代	マウス	♂ 23-25 ♀ 22-24	飼料混入	♂♀ 1.1, 11.2, 110.2 (♂♀ 6, 60, 600ppm)	親動物: 1.1 (6ppm) 胎児 (仔): 11.2 (60ppm) 繁殖能: 110.2 (600 ppm) 催奇形性なし	(1976年)	173
49 (GLP)	繁殖毒性 2世代	ラット	♂ 24 ♀ 24	飼料混入	P世代: ♂ 2.79, 11.1, 45.7 ♀ 4.55, 17.9, 71.4 F1世代: ♂ 3.22, 12.7, 53.9 ♀ 4.83, 19.3, 77.9 (♂♀ 50, 200, 800ppm)	親動物・児動物: P♂ 11.1, ♀ 17.9 F1♂ 12.7, ♀ 19.3 (200ppm) 繁殖能: P♂ 45.7, ♀ 71.4 F1♂ 53.9, ♀ 77.9 (800 ppm)	研究所 (2015年)	180
23 (GLP)	催奇形性 (11日間投与)	ラット	♀ 25	強制経口	2, 20, 200	母動物: 20 胎児: 20 催奇形性なし	(1986)	194

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

資料No. (IDNo.)	試験の種類 期間	供試 動物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録 頁	
22 (GLP)	催奇形性 (13日間投与)	ウサギ	♀ 17	強制経口	2, 8, 32	母動物: 8 胎児: 8 催奇形性なし	(1987)	197	
24 (11)	変異原性 復帰突然変異	復帰変異試験	サルモネラ菌 大腸菌		1, 5, 10, 50, 100, 500 1000, 5000 (µg/disk)	陰性	(1978)	200	
		DNA 修復試験	枯草菌		20, 100, 200, 500, 1000, 2000 (µg/disk)	陰性		202	
50 (GLP)	変異原性 復帰突然変異	ネisseria菌 TA100, TA1535 TA98, TA1537 大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>	試験Ⅰ: 非代謝活性化、代謝活性化とも 6.9, 20.6, 61.7, 185, 556, 1667, 5000 µg/プレート 試験Ⅱ: 非代謝活性化、代謝活性化とも 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート			陰性	(2012年)	203	
24-2 (GLP)	変異原性 染色体異常	染色体異常 誘発性		ヒト リンパ球	25, 50, 100, 200 (µg/mL)	陰性	(1989年)	206	
51 (GLP)	変異原性 染色体異常	CHL/IU細胞	短時間処理法: 非代謝活性化 50, 100, 200 µg/mL 短時間処理法: 代謝活性化 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL 連続処理法(24時間処理): 非代謝活性化 40, 80, 160 µg/mL			陰性	(2012年)	209	
37 (GLP)	変異原性 小核	マウス	♂ 5	経口	500, 1000, 2000	陰性	(2004)	212	
27	生 体 機 能 に 及 ぼ す 影 響	マウス	一般症状	♂ 10	経口	50, 100	100	(1990年)	214
			自発運動量	♂ 20	経口	100	100		
			筋弛緩作用 (傾斜板法)	♂ 10	経口	50, 100	100		
			筋弛緩作用 (懸垂法)	♂ 10	経口	50, 100	100		
			協調運動 障害作用	♂ 10	経口	50, 100	100		
			抗痙攣作用 (抗ベンゾジアゼパ ン作用)	♂ 10	経口	50, 100	100		
			抗痙攣作用 (抗バクロピ ン作用)	♂ 10	経口	50, 100	100		
			睡眠延長作用	♂ 10	経口	50, 100	100		
		鎮痛作用	♂ 5	経口	25, 50, 100	100			
		正常体温への 作用	ラット	♂ 5	経口	50, 100	50		
		呼吸・循環器系 に対する作用	イヌ	♀ 3	—	100, 200	200		
		体性神経系に 対する作用	ラット	♂ 3	—	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ g/mL	10 ⁻⁶ g/mL		
自律神経系に 対する作用	モルモット	♂ 6	—	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ g/mL	10 ⁻⁶ g/mL				
消化器系に対 する作用	マウス	♂ 9-10	経口	50, 100	100				

2. 代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 ・期間	供試動物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性 量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載 頁
52 (GLP)	代謝物 PBZ-M4 急性毒性 14日間観察	ラット	♀ 3	強制経口	♀: 2000	♀ >2000	(2012年)	219
53 (GLP)	代謝物 PBZ-M4 変異原性 復帰突然変異	ネisseria菌 TA100, TA1535 TA98, TA1537 大腸菌 WP2 <i>uvrA</i>	試験Ⅰ: 非代謝活性化、代謝活性化とも 61.7, 185, 556, 1667, 5000 µg/プレート 試験Ⅱ: 非代謝活性化、代謝活性化とも 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート			陰性	(2012年)	220

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

3. 製剤を用いた試験成績

(網掛け部分の試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済み)

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
6 (GLP)	急性毒性 (8%粒剤) 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000	(1987年)	123
7 (GLP)	急性毒性 (8%粒剤) 14日間観察	マウス	♂ 10 ♀ 10	経口	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000	(1987年)	224
8 (GLP)	急性毒性 (8%粒剤) 14日間観察	ラット	♂ 10 ♀ 10	経皮	♂ 2000 ♀ 2000	♂ >2000 ♀ >2000	(1987年)	225
12 (GLP)	皮膚刺激性 (8% 粒剤) 72時間観察	ウサギ	♂ 6	背部貼付	500 mg/1 部位	陰性	(1986年)	226
11 (GLP)	眼刺激性 (8% 粒剤) 72時間観察	ウサギ	非洗眼♂6 洗眼 ♂3	点眼	100 mg/1 眼	わずかな刺激性 洗眼効果あり	(1986年)	227
14 (GLP)	皮膚感作性 (8% 粒剤)	モット	♂ 20	皮内投与 貼付投与 貼付惹起	皮内投与 1% 液 貼付投与 30% 軟膏 貼付惹起 30% 軟膏	陽性	(1986年)	229
28 (GLP)	急性毒性 (20%粒剤) 14日間観察	ラット	♂ 20 ♀ 20	経口	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000	(1992年)	232
29 (GLP)	急性毒性 (20%粒剤) 14日間観察	マウス	♂ 20 ♀ 20	経口	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000	(1992年)	233
30 (GLP)	急性毒性 (20%粒剤) 14日間観察	ラット	♂ 20 ♀ 20	経皮	♂ 2000 ♀ 2000	♂ >2000 ♀ >2000	(1992年)	234
32 (GLP)	皮膚刺激性 (20% 粒剤) 72時間観察	ウサギ	♂ 6	背部貼付	500 mg/1 部位	陰性	(1992年)	235
31 (GLP)	眼刺激性 (20% 粒剤) 72時間観察	ウサギ	非洗眼♂6 洗眼 ♂3	点眼	100 mg/1 眼	陰性	(1992年)	236
33 (GLP)	皮膚感作性 (20% 粒剤)	モット	♂ 20	貼付感作 貼付惹起	50% 検体混合剤 50% 検体混合剤	陰性	(1992年)	237
38 (GLP)	急性毒性 (48%水和剤) 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経口	♂♀ 1638, 2048, 2560, 3200, 4000, 5000	♂♀ 2, 62	(1997年)	238
39 (GLP)	急性毒性 (48%水和剤) 14日間観察	マウス	♂ 5 ♀ 5	経口	♂ 5000 ♀ 5000	♂ >5000 ♀ >5000	(1997年)	240
40 (GLP)	急性毒性 (48%水和剤) 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂ 2000 ♀ 2000	♂ >2000 ♀ >2000	(1997年)	241
41 (GLP)	皮膚刺激性 (48%水和剤) 72時間観察	ウサギ	♀ 6	背部貼付	500 mg/1 部位	陰性	(1997年)	242
42 (GLP)	眼刺激性 (48%水和剤) 72時間観察	ウサギ	非洗眼♀6 洗眼 ♀3	点眼	100 mg/1 眼	軽度の刺激性 洗眼効果あり	(1997年)	243
43 (GLP)	皮膚感作性 (48%水和剤)	モット	♀ 10	貼付感作 貼付惹起	50% 溶液 50% 溶液	陰性	(1997年)	245

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 ・期間	供試動物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載 頁
44 (GLP)	急性毒性 (40%粒剤) 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経口	♂ 2000 ♀ 2,000	♂ >2000 ♀ >2000	(2001年)	247
45 (GLP)	急性毒性 (40%粒剤) 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂ 2000 ♀ 2000	♂ >2000 ♀ >2000	(2001年)	248
46 (GLP)	皮膚刺激性 (40% 粒剤) 72時間観察	ウサギ	♂ 3	背部貼付	500 mg/1 部位	陰性	(2001年)	249
47 (GLP)	眼刺激性 (40% 粒剤) 72時間観察	ウサギ	非洗眼 ♂1 ♀2 洗眼 ♂3	点眼	100 mg/1 眼	軽度の刺激性 洗眼効果あり	(2001年)	250
48 (GLP)	皮膚感作性 (40% 粒剤)	モモット	♂ 20	貼付投与 貼付惹起	貼付投与 75 % 液 貼付惹起 75 % 液	陰性	(2001年)	252

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

1. 原体を用いた試験

1) 急性毒性

(1) 急性経口、経皮、皮下、腹腔内毒性

ラットにおける急性経口、皮下及び腹腔内毒性試験

(資料 1)

試験機関

報告書作成年 1969 年

検体の純度：プロペナゾール

試験動物：Wistar 系ラット (5 週令)、1 群 雌雄各 10 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：経口、皮下及び腹腔内投与では、検体は 5%アラビアゴム液で懸濁して投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。

結果：

投与方法	経口	皮下
投与量 (mg/kg)	♂ 1500, 1750, 2000, 2250, 2500, 2750 ♀ 2000, 2250, 2500, 2750	♂ 5000 ♀ 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 2160 ♀ 2310 (1928.6~2419.2) (2179.3~2448.6)	♂♀ > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	4 日~11 日	死亡例なし
症状発現 及び消失時間	投与 10 分~消失時間記載なし	投与直後~24 時間
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 1500	死亡例の認められなかった最高投与量 5000
投与方法	腹腔内	
投与量 (mg/kg)	♂ 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 ♀ 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 880 ♀ 850 (789.2~981.2) (732.8~986.0)	
死亡開始時間 及び終了時間	1 日~2 日	
症状発現 及び消失時間	投与直後~消失時間記載なし	
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 600	

中毒症状としては、雌雄ともに経口投与では自発運動減退、沈うつ状態、体重減少、立毛等が観察された。皮下投与では投与部位を咬み、疼痛に耐えるような状態が観察された。腹腔内投与では、自発運動減退、呼吸浅表、沈うつ状態となり、体重減少、立毛、衰弱が著明であった。各投与経路における毒性を比べると、腹腔内投与において最も強く現れた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(2) マウスにおける急性経口、皮下及び腹腔内毒性試験

(資料 2)

試験機関

報告書作成年 1969 年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：dd 系マウス (5 週令)、1 群 雌雄各 10 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：経口、皮下及び腹腔内投与では、検体は 5%アラビアゴム液で懸濁して投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。

結果：

投与方法	経口	皮下
投与量 (mg/kg)	♂ 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 ♀ 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000	♂ 5000 ♀ 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 2750 ♀ 2220 (2330.5~3245.0) (1734.4~2841.6)	♂♀ > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	2日~8日	死亡例なし
症状発現 及び消失時間	投与5分~消失時間記載なし	投与直後~24時間
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 1000	死亡例の認められなかった最高投与量 5000
投与方法	腹腔内	
投与量 (mg/kg)	♂ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 ♀ 700, 800, 900, 1000, 1100	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 825 ♀ 900 (736.6~924.0) (844.3~959.4)	
死亡開始時間 及び終了時間	2日~4日	
症状発現 及び消失時間	1分~消失時間記載なし	
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 500	

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動減退、沈うつ状態、体重減少、立毛等が観察された。

各投与経路における毒性を比べると、腹腔内投与において最も強く現れた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(3) ラットにおける急性経口、皮下及び腹腔内毒性試験

(資料 3)

試験機関

報告書作成年 1969 年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：Donryu 系ラット (5 週令)、1 群 雌雄各 10 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：経口、皮下及び腹腔内投与では、検体は 5%アラビアゴム液で用いて懸濁して投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。

死亡動物については、発見後直ちに肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	皮下
投与量 (mg/kg)	♂ 1500, 1750, 2000, 2250, 2500, 2750 ♀ 1250, 1500, 1750, 2000, 2250, 2500, 2750, 3000	♂ 5000 ♀ 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 2030 雌 2030 (1871.0~2206.6) (1761.2~2233.6)	♂♀ > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	2 日~5 日	死亡例なし
症状発現 及び消失時間	投与 10 分~消失時間記載なし	投与直後~24 時間
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 1250	死亡例の認められなかった最高投与量 5000
投与方法	腹腔内	
投与量 (mg/kg)	♂ 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300 ♀ 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 900 雌 980 (803.6~1008.0) (892.5~1076.0)	
死亡開始時間 及び終了時間	2 日	
症状発現 及び消失時間	5 分~消失時間記載なし	
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 700	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

中毒症状としては、雌雄に関係なく経口投与では運動失調及び全身の振せんが観察され、皮下投与では投与部位に疼痛があるような動作を示した。また、腹腔内投与では運動失調、沈うつ状態及び全身の振せん等が観察された。

各投与群における毒性を比べると腹腔内投与において最も強く現れた。

解剖所見では、経口投与では高投与量の死亡動物で肺出血、脾萎縮、副腎充血等が認められ、腹腔内投与では高投与量の死亡動物で肺出血、腎充血、脾萎縮等が認められた。

皮下投与では著変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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(4) マウスにおける急性経口、皮下及び腹腔内毒性試験

(資料4)

試験機関

報告書作成年 1969年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：ICR系マウス（5週令）、1群 雌雄各10匹

試験期間：14日間観察

投与方法：経口、皮下及び腹腔内投与では、検体は5%アラビアゴム液を用いて懸濁して投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。

死亡動物については発見後直ちに肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	皮下
投与量 (mg/kg)	♂ 1600, 2000, 2400, 2800, 3200, 3600, 4000 ♀ 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000	♂ 5000 ♀ 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 2750 ♀ 3000 (2350.4~3217.5) (2439.0~3690.0)	♂♀ > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	2日~8日	死亡例なし
症状発現 及び消失時間	投与1分~消失時間記載なし	投与直後~24時間
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 1600	死亡例の認められなかった最高投与量 5000
投与方法	腹腔内	
投与量 (mg/kg)	♂ 500, 600, 700, 800, 900, 1000 ♀ 400, 600, 800, 1000, 1100, 1200	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 745 ♀ 750 (666.4~832.9) (641.0~877.5)	
死亡開始時間 及び終了時間	1~2日	
症状発現 及び消失時間	5分~消失時間記載なし	
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 500	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

中毒症状としては、雌雄に関係なく経口投与では運動失調及び酩酊状歩行が観察され、皮下投与では投与部位に疼痛があるような動作を示した。

また、腹腔内では運動失調、沈うつ状態等を観察した。各投与群における毒性を比べると腹腔内投与において最も強く現れた。

解剖所見では、経口及び皮下投与では著変は認められなかった。腹腔内投与では高投与の死亡動物で肺うっ血または出血、脾萎縮等が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(5) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料5)

試験機関

報告書作成年 1980年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：Wistar系ラット（8週令）1群 雌雄各10匹

試験期間：7日間観察

方法：検体に親水性軟膏を加えてペースト状とし、リンネル布に塗り、剪毛した背部中央に塗布した。

試験項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について解剖し、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♂ 5000、♀ 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂♀ > 5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間症状	中毒症状観察されず
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 ♂♀ 5000

中毒症状は雌雄とも観察されなかった。皮膚に対する刺激性は認められなかった。塗布部位に軽度の発赤が認められたが、2日後に消失した。解剖所見では異常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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(6) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 9)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1987 年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：F344/DuCrj (Fischer) 系ラット (6 週令) 1 群雌雄 5 匹

試験期間：14 日間観察

方 法：

実際濃度；5.03 mg/l

設定濃度；約 83.9 mg/l

粒子径分布；空気力学的質量中位径 14.2 μ m

粒径 10 μ m 以下の粒子を 20%以上含む分布であり吸入可能であった。

(申請者注)

暴露条件；チャンバー容積約 25 l

通気量；約 38 l/min

噴射圧；2 kgf/cm²

ダストフィーダーDF-5S (柴田科学機器工業) で発生させた検体のダストにより 4 時間鼻部を暴露した。対照群としてクリーンエア吸入群を通気した。

試験項目：暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状、体重及び生死を観察した。

試験終了時の全生存動物について、剖検及び光顕病理検査を実施した。

結 果：

性	LC ₅₀ 値 mg/l (95%信頼限界)	死亡開始及び 終了時期	病状の発現と 消失時期	最大無作用量 (mg/l)
♂ ♀	> 5.03	死亡例なし	暴露終了 直後～7 日目	(死亡例の認められな かった最大投与量) 5.03

中毒症状としては、性別に関係なく、自発運動減少、鼻部の発赤、汚毛等が認められたが汚毛は対照群においても認められた。また、対照群及び投与群とも暴露中のストレスに起因すると考えられる体重の減少も認められた。

対照群を含む各群において死亡例は認められなかった。

剖検及び光顕病理検査ではいずれの群にも異常は認められなかった。

2) 皮膚および眼に対する刺激性

(1) ウサギを用いた一次刺激性試験

(資料 10)

試験機関

報告書作成年 1969 年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：ウサギ（体重 2.5 kg） 1 群雄 3 匹

方法及び観察項目：

1) 眼に対する刺激性

検体を生理食塩液に 1、10、30 及び 50 % の割合に懸濁し、眼瞼のう内に 0.1ml を滴下した。経時的に眼瞼、結膜、角膜、角膜反射に及ぼす影響を観察した。

2) 胃粘膜に対する刺激性

検体を 5 % アラビアゴム液に 10 % の割合で懸濁し、100、300 及び 500 mg/kg を経口ゾンデを用いて胃内に投与した。24 時間後に解剖し、胃粘膜の状態を肉眼的に観察した。

3) 皮膚に対する刺激性

検体を 5 % アラビアゴム液に 10、30 及び 50 % の割合で懸濁し、除毛した背部に 0.1ml を塗布した。経時的に皮膚に及ぼす影響を観察した。

4) 末梢血管透過性に及ぼす影響

検体を 5 % アラビアゴム液に 0.01、0.1、1、10 及び 20 % の割合で懸濁し、Soudy の方法に準じて除毛した腹部皮内に 0.1 ml を注射した。その直後に 1% トリパンプルーロック液を 4 ml/kg 耳静脈に注射した。経時的に検体投与部位への色素沈着を観察した。

結 果：

1) 眼に対する刺激性

各濃度とも眼瞼結膜、角膜、角膜反射に及ぼす影響は認められなかった。

2) 胃粘膜に対する刺激性

各濃度とも刺激性は認められなかった。

3) 皮膚に対する刺激性

各濃度とも刺激性は認められなかった。

各濃度とも末梢血管透過性の亢進は起こさないと考えられた。

以上の結果から、プロベナゾールはウサギの眼、胃粘膜、皮膚に対して刺激性はないものと思われる。また、末梢血管透過性に及ぼす影響もないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

3) 皮膚感作性

(2) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 13)

試験機関

報告書作成年 1981 年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：ハートレー系モルモット 1 群雌 10 匹

試験期間：72 時間観察

投与方法：[Buehler 法]

感作；肩甲骨から頸部にかけて刈毛し、その部位に 0.5 %CMC に懸濁した検体の 1 %液 0.5 ml を浸み込ませた 2×2 cm のリント布を 24 時間閉塞貼付した。本操作を週 3 回の割合で 10 回行った。陽性対照群には卵白アルブミンの 1 %液 0.5 ml を検体同様に感作した。また、陰性対照群では 0.5 %CMC 0.5 ml をもちいて検体同様に感作を行った。

誘発；最終感作の 2 週間後に腹側部に感作と同様の方法で 24 時間閉塞貼付して誘発した。陽性対照群では卵白アルブミンで同様に誘発した。また、陰性対照群では 0.5 %CMC で誘発した。

観察項目：誘発 6、24、48 及び 72 時間後に紅斑、浮腫について、下記の観察基準に従い、肉眼的に観察した。

評点	0	……………	変化なし
	1	……………	非常に弱い紅斑
	2	……………	中等度～強度の紅斑
	3	……………	強度の紅斑と浮腫
	4	……………	痂皮形成

結 果：検体処理群において、中等度～強度の紅斑及び浮腫が認められ、評点 2 以上の陽性発現率は 6～48 時間後で 100 %、72 時間後で 60 %であった。

一方、陰性対照群では弱い～中等度の紅斑を認めたが、評点 2 以上の陽性発現率は 6～48 時間後でいずれも 10 %であった。陽性対照群においては、中等度～強度の紅斑および浮腫を認め、評点 2 以上の陽性発現率は 90～100 %であった。

上記の結果を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

群	感作	惹起	供試 動物 数	感作反応動物数											陽性率 (%)		
				6 時間後					24 時間後						6 時間	24 時間	
				皮膚反応評点					平均 評点	皮膚反応評点							平均 評点
				0	1	2	3	4		0	1	2	3	4			
検体 投与群	1% 検体	1% 検体	10	0	0	4	6	0	2.6	0	0	6	4	0	2.4	100	100
陽性 対照群	1% 卵白アル ブミン	1% 卵白アル ブミン	10	0	1	5	3	1	2.4	0	0	3	6	1	2.8	100	100
陰性 対照群	0.5% CMC	0.5% CMC	10	7	2	1	0	0	0.1	4	5	1	0	0	0.7	30	60

群	感作	惹起	供試 動物 数	感作反応動物数											陽性率 (%)		
				48 時間後					72 時間後						48 時間	72 時間	
				皮膚反応評点					平均 評点	皮膚反応評点							平均 評点
				0	1	2	3	4		0	1	2	3	4			
検体 投与群	1% 検体	1% 検体	10	0	0	7	3	0	2.3	0	4	6	0	0	1.6	100	100
陽性 対照群	1% 卵白アル ブミン	1% 卵白アル ブミン	10	0	0	2	7	1	2.9	0	1	2	6	1	2.7	100	100
陰性 対照群	0.5% CMC	0.5% CMC	10	5	4	1	0	0	0.6	4	6	0	0	0	0.6	50	60

評点 0・・・変化なし 1・・・非常に弱い紅斑 2・・・中等度～強度の紅斑
 3・・・強度の紅斑と浮腫 4・・・痂皮形成

以上の結果からプロベナゾールの皮膚感作性は、陽性対照として用いた卵白アルブミンより弱い、陽性であると考えられる。

4) 急性神経毒性 (試験省略理由)

(1) 急性経口毒性試験からの考察

急性経口毒性試験における一般状態の観察において、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(2) ラットの 90 日間反復経口毒性試験 (概要書 資料 34, 報告書 2006 年) からの考察 プロペナゾール原体のラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験において、以下の通り、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

① 詳細な症状観察 (抄録記載: 109-111 頁、報告書記載: 13, 21, 24 頁)

投与開始前および投与期間中は週 1 回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ケージ内における観察項目: 姿勢、身悶え、旋回、咬み行動、痙攣、異常発声

ケージから取り出した時の観察項目: 出し易さ、扱い易さ、異常発声、筋緊張、立毛、被毛の状態、眼瞼状態、咬傷、流涙、流涎、呼吸、眼球、可視粘膜、尿失禁、カタレプシー

オープンフィールドにおける観察項目: 空中正向反射、呼吸、協調運動、痙攣、毛繕い、歩行、歩行異常、眼瞼状態、立ち上がり、常同行動、異常行動、異常発声、移動量、覚醒度、脱糞、排尿

雄のケージ内の姿勢の観察およびオープンフィールド上での移動量において有意な発生数の増減を示す所見が認められたが、用量に関連しない、あるいは投与期間中に一貫した変化ではなかった。また、オープンフィールド上でのつかまり立ち回数が投与 11 週に全ての被験物質投与群で、投与 12 週に 2,000 ppm 群でそれぞれ有意に減少した。しかし、いずれも一貫性のない変化であった。

雌のケージ内の姿勢の観察、オープンフィールド上での移動量および覚醒度において有意な発生数の増減を示す所見が認められたが、用量に関連しない、あるいは投与期間中に一貫した変化ではなかった。オープンフィールド上でのつかまり立ち上がり回数が 2,000 ppm 群で投与期間を通じて減少を示した。この変化は、投与 8 および 11 週の検査を除き、全て有意な変化であった。

しかし、雌のつかまり立ち上がり回数の減少に関連すると考えられる筋力や運動量の低下あるいは中枢神経系の抑制を示す変化は、他の指標や検査項目には認められないため、この変化は被験物質投与による神経毒性とは判断しなかった。

② 神経機能検査項目 (抄録記載: 111 頁、報告書記載: 14, 21, 24 頁)

投与開始前および試験 13 週時に、全動物を対象として以下の項目を検査した。
瞳孔反射、接近反応、触覚反応、聴覚反応、痛覚反応、握力 (前後肢)、着地開足幅測定、自発運動量測定

検体投与に関連する神経毒性の徴候は認められなかった。

③ 病理組織学的検査 (概要書記載: 122-124 頁、報告書記載: 18-19, 23-24 頁)

脳、脊髄 (頸髄、胸髄、腰髄)、坐骨神経、骨格筋 (大腿部)、眼球およびその付属器について病理組織学的検査を実施したが、致死量以下の用量でこれらの組織に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はみられなかった。

④ その他の検査項目

・脳重量 (抄録記載: 121-122 頁、報告書記載: 18, 23 頁)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

致死量以下の用量で脳重量に対して特異的な神経毒性を示唆する変化はみられなかった。

・眼科学的検査（抄録記載：115頁、報告書記載：17-18,23頁）

眼科学的検査の結果、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はみられなかった。

(3) 既知神経毒性物質との化学構造の相関

現在の科学的知見において、プロベナゾール原体は既知神経毒性物質との化学的構造相関はない。

5) 急性遅発性神経毒性（試験省略）

急性毒性試験の結果から、コリンエステラーゼ阻害性を有しないと認められるため。

6) 90日間反復経口投与毒性

(1) ラットを用いた強制経口投与による亜急性毒性試験

(資料 15)

試験機関

報告書作成年 1970年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：Wistar系ラット、1群雌雄10匹開始時5週令

試験期間：91日間

投与方法：検体は5%アラビアゴム液で懸濁し、経口針を用いて強制的に毎日経口投与した。投与量は20 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg及び400 mg/kgとし、対照として無処置対照群（対照群）及び5%アラビアゴム液投与群（陰性対照群）を設定した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率：

一般状態及び生死を毎日観察した。

死亡動物では、死亡する2~3日前より自発運動減退、沈うつ状態、酩酊状歩行等が認められ衰弱や消瘦が著明であったが、生存動物には明らかな変化は認められなかった。（申請者追記：これらの結果から、死亡の原因は検体投与に起因する全身状態の悪化によるものと考えられた。）

試験終了時の死亡率（事故死例数）は対照群、陰性対照群、20 mg/kg投与群、100 mg/kg投与群、200 mg/kg投与群及び400 mg/kg投与群で雄が各々0%（0例）、0%（0例）、0%（0例）、0%（0例）、60%（6例）及び100%（10例）、雌が0%（0例）、0%（0例）、0%（0例）、0%（0例）、20%（2例）及び100%（10例）で、400 mg/kg投与群の雄は8日目、雌は17日目までに全例が死亡した。

死亡率を以下の表に示す。

投与量 (mg/kg)	雄	雌
対照群	0/10 (0%)	0/10 (0%)
陰性対照群	0/10 (0%)	0/10 (0%)
20	0/10 (0%)	0/10 (0%)
100	0/10 (0%)	0/10 (0%)
200	6/10 (60%)	2/10 (20%)
400	10/10 (100%)	10/10 (100%)

体重変化：

投与開始後から週1回すべての生存動物の体重を測定した。

20 mg/kg投与群の雄では投与21日に一過性の体重増加抑制（申請者註：体重増加量が対照群と比較して少ない状態）が認められたが、その後は対照群と同様に体重増加した。雌では順調な体重の増加が認められた。100 mg/kg投与群は雌雄とも体重は陰性対照群とほぼ同様に増加したが、投与91日には体重は増加せず、前週の体重よりも軽度に減少していた。200 mg/kg投与群では投与14日から投与終了ま

で雌雄ともに明らかな体重の増加抑制が認められ、投与 70 日(雄)または 77 日(雌)以降は体重減少(申請者註:前計測値よりも減少)した。200 mg/kg 群の最終体重は雄で陰性対照群の約 58%、雌では約 67%であった。

摂餌量:

全動物の摂餌量を投与開始から 2 週間に 1 回測定した。

20 mg/kg 投与群の雄では投与 2 週後および 6 週後に摂餌量が陰性対照群と比べて低い傾向にあったが、一過性の軽度な変動であった。雌では著変は認められなかった。100mg/kg 投与群では雌雄とも摂餌量に差は認められなかった。200mg/kg 投与群では雌雄とも摂餌量が減少した。

病理組織学的検査:

試験終了時の生存動物各群 5 匹(200 mg/kg 投与群雄は 4 匹)を対象として病理組織学的検査を行った。

対照群を含むすべての群において主要臓器のうっ血、肝臓、肺の細胞浸潤などの変化が見られたが、その程度に検体投与の有無及び投与量との相関は認められなかった。

以上の結果から、本剤の 91 日間強制経口投与による亜急性毒性試験における影響として、400 mg/kg 投与群で全例が死亡し、200 mg/kg 投与群で明らかな体重増加抑制および減少と摂餌量の減少が、100 mg/kg 投与群では投与最終時に体重減少が認められた。(申請者意見:20 mg/kg 投与群の雄でみられた体重、摂餌量の変化は一時的であり、投与用量の増加に伴った変化ではないことから検体投与の影響ではないと考えられた。)従って、この試験条件下における最大無作用量は雌雄とも 20 mg/kg/日と判断した。(申請者の判断による)

(2) マウスを用いた強制経口投与による亜急性毒性試験

(資料 15)

試験機関

報告書作成年 1970年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：dd系マウス、1群 雌雄10匹 開始時5週令

試験期間：91日間

投与方法：検体は5%アラビアゴム液で懸濁し、経口針を用いて強制的に毎日経口投与した。投与量は20 mg/kg、200 mg/kg 及び 400 mg/kg とし、対照としては無処置対照群（対照群）及び5%アラビアゴム液投与群（陰性対照群）を設定した。

試験項目及び結果

一般状態及び死亡率；

一般状態及び生死を毎日観察した。

死亡動物には死亡する2~3日前より自発運動減退、沈うつ状態で酩酊状歩行等が認められ衰弱や消瘦が著明であったが、生存動物には明らかな変化は認められなかった。

（申請者追記：これらの結果から、死亡の原因は検体投与に起因する全身状態の悪化によるものと考えられた。）

試験終了時の死亡率は対照群、陰性対照群、20 mg/kg 投与群、200 mg/kg 投与群及び400 mg/kg 投与群の雄で各々0%、0%、0%、30%及び100%、雌で各々0%、0%、0%、0%及び100%で、400 mg/kg 投与群の雄は23日目、雌は21日目までに全例が死亡した。

死亡率表を以下に示す。

投与量 (mg/kg)	雄	雌
対照群	0/10 (0%)	0/10 (0%)
陰性対照群	0/10 (0%)	0/10 (0%)
20	0/10 (0%)	0/10 (0%)
200	3/10 (30%)	0/10 (0%)
400	10/10 (100%)	10/10 (100%)

体重変化；

投与開始後から週1回すべての生存動物の体重を測定した。

20 mg/kg 投与群では、雄の体重は対照群と同様に増加を示したが、雌では投与8日目から21日目にかけて減少し、その後徐々に増加した。

200 mg/kg 投与群では、雄の体重は投与50日目に減少し、その後70日目までほとんど増加しなかった（増加抑制）。雌では投与15日目に減少し、その後70日目までほとんど増加しなかった（増加抑制）。

摂餌量；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

全動物の摂餌量を投与開始後から毎日測定した。

20 mg/kg 投与群の雄では摂餌量に著差は認められなかったが、雌では投与 15 日目から減少した。200 mg/kg 投与群の雌雄に摂餌量の減少が認められた。

以上の結果から全投与群で体重の一過性減少や増加抑制、摂餌量の減少が認められたので、最大無作用量は雌雄ともに算出できなかった。（申請者の判断による）

(3) ラットを用いた強制経口投与による亜急性毒性試験

(資料 16)

試験機関

報告書作成年 1970 年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：Donryu 系ラット、1 群雌雄 10 匹開始時 5 週令

試験期間：91 日間

投与方法：検体は 5%アラビアゴム液で懸濁し、金属経口針を用いて強制的に毎日経口投与した。投与量は 20 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg 及び 400 mg/kg とし、対照として無処置対照群（対照群）及び 5%アラビアゴム液投与群（陰性対照群）を設定した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率：

一般状態及び生死を毎日観察した。

生存例の一般状態にはいずれにも著変は認められなかった。200 mg/kg 投与群以上で見られた死亡例には運動失調や全身振せんが認められるなど、一般状態が徐々に悪化し衰弱死するものが多かった。（申請者追記：これらの結果から、死亡の原因は検体投与に起因する全身状態の悪化によるものと考えられた。）

試験終了時の死亡率（疾病・事故死例含む）は、対照群、陰性対照群、20 mg/kg、100mg/kg、200 mg/kg 及び 400 mg/kg 投与群の雄で各々 0%（0 例）、10%（1 例）、20%（2 例）、40%（4 例）、70%（7 例）及び 100%（10 例）、雌で各々 10%（10 例）、10%（1 例）、10%（1 例）、10%（1 例）、50%（5 例）及び 100%（10 例）であった。なお、事故死したすべての雄動物は剖検により誤嚥性肺炎と診断された。また、雌の対照群 1 例の事故死は剖検により肺炎による死亡と診断した。

死亡率表を以下に示す。

投与量 (mg/kg)	雄	雌
対照群	0/10 (0%)	1*/10 (10%)
陰性対照群	①/10 (10%)	①/10 (10%)
20	②/10 (20%)	①/10 (10%)
100	④/10 (40%)	①/10 (10%)
200	①6/10 (70%)	5/10 (50%)
400	10/10 (100%)	10/10 (100%)

注) ○で囲んだ数値は事故死例数を示す。

*は疾病死を示す。

体重変化：

投与開始後から毎日すべての生存動物の体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

100 mg/kg 以下の投与群では対照群とほぼ同様に推移した。200 mg/kg 以上の投与群では7日目頃から体重の減少が認められた。

摂餌量：

全動物の摂餌量を投与開始後より毎日測定した。

20 mg/kg 及び 100 mg/kg 投与群では雌雄とも摂餌量に著変は認められなかった。

200 mg/kg 投与群では雌雄とも摂餌量の減少傾向が認められた。

肉眼的病理検査

試験終了時の生存動物の各群 5 匹を対象として、解剖ののち、脳、脊髄、胸腺、心、肺、肝、腎、副腎、脾、回腸、胃、生殖器（睾丸または卵巣）の肉眼的病理検査を行った。

各群に少数であるが、肺炎、脾の肥大が認められ、20 mg/kg 投与群で少数に腎肥大、胸腺出血が観察された。

病理組織学的検査；

各種の臓器に変化が観察されたが、被験物質の特定臓器に対する障害を明確に示唆する所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤の 91 日間強制経口投与による亜急性毒性試験における影響として、200 mg/kg 以上の投与群で体重増加度の鈍化や摂餌量の低下傾向が認められたので、最大無作用量は雌雄とも 20 mg/kg/日と判断した。（申請者の判断による）

(4) マウスを用いた強制経口投与による亜急性毒性試験

(資料 16)

試験機関

中央研究所

報告書作成年 1970 年

検体の純度：プロベナゾール

試験動物：ICR-JCL系マウス、1群 雌雄 10匹 開始時 5週令

試験期間：91日間

投与方法：検体は 5%アラビアゴム液で懸濁し、金属経口針を用いて強制的に毎日経口投与した。投与量は 20 mg/kg、200 mg/kg 及び 400 mg/kg とし、対照としては無処置対照群（対照群）及び 5%アラビアゴム液投与群（陰性対照群）を設定した。

試験項目及び死亡率：

一般状態及び生死を毎日観察した。

対照群、陰性対照群及び 20 mg/kg 投与群では雌雄とも一般状態に著変は認められなかった。200 mg/kg 投与群の雌雄に運動失調、全身振せんが認められ、衰弱し死亡する個体もみられた。400 mg/kg 投与群では、雄は投与 77 日目、雌は 19 日目までに全動物が死亡した。（申請者追記：これらの結果から、死亡の原因は検体投与に起因する全身状態の悪化によるものと考えられた。）

試験終了時の死亡率は対照群、陰性対照群、20 mg/kg 投与群、200 mg/kg 投与群及び 400 mg/kg 投与群の雄が各々 0%、0%、0%、30% 及び 100%、雌が 0%、0%、0%、20% 及び 100% であった。

死亡率表を以下に示す。

投与量 (mg/kg)	雄	雌
対照群	0/10 (0%)	0/10 (0%)
陰性対照群	0/10 (0%)	0/10 (0%)
20	0/10 (0%)	0/10 (0%)
200	3/10 (30%)	2/10 (20%)
400	10/10 (100%)	10/10 (100%)

体重変化：

投与開始後から毎日すべての生存動物の体重を測定した。

20 mg/kg 投与群の雄では体重の増加が、雌はやや体重の減少が認められた。

200 mg/kg 投与群では雌雄に体重の減少が認められた。400 mg/kg 投与群では雌雄で 15 日目から全例が死亡するまで減少した。

摂餌量：

全動物の摂餌量を投与開始後より毎日測定した。

20 mg/kg 投与群では雌雄ともに対照群とほぼ同様に推移した。200 mg/kg 投与

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

群では雌雄ともに 30 日目頃から摂餌量の減少傾向が認められた。400 mg/kg 投与群では 7 日目から全例が死亡するまで摂餌量の減少傾向が認められた。

肉眼的病理検査

試験終了時の生存動物各群 5 匹を対象として、解剖ののち、脳、脊髄、胸腺、心、肺、肝、腎、副腎、脾、回腸、胃、生殖器（睾丸または卵巣）の肉眼的病理検査を行った。

各群に少数であるが、肺炎、脾の肥大が認められ、20 mg/kg 投与群で少数に腎肥大、胸腺出血が観察された。

病理組織学的検査；

各種の臓器に変化が観察されたが、被験物質の特定臓器に対する障害を明確に示唆する所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤の 91 日間強制経口投与による亜急性毒性試験における影響として、400 mg/kg 投与群で全例が死亡し、200mg/kg 投与群で死亡および体重増加度の鈍化と摂餌量の減少傾向が認められたので、最大無作用量は雄では 20 mg/kg/日、雌では 20 mg/kg でも体重増加抑制傾向が認められるので算出不能と判断した。

（申請者の判断による）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(5) プロベナゾール原体のラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 34)

試験機関：.

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：プロベナゾール

供試動物：Fischer 系ラット (F344/DuCrj, SPF、9 日間検疫・馴化、投与開始時 5 週齢
投与開始時体重 雄；84～98 g、雌；70～81 g
1 群雌雄各 10 匹

投与期間：投与期間 13 週間 (2005 年 4 月 5 日～2005 年 7 月 5 日)

投与方法：検体を 0、100、300、1000 及び 2000 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 5 日に 1 度以上の頻度で調製した。

投与量設定根拠；Wistar 系ラットを用いて、プロベナゾール原体の 0、5、25、50、100、500 および 1000 ppm の投与量で実施した 2 年間の慢性毒性試験(資料 19)では、1000 ppm 群で貧血傾向、肝重量の増加とそれに伴う単核細胞の集簇ならびに肉芽様変化を認め、他には特に著変を認めなかったことが報告されている。一方、委託者側で実施した Wistar 系ラットを用いた 91 日間反復強制経口投与毒性試験(資料 15)において、200 mg/kg で体重減少および死亡例が認められている。200 mg/kg は、ラットの体重および摂餌量から換算すると混餌での 2000 ppm に相当すると考えられる。そのため、何らかの毒性が認められると予測される最高用量を 2000 ppm とし、以下 1000、300 および 100 ppm を本試験の用量に設定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日 2 回観察した。

投与期間中、死亡例は認められず、一般状態にも変化は観察されなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前に行い、投与期間中は週 1 回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ケージ内における観察項目：

姿勢、身悶え、旋回、咬み行動、痙攣、異常発声

ケージから取り出した時の観察項目：

出し易さ、扱い易さ、異常発声、筋緊張、立毛、被毛の状態、眼瞼状態、咬傷、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

流涙、流涎、呼吸、眼球、可視粘膜、尿失禁、カタレプシー

オープンフィールドにおける観察項目 (3分間の観察) :

空中正向反射、呼吸、協調運動、痙攣、毛繕い、歩行、歩行異常、眼瞼状態、立ち上がり、常同行動、異常行動、異常発声、移動量、覚醒度、脱糞、排尿

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別		雄				
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	2000
項目・検査週						
立ち上がり回数	11	7±4	↓3±3	↓2±3	↓3±3	↓3±3
	12	7±3	6±6	4±4	4±3	↓2±2

性別		雌				
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	2000
項目・検査週						
立ち上がり回数	1	11±4	7±6	↓6±4	7±5	↓3±4
	2	8±5	5±7	5±3	7±7	↓2±3
	3	8±6	5±3	7±5	8±4	↓2±3
	4	14±3	11±6	10±4	12±5	↓2±3
	5	11±5	11±5	12±4	10±7	↓3±3
	6	13±6	11±5	14±6	11±6	↓4±5
	7	13±7	12±7	13±6	10±5	↓5±5
	9	13±6	14±6	12±7	12±5	↓5±5
	10	12±5	9±6	10±6	10±5	↓5±5
	12	14±6	11±5	10±6	14±6	↓7±6
	13	12±3	7±5	8±6	11±6	↓5±5

表中の数字は平均±標準偏差でオープンフィールド観察3分間での数

Dunnett型の多重比較検定(両側) ↑↓: p≤0.05; ↑↓: p≤0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

雄のケージ内の姿勢の観察およびオープンフィールド上での移動量において有意な発生数の増減を示す所見が認められたが、用量に関連しない、あるいは投与期間中に一貫した変化ではなかった。また、オープンフィールド上でのつかまり立ち回数が投与 11 週に全ての被験物質投与群で、投与 12 週に 2,000 ppm 群でそれぞれ有意に減少した。しかし、いずれも一貫性のない変化であった。

雌のケージ内の姿勢の観察、オープンフィールド上での移動量および覚醒度において有意な発生数の増減を示す所見が認められたが、用量に関連しない、あるいは投与期間中に一貫した変化ではなかった。オープンフィールド上でのつかまり立ち上がり回数が 2,000 ppm 群で投与期間を通じて減少を示した。この変化は、投与 8 および 11 週の検査を除き、全て有意な変化であった。

雌のつかまり立ち上がり回数の減少に関連すると考えられる筋力や運動量の低下あるいは中枢神経系の抑制を示す変化は、他の指標や検査項目には認められないため、この変化は被験物質投与による神経毒性とは判断しなかった。

機能検査；試験 13 週時に、全動物を対象として以下の項目を検査した。

瞳孔反射、接近反応、触覚反応、聴覚反応、痛覚反応、握力（前後肢別に測定）、着地開足幅、自発運動量

検体投与に関連すると思われる異常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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

体重変化；全動物について投与開始日（投与1日とする），投与8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85 および92日に測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与日を次表及び図に示す。

性別	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
検査時期 (日)	8			↓85				↓90
	15			↓76				↓84
	22			↓71				↓81
	29			↓68				↓80
	36		↓91	↓67				↓81
	43			↓91	↓67			↓83
	50			↓91	↓67			↓83
	57			↓90	↓67			↓84
	64			↓90	↓67			↓85
	71			↓90	↓66			↓85
	78			↓90	↓66			↓85
	85			↓90	↓66			↓85
	92			↓90	↓66			↓88

表中の数値は対照群に対する割合 (%) (申請者計算)

Dunnett の多重比較検定 (両側) ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

1000 ppm 群の雄では、投与 36 日以降に有意な低体重がみられた。2000 ppm 群の雄では、投与期間を通じて有意な低体重がみられた。

2000 ppm 群の雌では、投与期間を通じて有意な低体重がみられた。

上記の群については、投与期間中の体重増加量も有意な低下を示した。その他の群には雌雄とも有意な変動はみられなかった。

雄の 1000 ppm 以上の投与群と雌の 2000 ppm の投与群で認められた低体重は摂餌量減少を伴っており、被験物質投与による毒性変化と判断した。

摂餌量；全動物について投与開始日（投与 1 日とする）、投与 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 43, 46, 50, 53, 57, 60, 64, 67, 71, 74, 78, 81, 85, 88 および 92 日に餌重量を測定し、1 日摂餌量を算出した。

平均摂餌量において対照群と比較して統計学的有意差の認められた投与日を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

平均摂餌量

性別	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
検査時期 (日)	4		↓91	↓73				↓78
	8			↓73				↓89
	11			↓73				↓89
	15			↓67				↓80
	18			↓64				↓73
	22			↓62				↓70
	25			↓83	↓58			↓88
	29				↓69			↓78
	32			↓92	↓62			↓78
	36				↓64			↓78
	39				↓69			↓88
	43			↓86	↓71			↓89
	46			↓85	↓69			↓78
	50				↓69			↓78
	53				↓77			↓78
	57				↓77			↓78
	60				↓77			↓78
	64			↓92	↓77			↓89
	67				↓69			↓89
	71			↓92	↓77			↓78
74			↓92	↓77			↓78	
78				↓77			↓89	
81			↓92	↓77			↓78	
85				↓77				
88				↓79				
92				↓79				

表中の数値は対照群に対する割合 (%) (申請者計算)

Dunnett の多重比較検定 (両側) ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

雄の 1000 ppm 群で投与 4, 25, 32, 43, 46, 64, 71, 74 および 81 日に、2000 ppm 群で投与期間を通じて全ての測定日に平均 1 日摂餌量が統計学的に有意な低下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

を示し、両群ともに投与期間中の累積摂餌量も有意な低下を示した。
雌の 2000 ppm 群で投与 81 日までの全ての測定日に有意な低下を示し、投与期間中の累積摂餌量も有意な低下を示した。

これらの変化は被験物質投与による毒性変化と判断した。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次表の通りであった。

投与量 (ppm)		100	300	1000	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	6.71	19.76	66.94	131.21
	雌	7.44	21.78	72.97	142.39

眼科学的検査；投与前（検査・馴化期間）は入荷全動物について、試験 13 週は対照群と最高用量群の全動物について検査した。

すべての動物において異常所見は観察されなかった。

尿検査；投与 87 日及び 88 日に全動物を対象として以下の項目を検査した。

定性検査：色調、pH、ケトン体、蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、沈渣

定量検査：尿量、尿浸透圧、尿中ナトリウム濃度、尿中カリウム濃度、尿中塩素濃度、尿中ナトリウム総排泄量、尿中カリウム総排泄量、尿中塩素総排泄量

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

性別・投与量 (ppm)	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
尿浸透圧				↓69	↑173			↑178
尿中ナトリウム濃度								↑198
尿中カリウム濃度				↓65	↑193			↑201
尿中塩素濃度					↑191			↑202
尿中カリウム総排泄量							↑147	↑146
尿中塩素総排泄量							↑144	↑147

表中の数値は対照群に対する割合 (%) (申請者計算)

Dunnett 型順位検定 (両側) ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

雄の 2,000 ppm 群で尿浸透圧が低値を示した。また、同群でカリウム濃度が有意な低値を示したが、総排泄量では変化が認められなかった。

雌の 100 および 2,000 ppm 群で尿浸透圧、カリウムおよび塩素濃度が有意な高値を示したが、100 ppm 群のカリウムおよび塩素総排泄量には変化は認められなかった。さらに 1,000 および 2,000 ppm 群でカリウムおよび塩素総排泄量が有意な高値を示した。また、2,000 ppm 群でナトリウム濃度が高値を示したが、総排泄量には変化は認められなかった。

雄の 2,000 ppm 群で尿浸透圧が低下し、雌の 100 および 2,000 ppm 群で尿浸透圧の上昇、2,000 ppm 群でカリウムおよび塩素濃度および総排泄量が高値を示したが、その他の尿検査項目に変化がないこと、病理学検査などで腎障害を示唆する変化が認められていないため、毒性学的意義は低いと考えられた。

血液学的検査；投与 93 日に全動物を対象として、17~18 時間絶食後、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、白血球数 (WBC)、血小板数 (PLT)、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)、白血球百分率、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、大型非染色球数、網赤血球率

投与群において対照群に比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別・投与量 (ppm)	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
HCT			↓97	↓91			↓96	↓94
RBC			↓96	↓89				↓94
HGB				↓96				
MCV				↑102	↓99	↓99	↓98	
MCH			↑105	↑109				↑104
MCHC			↑105	↑107			↑103	↑105
網赤血球率								↑144
WBC			↑123	↑124			↑122	↑147
白血球百分比:								
好中球				↑132				
リンパ球				↓91				
単球				↑148				
好酸球		↓82		↓73				
白血球絶対数:								
好中球			↑137	↑164				↑161
リンパ球								↑144
単球				↑183				↑175
大型非染色球								↑167

表中の数値は対照群に対する割合(%) (申請者計算)

統計検定 ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$

Dunnett の多重比較検定 (両側) = HCT、RBC、HGB、MCV、MCH、MCHC、Ret、WBC、白血球百分比、白血球絶対数

雄の 1000 および 2000 ppm 群でヘマトクリット値および赤血球数が有意な低値、MCH、MCHC、白血球数および好中球数が有意な高値を示し、2000 ppm 群でヘモグロビン量が有意な低値、MCV、好中球比率、単球比率および単球数が有意な高値を示した。2000 ppm 群でリンパ球比率、300 および 2000 ppm 群で好酸球比率が低値を示したが、それぞれのリンパ球数および好酸球数では変化が認められなかった。その他、300 ppm 群で好塩基球数に統計学的有意差が認められた (申請者註: この変化は計算上 100% になるので、上記表には反映しなかった) が、軽微な変化であったため毒性学的意義はないと判断した。

雌の 1000 および 2000 ppm 群でヘマトクリット値が有意な低値、MCHC および白血球数が有意な高値を示し、2000 ppm 群で赤血球数が有意な低値、MCH、好中球数、リンパ球数、単球数、大型非染色球数および網赤血球率が有意な高値を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

示した。その他、100, 300 および 1000 ppm 群で MCV が有意な低値を示したが、用量に対応しない変化であった。

血液学検査において、雄および/または雌の 1000 および/または 2000 ppm 群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量または赤血球数が低値を示し、被験物質投与による貧血が示唆された。また、これらの群で MCV, MCHC, MCH または網赤血球率が高値を示し、貧血の代償性変化と考えられた。さらにこれらの群では白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数やそれらの白血球百分率等が高値を示し、被験物質投与による変化と考えられたが、病理所見から推察される炎症性の変化は認められず、機序は不明であった。

血液凝固能検査；投与 93 日に全動物を対象として、17~18 時間絶食後、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノーゲン濃度

投与群において対照群に比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別・投与量 (ppm)	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
項目								
PT				↓93				
APTT			↓93	↓71				
Fibrinogen				↑116			↓89	↓90

表中の数値は対照群に対する割合 (%) (申請者計算)

統計検定 ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$

Dunnett の多重比較検定 (両側) = PT、APTT、Fibrinogen

雄の 1000 および 2000 ppm 群で APTT が有意な短縮を示し、2000 ppm 群で PT が有意な短縮、フィブリノーゲン量が有意な高値を示した。

雌の 1000 および 2000 ppm 群でフィブリノーゲン量が有意な低値を示した。

雄の 1000 および 2000 ppm 群の APTT および 2,000 ppm 群の PT が短縮を示したが、これらの項目はいずれも延長の場合に問題があり、短縮の場合の毒性学的意義は低いと考えられた。また、雄の 2000 ppm 群でフィブリノーゲン量が高値を示したが、病理所見に炎症性変化は認められず、機序は不明であった。

雌の 1000 および 2000 ppm 群でフィブリノーゲン量が低値を示したが、その変化は軽微であり毒性学的意義は低いと考えられた。

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

血糖 (GLU)、中性脂肪 (TGL)、リン脂質(PL)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CRE)、総ビリルビン (TB)、総蛋白 (TP)、ナトリウム (Na)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、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 -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GTP)

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	性別・投与量 (ppm)		雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000		
GLU			↓91	↓75						
TGL				↓37				↓57		
PL							↓90			
BUN				↑127				↑122		
CRE			↓90	↓90				↓89		
TB				↑200						
TP				↑108						
Na				↑101						
Ca				↑106						
IP				↑130				↑122		
ALP		↑116	↑117	↑134			↑116	↑152		
γ -GTP				↑140				↑146		

表中の数値は対照群に対する割合 (%) (申請者計算)

Dunnett の多重比較検定 (両側) ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

雄の 300, 1000 および 2000 ppm 群で ALP が有意な高値を示し, 1000 および 2000 ppm 群で血糖およびクレアチニンが有意な低値を示した。さらに, 2000 ppm 群で中性脂肪が有意な低値を示し, 尿素窒素, 総蛋白, カルシウムおよび無機リンが有意な高値を示した。また, 2000 ppm 群で総ビリルビン, ナトリウムおよび γ -GTP が有意な高値を示したが, いずれも軽微な変化であり, 毒性学的意義はないと判断した。雌の 1000 および 2000 ppm 群で ALP が有意な高値を示し, さらに 2000 ppm 群で中性脂肪およびクレアチニンが有意な低値, 尿素窒素および無機リンが有意な高値を示した。また, 2000 ppm 群で γ -GTP が高値を示したが, 軽微な変化であり, 毒性学的意義はないと判断した。その他, 1000 ppm 群でリン脂質が低値を示したが, 用量に対応しない変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

血液生化学検査において、雄の 300 ppm 以上の群ならびに雌の 1000 および 2000 ppm 群で ALP が高値を示した。しかし、病理学的には胆汁うっ滞や胆道閉塞も認められず、その機序は不明であった。雄の 1000 および 2000 ppm 群で認められた血糖の低値や雌雄の 2000 ppm 群で認められた中性脂肪の低値も摂餌量低下に伴う栄養不良に起因したものと考えられた。雌雄の 1000 あるいは 2000 ppm 群のクレアチニンの低値や 2000 ppm 群の尿素窒素および無機リンの高値は、腎障害が疑われたが、腎臓の病理所見に変化が認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。

血清蛋白電気泳動検査；血液学的検査時に採取した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

アルブミン各分画 (Albumin, Alpha-1, Alpha-2, Beta, Gamma) , A/G

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	性別・投与量 (ppm)				性別・投与量 (ppm)			
	雄				雌			
	100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
各分画の比率:								
Albumin (%)		↑104	↑109	↑113				↑107
Alpha-1 (%)		↓91	↓82	↓69				↓83
Alpha-2 (%)								↑114
Beta (%)							↓96	↓94
A/G		↑108	↑121	↑130				↑117
各分画の絶対量:								
Albumin		↑104	↑111	↑122				↑109
Alpha-1		↓92	↓83	↓74				↓84
Alpha-2				↑116				↑118
Beta				↑107				

表中の数値は対照群に対する割合 (%) (申請者計算)

Dunnnett の多重比較検定 (両側) ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$

雄の 300, 1000 および 2000 ppm 群でアルブミン比率, アルブミン濃度および A/G が有意な高値を示し, α -1 比率および α -1 濃度が有意な低値を示した。さらに, 2000 ppm 群で α -2 濃度および β 濃度が有意な高値を示した。

雌の 2000 ppm 群でアルブミン比率, アルブミン濃度, α -2 比率, α -2 濃度および A/G が有意な高値を示し, α -1 比率および α -1 濃度が有意な低値を示した。また, 1000 および 2000 ppm 群で β 比率が有意な低値を示したが, β 濃度では

変化が認められなかった。

雄の 300 ppm 以上の群および雌の 2000 ppm 群でアルブミン比率、アルブミン濃度および A/G が高値を示し、血液生化学検査において雄の 2000 ppm 群で総蛋白が高値を示していることから、肝臓の蛋白合成の亢進が示唆された。したがって、雄の 2000 ppm 群のカルシウムの上昇は、アルブミン濃度の増加に伴うアルブミン結合性のカルシウムの増加による可能性も考えられた。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量（絶対重量）を測定し、対体重比（相対重量）も算出した。

心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、脳、胸腺

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。左右のある臓器は合計について記載する。

性別・投与量 (ppm)		雄				雌			
		100	300	1000	2000	100	300	1000	2000
脳	絶対重量			↓97	↓89				↓94
	相対重量			↑108	↑136				↑107
心臓	絶対重量			↓89	↓72				↓91
	相対重量				↑110				
肝臓	絶対重量							↑110	↑125
	相対重量			↑112	↑149			↑111	↑144
腎臓	絶対重量				↓87				
	相対重量			↑106	↑133				↑121
脾臓	絶対重量				↓87				
	相対重量			↑107	↑133				↑121
副腎	相対重量			↑113	↑140				
胸腺	絶対重量				↓71				
	相対重量								
卵巣	絶対重量								↓73
	相対重量								
精巣	相対重量		↑107	↑115	↑146				

表中の数値は対照群に対する割合 (%) (申請者計算)

Dunnett の多重比較検定 (両側) ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$

雄の 1000 および 2000 ppm 群で肝臓の相対重量が有意な増加を示した。また、

体重の増加抑制に関連すると考えられる変化として、絶対重量では 1000 および 2000 ppm 群で脳および心臓が、2000 ppm 群で腎臓、脾臓および胸腺が有意な低下を示し、相対重量では 1000 および 2000 ppm 群で脳、腎臓、脾臓、副腎および精巣が、2000 ppm 群で心臓が有意な増加を示した。その他、300 ppm 群で精巣の相対重量が有意な増加を示すが、軽微な変化であった。

雌の 1000 および 2000 ppm 群で肝臓の絶対および相対重量ともに有意な増加を示した。また、体重の増加抑制に関連すると考えられる変化として、絶対重量では 2000 ppm 群で脳、心臓および卵巣が有意な低下を示し、相対重量では 2000 ppm 群で脳、腎臓および脾臓が有意な増加を示した。

雄の 1000 および 2000 ppm 群で肝臓の相対重量が有意な増加を示し、雌の 1000 および 2000 ppm 群で肝臓の絶対および相対重量ともに有意な増加を示した。病理組織学検査でも肝臓には所見が見られており、被験物質投与の影響と考えられた。

肉眼的病理検査；13 週間投与終了後に全ての動物について剖検を行った。

被験物質投与の影響と考えられる変化として、2000 ppm 群で肝臓の白色斑が雄 5 例に、腎臓の淡色化が雄 8 例に、子宮の小型化が雌 2 例に認められた。その他、対照群と比較して、雌の 100 ppm 群で子宮の内腔拡張の発生率が有意に増加したが、用量相関性のない変化ではあった。雌の 2000 ppm 群で肝臓の肝横隔膜結節の発生率が有意に減少したが、自然発生病変が減少することに毒性学的意義はないと考えられた。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物のうち、対照群及び 2000 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。肝臓については、100、300 および 1000 ppm 群についても同様に標本を作製し鏡検した。

皮膚、肝臓、乳腺（雌）、脾臓、リンパ節（腸間膜、下顎）、脾臓、唾液腺（舌下腺、下顎腺）、腎臓、胸骨、副腎、大腿骨、膀胱、骨髄（胸骨、大腿骨）、精囊、胸腺、前立腺、気管、精巣、肺（気管支を含む）、精巣上体、心臓、卵巣、甲状腺、子宮、上皮小体、膣、舌、眼球、食道、視神経、胃、ハーダー腺、十二指腸、脳、空腸、下垂体、回腸、脊髄（頸髄、胸髄、腰髄）、盲腸、骨格筋（大腿部）、結腸、坐骨神経、直腸、大動脈

投与群において対照群と比較して発生頻度に統計学的有意差の認められた病変を次表に示す。

臓器	性別	雄					雌				
	投与量 (ppm)	0	100	300	1000	2000	0	100	300	1000	2000
心臓	所見\検査動物数	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
	単核細胞浸潤	7	-	-	-	↓1	3	-	-	-	5
肝臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	肝細胞空胞化総計	0	0	↑4	↑10	↑10	0	0	0	0	2
	(軽度)			(4)	(10)	(7)					(2)
	(中等度)			(0)	(0)	(3)					(0)
	リンパ球浸潤	1	3	2	4	↑6	4	↓0	2	3	3
横隔膜結節の発生	1	2	2	3	2	4	4	2	1	↓0	
腎臓	所見\検査動物数	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
	尿細管好塩基化	9	-	-	-	↓1	0	-	-	-	0
	硝子滴	10	-	-	-	↓0	0	-	-	-	0

Fisher の正確検定法 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ () 内は病変程度別の例数

被験物質投与の影響と考えられる変化として、肝臓における軽度の肝細胞空胞化が 300 ppm 群の雄 4 例、1000 ppm 群の雄 10 例および 2000 ppm 群の雄 7 例、雌 2 例に、中等度の肝細胞空胞化が 2000 ppm 群の雄 3 例に認められた。中等度の肝細胞空胞化が認められた 2000 ppm 群の雄 3 例では、病変は左葉に主座し、小葉中心性に認められた。さらに、2000 ppm 群の雄については対照群と比較して、肝臓のリンパ球浸潤の発生率も有意に増加した。

その他、対照群と比較して、雄の 2000 ppm 群で心臓の単核細胞浸潤、腎臓の尿細管好塩基化および硝子滴、雌で肝臓の肝横隔膜結節の発生率が、雌の 100 ppm 群で肝臓のリンパ球浸潤の発生率がそれぞれ有意に減少したが、いずれも自然発生病変が減少することに毒性学的意義はないと考えられた。

病理学検査では、被験物質投与による影響として、雌雄の 1000 および 2000 ppm 群で肝臓重量の増加が認められた。また、肉眼観察で雄の 2000 ppm 群の肝臓に白色斑が観察され、組織学検査では雄の 300 ppm 以上の群および雌の 2000 ppm 群で肝細胞空胞化が認められた。雄の 2000 ppm 群では肝細胞空胞化の程度の増強も認められ、中等度の肝細胞空胞化が認められた 3 例については、病変は左葉に主座し、小葉中心性に認められた。さらに、雄の 2000 ppm 群で肝臓のリンパ球浸潤の発生率が増加した。リンパ球浸潤は自然発生性に対照群を含めた他の投与群でも認められる変化であったが、雄の 2000 ppm 群については、肝細胞空胞化の程度の増強が認められたことから、肝細胞空胞化に伴い発生率が増加したと考えられた。肉眼観察で雄の 2000 ppm 群に観察された腎臓の淡色化は、組織学検査で異常所見は認められず、発生機序は不明であ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

った。また、同群の雌に観察された子宮の小型化については、体重増加抑制による二次的な変化と考えられたが、組織学検査で異常所見は認められなかった。

以上のように、プロベナゾール原体を F344/DuCrj ラットに混餌法により 90 日以上反復経口投与することにより、雄の 300 ppm 以上の群ならびに雌の 1000 および 2000 ppm 群に上記の毒性変化が発現した。雄では、300 ppm 群で ALP、アルブミン比率、アルブミン濃度および A/G の高値ならびに肝細胞空胞化が認められたことから無毒性量は 100 ppm (6.71 mg/kg/day) と判断された。雌では 1000 ppm 群でヘマトクリット値の低値、MCHC の高値ならびに肝臓重量の増加が認められたことから無毒性量は 300 ppm (21.78 mg/kg/day) と判断された。また、組織学的に被験物質投与による毒性変化が認められた器官は肝臓であった。なお、神経毒性は雌雄ともに 2000 ppm まで認められなかった。