

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

①ラットを用いた混餌投与による2年間反復経口投与毒性・発がん性併合試験

(資料 T-21)

本試験は、試験の精度を上げるために同じ試験条件下で試験番号 R12384 及び R12484 の 2 回に分けて実施し、また、各試験の対照群は 2 群設定した。両試験の結果を RC2324 として併合し、評価した。

検体の純度：

供試動物： F344/NHsd BR 系雌雄ラット、5-6 週齢、

体重：R12384；雄 87.1±10.1g 雌 79.4±9.2g、

R12484；雄 106.3±9.1g 雌 87.5±5.4g、

以下の試験群構成とした。

		試験番号 R12384	試験番号 R12484	試験番号 RC2324 (R12384+R12484)
群番号	対照群	00、01	00、01	—
	投与群	02、03、04、05	02、03、04、05	—
動物数	対照群	2 群設置 1 群雌雄各 30 匹	2 群設置 1 群雌雄各 30 匹	合計雌雄各 120 匹
	投与群	1 群雌雄各 30 匹	1 群雌雄各 30 匹	1 群雌雄各 60 匹
投与期間				—

投与方法： 検体を 0、25、90、300 及び 1000ppm の濃度で基礎飼料に混合し、2年間自由に摂取させた。試験飼料は 2 週間毎に調製した。対照群には基礎飼料を同様に投与した。

用量設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

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観察した。また、詳細な症状観察（筋緊張、被毛の状態、眼の周囲及び外観、呼吸、体位、排泄物、自発運動及び外傷ならびに腫瘤）の観察を毎週1回行った。

一般状態観察及び詳細な症状観察において、検体投与に関連する変化は認められなかった。観察された変化の多くは加齢ラットにみられる変化であり、対照群及び投与群で同等の発生し、両試験で同様の変化が観察された。

試験終了時の生存率を下表に示す。

投与群 ppm			0	0	25	90	300	1000
RC2324	生存動物数	雄						
		雌						
	生存率 (%)	雄						
		雌						
R12384	生存動物数	雄						
		雌						
R12484	生存動物数	雄						
		雌						

統計検定未実施

死亡率について検体投与の影響は認められなかった。300及び1000ppm群の雄の生存率は、対照群及び低投与群よりも高かった。

R12384とR12484の試験結果にはいずれの項目についても毒性学的に意味のある差が認められなかったことから、以降は両試験を併合したRC2324の結果を主に述べる。

体重変化： 全動物の体重を毎週測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた平均体重と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日本農薬株式会社にある。

2 試験合計[RC2324]の平均体重

測定日 (投与開始後日数)	投与群 ppm							
	雄				雌			
	25	90	300	1000	25	90	300	1000
開始時								
6								
13								
20								
27								
34、41								
48								
55								
63、70、77、83、90、97、 104、111								
118								
125、132								
139								
147								
153、160、167								
174								
181								
188、195								
202								
209、216、224、230								
238								
244、251、258、265、272、 279、287、293、300								
307、314								
322								
328								
335、342								
349、356、363、370								
377								
385								
391、398、405、412、419、 426、432								
441								
447、454								
461								
468								
475								
482								
489								
496								
503								
510								
517								
524								
531								
538								
545								
552								
559								
566								

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05、↑⇓： P<0.01、  
表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1000ppm 群の雄において、投与開始後約 18 ヶ月間の平均体重及び体重増加量が統計学的に有意に低下した。1000ppm 群及び 300ppm 群の雌では、投与開始後約 9 ヶ月間の殆どの測定日において平均体重増加量が有意に増加した。雌における体重の増加に毒性学的意義はないと考えられた。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた平均体重増加量及び測定日を次表に示す。

2 試験合計 [RC2324] の平均体重増加量

測定日 (投与開始後日数)	投与群 ppm							
	雄				雌			
	25	90	300	1000	25	90	300	1000
6								
13								
20								
27								
34								
41								
48								
55								
62								
70								
77								
83								
90								
97								
104								
111								
118								
125								
132								
139								
147								
153								
160								
167								
174								
181								
188								
195								
202								
209								
216								
224								
230								
238								

Dunnett 検定、↑↓ :  $p < 0.05$ 、↑⇓ :  $P < 0.01$   
 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2 試験合計[RC2324]平均体重増加量 (続き)

測定日 (投与開始後日数)	投与群 ppm							
	雄				雌			
	25	90	300	1000	25	90	300	1000
244								
251								
258、265								
272								
279								
287								
293								
300								
307								
314								
322、328								
335								
342、349								
356								
363、370								
377								
385								
391、398								
405、412、419、426、432、 441								
447								
454、461								
468、475								
482、489								
496								
503								
510								
517、524								
531、538								
545								
552								
559								
650								
731								

Dunnett 検定、↑↓ :  $p < 0.05$ 、⇕ :  $P < 0.01$

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

摂餌量及び食餌効率； 全動物の摂餌量を毎週測定した。また、食餌効率は摂餌量 100g あたりの平均体重増加量として算出した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた試験番号 RC2324 における平均摂餌量の測定日を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2 試験合計 [RC2324] の平均摂餌量

測定日 (投与開始後日数)	投与群 ppm							
	雄				雌			
	25	90	300	1000	25	90	300	1000
6								
13								
20								
27								
34								
41								
48								
55								
62								
70、77								
83								
90、97、104、111、118								
125								
132								
139、147								
153								
160								
167、174、181、188、195、 202								
209								
216								
224								
230、238、244、251、258、 265、272								
279、287								
293、330007、314、322、 328、335、342、349、356、 363、370、377、385、391、 398、405、412、419、426、 432、441、447、454、461、 468、475、482、489、496、 503、510、517、524、531、 538、545、552、559、566、 573、580、588、594、601、 608、615、622、629、636、 643、650、657、664、671、 678、686、692								
699、706、713、720、731								

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05、↑↓： P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

平均摂餌量は、1000ppm 群の雄の殆どの試験期間で有意に低下し、対照群値に対し 5% (1.0g/日) 以上減少した。雌では試験番号 R12484 及び RC2324 の 300 及び 1000ppm 群において投与開始から約 9 ヶ月間に平均摂餌量が有意に増加したが、R12384 では増加はみられなかった。従って、雌の変化は一貫性がないと判断された。他の全ての投与群における摂餌量は、対照群と同程度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

食餌効率においても同様に 1000ppm 群の雄で有意な低下が認められ、R12484 では投与開始後約 17 ヶ月間の殆どの期間に、R12384 ではより軽度に投与開始から 8 ヶ月間、低下が認められた。雄の食餌効率の低下の程度は、投与開始初期(開始後 27 日まで)の方が強く発現した(対照群の 11-17%減少)。雌では 300 及び 1000ppm 群の投与開始後約 9 ヶ月間の食餌効率が有意に増加したが、この変化に毒性学的意義はないと考えられた。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた食餌効率の測定日を下表に示す。

2 試験合計[RC2324]の食餌効率

測定日 (投与開始後日数)	投与群 ppm							
	雄				雌			
	25	90	300	1000	25	90	300	1000
13								
20								
27								
34								
41								
48								
55								
62								
70								
77								
83								
90								
97								
104								
111								
118								
125								
132								
139								
147								
153								
160								
167								
174								
181								
188								
195								
202								
209								

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05、⇕： P<0.01  
 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2 試験合計[RC2324]の食餌効率 (続き)

測定日 (投与開始後日数)	投与群 ppm							
	雄				雌			
	25	90	300	1000	25	90	300	1000
216								
224								
230								
238								
244								
251								
258								
265								
272								
279								
287								
293								
300								
307								
314								
322、328								
335								
342								
349、356								
363								
370								
377								
385								
391								
398								
405、412								
419								
426								
432								
447								
454								
461								
468								
475								
482								
489、496								
510、517								
566								
608								
657								

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05、↑⇓： P<0.01  
 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体摂取量； 投与期間中の1日平均検体摂取量は下表の通りであった。

1日あたり平均検体摂取量

投与群 ppm			25	90	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	RC2324	雄	1.00	3.56	12.10	41.23
		雌	1.23	4.38	14.48	49.32
	R12384	雄	0.98	3.50	11.84	40.74
		雌	1.20	4.27	14.15	48.25
	R12484	雄	1.01	3.61	12.29	41.57
		雌	1.24	4.48	14.75	50.16

血液学的検査； 投与開始後6、12及び18ヶ月に両試験の1群雌雄5例（合計1群雌雄各10匹）について、眼窩静脈叢から採血した。また試験終了時には全生存動物についてエーテル麻酔下で眼窩静脈叢あるいは心臓穿刺によって採血した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、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）、赤血球形態検査、血小板数、白血球数、白血球百分比、プロトロンビン時間（試験終了時のみ）

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頁の表に示す。

2 試験合計[RC2324]の血液学的検査結果

検査項目	検査月	投与群 ppm							
		雄				雌			
		25	90	300	1000	25	90	300	1000
赤血球数	6								
	12								
	18								
	24								
ヘモグロビン濃度	24								
ヘマトクリット値	18								
	24								
MCV	6								
	12								
	18								
	24								
MCH	12								
	18								
	24								
MCHC	18								
白血球数	6								
	18								
白血球 百分比	リンパ球	6							
	好中球	6							
	帯状核白血球	18							
白血球百分比：単球	12								
	18								
	24								
血小板数	12								
	18								
プロトロンビン時間	24								

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

\*： 測定値が“0”のため、対照群値に対する値を計算できなかった。

1000ppm 群の雄の全検査時及び 300ppm 群の 12、24 ヶ月後の検査時に赤血球数の有意な増加が認められた。しかし、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度は必ずしもこれらの検査時期に変化は見られず、MCV 及び MCH の変動は極めて軽度であった。従って、1000ppm 群の雄赤血球数の増加を毒性学的に有意と判断するには至らなかった。その他の統計学的に有意な変化は、変化の程度が小さいか、もしくは偶発的で用量相関性がなかったため、投与に関連しない変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液生化学的検査； 投与開始後 6、12 及び 18 ヶ月に両試験の 1 群雌雄 5 例（合計 1 群雌雄各 10 例）について、眼窩静脈叢から採血した。また試験終了時には一晩絶食させた全生存動物をエーテル麻酔下で眼窩静脈叢あるいは心臓穿刺によって採血し、雌雄各 5 匹もしくは全生存動物について検査した。

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

\*：試験終了時の全生存動物について検査した。その他の項目は雌雄各 5 匹について検査した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

2 試験合計 [RC2324] の血液生化学的検査結果

検査項目	検査月	投与群 ppm							
		雄				雌			
		25	90	300	1000	25	90	300	1000
グルコース	18								
尿素窒素	12								
	24								
クレアチニン	6								
	12								
	18								
総ビリルビン	6								
	12								
	18								
	24								
ALP	12								
	18								
ALT	12								
AST	12								
LDH	12								
CPK	12								
	24								
カルシウム	6								
	12								
	18								
無機リン	6								
ナトリウム	18								

Dunnnett 検定、↑↓： p<0.05、↑⇓： P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

2 試験合計[RC2324]の血液学的検査 (続)

検査項目	検査月	投与群 ppm							
		雄				雌			
		25	90	300	1000	25	90	300	1000
総蛋白質	6								
	12								
アルブミン	6								
	12								
カリウム	12								
クロール	6								
コレステロール	6								
	12								
	18								
	24								
トリグリセリド	6								
	12								

Dunnett 検定、↑↓ :  $p < 0.05$

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

コレステロールの減少が 300 及び 1000ppm 群の雄の全検査時期、90ppm 群の雄の 12 ヶ月後、300 及び 1000ppm 群の雌の 6 及び 12 ヶ月後の検査時に認められた。また、トリグリセリドの減少が 300ppm 群の雌及び 1000ppm 群の雌雄において、6 ヶ月後の検査時に有意に減少し、1000ppm 群の雌では 12 ヶ月後にも持続して認められた。しかし、一般的にコレステロール及びトリグリセリドの減少は、動物にとって有益な変化であるため、これらは毒性学的意義のない変化と考えられる\*。他の統計学的に有意な変化は、変化の程度が小さいか、もしくは偶発的で用量相関性がなかったため、投与に関連しない変化と考えられた。

\*申請者注；コレステロール及びトリグリセリドの減少は検体投与に関連した変化と考えられ、関連した病理組織学的所見を伴わないことから毒性学的に重要な変化とは考えなかった。

尿検査； 投与開始後 6、12、18 ヶ月及び試験終了時に両試験の 1 群雌雄 5 例（合計 1 群雌雄各 10 例）について 5 時間採尿し、以下の項目を検査した。

尿量、色調、透明性/外観、比重、pH、蛋白質、グルコース、潜血、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン

対照群と比較して尿量に統計学的有意差が下表に示すように認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

各試験における尿量の変化(統計学的有意差のみられたもの)

試験番号	検査月	投与群 ppm							
		雄				雌			
		25	90	300	1000	25	90	300	1000
RC2324	24								
R12384	12								
	24								
R12484	12								

Dunnett 検定、↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

尿量の変化は用量あるいは検査時期に一貫した変化ではなく、検体検体投与に関連した変化とは考えられなかった。その他の尿検査項目に変化はみられなかった。

眼科学的検査; 投与開始前の全動物及び試験開始後 6、12 及び 24 ヶ月に両試験の対照群及び最高投与群の全生存動物について、スリットランプによる角膜及び前眼房の検査、検眼鏡による眼底検査を行った。

検体投与の影響はみられなかった。

酵素誘導; 試験終了時に両試験の 1 群雌雄各 5 例 (合計 1 群雌雄各 10 例) の動物から採取した肝臓における p-ニトロアニソール 0-脱メチル化酵素活性を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた p-ニトロフェノール (PNP) 量を下表に示す。

各試験終了時における肝臓ホモジネートの p-ニトロアニソール 0-脱メチル化酵素活性

試験番号	検査項目	投与群 ppm							
		雄				雌			
		25	90	300	1000	25	90	300	1000
R12384	PNP生成量								
R12484	PNP生成量								

Dunnett 検定、↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

試験番号 R12384 では 1000ppm 群の雄、R12484 では 300ppm 群の雄及び 1000ppm 群の雌雄において統計学的に有意な投与に関連した酵素活性の亢進が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

臓器重量； 試験終了時に両試験の全生存動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比、対脳重量比も算出した。

腎臓、肝臓、心臓、脾臓、卵巣、子宮、精巣、前立腺、副腎、上皮小体を含む甲状腺、脳

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頁の表に示す。

2 試験合計[RC2324]の臓器重量

検査項目		投与群 ppm							
		雄				雌			
		25	90	300	1000	25	90	300	1000
最終体重									
腎臓	実重量								
	対脳重量比								
脾臓	実重量								
	対体重比								
	対脳重量比								
精巣	実重量								
	対体重比								
	対脳重量比								
甲状腺	実重量								
	対体重比								
	対脳重量比								
脳	実重量								
	対脳重量比								
肝臓	実重量								
	対体重比								
	対脳重量比								
卵巣	実重量								
	対体重比								
	対脳重量比								
子宮	実重量								
	対体重比								
	対脳重量比								
副腎	対脳重量比								

Dunnett 検定、↑ ↓ :  $p < 0.05$  表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

雄の 1000ppm 群では脾臓実重量及び対体重比、対脳重量比の低下がみられ、この変化は病理組織学的検査結果において本群の雄の単核細胞性白血病が減少したことに起因する変化と考えられた。300 及び 1000ppm 群に精巣実重量及び対体重比、対脳重量比の増加がみられた。これは、同群での高い生存率に起因する間細胞腫が増加したことにより誘発された変化と考えられた。また甲状腺実重量及び対体重比、対脳重量比の増加が 300 及び 1000ppm 群にみられたが、この変化に相当する病理組織学的変化はみられなかったことから、毒性学的な意義はないものと考えられた。雌では、1000ppm 群の肝の実重量及び対体重比、対脳重量比がわずかに増加し、投与に起因する変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

また、300及び1000ppm群の卵巣実重量及び対体重比、対脳重量比が増加したが、この変化はわずかであること、用量との関連性及び病理組織学的変化がみられなかったことから、毒性学的な意味のない変化と考えられた。1000ppm群の子宮実重量及び対体重比、対脳重量比が対照群に対し最大で約36%の低下を示したが、病理組織学的変化がみられなかったことから毒性学的意義はないものと考えられた。

他の全ての統計学的に有意な変化は、その変化の程度が小さく、実重量、対体重比、対脳重量のいずれかの変化であり、両試験のうち一方のみの変化、片性のみの変化あるいは用量関連性を示さない変化であったため、毒性学的意義はないものと判断された。

肉眼病理学的検査；全動物について剖検した。

検体投与の影響はみられなかった。

病理組織学的検査；全動物について以下の組織の病理標本を作製し、検査した。

腎臓、肝臓、心臓、肺、脾臓、胸腺、リンパ節、唾液腺、膵臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、卵巣、子宮、副腎、甲状腺、精巣、前立腺、皮膚、乳腺、骨格筋、膀胱、骨、骨髄、眼、大脳、小脳、脳幹、下垂体、気管、食道、大動脈、盲腸、肉眼的病変部位

脊髄及び坐骨神経を試験終了時の全生存動物について検査した。

#### [非腫瘍性病変]

検体投与に関連する肝病変が認められた。全動物（RC2324）の肝臓に認められた非腫瘍性病変を表1に示す。

検体に関連する所見は肝臓の限局性異型性、脂肪変性及び好酸性変化であった。限局性肝細胞異型の発生率及びその程度は300及び1000ppm群の雄で増加したが、雌では対照群との差は明確ではなかった。肝細胞の脂肪変性は、1000ppm群の雄の発生率及び重症度が増加した。肝細胞の好酸性変化は、300ppm群の雄で8%、1000ppm群の雄で45%及び雌で22%に認められた。

その他の検体投与に関連すると考えられた非腫瘍性病変はいずれの群においても認められなかった。

表1 肝臓においてみられた非腫瘍性病変 (2 試験合計 [RC2324])

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	25	90	300	1000	0	25	90	300	1000
全 動 物	所見/検査動物数											
	小葉中心性異型性	中等度										
	限局性異型性	軽微										
		軽度										
		中等度										
		重度										
	びまん性細胞異型	中等度										
	脂肪変性	軽微										
		軽度										
		中等度										
		重度										
	肝細胞好酸性変化	-										
	胆管線維症	中等度										
		重度										
	小葉中心性変性	軽度										
		中等度										
		重度										
	嚢胞状変性	中等度										
		重度										
	脂肪変性	軽度										
		重度										
	線維化	重度										
	肝横隔膜面結節	-										
肝横隔膜面結節*	-											
結節状過形成	-											
限局性肥大	-											
単核細胞浸潤	中等度											
炎症	中等度											
壊死	軽微											
	軽度											
	中等度											
	極重度											
単細胞壊死 軽度												
毛細血管拡張症 重度												

- : 程度の分類無し、\* : 肉眼的病変部位

(統計処理は未実施)



〔腫瘍性病変〕

観察された全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

腫瘍性病変について、最初に Cochran-Armitage の傾向検定を実施した結果、雄の肝細胞腺腫、乳腺の線維腺腫及び精巣の間細胞腫において用量相関性の増加及び皮膚の角化棘細胞腫及び全身の単核細胞性白血病において用量相関性の減少が認められた。雌ではいずれの腫瘍性病変においても有意差は認められなかった。次いで生存率を加味した Peto の傾向検定を実施した。これらの発生率の増加した腫瘍性病変はいずれも良性であり、高投与群における雄の生存率が対照群より高かったことから、加齢により腫瘍の発生頻度が増加した可能性が考えられた。肝細胞腺腫は、300ppm 群の雄に 4 例発現したが、いずれも試験番号 R12484 で認められ、1000ppm 群では R12384 で 1 例、R12484 で 2 例に認められた。また肝細胞腺腫は、1 例を除いて全て生存例にみられており、生存率は R12484 の 300ppm 群で最も高く、90%に達していたことから生存率の増加に起因する変化であると考えられた。従って、これら腫瘍性病変は、検体投与により誘発されたものではなく、生存率の増加に起因した変化であると判断された。以下に雄の肝細胞腺腫、乳腺の線維腺腫及び精巣の間細胞腫の発生率を示す。

臓器	所見	試験番号/ 検査動物数	投与群 ppm				
			0	25	90	300	1000
生存率 (%)		RC2324					
		R12384					
		R12484					
肝臓	肝細胞腺腫	検査動物数(雌雄)					
		RC2324					
		R12384					
		R12484					
乳腺	線維腺腫	検査動物数(雄)					
		RC2324					
		R12384					
		R12484					
精巣	良性間細胞腫	検査動物数(雄)					
		RC2324					
		R12384					
		R12484					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上、フルルプリミドール原体のラットを用いた混餌投与による2年間慢性毒性/発がん性併合試験において、300ppm群の雄で肝のp-ニトロアニソール0-脱メチル化酵素活性の亢進及び病理組織学的検査における肝病変がみられた。1000ppm群では、雄で体重、体重増加量、摂餌量及び食餌効率の減少がみられ、雌では肝実重量、対体重比及び対脳重量比の増加がみられた。また、同群では病理組織学的検査で雌雄に肝病変が認められた。25及び90ppm群の雌雄においては検体投与の影響は認められなかった。いずれの投与群においても検体投与に起因する腫瘍性病変は認められなかった。

従って、本試験条件下におけるNOEL(無作用量)は90ppm(雄:3.56mg/kg/日、雌:4.38mg/kg/日)と判断された。また、催腫瘍性はないものと判断された。

申請者註；

本試験において、300ppm群の雌では毒性学的に有意な変化が認められなかったため、本試験条件下におけるNOAEL(無毒性量)は雄で90ppm(3.56mg/kg/日)及び雌で300ppm(14.48mg/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日本農業株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与群(%)		0	25	90	300	1000	0	25	90	300	1000
	臓器	所見/検査動物数										
全 動 物	全身	検査動物数										
		全身性線維肉腫 (M)										
		リンパ肉腫 (M)										
		単核細胞性白血病(M) (雄↓)										
	腎臓	検査動物数										
		脂肪肉腫 (M)										
		腎細胞癌 (M)										
	膀胱	検査動物数										
		移行上皮乳頭腫 (B)										
	肝臓	検査動物数										
		胆管腫 (B)										
		肝細胞腺腫 (B)										
		肝細胞癌 (M)										
	肺	検査動物数										
		肺胞/細気管支腺腫 (B)										
		肺胞/細気管支癌 (M)										
		扁平上皮癌 (M)										
	縦隔	検査動物数										
		線維腫 (B)										
	リンパ節	検査動物数										
		形質細胞骨髓腫 (M)										
	胸腺	検査動物数										
		悪性胸腺腫 (M)										
	膵臓	検査動物数										
		腺房細胞腺腫 (B)										
		膵島細胞腺腫 (B)										
	口唇	検査動物数										
		乳頭腫 (B) *										
	胃	検査動物数										
		乳頭腫 (B)										
	回腸	検査動物数										
		平滑筋肉腫 (M)										
	結腸	検査動物数										
		腺癌 (M)										
	腹膜	検査動物数										
		脂肪腫 (B)										
		良性中皮腫 (B)										
		線維肉腫 (M)										
		悪性中皮腫 (M)										

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

↓ ; p<0.001 : Cochran-Armitage 検定 (両側)、Peto 検定により雄のみ処理により低下。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与群(%)		0	25	90	300	1000	0	25	90	300	1000
	臓器	所見/検査動物数										
全動物	卵巣	検査動物数										
		血管腫 (B)										
		黄体腫 (B)										
		悪性顆粒膜細胞腫 (M)										
	子宮	検査動物数										
		血管腫 (B)										
		平滑筋腫 (B)										
		腺癌 (M)										
		平滑筋肉腫 (M)										
	膣	検査動物数										
		扁平上皮癌 (M)										
	精巣	検査動物数										
		間細胞腫 (B)										
		悪性間細胞腫 (M)										
	皮膚	線維腫 (B)										
		角化棘細胞腫 (B) ↓										
		脂肪腫 (B)										
		乳頭腫 (B)										
		乳頭腫 (B) *										
		皮脂腺腫 (B)										
		腺癌 (M)										
		基底細胞癌 (M)										
		癌肉腫 (M)										
		線維肉腫 (M)										
		脂肪肉腫 (M)										
		皮脂腺癌 (M)										
		悪性不特定腫瘍 (M)										
		乳腺	検査動物数									
	腺腫 (B)											
	線維腺腫 (B)											
	線維腺腫 (B) *											
	扁平上皮癌 (M)											
	包皮腺	検査動物数										
		腺腫 (B)										
	ジンパ ル腺	検査動物数										
		腺腫 (B)										
		扁平上皮癌 (M)										
	骨	検査動物数										
		軟骨肉腫 (M)										
		骨膜性線維肉腫 (M)										

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、 - : 該当無し、\* : 肉眼的病変部位

↓ ; p<0.05 : Cochran-Armitage 検定 (両側)、Peto 検定により雄のみ処理により低下。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与群 (%)		0	25	90	300	1000	0	25	90	300	1000
	臓器	所見/検査動物数										
全 動 物	副腎	検査動物数										
		皮質腺腫 (B)										
		褐色細胞腫 (B)										
		悪性褐色細胞腫 (M)										
	甲状腺	検査動物数										
		C細胞腺腫 (B)										
		濾胞細胞腺腫 (B)										
		C細胞癌 (M)										
	下垂体	検査動物数										
		腺腫 (B)										
		腺腫 (B)										
		腺癌 (M)										
	大脳	検査動物数										
		良性膠腫 (B)										
		悪性膠腫 (M)										
		悪性稀突起膠細胞腫 (M)										
	末梢 神経	検査動物数										
		神経線維腫 (B)										

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、\* : 肉眼的病変部位

Cochran-Armitage 検定 (両側)、Peto 検定にて有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

②ラットを用いた混餌投与による 18 ヶ月間反復投与毒性試験及び 6 ヶ月間回復性試験

(資料 T-22)

試験目的：検体の 2 年間の混餌投与(資料 T-21)により惹起された毒性影響について、その可逆性を検討するために実施された。

検体の純度：

供試動物：Fischer 344 系雌雄ラット、投与開始時 5~6 週齢（体重：雄  $108.6 \pm 6.3$ g 雌  $91.2 \pm 4.5$  g）、雌雄各 30 匹（次表を参照）

各試験群の 動物数	18 ヶ月間投与期間終 了時屠殺予定動物 (主群)		18 ヶ月間投与+6 ヶ月間回復期間 終了後屠殺予定動物(回復群)	
	雄	雌	雄	雌
無添加飼料対照群	30	30	30	30
1000ppm 投与群	30	30	30	30

試験期間：投与期間； 18 ヶ月、回復期間； 6 ヶ月

投与方法： 検体を 1000ppm の濃度で基礎飼料に混合し、18 ヶ月間自由に摂取させた。試験飼料は 2 週間毎に調製し、保存安定性の保証期間内で使用した。対照群には基礎飼料を同様に投与した。

雌雄の投与群には 18 ヶ月間にわたって 1000ppm 試験飼料を与えた後、主群の雌雄各 30 匹を屠殺した。回復群の雌雄各 30 匹については、検体を含まない飼料を 6 ヶ月間与えた後に屠殺した。

用量設定根拠；

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観察した。また、詳細な症状観察（筋緊張、被毛の状態、眼の周囲及び外観、呼吸、体位、排泄物、自発運動及び外傷ならびに腫瘤）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

を毎週 1 回行った。

生存率について、投与期間及び回復期間を通じて検体投与の影響は認められなかった。投与期間及び回復期間終了時点の生存率を次表に示す。

生存率 (%)

性別	18 ヶ月間投与期間終了時屠殺予定動物(主群)				18 ヶ月間投与+6 ヶ月間回復期間終了後屠殺予定動物(回復群)			
	雄		雌		雄		雌	
投与量(ppm)	0	1000	0	1000	0	1000	0	1000
投与期間終了時								
回復期間終了時								

統計検定未実施

臨床観察及び詳細な症状観察において、検体投与に関連する変化は認められなかった。観察された変化の多くは加齢ラットにみられる変化であり、対照群及び投与群で同等に観察された。

体重変化： 全動物の体重を投与開始後 3 ヶ月間は毎週、その後は 2 週間に 1 回測定した。

投与開始時から投与期間及び回復期間の体重増加量について対照群に比べて統計学的有意差が認められた変化を次頁に表示する。

両試験の投与群の雄において、投与開始後約 18 ヶ月間の平均体重及び体重増加量が有意に低下した。投与群の雄の体重低下は投与期間の最後の 3 ヶ月間ではやや明らかではなかったが、回復期間を通じて軽度ながら認められた。一方、雌の投与群では、有意な増加が投与期間の最初の 7 ヶ月間に認められた。体重増加量の低下が 462 日から 544 日まで 18 ヶ月間投与期間終了時屠殺予定動物でみられたが、同様な低下は 6 ヶ月間回復期間終了後屠殺予定動物では認められなかった。以上、雌の投与群における体重の変化は毒性学的に重要とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

累積体重増加量

性別	雄		雌	
	主群	回復群	主群	回復群
投与量(ppm)	1000	1000	1000	1000
投与期間	7日			
	14日			
	21日			
	28日			
	35日			
	42日			
	49日			
	55日			
	62日			
	70日			
	77日			
	84日			
	91日			
	98日			
	112日			
	126日			
	140日			
	154日			
	168日			
	182日			
	196日			
	210日			
	224日			
	238日			
	252日			
	266日			
	280日			
	294日			
	308日			
	323日			
336日				
350日				
365日				
379日				
392日				
462日				
476日				
490日				
504日				
518日				
532日				
544日				
575日				
回復期間	588日			
	602日			
	616日			
	644日			
	658日			
	673日			

表中の数値は対照群値を100とした場合の値を示す。

Dunnett 検定、↑↓ : 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日本農業株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率； 全動物の摂餌量を投与開始後3ヶ月間は毎週、その後は2週間に1回測定した。また、食餌効率は摂餌量100gあたりの平均体重増加量として算出した。投与期間及び回復期間における平均摂餌量及び平均食餌効率を次頁に表示する。

対照群と比較して有意な摂餌量の低下が投与群の雄に投与期間及び回復期間を通じて認められ、検体投与による影響と考えられた。雌の投与群において食餌効率の低下が18ヶ月間投与期間終了時屠殺予定動物にみられたが、同様の変化は6ヶ月間回復期間終了後屠殺予定動物ではみられず、毒性学的に重要とは考えられなかった。

### 摂餌量及び食餌効率

性別	雄		雌	
	主群	回復群	主群	回復群
投与量(ppm)	1000	1000	1000	1000
投与期間				
摂餌量				
食餌効率				
回復期間				
摂餌量				
食餌効率				

表中の数値は対照群値を100とした場合の値を示す。

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05、↑↓： P<0.01

検体摂取量； 投与期間中の1日平均検体摂取量は次表の通りであった。

### 1日あたり平均検体摂取量

投与量(ppm)		1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	43.1
	雌	51.7

臓器重量； 18か月間の投与終了時及び6ヵ月間の回復期間終了の屠殺動物について、肝臓及び副腎の重量を測定し、その対体重比も算出した。

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頁に表示する。

肝臓重量の増加が投与群の雌雄において投与期間終了時に認められ、検体投与による影響と考えられた。同様な肝臓重量の増加は回復期間終了時にはみられなかった。副腎重量に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日本農薬株式会社にある。

### 臓器重量

性別	雄		雌	
投与量(ppm)	1000	1000	1000	1000
	投与終了時	回復期間終了群	投与終了時	回復期間終了群
最終体重				
肝臓重量				
対体重比				

表中の数値は対照群値を100とした場合の値を示す。

Dunnett 検定、↑↓：  $p < 0.05$ 、↑↓：  $P < 0.01$

肉眼病理学的検査； すべての動物について剖検した。

申請者注： 原報の本文に結果の記載がなかった。

病理組織学的検査； 18 か月間の投与終了時及び6 ヶ月間の回復期間終了の屠殺動物について、以下の組織の病理標本を作製し、検査した。

腎臓、肝臓、心臓、肺、脾臓、胸腺、リンパ節、唾液腺、膵臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、卵巣、子宮、副腎、甲状腺、精巣、前立腺、皮膚、乳腺、骨格筋、膀胱、骨、骨髄、眼、大脳、小脳、脳幹、下垂体、気管、食道、大動脈、盲腸、肉眼的病変部位

#### [非腫瘍性病変]

検体投与に関連する肝病変が認められた。肝臓に認められた非腫瘍性病変を次頁に表示する。

検体に関連する所見は肝臓の限局性異型性、脂肪性変化及び肝細胞好酸性変化であった。限局性肝細胞異型(focal atypia)は全群で観察されたが、18 ヶ月間投与期間終了時屠殺動物の雄の投与群で増加した。脂肪性変化は、雌雄の投与群で増加が認められた。肝細胞好酸性変化は18 ヶ月間投与期間終了時屠殺動物の対照群には観察されず、雌雄の投与群に高頻度に観察された。これらの肝病変の内、限局性異型性及び脂肪性変化は、回復期間終了時の検査においてそれらの発生率が対照群と投与群で同程度であった。また、肝細胞好酸性変化は発生がなかった。

その他の検体投与に関連すると考えられた非腫瘍性病変はいずれの群においても認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

肝臓の非腫瘍性病変の発生状況

性別	雄				雌			
	主群		回復群		主群		回復群	
投与量 (ppm)	0	1000	0	1000	0	1000	0	1000
検査動物数								
限局性 異型性	軽微							
	軽度							
	計							
脂肪性 変化	軽微							
	軽度							
	中等度							
	重度							
計								
肝細胞好酸性変化								

(統計検定は未実施)

[腫瘍性病変]

雌の下垂体腺腫の発生状況を次表に示す。

	本試験				並行実施した慢性毒性/発がん性試験 (資料 T-21)	
	主群		回復群		0	1000
投与量 (ppm)	0	1000	0	1000	0	1000
検査動物数						
下垂体腺腫						

(統計検定は未実施)

18 ヶ月投与期間終了時及び6 ヶ月の回復期間終了時の検査時期において、対照群に比べて雌の投与群で下垂体腺腫の発生増加が観察された。しかし、本試験と同時に並行実施されたラットの2年間慢性毒性/発がん性試験 (資料 T-21) においては、下垂体腺腫の発生率が対照群より投与群で低かった。文献<sup>\*)</sup>による背景データによれば Fischer 344 系の雌ラットにおける下垂体腺腫の平均発生率は 36~54%、その範囲は 23~70%である。以上のことから本試験の雌の投与群における下垂体腺腫の発生率の増加は、正常な変動による変化であり、検体投与による影響ではないと考えられた。その他、検体投与に関連した腫瘍性病変は雌雄とも認められなかった。

以上、フルルプリミドール原体のラットを用いた混餌投与による18 ヶ月間反復投与毒性試験及び6 ヶ月間回復性試験において、1000ppm 群で体重、体重増加量及び摂餌量の低下が雄で認められた。また、肝臓重量の増加が雌雄で認められ、肝臓の限局性異型性が雄で、脂肪性変化及び肝細胞好酸性変化が雌雄で認められた。これらの変化は回復期間における検査では認められなかったことから、可逆的影響と考えられた。発がん性は認められなかった。

<sup>\*)</sup> Haseman, J. K. (1983). Patterns of Tumor Incidence in Two-Year Cancer Bioassay Feeding Studies in Fischer 344 Rats. Fundam. Appl. Toxicol. 3: 1-9.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

③マウスを用いた混餌経口投与による2年間発がん性試験

(資料 T-23)

検体の純度：

供試動物：B6C3F1系雌雄マウス、5-6週齢、

投与開始時体重：M01285；雄  $19.6 \pm 1.7g$  雌  $16.4 \pm 1.1g$ 、

M01385；雄  $19.4 \pm 1.5g$  雌  $15.4 \pm 1.5g$ 、

1群雌雄各30匹 (M01285及びM01385の2試験を合計した動物数：1群雌雄各60匹)

観察期間：24ヶ月

投与方法： 検体を0、10、80及び600ppmの濃度で基礎飼料に混合し、2年間自由に摂取させた。試験飼料は2週間毎に調製した。対照群には基礎飼料を同様に投与した。本試験は、試験の精度を上げるために同じ試験条件下で試験番号M01285及びM01385の2回に分けて実施した。両試験における検体投与に関連した反応性に差違が認められなかったことから、両試験を併合し以降、試験番号MC1213として評価した。以下に試験設計を示す。

	試験番号 M01285	試験番号 M01385	試験番号 MC1213 (M01285+M01385)
動物数(対照群及び投与群)	1群雌雄各30匹	1群雌雄各30匹	1群雌雄各60匹
投与期間			—

用量設定根拠；

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観察した。また、詳細な症状観察（筋緊張、被毛の状態、眼の色調及び外観、呼吸、体位、排泄物、自発運動及び外傷ならびに腫瘤）を毎週1回行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

死亡率について検体投与の影響は認められなかった。

試験終了時の生存率を下表に示す。

投与群 (ppm)		0	10	80	600
MC1213	生存動物数	雄(60匹中)			
		雌(60匹中)			
	生存率 (%)	雄			
		雌			
M01285	生存動物数	雄(30匹中)			
		雌(30匹中)			
M01385	生存動物数	雄(30匹中)			
		雌(30匹中)			

統計検定未実施

一般状態観察及び詳細な症状観察において、観察された変化の多くは加齢マウスにみられる変化であり、対照群及び投与群で同等の発生し、両試験で同様の変化が観察された。検体投与に関連する変化は認められなかった。

体重変化：全動物の体重を投与開始後 13 週間は毎週、その後は隔週で投与終了時まで測定した。

体重について検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を両試験とも、各用量当たり雌雄 3 ケージについて、約 1、3、6、12、18 及び 24 ヶ月時に 2 週間にわたって測定した。

摂餌量について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 1 日平均検体摂取量は下表の通りであった。

1 日あたり平均検体摂取量 (MC1213 として併合した結果)

投与群 (ppm)		10	80	600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.32	9.83	75.73
	雌	1.39	11.19	83.99

血液学的検査； 投与開始後 12 及び 18 ヶ月に両試験の対照群及び最高用量群の雌雄 5 例（合計 1 群雌雄各 10 匹）を対象に、眼窩静脈叢から採血した。また試験終了時には全生存動物についてエーテル麻酔下で心臓穿刺によって採血した。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン濃度 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、赤血球形態検査、白血球数 (WBC)、白血球百分比

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日本農業株式会社にある。

血液学的検査結果 (MC1213 として併合した結果)

検査項目	検査月	投与群 (%)	
		雄	雌
		600	600
RBC	18		
Hb	12		
	18		
	24		
Ht	12		
	18		
	24		
MCV	24		
MCH	12		
	24		

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

Dunnett 検定、↑↓: p<0.05

雄の 600ppm 投与群で Hb の増加が 12、18 及び 24 ヶ月の検査時に認められた。しかしながらこれらの変化のうち、18 ヶ月に認められた RBC、Hb、Ht の変化はこのときの対照値がそれ以外の時期に比べ低値であったことによる偶発的な変化と考えられた。これら以外の変化はいずれも対照群の 5% 程度の上昇に過ぎず軽度な変化であり、毒性学的に重要な変化とは考えなかった。これ以外には、投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学的検査； 試験終了時に血液学的検査と同時採血時に全生存動物をエーテル麻酔下で心臓穿刺によって採血し、検査した。

グルコース (Glu)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、総ビリルビン (T-Bil)、アルカリホスファターゼ (ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

血液学的検査結果 (MC1213 として併合した結果)

検査項目	検査月	投与群 (ppm)
		雌
		600
ALP	18	

Dunnett 検定、↑↓: p<0.05、↑↓: P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

雌の 600ppm 投与群にアルカリホスファターゼの低下が認められた。アルカリホスファターゼの低下は通常、動物の毒性症状を示すものではないことから、本所見が毒性学的に意味のある変化とは考えなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

臓器重量； 試験終了時に両試験の全生存動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比、対脳重量比も算出した。

腎臓、肝臓、心臓、脾臓、卵巣、子宮、精巣、副腎、脳

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。

臓器重量 (MC1213 として併合した結果)

検査項目		投与群 (%)			
		雄		雌	
		80	600	80	600
最終体重					
腎臓	実重量				
	対体重比				
	対脳重量比				
肝臓	実重量				
	対体重比				
	対脳重量比				

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

腎臓の実重量及び対脳重量比の低下が 600ppm 群及び 80ppm 群の雄で認められ、検体投与に関連した変化と考えられた。この所見は後述の病理組織学的検査において腎臓の尿細管の空胞化の減少に関連したものと考えられ、この変化には毒性学的な意義はないものと考えられた。したがって、雄の 600ppm 群及び 80ppm 群で認められた腎臓の実重量及び対脳重量比の低下についても、毒性学的に意味のない変化と考えられた。雌では腎臓重量の変化は認められなかった。

また、肝臓重量の対体重比が雄の 600ppm 群で、雌では、80ppm 群の対体重比、600ppm 群では実重量、対体重比、対脳重量比のいずれもが 17%増加し、検体投与に関連した変化と考えられた。その他の臓器には有意な変化は認められなかった。

肉眼病理学的検査； 試験終了時にすべての動物について剖検した。

全群に投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査； 全動物について以下の組織の病理標本を作製し、検査した。

腎臓、肝臓、胆嚢、心臓、肺、脾臓、胸腺、リンパ節、唾液腺、膵臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、卵巣、子宮、副腎、上皮小体、甲状腺、精巣、前立腺、皮膚、乳腺、骨格筋、膀胱、骨、骨髄、眼、大脳、小脳、脳幹、下垂体、気管、食道、大動脈、盲腸、肉眼的病変部位

試験終了時の全生存動物について脊髄及び坐骨神経についても検査した。

#### [非腫瘍性病変]

雄の腎臓の皮質尿細管の空胞化が、用量に関連して減少した。雄のマウスの成獣では通常、細胞質中での脂質によると考えられる腎尿細管細胞質の空胞化がみられる。この所見に関連したその他の変化は認められず、本所見の減少の理由は不明であったが、毒性学的に意味のある変化とは考えなかった。

また、雄で肝細胞の結節性過形成が、全投与群で対照群にくらべやや多かった(10ppm 群、80ppm 群、600ppm 群の頻度は 8/60、15/60、17/60、17/60)。しかし、両試験での結果は以降の表に示すように大きくばらついて再現性が認められず、両方の対照群の頻度が非常に低く、また、M01385 では本所見は雄の 1 例のみで見られた。さらに、全群の頻度は 0.13～28.3%であり、本試験実施機関における背景データ(1982～1983 年に実施された計 6 試験の無処置の B6C3F1 系マウス 361 匹における結節性過形成の頻度；平均 21.9%、範囲；9.7%～40%)の範囲内にあることから、本所見が検体投与に関連した毒性影響とは考えなかった。

#### [腫瘍性病変]

観察された全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

いずれの変化も用量との関連性がなく、検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上、フルルプリミドール原体をマウスに 2 年間混餌投与した結果、雄の 80ppm 以上の群で腎臓の実重量及び対脳重量比の低下、肝臓重量対体重比の増加が雄の 600ppm 群及び雌 80ppm 以上の群で、雌の 600ppm 群で肝臓実重量及び対脳重量比の増加が認められたことから、本試験条件下における NOEL(無作用量)は雌雄とも 10ppm(雄：1.32mg/kg/日、雌：1.39mg/kg/日)と判断された。また、発がん性はないものと判断された。

申請者注；本報告書では無毒性量(NOEL)の記載はされていないが、毒性学的に意味のある変化は認められないことから、無毒性量は雌雄とも 600ppm(雄：75.73mg/kg/日、雌：83.99mg/kg/日)と考える。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 1 主な非腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌											
	投与群 (ppm)		0	10	80	600	0	10	80	600								
全 動 物	臓器	所見\検査動物数																
		腎臓																
	検査動物数																	
	皮質管空胞化 軽度																	
肝臓	検査動物数																	
	結節性過形成																	
M 0 1 2 8 5	臓器	所見\検査動物数																
		腎臓																
	検査動物数																	
	皮質管空胞化 軽度																	
肝臓	検査動物数																	
	結節性過形成																	
M 0 1 3 8 5	臓器	所見\検査動物数																
		腎臓																
	検査動物数																	
	皮質管空胞化 軽度																	
肝臓	検査動物数																	
	結節性過形成																	

Cochran-Armitage 検定 (両側) にて有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	10	80	600	0	10	80	600
全 動 物	臓器	所見\検査動物数								
		検査動物数								
	全身	全身性線維性組織球腫 (M)								
		リンパ肉腫 (M)								
		検査動物数								
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)								
		線維性組織球腫 (M)								
		肝細胞癌 (M)								
		平滑筋肉腫 (M)								
		検査動物数								
	肺	肺胞/細気管支腺腫 (B)								
		肺胞/細気管支癌 (M)								
		平滑筋肉腫 (M)								
		検査動物数								
	脾臓	検査動物数								
		血管腫 (B)								
	リンパ 節	検査動物数								
		血管肉腫 (M)								
	唾液 腺	検査動物数								
		腺癌 (M)								
	胃	検査動物数								
		平滑筋肉腫 (M)								
		扁平上皮癌 (M)								
	腹膜	検査動物数								
		血管腫 (B)								
		平滑筋肉腫 (M)								
		悪性中皮腫 (M)								

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

Cochran-Armitage 検定 (両側) にて有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	10	80	600	0	10	80	600
全動物	臓器	所見/検査動物数								
		検査動物数								
	卵巣	顆粒膜細胞腫 (B)								
		黄体腫 (B)								
		悪性顆粒膜細胞腫 (M)								
		奇形腫 (M)								
		検査動物数								
	子宮	血管腫 (B)								
		平滑筋腫 (B)								
		腺癌 (M)								
		血管肉腫 (M)								
		平滑筋肉腫 (M)								
	精巣	検査動物数								
		間細胞腫 (B)								
	皮膚	検査動物数								
		基底細胞上皮腫 (B)								
		線維腫 (B)								
		血管腫 (B)								
		乳頭腫 (B)								
		皮脂腺腫 (B)								
		基底細胞癌 (M)								
		線維肉腫 (M)								
		血管肉腫 (M)								
		神経線維肉腫 (M)								
		皮脂腺癌 (M)								
		扁平上皮癌 (M)								
	乳腺	検査動物数								
		腺腫 (B)								
		腺癌 (M)								
	ハタゲ腺	検査動物数								
		腺腫 (B)								
		脂肪腫 (B)								
		腺癌 (M)								
	横紋筋肉腫 (M)	検査動物数								
		横紋筋肉腫 (M)								
	骨格筋	検査動物数								
		横紋筋肉腫 (M)								
	骨	検査動物数								
		骨腫 (B)								

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

Cochran-Armitage 検定 (両側) にて有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変（続き）

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	10	80	600	0	10	80	600
全 動 物	臓器	所見／検査動物数								
		検査動物数								
	副 腎	腺腫 (B) X 帯								
		皮質腺腫 (B)								
		褐色細胞腫 (B)								
	甲状 腺	検査動物数								
		濾胞細胞腺腫 (B)								
	下垂 体	検査動物数								
		腺腫 (B)								
		腺癌 (M)								

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

Cochran-Armitage 検定 (両側) にて有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

④マウスを用いた混餌投与による 18 ヶ月間反復投与毒性試験及び 6 ヶ月間回復性試験

(資料 T-24)

試験目的： 検体の 2 年間の混餌投与(資料 T-23)により惹起された毒性影響について、その可逆性を検討するために実施された。

検体の純度：

供試動物： B6C3F<sub>1</sub>系雌雄マウス、投与開始時 5～6 週齢(体重:雄 21.1±1.7g 雌 17.6±1.5g)、雌雄各 30 匹(次表を参照)

各試験群の 動物数	18 ヶ月間投与期間終了時 屠殺予定動物 (主群)		18 ヶ月間投与+6 ヶ月間回復期間終 了後屠殺予定動物 (回復群)	
	雄	雌	雄	雌
性別				
無添加飼料対照群	30	30	30	30
600ppm 投与群	30	30	30	30

投与期間： 18 ヶ月

回復期間； 6 ヶ月

投与方法： 検体を 600ppm の濃度で基礎飼料に混合し、18 ヶ月間自由に摂取させた。試験飼料は 2 週間毎に調製し、保存安定性の保証期間内で使用された。対照群には基礎飼料を同様に投与した。

雌雄の投与群には 18 ヶ月間にわたって 600ppm 試験飼料を与えた後、雌雄各 30 匹を屠殺した。残りの雌雄各 30 匹については、検体を含まない飼料を 6 ヶ月間与えた後に屠殺した。

用量設定根拠；

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観察した。また、詳細な症状観察(筋緊張、被毛の状態、眼の色調及び外観、呼吸、体位、排泄物、自発運動及び外傷ならびに腫瘤)を毎週 1 回行った。

生存率について、投与期間及び回復期間を通じて検体投与の影響は認められなかった。投与期間及び回復期間終了時点の生存率を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

生存率 (%)

性別	18ヶ月間投与期間終了時屠殺予定動物 (主群)				18ヶ月間投与+6ヶ月間回復期間終了後屠殺予定動物 (回復群)			
	雄		雌		雄		雌	
投与量 (ppm)	0	600	0	600	0	600	0	600
投与期間終了時								
回復期間終了時								

統計検定未実施

臨床観察及び詳細な症状観察において、検体投与に関連する変化は認められなかった。

体重変化：全動物の体重を投与開始後3ヶ月間は毎週、その後は2週間に1回測定した。

投与期間及び回復期間の累積体重増加量を次に表示する。

性別	雄		雌	
	主群	回復群	主群	回復群
投与量 (ppm)	600	600	600	600
投与期間				
回復期間				

表中の数値は対照群値を100とした場合の値を示す。

Dunnett 検定： ↓： P<0.01

投与期間中の体重増加量について、検体投与による影響は雌雄とも認められなかった。6ヶ月間の回復期間において、投与群の雌で回復期間の最終月に体重及び体重増加量の有意な低下がみられ、また、回復期間の累積体重増加量にも有意な低下がみられた。しかし、これらの低下は加齢による数例の状態悪化が原因であり、検体投与に関連する変化ではなかった。投与群の雄では対照群と同程度であった。

検体摂取量： 投与期間中の1日平均検体摂取量は次表の通りであった。

1日あたり平均検体摂取量

投与量 (ppm)		600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	65.9
	雌	79.8

臓器重量： 18か月間の投与終了時及び6ヶ月間の回復期間終了の屠殺動物をについて、肝臓重量を測定し、その対体重比も算出した。

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表示する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別	雄		雌	
投与量(ppm)	600	600	600	600
検査時期	投与終了時	回復期間終了時	投与終了時	回復期間終了時
最終体重				
肝臓重量				
対体重比				

表中の数値は対照群値を100とした場合の値を示す。

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05

投与期間終了時において、肝臓重量の対体重比の増加が投与群の雄でみられたがごく軽度な変化であることから、毒性学的意義があるとは考えられなかった。

肉眼病理学的検査； すべての動物について剖検した。

申請者注： 原報の本文に結果の記載がなかった。

病理組織学的検査； 18 か月間の投与終了時及び6 か月間の回復期間終了の屠殺動物について、以下の組織の病理標本を作製し、検査した。

腎臓、肝臓、心臓、肺、脾臓、胸腺、リンパ節、唾液腺、膵臓、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、卵巣、子宮、副腎、甲状腺、精巣、前立腺、皮膚、乳腺、骨格筋、膀胱、骨、骨髓、眼、大脳、小脳、脳幹、下垂体、気管、食道、大動脈、盲腸、肉眼的病変部位

#### [非腫瘍性病変]

腎臓及び肝臓に認められた非腫瘍性病変を次表に表示する。

腎臓皮質の尿細管空胞化及び肝臓の限局性異型の発生状況を次表に示す。腎臓皮質尿細管空胞化の頻度の低下が投与期間終了時及び回復期間終了時の雄の投与群で観察された。低下の原因は不明であるが毒性学的に重要であるとは考えられなかった。肝細胞限局性異型の頻度の増加が回復期間終了時に投与群の雄で観察された。しかし、同様の増加は投与期間終了時には観察されなかった。また、マウス発がん性試験（資料 T-23）では対照群の雄 30 例中 9 例で肝細胞限局性異型が観察された。以上のことから、回復期間終了時に投与群の雄で観察された増加は、検体投与には関連のない正常な変動と判断された。その他、種々の変化が観察されたが、検体投与に関連するもの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日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変の発生状況

性別	雄				雌			
	主群		回復群		主群		回復群	
投与量(ppm)	0	600	0	600	0	600	0	600
腎臓 検査動物数								
皮質尿細管空胞化								
肝臓 検査動物数								
肝細胞の限局性異型								

(統計検定は未実施)

[腫瘍性病変]

種々の病変がみられたが検体投与に関連した腫瘍性病変は認められなかった。

以上、フルルプリミドール原体のマウスを用いた混餌投与による18ヶ月間反復投与毒性試験及び6ヶ月間回復性試験において、検体の600ppm混餌投与による影響は雌雄ともに認められなかった。発がん性は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

⑤イヌを用いたカプセル投与による1年間慢性毒性試験

(資料 T-25)

検体の純度：

供試動物： 雌雄ビーグル犬、投与開始時3～6月齢、  
1群雌雄各4匹、体重：雄  $6.1 \pm 1.21\text{kg}$  雌  $5.6 \pm 0.98\text{kg}$

観察期間： 12ヶ月

投与方法： 検体の0、0.5、1.5、7.0及び30.0mg/kgをゼラチンカプセルに充填し、1年間強制経口投与した。0.5及び1.5mg/kg群では検体の少量を正確に秤量するため検体が5%となるように乳糖と混合した。7.0及び30.0mg/kgでは原体を投与した。対照群には乳糖を30mg/kg投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率； 投与初日は頻繁に観察し、その後は各動物の行動、概観を毎日数回観察した。週末及び休日は少なくとも1日1回観察した。

試験期間中、途中死亡はみられなかった。

削瘦、異常便（軟便、水様便、粘液便及び/又は血便）が観察されたが、対照群を含む全ての投与群において一時的又は散発的なものであり、投与に関連しないものと考えられた。試験最後の3ヶ月間に対照群の2匹、各投与群の1～3匹に乳腺の腫脹がみられた。春季発情後のイヌでは乳腺の軽微～軽度の腫脹は正常である。5匹の動物のうち4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

匹において泌乳が確認され、偽妊娠に関連したものと考えられた。

一般状態；試験開始前、試験 7 及び 38 週、試験終了時に各動物の健康状態をより詳細に検査した。

投与に関連した変化はみられなかった。

体重変化： 試験開始前、試験期間中は毎週、及び剖検時に測定した。

平均体重及び体重増加量に投与に関連した変化はみられなかった。

摂餌量； 毎日目視で観察した。

投与期間中、投与に関連した変化はみられなかった。

血液学的検査； 投与開始前、投与開始後 1、3 及び 6 ヶ月、ならびに投与終了時に各動物の頸静脈から血液を採取し、以下の項目について検査した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、赤血球形態、総白血球数及び白血球百分比、血小板数、及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

また、試験終了時に骨髓塗抹標本を作成して顆粒球系細胞数と赤芽球系細胞数の比 (M : E 比) を含む細胞学的評価を実施した。

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頁の表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/日)		0.5	1.5	7	30	0.5	1.5	7	30
好塩基球	1 ヶ月								
MCHC	6 ヶ月								
MCH	6 ヶ月								
リンパ球	6 ヶ月								
好中球	6 ヶ月								
APTT	6 ヶ月								

Dunnett 検定、↑ ↓ :  $p < 0.05$

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

投与に関連すると考えられる変化はみられなかった。

骨髓塗抹標本の M : E 比及び形態は正常であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液生化学的検査； 投与開始前、投与開始後 1、3 及び 6 ヶ月、ならびに投与終了時に各動物の頸静脈から血液を採取し、以下の項目について検査した。

グルコース(Glu)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cre)、総ビリルビン(T-Bil)、アルカリホスファターゼ (ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)、コレステロール(Cho)、トリグリセリド(TG)、総蛋白質(TP)、アルブミン(Alb)

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量(mg/kg/日)		0.5	1.5	7	30	0.5	1.5	7	30
T-Bil	1 ヶ月								
	3 ヶ月								
	6 ヶ月								
	12 ヶ月								
ALP	6 ヶ月								
	12 ヶ月								
ALT	3 ヶ月								
TG	3 ヶ月								
	6 ヶ月								
Cre	12 ヶ月								
TP	12 ヶ月								
Ca	1 ヶ月								
Na	1 ヶ月								
	3 ヶ月								
	6 ヶ月								
Cl	6 ヶ月								
P	6 ヶ月								

Dunnett 検定、↑↓： p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

対照群と比較して多くの検査時点でいくつかの指標に有意差がみられたが、単発的又は用量との関連性を伴う変化ではなく、投与に起因する変化とは考えなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

尿検査； 投与開始前、投与開始後 1、3 及び 6 ヶ月、ならびに投与終了時に各動物から尿を採取し、以下の項目について検査した。

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

尿検査項目において、検体投与に起因すると考えられる影響はなかった。

眼科学的検査； 投与開始前、試験開始後 6 ヶ月お呼び試験終了時に各動物について眼科学的検査を実施した。虹彩の光反射の検査ののち、散瞳させ、スリットランプによる角膜及び前眼房の検査及び検眼鏡による眼底検査を行った。

検体投与に関連した異常はみられなかった。

投与に関連した変化はみられなかった。

酵素誘導； 試験終了時に各動物から肝臓の一部を採取し、p-ニトロアニソール 0-脱メチル化酵素活性を測定した。

結果を下表に示す。

検査項目	投与群 (mg/kg/日)							
	雄				雌			
	0.5	1.5	7	30	0.5	1.5	7	30
酵素活性								

Dunnett 検定、↑ ↓ :  $p < 0.05$

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

30mg/kg/日群の雄において p-ニトロアニソール 0-脱メチル化酵素活性の統計学的に有意な上昇が観察された。本剤には肝臓のミクロソーム代謝の誘導作用があることが示唆されたが、酵素活性の亢進が軽度であることから誘導作用は弱いものと考えられた。

血漿コルチゾール測定； ACTH 刺激に対する副腎の反応をみるために、試験開始 7 日前、試験 1 日、1 及び 2 週目、1、3 及び 6 ヶ月目、試験終了時近辺に各動物の頸静脈から血液を採取した。採血直後に ACTH を筋肉注射し、注射 2 時間後にさらに血液を採取して血漿コルチゾールを測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

検査時期	投与群 (mg/kg/日)							
	雄				雌			
	0.5	1.5	7	30	0.5	1.5	7	30
1週間後								
2週間後								
1ヶ月後								
3ヶ月後								
6ヶ月後								
試験終了時								

Dunnett 検定、↑↓:  $p < 0.05$  表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

( )内の数値は統計学的有意差はないが、参考のために記載した。

各群における ACTH 刺激前の血漿コルチゾール濃度は 5~40ng/ml の範囲内<sup>a)</sup>にあり、0、0.5、1.5 及び 7mg/kg/日群の雌雄の ACTH 刺激後の血漿コルチゾール濃度は 100~210ng/ml (正常範囲; 80~160ng/ml<sup>a)</sup>) であった。一方、30mg/kg/日群では、全ての検査時期において ACTH 刺激後に低下し、平均血漿コルチゾール濃度は 51~122ng/ml の範囲であった。30mg/kg/日群の ACTH 刺激後の血漿コルチゾール濃度は、いくつかの検査時点で正常範囲内に入る場合もあったが、全体的にみて対照群と比較して有意に低かった (t 検定、 $p=0.03$ )。

a) Dr. G. D. Bottoms, School of Veterinary Medicine, Purdue University, West Lafayette, IN 47907 による分析の妥当性の臨床データから求めた正常値の範囲

臓器重量; 試験終了時に以下の臓器重量を測定し、対体重比、対脳重量比も算出した。

腎臓、肝臓、心臓、卵巣、精巣、副腎、甲状腺 (上皮小体を含む)、脳  
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頁の表に示す。

臓器	投与群 (mg/kg/日)								
	雄				雌				
	0.5	1.5	7	30	0.5	1.5	7	30	
最終体重									
副腎									実重量
									対体重比
									対脳重量比

Dunnett 検定、↑↓:  $p < 0.05$  表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

( )内の数値は統計学的有意差はないが、参考のために記載した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投与に関連した臓器重量の変化は、30mg/kg/日群の雄においてみられた副腎重量の低下に限られた。唯一の統計学的に有意な変化は、30mg/kg/日群の雄における対体重比の低下であった（37%低下）。30mg/kg/日群の雄の副腎の絶対重量及び対脳重量比は対照群と比較して統計学的に有意ではなかったが低下した（30～32%）。雌の投与群では副腎重量に変化はなかった。

肉眼病理学的検査； すべての動物について剖検した。各動物の全身状態、体幹の開口部、外部及び内部臓器及び組織について、肉眼的に全身を検査した。

検体投与の影響はみられなかった。

病理組織学的検査； 全動物について以下の組織の病理標本を作製し、検査した。

腎臓、肝臓、胆嚢、心臓、肺（気管支を含む）、脾臓、胸腺、リンパ節（頸部及び腸間膜）、唾液腺、膵臓、舌、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、卵巣、子宮、膲、副腎、甲状腺（上皮小体を含む）、精巣、精巣上体、前立腺、皮膚、乳腺、骨格筋、膀胱、骨（胸骨及び大腿骨）、骨髓、眼、大脳、小脳、脳幹、脊髄、坐骨神経、下垂体、食道、大動脈及び肉眼的病変部位

認められた主要な病変を下表に示す。

性別		雄					雌				
投与群(mg/kg/日)		0	0.5	1.5	7	30	0	0.5	1.5	7	30
臓器・組織/所見											
検査動物数											
腎臓	亜急性腎盂炎										
	肉芽腫										
肺	限局性肉芽腫性炎症										
	限局性肉芽腫性壊死性炎症										
	限局性炎症										
	多発性炎症										
精巣	びまん性萎縮										
	亜急性多発性炎症										
前立腺	亜急性炎症										
	慢性肉芽腫性炎症										
皮膚	急性限局性炎症										
	亜急性限局性炎症										
	組織球腫（良性腫瘍）										
副腎	皮質萎縮										
	束状帯好酸性変化										
	束状帯空胞化										
下垂体	嚢胞										

統計検定未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

30mg/kg/群では雌雄全動物の副腎皮質に投与に関連した変化がみられたが、他の投与群ではみられなかった。副腎皮質の病変は3つの変化に特徴付けられ、皮質萎縮、束状帯の好酸性変化及び束状帯の空胞化であった。束状帯の空胞化は対照群の雄 1 例及び 0.5mg/kg/群の雌にも認められたが、30mg/kg/日群では頻度が高く、顕著であった。腎盂炎、肺炎、精巣炎及び前立腺炎を伴う精巣萎縮、下垂体嚢胞、組織球腫等が観察されたが、投与に関連しない変化であった。

以上より、フルルプリミドール原体のイヌを用いた1年間慢性毒性試験において、30mg/kg/日群の雄において副腎の対体重比が低下した。同群の雌雄において ACTH 刺激による血漿コルチゾールの上昇が抑制され、病理組織学的に副腎皮質の萎縮、束状帯の空胞化、好酸性変化が認められた。また、30mg/kg/日群の雄において p-ニトロアニソール O-脱メチル化酵素が上昇したことから肝臓のミクロソーム代謝の弱い誘導作用のあることが示唆された。従って、本試験における無毒性量は雌雄ともに 7.0mg/kg/日であると判断された。

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

①ラットにおける繁殖毒性試験

(資料 T-26)

検体の純度：

供試動物：Cr1:CD(SD)系ラット 試験開始時 雌雄 5 週齢、平均体重；雄 148.0 g、雌 125.0 g  
1 群雌雄各 25 匹（ただし F<sub>1</sub> 世代の 1000 ppm 群は雄 18 匹、雌 11 匹）

投与期間：F<sub>0</sub> 世代；試験開始時（5 週齢）から 36 週齢時まで

F<sub>1</sub> 世代；生後約 6 週齢時から 36 週齢時まで

投与方法：検体を 0、25、100 及び 1000 ppm の濃度で含有する飼料を毎日自由に摂取させた。

用量設定根拠：

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表-1 にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

体重；育成中は雌雄とも週一回体重を測定した。育成終了後の雄は月一回、及び剖検前に測定した。雌動物は交配期間中は交尾が確認されるまで週一回、交尾確認後は妊娠 0、7、14、21 日、哺育 7、14、21 日に測定した。

児動物の体重は出生後、4、7、14 および 21 日に測定した。

摂餌量；育成中は雌雄とも週一回摂餌量を測定した。授乳中の母動物については分娩後 0、7、14 日に測定した。

検体摂取量；摂餌量から求めた検体摂取量を以下に示す。(mg/kg/日)

世代		F <sub>0</sub> 世代			F <sub>1</sub> 世代		
群		25ppm	100ppm	1000ppm	25ppm	100ppm	1000ppm
生育期間 (70 日間)	雄	1.77	6.96	70.51	1.62	6.40	70.11
	雌	1.99	8.07	79.82	1.90	7.64	76.33
雌 (授乳 期間)	分娩後 0-6 日	2.1	8.5	72.0	1.9	7.9	50.8
	分娩後 7-13 日	3.3	13.6	114.1	3.1	12.1	76.0

交配及び妊娠の確認；交配は雌雄 1：1 で 2～3 週間、同居させ行った。交尾は膣栓または膣内の精子の有無により確認し (F<sub>0</sub> 世代の第 1 回交配では膣栓の確認のみ)、これらが認められた日を妊娠 0 日とした。妊娠は分娩の有無及び分娩しなかった雌の子宮内着床痕の有無により確認した。



繁殖性に関する指標；

(1) 各交配ごとに次の指標を算出した。

交尾率=交尾を認めた交配ペア数/交配ペア数

交尾前期間=同居開始日から交尾を認めた日までの日数

妊娠率=妊娠雌数/交尾を認めた交配ペア数

出産率=生存児を出産した雌数/妊娠雌数

妊娠期間=交尾を認めた日から分娩日までの日数

腹当たり出産児数=総出産児数/生存児を出産した雌数

出産時生存率=腹ごとの(生存出産児数/出産児数)の群平均

性比=腹ごとの(哺育4または21日の雄生存児数/当該日の生存児数)の群平均

哺育1または4日の哺育児生存率=

腹ごとの(哺育1または4日の生存児数/生存出産児数)の群平均

哺育7、14または21日の哺育児生存率=

腹ごとの(当該日の生存児数/哺育4日に選抜した児数)の群平均

(2) 2回の交配試験を合わせて次の指標を算出した。

雄の妊娠率=少なくとも1回は雌を妊娠させた雄数/少なくとも1回は交尾を認めた雄数

雌の妊娠率=少なくとも1回は妊娠した雌数/少なくとも1回は交尾を認めた雌数

臓器重量；約36週齢時に全生存F<sub>0</sub>及びF<sub>1</sub>親動物について肝重量を測定し、対体重比も算出した。

病理組織学的検査；約36週齢時に全生存F<sub>0</sub>及びF<sub>1</sub>親動物について肝及び生殖器(精巣、精囊、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮及び膣)の病理組織学的検査を行った。

表-1

世代	段階(期間)	作業手順	試験項目
F <sub>0</sub>	育成(10週)		体重及び摂餌量を週1回測定し、食餌効率を算出 死亡動物の肉眼的病理検査
	第1回交配(3週) 妊娠(3週)	約15週齢時に雌雄1:1で同居 交配交尾の確認(妊娠0日)	交配状況の観察 交尾前期間を測定 雄の体重を屠殺まで月1回測定 雌の体重は交尾が確認されるまでは週1回、以後は妊娠0、7、14及び21日に測定 交尾を確認できなかった雌の体重は、同居期間終了後最初の3週間、週1回測定
	出産		出産状況の観察 生存及び死亡出産児数、妊娠期間を測定
	哺育(3週)	哺育4日に哺育児数を各腹雌雄各4匹(不可能な場合は雌雄計8匹)に調整	母動物の分娩後7、14及び21日の体重及び分娩後0、7及び14日の摂餌量を測定 分娩前及び分娩中に死亡した雌の胎児の外表及び内臓の検査 哺育1、4、7、14及び21日の生存児数及び生存児体重を測定 哺育4及び21日の生存児性比を測定 哺育4日に淘汰した児動物の外表及び内臓の検査 死産児及び死亡哺育児の外表及び内臓の検査
F <sub>1-a</sub>	離乳	F <sub>1</sub> 親動物として各群雌雄各25匹(1000ppm群は雄18匹雌11匹)を選抜し残りを屠殺	選抜されなかったF <sub>1-a</sub> 離乳児のうち各腹雌雄1匹ずつの外表及び内臓を検査し、残りは外表のみ検査
	第2回交配(3週) 妊娠(3週) 出産	約25週齢時に雌雄1:1で同居交配 (第1回交配試験に準ずる)	(第1回交配試験に準ずる) (初産に準ずる) (初産に準ずる)
F <sub>1-b</sub>	哺育(3週)	(初産に準ずる)	2回の交配試験とも分娩しなかった雌の子宮検査
	離乳	F <sub>1-b</sub> 離乳児を屠殺	全F <sub>1-b</sub> 離乳児の外表及び内臓の検査
F <sub>2-a</sub>	F <sub>1-a</sub> 育成(10週)		
	第1回交配(2~3週) 妊娠(3週) 出産	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる) 交配期間中の雌の性周期を観察
	哺育(3週)	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)
	離乳	F <sub>2-a</sub> 離乳児を屠殺	F <sub>2-a</sub> 離乳児のうち各腹雌雄1匹ずつの外表及び内臓を検査し、残りは外表のみ検査
F <sub>2-b</sub>	第2回交配(2~3週) 妊娠(3週) 出産	約26週齢時に雌雄1:1で同居交配 (第1回交配試験に準ずる)	(第1回交配試験に準ずる) (初産に準ずる) (初産に準ずる)
	哺育(3週)	(初産に準ずる)	2回の交配試験とも分娩しなかった雌の子宮検査
F <sub>2-b</sub>	離乳	F <sub>2-b</sub> 離乳児を屠殺	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
		F <sub>1</sub> 親動物は約36週齢時に屠殺	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

結果：  
親動物：

世代	F <sub>0</sub>				F <sub>1</sub>			
	対照	25	100	1000	対照	25	100	1000
投与群 (ppm)	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 18*
動物数	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 11*
一般状態	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 分娩直前の死亡例及び死産を伴う分娩遅延例に血性膈排出物及び着臼の発生率増加	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし
死亡率 (%)	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし	雄 異常なし
育成期間中の体重増加量 (g) #	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
妊娠期間中の体重増加量 (g) #	a	a	a	a	a	a	a	a
摂餌量及び食餌効率 #	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
死亡動物の肉眼的病理検査	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
生存動物の肉眼的病理検査	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
肝重量 #	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
検査動物数	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
病理組織学的検査	小葉中心性肝細胞肥大発生数	小葉中心性肝細胞肥大発生数	小葉中心性肝細胞肥大発生数	小葉中心性肝細胞肥大発生数	小葉中心性肝細胞肥大発生数	小葉中心性肝細胞肥大発生数	小葉中心性肝細胞肥大発生数	小葉中心性肝細胞肥大発生数
	肝細胞の空胞化発生数	肝細胞の空胞化発生数	肝細胞の空胞化発生数	肝細胞の空胞化発生数	肝細胞の空胞化発生数	肝細胞の空胞化発生数	肝細胞の空胞化発生数	肝細胞の空胞化発生数
	肝の脂肪化発生数	肝の脂肪化発生数	肝の脂肪化発生数	肝の脂肪化発生数	肝の脂肪化発生数	肝の脂肪化発生数	肝の脂肪化発生数	肝の脂肪化発生数

↑ ↓ ; P < 0.05 で対照群に比し統計学的有意差あり。↑ は対体重比を示す。# : Dunnett 検定。a, b はそれぞれ第1産児、第2産児を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

親動物(続き):

世代	F <sub>0</sub>				F <sub>1</sub>			
	対照	25	100	1000	対照	25	100	1000
投与群 (ppm)								
動物数	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 25	雄 18*
	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 25	雌 11*
性周期	a 検査せず	a 検査せず	a 検査せず	a 検査せず	a 検査せず	a 検査せず	a 検査せず	a 検査せず
連続発情発生率 (%)	b 検査せず	b 検査せず	b 検査せず	b 検査せず	b 検査せず	b 検査せず	b 検査せず	b 検査せず
交尾前期間 (日) #	a	a	a	a	a	a	a	a
	b	b	b	b	b	b	b	b
交尾率 (%) \$	a	a	a	a	a	a	a	a
	b	b	b	b	b	b	b	b
各交配試験ごとの 妊娠率 (%) \$	a	a	a	a	a	a	a	a
	b	b	b	b	b	b	b	b
2回の交配試験を 合わせた妊娠率 (%) \$	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
	雌	雌	雌	雌	雌	雌	雌	雌
出産率 (%) S	a	a	a	a	a	a	a	a
	b	b	b	b	b	b	b	b
妊娠期間 (日)	a	a	a	a	a	a	a	a
	b	b	b	b	b	b	b	b

(注) ↑ ↓ ; P < 0.05 で対照群に比し統計学的有意差あり。↑ は対体重比を示す。#: Dunnett 検定 \$: Freeman-Turkey 検定  
\* : F<sub>1-a</sub> 離乳児のうち F<sub>1</sub> 親動物として選抜可能な雌は 11 匹のみであった。雄は 18 匹選抜したが、交配には 11 匹を用いた。  
a, b はそれぞれ第 1 産児、第 2 産児を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

児動物；

世代		F <sub>1-a</sub> 、F <sub>1-b</sub>				F <sub>2-a</sub> 、F <sub>2-b</sub>					
投与群 (ppm)		対照	25	100	1000	対照	25	100	1000		
一般状態		異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし		
出産児数/腹#											
a											
b											
出産時生存率 (%) #											
a											
b											
生存率 % #	哺育1日									a	
	b										
	哺育4日*									a	
	b										
	哺育7日									a	
b											
哺育14日	a										
	b										
	哺育21日									a	
										b	
										平均体重 g #	哺育1日
b											
哺育4日*											a
b											
哺育7日	a										
b											
哺育14日	a										
	b										
	哺育21日	a									
		b									
		性比# (雄 %)	哺育4日*	a							
b											
哺育21日		a									
	b										
外表及び内臓の検査	胎児、死産児及び死亡哺育児(検査児数)	a									
	b										
	哺育4日に淘汰し検査した児数	a									
	b										
	水腎症及び(または)尿管症発生数	a									
	b										
	その他の所見										
離乳児検査児数	a										
b											
水腎症あるいは尿管拡張	a										
b											
その他の所見											

↑↓ : P<0.05# : Dunnett 検定 \$ : Freeman-Turkey \* : 児数調整前の生存率、平均体重及び性比を示す。

F<sub>0</sub>世代雌では全群にわたり、F<sub>1</sub>世代雌に比べ分娩前死亡例が多かったが、これはF<sub>0</sub>世代は交配時期の同居期間が3週間と長かったため、分娩直前に分娩用ケージに移された例が多く、新しい環境に適応できなかったことが原因と考えられた。しかし1000 ppm群の死亡率は他群より高かった。

親動物に対する検体投与の影響として、1000 ppm群でF<sub>0</sub>世代に分娩前後の母動物死亡、一般状態の異常、両世代雌雄に育成期間中の体重増加抑制及び摂餌量の減少、両世代に妊娠期間中の体重増加抑制、F<sub>0</sub>世代雌雄及びF<sub>1</sub>世代雌に肝の対体重比の増加が認められた。病理所見では、両世代とも肝細胞の小葉中心性肥大が1000 ppm群のみに認められた。100及び1000 ppm群では、F<sub>0</sub>世代雄に肝細胞の空胞化、F<sub>1</sub>世代雄に肝の脂肪化の発生率の軽度増加がみられた。肝の脂肪化は1000 ppm群のF<sub>0</sub>世代雄でもやや増加した。その他、性周期が変化した例（連続発情）が1000 ppm群のF<sub>1</sub>世代雌で高率に認められた。

繁殖性に関しては、F<sub>0</sub>世代では1000 ppm群に難産及び母動物死亡に伴う出産率の低下、腹当たり出産児数の減少、出産時生存率の低下がみられた。腹当たり出産児数の減少は、死産児が親に食べられたことによるものと考えられた。F<sub>1</sub>世代では1000 ppm群に交尾率及び妊娠率の低下が認められた。

児動物に対しては、1000 ppm群でF<sub>1-a</sub>、F<sub>1-b</sub>哺育児の哺育4日までの生存率が著しく低下し、哺育期間を通して發育抑制も認められた。同群のF<sub>2-a</sub>、F<sub>2-b</sub>児動物については、いずれも出産雌が2例のみであったため意味のある評価をすることはできなかった。外表及び内臓の検査では、両世代とも検体投与による異常所見は認められなかった。

以上の結果、フルルプリミドールをラットに2世代にわたり投与した場合、最大無作用量は親動物に関しては25 ppm (1.8 mg/kg/日)、繁殖性に関しては100 ppm (7.3 mg/kg/日)と判断される。

申請者注；本報告書では無毒性量(NOEL)は記載されていないが、無毒性量についても親動物に関しては25 ppm (1.8 mg/kg/日)、繁殖性に関しては100 ppm (7.3 mg/kg/日)と考える。また、児動物に関しても100 ppm (7.3 mg/kg/日)と考える。

② ラットにおける催奇形性試験

(資料 T-27)

検体の純度：

供試動物 : Cr1 : CD(SD)系妊娠ラット (平均体重 ; 227.3 g) 1 群 25 匹

投与期間 : 妊娠 6~15 日、10 日間

投与方法 : 検体を 10%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、2.5、10、45 及び 200 mg/kg/日の投与量で妊娠 6~15 日の 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、妊娠 0 日は膣栓の認められた日とした。

試験項目：

母動物 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。妊娠 0、6、11、16 及び 20 日に体重及び摂餌量を測定した。

妊娠 20 日に屠殺し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮の重量を測定した後、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数、吸収胚数を記録した。

また妊娠 0~20 日の体重増加量から妊娠子宮の重量を減じて正味の体重増加量を算出した。

胎児 ; 全生存胎児の外表を検査し、異常の有無及び性別を調べた。

全生存胎児の体重を測定し、対照群の平均体重より 1/3 以上軽い胎児を矮小胎児とし、その数を記録した。

さらに各腹の約半数の生存胎児について内臓異常の有無を、残りの生存胎児について骨格異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果：

母動物；

投与群 (mg/kg/日)	対 照	2.5	10	45	200	
1群当たり動物数	25	25	25	25	25	
一般状態	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	子宮出血、血涙、 脱毛、筋緊張の低下、 活動性低下の発生率増加	
死亡動物数						
死亡動物の剖検						
生存動物の剖検						水腎症
						尿管拡張
妊娠 0~20 日の体重増加量 (g) #						
補正体重増加量 (g) #						
摂餌量 #						
妊娠動物数 \$						
妊娠 20 日の生存母動物数 \$						
着床所見 #						黄体数
						着床数
						生存胎児数 / 腹 (%)
						死亡胎児数 / 腹 (%)
	吸収胚数 / 腹 (%)					

# ; Dunnett 検定 、 \$ ;  $\chi^2$  検定    ↑ ↓ : P < 0.05



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

胎児；

投与群 (mg/kg/日)	対 照	2.5	10	45	200
生存胎児総数 (腹数)					
性比 (雄%) #					
平均体重 (g) #	雄				
	雌				
矮小胎児 発生率 (%) #	雄				
	雌				
異常胎児 <sup>a</sup> 発生率 (%) #	雄				
	雌				
変異胎児 <sup>a</sup> 発生率 (%) #	雄				
	雌				
外表検査 検査胎児数					
異常胎児数 (%)					
変異胎児数 (%)					
内臓検査 検査胎児数					
異常胎児数 (%)					
変異胎児数 (%)					
水腎症					
尿管拡張					
骨格検査 検査胎児数					
異常胎児数 (%)					
変異胎児数 (%)					
過剰脊椎					
過剰肋骨					
痕跡肋骨					
頸肋骨					
骨化不全 { 頭蓋冠 胸骨分節 脊椎 骨盤					

#:Dunnnett 検定 ↑ ↓ : P<0.05

a : 外表、内臓、骨格を合わせた異常または変異胎児の腹ごとの発生率の群平均を示す。

母動物に対しては 200 mg/kg 群に死亡例及び一般状態の異常が観察され、45 及び 200 mg/kg 群に体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。また 200 mg/kg 群では出産前胎児死亡が発生し、生存胎児の比率の低下とそれに伴う吸収胚の比率の増加が認められた。

胎児に対しては 45 及び 200 mg/kg 群に用量相関性のある平均体重の減少がみられ、200 mg/kg 群では矮小胎児の発生率が増加した。また 45 及び 200 mg/kg 群では変異胎児の発生率が増加した。しかし異常胎児の発生率には検体投与による影響は認められなかった。

45 及び 200 mg/kg 群では母動物毒性と胎児毒性が同時に発現し、2.5 及び 10 mg/kg 群ではそのどちらも認められなかったことから、高い方の 2 投与群での胎児毒性は母動物毒性に付随したものであると考えられた。

以上の結果、フルルプリミドール原体を妊娠ラットに投与した場合、母動物及び胎児に関する最大無作用量はいずれも 10 mg/kg/日と判断される。また催奇形性は最高投与量の 200 mg/kg でもないものと考えられる。

申請者注；本報告書では無毒性量 (NOAEL) は記載されていないが、無毒性量についても 10 mg/kg/日と考える。

③ ウサギにおける催奇形性試験

(資料 T-28)

検体の純度 :

供試動物 : Dutch Belted 系妊娠ウサギ (平均体重 ; 3.03 kg) 1 群 20 匹

投与期間 : 妊娠 6~18 日、13 日間

投与方法 : 検体を 10%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、1.7、9.0 及び 45 mg/kg/日の投与量で妊娠 6~18 日の 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、妊娠 0 日は膈内に精子が認められた日とした。

試験項目 :

母動物 : 一般状態及び生死を毎日観察した。妊娠 0、6、13、19、24、28 日、あるいは死亡または流産した日に体重を、また毎日摂餌量を測定した。

妊娠 28 日に屠殺し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮の重量を測定した後、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数、吸収胚数を記録した。

また妊娠 0~28 日の体重増加量から妊娠子宮の重量を減じて正味の体重増加量を算出した。

胎児 ; 全生存胎児の体重を測定し、対照群の平均体重より 1/3 以上軽い胎児を矮小胎児とし、その数を記録した。

また全生存胎児について外表・内臓・骨格異常の有無を検査し、内臓検査により性別を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果：  
母動物；

投与群 (mg/kg/日)	対 照	1.7	9.0	45
1 群当たり動物数	20	20	20	20
一般状態	流産 1 例	異常なし	異常なし	後肢麻痺 1 例 (切迫殺動物)
死亡動物数				
肉眼的病理検査				
妊娠期間(0~28 日) 体重増加量 (kg) #				
補正体重増加量 (kg)				
摂餌量 #				
妊娠動物数\$				
妊娠 28 日の生存妊娠 動物数				
着 床 所 見 &	黄体数			
	着床数			
	生存胎児数/腹 (%)			
	死亡胎児数/腹			
	吸収胚数/腹 (%)			

↓ : P<0.05 # ; 妊娠 0 日の体重を共変数とした共分散分析、  
\$ ;  $\chi^2$  検定、& ; Dunnett 検定 有意差なし。

胎児；

投与群 (mg/kg/日)	対 照	1.7	9.0	45
生存胎児総数 (腹数)				
性比 (雄%) \$				
平均体重 (g) #	雄			
	雌			
倭小胎児 <sub>a</sub> 発生率 (%) \$	雄			
	雌			
異常胎児 <sub>a</sub> 発生率 (%) \$	雄			
	雌			
変異胎児 <sub>a</sub> 発生率 (%) \$	雄			
	雌			
外表・内臓・骨格 検査実施胎児数				
外表検査 異常胎児数 (%)				
内臓検査 異常胎児数 (%)				
骨格検査 異常胎児数 (%)				
変異胎児数 (%)				
13 肋骨				
骨化不全				
{ 胸骨分節 頭蓋冠				
癒合胸骨分節				
胸骨稜の不整				

# ; 生存同腹児数を共変数とした共分散分析 &Dunnett 検定 いずれも有意差なし。

a : 外表、内臓、骨格を合わせた異常または変異胎児の腹ごとの発生率の群平均を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

母動物に対しては 45 mg/kg 群で、投与期間前半に体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。着床所見には投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

胎児に対しては各群に種々の異常や変異が発生したが、これらは対照群と投与群の両方にみられており、個々の所見の発生率に用量相関性は認められなかった。また異常及び変異胎児の発生率にも検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果、フルルプリミドール原体を妊娠ウサギに投与した場合、最大無作用量は母動物に関しては 9.0 mg/kg/日、胎児に関しては 45 mg/kg/日と判断される。また催奇形性は最高投与量の 45 mg/kg/日でもないものと考えられる。

申請者注；本報告書では無毒性量 (NOAEL) は記載されていないが、無毒性量についても母動物に関しては 9.0 mg/kg/日、胎児に関しては 45 mg/kg/日と考える。

(13) 変異原性

① 遺伝子突然変異原性

細菌を用いた変異原性試験

(資料 T-29)

検体の純度：

1) 細菌を用いた復帰変異試験

方 法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (5株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (1株) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。S-9 Mix の存在下及び非存在下ともに 10~10000 $\mu$ g/プレートの濃度範囲の 8 濃度で実施した。試験は 2 連制とした。

用量設定根拠；

結 果：次頁に表示する。

検体では代謝活性化を含め、対照と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた N-エチル-N'-ニトロソグアニジン (ENNG)、9-アミノアクリジン (9-AA)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド (AF-2) では S-9 Mix の添加なしで、2-アミノアントラセン (2-AA) では S-9 Mix の添加により、対照と比べ著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果、フルルプリミドール原体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有しないと判断される。

細菌を用いた復帰変異試験の結果概要

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA 100	TA 1535	WP 2uvrA	TA 98	TA 1537	TA 1538
溶媒対照 (DMSO)		—						
検体	10	—						
	50	—						
	100	—						
	500	—						
	1000	—						
	2500	—						
	5000	—						
	10000	—						
溶媒対照 (DMSO)		+						
検体	10	+						
	50	+						
	100	+						
	500	+						
	1000	+						
	2500	+						
	5000	+						
	10000	+						
陽性対照	S-9 Mixを 必要と しないもの	名称						
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$ 復帰変異コ ロニー数/プ レート						
	S-9 Mixの 有無	名称						
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$ 復帰変異コ ロニー数/プ レート						
S-9 Mixを必 要とする もの	+	復帰変異コ ロニー数/プ レート						
	—	復帰変異コ ロニー数/プ レート						

(注) \*: 細胞毒性が認められた。( ) 内の数値は平均値を示す。



2) 細菌を用いた DNA 修復試験

方 法 : 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、賀田らの Rec-assay 法で DNA の損傷の誘発性を検定した。  
 検体を溶解するため DMSO を用い、溶解限度である 10000 µg/disk を最高濃度とした。

結 果 : 次表に示す。  
 検体では最高濃度である 10000 µg/disk においても、両株にほとんど生育阻止帯が認められなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では組換修復機構保持株 (H-17) に比べ修復機構欠損株 (M-45) に著明な生育阻止帯を生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株間に同程度の生育阻止帯が認められた。

薬 物	濃 度 (µg/disk)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)				
検 体	50			
	100			
	200			
	500			
	1000			
	2000			
	5000			
	10000			
カナマイシン (陰性対照)	10			
マイトマイシン C (陽性対照)	0.1			

以上の結果、フルルプリミドール原体は DNA 損傷の誘発性を有しないと判断される。

② 細菌を用いた復帰変異試験

(資料 T-30)

検体の純度：

方 法 ：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (4株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (1株) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体を溶解するため DMSO を用いた。S-9 Mix の存在下及び非存在下ともに 312.5~5000 µg/プレート の濃度範囲の 5 濃度で実施した。試験は 3 連制とした。

用量設定根拠；

結 果 ：次頁に表示する。

検体では代謝活性化を含め、対照と比べ復帰変異コロニーの増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた ENNG、9-AA、2-NF では S-9 Mix の添加なしで、2-AA では S-9 Mix の添加により、対照と比べ著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果、フルルプリミドール原体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有しないと判断される。

細菌を用いた復帰変異試験の結果概要

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異コロニー数/プレート (3枚のプレートの平均 $\pm$ S.D.)				
		TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP 2uvrA
<u>直接法</u>						
検体	5000					
	2500					
	1250					
	625					
	312.5					
DMSO <sup>a</sup>	0.05 ml					
DMSO <sup>b</sup>	0.05 ml					
ENNG	10					
ENNG	5					
9-AA	100					
9-AA	50					
2-NF	5					
2-NF	0.5					
<u>代謝活性化法</u>						
検体	5000					
	2500					
	1250					
	625					
	312.5					
DMSO <sup>a</sup>	0.05 ml					
DMSO <sup>b</sup>	0.05 ml					
2-AA	2.5					
2-AA	1.25					
2-AA	10					
2-AA	5					

(注) a : 溶媒対照 (軟寒天に最初に加えた場合)

b : 溶媒対照 (軟寒天に最後に加えた場合)

c : 細胞毒性及び結晶析出が認められた。

d : 結晶析出のため手で計数した。

DMSO : ジメチルスルホキシド

ENNG : N-エチル-N'-ニトロソグアニジン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

2-AA : 2-アミノアントラセン

③ チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞 (CHO) を用いた *in vitro* 染色体異常試験  
(資料 T-31)

検体の純度：

方 法 : チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞 (CHO) に対する染色体異常誘発性について検索した。検体を溶解するため DMSO を用いた。

濃度設定のため先に実施した細胞毒性及び細胞周期の遅延についての試験から、本試験の最高濃度は、薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、結晶析出及び著しい細胞毒性のみられた 500 µg/ mL とし、標本作製時間は直接法では検体添加後 20 時間後、代謝活性化法では 10 時間後とした。薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、250 µg/ mL 以上では分裂期細胞がほとんど認められなかったため、125 µg/ mL 以下において培養当たり 100 個 (陽性対照は 25 個) の良好な中期分裂像を観察した。染色体異常を次頁に示す各種類に分類した。なおギャップは真の染色体の切断を示すものではなく、また凝縮異常は真の構造的染色体異常ではないと考えられるため、これらについては染色体異常に含めなかった。多重比較ができるように改変した Fisher の直接確率法を用いて、染色体異常を有する中期分裂像の出現頻度に関して陰性対照及び溶媒対照群と検体添加群の間で統計学的な検定を行い、 $P < 0.05$  のときに有意であると判定した。

結 果 : 次頁に示す。

検体では直接法、代謝活性化法とも 125 µg/ mL で染色分体型ギャップが軽度増加したが、染色体異常細胞頻度には有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (直接法)、シクロホスファミド (代謝活性化法) では著明な染色体異常細胞頻度の増加が認められた。

以上の結果、フルルプリミドール原体は代謝活性化を含む本試験条件下で、チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞において染色体異常を誘発しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

in vitro 染色体異常試験の結果概要：直接法

薬物及び濃度 (µg/ml)	観察細胞数 (培養数)	染色体異常数 <sup>a</sup>										異常細胞頻度 (%)	複数の染色体異常を有する細胞の頻度 (%)			
		非計数					計数									
		TG	SG	TB	SB	DM	TR	QR	CR	D	R			RF		
陰性対照及び溶媒対照 (DMSO)	200 (2)*															
陽性対照 (マイトマイシンC)																
0.08	25 (1)															
検体																
37.5	200 (2)															
50.0	200 (2)															
75.0	200 (2)															
125.0	200 (2)															
250.0 <sup>c</sup>																
375.0 <sup>c</sup>																
500.0 <sup>c</sup>																

(注)\*：陰性対照と溶媒対照との間で統計学的な検定を行ったところ、両群間に差が認められなかったため、両群を合わせて検体添加群との比較を行った。

a：以下の染色体異常の数を示した。

TG：染色体型ギャップ    QR：四放射型    SG：染色体型ギャップ    CR：複合型交換  
 TB：染色体型切斷    D：二動原体    SB：染色体型切斷    R：環状染色体  
 DM：二重微小染色体    RF：無動原体断片を伴う環状染色体    TR：三放射型

b：陰性対照及び溶媒対照に比し  $P < 0.01$  で統計学的有意差あり (Fisher の直接確率法)。

c：細胞毒性が認められた。

in vitro 染色体異常試験の結果概要：代謝活性化法

薬物及び濃度 (µg/mL)	観察細胞数 (培養数)	染色体異常数 <sup>a</sup>										細胞当たりの染色体異常数	異常細胞頻度 (%)	複数の染色体異常を有する細胞の頻度 (%)					
		非計数					単純型								複合型				
		TG	SG	UC	TB	SB	ID	TR	QR	D	CI								
陰性対照及び溶媒対照 (DMSO)	200 (2)*																		
陽性対照 (シクロホスファミド)																			
50	25 (1)																		
検体																			
37.5	200 (2)																		
50.0	200 (2)																		
75.0	200 (2)																		
125.0	200 (2)																		
250.0 <sup>c</sup>																			
375.0 <sup>c</sup>																			
500.0 <sup>c</sup>																			

(注)\*：陰性対照と溶媒対照との間で統計的な検定を行ったところ、両群間に差が認められなかったため、両群を合わせて検体添加群との比較を行った。

- a：以下の染色体異常の数を示した。  
 TG：染色体異常の数がゼロ  
 ID：中位欠失  
 SG：染色体型ギャップ  
 TR：三放射型  
 UC：凝縮異常  
 QR：四放射型  
 D：二動原体  
 SB：染色体型切断  
 CI：染色体内交換
- b：陰性対照及び溶媒対照に比し P<0.01 で統計学的有意差あり (Fisher の直接確率法)。
- c：細胞毒性が認められた。

④ チャイニーズハムスター骨髄細胞における *in vivo* 姉妹染色分体交換試験

(資料 T-32)

検体の純度 :

試験動物 : チャイニーズハムスター (体重 ; 28.0~32.0 g)

検体投与群 ; 1 群雌 3 匹、溶媒対照群 ; 雌 2 匹、陽性対照群 ; 雌 1 匹

方 法 : Allen らによる姉妹染色分体交換 (SCE) の生体内検索法を用いた。すなわち、プロモデオキシウリジン 1 錠 (62.4 mg) を皮下に挿入し、挿入 5 時間後に DMSO に溶解した検体をコーン油で希釈して、0、50、100、200 及び 300 mg/kg の投与量で腹腔内投与した。検体投与後 19 時間目に Velban® を 1 mg/kg の投与量で腹腔内投与し、その 2 時間後に屠殺した。大腿骨を摘出して骨髄細胞を採取し、染色して SCE 頻度を検査した。良好な正常核型を有する中期分裂像を各動物について 25 個観察した。SCE 頻度について Dunnett の t 検定を行い、溶媒対照に比し有意な増加が、少なくとも 2 投与量で用量相関性をもってみられる場合を陽性とした。

結 果 : 次表に示す。

検体の 300 mg/kg 群では、細胞毒性が認められた。しかし、全検体投与群とも SCE 頻度は溶媒対照に比し有意差は認められなかった。一方、陽性対照として用いたシクロホスファミドでは、溶媒対照に比し、有意な SCE 頻度の増加が認められた。

薬 物	投与量 (mg/kg)	観察細胞数	SCE/細胞 (平均±S. D.)
溶媒対照 (DMSO、コーン油)	10 mL/kg	50	
陽性対照 (シクロホスファミド)	12.5	25	
検 体	300	25 <sup>b</sup>	
	200	75	
	100	75	
	50	50 <sup>c</sup>	

(注) a : 溶媒対照に比し、統計学的有意差あり。Dunnett-test (有意水準不明)  
b : 細胞毒性のため、SCE 検索は 1 匹の動物においてのみ行うことができた。  
c : 1 匹は検体投与前に麻酔により死亡したため、SCE 検索は残る 2 匹において行った。

以上の結果、フルルプリミドール原体はチャイニーズハムスター骨髄細胞の *in vivo* 姉妹染色分体交換試験において陰性であると判断される。

⑤ 不定期 DNA 合成誘導試験

(資料 T-33)

検体の純度：

方 法：成熟ラットの肝初代培養細胞を用いて、各薬物添加後の細胞 20 個当たりの核グレイン数をオートラジオグラフィで測定した。陽性対照物質も含め各薬物の濃度は、本試験機関の経験から、不定期 DNA 合成誘導の評価に十分と考えられる 0.05~1000 nmol/mL とした。各薬物を溶解するため DMSO を用いた。薬物の少なくとも 2 段階の連続濃度における核グレイン数が対照の核グレイン数より対照の S. D. の 3 倍以上多い場合を、不定期 DNA 合成誘導陽性とした。

結 果：次表に示す。

検体濃度 500 及び 1000 nmol/mL では、細胞毒性が認められた。しかし、100 nmoles/mL 以下の濃度における不定期 DNA 合成誘導は陰性であった。一方、陽性対照として用いた N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) 及び 2-アセルチルアミノフルオレン (2-AAF) では濃度に相関して核グレイン数が増加し、細胞毒性の認められない最高濃度で不定期 DNA 合成誘導が最大となった。

薬物濃度 (nmol/mL)	DMSO <sup>a</sup> (%)	細胞 20 個当たりの核グレイン数 (平均±S. D.)				DMSO <sup>b</sup> (%)
		溶媒対照	検体	MNNG	2-AAF	
1000	1					
500	0.5					
100	0.1					
50	0.05					
10	0.01					
5	0.005					
1	0.001					
0.5	0.0005					
0.1	—					
0.05	—					
評価		—	—	+	+	

(注) 表の数値は細胞質のバックグラウンド値を減じた補正值であるため、不定期 DNA 合成誘導が認められない場合は、負の値となることがある。

a：溶媒対照、MNNG、検体における DMSO の濃度、b：2-AAF における DMSO の濃度

c：細胞毒性のため不定期 DNA 合成誘導の評価ができなかった。

d：細胞毒性が認められたが、生存細胞は不定期 DNA 合成誘導陽性を示した。

e：不定期 DNA 合成誘導陽性、f：この濃度では試験を行わなかった。

g：不定期 DNA 合成誘導陽性であるが、グレインの密度高のため計数できなかった。

以上の結果、フルルプリミドール原体の不定期 DNA 合成誘導は陰性であると判断される。



⑥ 前進突然変異試験

(資料 T-34)

検体の純度：

方 法：マウス・リンホーマ細胞 (L5178YTK<sup>+</sup>) を用いて、変異細胞頻度をラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で検定した。検体を溶解するため DMSO を用いた。検体の濃度は、1~1000 µg/mL で細胞毒性を調べた予備試験の結果に基づいて決定した。予備試験では薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、250 µg/mL 以上では生存細胞が認められず、100 µg/mL では相対的細胞生存率が 62% (S-9 Mix 非存在下)、及び 80% (S-9 Mix 存在下) であった。変異細胞頻度が溶媒対照の 2 倍以上であり、かつ濃度相関性のみられる場合を陽性とした。

結 果：次頁に示す。

検体濃度 175 µg/mL では細胞毒性が認められたが、150 µg/mL 以下の濃度では、代謝活性化を含め、変異細胞頻度の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンサルフォナート (EMS) 及び代謝活性化を受けた 3-メチルコラントレン (3-MC) では著明な変異細胞頻度の増加が認められた。

以上の結果、フルルプリミドール原体は代謝活性化を含む本試験条件下で、変異原性を有しないと判断される。

前進突然変異試験の結果概要

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	相対的細胞 生存率 (%) a	S-9 Mix の 有無	生存細胞数/ プレート b	変異細胞数/ プレート b	変異細胞 頻度 c
溶媒対照 (DMSO)	1%		—			
	1%		—			
検体	1		—			
	25		—			
	50		—			
	75		—			
	100		—			
	125		—			
	150		—			
	175		—			
陽性対照 (EMS)	620		—			
溶媒対照 (DMSO)	1%		+			
	1%		+			
検体	1		+			
	25		+			
	50		+			
	75		+			
	100	+				
	125	+				
	150	+				
	175	+				
陽性対照 (3-MC)	5	+				

(注) a: 溶媒対照を 100%とした場合の値を示す。

b: 3 枚のプレートの平均値

c: コロニー形成細胞  $1 \times 10^5$  個当たりの TK<sup>-/-</sup>変異細胞数

d: 溶媒対照の平均値

e: 生存細胞が認められなかった。

⑦ マウスを用いた小核試験

(資料 T-35)

検体の純度：

供試動物： CD-1系マウス、約5週齢、体重；22～24g、1群雌雄各5匹

投与方法： 検体を1%メチルセルロース(MC)水溶液に懸濁させ、1056mg/kgを強制的に1回経口投与した。なお、対照群には1%MC水溶液を同様に投与した。投与24、48及び72時間後に動物を屠殺し、各動物の大腿骨から骨髓を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ液で染色し骨髓標本を作製した。陽性対照群にはマイトマイシンCを12mg/kg同様に投与し、投与24時間後に動物を屠殺した。各標本について、細胞毒性を調べるために1000個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した後、引き続き1000個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。

用量設定根拠；

結 果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示す。被験物質を投与したマウスに、円背位、嗜眠、正向反射の消失、立毛及び眼瞼下垂が観察され、雄2例及び雌1例が死亡した。これらの死亡動物は、同時に投与した予備動物と入れ替えた。雌雄いずれの標本採取時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。48時間後の標本採取時期において、検体投与群に正染性赤血球に対する多染性赤血球の比率が軽度であるが、統計学的に有意な低下を示した。検体投与により軽度な骨髓毒性/細胞増殖抑制が誘発されたことが示唆された。陽性対照であるマイトマイシンC投与群では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した。

以上の結果から本試験条件下において、フルルプリミドール原体は骨髓細胞に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

マウス小核試験の結果概要

標本採取 時間	試験物質	投与量 ( mg/kg)	観察動物数	PCE/NCE	MNP	MNN
24 時間	溶媒対照 (1%MC)	-	雌雄各 5			
	検体	1056	雌雄各 5			
	陽性対照 (マイトマイシン C)	12	雌雄各 5			
48 時間	溶媒対照 (1%MC)	-	雌雄各 5			
	検体	1056	雌雄各 5			
72 時間	溶媒対照 (1%MC)	-	雌雄各 5			
	検体	1056	雌雄各 5			

Wilcoxon の順位和検定 \* : P<0.01 \*\* : P<0.001

PCE : 多染性赤血球数

NCE : 正染性赤血球数

MNP : 多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する細胞数

MNN : 正染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する細胞数

PCE/NCE : 多染性赤血球数/正染性赤血球数の割合

(14) 生体機能影響

フルルプリミドールの薬理試験

(資料 T-36)

検体の純度：

① マウス、ウサギの中枢神経系に対する作用

1) 雌雄マウスの行動に対する作用

試験動物 : Crj:CD-1 ICR 系マウス (体重 ; 雄約 30~40 g、雌約 20~30 g) 1 群雌雄各 3 匹

方 法 : 検体を 1% アラビアゴム水溶液に懸濁して、0、62.5、125、250 及び 500 mg/kg の投与量で腹腔内投与し、投与前から投与後 7 日目まで Irwin の方法に従って行動を多元観察した。

結 果 : 雌雄マウスとも、250 mg/kg 以上の投与群で投与後 0.5 時間目以降に沈静、昏睡を主徴とする種々の神経症状が観察された。すなわち、認知力及び運動性の低下、姿勢異常、運動失調、筋緊張及び反射の低下、体温低下、呼吸数減少などの自律神経系の異常症状が認められた。500 mg/kg 投与群のマウスは投与後 3 日以内に全例死亡した。250 mg/kg 投与群のマウスは投与翌日には正常に復した。125 mg/kg 以下の投与群には明確な異常症状は認められなかった。

2) 雄ウサギの全身症状に対する作用

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ (体重 ; 約 2.5~3.5 kg) 1 群 3 匹

方 法 : 検体を 1% アラビアゴム水溶液に懸濁して、0、78.1、313、1250 及び 5000 mg/kg の投与量で強制経口投与し、投与前から投与後 7 日目まで全身症状を多元観察した。

結 果 : 1250 mg/kg 以上の投与群で投与後 0.5 時間目以降に沈静を主徴とする種々の神経症状が観察された。すなわち、運動性、筋緊張、反射の低下、運動失調、虹彩の充血、呼吸数及び心拍数の減少などの自律神経系の異常症状が認められた。5000 mg/kg 投与群のウサギは投与後 2 日以内に全例死亡した。1250 mg/kg 投与群のウサギは投与後 6 日目には正常に復した。313 mg/kg 以下の投与群は明確な異常症状は認められなかった。

3) 雄マウスのヘキソバルビタール睡眠時間に対する作用

試験動物 : Crj:CD-1 ICR 系雄マウス (体重 ; 約 30~40 g) 1 群 10 匹

方 法 : 検体を 1% アラビアゴム水溶液に懸濁して、0、7.8、31.3 及び 125 mg/kg の投与量で腹腔内投与した。検体投与後 2 時間目にヘキソバルビタールを 100 mg/kg の投与量で皮下投与し、睡眠時間を測定した。

結 果 : 31.3 mg/kg 以上の投与群において有意な睡眠時間の延長が認められた。

4) 雄ウサギの脳波に対する作用

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ (体重 ; 約 2.5~3.5 kg) 1 群 3 匹

方 法 : 検体を 1% アラビアゴム水溶液に懸濁して、0、313、1250 及び 5000 mg/kg の投与量で強制経口投与し、投与前から投与後 7 日目まで脳波を測定した。

結 果 : 5000 mg/kg 投与群の 2 例において、投与後 1 日目に脳波活性の低下が観察された。脳波活性の低下を示した例は投与後 2 日以内に死亡した。これ以外の例では脳波に対する検体の作用は認められなかった。

5) 雄ウサギの体温に対する作用

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ (体重 ; 約 2.5~3.5 kg) 1 群 3 匹

方 法 : 検体を 1%アラビアゴム水溶液に懸濁して、0、313、1250 及び 5000 mg/kg の投与量で強制経口投与し、投与前から投与後 7 日目まで体温を測定した。

結 果 : 1250 mg/kg 以上の投与群で投与後 8 時間目に体温の有意な低下が観察された。

② 雄ウサギの呼吸、循環器系に対する作用

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ (体重 ; 約 2.5~3.5 kg) 1 群 3~4 匹

方 法 : 検体を 1%アラビアゴム水溶液に懸濁して、0、78.1、313、1250 及び 5000 mg/kg の投与量でウレタン麻酔下のウサギに強制経口投与し、呼吸、血圧、心電図を投与前から投与後 4 時間目まで測定した。

結 果 : 313 mg/kg 投与群は投与後 3 時間目以降、1250 mg/kg 投与群は投与後 2 時間目以降、5000 mg/kg 投与群は投与後 1 時間目以降、呼吸数の有意な減少が観察された。その他の項目には検体投与によると考えられる明確な変化は認められなかった。

③ 雄モルモットの自律神経系に対する作用

試験動物 : Hartley 系雄モルモット (体重 ; 約 450~650 g) 単独作用、ノルアドレナリンについて標本各 4 例

方 法 : マグナス管に懸垂した摘出輸精管に対する検体の影響を検討した。さらに、ノルアドレナリン刺激によって惹起した摘出輸精管の収縮に対する検体の影響も検討した。検体は DMSO に溶解して、0、 $5 \times 10^{-7}$  及び  $5 \times 10^{-6}$  g/ml の濃度で、摘出輸精管を懸垂したマグナス管に適用した。

結 果 : 輸精管に検体適用によると考えられる変化は認められなかった。さらに、ノルアドレナリン収縮に対しても検体適用の影響は認められなかった。

④ 雄マウスと雄モルモットの消化器に対する作用

1) 雄マウスの炭末輸送に対する作用

試験動物 : Crj:CD-1 ICR 系雄マウス (体重 ; 約 30~40 g) 1 群 10 匹

方 法 : 検体を 1%アラビアゴム水溶液に懸濁して、0、7.8、31.3、125 及び 500 mg/kg の投与量で腹腔内投与した。投与後 2 時間目に炭末懸濁液を強制経口投与し、30 分後に屠殺して炭末の小腸内移動率 (全小腸の長さに対する小腸開始部から炭末先端までの長さの比率) を測定した。

結 果 : 125 mg/kg 以上の投与群において炭末輸送の有意な抑制が認められた。

2) 雄モルモットの摘出回腸に対する作用

試験動物 : Hartley 系雄モルモット (体重 ; 約 450~650 g) 単独作用、各アゴニストについて標本各 4 例

方 法 : マグナス管に懸垂した摘出回腸の自動運動に対する検体の影響を検討した。さらに、アセチルコリン、ヒスタミン、High  $K^+$  刺激によって惹起した摘出回腸の収縮に対する検体の影響も検討した。検体は DMSO に溶解して、0、 $5 \times 10^{-7}$ 、 $5 \times 10^{-6}$  及び  $5 \times 10^{-5}$  g/ml の濃度で、摘出回腸を懸垂したマグナス管に適用した。

結 果 :  $5 \times 10^{-6}$  g/ml 以上適用した場合に、自動運動、ヒスタミン、High  $K^+$  収縮の抑制が、 $5 \times 10^{-5}$  g/ml を適用した場合にアセチルコリン収縮の抑制がみられた。

⑤ 雄ラットの骨格筋に対する作用

試験動物 : F344/DuCrj Fischer 系雄ラット (体重 ; 約 230~250 g) 標本 5 例

方 法 : マグナス管に懸垂した横隔膜神経筋標本の収縮に対する検体の影響を検討した。筋収縮は神経刺激もしくは筋直接刺激によって惹起した。検体は DMSO に溶解して、 $0$ 、 $5 \times 10^{-7}$ 、 $5 \times 10^{-6}$  及び  $5 \times 10^{-5}$  g/mL の濃度で、横隔膜神経筋標本を懸垂したマグナス管に適用した。

結 果 : 検体適用によると考えられる変化は認められなかった。

⑥ 雄ウサギの血液に対する作用

1) 血液凝固に対する作用

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ (体重 ; 約 2.5~3.5 kg) 1 群 3 匹

方 法 : 検体を 1%アラビアゴム水溶液に懸濁して、 $0$ 、 $313$ 、 $1250$  及び  $5000$  mg/kg の投与量で強制経口投与した。投与後 24 時間目に採血し、プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結 果 : 検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

2) 溶血作用

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ (体重 ; 約 2.5~3.5 kg) 1 群 3 匹

方 法 : 検体を 1%アラビアゴム水溶液に懸濁して、 $0$ 、 $313$ 、 $1250$  及び  $5000$  mg/kg の投与量で強制経口投与した。投与後 24 時間目に採血し、血漿ヘモグロビン濃度を測定した。

結 果 : 検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果、フルルプリミドールの投与によって沈静を主徴とする種々の神経症状、ヘキソバルビタール睡眠時間の延長、脳波活性の低下、体温低下、呼吸数減少がみられた。骨格筋収縮には影響はみられなかった。また、フルルプリミドールは消化管運動に対して抑制作用を示したが、これは消化管平滑筋に対する直接の抑制作用によるものと考えられた。血液に対する作用は認められなかった。

フルルプリミドールの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路(媒体)	投与量 (mg/kg)	動物数/群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	一般症状	マウス	腹腔内	0, 62.5, 125, 250, 500	雄3 雌3	250	125	250 mg/kg 以上で運動性の低下等 500 mg/kg で雌雄全例が死亡した。
		ウサギ	経口	0, 78.1, 313, 1250, 5000	雄3	1250	313	1250 mg/kg 以上で運動性の低下等 5000 mg/kg で雄全例が死亡した。
	ヘキソバルビタル睡眠	マウス	腹腔内	0, 7.8, 31.3, 125	雄10	31.3	7.8	31.3 mg/kg 以上で睡眠時間の延長
	脳波	ウサギ	経口	0, 313, 1250, 5000	雄3	5000	1250	5000 mg/kg 投与群の2例で一過性に脳波活性の低下 雄2例が死亡した。
	体温	ウサギ	経口	0, 313, 1250, 5000	雄3	1250	313	1250 mg/kg 以上で一過性に体温の低下 5000 mg/kg で雄全例が死亡した。
呼吸・循環器系 (ウレタン麻酔下)	ウサギ	経口	0, 78.1, 313, 1250, 5000	雄3-4	313	78.1	313 mg/kg 以上で呼吸数の減少	
自律神経系	モルモット 摘出輸精管	<i>in vitro</i>	0, $5 \times 10^{-7}$ , $5 \times 10^{-6}$ g/mL		—	$5 \times 10^{-6}$ g/mL	影響なし	
消化器系	マウス	腹腔内	0, 7.8, 31.3, 125, 500	雄10	125	31.3	125 mg/kg 以上で炭末輸送の有意な抑制	
	モルモット 摘出回腸	<i>in vitro</i>	0, $5 \times 10^{-7}$ , $5 \times 10^{-6}$ , $5 \times 10^{-5}$ g/mL		$5 \times 10^{-6}$ g/mL	$5 \times 10^{-7}$ g/mL	$5 \times 10^{-6}$ g/mL 以上で自動運動、ヒスタミン、High K <sup>+</sup> 収縮の抑制	
骨格筋	ラット 摘出横隔膜	<i>in vitro</i>	0, $5 \times 10^{-7}$ , $5 \times 10^{-6}$ , $5 \times 10^{-5}$ g/mL		—	$5 \times 10^{-6}$ g/mL	影響なし	
血液	血液凝固	ウサギ	経口	0, 313, 1250, 5000	雄3	—	5000	影響なし 5000 mg/kg で雄1例が死亡した。
	溶血作用					—	5000	影響なし 5000 mg/kg で雄1例が死亡した。



## 2. 製剤

### (1) 1%粒剤

#### ① ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 FT-1)

検体の純度：1%粒剤

供試動物：Fischer 344 系ラット、8~9 週齢、1 群雌雄各 5 匹  
体重 雄 155~ 180g、雌 135~145g

観察期間：14 日間

方 法：検体を 10%アラビアゴム水溶液に懸濁して、投与前 16 時間絶食させた動物に 1 回強制経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与後、7 日及び 14 日目に体重を測定した。全動物について、観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雄 5000 雌 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄>5000 雌>5000
死亡開始時間 及び終了時間	雄雌とも死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	1 時間 5 時間
毒性徴候の認められなかつた最高投与量(mg/kg)	雄雌 —
死亡例の認められなかつた最高投与量(mg/kg)	雄雌 5000

中毒症状としては、雌雄に関係なく、四肢脱力がみられ、雄 1 例の眼から澄明な分泌物が認められた。投与後 7 日及び 14 日目の平均体重増加量は正常であった。肉眼的病理検査では、検体投与に関連した病変は認められなかった。

② マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 FT-1)

検体の純度：1%粒剤

供試動物：ICR系マウス、4~5週齢、1群雌雄各5匹  
体重 雄 23~ 24g、雌 24~ 25g

観察期間：14日間観察

方法：検体を10%アラビアゴム水溶液に懸濁して、投与前3時間絶食させた動物に1回強制経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。投与後7日及び14日目に体重を測定した。全動物について、観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 5000 雌 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄>5000 雌>5000
死亡開始時間 及び終了時間	雄雌とも死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	1時間 3時間
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雄雌 -
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雄雌 5000

中毒症状としては、雌雄に関係なく四肢脱力が認められた。投与後7日及び14日目の平均体重増加量は、正常であった。肉眼的病理検査では、検体投与に関連した病変は認められなかった。

③ ウサギにおける急性経皮毒性及び皮膚刺激性試験

(資料 FT-1)

検体の純度：1%粒剤

供試動物：New Zealand 白色種ウサギ、12～18 週齢、雌雄各 5 匹  
体重 雄 2.75～3.22kg、雌 2.77～3.04kg

観察期間：14 日間

方法：湿らせた非閉塞包帯に検体を希釈せず 5000 mg/kg の用量で塗布し、被毛を刈った背部皮膚(各動物の体表面積の 10%に相当する範囲)に 24 時間貼付した。貼付終了後、貼付部位を温湯で先浄した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を閉塞包帯除去後、1 時間目及びその後 14 日間観察した。貼付当日及びその後週 1 回、体重を測定した。貼付部位の刺激性変化(紅斑・痂皮、浮腫及び落屑)の有無等を 14 日間毎日 Draize 法に準じて採点した。全ての試験動物について、観察期間終了時に肉眼的病理検査を実施した。

結果：

<急性経皮毒性>

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄 5000 雌 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄>5000 雌>5000
死亡開始時間 及び終了時間	雄雌とも死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	雄雌とも中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雄雌 5000
死亡例の認められなかった最 高投与量(mg/kg)	雄雌 5000

観察期間中、死亡例及び中毒症状は認められず、雌雄とも体重増加がみられた。肉眼的病理検査では、検体投与に関連した病変は認められなかった。

<皮膚刺激性> 観察された刺激性変化の採点を次頁に表示する。

貼付後 1 日目に、9 匹に非常に軽度～軽度の紅斑が認められた。また、貼付後 4 日から 8 日までの間で、軽度の浮腫が認められ、軽度の落屑が 5 匹に認められ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

た。刺激性及び落屑は貼付後 11 日以内にはすべて消失した。以上の結果から、フルルプリミドール 1% 粒剤はウサギの皮膚に対し軽度の刺激性を有すると判断される。

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間										
			1時間	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日
雄 1	紅斑・痂皮	4	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
雄 2	紅斑・痂皮	4	2	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
雄 3	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
雄 4	紅斑・痂皮	4	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雄 5	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	2	1	1	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0
雌 1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌 2	紅斑・痂皮	4	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌 3	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	2	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
雌 4	紅斑・痂皮	4	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌 5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	40	13	13	7	5	2	8	4	4	2	2	0
	浮腫	40	0	0	0	1	0	2	3	1	0	0	0
	落屑	30	0	0	0	0	0	3	3	3	3	2	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.3	1.3	0.7	0.5	0.2	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0
	浮腫	4	0	0	0	0.1	0	0.2	0.3	0.1	0	0	0
	落屑	3	0	0	0	0	0	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0

④ ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 FT-1)

経緯：本試験のために1%粒剤のダストの発生を試みたが、適切なエアロゾル濃度を得ることができなかった。従って検体として原体を用いて試験を実施した。

検体の純度：

供試動物：Fischer 344系ラット（65～72日齢）1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

暴露条件：原体について、ダストフィーダーを用いてエアロゾル（ダスト）を発生させ18～24時間絶食させた動物に4時間鼻部暴露した。暴露期間中に採取した8ヶのダスト試料について、重量法及び化学分析により実際濃度を求めた。また、暴露中に1回ダストを採取し、カスケードインパクターを用いて粒子径分布を調べた。

設定濃度 (mg/L)	22.86
実際濃度 (mg/L)	重量法 4.68 化学分析 4.60
粒子径分布(%)*	
>21.00 ( $\mu\text{m}$ )	37.95
17.00～21.00	3.40
6.80～17.00	20.57
4.10～6.80	17.16
2.60～4.10	7.38
1.50～2.60	10.64
0.84～1.50	1.91
0.54～0.84	0.85
<0.54	0.14
空気力学的質量中位径 ( $\mu\text{m}$ )	11.84
呼吸可能な粒子 (<4.1 $\mu\text{m}$ ) の割合(%)	20.92
チャンバー容積(L)	41
チャンバー内通気量(L/分)	21
暴露条件	ダスト、4時間、鼻部暴露

\*1回の重量法の測定値

観察・検査項目：中毒症状及び生死を、暴露直後、暴露1時間後、その後14日間毎日観察した。暴露前24及び1時間、暴露後1、3、5、7及び14日目に体重を測定した。全ての試験動物について、肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結 果 :

投与方法	吸 入
暴露濃度(mg/L)	4.68
LC <sub>50</sub> (mg/L)	>4.68
死亡開始時間および終了時間	雄雌とも死亡例なし
症状発現時間および消失時間	雄雌とも暴露 3 日後には消失*
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雄 — 雌 —
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雄 4.68 雌 4.68

\* : 症状発現時期について報告書に記載がなく不明

中毒症状としては、雌雄に関係なく活動性低下及び身づくろいの減少が認められた。暴露後、1 日目に雄 1 匹と雌 5 匹に一時的な体重の減少が認められた。肉眼的病理検査で、検体投与による病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日本農薬株式会社にある。

⑤ ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料 FT-1)

検体の純度：1 %粒剤

供試動物：New Zealand 白色種ウサギ、12～18 週齢、雌雄各 3 匹

体重 雄 2.91～3.22kg、雌 3.02～3.24kg

観察期間：7 日間

方 法：検体 65mg(容量 0.1mL に相当)を各ウサギの一方の 1 眼の結膜嚢内に処置した。  
無処理眼を対照とした。

観察項目：処置後 1、24、48、72 時間目及び 7 日目に、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を、  
Draize の方法に従い採点した。体重を試験開始時及び試験終了時に測定した。

結 果：観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

動物番号	項目	最高 評点	適用後時間					
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	
非洗 眼群	雄 1	角膜混濁	4	1	2	2	2	0
		虹彩	2	1	1	1	1	0
	結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
		浮腫	4	2	2	1	1	0
	雄 2	角膜混濁	4	1	1	1	1	0
		虹彩	2	1	1	1	1	0
	結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
		浮腫	4	2	2	1	0	0
	雄 3	角膜混濁	4	1	1	1	1	0
		虹彩	2	1	1	1	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
		浮腫	4	2	2	1	0	0
雌 1	角膜混濁	4	1	1	1	1	0	
	虹彩	2	1	1	1	1	0	
結膜	発赤	3	2	2	1	1	0	
	浮腫	4	2	2	1	0	0	
動物番 号雌 2	角膜混濁	4	1	1	0	1	0	
	虹彩	2	1	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	2	1	1	0	0	
	浮腫	4	1	1	0	0	0	
雌 3	角膜混濁	4	1	1	0	1	0	
	虹彩	2	1	1	0	0	0	
結膜	発赤	3	2	2	1	1	0	
	浮腫	4	2	1	0	1	0	
合計	角膜混濁	24	6	7	5	7	0	
	虹彩	12	6	5	4	3	0	
	結膜	発赤	18	12	11	6	5	0
		浮腫	24	11	10	4	2	0
平均	角膜混濁	4	0.25	0.29	0.21	0.29	0	
	虹彩	2	0.5	0.42	0.33	0.25	0	
	結膜	発赤	3	0.67	0.61	0.33	0.28	0
		浮腫	4	0.46	0.42	0.17	0.08	0

報告書ではく1と記載されている結果も1と同様に『1』と表記した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

眼に軽度な角膜の混濁、軽度～高度な虹彩炎、中等度な結膜発赤及び軽度～中等度な結膜浮腫が認められたが、これらはすべて7日以内に消失した。

雌雄とも、平均体重増加量は正常であった。

以上の結果から、フルルプリミドール1%粒剤はウサギの眼に対して中等度の刺激性を有するものと思われる。



⑥ モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 FT-2)

検体の純度：1%粒剤

供試動物：Hartley系 SPF 白色モルモット、4週齢、開始時体重範囲 263～314g  
1群雌 15匹

観察期間：惹起後 72 時間

試験操作：[Buehler 法]

粉碎したをそのまま(100%)皮膚に適用した。陽性対照としてジニトロクロロベンゼン(DNCB)を用い、白色ワセリンで0.1%軟膏に調製した。以下の3群を設けた。

第1群(第3群に対する刺激性対照群：惹起のみ検体 50mg を暴露)

第2群(陽性対照群：感作及び惹起とも 0.1%DNCB 軟膏 200mg を暴露)

第3群(検体群：感作及び惹起とも検体 50mg\*を暴露)

用量設定根拠：

感 作；第2、3群の動物の左腹側部の被毛を刈り、1.5インチ角のパッチを用いて上記薬剤を1週間おきに3回、1回につき6時間閉塞貼付した。

惹 起；第2、3群の動物は最終感作処置後2週間休薬し、感作部位とは別の腹側部の被毛を刈り、感作と同様の処置を行った。第1群についても第3群と同様に処置した。

観察項目：各感作処置後24時間目、惹起処置後24、48及び72時間目に処置部位の紅斑、痂皮、浮腫の有無等をDraizeの採点法に従って採点した。また、一般症状を毎日観察し、体重を週1回測定した。

結 果：観察された皮膚反応の採点を次に示す。

全群とも死亡例はみられず、一般状態も正常であった。

検体では、各感作及び惹起処置に対して、全く皮膚反応はみられなかった。

一方、陽性対照のDNCBでは、2回目の感作処置以降最終感作まで、明瞭な紅斑及び軽度な浮腫がみられ、惹起処置に対して陽性反応を示した。試験期間中、全例に体重増加が認められた。

以上の結果、フルプリミドール1%粒剤のモルモットに対する皮膚感作性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1%粒剤の皮膚感作性試験の結果表

群			供試動物数	感作反応動物数												陽性率		
				24 時間後				48 時間後				72 時間後						
				感作	惹起	皮膚反応評点				皮膚反応評点				皮膚反応評点				時間
			0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	24	48	72	
検体	100% 検体	100% 検体	15	15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0
				15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0			
	なし	100% 検体	15	15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0			
				15	0	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0			
陽性対照	0.1% DNCB	0.1% DNCB	15	0	9	3	3	0	10	4	1	0	14	1	0	100	100	100
				8	5	2	0	7	6	2	0	0	2	0	0			

上段は紅斑、下段は痂皮の評点