

## VIII. 毒性

### < 毒性試験一覧表 >

#### 1. 原体

資料 番号	試験の種類 期間	供試 生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値または 無毒性量(mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁	
毒性 1 [GLP]	急性毒性 14日間観察	ラット	♀: 6	経口	300, 2000	♀: 300~2000	(2004)	70	
毒性 2 [GLP]	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀: 2000	♂♀: >2000	(2004)	72	
毒性-3 [GLP]	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	吸入	♂♀: 6.9 mg/L	♂♀: >6.9 mg/L	(2003)	73	
毒性-4 [GLP]	皮膚刺激性 3日間観察	ウサギ	♂: 3	皮膚 貼付	0.5 g/皮膚	刺激性なし	(2004)	75	
毒性-5 [GLP]	眼刺激性 72時間観察	ウサギ	♂: 3	眼への 適用	0.1 ml/眼	軽微な刺激性	(2004)	76	
毒性 6 [GLP]	皮膚感作性 (Maximization 法) 48時間観察	モル モット	♂: 10	皮内注射感作: 15%懸濁液 0.1 ml/動物 経皮塗布感作: 75%懸濁液 約 0.3 g/動物 巻起(経皮塗布): 50%懸濁液 約 2 ml/動物		皮膚感作性なし	(2004)	78	
毒性-7 [GLP]	急性神経毒性 14日間観察	ラット	♂♀各10	経口	♂♀: 0, 300, 780, 2000	♂♀: 300	(2005)	80	
毒性-8	急性遅発性神経 毒性	有効成分が、「りん酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬 以外の農薬」に該当することから、試験を実施しなかった。							86
毒性-9 [GLP]	90日間反復 経口投与毒性 90日間観察	ラット	♂♀各10	混餌	♂♀: 0, 100, 500, 5000, 10000 ppm	♂♀: 500ppm ♂: 33.5 ♀: 37.9	(2002)	87	
毒性-10 [GLP]	90日間反復 経口投与毒性 90日間観察	イヌ	♂♀各4	経口 カプセル	♂♀: 0, 10, 50, 250	♂: 50 ♀: 10	(2004)	98	
毒性-11	21日間反復 経皮投与毒性	原体を用いた急性経皮毒性試験の結果が、「強い経皮毒性等を有するおそれがないと 認められる場合」に該当することから、試験を実施しなかった。							106
毒性 12	90日間反復 吸入毒性	原体を用いた急性吸入毒性試験の結果が、「強い吸入毒性等を有するおそれがないと 認められる場合」に該当することから、試験を実施しなかった。							107

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1. 原体—続き

資料 番号	試験の種類 期間	供試 生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値または 無毒性量(mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
毒性 13 [GLP]	反復経口投与 神経毒性 90日間観察	ラット	♂♀各10	混餌	♂♀: 0, 500, 5000, 10000 ppm	♂♀: 5000ppm ♂: 333.3 ♀: 376.5	(2005)	108
毒性-14	反復投与遅発性 神経毒性	有効成分が、「りん酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬 以外の農薬」に該当することから、試験を実施しなかった。						113
毒性 15 [GLP]	反復経口投与毒性 52週間観察	イヌ	♂♀各4	経口 カプセル	♂♀: 0, 10, 50, 250	♂: 50 ♀: 50	(2005)	114
毒性 16 [GLP]	反復経口投与毒性 52週間観察	イヌ	♀4	経口 カプセル	♀: 0, 150	♀:	(2006)	123
毒性-17 [GLP]	反復経口投与 毒性・発がん性 併合 104週間観察	ラット	主群 ♂♀各50 衛星群 ♂♀各10	混餌	♂♀: 0, 25, 500, 2500, 5000ppm	♂: 5000ppm ♀: 2500ppm ♂: 269.9 ♀: 162.4	(2006)	129
毒性-18 [GLP]	反復経口投与毒 性 52週間観察	ラット	♂♀各10	混餌	♂♀: 0, 10000ppm	♂♀:	(2006)	147
毒性 19 [GLP]	発がん性 104週間観察	マウス	主群 ♂♀各50 衛星群 ♂♀各10	混餌	♂♀: 0, 50, 350, 1800, 3500ppm	♂♀: 350ppm ♂: 49.3 ♀: 67.3	(2006)	157
毒性-20 [GLP]	繁殖性	ラット	♂♀各26	混餌	♂♀: 0, 625, 2500, 10000 ppm	親動物: 625 ppm ♂: 35.2 ♀: 39.4 繁殖能力: 10000ppm 児動物: 10000ppm	(2006)	172
毒性 21 [GLP]	催奇形性	ラット	♀: 25	経口	♀: 0, 25, 100, 400	親動物: 100 胎児: 100 催奇形性なし	(2003)	182
毒性-22 [GLP]	催奇形性	ウサギ	♀: 22	経口	♀: 0, 30, 120, 500	親動物: 120 胎児: 500 催奇形性なし	(2003)	187
毒性-23 [GLP]	変異原性 (復帰変異)	ネズミチフス菌: (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌: (WP2uvrA株)		in vitro	最高用量: 5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比: 3, 用量: 5~7段階	陰性	(2004)	193

1. 原体—続き

資料 番号	試験の種類 期間	供試生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値または 無毒性量(mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
毒性-24 [GLP]	変異原性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター 肺由来細胞		in vitro	短時間処理： 4200, 2100, 1050 µg/ml. (S9 Mix, -S9 Mix) 24時間処理： 4200, 2100, 1050, 525 µg/ml. (-S9 Mix) 48時間処理：2100, 1050, 525, 263 µg/ml (-S9 Mix)	陰性	(2004)	195
毒性-25 [GLP]	変異原性 (小核試験)	マウス	♂: 5	経口	♂: 250, 500, 1000, 2000	陰性	(2004)	198
毒性-26 [GLP]	生体機能 影響	一般状態 (ラット)	♂: 5	経口	試験1: 0, 400, 800, 1200 試験2: 0, 100, 300, 400	音に対する反 応の亢進 ♂: 300	(2004)	200
		中枢神経系 自発運動量 (マウス)	♂: 6	経口	♂: 0, 200, 600, 2000	自発運動量へ の影響なし 2000 mg/kg で 2/6 例死亡 ♂: 600		
		中枢神経系 痙攣誘発 (ラット)	♂: 8	経口	♂: 0, 400, 800, 1200	痙攣増強作用 あり ♂: 800		
		中枢神経系 正常体温 (ラット)	♂: 5	経口	♂: 0, 400, 800, 1200	影響なし ♂: 1200		
		循環器系 血圧, 心拍数 (ラット)	♂: 5	経口	♂: 0, 400, 800, 1200	影響なし ♂: 1200		
		腎機能 尿量, 尿中電解 質, 尿浸透圧 (ラット)	♂: 5	経口	♂: 0, 400, 800, 1200	尿量, 尿中 Na <sup>+</sup> 及び Cl <sup>-</sup> の増加, 尿浸透圧の減 少 ♂: 800		
		自律神経系 瞳孔径 (ラット)	♂: 5	経口	♂: 0, 400, 800, 1200	影響なし ♂: 1200		

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

## 2. 原体中混在物及び代謝分解物

資料 番号	試験の種類 期間	供試生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値	試験機関 (報告年)	頁
混在毒-1 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	2000	♀: >2000	(2005)	204
混在毒-2 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	2000	♀: >2000	(2005)	205
混在毒-3 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	300, 2000	♀: 300~2000	(2005)	206
混在毒-4 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	2000	♀: >2000	(2005)	207
混在毒-5 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	2000	♀: >2000	(2006)	208
混在毒-6 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	2000	♀: >2000	(2006)	209
混在毒-7 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	2000	♀: >2000	(2005)	210
混在毒-8 GLP	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	2000	♀: >2000	(2006)	211
代謝毒-1 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	300, 2000	♀: >2000	(2006)	212
代謝毒-2 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	300, 2000	♀: >2000	(2006)	213
代謝毒-3 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	300, 2000	♀: 300~2000	(2006)	214
代謝毒-4 [GLP]	急性毒性	ラット	♀: 6	経口	300, 2000	♀: 300~2000	(2006)	216

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマアイ化学工業株式会社にある。

2. 原体中混在物及び代謝分解物—続き

資料番号	試験の種類 期間	供試生物	1群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	結果	試験機関 (報告年)	頁
混在毒- 9 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5段階	陰性	(2005)	218
混在毒- 10 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5~7段階	陰性	(2005)	221
混在毒- 11 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5段階	陰性	(2005)	224
混在毒 12 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, -S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5段階	陰性	(2006)	227
混在毒- 13	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5段階	陰性	(2006)	230
混在毒- 14 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5段階	陰性	(2006)	233
混在毒 15 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5段階	陰性	(2005)	236
混在毒- 16 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 大腸菌：(WP2uvrA株)		in vitro	最高用量：5000 µg/プレート (-S9, +S9), 公比：log <sub>10</sub> /2, 用量：5段階	陰性	(2006)	239

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2. 原液中混在物及び代謝分解物ー続き

資料番号	試験の種類 期間	供試生物	1群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	結果	試験機関 (報告年)	頁
代謝毒- 5 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 大腸菌：(WP2 $uvrA$ 株)		in vitro	最高用量：5000 $\mu$ g/プレート (-S9, +S9), 公比： $\log_{10}/2$ , 用量：5~7 段階	陰性	(2006)	242
代謝毒- 6 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 大腸菌：(WP2 $uvrA$ 株)		in vitro	最高用量：5000 $\mu$ g/プレート (-S9, +S9), 公比： $\log_{10}/2$ , 用量：5~7 段階	陰性	(2006)	245
代謝毒- 7 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 大腸菌：(WP2 $uvrA$ 株)		in vitro	最高用量：5000 $\mu$ g/プレート (-S9, +S9), 公比： $\log_{10}/2$ , 用量：5~7 段階	陰性	(2006)	248
代謝毒- 8 [GLP]	変異原性	ネスミチフス菌： (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 大腸菌：(WP2 $uvrA$ 株)		in vitro	最高用量：5000 $\mu$ g/プレート (-S9, +S9), 公比： $\log_{10}/2$ , 用量：5~7 段階	陰性	(2006)	251

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

### 3. 製剤を用いた試験成績

資料 番号	試験の種類 期間	供試生物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
製剤毒 1 [GLP]	急性毒性 14日間観察	ラット	♀5	経口	2000	♀ >2000	(2006)	254
製剤毒-2 [GLP]	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮 (貼付)	♂♀各2000	♂♀ >2000	(2006)	255
製剤毒 3	急性吸入 毒性	本剤は粒剤であり、使用者が吸入暴露されるおそれは無いと考えられるため、試験を省略した。						257
製剤毒-4 [GLP]	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	♂3	貼付	0.5g/動物	刺激性無し	(2006)	258
製剤毒-5 [GLP]	眼刺激性 72時間観察	ウサギ	♂3	点眼	0.1g/動物	軽度刺激性	(2006)	260
製剤毒-6 [GLP]	皮膚感作性 (Buchler法) 30日間観察	モルモット	♀20	感作：50%懸濁液 0.2ml/動物を塗布 惹起：50%懸濁液 0.2ml/動物を塗布		陰性	(2006)	263

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

## 1. 原体

### (1) 急性毒性

(資料 毒性-1)

#### 1) ピリミスルファンのラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関:

報告書作成年: 2004年 [GLP 対応]

被験物質: ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGA1)

純度:

供試動物: SD系ラット (Cr1:CD\*(SD)IGS BR) 雌, 1群: 雌 6匹  
8~12週齢, 投与開始時体重: 193~230 g

観察期間: 14日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 被験物質をジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解し, 投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg とし, 動物は一晩絶食後, 300 及び 2000 mg/kg を投与した。

観察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前, 投与後 7 及び 14 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg)	雌: 300, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌: 300~2000
死亡開始及び終了時間	投与後 0.5 時間から開始 投与後 4 時間に終了
症状発現・消失時間	投与後 0.5 時間から発現 投与後 4 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌: -
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌: 300

2000 mg/kg 投与群で 3/6 例が投与当日に死亡した。300 mg/kg 群では死亡は認められなかった。

一般状態の観察では, 2000 mg/kg 投与群で円背位, 運動失調, 振戦, 流涎, 嗜眠, 立毛, 呼吸数減少/呼吸促進が認められた。生存動物では, これらの症状は投与後 2~4 日以内に回復した。300mg/kg 投与では, 円背位が 3/6 例にみられたが, 投与翌日には消失した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

体重では、生存動物は予想される体重増加を示したが、300 mg/kg 投群与の1例では後半週に体重増加の抑制が観察された

肉眼的病理検査では、2000 mg/kg 投与において死亡動物3例のうち2例に、赤色肺、肝臓及び腎臓暗色化がみられた。他の1例には異常な所見は観察されなかった。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性のLD<sub>50</sub>は、300～2000 mg/kgと推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-2)

## 2) ピリミスルファンのラットにおける急性経皮毒性試験 (限界試験)

試験機関:

報告書作成年: 2004年 [GLP対応]

被験物質: ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGAT)

純度:

供試動物: SD系ラット (Cr1:CD<sup>®</sup>(SD)IGS BR), 1群雄雌各5匹

8~12週齢, 投与開始時体重: 雄 230~249 g; 雌 190~208 g

観察期間: 14日間

投与方法: 被験物質処理前日, 背及び側腹部位を刈毛し, その部位の体表面積の約10%相当に落花生油に湿潤した被験物質 2000 mg/kg 相当を塗布処理した。処理部位は手術用ガーゼ等で保護し, 24時間保持した。処理後 24時間に保護材をはずし, 落花生油で湿らせた脱脂綿で被験物質を取り除いた。

観察: 一般状態及び死亡の有無を14日間観察した。体重を投与前, 投与後7及び14日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。なお, 被験物質処理部位における皮膚刺激性を, 毎日1回観察して Draize らによる評価表を用いて評価した。

試験結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg 体重)	雄・雌共: 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	雄・雌共: >2000
死亡開始・終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄・雌共: 2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄・雌共: 2000

雌1例で最初の1週間で体重増加の抑制が認められたが, 後半週では増加した。これを除いて, 死亡, 一般状態, 皮膚刺激及び肉眼的病理所見には投与に関連すると思われる変化は観察されなかった。

以上から, 本試験条件下における被験物質の急性経皮毒性の LD<sub>50</sub> は, 2000 mg/kg を超える値と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-3)

3) ピリミスルファン<sup>®</sup>のラットにおける急性吸入毒性試験 (限界試験)

試験機関:

報告書作成年: 2003 年 [GLP 対応]

被験物質: ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGA1)

純度:

供試動物: SD系ラット (Cr1:CD\*(SD)IGS BR), 1群雄雌各5匹

8~12週齢, 投与開始時体重: 雄 295~310 g; 雌 202~231 g

観察期間: 14日間

投与方法: ダスト発生装置を用いて粉末状被験物質を発生させ, 4時間鼻部暴露した。暴露空気をグラスファイバーフィルターにより捕集し, 重量法により実測濃度を求めた。下表に得られた各指標を示す。

名目濃度	mg/L	14.9	
実測濃度	mg/L	6.90	
粒子径分布 (%)*	Cut point	平均累積量 (mg)	平均累積分布 (%)
	9.3 μm	3.09	92.1
	6.2 μm	2.51	75.8
	3.2 μm	1.42	42.9
	1.6 μm	0.32	9.67
	1.0 μm	0.31	9.37
	0.48 μm	0.31	9.37
空気力学的質量中位径	μm	3.07	
4 μm 未満粒子径推定%		61.7%	
チャンバー内容積	L	約 30	
チャンバー内通気量	L/min	20	
暴露条件		鼻腔暴露, ダスト, 4時間	

\* 6段階カスケードインパクターを用いて3回測定した平均値。

観察: 一般状態及び死亡の有無を14日間観察した。体重を投与前, 投与後7及び14日に測定した。観察期間終了時に全生存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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

投与方法	吸入（鼻腔暴露）
実測暴露濃度（mg/L）	雄・雌共：6.9
LC <sub>50</sub> （mg/L）	雄・雌共：> 6.9
死亡開始・終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	暴露直後～暴露1日後（円背位，立毛，頭部着色，眼部周辺の赤色／褐色着色，湿毛，呼吸促進，嗜眠，運動失調，喘鳴*，下垂症）
毒性徴候の認められなかった最高投与量（mg/L）	雄・雌共：6.9
死亡例が認められなかった最高投与量（mg/L）	雄・雌共：6.9

\* 申請者註：原文はnoisy respiration

雄雌ともに死亡は認められなかった。

一般状態の変化として，暴露時の拘束によるものと思われる円背位，立毛，頭部着色，眼部周辺の赤色／褐色着色，湿毛が見られた。

また，暴露終了時点から，呼吸促進，嗜眠，運動失調，喘鳴，下垂症が見られたが，暴露後1日で回復した。

体重変化は正常であった。

肉眼的病理検査では，異常は認められなかった。

以上のことから，本試験条件下における被験物質の急性吸入毒性のLC<sub>50</sub>は，6.9 mg/Lを超える値と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

(資料 毒性-4)

1) ピリミスルファンのウサギにおける皮膚刺激性試験

試験機関：

報告書作成年：2004年 [GLP 対応]

被験物質： ピリミスルファン原体 (K1H-5996 TGA1)

純度：

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ 雄, 12~20 週齢, 体重 2.0 ~ 3.5 kg

1 群 3 羽

観察期間： 3 日間

投与方法： 蒸留水 0.5 ml. で湿らせた被験物質 0.5 g を綿ガーゼパッチ (2.5 x 2.5 cm) に処理し, 刈毛した動物の背部の皮膚に置き, その上から手術用包帯で保護した。暴露時間は 4 時間とし, 処理 4 時間後に皮膚に残存する被験物質を蒸留水で湿らせた綿で取り除いた。

観察： 暴露終了後 1 時間, その後, 24, 48 及び 72 時間に適用部位の刺激性 (紅斑, 痂皮及び浮腫) の有無を観察し, Draize らの判定基準に従って評点化した。

試験結果：

動物番号	項目	最高値	被験物質除去後の経過時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
23	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
24	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
25	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0

観察期間を通していずれの時期においても, 紅斑・痂皮及び浮腫の形成は認められなかった。

以上の結果から, 本剤はウサギ皮膚に対して, 刺激性を有さないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-5)

## 2) ピリミスルファンのウサギにおける眼刺激性試験

試験機関：

報告書作成年：2004年〔GLP対応〕

被験物質： ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGA1)

純 度：

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ

雄, 12~20週齢, 体重 2.0 ~ 3.5 kg, 1群 3羽

観察期間： 3日間

投与方法： 被験物質の 0.1 mL(約 53 mg)を右目の結膜嚢に穏やかに入れ, 1秒間上下眼瞼を閉じて被験物質の漏れを防止した。左眼は無処理とし, 対照眼とした。

観 察： 被験物質適用後1時間, 24, 48及び72時間に, 角膜, 虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し, Draizeの方法により評点化した。

試験結果： 評価の結果を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

項目				最高評点	適用後時間における評価点				
					1 hr	24 hr	48 hr	72 hr	
非洗眼群	動物番号 177	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	1	0	0	
			浮腫	4	1	0	0	0	
			分泌物	3	1	0	0	0	
		動物番号 43	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
				面積	4	0	0	0	0
			虹彩			2	0	0	0
	結膜		発赤	3	1	0	0	0	
			浮腫	4	1	0	0	0	
			分泌物	3	1	0	0	0	
	動物番号 44	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0	
			浮腫	4	0	0	0	0	
			分泌物	3	1	0	0	0	
合計*				330	18	2	0	0	
平均				110	6.0	0.7	0.0	0.0	

\* 各部位における評点に基づいて、各ウサギの評価点を次式に基づいて算出した：

角膜=(程度+面積) x 5；虹彩=虹彩評点 x 5；結膜=(発赤+浮腫+分泌物) x 2

角膜及び虹彩における刺激性変化は、いずれの時期にも認められなかった。結膜では、全例に軽微～中等度の刺激性変化が暴露後1時間に認められ、その内の1例が暴露24時間でも軽微な刺激性変化がみられた。暴露後48時間では全例とも正常に回復した。

以上の結果から、被験物質は適用後1時間後の評価点合計で“6”を、24時間後の評価点で“0.7”を示したことから、Kay and Calandraによる評価法により、本被験物質はウサギの眼に対し、“軽微な刺激性”物質(1～8のスケールでクラス3と判定)と分類された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-6)

### (3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

試験機関:

報告書作成年: 2004 年 [GLP 対応]

被験物質: ピリミンスルファン原体 (KIH-5996 TGAI)

純度:

供試動物: Dunkin Hartley モルモット雄, 4~6 週齢, 体重 345 ~ 372 g

試験群 10 匹(但し, 試験期間中に 1 匹死亡), 対照群 5 匹

観察期間: 惹起処理後 48 時間

試験方法: (Maximization 法)

投与量設定根拠:

皮内注射における皮膚反応: 頸部を刈毛・剃毛したモルモット 1 匹にフロイントの完全アジュバント (FCA) / 生理食塩水 (1/1, v/v) 溶液 0.1 mL を 4ヶ所に皮内注射した。5 日後に同動物の側腹の予め刈毛・剃毛した 3ヶ所に, 被験物質を 25%, 15% 及び 10% の濃度に懸濁したポリエチレングリコール 300 (PEG 300) 溶液を各々皮内注射し, 24 時間後皮膚反応を評価した。その結果, 25% 懸濁液は粘稠で注射不可であり, 15% 懸濁液が適切と考えられた。

経皮処理における皮膚反応: 皮内注射後 1 週に, 頸部を刈毛・剃毛したモルモット 2 匹に, FCA/生理食塩水溶液 0.1 mL を注射した。5 日後側腹を刈毛・剃毛し, PEG300 溶液で各々飽和させた濾紙 (3 x 3 cm) を貼付した。なお, 被験物質塗布量は, 75% 懸濁液の場合に 0.2 mL 相当であり, また量としては約 0.2 g 相当であった。塗布部位を含む腹部をアルミフオイルで覆い, かつ弾性材包帯で 24 時間保護した。その後, 包帯を除去し塗布部位に許可された脱毛用クリームを 21 時間処理した。脱毛処理後そのクリームを温水及びタオルで完全に拭き取った。経皮処理後 48 及び 72 時間に皮膚反応を観察, 評価した。75% の場合には, 斑点状の発赤を示した。以上の結果, 本試験における“感作皮膚”及び“惹起”処理には, 各々 75% 及び 50% が適切と考えられた。

皮膚感作 (皮内): 経皮処理後 2 週間に皮内感作は, 刈毛・剃毛した肩の左右 3ヶ所に下記の投与溶液 0.1 mL を各部位に皮内注射した。

試験群 1) FCA/生理食塩水 (1/1, v/v) 溶液

2) 15% 被験物質の PEG300 溶液

3) 15% 被験物質の FCA/生理食塩水 (1/1, v/v) 溶液

対照群 1) FCA/生理食塩水 (1/1, v/v) 溶液

2) PEG300 単独

3) FCA/生理食塩水 (1/1, v/v) 溶液の PEG300 との混合溶液 (1/1, v/v)

なお, 陽性対照群は, 一連の試験の中で実施された。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

皮膚感作（経皮）： 更に、皮内注射 1 週間後に再度刈毛・剃毛し、試験群には 75% 被験物質の PEG300 溶液を濾紙に十分含ませ、貼付し、アルミフویلで覆い、弾性材包帯で 48 時間保持した。貼付量は約 0.3 g であった。なお、対照群には、PEG300 を同様操作で処理した。弾性材包帯等保持材を除去後 24 及び 48 時間に Magnusson/Kligman 法に準拠して発赤及び浮腫の有無を評価した。

惹起： 皮膚感作処理後 2 週の処理直前に側腹部を刈毛・剃毛し、皮膚刺激反応を示さない被験物質 50%PEG300 溶液あるいは PEG300 溶液を含ませた濾紙を、“皮膚感作” 時の処理方法と同様に、各々左側腹部及び右側腹部に 24 時間貼付した。適用された各々の液量は、約 2 mL 相当であった。その 21 時間後に弾性材包帯等保持材を除去し、剃毛剤で剃毛後（惹起処理後 48 時間）、皮膚感作性を Magnusson/Kligman 法に準拠して評価した。

試験結果： 下表に結果を示す。

試験群		皮膚感作反応評価点(平均)	
		24 時間	48 時間
対照群	PEG300 単独群 (評価点/皮膚感作動物数)	0 (0/5)	0 (0/5)
	50%被験物質の PEG300 群 (評価点/皮膚感作動物数)	0 (0/5)	0 (0/5)
試験群	PEG300 単独群 (評価点/皮膚感作動物数)	0 (0/9 <sup>a</sup> )	0 (0/9 <sup>a</sup> )
	50%被験物質の PEG300 群 (評価点/皮膚感作動物数)	0 (0/9 <sup>a</sup> )	0 (0/9 <sup>a</sup> )
陽性対照群 <sup>b</sup> (評価点/皮膚感作動物数)		1.4 (0/1, 1/4, 2/5)	1.2 (0/1, 1/6, 2/3)

<sup>a</sup> 1 例が原因不明で死亡

<sup>b</sup> 3% Hexylcinnamaldehyde・PEG300 溶液を用いた第 2 回皮膚感作後の評価点を示す。

対照群である PEG300 単独及び 50%被験物質の PEG300 溶液の場合、何らの皮膚感作反応も観察されなかった。

試験群である PEG300 単独及び 50%被験物質の PEG300 溶液の場合、対照群の場合と同様、何らの皮膚感作反応も観察されなかった。

試験期間中に、1 例が死亡したがその原因は明らかではなかった。剖検では、灰色化した肝臓及び水様性溶血が腹腔内にみられたが、自然発生性かつ被験物質処理と関連はないものと考えられた。これを除き、処理動物には全身性の臨床症状は認められなかった。

以上のことから、本被験物質にはモルモットに対して皮膚感作性を引き起こす恐れはないものと考えられる。

(資料 毒性-7)

(4) 急性神経毒性

ピリミスルファンのラットにおける急性神経毒性試験

試験機関：

報告書作成年：2005年〔GLP対応〕

被験物質： ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGAT)

純度：

供試動物： ラット (Crj:CD(SD)IGS) 5週齢,

投与時体重 雄 111~131, 雌 101~115 g, 1群 10匹

観察期間： 14日間

投与方法： 一晩の絶食後、0.5%カルメロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁させた被験物質を胃ゾンデを用いて 0, 300, 780 及び 2000 mg/kg の用量で強制経口投与を行った。

投与量の設定根拠：

0, 300, 490, 780, 1250 及び 2000 mg/kg を 1群雄雌 3匹の SD系ラットに投与した予備試験において、1250 及び 2000 mg/kg 群の雄雌で投与後 3時間から 5時間に集中して、音に対する反応の亢進、振戦、自発運動の低下及び呼吸促迫を伴う例が見られたが、体重推移や剖検所見の異常は認められなかった。以上の結果から本試験では最高用量を 2000 mg/kg とし公比約 2.6 で除した 780 及び 300 mg/kg を設定した。また、詳細な症状観察時期を投与後 4時間後、7日後、14日後とした。

観察・検査項目及び結果：

死亡率及び一般状態： 投与日 (0日) の投与直後から投与後 8時間までは 1時間毎に、投与後 1日から 13日までは 1日 2回観察し、投与後 14日は午前のみ観察した。

被験物質投与に関連する所見を表 1 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. 死亡率及び一般状態の観察結果

性 別	雄				雌			
	0	300	780	2000	0	300	780	2000
投与量 (mg/kg)	0	300	780	2000	0	300	780	2000
症状 \ 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
死亡	0	0	0	1	0	0	0	2
音に対する反応の亢進	0	0	10	10	0	0	10	10
振戦	0	0	4	9	0	0	7	9
間代性痙攣	0	0	0	0	0	0	1	1
自発運動量の低下	0	0	0	1	0	0	0	0
呼吸促進	0	0	0	1	0	0	0	0
手足耳介の蒼白	0	0	0	0	0	0	0	1
腹臥	0	0	0	0	0	0	0	1
口周囲の被毛の汚れ	0	0	0	2	0	0	0	0
軟便	0	0	0	0	0	0	1	1

[死亡率]

2000 mg/kg 群では雄雌各 10 例中雄 1 例、雌 2 例が投与後 8 時間に死亡したが、投与後 1 日以降では雄雌ともに死亡例は認められなかった。急性経口毒性試験（資料 毒性-1）において 2000 mg/kg 群で 6 例中 3 例の死亡が報告されていることから、この死亡は被験物質投与によるものと考えられた。300 及び 780 mg/kg 群に死亡例は認められなかった。

[一般状態]

対照群及び 300 mg/kg 群では雄雌ともに異常は認められなかった。

音に対する反応の亢進が 780 及び 2000 mg/kg 群では雄雌とも 10 例中全例に認められた。また振戦が 780 mg/kg 群では雄雌それぞれ 4 及び 7 例に、2000 mg/kg 群ではそれぞれ 9 例に認められた。他に間代性痙攣、自発運動量の低下、呼吸促進、手足耳介の蒼白、腹臥、口周囲の被毛の汚れ及び軟便が 1~2 例に観察された。これらの変化は被験物質投与に関連した変化と考えられた。

詳細な状態観察： 投与開始前、投与後 4 時間、投与後 7 及び 14 日に以下の項目について、あらかじめ定めたスコアリング法を用いて評点化した。

ケージ外からの観察： 体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動/回転・旋回、異常行動/自咬

ケージからの取出し時： 取り出し易さ、取扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、皮膚、眼・眼球及び粘膜の外観、瞳孔径、流涙、流涎、分泌物の有無

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

投与に関連する所見を表 2 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2. 詳細な状態観察の結果

[投与後 4 時間]

性 別	雄				雌			
	0	300	780	2000	0	300	780	2000
投与量 (mg/kg)	0	300	780	2000	0	300	780	2000
症状\ 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
ケージ外からの観察								
振戦/痙攣 (間代性・全身)	0	0	1	8 <sup>**</sup>	0	0	5	8 <sup>**</sup>
オープンフィールド内での観察								
歩行しない	0	0	0	10 <sup>**</sup>	0	0	1	5
歩行失調	0	0	1	3	0	0	1	6 <sup>+</sup>

Mann-Whitney の U 検定法 \*\* : P ≤ 0.01, + : P ≤ 0.05

[投与後 4 時間]

ケージ外からの観察では、2000 mg/kg 群で雄雌各 10 例中雄 8 例、雌 8 例に振戦が見られ有意差が認められた。他の投与群では有意差のある観察項目は認められなかった。

オープンフィールド内の観察では、2000 mg/kg 群で歩行しない例が雄 10 例及び雌 5 例にみられ、雄では有意差が認められた。また運動協調性の低下 (歩行失調) が雄 3 例及び雌 6 例にみられ、雌では有意差が認められた。いずれの変化についても被験物質投与に関連したものと考えられた。

[投与後 7 日]

各群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

[投与後 14 日]

各群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

機能検査： 投与開始前、投与後 4 時間、投与後 7 及び 14 日に以下の項目について、あらかじめ定めたスコアリング法をもちいて評点化した。また、握力、後肢の開脚幅、自発運動量を測定した。

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

投与に関連する所見を表 3 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 3. 機能検査結果

[投与後 4 時間]

性 別	雄				雌			
	0	300	780	2000	0	300	780	2000
投与量 (mg/kg)	0	300	780	2000	0	300	780	2000
症状 \ 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
自発運動量 0-10 分	347.9	312.7	110.3 <sup>**</sup>	22.1 <sup>-</sup>	369.4	339.7	84.4 <sup>-</sup>	14.3 <sup>**</sup>
10-20 分	168.9	122.0	16.4 <sup>**</sup>	3.3 <sup>**</sup>	214.9	193.1	12.9 <sup>  </sup>	0.3
20-30 分	69.8	63.7	14.2	0.2 <sup>  </sup>				
総運動量	701.2	584.5	163.3 <sup>**</sup>	26.6 <sup>**</sup>	702.9	618.5	122.4 <sup>  </sup>	17.0 <sup>  </sup>
握力-前肢(g)	669.8	674.9	632.6	574.3 <sup>*</sup>				
後肢の開脚幅(cm)					3.995	2.915	2.475 <sup>**</sup>	2.645 <sup>*</sup>
触覚刺激-愚鈍(匹)	0	0	0	5	0	0	0	5
痛覚刺激-無反応(匹)					0	0	0	4
正向反射不全(匹)					0	0	0	1

[投与後 7 日]

症状 \ 検査動物数	10	10	10	9	10	10	10	8
自発運動量 20-30 分	163.4	249.2	333.8 <sup>**</sup>	169.0				
40-50 分					53.1	64.0	124.2	235.3 <sup>*</sup>
50-60 分					42.5	61.0	75.8	175.0 <sup>*</sup>
総運動量	1150.2	1468.8	1728.7 <sup>*</sup>	1096.2				
握力-前肢(g)					774.6	779.7	755.3	877.2 <sup>*</sup>
握力-後肢(g)					295.7	310.7	306.4	353.1 <sup>*</sup>

[投与後 14 日]

症状 \ 検査動物数	10	10	10	9	10	10	10	8
握力-前肢(g)	912.5	929.6	1001.7	1033.0 <sup>-</sup>				
握力-後肢(g)					331.3	330.9	321.5	408.9 <sup>*</sup>
後肢の開脚幅(cm)					5.07	5.34	5.45	6.67 <sup>*</sup>

空欄は変化なし。

Dunnnett の検定法 \*\* :  $P \leq 0.01$ , \* :  $P \leq 0.05$

Mann-Whitney の U 検定法 \*\* :  $P \leq 0.01$ , \* :  $P \leq 0.05$

[投与後 4 時間]

2000 mg/kg 投与群では、雄の 0-30 分の運動量及び総運動量 (0-60 分) に、また雌の 0-20 分の運動量及び総運動量に有意な低値がみられた。雄では前肢の握力、雌では後肢の開脚幅にも有意な低値が認められた。さらに、雄雌で触覚刺激に対して愚鈍な例、雌で痛覚刺激に対し無反応な例あるいは正向反射の不全な例がみられた。780 mg/kg 群では雄雌ともに 0-20 分の運動量及び総運動量に有意な低値がみられた。雌では後肢の開脚幅にも低値が認められた。これらはいずれも被験物質投与に関連した変化と考えられた。300 mg/kg 群では雄雌ともに有意差のある変化は認められなかった。

[投与後 7 日]

2000 mg/kg 群では雌の前肢及び後肢の握力に有意な高値、自発運動量の測定開始後 40-60 分に有意な高値がみられたが、雄では有意な差が認められなかった。780 mg/kg 群では雄の自発運動量で 20-30 分及び総運動量 (0-60 分) に有意な高値がみられたが、雌では有意な差が認められなかった。これらの変化は投与後 4 時間に見られた変化と相反すること、及び神経系の病理組織学的検査において変化がみられていないことから、被験物質投与との関連はないと考えられた。300 mg/kg 群では雄雌ともに有意差のある変化は認められなかった。

[投与後 14 日]

2000 mg/kg 群では雄の前肢の握力に、雌では後肢の握力及び後肢の開脚幅に有意な高値が認められた。これらは投与後 7 日の変化と同様に被験物質投与に関連はないと考えられた。780 及び 300 mg/kg 群では雄雌ともに有意差のある変化は認められなかった。

体重測定： 投与 0 (投与日の投与前)、投与後 1, 3, 5, 7, 10 及び 14 日に測定した。  
有意差が見られた測定日を表 4 に示した。

表 4. 体重測定結果

性 別	雄				雌			
	0	300	780	2000	0	300	780	2000
投与量 (mg/kg)								
症状 \ 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
平均体重 投与 0 日	120.4	119.2	120.7	119.9	108.5	108.5	106.6	107.1
(g) 投与後 1 日	140.7	139.8	137.5	131.7**	126.7	127.1	122.9	120.4*

Dunnett の検定法 \* : P ≤ 0.05

2000 mg/kg 群では雄雌ともに投与後 1 日にのみ有意な低値が認められた。この変化は投与後 3 日には回復していることから、被験物質の大量投与に起因した一過性の変化と考えられた。780 及び 300 mg/kg 群では対照群と有意差のある変化は認め

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

られなかった。

剖検： 各群の生存例の雄雌各 5 例について心臓全身灌流固定を行った。灌流固定後、全身の器官・組織を肉眼的に観察し、以下の器官・組織を灌流固定液中に保存した。また上記以外の 5 例について、全身の器官・組織を肉眼的に観察し、以下の器官・組織を 10%中性緩衝ホルマリンに固定・保存した。

器官・組織名：前脳及び海馬を含む大脳中心部，中脳，小脳，橋，延髄，視神経及び網膜を含む眼球，脊髄の頸膨大及び腰膨大，脊髄神経節，神経線維の前根及び後根，近位の坐骨神経，近位の脛骨神経（膝部）及び脛骨神経の腓腹筋分岐部，骨格筋（腓腹筋）

[死亡例]

2000 mg/kg 群の雄 1 例及び雌 2 例の死亡例に異常所見は認められなかった。

[生存例]

各投与群の雄雌ともに被験物質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： 各投与群の灌流固定実施動物の全例について、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して検鏡を行った。また末梢神経は、トルイジン・ブルー標本を作製して検鏡した。

上に示した器官・組織を検査した結果、いずれの標本においても異常は認められなかった。

以上の結果から、被験物質投与による変化として、雄雌ともに 780 mg/kg 以上の群で音に対する反応の亢進や振戦などの毒性徴候、投与後 4 時間に運動協調性の低下（歩行失調）した例や歩行しない例、あるいは自発運動量の有意な低下が認められた。また 2000 mg/kg 群では死亡例も認められた。しかしながら、これらの毒性が発現している雄雌の 780 mg/kg 以上の群の生存例においても神経系の病理組織学的検査では被験物質投与による毒性変化は認められなかった。

したがって、本試験条件下において無毒性量は 300 mg/kg と考えられた。また、投与による神経系への毒性変化は 2000 mg/kg 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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-8)

(5) 急性遅発性神経毒性

ピリミスルファンは、その化学構造にりん酸エステル及びメチルカルバマート構造を含んでおらず、コリンエステラーゼ阻害活性を有さない(1)ことから、「農薬の登録申請に係る試験成績について」の運用について(平成13年10月10日付け13生産第3986号,平成17年03月16日一部改正 16消安第9261号)4.(2)⑧、イの「有効成分がりん酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬」に該当し、本試験成績は除外できるものと考えられる。

参考資料

- 1 KIH-5996 のアセチルコリンエステラーゼ活性阻害試験,



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(6) 90日間反復経口投与毒性

(資料 毒性-9)

1) ピリミスルファンのラットを用いる90日間反復経口投与毒性試験

試験機関：

報告書作成年：2002年 [GLP 対応]

被験物質： ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGAT)

純 度：

供試動物： Fisher系ラット [F344/DuCrj]，1群雌雄各10匹，  
投与開始時5週齢，体重範囲：雄 88～99 g，雌 71～79 g

投与期間： 13週間 (2001年12月27日～2002年3月28日)

投与方法： 所定量の被験物質をリボンミキサーを用いて0，100，500，5000，10000 ppmの濃度で基礎飼料と混合し，13週間にわたってラットに自由に摂食させた。被験物質を混合した飼料は2週に1回調製した。

用量設定根拠： クミアイ化学工業(株)生物科学研究所において実施した4週間混餌投与試験において，被験物質を0，50，500，7000及び20000 ppmの濃度で投与したところ，20000 ppm群で体重増加抑制，肝重量の増加，肝細胞肥大，胆汁うっ滞，核大小不平等が，7000 ppm群で肝重量増加，肝細胞肥大(雄)，胆汁うっ滞(雌)等が認められた。本試験では13週間という投与期間を考慮して，最高用量を10000 ppm，高用量をその1/2量の5000 ppm，中間用量を軽度の変化が予想される500 ppm，低用量を無毒性量が予想される100 ppmに設定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率： 一般状態の観察は全動物について毎日1回行なった。

いずれの投与群にも死亡例は認められなかった。

一般状態の観察では，雌雄ともに被験物質に起因すると考えられる一般状態の変化は観察されなかった。

体重変化： 体重は週1回及び解剖当日に測定した。平均体重の変化を図1に示す。

雄では，体重及び体重増加量に変化が認められなかった。

雌では，10000 ppm群で投与6から13週間の平均体重及び0から13週における体重増加量が有意な低値を示した。他の投与群では対照群と差が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

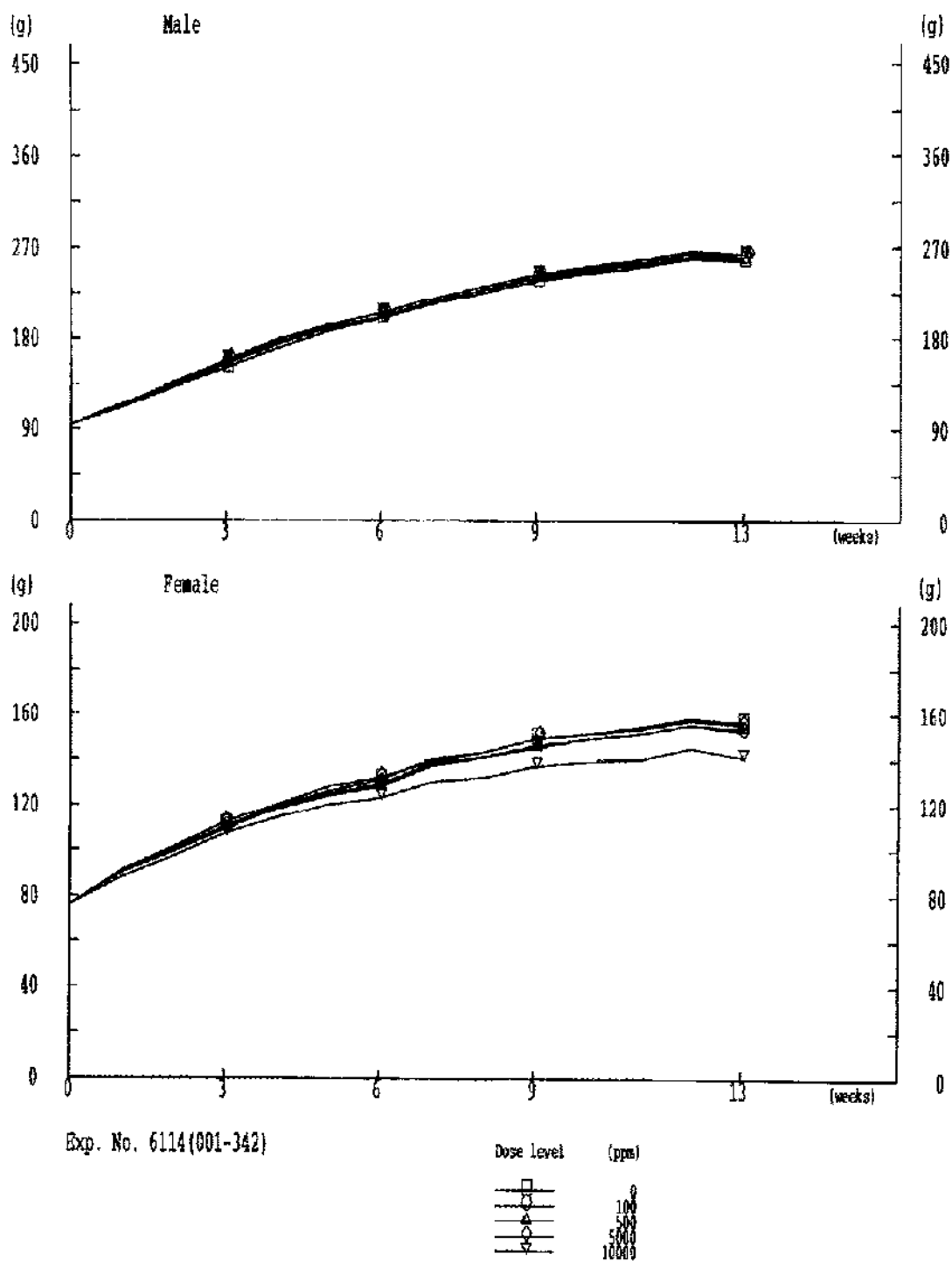


図 1. 体重変化

摂餌量及び飼料効率：全動物について毎週給餌した残量を測定し、摂餌量 (g/week)、飼料効率を算出した。対照群と比べ摂餌量及び飼料効率に統計学的有意差の認められた週を表 1、表 2 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. 摂餌量

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		100	500	5000	10000	100	500	5000	10000
投 与 週	2							106△	
	7								91▼
	9								89▽
	10								89▽
	13								92▽
	1→13								93▽

Dunnnett の多重比較検定 (△▽:  $p \leq 0.05$ ; ▲▼:  $p \leq 0.01$ )

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

雄では、摂餌量に被験物質投与による影響は認められなかった。

雌では、10000 ppm 群で投与 7, 9, 10 及び 13 週の摂餌量及び投与期間中の総摂餌量が有意な低値を示した。5000 ppm 群で投与 2 週の摂餌量が有意な高値を示したが、用量に対応しない変化であった。

表 2. 飼料効率

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		100	500	5000	10000	100	500	5000	10000
投 与 週	1			123▲	122▲				
	5				82▽				
	6								61▽
	1→13								87▼

Dunnnett の多重比較検定 (△▽:  $p \leq 0.05$ ; ▲▼:  $p \leq 0.01$ )

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

雄では各投与群と対照群の飼料効率に顕著な差が認められなかった。

雌では 10000 ppm 群で投与 6 週及び投与期間全体の平均飼料効率が有意な低値を示し、被験物質投与による毒性変化と考えられた。

被験物質摂取量：投与期間中の平均被験物質摂取量を表 3 に示す。

表 3. 被験物質摂取量

投与量 (ppm)		100	500	5000	10000
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	雄	6.7	33.5	342.8	671.6
	雌	7.6	37.9	380.6	748.2

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

機能観察総合検査 (FOB) : 投与開始前は購入した動物全例について、投与開始後は対照群及び各投与群の全動物について盲検法で行なった。詳細な症状観察は毎週 1 回行なった。種々の刺激に対する運動感覚反応の観察、握力測定、着地開足幅及び自発運動測定は投与開始前及び投与 13 週に行なった。

a. ケージ内での観察

姿勢、噛み行動、身悶え、痙攣、閉眼、旋回、異常発声

b. ケージ外での観察

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

c. オープンフィールド上での観察

空中正向反射、呼吸、協調運動、痙攣、毛づくろい、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

d. 種々の刺激に対する運動感覚反応の観察

瞳孔反射、接近反応、接触反応、聴覚反応、痛覚反応

e. 握力 (前後肢)

f. 着地開足幅測定

g. 自発運動量測定

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 4 に示す。

表 4. 機能観察総合検査 (FOB) の成績

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	100	500	5000	10000	0	100	500	5000	10000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
症状	週										
ケージ内での観察											
腰をおとして座る (匹)	2W	0				5*					
	13W	2		7*							
ケージを咬む (匹)	11W						0				6**
出し易さが簡単 (匹)	3W						2			7*	
	全体	3	8*	8*	8*		6		10*		
ケージ外での観察											
扱い易さが簡単 (匹)	0W						3		9**		
	10W						0				4*
	全体						6		10*		10*
オープンフィールド上での観察											
つかまり立ち回数 (回)	11W						16	13*	12*		12*
支えなしの立ち上がり回数 (回)	3W						2				8**
自発運動量 (13 週)											
	40-50 分						66		32*	31*	
	50-60 分						70			27*	

Fisher の正確検定法 (両側検定) (\*:  $p \leq 0.05$ ; \*\*:  $p \leq 0.01$ ), 空欄は変化なし。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

詳細な症状観察では表に示したいくつかの項目に有意差が認められたが、いずれも用量に関連しない変化か一貫性のない変化であった。種々の刺激に対する運動感覚反応の観察、握力、着地開脚幅測定においては対照群との有意差は認められなかった。自発運動量の測定では投与 13 週の測定で雌の 500 及び 5000ppm 群で自発運動量が対照群と比較し有意な低値を示した期間が認められたが用量に関連しない変化であった。

以上のように、機能観察総合検査において被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

血液学検査： 13 週計画解剖時に、全動物についてエーテルで麻酔後開腹して腹部大静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行なった。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数、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、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 5 に示す。

表 5. 血液学検査成績

検査項目	性別及び投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	500	5000	10000	100	500	5000	10000
ヘマトクリット値				97▼				97▼
ヘモグロビン量			98▽	96▼				97▽
赤血球数				97▼				
MCV								98▼
MCH								98▼
血小板数				107△				
網赤血球率				89▼				
PT			103△	103△				
APTT				110▲				

Dunnett の多重比較検定または Steel の検定 (△▽:  $P \leq 0.05$ , ▲▼:  $P \leq 0.01$ )

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

雄では 5000ppm 群でヘモグロビン量が有意な低値を、PT が有意な延長を示した。10000ppm 群ではヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数及び網赤血球率が有意な低値を、血小板数が有意な高値を示し、PT 及び APTT が有意な延長を示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

雌では 10000ppm 群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、MCV 及び MCH が有意な低値を示した。

PT 及び APTT の延長は、本被験物質の標的器官が肝臓であることから、肝障害による凝固因子の産生低下が原因であることが示唆された。

[申請者注:雄雌高投与群に見られた軽度の貧血傾向は被験物質投与の影響と考えられるが、変化の程度が小さいこと、病理組織学検査で造血器系に異常のないことから、動物の生理的恒常性を損なうほど重度であるとは考えられない。]

血液生化学検査：血液学検査で使用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なった。

総蛋白、血糖、中性脂肪、総コレステロール、リン脂質、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、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)、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

また、血液生化学検査用に調製した血清を電気泳動し、以下の各分画の比率を測定して A/G 比を算出した。さらに、各分画の比率及び血液生化学検査で求めた総蛋白を用いて各分画の濃度 (g/dL) を求めた。

アルブミン、 $\alpha_1$ -グロブリン、 $\alpha_2$ -グロブリン、 $\beta$ -グロブリン、 $\gamma$ -グロブリン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 6 に示す。

表 6. 血液生化学検査成績

検査項目	性別及び投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	500	5000	10000	100	500	5000	10000
総コレステロール								141▲
中性脂肪				64▽				
リン脂質								128▲
尿素窒素			104△	114▲				
総ビリルビン								75▼
総蛋白				103△				105▲
カルシウム				103△				
AST				80▽				69▼
ALT				79▽				59▼
ALP				89▽				
γ GTP								173▲
アルブミン分画比率								97▽
α <sub>2</sub> -グロブリン分画比率				108△		108△		119▲
β-グロブリン分画比率								106▲
A/G 比								92▽
α <sub>2</sub> -グロブリン濃度				111▲				125▲
β-グロブリン濃度								112▲

Dunnett の多重比較検定または Steel の検定 (△▽: P ≤ 0.05, ▲▼: P ≤ 0.01)

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

雄では 5000ppm 群で尿素窒素が有意な高値を示した。10000ppm 群では尿素窒素、総蛋白、カルシウム、α<sub>2</sub>-グロブリン分画比率及び濃度が有意な高値を示し、中性脂肪、AST、ALT 及び ALP が有意な低値を示した。

雌では 5000ppm 群で α<sub>2</sub>-グロブリン分画比率が有意な高値を示した。10000ppm 群では総コレステロール、リン脂質、総蛋白、γ-GTP、α<sub>2</sub>-グロブリン分画比率及び濃度、β-グロブリン分画比率及び濃度が有意な高値を、総ビリルビン、AST、ALT、アルブミン分画比率及び A/G 比が有意な低値を示した。

雄の 5000 及び 10000ppm 群における尿素窒素の高値は腎障害が疑われたが、クレアチニンや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。雄雌の 10000ppm 群における総蛋白の増加は α<sub>2</sub>-グロブリンあるいは β-グロブリンの増加と関連すると考えられたが軽微な変化であり毒性学的意義は低いと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

[申請者注：雄の 5000 ppm, 10000 ppm 群の尿素窒素と総蛋白の増加, 雌 10000 ppm 群の総蛋白の増加については, 本被験物質の主要排泄経路は腎臓であることから (資料 運命-1), 後述する尿検査での雌 10000 ppm 群の尿量減少と浸透圧増加, 並びに臓器重量における雌雄 10000 ppm 群の腎臓実重量 and/or 対体重比の増加と相関する変化であり, 病理組織学検査では影響がなかったが, 投与の毒性影響と判断した.]

10000ppm 群の雄におけるカルシウムの高値, 雌における  $\gamma$ -GTP の高値はいずれも軽微な変化で毒性学的意義は低いと考えられた。10000ppm 群の雌における総コレステロールとリン脂質の高値, 雄における中性脂肪の低値から被験物質投与による脂質代謝への影響が示唆された。

[申請者注：雌の 10000 ppm 群に見られた  $\gamma$  GTP の高値は, 本被験物質の 30-44%が胆汁から排泄されることから (資料 運命-1), 投与期間中に胆管系へ負荷がかかった結果とも考えられるが, 前述したようにその程度が極めて軽度 (雌：対照群 1.1±0.2 U/L, 10000 ppm 群：1.9±0.4 U/L) のため毒性影響とは考えなかった。]

尿検査： 投与 13 週に全生存動物について, 一夜尿 (午後 4 時～翌日午前 9 時) を採取した。採尿に先立ち, 水道水を 20 mL/kg を強制経口投与した。以下の項目の測定を行った。

尿量, 色調, 尿浸透圧, 尿沈渣, pH, 潜血, ケトン体, 糖, 蛋白, ビリルビン, ウロビリノーゲン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 7 に示す。

表 7. 尿検査成績

検査項目	性別及び投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	500	5000	10000	100	500	5000	10000
尿量								70▼
浸透圧								155▲

Dunnett の多重比較検定 (△▽: P ≤ 0.05, ▲▼: P ≤ 0.01)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

雄では被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

雌では 10000ppm 群で尿量が有意な低値を, 尿浸透圧が有意な高値を示した。10000ppm 群の雌での変化はその他の尿検査項目に被験物質投与による変化がないこと, 病理学検査において腎障害を示唆する変化が認められていないことから毒性学的意義は低いと考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

[申請者注：雌の 10000 ppm 群に観察された尿量の減少及び浸透圧の増加は、前述した血液生化学検査結果ならびに腎重量増加と関連する本被験物質投与の毒性影響と判断した。]

眼科学検査： 投与 13 週に対照群と最高用量群の全生存動物について、前眼部及び中間透光体を検査した。

10000ppm 群の雄雌に被験物質投与による影響は認められなかった。

臓器重量： 計画解剖時の全生存動物について以下の器官重量を測定し、器官重量/体重比を算出した。

心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、脳、胸腺  
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 8 に示す。

表 8. 臓器重量

検査項目		性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		100	500	5000	10000	100	500	5000	10000
体重									91▼
脳	実重量								97▼
	対体重比								108▲
肝臓	実重量				120▲			107△	117▲
	対体重比			107▲	117▲			108▲	129▲
腎臓	実重量				108△				
	対体重比				105△				112▲
副腎	対体重比								115▲
脾臓	実重量								92▽
卵巣	対体重比						111△		

Dunnnett の多重比較検定 (△▽: P ≤ 0.05, ▲▼: P ≤ 0.01)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

雄では 5000ppm 群で肝臓の対体重比が有意な高値、10000ppm 群で肝臓と腎臓の実重量及び対体重比が有意な高値を示し、被験物質投与の影響と考えられた。

雌では 5000 及び 10000ppm 群で肝臓の実重量及び対体重比が有意な高値を示し、被験物質投与の影響と考えられた。また、10000ppm 群では脳及び脾臓の実重量が有意な低値を、脳、腎臓及び副腎の対体重比が有意な高値を示したが、これらは解剖直前の体重減少に起因するものと考えられた。さらに

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

500ppm 群で卵巣の対体重比が有意な高値を示したが用量に相関のない変化であった。

肉眼的病理検査： 投与終了時の全生存動物について剖検を行なった。

被験物質投与に関連すると考えられた所見及びその発生頻度を表 9 に示す。

表 9. 肉眼所見と発生頻度

性別・投与量		観察例数									
		雄					雌				
		0	100	500	5000	10000	0	100	500	5000	10000
肝臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	暗色化	0	0	0	0	10**	0	0	0	0	8**
	肥大	0	0	0	0	8**	0	0	0	0	0

Fisher の正確検定法 (両側検定) (\*:  $p \leq 0.05$ ; \*\*:  $p \leq 0.01$ )

10000ppm 群の雄雌で肝臓の暗色化が、10000ppm 群の雄で肝臓の肥大が有意に増加した。これらの変化は肝臓重量の増加や病理組織学的変化と関連する所見として被験物質投与の影響と考えられた。

病理組織学検査： 対照群及び最高用量群の全動物を対象として、以下の器官・組織について病理標本を作成し、検鏡した。また、対照群と比較し最高用量群で異常所見の発生数の増加が観察された器官・組織については他の用量群についても病理組織学検査を行なった。

皮膚、乳腺 (雌)、リンパ節 (腸間膜、下顎)、舌下線、下顎腺、胸骨、大腿骨、骨髄 (胸骨、大腿骨)、胸腺、気管、肺 (気管支を含む)、心臓、甲状腺、上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、陰、眼球 (視神経を含む)、ハーダー腺、脳、下垂体、脊髄 (頸髄、胸髄、腰髄)、骨格筋 (大腿部)、坐骨神経、大動脈認められた主要な病理組織学的所見及びその発生頻度を表 10 に示す。

表 10. 病理組織学的所見と発生頻度

性別・投与量		観察例数									
		雄					雌				
		0	100	500	5000	10000	0	100	500	5000	10000
肝臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	肝細胞肥大	0	0	0	3	10**	0	0	0	6**	10**

Fisher の正確検定法 (両側検定) (\*:  $p \leq 0.05$ ; \*\*:  $p \leq 0.01$ )

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

用量と関連して発生数が増加した所見として、肝細胞の肥大が雄雌の 5000 及び 10000ppm 群で観察された。肝細胞の肥大は程度に差がなくいずれも軽度で小葉中心から周辺にまで及ぶ変化として観察された。これらの変化は肝臓重量の増加と関連する所見と考えられた。

その他に被験物質投与による異常はなかった。

以上の結果から、被験物質を混餌法で F344/DuCrj ラットに 13 週間反復経口投与することにより、5000ppm 投与群でプロトロンビン時間の延長（雄のみ）、肝臓の実重量／対体重比の増加、肝臓の病理組織学的変化が認められた。また 10000ppm 投与群では、それに加えて体重増加量の減少（雌のみ）、軽度の貧血傾向、総コレステロールとリン脂質の増加（雌）、中性脂肪の減少（雄）、腎臓の実重量／対体重比の増加（雄）等が認められた。

したがって、無毒性量は雄雌とも 500ppm（雄：33.5 mg/kg/day, 雌：37.9 mg/kg/day）、標的器官は肝臓であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-10)

## 2) ピリミスルファン イヌを用いる 90日間反復経口投与毒性試験

試験機関：

報告書作成年： 2004年 [GLP対応]

被験物質： ピリミスルファン原体 (K1H-5996 TGAI)

純 度：

供試動物： ビーグル犬，1群雄雌各4匹，

投与開始時約6ヶ月齢，体重範囲：雄 8.6~10.1 kg；雌 8.5~9.6 kg

投与期間： 雄：91日間，雌92日間 (2003年4月22日~2003年7月21日 (雄)，22日 (雌))

投与方法： 被験物質をゼラチンカプセルに詰め，0，10，50及び250 mg/kg/dayの用量で1日1回経口投与した。投与量は各個体の最新の体重をもとに算出した。カプセル充填は数日ないし1週間分をまとめて行った。

用量設定根拠： ビーグル犬を用い20，100，200及び250 mg/kg/dayの投与量で実施した28日間経口投与毒性試験予備試験の結果，100 mg/kg以上の投与群で肝臓の実重量及び対体重比が用量に対応して高値傾向を示した。また，250 mg/kg群では観察されなかったが，200 mg/kg群で流涎，振戦，間代性痙攣，自発運動低下及び側臥位などの明らかな被験物質投与による中毒症状が観察された。したがって，明らかな毒性変化が認められると考えられる250 mg/kgを高用量群に設定し，以下公比5で除し，50及び10 mg/kg/day群を設定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態の観察は全動物について少なくとも1日5回 (投与前，投与後2~3，3~4，4~5，6時間) 行なった。

詳細な一般状態の観察は，投与開始前1週より解剖時まで毎週1回，被験物質投与後4~6時間にケージ内における観察 (姿勢・体位，異常発声，排泄物，嘔吐，流涎，流涙，自発運動，眼瞼の状態，振戦，痙攣) について行なった。

いずれの投与群にも死亡例は認められなかった。

一般状態の観察では，250 mg/kg群の雄2例，雌1例に流涎，振戦，異常歩行，呼吸数増加，腹臥位，側臥位あるいは嗜眠が観察された。これらの所見はいずれも単発性で一過性ではあったが，本試験に先立ち実施した28日間経口投与毒性試験予備試験においてもほぼ同様な所見が観察されたことから被験物質投与による中毒性の症状と考えられた。なお各投与群で観察された他の所見については発生頻度も低く毒性学的意義はないと判断した。

詳細な一般状態の観察では被験物質投与による影響は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

体重変化： 体重は週1回、給餌する前に測定した。

体重及び体重変化に被験物質投与による影響は認められなかった。

摂餌量： 全動物について1匹当たり250gの飼料を計量し給餌した。給餌後約24時間に残餌量を測定し、その差を摂餌量(g/day)とした。

摂餌量に被験物質投与による影響は観察されなかった。

血液学検査： 投与6及び13週時に、全動物について橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、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)、血小板数、白血球数、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、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表1に示す。

表1. 血液学検査成績

検査項目	検査時期(週)	性別及び投与量 (mg/kg/day)					
		雄			雌		
		10	50	250	10	50	250
赤血球数	1		93				
	6		88▽				
	13		93				
血小板数	-1			116			
	6			141△			
	13			136			
単球比率	-1	83	100	100			
	6	71	71	71▽			
	13	75▽	75▽	63▼			
単球数	-1	83					
	6	50▽					
	13	71					
好酸球数	-1					120	
	6					125	
	13					200△	
網赤血球率	-1						56
	6						125
	13						57▽
APTT	-1		97				
	6		94				
	13		90▽				

Dunnettの多重比較検定(△▽: P ≤ 0.05, ▲▼: P ≤ 0.01)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグミアイ化学工業株式会社にある。

投与 6 週の検査では雄の 250 mg/kg 群に単球比率の低値が認められたが、単球数の減少は認められなかった。また雄の 250 mg/kg 群に血小板数の高値が、雄の 50 mg/kg 群に赤血球数の低値が認められたがいずれも軽微な変化であった。

投与 13 週の検査では雄の 10, 50 及び 250 mg/kg 群に単球比率の低値が認められたが、いずれも単球数の減少は認められなかった。また、雄の 50 mg/kg 群に APTT の低値が認められたが用量に関連のない変化であった。雌では 250 mg/kg 群に網赤血球率の低値が認められたがその程度は軽微であった。

以上の変化は、被験物質投与の影響とは考えなかった。

血液生化学検査：血液学検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、血糖、中性脂肪、リン脂質、総コレステロール、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、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)、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

また、血液生化学検査用に調製した血清を電気泳動し、以下の各分画の比率を測定して A/G 比を算出した。さらに、各分画の比率及び血液生化学検査で求めた総蛋白を用いて各分画の濃度 (g/dL) を求めた。

アルブミン、 $\alpha_1$ -グロブリン、 $\alpha_2$ -グロブリン、 $\beta$ -グロブリン、 $\gamma$ -グロブリン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 2 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2. 血液生化学検査成績

検査項目	検査時期 (週)	性別及び投与量 (mg/kg/day)					
		雄			雌		
		10	50	250	10	50	250
総蛋白	-1						94
	6						93
	13						84▼
アルブミン	-1			100			96
	6			87▽			92
	13			85▼			86▽
血糖	-1				102	94	102
	6				113△	104	103
	13				124▲	114△	113△
総コレステロール	-1						96
	6						88
	13						80▽
中性脂肪	-1		63	86	89		
	6		69	55	73		
	13		62▽	60▽	59▽		
リン脂質	-1						95
	6						88
	13						80▽
尿素窒素	-1					73▽	
	6					72▽	
	13					77	
塩素	-1						100
	6						102▲
	13						101△

Dunnnett の多重比較検定 (△▽:  $P \leq 0.05$ , ▲▼:  $P \leq 0.01$ )

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

投与 6 週の検査では雄の 250 mg/kg 群にアルブミンの低値が認められた。その他、雌の 250 mg/kg 群に塩素の高値が認められたがその程度は軽微であった。また雌の 10 mg/kg 群に血糖の高値、50 mg/kg 群に尿素窒素の低値が認められたが、いずれも用量に関連のない変化であった。

投与 13 週の検査では雄雌の 250 mg/kg 群にアルブミン、雌の 250 mg/kg 群に総蛋白の低値が認められた。また、雄の 50 及び 250 mg/kg 群と雌の 10 mg/kg 群に中性脂肪の低値、雌の 250 mg/kg 群に総コレステロール及びリン脂質の低値が、雌の 10、50 及び 250 mg/kg 群に血糖、250 mg/kg 群に塩素の高値が認められたがいずれもその程度は軽微であった。

アルブミン及び総蛋白の低値は、病理組織学的検査で 250 mg/kg 群の雌に肝細胞の肥大が認められたことから、被験物質投与による肝臓への影響が示唆されたが、これらの変化の病理学的発生機序は不明であった。

血清蛋白電気泳動検査では被験物質投与による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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

尿検査： 血液学検査と同時期に採尿器を用いて新鮮尿（放尿後 3 時間以内の尿）及び 24 時間尿を採取した。新鮮尿について以下の項目を検査した。

pH, 潜血, ケトン体, 糖, 蛋白, ビリルビン, ウロビリノーゲン, 尿沈渣

また, 24 時間尿について以下の項目を検査した。

尿量, 色調, 尿比重, ナトリウム (濃度, 排泄量), カリウム (濃度, 排泄量), 塩素 (濃度, 排泄量)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 3 に示す。

表 3. 尿検査成績

検査項目	検査時期 (週)	性別及び投与量 (mg/kg/day)					
		雄			雌		
		10	50	250	10	50	250
比重	-1						100
	6						103△
	13						101
ナトリウム総排泄量	-1			106			
	6			123			
	13			152△			
塩素総排泄量	-1			104			
	6			123			
	13			147△			

Dunnell の多重比較検定 (△▽:  $P \leq 0.05$ , ▲▼:  $P \leq 0.01$ )

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

投与 6 週の検査では雌の 250 mg/kg 群に比重の高値が認められたが, 尿量の低値傾向に伴う変化と考えられ, 投与 13 週の検査ではこの所見が認められなかったことから偶発的な変化と考えられた。

投与 13 週の検査では雄の 250 mg/kg 群にナトリウム総排泄量及び塩素総排泄量の高値が認められたが, いずれも軽微な変化であり, 毒性学的意義はないものと判断した。

眼科学検査： 投与開始前及び投与 13 週に全生存動物の両眼の前眼部, 中間透光体, 眼底について検査した。

被験物質投与による影響は認められなかった。

臓器重量： 試験終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し, 対体重比を算出した。

脳, 肺, 精巣 (左, 右), 下垂体, 睪臓, 前立腺, 下顎腺 (舌下腺を含む), 肝臓 (胆嚢を含む), 精巣上体, 卵巣, 甲状腺 (上皮小体を含む), 腎臓, 子宮, 胸腺, 副腎, 心臓, 脾臓



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表4に示す。

表4. 臓器重量

検査項目		性別及び投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	50	250	10	50	250
肝臓	実重量			129▲			125▲
	対体重比						135▲
甲状腺(右)	実重量					136▲	161▲
	対体重比					147▲	169▲
甲状腺(左)	実重量						149△
	対体重比						160△
膵臓	対体重比						127△
胸腺	対体重比		179△				

Dunnett の多重比較検定 (△▽:  $P \leq 0.05$ , ▲▼:  $P \leq 0.01$ )

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の相対値を示した。

空欄は統計学的有意差なし。

250 mg/kg 群の雄雌で肝臓の実重量及び雌で肝臓の対体重比の高値が認められた。これは、肝細胞の好酸性変化や肥大に呼応すると考えられた。50及び250 mg/kg 群の雌に左右甲状腺の実重量及び対体重比の高値が認められた。

また、250 mg/kg 群の雌に膵臓の対体重比の高値が認められたが軽微な変化であり、毒性学的意義はないと判断した。

50 mg/kg 群の雄に胸腺の対体重比の高値が認められたが用量に関連のない変化であった。

肉眼的病理検査： 試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学検査： 対照群及び最高用量群の全動物を対象として、以下の器官・組織について病理標本を作成し、検鏡した。また、対照群と比較し最高用量群で異常所見の発生数の増加が観察された器官・組織については他の用量群についても病理組織学検査を行なった。

脳、下垂体、眼球、視神経、下顎腺、耳下腺、頸部リンパ節、甲状腺、上皮小体、舌、心臓、胸腺、肺（気管支を含む）、気管、食道、咽頭、喉頭、大動脈（胸部）、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、膵臓、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、膀胱、前立腺、卵巣、子宮、膣、骨格筋（腓腹筋）、脊髄、大腿骨、胸骨、骨髄（胸骨、大腿骨）、坐骨神経（左大腿部）、皮膚（右下腹部）、

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

### 乳腺（雌のみ）

認められた主要な病理組織学的所見及びその発生頻度を表5に示す。

表5. 病理組織学的所見と発生頻度

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)		0	10	50	250	0	10	50	250
動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
器官	所見								
肝臓	肝細胞好酸性化	0	0	0	3	0	0	0	3
	肝細胞肥大					0	0	0	3
甲状腺	甲状腺濾胞拡張					0	0	2	3
精巣	局所萎縮	0	1	0	3				
	巨細胞形成	0	1	0	3				

用量と関連して発生数が増加した所見として、250 mg/kg 群の雄雌に肝細胞の好酸性化、雌に肝細胞肥大及び甲状腺の濾胞拡張が認められた。甲状腺の濾胞拡張は雌の 50 mg/kg でも認められた。肝臓の好酸性変化及び肝細胞肥大は被験物質投与の影響と考えられた。雌における甲状腺の濾胞拡張はコロイド量の増加によるものであり、臓器重量増加と関連し被験物質投与の影響と考えられたが、濾胞上皮細胞に形態学的な変化は観察されず、コロイド量増加の毒性学的意味は不明であった。

雄では 250 mg/kg 群で 4 例中 3 例に両側性に精巣の局所萎縮が観察され巨細胞形成も伴っていたが、10 mg/kg 群で 1 例により程度の強い変化が認められたこと及び同月齢のビーグル犬にしばしば観察される自然発生病変として知られていること(1, 2)、病変が局在し正常部分との境界が明瞭であること、精巣上体には正常精子が対照群と同程度分布すること、10 mg/kg 群で見られた病変が 250 mg/kg のものより広範囲であり用量相関性がないこと、から自然発生病変と考えられた。

以上の結果から、被験物質を雄雌のビーグル犬に 90 日間反復経口投与した結果は以下のよう要約される。

一般状態の観察で 250 mg/kg 群の雄 2 例、雌 1 例に流涎、振戦、異常歩行、呼吸数増加、自発運動低下、腹臥位、側臥位あるいは嗜眠が観察された。

血液生化学検査では 250 mg/kg 群にアルブミンの低値が認められ、同群の雌には総蛋白の低値も認められた。

病理学検査では 250 mg/kg 群に肝臓の実重量及び対体重比の高値と肝細胞の好酸性変化や肥大が認められ、さらに雌では 50 mg/kg 以上の投与群に甲状腺の実重量及び対体重比の高値とコロイド量の増加による濾胞拡張が認められた。

本試験における無毒性量は雄で 50 mg/kg/day、雌では 10 mg/kg/day と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

参考資料

- 1 ビーグル犬の精巣局所萎縮に関する背景データ (2001-2004), (2006)
- 2 Rehm, Spontaneous Testicular Lesions in Purpose-Bred Beagle Dogs, Toxicologic Pathology, vol 28 no 6, pp 782-787, 2000

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-11)

(7) 21日間反復経皮投与毒性試験

ピリミスルファンの急性経口毒性におけるLD<sub>50</sub>値は300~2000 mg/kgであり2000 mg/kgでは6例中3例の死亡が認められた。一方、急性経皮毒性におけるLD<sub>50</sub>値は>2000 mg/kgであり2000 mg/kgにおいて毒性症状は観察されなかった。以上のことから、ピリミスルファンは12農産8147号農林水産省農産園芸局長通知(平成12年11月24日)第4.試験成績の提出の除外について別表2の「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場合」に該当し、当該試験成績の提出を除外できるものと考えられる。

ピリミスルファンの急性毒性試験結果を下表に示す。

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> /LC <sub>50</sub>
ラット	経口	300~2000 mg/kg
	経皮	>2000 mg/kg
	吸入	6.9 mg/L

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-12)

(8) 90日間反復吸入毒性試験

ピリミスルファンの急性経口毒性におけるLD<sub>50</sub>値は300~2000 mg/kgであった。一方、急性吸入毒性におけるLC<sub>50</sub>値は>6.9 mg/Lであった。

以上のことから、ピリミスルファンは12農産8147号農林水産省農産園芸局長通知(平成12年11月24日)第4.試験成績の提出の除外について別表2の「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場合」に該当し、当該試験成績の提出を除外できるものと考えられる。

ピリミスルファンの急性毒性試験の結果を下表に示す。

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> /LC <sub>50</sub>
ラット	経口	300~2000 mg/kg
	経皮	>2000 mg/kg
	吸入	6.9 mg/L

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-13)

(9) 反復経口投与神経毒性

ピリミスルファン<sup>®</sup>のラットにおける90日間反復投与神経毒性試験

試験機関:

報告書作成年: 2005年 [GLP対応]

被験物質: ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGAI)

純度:

供試動物: ラット (Cr1:CD(SD)) 試験開始時5週齢,

投与時体重 雄 139~167, 雌 123~146 g, 1群雄雌各10匹

投与期間: 90日間, 雄: 2005年4月13日~2005年7月12日

雌: 2005年4月14日~2005年7月13日

投与方法:

投与量設定根拠: 被験物質の0, 500, 5000, 及び10000 ppmの混合飼料を1群雄雌各6匹のSD系ラットに28日間自由摂取させた予備試験において, 体重推移及び摂餌量で10000 ppm群の雄雌に摂餌量の低下を伴う体重増加抑制あるいは抑制傾向が認められた。一般状態, 詳細な状態観察及び剖検所見には被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のことから本試験では予備試験と同様に最高用量に10000 ppm, 中間用量に5000及び低用量に500 ppmを設定した。

投与経路: ヒトの食物を経由した農薬暴露に鑑み混餌投与を選択し, 被験物質を混合した飼料を与えた。経口的に連続90日間自由に摂取させ, その摂取量から被験物質1日摂取量を算出した。

観察・検査項目及び結果:

死亡率及び一般状態: 投与開始日を投与1日として起算し, 投与1日から投与90日まで毎日の午前及び午後の2回観察した。投与91日には午前中に1回観察した。

対照群を含め各投与群(500, 5000及び10000 ppm群)の雄雌ともに投与期間中に死亡及び異常は認められなかった。

詳細な状態観察: 投与開始前, 投与2, 4, 8及び13週に以下の項目について, あらかじめ定めたスコアリング法をもちいて評点化した。

ケージ外からの観察: 体位・姿勢, 呼吸状態, 振戦・痙攣, 常同行動/回転・旋回, 異常行動/自咬

ケージからの取出し時: 取り出し易さ, 取り扱い易さ, 筋収縮性, 立毛, 被毛の状態, 皮膚, 眼・眼球及び粘膜の外観, 瞳孔径, 流涙, 流涎,

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

#### 分泌物の有無

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

各投与群の雄雌ともに投与開始前，投与2，4，8，13週のいずれの検査時にも各項目に対照群と比較して有意な差はみられなかった。また，鎮静，興奮，行動異常等の神経行動学的な異常も認められなかった。

機能検査： 投与開始前，投与2，4，8及び13週に以下の項目について，あらかじめ定めたスコアリング法をもちいて評点化した。また，握力，後肢の開脚幅，自発運動量を測定した。

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

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表1に示す。

表1. 自発運動量の検査結果－[投与2週]

性別	雄				雌			
	0	500	5000	10000	0	500	5000	10000
投与量 (ppm)	0	500	5000	10000	0	500	5000	10000
検査項目\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
自発運動量 0-10分	494.3	536.7	356.2	272.6*				
30-40分	167.4	139.3	67.9**	61.8**				

Dunnettの多重比較検定 (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01) ,

Mann-WhitneyのU-検定 (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01)

表中の数値は自発運動量測定装置の10分間あたりの平均値。空欄は変化なし。

500 ppm 群では雄雌ともにいずれの検査時にも対照群と有意な差は認められなかった。

5000 ppm 群では雄で投与2週に測定開始後30-40分に自発運動量の有意な低値がみられたが，他の検査時期には雄雌とも有意な差は認められなかった。

10000 ppm 群では雄で投与2週に測定開始後0-10分及び30-40分後に自発運動量の有意な低値がみられたが，他の検査時には雄雌とも有意な差は認められなかった。

投与2週に5000及び10000 ppm 群の雄でみられた一過性の自発運動の低値は，総運動量には有意な変化がみられないこと，また4週以降には有意な差が見られないことから被験物質投与と関連性の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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

体重測定： 全例について動物の体重を投与 1, 4, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85 及び 91 日に測定し、1 g 単位で記録した。平均体重の変化を図 1 に示す。

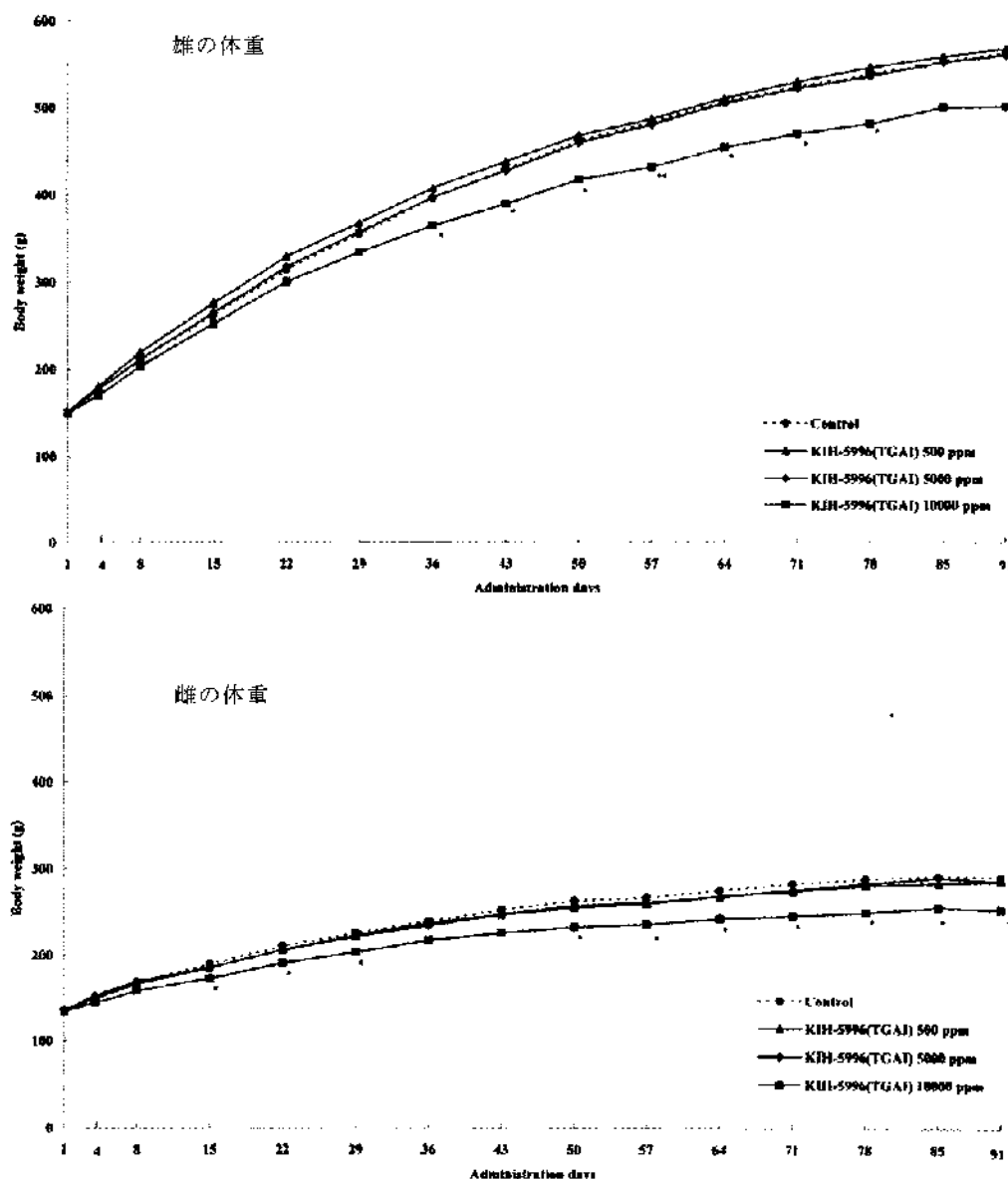


図 1. 平均体重の変化

500 及び 5000 ppm 群では雄雌ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。10000 ppm 群では雄で投与 36 から 78 日及び 91 日に、雌で投与 15 から 29 日及び投与 50 から 91 日に有意な低値が認められた。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

摂餌量測定： 全例について個々の動物の摂餌量を投与 1, 4, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85 及び 91 日の午前中に測定し、1g 単位で記録した。測定日毎に被験物質混合飼料の給与量と残量を測定し、給与量から残量を減じた後 1 日分の消費量を算出して摂餌量 (g/day) とした。被験物質濃度から各体重測定日間の被験物質摂取量 (g/kg/day) を算出した。

対照群と比べ摂餌量に統計学的有意差の認められた測定日を表 2 に、投与期間の平均被験物質摂取量を表 3 に示す。

表 2. 摂餌量測定結果

性別	雄			雌		
	500	5000	10000	500	5000	10000
投 与 日	4		87▼			81▼
	15					87▽
	22					87▽
	36			90▽		
	43			90▽		
	50					86▽
	57			90▽		

Dunnnett の多重比較検定または Mann-Whitney の U-検定 (△▽:  $P \leq 0.05$ , ▲▼:  $P \leq 0.01$ )  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。  
 空欄は統計学的有意差なし。

表 3. 被験物質摂取量

性別	雄			雌		
	500	5000	10000	500	5000	10000
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	32.8	333.3	673.2	37.7	376.5	753.1

眼科学的検査： 投与開始前は全例、投与 13 週は対照群及び高用量群の全例について両眼の前眼部、中間透光体及び眼底を観察した。

10000 ppm 群では雄雌ともに投与 13 週に両眼の前眼部、中間透光体及び眼底のいずれにも異常は認められなかった。

剖検： 各群の雄雌各 5 例について心臓全身灌流固定を行った。灌流固定後、全身の器官・組織を摘出し、以下の器官・組織を灌流固定液中に保存した。また上記以外の 5 例について、全身の器官・組織を肉眼的に観察し、以下の器官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリンに固定・保存した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

器官・組織名：前脳及び海馬を含む大脳中心部，中脳，小脳，橋，延髄，視神経及び網膜を含む眼球，脊髄の頸膨大及び腰膨大，脊髄神経節，神経線維の前根及び後根，近位の坐骨神経，近位の脛骨神経（膝部）及び脛骨神経の腓腹筋分岐部，骨格筋（腓腹筋）

対照群を含め各投与群の雄雌ともに，異常所見は認められなかった。

病理組織学検査：各投与群の灌流固定実施動物の全例について，ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して検鏡を行った。また末梢神経は，トルイジン・ブルー染色標本を作製して検査した。

各濃度群の雄雌ともにいずれの神経系組織においても異常所見は認められなかった。

以上のように，被験物質投与に関連した変化として10000 ppm群の雄雌で体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められたが，一般状態，詳細な状態の観察，機能検査，眼科学的検査，剖検所見及び神経系の病理組織学検査には被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

本試験における無毒性量は雄雌ともに5000 ppm（雄：333.3 mg/kg/day 及び雌：376.5 mg/kg/day）であった。また，神経系に対する毒性変化は10000 ppm（雄：673.2 mg/kg/day 及び雌：753.1 mg/kg/day）で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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-14)

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性

ピリミスルファンは、その化学構造にりん酸エステル及びメチルカルバマート構造を含んでおらず、コリンエステラーゼ阻害活性を有さない(1)ことから、「農薬の登録申請に係る試験成績について」の運用について(平成13年10月10日付け13生産第3986号,平成17年03月16日一部改正16消安第9261号)4.(2)⑬の「急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がない場合」に該当し、本試験成績は除外できるものと考えられる。

参考資料

- 1 KIII-5996のアセチルコリンエステラーゼ活性阻害試験, (2006)