

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。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

(資料 毒性-15)

1) ピリミスルファンのビーグル犬を用いる1年間反復経口投与毒性試験

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:

試験動物: ビーグル犬, 1群雌雄各4匹, 開始時6ヵ月齢

投与開始時体重範囲: 雄: 7.7~9.2 kg, 雌: 6.1~7.6 kg

投与期間: 1年間 (52週間) (2003年12月10日~2004年12月7, 8日)

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。対照群にはゼラチンカプセルのみを投与した。被験物質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 (1, 3あるいは4日分) ないし1週間分をまとめて行った。

用量設定根拠:

ビーグル犬を用いる90日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒性-10) を実施した結果, 被験物質を250 mg/kg/day投与したことにより, 一般状態の観察で流涎, 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, アルブミンや総蛋白の減少が認められた。病理学検査では, 肝臓の実重量及び対体重比の上昇あるいは上昇傾向と肝細胞の好酸性変化や肥大が認められた。したがって, 本試験でも明らかな毒性変化が認められると考えられる250 mg/kg/dayを高用量に設定し, 以下公比5で除し, 50及び10 mg/kg/dayを設定した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態の観察及び死亡率: 全動物を投与開始前1週より1日2回 (朝夕各1回), 投与後は1日5回 (投与前, 投与後2~3, 3~4, 4~5, 6時間) 観察した。

投与期間中, 250 mg/kg群の雄4/4例, 雌3/4例が死亡した。

雄では, 動物番号1303が投与1週の4日目に, 動物番号1304が投与16週の7日目に, 動物番号1302が投与24週の3日目に, 動物番号1301が投与39週の5日目にそれぞれ死亡した。

雌では, 動物番号2301及び2304が投与1週の2日目に, 動物番号2303が投与7週の6日目にそれぞれ死亡した。

投与に関連した一般状態の変化として, 250 mg/kg群に振戦, 自発運動低下, よろめき歩行, 間代性痙攣及び強直性痙攣などの神経症状とその他随伴する所見として流涎, 呼吸促進, 腹臥位, 側臥位, 座位, 嗜眠及び尿失禁が観察された。これらの症状の多くは, 90日反復経口投与毒性試験 (資料 毒性-10) あるいはその予備試験として実施

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。

した 28 日間経口投与毒性試験で観察されているため被験物質投与の影響と考えられる。死亡動物の病理組織学的検査において肺のうっ血・水腫，肝臓のうっ血，胸腺の出血等が観察されたが，特定の死因を示唆する所見は認められなかった。

[申請者注： 死亡動物の死亡原因における神経組織への影響については，本被験物質のラットの急性経口毒性試験及び吸入毒性試験においてもこれらのイヌと同様の症状が見られており，死亡原因として本被験物質の高用量投与による神経系への影響が疑われる。しかし，病理組織学検査において神経系に異常がなかったことから，神経組織の器質的変化の結果死亡したものではないと考えられる。このことはラットの神経毒性試験（資料 毒性-7，毒性-13）において神経系に組織学的変化がなかったことから裏付けられる。]

体重変化： 全動物について，投与開始前 1 週及び投与開始前日（群分け日）に測定した。投与開始後は毎週 1 回測定した。測定は，給餌前に実施した。

投与に起因する変化は認められなかった。

摂餌量： 投与開始前 1 週から解剖まで毎日測定した。飼料摂取量は，毎日の給餌の際，給餌後約 24 時間の残餌量から算出した。

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた測定週及びその対照群に対する相対値を表 1 に示す。

表 1. 摂餌量

週	雄			雌		
	投与群 (mg/kg/day)			投与群 (mg/kg/day)		
	10	50	250	10	50	250
14				104△	104△	
44		90▽				

Dunnett の多重比較検定 △▽： $p \leq 0.05$

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表した。

空欄は統計学的有意差なし。

対照群と比較して，10 及び 50 mg/kg 群の雌に投与 14 週目の測定で，有意な上昇が認められたが，対照群に少量の残餌が認められたことによる変化であった。50 mg/kg 群の雄に投与 44 週目の測定で，有意な減少が認められたが，一過性の変化であり毒性学的に意義のない変化であった。

血液学検査： 投与開始前，投与開始後 13，26 及び 52 週に実施した。血液は約 16 時間絶食後焼側皮膚静脈より採取し，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)，平均赤血球血

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, 網赤血球率, 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

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表 2 に示す。

表 2. 血液学検査結果

項目	週	雄			雌		
		投与群 (mg/kg/day)			投与群 (mg/kg/day)		
		10	50	250	10	50	250
MCHC	52	97▼	98▽				
リンパ球比率	13		127△				
リンパ球数	52		137△				
単球比率	13				82▽		
大型非染色球数	13				160△		

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表した。

空欄は統計学的有意差なし

対照群と比較して, MCHC の有意な低値が投与 52 週目の検査で 10 及び 50 mg/kg 群の雄に認められたが, いずれもその程度は軽微であり毒性学的に意義のない変化であった。リンパ球比率の有意な上昇が投与 13 週目の検査で雄の 50 mg/kg 群に, 単球比率の有意な低下が投与 13 週目の検査で 50 mg/kg 群の雌に認められたが, いずれも数に有意差は認められず毒性学的に意義のない変化であった。リンパ球数の有意な増加が投与 52 週目の検査で 50 mg/kg 群の雄に, 大型非染色球数の有意な増加が投与 13 週目の検査で 50 mg/kg 群の雌に認められたが, いずれもその程度は軽微であり毒性学的に意義のない変化であった。

血液凝固能検査: 投与開始前, 投与開始後 13, 26 及び 52 週に実施した。血液は約 16 時間絶食後橈側皮静脈より採取し, 以下の項目を測定した。

プロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間

投与に起因する変化は認められなかった。

血液生化学検査: 投与開始前, 投与開始後 13, 26 及び 52 週に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), γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP), カルシウム, 無機リン, ナトリウム, カリウム, 塩素

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。

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表 3 に示す。

表 3. 血液生化学検査結果

項目	週	雄			雌		
		投与群 (mg/kg/day)			投与群 (mg/kg/day)		
		10	50	250	10	50	250
ナトリウム	52	99▽					
ALP	13			268▲			
	26		157△				
アルブミン	13			84▼			
総ビリルビン	13				44▼	56▼	
	26				50▽		
	52				67▽	67▽	

Dunnett の多重比較検定 △▽ : $p \leq 0.05$, ▲▼ : $p < 0.01$

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表した。
空欄は統計学的有意差なし。

対照群と比較して、ALP の有意な上昇が投与 26 週目の検査で 50 mg/kg 群の雄に認められたが、投与前値に比べて減少し、52 週目の検査では認められない一過性の変化であり毒性学的に意義のない変化であった。総ビリルビンの有意な減少が投与 13 週目の検査で 10 及び 50 mg/kg 群の雌に、投与 26 週目の検査で 10 mg/kg 群の雌に、52 週目の検査で 10 及び 50 mg/kg 群の雌に認められたが、本項目は上昇した場合に臨床的意義があると理解されているため、これらの検査値が減少した毒性学的意義は不明である。ナトリウムの有意な減少が投与 52 週目の検査で 10 mg/kg 群の雄に認められたが、50 mg/kg 群には認められない変化であり毒性学的に意義のない変化であった。

250 mg/kg 群では、対照群と比較して、アルブミンの有意な減少及び ALP の有意な上昇が投与 13 週目の検査で雄に認められた。試験期間中生存した雌 1 例では ALP が 52 週目に投与前値の 1.7 倍に増加し、病理組織学検査の肝細胞肥大及び好酸性化に対応していた。

血清蛋白電気泳動検査： 投与開始前、投与開始後 13、26 及び 52 週に実施した。血液は約 16 時間絶食後機側皮静脈より採取し、以下の分画の比率、濃度及び A/G を測定した。

アルブミン、 α_1 グロブリン、 α_2 グロブリン、 β グロブリン、 γ グロブリン

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表 4 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ミアイ化学工業株式会社にある。

表 4. 血清蛋白電気泳動検査結果

項目	週	雄			雌		
		投与群 (mg/kg/day)			投与群 (mg/kg/day)		
		10	50	250	10	50	250
α_2 グロブリン分画比率	52		81▽				

Dunnett の多重比較検定 $\Delta \nabla$: $p < 0.05$

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表した。
空欄は統計学的有意差なし。

対照群と比較して、 α_2 グロブリン分画比率の有意な低下が投与 52 週目の検査で 50 mg/kg 群の雄に認められたが、その程度は軽微であり毒性学的に意義のない変化であった。

尿検査： 投与開始前、投与開始後 26 及び 52 週に尿を採取し、下記の項目について測定した。

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, 尿量, 色調, 尿比重, ナトリウム濃度, カリウム濃度, 塩素濃度, ナトリウム総排泄量, カリウム総排泄量, 塩素総排泄量

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表 5 に示す。

表 5. 尿検査結果

項目	週	雄			雌		
		投与群 (mg/kg/day)			投与群 (mg/kg/day)		
		10	50	250	10	50	250
塩素濃度	52		51▽				

Dunnett の多重比較検定 $\Delta \nabla$: $p \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。空欄は変化なし。

対照群と比較して、塩素濃度の有意な低下が投与 52 週目の検査で 50 mg/kg 群の雄に認められたが、総排泄量に有意差は認められなかったことから毒性学的に意義のない変化であった。

眼科学検査： 投与開始前及び投与開始後 52 週に全動物の両眼の前眼部, 中間透光体及び眼底について実施した。

投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量： 投与 52 週に屠殺した全動物及び途中死亡動物を剖検し、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比も算出した。

脳, 下垂体, 下顎腺 (舌下線を含む, 左, 右), 甲状腺 (上皮小体を含む, 左, 右),

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。

胸腺、心臓、肺、脾臓、肝臓(胆嚢を含む)、腎臓(左、右)、副腎(左、右)、脾臓、精巣(左、右)、精巣上体(左、右)、卵巣(左、右)、子宮、前立腺

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表6に示す。

表6. 臓器重量

性別		雄				雌			
臓器	投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	250	0	10	50	250
		動物数	4	4	4	0	4	4	4
副腎(右)	対体重比			125△					
脾臓	対体重比		75▽						

Dunnettの多重比較検定 △▽ : p≤0.05

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表した。
空欄は統計的有意差なし。

対照群と比較して、右側副腎の対体重比の有意な上昇が50 mg/kg 群の雄に認められたが、片側性の変化であり毒性学的に意義のない変化であった。脾臓の対体重比の有意な低下が10 mg/kg 群の雄に認められたが、250 mg/kg 群には認められない変化であり毒性学的に意義のない変化であった。

肉眼的病理検査：投与52週の投与終了時における全生存動物について剖検した。認められた所見とその発生頻度を表7に示す。

表7. 肉眼所見の発生頻度－52週最終屠殺動物

性別		雄				雌			
投与群 (mg/kg/day)		0	10	50	250	0	10	50	250
臓器	所見/動物数	4	4	4	0	4	4	4	1
脾臓	白色斑点	1	1	1	-	2	2	0	0
肺	赤色斑点	0	1	0	-	0	1	0	0
	白色斑点	0	1	0	-	0	1	0	0
小腸	赤色斑点	0	0	0	-	0	1	0	0
胆嚢	胆汁沈渣	1	2	2	-	2	0	0	1
卵巣	肥大			-	-	0	1	0	0
下垂体	嚢胞	2	3	1	-	1	2	0	0
甲状腺	嚢胞	0	0	0	-	0	1	0	0
脳	嚢胞	0	0	0	-	0	0	1	0
	脳室拡張	0	1	0	-	0	0	0	0

: 該当なし

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。

[死後解剖動物]

投与期間中の死亡例には肺内気管支内腔の泡沫状液貯留、肝臓肥大・暗色化、胸腺赤色化等の死線期に生じたと考えられる変化が観察されたが、被験物質投与による特異的变化はなかった。

[52週最終屠殺動物]

被験物質投与によると考えられる肉眼的異常はなかった。

病理組織学検査： 剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出し、通常の方法でパラフィン切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色を施した後、鏡検した。

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、脾臓、肝臓、胆嚢、膵臓、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（大腿骨、胸骨）、坐骨神経（左大腿部）、皮膚（右下腹部）及び乳腺（雌のみ、右下腹部）、異常部位（下顎リンパ節）

認められた所見およびその発生頻度を表8に示す。

[死後解剖動物]

投与期間中の死亡例には肉眼的変化に対応し、肺のうっ血・水腫、肝臓うっ血、胸腺出血等の変化が観察されたが、被験物質投与による特異的变化はなく、また特定の死因を示唆する所見も認められなかった。

[52週最終屠殺動物]

計画解剖された250 mg/kg群の雌1例のみに認められた所見として肝臓のび慢性肝細胞肥大及び慢性肝細胞好酸性化が観察された。これらの変化は被験物質投与の影響と判断した。

その他、認められた所見はいずれも自然発生病変と考えられ、対照群と比較して、明らかな発生数の増加や程度の増強は認められなかった。

以上、被験物質の10、50及び250 mg/kg/dayを雌雄のビーグル犬に1年間反復経口投与したところ、250 mg/kg投与により雄4例、雌3例が死亡した。一般状態の観察では、250 mg/kg投与により振戦、自発運動低下、流涎、呼吸促迫、よるめき歩行、腹臥位、側臥位、座位、嗜眠、間代性痙攣、強直性痙攣及び尿失禁が観察された。血液生化学検査では、250 mg/kg投与によりアルブミンの有意な減少及びALPの有意な上昇が雄に認められた。ALPの上昇は、250 mg/kg群の雌の生存例にも認められた。50 mg/kg/day以下の投与群に被験物質投与の影響は認められなかった。

無毒性量は雌雄で50 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。

表 8. 組織学検査所見の発生頻度：

死後解剖動物

性別	投与群 (mg/kg/day)	雄				雌			
		0	10	50	250	0	10	50	250
臓器	所見/動物数	0	0	0	4	0	0	0	3
脾臓	うっ血	-	-	-	1	-	-	-	0
	鉄線維性結節	-	-	-	1	-	-	-	0
胸腺	出血	-	-	-	4 ^{a)}	-	-	-	3
	萎縮	-	-	-	1 ^{b)}	-	-	-	0
肺	うっ血	-	-	-	4 ^{c)}	-	-	-	3 ^{b)}
	水腫	-	-	-	4	-	-	-	2
	単核細胞浸潤	-	-	-	1	-	-	-	0
	微小肉芽腫	-	-	-	0	-	-	-	2
舌	出血	-	-	-	1	-	-	-	0
胃	鉍質沈着	-	-	-	2	-	-	-	1
直腸	うっ血	-	-	-	0	-	-	-	1
肝臓	うっ血	-	-	-	4	-	-	-	3 ^{b)}
	微小肉芽腫	-	-	-	1	-	-	-	0
下顎腺	リンパ球浸潤	-	-	-	1	-	-	-	1
耳下腺	リンパ球浸潤	-	-	-	2	-	-	-	0
	ケルスタイナー-氏嚢胞	-	-	-	0	-	-	-	1
腎臓	鉍質沈着	-	-	-	4	-	-	-	3
精巣	精細管萎縮	-	-	-	2				
精巣上体	リンパ球浸潤	-	-	-	1				
前立腺	リンパ球浸潤	-	-	-	2				
下垂体	嚢胞	-	-	-	3	-	-	-	1
副腎	球状帯空胞化	-	-	-	1	-	-	-	0
脳	うっ血	-	-	-	1	-	-	-	0
	出血	-	-	-	2	-	-	-	1
脊髄	鉍質沈着	-	-	-	3	-	-	-	1
眼	出血	-	-	-	3	-	-	-	1

—：該当なし a)：4例中2例は中等度 b)：中等度 c)：4例中3例は中等度

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。

52 週最終屠殺動物

性別		雄				雌			
投与群 (mg/kg/day)		0	10	50	250	0	10	50	250
臓器	所見/動物数	4	4	4	0	4	4	4	1
心臓	単核細胞浸潤	0	0	0	-	0	1	1	0
脾臓	被膜肥厚	1	1	1	-	1	1	0	0
	鉄線維性結節	1	0	0	-	0	1	1	0
胸腺	ケルスタイナー氏嚢胞	0	1	0	-	0	0	0	0
肺	泡沫細胞集簇	0	0	0	-	1	1	0	0
	混合細胞浸潤	0	1	0	-	0	0	0	0
	微小肉芽腫	0	1	0	-	3	1	2	1
	肺炎	0	1	0	-	0	1	0	0
	被膜肥厚	0	1	0	-	0	0	0	0
	骨化生	0	0	1	-	0	0	0	0
胃	鉄質沈着	3	0	2	-	0	0	1	0
十二指腸	陰窩拡張	0	0	0	-	1	0	0	1
空腸	陰窩拡張	0	1	0	-	0	1	0	0
回腸	びらん	0	0	0	-	0	1	0	0
肝臓	肝細胞好酸性化	0	0	0	-	0	0	0	1
	肝細胞肥大	0	0	0	-	0	0	0	1
	微小肉芽腫	0	1	1	-	1	0	1	0
胆嚢	陰窩拡張	0	0	0	-	1	0	0	0
下顎腺	リンパ球浸潤	2	1	1	-	2	3	1	0
耳下腺	腺房萎縮	0	1	0	-	0	0	0	0
	リンパ球浸潤	0	0	2	-	1	2	2	0
腎臓	尿管好塩基化	0	1	0	-	0	0	0	1
	鉄質沈着	4	4	3	-	4	4	4	1
	単核細胞浸潤	0	1 ^{a)}	0	-	0	0	0	0
精巣	精細管萎縮	1	0	1	-				
精巣上体	リンパ球浸潤	0	1	0	-				
	多発性動脈炎	0	1	0	-				
前立腺	リンパ球浸潤	1	0	3	-				
下垂体	嚢胞	3	3	2	-	2	2	2	0
甲状腺	C細胞複合体	0	1	0	-	0	0	0	0
	リンパ球性甲状腺炎	0	1 ^{a)}	0	-	0	0	0	0
	ケルスタイナー氏嚢胞	1	0	1	-	0	1	0	0
上皮小体	ケルスタイナー氏嚢胞	0	1	0	-	1	1	1	0
副腎	球状帯空胞化	2	0	0	-	0	0	0	0
脳	嚢胞	0	0	0	-	0	0	1	0
脊髄	鉄質沈着	3	3	4	-	4	4	3	1
筋肉	微小肉芽腫	0	1	0	-	0	0	0	0

○ : 該当なし a) : 中等度

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-16)

2) ピリミスルファンのビーグル犬を用いる1年間反復経口投与毒性試験 (追加試験)

試験機関:

報告書作成年: 2006年 [GLP 対応]

被験物質: ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGAI)

純度:

試験動物: ビーグル犬, 1群雌4匹, 開始時6ヵ月齢

投与開始時体重範囲: 雌 8.2~9.0 kg

投与期間: 1年間 (52週間) (2004年3月24日~2005年3月22日)

投与方法: 被験物質をゼラチンカプセルに詰め, 0及び150 mg/kg/dayの用量で1日1回経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを投与した。被験物質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 (1, 3あるいは4日分) ないし1週間分をまとめて行った。

用量設定根拠:

ビーグル犬を用いる1年間反復経口投与毒性試験 (資料 毒性-15) を実施したところ, 250 mg/kg/day 投与群において雄1例, 雌3例が死亡した (最終的な死亡動物数は, 雄4例, 雌3例であった)。このうち3例に間代性及び強直性痙攣が観察されたことから痙攣と死亡との関連性が示唆された。間代性痙攣は予備試験として実施した28日間反復経口投与毒性試験でも200 mg/kg/day 投与において観察された。したがって本試験では間代性痙攣が発現しないと考えられる150 mg/kg/day を追加設定した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態の観察及び死亡率: 全動物を投与開始前1週より1日2回 (朝夕各1回), 投与後は1日5回 (投与前, 投与後2~3, 3~4, 4~5, 6時間) 観察した。

投与期間を通じて対照群及び投与群に死亡例は認められなかった。

被験物質投与に関連した一般状態の変化として, 150mg/kg 群の1例 (動物番号2102) に流涎及び振戦がそれぞれ1日観察され, 別の1例 (動物番号2104) には流涎, 側臥位, 振戦あるいは間代性痙攣がそれぞれ1日観察された。

体重変化: 全動物について, 投与開始前1週及び投与開始前日 (群分け日) に測定した。投与開始後は毎週1回測定した。測定は, 給餌前に実施した。

投与に起因する変化は認められなかった。

摂餌量: 投与開始前1週から解剖まで毎日測定した。飼料摂取量は, 毎日の給餌の際, 給餌後約24時間の残餌量から算出した。

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。

投与期間を通じて対照群と 150 mg/kg 群間で有意差は認められなかった。

血液学検査： 投与開始前，投与開始後 13, 26 及び 52 週に実施した。血液は約 16 時間絶食後橈側皮静脈より採取し，以下の項目の測定を実施した。また，血液塗抹標本を別途作製し，メイ・グリュンワルド・ギムザ染色を施したが，試験の評価には使用せず保管した。

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，網赤血球率，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

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表 1 に示す。

表 1. 血液学検査結果

項目	週	雌
		投与群 (mg/kg/day)
		150
ヘマトクリット値	13	92▽
	26	87▽
ヘモグロビン量	13	92▽
	26	86▽
赤血球数	26	86▼
	52	90▽
MCHC	52	99▽

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日安として対照群を 100 とした場合の相対値を示した。

対照群と比較して，150 mg/kg 群にヘマトクリット値及びヘモグロビン量の有意な減少が投与後 13 及び 26 週の検査で，赤血球の有意な減少が投与後 26 及び 52 週の検査で，MCHC の有意な減少が投与後 52 週の検査でそれぞれ認められた。ヘマトクリット値，ヘモグロビン量及び赤血球の減少については投与後 52 週の検査値が投与前値と比較して増加していたこと，MCHC については減少の程度がごく軽微であったことからこれらの変化は毒性学的に意義のない変化と考えられた。

血液凝固能検査： 投与開始前，投与開始後 13, 26 及び 52 週に実施した。血液は約 16 時間絶食後橈側皮静脈より採取し，以下の項目の測定を実施した。

プロトロンビン時間，活性化部分トロンボプラスチン時間

投与に起因する変化は認められなかった。

血液生化学検査： 投与開始前，投与開始後 13, 26 及び 52 週に以下の項目の測定を実施

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)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表 2 に示す。

表 2. 血液生化学検査結果

項目	週	雌
		投与群 (mg/kg/day)
		150
ALP	13	206▲
	26	259▲
	52	318▲
アルブミン	26	86▽
カルシウム	26	95▽
	52	94▽
ナトリウム	52	99▽
塩素	52	102△

Dunnett の多重比較検定 △▽: $p < 0.05$, ▼▲: $p \leq 0.01$

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。

対照群と比較して、150 mg/kg 群で ALP の有意な上昇が投与後 13、26 及び 52 週に認められた。アルブミンの有意な減少が投与後 26 週に認められた。カルシウムの有意な減少が投与後 26 及び 52 週に認められた。投与後 52 週ではナトリウムの有意な減少及び塩素の有意な増加が認められた。

ALP の上昇、加えてアルブミンの減少は、血清蛋白電気泳動検査の 150 mg/kg 群においてアルブミン分画比率及び A/G の有意な減少を投与後 26 及び 52 週に認めたことから、被験物質投与による肝臓への影響を示唆する変化と考えられたが、組織学検査では肝臓に異常所見が認められず、発生機序は不明であった。カルシウムの減少はアルブミンの減少に伴う見かけの変化であり毒性学的に意義のない変化と考えられた。ナトリウムの減少及び塩素の増加は、いずれもその程度は軽微であり毒性学的に意義のない変化であった。

血清蛋白電気泳動検査： 投与開始前、投与開始後 13、26 及び 52 週に実施した。血液は約 16 時間絶食後橈側皮静脈より採取し、以下の分画の比率、濃度及び A/G の測定を実施した。

アルブミン、 α_1 グロブリン、 α_2 グロブリン、 β グロブリン、 γ グロブリン

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。

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表3に示す。

表3. 血清蛋白電気泳動検査結果

項目	週	雌
		投与群 (mg/kg/day)
		150
アルブミン分画比率	26	90▽
α_2 グロブリン分画比率	13	116△
	52	112△
A/G	26	81▽

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日安として対照群を 100 として場合の相対値を示した。

対照群と比較して、150 mg/kg 群でアルブミン比率及び A/G の有意な低下が投与後 26 週に認められた。また、投与後 13 及び 52 週に α_2 グロブリン分画比率の有意な増加が認められたが、その程度は軽微であることから毒性学的に意義のない変化と考えられた。

尿検査： 投与開始前、投与開始後 26 及び 52 週に尿を採取し、下記の項目について測定した。

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, 尿量, 色調, 尿比重, ナトリウム濃度, カリウム濃度, 塩素濃度, ナトリウム総排泄量, カリウム総排泄量, 塩素総排泄量

投与に起因する変化は認められなかった。個体別では対照群の 1 例（動物番号 2001）に潜血 2+ が認められ、150 mg/kg 群の 2 例（動物番号 2101 及び 2102）に潜血 3+ が認められたが、尿沈渣に赤血球が認められなかったことから毒性学的に意義のない変化と考えられた。

眼科学検査： 投与開始前及び投与 52 週に全動物の両眼の前眼部, 中間透光体及び眼底について実施した。

投与に起因する変化は認められなかった。

剖検及び臓器重量： 投与後 52 週目に屠殺した全動物及び途中死亡動物を剖検し、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重に対する体重比を算出した。

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

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。

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する相対値を表 4 に示す。

表 4. 臓器重量

項目		雌
		投与群 (mg/kg/day)
		150
体重		82
肝臓	実重量	125▲
	対体重比	150▲
心臓	対体重比	129△
卵巣 (左)	対体重比	154△

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。

臓器重量では、対照群と比較して 150 mg/kg 群に肝臓の実重量及び対体重比の有意な上昇が認められた。この結果は血液生化学検査結果と同様に被験物質投与による肝臓への影響を示唆するものと考えられた。心臓の対体重比の有意な上昇が認められたが、組織学検査では異常所見が認められなかったこと、及び 150 mg/kg 群の解剖時の体重が対照群と比較して軽かったことに起因するものであり、毒性学的に意義のない変化と考えられた。また左側卵巣の対体重比の有意な上昇が 150 mg/kg 群に認められたが、その程度は軽微であり毒性学的に意義のない変化であった。

肉眼的病理検査： 対照群と比較して明らかに発生数が増加したり程度が増強した所見は認められなかった。

病理組織学検査： 剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出し、通常の方法でパラフィン切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色を施した後、鏡検した。

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、腔、骨格筋（腓腹筋）、脊髄、大腿骨、胸骨、骨髄（大腿骨、胸骨）、坐骨神経（左大腿部）、皮膚（右下腹部）及び乳腺（雌のみ、右下腹部）、異常部位（下顎リンパ節）

対照群と比較して明らかに発生数が増加したり程度が増強した所見は認められなかった。

以上、被験物質を雌のビーグル犬に 1 年間反復経口投与した際に、150 mg/kg/day

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。

は毒性量と判断された。また、流涎、振戦、側臥位及び間代性痙攣、アルブミンの有意な減少及びALPの有意な上昇は、いずれも先に実施したビーグル犬を用いる1年間反復経口投与毒性試験（資料 毒性-15）における被験物質の250 mg/kg/day 群で認められ、50 mg/kg/day 以下の投与では認められない変化であった。

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-17)

3) ピリミルスルファンのラットを用いた1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

試験機関:

報告書作成年: 2006年 [GLP対応]

被験物質: ピリミルスルファン原体 (KIH-5996 TGAI,)
純度:

試験動物: Crj: Fischer 344/Du ラット

発がん性試験群主群1群雄雌各50匹, 発がん性試験群衛星群1群雄雌各10匹 (25 ppm 群は除く), 1年間反復投与毒性試験群1群雄雌各20匹 (5000 ppm 投与群は雄雌各30匹)

投与開始時: 5週齢

投与開始時体重範囲 (雄 76~96 g, 雌 68~83 g)

1年間反復投与毒性試験群は投与26及び52週に各群雄雌各10匹 (投与52週の5000 ppm 投与群は雄20匹, 雌19匹) を解剖し検査を実施した。発がん性試験群は投与78週に50 ppm 群を除く各群雄雌各10匹, 投与終了時に生存動物の全例を解剖し検査を実施した。

投与期間中, 一般状態の観察, 体重測定, 摂餌量測定を行い, 加えて1年間反復投与毒性試験群では投与26及び52週の計画解剖時に血液学検査, 血液凝固能検査, 血液生化学検査, 尿検査及び病理学検査 (器官重量測定, 肉眼観察), 投与52週に病理組織学検査を行った。さらに, 投与開始前及び投与52週には眼科学検査を行った。発がん性試験群では投与78及び104週の計画解剖時に血液学検査及び病理学検査 (器官重量測定, 肉眼観察, 病理組織学検査) を行った。

投与期間: 発がん性試験群主群: 104週 (2003年2月4日~2005年2月1, 2, 3, 6, 7日)

発がん性試験群衛星群: 78週 (2003年2月4日~2004年8月3日)

1年間反復投与毒性試験群: 52週 (2003年2月4日~2004年2月3, 4日)

1年間反復投与毒性試験衛星群: 26週 (2003年2月4日~2003年8月5日)

投与方法: 被験物質を0, 25, 500, 2500及び5000 ppmの濃度で飼料に混入し, 発がん性試験群は104週間, 1年間反復投与毒性試験群は52週間にわたって随時摂取させた。被験物質を混入した飼料は2週に1回調製した。

用量設定根拠:

Crj: Fischer 344/Du ラットを用い, 0, 100, 500, 5000及び10000 ppmの投与量で90日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒性-9) を実施した。その結果, 10000 ppm 群雌で体重増加抑制, 同群の雄雌ともにヘマトクリット値, ヘモグロビン濃度, 赤血球数の低下等の血液学検査及び総コレステロール, リン脂質の増加ならびにトリグリ

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。

セリドの低下等の血液生化学検査項目に統計学的に有意な変動が認められ、かつ肝臓重量の増加、肝臓肥大及び肝細胞肥大が認められた。さらに、5000 ppm 群ではヘモグロビンの低下、肝臓重量の増加及び肝細胞肥大が認められた。これらの結果から、雄雌とも 5000 ppm 以上を毒性量と判断し、1 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験は、最高用量を 5000 ppm とし、以下 2500, 500 及び 25 ppm の用量を設定し、対照群 (0 ppm) を加えて 5 群とした。

観察・検査項目及び結果：

死亡率： 投与期間中毎日 2 回生死の確認を行った。

被験物質投与に起因すると考えられる死亡率の増加は認められなかった (表 1)。

表 1. 投与 104 週の発がん性試験群主群の死亡率 (%)

投与量 (ppm)	0	25	500	2500	5000
雄	16.0	14.0	10.0	12.0	20.0
雌	28.0	20.0	14.0	28.0	12.0

Log-rank 検定で有意差を検定した。

一般状態の観察：

全動物を毎日 2 回 (午前及び午後) 観察した。さらに、発がん性試験群では週 1 回の頻度で触診を行い、腫瘍性病変の有無を観察した。

被験物質投与に起因すると考えられる一般状態観察所見は認められなかった。

体重変化：

全ての生存動物の体重を投与開始から投与 26 週までは毎週 1 回、その後は 2 週に 1 回測定した。

主群の体重変化を図 1 に示した。投与期間を通して被験物質投与に起因すると考えられる体重の増減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マイ化学工業株式会社にある。

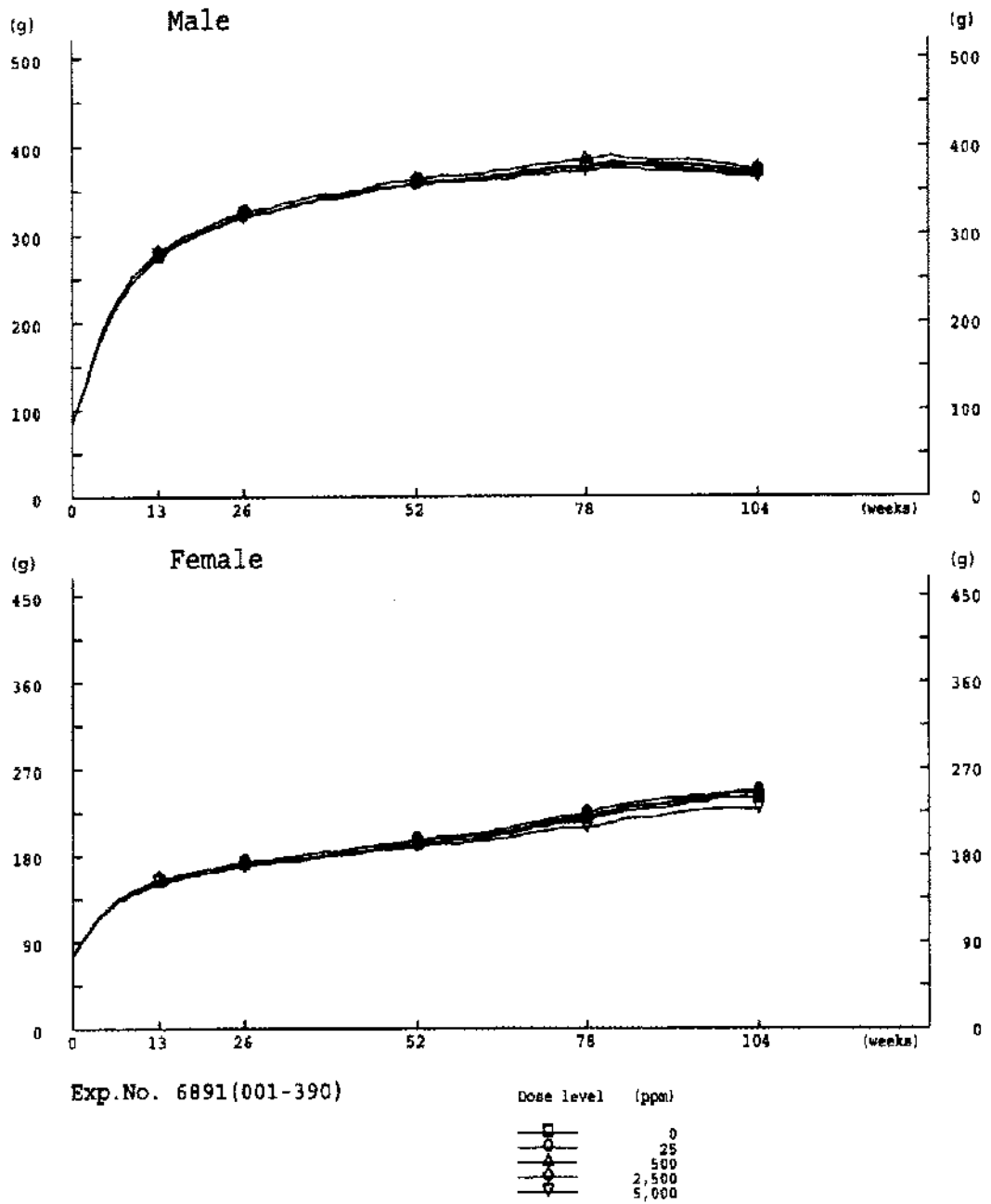


図1. 発がん性試験群主群の平均体重 (単位: g)

摂餌量及び飼料効率:

全動物の摂餌量を毎週1回測定し、摂餌量 (g/week)、飼料効率 (%) 及び被験物質摂取量 (mg/kg/日) を算出した。飼料効率の算出は投与26週までとした。投与期間を通して被験物質投与に起因すると考えられる摂餌量と飼料効率の増減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マイ化学工業株式会社にある。

被験物質摂取量：

投与期間中の平均被験物質摂取量を、表2及び表3に示す。

表2. 発がん性試験群主群の平均被験物質摂取量

投与量 (ppm)		25	500	2500	5000
被験物質摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.2	23.2	116.6	235.7
	雌	1.4	29.4	145.1	294.1

表3. 1年間反復投与毒性試験群の平均被験物質摂取量

投与量 (ppm)		25	500	2500	5000
被験物質摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.4	27.5	135.3	269.9
	雌	1.6	32.7	162.4	326.7

血液学検査：

投与 26, 52, 78 及び 104 週に各群雄雌の計画解剖動物を対象として、腹大動脈から血液を採取して、以下の項目について測定した。

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、網赤血球率、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

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表4に示す。

表4. 血液学検査成績

性別	雄															
	25				500				2500				5000			
検査時期 (週)	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
検査動物数	10	10	10	43	10	10	10	45	10	10	10	44	10	20	10	40
ヘモグロビン量				92▽												
平均赤血球容積											101△				97▽	
平均赤血球色素量																98▽
平均赤血球色素濃度				97▽								99▽				
リンパ球比率								89▽								
好中球数								123△								
好酸球数								129▲								
大型非染色球数				157△												
血小板数				91▽												

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 4. 血液学検査成績—続き

性別	雌															
	25				500				2500				5000			
投与量 (ppm)	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
検査時期 (週)	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
検査動物数	10	10	10	39	10	10	10	43	10	10	10	35	10	19	10	44
ヘマトクリット値													97▼		94▼	97▼
ヘモグロビン量													97▼		94▼	97▼
赤血球数													98▼			
平均赤血球容積									99▼				99▼			98▼
好中球数														69▼		60▼
血小板数										91▼						

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日安として対照群を 100 とした場合の相対値を示したもの。空欄は統計学的有意差なし。

[投与 26 週 (1 年間反復投与毒性試験衛星群)]

雄では対照群と被験物質投与群の間で統計学的有意差の認められた項目はなかった。

2500 及び 5000 ppm 群雌の平均赤血球容積 (MCV) が有意な低値を示し、5000 ppm 群雌でヘマトクリット値、ヘモグロビン量及び赤血球数が有意な低値を示した。

[投与 52 週 (1 年間反復投与毒性試験群)]

雄では対照群と被験物質投与群の間で統計学的有意差の認められた項目はなかった。

5000 ppm 群雌の好中球数が有意な低値を示した。また、2500 ppm 群雌で血小板数が有意な低値を示したが、用量に依存しない変化であった。

[投与 78 週 (発がん性試験群衛生群)]

5000 ppm 群雄で MCV、雌でヘマトクリット値及びヘモグロビン量が有意な低値を示した。また、2500 ppm 群雄で MCV が有意な高値を示したが、用量に依存しない変化であった。

[投与 104 週 (発がん性試験群主群)]

5000 ppm 群雄で平均赤血球血色素量 (MCH)、雌でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、MCV 及び好中球数が有意な低値を示した。その他の有意な差は用量に依存しない変化であった。

血液凝固能検査:

投与 26 及び 52 週に、それぞれの計画解剖動物を対象として腹大動脈から血液を採取し、得られた血漿で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) 及びフィブリノーゲン量を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表 5 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 5. 血液凝固能検査成績

性別	雌							
	25		500		2500		5000	
投与量 (ppm)								
検査時期 (週)	26	52	26	52	26	52	26	52
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	19
フィブリノーゲン量								88▽

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もの、
空欄は統計学的有意差なし。

[投与 26 週 (1 年間反復投与毒性試験衛星群)]

対照群と被験物質投与群の間で統計学的有意差の認められた項目はなかった。

[投与 52 週 (1 年間反復投与毒性試験群)]

雄では、対照群と被験物質投与群の間で統計学的有意差の認められた項目はなかった。5000 ppm 群雌でフィブリノーゲン量が有意な低値を示した。その変化は軽微で、プロトロンビン時間 (PT) と活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) には有意な差が認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。

血液生化学検査：

投与後 26 及び 52 週に、それぞれの計画解剖動物を対象として腹大動脈から血液を採取し、得られた血清で以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、A/G、血糖、中性脂肪、リン脂質、総コレステロール、遊離コレステロール、遊離脂肪酸、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、クレアチンキナーゼ (CPK)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (γ-GTP)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比較して統計学的有意差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

性別	雄							
	25		500		2500		5000	
投与量 (ppm)								
検査時期 (週)	26	52	26	52	26	52	26	52
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	20
遊離脂肪酸							82▽	
クレアチニン			93▽		90▽		93▽	
総ビリルビン		133△						
AST							54▼	55▼
ALT						67▽	53▼	52▼

表 6. 血液生化学検査成績—続き

性別	雌							
	25		500		2500		5000	
投与量 (ppm)								
検査時期 (週)	26	52	26	52	26	52	26	52
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	19
血糖							91▽	
尿素窒素								91▽
AST								53▽
ALT								53▽

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もの。
空欄は統計学的有意差なし。

[投与 26 週 (1 年間反復投与毒性試験群)]

500, 2500 及び 5000 ppm 群雄でクレアチニン, 5000 ppm 群雄で AST 及び ALT が有意な低値を示したが, これらの項目はいずれも上昇に意義があり低下の毒性学的意義は低いと考えられた。また, 5000 ppm 群雄で遊離脂肪酸, 5000 ppm 群雌で血糖が有意な低値 (遊離脂肪酸: $554 \mu\text{Eq/L}$, 血糖: 119 mg/dL) を示したが, いずれも軽微であり, 安評センターの背景値の正常範囲内 (遊離脂肪酸: $423 \sim 758 \mu\text{Eq/L}$, 血糖: $109 \sim 139 \text{ mg/dL}$) であることから毒性学的意義は低いと考えられた。

[投与 52 週 (1 年間反復投与毒性試験群)]

2500 ppm 群雄で ALT, 5000 ppm 群雄で AST 及び ALT, 5000 ppm 群雌で AST, ALT 及び尿素窒素が有意な低値を示したが, これらの項目はいずれも上昇に意義があり低下の毒性学的意義は低いと考えられた。その他, 25 ppm 群雄で総ビリルビンが有意な高値を示したが, 用量に依存しない変化であった。

尿検査: 投与 26 及び 52 週の計画解剖動物を対象として, 絶食・絶水の条件下で, 採尿ケージを用いて一夜尿 (午後 4 時から翌日午前 9 時まで) を採取した。採尿に先立ち, 水道水を 20 mL/kg 強制経口投与した。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, 尿量, 色調, 尿沈渣, 尿浸透圧被験物質投与の影響と考えられた項目はなかった。

臓器重量: 投与 26, 52 及び 78 週終了時の計画解剖動物と投与 104 週の全生存動物を対象として以下に示す臓器の重量を測定し, 対体重比を算出した。

脳 (嗅球を除く), 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 精巣, 卵巣, 副腎, 精巣上体, 子宮

対照群と比較して有意に増減した変化を表 7 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 7. 臓器重量

性別		雌															
検査時期 (週)		26				52				78				104			
投与量 (ppm)		25	500	2500	5000	25	500	2500	5000	25	500	2500	5000	25	500	2500	5000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	20	10	10	10	10	43	45	44	40
体重																	
心臓	対体重比																103△
肺	実重量													108▲	105△		106△
	対体重比																108▲
肝臓	対体重比				107▲				105▲				108△				
腎臓	対体重比				106△				105▲								
精巣 上体	実重量					110△											

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 とした場合の値を表したもの。空欄は変化なし。

性別		雌															
検査時期 (週)		26				52				78				104			
投与量 (ppm)		25	500	2500	5000	25	500	2500	5000	25	500	2500	5000	25	500	2500	5000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	19	10	10	10	10	39	43	35	44
体重													90▽				
脳	対体重比												110△				
肺	対体重比											109△	112△				
肝臓	対体重比				108▲				103△				108△				110▲
腎臓	実重量							107△									
	対体重比												108△				
卵巣	対体重比									126△							

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もの。空欄は統計学的有意差なし。

[肝臓重量]

投与 26 及び 52 週では 5000 ppm 群の雄雌で、78 週では 2500 ppm 群雌及び 5000 ppm 群雌で、104 週では 5000 ppm 群雌で対体重比が有意な高値を示した。しかし、いずれも実重量に有意な差はなく、病理組織学的にも対応する毒性所見は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。

[肺重量]

投与 78 週の 2500 及び 5000 ppm 群雌の対体重比、104 週の 25、500 及び 5000 ppm 群雌の実重量、5000 ppm 群雌の対体重比が有意な高値を示した。しかし、用量に依存しない変化あるいは対体重比に有意差を伴わない変化であり、病理組織学的にも対応する毒性所見は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。

[腎臓重量]

投与 26 及び 52 週の 5000 ppm 群雄, 78 週の 5000 ppm 群雌の対体重比が有意な高値を示した。しかし、いずれも実重量に有意な変化はなく病理組織学的にも対応する毒性所見は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。

[その他臓器重量]

投与 52 週の 25 ppm 群雄の精巣上体実重量, 78 週の 500 ppm 群雌の卵巣の対体重比, 5000 ppm 群雌の脳の対体重比が有意な高値を示した。しかし、いずれも用量に依存しない変化あるいは体重減少に伴う二次的変化と考えられることから毒性学的意義は低いと考えられた。

肉眼的病理検査：

途中死亡, 切迫屠殺, 投与 26, 52, 78 及び 104 週の投与終了時における全生存動物について剖検した。対照群と比べ、統計学的に有意差が認められた所見と投与群で発生が増加した病変, 肝臓の肥大について表 8 に示す。

表 8. 肉眼所見の発生頻度

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	25	500	2500	5000	0	25	500	2500	5000
26 週	臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	肝臓	肥大	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
104 週	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝臓	褐色斑/区域	3	9	10	7	3	5	3	5	4	5
		肥大	4	4	1	3	2	2	4	2	4	0
	精巣	肥大	2	6	2	8	9	-	-	-	-	-
	子宮	結節	-	-	-	-	-	12	3*	5	9	4*
	下垂体	黒色斑/区域	1	2	3	2	4	2	7	10*	4	3
	眼球	白色斑/区域	0	0	0	0	0	0	5*	3	2	2

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

[投与 26 週 (1 年間反復投与毒性試験群)]

5000 ppm 群雄の 1 例に肝臓の肥大が観察された。肝臓の対体重比の高値に対応する所見であったが、10 例中の 1 例のみの発生であること、投与 52 週以降の肉眼観察あるいは組織学検査では肝臓に異常は認められないことから毒性学的意義は低く、肝臓の適応性の変化と考えられた。

[投与 52 (1 年間反復投与毒性試験群) 及び 78 週 (発がん性試験群衛星群)]

被験物質投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

[投与 104 週検査 (発がん性試験群主群：全動物)]

被験物質投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。2500 及び 5000 ppm 群雄で精巣の肥大がやや多い発生を示した。この肥大は組織学的には精巣の間細胞腫

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。

瘍に伴う所見と考えられたが、精巣の間細胞腫瘍の発生頻度に変化は認められなかった。また、500 ppm 群雄で肝臓の褐色斑、500 ppm 群雌で下垂体の黒色斑、25 ppm 群雌で眼球の白色斑がそれぞれ他群と比較してやや多い発生を示したが、用量相関性がないこと、これらの臓器に組織学的に発生の増加した病変は認められないことから被験物質投与に起因した所見ではないと考えた。

病理組織学検査：

対照群及び最高用量群ならびに切迫解剖及び死亡動物の次頁に示す器官・組織について実施した。なお、最高用量群で被験物質投与に起因すると考えられる所見が認められなかったため、中間及び低用量群の計画解剖動物の病理組織学検査は実施しなかった。病理組織標本作製は 26 週計画解剖動物を除く全試験群全例の以下に示す器官／組織について実施した。

皮膚、乳腺、リンパ節（腸間膜、下顎）、唾液腺（舌下腺、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、咽頭、喉頭、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、凝固腺、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、膣、眼球、視神経、ハーダー腺、脳（嗅球を除く）、下垂体、脊髄（頸髄、胸髄、腰髄）、骨格筋（大腿部）、坐骨神経、大動脈、鼻腔及び肉眼的に異常が認められた器官・組織

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変及びその発生頻度を表 9 に示す。

[投与 52 週検査（1 年間反復投与毒性試験群）]

対照群と比較して 5000 ppm 群に有意に発生率が増加した所見は認められなかった。

[投与 78 週検査（発がん性試験群衛星群）]

対照群と比較して 5000 ppm 群に有意に発生率が増加した所見は認められなかった。

[投与 104 週検査（発がん性試験群主群）]

対照群と比較して 5000 ppm 群に有意に発生率が増加した所見は認められなかった。雄では肝臓の肝細胞脂肪化・マクロファージ集簇、乳腺の腺房増生、前立腺の炎症の発生が 5000 ppm 群で減少した。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変及びその発生頻度を表 10 に示す。

[投与 78 週検査（発がん性試験群衛星群）]

対照群と比較して 5000 ppm 群に有意に発生率が増加した腫瘍性病変は認められなかった。

[投与 104 週検査（発がん性試験群主群）]

対照群と比較して 5000 ppm 群において有意に発生率が増加した腫瘍性病変は認められなかった。肝細胞腺腫が雌の 5000 ppm 群（3 例、6%）で、対照群（0 例）と比

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。

やや多い発生を示したが、有意な差は認められず、その発生頻度は背景データの範囲内であった。

肝細胞腺腫発生率の背景データ

試験週	104	
	雄	雌
性別		
検査動物数	450	450
肝細胞腺腫数	33	18
Rate (%)	7.3	4.0
Range (%)	2.0-14.0	0.0-8.0

群間比較で、腫瘍総数、良性腫瘍数及び悪性腫瘍数は雄雌ともに差は認められなかった。5000 ppm 投与群で対照群と比較して発生率の増加した腫瘍性病変は観察されず、また、発生を早期化を示した腫瘍も認められなかった。

以上の結果から、本剤をラットに1年間反復経口投与した場合の無毒性量は、雌では5000 ppm 群の貧血傾向を指標に2500 ppm (162 mg/kg/日)と判断した。雄では5000 ppm 群で毒性変化が認められず、無毒性量は5000 ppm (270 mg/kg/日)以上であった。雌における毒性量(最大耐量)と考えられる5000 ppmを2年間投与しても本剤はラットに発がん性を示さないと判断された。

表9. 非腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		0	5000	0	5000
52週	臓器	所見/検査動物数	10	20	10	20
	骨髓	小肉芽腫	2	5	8	16
	リンパ節	小肉芽腫	10	17	10	19
	胸腺	萎縮	10	20	9	18
	肝臓	小肉芽腫	5	10	9	19
		胆管増生	9	17	3	5
		変異肝細胞巣	1	0	2	2
78週	臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10
	骨髓	小肉芽腫	3	1	4	6
	リンパ節	小肉芽腫	10	9	10	10
	胸腺	萎縮	10	10	10	10
	肝臓	小肉芽腫	7	6	10	10
		胆管増生	10	10	4	2
		変異肝細胞巣	2	1	8	5

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 9. 非腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査時期	性別		雄		雌		
	投与量 (ppm)		0	5000	0	5000	
104週	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50	
	心臓	心筋症	49	47	32	27	
	骨髄	小肉芽腫	12	17	28	32	
	リンパ節	小肉芽腫	46	49	44	48	
	胸腺	萎縮	48	49	48	50	
	肝臓	肝細胞脂肪化	5	0	0	0	
		マクロファージ集簇	8	2	14	17	
		小肉芽腫	36	42	43	48	
		胆管増生	49	50	17	20	
		変異肝細胞巣	27	26	40	43	
	腎臓	慢性腎症	46	38	15	13	
	乳腺	腺房増生	10	3	35	42	
	精巣	精細管萎縮	49	49	-	-	
		間細胞増生	16	17			
	精巣上体	萎縮	16	21	-	-	
	前立腺	炎症	38	29	-	-	
	子宮	腺腔拡張			23	26	
	下垂体	前葉増生	16	16	9	13	
	甲状腺	C細胞過形成	29	21	28	29	
	(上皮小体検査動物数)			(49)	(50)	(50)	(50)
	上皮小体	増生	16	15	6	2	
	副腎	血管拡張	1	1	23	24	
	眼	網膜萎縮	9	11	13	20	
大腿骨	骨硬化症	1	0	21	18		
胸骨	軟骨基質粘液変性	33	26	25	34		
	骨硬化症	1	0	23	17		

Fisher の正確検定法 (両側検定) * : p < 0.05, ** : p < 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。

表 9. 非腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	25	500	2500	5000	0	25	500	2500	5000
切迫屠殺・死亡動物	臓器	所見/検査動物数	8	7	5	6	10	14	10	7	14	6
	心臓	心筋症	8	7	5	4	8	8	8	4	5	2
	骨髄	小肉芽腫	0	0	0	0	0	2	3	1	2	3
	脾臓	髄外造血亢進	0	1	3*	0	0	4	3	1	2	0
	リンパ節	小肉芽腫	4	2	3	2	9	8	8	4	8	6
	胸腺	萎縮	6	7	4	5	9	12	10	7	12	6
	腺胃	粘膜線維化	1	1	4*	2	3	0	5**	2	2	0
	腺外分泌部	腺管増生	4	2	1	1	0*	0	1	0	1	1
	肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
		マクロファージ集積	2	0	2	2	0	0	3	1	3	0
		小肉芽腫	2	1	1	2	6	8	5	2	3	6
		胆管増生	8	7	5	6	10	5	6	2	7	1
		変異肝細胞巣	2	2	2	1	2	11	5	2	9	5
	腎臓	慢性腎症	5	5	4	6	5	4	5	1	1	3
	乳腺	腺管拡張	3	0	1	3	3	7	3	1	1*	4
		腺房増生	2	1	0	0	0	9	4	5	9	5
	精巣	精細管萎縮	7	6	5	6	9	-	-	-	-	-
		間細胞増生	4	5	1	3	5					
	精巣上体	萎縮	4	1	0	2	5	-	-	-	-	-
	前立腺	炎症	5	4	3	5	5	-	-	-	-	-
	子宮	腺腔拡張	-	-	-	-	-	5	2	1	5	2
	下垂体	前葉増生	4	4	2	1	1	0	1	1	3	0
	甲状腺	C細胞過形成	0	3	3*	4*	3	8	2	5	4	2
上皮小体	増生	3	4	4	3	2	1	0	0	0	0	
副腎	血管拡張	0	0	0	0	0	5	1	2	6	2	
眼	網膜萎縮	0	2	1	2	1	1	1	0	3	0	
大腿骨	骨硬化症	1	1	0	0	0	4	2	2	6	1	
胸骨	軟骨基質粘液変性	6	1*	1	3	5	7	7	2	8	4	
	骨硬化症	1	1	0	0	0	4	2	2	6	1	

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ミアイ化学工業株式会社にある。

表 10. 腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		0	5000	0	5000
78週	臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10
	脾臓	LGL性白血病 (M)	1	0	0	0
	乳腺	線維腺腫 (B)	0	0	1	0
		腺腫 (B)	0	0	0	1
	精巣	間細胞腫 (B)	5	4	-	-
	子宮	子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	1	2
	下垂体	前葉腺腫 (B)	0	0	2	2
	甲状腺	C細胞腺腫 (B)	1	1	1	0
		濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	1
	ラ氏島	腺腫 (B)	1	0	0	0
	皮膚	角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	0
		皮膚線維腫 (B)	0	1	0	0
	骨	骨肉腫 (M)	1	-	-	-
104週	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50
	心臓	良性壁内神経鞘腫 (B)	1	3	0	0
	骨髄	血管腫 (B)	0	0	1	0
	脾臓	LGL性白血病 (M)	9	6	10	6
	胸腺	胸腺腫 (B)	0	0	2	0
	肺	肺胞/細気管支上皮腺腫 (B)	2	2	1	1
		肺胞/細気管支上皮癌 (M)	1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0
	腺胃	平滑筋肉腫 (M)	0	1	0	0
	十二指腸	平滑筋腫 (B)	0	0	0	1
	空腸	腺癌 (M)	0	1	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	5	1	0	3
	腎臓	腎芽細胞腫 (M)	1	0	0	0
	乳腺	線維腺腫 (B)	0	0	6	3
		線維腫 (B)	0	0	1	0
精巣	間細胞腫 (B)	45	43	-	-	
卵巣	顆粒膜-莖膜細胞腫 (B)	-	-	1	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

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。

表 10. 腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		0	5000	0	5000
104週	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50
	子宮	腺腫 (B)	-	-	0	1
		子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	12	13
		顆粒細胞腫 (B)	-	-	1	0
		腺癌 (M)	-	-	2	1
		血管肉腫 (M)	-	-	0	1
		子宮内膜間質肉腫 (M)	-	-	1	1
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	1	0
	(陰核腺検査動物数)		-	-	(0)	(1)
	陰核腺	腺腫 (B)	-	-	-	1
	(陰囊検査動物数)		(1)	(1)	-	-
	陰囊	中皮腫 (M)	1	1		
	下垂体	前葉腺腫 (B)	17	15	22	21
		中間部腺腫 (B)	0	1	0	0
		前葉癌 (M)	0	0	1	1
	甲状腺	C細胞腺腫 (B)	12	10	9	4
		濾胞細胞腺腫 (B)	1	1	0	0
		C細胞癌 (M)	2	3	0	1
	副腎	皮質腺腫 (B)	0	0	1	0
		褐色細胞腫 (B)	5	3	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	1	2	0	1
	ラ氏島	腺腫 (B)	13	8	2	2
	(眼瞼検査動物数)		(1)	(0)	(0)	(0)
	眼瞼	神経鞘腫 (B)	1	-		
	(耳検査動物数)		(0)	(0)	(1)	(0)
	耳	扁平上皮乳頭腫 (B)	-		1	-
	(ジンバル腺検査動物数)		(0)	(0)	(0)	(1)
	ジンバル腺	腺腫 (B)	-	-	-	1
	皮膚	角化棘細胞腫 (B)	3	0	0	1
		扁平上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0
		線維腫 (B)	0	1	0	0

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

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。

表 10. 腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		0	5000	0	5000
104週	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50
	(皮下検査動物数)		(5)	(3)	(0)	(0)
	皮下	血管腫 (B)	1	0	-	-
		脂肪腫 (B)	1	0		
		線維腫 (B)	1	1	-	-
		線維肉腫 (M)	1	1	-	-
	(後肢検査動物数)		(0)	(0)	(1)	(1)
後肢	骨肉腫 (M)	-	-	1	0	
合計	検査動物数		50	50	50	50
	腫瘍数	良性	109	89	60	52
		悪性	16	16	16	11
	腫瘍総数		125	105	76	63
	担腫瘍動物数	良性	49	46	35	37
		悪性	15	15	16	11
担腫瘍動物数		50	49	42	40	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

Fisher の正確検定法 (両側検定) * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

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。

表 10. 腫瘍性病変の発生頻度 - 続き

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	25	500	2500	5000	0	25	500	2500	5000
切迫屠殺・死亡動物	臓器	所見/検査動物数	8	7	5	6	10	14	10	7	14	6
	脾臓	LGL 性白血病 (M)	6	5	1	4	3	7	4	4	6	0
	胸腺	胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性胸腺腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	肺胞/細気管支上皮腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	結腸	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1
	(口腔検査動物数)			(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
	口腔	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	(口蓋検査動物数)			(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
	口蓋	扁平上皮乳頭腫 (B)	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	腎臓	腎細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	線維腺腫 (B)	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
		線維腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 (B)	6	5	4	4	5	-	-	-	-	-
	卵巢	囊腺癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	子宮	子宮内膜間質ポリプ (B)	-	-	-	-	-	1	1	0	1	1
		子宮内膜間質肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	1	0	1	0
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0
	陰	組織球形肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
	(陰囊検査動物数)			(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	-	-	-	-
	陰囊	中皮腫 (M)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	下垂体	前葉腺腫 (B)	3	2	1	4	3	6	4	2	2	5
		前葉癌 (M)	0	0	0	1	0	0	2	0	1	1
	甲状腺	C細胞腺腫 (B)	2	0	0	0	2	3	3	2	2	0
		C細胞癌 (M)	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0
	副腎	皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		神経節神経腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	ラ氏島	腺腫 (B)	2	1	1	0	0	1	0	0	1	1
脊髄	神経膠腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	

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 10. 腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査時期	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	25	500	2500	5000	0	25	500	2500	5000	
切迫屠殺・死亡動物	皮膚	角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	(皮下検査動物数)		(2)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)	(1)	(1)	(0)
	皮下	毛嚢上皮腫 (B)	0	-	0	-	-	-	0	0	0	1	-
		脂肪腫 (B)	0	-	0	-	-	-	1	0	0	0	-
		線維肉腫 (M)	1	-	1	-	-	-	0	1	0	0	-
	骨	骨肉腫 (M)	-	1	-	-	-	0	-	-	-	-	-
	(後肢検査動物数)		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
	後肢	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

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ミアイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-18)

4) ピリミスルファンのラットを用いた1年間反復経口投与毒性試験(追加試験)

試験機関:

報告書作成年:2006年[GLP対応]

試験目的: 5000 ppmを最高用量として実施したピリミスルファンのラットを用いた1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料 毒性-17)において明確な毒性量を求めることができなかったことから、ラットにおける毒性量を明らかにするために本試験を実施した。

被験物質: ピリミスルファン原体(KIH-5996 TGA1)

純度:

試験動物: Crj: Fischer 344/Du ラット

対照群1群雄雌各20匹, 10000 ppm投与群雄雌各30匹

投与開始時: 5週齢

投与開始時体重範囲(雄84~93 g, 雌71~81 g)

投与26及び52週に各群雄雌各10匹(投与52週の10000 ppm投与群は雄雌各20匹)を解剖し検査を実施した。

投与期間中、一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定を行い、投与26及び52週の計画解剖時に血液学検査、血液凝固能検査、血液生化学検査、尿検査及び病理学検査(器官重量測定、肉眼観察)、投与52週に病理組織学検査を行った。さらに、投与開始前及び投与52週には眼科学検査を行った。

投与期間: 52週(2005年2月2日~2006年2月1日)

26週(2003年2月2日~2003年8月3日)

投与方法: 被験物質を0及び10000 ppmの濃度で飼料に混入し、52週間にわたって随時摂取させた。被験物質を混入した飼料は2週に1回調製した。

用量設定根拠: 5000 ppmを最高用量として実施したピリミスルファンのラットを用いた1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料 毒性-17)において、明確な毒性量を求めることができなかったことから、明確な毒性が発現すると考えられる10000 ppmを設定した。

観察・検査項目及び結果:

死亡率: 投与期間中は毎日2回生死の確認を行った。

投与期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態の観察: 全動物を毎日2回(午前及び午後)観察した。

被験物質投与に起因すると考えられる一般状態観察所見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。

体重変化： 全ての生存動物の体重を投与開始から投与 26 週までは毎週 1 回、その後は 2 週に 1 回測定した。

雄では投与 18～26, 38 及び 46～50 週に、雌では投与 2～52 週に对照群と比較して有意な低値を示し、投与期間中の体重増加量も雄雌ともに有意な低値を示した。投与終了時の体重は、对照群と比較して雄で 6%、雌で 11%減少した。(表 1)

表 1. 平均体重 (単位 : g)

性別		雄		雌		
用量 (ppm)		0	10000	0	10000	
体重 (g)	投与週 26	316	303 *	174	157**	
	52	355	335	189	168**	
体重増加量 (g)		52	266	246 *	114	93**

Dunnett 多重比較検定または Steel の検定 * : ≤ 0.05 , ** : ≤ 0.01

摂餌量及び飼料効率：

全動物の摂餌量を毎週 1 回測定し、摂餌量 (g/week)、飼料効率 (%) 及び被験物質摂取量 (mg/kg/日) を算出した。飼料効率の算出は投与 26 週までとした。

摂餌量は、雄では投与 1 及び 43 週に对照群と比較して有意な低値を示し、その他の週もわずかに低値傾向を示した。雌では、全ての週で有意な低値を示し、投与期間中の総摂餌量も有意な低値を示した。総摂餌量は、对照群と比較して雄で 3%、雌で 12%減少した。

飼料効率は、雄では投与 8, 12 及び 25 週に、雌では投与 2, 19 及び 23 週に对照群と比較して有意な低値を示し、26 週間の平均飼料効率も雄雌ともに有意な低値を示した。

被験物質摂取量：

投与期間中の平均被験物質摂取量は、表 2 に示す通りであった。

表 2. 1 年間反復投与毒性試験群の平均被験物質摂取量

投与量 (ppm)		10000
被験物質摂取量 (mg/kg/日)	雄	531.5
	雌	623.9

血液学検査：

投与 26 及び 52 週に各群雄雌の計画解剖動物を対象として、腹大動脈から血液を採取して、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、網赤血球率、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

对照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表 3 に示す。

表 3. 血液学検査成績

性別	雄		雌	
	10000		10000	
投与量 (ppm)	10000		10000	
検査時期 (週)	26	52	26	52
検査動物数	10	20	10	20
ヘマトクリット	94▽		94▼	94▼
ヘモグロビン量	94▽		94▼	94▼
赤血球数	96▽		97▼	97▽
平均赤血球容積 (MCV)	98▼	98▼	97▼	96▼
平均赤血球血色素量 (MCH)		98▼	97▼	96▼
好中球比率		81▽	64▼	80▼
リンパ球比率		112△	110▲	109▲
好酸球比率	127△			77▼
好塩基球比率	100 ¹ ▽			
大型非染色球比率	160△			
好中球数			65▼	75▼
好酸球数 (×10 ³ /mm ³)				60▽
好塩基球数 (×10 ³ /mm ³)	38▽			
血小板数 (×10 ³ /mm ³)	118▲		109▲	107▲
網赤血球率 (%)		85▼		

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。

¹ 対照群 0.1 ± 0.1; 投与群 0.1 ± 0.0

[投与 26 週]

雄雌ともに対照群と比較してヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数及び MCV が有意な低値、血小板数が有意な高値を示した。その他に、雄では好酸球比率と大型非染色球比率が有意な高値、好塩基球数と比率が有意な低値、雌では MCH、好中球数と比率が有意な低値、リンパ球比率が有意な高値を示した。

[投与 52 週]

雄雌ともに対照群と比較して MCV、MCH 及び好中球比率が有意な低値、リンパ球比率が有意な高値を示した。その他に、雄では網赤血球が有意な低値、雌ではヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、好中球数及び好酸球数と比率が有意な低値、血小板数が有意な高値を示した。

併合試験 (資料 毒性-17) の投与 26 週検査で 5000 ppm 群の雄のみに認められたヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数及び MCV の有意な低値 (貧血) が本試験では雄雌ともに認められ、その程度も増強した。また併合試験では明瞭でなかった雌の好中球数の減少と雄雌の血小板数の増加が本試験で認められ、機序は不明であるが毒性変化と考

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。

えられた。その他の変化は軽微で毒性学的意義は低いと考えられた。

血液凝固能検査：

投与 26 及び 52 週に、それぞれの計画解剖動物を対象として腹大動脈から血液を採取し、得られた血漿で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) 及びフィブリノーゲン量を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表 4 に示す。

表 4. 血液凝固能検査成績

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	10000		10000	
検査時期 (週)	26	52	26	52
検査動物数	10	10	10	10
プロトロンビン時間	103▲		96▼	
APTT			106△	

Dunnnett の多重比較検定または Steel の検定 $\Delta \nabla$: $p \leq 0.05$ ▲▼: $p \leq 0.01$
 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。

[投与 26 週]

対照群と比較して、雄ではプロトロンビン時間 (PT) が有意な高値、雌では PT が有意な低値、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) が有意な高値を示した。しかしこれらの変化はいずれも軽微であることから毒性学的意義は低いと考えられた。

[投与 52 週]

対照群と被験物質投与群の間で統計学的有意差の認められた項目はなかった。

血液生化学検査：

投与後 26 及び 52 週に、それぞれの計画解剖動物を対象として腹大動脈から血液を採取し、得られた血清で以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、A/G、血糖、中性脂肪、リン脂質、総コレステロール、遊離コレステロール、遊離脂肪酸、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、クレアチンキナーゼ (CPK)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表 5 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 5. 血液生化学検査成績

性 別	雄		雌	
	10000		10000	
投与量 (ppm)	10000		10000	
検査時期 (週)	26	52	26	52
検査動物数	10	20	10	20
総蛋白		104▲		104▲
アルブミン		104△	97▽	
A/G	93▽			93▼
中性脂肪	49▼	69▼		
リン脂質				122▲
総コレステロール			122▲	137▲
遊離コレステロール			122▲	139▲
遊離脂肪酸	78▼			
尿素窒素	113△	108▲		
クレアチニン				
総ビリルビン			67▼	50▼
CPK				
AST	44▼	59▼	81▽	80▼
ALT (U/L)	44▼	58▼	70▽	78▼
ALP (U/L)		85▼		
γ-GTP (U/L)			125△	
カルシウム				
無機リン				
ナトリウム			99▽	
カリウム	107▲			107△
塩素				

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。

[投与 26 週]

雄雌ともに対照群と比較して AST と ALT が有意な低値を示した。その他、雄では中性脂肪、遊離脂肪酸及び A/G が有意な低値、尿素窒素とカリウムが有意な高値を示した。雌では、総ビリルビン、アルブミン及びナトリウムが有意な低値、総コレステロール、遊離コレステロール及び γ-GTP が有意な高値を示した。雄の A/G は、総蛋白とアルブミンに有意な差が認められないこと、雌のナトリウムとアルブミンの低値及び γ-GTP の高値は、軽微な変化であることからいずれも毒性学的意義はないと考えられた。

[投与 52 週]

雄雌ともに対照群と比較して AST と ALT が有意な低値、総蛋白が有意な高値を示し

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。

た。その他、雄では中性脂肪と ALP が有意な低値、尿素窒素が有意な高値を示した。雌では総ビリルビンと A/G が有意な低値、総コレステロール、遊離コレステロール、リン脂質及びカリウムが有意な高値を示した。

AST と ALT の低値は併合試験でも認められ、被験物質投与の影響と考えられた。また本試験では総ビリルビンと ALP の低値も認められたが、これらの項目はいずれも上昇に意義があり、低下の毒性学的意義は低いと考えられた。総蛋白とアルブミンの高値は肝臓重量の増加などから合成の亢進と考えられ、毒性学的意義は低いと考えられた。雄の尿素窒素の高値は、雄雌の尿検査における変化とともに、対応する組織学的変化が腎臓に観察されなかったが、腎機能の異常を示唆する所見で毒性変化と考えられた。雄の中性脂肪と遊離脂肪酸の低値、雌の総コレステロール、遊離コレステロール及びリン脂質の高値は、被験物質投与による脂質合成あるいは代謝への影響と考えられた。雄雌のカリウムの高値については、機序は不明であるが明瞭な変化であり毒性変化と考えられた。

尿検査： 投与 26 及び 52 週の計画解剖動物を対象として、給餌給水の条件下で、採尿ケージを用いて一夜尿（午後 4 時から翌日午前 9 時まで）を採取し、以下の項目について検査した。

3 時間尿を用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、尿量、色調、尿沈渣、尿浸透圧

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表 6 に示す。

表 6. 尿検査成績

性 別	雄		雌	
	10000		10000	
投与量 (ppm)	10000		10000	
検査時期 (週)	26	52	26	52
検査動物数	10	20	10	20
尿量			80▽	81▽
尿浸透圧		120△	138▲	

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。

[投与 26 週]

雄では被験物質投与の影響と考えられた項目はなかった。雌では尿量が有意な低値、尿浸透圧が有意な高値を示し、尿蛋白 (+/-) と尿沈渣の結晶 (+) を示す動物が増加する傾向が見られた。

[投与 52 週]

雄では尿浸透圧が有意な高値を示し、尿蛋白 (30 mg/dL) を示す動物が多い傾向を示した。雌では尿量が有意な低値を示し、尿蛋白 (+/-) を示す動物が増加する傾向

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。

を示した。

眼科学検査： 投与開始前及び投与終了時に 26 週計画解剖動物を除く全動物の両眼について、前眼部、中間透光体及び眼底を検査した。

いずれの投与群においても被験物質投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

臓器重量： 投与 26 及び 52 週計画解剖時の全生存動物を対象として以下に示す臓器の重量を測定し、対体重比を算出した。

脳（嗅球を除く）、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、副腎、精巣上体、子宮

対照群と比較して有意に増減した変化を表 7 に示す。

表 7. 臓器重量

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		10000		10000	
検査時期 (週)		26	52	26	52
検査動物数		10	20	10	20
体重 (g)		94▽	94▽	89▼	90▼
脳 (g)	対体重比			111▲	
	重量				95▽
心臓 (g)	対体重比	105▲		108▲	107▲
	重量			93▼	95▽
肺 (g)	対体重比				106▲
	重量		108△	110△	111▲
肝臓 (g)	対体重比	117▲	114▲	123▲	124▲
	重量				96▽
腎臓 (g)	対体重比	109▲	107▲	109▲	106▲
	重量		94▽		
脾臓 (g)	対体重比				110▲
	重量			113△	106△
副腎 (mg)	対体重比				
精巣 (g)	対体重比	106▲			
精巣上体 (mg)	対体重比	106△			
卵巣 (mg)	重量			79▼	86▽
子宮 (mg)	重量			82▽	

Dunnnett 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。

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。

[投与 26 週]

被験物質投与に起因する変化として、10000 ppm 投与群の雌の肝臓実重量及び雄雌の肝臓の対体重比が対照群と比較して有意な高値を示した。その他の器官における変化は体重増加抑制に伴う二次的変化と考えられた。

[投与 52 週]

被験物質投与に起因する変化として、10000 ppm 投与群の雄雌の肝臓の実重量及び対体重比が対照群と比較して有意な高値を示した。その他の器官における変化は体重増加抑制に伴う二次的変化と考えられた。

肉眼的病理検査：

投与 26 及び 52 週の投与終了時における全生存動物について剖検した。対照群と比べ、統計学的に有意差が認められた所見と投与群で発生が増加した病変及びその発生頻度について表 8 に示す。

表 8. 肉眼所見の発生頻度

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		0	10000	0	10000
26 週	臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10
	肝臓	暗色化	0	7**	0	7**
		肥大	0	1	0	1
		肝横隔膜面結節	1	0	1	3
		白色斑/区域	0	1	0	0
	後肢	骨折	0	1	0	0
52 週	臓器	所見/検査動物数	10	20	10	20
	肝臓	暗色化	0	4	0	1
		肝横隔膜面結節	1	4	2	3
		肥大	4	1	2	2
	眼球	白色	0	0	0	3

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

[投与 26 週]

10000 ppm 群雄雌の 7 例に肝臓の暗色化が観察された。その他に被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

[投与 52 週]

10000 ppm 群雄の 4 例、雌の 1 例に肝臓の暗色化が観察された。その他に被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学検査：

投与 52 週計画解剖動物の対照群及び投与群全例の以下に示す器官・組織について

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。

実施した。肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下に示す組織について病理組織標本を作製し、鏡検した。

皮膚、乳腺、リンパ節（腸間膜、下顎）、唾液腺（舌下腺、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、咽頭、喉頭、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、凝固腺、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、腔、眼球、視神経、ハーダー腺、脳（嗅球を除く）、下垂体、脊髄（頸髄、胸髄、腰髄）、骨格筋（大腿部）、坐骨神経、大動脈、鼻腔及び肉眼的に異常が認められた器官・組織

[非腫瘍性病変]

統計学的に有意差が認められた非腫瘍性病変及びその発生頻度を表9に示す。

10000 ppm 群雄の19例、雌の9例に肝臓の暗色化が観察された。その他に被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

[腫瘍性病変]

観察された全ての腫瘍性病変及びその発生頻度を表10に示す。

対照群と比較して10000 ppm 群に有意に発生率が増加した腫瘍は認められなかった。

表9. 非腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		0	10000	0	10000
52週	臓器	所見/検査動物数	10	20	10	20
	肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	0	19**	0	9**

Fisherの正確検定法（両側検定） *：p≤0.05, **：p≤0.01

表10. 腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		0	10000	0	10000
52週	臓器	所見/検査動物数	10	20	10	20
	肺	肺胞/細気管支上皮腺腫(B)	0	1	0	0
	膀胱	移行上皮乳頭腫(B)	1	0	0	0
	子宮	子宮内膜間質ポリープ(B)	-		1	2

(B)：良性腫瘍，(M)：悪性腫瘍

Fisherの正確検定法（両側検定） *：p≤0.05, **：p≤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ミアイ化学工業株式会社にある。

臓器重量における肝臓の実重量及び対体重比の増加, 肉眼所見における肝臓の暗色化に対応する組織学所見として肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が観察され, 被験物質の標的臓器は肝臓と考えられた。ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料毒性-9) では, 本試験と同様に 10000 ppm 群の雄雌で肝臓の実重量と対体重比の増加, 肉眼所見で肝臓の暗色化, 組織学検査で小葉中心性肝細胞肥大 (雄: 10/10 例, 雌: 10/10 例) が認められた。90 日反復投与試験と比較して本試験において小葉中心性肝細胞肥大の病変の程度の増強はなく, 雌では本試験の方が発生率が低かった。その他に肝臓には組織学的に障害性の変化は認められず, 小葉中心性肝細胞肥大は肝臓の適応性の変化と考えられた。

以上のように, 本被験物質を 10000 ppm の飼料中濃度でラットに 1 年間反復経口投与した結果, 投与群で体重減少, 摂餌量減少, 飼料効率の低下, 貧血, 血小板数の増加と好中球数の減少 (雌), 血液生化学的変化, 尿検査項目の異常などの毒性変化が認められ, 10000 ppm (雄: 532 mg/kg/day, 雌: 624 mg/kg/day) は明らかな毒性量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-19)

5) ピリミルスルファンのマウスを用いた発がん性試験

試験機関:

報告書作成年: 2006年 [GLP 対応]

被験物質: ピリミルスルファン原体 (KIH-5996 TGA1 ;)
純 度:

試験動物: S1c: B6C3F₁ マウス

発がん性試験主群 1 群雄雌各 50 匹, 衛星群 1 群雄雌各 20 匹

投与開始時: 5 週齢

投与開始時体重範囲 (雄 18.0~21.9 g, 雌 15.1~18.9 g)

衛星群は投与 52 週に各群雄雌各 10 匹 (350 ppm 群雌は 9 匹) 及び 78 週に各群雄雌それぞれ 8~10 匹を解剖し検査を実施した。投与終了時に生存動物の全例を解剖し検査を実施した。

投与期間: 発がん性試験主群: 104 週 (2003 年 3 月 4 日~2005 年 3 月 1, 2, 3, 6, 7 H)

衛星群: 78 週 (2003 年 3 月 4 日~2004 年 9 月 2 日)

衛星群: 52 週 (2003 年 3 月 4 日~2004 年 3 月 2 日)

投与方法: 被験物質を 0, 35, 350, 1800 及び 3500 ppm の濃度で飼料に混入し, 104 週間にわたって随時摂取させた。被験物質を混入した飼料は 2 週に 1 回調製した。

用量設定根拠:

S1c:B6C3F₁ (C57BL/6 × C3H) [SPF]系マウスを用いて, 0, 50, 500, 3500 及び 7000 ppm の投与量で 90 日間発がん性予備試験を実施した。その結果, 3500 ppm 以上の群でヘモグロビン量, 赤血球数, MCH 及び MCHC が統計学的に有意に低下し, MCV 及び網赤血球率が増加した。加えて, 脾臓における髄外造血及び副腎の束状帯細胞における好酸性化が認められた。7000 ppm 群では雄雌において肝臓重量が有意に増加した。これらの結果から雄雌とも 3500 ppm 以上を毒性量と判断し, 発がん性試験は, 最高用量を 3500 ppm とし, 以下 1800, 350, 35 ppm の用量を設定し, 対照群 (0 ppm) を加えて 5 群とした。

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。

観察・検査項目及び結果：

死亡率：投与期間中毎日2回生死の確認を行った。

被験物質投与に起因すると考えられる死亡率の増加は認められなかった。(表1)

表1. 投与104週における発がん性試験主群の死亡率 (%)

投与量(ppm)	0	35	350	1800	3500
雄	18.0	30.0	20.0	18.0	24.0
雌	18.0	20.0	28.0	14.0	26.0

Log-rank 検定で有意差を検定した。

一般状態の観察：

全動物を毎日2回(午前及び午後)観察した。さらに週1回の頻度で触診を行い、腫瘍性病変の有無を観察した。

被験物質投与に起因すると考えられる一般状態観察所見は認められなかった。

体重変化：

全ての生存動物の体重を投与開始から投与26週までは毎週1回、その後は2週に1回測定した。

雄では、対照群と比較して1800 ppm群の平均体重が投与1~76週まで断続的に、3500 ppm群の平均体重が投与25~94週まで連続的に有意な低値を示したが、投与期間中の体重増加量に有意な差は認められなかった。投与104週における3500 ppm群雄の平均体重は、対照群と比較して5.9%低かった。雌では、被験物質投与に起因すると考えられる体重の増減は認められなかった。(図1)

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。

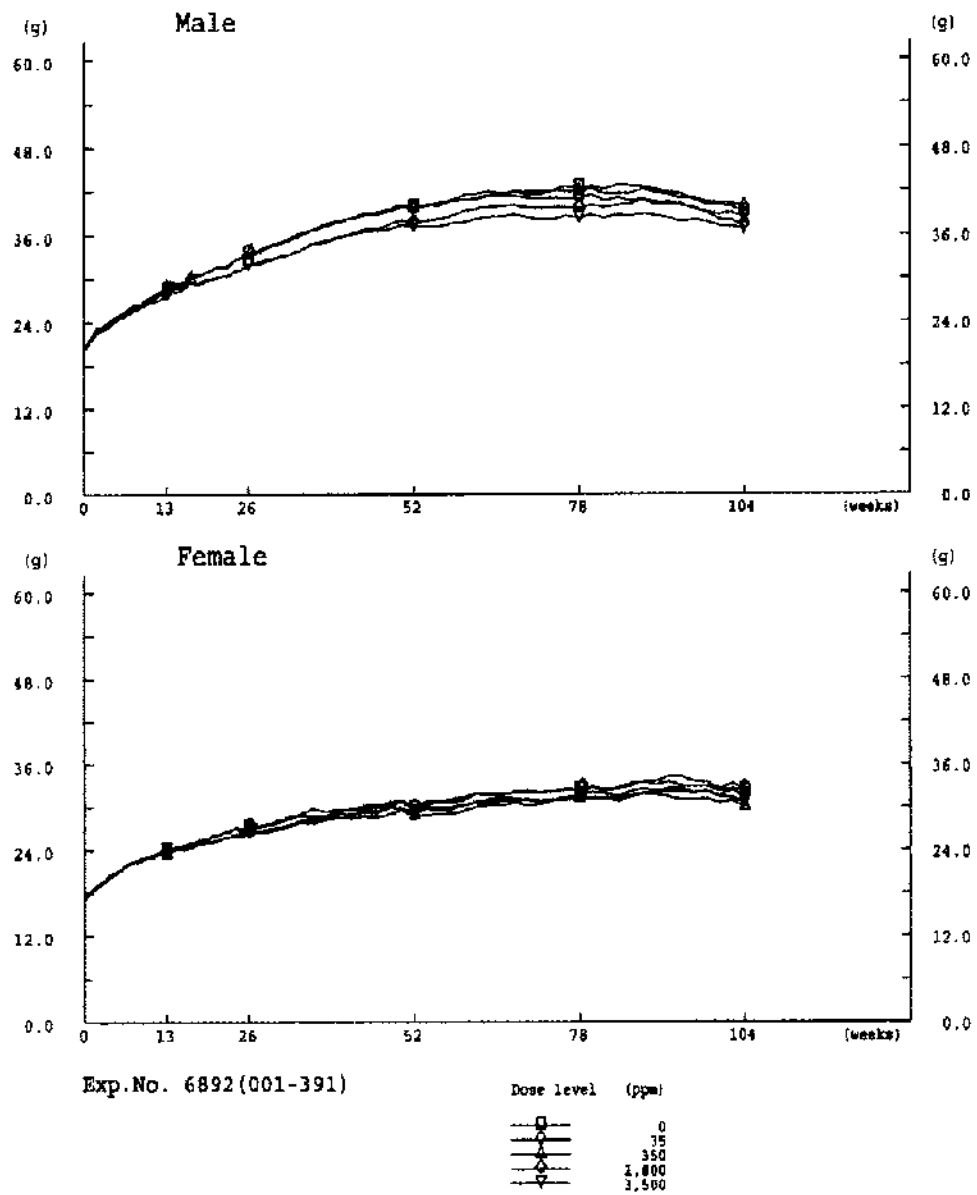


図 1. 発がん性試験主群の平均体重

摂餌量及び飼料効率：

摂餌量を個体別に毎週 1 回測定し、摂餌量 (g/week)、飼料効率 (%) 及び被験物質摂取量 (mg/kg/日) を算出した。飼料効率の算出は投与 26 週までとした。

投与期間を通して被験物質投与に起因すると考えられる摂餌量と飼料効率の増減は認められなかった。

被験物質摂取量：

投与期間中の平均被験物質摂取量を表 2 及び表 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マイ化学工業株式会社にある。

表 2. 発がん性試験主群の平均被験物質摂取量 (104 週間)

投与量 (ppm)		35	350	1800	3500
被験物質摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.04	49.34	258.33	522.60
	雌	6.66	67.34	350.40	664.84

表 3. 衛星群の平均被験物質摂取量 (78 週間)

投与量 (ppm)		35	350	1800	3500
被験物質摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.51	54.15	278.14	534.69
	雌	7.26	67.93	367.44	690.65

血液学検査：

投与 52, 78 及び 104 週に各群雄雌の計画解剖動物を対象として、腹大動脈から血液を採取して、以下の項目の測定を行った。

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)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数、白血球百分率、網赤血球率、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

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表 4 に示す。

表 4. 血液学検査成績

性 別	雄											
	35			350			1800			3500		
投与量 (ppm)												
検査時期 (週)	52	78	104	52	78	104	52	78	104	52	78	104
検査動物数	10	10	35	10	9	40	10	9	41	9	8	38
ヘモグロビン量										97▽	94▽	98▽
赤血球数											92▼	98▽
MCV												
MCH 量												
MCHC										98▼		
白血球数						84▽	(71)			(73)	(65)	
好塩基球数						100▽ ²			100△ ¹			
好中球数							51▽			56▽	49▽	
リンパ球数						73▽						
単球数						114△						
網赤血球率										123△		78▽

Dunnett の多重比較検定 △▽: $p \leq 0.05$ ▼▲: $p \leq 0.01$

() : 低値傾向

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。

¹ 対照群 0.1 ± 0.2 , 350 ppm 群 $0.1 + 0.2$, 1800 ppm 群 0.1 ± 0.3

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 4. 血液学検査成績—続き

性 別	雌											
	35			350			1800			3500		
検査時期 (週)	52	78	104	52	78	104	52	78	104	52	78	104
検査動物数	10	10	39	9	9	36	10	8	42	10	10	37
ヘマトクリット値							97▽	97▽		97▽	97▽	
ヘモグロビン量							96▼	96▽		95▼	95▽	
赤血球数							96▼	95▽		97▽	95▽	
MCV												101△
MCHC										98▼	98▼	98▼
白血球数									118△			
好中球比率			81▽			70▼			77▼			
好酸球比率											47▽	
リンパ球比率						121▲			116▲			
好中球数						49▼			78▼			
単球数									67▽			
好酸球数									50▽		50▽	
網赤血球率									100△ ²			110△
血小板数										116△		

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。

² 対照群 4.1 ± 5.1 , 1800 ppm 群 4.1 ± 4.5

[投与 52 週 (衛星群)]

3500 ppm 群雄のヘモグロビン量, 1800 及び 3500 ppm 群雌のヘマトクリット値, ヘモグロビン量及び赤血球数, 3500 ppm 群雄雌の平均赤血球血色素濃度 (MCHC) が有意な低値, 1800 及び 3500 ppm 群雄の好中球数が有意な低値及び白血球数が低値傾向, 3500 ppm 群雄の網赤血球率が有意な高値を示した。その他, 3500 ppm 群雌の血小板数が有意な高値を示したが, 対照群との差はわずかであり, その毒性学的意義は低いと考えられた。

[投与 78 週 (衛星群)]

3500 ppm 群雄のヘモグロビン量と赤血球数, 1800 及び 3500 ppm 群雌のヘマトクリット値, ヘモグロビン量及び赤血球数, 3500 ppm 群雌の MCHC が有意な低値, 3500 ppm 群雄の好中球数が有意な低値及び白血球数が低値傾向を示した。その他, 3500 ppm 群雌の好酸球比率と実数が有意な低値を示したが, 実数の対照群との差はわずかであり, その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。

[投与 104 週 (発がん性試験主群)]

3500 ppm 群雄のヘモグロビン量と赤血球数、3500 ppm 群雌の MCHC が有意な低値、3500 ppm 群雌の平均赤血球容積 (MCV) が有意な高値、3500 ppm 群雄の網赤血球率が有意な低値、1800 及び 3500 ppm 群雌の網赤血球率が有意な高値を示した。その他、白血球数及び白血球百分率ならびにその分画数に散発的に認められた有意な差は用量に依存していなかった。

以上のように投与 52 及び 78 週の衛星群で、1800 ppm 群雌及び 3500 ppm 群雄雌のヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数あるいは平均赤血球色素濃度 (MCHC) の有意な低値が認められ、軽度の貧血傾向が認められた。投与 104 週の発がん性試験群では 3500 ppm 群雄でヘモグロビン量、赤血球数及び網赤血球率、同群雌で MCHC の有意な低値が認められたが、これらの変化は軽微で貧血傾向にあるとは考えなかった。投与 52 週の 3500 ppm 群雌及び投与 104 週の 1800 及び 3500 ppm 群雌の網赤血球率が有意な高値を示し、さらに病理組織学検査において投与 78 週の 3500 ppm 群雌で髄外造血亢進が有意に増加したことから、貧血傾向はあったが再生性の変化を伴っていた。

投与 52 及び 78 週の 1800 ppm 及び／あるいは 3500 ppm 群雄に好中球数の有意な低値と白血球数の低値傾向が認められた。好中球数の減少は投与 104 週の検査では認められず、骨髄などの病理組織学検査でも対応する変化は認められていないことから、毒性的意義は小さいと考えられた。

臓器重量：

投与 52, 78 及び 104 週計画解剖時の全生存動物を対象として、以下に示す臓器の重量を測定し、対体重比を算出した。

脳 (嗅球を除く)、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、副腎、精巣上体、子宮

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を表 5 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 5. 臓器重量

性別		雄											
検査時期 (週)		52				78				104			
投与量 (ppm)		35	350	1800	3500	35	350	1800	3500	35	350	1800	3500
検査動物数		10	10	10	10	10	9	9	8	35	40	41	38
体重													
心臓	対体重比										112△		108△
肺	対体重比										115△		
肝臓	対体重比												108△
腎臓	重量		111▲										
脾臓	重量												68▽
精巣	対体重比										112△		

性別		雌											
検査時期 (週)		52				78				104			
投与量 (ppm)		35	350	1800	3500	35	350	1800	3500	35	350	1800	3500
検査動物数		10	10	10	10	10	9	9	8	40	36	43	37
腎臓								88▼					
副腎									129▲				
子宮												55▼	49▼
												58▼	52▼

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すもの。空欄は統計学的有意差なし。

[投与 52 及び 78 週 (衛星群)]

投与 52 週検査では、350 ppm 群雄の腎臓実重量が対照群と比較して有意な高値を示したが、用量に依存しない変化であった。

投与 78 週検査では、3500 ppm 群雌の副腎実重量が対照群と比較して有意な高値を示したが、病理組織学的に認められた束状帯細胞の好酸性化との関連は明確でなく、対体重比に有意な変化が認められていないこと、対照群との差はわずかであることから毒性学的に意義のない変化と考えられた。また、1800 ppm 群雌の腎臓実重量が対照群と比較して有意な低値を示したが、用量に依存しない変化であった。

[投与 104 週検査 (発がん性試験主群)]

3500 ppm 群雄の脾臓の実重量、1800 及び 3500 ppm 群雌の子宮の実重量と対体重比が対照群と比較して有意な低値を示した。子宮重量の低値は 109 週齢の B6C3F1 マウスの子宮重量背景データから、本試験における対照群の子宮重量が明らかに高かったことに起因し、子宮に被験物質投与による組織所見が認められなかったことから子宮重量の低下に毒性学的意義はないものと考えられた (1)。また、3500 ppm 群雄の心臓と肝臓の対体重比が有意な高値を示したが、実重量に有意な差が認められないことか

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、体重減少に伴う二次的变化と考えられた。また、35 ppm 群雄の肺、心臓及び精巢の対体重比の有意な高値は用量に依存しない変化であった。その他の投与群に有意な差は認められなかった。

肉眼的病理検査：

途中死亡、切迫屠殺、投与 78 及び 104 週の投与終了時における全生存動物について剖検した。対照群と比べ、統計学的に有意差が認められた所見及びその発生頻度（主群全動物）について表 6 に示す。

表 6. 肉眼所見の発生頻度

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	35	350	1800	3500	0	35	350	1800	3500
104 週	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	脾臓	脾腫	11	16	4*	11	5	11	11	18	8	14
	肺	結節	13	10	12	5*	6	8	9	6	7	6
	前胃	白色斑点	15	14	8	9	2**	8	4	5	9	8
	肝臓	褐色斑点	5	3	2	0*	0*	3	3	3	1	4
	子宮	嚢胞	-	-	-	-	-	0	5*	2	0	3
		内腔拡張	-	-	-	-	-	42	36	38	36	28**
	ハート腺	結節	2	6	8*	3	0	2	0	3	1	0
	全身	消瘦	0	1	5*	3	5*	7	4	4	1*	3

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

[投与 52 及び 78 週（衛星群：全動物）]

被験物質投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

[投与 104 週検査（発がん性試験主群：全動物）]

被験物質投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。3500 ppm 群雄で前胃の白色斑点及び 3500 ppm 群雌で子宮の内腔拡張が対照群と比較して有意に減少したが、加齢に伴う自然発生病変（＝内腔拡張）の発生率が低下したためであり、毒性的に意義のない変化と考えられた (1)。その他、観察された所見は用量に依存しない変化であった。

病理組織学検査：

対照群及び最高用量群ならびに切迫解剖及び死亡動物の以下に示す器官・組織について実施した。対照群と比較して、3500 ppm 群で副腎の束状帯細胞の好酸性化（78 及び 104 週の雄雌）及び脾臓の髄外造血亢進（78 週の雌）が有意に増加したため、35、350 及び 1800 ppm 群雄雌の当該器官（脾臓については 78 週の雄雌）についても病理組織学検査を実施した。また、投与 52 週計画解剖動物の病理組織学検査は実施しな

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。

かった。

病理組織標本作製は投与 52 週計画解剖動物を除く全試験群全例の以下に示す器官・組織について実施した。

皮膚、乳腺（雌）、リンパ節（腸間膜、下顎）、唾液腺（舌下腺、下顎腺）、胸骨、大腿骨、骨髓（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、咽頭、喉頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、胆嚢、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢、凝固腺、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、腔、眼球、視神経、ハーダー腺、脳（嗅球を除く）、下垂体、脊髄（頸髄、胸髄、腰髄）、骨格筋（大腿部）、坐骨神経、大動脈、鼻腔及び肉眼的に異常が認められた器官・組織

[非腫瘍性病変]

対照群と比べ、統計学的に有意差が認められた所見及びその発生頻度（78 及び 104 週全動物）について表 7 に示す。

[投与 78 週検査（衛星群：全動物）]

被験物質の影響が副腎及び脾臓に認められた。副腎では束状帯細胞の好酸性化が雄雌の 3500 ppm 群及び雌の 1800 ppm 群で対照群と比較して有意に増加した。脾臓では髓外造血亢進が雌の 3500 ppm 群で対照群と比較して有意に増加した。副腎束状帯の好酸性化は、90 日発がん性予備試験においても雄雌の 3500 及び 7000 ppm 群の全例で認められているが、いずれの試験の雄雌においても内分泌系器官に異常所見が認められていないことから毒性学的に意義の低い変化と考えられた。

[投与 104 週検査（発がん性試験主群：全動物）]

被験物質の影響が副腎に認められた。束状帯細胞の好酸性化が雄雌の 3500 ppm 群及び雌の 1800 ppm 群で対照群と比較して有意に増加した。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変及びその発生頻度（78 及び 104 週全動物、発がん性試験主群の切迫屠殺・死亡動物）を表 8 に示す。

[投与 78 週検査（衛星群：全動物）]

対照群と比較して 3500 ppm 群に有意に発生率が増加した腫瘍は認められなかった。

[投与 104 週検査（発がん性試験主群：全動物）]

対照群と比較して 3500 ppm 群において有意に発生率が増加した腫瘍は認められなかった。群間比較で、腫瘍総数、良性腫瘍数及び悪性腫瘍数は雄雌ともに差は認められなかった。

以上の結果から、本剤をマウスに 2 年間反復経口投与した場合の無毒性量は、雄では 1800 及び 3500 ppm 群の体重の低値と好中球数減少、3500 ppm 群の貧血傾向、雌では 1800 及び 3500 ppm 群の貧血傾向を指標に 350 ppm（雄：49.3 mg/kg/日、雌：67.3 mg/kg/日）と判断した。毒性量（最大耐量）である 1800 及び 3500 ppm の用量を 2 年間投与しても本剤は

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。

マウスに発がん性を示さないと判断された。

参考資料

- 1 KIH-5996 のマウスを用いた発がん性試験（試験番号：6892）の子宮重量，子宮内腔拡張および副腎束状帯好酸性化について，（2006）

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 7. 非腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	35	350	1800	3500	0	35	350	1800	3500
78週	臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	脾臓	髓外造血亢進	2	2	3	3	6	3	4	5	8	9*
	副腎	束状帯細胞好酸性化	0	0	0	0	10**	1	1	1	7*	10**
104週	臓器	所見/検査動物数	50	15	10	9	50	50	10	14	7	50
	鼻腔	上皮好酸性化	14	5	1	2	5*	46	9	11	6	45
	前胃	扁平上皮過形成	14	6	0	0	2**	8	0	0	0	8
	肝臓	肝細胞脂肪化	15	1	0	0	5*	3	0	0	0	2
	腎臓	尿細管好塩基化	43	10	7	4	44	27	4	1	0	15*
		リンパ球浸潤	22	2	1	0	11*	15	1	3	0	12
	甲状腺	リンパ球浸潤	3	0	0	0	2	6	0	0	0	0*
	ハート腺	リンパ球浸潤	15	2	0	0	3**	11	1	1	0	10
	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎	束状帯細胞好酸性化	7	13	10	12	30**	10	7	10	33**	48**
限局性皮質肥大		6	1	2	0*	5	0	0	0	0	0	

Fisher の正確検定法 (両側検定) * : p<0.05, ** : p<0.01

統計解析は対照群と 3500 ppm 群とで比較した。ただし、投与 78 週全動物の副腎と脾臓、投与 104 週全動物の副腎は対照群と全投与群とで比較した。

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 8. 腫瘍性病変の発生頻度

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	35	350	1800	3500	0	35	350	1800	3500
78 週	臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	脾臓	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	臓器	所見/検査動物数	10	0	1	1	10	10	0	1	2	10
	リンパ節	悪性肥満細胞腫 (M)	0	-	0	0	1	0	-	0	0	0
	造血系組織 (脾臓及びリ ンパ節)	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	肺	肺胞/細気管支上皮 腺腫 (B)	0	-	0	0	1	1	-	0	1	1
		肺胞/細気管支上皮 腺癌 (M)	2	-	0	0	0	0	-	0	0	1
	回腸	悪性リンパ腫 (M)	0	-	1	0	0	0	-	0	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	1	-	1	0	2	0	-	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	2	-	0	0	0	0	-	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	0	-	0	1	0	0	-	0	0	0
	子宮	組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	-	0	1	0
	下垂体	前葉腺腫 (B)	0	-	0	0	1	0	-	0	0	0
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	1	-	0	0	0	0	-	0	0	0
ハーダー腺	腺腫 (B)	0	-	0	0	0	0	-	0	0	2	
恥骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
104 週	臓器	所見/検査動物数	60	15	10	9	50	50	10	14	7	50
	骨髄	骨髄性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	血管肉腫 (M)	1	0	1	0	0	2	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	造血系組織(脾 臓、リンパ節及 び胸腺)	悪性リンパ腫 (M)	4	4	1	5	3	13	6	8	3	13
	肺	肺胞/細気管支上皮 腺腫 (B)	7	0	1	0	3	6	0	0	0	2
肺胞/細気管支上皮 腺癌 (M)		5	1	3	0	3	0	1	1	0	2	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

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

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。

表 8. 腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	35	350	1800	3500	0	35	350	1800	3500
	臓 器	所見/検査動物数	50	16	10	9	50	50	10	14	7	50
104 週	前胃	扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腺胃	良性神経内分泌細胞腫瘍 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性神経内分泌細胞腫瘍 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	空腸	血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	回腸	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	直腸	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		良性神経内分泌細胞腫瘍 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	8	2	4	0	12	4	1	0	0	7
		肝細胞癌 (M)	12	3	3	1	9	2	0	1	0	2
		血管肉腫 (M)	5	4	0	2	1	1	0	0	0	0
		悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		組織球性肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	唾液腺	腺房細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	腎細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	膀胱	組織球性肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	0	2	0	3
	精巣	間細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	卵巣	奇形腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	2
	子宮	子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
		血管腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
腺癌 (M)		-	-	-	-	-	0	0	0	0	1	
子宮内膜間質肉腫 (M)		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
血管肉腫 (M)		-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
組織球性肉腫 (M)		-	-	-	-	-	5	1	0	3	3	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

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グマイ化学工業株式会社にある。

表 8. 腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	35	350	1800	3500	0	35	350	1800	3500
104 週	臓 器	所見/検査動物数	50	15	10	9	50	50	10	14	7	50
	下垂体	前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	4
		中間部腺腫 (B)	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
		濾胞細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	臓 器	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎	皮質腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		被膜下細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	臓 器	所見/検査動物数	50	15	10	9	50	50	10	14	7	50
	脳	悪性髄膜腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	三叉神経	悪性神経鞘腫 (M)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	耳	神経線腫瘍 (B)	0	-	-	-	0	1	-	-	-	-
	ハーダー腺	腺腫 (B)	2	0	1	1	1	1	0	1	0	1
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	2	0	1	0	0
	皮膚	皮脂腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		毛嚢上皮腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮下	線維肉腫 (M)	0	0	0	-	0	1	0	0	-	-
		組織球性肉腫 (M)	1	0	1	-	0	0	0	0	-	-
	尾	組織球性肉腫 (M)	1	-	-	-	0	0	-	-	-	0
肋骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	-	1	0	-	
仙骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	
合計	検査動物数		50	15	10	9	50	50	10	14	7	50
	腫瘍数	良性	19	2	6	1	19	18	1	2	2	21
		悪性	32	15	11	10	17	30	10	15	7	26
	腫瘍総数		51	17	17	11	36	48	11	17	9	47
	担腫瘍動物数	良性	16	2	5	1	18	14	1	2	1	19
		悪性	22	14	6	8	17	26	9	13	7	20
総担腫瘍動物数		33	14	8	8	28	33	9	13	7	32	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

Fisher の正確検定法 (両側検定) * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, 統計解析は対照群と 3,500 ppm 群とで比較した。ただし, 投与 78 週全動物の脾臓, 投与 104 週全動物の副腎は対照群と全投与群とで比較した。

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 8. 腫瘍性病変の発生頻度—続き

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	35	350	1800	3500	0	35	350	1800	3500
切迫屠殺・死亡動物	臓器	所見/検査動物数	9	15	10	9	12	9	10	14	7	13
	骨髓	骨髓性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	血管肉腫 (M)	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
		悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	1	0	0	1	1	0	2
		組織球性肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	リンパ節	悪性リンパ腫 (M)	2	4	1	4	2	3	4	7	3	4
	胸腺	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
	肺	肺胞/細気管支上皮腺腫 (B)	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
		肺胞/細気管支上皮腺癌 (M)	2	1	3	0	1	0	1	1	0	0
	膵胃	悪性神経内分泌細胞腫瘍 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0	2	4	0	0	0	1	0	0	2
		肝細胞癌 (M)	5	3	3	1	3	0	0	1	0	0
		血管肉腫 (M)	2	4	0	2	0	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	0	2	0	1
	卵巣	奇形腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	2
	子宮	子宮内膜間質肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		血管肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-	3	1	0*	3	0
	下垂体	前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		中間部腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	脳	悪性髄膜腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	三叉神経	悪性神経鞘腫 (M)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	ハーダー腺	腺腫 (B)	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	毛嚢上皮腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
皮下	線維肉腫 (M)	0	0	0	-	-	1	0	0	-	-	
	組織球性肉腫 (M)	0	0	1	-	-	0	0	0	-	-	
肋骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	-	1	0	-	
仙骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

Fisher の正確検定法 (両側検定) * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$. 統計解析は対照群と全投与群とで比較した.

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。

(12) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

(資料 毒性-20)

1) ピリミスルファン系のラットを用いた2世代繁殖毒性試験

試験機関:

報告書作成年: 2006年 [GLP 対応]

被験物質: ピリミスルファン原体 (KIH-5996 TGAT)

純度:

試験動物: SD系ラット, Cr1:CD(SD), 1群雄雌各26匹

投与開始時6週齢(体重: 雄186~213g, 雌131~160g)

投与期間: F0世代: 交配前10週間, F1児離乳時までの15~18週間

F1世代: 離乳時から交配前10週間, F2児離乳時までの17~20週間

(2005年5月31日~2006年2月5日)

投与方法: 被験物質を0, 625, 2500及び10000ppm含有した飼料を自由に摂取させた。

投与量の設定根拠:

被験物質の投与量は、ラット繁殖性予備試験の結果を参考にした。すなわち、0, 50, 500, 5000及び10000ppmの用量で生後8週齢から交配前8週間投与し、その後雄は交配期間(4日間)終了後22日まで、雌は交配、妊娠及び分娩を経て離乳時(哺育22日)まで、F1動物は離乳直後から生後28日まで投与した結果、F0動物において体重の低値傾向が投与開始以降に10000ppm群の雄雌で、摂餌量の低値が妊娠期間の初期に10000ppm群の雌で認められた。また、肝臓重量の高値が5000ppm群の雌及び10000ppm群の雄雌で、肝臓の暗色化及び肥大が10000ppm群の雌で認められた。F1動物においては、体重の低値傾向が哺育期間の後期から生後28日まで10000ppm群の雄雌で認められた。以上の結果から、本試験の高用量は10000ppmとし、以下公比4で2500及び625ppmを設定した。

方法及び検査項目: 概要を次ページの表に示す。

親動物 (F0, F1)

一般状態:

1日1回ケージ越しに観察し、少なくとも週1回は触診による詳細な観察を行った。

体重及び摂餌量:

雄は投与開始日から剖検日まで週1回、雌は投与開始日から交尾成立まで週1回、交尾雌は妊娠0(交尾確認日)、7, 14, 20日及び哺育0(分娩日)、4, 7, 14, 21日に測定した。

被験物質摂取量:

被験物質混合飼料の濃度(設定濃度)、各動物の体重及び摂餌量から次式により算出した。

被験物質摂取量 (mg/kg/day) =

$$\frac{\text{摂餌量 (g/animal/day)} \times 10^3 \times \text{被験物質濃度 (ppm)} \times 10^{-6}}{\text{体重 (g)} \times 10^{-3}}$$

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。

試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	検査項目
F0	成育 (10 週)		一般状態観察, 体重 (週 1 回), 摂餌量 (週 1 回), 被験物質摂取量は, 投与期間通じて F0 及び F1 親動物の共通項目
	交配 (2 週)	雄雌各 1 対 1 で, 2 週間を限度に交配する (交尾確認: 腔栓あるいは腔垢中精子)	性周期検査 (交配前 2 週間), 交尾所要日数, 逸した発情期回数, 交尾率
	妊娠 (3 週)	妊娠 0 日 (交尾確認日)	雄親動物 精子検査 (運動精子率, 精子数, 精子形態異常), 病理解剖検査, 臓器重量, 病理組織学的検査
	出産	分娩時観察 (哺育 0 日)	受胎率, 出産率, 妊娠期間, 出産児数, 性別, 出生児生存率 (生後 0, 4 及び 21 日), 出生児体重 (生後 0, 4, 7, 14 及び 21 日), 外表異常, 反射反応性 (生後 19 日)
	哺育 (3 週)	同腹児の調整 (哺育 4 日)	
F1	離乳	哺育 21 日 児動物選抜: 各腹雄雌各 1 例	母動物 病理解剖検査, 臓器重量, 病理組織学的検査
	成育 (10 週)		性成熟検査 雄: 包皮分離 (生後 35 日~) 雌: 膈開口 (生後 27 日~)
	交配 (2 週)		(F0 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
	出産 哺育 (3 週)		雄親動物 (F0 世代に準ずる) 受胎率, 出産率, 妊娠期間, 出産児数, 性別, 出生児生存率 (生後 0, 4 及び 21 日), 出生児体重 (生後 0, 4, 7, 14 及び 21 日), 外表異常, 肛門・生殖結節間距離 (生後 4 日), 乳頭発育 (生後 12 日)
F2	離乳		母動物 (F0 世代に準ずる)

統計学的解析: 離乳までの出生児に関するデータは性比を除き母動物ごとに算出した数値を標本単位とした。
<検定手法及び検定対象項目>
Bartlett 法, ANOVA と Dunnett 検定または Kruskal-Wallis 検定と Dunnett 型の多重比較検定:
体重, 体重増加量, 摂餌量, 臓器重量, 着床数, 出産児数, 出生児数, 肛門・生殖結節間距離, 性周期日数
F 検定及び Student の t 検定または Aspin-Welch の t 検定: 精子細胞数, 精子数
Kruskal-Wallis 検定と Dunnett 型の多重比較検定:
交尾所要日数, 交尾成立までに逸した発情期の回数, 妊娠期間, 運動精子率, 出生率, 出産時生存率, 4 日生存率, 離乳率, 外表異常児の発現率, 乳頭発現異常児の発現率, 反射反応性, 性成熟 (膈開口, 包皮分離)
Wilcoxon の順位和検定: 精子形態異常の発現率
Fisher の直接確率法:
交尾率, 受胎率, 出産率, 性比 (雄/雌), 性周期異常動物の発現率, 外表異常児を有する母動物の発現率, 乳頭発現異常児を有する母動物の発現率

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。

性周期：

交配開始前の2週間、毎日午前中に雌動物の膣垢を採取して性周期を検査し、平均性周期日数を算出した。また、性周期が4~6日周期でないものは異常とした。なお、F0母動物の剖検時性周期検査の結果、10000 ppmを除く群では性周期の各ステージが混在し発情周期が再開したことを示唆したが、10000 ppm群では全例が発情休止期であったことから、F1母動物について哺育14~21日に性周期を検査し、さらに出生日が同一の各群の5例について、離乳後も投与を継続して3回の発情期が確認されるまで性周期を検査した（離乳後性周期検査F1母動物）。

生殖機能：

各群内で雄1雌1の交配对（F1動物は兄妹交配を避けた）を設け、14日間を限度に昼夜同居させた。雌の膣垢を毎日午前中に採取し、鏡検した。膣栓あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立と判断し、その日を妊娠0日とした。これらの結果から次の項目を算出した。

交尾所要日数：交配開始から交尾成立までに要した日数

交尾成立までに逸した発情期の回数（第1次交配）

交尾率(%)：(交尾動物数/同居動物数) × 100

受胎率(%)：(受胎動物数/交尾動物数) × 100

精子検査：

F0及びF1動物雄の全例について、精巣上体尾部の一部を切開して精子塊を採取し、精子自動解析装置（IVOS）を用いて、1個体あたり約200個の精子について測定し、運動精子率を算出した。また、対照群及び10000 ppm群について、精子自動解析装置を用いて精巣1gあたりの精子細胞数（homogenization-resistant spermatid）及び精巣上体尾部1gあたりの精子数を計測した。さらに、頭部と尾部が分離していない精子200個中の形態異常精子及び精子100個中の尾部のない精子（Tailless sperm）を計数し、その発現率を算出した。

分娩及び哺育の観察：

分娩の観察は、妊娠21日から25日まで1日2回（午前9時、午後4時）行い、午後4時までに分娩が完了した動物を当該日分娩とした。哺育の観察は1日1回とし、授乳、営巣、食殺の有無等を哺育21日まで観察した。分娩動物は哺育21日以降、非分娩動物は交尾確認後26日以降に子宮を摘出して着床数を検査した。これらの検査結果から以下の項目を算出した。

妊娠期間：妊娠0日から分娩完了までの日数

出産率(%)：(生存児出産雌数/妊娠雌数) × 100

出生率(%)：(出産生存児数/着床数) × 100

病理学的検査：

雄は交配期間終了後、雌は分娩動物を哺育21日、非分娩動物を交尾確認後26日以降、未交尾動物を交配期間終了後7日に剖検した。哺育21日に解剖する雌は剖検日の午前中に膣垢を採取し、性周期のステージを検査した。ただし、離乳後性周期検査F1母動物については、離乳後3回の発情回帰後、初回の発情休止期に剖検した。全動物の下記の器官・組織を採取、固定し保存した。また、計画解剖動物について、剖検時に下線の臓器重量を測定するとともに、剖検時の体重を基に相対重量（対体重比）を算出した。

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。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、精巣上体（全体及び尾部）、前立腺（腹葉）、精嚢（凝固腺を含む）、卵巣、卵管、子宮（頸部を含む）、陰、F1 母動物の乳腺、肉眼的異常部位

対照群と 10000 ppm 群について、雄雌の生殖器（雄：精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺、前立腺、雌：卵巣、卵管、子宮、陰）、肝臓、雌の下垂体、F1 動物の雄の甲状腺を常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。この結果、F0 及び F1 動物とも 10000 ppm 群の雄雌の肝臓及び雌の卵巣、子宮、陰に被験物質の影響と考えられる変化が認められたため、625 及び 2500 ppm 群の当該臓器について標本を作製し、検査した。離乳後性周期検査 F1 母動物についても同様に検査した。

児動物 (F1, F2)

観 察：

出生日（生後 0 日）に出産児数（生存児数、死亡児数）、性別及び外表異常の有無を検査した。その後は一般状態、死亡の有無を毎日観察した。生後 4 日に同腹児数を無作為に 8 匹（原則として雄雌同数）に調整した。同腹児数が 8 匹に満たない場合はそのまま飼育した。出生日、生後 4 及び 21 日（離乳日）の生存児数から次の項目を算出した。

出産時生存率(%) : (出産生存児数/出産児数) × 100

4 日生存率(%) : (生後 4 日の生存児数/出産生存児数) × 100

離乳率(%) : (離乳時の生存児数/児数調整後の生存児数) × 100

体 重：

生後 0, 4, 7, 14, 21 日に個体ごとに測定した。

反射反応性：

F1 動物の全例について、生後 19 日に次の項目を検査し、雄雌それぞれについて陽性率を算出した。

平面正向反射、角膜反射、聴覚性驚愕反応、疼痛反応、空中正向反射、瞳孔反射

肛門・生殖結節間距離：

F2 動物について、生後 4 日の児数調整後に肛門・生殖結節間距離を測定した。また、測定日の体重の 3 乗根で除した相対距離を算出した。

乳頭発育：

F2 動物について、生後 12 日に全例の乳頭の発現状況を検査した。

性成熟：

F1 動物について、生後 27 日から腔開口（雌）、35 日から包皮分離（雄）の発現日を検査した。包皮分離及び腔開口の発現日には体重を測定した。

病理学的検査：

離乳後の継代用に供する F1 動物（雄雌各 1 例/腹）を除き、全例を生後 21 日に剖検した。また、各腹雄雌各 1 例について、以下の臓器重量を測定するとともに、剖検日の体重を基に相対重量（対体重比）を算出した。臓器重量測定動物の測定器官の他、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣及び陰は固定し保存した。

脳、胸腺、脾臓、子宮

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： 親動物及び子動物の検査成績をそれぞれ表 1 及び表 2 に示す。

親動物への影響

親動物への一般毒性学的影響として、10000 ppm 群において F0 及び F1 動物の雄雌で体重増加抑制の全身影響ならびに F0 動物の雌及び F1 動物の雄雌で摂餌量減少が認められた。また、2500 ppm 群では F0 動物の雌で哺育期間の体重が低値を示した。病理学的検査において、雄では F0 動物の 10000 ppm 群、雌では F0 及び F1 動物の 2500 ppm 以上の群で肝臓重量の増加が認められ、組織学的検査では F0 及び F1 動物ともに 2500 ppm 以上の群の雄雌で小葉中心性肝細胞肥大として捉えられた。また、F0 及び F1 動物とも 10000 ppm 群の雌で卵巣及び子宮重量の減少ならびに組織学的検査において卵巣、子宮及び腔の萎縮が認められた。生殖器の変化について、F0 母動物では 10000 ppm を除く群の剖検時の性周期は各ステージが混在していたのに対し、10000 ppm 群では全例が発情休止期であった。また、F1 母動物について哺育中期から性周期を検査したところ、10000 ppm 群では発情周期の再開が遅延していた。しかし、F0 及び F1 動物ともに 10000 ppm 群の雌の交配前性周期には異常が認められなかった。

その他、10000 ppm 群で下垂体重量の減少が F0 及び F1 動物の雌、甲状腺重量の増加が F1 動物の雄で認められたが、組織学的変化を伴わない軽度の変化であった。

[申請者注 1]

卵巣の萎縮に関しては、組織学的検査の結果から卵巣の卵胞・黄体に変性や壊死などの細胞傷害は認められず、卵巣に対する直接的な影響を示す所見は認められなかった。また、閉鎖卵胞の増加などの変化も認められなかった。一般に哺乳期間において、親動物の摂餌量は増加し、それに伴い薬剤曝露量も増えることから、この時期に、親動物の全身影響は悪化し、これに起因した二次的な作用によって離乳時母動物の卵巣重量の減少ならびに卵巣萎縮が発現したと推察された。また、子宮重量の減少、膈・子宮の萎縮などの生殖器の変化はこの卵巣変化によるものと考えられた。

[申請者注 2]

本剤のラットを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験追加試験（資料 毒性-18、報告書作成年 2006 年、試験施設：以下 1 年間慢毒試験）では、10000 ppm の長期投与によって、本試験と同様に摂餌量低下に伴う体重増加抑制が認められ（対照比、最終体重 89%）、卵巣の絶対重量の低下が認められている（対照比 86.2%）。しかし、相対重量には影響はなかった。同じ 10000 ppm を投与した 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 毒性-9、報告書作成年：2002 年、試験施設：以下 90 日試験）では、1 年慢毒試験と同様の全身毒性（最終体重、対照比 90%）を示していたが、卵巣重量に変化はなく、またいずれの生殖器官にも影響は認められていない。本試験の各繁殖ステージ間（交尾前、妊娠期間、哺育期間）および上記 2 試験の薬物摂取量を比較すると、本試験哺育期間の 1 日あたり薬物摂取量は、母動物の摂餌量が増加するため、交尾前、妊娠期間に比べて 2 倍程度に増えていた。また、1 年慢毒試験、90 日間試験の薬物摂取量と比較しても、同様に 2 倍程度の差がある（下表）。よって、ラットに対する 10000 ppm の投与は、明らかな全身毒性を示す高薬量であるが、本試験における哺育期間ではさらに薬剤曝露が多くなった結果、他の試験に比べて全身毒性が強くと考えられる。

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。

<参考> 表. 本試験および各試験の 10000 ppm 群雌ラットにおける被験物質摂取量

試験名	時期	平均被験物質摂取量 (mg/kg/day)
本試験 (2 世代繁殖毒性試験)	F0 親動物 交配前	606.2
	F0 親動物 妊娠期間	531.6
	F0 親動物 哺育期間	1339.6
	F1 親動物 交配前	758.8
	F1 親動物 妊娠期間	583.1
	F1 親動物 哺育期間	1439.1
ラット 1 年間反復経口投与毒性試験	0-52 週	623.9
ラット 90 日間反復経口毒性試験	0-13 週	748.2

繁殖機能への影響:

繁殖機能への影響について、F0 及び F1 動物ともに性周期、精子検査（運動精子率、精子細胞数、精子数、精子形態異常発現率、Tailless sperm 発現率）、交尾能、受胎能、妊娠、分娩及び哺育のいずれにおいても被験物質に起因する変化は認められなかった。

児動物への影響

F1 及び F2 児動物ともに 10000 ppm 群の雄雌で出生時の低体重及び生後の体重増加抑制が認められた。また、10000 ppm 群では F1 及び F2 児動物の雄雌で脾臓重量の減少、F1 児動物の性成熟検査において雄の包皮分離及び雌の膈開口の遅延が観察された。しかし、脾臓重量については雄雌とも親動物では変化は認められず、過性の変化であった。また、性成熟の遅延についても、性周期及び精子検査を含めた生殖機能には異常がなく、F2 児動物について検査した肛門・生殖結節間距離及び乳頭発達においても異常は認められなかったことから、いずれも発育抑制に関連した変化と考えられた。その他、F1 児動物の反射・反応性検査において被験物質に起因する変化は認められなかった。

[申請者注 3]

児動物の発育抑制に関して、一般に哺乳後期の母動物の体重は徐々に減少するが、10000 ppm 投与群の母動物では体重の低下が対照に比べ小さくなっていたことから、哺乳期間の母動物の状態の悪化によって、授乳などの哺育が適切に行われず、児動物の発育が遅延したと推察された。しかし、成長後の繁殖機能に異常は認められていない。

以上のように、本試験の結果、親動物には一般毒性的影響が F0 及び F1 動物の雄雌ともに 2500 ppm 以上の用量で認められた。また、児動物への影響として、F1 及び F2 動物の雄雌ともに 10000 ppm で発育抑制が認められたが、10000 ppm においても F0 及び F1 動物の雄雌いずれにも繁殖機能への影響は認められなかった。したがって、本試験条件下における親動物の一般毒性的無毒性量は 625 ppm (F0 世代: 雄 35.20 mg/kg/day, 雌 39.35 mg/kg/day; F1 世代: 雄 43.55 mg/kg/day, 雌 45.73 mg/kg/day)、親動物の繁殖機能及び出生児の発育に対する無毒性量はそれぞれ 10000 ppm (F0 世代: 雄 572.4 mg/kg/day, 雌 606.2 mg/kg/day; F1 世代: 雄 740.4 mg/kg/day, 雌 758.8 mg/kg/day) 及び 2500 ppm (F0 世代: 雄 143.5 mg/kg/day, 雌 155.5 mg/kg/day; F1 世代: 雄 169.3 mg/kg/day, 雌 180.0 mg/kg/day) 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ミアイ化学工業株式会社にある。

表 1-1 親動物の結果概要(1)

世代			F0				F1			
投与群 (ppm)			0	625	2500	10000	0	625	2500	10000
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	雄	交配前	0	35.20	143.5	572.4	0	43.55	169.3	740.4
		交配中	0	39.35	155.5	606.2	0	45.73	180.0	758.8
	雌	妊娠期間	0	33.80	139.6	531.6	0	36.15	146.3	583.1
		哺育期間	0	87.15	358.8	1339.6	0	89.46	354.1	1439.1
動物数	雄		26	26	26	26	24	26	23	25
	雌		26	26	26	26	24	26	23	25
死亡数	雄		0	0	0	0	0	0	0	0
	雌		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態				-	-	-	-	-	-	-
体重 (g)	雄	交配前(投与10週)	502.3	498.5	500.0	461.9▼	514.3	506.4	499.6	424.2▼
		交配中(投与10週)	278.5	280.2	269.8	248.8▼	287.3	281.5	276.7	228.2▼
	雌	妊娠中(20日)	418.0	425.2	403.4	358.3▼	447.5	441.6	432.8	346.2▼
		哺育中(21日)	322.0	326.0	310.9	292.3▼	340.2	338.8	338.0	293.0▼
摂餌量 (g/日/匹)	雄	交配前(投与10週)	21.8	21.1	22.1	20.2▽a	25.5	24.5	24.4	22.2▼
		交配中(投与10週)	13.8	13.7	13.2	12.2▼	15.9	15.8	15.7	13.4▼
	雌	妊娠中(20日)	20.7	20.2	19.9	17.6▼	23.5	22.5	22.8	18.8▼
		哺育中(21日)	63.7	63.7	62.7	54.3▼	68.5	69.7	66.6	56.3▼
性周期	平均性周期日数	4.08	4.15	4.16	4.04	4.22	4.24	4.18	4.39	
	異常性周期動物	0/26	3/26	1/26	1/26	1/24	1/26	1/23	2/25	
生殖機能	交尾所要日数	2.9	2.2	2.7	2.3	2.9	3.2	2.5	2.1	
	逸した発情期の回数	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	交尾率 (%)	100.0 (26/26)	100.0 (26/26)	100.0 (26/26)	100.0 (26/26)	95.8 (23/24)	100.0 (26/26)	95.7 (22/23)	100.0 (25/25)	
	受胎率 (%)	92.3 (24/26)	100.0 (26/26)	96.2 (25/26)	96.2 (25/26)	95.7 (22/23)	100.0 (26/26)	86.4 (19/22)	88.0 (22/25)	
発情周期 再開検査	離乳前平均発情回帰日 (離乳前発情回帰動物数)					19.8 (13/22)	19.4 (12/26)	19.5 (8/19)	21.0 (1/22)	
	発情回帰日 (分娩後日齢)					17-22	18-25	17-23	21-28	
精子検査	運動精子率 (%)	91.7	90.9	90.7	90.0	92.6	92.3	91.2	92.4	
	精巣精子数 (×10 ⁶ /g)	78.44	NE	NE	73.13	88.78	NE	NE	95.19	
	精巣上体尾部精子数 (×10 ⁶ /g)	410.23	NE	NE	378.82	538.30	NE	NE	510.55	
	形態異常 (%)	0.73	NE	NE	0.60	0.31	NE	NE	0.64	
	Tailless sperm (%)	2.00	NE	NE	2.08	1.50	NE	NE	1.56	
分娩・哺育	妊娠期間 (日)	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.1	22.0	
	着床数	13.6	14.2	14.1	13.5	14.6	14.8	15.2	13.5	
	出生率 (%)	90.34	93.65	83.05	95.05	90.32	93.91	91.12	94.60	
	出産率 (%)	100.0 (24/24)	100.0 (26/26)	96.0 (24/25)	100.0 (25/25)	100.0 (22/22)	100.0 (26/26)	100.0 (19/19)	100.0 (22/22)	
	分娩異常				-	-	-	-	-	
	哺育異常				-	-	-	-	-	

- : 特記すべき所見なし, NE : 検査せず

△▽ : P<0.05, ▲▼ : P<0.01

a : 投与開始後1及び10週の摂餌量が有意な低値を示したが、一過性的変化であったことから毒性学的意義のない変化と判断した。

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 1-2 親動物の結果概要(2)

世代		F0				F1				
投与群 (ppm)		0	625	2500	10000	0	625	2500	10000	
臓器重量 雄	検査動物数	26	26	26	26	24	26	23	25	
	最終体重	552.7	544.1	549.0	512.2▽	621.6	600.9	597.5	518.8▼	
	上段： 実重量 (g)	脳	2.122	2.170	2.132	2.121	2.225	2.211	2.209	2.073▼
			0.388	0.402	0.390	0.418▲	0.361	0.370	0.371	0.402▲
	下段： 対体重比 (g%)	下垂体 ($\times 10^{-3}$)	14.60	14.89	14.94	13.68	15.97	15.32	15.20	13.78▼
			2.64	2.75	2.73	2.68	2.58	2.56	2.55	2.66
		甲状腺 ($\times 10^{-3}$)	30.67	29.58	28.58	29.88	27.48	27.38	28.07	29.39
			5.58	5.48	5.19	5.85	4.43	4.59	4.71	5.66▲
		肝臓	16.875	16.547	16.894	17.197	19.830	18.778	19.228	18.048▽
			3.046	3.040	3.077	3.349▲	3.185	3.126	3.215	3.481▲
		脾臓	0.808	0.820	0.800	0.725	0.948	0.923	0.897	0.736▼
			0.147	0.151	0.145	0.141	0.153	0.154	0.150	0.142
		腎臓	3.510	3.401	3.589	3.396	4.191	3.915	4.040	3.536▼
			0.636	0.628	0.654	0.665	0.674	0.654	0.677	0.682
		副腎 ($\times 10^{-3}$)	49.41	50.41	51.15	46.47	61.21	59.26	57.27	52.79▼
			9.00	9.30	9.34	9.12	9.83	9.89	9.60	10.22
		精巣	3.446	3.486	3.521	3.417	3.718	3.823	3.817	3.430▼
			0.625	0.645	0.643	0.673△	0.603	0.638	0.641	0.664▲
		前立腺	0.717	0.772	0.731	0.677	0.763	0.733	0.755	0.638
			0.130	0.143	0.133	0.133	0.124	0.122	0.127	0.123
		精囊	2.907	2.966	3.094	2.783	3.003	2.914	2.893	2.814
			0.528	0.549	0.566	0.547	0.486	0.487	0.488	0.545▲
		精巣上部	1.358	1.363	1.372	1.322	1.447	1.451	1.467	1.358▽
			0.247	0.252	0.250	0.261	0.234	0.242	0.246	0.263▲
	精巣上部尾部	0.295	0.296	0.298	0.287	0.305	0.303	0.303	0.281▼	
		0.0538	0.0547	0.0546	0.0567	0.049	0.050	0.051	0.055▲	
雌 a	検査動物数	24	26	24	25	17	21	14	17	
	最終体重	322.0	326.0	310.9	292.3▼	340.3	335.1	343.5	293.7▼	
	脳	1.953	1.990	1.959	1.903	2.000	2.013	2.009	1.836▼	
		0.610	0.613	0.631	0.653▲	0.590	0.602	0.588	0.629△	
	下垂体 ($\times 10^{-3}$)	17.50	18.13	18.57	14.62▼	17.36	17.63	18.27	14.25▼	
		5.45	5.58	5.98△	4.99▽	5.11	5.27	5.31	4.85	
	甲状腺 ($\times 10^{-3}$)	19.49	18.37	18.87	18.80	21.34	19.86	21.21	19.88	
		6.06	5.64	6.08	6.43	6.30	5.90	6.24	6.75	
	肝臓	12.334	12.655	13.198	18.219▲	12.822	12.776	14.211▲	17.987▲	
		3.826	3.892	4.246▲	6.228▲	3.772	3.817	4.146▲	6.124▲	
	脾臓	0.647	0.665	0.657	0.644	0.696	0.689	0.711	0.634	
		0.200	0.205	0.211	0.222△	0.205	0.204	0.209	0.216	
	腎臓	2.398	2.377	2.305	2.381	2.539	2.550	2.569	2.439	
		0.745	0.732	0.741	0.814▲	0.749	0.764	0.748	0.831▲	
	副腎 ($\times 10^{-3}$)	67.82	67.08	65.13	65.31	74.42	74.08	74.28	66.94	
		21.05	20.60	20.98	22.36	21.85	22.10	21.70	22.76	
卵巣 ($\times 10^{-3}$)	103.19	98.95	102.61	64.83▼	110.30	108.72	103.31	70.50▼		
	32.10	30.35	32.94	22.19▼	32.47	32.56	30.05	23.96▼		
子宮	0.473	0.520	0.469	0.315▼	0.501	0.492	0.470	0.321▼		
	0.148	0.162	0.153	0.107▼	0.147	0.147	0.139	0.111▽		

a: 計画解剖動物 (離乳時の剖検)

△▽: P<0.05, ▲▼: P<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。

表 1-3 親動物の結果概要(3)

世代			F0				F1				
投与群 (ppm)			0	625	2500	10000	0	625	2500	10000	
臓器重量 上段： 実重量 (g) 下段： 対体重比 (g%)	雌 b	検査動物数	/				5	5	5	5	
		最終体重					339.8	353.0	315.8	271.0▼	
	臓器重量	脳					2.066	2.038	1.980	1.876▼	
		下垂体 (×10 ⁻⁴)					0.608	0.578	0.626	0.692▲	
		甲状腺 (×10 ⁻³)					19.18	19.36	20.18	15.54	
		肝臓					5.64	5.50	6.40	5.74	
		脾臓					23.64	23.22	22.76	21.96	
		腎臓					7.00	6.58	7.24	8.12	
		副腎 (×10 ⁻³)					12.212	12.668	12.328	11.766	
		卵巣 (×10 ⁻³)					3.592	3.586	3.908	4.356▲	
		子宮					0.714	0.618	0.572▽	0.620	
							0.208	0.174	0.180	0.230	
							2.526	2.350	2.406	2.112	
	0.742	0.666	0.760	0.778							
剖 検	雄		—	—	—	—	—	—	—		
	雌 a	卵巣 小型化	0/24	0/26	0/24	4/25	0/17	0/21	0/14	1/17	
		肝臓 腫大	0/24	0/26	0/24	19/25	0/17	0/21	0/14	15/17	
	雌 b		—	—	—	—	—	—	—		
	組織所見	雄	肝臓 小葉中心性肝細胞肥大	0/26	0/26	1/26	23/26	0/24	0/26	4/23	19/25
		雌 a	肝臓 小葉中心性肝細胞肥大	0/24	0/26	7/24	25/25	0/17	0/21	2/14	17/17
			卵巣 萎縮	0/24	0/26	0/24	12/25	0/17	0/21	0/14	6/17
			子宮 萎縮	0/24	0/26	0/24	7/25	0/17	0/21	0/14	6/17
			膣 萎縮	0/24	0/26	0/24	10/25	0/17	0/21	0/14	4/17
		雌 b	肝臓 小葉中心性肝細胞肥大	—	—	—	—	0/5	0/5	0/5	4/5
			卵巣、子宮、膣	—	—	—	—	—	—	—	—

a: 計画解剖動物 (離乳時の剖検), b: 離乳後性周期検査 F1 母動物

—: 特記すべき所見なし

△▽: P<0.05, ▲▼: P<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。

表2 児動物の結果概要

世代			F1				F2			
投与群 (ppm)			0	625	2500	10000	0	625	2500	10000
検査腹数			24	26	24	25	22	26	19	22
出産児数			12.6	13.5	12.8	12.9	13.4	14.0	13.9	12.9
出産生存児数			12.3	13.3	12.6	12.8	13.2	13.8	13.9	12.7
性比 (雄/雌)			0.99 (151/152)	1.03 (178/172)	0.98 (151/154)	1.26 (180/143)	0.90 (140/155)	1.01 (183/181)	0.98 (131/134)	1.14 (151/133)
出生時生存率 (%)			97.31	99.23	98.34	99.08	98.72	98.84	99.56	98.41
4日生存率 (%)			98.78	99.73	99.33	97.75	99.37	98.57	98.82	98.22
離乳率 (%)			100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	98.86
外表異常			—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態										
体重 (g)	雄	生後0日 (出生日)	6.8	6.8	7.0	6.2▼	6.7	6.7	6.8	6.1▼
		生後4日	11.5	11.1	11.2	9.8▼	11.1	10.9	11.2	9.5▼
		生後21日	62.9	62.4	62.6	46.9▼	63.6	63.3	63.4	46.0▼
雌	生後0日 (出生日)	6.4	6.5	6.5	5.8▼	6.5	6.3	6.5	5.7▼	
	生後4日	11.1	10.6	10.7	9.3▼	10.8	10.5	10.7	9.0▼	
	生後21日	60.2	59.5	59.4	44.4▼	62.4	60.2	60.7	43.6▼	
反射反応性			—	—	—	—				
性成熟	雄	包皮分離	39.7	40.2	39.8	42.4▲				
		発現日体重 (g)	210.08	209.54	206.22	180.40▼				
雌	膻開口	発現日体重 (g)	32.2	32.6	33.2	38.0▲				
		発現日体重 (g)	118.50	119.12	120.52	118.80				
AGD	雄	実測値 (mm)					3.96	4.05	4.16	3.75▽
		補正值 (AGD/BW ^{1/3})					1.77	1.82	1.86△	1.76
雌	実測値 (mm)	補正值 (AGD/BW ^{1/3})					1.85	1.83	1.91	1.72▼
		補正值 (AGD/BW ^{1/3})					0.84	0.83	0.86	0.82
乳頭発達	雄	乳頭発現								—
	雌	乳頭消失					—	—	—	—
臓器重量 (3週齢)	雄	最終体重(g)	62.3	62.6	62.0	47.4▼	65.5	63.6	63.8	46.5▼
		脳	1.523	1.520	1.517	1.439▼	1.518	1.516	1.513	1.403▼
		胸腺 (×10 ⁻³)	2.455	2.448	2.457	3.051▲	2.322	2.393	2.382	3.051▲
		脾臓	0.307	0.323	0.299	0.192▼	0.338	0.308	0.335	0.184▼
		子宮 (×10 ⁻³)	0.490	0.515	0.480	0.402▼	0.517	0.486	0.523	0.395▼
	雌	最終体重	60.1	59.5	59.6	44.2▼	62.5	60.7	60.6	44.0▼
		脳	1.482	1.490	1.484	1.380▼	1.480	1.475	1.464	1.380▼
		胸腺 (×10 ⁻³)	2.478	2.525	2.503	3.138▲	2.373	2.441	2.423	3.169▲
		脾臓	0.300	0.307	0.295	0.188▼	0.311	0.312	0.315	0.168▼
		子宮 (×10 ⁻³)	0.500	0.516	0.493	0.422▼	0.496	0.515	0.518	0.381▼
剖検 (3週齢)			—	—	—	—	—	—	—	—

— : 特記すべき所見なし
 △▽ : P<0.05, ▲▼ : P<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。

(資料 毒性-21)

2) ピリミスルファンのラットにおける催奇形性試験

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 TGAI)

純度:

供試動物: ラット Crj:CD(SD)IGS 系, 1群雄雌各 25匹

試験開始時 11~12週齢, 妊娠0日の体重範囲 雌 228~293g

投与期間: 妊娠5~19日 2003年2月2日~2003年2月16日

投与方法:

投与量設定根拠: ラットを用いた催奇形性予備試験において 200 mg/kg/day 投与群で母動物に対する影響が示唆され 400 mg/kg/day 群では体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。胎児では生存胎児体重の低値及びそれに伴う骨化遅延が観察された。

これらの結果から、本試験では母動物に対する明らかな毒性が予想される 400 mg/kg を高用量に設定し、以下公比 4 で除し 100 及び 25 mg/kg を中及び低用量として設定した。

投与経路: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC-Na)水溶液に懸濁し、25, 100, 400 mg/kg の用量で妊娠5日から19日目までの16日間、毎日1回経口投与した。なお、交配において膣垢中に精子を確認した日を妊娠0日とした。

観察・検査項目:

母動物: 投与期間中は毎日3回(投与前、投与後30~60分及び180~210分)、その他の期間は毎日1回観察し、異常及び死亡の有無を記録した。体重は妊娠0, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19及び20日に測定し、妊娠0~5日及び5~20日の体重増加量を算出した。妊娠1, 3, 5, 8, 11, 14, 17及び20日に餌重量を測定し、平均1日摂餌量を算出した。また妊娠1~5日及び5~20日の累積摂餌量を算出した。妊娠20日に安楽死させ卵巣及び子宮を摘出し、妊娠黄体数、子宮重量、着床数、生存胎児数及び死胎児数を記録した。

胎児: 生存胎児は外表検査を行った後、性別判定を行い性比を算出した。また個体別の体重を測定し、1腹当たりの雄雌別平均体重を算出した。同腹児の約半数を個体識別してブアン液に固定し、頭部及び腹部はWilson変法で、胸部は西村の顕微解剖法を用いて内臓異常の有無を検査した。残りの同腹児は70%エチルアルコールに固定した後、アルシアンブルー8GSとアリザリンレッドSで染色した骨・軟骨二重染色骨格標本作製し、骨格異常及び変異の有無を検査した。

結果:

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。

母動物：

投与量 (mg/kg/day)		0	25	100	400	
1 群当たり雌動物数		25	25	25	25	
死亡雌動物数		0	0	0	0	
非妊娠動物数		0	0	1	2	
妊娠動物数		25	25	24	23	
生存胎児のある雌動物数		25	25	24	23	
一般状態：	脱毛	0/25	1/25	0/24	0/23	
	眼分泌物	0/25	1/25	0/24	0/23	
体重	妊娠 20 日	—	有意差なし	有意差なし	(対照群比 98%)	
体重増加量	妊娠 20 日	—	有意差なし	有意差なし	低値傾向 (対照群比 93%)	
摂餌量		—	有意差なし	有意差なし	妊娠 5-8, 8-11, 11-14 日及び 5-20 日 で有意な低値 5-20 日の累積 摂餌量が有意 な低値	
剖検所見：		—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
平均子宮重量(g)		75.0	76.8	77.8	74.5	
着床所見	平均妊娠黄体数	15.4	16.0	15.6	16.1	
	平均着床数	14.6	15.2	15.3	15.1	
	着床前胎児死亡率(%)	6.1	4.9	2.5	5.3	
	胚・胎児死亡率(%)	4.8	5.1	5.1	4.9	
	平均生存胎児数	13.9	14.4	14.5	14.3	
	性比 雄/(雄+雌)	0.521	0.537	0.485	0.524	
	胎児体重(g)：	雄	3.70	3.79	3.84	3.63
		雌	3.54	3.60	3.62	3.43
	胎盤重量(mg)	雄	421	436	427	426
雌		401	410	400	414	
検査胎児(腹)数		348 (25)	359 (25)	347 (24)	330 (23)	

Dunnett の多重比較検定または Steel の検定：体重，体重増加量，摂餌量，累積摂餌量，妊娠黄体率，着床数，生存胎児数，胎盤重量，性比，子宮重量，子宮比重量 (*：P≤0.05, **：P≤0.01)

Mann-Whitney の U 検定：着床前胚損失率，死胎児率 (*：P≤0.05, **：P≤0.01)

Fisher の直接確率検定法：剖検所見の発生率 (*：P≤0.05, **：P≤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。

胎児：

投与量 (mg/kg/day)	0	25	100	400
外表異常：				
検査胎児 (腹) 数	348 (25)	359 (25)	347 (24)	330 (23)
眼部隆起欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
髄膜脳瘤	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
外脳	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
完全脊椎裂	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
眼部隆起欠損	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
短肢	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
合計	1 (1)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
内臓異常：				
検査胎児 (腹) 数	166 (25)	172 (25)	167 (24)	158 (23)
左臍動脈遺残	1 (1)	1 (1)	1 (1)	3 (3)
肝臓形態異常	7 (4)	7 (6)	10 (6)	4 (4)
大脳出血	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
大脳形態異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
胸腺頸部残留	8 (8)	11 (7)	16 (10)	13 (10)
腎盂拡張	3 (2)	0 (0)	1 (1)	5 (3)
尿管拡張	2 (2)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
無眼球	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
内臓逆位	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
合計	19 (14)	19 (12)	26 (14)	22 (13)
骨格奇形				
検査胎児 (腹) 数	182 (25)	187 (25)	180 (24)	172 (23)
頭部の複合奇形	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
頸部の複合奇形	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
胸部の複合奇形	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
腰部の複合奇形	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
腰椎過剰	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
不連続肋骨	23 (12)	21 (14)	29 (15)	18 (13)
肋骨短小	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
胸骨分節の形態異常	5 (5)	0 *(0)	1 (1)	1 (1)
合計	29 (15)	23 (16)	30 (16)	19 (14)

Mann-Whitney の U 検定：外表異常発生率，内臓異常発生率，骨格変異発生率，骨格異常発生率，骨化遅延部位発生率，骨化進行度計量値 (仙尾椎骨化数を除く) (*: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$)

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。

胎児－続き：

投与量 (mg/kg/day)	0	25	100	400
骨格変異				
検査胎児 (腹) 数	182 (25)	187 (25)	180 (24)	172 (23)
胸椎体ダンベル上軟骨	23 (9)	17 (12)	13 (8)	20 (11)
胸椎体軟骨分離	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
頸肋	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
完全過剰肋骨	3 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
短小過剰肋骨	18 (9)	14 (8)	26 (10)	28 (13)
合計	43 (16)	27 (14)	38 (15)	46 (18)
骨化状態の観察				
検査胎児数 (腹) 数	182 (25)	187 (25)	180 (24)	172 (23)
恥骨の未骨化数	0 (0)	4* (4)	1 (1)	0 (0)
骨化状態の観察 (骨化進行度計量値)				
検査胎児 (腹) 数	182 (25)	187 (25)	180 (24)	172 (23)
胸骨分節の未骨化数	0.8	0.9	0.8	1.3**
胸骨分節の骨化遅延数	0.7	0.6	0.6	0.5*
頸椎椎体の骨化数	0.4	0.7	0.4	0.2*

Dunnell の多重比較検定または Steel の検定：骨化進行度計量値 (仙尾椎骨化数) (*: P<0.05, **: P<0.01)

Mann-Whitney の U 検定：外表異常発生率、内臓異常発生率、骨格変異発生率、骨格異常発生率、骨化遅延部位発生率、骨化進行度計量値 (仙尾椎骨化数を除く) (*: P<0.05, **: P<0.01)

母動物への影響： 死亡及び被験物質投与の影響と考えられる一般状態の変化は認められなかった。400 mg/kg 群で体重及び体重増加量に低値傾向が認められ、被験物質投与の影響が示唆された。摂餌量では 400 mg/kg 群で有意な低値が認められ、投与期間である 5～20 日の累積摂餌量も有意な低値を示したことから被験物質投与の影響と考えられた。剖検では肺の褐色斑点、回腸の憩室、等が散見されたが、観察された所見はいずれも単発性かつ少数例であるため被験物質投与との関連はないものと考えられた。妊娠子宮重量には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。

胎児への影響： 妊娠黄体数、着床数、生存胎児数、性比、死胚児数、胎児体重及び胎盤重量に被験物質投与の影響は認められなかった。外表異常、内臓異常、骨格奇形及び骨格変異の発現頻度には被験物質投与に関連する増加は認められなかった。骨格奇形では 25 mg/kg 群で胸骨分節の形態異常の発生率が有意な低値を示したが、被験物質投与とは関連のない変化であった。

骨化状態の観察では 400 mg/kg 群で胸骨分節の未骨化数が高値、胸骨分節の骨化遅延数及び頸椎椎体の骨化数が低値を示した。本試験においては 400 mg/kg 群の胎児体重には低値傾向は認められていないが、予備試験で実施した 400 mg/kg 投与で

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。

は胎児体重の低値が認められており、胎児の低体重に伴ったと考えられる胸骨分節の未骨化数の高値も認められている。同様に本試験の 400 mg/kg 群で観察された胸骨分節及び頸椎椎体の変化にも被験物質投与の影響が示唆され、軽度の胎児発育抑制作用が疑われた。25 mg/kg 群で恥骨の未骨化数の発生率が有意な高値を示したが、用量に依存しない変化であった。

以上のことから、被験物質の投与により、母動物に対し 400 mg/kg/day 投与で摂餌量の低値及び体重増加抑制傾向が認められ、母動物に対する無毒性量は 100 mg/kg/day であった。胎児に対しては、400 mg/kg/day 投与で骨化遅延が示唆され、胎児発育抑制が疑われたため無毒性量は 100 mg/kg/day と判断された。

被験物質の 400 mg/kg/day 投与による、ラットへの催奇形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-22)

3) ピリミスルファンのウサギにおける催奇形性試験

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 TGAI)

純度:

供試動物: ウサギ Kbl:NZW系, 雌 1群各22匹

試験開始時18週齢, 妊娠0日の体重範囲: 3.0~3.7 kg

投与期間: 妊娠6~28日 投与開始日2003年7月14日

投与方法:

投与量設定根拠: ウサギを用いた催奇形性予備試験において500 mg/kg/day 投与群で母動物に対し体重増加抑制傾向及び摂餌量の低値, 胎児に対しては体重の低下傾向が認められた。

これらの結果から, 本試験で500 mg/kgを高用量に設定し, 以下約公比4で除し120及び30 mg/kgを中及び低用量として設定した。

投与経路: 被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC・Na)水溶液に懸濁し, 30, 120, 500 mg/kgの用量で妊娠6日から28日目までの23日間, 毎日1回経口投与した。なお, 交配において膣垢中に精子を確認した日を妊娠0日とした。

観察・検査項目:

母動物: 投与期間中は毎日3回(投与前, 投与後30~60分及び180~210分), その他の期間は毎日1回観察し, 異常及び死亡の有無を記録した。体重は妊娠0, 3, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27及び29日に測定し, 妊娠0~6日及び6~29日の体重増加量を算出した。摂餌量は妊娠2, 4, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27及び29日に餌重量を測定し, 平均1日摂餌量を算出した。また妊娠2~6日及び6~29日の累積摂餌量を算出した。妊娠29日に安楽死させ卵巣及び子宮を摘出し, 妊娠黄体数, 子宮重量, 着床数, 生存胎児数及び死胎児数を記録した。死亡動物は直ちに病理解剖を行った。また早産動物及び流産動物は安楽死させ解剖し, 主要な臓器及び異常が認められた部位を10%中性緩衝ホルマリン液に固定し保管した。

胎児: 生存胎児は外表検査を行った後, 個体別の体重を測定し, 1腹当たりの雄雌別平均体重を算出した。測定後の生存胎児は安楽死させ, 性別判定を行い性比を算出した。生存胎児は全例について胸・腹部を切開し, 脈管系及び胸・腹部器官の異常を肉眼的に観察した。心臓及び腎臓については10%中性緩衝ホルマリン液に固定後, 断面を入れて異常の有無を検査した。各群約1/2の胎児については頭部を切斷レゾアン液に固定し, 頭部についてはWilson変法を用いて検査した。胸・腹部器官を

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。

摘出した胎児はDawson法に準じてアリザリンレッドSで染色した染色骨格透明標本を作製し、骨格異常及び変異の有無を検査した。

結果：

母動物：

投与量 (mg/kg/day)		0	30	120	500	
1群当たり雌動物数		22	22	22	22	
非妊娠動物数		0	0	1	2	
妊娠動物数		22	22	21	20	
死亡雌動物数		1	0	1	1	
流産動物数		0	0	0	4	
早産動物数		0	0	0	2	
生存胎児のある雌動物数		21	22	20	13	
一般状態： 泌尿・生殖器出血		0/22	0/22	0/21	4/20	
体重		—	有意差なし	有意差なし	低値傾向 (対照群比 89%)	
体重増加量	妊娠 6-29 日	—	有意差なし	有意差なし	低値傾向 (対照群比 71%)	
摂餌量		—	有意差なし	有意差なし	妊娠 6-7, 7-9, 9-11, 11-13, 13-15, 15-17, 17-19 及び 19-21 日 平均 1 日摂餌量が有意の低値	
剖検所見：		—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
平均子宮重量(g)		451.8	483.2	445.8	396.7	
着床所見	平均妊娠黄体数	9.1	9.3	8.6	9.3	
	平均着床数	8.3	8.5	8.0	7.3	
	着床前胚胎児死亡率(%)	9.7	9.9	7.7	22.7**	
	胚・胎児死亡率(%)	3.3	3.0	4.3	9.7	
	平均生存胎児数	8.0	8.3	7.7	6.5	
	性比 雄/(雄+雌)	0.483	0.531	0.538	0.451	
	胎児体重(g)：	雄	41.67	42.16	42.56	43.10
		雌	40.07	41.33	41.68	40.54
	胎盤重量(mg)	雄	5795	5887	5758	6061
雌		5384	5638	5468	5675	
検査胎児(腹)数		168 (21)	182 (22)	171 (20)	121 (13)	

Dunnnett の多重比較検定または Steel の検定：体重、体重増加量、摂餌量、累積摂餌量、妊娠黄体率、着床数、生存胎児数、胎盤重量、性比、子宮重量、子宮比重量 (*：P<0.05, **：P<0.01)

Mann-Whitney の U 検定：着床前胚損失率、死胎児率 (*：P<0.05, **：P<0.01)

Fisher の直接確率検定法：剖検所見の発生率 (*：P<0.05, **：P<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ミアイ化学工業株式会社にある。

胎児：

投与量 (mg/kg/day)	0	30	120	500
外表異常：				
検査胎児（腹）数	168 (21)	182 (22)	153 (20)	84 (13)
局所性浮腫	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
外脳	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
眼球突出	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
眼瞼開存	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
短吻	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
口蓋裂	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
過屈曲肢	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
欠肢・欠趾	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
曲尾	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
臍帯ヘルニア	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
合計	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
内臓異常（頭部を除く）：				
検査胎児（腹）数	168 (21)	182 (22)	153 (20)	84 (13)
巨心	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
心室拡張	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
肺動脈起始異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
肝臓腫大	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
胸腺頸部残留	11 (6)	10 (7)	13 (7)	2 (2)
腹部液体貯留	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
合計	11 (6)	10 (7)	14 (8)	2 (2)
内臓異常（頭部）：				
検査胎児（腹）数	89 (21)	96 (22)	81 (20)	46 (13)
大脳形態異常	2 (2)	3 (2)	0 (0)	1 (1)
小脳形態異常	2 (2)	4 (3)	1 (1)	2 (2)
合計	2 (2)	5 (3)	1 (1)	2 (2)

Mann-Whitney の U 検定：外表異常発生率，内臓異常発生率，骨格変異発生率，骨格異常発生率，骨化遅延部位発生率，骨化進行度計量値（仙尾椎骨化数を除く）（*：P≤0.05，**：P≤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ミアイ化学工業株式会社にある。

胎児—続き：

投与量 (mg/kg/day)	0	30	120	500
骨格奇形				
検査胎児 (腹) 数	168 (21)	182 (22)	153 (20)	84 (13)
頭部の複合異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
頸椎弓癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
頸椎弓形態異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
頸椎体癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
頸椎体半椎体	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
頸椎欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸椎弓欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸椎弓癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸椎体癒合	1 (1)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
胸椎半椎	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腰椎弓欠損	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腰椎体半椎対	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
前肢の中手骨欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
前肢の指節骨欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
後肢の趾節骨欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
肋骨欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
肋骨分岐	2 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
肋骨癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
ノブ状肋骨	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
胸骨分節癒合	1 (1)	0 (0)	1 (1)	3 (3)
胸骨分節形態異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
合計	6 (4)	0* (0)	3 (3)	7 (5)
合計の発生率	3.4%	0.0%*	2.2%	8.2%
骨格変異				
検査胎児 (腹) 数	168 (21)	182 (22)	153 (20)	84 (13)
腰椎数の変異	49 (16)	43 (16)	24 (13)	23 (9)
完全過剰肋骨	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
短小過剰肋骨	154 (21)	140 (22)	115 (20)	63 (13)
短小過剰肋骨の発生率	91.7%	76.9%*	75.2%*	75.0%*
合計	154 (21)	140 (22)	115 (20)	63 (13)
合計の発生率	90.5	77.1*	76.8*	72.4*

Dunnett の多重比較検定または Steel の検定：骨化進行度計量値 (仙尾椎骨化数) (*: P<0.05, **: P<0.01)

Mann-Whitney の U 検定：外表異常発生率, 内臓異常発生率, 骨格変異発生率, 骨格異常発生率, 骨化遅延部位発生率, 骨化進行度計量値 (仙尾椎骨化数を除く) (*: P<0.05, **: P<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。

胎児—続き：

投与量 (mg/kg/day)	0	30	120	500
骨化状態の観察				
検査胎児数 (腹) 数	168 (21)	182 (22)	153 (20)	84 (13)
舌骨の骨化遅延	35 (16)	35 (15)	21 (9)	20 (11)
恥骨の骨化遅延	5 (5)	0 (0)	3 (3)	1 (1)
恥骨の骨化遅延の発生率	3.0%	0.0%*	2.0%	1.2%

Dunnett の多重比較検定または Steel の検定：骨化進行度計量値 (仙尾椎骨化数) (*: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$)

Mann-Whitney の U 検定：外表異常発生率, 内臓異常発生率, 骨格変異発生率, 骨格異常発生率, 骨化遅延部位発生率, 骨化進行度計量値 (仙尾椎骨化数を除く) (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$)

母動物： 500 mg/kg 群で死亡動物, 流産動物及び早産動物がそれぞれ 1 (妊娠 19 日), 4 (妊娠 22, 23, 25 及び 26 日), 2 (共に妊娠 29 日) 例に観察された。これらの動物では摂餌量の低値あるいは無摂餌が数日間続き, 体重減少あるいは増加抑制が認められたことから, 母体が衰弱し妊娠維持が不能になったものであり, 試験物質の直接的な影響ではなく 2 次的な変化であると考えられた。また, 対照群及び 120 mg/kg 群で各 1 例で投与過誤により死亡した。一般状態の変化として泌尿・生殖器出血が 500 mg/kg 群で 4 例に認められたが, 4 例中 3 例は流産をおこす前に発現しており, 流産に関連した子宮内の出血であると考えられた。体重では, 500 mg/kg 群で有意差はないものの体重及び体重増加量が低値傾向を示した。摂餌量では 500 mg/kg 群で投与期間の大部分で平均 1 日摂取量に有意差が認められた。剖検では被験物質投与に関連する所見として胸腺の萎縮が 500 mg/kg 群で 1 例に認められたが, 母動物の衰弱に伴う 2 次的な影響と考えられた。他の所見はいずれも自然発生病変または単発性の発現であった。

胎児への影響： 500 mg/kg 群で着床前胚損失率が対照群より有意な高値を示したが, 妊娠黄体数および着床数に明らかな差が認められず, 被験物質投与の影響とは考えなかった。また, 死亡児率及び死胚児率が高値傾向を示したが, 1 母体 (動物番号 2312) で両項目ともに 60% を示したことに起因していた。妊娠黄体数, 着床数, 生存胎児数, 性比, 死胚児数, 生存胎児重量及び胎盤重量には対照群と差が認められなかった。

外表検査では異常を伴う胎児が対照群, 120 及び 500 mg/kg 群で 1 例ずつ認められたが, いずれの所見も自然発生性の異常として知られており被験物質投与の影響とは考えなかった。内臓検査では投与に関連する影響は認められなかった。骨格検査では 500 mg/kg 群で骨格異常を伴う胎児の発生率が高値傾向を示したが, この群の脊椎に関連する異常所見が同一動物からの胎児に偏って発現していることから偶発的な変化と考えられた。全ての投与群で骨格変異を伴う胎児及び短小過剰肋骨の発生率が対照群より低値を示したが, 投与による悪影響とは考えなかった。骨化状

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。

熊の観察ではいずれの観察項目においても投与の影響は認められなかった。

以上のことから、被験物質の投与により、母動物に 500 mg/kg/day 投与で摂餌量の低値及び体重増加抑制傾向が認められた。衰弱動物に対しては死亡させる可能性が、また摂餌量の低値に起因した 2 次的な影響として流産及び早産が認められ、母動物に対する無毒性量は 120 mg/kg/day と判断された。胎児の発生及び発育に対する無毒性量は 500 mg/kg/day と判断された。

被験物質の 500 mg/kg/day 投与による、ウサギへの催奇形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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(13) 変異原性

(資料 毒性-23)

1) ピリミスルファン[®]の細菌を用いる復帰突然変異試験

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：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、用量設定試験では 0.00941~5000 µg/プレート[®]の範囲の 7~8 用量 (公比 3) で、復帰突然変異試験 (本試験) では 0.0847~5000 µg/プレート[®]の範囲の 5~7 用量 (公比 3) で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 被験物質の試験菌株に対する生育阻害作用及び変異原性に関する情報を得るため、0.5, 5.0, 50, 500, 5000 µg/プレート[®]の用量で試験を実施した。その結果、生育阻害が認められなかった WP2uvrA ではテストガイドラインの限界用量である 5000 µg/プレート[®]を最高用量とし、その他の菌株については表中に示す復帰突然変異コロニー数に顕著な減少が認められると予想される用量を最高用量とした。

試験結果： 復帰突然変異試験 (本試験) の結果を次表に示した。

被験物質処理群では 0.0941~5000 µg/プレート[®]のいずれの試験用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9 Mix) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、ピリミスルファン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は有しないものと判断された。

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ミアイ化学工業株式会社にある。

化合物	用量 (μg /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾	0	—	102	8	22	24	4
KIH-5996 TGAI	0.0847	—					4
	0.254	—		8			5
	0.762	—	111	10		31	4
	2.29	—	105	8		23	4
	6.86	—	99	9		25	4
	20.6	—	83	7		25	3
	61.7	—	24	1	24	8	0
	185	—	1	0	24	1	
	556	—	0 ³⁾		20	0	
	1667	—			21		
5000	—			20			
陽 性 対 照	AF-2 ²⁾	0.01	473		110	588	
		0.1					
	NaN ₃ ²⁾	0.5	502				
	9-AA ²⁾	80					
DMSO ¹⁾	0	+	112	9	21	38	14
KIH-5996 TGAI	0.0847	+					14
	0.254	+		10			14
	0.762	+	118	10		32	13
	2.29	+	100	9		38	10
	6.86	+	106	13		33	9
	20.6	+	91	9		26	5
	61.7	+	37	3	23	15	0
	185	+	5	0	20	3	
	556	+	0		22	0	
	1667	+			21		
5000	+			21			
陽 性 対 照	2-AA ²⁾	0.5	796			371	
		1					
		2	245				123
		10					

注 1) 溶媒対照

2) AF-2: 2-(2-フリル) 3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN₃: アジ化ナトリウム, 9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩, 2-AA: 2-アミノアントラセン

3) 生育阻害が観察された。

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-24)

2) ビリミスルファンの哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験機関：

報告書作成年：2004年〔GLP対応〕

被験物質： ビリミスルファン原体 (KIH-5996 TGAT)

純度：

試験方法： チャイニーズ・ハムスター肺由来の線維芽細胞株 (CHL/1C) を用い、1) 代謝活性化 (+S9 Mix: ラット肝ミクロソーム, S9 Mix 添加) 及び非活性化 (-S9 Mix; S9 Mix 非添加) によって6時間暴露 (短時間処理)、2) 非活性化により24時間暴露 (連続処理法24時間処理)、3) 非活性化により48時間暴露 (連続処理法48時間処理) の暴露条件で染色体異常誘発性を検定した。被験物質はDMSOに溶解して用いた。連続処理法48時間処理では1050 µg/mL以上の用量で細胞増殖を50%以上抑制したが、確実に細胞増殖を50%以上抑制することが予想される2100 µg/mLを最高用量とし、131~2100 µg/mLの計5用量 (公比2) とした。

観察は1用量あたり200個の分裂中期像について行った

用量設定根拠： 細胞増殖抑制試験の結果、短時間処理及び連続処理法24時間処理において、いずれの場合も最高用量の10 mMに相当する4200 µg/mLで細胞増殖を50%以上抑制しなかったため、染色体異常試験においても4200 µg/mLを最高用量とし、以下2100、1050及び525 µg/mLの4用量 (公比2) を設定した。

連続処理法48時間処理では、1050 µg/mL以上の用量で細胞増殖を50%以上抑制したが、試験間の振れを考慮し確実に細胞増殖を50%以上抑制することが予想される2100 µg/mLを最高用量とし、131~2100 µg/mLの計5用量 (公比2) を設定した。

試験結果： 染色体異常試験 (本試験) の結果を次ページ以降の表に示した。

短時間処理法： -S9 Mix 処理、+S9 Mix 処理及び連続処理法：24時間処理ともに被験物質処理群では構造異常及び数的異常を含む染色体異常細胞出現頻度の増加は認められなかった。連続処理法：48時間処理では被験物質処理群における染色体構造異常誘発細胞の出現頻度が用量相関的に溶媒対照群よりやや高値を示した。同様に倍数性細胞の出現頻度は最高用量の2100 µg/mLでやや高値を示した。構造異常についてはCochran Armitageの傾向検定で有意となり、染色体構造異常誘発細胞の出現頻度ではFisherの正確確率検定法で2100 µg/mLで有意となったが、その頻度は「擬陽性」の判定値5%未満であること、及び背景値の範囲内であることから統計結果には生物学的な意義はないものと考えられた。

一方、陽性対照物質は各処理法において染色体構造異常を高頻度に誘発した。

以上の結果より、被験物質は代謝活性化を含む本試験条件下で染色体異常誘発性は有しないものと判断された。

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。

処理法	S9 Mixの有無	処理時間 (h)	標本作成時間 (h)	薬剤名	濃度 (µg/mL)	細胞生存率 (%)	観察細胞数	構造異常					数的異常 (%)	判定		
								ギャップ	染色分体		染色体				その他	異常細胞 -G
									切断	交換	切断	交換				
短時間処理	無	6	18	溶媒対照 (DMSO)	—	100	200	1	1	0	0	0	0	0.5	0.5	—
				ピリミスルファン	1050	120.6	200	1	0	0	0	0	0	0.0	0.0	
					2100 ^{a1}	96.7	200	2	0	0	0	0	0	0.0	0.0	
					4200 ^{a1}	79.7	200	4	0	1	0	0	0	0.5	1.0	
	陽性対照 (MMC)	0.1	92.4	200	19	12	50	1	0	0	30.0*	0.0				
	有	6	18	溶媒対照 (DMSO)	—	100	200	0	0	0	0	1	0	0.5	0.0	—
				ピリミスルファン	1050	85.7	200	0	0	0	0	0	0	0.0	0.5	
					2100 ^{a1}	51.2	200	1	0	0	0	0	0	0.0	0.0	
					4200 ^{a1}	52.8	200	3	0	2	0	0	0	1.0	1.5	
				陽性対照 (CP)	12.5	77.2	200	5	15	58	0	0	0	32.0*	0.0	

Fisher の正確確率検定法 (*: p≤0.05)

その他: G: ギャップのみの異常 G: ギャップを除く異常

DMSO: ジメチルスルホキシド MMC: マイトマイシンC CP: シクロホスファミド

数的異常: 倍数体細胞

判定: - 陰性 (5%未満); ± 擬陽性 (5%以上 10%未満); + 陽性 (10%以上)

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。

処理法	S9 Mixの有無	処理時間(h)	標本作成時間(h)	化合物	濃度(μg/mL)	細胞生存率(%)	観察細胞数	構造異常						数的異常(%)	判定		
								ギャップ	染色分体		染色体		その他			異常細胞-G	
									切断	交換	切断	交換					
連続処理 24時間	無	24	18	溶媒対照(DMSO)	-	100	200	1	0	0	0	0	0	0.0	0.0	-	
				ピリミスルファン	525	92.5	200	1	0	1	0	0	0	0	0.5		0.5
					1050	102.0	200	5	0	0	0	0	0	0	0.0		1.0
					2100*	57.4	200	3	0	0	0	0	0	0	0.0		0.0
					4200*	41.2	200	3	1	0	0	0	0	0	0.5		0.5
陽性対照(MMC)	0.05	100.3	200	12	9	39	0	0	0	0	23.5*	0.0					
連続処理 48時間	無	48	18	溶媒対照(DMSO)	-	100	200	1	0	0	0	1	0	0.5*	0.0	-	
				ピリミスルファン	263	118.4	200	3	2	2	0	0	0	1.5	0.0		
					525	107.0	200	2	2	1	0	0	0	1.5	0.0		
					1050	88.8	200	5	3	3	0	0	0	2.5	0.0		
					2100*	48.4	200	3	5	2	0	0	0	3.5*	1.5		
陽性対照(MMC)	0.025	75.3	200	13	28	56	0	0	0	35.5*	0.0						

Fisherの正確確率検定法 (*: p<0.05), Cochran Armitageの傾向検定 (†: p<0.05)

-G: ギャップを除く構造異常, 数的異常: 倍数体細胞

DMSO: ジメチルスルホキシド, MMC: マイトマイシンC, CP: シクロホスファミド

判定: -: 陰性 (5%未満), ±: 擬陽性 (5%以上10%未満), +: 陽性 (10%以上)

* 析出物が認められた。

(参考) 表. チャイニーズ・ハムスター肺由来の線維芽細胞株 (CHL/IU) における背景データ

試験群	試験系	試験数	gapを除く異常細胞率(%)			許容範囲	
			平均値±S.D.	最小値	最大値	下限値	上限値
陰性対照群	短時間処理(-S9 mix)	156	0.58 ± 0.66	0.0	2.0	-	5.00*
	短時間処理(+S9 mix)	160	0.35 ± 0.58	0.0	3.0	-	5.00*
	24時間連続処理(-S9 mix)	116	0.75 ± 0.81	0.0	3.0	-	5.00*
	48時間連続処理(-S9 mix)	20	0.45 ± 0.83	0.0	1.0	-	5.00*

*: 上限値は有効性の判定基準値である

陰性対照群における溶媒には, 生理食塩水, DMSO, 1.0% CMC等が含まれる

試験期間: 2001年1月9日~2003年11月25日

(48時間連続処理のみ1999年12月14日~2003年2月19日)

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-25)

3) ピリミスルファンのマウスを用いる小核試験

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 (RIH-5996 TGA1)

純度：

供試動物： マウス BDF₁ (C57BL/6 x DBA/2), 1群雄 6匹 (最高用量のみ 8匹)

9週齢, 投与開始時体重：雄 25.5~29.0 g

試験方法： 被験物質を 0.5 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し, 250, 500, 1000 及び 2000 mg/kg の用量で 1日1回 24時間間隔で 2日間連続経口投与を行った。最終投与後 24時間に動物を安楽死させ, 大腿骨を摘出して骨髓塗抹標本作製した。陽性対照群にはマイトマイシン C (MMC) 2 mg/kg を単回投与し, 24時間後に同様に骨髓塗抹標本作製した。

各動物当たり 2000 個の多染性赤血球 (PCE) を観察し, 小核多染性赤血球 (MNPCE) 数を計測して MNPCE の出現頻度を求めた。また観察赤血球 (正染性+多染性) 500 個中の多染性赤血球数についても計測した。

用量設定根拠： 125, 250, 500 及び 1000 mg/kg の 2日連続経口投与を行った用量設定試験の結果, いずれの投与群においても死亡例が認められなかったことから, 限界用量である 2000 mg/kg を最高用量とし, 公比 2 で除した 1000, 500 及び 250 mg/kg の 4 用量とした。

試験結果： 結果を次ページの表に示した。いずれの投与群においても死亡は認められなかったが, 用量相関的に体重増加抑制傾向が認められた。また一般状態では 2000 mg/kg 群で初回あるいは最終投与 1.5 時間後に振戦が散見されたが投与 24 時間後には回復した。被験物質投与群における小核多染性赤血球 (MNPCE) の出現頻度はいずれの用量においても溶媒対照群と同等の値を示した。また観察赤血球中の多染性赤血球 (PCE) 比については中間用量以上で溶媒対照と比べ低値を示し, 1000 mg/kg 群では有意差が認められ, 骨髓細胞の分裂抑制作用が確認された。陽性対照群の MNPCE 出現頻度は溶媒対照群と比べ有意に増加した。

以上の結果から本試験条件下において被験物質はマウス骨髓細胞に対して小核を誘発しないものと判断された。

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。

化合物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNPCE[%] (平均±SD)	MNPCE 範囲 /2000PCE	PCE/(PCE+NCE) [%] (平均±SD)
溶媒対照 (CMC・Na)		5	0.23 ± 0.09	2 - 7	56.9 ± 5.6
ピリミルスルファン	500	5	0.20 ± 0.13	2 - 8	61.7 ± 8.0
	1000	5	0.27 ± 0.10	2 - 7	46.5 ± 4.0 *(D)
	2000	5	0.19 ± 0.07	3 - 6	48.2 ± 6.3
MMC	2	5	6.19 ± 1.65 ** (CB)	94 - 168	47.8 ± 2.0

PCE：多染性赤血球 NCE：正染性赤血球 MNPCE：小核を有する多染性赤血球

(CB)：条件付二項検定 (Kastenbaum and Bowman の推計学的方法) (**：p≤0.01)

(D)：Dunnett の多重検定 (*：p≤0.05)

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-26)

(14) 生態機能への影響に関する試験

ピリミスルファン的一般薬理試験

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:

1) ラットの一般状態の観察

供試動物: ラット (Slc:SD) 試験1及び2: 1群雄5匹

試験開始時7週齢, 体重範囲: 試験1: 185~198g, 試験2: 190~207g

試験方法: 被験物質を0.5w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC・Na)水溶液に懸濁し, 試験1では0, 400, 800及び1200mg/kg, 試験2では0, 100, 300及び400mg/kgの用量で胃ゾンデを用いて経口投与した。Irwinの多次元観察法を参考に, 投与後24時間までの一般状態について観察を行った。

試験結果: 試験1においては400, 800, 1200mg/kg群で音に対する反応の亢進(驚愕反射)がそれぞれ1, 2及び4例に認められ, 1200mg/kg群では驚愕反射の発現数が対照群に比べて有意な高値を示した。その他の項目に被験物質投与による影響は認められなかった。試験2では, 400mg/kg群で1例に驚愕反射が認められたが, 他の投与群では驚愕反射は認められなかった。他の項目については被験物質投与の影響は認められなかった。

[申請者註:クマイ化学工業(株)生物科学研究所において実施したラット及びマウスを用いた単回経口投与試験(1, 2)において, ラットでは850, 1000, 1300mg/kg群では投与1~2時間後から立毛, 音に対する反応の亢進, 痙攣等が観察され, 500mg/kg群では異常な所見は見られなかった。一方, マウスでは1300mg/kg群でも異常な所見が観察されなかったことから, 一般状態の観察にはラットを用いた。]

[申請者註:ラットを用いた急性神経毒性試験においては780mg/kgで音に対する反応の亢進, 振戦等(雄:10/10例, 雌:7/10例)が認められ, 300mg/kgでは一般状態に変化が見られなかった(資料 毒性-7)。本試験においては400mg/kgで試験1及び試験2ともに1/5例に音に対する反応の亢進が認められているが, 300mg/kgでは一般状態に変化は認められていない。以上のことから400mg/kgは一部の個体(2/10例)に一般状態(音に対する反応の亢進)への影響が認められる毒性用量であるが, 300mg/kgは無毒性量であると考えられた。]

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ミアイ化学工業株式会社にある。

2) マウス及びラットの中樞神経系に対する作用

2-1) マウスの自発運動量に及ぼす影響

供試動物： マウス (Slc:ICR) 1群雄 6匹

試験開始時 6週齢, 体重範囲: 26.8~34.2 g

試験方法： 被験物質を 0.5 w/v% CMC·Na 水溶液に懸濁し, 0, 200, 600 及び 2000 mg/kg の用量でディスポーザブルシリンジを用いて経口投与した。投与直後から投与後 180 分まで自発運動量を自発運動測定装置で測定し, 30 分毎の自発運動量を集計した。

試験結果： いずれの集計時間においても対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。なお, 2000 mg/kg 群では投与後 90~180 分の間に 2 例が死亡した。

2-2) ラットに対する痙攣誘発作用

供試動物： ラット (Slc:SD) 1群雄 8匹

試験開始時 7~8 週齢, 体重範囲: 194~224 g

試験方法： 被験物質を 0.5 w/v% CMC·Na 水溶液に懸濁し, 0, 400, 800 及び 1200 mg/kg の用量で胃ゾンデを用いて経口投与した。投与後 60, 180 分及び 24 時間に動物の両耳介より 36 mA の電流を 0.8 秒間通電する電撃刺激を与え, 発現する痙攣及び死亡の有無を観察した。

試験結果： 投与後 60 分及び 120 分に 1200 mg/kg 群で強直性伸展痙攣の発現数が高値傾向を示し, 被験物質投与による痙攣増強作用と考えられたが, その作用は投与後 24 時間では消失した。

2-3) ラットの正常体温に及ぼす影響

供試動物： ラット (Slc:SD) 1群雄 5匹

試験開始時 7~8 週齢, 体重範囲: 182~227 g

試験方法： 被験物質を 0.5 w/v% CMC·Na 水溶液に懸濁し, 0, 400, 800 及び 1200 mg/kg の用量で胃ゾンデを用いて経口投与した。投与後 30, 60, 120 及び 180 分に直腸温を測定した。

試験結果： 800 及び 1200 mg/kg 群で投与後 120 分以降に有意な高値が認められたが, いずれも投与前値を超えるものではなく, 被験物質投与が体温調節に及ぼす影響はないものと判断された。

3) 循環器系に対する作用

供試動物： ラット (Slc:SD) 1群雄 5匹

試験開始時 7~8 週齢, 体重範囲: 191~223 g

試験方法： 被験物質を 0.5 w/v% CMC·Na 水溶液に懸濁し, 0, 400, 800 及び 1200 mg/kg の用量で胃ゾンデを用いて経口投与した。投与液の投与前, 投与後 60, 120 及び 180 分

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。

に血圧及び心拍数を測定した。

試験結果： 血圧測定において全ての被験物質投与群で有意な高値が認められたが、用量との相関性がなく、対照群での投与後の測定値がいずれも低値になったことに起因していると考えられた。心拍数については差が認められなかった。

4) 腎機能に対する作用

供試動物： ラット (Slc:SD) 1群雄5匹

試験開始時7~8週齢, 体重範囲: 186~220 g

試験方法： 動物に生理食塩液を体重100g当たり2.5mLの割合で経口投与し、直後に0.5w/v% CMC-Na水溶液に懸濁した被験物質を、0、400、800及び1200mg/kgの用量で胃ゾンデを用いて経口投与した。投与液の投与後、個体別に採尿ケージに入れ、無給餌、無給水条件で投与後6時間までの尿を採取し以下の項目について検査を行った。

尿量、尿浸透圧、尿中電解質排泄量(ナトリウム、カリウム、塩素濃度)

試験結果： 1200mg/kg群で尿量、尿中電解質(Na^+ 、 Cl^-)が高値を示し、尿浸透圧が尿量の増加に伴い低値を示した。これらは被験物質投与による亢進作用と考えられた。800mg/kg以下の投与群に対照群との差は見られなかった。

5) 自律神経系に対する作用

供試動物： ラット (Slc:SD) 1群雄5匹

試験開始時7週齢, 体重範囲: 180~207 g

試験方法： 被験物質を0.5w/v% CMC-Na水溶液に懸濁し、0、400、800及び1200mg/kgの用量で胃ゾンデを用いて経口投与した。投与後30、60、120及び180分にデジタルノギスを用いて瞳孔径を測定した。

試験結果： ラットの瞳孔径に投与群と対照群の差は認められず、被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、ピリミスルファンの投与により、音に対する反応の亢進が400mg/kg以上の投与群で認められ、中枢神経系に対しては1200mg/kgで痙攣増強作用を有すると考えられた。また、腎機能に対しては1200mg/kg群で腎機能の亢進を示す尿量及び尿中電解質の排泄量増加、尿浸透圧の減少作用が認められた。循環器系及び自律神経系には影響を及ぼさないと考えられた。

参考資料

1. KIH-5996 投与ラットの神経症状誘発条件の検索, (2006)
2. KIH-5996 の安全性評価 (マウス急性経口), (2006)

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。

生体機能影響試験の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無作用量 (mg/kg)	最小作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般状態 (ラット)	経口 (0.5 % CMC)	0, 100, 300, 400, 800, 1200	雄5	300	400	音に対する反応の亢進が認められた。
中枢神経系 〈自発運動量〉 (マウス)	経口 (0.5 % CMC)	0, 200, 600, 2000	雄6	600	2000	自発運動量に影響は認められなかった。2000 mg 群では死亡が認められた。
〈痙攣誘発〉 (ラット)	経口 (0.5 % CMC)	0, 400, 800, 1200	雄8	800	1200	痙攣増強作用が認められた。
〈正常体温〉 (ラット)	経口 (0.5 % CMC)	0, 400, 800, 1200	雄5	1200	—	影響なし。
循環器系 〈血圧, 心拍数〉 (ラット)	経口 (0.5 % CMC)	0, 400, 800, 1200	雄5	1200	—	影響なし。
腎機能 〈尿量, 尿中電解 質, 尿浸透圧〉 (ラット)	経口 (0.5 % CMC)	0, 400, 800, 1200	雄5	800	1200	尿量, 尿中Na ⁺ 及びCl ⁻ の増加, 尿浸透圧の減少が認められた。
自律神経系 〈瞳孔径〉 (ラット)	経口 (0.5 % CMC)	0, 400, 800, 1200	雄5	1200	—	影響なし。