

(4) 急性神経毒性

スピロジクロフェンのラットを用いた急性経口神経毒性

(毒性資料No.原体-8)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年12月4日

検体の純度：
試験動物：ウイスター系ラット、1群雌雄各12匹
試験開始時；雄9週齢（198～254g）
雌9週齢（142～173g）
観察期間：14日間

【試験方法】

検体調製

検体を所定量秤量し、0.5%メチルセルロース及び0.4%Tween80を含有する脱イオン水中に懸濁させた。

投与方法

投与前一晩絶食させたラットに、0（担体）、200、500及び2000mg/kgの用量で強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重100gあたり1mLとした。

臨床症状の観察及び体重の測定

観察期間は14日間とし、少なくとも1日1回、詳細な身体検査を含め臨床観察を行った。

体重は、機能観察検査(FOB)の一環として週1回測定した。

機能観察検査(FOB)及び運動能試験

本試験に割り当てられた動物は、全て4回（被験物質投与1週間前、投与4時間、7日及び14日後）FOB及び運動能試験を行った。

機能検査は、握力及び開脚着地の測定など、Moser*により記載された一連の試験法に準拠した。

運動能試験は、8の字型迷路法を用いた自動活動性測定装置で行い、運動能と移動運動能について検査した。運動能及び移動運動能は、各々10分間隔で90分間の試験を行った。運動能は、試験時間中に赤外線ビームを遮断する回数を計測して測定した。移動運動能は、ラットが迷路中で新しい場所に移動し、別のビームの一つを遮断する

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

回数を計測して測定した。なお、90分間のセッション間中の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

剖検及び脳重量の測定

投与後14日に、臓器組織採取用の動物（各用量群から雌雄各6匹）は、ペントバルビタール（50mg/kg）の腹腔内投与で深麻酔した後、亜硝酸ナトリウム溶液を用いて灌流し、その後10%緩衝ホルマリン溶液で灌流した。他の動物は、CO₂を用いて窒息によって屠殺した。剖検は、全ての動物の全臓器、体腔、剖面、天然孔及び体表の検査を行った。

脳は頭蓋骨から摘出し、ホルマリンによる固定前に重量を測定して脳：体重比を算出した。

病理組織学的検査

高用量群（2000mg/kg）の雌雄動物の組織を、対照群動物の組織と比較検討した。検体に起因した病変は明白ではなかったため、中、低用量群の動物については検査を行わなかった。尚、病理組織学的検査を行った臓器は脳、脊髄、眼球、視神経、背根神経節、ガッセル神経節、腓腹筋及び末梢神経（坐骨、脛骨、腓腹神経）であった。

*: V. C. Moser, "Screening Approaches to Neurotoxicity : A Functional Observational Battery", J. Am. Coll. Toxicol., 1989, 8, pp. 85-93.

【結果】

臨床観察及び体重の測定

雌雄共にいずれの投与用量においても、検体投与に起因した臨床症状は認められなかった。

雌雄共にいずれの投与用量においても、死亡及び体重の推移への影響は認められなかった。

これらの結果から、臨床症状に対する無毒性量 (NOEL) は、雌雄共に 2000mg/kg であった。

機能観察検査 (FOB)

雌雄共にいずれの投与用量においても、検体投与に起因した症状は認められなかった。

これらの結果から、FOB に対する NOEL は、雌雄共に 2000mg/kg であった。

運動能及び移動運動能

雌雄共にいずれの投与用量においても、試験期間の運動能及び移動運動能に検体投与に起因した差は認められなかった。

合計90分間の試験時間における結果を下表に要約した。

運動能試験結果の要約

雄

設定用量	投与前	投与後0日	投与後7日	投与後14日
0mg/kg	421±140	211±81	617±137	542±132
200mg/kg	426±158 (101)	234±114 (111)	606±177 (98)	524±150 (97)
500mg/kg	433±149 (103)	183±65 (87)	552±120 (89)	420±140 (77)
2000mg/kg	466±130 (111)	206±111 (98)	656±230 (106)	497±208 (92)

雌

設定用量	投与前	投与後0日	投与後7日	投与後14日
0mg/kg	698±245	366±137	660±137	660±139
200mg/kg	699±179 (100)	325±121 (89)	561±179 (85)	571±250 (87)
500mg/kg	759±228 (109)	326±135 (89)	673±206 (102)	704±203 (107)
2000mg/kg	739±218 (106)	336±123 (92)	763±144 (116)	704±184 (107)

試験セッションにおける遮光回数：平均値±標準偏差 N=12

表中の()値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたものの(平均値の比較)。

移動運動能試験結果の要約

雄

設定用量	投与前	投与後0日	投与後7日	投与後14日
0mg/kg	275±89	127±58	365±63	302±70
200mg/kg	285±121(104)	157±84(124)	397±135(109)	325±90(108)
500mg/kg	293±119(107)	114±43(90)	364±80(100)	270±93(89)
2000mg/kg	319±109(116)	128±71(101)	429±163(108)	316±156(105)

雌

設定用量	投与前	投与後0日	投与後7日	投与後14日
0mg/kg	453±178	211±83	408±74	407±104
200mg/kg	463±144(102)	213±81(101)	374±123(92)	336±147(83)
500mg/kg	491±173(108)	209±106(99)	423±152(104)	427±132(105)
2000mg/kg	506±206(112)	207±98(98)	485±100(119)	441±124(108)

試験セッションにおける遮光回数：平均値±標準偏差 N=12

表中の()値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたもの(平均値の比較)。

順応性は、検体の投与によって影響を受けなかった。

これらの結果から、運動能及び移動運動能に対するNOELは、雌雄共に2000mg/kgであった。

剖検

剖検において、雌雄共に検体投与に起因する肉眼的所見は認められなかった。

脳重量

脳重量に、雌雄共に検体投与に起因した影響は認められなかった。

病理組織学的検査

2000mg/kg 群の雌雄共に、検体投与に起因した病変は認められなかった。

以上のことから、検体の本試験における総合的なNOELは、雌雄共に2000mg/kgと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

スピロジクロフェンのラットを用いた急性遅発性神経毒性

(毒性資料No.原体-9)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知の運用について）の「4. 試験成績の提出の除外について」(2) ⑧ア及びイの規定により下記の理由が該当することから試験を省略した。

急性毒性試験等他の試験成績から、当該農薬の有効成分がコリンエステラーゼ阻害性を有さず、また、遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学的構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれはない。

(6)90 日間反復経口投与毒性

スピロジクロフェンのラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料No.原体-10)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年月日： 1998 年 2 月 10 日

検体の純度：

試験動物： ウィスター系ラット、
主群，回復群；雌雄各 10 匹
衛星群；雌雄各 5 匹

試験開始時； 雄 6～7 週齢(平均体重 179g)

雌 6～7 週齢(平均体重 135g)

投与期間： 14 週間(+4 週間[回復期間]) (1996 年 2 月 23 日～1996 年 6 月 28 日)
(但し、衛星群については投与期間は 4 週間)

【投与方法】

検体を 0、100、500、2500 及び 12500ppm の用量で飼料(1%のピーナッツ油添加)中に混合し 14 週間投与した。その後 0 及び 12500ppm の用量については回復性、持続性、あるいは毒性の遅発発現を確認するため、検体を混入していない調製飼料を 4 週間投与した。

更に、免疫毒性学的検査のため別に衛星群を設定し、検体を 0、100、500、2500 及び 12500ppm の用量で 4 週間投与した。

投与用量設定の根拠；

【試験項目及び結果】

1) 臨床症状及び死亡率

臨床症状及び生死を少なくとも1日2回（週末と休日は1回）観察した。個々の動物の詳細な観察、例えば体表、天然孔、姿勢、一般行動、呼吸及び排泄物などについては、毎週1回実施した。

その結果、臨床症状、体表、天然孔、一般行動、姿勢、呼吸あるいは排泄物に関して、投与に関連した異常は全ての用量群で観察されなかった。

計画解剖日まで死亡例は認められなかった。

2) 体重(図1a, 図1b, 図1c)

各動物の体重は、試験開始日の初回投与前に測定し、その後は週2回（毎週2日あるいは3日おきに）でそれぞれ4週まで(衛星群)、14週目まで(主群)そして18週目(回復群)まで測定した。加えて96及び98日(雄, 主群)、97日及び98日(雌, 主群)及び126日(回復群)の剖検直前にも体重を記録し、臓器対体重比の計算に用いた。

その結果、雌雄共に、500ppmまで体重増加に何ら意味のある差は認められなかった。投与期間中、2500ppm群では統計学的に有意差の認められない程度のわずかな体重抑制(雄4%, 雌7%)が、12500ppmでは主群、回復群それぞれ、雄で14%、13%、雌で12%、11%の統計学的に有意な減少がみられた。回復期間中、12500ppm群と対照群との差は減少傾向(統計学的には有意)を示した。回復期間終了時においては対照群と7%(雄)及び5%(雌)の差に統計学的な有意差はもはや認められなかった。

衛星群では、4週間の投与期間中、2500ppmでは投与前半に統計学的に有意な差が雄でみられ(10%まで)だが、後半には統計学的に有意な差は認められなかった。同群雌では統計学的に有意な差は認められなかった。12500ppmでは雄で18%、雌で9%までの体重抑制がみられ、統計学的に有意であった。

図 1 a 体重(主群)

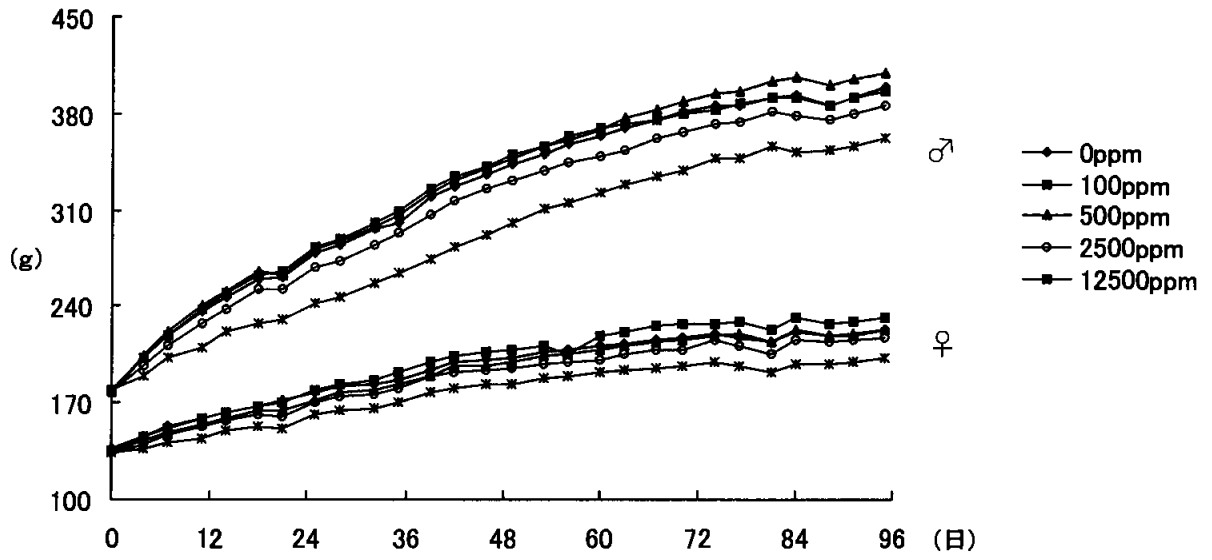


図 1 b 体重(回復群)

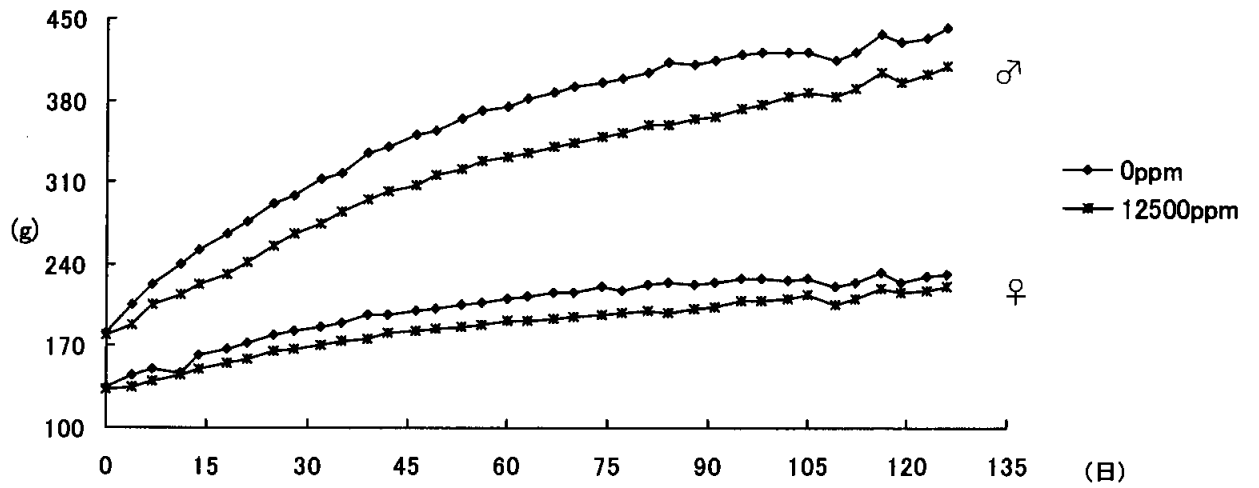
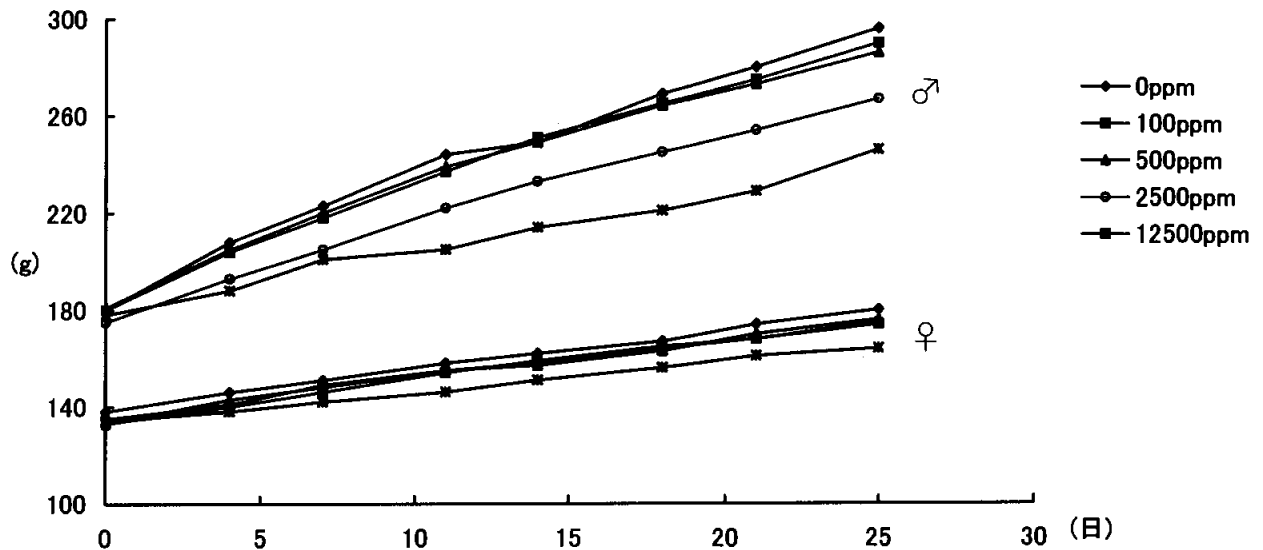


図 1 c 体重(衛星群)



3) 摂餌量及び検体摂取量

全動物の摂餌量を週2回、個体毎に測定した。

摂餌量は雌雄の2500ppm及び12500ppm群で最初の4日間有意に低下した。これはおそらく忌避反応と考えられた。その後の投与期間中、摂餌量は雌雄の12500ppm群で時折統計学的に有意に低下したが、2500ppmまでは対照群と同様であった。12500ppm群の個体別平均摂餌量は主群の雄で5%まで、雌で10%まで低下したが、回復群では投与期間中対照群と差は認められなかった。回復期間中、雌で11%の摂餌量の増加が認められた。

96日間の体重kgあたりの平均検体摂取量は、主群、回復群の雌雄共に、理論上の用量比をほぼ満足していた。

一方、衛星群では、動物数が少なく投与期間が短いため、これらのデータについては、評価の対象にしなかった。

検体摂取量は、次の表1に示した。

投与量(ppm)		100	500	2500	12500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	6.6	32.1	166.9	851.4
	雌	8.1	47.1	215.3	995.8

4) 飲水量

飲水量を週 1 回個体毎に測定した。

投与期間中及び回復期間中、雌雄共に投与した全ての用量幅で、飲水量は対照群と試験群の間で同等であった。

5) 臨床検査

血液学的検査及び血液生化学的検査は、第 5 週、第 13 週(主群)及び第 17 週(回復群)に実施した。尿検査は第 3/4 週、第 12 週(主群)及び第 16 週(回復群)に実施した。

5-1) 血液学的検査

エーテル麻酔下で、非絶食の動物の眼窩静脈叢から採取した血液を用い、以下の項目について測定又は算定した。

白血球百分率, 赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 白血球数, 平均赤血球血色素量(MCH), 平均赤血球血色素濃度(MCHC), 平均赤血球容積(MCV), 網状赤血球数, 血小板数, トロンボプラスチン時間, ハイנטツ小体

表 2 に統計学的に有意差の認められた項目を示した。

ヘモグロビン量、ヘマトクリット、赤血球数及び網状赤血球数、赤血球形態及び恒数は、投与期間中雄では全群で、雌では 2500ppm 群以下で対照群との差は認められなかった。雌の 12500ppm 群では投与終了時(13 週)及び回復期間終了時(17 週)に、赤血球数の増加、MCV 及び MCH の減少が統計学的に有意にみられたが、その差はすべて軽度であり、直接的な血液毒性を示唆するものではなかった。

また 12500ppm 投与により、白血球数に統計学的に有意な減少が雌雄ともに投与期間中(雄;13 週統計学的に有意差なし)にみられたがいずれも背景データ範囲内(雄;8-11 週齢;6.0-15.1[10E9/L], 雌;8-11 週齢;3.8-12.1[10E9/L], 4.0-11.2[10E9/L])であった。回復期間後に統計学的に有意な差は認められなかった。

白血球百分率では 12500ppm 群で雄では分葉核好中球の増加(5 週, 17 週)、リンパ球(17 週)の減少がみられ、雌では単球(5 週)や好酸球(13 週)の増加やリンパ球の(5 週)減少がみられたが、背景データ範囲内(雄-分葉核好中球;3-15%, リンパ球;81-98%, 雌-単球;0-4%, 好酸球;0-2%, リンパ球;82-98%)であり、検体の影響とは考えられなかった。

血液凝固系(血小板数, トロンボプラスチン時間)に対する検査では 500ppm まで統計学的に有意な差は認められなかった。2500ppm 及び 12500ppm の雌雄でみられたトロンボプラスチン時間及び 12500ppm の雄でみられた血小板数は統計学的に有意であったがその差はわずかではあり、生物学的に意味のある変化とは考えられなかった。なお 1 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(毒性資料 No. 原体-14)では、血液凝固系に対するこれらの変化が再現されなかったことから、これらの統計学的な有意差は、検体による影響ではないものとする。回復期間終了後、これらの血液凝固関連項目は対照群と同等であった。

表 2 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌			
投与量(ppm)	100	500	2500	12500	100	500	2500	12500
検査時期	5 週				5 週			
白血球数 [#]				↓ 68				↓ 72
血小板 ^{V+D}				↓ 80				
トロンボプラスチン時間 ^{K+U}				↑ 108			↑ 106	↑ 109
白血球百分率 /分葉核好中球 ^{K+U} /リンパ球 ^{K+U} /単球 ^{K+U}				↑ 178				↓ 91 ↑ 223
検査時期	13 週				13 週			
赤血球数 ^{V+D}								↑ 106
白血球数 ^{K+U}								↓ 71
MCV ^{V+D}								↓ 95
MCH ^{V+D}								↓ 94
血小板 ^{V+D}				↓ 84				
トロンボプラスチン時間 ^{K+U}			↑ 105	↑ 109			↑ 105	↑ 109
白血球百分率 /好酸性球 ^{K+U}								↑ 500
検査時期	17 週(回復)				17 週(回復)			
赤血球数 ^{V+D}	/	/	/		/	/	/	↑ 105
MCV ^{V+D}	/	/	/		/	/	/	↓ 95
MCH ^{V+D}	/	/	/		/	/	/	↓ 95
白血球百分率 /リンパ球 ^{K+U} /分葉核好中球 ^{K+U}	/	/	/	↓ 95 ↑ 152	/	/	/	

↑ ↓ : p<0.05, ↓ ↑ : p<0.01 (V+D;variance+Dunnett, K+U;Kruskal-Wallis+U-test), 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, / : 群設定なし

5-2) 血液生化学的検査

以下の項目について測定を行った。

アルカリホスファターゼ (ALP), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT), グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GLDH), アルブミン, 総蛋白, 総ビリルビン, コレステロール, クレアチニン, グルコース, トリグリセリド, 尿素, カルシウム, 塩素, カリウム, ナトリウム, 無機リン, トリヨードチロニン (T3), チロキシン (T4), 甲状腺刺激ホルモン (TSH)

なおこれらの項目のうち、グルコースは無麻酔下、非絶食の動物の尾静脈から採血し除蛋白処理した全血を用い測定した。その他の項目の測定には、エーテル麻酔下で、非絶食のラットの後部眼窩静脈叢から採血した末梢血の血漿を用いて行った。

表 3 に統計学的に有意差の認められた項目を示した。

雌雄共に、500ppm まで測定したパラメータについて対照群との差は認められなかった。

2500ppm 及び 12500ppm でみられた投与に関連した影響は、ALP の血漿中の酵素活性の増加、コレステロール及びトリグリセリドの血漿中濃度の低下であった。尚、2500ppm の ALP の値は背景データ範囲内 (雄-271-665U/L, 雌-185-443U/L) にあった。ALP の増加には小腸で認められた空胞化の病変との関連性も示唆されるがその増加の原因は明らかではなかった。また、コレステロール、トリグリセリドの減少については、別添のメカニズム試験の結果 (毒性資料 No. 原体-14-7) に示されているように、検体の代謝物であるエノール体のリンゴ酸デヒドロゲナーゼ阻害に起因した脂質合成系への影響と考えられた。回復期間終了時、雄ではコレステロール、トリグリセリド、ALP には統計学的な有意差が認められたがわずかであり、いずれも背景データ範囲内 (ALP; 140-342U/L, コレステロール; 1.41-3.30mmol/L, トリグリセリド; 0.65-2.88mmol/L) であったことから、回復性が示唆された。

ASAT、ALAT、GLDH、総ビリルビン、総蛋白、T3、T4、TSH、P、Na、CL でも統計学的な有意差が認められたが、いずれも軽度であり、背景データ範囲内 (次頁参照) にあること、また肝臓、甲状腺などに組織学的な変化は認められていないことから、本検体による影響とは考えられなかった。

その他、グルコース、尿素に関しては、用量相関性もなく、偶発的な変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

背景データ

表3 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌			
	100	500	2500	12500	100	500	2500	12500
投与量 (ppm)								
検査時期	5 週				5 週			
ASAT ^W				↑119				↑127
ALAT ^W								↑140
ALP ^W			↑120	↑240			↑148	↑315
GLDH ^W						↓30		↓10
グルコース ^{V+D}	↑107	↑108						
コレステロール ^W			↓71	↓51				↓58
トリグリセリド ^{V+D}			↓54	↓35		↓66	↓44	↓33
尿素 ^{V+D}							↓87	
総ビリルビン ^{K+U}				↓81				
総蛋白 ^{V+D}				↓94				
P ^W				↓80				↓81
T4 ^{K+U}				↑117				
TSH ^{K+U}								↑213
検査時期	13 週				13 週			
ALP ^W			↑123	↑253				↑295
GLDH ^W				↓21				
コレステロール ^W			↓79	↓62				↓61
トリグリセリド ^{V+D}				↓45				↓32
総ビリルビン ^{K+U}			↓74	↓58				↓88
総蛋白 ^{V+D}				↓94				
CL ^{V+D}								↓98
P ^W				↓81				
TSH ^{K+U}					↑162		↑277	↑342
検査時期	17 週(回復)				17 週(回復)			
ASAT ^W	/	/	/	↑127	/	/	/	
ALP ^W	/	/	/	↑181	/	/	/	
コレステロール ^W	/	/	/	↓85	/	/	/	
トリグリセリド ^{V+D}	/	/	/	↓68	/	/	/	
総蛋白 ^{V+D}	/	/	/	↓97	/	/	/	
アルブミン ^{V+D}	/	/	/	↑105	/	/	/	
Na ^W	/	/	/	↓99	/	/	/	
CL ^{V+D}	/	/	/		/	/	/	↑102
T3 ^{K+U}	/	/	/	↑117	/	/	/	
T4 ^{K+U}	/	/	/	↑112	/	/	/	
TSH ^{K+U}	/	/	/	↓44	/	/	/	

↑ ↓ : p<0.05 , ↓ ↑ : p<0.01 (W;Welsh, K+U;Kruskal-Wallis+U, V+D;variance+Dunnett) , 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の, / : 群設定なし

5-3) 尿検査

尿を、約 16 時間(一晚)の期間で採取した。各採取時期は、血液サンプル採取の前後数日とした。尿採取の期間中は、飲水は自由に与えたが、飼料は与えなかった。

定量検査

尿比重、総蛋白、尿量

半定量検査

潜血、糖、ケトン体、pH 値、ウロビリノーゲン、ビリルビン、尿沈渣(白血球、赤血球、上皮細胞、細菌、無晶性塩、トリペルホスフェート、シュウ酸カルシウム、粘液)

表 4 に統計学的に有意差の認められた項目を示した。

尿の半定量的検査項目及び沈渣を調べた結果、pH 値、グルコース、ビリルビン、ウロビリノーゲン濃度及びケトン体及び尿沈渣において、全ての投与群と対照群との間に毒性学的に意味のある差は認められなかった。

定量的検査項目では、雄で尿量のわずかな増加(12 週)と尿の比重の減少(両測定日)や蛋白濃度の減少(第 4 週)が 12500ppm 群で見られたが、全個体値が生理学的変動範囲内(

)にあったので、これらは毒性学的に意味のあるものとは考えなかった。回復期間終了後、全ての定量的検査項目は対照群と同等であった。

表 4 尿検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌			
	100	500	2500	12500	100	500	2500	12500
投与量(ppm)								
検査時期	4 週				3/4 週			
比重				↓99				
蛋白				↓44				
検査時期	12 週				12 週			
比重				↓99				
尿量				↑202				

↑ ↓ : p<0.05 , ↓ : p<0.01 (K+U;Kruskal-Wallis+U test) ,
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

6) 眼科学的検査

眼科学的検査を全ての群の全動物について投与開始前(週 0)に行い、更に 0 及び 12500ppm 群の雌雄の動物について、投与 11 週に行った。

検査はまず両眼の瞳孔反射の検査を暗室で行い、そして前眼部を検査した。Mydriatic(Mydriaticum-Stulln®)を用いて瞳孔を散大させ、屈折系及び眼底を間接検眼鏡や ZEISS スリットランプを用いて検眼した。

試験した全ての動物で変化は認められなかった。

7) 免疫毒性学的検査

衛星群の動物各群雌雄 5 匹から得られたサンプルを免疫毒性検査に供した。特異的であると知られているプラーク形成細胞を誘導するために、4 週間の投与後、ヒトジ赤血球を静脈投与して、in vivo 系で感作させた。加えて、以下の項目について検査した。

細胞数測定(脾臓、腸間膜リンパ節、骨髄):

雄の最高用量群で脾臓細胞数にわずかな減少傾向がみられた。

FACScan 分析(脾臓、腸間膜リンパ節):

脾臓及びリンパ節の細胞の大きさの分布には影響は認められなかった。

蛍光解析(リンパ節については評価せず)で、亜分画組成に以下のような変化がわずかにみられた。

CD4/CD45^{low}(雄 2500ppm, 両性 12500ppm)、CD2(雄 2500 及び 12500ppm)、CD45(雄 2500ppm, 両性 12500ppm) 及び PanB(雌 12500ppm) 陽性細胞に減少傾向が認められた。

プラーク形成細胞分析(PFCA: IgM, IgG; 脾臓)

抗-SRBC-特異性 IgM 及び IgG 抗体(雌 12500ppm)にわずかな減少傾向がみられた。

PMA 刺激後のマクロファージ活性(脾臓、腸間膜リンパ節: 雄)

低用量ではマクロファージ活性のわずかな増加、高用量では活性にわずかな低下傾向がみられた。

血清中の分析/抗体価: (IgG, IgM, IgA)

血清中の IgA 抗体価(雌 2500ppm 以上)は共にわずかに減少したが、用量依存性は認められなかった。

これら 2500ppm と 12500ppm において免疫系に観察された変化は、組織学的に免疫系の組織及び臓器に何ら影響は認めらず、また同用量群では体重増加抑制が認められていることから、検体の直接的な免疫系への影響ではないと考えられた。

8) 臓器重量

試験終了時、全生存動物を対照として、脳、心臓、精巢(両側)、肝臓、脾臓、副腎(両側)、腎臓(両側)、胸腺及び卵巣(両側)の臓器重量を測定し、それらの対体重比も算出した。

表5に統計学的に有意差の認められた項目を示した。

12500ppm 群では副腎重量の統計学的に有意な増加が認められた：雄で対体重比31%、雌で実重量27%及び対体重比37%。これは組織学的には副腎皮質の細胞質に小空胞化の増加、大小不同の空胞化の程度の増加と関連していることが窺われ、コレステロールの代謝に関連した検体の影響と考えられた。回復期間終了後、副腎重量に毒性学的に意味のある差は認められなかった。同群雌雄において、肝臓の実重量の減少に有意差が認められたが、これは体重増加抑制に起因した変化と考えられた。さらに、同群の雌では脾臓実重量、対体重比が統計学的に有意に減少したが、雄では変動が認められておらず、また同群の心臓及び精巢で認められた統計学的な有意差は回復期間終了時の雄のみで認められたものであり、投与期間終了時には認められていないため、これらは皆偶発的なものと考えられ、検体の影響とはみなさなかつた。他に認められた統計学的に有意な差は、用量相関性がないため検体の影響とは考えられなかった。

表5 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		100	500	2500	12500	100	500	2500	12500
検査時期		14 週				14 週			
体重									↓92
副腎	実重量								↑127
	対体重比				↑131				↑137
肝臓	実重量				↓85				↓88
脾臓	実重量								↓76
	対体重比				↓84				↓83
胸腺	対体重比					↑120			
検査時期		18 週(回復)				18 週(回復)			
心臓	対体重比	-	-	-	↑109	-	-	-	
肝臓	実重量	-	-	-	↓88	-	-	-	
脾臓	実重量	-	-	-		-	-	-	↓88
精巢	対体重比	-	-	-	↑110	/	/	/	/

↑↓ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (U test) ,

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の。

9) 剖検

投与終了時に主群のすべての動物を、また回復期間終了時に残りのすべての動物(回復群)を、エーテルの深麻酔下で放血致死させた。動物を解剖し、臓器・組織の詳細な病理解剖学的検査を実施した。変化が認められた場合には、その位置、大きさ、色及び硬さについて記録した。

投与終了時あるいは回復期間終了時に剖検した動物には、検体に起因するような所見は認められなかった。

10) 病理組織学的検査

以下の臓器について Davidson 溶液で固定した。

副腎, 大動脈, 脳(大脳, 小脳, 橋/延髄), 精巣上体, 食道, 眼及び眼瞼, 外涙腺, 大腿骨(関節を含む), ハーダー腺, 頭部, 心臓, 腸(十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 腸の残部), 腎臓, 喉頭, 肝臓, リンパ節(下顎及び腸間膜), 乳腺, 視神経, 卵巣, 卵管, 膵臓, 脳下垂体, 前立腺, 唾液腺, 坐骨神経, 精のう(凝固腺を含む), 骨格筋(大腿部), 皮膚(乳腺部), 脊髄(頸部, 胸部及び腰部), 脾臓, 胸骨, 胃(前胃及び腺胃), 精巣, 胸腺, 甲状腺(上皮小体を含む), 舌, 気管, 尿管, 尿道, 膀胱, 子宮(頸部を含む), 膈, 外耳道腺, 個体識別部位(入墨した耳介), そして肉眼所見を有するすべての臓器・組織

肺(注入固定後)及び肺及び肝臓の1葉は、4%ホルムアルデヒド溶液中で固定した。

骨組織はまず EDTA で脱灰し、次に(回復群を除く)その他のすべての臓器と同様にパラプラスチック中に包埋した。

上記にあげた臓器(眼瞼, 喉頭, 腸の残部組織, 尿管, 尿道及び個体識別を除く)について、厚さ約 5 μ m の薄切切片を作製し、それからヘマトキシリン・エオジン染色(H&E)を施した。回復群については、上記にあげた臓器(眼瞼, 喉頭, 腸の残部組織, 尿管, 尿道, 大腿骨, 胸骨, 脊髄及び個体識別を除く)について薄切切片を作成し、H&E 染色を行い以下に示すように病理組織学的に検査した。

肝臓の凍結切片については、オイルレッド O(ORO) 染色を施した。

病理組織学的検査は下記のように実施した:

肺, 肝臓, 腎臓, 副腎, 甲状腺, 腸管, 肉眼所見	全用量群(主群)
肝臓, 副腎, 腸管, 肉眼所見	回復群
その他の臓器	対照群及び高用量群(主群)

主要な病理組織学的所見は表 6 に示した。

500ppm 群の雌及び 2500ppm 以上の雌雄で副腎皮質細胞質に一様の小さい空胞の程度の増加が観察された。12500ppm 群の雄では、副腎皮質細胞質に大小不同の空胞化の程度の増加もみられた[#]。また 2500ppm 群以上の雌雄で小腸の絨毛先端部の粘膜上皮に空胞が軽度から中等度に認められた^{###}。これらは、コレステロール合成、脂質代謝/吸収に対する検体の影響と関連していると考えられた。

[申請者註 #;

]

肝細胞のグリコーゲン量の減少が、12500ppm 群の雌 4 例で観察され、この 4 例の軽度な肝臓重量の低下に関連しているものと考えられた。

投与 14 週後に観察された所見は、4 週間の休薬期間後に回復性が認められた。

表 6 主要な病理組織学的所見

性別 Ppm	雄					雌				
	0	100	500	2500	12500	0	100	500	2500	12500
十二指腸/検査数	8	10	9	10	10	10	10	10	10	10
上皮の空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
空腸/検査数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
上皮の空胞化	0	0	0	8**	8**	0	0	0	7**	7**
回腸/検査数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
上皮の空胞化	0	0	0	1	-	0	0	0	0	2
副腎皮質/検査数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
小空胞化	5	9	8	10*	10*	4	3	8	8	10**
程度	0.7	1.5	1.1	3.3	3.3	0.6	0.5	1.4	1.6	3.8
大小不同の空胞化	7	7	6	9	10	0	0	0	0	0
程度	1.6	1.2	0.9	1.2	2.9					
肝臓/検査数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
グリコーゲンの減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4**

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Fisher 検定-申請者)

以上本試験における検体の影響として、500ppmの雌において副腎皮質小空胞化の程度の増加がみられた。2500ppm群でみられた所見は、わずかな体重増加抑制(雌雄)、コレステロールの低下(雄)、トリグリセリドの低下(雌雄)、空腸上皮の空胞化(雌雄)、副腎皮質小空胞化(雌雄)がみられた。12500ppm群でみられた所見は、体重増加抑制(雌雄)、摂餌量の低下(雌雄)、ALPの(雌雄)の増加、コレステロールの低下(雌雄)、トリグリセリドの低下(雌雄)、副腎重量の増加(雌雄)、空腸上皮の空胞化(雌雄)、副腎皮質小空胞化(雌雄)、肝臓のグリコーゲンの減少(雌)がみられた。

従って、本試験における無毒性量は、雄で500ppm(32.1mg/kg/日)、雌で100ppm(8.1mg/kg/日)であると判断した。

(毒性資料No.原体-10-1)

試験機関：

報告書作成年月日： 2001年3月5日

検体の純度：

試験動物：

投与期間：

【試験目的】

【試験方法】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
スピロジクロフェンのイヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-11)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年月日： 2001 年 1 月 26 日

検体の純度：

試験動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹

投与開始時； 23～25 週齢 平均体重； 雄 6.7kg 雌 6.1kg

投与期間： 14 週間(1997 年 3 月～1997 年 11 月)

【投与方法】

検体を 0(対照群)、200、630、2000ppm となるように均質に飼料に混ぜ 14 週間投与した。飼料は制限給餌(1 日当たり 250g/開始日～28 日間及び 300 g /29～終了日)とし、水は自由に摂取させた。検体を添加した飼料は、1 週間に 2 回調製した。

投与用量設定の根拠；

【試験項目及び結果】

1) 臨床症状

全動物の外観と行動を毎日 2 回観察(週末及び公休日は 1 回)した。

試験期間中、投与に起因する臨床所見は認められなかった。

2) 死亡率

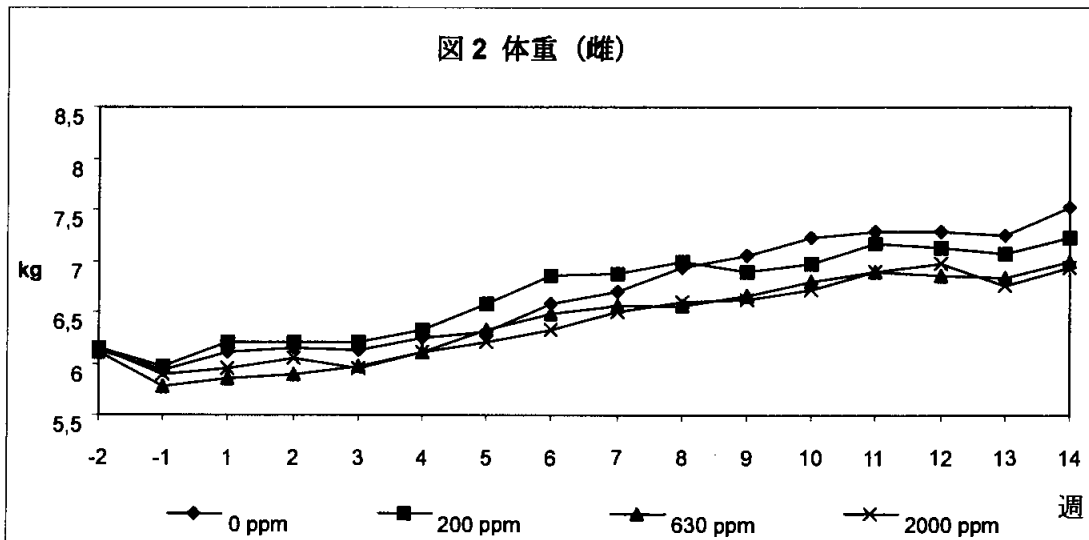
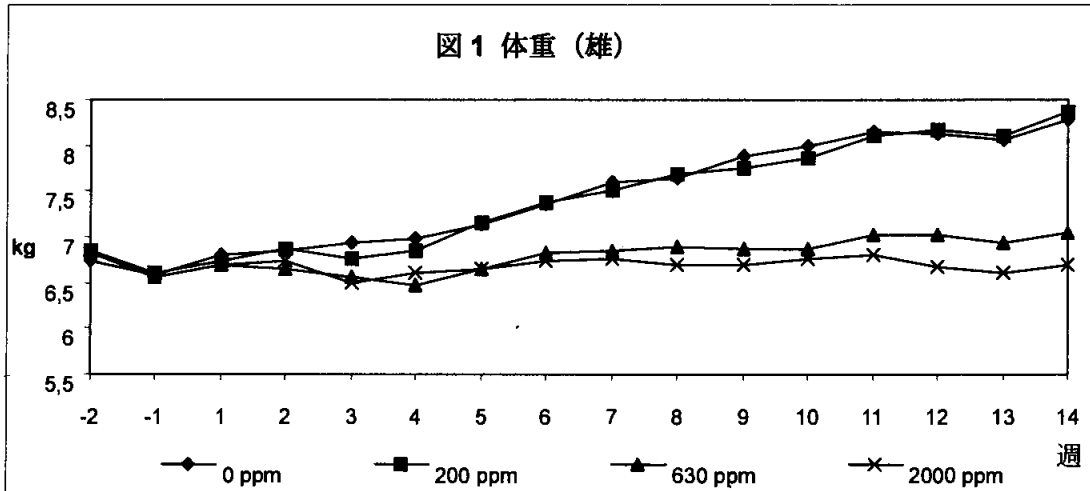
14 週間の試験期間中、全動物が生存し、死亡は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3) 体重変化 (図 1, 図 2)

週に 1 回体重を測定した。

200ppm では雌雄ともに体重に影響は認められなかった。630 及び 2000ppm 群では統計学的な有意差 (Dunnett 検定: 申請者により実施) は認められないものの、雌雄共に体重増加抑制が認められた (雄; 19% まで、雌 8% まで)。



4) 摂餌量及び検体摂取量 (表 1)

毎日、給与時間終了後 1 時間以内に摂餌量を測定した。

摂餌量は対照群と全用量群と同等であった。

投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日) は以下のとおりであった。

表 1 検体摂取量

投与用量 (ppm)		200	630	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	7.7	26.6	84.7
	雌	8.4	28.0	81.0

5) 眼科学的検査

全動物での眼科学的検査は、試験開始前（2週前）、投与6及び13週時に実施した。

どの検査時においても、検体に起因する所見は認められなかった。

6) 心拍数の測定

心拍数の測定は、試験開始前（2週前）、投与6及び13週時に実施した。

どの検査時においても、検体に起因する変動は認められなかった。

7) 臨床神経学的検査

反射（瞳孔、角膜、膝蓋腱、伸筋、体位及び屈筋）と体温の測定は、試験開始前（2週前）、投与6及び13週時に実施した。

どの検査時においても、検体に起因する所見は認められなかった。

8) 血液学的検査（表2）

試験開始前（3週前、2週前）、投与2、6及び13週時に血液を頸静脈から採取し、以下の項目について測定を行った。

白血球数，赤血球数，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値，平均赤血球容積(MCV)，平均赤血球血色素量(MCH)，平均赤血球血色素濃度(MCHC)，メトヘモグロビン量，網状赤血球数，血小板数，ハインツ小体，トロンボプラスチン時間，部分トロンボプラスチン時間，赤血球沈降速度，白血球百分率

6週以降630ppm以上の雌雄群で、赤血球数（雄545～588，雌574～622 $10^{12}/L$ ）、ヘモグロビン量（雄116～126，雌127～134 g/L）、ヘマトクリット値（雄0.368～0.392，雌0.401～0.412 L/L）に有意な減少/低下が認められた。しかし、これらの値はいずれも背景値の範囲内（

）であり軽度の変化であった。これらの変動は、網状赤血球数の増加を伴っていないこと、造血臓器や腎臓での病理組織学的変化を伴っていないこと、さらに後述の8週間反復経口投与毒性試験（毒性資料No. 原体-11-1）で再現されなかったことから、検体による直接的な造血に対する影響ではなく、体重の増加抑制が示されているように、全身状態が良好ではないことによっても考えられた。

他のいくつかの項目に有意な変動が認められたが、2週時の変動も含め明確な用量相関性及び経時的推移が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表2 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

検査時期	2週			6週			13週		
	200	630	2000	200	630	2000	200	630	2000
—雄—									
赤血球					↓82.2	↓81.7		↓84.4	↓78.2
ヘモグロビン					↓83.2				↓78.9
ヘマトクリット					↓80.6	↓83.4			↓80.2
部分トロンボプラスチン時間					↑107				
白血球分画									
異型球				↓50.0	↓50.0				↓50.0
リンパ球					↓71.0	↓52.8			
好塩基球						↓40.0			
—雌—									
赤血球		↓88.8	↓86.4	↓90.7	↓83.8	↓78.7		↓83.3	↓77.6
ヘモグロビン					↓87.0	↓83.8		↓85.8	↓81.9
ヘマトクリット					↓85.5	↓84.1		↓84.8	↓83.5
MCV									↑108

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。

↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (Dunnettの多重比較: 申請者により実施)

9) 血液生化学的検査 (表3)

試験開始前(3週前、2週前)、投与2、6及び13週時に血液を頸静脈から採取し、以下の項目について測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GLDH)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、ラクテートデヒドロゲナーゼ(LDH)、クレアチンキナーゼ(CK)、血糖(GLUC)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセリド(TRIGL)、クレアチニン(CREA)、尿素(UREA)、総ビリルビン(BILI-t)、総蛋白(PROT)、アルブミン(ALB)、血清電解質(ナトリウム/Na、カリウム/K、カルシウム/Ca、塩素/CL、無機リン/P、鉄分/Fe及びマグネシウム/Mg)並びに甲状腺ホルモンのトリヨードチロニン(T3)、チロキシン(T4)、チロキシン結合能(TBC)

2000ppm群でASAT(雄21.0~59.1U/L)、ALAT(雄102~232、雌56.8~239U/L)、ALP(雄263~410、雌260~475U/L)及びGLDH(雄7.7~13.8U/L)の統計学的に有意な増加が主に6週時から認められた。これらの増加は特にALATで著明に認められた。また630ppm群においてもこれらの項目に増加傾向がみられたが有意ではなかった。これらの増加は雌雄ともに、中~高用量投与に基づく肝代謝機能への負荷の増加に関連した変動と考えられた。

一方、CHOLの有意な低下(1.84mmol/L)が2000ppm雌群の6週目にみられたが、背景

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

値の範囲内()であった。また ALB は、630ppm 以上の群で有意な低下(雄 26.5~28.1, 雌 26.6~27.9g/L)として 2 週時からみられたが、いずれも背景値の範囲内()にあった。PROT では、630 及び 2000ppm 群で有意な低下(雄 51.8~56.6, 雌 54.2~58.8 g/L)がみられたが、いずれも背景値範囲内()にあった。630ppm 以上の群でみられたこれらの変動は、背景値の範囲内であるものの前述の ALAT や ALP などの変動も含め検体投与による肝代謝機能への影響による関連性を否定することはできないと考えられた。

その他いくつかの項目に有意な変動が認められたが、明確な用量相関性が認められなかったことから検体投与に起因する変動とは考えられなかった。

表 3 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

検査時期 投与量 (ppm)	2 週			6 週			13 週		
	200	630	2000	200	630	2000	200	630	2000
—雄—									
ASAT			↑150						↑206
ALAT						↑1301			↑468
ALP						↑187			↑195
GLDH						↑288			
TRIGL				↓65.6					
BILI-t	↓66.7			↓64.3	↓64.3			↓62.5	
PROT		↓90.6	↓91.4		↓82.3	↓86.5		↓87.1	↓88.6
ALB		↓89.0	↓88.1					↓80.9	↓80.3
Ca					↓89.0	↓90.4		↓92.0	↓92.0
CL						↑106			
T3									↑124
T4						↓59.4			↓59.3
—雌—									
ALAT						↑1188			↑799
ALP									↑236
GLUC								↑118	
CHOL						↓69.4			
PROT					↓93.0	↓90.3			↓94.5
ALB		↓88.6	↓85.8		↓89.4	↓83.1			↓82.1
K								↓90.2	
Ca									↓93.8
CL								↑104	
TBC									↓88.2

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。

↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01 (Dunnett の多重比較: 申請者により実施)

10) 肝臓組織の酵素及びトリグリセリドの測定 (表4)

投与終了後に全動物の肝臓組織の N-デメチラーゼ (N-DEM), O-デメチラーゼ (O-DEM), チトクローム P450 (P450) 及びトリグリセリド (TRIGL) について測定した。さらに、チトクローム P450 依存性モノオキシゲナーゼ (7-エトキシマリンデエチラーゼ/ECOD, 7-エトキシレゾルフィンデエチラーゼ/EROD, アルドリンエポキシダーゼ/ALD), エポキシドヒドロラーゼ (EH) 及び抱合酵素 (グルタチオン-S-トランスフェラーゼ/GS-T, UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ/GLU-T) を測定した。

肝臓組織中の N-DEM 活性は、630ppm 以上の雌雄群で用量相関性の増加 (1.8~2.7 倍) が認められた。O-DEM 活性では、2000ppm 雄群及び 200ppm 以上の雌群で有意な増加 (1.4~1.7 倍) が、P450 では 630ppm 以上の群に有意な増加 (1.4~1.6 倍) がそれぞれ認められたが、いずれも軽度であった。

一方、ECOD 及び ALD 活性の増加が 200ppm 以上の雌雄群において用量相関性にみられ、特に 2000ppm 群の ECOD 活性は対照群に比較して雄では最高 4.5 倍、雌で最高 3.2 倍まで増加した。また EH 活性の有意な増加 (1.5 倍) が 2000ppm の雌群に認められた。

抱合酵素 (GS-T, GLU-T) の有意な変動は何ら認められなかった。

肝臓組織中の酵素の増加はいずれも検体投与に伴う変動と考えられ、肝薬物代謝酵素の誘導が示唆された。200 及び 630ppm 群の軽微な増加は、明らかな肝重量の増加や病理組織学的な変化を伴っていなかったことから、検体による有害反応ではなくむしろ適応性反応による変動と考えられた。

肝臓組織中のトリグリセリドは 2000ppm 群まで影響は認められなかった。

表4 肝薬物代謝酵素の測定 (有意差の認められた項目)

性別 群	雄			雌		
	200	630	2000	200	630	2000
N-DEM*		↑199	↑273		↑181	↑244
O-DEM**			↑165	↑144	↑145	↑154
P450			↑139		↑137	↑156
ECOD	↑173	↑209	↑447	↑178	↑287	↑320
EROD				↑202		
ALD	↑122	↑177	↑204	↑136	↑170	↑167
EH						↑147

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。

Student's t 検定; ↑: p<0.05, †: p<0.01, ※: 基質/アミノピリン ※※: 基質/4-ニトロアニソール

11) 尿検査

試験開始前 (3 週前)、投与 2、6 及び 13 週時に、全動物で尿量、比重、pH、クレアチニン、NA、蛋白、潜血、糖、ビリルビン、ケトン体、細菌、白血球、赤血球、上

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
皮細胞、三リン酸塩及び尿沈渣について検査を実施した。

その結果、どの検査時においても、検体に起因する所見は認められなかった。

12) 剖検

試験終了時に、全動物を Narcoren®麻酔下で放血致死させ剖検した。

その結果、本検体に関連した異常所見は認められなかった。

13) 臓器重量 (表 5)

全例について、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、甲状腺、副腎、胸腺、前立腺、脳、下垂体、膵臓及び子宮の重量測定と対体重比について算出した。

雌では臓器重量にいずれも統計学的に有意な差は認められなかった。

雄では肝臓において、2000ppm 群で対体重比の有意な増加がみられた。これらの対体重比はいずれも背景値の範囲内にはなかったことから、肝薬物代謝酵素の誘導あるいは病理組織学的変化との関連を示唆した増加とも考えられた。

胸腺の実重量及び対体重比の統計学的に有意な減少が 2000ppm 群でみられ、同群での低体重あるいは病理組織学的変化に関連した変動と考えられた。

前立腺では実重量に統計学的に有意な減少が 2000ppm 群で認められたが、いずれも同年齢の背景データ範囲内()にあり、対体重比では統計学的に有意ではなかった。

下垂体の対体重比の有意な増加が 630ppm 以上の群でみられたが、用量に相関のない同程度の変動がみられること及び病理組織学的変化が認められなかったことから検体投与との関連性は少ないものと考えられた。

その他の統計学的に有意な増加は、偶発的な変動と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表5 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別 用量 (ppm)		雄		
		200	630	2000
心臓	実重量			
	対体重比	↓89.6		
肝臓	実重量			
	対体重比			↑132
腎臓	実重量			
	対体重比			↑126
胸腺	実重量			↓27.1
	対体重比			↓34.0
前立腺	実重量			↓37.5
	対体重比			
下垂体	実重量			
	対体重比		↑137	↑139

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。

↑↓: p<0.05, ↑: p<0.01 (Dunnettの多重比較:申請者により実施)

14) 病理組織学的検査 (表6)

全動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製し、鏡検した。

脳, 副腎, 動脈, 精巣上体, 食道, 眼球, 大腿骨 (骨髄), 胆のう, 心臓 (左心室の乳頭状筋肉2カ所), 腸管 (十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸), 腎臓, 肝臓, 肺, リンパ節 (顎下及び腸管膜), 視神経, 卵巣, 卵管, 膵臓, 下垂体, 前立腺, 唾液腺 (耳下腺, 顎下腺), 坐骨神経, 骨格筋 (大腿部), 皮膚 (乳頭付近の乳腺部), 脾臓, 胸骨 (骨髄), 胃 (底部, 幽門部), 精巣, 胸腺, 甲状腺 (副甲状腺含む), 舌, 扁桃, 気管, 膀胱, 子宮, 膣及び肉眼的異常所見を有する全ての臓器/組織

肝臓において、2000ppmの雌群で細胞質の好酸性化が3例に、炎症性細胞浸潤 (門脈域、中心静脈周囲) が全例に及び門脈域の軽度な単細胞壊死が1例にそれぞれ認められた。細胞質の好酸性化は、関連酵素の増加/誘導及び対体重比の増加がみられていることから、検体に起因したものと思われた。また炎症性細胞浸潤や単細胞壊死の病変は、検体の細胞毒性に起因した反応と考えられた。

精巣では、2000ppm群でライディッヒ細胞の空胞化と肥大/活性化の頻度の増加が認められた。このライディッヒ細胞の変化は、テストステロンの合成あるいは代謝亢進を示唆するものと考えられた。尚、630ppmで統計学的な有意差は認められないものの、同所見が認められた2例についても、本剤の作用機作を考えると、検体の影響を除外できないと推察された。更に2000ppmでは胚上皮細胞の変性も2例に認められたが、統計学的に有意差は認められなかった。この2例の精巣上体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

では、無精子症が認められ、これらは精巢の胚上皮の変化に伴った所見と考えられた。また実重量の減少としても示された 2000ppm 群の前立腺では、未成熟が全例に認められ、630ppm 群での 1 例を含むこの変化も低体重による発育遅延と若齢動物の性成熟の個体差を反映したものと考えられた。

副腎皮質の細胞質の空胞化の頻度の有意な増加が 630ppm 群以上の雌雄(雄：0/0/3/4、雌：0/2/3/4)で認められた。皮質の空胞化は多くの場合、単核細胞浸潤(雄：0/1/1/4、雌：0/2/0/4)を伴っていた。この空胞化は、脂質の蓄積あるいはステロイド代謝への影響に関連した形態学的変化と考えられた。尚、統計学的に有意差は認められないものの、雌の 200ppm 群で同所見を示した 2 例は、本剤の作用機作を考えると、本検体の影響を除外できないものと推察される。

胸腺皮質の軽微～軽度な萎縮が 630ppm 群(雄：1 例)及び 2000ppm 群(雄：2 例、雌：1 例)で認められた。本試験でのこの所見は、胸腺リンパ球に対する直接的な細胞毒性ではなく、むしろ低体重や全身状態が良好ではないことなどの間接的影響によるものと考えられた。

その他の臓器、組織に認められた病変は、いずれも検体の投与に起因する変化というよりは、むしろ偶発的な変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表6 主な病理組織学的所見

項目	用量(ppm)	雄				雌			
		0	200	630	2000	0	200	630	2000
【検査数】		4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓									
好酸性化/細胞質		0	0	0	0	0	0	0	3*
炎症性細胞浸潤		1	0	0	0	0	0	0	4**
単細胞壊死		0	0	0	0	0	0	0	1
空胞化/細胞質		2	2	0	1	1	1	1	3
脂肪変性		0	0	1	0	0	0	1	0
腎臓									
近位尿細管拡張		1	0	1	3	0	1	0	2
円柱		2	2	1	1	0	0	0	0
精巣									
空胞化/ライディッヒ細胞		0	0	2	4**	-	-	-	-
肥大・活性化/ライディッヒ細胞		0	0	2	3*	-	-	-	-
巨大化/精子細胞		3	0*	1	3	-	-	-	-
空胞化/胚上皮細胞		1	1	0	1	-	-	-	-
変性/胚上皮細胞		0	0	0	2	-	-	-	-
未成熟		0	0	1	0	-	-	-	-
精巣上体									
精子減少症		0	0	2	0	-	-	-	-
無精子症		0	0	1	2	-	-	-	-
精子遺残		4	3	3	4	-	-	-	-
未成熟		0	0	1	0	-	-	-	-
前立腺									
未成熟		0	0	1	4**	-	-	-	-
炎症		0	0	0	1	-	-	-	-
副腎									
空胞化/皮質束状帯		0	0	3*	4**	0	2	3*	4**
単核細胞浸潤		0	1	1	4**	0	2	0	4**
胸腺									
萎縮		0	0	1	2	0	0	0	1
のう胞		0	1	0	1	0	0	0	0
下垂体									
のう胞		3	2	4	3	1	3	2	2
脾臓									
血腫		2	2	1	3	3	3	1	0*
卵巣									
空胞化/黄体		-	-	-	-	0	0	0	1
甲状腺									
コロイド状小胞		2	0	1	0	2	2	0	1
のう胞		0	0	0	0	0	1	2	0

*: p<0.05 **: p<0.01 (χ²検定/Yates 補正:申請者)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

以上の結果から、本剤の影響としてみられた所見は、2000ppm 群で体重増加の抑制、肝機能酵素 (ASAT, ALAT, ALP, GLDH) の増加、血液生化学的所見で CHO、ALB 及び PROT の低下、肝薬物代謝酵素 (N-DEM, O-DEM, P450, ECOD, ALD, EH) の増加、対体重比の増加 (肝臓)、病理組織学的所見で肝臓/細胞質の好酸性化、炎症性細胞浸潤、単細胞壊死、精巣/ライディッヒ細胞の空胞化、肥大/活性化、胚上皮の変性、精巣上体/無精子症、前立腺/未成熟、副腎/皮質束状帯空胞化、単核細胞浸潤であった。

630ppm 群では、体重増加の抑制、肝機能酵素 (ALP) の増加、ALB 及び PROT の低下、病理組織学的所見で精巣/ライディッヒ細胞の空胞化、肥大/活性化、副腎/皮質束状帯空胞化がみられた。

200ppm 群では、雌において副腎の皮質束状帯に空胞化が認められた。

これらのことから、本試験における無毒性量は、雄で 200ppm (7.7mg/kg/日) であると判断した。しかし雌では無毒性量を設定することはできなかった。

(毒性資料 No. 原体-11-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2001年4月19日

検体の純度：

試験動物：

投与期間：

【試験目的】

【投与方法】

【試験項目及び結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(7) 反復経口投与神経毒性

スピロジクロフェンのラットにおける反復経口投与神経毒性試験 (13 週間混餌投与)
(毒性資料No.原体-12)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：2001 年 3 月 5 日

検体の純度：

試験動物：ウィスター系ラット、1 群雌雄各 12 匹

試験開始時；雌雄 8 週齢 (平均体重 雄 244g, 雌 167g)

投与期間：13 週間 (2001 年 8 月～11 月)

【投与方法】

検体を 0 (対照群)、100、1000 及び 12500ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって摂食させた。

投与用量設定の根拠；

【試験項目及び結果】

1) 臨床観察及び死亡

ケージサイド観察は少なくとも 1 日 2 回 (休日及び週末は 1 日 1 回) 行い、死亡又は瀕死の臨床症状について観察を行った。詳細な身体的観察は 1 週間に 1 回行った。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。

雌雄最高用量群を除き、検体に関連する症状は認められなかった。最高用量群では雌雄共に外陰部の汚れに限られていた。雌では更に、口のまわりや、他の部位 (足, 鼻, 前肢及び耳) で汚れを伴った。

2) 体重

毎週、個体毎に体重の測定を行った。屠殺日にも体重を測定した。

対照群と比較すると、12500ppm群で雌雄共に増体重が抑制されたが、その他の用量群では雌雄共に影響はみられなかった。

12500ppm群における対照群との差は、雄で18%から25%、雌で8%から15%であり、雌雄共に第2週から14週まで統計学的に有意であった。

3) 摂餌量及び検体摂取量(表1)

個体毎の摂餌量の測定は、1日～2日毎に行った。

摂餌量は、対照群と比較して、雌雄共12500ppm群で有意に減少したが、その他の用量群では雌雄共に影響はみられなかった。最高用量群の雄では最初の7日間、対照群と比べ17%から25%まで有意に減少し、38回測定したうち26回で対照群に比べ有意な減少がみられた。最高用量群の雌では最初の7日間、対照群に比べ6%から23%までと統計学的に有意に減少し、投与2週から5週には統計学的な有意性を伴わないわずかな減少傾向がみられた。その後には、対照群との差は認められなかった。

試験期間中1日当たりの体重1kgを基にした平均摂餌量において、いずれの投与用量群でも影響は見られなかった。最高用量群で差がみられなかったのは、摂餌量の減少に伴って体重増加も抑制されたことに基づいていると考えられた。

飼料を分析して得た実測濃度の98.8、955及び13323ppmから計算した検体の平均1日摂取量を表1に示した。

表1. 検体摂取量(mg/kg/日)

用量	100ppm	1000ppm	12500ppm
雄	7.2	70.3	1088.8
雌	9.1	87.3	1306.5

4) 機能観察試験(FOB)

投与前1週、投与4、8及び13週の4回、全動物についてFOBを行った。

このFOBは、Maser¹⁾により記述された一連の試験に準拠した。なお、着地開脚幅及び握力の測定には、確立されている方法²⁾を用いた。

1) : Moser, V. C., "Screening Approaches to Neurotoxicity : A Functional Observational Battery", J. Am. Coll. Toxicol., 1989, 8, pp. 85-93.

2) : Edwards, P. M., and V. H. Parker. "A Simple, Sensitive, and Objective Method for Early Assessment of Acrylamide Neuropathy in Rats," Toxicol. Appl. Pharmacol., 1977, 40, pp. 589-591
Meyer, D. A., H. A. Tilson, W. C. Byrd, M. T. Riley, "A Method for the Routine Assessment of Fore- and Hindlimb Grip Strength of Rats and Mice," Neurobehav. Toxicol., 1979, 1, pp. 233-236

雌雄共に最高用量群では、一般臨床観察で認められた外表の汚れが再確認された。また雌雄の最高用量群で着地開脚幅、握力の減少傾向が多く、検査時期にみられたが、統計学的に有意ではなかった。

5) 運動能及び移動運動能試験(表2, 表3)

投与前1週、投与4、8及び13週の4回、全動物について行った。

運動能及び移動運動能は、8の字型迷路法を用い、90分間のセッション及び各々10分間のインターバルで自動化運動能測定装置によって測定して評価した。90分間のセッション間中の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

90分のセッションでは、総じていずれの用量群においても雌雄ともに運動能あるいは移動運動能に統計学的に有意な差は認められなかった。

運動能及び移動運動能のデータを10分間のインターバルでさらに解析した。投与群の運動能及び移動運動能は、各性、何れの検査時期においても、統計学的な有意差は認められなかった。

順応性も、どの用量においても雌雄共に検体投与による影響は認められなかった。

表2. 運動能 セッション(90分)

用量(ppm)	投与前		第4週		第8週		第13週		
雄	0	369±100	(100)	439±141	(100)	327±156	(100)	291±86	(100)
	100	478±251	(130)	456±192	(104)	424±214	(130)	339±126	(116)
	1000	467±128	(127)	512±161	(117)	484±153	(148)	369±108	(127)
	12500	456±117	(124)	400±197	(91)	312±116	(95)	249±46	(86)
雌	0	596±212	(100)	756±328	(100)	667±212	(100)	557±187	(100)
	100	636±258	(107)	761±216	(101)	680±173	(102)	541±180	(97)
	1000	547±227	(92)	748±252	(99)	684±230	(103)	546±174	(98)
	12500	669±187	(112)	535±186	(71)	612±196	(92)	526±182	(94)

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、対照群に比し、いずれの検査時期及び用量群においても有意差なし(ANOVA)

表 3. 移動運動能 セッション(90分)

用量(ppm)	投与前		第4週		第8週		第13週		
雄	0	240 ± 86	(100)	281 ± 120	(100)	194 ± 102	(100)	176 ± 71	(100)
	100	331 ± 186	(138)	291 ± 119	(104)	250 ± 117	(129)	193 ± 69	(110)
	1000	321 ± 100	(134)	329 ± 119	(117)	291 ± 115	(150)	213 ± 69	(121)
	12500	296 ± 88	(123)	241 ± 123	(86)	180 ± 79	(93)	151 ± 38	(86)
雌	0	402 ± 162	(100)	466 ± 189	(100)	399 ± 126	(100)	337 ± 97	(100)
	100	430 ± 189	(107)	425 ± 92	(91)	389 ± 90	(97)	321 ± 120	(95)
	1000	369 ± 167	(92)	477 ± 165	(102)	425 ± 145	(107)	345 ± 114	(102)
	12500	437 ± 125	(109)	335 ± 151	(72)	364 ± 128	(91)	322 ± 126	(96)

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で、対照群に比し、いずれの検査時期及び用量群においても有意差なし(ANOVA)

6) 眼科学的検査

投与前及び投与終了前(第12週)に供試動物の眼科学的検査を半暗室内で行った。瞳孔反射試験ではペンライトあるいは透光器を用いて行い、更に散瞳剤を各々の眼に点眼し瞳孔を散大させた後、眼瞼、結膜、角膜、眼房水及び水晶体をスリットランプ検眼鏡を用い検査し、ガラス体液、網膜、脈絡膜及び視神経円板は間接検眼鏡及び集光レンズを用い検査した。

観察された眼科学的所見は、全て偶発的なものと考えられ、検体の投与に関連するものではなかった。

7) 剖検

全動物について投与終了後に剖検(全臓器、体腔、剖面、開口部及び体表)を行った。組織採取用の動物(各群番号の最初の6匹)はペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与して麻酔し、アルテヒド固定液の血液灌流(左心室より)によって安楽死させた。灌流固定は0.7%の亜硝酸ナトリウム・リン酸緩衝液を短時間注入後、0.5%(w/v)グルタルアルデヒドと4%(w/v)のEM用ホルムアルデヒドのリン酸緩衝液からなるUniversal固定液を用いておこなった。脳、脊髄(後根神経節と脊髄神経根を含む)、両眼球と視神経、腓腹筋、両前肢、神経系組織や骨格筋の肉眼病変部位および個体標識部位を採取し、10%リン酸緩衝ホルマリンで後固定した。

低中間用量群では灌流固定した脊髄、後根神経節及び脊髄神経根は剖検時に採取したが、鏡検に供しない限り脊柱より切り出さずに肉眼的に観察した。

また残りの動物は炭酸ガスにより窒息死させ、組織を採取することなく剖検した。

剖検時に見られた肉眼病変は雌雄12500ppm群の体腹部における尿による濡れと汚れに限られていた。

8) 最終体重及び脳重量の測定(表4)

最終体重については麻酔後、灌流固定前に測定した。脳については、灌流固定後、後固定前に重量を測定した。また体重比重量も求めた。

雌雄 12500ppm 群の最終体重は統計学的有意に減少した。さらに、これに伴って両性の脳の対体重比は統計学的有意に増加した。脳実重量には変化は認められなかった。

表4. 最終体重及び脳の重量(有意差に認められた項目)

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		100	1000	12500	100	1000	12500
体重				↓76			↓86
脳	実重量						
	対体重比			↑134			↑116

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Dunnett の検定) ,
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。

9) 病理組織学的検査

灌流固定した対照群と最高投与群の雌雄より採取した神経系組織について、鏡検検索を実施した。中間用量群については、最高投与群に検体投与に起因した病変が見られなかったことから評価しなかった。

以下の組織を検査した：脳(8 部位)、脊髄(4 部位/頸部、胸部、腰部及び馬尾)、ガッセル神経節、後根神経節、脊髄神経根、坐骨神経、脛骨神経、腓骨神経、視神経、眼球および腓腹筋

脳および脊髄組織はパラフィンで包埋し、約 5 μ で薄切し、Hematoxylin and eosin (H&E)、luxol fast blue/cresyl violet (LFB/CV)、Sevier-Munger 銀染色法で染色した。さらに腓腹筋、視神経、眼球はパラフィンで包埋し、H&E 染色した。末梢神経(坐骨神経、脛骨神経、腓骨神経)、ガッセル神経節、後根神経節、脊髄神経根についてはグリコール メタアクリレート(GMA)で包埋し、2~3 μ で薄切し、Lee の変法で染色した。

病理組織学的検査の結果、検体に関連した所見は12500ppm群の雌雄共に認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下、12500ppm群でみられた摂餌量の低下に伴なった増体重抑制(雌雄)から、総体的なNOAELは、雌雄共に1000ppm(雄：70.3mg/kg/日、雌：87.3mg/kg/日)であると判断した。

神経毒性は本検体のいずれの投与用量においても認められず、NOAELは、雌雄共に12500ppm(雄：1088.8mg/kg/日、雌：1306.5mg/kg/日)であると判断した。

(8) 28 日間反復投与遅発性神経毒性

スピロジクロフェンの 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験

(毒性資料No.原体-13)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知の運用について）の「4. 試験成績の提出除外について」

(2) ⑬の規定により下記の理由が該当することから試験を省略した。

急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと考えられる。

(9) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

スピロジクロフェンのラットを用いた混餌投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(毒性資料 No. 原体-14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 2000年11月8日

検体の純度：

試験動物： ウィスター系ラット (SPF)

[試験開始時 5~6 週齢、体重 雄 141~182g, 雌 108~147g]

1群雌雄各 50 匹+雌雄各 10 匹 (中間検査用：12 ヶ月に計画屠殺)

投与期間： 24 ヶ月 (1997年8月~1999年9月)

【試験方法】

検体を 0 (対照群)、50、100、350 及び 2500ppm となるように粉末飼料 (1%のピーナツ油添加) に混ぜ、24 ヶ月間ラットに投与した。検体を混入した飼料は週毎に調製した。給餌回数は週 2 回とした。

用量設定の根拠；

【試験項目及び試験結果】

1) 臨床症状

動物を少なくとも1日2回（週末と休日は1回）観察し、臨床症状と異常を記録した。各個体の詳細な検査は週1回実施した。不健康な動物あるいは生死にかかわる可能性のある新生物ができた動物については、隔離して、より頻繁に観察し、もし瀕死状態にあれば切迫屠殺した。

その結果、全ての用量群において、臨床症状、体表、開口部、一般行動、姿勢、呼吸及び排泄物に検体投与に関連した所見は認められなかった。

2) 死亡率(表1)

本検体の投与により、雌の最高用量群での死亡率の増加が、雄の最高用量群で死亡率の低下が認められたが、統計学的有意差は雌雄ともに認められなかった。

表1 死亡率 (757日までの累積死亡数から求めた。動物数50匹)

投与量(ppm)		0	50	100	350	2500
死亡率(%)	雄	38	40	28	38	18
	雌	40	36	37	30	47

血液採取中に死亡した動物を除く(♀0ppm 2例, 100ppm 1例, 2500ppm 1例)
Wilcoxon 検定を実施

3) 体重(図1a, b)

投与開始時から13週までは毎週、その後は2週間毎に生存動物の体重を測定した。更に、臓器の対体重比の計算のため、計画屠殺直前に体重を測定した。

体重増加は雌雄とも350ppm以下では対照群と同様であった。2500ppmでは、体重は対照群のものより有意に低かった(最高雄では11%、雌では8%)。この差は雄ではほぼ投与期間を通じて、雌では第1週から第53週まで有意であった。

図1a. 体重(雄)

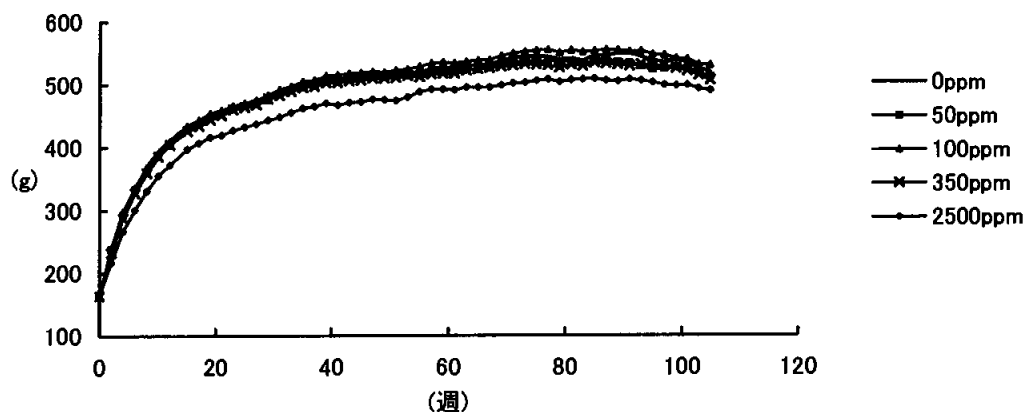
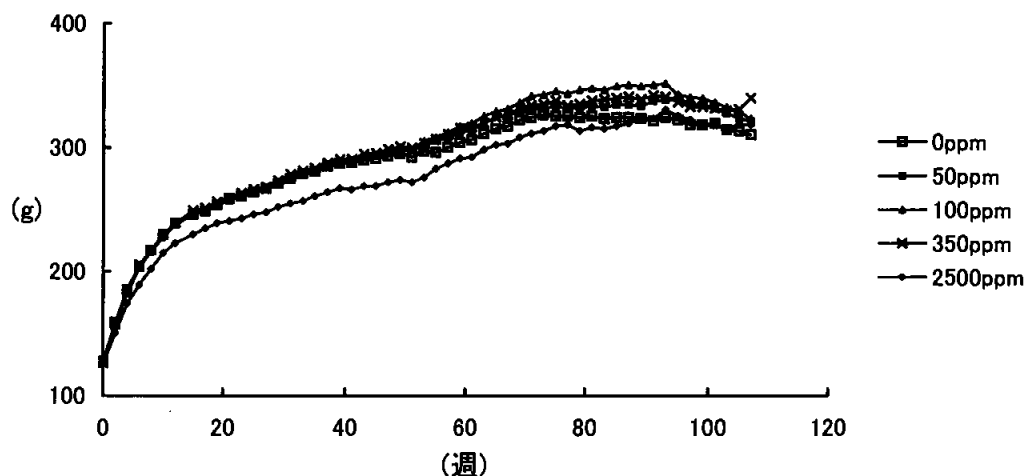


図 1b. 体重(雌)



4) 摂餌量及び検体摂取量 (表 2)

摂餌量を全例について、13 週まで毎週週 2 回の間隔で、その後から 37 週までは 4 週毎に週 2 回の間隔でその後は 4 週毎に週 1 回の間隔で測定し、これを基に検体摂取量を算定した。

これらの結果から、摂餌量の平均値は 350ppm 以下では対照群のデータと同様であった。2500ppm では体重が低かったため、この用量では体重あたりの摂餌量がやや高かった。用量段階に相関した検体摂取量はほぼ達成された。

表 2 検体摂取量(mg/kg/日)

投与量(ppm)		50	100	350	2500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.04	4.11	14.72	110.14
	雌	2.87	5.93	19.88	152.90

5) 飲水量

飲水量を 4 週間に 1 回の間隔で測定した。

飲水量には検体に関連した変化は認められなかった。

6) 機能観察検査(FOB)

第 77 週に各用量で雌雄各 10 匹について機能観察検査を行った。

下記の観察/検査を行った。

ケージ内での観察： 姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動、鳴声

取扱い時の観察： 取り出しの容易さ、取扱いに対する反応、筋緊張、流涙、唾液分泌、汚れ

オープンフィールドでの観察： 立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同運動、異常行動、歩行異常、鳴声、覚醒、直立位、排便、排尿

マニピュラティブ検査： アプローチ反応、接触反応、聴覚反応、尾ピンチ反応

ホームケージ内、取扱い時及びオープンフィールドでの機能観察では、検体投与による神経毒性を示すような徴候又は症状を示さなかった

7) 眼科学的検査 (表 3)

全例について投与開始前に眼科学的検査を行った。さらに約1年間の投与後に対照群と最高用量群の生存動物全例について検査を行い、また、約2年間の投与後に生存していたすべての最終計画屠殺例(雌 350ppm を除く)について行った。

眼科学的検査の詳細は以下の通りであった。

最初に両眼の瞳孔反射の検査を暗室で行った。Mydriaticum-Stullen®点眼剤で瞳孔を散大させた後に、対照群と 2500ppm 群の動物について間接検眼鏡を用いて、眼の反射組織及び眼底を検査した。

更に同群についてはスリットランプを用いた眼の検査も行った。2年間投与後の雄 50ppm から 350ppm の 3 群、雌 50ppm、100ppm 群では間接検眼鏡の検査は行わず、スリットランプのみで検査を行った。

投与期間終了時に、350 及び 2500ppm を投与した雄で後水晶体包混濁の発現率が高い傾向を示した。一方、雌ではこの所見は均一に分布していた。しかし、これらの結果には明確な用量依存性がなく、しかも混濁に対応する病理組織学的所見を認めていないことから、投与による眼毒性はないと考えられた。

表 3 眼科学的検査所見 - 後水晶体包混濁

性別 用量 (ppm)	雄					雌				
	0	50	100	350	2500	0	50	100	350**	2500
検査した眼の数*	64	66	77	66	82	62	63	65	-	58
後水晶体包混濁を伴う眼の数	14	16	19	26	26	23	20	21	-	21
影響率 %	22	24	25	39	32	37	32	32	-	36

*欠失あるいは傷の為検査数は等しくない。

**検査せず

8) 臨床検査

各群任意に選抜した各群 10 匹の動物について下記に示す日程で血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を行った。

検査	実施週			
血液一般検査	27	53	79	105
血液生化学	27	53	79	105
尿検査	26	51/52	78	104

8-1) 血液学的検査 (表 4)

非絶食、エーテル麻酔下の動物の眼窩静脈叢から採取した末梢血において、白血球百分率、赤血球形態、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量(HB)、ヘマトクリット値(HCT)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、血小板数(THRO)及びトロンボプラスチン時間(HQUICK)を測定又は算定した。

赤血球数、HB、HCT 及び赤血球恒数はすべての試験群の雌雄で対照群の値と同様であった。

検討した血液凝固パラメータ(THRO, HQUICK)は、検討した用量範囲で試験期間を通して対照群と同様であった。

第 105 週における雌の有意に低い白血球数(2500ppm)及びリンパ球数(50ppm 以上)は主に対照群が比較的高い値を示したことに起因し、したがって毒性学的には意味のないものと考えられた。

その他に認められた対照との有意差は用量と相関性が認められず、毒性学的に意味のある差とはみなされなかった。従って、検体による毒性を示すものではないと解釈した。

表4 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

検査時期	27 週				53 週				79 週				105 週			
	50	100	350	2500	50	100	350	2500	50	100	350	2500	50	100	350	2500
雄																
LYM																
雌																
白血球数		↓73														↓51
Neutro					↑177	↑154		↑204								
LYM		↓73											↓69	↓66	↓65	↓46
MONO		↓60												↓57		↓53
ATYP		↓33	↓50	↓58												

Neutro;好中球, LYM;リンパ球, MONO;単球, ATYP;異型白血球

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、

↑↓: P<0.05, ↑↓: P<0.01 (Kruskal-Wallis+U 検定による)

8-2) 血液生化学的検査 (表5)

アルカリホスファターゼ (ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、ビリルビン (BIL)、総蛋白 (PROT)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CRE)、総コレステロール (CHOL)、トリグリセリド (TG)、アルブミン (ALB)、カルシウム (Ca)、カリウム (K)、ナトリウム (Na)、クロリド (CL)、無機リン (P)、トリヨードチロニン (T3)、チロキシン (T4)、甲状腺刺激ホルモン (TSH) を末梢血の血漿において、グルコース (GLU) を末梢血全血において測定した。

なお、これらの血液サンプルは、グルコース測定用 (無麻酔下の非絶食の動物の尾静脈から採血し、除蛋白処理) を除き、エーテル麻酔下で動物の眼窩静脈叢から採血した。

ALP は 2500ppm 雌雄群で対照群に比べ有意に高値であった。TG の血漿中濃度は 2500ppm 雌群の 27 週時で統計学的に有意に低下した。CRE、BIL、PROT では 2500ppm で統計学的な有意差が認められたが偶発的な結果と考えられた。その根拠は、有意差の原因が個体値 (雄、第 53 週: PROT) にあるがその個体値が正常変動範囲内 () にあること、また高値を示した当該動物においてその後高値が再現されなかったこと (雌、第 27 週: CRE)、あるいは正常変動範囲内よりわずかに低い値を示したが、その当該動物においてその後再現されなかった (雄、第 79 週: BIL) ことである。

T4 (雄、第 53 週 (350ppm でも有意差あり)、第 105 週) 及び TSH (雌、第 79 週、第

105 週)の血漿中濃度が 2500ppm でわずかだが高値を示し有意差がみられた。しかし雄で有意に上昇した T4 濃度において、いずれもその個体値は背景データ範囲内()にあり、また雌における TSH の血清中濃度の軽度な上昇も背景データ範囲内()にあったことから、これらの甲状腺ホルモンの変化は偶発的なものと考えられた。

ナトリウム、カリウム、カルシウム及び塩素の血清中濃度の測定は試験期間全体を通して投与に起因する影響を示さなかった。対照と有意差があると認められた平均値はいずれも個体値に起因しているが、これらの値は正常変動範囲内*にあり、したがって生物学的には意味のないものと考えられる。

また測定したリンの血清中濃度は、有意に上昇した第 53 週(雌雄,雌は有意差なし)以外は、雄では常に 2500ppm で低かった。しかし有意差が認められた平均リン濃度は正常変動範囲内*にあるため、偶発的な結果と考えられた。

その他 350ppm 以下で認められた有意差は、試験群と対照群(雌雄)の間に毒性的に意味のある差は認められなかった(用量相関性がない)。

*背景データ変動範囲内

Na [mmol/L] ()

K [mmol/L] ()

Ca [mmol/L] ()

CL [mmol/L] ()

P [mmol/L] ()

表 5 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

検査時期 投与量 (ppm)	27 週				53 週				79 週				105 週			
	50	100	350	2500	50	100	350	2500	50	100	350	2500	50	100	350	2500
雄																
ALAT ^W						↓ 78										
ALP ^W				↑ 174				↑ 137				↑ 162				↑ 151
GLU ^{A+D}	↓ 93															
BIL ^{K+U}												↓ 67				
PROT ^{A+D}								↓ 96								
T3 ^{K+U}													↑ 111	↑ 116		
T4 ^{K+U}							↑ 118	↑ 118								↑ 117
TSH ^{K+U}													↓ 50			
Na ^W						↓ 99	↓ 99					↓ 99				↑ 101
K ^W						↑ 108		↑ 108								
Ca ^W											↓ 98					
P ^W				↓ 70				↑ 119								
雌																
ALP ^W				↑ 185								↑ 185				↑ 161
GLU ^{A+D}	↓ 91									↓ 93						
TG ^{A+D}				↓ 58												
CRE ^{A+D}				↑ 121												
T3 ^{K+U}													↑ 110	↑ 113		
TSH ^{K+U}												↑ 225				↑ 209
Ca ^W																↓ 97
CL ^W		↑ 102	↑ 103													
P ^W			↓ 60	↓ 58								↓ 72				

↑ ↓ : P<0.05, ↑ ↓ : P<0.01 (W;Welsh, A+D;ANOVA+Dunnett, K+U;Kruskal-Wallis+U 検定による), 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

8-3) 尿検査

各動物とも血液採取数日前に、16時間蓄尿した。サンプリング中は、給水のみ行い、給餌しなかった。潜血、ビリルビン、糖、ケトン体、pH、蛋白、沈渣、ウロビリノーゲンを半定量的に、比重、尿量、蛋白濃度、採取した尿中の蛋白全量、を定量的に測定した。

尿試料及び沈渣の半定量的検査では、pH 値、グルコース、ビリルビン、ウロビリノーゲン及びケトン体に関しても、細胞[赤血球(血液)、白血球、細菌、上皮細胞、円柱細胞及び粘液]及び不溶性塩(三リン酸塩及び無晶形塩)に関してもすべての試験群の動物で毒性学的に意味のある差が認められなかった。

尿の比重、排出量及び蛋白の定量的測定では、検討した全用量範囲で対照との差が認められなかった。

9) 本検体及びその の血漿中濃度の測定(表6)

投与 82 週目に雌雄各投与群 10 匹から血液を採取し、HPLC で測定した。

検体の血漿中濃度は定量限界以下であった。これは本検体が血漿及び肝臓中のエステラーゼによって容易に に分解されてしまうことによるものと考えられた。

一方、 の血漿中濃度を以下の表に示した。

表6 の血漿中濃度の分析

	0ppm	50ppm	100ppm	350ppm	2500ppm
雄(nmol/mL)	0	LOQ	1.4	5.0	45.0
雌(nmol/mL)	0	0.4	1.4	5.5	64.2

LOQ: 定量限界以下

10) 剖検

途中死亡動物、中間計画屠殺動物(1年)雌雄各 10 匹及び最終計画屠殺動物の全動物を剖検した。

10-1) 中間計画屠殺用全動物

投与に起因すると考えられる肉眼所見は認められなかった。

10-2) 最終計画屠殺用全動物(表7)

2500ppmでは、2年間の投与を計画したラットの肉眼病理観察で下記の所見の発現率上昇が認められた。

肝臓変色(雌)

腎盂拡張(雌)

脾臓の硬度の変化(雌, 途中死亡例のみ)

子宮結節(雌)

また、発現率低下が下記の所見で認められた。

腎臓(退色, 表面変化, 雄, 2500ppm)

肝臓(顕著な小葉構造, 雄, 2500ppm)

下垂体(結節, 雌, 50及び2500ppm)

表7 - 投与に関連した剖検所見 - 最終解剖

用量(ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
性別	雄	雄	雄	雄	雄	雌	雌	雌	雌	雌
検査数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
子宮										
結節	-	-	-	-	-	8	7	9	9	17*
脾臓										
硬さの変化	1#	2#	0	0	0	1#	1#	0	0	5#
腎臓										
表面の変化	12	11	11	13	1	1#	4	6	4	0
下垂体										
結節	4	5	0	2	3	11	6	13	13	4#

途中死亡のみ

Fisher exact test(*:p<0.05)

11) 臓器重量(表8)

中間屠殺例及び試験最終屠殺例の副腎、脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、精巣及び卵巣の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

その結果、対照群と比べ、2500ppmで平均臓器重量(実重量と対体重比)に認められた差(一部は有意)はこれら動物の体重増加の遅延と関連していると考えられた。最終剖検時に時折り有意差があることが認められた他の用量群の平均値(雄:腎臓-50ppm, 雌:脾臓-50及び350ppm)は、明瞭な用量相関がないため、偶発的な結果と考えられた。

従って、測定した臓器の実重量及び対体重比について、検体投与群と対照群との間で毒性学的に意味のある差は、雌雄とも中間剖検でも最終剖検でも認められなかった。

表 8 臓器重量 (有意差の認められた臓器)

性別	雄								雌							
	1年				2年				1年				2年			
検査時期	1年				2年				1年				2年			
投与量	50	100	350	2500	50	100	350	2500	50	100	350	2500	50	100	350	2500
体 重				↓90								↓85				
脳	実重量															↑103
	対体重比											↑114				
心 臓	実重量											↓88				
	対体重比				↑113											
肝 臓	実重量							↓91								
	対体重比															
脾 臓	実重量											↓85				
	対体重比												↓88		↓88	↓87
胸 腺	実重量							↑121								
	対体重比											↑128				
腎 臓	実重量				↓92											
	対体重比															

↑ ↓ : P<0.05, ↑ ↓ : P<0.01 (ANOVA+Dunnett 検定),
 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。

12) 病理組織学的検査 (表 9 ~ 16)

中間屠殺動物(1年)、途中死亡した動物や切迫屠殺動物及び最終屠殺動物について以下の臓器、組織の病理標本を作成した。染色はヘマトキシリンエオジンで行った。更に、中間計画屠殺動物については、肝臓の凍結切片を作成し、ORO 染色を施した。また脾臓、膵臓、胸腺及び腸間膜リンパ節については、別の切片を用いてプルシアンブルー染色を施した(脾臓のみ病理学的検査を実施した)。最終屠殺動物については、特殊染色は特定の症例で行った。

副腎、大動脈、脳、腸管(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸管残余)、精巣上部、食道、眼球(眼瞼を含む)、外涙腺、四肢(最終剖検のみ)、大腿骨(骨髄、膝関節を含む)、ハーダー氏腺、頭-鼻、咽頭(最終剖検のみ)、心臓、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(腸間膜及び顎下)、乳腺、視神経、卵巣、輸卵管、膵臓、脳下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精のう、骨格筋、皮膚、脊髄(3部位)、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体)、舌、気管、尿管、尿道、膀胱、子宮(頸部を含む)、膈、外耳道腺、異常部位

12-1) 中間計画屠殺用全動物の非腫瘍性病変 (表 9, 13)

1 年間の検体投与後の組織学的検査では雌雄とも 350ppm 以下では、投与と関係のある所見は認められなかった。2500ppm では、以下の臓器・組織に投与と関係のある変化が認められた。

副腎

雄における束状帯細胞の軽微から中等度の細胞質空胞化(微小空胞ないし大空胞)の発現率ないしは程度の上昇

3 匹の雄における軽微から軽度のびまん性副腎皮質細胞肥大

その他瀕死状態で屠殺した雌 1 例で見られた眼瞼のびらん(両眼)は、病理組織学的検査では中等度の化膿性炎症であった。

表 9 主な非腫瘍性病変(臓器/群/性)

性	雄					雌				
用量 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
臓器/所見	動物数					動物数				
副腎										
-束状帯細胞質の空胞化/小程度/平均値	6	7	5	3	9	0	0	0	0	0
	1.3	1.0	1.0	1.0	2.2					
-束状帯細胞質の空胞化/大程度/平均値	6	5	4	5	10*	0	0	0	0	0
	1.5	1.4	1.3	1.2	1.5					

Fisher exact test (*:p<0.05)

12-2) 最終計画屠殺用全動物の非腫瘍性病変 (表 10, 14)

投与に関係があると判断された非腫瘍性病変がいくつか認められた。

2500ppm では下記の病変の発現率が上昇した。

- 空腸の上皮細胞の空胞形成(雌雄)
- 副腎皮質の束状帯細胞のびまん性の肥大/空胞形成(雄)
- 甲状腺のコロイドの変化(雄) (次頁に詳細を記載した)。
- ライディッヒ細胞限局性過形成(雄)

一方、2500ppm では加齢に依存する下記の非腫瘍性病変の発現率が雄ないしは雌で低下した。これらはこの用量群の体重増加遅延と関連して認められ、本検体の有害作用を反映するものではないと考えられた。

- 子宮頸部の扁平上皮過形成(100ppm, 2500ppm)
- 脾臓及び腸間膜リンパ結節の色素沈着(雌雄)
- 胸腺の上皮過形成(雄)

表 10 最終計画屠殺用全動物における主な非腫瘍性病変

性別 用量 (ppm) 臓器/所見	雄					雌				
	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
空腸 検査数	50	50	50	50	50	50	49	50	50	50
上皮細胞の空胞化	3	0	4	3	18**	5	0*	0*	1	17**
精巣 検査数	50	50	50	50	50	-	-	-	-	-
ライディット細胞限局性過形成	4	4	4	7	19**					
子宮頸部 検査数	-	-	-	-	-	50	50	50	50	50
扁平上皮細胞の過形成						8	9	2*	3	2*
甲状腺 検査数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
コロイド変化 ¹	23	23	28	28	35*	2	5	2	5	3
副腎皮質 検査数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
びまん性の肥大及び空胞化	3	1	5	5	25**	0	0	0	0	0
脾臓 検査数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
色素沈着	7	9	8	9	0**	21	24	26	23	6**
胸腺 検査数	48	50	48	50	50	49	50	49	50	48
上皮の過形成	8	6	3	4	2*	26	24	26	27	18
腸間膜リンパ節 検査数	50	50	50	49	49	49	50	50	50	50
色素沈着	33	30	24	24	9**	32	31	33	36	13**

- = なし

統計処理: one-tailed Fisher exact test (*: p<0.05, **: p<0.01)

¹ 申請者注:

12-3) 中間計画屠殺用全動物の腫瘍性病変 (表 15)

中間計画屠殺用全動物では、検体と関係のある腫瘍性病変は認められなかった。

12-4)最終計画屠殺用全動物の腫瘍性病変 (表 11~12, 16)

腫瘍の発現率、種類、良悪、部位について分類した。

2500ppm 群の雄ではライディツヒ細胞腫瘍¹⁾の頻度が増加した。また同群雌、特に途中死亡例で、子宮結節の肉眼的病理所見と相関する子宮腺癌²⁾の頻度が増加した。その結果、雌の途中死亡例において 2500ppm で悪性腫瘍を有する動物数及び良性及び悪性腫瘍の双方を有する動物数が対照よりわずかに多かった。腫瘍を有する動物数及び良性腫瘍のみを有する雌の途中死亡例数はどの群でも同様であった。一方、雄の途中死亡例では、試験群と対照群で腫瘍、悪性腫瘍、良性腫瘍、良性と悪性の双方の腫瘍を有するラットの数は同様であった。

[申請者註;

]

最終剖検では、腫瘍、悪性腫瘍のみ、又は悪性腫瘍と良性腫瘍の双方を有する動物の数については雌雄共に試験群と対照群の間で差は認められなかった。350ppm では、良性腫瘍のみを有する雌の数が他の用量群の雌と比較して多かった。これは用量に相関しなかったこと(350ppm では 26 匹の雌, 2500ppm では 13 匹の雌)、あるいは特殊の腫瘍タイプが増加したのではないことに基づけば、偶発的であると考えられる。試験群と対照群で良性腫瘍のみを有する雄の数は同様であった。

最終計画屠殺例全例を全般的に考慮すれば、腫瘍(雌雄)、良性腫瘍のみ(雌雄)、良性腫瘍と悪性腫瘍の双方(雌雄)、あるいは悪性腫瘍のみ(雄)を有するラットの数は各群に均一に分布していた。子宮腺癌の高い発現率のため、2500ppm では悪性腫瘍を有する雌の数が対照より多かった。

なお、その他各臓器で認められた腫瘍の発生数は、統計学的な有意差も認められず、本検体の影響とは考えられなかった。

腫瘍を有する動物の経時的発生(表 12)には雌雄ともに用量に関連した影響は認められなかった。

表 11 最終計画屠殺用動物における良性/悪性腫瘍を有する動物数及び腫瘍数

性別 用量 (ppm) 動物数	雄					雌				
	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
途中死亡動物										
試験動物数	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
腫瘍を有する動物数	8	11	9	12	6	19	16	14	14	22
良性腫瘍のみを有する動物数	3	5	6	7	2	11	9	9	9	6
悪性腫瘍のみを有する動物数	2	3	2	5	3	2	1	1	2	7
良悪腫瘍を有する動物数	3	3	1	0	1	6	6	4	3	9
良性腫瘍数	6	9	8	11	4	25	19	22	14	22
悪性腫瘍数	5	6	3	5	4	8	8	5	5	18
腫瘍総数	11	15	11	16	8	33	27	27	19	40
最終解剖動物										
試験動物数	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
腫瘍を有する動物数	17	16	24	18	21	17	20	22	28	17
良性腫瘍のみを有する動物数	15	15	21	15	19	12	17	17	26	13
悪性腫瘍のみを有する動物数	1	0	2	1	1	0	1	2	1	1
良悪腫瘍を有する動物数	1	1	1	2	1	5	2	3	1	3
良性腫瘍数	25	26	31	27	25	24	28	29	40	25
悪性腫瘍数	2	1	3	3	3	5	3	5	2	4
腫瘍総数	27	27	34	30	28	29	31	34	42	29
最終計画屠殺用全動物										
試験動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍を有する動物数	25	27	33	30	27	36	36	36	42	39
良性腫瘍のみを有する動物数	18	20	27	22	21	23	26	26	35	19
悪性腫瘍のみを有する動物数	3	3	4	6	4	2	2	3	3	8
良悪腫瘍を有する動物数	4	4	2	2	2	11	8	7	4	12
良性腫瘍数	31	35	39	38	29	49	47	51	54	47
悪性腫瘍数	7	7	6	8	7	13	11	10	7	22
腫瘍総数	38	42	45	46	36	62	58	61	61	69

*対の臓器での両側に腫瘍ある場合は、この表では2つとして計算している。

表 12 腫瘍を有する動物の経時的発生数

-中間計画屠殺用動物

用量 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
性別	雄	雄	雄	雄	雄	雌	雌	雌	雌	雌
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
週										
1 - 13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 - 26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27 - 39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40 - 52	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
53 - 54	0	0	0	0	0	2	1	0	1	1
1 - 54	0	0	0	0	1	2	1	0	1	1

-腫瘍を有する最終計画屠殺用動物

用量 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
性別	雄	雄	雄	雄	雄	雌	雌	雌	雌	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
週										
1 - 13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 - 26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27 - 39	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
40 - 52	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
53 - 65	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2
66 - 78	1	1	0	1	2	1	1	3	1	3
79 - 91	1	1	2	5	2	4	9	3	3	7
92 - 104	2	6	6	3	1	12	5	8	7	9
105 - 109	17	18	25	21	21	18	21	22	28	18
1 - 109	25	27	33	30	27	36	36	36	42	39

以上の結果から、本剤のラットに対する 24 ヶ月間飼料混入投与による慢性毒性及び発がん性併合試験における本剤の影響として、2500ppm 群の雌雄で体重増加の抑制、ALP の上昇、トリグリセリド(雌)の低下がみられた。また、2500ppm 群の雌雄で空腸の腸管上皮の空胞化、雄で副腎皮質の束状帯の空胞化、ライディッヒ細胞限局性過形成、甲状腺のコロイドの変化、生殖器における非遺伝学的と考えられる腫瘍性病変(雄；ライディッヒ細胞腫瘍、雌；子宮腺癌)の増加がみられた。

以上のことから、本試験条件下において、スピロジクロフェンの雌雄ラットに対する無毒性量 (NOAEL) は、飼料中濃度 350ppm(雄：14.7mg/kg/日、雌：19.9mg/kg/日)であった。

表 13 主要な非腫瘍性病変(中間計画屠殺用動物)

検査 時期	性別	雄					雌				
	投与群(ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
1年	副腎	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	束状帯細胞質空胞化/小	6	7	5	3	9	0	0	0	0	0
	程度/平均値	1.3	1.0	1.0	1.0	2.2					
	束状帯細胞質空胞化/大	6	5	4	5	10	0	0	0	0	0
	程度/平均値	1.5	1.4	1.3	1.2	1.5					

表 14-1 主要な非腫瘍性病変(最終計画屠殺用動物)

検査 時期	性別	雄					雌				
	投与群(ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
死亡・ 切迫 殺	舌	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	動脈炎/動脈周囲炎	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	腺胃部	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	動脈炎/動脈周囲炎	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	空腸	19	20	14	19	9	21	17	19	15	24
	上皮細胞の空胞化	0	0	0	0	0	3	0	0	1	3
	脾臓	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	動脈炎/動脈周囲炎	1	4	0	1	0	0	0	0	1	1
	精巣	19	20	14	19	9	/	/	/	/	/
	動脈炎/動脈周囲炎	4	4	4	5	2					
	ライディヒ細胞限局性過形成	0	0	0	1	0					
	精細管の萎縮	4	5	7	4	1					
	精巣上体	19	20	14	19	9	/	/	/	/	/
	萎縮	2	0	2	0	0					
	精子減少症	1	3	4	1	1					
	子宮頸部	/	/	/	/	/	21	18	19	15	24
	扁平上皮細胞の過形成						2	1	0	1	2
	甲状腺	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	コロイド変化	4	9	4	11*	4	0	1	1	2	0
	副腎皮質	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	びまん性の肥大, 空胞化	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	のう胞変性	0	0	2	1	1	5	5	4	5	3
	紫斑病	1	1	0	0	0	12	11	15	8	12
	副腎髄質	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	限局性の過形成	3	4	3	6	0	3	1	3	4	0
	脾臓	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	色素沈着	6	4	2	5	0	10	6	12	7	5
胸腺	18	20	13	19	9	21	18	18	15	22	
上皮の過形成	4	3	2	1	0	9	6	7	8	7	
腸間膜リンパ節	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24	
色素沈着	11	10	4	6	2	11	7	11	9	2**	
最終 屠殺	舌	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	動脈炎/動脈周囲炎	3	2	1	1	0	0	2	2	1	3
	腺胃部	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	動脈炎/動脈周囲炎	2	3	4	1	0	0	0	1	1	0
	空腸	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
上皮細胞の空胞化	3	0	4	3	18**	2	0	0	0	14**	

表 14-2 主要な非腫瘍性病変(続き)

検査 時期	性別	雄					雌				
	投与群(ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
最 終 屠 殺	脾臓	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	動脈炎/動脈周囲炎	5	5	3	2	0*	2	2	4	3	0
	精巣	31	30	36	31	41	/	/	/	/	/
	動脈炎/動脈周囲炎	9	12	13	12	6					
	ライゲイト細胞限局性過形成	4	4	4	6	19**					
	精細管の萎縮	8	7	8	8	9					
	精巣上体	31	30	36	31	41	/	/	/	/	/
	萎縮	0	0	0	2	0					
	精子減少症	2	2	1	5	5					
	子宮頸部	/	/	/	/	/	29	32	31	35	26
	扁平上皮細胞の過形成						6	8	2	2	0*
	甲状腺	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	コロイド変化	19	14	24	17	31	2	4	1	3	3
	副腎皮質	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	びまん性の肥大, 空胞化	3	1	5	4	25**	0	0	0	0	0
	のう胞変性	1	1	0	1	2	7	12	6	14	11
	紫斑病	1	0	0	0	1	23	27	24	26	16
	副腎髄質	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	限局性の過形成	10	12	13	11	6	3	5	6	3	2
	脾臓	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	色素沈着	1	5	6	4	0	11	18	14	16	1**
	胸腺	30	30	35	31	41	28	32	31	35	26
	上皮の過形成	4	3	1	3	2	17	18	19	19	11
腸間膜リンパ節	31	30	36	31	41	28	32	31	35	26	
色素沈着	22	20	20	18	7**	21	24	22	27	11*	
全 動 物	舌	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	動脈炎/動脈周囲炎	3	2	2	1	0	0	3	2	1	3
	腺胃部	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	動脈炎/動脈周囲炎	3	4	4	2	0	0	0	1	1	0
	空腸	50	50	50	50	50	50	49	50	50	50
	上皮細胞の空胞化	3	0	4	3	18**	5	0*	0*	1	17**
	脾臓	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	動脈炎/動脈周囲炎	6	9	3	3	0*	2	2	4	4	1
	精巣	50	50	50	50	50	/	/	/	/	/
	動脈炎/動脈周囲炎	13	16	17	17	8					
	ライゲイト細胞限局性過形成	4	4	4	7	19*					
精細管の萎縮	12	12	15	12	10						

表 14-3 主要な非腫瘍性病変(続き)

検査 時期	性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
全 動 物	精巢上体	50	50	50	50	50	/	/	/	/	/
	萎縮	2	0	2	2	0					
	精子減少症	3	5	5	6	6					
	子宮頸部	/	/	/	/	/	50	50	50	50	50
	扁平上皮細胞の過形成						8	9	2*	3	2*
	甲状腺	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	コロイド変化	23	23	28	28	35*	2	5	2	5	3
	副腎皮質	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	びまん性の肥大, 空胞化	3	2	5	5	25**	0	0	0	0	0
	のう胞変性	1	1	2	2	3	12	17	10	19	14
	紫斑病	2	1	0	0	1	35	38	39	34	28
	副腎髄質	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	限局性の過形成	13	16	16	17	6	6	6	9	7	2
	脾臓	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	色素沈着	7	9	8	9	0**	21	24	26	23	6**
	胸腺	48	50	48	50	50	49	50	49	50	48
	上皮の過形成	8	6	3	4	2*	26	24	26	27	18
腸間膜リンパ節	50	50	50	49	49	49	50	50	50	50	
色素沈着	33	30	24	24	9*	32	31	33	36	13**	

Fisher 検定; *:p<0.05, **:p<0.01

表 15 腫瘍性病変(中間計画屠殺用動物)

検査 時期	性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
1年	乳腺	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
	腺癌(m)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	骨格筋	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
	エナメル上皮歯牙腫(b)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	甲状腺	10	0	0	0	10	10	0	0	0	0
	C-細胞腺腫(b)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	子宮	/	/	/	/	/	10	10	10	10	10
	間質ポリープ(b)						1	0	0	1	0
	下垂体	10	0	0	0	10	10	1	0	1	10
	腺腫/前葉(b)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0

表 16-1 腫瘍性病変(最終計画屠殺用動物)

検査時期	性別	雄					雌				
	投与群(ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
死亡・ 切迫 殺	脳	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	悪性星状膠細胞腫(m)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	顆粒状細胞腫(b)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	心臓	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	悪性心内膜シュワン細胞腫(m)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	悪性心房大静脈中皮腫(m)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	咽頭	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	悪性シュワン細胞腫(m)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	空腸	19	20	14	19	9	21	17	19	15	24
	平滑筋肉腫(m)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	胆管腫(b)	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	肝細胞腺腫(b)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	腺房膵島細胞混合腺腫(b)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	島細胞癌(m)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	脂肪肉腫(m)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣	19	20	14	19	9	/	/	/	/	/
	良性ライディツヒ細胞腫瘍(b)	0	0	0	0	1					
	卵巣	/	/	/	/	/	21	18	19	15	24
	良性黄体腫(b)						1	0	0	0	0
	良性生殖索間葉腫瘍(b)						0	0	1	0	0
	良性卵胞膜腫(b)						0	0	1	0	0
	子宮	/	/	/	/	/	21	18	19	15	24
	腺癌(m)						2	2	1	2	11**
	腺扁平上皮癌(m)						0	0	0	0	1
	腺管ポリープ(b)						1	1	0	0	0
	顆粒細胞腫(b)						0	1	1	0	0
	悪性シュワン細胞腫(m)						1	0	0	1	0
扁平上皮癌(m)						1	0	0	0	1	
間質細胞肉腫(m)						1	0	0	0	0	
間質ポリープ						5	3	2	4	3	
子宮頸部						21	18	19	15	24	
顆粒細胞腫(b)						0	1	0	0	0	

m; 悪性腫瘍, b; 良性腫瘍

Fisher 検定; *:p<0.05, **:p<0.01

表 16-2 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
死亡・ 切迫 殺	膣						20	18	19	15	23
	扁平上皮癌 (m)						0	1	0	0	0
	下垂体	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	前葉腺腫 (b)	4	4	2	2	2	10	9	9	7	7
	甲状腺	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	C-細胞腺腫 (b)	0	2	1	0	0	1	0	0	1	2
	C-細胞癌 (m)	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	ろ胞細胞腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	副腎皮質	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	副腎髄質	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	良性髄質腫瘍 (b)	1	3	3	5	1	0	0	0	0	2
	悪性髄質腫瘍 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腫瘍/鑑別診断せず (b)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	血液リンパ網内系	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	顆粒球性白血病 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
	組織球性肉腫 (m)	0	1	0	2	1	0	0	0	0	1
	悪性線維性組織球腫 (m)	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	悪性リンパ腫 (m)	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
	胸腺	18	20	13	19	9	21	18	18	15	22
	良性胸腺腫 (b)	0	0	1	1	0	3	0	0	0	2
	腸間膜リンパ節	19	20	14	19	9	21	18	19	15	24
	血管腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	14	12	7	12	7	21	18	19	15	24
	腺癌 (m)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
	線維腺腫 (b)	0	0	0	0	0	3	3	7	1	2
	皮膚/その他	4	3	3	2	1	2	1	4	0	1
	基底細胞癌 (m)	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	線維肉腫 (m)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫 (m)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	線維腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	体腔	1	0	1	1	0	5	1	1	2	5
	悪性中皮腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	褐色脂肪腺腫 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
口腔	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
扁平上皮細胞癌 (m)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	

m; 悪性腫瘍, b; 良性腫瘍

表 16-3 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
最終屠殺	脳	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	星状膠細胞腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	稀突起膠細胞腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	顆粒状細胞腫 (b)	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	脊髄	31	30	36	31	40	50	50	50	50	50
	良性星状膠細胞腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	神経鞘腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	悪性心内膜シュワン細胞腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	腺胃部	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	平滑筋肉腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	空腸	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	平滑筋腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋肉腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	回腸	31	30	36	31	40	29	32	31	35	26
	腺腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	肝細胞癌 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫 (b)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	島細胞腺腫 (b)	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	脂肪肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	31	30	36	31	41	/	/	/	/	/
	良性ライディッヒ細胞腫瘍 (b)	2	1	0	4	9					
	卵巣	/	/	/	/	/	29	32	31	35	26
	良性生殖索間葉腫瘍 (b)						0	0	1	0	0
	良性卵胞膜腫 (b)						1	2	0	0	0
	悪性卵胞膜腫 (m)						1	0	0	0	0
	子宮	/	/	/	/	/	29	32	31	35	26
腺癌 (m)						2	3	2	0	3	
腺腫 (b)						0	0	0	1	0	
腺管ポリープ (b)						0	1	0	0	2	
顆粒細胞腫 (b)						0	1	0	0	0	
悪性ミューラ管混合腫瘍 (m)						0	0	1	0	0	
間質ポリープ (b)						4	5	5	7	7	

m; 悪性腫瘍, b; 良性腫瘍

表 16-4 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
所見 \ 検査動物数											
最終屠殺	子宮頸部	/	/	/	/	/	29	32	31	35	26
	顆粒細胞腫 (b)						0	1	0	0	0
	下垂体	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	前葉腺腫 (b)	7	9	11	10	3	1	2	3	4	4
	甲状腺	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	C-細胞腺腫 (b)	4	4	4	4	7	1	2	3	4	4
	ろ胞細胞腺腫 (b)	1	1	2	2	1	0	0	0	0	0
	副腎皮質	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	腺腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	副腎髄質	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	良性髄質腫瘍 (b)	5	7	3	4	4	2	0	0	0	0
	悪性髄質腫瘍 (m)	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	血液リンパ網内系	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	組織球性肉腫 (m)	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓	31	30	36	31	41	29	32	31	35	26
	血管肉腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	胸腺	30	30	35	31	41	28	32	31	35	26
	悪性胸腺腫 (m)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	良性胸腺腫 (b)	0	0	2	1	0	1	1	1	2	1
	乳腺	15	14	21	20	22	29	32	31	35	26
	線維腺腫上の腺癌 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	腺癌 (m)	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0
	腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	線維腺腫 (b)	0	0	0	0	0	6	3	2	6	2
	皮膚/その他	3	1	3	2	1	0	2	1	2	1
	毛包腫瘍 (b)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫 (b)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	体腔	0	1	0	0	1	0	0	2	0	4
	悪性中皮腫 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

表 16-5 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
全動物	脳	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	星状膠細胞腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	悪性星状膠細胞腫 (m)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	稀突起膠細胞腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	顆粒状細胞腫 (b)	2	0	0	0	0	1	0	0	2	0
	脊髄	50	50	50	50	49	50	50	50	50	50
	良性星状膠細胞腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	神経鞘腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	悪性心房大静脈中皮腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	悪性心内膜シュワン細胞腫 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	咽頭	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	悪性シュワン細胞腫 (m)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	腺胃部	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	平滑筋肉腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	空腸	50	50	50	50	50	50	49	50	50	50
	平滑筋腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋肉腫 (m)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	回腸	50	50	50	50	49	50	50	50	50	50
	腺腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	胆管腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	肝細胞癌 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫 (b)	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺房膵島細胞混合腺腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	島細胞癌 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	島細胞腺腫 (b)	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	脂肪肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
精巣	50	50	50	50	50	/	/	/	/	/	
良性ライディツヒ細胞腫瘍 (b)	2	1	0	4	10*						

m; 悪性腫瘍, b; 良性腫瘍

Fisher 検定; *:p<0.05, **:p<0.01

表 16-6 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別	雄					雌				
	投与群(ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
全動物	卵巣	/	/	/	/	/	50	50	50	50	50
	良性黄体腫 (b)						1	0	0	0	0
	良性生殖索間葉腫瘍 (b)						0	0	2	0	0
	良性卵胞膜腫 (b)						1	2	1	0	0
	悪性卵胞膜腫 (m)						1	0	0	0	0
	子宮	/	/	/	/	/	50	50	50	50	50
	腺癌 (m)						4	5	3	2	14**
	腺腫 (b)						0	0	0	1	0
	腺扁平上皮癌 (m)						0	0	0	0	1
	腺管ポリープ (b)						1	2	0	0	2
	顆粒細胞腫 (b)						0	2	1	0	0
	悪性ミューラ管混合腫瘍 (m)						0	0	1	0	0
	悪性シュワン細胞腫 (m)						1	0	0	1	0
	扁平上皮癌 (m)						1	0	0	0	1
	間質細胞肉腫 (m)						1	0	0	0	0
	間質ポリープ (b)						9	8	7	11	10
	子宮頸部	/	/	/	/	/	50	50	50	50	50
	顆粒細胞腫 (b)						0	2	0	0	0
	膣	/	/	/	/	/	49	50	50	50	49
	扁平上皮癌 (m)	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
	下垂体	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	前葉腺腫 (b)	11	13	13	12	5	19	21	25	25	16
	甲状腺	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	C-細胞腺腫 (b)	4	6	5	4	7	2	2	3	5	6
	C-細胞癌 (m)	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	ろ胞細胞腺腫 (b)	1	1	2	2	1	0	0	0	0	1
	副腎皮質	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺腫 (b)	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
	副腎髄質	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	良性髄質腫瘍 (b)	6	10	6	9	5	2	0	0	0	2
悪性髄質腫瘍 (m)	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	
腫瘍/鑑別診断せず (b)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

m; 悪性腫瘍, b; 良性腫瘍

Fisher 検定; *:p<0.05, **:p<0.01

表 16-7 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別	雄					雌				
	投与群 (ppm)	0	50	100	350	2500	0	50	100	350	2500
	所見\検査動物数										
全動物	血液リンパ網内系	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	顆粒球性白血病 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
	組織球性肉腫 (m)	0	2	0	3	1	0	0	0	0	1
	悪性線維性組織球腫 (m)	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	悪性リンパ腫 (m)	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
	脾臓	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	血管肉腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	胸腺	48	50	48	50	50	49	50	49	50	48
	悪性胸腺腫 (m)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	良性胸腺腫 (b)	0	0	3	2	0	4	1	1	2	3
	腸間膜リンパ節	50	50	50	49	49	49	50	50	50	50
	血管腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	29	26	28	32	29	50	50	50	50	50
	線維腺腫上の腺癌 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	腺癌 (m)	0	0	0	0	0	1	1	2	0	2
	腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	線維腺腫 (b)	0	0	0	0	0	9	6	9	7	4
	皮膚/その他	7	4	6	4	2	2	3	5	2	2
	基底細胞癌 (m)	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	線維肉腫 (m)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	毛包腫瘍 (b)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫 (b)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫 (m)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	線維腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	体腔	1	1	1	1	1	5	1	3	2	5
	悪性中皮腫 (m)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	褐色脂肪腺腫 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	口腔	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	扁平上皮細胞癌 (m)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0

m; 悪性腫瘍, b; 良性腫瘍

Fisher 検定; *:p<0.05, **:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

作用機作解明試験成績

	作用機作解明試験の結果の要約	資料No.
1		14-2
2		14-3
3		14-4
4		14-5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

	作用機作解明試験	資料No.
5		14-6
6		14-7
7		14-8
8		16-1
9		14-1
10		10-1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

11		11-1
----	--	------

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

評価項目				資料 No.
				14-2
				14-4
				14-4
				14-4
				14-3
				14-4
				14-7
				14-8
				14-5, 6
				11-1

(毒性資料No.原体-14-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 2001 年 3 月 29 日

検体の純度：

試験動物：

投与期間：

【試験目的】

【投与方法】

投与用量設定の根拠；

【試験項目及び結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-14-2)

試験機関：

報告書作成年月日： 1999年10月25日

検体 :
 :
 :

試験材料：

試験期間：

【試験目的】

【試験項目及び結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-14-3)

試験機関：

報告書作成年月日：2000年12月14日

検体：

：

生物材料：

試験期間：

【試験目的】

【試験方法】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【試験結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-14-4)

試験機関：

報告書作成年月日：2001年1月11日

検体 :

:

:

:

生物材料 :

試験期間 :

【試験目的】

【試験項目】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【試験結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-14-5)

試験機関：

報告書作成年月日：2001年1月12日

検体 :
 :
 :
 :
 :
生物材料 :
試験期間 :

【試験目的】

【試験項目】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【試験結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-14-6)

試験機関：

報告書作成年月日：2001年1月11日

検体：

：

生物材料：

試験期間：

【試験目的】

【試験項目】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【試験結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-14-7)

試験機関：

報告書作成年月日： 2001年1月30日

検体 :
 :
 :
 :
 :

試験動物：

試験期間：

【試験目的】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【試験方法】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【試験結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-14-8)

試験機関：

報告書作成年月日： 2002年9月13日

検体：
試験動物：
試験期間：

【試験目的】

【試験方法】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【結果】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

【まとめ】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。