

③ ラットを用いた飼料混入投与による26週間反復経口投与毒性試験

(資料No. IV-3)

試験機関 : 日産化学工業(株)生物化学研究所

報告書作成年 : 1977年

検体の純度 : %

供試動物 : SD(JCL)系ラット、1群雌雄各10匹、開始時5.5週齢  
(別途雌雄各5匹/群の回復群を設けた。)

開始時体重 : 雄 144.4-149.6g、雌 126.4-126.9g

投与期間 : 6ヶ月+回復1ヶ月(動物飼育期間:1976年4月-12月)

投与方法 : 検体を0、1、3、10、50、150及び450ppmの濃度で飼料に混入し6ヶ月間にわたって随時摂食させた。回復群については検体を混入した飼料を6ヶ月間摂取させた後、飼料のみを1ヶ月間与えた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日1回観察した。

450ppm群雌雄及び150ppm群雌で、全期間にわたり間欠性の痙攣及び接触時の過敏反応が認められた。さらに450ppm群雌雄では、投与直後から流涎、鼻汁分泌、発汗及び立毛が認められた。これらの症状は、検体投与終了に伴い1ヶ月の回復期間中に消失した。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)	0, 1, 3, 10, 50, 150	450
死亡率*(%)	雄	40
	雌	100

\* : 全動物 (主群+回復群)

死亡は、450ppm群でのみ認められ、主群雄は投与3週までに半数、主群雌は投与1週に全例死亡した。回復群の結果もほぼ同様であった。

体重変化 ; 毎週1回、全動物の体重を測定した。

平均体重の変化を下表に示す。

性別	雄						雌					
	1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450
26週(主群)						79↓					76↓	-
30週(回復群)						(85)					79↓	-

↑↓ : p<0.05    ↑ ↓ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

- : 全死亡のため測定せず    ( ) : 参考値

450ppm群雄及び150ppm群雌の体重は、投与期間中を通じて有意に低値を示した。

投与休止後も、150ppm群雌ではなお対照群との間に統計学的有意差を認めた。

150ppm群雄の体重は、投与開始後5週まで有意に低値を示したが、以後対照群と同程度の値で推移した。また3及び50ppm群雌では、投与期間中一過性の体重増加が認められたが、投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

摂餌量；毎週1回、全動物を対象として測定した。

摂餌量の変化を下表に示す。

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450
主群	1週		109↑		110↑	89↓	30↓		108↑			63↓	-
	8週		91↓	89↓		89↓	78↓						-
	16週			88↓			86↓					82↓	-
	26週	109↑									111↑		-
	1-26週	102	98	90	135	94	77	104	105	103	106	89	-
回復群	1週					78↓	27↓	81↓	79↓	82↓		56↓	-
	8週									86↓	85↓	83↓	-
	16週											66↓	-
	30週												-
	1-30週	100	94	95	93	96	92	92	90	93	88	92	-

↑↓：p<0.05      ↑↓：p<0.01      ↑↓：p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

-：全死亡のため測定せず

450ppm 群雄及び150ppm 群雌では、殆どの週で有意な低値を示し、26週間の総摂餌量は各々対照群の77及び89%であった。150ppm 群雄及び1-50ppm 群の雌雄では、有意な摂餌量の増減が散発的に認められたが、重要な変化とは考えられなかった。

飲水量；毎週1回、全動物を対象として測定した。

飲水量の変化を下表に示す。

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450
主群	1週						60↓			114↑		160↑	-
	6週						73↓						-
回復群	1週					63↓	(67)						-
	6週												-

↑↓：p<0.05      ↑↓：p<0.01      ↑↓：p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

-：全死亡のため測定せず      ( )：参考値

450ppm 群雄で、投与1-6週に有意な減少が認められた。

検体摂取量；摂餌量及び飼料中検体濃度から1日あたりの平均検体摂取量を算出した。

投与量 (ppm)		1	3	10	50	150	450
検体摂取量*	雄	0.06	0.18	0.60	3.10	9.32	31.1
	雌	0.07	0.20	0.69	3.37	11.4	-

\*：原報表-1の数値を示した。

-：全死亡のため算出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

血液学的検査；主群は投与終了1日前(第26週)に、回復群は回復期間終了後(第30週)に、全生存動物を対象として尾静脈から採血し、以下の検査項目を測定した。

赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球百分比、網状赤血球数

対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450
赤血球	26週					93↓	85↓					88↓	-
	30週												-
ヘモグロビン	26週				94↓	92↓	85↓				95↓	84↓	-
	30週												-
網状赤血球	26週				124↑		127↑						-
	30週												-
好酸球	26週	218↑			147↑	153↑						48↓	-
	30週												-
好中球	26週	137↑					188↑		148↑			155↑	-
	30週												-
リンパ球	26週	91↓			95↓		84↓		84↓			86↓	-
	30週												-
単球	26週				165↑		59↓						-
	30週						235↑						-

↑↓：p<0.05    ↑ ↓：p<0.01    ↑↓：p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。-：全死亡のため測定せず

投与終了後、赤血球数の減少が150ppm群以上で、またヘモグロビン量の低下が50ppm群以上で雌雄共に認められた。雌雄投与群における白血球百分比の変化並びに50及び450ppm群雄の網状赤血球の増加については、重要な一次的作用とは考えられなかった。

一ヶ月の回復期間終了後は、450ppm群雄の単球増加を除き、何ら変化は認められなかった。

血液生化学的検査；主群は投与終了後(第26週)、回復群については回復期間終了後(第30週)に後大静脈より採血し、その血漿を用いて以下の検査項目を測定した。

アルカリホスファターゼ(ALK P)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、総蛋白、アルブミン、A/G比、血糖、総コレステロール、尿素窒素、ナトリウム、カリウム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	投与量 (ppm)	雄						雌					
		1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450
アルカリホスファターゼ	26 週							145↑			138↑	198↑	-
	30 週												-
GOT	26 週												-
	30 週			179↑						190↑	168↑		-
A/G 比	26 週		119↑								87↓	80↓	-
	30 週			123↑									-
グルコース	26 週											83↓	-
	30 週												-
コレステロール	26 週												-
	30 週											71↓	-
尿素窒素	26 週									110↑		148↑	-
	30 週												-
ナトリウム	26 週				96↓								-
	30 週												-
カリウム	26 週								114↑				-
	30 週												-

↑↓ : p<0.05    ↑ ↓ : p<0.01    ↑↓ : p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。 - : 全死亡のため測定せず

50ppm 及び 150ppm 群雌で、アルカリホスファターゼの有意な増加、及び A/G 比の有意な低下が認められた。その他の変化については、単発的かつ用量に対応していない変動であることから、重要な変化とは考えられなかった。

コリンエステラーゼ活性の測定；血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性を測定した。血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性については、主群は解剖時に、回復群は投与直前、投与期間中 1 ヶ月毎ならびに回復期間終了後の計 8 回測定した。脳コリンエステラーゼについては、主群は投与終了後に、また回復群は回復期間終了後に測定した。採血は尾静脈から行なった。

結果を下表に示す。

性別		雄						雌						
投与量 (ppm)		1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450	
PL-CHE	主群	6ヶ月				75↓	50↓	25↓				79↓	27↓	-
	回復群	1ヶ月				59↓	27↓					60↓	31↓	-
		2ヶ月				77↓	47↓					60↓	24↓	-
		3ヶ月					49↓					73↓	36↓	-
		4ヶ月					48↓					63↓	25↓	-
		5ヶ月					47↓					71↓	21↓	-
		6ヶ月				83↓	43↓					74↓	23↓	-
		7ヶ月				(108)	(115)					(100)	(95)	-
RBC-CHE	主群	6ヶ月				65↓	39↓	24↓				66↓	38↓	-
	回復群	1ヶ月		113↑	67↓	43↓	15↓				86↓	54↓	32↓	-
		2ヶ月				57↓	46↓				68↓	45↓	27↓	-
		3ヶ月		118↑		46↓	34↓				71↓	45↓	28↓	-
		4ヶ月				51↓	33					59↓	33↓	-
		5ヶ月				70↓	49↓					55↓	33↓	-
		6ヶ月				55↓	28↓					62↓	21↓	-
		7ヶ月				(99)	(108)					(99)	(90)	-
BR-CHE	主群	6ヶ月						52↓				38↓	-	
	回復群	7ヶ月						(120)				(88)	-	

↑↓ : p<0.05    ↓ : p<0.01    ↓↓ : p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

- : 全死亡のため測定せず

( ) : 参考値

血漿コリンエステラーゼ活性(PL-CHE)は、雌雄共に50ppm群以上で投与開始後1ヶ月から有意に低下したが、1ヶ月の投与休止により対照群と同程度まで完全に回復した。

赤血球コリンエステラーゼ活性(RBC-CHE)は、投与終了時雌雄共に50ppm群以上で有意に低下していた。活性の低下は10ppm群以上で投与開始後1ヶ月から認められたが、1ヶ月の投与休止により対照群と同程度に回復した。

脳コリンエステラーゼ活性(BR-CHE)は、投与終了時450ppm群雄及び150ppm群雌で有意に低下していたが、回復期間後は対照群とほぼ同様の値を示した。

尿検査；主群は投与終了1日前に、回復群については回復期間終了後に自然排出尿を採取し、以下の検査項目を測定した。

pH、尿蛋白、尿糖、ケトン体、潜血、ビリルビン

検体投与に関連した影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査；主群は投与終了後、回復群は回復期間終了後に、全生存動物を対象として解剖後全臓器を摘出し、詳細な肉眼的観察を行なった。

検体投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量；主群は投与終了後(第26週)、回復群は回復期間終了後(第30週)の解剖時に、全生存動物を対象として以下の臓器の重量を測定し、体重あるいは脳に対する比を算出した。

心臓、脾臓、胸腺、肝臓、肺、腎臓、精巣、卵巣、下垂体、甲状腺、副腎及び脳

対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄						雌					
投与量(ppm)		1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450
最終 体重	26週						78↓					77↓	-
	30週											81↓	-
脳	絶対	26週					95↓					95↓	-
		30週											-
	相対	26週					118↑				93↓	123↑	-
		30週										116↑	-
下垂体	絶対	26週										83↓	-
		30週										69↓	-
	対脳	26週											-
		30週	119↑										-
甲状腺	絶対	26週					124↑					87↓	-
		30週										67↓	-
	対脳	26週					130↑						-
		30週											-
胸腺	絶対	26週										75↓	-
		30週											-
	相対	26週					135↑						-
		30週											-
	対脳	26週										78↓	-
		30週											-
心臓	絶対	26週				107↑	91↓					90↓	-
		30週										87↓	-
	相対	26週					117↑					116↑	-
		30週											-
	対脳	26週										93↓	-
		30週											-

↑↓：p<0.05    ↑ ↓：p<0.01    ↑↓：p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

-：全死亡のため測定せず

性別		雄						雌					
投与量(ppm)		1	3	10	50	150	450	1	3	10	50	150	450
肺	絶対	26週	109↑				85↓					90↓	-
	対脳	30週											-
	相対	26週						86↓		88↓	88↓	116↑	-
	対脳	30週		110↑								119↑	-
	絶対	26週	110↑				89↓						-
	対脳	30週											-
肝臓	絶対	26週			85↓				113↑				-
	対脳	30週											-
	相対	26週										110↑	-
	対脳	30週											-
	絶対	26週			86↓				112↑			89↓	-
	対脳	30週											-
腎臓	絶対	26週										88↓	-
	対脳	30週										78↓	-
	相対	26週					123↑				90↓	115↑	-
	対脳	30週											-
	絶対	26週											-
	対脳	30週		88↓								82↓	-
脾臓	絶対	26週										75↓	-
	対脳	30週											-
	相対	26週	88↓								89↓		-
	対脳	30週										119↑	-
	絶対	26週										79↓	-
	対脳	30週		87↓						84↓			-
精巣	絶対	26週					84↓						-
	対脳	30週											-
	相対	26週					88↓						-
	対脳	30週											-
卵巢	絶対	26週											-
	対脳	30週								125↑			-
	相対	26週										145↑	-
	対脳	30週										200↑	-
	絶対	26週											-
	対脳	30週								122↑		166↑	-

↑↓ : p<0.05    ↑ ↓ : p<0.01    ↑↓ : p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。 - : 全死亡のため測定せず

絶対重量の変動が、有意な最終体重の低下が認められた 450ppm 群雄及び 150ppm 群雌で主として認められた。450ppm 群雄の脳、心臓、肺及び精巣重量は、投与終了時有意に低値であったが、回復期間後は対照群と同様の値であった。また、150ppm 群雌の脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺、腎臓及び脾臓重量は、投与終了時有意に低値であり、回復期間後も一部臓器は低値を示した。その他の群における変動は、単発的あるいは高用量群での変動パターンと異なるものであり、重要な変化とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

病理組織学的検査；全動物について以下の臓器の病理標本を作成し、鏡検した。

骨格筋、心臓、リンパ節、脾臓、胸腺、骨髄、唾液腺、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、肺、腎臓、膀胱、精巣、卵巣、子宮、下垂体、甲状腺、副腎、脊髄、脳

450 及び 150ppm 群において、精細管の萎縮、荒廃が認められたが、検体投与との関連は不明であった。その他、数例に腎臓尿細管の石灰沈着、硝子円柱の含有が認められたが、投与に関連した影響ではなかった。

以上のとおり、EPN 原体の 6 ヶ月飼料混入投与によるラット反復経口投与毒性試験における影響として、10ppm 群以上で赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められたことより、無影響量は 3ppm (雄 0.18mg/kg/日、雌 0.20mg/kg/日) であると考えられた。

申請者注) 1990 年に世界保健機関(WHO)が発表した「食品中の残留農薬の毒性学的評価の原理」(Environmental Health Criteria 104)では、血漿コリンエステラーゼ活性の阻害は毒性学的に有害作用とは考えておらず、脳コリンエステラーゼ活性の阻害が赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害より安全性評価上極めて重要であるとされている。

ARfD 設定の為の無毒性量に関しても同様に、「農薬の急性参照用量設定における基本的考え方」(平成 26 年 2 月 14 日 農薬専門調査会決定)において、赤血球よりも脳 ChE 活性阻害を優先するとされている。本試験において、20%以上の脳 ChE 活性阻害は雄の 450ppm 群及び雌の 150ppm 群でのみ認められたことから、無毒性量は雄で 150ppm (9.32mg/kg/日)、雌で 50ppm (3.37mg/kg/日) が妥当と考える。



④ マウスを用いた90日間反復経口投与毒性試験

(資料No. IV-1)

試験機関 : Hazleton Laboratories America, Inc. (GLP 対応)  
報告書作成年 : 1986 年

検体の純度 : %

供試動物 : ICR(Cr1:CD-1)系マウス、1群雌雄各10匹、開始時7週齢  
(最高投与群には雌雄各10匹の回復群を設けた。)

開始時体重 : 雄 27.3-28.1g、雌 23.2-24.4g

投与期間 : 90日間+回復28日間(1985年6月12日-1985年10月10日)

投与方法 : 検体を0、1、5、25、125ppmの濃度で飼料に混入し、90日間にわたって随時摂食させた。回復群については検体を混入した飼料を90日間摂取させた後、飼料のみを28日間与えた。検体を混入した飼料は週1回調製した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び死亡を毎日観察した。詳細な状態観察は毎週体重測定時に行った。

対照群を含む全群に眼窩静脈叢からの採血に伴う外傷による出血がみられたが、検体投与による症状は認められなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	1	5	25	125
死亡率 (%)	雄	0	0	0	10	(10)
	雌	(30)	0	0	0	10

( ) : 採血時の死亡

25ppm 群雄 1 例で死亡が認められたが、これは精囊の膿瘍に起因する菌敗血症によるものであった。また、125ppm 群で死亡した雌 2 例にも投与による影響は認められなかった。

体重変化 ; 毎週 1 回、全生存動物の体重を測定した。

対照群と比較して有意差は認められなかった。

摂餌量 ; 全動物の摂餌量を毎週 1 回測定した。

対照群と比較して有意差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

検体摂取量；摂餌量及び飼料中検体濃度から算出した1日あたりの平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		1	5	25	125
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.19	0.92	4.70	23.9
	雌	0.22	1.18	5.93	30.2

注) 申請者が報告書の表4より計算した。

血液学的検査；投与終了時(第13週)及び回復期間終了時(第17週)に全生存動物を対象として、一晩絶食後に眼窩静脈叢から採血し、以下の検査項目について測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、白血球数、白血球百分比、赤血球形態

対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		1	5	25	125	1	5	25	125
ヘモグロビン	13週				96↓				
	17週	—	—	—	(101)	—	—	—	

Dunnett 検定            ↑ ↓ : p<0.05

— : 測定せず        ( ) : 参考値

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

125ppm 群雄で投与終了時にヘモグロビン量が有意に減少したが、回復期間終了時には完全に回復した。

血液生化学的検査；投与終了時(第14週)及び回復期間終了時(第18週)に各群雌雄各5匹を対象として、一晩絶食後に眼窩静脈叢から採血し、以下の検査項目について測定した。

Na、K、Cl、Ca、P、総蛋白、アルブミン、グロブリン、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、グルコース、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)、アルカリフォスファターゼ(ALK P)

検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

コリンエステラーゼ活性測定；投与 4、7 週に全動物を対象として、投与終了時(第 14 週)及び回復期間終了時(第 18 週)には各群雌雄各 5 匹を対象として、一晚絶食後に眼窩静脈叢から採血し、自動分析装置で血漿コリンエステラーゼ活性(CHE)を測定した。投与終了時(第 14 週)及び回復期間終了時(第 18 週)には、血液生化学的測定に用いた動物とは別の雌雄各 5 匹を対象として、オートアナライザーにより血漿(PL-CHE)及び赤血球(RBC-CHE)コリンエステラーゼ活性を測定した。さらに全生存動物を対象として脳コリンエステラーゼ活性(BR-CHE)も測定した。  
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		1	5	25	125	1	5	25	125
CHE	4 週			48 ↓	32 ↓			55 ↓	37 ↓
	7 週			42 ↓	30 ↓		84 ↓	41 ↓	31 ↓
	14 週			52 ↓	36 ↓			57 ↓	31 ↓
	18 週	—	—	—	(92)	—	—	—	(95)
PL-CHE	14 週			57 ↓	42 ↓			61 ↓	36 ↓
	18 週	—	—	—	(105)	—	—	—	(108)
RBC-CHE	14 週			(80)	(86)			(88)	(74)
	18 週	—	—	—	(100)	—	—	—	(81)
BR-CHE	14 週			(90)	63 ↓			(103)	74 ↓
	18 週	—	—	—	(85)	—	—	—	(94)

Dunnett 検定            ↑ ↓ : p<0.05

— : 測定せず            ( ) : 参考値

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

18 週の値は 14 週の対照群に対する変動率(%)を表す。

25 及び 125ppm 群雌雄では、全投与期間を通じ、また 5ppm 群雌では投与 7 週にのみ血漿コリンエステラーゼ活性(CHE、PL-CHE)が有意に低下した。125ppm 群雌雄では、さらに投与終了時に脳コリンエステラーゼ活性が有意に低下した。しかし、血漿及び脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下は、回復期間終了時にはほぼ完全に回復していた。

眼科学的検査；投与開始前、投与終了時(第 13 週)及び回復期間終了時(第 17 週)に全生存動物を検査した。

角膜異常や眼球ろうが認められたが、主に片眼にしか認められないことから、眼窩静脈叢からの採血による外傷に起因するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

臓器重量；投与終了時(第 14 週)及び回復期間終了時(第 18 週)に各群の全生存動物を対象として、解剖ののち、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、脾臓、精巣(精巣上体を含む)、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)

投与終了時の雄の検体投与群では、肝/胆嚢の絶対重量に有意な増加傾向が認められたが、最高群の重量は対照群の 104%であり、対照群と比較した場合、群間に有意差は認められなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時(第 14 週)及び回復期間終了時(第 18 週)に全動物を対象として検査を行なった。

全動物に病変が認められたが、すべて偶発的なものあるいは眼窩静脈叢からの採血による外傷によるものであり、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作成し、鏡検した。

胸部大動脈、大腿骨/骨髓、結腸、盲腸、直腸、十二指腸、空腸、回腸、食道、涙腺、眼球、大腿骨、リンパ節(腸間膜)、乳腺、膵臓、唾液腺(下顎)、坐骨神経、皮膚、脊髄、胃、大腿筋、気管、膀胱、子宮、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、脾臓、精巣(精巣上体を含む)、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)

全群にわたって種々の偶発的病変が認められたが、いずれもこの種や週齢のマウスに自然発生的なものであり、検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する 90 日間反復経口投与毒性試験の影響として、症状は伴わないが、血漿コリンエステラーゼ活性の低下が 25ppm 群以上で持続的に認められた。また、脳コリンエステラーゼ活性の低下が 125ppm 群で認められた。従って、無影響量は 5-25ppm (雄 0.92-4.70mg/kg/日、雌 1.18-5.93mg/kg/日)であると考えられた。

申請者注) 1990 年に世界保健機関(WHO)が発表した「食品中の残留農薬の毒性学的評価の原理」(Environmental Health Criteria 104)に従い無毒性量(NOEL)を再評価した。WHO 基準では血漿コリンエステラーゼ活性の阻害は毒性学的に有害作用とは考えておらず、脳コリンエステラーゼ活性の阻害が赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害より安全性評価上極めて重要であるとされている。本試験の 25ppm 群では赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性阻害に起因すると考えられる有害作用は何ら認められず、臨床症状、体重増加量、摂餌量、血液学的検査項目、生化学的検査項目、臓器重量及び組織病理学的所見にも影響は認められなかった。さらに本剤におけるコリンエステラーゼ活性阻害は可逆的で、28 日間の回復期間終了後には正常であった。以上のことより、25ppm 群での影響は有害作用と考えられず、無毒性量は 25ppm (雄 4.70mg/kg/日、雌 5.93mg/kg/日)であると再評価された。

上記考察は平成 20 年の ADI 設定時には採用されなかったが、ARfD 設定の為の無毒性量に関しては、「農薬の急性参照用量設定における基本的考え方」(平成 26 年 2 月 14 日 農薬専門調査会決定)に従い、20%以上の脳 ChE 活性阻害を根拠とした 25ppm (雄 4.70mg/kg/日、雌 5.93mg/kg/日)が妥当と考える。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

① ラットを用いた21日間反復経皮投与毒性試験

(資料No. IV-5)

試験機関 : Hazleton Laboratories America, Inc. (GLP 対応)  
報告書作成年 : 1985 年

検体の純度 : %

供試動物 : SD(Cr1:CD)系ラット、1群雌雄各5匹、  
開始時体重 : 雄 195.1-295.9g、雌 199.0-272.4g

投与期間 : 21日間 (1985年7月30日-1985年8月20日)

投与方法 : 投与21時間前に動物の体幹背部を剪毛し(体表面の約10%)、投与開始後は週1回剪毛した。検体をアセトンに溶解した後、雄は2.5、7.5、25.0、75.0mg/kg/日、雌は0.5、1.5、5.0、15.0mg/kg/日を、週5日間3週間にわたって経皮投与した。対照群はアセトンのみを同様に経皮投与した。投与容量は1.0ml/kgとした。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率;一般症状を1日1回、死亡を1日2回観察した。

最高用量群である雄75.0及び雌15.0mg/kg/日群で、検体投与に関連した症状として振戦、尿による被毛の汚れ、円背位、鼻あるいは眼周囲の血様付着物及び削瘦が認められた。その他にもいくつかの症状が認められたが、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。試験期間中、死亡は認められなかった。

体重変化 ; 週1回及び屠殺直前に全動物の体重を測定した。

体重増加量の変化を下表に示す。

性別	雄				雌			
	2.5	7.5	25.0	75.0	0.5	1.5	5.0	15.0
投与量 (mg/kg/日)								
0-3週			(84)	29↓			(58)	-267↓

Dunnett 検定 ↑ ↓ : p<0.05

( ) : 参考値

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

雄75.0及び雌15.0mg/kg/日群で、試験期間(0-3週)を通じて体重増加量が有意に減少した。雄25.0及び雌5.0mg/kg/日群でも、統計学的に有意ではないが、体重増加量が減少した。

摂餌量 ; 週1回摂餌量を測定した。

摂餌量の変化を下表に示す。

性別	雄				雌			
	2.5	7.5	25.0	75.0	0.5	1.5	5.0	15.0
投与量 (mg/kg/日)								
1-3週				(75)				76↓

Dunnett 検定 ↑ ↓ : p<0.05

( ) : 参考値

表中の数値は対照群の総摂餌量に対する変動率(%)を表す。

雌15.0mg/kg/日群で、試験期間(1-3週)を通じて摂餌量が有意に減少した。雄75.0mg/kg/日群でも有意ではないが、摂餌量が減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

血液学的検査;投与終了時に全動物を対象として、一晚絶食後屠殺前に眼窩静脈叢から採血し、以下の検査項目を測定した。

ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、赤血球数、白血球百分比、血小板数、赤血球形態

対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (mg/kg/日)	2.5	7.5	25.0	75.0	0.5	1.5	5.0	15.0
ヘモグロビン				87↓				

Dunnett 検定 ↑ ↓ : p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

雄 75.0mg/kg/日群で、ヘモグロビン量が有意に減少した。

血液生化学的検査;投与終了時に全動物を対象とし、一晚絶食後屠殺前に眼窩静脈叢から採血し、以下の検査項目を測定した。

Ca、P、Cl、Na、K、グルコース、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、尿素窒素、アルブミン、グロブリン、クレアチニン、総蛋白、総ビリルビン、血漿/赤血球/脳コリンエステラーゼ活性(PL-CHE/ RBC-CHE/ BR-CHE)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (mg/kg/日)	2.5	7.5	25.0	75.0	0.5	1.5	5.0	15.0
カリウム			121↑					
総タンパク				90↓				
アルブミン				93↓				89↓
グロブリン				82↓				
尿素窒素				150↑				
PL - CHE	(86)	76↓	43↓	19↓	(106)	(75)	68↓	19↓
RBC - CHE	52↓	24↓	11↓	4↓	(102)	62↓	29↓	10↓
BR - CHE	(98)	61↓	41↓	19↓	112↑	(100)	62↓	25↓

Dunnett 検定 ↑ ↓ : p<0.05

( ) : 参考値

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

雄 75.0mg/kg/日群でアルブミン、グロブリン、総タンパクが有意に減少した。アルブミンについては雌 15.0mg/kg/日群においても有意な減少が認められた。また、雄 75.0mg/kg/日群では、尿素窒素の有意な増加も認められた。雄 25.0mg/kg/日群でのカリウム値の増加は、検体投与の影響とは考えられなかった。

コリンエステラーゼ活性測定の結果、7.5mg/kg/日群以上の雄、5.0mg/kg/日群以上の雌で血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性が有意に低下した。

さらに雄 2.5mg/kg/日群では赤血球コリンエステラーゼ活性が有意に低下し、雌 1.5mg/kg/日群では血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性が低下した。雌 0.5mg/kg/日群では脳コリンエステラーゼ活性が有意に増加したが、投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

臓器重量；投与終了時に全動物を解剖し、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、精巣（精巣上体を含む）

雄 75.0mg/kg/日群の肝臓、腎臓、精巣、雌 15.0mg/kg/日群の肝臓、腎臓の絶対重量が対照群と比較して減少したが、相対重量に変化はなく、試験終了時の低体重を反映したものであり、検体投与による影響ではなかった。

申請者注）報告書中に 75.0mg/kg/日群雄の減少は統計学的に有意であったとなっているが、表 9A より有意ではないと判断した。

肉眼的病理検査；全動物を対象として検査を行なった。

検体投与の影響による所見は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群並びに雄 75.0 及び雌 15.0mg/kg/日群の動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作成し鏡検した。

肝臓、腎臓、皮膚（処理部位及び非処理部位）、肉眼的病理検査で異常の認められた臓器

検体の影響として雄 75.0mg/kg/日群 4 匹、雌 15.0mg/kg/日群 2 匹に多巣性の肝細胞変性及び壊死が認められた。処理部位の皮膚には何ら変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットを用いる 21 日間反復経皮毒性試験における影響として雄では 7.5 mg/kg/日群以上、雌では 5.0mg/kg/日群以上で血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性の阻害が認められた。さらに雄 2.5mg/kg/日群では赤血球コリンエステラーゼ活性、雌 1.5mg/kg/日群では血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害が認められた。従って、無影響量は雄 2.5mg/kg/日以下、雌 0.5mg/kg/日であると考えられた。

申請者注）1990 年に世界保健機関(WHO)が発表した「食品中の残留農薬の毒性学的評価の原理」(Environmental Health Criteria 104)に従い無毒性量(NOEL)を再評価した。WHO 基準では血漿コリンエステラーゼ活性の阻害は毒性学的に有害作用とは考えておらず、脳コリンエステラーゼ活性の阻害が赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害より安全性評価上極めて重要であるとされている。本試験の雄 2.5 及び雌 1.5mg/kg/日群では赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性阻害に起因すると考えられる有害作用は何ら認められず、臨床症状、体重増加量、摂餌量、血液学的検査項目、生化学的検査項目、臓器重量及び組織病理学的所見にも影響は認められなかった。以上のことより、雄 2.5 及び雌 1.5mg/kg/日群での影響は有害作用と考えられず、無毒性量は雄 2.5mg/kg/日、雌 1.5mg/kg/日であると再評価された。

(8) 90日間反復吸入毒性

① ラットを用いた13週間反復吸入毒性試験

(資料No. IV-6)

試験機関 : Hazleton Laboratories Europe Ltd. (GLP 対応)  
報告書作成年 : 1986 年

検体の純度 : %

供試動物 : SD(Cr1:CD BR)系ラット、1群雌雄15匹、開始時8-10週齢  
体重 : 雄 226.7-293.6g 雌 155.5-206.2g

投与期間 : 13週間(1986年1月27日-1986年4月30日)

暴露方法 :

雄		雌		暴露濃度 ( $\mu\text{g}/\ell/\text{日}$ )	
群	数	群	数	設定濃度	実際濃度
1	15	1	15	対照	—
—	—	2	15	0.008	0.0094
2	15	3	15	0.08	0.093
3	15	4	15	0.8	0.731
4	15	—	—	8	7.859

粒子分布径 ; 質量中位径 1.06-2.38  $\mu\text{m}$

暴露条件 ; チャンバー容積 1 $\text{m}^3$

通気量 204-331/min

圧縮空気の供給下、吸入大気発生器により検体のエアロゾルを発生させ、1日6時間、毎週5日間連続で13週間、動物を全身暴露させた。対照群はフィルターろ過した空気のみ暴露させた。暴露空気を吸着剤チューブを用いて採取し、ガスクロマトグラフィーを用いて実際濃度を測定した。



観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態は1日1回、死亡は1日2回観察した。

検体暴露に関連すると考えられる所見は認められなかった。暴露3週に雌0.08  $\mu$ g/l/日群の1匹に後軀麻痺及び腫脹が認められたので屠殺したが、これは関節炎による変化であり、検体暴露による影響ではないと考えられた。暴露4週の雌0.8  $\mu$ g/l/日群2匹及び暴露5週の雄8  $\mu$ g/l/日群では流涎、振戦及び運動失調等が認められ、うち雌2匹は死亡したが、これら動物を収容したケージはEPNによる局所的汚染が認められており、これを経口的に摂取したことによる影響と考えられた。

体重変化；暴露直前、その後は週1回全生存動物について測定した。

検体暴露に関連する変化は認められなかった。

摂餌量；週1回ケージごとの摂餌量を測定した。

検体暴露に関連する変化は認められなかった。

血液学的検査；暴露12週に各群10匹を対象として、14時間絶食後に眼窩静脈叢から採血し、以下の検査項目を測定した。

ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、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)、白血球数、白血球百分率、血小板数

検体暴露に関連する変化は認められなかった。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、以下の検査項目について測定した。

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、尿素窒素、コレステロール、クレアチニン、グルコース、総ビリルビン、アルブミン、A/G比、総蛋白、無機リン、Ca、K、Na、Cl、血漿/赤血球コリンエステラーゼ活性(PL-CHE/RBC-CHE) [雌では試験終了時も実施]

対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量( $\mu$ g/l/日)		0.08	0.8	8	0.008	0.08	0.8
RBC-CHE	12週	(95)	(89)	74 $\downarrow$	(96)	(101)	(91)
	14週	—	—	—	(91)	(92)	72*

Wilcoxon 順位和検定  $\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.01$ , Terpstre-Jonckheeve 検定

\* : 生物学的に有意

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

— : 測定せず ( ) : 参考値

雄8  $\mu$ g/l/日群では暴露12週に赤血球コリンエステラーゼ活性が対照群と比較して有意に低下した。また、雌0.8  $\mu$ g/l/日群の暴露14週における赤血球コリンエステラーゼ活性の低値は群間比較による統計学的有意差は認められなかったが、その程度は雄で認められたものと同程度であり、生物学的に有意であると考えられた。

眼科学的検査；暴露前、暴露13週に検査した。

暴露に関連する変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査；全動物を対象として、すべての組織及び臓器について詳細に検査を行なった。

暴露に関連する変化は認められなかった。

臓器重量；全動物を対象として、解剖後以下の臓器重量を測定した。

肝臓、腎臓、肺、精巣

暴露に関連する変化は認められなかった。

病理組織学的検査；以下の組織標本を作成し、対照群及び高用量群各 10 匹の全臓器、途中死亡及び屠殺動物の全臓器、ならびに中間及び低用量群各 10 匹の肝臓、腎臓、肺、肉眼的病変部について検査を実施した。

副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼球及び視神経、大腿骨、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、肝臓、肺、リンパ節、鼻道、鼻咽頭、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚及び乳腺、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺、膀胱、子宮、肉眼的病変部

暴露に関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する 13 週間反復吸入毒性試験の影響として、雄  $8 \mu\text{g}/\ell/\text{日}$  及び雌  $0.8 \mu\text{g}/\ell/\text{日}$  で赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められたことから、本試験における無影響量は雄  $0.8 \mu\text{g}/\ell/\text{日}$ 、雌  $0.08 \mu\text{g}/\ell/\text{日}$ （実際濃度：雄  $0.731 \mu\text{g}/\ell/\text{日}$ 、雌  $0.093 \mu\text{g}/\ell/\text{日}$ ）であると考えられた。

申請者注）1990 年に世界保健機関 (WHO) が発表した「食品中の残留農薬の毒性学的評価の原理」(Environmental Health Criteria 104) に従い無毒性量 (NOAEL) を再評価した。WHO 基準では赤血球コリンエステラーゼ阻害率が 20% の閾値を越えた場合を有害作用としている。本試験の雄  $8 \mu\text{g}/\ell$  群、雌  $0.8 \mu\text{g}/\ell$  群における赤血球コリンエステラーゼ活性阻害はいずれも 20% を超えており、原報告書の結論を修正する必要はないと考えられた。

(9) 反復経口投与神経毒性

① ラットを用いた飼料混入投与による13週間反復経口投与神経毒性試験 (資料No. III-7)

試験機関 : Pharmaco-LSR Ltd. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1995 年

試験の目的 : 検体をラットに 13 週間混餌投与した場合の神経毒性を明らかにするため、米国 EPA のガイドライン(Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision F, Series 82-7, 1991)に従って実施した。

検体の純度 : %

供試動物 : SD(Cr1:CD)系ラット、1 群雌雄各 10 匹、開始時 6 週齢

開始時体重及び範囲 : 雄 194.9g(172.3-221.4)、雌 160.6g(144.5-192.2)

投与期間 : 13 週間(1993 年 9 月 6 日-1993 年 12 月 7 日)

投与期間 : 検体を混入した飼料を 13 週間にわたって随時摂食させた。飼料は投与量が 0、0.5、2.2、10.0mg/kg/日となるよう、毎週検体濃度を調整して調製した。

投与群	投与量 (mg/kg/日)	使用動物数	
		雄	雌
対照群	0	10	10
	0.5	10	10
検体投与群	2.2	10	10
	10.0	10	10

統計学的評価法 : 標本統計量を用いて標準偏差を求めた。記載が無い時は、投与群の平均値は、対照群に較べて有意な差が無いことを示す。バッテリー式機能検査 (FOB) の各変数は、性別、各測定点毎に分析した。2 値反応(2 尺度反応)の場合、すなわち、眼球突出、立毛、瞳孔、危機、痛覚反応及び屈筋反応、及び驚愕、耳介、正向反射については、ロジスティック回帰により解析し、対比により群間比較を行った。3 ないしそれ以上の尺度からなる観察項目、すなわち流涙、流涎、被毛状態、眼瞼閉鎖状態、振戦、痙攣、異常姿勢、異常歩行、異常行動、ケージからの取りだし、排尿、排糞(堅さ)、活動度/覚醒状態、呼吸数、ハンドリングの容易さは Wilcoxon の順位和検定により解析した。連続値をとる変数、すなわち落下時開脚度、自発運動量、体温、糞塊数は、まず Bartlett の検定により等分散性を確認し、Shapiro-Wilk の検定によりステューデント化した残査の正規性について確認した。等分散性と正規性の仮定が当てはまる時は、データをパラメトリックな検定である Dunnett の検定により、当てはまらない時は、Wilcoxon の順位和検定により解析した。変化の方向が 1 方向に限定されていると仮定出来る場合、つまり正常値が 0 と決まっている時は、検出力を上げるため片側検定を適用した。呼吸数や尿量等両側に变化する変数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

は両側検定を適用した。落下開脚度と体温は Dunnett の検定により、糞塊数については Wilcoxon の順位和検定により分析した。糞の堅さの解析は、排糞した動物についてのみ実施した。臓器重量と体重は Bartlett の検定により等分散性を確認し、有意ならば Behrens-Fisher の検定により、また、有意でない時は、Dunnett の検定により対比較した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡；全ての動物について少なくとも1日2回観察した。

結果を下表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査例数	10	10	10	10	10	10	10	10
主症状								
立毛					1	1	1	10
振戦								8
呼吸異常								7
円背位								4

死亡はなかった。検体投与に関連した症状（立毛、振戦、呼吸異常及び円背位）が10mg/kg/日群雌で観察されたが、10mg/kg/日群雄ならびに0.5及び2.2mg/kg/日群雌雄では観察されなかった。

体重変化；投与開始日、その後は週1回測定した。

体重の変化を下表に示す（奇数週のみ）。

週	投与量 (mg/kg/日)	雄				雌			
		0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
1週			98	99	98		99	101	96
3週			99	97	96		101	101	99
5週			100	97	96		101	101	99
7週			100	96	97		99	99	97
9週			102	97	98		100	99	98
11週			101	97	98		98	96	95
13週			101	97	99		98	97	95
Gain 0-1* (g)	(%)	62	60	58	54	25	24	25	13
			98	95	89		96	102	58
Gain 0-2* (g)	(%)	119	119	112	107	45	51	48	35
			101	94	90		112	106	77
Gain 0-13 (g)	(%)	353	362	333	346	127	123	116	109
			103	94	98		97	91	86

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

Gain 欄上段は絶対値(g)、下段は対照群に対する変動率(%)を表す。

\*：申請者が報告書 Table より算出した。

10mg/kg/日群雌の総体重増加量は対照群に比べ低値を示した。同群雄の体重増加量は、投与開始後はじめの2週間のみ低値を示した。その他の群では対照群とほぼ同様であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

摂餌量；毎週測定した。摂餌量の変化を下表に示す（奇数週のみ）。

週	投与量 (mg/kg/日)	雄				雌			
		0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
1週			101	105	103		98	106	103
3週			102	97	96		103	102	112
5週			105	101	104		99	102	108
7週			103	97	106		93	97	107
9週			106	99	109		93	102	106
11週			102	99	106		89	100	108
13週			104	103	109		90	97	105
1-13週 総摂餌量 (%)		2727	2839	2735	2847	1937	1863	1977	2105
			104	100	104		96	102	109

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

総摂餌量欄上段は絶対値(g)、下段は対照群に対する変動率(%)を表す。

10mg/kg/日群雌で、摂餌量は有意ではないが対照群よりやや多い傾向を示した。雄に影響は認められなかった。

食餌効率；各群の雌雄別の平均食餌効率を摂餌量当たりの体重増加量として毎週計算により求めた。

経過日数	投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
		0.5	2.2	10	0.5	2.2	10
1-13週平均		99.2	94.6	94.6	100.0	89.4	78.8

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

10mg/kg/日群雌の平均は、対照群に比べて有意ではないが低値を示した。

検体摂取量；週ごとの飼料中検体濃度、摂餌量及び体重から平均検体摂取量を算出した。

投与量 (mg/kg/日)		0.5	2.2	10
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.51	2.24	10.31
	雌	0.50	2.27	10.39

全期間の平均検体摂取量は目標値の4%の変動幅内にあった。

各週の平均検体摂取量は大多数の週で目標値の10%の変動幅内にあった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

詳細な状態観察；以下の項目について、投与開始前、投与第4週、第8週及び第13週の同一時刻に実施した。握力はコンピュータに接続した握力計で測定した。観察は盲盲検法にて行った。

バッテリー式機能検査(FOB: Functional Observation Battery)；

a) ホームケージ

流涙  
眼球突出  
流涎  
被毛の状態  
立毛  
眼瞼閉鎖状態  
振戦  
痙攣  
異常姿勢  
異常歩行  
異常運動

b) ホームケージからの取り出し

c) オープンフィールド

排尿  
排糞  
振戦  
痙攣  
異常姿勢  
異常歩行  
異常運動  
活動度／覚醒状態  
呼吸数

d) 用手法検査

ハンドリング  
瞳孔縮小反応  
落下時開脚度  
痛覚反応(尾を摘む)  
屈筋(逃避)反応  
危機反応  
驚愕反射  
耳介反射  
正向反射  
体温  
握力－前後脚

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

結果を下表に示す。

《ホームケージ観察：4週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
眼球突出 (+)								1
立毛 (+)				1				
異常行動 <sup>1)</sup> (1:わずか)	3	0↓	1	1	2	1	2	1
異常歩行 (1:わずか)								2
振戦 (1:わずか、非持続的)								1
ケージからの取りだし (4:困難、攻撃的)		2				1		

1) Wilcoxon の順位検定      ↑ ↓ : p<0.05

空欄は「0」を示す。

( ) は程度の尺度を示す。

《ホームケージ観察：8週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
異常行動 (1:わずか)				1	2	1	2	1
異常歩行 (1:わずか)								1
振戦 (1:わずか、非持続的) (2:中程度、持続的)								1 1
ケージからの取りだし (4:困難、攻撃的)	1			1				

空欄は「0」を示す。

( ) は程度の尺度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

《ホームケージ観察：13週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
眼球突出 <sup>1)</sup> (+)							1	3↑
立毛 <sup>1)</sup> (+)					1	3	7↑	6↑
被毛の汚れ <sup>2)</sup> (1:わずか)	4	1	3	5		4↑	1	
異常姿勢 <sup>2)</sup> (1:わずか)	1	1	1	1				
異常行動 <sup>2)</sup> (1:わずか)	1			2			2	1
異常歩行 <sup>2)</sup> (1:わずか)								3↑
振戦 <sup>2)</sup> (1:わずか、非持続的)								2
ケージからの取りだし <sup>2)</sup> (4:困難、攻撃的) (5:極めて困難、攻撃的)						1		

1)ロッドスティック回帰 ↑↓: p<0.05 ↑↓: p<0.01

2)Wilcoxonの順位検定 ↑↓: p<0.05

空欄は「0」を示す。

( )は程度の尺度を示す。

投与に対する反応は主として10mg/kg/日群雌に認められた。

振戦、立毛、眼球突出、異常歩行など投与に関連した症状は、第13週に10mg/kg/日群の雌の多くで観察された。投与第13週には立毛が2.2mg/kg/日群の雌の多くでも観察された。所見のうち頻度が対照群に比べて有意なものが幾つか認められたが、軽度の変化であり、また用量と関連しないことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

《オープンフィールド観察：4週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
排尿 (1:少量の尿) (2:中程度の量の尿)	2	1	4	3			4↑	
		1	1	2				

Wilcoxon の順位検定 ↑ ↓ : p<0.05

( )は程度の尺度を示す。

空欄は「0」を示す。

《オープンフィールド観察：8週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
排尿 (1:少量の尿) (2:中程度の量の尿)	3	2	3	8↑			1	1
		1					1	

Wilcoxon の順位検定 ↑ ↓ : p<0.05

空欄は「0」を示す。

( )は程度の尺度を示す。

《オープンフィールド観察：13週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
異常歩行 (1~2:わずか~中程度)								4↑
活動度 (1:殆ど動かない) (2:低活動) (3:正常) (4:活動増加) (5:高活動)		2↑	2↑					
	4	7	6	5	1	2	2	1
	6	1	2	5	7	6	7	7
					2	1	1	2
						1		
振戦 (1:わずか、非持続的)							1	4↑
排尿 (1:少量の尿) (2:中程度の量の尿)	3	2	2	6	4	4	1	1
	1						1	

Wilcoxon の順位検定 ↑ ↓ : p<0.05

空欄は「0」を示す。

( )は程度の尺度を示す。

雄では、投与第8及び13週に10mg/kg/日群で認められた排尿増加を除き、投与に関連した症状は観察されなかった。雌では、投与第13週に10mg/kg/日群で異常歩行及び振戦が認められ、検体投与による影響と考えられた。

所見のうち頻度が対照群に比べて有意なものが幾つか認められたが、軽度の変化であり、また用量と関連しないことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。

《用手法検査：投与開始前》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
ハットリング (2:容易) (3:時に困難) (4:困難)	1 9	 10	 10	1 9	4 6	2 8	1 8 1	1 8 1
瞳孔縮小反応 (+)	10	10	10	10	10	10	10	10
驚愕反射 (2:弱い反応) (3:正常) (4:強い反応)	 10	 9	 10	 10	 10	 10	 9 1	 10
耳介反射 (+)	10	10	10	10	10	10	10	10
屈筋反射 (3:正常) (4:強い反応)	10	10	10	10	10	10	10	10
正向反射 (+) (-)	10	10	10	9 1	10	9 1	10	9 1
痛覚反射 (2:弱い反応) (3:正常)	 10	 10	 10	 10	1 9	 10	 10	 10

空欄は「0」を示す。

( )は程度の尺度を示す。

《用手法検査：第4週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
ハットリング (2:容易) (3:時に困難)	7 3	9 1	9 1	9 1	8 2	7 3	7 3	10
瞳孔縮小反応 (+) (-)	10	10	10	10	10	10	9 1	9 1
驚愕反射 (3:正常)	10	10	10	10	10	10	10	10
耳介反射 (+) (-)	10	9 1	10	10	10	10	10	10
屈筋反射 (2:弱い反応) (3:正常)	 10	 10	1 9	 10	 10	 10	 10	 10
正向反射 (+) (-)	10	10	10	10	10	9 1	10	10
痛覚反射 (1:反応なし) (2:弱い反応) (3:正常)	  10	  10	 1 9	1 1 8	  10	1  9	 1 9	  10

空欄は「0」を示す。

( )は程度の尺度を示す。

《用手法検査：第8週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
ハットリング (2:容易) (3:時に困難)	10	9 1	10	9 1	7 3	7 3	7 3	7 3
瞳孔縮小反応 (+) (-)	10	9 1	10	10	10	10	9 1	10
驚愕反射 (2:弱い反応) (3:正常) (4:強い反応)	10	9 1	10	10	9 1	9 1	9	8 1
耳介反射 (+)	10	10	10	10	10	10	10	10
屈筋反射 (3:正常)	10	10	10	10	10	10	10	10
正向反射 (+) (-)	9 1	10	10	10	10	10	10	9 1
痛覚反射 (2:弱い反応) (3:正常) (4:強い反応)	4 5 1	4 5 1	6 4	3 6 1	1 9	2 8	2 8	1 9

空欄は「0」を示す。

( )は程度の尺度を示す。

《用手法検査：第13週》

性別	雄				雌			
	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
投与量 (mg/kg/日)	0	0.5	2.2	10	0	0.5	2.2	10
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
ハットリング (2:容易) (3:時に困難) (4:困難)	9 1	9 1	9 1	10	10	9 1	10	10
瞳孔縮小反応 (+)	10	10	10	10	10	10	10	10
驚愕反射 (2:弱い反応) (3:正常) (4:強い反応)	1 9	2 8	2 8	1 8 1	10	1 9	1 9	1 8 1
耳介反射 (+)	10	10	10	10	10	10	10	10
屈筋反射 (3:正常)	10	10	10	10	10	10	10	10
正向反射 (+) (-)	10	9 1	10	10	10	9 1	10	9 1
痛覚反射 (2:弱い反応) (3:正常) (4:強い反応)	9	2 8	2 8	2 8	3 7	2 8	1 9	2 7 1

空欄は「0」を示す。

( )は程度の尺度を示す。

《用手法検査；落下時間脚度（単位 mm）》

性別	投与量	検査 動物数	投与前検査	投与後		
	(mg/kg/日)			4週	8週	13週
雄	0	10	82.3	102.2	100.6	93.7
	0.5	10	87.2	111.5	114.0	112.9
	2.2	10	86.0	115.5	121.3	102.8
	10.0	10	76.2	101.0	103.1	99.2
雌	0	10	72.9	80.5	83.5	76.4
	0.5	10	67.6	80.6	80.1	71.8
	2.2	10	73.7	85.0	96.0	98.2 ↑
	10.0	10	83.3	94.0	90.9	83.5

3) Dunnett 検定、Wilcoxon の順位検定 ↑ ↓ : p<0.05

《用手法検査；体温（単位℃）》

性別	投与量	検査 動物数	投与前検査	投与後		
	(mg/kg/日)			4週	8週	13週
雄	0	10	37.65	38.33	37.45	37.66
	0.5	10	37.62	37.68 ↓	37.27	37.96
	2.2	10	37.94	38.17	37.14	37.61
	10.0	10	37.78	37.85	37.01	37.39
雌	0	10	38.09	38.53	38.47	38.91
	0.5	10	37.99	38.50	38.20	38.52
	2.2	10	38.23	38.38	38.53	38.79
	10.0	10	37.92	38.30	38.38	38.63

3) Dunnett 検定、Wilcoxon の順位検定 ↑ ↓ : p<0.05

以上の用手法検査では、検体投与に関連した変化は観察されなかった。また、検体投与による握力への影響はないと考えられた。

自発運動量；投与開始前、投与第4週、第8週及び第13週に自動計測器で測定した。各動物を透明ポリカーボネート製ケージに入れ、6分間の観察を連続して10回測定した（総計1時間）。ケージには8つの赤外線ビームが通っており（高位置4、低位置4）、動物の立ち上がり回数と水平運動が記録できる。測定は用手法による諸検査の直後に行い、6分間の観察を連続して10回行った（総計1時間）。

自発運動量総量を下表に示す。

性別		雄				雌			
用量 (mg/kg/日)	ヒーム レベル	投与前	4週	8週	13週	投与前	4週	8週	13週
0	高	100	100	100	100	100	100	100	100
	低	100	100	100	100	100	100	100	100
0.5	高	116.7	72.4	85.9	84.7	81.0	74.8	82.8	79.4
	低	109.3	109.4	106.5	100.4	81.2	83.9	83.3	75.9
2.2	高	102.6	105.1	125.8	144.7	120.1	116.0	112.6	124.8
	低	122.7	117.1	110.9	136.4	96.8	107.9	85.6	115.9
10.0	高	103.4	85.8	84.1	109.7	102.5	81.0	86.3	83.2
	低	87.5	96.8	79.9	109.6	79.7	76.9	80.6	87.4

数字は対照群に対する変動率(%)を表す。

自発運動量に対する検体投与の影響は認められなかった。総じて0.5及び10mg/kg/日群雌の自発運動量が対照群に較べて低値を示したが、2.2mg/kg/日群雌ではこのような現象が観察されていないことから、正常範囲の変動と考えられた。

肉眼的病理検査；試験終了時に全生存動物を対象に実施した。ペントバルビタール腹腔内投与で全身麻酔し、心臓を露出させ、大動脈よりアルデヒド系 Karnovsky 固定液を灌流し固定した後、神経系を含む全ての臓器組織について観察した。

検体投与に関連する変化は認められなかった。

臓器重量；各動物の脳及び下垂体重量を測定し、対体重比も算出した。

臓器重量に検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査；各群雌雄各5匹を対象に実施した。灌流固定の後、脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼球、視神経、下垂体、坐骨神経、脛骨神経を摘出しさらに浸漬固定をした。パラフィン包埋の後、脳(すべての主要部分)、脊髄(頸部、胸部、腰部の横断及び縦断面)は5ミクロンに薄切しヘマトキシリンエオジン染色し標本とした。左坐骨神経、脛骨神経の近位及び遠位部分の横断及び縦断面は樹脂包埋により行った。1ミクロンの薄切標本を作成し、トルイジンブルーで染色した。

いずれの動物にも特記すべき組織学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及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

臨床症状及びバッテリー式機能検査(FOB)での動物の反応から、EPNが神経系に影響をおよぼすことは明らかである。EPNは有機リン化合物であり、2.2mg/kg/日群以上の雌で観察された振戦、立毛、異常歩行などの所見は、本剤に類する化合物の持つコリンエステラーゼ阻害作用に関連した変化と考えられた。投与後半になって種々の症状の頻度が増加したことから、本検体(あるいはその代謝産物)の蓄積、あるいは症状の進行が示唆された。投与開始後はじめの2週間に雌雄で認められた体重増加量の低値は、非特異的な毒性によるものと考えられた。臓器重量、肉眼的及び病理組織学的所見に検体投与に関連した変化は認められなかったことから、EPN 10mg/kg/日を13週間投与しても永続的な神経学的障害は生じないと考えられた。

以上、EPNを2.2mg/kg/日以上用量でラットに13週間混餌投与したところ、神経学的変化が認められ、変化は雌でより明瞭であった。神経組織学的所見はなく、神経系への永続的な障害作用の事実は認められなかった。従って、無毒性量(NOEL)は雄2.2mg/kg/日、雌0.5mg/kg/日であると判断した。

\* 2001年5月7日開催の薬事・食品衛生審議会 食品衛生分科会 毒性部会・残留農薬部会合同部会において承認された無毒性量。

2008年11月開催の食品安全委員会においても同様に評価された。

(10) 反復投与遅発性神経毒性

① ニワトリを用いた90日間反復投与遅発性神経毒性試験

(資料No. III-4)

試験機関 : Huntingdon Research Centre (GLP 対応)

報告書作成年 : 1982 年

検体の純度 : %

供試動物 : ニワトリ (Warren Sex Sal Link F種)、入荷時 91 週齢、  
1 群雌各 20 羽 (各群 10 羽の回復群を含む。)

投与期間 : ①投与量設定試験 : 28 日間  
②本試験 : 90 日間+回復 90 日間  
(1980 年 6 月-1981 年 3 月)

投与方法 : 検体はアセトンに溶解し、陽性対照物質として用いた tri-ortho-cresyl-phosphate (TOCP) はコーン油に溶解し、ゼラチンカプセルに充填して強制経口投与した。投与容量は検体投与群及び溶媒対照群で 0.333ml/kg、陽性対照群で低濃度から 0.2、0.25、0.33ml/kg とした。溶媒対照群にはアセトンのみを同様に投与した。カプセルは 1 週間前の最終体重に基づいて毎週調製した。

投与量は下記のとおりである。

試験	投与量 (mg/kg/日)	対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)		
			0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0
①投与量設定試験 投与期間(28日間)		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
②本試験 投与期間(90日間)		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
投与期間(90日間) +回復期間(90日間)		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

表中の数値は使用動物数を表す。

観察・検査項目及び結果：

①投与量設定試験

一般状態及び死亡；全生存動物について毎日観察した。

結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)		
	0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
死亡数						1	1		1	

空欄は「0」を示す。

全ての群で投与期間を通じて一般状態は良好であった。

死亡は、検体 2.5、5.0mg/kg/日群及び TOCP5.0mg/kg/日群で各 1羽ずつ認められた。

体重変化；投与開始前 14、7日、投与当日、投与後 7、14、21、28日に全生存動物について体重を測定した。

体重増加量の変化を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)		
	0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
0-28日	-89	-33	20	83	-68	-638	-323	60	-29	-331

表中の数値は絶対値(g)を示す。

検体 2.5mg/kg/日群以上及び TOCP10.0mg/kg/日群で体重減少が認められた。

摂餌量；各群ごとに毎週 1回測定した。

摂餌量の変化を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)		
	0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
1週	100	128	155	152	161	6	53	110	137	97
2週	100	93	116	95	80	24	64	78	119	84
3週	100	105	105	149	112	35	82	103	97	122
4週	100	105	100	126	116	39	103	177	101	64
1-28日	100	106	117	128	114	26	76	115	112	92

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

検体 2.5mg/kg/日群は投与期間を通じて減少した。検体 5.0mg/kg/日群では投与 1週で減少したが、その後回復した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

神経症状；全動物について運動失調を毎日観察し、グレード1-8の判定方法で点数化した。結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)		
	0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
発現数						4	1		1	5

空欄は「0」を示す。

運動失調は、TOCP5.0mg/kg/日群で1羽に、TOCP10.0mg/kg/日群で全例に認められ、その程度はそれぞれグレード1-8、1-7であった。検体5.0mg/kg/日群では1羽で認められ、その程度はグレード1-5であった。検体2.5mg/kg/日群でも4羽で認められたが、その程度はグレード1-2と軽く、不明瞭であった。

肉眼的病理検査；試験終了時、全動物について実施した。

検体投与群及び陽性対照群で卵管の嚢胞形成、筋萎縮、脂肪組織希薄等が認められた。

病理組織学的検査；心臓からの灌流固定後、以下の組織を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。その後、パラフィン包埋して8 $\mu$ m厚の切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、Glees and Marsland 軸索染色、Luxol fast blue 染色を施し、6羽について病理組織学的に検査した。病変の程度は5段階に分けた(グレードI-V)。

脊髄(頸部、胸部、腰仙部)の縦断及び横断組織と脊髄神経節

延髄と橋、大脳及び小脳皮質、脳幹神経節及び脳海馬部

視神経及び嗅神経

坐骨神経の近位部分と末梢部及び脛骨神経の末梢枝部分

検体投与群でグレードI-IIの病変が認められた。

以上の結果から、90日間投与の本試験は、本用量設定試験と同じ用量で実施することとした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

②本試験

一般状態及び死亡；一般状態及び死亡を毎日観察した。

結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	投与期間			回復期間			
	死亡数	屠殺数	合計	死亡数	屠殺数	合計	
対照群	-	0	0	0	1	0	1
検体群	0.01	1	1	2	2	0	2
	0.1	1	0	1	3	0	3
	0.5	2	4	6	1	0	1
	1.0	3	0	3	1	0	1
	2.5	2	3	5	0	0	0
	5.0	2	5	7	0	0	0
陽性 対照群	1.0	1	3	4	0	2	2
	5.0	1	4	5	0	0	0
	10.0	0	11	11	0	0	0

試験期間中、全ての群で一般状態は良好であった。投与期間中、相当数のニワトリに口や顔の膨張がみられたが、これは薬物投与行為による結果であると思われる。回復期間中には何ら異常は認められなかった。

投与期間中に検体投与に関連した死亡が認められたが、用量に依存したパターンを示さなかった。

体重変化；試験期間中、全生存動物について毎週1回体重を測定した。

平均体重の変化を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	対照群	検体投与群							陽性対照群 (TOCP)		
	0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0	
投与 期間	0日	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	28日	101	98	97	101	91	92	87↓	101	94↓	88↓
	56日	100	91	95	95	94	93	81↓	99	91↓	72↓
	84日	95	94	95	99	92	99	89	101	94	76↓
回復 期間	91日	99	101	97	101	99	101	95	105	97	80↓
	119日	104	110	109	106	106	101	100	113	102	89
	147日	104	105	104	115	118	105	105	116	108	98
	175日	109	107	98	116	119	105	107	117	113	100

表中の数値は開始時体重に対する変動率(%)を示す。

William検定 ↑↓: P<0.05    ♂ ♀: P<0.01

投与期間中、検体5mg/kg/日群では投与期間半ばに有意な減少が認められた。TOCPでは5mg/kg/日群で投与期間半ばに、また10mg/kg/日群では投与期間を通じて、有意な体重減少が認められた。

回復期間中、全ての群で体重増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

摂餌量；試験期間中各群ごとに毎週1回測定した。

摂餌量の変化を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)			
		0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
投与期間	1週	100	111	100	106	77	39	19	106	129	91
	2週	100	132	100	97	107	81	55	106	117	104
	3週	100	155	97	150	88	99	64	119	155	69
	4週	100	104	73	77	108	91	52	101	66	45
	5週	100	97	70	86	71	73	44	105	80	28
	6週	100	79	141	57	134	160	159	49	86	85
	7週	100	109	85	84	67	68	50	65	104	46
	8週	100	89	77	68	67	74	53	65	99	89
	9週	100	89	105	110	108	149	88	104	86	85
	10週	100	148	113	132	104	120	99	114	93	88
	11週	100	136	131	127	110	145	118	123	132	104
	12週	100	117	110	101	95	115	105	110	115	92
	13週	100	110	81	73	82	90	83	130	103	79
1-13週	100	112	96	96	92	96	92	98	104	73	
回復期間	14-26週	100	91	65	92	104	87	106	122	90	93

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

検体 1.0mg/kg/日群以上で、投与1週に摂餌量の減少が顕著に認められたが、投与2週には5mg/kg/日群を除いて回復した。5mg/kg/日群は、投与期間終了時には回復した。

TOCP10.0mg/kg/日群では投与期間を通じて摂餌量が減少した。

回復期間は投与期間と比較して総じて摂餌量が増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

産卵数；試験期間中各群ごとに毎日観察した。

結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)		
		0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
産卵数 (卵/羽/日)	投与期間	0.20	0.20	0.16	0.13	0.11	0.07	0.02	0.09	0.18	0.08
	回復期間	0.19	0.31	0.15	0.33	0.26	0.25	0.25	0.12	0.20	0.41
平均卵重量 (g)	投与期間	67	67	68	67	68	65	64	67	65	67
	回復期間	66	67	68	67	67	66	67	64	70	65

投与期間中の産卵数は、検体投与群で用量に依存して減少し、検体 5.0mg/kg/日群では 70 日以降産卵が停止した。TOCP10.0mg/kg/日群では投与期間を通じて比較的少なく、43-84 日の間産卵が停止した。

回復期間中の産卵数は、投与期間中とほぼ同等もしくは多かった。検体 5.0mg/kg/日群及び TOCP10.0mg/kg/日群は回復期間の 2 週間は産卵が停止したままであったが、その後回復した。

平均卵重量には検体投与による影響は認められなかった。

神経症状；試験期間中、全生存動物について運動失調を毎日観察し、グレード 1-8 の判定方法で点数化した。

結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		対照群	検体投与群						陽性対照群 (TOCP)		
		0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
投与期間	動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	発現数						1	11		4	20
回復期間	動物数	10	8	9	7	9	7	7	9	7	4
	発現数							3		1	4

空欄は「0」を示す。

投与期間中、検体 2.5mg/kg/日群以上及び TOCP5.0mg/kg/日群以上で遅発性運動失調が認められ、その程度は検体 2.5mg/kg/日群でグレード 2、検体 5.0mg/kg/日群でグレード 1-8、TOCP5.0mg/kg/日群でグレード 1-7、TOCP10.0mg/kg/日群でグレード 1-8 であった。

回復期間中、検体投与群で投与期間中に遅発性運動失調が認められなかった動物で、新たに同症状が発現することはなかった。また、完全には回復しなかったものの、検体投与群で投与期間中に遅発性運動失調が認められた動物では、症状の回復傾向が認められた。一方、陽性対照群でも症状の回復傾向は認められたが、2羽で回復期間初期に症状の程度が一時的に増強した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査；全動物について実施した。動物は予め、投与期間及び回復期間検査用に各々10羽ずつ割り振った。

筋萎縮の発現状況を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		対照群	検体投与群						陽性対照群		
		0	0.01	0.1	0.5	1.0	2.5	5.0	1.0	5.0	10.0
投与期間	死亡・切迫殺	0/0	0/2	1/1	2/6	0/3	2/5	7/7	0/4	2/5	6/11
	計画殺	0/10	1/10	0/10	1/7	1/8	0/8	0/6	0/7	0/8	1/5
回復期間	死亡・切迫殺	0/1	0/2	1/3	0/1	0/2	0/0	0/0	1/2	0/0	0/0
	計画殺	0/9	0/6	0/6	0/6	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/4
合計		0/20	1/20	2/20	3/20	1/20	2/20	7/20 <sup>†</sup>	1/20	2/20	7/20 <sup>†</sup>

Fisherの直接確率法（申請者が実施）<sup>†</sup>  $p < 0.01$

投与期間中、筋萎縮が検体5.0mg/kg/日群で有意に認められ、検体投与に関連した変化と考えられた<sup>注1</sup>。同様の変化はTOCP10.0mg/kg/日群でも有意に認められた。

回復期間中、検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、心臓からの灌流固定後、以下の組織を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。その後、パラフィン包埋して8 $\mu$ m厚の切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、Glees and Marsland 軸索染色、Luxol fast blue 染色を施し、病理組織学的に検査した。病変の程度は5段階に分けた（グレードI-V）。

脳神経（嗅／視神経）

脳（延髄／橋、小脳皮質及び大脳皮質）

脊髄（頸部、胸部、腰仙椎部の横断面及び縦断面）

末梢神経（坐骨神経の近位及び遠位部と脛骨神経の遠位枝）

結果を次ページの表に示す。

注<sup>1</sup>：原報告書には影響が認められた群の記載はないが、統計結果等を考慮して判断した。

筋萎縮と神経病変に明確な関連は認められなかったが、いずれの発現動物にも著明な体重減少が認められ、その大部分が死亡・切迫殺動物であったことから、本変化は一般状態の悪化を反映したのと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

<神経軸索変性（投与期間）>

投与量 (mg/kg/日)	検査 動物数	脳神経		脳			脊 髄					末梢神経			
		I	II	I	II	III	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV
対照群	0	10	20		20		28	11	1			28	2		
検体 投与群	0.01	11	22		22		39	5				32			
	0.1	10	20		20		23	17				28	2		
	0.5	11	22		22		29	15				32	1		
	1.0	8	16		16		13	14	5			18	5		
	2.5	11	21	1	22		26	13	3	2		25	7		
	5.0	11	22		21		11	10	12	9	2	22	8	3	
陽性 対照群	1.0	10	20		20		33	7				27	3		
	5.0	12	24		23	1	20	18	7	3		28	7	1	
	10.0	16	32		27		11	4	16	22	11	31	6	8	2

<神経軸索変性（回復期間）>

投与量 (mg/kg/日)	検査 動物数	脳神経		脳			脊 髄					末梢神経			
		I	II	I	II	III	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV
対照群	0	9	18		18		27	9				27			
検体 投与群	0.01	6	12		12		13	10	1			18			
	0.1	6	12		12		20	4				18			
	0.5	6	11		12		18	6				18			
	1.0	7	14		14		17	11				21			
	2.5	7	14		14		14	10	3	1		21			
	5.0	7	14		14		15	6	3	2	2	19	2		
陽性 対照群	1.0	10	18		18		24	11	1			28	2		
	5.0	7	14		14		2	7	12	5	2	19	2		
	10.0	4	7		8		2		5	6	3	12			

空欄は「0」を示す。

グレードI：異常なし

グレードII：時々、神経軸索の分裂

グレードIII：2、3の神経軸索の分裂、ひずみ

グレードIV：中くらいの数の神経軸索の分裂、ひずみ

グレードV：多数の神経軸索の分裂、ひずみ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

検体 1.0mg/kg/日群以上及び TOCP5.0mg/kg/日群以上において、用量に依存した軸索変性が認められ、検体と TOCP で認められた変化はいずれも質的に同じものであった。

脳神経には投与に関連した変化は認められなかった。

脳では、検体 5.0mg/kg/日群及び TOCP5.0mg/kg/日群以上で変化が認められた。

脊髄では、対照群（自然発生のグレード：III 以下）を含め、全ての群で変性が認められたが、検体 1.0mg/kg/日群以上及び TOCP5.0mg/kg/日群以上で大きな変化を示した。

末梢神経においても、対照群（自然発生のグレード：II 以下）を含め全ての群で変性が認められたが、検体 5.0mg/kg/日群及び TOCP5.0mg/kg/日群以上で明らかな変化を示した。投与に関連した変性は脊髄に比べると弱い傾向が認められた。

回復群では、検体 2.5mg/kg/日群以上及び TOCP5.0mg/kg/日群以上で投与に関連した変性が認められた。

以上の結果から、EPN のニワトリに対する 90 日間反復投与遅発性神経毒性試験の影響として、遅発性運動失調が 2.5mg/kg/日群以上で認められ、脊髄で神経の軸索変性が 1.0mg/kg/日群以上で認められたことより、無毒性量は 0.5mg/kg/日であると判断される。

② ニワトリを用いた28日間反復投与遅発性神経毒性試験

(資料No. III-5)

試験機関 : Pharmaco-LSR Ltd. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1995 年

試験の目的 : 28 日間連続投与による反復投与遅発性神経毒性を評価するため、米国 EPA のガイドライン (Pesticide Assessment Guidelines, Sub-division F, series 82-6, 1991) に従って実施した。

検体の純度 : %

供試動物 : ニワトリ (Sterling Ranger 交雑系)、開始時約 12 ヶ月齢、1 群雌各 9-12 羽、  
開始時体重 : 1.64-2.77kg

投与期間 : 28 日間+回復 21 日間 (1994 年 2 月 17 日-1994 年 4 月 7 日)

投与方法 : 検体及び陽性対照物質として用いた tri-ortho-cresyl-phosphate (TOCP) はコーン油に溶解し、フレキシブルゴムカテーテルを用い、そ嚢内に強制経口投与した。投与容量は 4 ml/kg とした。溶媒対照群にはコーン油のみを同様に投与した。投与液量は週毎に測定した体重より算出した。投与量は下記のとおりである。

群	投与量 (mg/kg/日)	使用動物数	
		主試験群	中間屠殺群*
溶媒対照群 (コーン油)	0	6	3
陽性対照群 (TOCP)	23.2	6	3
検体投与群	0.5	6	3
	1.0	6	3
	2.5	6	3
	6.3	9	3

\* : NTE (Neurotoxic esterase) と脳アセチルコリンエステラーゼ測定用

統計学的評価法 : 標本統計量を用いて標準偏差を求めた。記載が無い時は、投与群の平均値は、対照群に較べて有意な差が無いことを示す ( $p > 0.05$ )。酵素活性の群間差は、誤差分散をプールして用いた Student の  $t$  検定により評価した。組織病理学検査の群間差は、Fisher の直接確率 (両側検定) により評価した。



観察・検査項目及び結果：

一般状態、死亡及び運動失調；症状は、コリンエステラーゼ活性阻害によるものと、遅発性神経毒性(DNT)による運動失調の2つのカテゴリーに分け観察した。コリンエステラーゼ活性阻害を視点にした観察は、1日2回実施した。運動失調は、週2回ニワトリを群れにして放ち、閉鎖領域内で追い立てて検出した。

歩行異常に関する診断基準は以下の通りとした。

異常あるいはよろめき歩行（軽度、中程度、重度）

その他の神経学的症状

低活動：正常以下の運動量

飛節座り

起立困難：接触刺激で立ち上がるが、放すと座ってしまう。

起立不能：刺激の有無に関わらず立ち上がろうとするが、立ち上がれない。

腹臥位：体躯を脚で支えられない状態。

結果を下に示す。

群	投与量 (mg/kg/日)	使用 動物数	生存動物			死亡動物	
			生存数	症状発現動物数		死亡数	臨床症状
				急性のコリンエステラーゼ阻害に伴う症状	遅発性神経毒性症状		
溶媒対照群	0	6	5	0	0	1	
陽性対照群	23.2	6	5	0	2	1*	遅発性神経毒性症状
検体投与群	0.5	6	6	0	0	0	
	1.0	6	6	0	0	0	
	2.5	6	6	0	0	0	
	6.3	9	7	4	1	2	遅発性神経毒性症状

\*：人道的屠殺

6.3mg/kg/日群の4羽にコリンエステラーゼ活性阻害による症状が発現し、1羽に遅発性神経毒性による運動失調が認められた(途中死亡例2羽は含めず)。陽性対照薬剤 TOCP では、コリンエステラーゼ活性阻害はなく、2羽に遅発性神経毒性による運動失調が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

体重変化 ; 投与直前、その後は週 1 回測定した。

体重変化を下表に示す。

群	投与量 (mg/kg/日)	体重(kg)			増加量(kg)	
		1日	29日	50日	1-29日	29-50日
溶媒対照群	0	2.01	1.95	1.98	-0.04	0.03
陽性対照群	23.2	1.97	1.76	1.57	-0.21	-0.20
検体投与群	0.5	1.99	1.89	1.92	-0.10	0.02
	1.0	1.89	1.65	1.82	-0.24	0.17
	2.5	1.98	1.83	1.87	-0.15	0.05
	6.3	2.05	1.66	1.90	-0.38	0.12

体重増加量には検体投与による影響が認められなかった。

脳及び脊髄の酵素活性測定 ; 各群 3 羽のニワトリを 30 日(最終投与 48 時間後)に、断頭により屠殺した。全脊髄を取りだし、精秤して氷冷した Tris/EDTA 緩衝液中に置いた。脳を取りだし、髄膜と血管を除いて余分な水分を拭き取った。約 1/3 量の脳を精秤して氷冷した生理食塩液中に置き、残り 2/3 を精秤して氷冷した Tris/EDTA 緩衝液中に置いた。脊髄及び脳の標本をホモジナイズした。緩衝液中の脊髄及び脳のホモジネートについて神経毒性エステラーゼ活性 (NTE = Neurotoxic esterase) を、生理食塩液中の脳ホモジネートについてアセチルコリンエステラーゼ活性を測定した。  
[測定法]

脳アセチルコリンエステラーゼ活性 ; Ellman et al., 1960

(Biochem. Pharmacol. 7, 88)

神経毒性エステラーゼ活性 ; Chemsyn Science Laboratories Kit,

Johnson, M. K. 1977 (Arch. Tox. 37, 113~115)

結果を下表に示す。

群	投与量 (mg/kg/日)	使用 動物数	アセチルコリンエステラーゼ 活性 (iu/l)	神経毒性エステラーゼ 活性 (nmol phenol/mg protein/min)	
			脳	脳	脊髄
溶媒対照群	0	3	36000 (-)	9.0 (-)	5.6 (-)
陽性対照群	23.2	3	28267 (21.5)	2.0↓(77.8)	1.5↓(73.2)
検体投与群	0.5	3	33400 (7.2)	8.6 (4.4)	5.1 (8.9)
	1.0	3	30800 (14.4)	9.1 (0)	5.0 (10.7)
	2.5	3	22733↓(36.9)	7.1 (21.1)	5.1 (8.9)
	6.3	3	23733↓(34.1)	3.8↓(57.8)	2.2↓(60.7)

Student t 検定 ↑ ↓ : p<0.01    ↑↓ : p<0.001

( )内数値は溶媒対照群に対する低下率(%)を示す。申請者が算出した。

脳アセチルコリンエステラーゼ活性は、2.5 及び 6.3mg/kg/日群で 30%以上抑制された。脳及び脊髄の神経毒性エステラーゼ活性は、6.3mg/kg/日群で約 60%、陽性対照群では 70%以上抑制された。

病理組織学的検査：瀕死の動物及び試験期間を生存した動物は、過剰量のペントバルビタール B. P. Vet. 静脈内投与により屠殺した。ニワトリを背位にし、内臓を露出した。心臓を経由した陽圧灌流を行った。左心室から蠕動ポンプにより 300-500ml の緩衝 4% ホルムアルデヒド溶液を流した。速やかな寫血と動脈循環系の灌流を達成するため後大動脈を切断した。内臓を取り出し、頭部、脊柱、脚を分離した。脊髄をそのままの位置で全長にわたり露出し、頭蓋骨を除いて脳を露出した。仙骨神経叢、坐骨神経、脛骨神経を露出したが切断はしなかった。露出した神経は固定液をしみこませたティッシュペーパーを当てて解剖中湿潤に保った。この状態で死体を組織標本作成まで固定液中で、最低 4 日間浸漬した。

溶媒対照群、陽性対照群、2.5 及び 6.3mg/kg/日群のすべてのニワトリの中枢及び末梢神経系の横断及び縦断面の標本を作成した。組織をアルコール水溶液系列で脱水し、パラフィンに包埋し、約 5 ミクロンの切片を作成した。切片をスライドグラスにマウントしヘマトキシリンエオジン (H+E)、Palmgren あるいは Crystal violet で対比染色する Luxol fast blue 染色を施し、溶媒対照群、陽性対照群、2.5mg/kg/日群以上について病理組織学的に検査した。

観察した標本は以下の通り。

- ①延髄、大脳及び小脳皮質(横断面のみ)
- ②上部脊髄の球部 (S. C. CERV)
- ③胸部脊髄中間部 (S. C. THOR)
- ④腰仙部脊髄 (S. C. LUMB)
- ⑤左右脛骨神経の近位部 (L. TI, N and R. TI. N) 及びその側枝

結果を次表に示す。

群	投与量 (mg/kg/日)	使用 動物数	生存動物		死亡動物	
			生存数	神経病変 確認動物数	死亡数	神経病変 確認動物数
溶媒対照群	0	6	5	0	1	0
陽性対照群	23.2	6	5	5	1*	1
検体投与群	0.5	6	6	-	0	-
	1.0	6	6	-	0	-
	2.5	6	6	0	0	0
	6.3	9	7	5	2	2

\*：人道的屠殺

-：実施せず

投与に関連すると考えられる所見は、陽性対照群及び 6.3mg/kg/日群の脊髄及び脛骨神経に認められた。

脊髄の病変として、軸索の変性とシュワン細胞の増生が、主として頸部及び胸部脊髄に認められた。陽性対照群ではさらに腰部脊髄にも認められた。

脛骨神経では脊髄と同様に軸索の変性とシュワン細胞の過形成が認められたが、出現頻度は少なかった。

病変の出現頻度は検体投与群及び陽性対照群で同様であったが、病変の程度は検体投与群でより軽度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

2.5mg/kg/日群の病変は最小かつ特発的で、出現頻度は対照群と同様であったことから、ニワトリにみられる正常な背景病変と考えられた。

EPNを6.3mg/kg/日の用量で28日間投与した結果、脳(58%)及び脊髄(61%)の双方で神経毒性エステラーゼ活性及び脳(34%)のアセチルコリンエステラーゼ活性の低下が認められた。この群の2羽は臨床的に神経毒性の兆候を示し、計画屠殺前に死亡し、組織学的にも神経毒性学的変化が認められた。計画殺まで生存した7羽のうち1羽が臨床的に神経毒性の兆候を示し、5羽が神経組織学的変化を示した。

EPNを2.5mg/kg/日投与した群では、脳アセチルコリンエステラーゼ活性の37%の低下が認められたが、臨床症状は認められなかった。また神経組織に最小の組織学的病変が観察されたが、対照群とほぼ同等であったことから、遅発性神経毒性は生じないと考えられた。

EPNを0.5あるいは1.0mg/kg/日投与した群では、検体投与による影響は認められなかった。

以上のことから、6.3mg/kg/日のEPN投与はニワトリに遅発性神経毒性を生じさせると結論した。また2.5mg/kg/日以上を投与した群で脳アセチルコリンエステラーゼ活性の低下が認められたことから、本試験の無毒性量は1.0mg/kg/日と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

注) ニワトリを用いた反復投与遅発性神経毒性試験のまとめ

ニワトリを用いた反復投与遅発性神経毒性試験とその結果を下表に示した。

[遅発性神経毒性：DNT]

資料 No.	実施機関	結果
III-4	HRC (1982)	用量：0、0.01、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0mg/kg/日（90日） ・2.5mg/kg/日以上でDNT発現、無毒性量0.5mg/kg/日。 ・休薬後、DNTに回復傾向が認められた。
III-5	P-LSR (1995)	用量：0、0.5、1.0、2.5、6.3mg/kg/日（28日） ・6.3mg/kg/日でDNT発現。 ・2.5mg/kg/日以上で脳ChE活性の低下が認められた。 ・無毒性量1.0mg/kg/日。

以下に、各試験の概略を示す。

III-4：90日間の投与期間中に、2.5及び5.0mg/kg/日投与群で20羽中各々1及び11羽にDNTが認められた。投与期間満了後に90日間回復させた群では、DNTは新たな個体に発現することは無く、5.0mg/kg/日投与群の7羽中3羽に引き続き認められたものの、程度が軽減する傾向が認められた。神経病理組織学的検査では、DNTとの関連は明らかではなかったものの、軸索変性が1.0mg/kg/日以上で用量に依存して認められた。無毒性量は0.5mg/kg/日であった。

III-5：28日間投与により、最高用量6.3mg/kg/日では脳・脊髄NTE活性が約60%阻害され、脳ChE活性が34%低下した。3週間の回復期間を含む49日間の観察期間中に、生存動物7羽中1羽に、あるいは死亡動物を含めると9羽中3羽に、DNT徴候が発現した。神経病理組織学的検査では軸索変性が同群の9羽中7羽に認められた。2.5mg/kg/日投与群では、脳ChE活性の37%の低下が認められたが、DNT徴候は認められなかった。無毒性量は1.0mg/kg/日と判断された。

以上の試験から、本剤は反復投与によりDNTが発現することが示されたが、少なくとも1試験においてその症状は回復する可能性のある事が確認された。反復投与遅発性神経毒性の無毒性量は0.5mg/kg/日と考えられた。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

① イヌを用いたカプセル投与による52週間反復経口投与毒性試験

(資料No. V-1)

試験機関 : Hazleton UK (GLP 対応)

報告書作成年 : 1987 年

検体の純度 : %

供試動物 : ビーグル犬、1群雌雄各4匹、開始時5.5-7.5ヶ月齢

開始時体重範囲 : 雄 7.40-10.4kg 雌 6.45-8.35kg

投与期間 : 52週間 (1986年4月2日-1987年4月3日)

投与方法 : 検体をコーン油に溶解して0、0.1、1.0及び3.0mg/kg/日の用量でカプセルに充填し、毎日1回、52週間にわたって強制経口投与した。検体を充填したカプセルは毎週調製し、4℃で保管した。

観察・検査項目及び結果 :

統計学的手法 ; 下記のいずれかの手法のうち、適切なものを用い統計学的解析を実施した。

Kruskal-wallis 検定、Wilcoxon rank sum 検定、変動解析、Students t 検定、Levens t 検定、Dunnetts t 検定

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び死亡を毎日観察した。

3.0mg/kg/日群の雄1匹は、投与27週に嘔吐、振戦、脱水、低体温などの症状を示し、瀕死状態に陥ったため、切迫屠殺した。他に投与に関連した症状は認められなかった。

体重変化 ; 投与12週までは毎週、それ以降は4週間毎に測定した。

体重及び体重増加量の変化を下表に示す。

性別	雄			雌		
投与量(mg/kg/日)	0.1	1.0	3.0	0.1	1.0	3.0
投与開始前(-1週)	87	95	85	94	95	98
52週	83	88	82	99	95	94

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

投与群の体重は対照群に比較して低値で推移したが、有意差もなく、かつ投与開始前の比率を保っていたことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

摂餌量 ; 全動物の摂餌量を毎日測定し、1週間毎の摂餌量を算出した。

各投与群とも対照群と類似していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

眼科学的検査；全動物を対象として投与前及び投与 51 週時に検査した。

投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査；全生存動物を対象として、投与前、投与 26 及び 52 週に、約 18 時間の絶食後、また瀕死期屠殺動物は剖検前に、頸静脈から採血し、以下の検査項目について測定した。

ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数、平均血球ヘモグロビン量、平均血球容積、平均血球ヘモグロビン濃度、白血球数、白血球百分率、血小板数

対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量(mg/kg/日)		0.1	1.0	3.0	0.1	1.0	3.0
ヘモグロビン	26 週	90 ↓	92 ↓	88 ↓			
	52 週		95 ↓	90 ↓			
ヘマトクリット	26 週	90 ↓	92 ↓	89 ↓			
	52 週		94 ↓	91 ↓			
血小板	26 週		137 ↑	144 ↑			
	52 週						
白血球	26 週	74 ↓	(92)	76 ↓			
	52 週						
リンパ球	26 週						
	52 週	59 ↓	64 ↓	56 ↓			
単球	26 週	57 ↓	48 ↓	34 ↓			
	52 週						

Kruskal-wallis 検定、Wilcoxon rank sum 検定、変動解析、Students t 検定、Levens t 検定、Dunnetts t 検定 ↑ ↓:  $p < 0.05$     ↑ ↓:  $p < 0.01$

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

( ): 参考値

有意差は雄投与群においてのみ認められた。投与 26 週では検体投与群でヘモグロビン、ヘマトクリット値、白血球数及び単球数が有意に減少し、また 1.0mg/kg/日群以上では血小板数が有意に増加した。投与 52 週では 1.0mg/kg/日群以上の雄でヘモグロビン、ヘマトクリット値が有意に減少し、全ての検体投与群でリンパ球数が有意に減少した。これらの変化は単球数の減少を除き、用量との対応を欠いた正常範囲内の変動であったことより、検体投与による影響とは考えられなかった。また、単球数の減少も用量に応じた変動を示してはいたが、個々の値は投与開始前と同様あるいは正常範囲内であり、投与 52 週には同様の変化が認められなかったことから、やはり検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、以下の検査項目について測定した。

グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、アルカリホスファターゼ、血漿コリンエステラーゼ (PL-CHE)、赤血球コリンエステラーゼ (RBC-CHE)、ナトリウム、カリウム、カルシウム、血糖、尿素窒素、総ビリルビン、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、A/G 比、総コレステロール

対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		0.1	1.0	3.0	0.1	1.0	3.0
総コレステロール	26 週			47 ↓			33 ↓
	52 週		74 ↓	(52)		73 ↓	43 ↓
PL-CHE	26 週	(90)	(87)	61 ↓	(100)	(88)	(60)
	52 週	83 ↓	85 ↓	(72)	(98)	(85)	(71)
RBC-CHE	26 週	(128)	(134)	46 ↓	(103)	(90)	40 ↓
	52 週	(112)	(106)	(53)	(116)	(98)	(53)

Kruskal-wallis 検定、Wilcoxon rank sum 検定、変動解析、Students t 検定、Levens t 検定、Dunnetts t 検定    ↑ ↓ : p<0.05

( ) : 参考値

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

投与に関連する変化として、1.0 及び 3.0mg/kg/日群雌雄で血漿コリンエステラーゼ活性の低下及び総コレステロールの減少が認められ、さらに 3.0mg/kg/日群雌雄では赤血球コリンエステラーゼ活性の低下も認められた。また 0.1mg/kg/日群雄においても血漿コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。これらの変化のうち、0.1 及び 1.0mg/kg/日群で認められた血漿コリンエステラーゼ活性の低下は、程度も小さく関連する症状も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ると判断した。

尿検査 ; 全生存動物を対象として投与前、投与 26 及び 52 週に、また瀕死期屠殺動物は剖検前に、膀胱内から直接カテーテルで採尿し、以下の検査項目について測定した。また、尿沈渣を顕微鏡で検査した。

比重、色調、混濁、pH、蛋白、糖、ケトン体、総ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、還元物質、尿沈渣

投与に関連した変化は認められなかった。

糞便検査 ; 投与 31 週の症状観察時に、糞便に過度な潜血が発見され急性の出血性大腸炎と診断された 3.0mg/kg/日群の雌 1 匹 (No. 182) を対象として、糞便サンプルを 9 回採取し、潜血を確認した。

糞便中の潜血反応は 4 週後の 35 週には消失した。その後 41 週に 1 度潜血が確認された以外再発生は認められず、投与による影響とは考えられなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物及び瀕死期屠殺動物を対象として、内部及び外表の検査を行なった。

検体投与による影響を示唆する所見は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物及び瀕死期屠殺動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣及び精巣

投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物及び瀕死期屠殺動物を対象として、以下の病理標本を作製し、病理組織学的に検査した。

副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肺、肝臓、リンパ節、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、肋骨及び骨髄、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚及び乳腺、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、甲状腺、胸腺、気管、膀胱、子宮、肉眼的病変部

検体投与群において、腸間膜リンパ節の肉芽腫、甲状腺炎、その他対照群と同様の所見が認められたが、いずれも自然発生的な変化であり、投与に関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、ビーグル犬に対する本剤の52週間カプセル投与による反復経口投与毒性試験における影響として、3.0mg/kg/日群において雄1匹が死亡（切迫）し、血漿、赤血球コリンエステラーゼ活性の低下及び総コレステロールの減少が認められた。1.0mg/kg/日群においては総コレステロールの減少が認められたが、一般状態に悪影響を及ぼさなかった。従って、雌雄ともに無影響量は0.1mg/kg/日、無毒性量は1.0mg/kg/日であると考えられた。

注) 本剤は、2003年9月18日に開催された第11回食品安全委員会において審議され、2003年5月7日の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会・残留農薬部会合同部会報告における一日摂取許容量（ADI）の評価結果が妥当であるとの結論が得られている。審議資料として公表されている報告において、本試験の無毒性量は1.0mg/kg/日とされている。

2008年11月開催の食品安全委員会においても同様に評価された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

② ラットを用いた飼料混入投与による104週間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料No. V-3)

試験機関 : Hazleton Laboratories America, Inc. (GLP 対応)  
報告書作成年 : 1989 年

検体の純度 : %

供試動物 : SD(Cr1:CD BR)系ラット、1群雌雄各 50 匹、開始時約 6 週齢

開始時体重範囲 : 雄 158.9-200.4g 雌 128.6-158.4g

投与期間 : 104 週間 (1985 年 12 月 9 日-1987 年 12 月 14 日)

投与方法 : 検体を 0、3、15 及び 75ppm の濃度で飼料に混入し 104 週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週 1 回調製した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態を 1 日 1 回、死亡を 1 日 2 回観察した。触診を週 1 回実施した。

観察された臨床症状は、いずれも偶発的なもので、投与との関連性は認められなかった。

検体投与終了時の生存率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	3	15	75
生存率 (%)	雄	56	52	54	64
	雌	51	60	50	42

検体投与による生存率への影響は認められなかった。

体重変化 ; 投与開始前、投与 1-14 週までは週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回、全生存動物の体重を測定した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

摂餌量 ; 体重測定と同じ日に全生存動物の摂餌量を測定した。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	3	15	75	3	15	75
1-104 週	99	100	99	99	98	108 ↑

Dunnett 検定 ↑ ↓ :  $p < 0.05$

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。

75ppm 群雌の総摂餌量は対照群に比べ有意に増加したが、検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

検体摂取量；摂餌量及び飼料中検体濃度から1日あたりの平均検体摂取量を算出し、結果を下表に示した。

投与量 (ppm)		3	15	75
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.14	0.73	3.63
	雌	0.18	0.91	4.94

注) 104週間の総平均検体摂取量は申請者が報告書の表5より計算した。

眼科学的検査；全動物を対象として投与開始前及び試験終了時に倒像検眼鏡を用いて検査した。

投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

血液学的検査；投与26、52、79及び105週に各群の雌雄10匹を対象として、一晚絶食後に眼窩静脈叢から採血し、以下の検査項目について測定した。さらに対照群及び75ppm群については白血球百分率、細胞形態を調べた。また瀕死期屠殺動物については尾静脈あるいは大静脈から採血し、白血球百分率及び細胞形態を調べた。

ヘマトクリット値、赤血球数、ヘモグロビン、白血球数、血小板数  
対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	3	15	75	3	15	75
赤血球	26週						90 ↓
	52週						93 ↓
	79週						88 ↓
	105週						
ヘモグロビン	26週						93 ↓
	52週					104 ↑	
	79週						
	105週						
血小板	26週				87 ↓		
	52週						
	79週						
	105週						
好酸球	26週	—	—		—	—	50 ↓
	52週	—	—		—	—	
	79週	—	—		—	—	
	105週	—	—		—	—	

Dunnett 検定 ↓ ↑ : p<0.05

— : 測定せず

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

75ppm群雌の投与26、52及び79週に赤血球数が、投与26週にヘモグロビンが有意に減少し、検体投与に起因する変化と考えられた。その他の統計学的に有意な変化は、程度が小さく、投与量に対応しておらず、また試験期間を通して一定のパターンを示さなかったため、偶発的変化であると考えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

血液生化学的検査；投与 26、52、79 及び 105 週に各群の雌雄 10 匹を対象として、一晚絶食後に眼窩静脈叢から採血し、以下の検査項目について測定した。

カルシウム、無機リン、塩素、ナトリウム、カリウム、血糖、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、尿素窒素、アルブミン、グロブリン、総蛋白、クレアチンキナーゼ、総ビリルビン、総コレステロール、血漿 (PL-CHE)・赤血球 (RBC-CHE)・脳 (BR-CHE) [104 週時のみ] コリンエステラーゼ

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		3	15	75	3	15	75
無機リン	26 週						
	52 週						
	79 週			111 ↑		116 ↑	
	105 週						
総ビリルビン	26 週						
	52 週						
	79 週						
	105 週					50 ↓	
PL-CHE	26 週		(88)	69 ↓		(81)	63 ↓
	52 週		(100)	(74)		73 ↓	60 ↓
	79 週		(94)	58 ↓		71 ↓	60 ↓
	105 週		(112)	(50)		(116)	(75)
RBC-CHE	26 週		73 ↓	27 ↓		64 ↓	36 ↓
	52 週		69 ↓	31 ↓		67 ↓	30 ↓
	79 週		75 ↓	34 ↓		74 ↓	35 ↓
	105 週		(98)	41 ↓		75 ↓	41 ↓
BR-CHE	105 週		(96)	63 ↓		(100)	52 ↓

Dunnett 検定 ↓ ↑ : p<0.05

( ) : 参考値

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

検体投与による変化として、血漿コリンエステラーゼ活性の有意な低下が、75ppm 群雄の投与 26 及び 79 週、雌の投与 26、52 及び 79 週、さらに 15ppm 群雌の投与 52 及び 79 週に認められた。また、赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な低下が、15ppm 群雄の 105 週を除き、15 及び 75ppm 群雌雄の全検査時期に認められた。さらに、脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下が、75ppm 群雌雄の投与 105 週に認められた。その他の項目で認められた統計学的に有意な差は、検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

尿検査；投与 26、52、79 及び 105 週に各群の雌雄 10 匹を対象として、以下の検査項目を測定し、尿沈渣の顕微鏡検査を行なった。

外観、pH、尿量、比重、尿蛋白、尿糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣

75ppm 群雄の投与 105 週に、潜血の発生頻度及びグレードの増加が認められた。しかし、尿沈渣中の赤血球数に対照群と明らかな差は認められなかったことから、毒性的意義はないと考えられた。

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

脳、肝臓、腎臓、精巣（精巣上体を含む）

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡・屠殺動物及び試験終了時の全生存動物を対象として、以下の部位、組織の肉眼的病理検査を行なった。

外表、開口部、頭蓋腔、カーカス、脳の外表面、鼻腔、副鼻腔、胸腔／腹腔／骨盤腔及び各臓器、頸部組織

投与に関連した所見は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び 75ppm 群の試験終了時の全生存動物ならびに途中死亡・屠殺動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製し、鏡検した。また肺、肝臓、腎臓及び肉眼的病変部については、低及び中間用量の全動物でも鏡検した。

肉眼的病変部、心臓、肺、眼球、甲状腺及び上皮小体、胃、脾臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、脳、胸腺、大腿骨、骨髓塗抹、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、唾液腺、坐骨神経、前立腺、脊髄、副腎、肝臓、腎臓、精巣及び精巣上体、精囊、卵巣、脾臓、膀胱、子宮、食道、下垂体、気管、胸部大動脈、子宮、大腿筋、乳腺、皮膚及び膈

主要な非腫瘍性病変を表 1 に、また、全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

いずれの所見も自然発生的または加齢性的変化であり、検体投与に起因するものではなかった<sup>注2</sup>。また、各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数に、検体投与による影響は認められなかった。

注<sup>2</sup>：腎臓の鉍質沈着が、75ppm 群雌の死亡動物で有意に増加したが、生物学的変動による変化であり、検体投与に関連する変化とは考えられなかった。

眼球の角膜炎が、15 及び 75ppm 群雌の全動物で有意な増加が認められたが、低頻度であること、最終屠殺動物では増加していないこと等から、検体の影響とは考えられなかった。

乳腺の腺腫が、75ppm 群雌の最終屠殺及び全動物で有意に増加したが、線維腺腫を含めた発生頻度に対照群との差は認められず、検体の影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

以上のとおり、EPNのラットを用いた104週間反復経口投与毒性/発がん性併合試験における影響として、75ppm群雌雄で、血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性の低下、同群の雌で79週まで赤血球数の減少が認められ、また15ppm群雌で血漿コリンエステラーゼ活性、雌雄で赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。従って、無毒性量は3ppm(雄0.14mg/kg/日、雌0.18mg/kg/日)であると考えられた。また、75ppmの濃度でもEPNに発がん性は認められなかった。

申請者注)本剤は、2003年9月18日に開催された第11回食品安全委員会において審議され、2003年5月7日の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会・残留農薬部会合同部会報告における一日摂取許容量(ADI)の評価結果が妥当であるとの結論が得られている。審議資料として公表されている報告において、本試験の無毒性量は3ppm(0.14mg/kg/日)とされている。

ARFD設定の為の無毒性量に関しては、「農薬の急性参照用量設定における基本的考え方」(平成26年2月14日農薬専門調査会決定)に従い、20%以上の脳ChE活性阻害を根拠とした15ppm(雄0.73mg/kg/日、雌0.91mg/kg/日)が妥当と考える。

表 1-1 主要非腫瘍性病変【死亡・切迫屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		23	24	23	20	26	21	25	29
副腎皮質	検査動物数	23	22	23	19	25	21	25	26
	血管拡張/血栓	5	2	5	1	19	17	21	16
	空胞化	4	3	3	6	4		5	3
	肥大	6	0↓	1	1	2		3	2
肺	検査動物数	23	24	23	20	26	21	25	29
	気管支周囲リンパ球浸潤	18	18	18	13	21	15	21	28
心臓	検査動物数	23	24	23	20	26	21	25	28
	心筋変性	16	15	18	18	14	11	13	10
脾臓	検査動物数	23	23	23	20	25	21	25	25
	色素沈着増加	10	3↓	6	4	14	9	13	8
	髄外造血亢進	7	3	4	6	4	4	4	4
肝臓	検査動物数	23	23	23	20	26	21	25	26
	胆管過形成	7	14	11	7	11	10	13	7
	慢性胆管炎	11	10	11	8	8	7	13	3
	壊死	7	1↓	0↓	6	2	3	1	3
	好酸性細胞巣	2		2	1		1		
	好塩基性細胞巣			3		6	2	4	7
	空胞化細胞巣		2		1	1		1	1
腎臓	検査動物数	23	23	22	20	25	21	25	25
	慢性腎症	19	19	19	18	16	9	19	13
	鉍質沈着	4	7	3	3	12	12	17	21↑
脾臓	検査動物数	22	21	21	20	25	19	25	26
	変性/慢性炎症	4	6	4	3	2	2	3	2
精巣	検査動物数	23	24	23	20	—	—	—	—
	萎縮/変性	9	6	5	8	—	—	—	—
精巣上体	検査動物数	23	24	23	20	—	—	—	—
	異形精子	7	1↓	4	7	—	—	—	—
前立腺	検査動物数	23	24	23	20	—	—	—	—
	急性炎症	6	7	9	8	—	—	—	—
精囊	検査動物数	23	23	23	20	—	—	—	—
	分泌低下	12	9	8	10	—	—	—	—
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	25	19	24	28
	嚢胞	—	—	—	—	2	1	1	2
子宮	検査動物数	—	—	—	—	25	20	25	28
	拡張	—	—	—	—	5	1	2	7
下顎リンパ節	検査動物数	23	24	23	19	26	21	25	28
	形質細胞増多症	8	5	4	7	11	8	11	11
眼球	検査動物数	23	24	23	19	25	20	25	25
	角膜炎	2		3	3			5	5

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ♂ ↓ : p < 0.01  
 空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 1-1 主要非腫瘍性病変【死亡・切迫屠殺】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		23	24	23	20	26	21	25	29
乳腺	検査動物数	15	16	14	8	26	20	22	25
	導管拡張	2		1		11	8	6	12
骨髄	検査動物数	21	20	23	17	23	20	25	28
	骨髄球過形成	12	6	9	12	4	8	9	8
皮膚	検査動物数	15	14	12	9	10	8	8	5
	急性炎症/壊死	12	9	10	8	6	5	5	3
	慢性炎症	6	6	5	4	3		4	4
リンパ節 (その他)	検査動物数	5	2	4	4	2	4	2	3
	形質細胞増多症	3	1	3	1		2	1	3
	リンパ管拡張	1	2	4					1

Fisher の直接確率法 ↑↓ : p < 0.05    ♂♀ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。



表 1-2 主要非腫瘍性病変【最終屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		27	26	27	30	24	29	25	21
副腎皮質	検査動物数	27	2	5	30	24	8	16	21
	血管拡張/血栓		1	2	2	21	5	15	21
	空胞化	13		4	15	7	1	6	12
	肥大	6		2	9	2		4	2
肺	検査動物数	27	26	27	30	24	29	25	21
	気管支周囲リンパ球浸潤	27	25	26	30	23	28	25	21
心臓	検査動物数	27	1	0	30	24	0	0	21
	心筋変性	24	1		28	10			11
脾臓	検査動物数	27	3	1	30	24	2	1	21
	色素沈着増加	6			9	12	1		11
	髓外造血亢進	8		1	10	4		1	3
肝臓	検査動物数	27	26	27	30	24	29	25	21
	胆管過形成	24	21	21	23	12	12	9	8
	慢性胆管炎	23	21	21	22	11	14	8	10
	壊死	5	2	3	4		2	1	2
	好酸性細胞巢	6	3	4	9	3	3	2	1
	好塩基性細胞巢			3	1	15	18	13	13
	空胞化細胞巢	1	2	2	1	4	1	2	4
腎臓	検査動物数	27	26	27	30	24	29	25	21
	慢性腎症	27	25	27	28	20	24	21	18
	鈣質沈着	11	4	11	7	20	20	18	15
膵臓	検査動物数	27	1	1	30	24	0	0	21
	変性/慢性炎症	11			15	4			3
精巣	検査動物数	27	5	6	30	—	—	—	—
	萎縮/変性	5	4↑	5↑	5	—	—	—	—
精巣上体	検査動物数	27	5	6	30	—	—	—	—
	異形精子		2↑	2↑	1	—	—	—	—
前立腺	検査動物数	27	0	0	30	—	—	—	—
	急性炎症	2			1	—	—	—	—
精囊	検査動物数	27	4	2	30	—	—	—	—
	分泌低下		2↑	2↑	4	—	—	—	—
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	24	1	3	21
	嚢胞	—	—	—	—	7	1	2	5
子宮	検査動物数	—	—	—	—	24	8	5	21
	拡張	—	—	—	—	5	6↑	2	4
下顎リンパ節	検査動物数	27	3	2	30	24	2	0	20
	形質細胞増多症	7	3↑	1	8	6	2		8

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ↑↓ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 1-2 主要非腫瘍性病変【最終屠殺】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		27	26	27	30	24	29	25	21
眼球	検査動物数	27	2	1	30	24	4	1	21
	角膜炎	2			1		2		1
乳腺	検査動物数	22	2	2	28	24	16	13	20
	導管拡張		2	1		12	3	8	7
骨髄	検査動物数	25	0	0	29	24	0	0	20
	骨髄球過形成	16			16	3			2
皮膚	検査動物数	21	22	24	27	12	12	12	18
	急性炎症/壊死	17	22	20	24	8	7	5	9
	慢性炎症	6	11	11	11	3	4	4	8
リンパ節 (その他)	検査動物数	4	2	6	4	0	3	0	1
	形質細胞増多症	3	2	3	4		2		1
	リンパ管拡張	3		5	4		2		

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ↑↓ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

表 1-3 主要非腫瘍性病変【全動物】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
副腎皮質	検査動物数	50	24	28	49	49	29	41	47
	血管拡張/血栓	5	3	7	3	40	22	36	37
	空胞化	17	3	7	21	11	1↓	11	15
	肥大	12	0↓	3	10	4		7	4
肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	気管支周囲リンパ球浸潤	45	43	44	43	44	43	46	49
心臓	検査動物数	50	25	23	50	50	21	25	49
	心筋変性	40	16	18	46	24	11	13	21
脾臓	検査動物数	50	26	24	50	49	23	26	46
	色素沈着増加	16	3	6	13	26	10	13	19
	髓外造血亢進	15	3	5	16	8	4	5	7
肝臓	検査動物数	50	49	50	50	50	50	50	47
	胆管過形成	31	35	32	30	23	22	22	15
	慢性胆管炎	34	31	32	30	19	21	21	13
	壊死	12	3	3	10	2	5	2	5
	好酸性細胞巢	8	3	6	10	3	4	2	1
	好塩基性細胞巢			6↑	1	21	20	17	20
腎臓	検査動物数	50	48	49	48	45	45	46	43
	慢性腎症	30	23	30	25	36	29	37	28
	鉍質沈着	7	10	8	7	20	18	23	25
膵臓	検査動物数	49	22	22	50	49	19	25	47
	変性/慢性炎症	15	6	4	18	6	2	3	5
精巣	検査動物数	50	29	29	50	—	—	—	—
	萎縮/変性	14	10	10	13	—	—	—	—
精巣上体	検査動物数	50	29	29	50	—	—	—	—
	異形精子	7	3	6	8	—	—	—	—
前立腺	検査動物数	50	24	23	50	—	—	—	—
	急性炎症	8	7	9	9	—	—	—	—
精囊	検査動物数	50	27	25	50	—	—	—	—
	分泌低下	12	11	10	14	—	—	—	—
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	49	20	27	49
	嚢胞	—	—	—	—	9	2	3	7
子宮	検査動物数	—	—	—	—	49	28	30	49
	拡張	—	—	—	—	10	7	4	11
下顎リンパ節	検査動物数	50	27	25	49	50	23	25	48
	形質細胞増多症	15	8	5	15	17	10	11	19

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ↑↓ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 1-3 主要非腫瘍性病変【全動物】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
眼球	検査動物数	50	26	24	49	49	24	26	46
	角膜炎	4		3	4		2	5 $\uparrow$	6 $\uparrow$
乳腺	検査動物数	37	18	16	36	50	36	35	45
	導管拡張	2	2	2		23	11	14	19
骨髄	検査動物数	46	20	23	46	47	20	25	48
	骨髄球過形成	28	6 $\downarrow$	9	28	7	8 $\uparrow$	9	10
皮膚	検査動物数	36	36	36	36	22	20	20	23
	急性炎症/壊死	29	31	30	32	14	12	10	12
	慢性炎症	12	17	16	15	6	4	8	12
リンパ節 (その他)	検査動物数	9	4	10	8	2	7	2	4
	形質細胞増多症	6	3	6	5		4	1	4
	リンパ管拡張	4	2	9	4		2		1

Fisher の直接確率法  $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.05$   $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.01$   
 空欄は「0」を示す。

表 2-1 腫瘍性病変【死亡・切迫屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		23	24	23	20	26	21	25	29
脳	検査動物数	23	24	23	20	26	21	25	29
	B 良性顆粒細胞腫			1					
	M 悪性顆粒細胞腫		1						
	M 星状膠細胞腫	1	1	2	1		1	1	
下垂体	検査動物数	23	23	23	20	26	21	25	26
	B 腺腫	14	13	11	11	20	17	20	20
	M 癌	2						1	3
副腎皮質	検査動物数	23	22	23	19	25	21	25	26
	B 腺腫	3			1	3	1	2	1
	M 癌						1		
副腎髄質	検査動物数	21	22	23	19	25	21	25	25
	B 良性褐色細胞腫	3	2	2	2	1	1	1	
	M 悪性褐色細胞腫	2				1			2
甲状腺	検査動物数	23	22	22	19	25	21	24	24
	B C細胞腺腫				1			2	1
	M C細胞癌	1							1
	B 濾胞細胞腺腫		1	1	1				
脾臓	検査動物数	23	23	23	20	25	21	25	25
	M 血管肉腫					1			
肝臓	検査動物数	23	23	23	20	26	21	25	26
	M 肝細胞腺癌			1					
	M 血管肉腫							1	
腎臓	検査動物数	23	23	22	20	25	21	25	25
	M 悪性混合腫	1		1					
十二指腸	検査動物数	18	18	17	16	23	17	23	22
	M 平滑筋肉腫						1		
膵臓	検査動物数	22	21	21	20	25	19	25	26
	B 島細胞腺腫	2	1			1			1
	M 島細胞癌	2	1	1					
腸間膜 リンパ節	検査動物数	23	23	23	17	25	19	25	25
	M 血管肉腫	1							
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	25	19	24	28
	M 腺癌	—	—	—	—	1			
	B 良性顆粒膜/莢膜細胞腫	—	—	—	—			1	
子宮	検査動物数	—	—	—	—	25	20	25	28
	B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	1			
	M 子宮内膜肉腫	—	—	—	—		1		1

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ♂ ♀ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

表 2-1 腫瘍性病変【死亡・切迫屠殺】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		23	24	23	20	26	21	25	29
子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	25	21	25	28
	M 扁平上皮癌	—	—	—	—				1
胸腺	検査動物数	21	19	20	14	16	10	13	22
	M 胸腺腫				1				
乳腺	検査動物数	15	16	14	8	26	20	22	25
	M 腺癌					5	2	8	
	B 線維腺腫					9	7	8	4
	B 腺腫								1
皮膚	検査動物数	15	14	12	9	10	8	8	5
	B 良性角化棘細胞腫	2	3	1					
皮下組織	検査動物数	2	3	2	1	1	1	3	1
	B 線維腫	1	1	1	1			1	
	B 脂肪腫	1							
	M 線維肉腫				1		1	1	1
	M 未分化肉腫		1	1					
血液	検査動物数	2	1	0	3	0	1	0	0
	M 悪性リンパ腫(組織球型)	1	1		2		1		
	M 悪性リンパ腫(リンパ球型)				1				
	M 顆粒球性白血病	1							
頭部	検査動物数	2	0	0	0	0	0	1	0
	M 神経線維肉腫	1							
	M 扁平上皮癌							1	
外耳道 皮脂腺	検査動物数	1	0	0	2	0	0	0	0
	M 癌	1			2				
鼻甲介	検査動物数	0	0	2	0	0	1	1	1
	M 横紋筋肉腫						1		

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$     ↑↓ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変【最終屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		27	26	27	30	24	29	25	21
脳	検査動物数	27	3	2	30	24	6	4	21
	B 良性顆粒細胞腫			1	1				
下垂体	検査動物数	27	11	6	30	23	17	14	21
	B 腺腫	11	10 <sup>↑</sup>	6 <sup>↑</sup>	15	22	16	14	18
	M 癌		1						
副腎皮質	検査動物数	27	2	5	30	24	8	16	21
	B 腺腫	1			2	3	2	2	3
副腎髄質	検査動物数	27	2	5	30	24	6	13	21
	B 良性褐色細胞腫	7	1	3	5	1	2	1	1
甲状腺	検査動物数	27	0	1	30	24	0	1	21
	B C細胞腺腫	4			2	2			1
	M C細胞癌				3	1		1	1
	B 濾胞細胞腺腫	4			4				
	M 濾胞細胞腺癌	2				1			
肝臓	検査動物数	27	26	27	30	24	29	25	21
	B 肝細胞腺腫	2			1		1		
	M 肝細胞腺癌	1		1					
腎臓	検査動物数	27	26	27	30	24	29	25	21
	M 悪性混合腫						2		
	B 良性混合腫					1			
膵臓	検査動物数	27	1	1	30	24	0	0	21
	B 島細胞腺腫	2			2	1			2
	M 島細胞癌			1		1			
	B 腺房細胞腺腫					1			
腸間膜 リンパ節	検査動物数	27	1	2	30	24	0	1	21
	M 血管肉腫				1				
精巣	検査動物数	27	5	6	30	—	—	—	—
	B 良性間細胞腫	2	1	2	1	—	—	—	—
	M 中皮腫				1	—	—	—	—
精巣上体	検査動物数	27	5	6	30	—	—	—	—
	M 中皮腫				1	—	—	—	—
精囊	検査動物数	27	4	2	30	—	—	—	—
	M 中皮腫				1	—	—	—	—
膀胱	検査動物数	24	0	1	30	24	0	0	21
	M 中皮腫				1				
子宮	検査動物数	—	—	—	—	24	8	5	21
	B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	1	3	3 <sup>↑</sup>	
子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	24	1	0	21
	B 平滑筋腫	—	—	—	—		1		

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ↑↓ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変【最終屠殺】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		27	26	27	30	24	29	25	21
唾液腺	検査動物数	27	0	0	30	24	0	0	20
	M 悪性筋上皮細胞腫								1
乳腺	検査動物数	22	2	2	28	24	16	13	20
	M 腺癌	1		1		4	1	2	2
	B 線維腺腫					9	10	7	8
	B 腺腫							2	5↑
皮膚	検査動物数	21	22	24	27	12	12	12	18
	B 良性角化棘細胞腫	3	2	1	1		1		
	B 扁平細胞乳頭腫	1		2					
	M 基底細胞癌						1		
その他	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
	B 良性Zuckerkanal腫瘍	1							
皮下組織	検査動物数	3	0	2	1	3	3	4	3
	B 線維腫	1		2		1		1	
	M 線維肉腫							1	
血液	検査動物数	1	1	0	1	0	0	0	0
	M 悪性リンパ腫 (組織球型)				1				
	M 悪性リンパ腫 (リンパ球型)	1	1						
腹腔	検査動物数	1		1	4	1	2	2	2
	M 中皮腫				1				
胸腔	検査動物数	0	1	0	2	0	0	0	0
	M 中皮腫				1				
外耳道 皮脂腺	検査動物数	0	0	2	0	0	0	0	0
	M 癌			1					

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ↑↓ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
脳	検査動物数	50	27	25	50	50	27	29	50
	B 良性顆粒細胞腫			2	1				
	M 悪性顆粒細胞腫		1						
	M 星状膠細胞腫	1	1	2	1		1	1	
下垂体	検査動物数	50	34	29	50	49	38	39	47
	B 腺腫	25	23	17	26	42	33	34	38
	M 癌	2	1					1	3
副腎皮質	検査動物数	50	24	28	49	49	29	41	47
	B 腺腫	4			3	6	3	4	4
	M 癌						1		
副腎髄質	検査動物数	48	24	28	49	49	27	38	46
	B 良性褐色細胞腫	10	3	5	7	2	3	2	1
	M 悪性褐色細胞腫	2				1			2
甲状腺	検査動物数	50	22	23	49	49	21	25	45
	B C細胞腺腫	4			3	2		2	2
	M C細胞癌	1			3	1		1	2
	B 濾胞細胞腺腫	4	1	1	5				
	M 濾胞細胞腺癌	2		1	1	1			
脾臓	検査動物数	50	26	24	50	49	23	26	46
	M 血管肉腫					1			
肝臓	検査動物数	50	49	50	50	50	50	50	47
	B 肝細胞腺腫	2			1		1		
	M 肝細胞腺癌	1		2					
	M 血管肉腫							1	
腎臓	検査動物数	50	49	49	50	49	50	50	46
	M 悪性混合腫	1		1			2		
	B 良性混合腫					1			
十二指腸	検査動物数	45	18	17	46	46	17	23	43
	M 平滑筋肉腫						1		
膵臓	検査動物数	49	22	22	50	49	19	25	47
	B 島細胞腺腫	4	1		2	2			3
	M 島細胞癌	2	1	2		1			
	B 腺房細胞腺腫					1			
腸間膜 リンパ節	検査動物数	50	24	25	47	49	19	26	46
	M 血管肉腫	1			1				
精巣	検査動物数	50	29	29	50	—	—	—	—
	B 良性間細胞腫	2	1	2	1	—	—	—	—
	M 中皮腫				1	—	—	—	—

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ↑↓ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
精巣上体	検査動物数	50	29	29	50	—	—	—	—
	M 中皮腫				1	—	—	—	—
精囊	検査動物数	50	27	25	50	—	—	—	—
	M 中皮腫				1	—	—	—	—
膀胱	検査動物数	47	23	24	50	48	20	25	47
	M 中皮腫				1				
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	49	20	27	49
	M 腺癌	—	—	—	—	1			
	B 良性顆粒膜/莢膜細胞腫	—	—	—	—			1	
子宮	検査動物数	—	—	—	—	49	28	30	49
	B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	2	3	3	
	M 子宮内膜肉腫	—	—	—	—		1		1
子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	49	22	25	49
	B 平滑筋腫	—	—	—	—		1		
	M 扁平上皮癌	—	—	—	—				1
唾液腺	検査動物数	50	24	23	49	50	21	25	48
	M 悪性筋上皮細胞腫								1
胸腺	検査動物数	41	20	20	35	36	10	13	35
	M 胸腺腫				1				
乳腺	検査動物数	37	18	16	36	50	36	35	45
	M 腺癌	1		1		9	3	10	2
	B 線維腺腫					18	17	15	12
	B 腺腫							2	6↑
皮膚	検査動物数	36	36	36	36	22	20	20	23
	B 良性角化棘細胞腫	5	5	2	1		1		
	B 扁平細胞乳頭腫	1		2					
	M 基底細胞癌						1		
その他	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
	B 良性Zuckerkanal腫瘍	1							
皮下組織	検査動物数	5	3	4	2	4	4	7	4
	B 線維腫	2	1	3	1	1		2	
	B 脂肪腫	1							
	M 線維肉腫				1		1	2	1
	M 未分化肉腫		1	1					
血液	検査動物数	3	2	0	4	0	1	0	0
	M 悪性リンパ腫 (組織球型)	1	1		3		1		
	M 悪性リンパ腫 (リンパ球型)	1	1		1				
	M 顆粒球性白血病	1							

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ↑↓ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	3	15	75	0	3	15	75
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
腹腔	検査動物数	3	0	1	8	2	5	2	5
	M 中皮腫				1				
胸腔	検査動物数	1	1	0	2	0	1	0	0
	M 中皮腫				1				
頭部	検査動物数	2	0	1	0	0	0	1	0
	M 神経線維肉腫	1							
	M 扁平上皮癌							1	
外耳道 皮脂腺	検査動物数	1	0	2	2	0	0	0	0
	M 癌	1		1	2				
鼻甲介	検査動物数	0	0	2	0	0	1	1	1
	M 横紋筋肉腫						1		
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良 性	65	35	32	50	77	62	65	66
	悪 性	19	7	11	20	15	13	17	13
腫瘍総数		84	42	43	70	92	75	82	79
腫瘍動物数		44	32	36	40	47	44	43	45

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ♂ ♀ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

③ マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料No. V-2)

試験機関 : Hazleton Laboratories America, Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1988 年

検体の純度 : %

供試動物 : ICR(Cr1:CD-1 BR)系マウス、1群雌雄各 50 匹、開始時約 6 週齢

開始時体重範囲 : 雄 25.1-31.1g 雌 20.3-24.4g

投与期間 : 78 週間 (1985 年 12 月 12 日-1987 年 6 月 18 日)

投与方法 : 検体を 0、5、25 及び 125ppm の濃度で飼料に混入し、78 週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週 1 回調製した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態を 1 日 1 回、生死を 1 日 2 回観察した。また、触診を週 2 回実施した。

脱毛、糜爛、流涙等が対照群を含む全群にみられたが、いずれも自然発生的で、検体投与に関連する変化ではなかった。

検体投与終了時の生存率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	5	25	125
生存率 (%)	雄	64	73	56	56
	雌	76	72	60	61

検体投与による生存率への影響は認められなかった。

体重変化 ; 投与開始前、投与 1-14 週まで週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回、全生存動物の体重を測定した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

摂餌量 ; 体重測定と同じ日に全生存動物の摂餌量を測定した。

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

検体摂取量 ; 摂餌量及び飼料中検体濃度から 1 日あたりの平均検体摂取量を算出し、結果を下表に示した。

投与量 (ppm)		5	25	125
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.8	3.9	19.6
	雌	1.0	4.8	24.9

注) 申請者が報告書の表 6 より計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

血液学的検査;投与 53 及び 79 週に各群から選抜した雌雄 10 匹ならびに瀕死状態のため切迫殺した動物を対象として、一晚絶食後に尾静脈から採血し、白血球百分比及び細胞形態を調べた。

検体投与に起因する変化は認められなかった。

血液生化学的検査;投与 53 及び 79 週に各群雌雄 10 匹を対象として眼窩静脈叢から採血し、赤血球 (RBC-CHE)、血漿 (PL-CHE) 及び脳 (BR-CHE) [投与 79 週時のみ] コリンエステラーゼ活性を測定した。

対照群と比較して、統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	5	25	125	5	25	125
PL-CHE	53 週		54 ↓	38 ↓		72 ↓	41 ↓
	79 週		74 ↓	41 ↓		65 ↓	38 ↓
RBC-CHE	53 週		(84)	59 ↓		(79)	53 ↓
	79 週		75 ↓	53 ↓		(87)	49 ↓
BR-CHE	79 週		(100)	70 ↓		(101)	83 ↓

Dunnett 検定 ↓↑:  $p < 0.05$

( ): 参考値

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。

25 及び 125ppm 群の雌雄で投与 53 及び 79 週に血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性が低下した。これらの低下は 25ppm 群の投与 53 週時雌雄及び 79 週時雌の赤血球コリンエステラーゼ活性の変化を除き、全て有意であった。また 125ppm 群雌雄では、脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下が認められた。

臓器重量 ; 試験終了時に各群雌雄 10 匹を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、肝臓、胆嚢、腎臓、精巣 (精巣上体を含む)

対照群と比較して有意な差は認められなかった。

肉眼的病理検査;途中死亡・屠殺動物及び試験終了時の全生存動物を対象として、以下の部位、組織の肉眼的病理検査を行なった。

外表、開口部、頭蓋腔、カーカス、脳の外表面、鼻腔、副鼻腔、胸腔/腹腔  
/骨盤腔及び各臓器、頸部組織

腎嚢胞、腸間膜リンパ節腫大、膠状皮下組織、脾腫大、卵巣嚢胞、子宮嚢胞等が全群で数例にみられたが、いずれも検体投与に関係のない、自然発生的な変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

病理組織学的検査；対照群及び125ppm群の試験終了時の全生存動物ならびに途中死亡・屠殺動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製し、鏡検した。また肺、肝臓、腎臓及び肉眼的病変部については、低及び中間用量の全動物でも鏡検した。

肉眼的病変部、心臓、肺、眼球、甲状腺及び上皮小体、胃、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、脳、胸腺、大腿骨、骨髓塗抹、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、唾液腺、坐骨神経、前立腺、脊髄、副腎、肝臓、腎臓、精巣及び精巣上体、精嚢、胆嚢、卵巣、脾臓、膀胱、子宮、食道、下垂体、気管、胸部大動脈、子宮、大腿筋、乳腺、皮膚及び腭

主要な非腫瘍性病変を表1に、また、全ての腫瘍性病変を表2に示す。

いずれの所見も自然発生的または加齢性の変化であり、投与に起因するものではなかった<sup>#</sup>。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は表2のとおりであり、検体投与による影響はなかった。

以上の通り、EPNのマウスを用いた78週間飼料混入投与による発がん性試験における影響として、125ppm群雌雄で、血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下が認められ、さらに25ppm群雄で赤血球コリンエステラーゼ活性の、雌雄で血漿コリンエステラーゼ活性の有意な低下が認められた。従って、無影響量は5-25ppm(雄0.8-3.9mg/kg/日、雌1.0-4.8mg/kg/日)、無毒性量は雄5ppm(0.8mg/kg/日)、雌25ppm(4.8mg/kg/日)であると考えられた。

また、125ppmの濃度でもEPNに発癌性は認められなかった。

申請者注)本剤は、2003年9月18日に開催された第11回食品安全委員会において審議され、2003年5月7日の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会・残留農薬部会合同部会報告における一日摂取許容量(ADI)の評価結果が妥当であるとの結論が得られている。審議資料として公表されている報告において、本試験の無毒性量は5ppm(0.8mg/kg/日)とされている。

ARfD設定の為の無毒性量に関しては、「農薬の急性参照用量設定における基本的考え方」(平成26年2月14日農薬専門調査会決定)に従い、20%以上の脳ChE活性阻害を根拠とした25ppm(雄3.9mg/kg/日、雌4.8mg/kg/日)が妥当と考える。

<sup>#</sup> : 125ppm群雄の最終屠殺及び全動物で、精巣の精細管萎縮及びアミロイド沈着の発生頻度が有意に減少したが、毒性学的意義のある変化とは考えられなかった。

表 1-1 主要非腫瘍性病変【死亡・切迫屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		24	15	23	23	14	15	23	23
副腎皮質	検査動物数	21	15	21	23	14	15	23	23
	アミロイド沈着	15	11	19	21	9	12	12	16
	被膜下細胞過形成	12	5	7	12	10	14	20	19
	色素沈着	3	7	8	6	8	10	15	14
甲状腺	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	アミロイド沈着	17	12	21	20	11	12	16	16
上皮小体	検査動物数	19	13	17	19	10	12	21	23
	アミロイド沈着	7	2	6	3	3	6	4	5
肺	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	間質性肺炎	5	3	6	8	4	4	2	5
	出血	2	2	2	5		2	4	5
心臓	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	アミロイド沈着	14	11	14	16	9	11	8	10
	動脈炎/弁膜炎	5	6	4	9	1	6	2	3
脾臓	検査動物数	23	15	23	22	14	15	23	22
	アミロイド沈着	10	3	10	14	8	11	10	10
	髄外造血亢進	7	2	4	4	6	4	5	6
肝臓	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	亜急性炎症	18	15	23↑	22	11	13	16	17
	アミロイド沈着	16	12	20	20	9	11	14	16
	肝細胞肥大	21	14	23	22	11	12	18	15
	脂肪変性	1	1		2		2		
	色素沈着増加	1	1	1	3	2			2
腎臓	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	アミロイド沈着	17	12	21	21	10	12	17	18
	腎症	20	14	23	23	11	12	15	19
	単核細胞浸潤	20	15	22	22	11	13	20	21
	尿細管色素沈着	5	4	6	2	3	1	2	3
	嚢胞	3	1	6	2				1
腺胃	検査動物数	23	14	23	22	14	15	22	23
	亜急性炎症	12	7	16	12	8	8	16	14
	アミロイド沈着	15	3	9	19	5	9	14	7
前胃	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	アミロイド沈着	17	9	19	13	5	8	8	7
十二指腸	検査動物数	21	13	19	21	13	14	21	21
	アミロイド沈着	12	10	16	16	8	10	15	16
空腸	検査動物数	20	13	20	20	10	15	21	20
	アミロイド沈着	13	11	17	17	7	12	15	15

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ⇕ : p < 0.01  
 空欄は「0」を示す。

表 1-1 主要非腫瘍性病変【死亡・切迫屠殺】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		24	15	23	23	14	15	23	23
回腸	検査動物数	23	13	23	21	12	15	23	22
	アミロイド沈着	17	11	20	18	10	12	19	17
腸間膜 リンパ節	検査動物数	23	13	21	21	14	15	22	23
	うっ血	6	2	4	9	7	4	8	3
	アミロイド沈着	11	8	14	13	7	9	12	14
	髓外造血	2		2	3	3	1	5	2
精巣	検査動物数	23	15	23	23	—	—	—	—
	精細管萎縮(両側性)	11	8	14	7	—	—	—	—
	アミロイド沈着	14	10	16	13	—	—	—	—
精囊	検査動物数	23	15	22	22	—	—	—	—
	分泌増加	5	4	6	5	—	—	—	—
膀胱	検査動物数	23	15	22	23	14	15	23	22
	単核細胞浸潤	6	5	2	4	4	5	10	5
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	14	14	23	23
	嚢胞	—	—	—	—	4	4	7	8
	アミロイド沈着	—	—	—	—	8	10	14	11
	出血嚢胞	—	—	—	—	5	6	6	7
子宮	検査動物数	—	—	—	—	14	15	23	23
	子宮内膜嚢胞状過形成	—	—	—	—	10	8	15	15
唾液腺	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	単核細胞浸潤	8	3	10	4	6	5	4	5
胸腺	検査動物数	12	9	13	12	8	11	19	19
	細網細胞過形成					1		1	1
骨髓	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	骨髓球過形成	7	1	5	4	1		5	2

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ⇕ : p < 0.01  
 空欄は「0」を示す。



表 1-2 主要非腫瘍性病変【最終屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		26	35	27	27	36	35	27	27
副腎皮質	検査動物数	25	0	0	25	36	0	0	27
	アミロイド沈着	12			3↓	9			8
	被膜下細胞過形成	9			11	33			24
	色素沈着	12			10	24			20
甲状腺	検査動物数	26	0	0	27	36	0	0	27
	アミロイド沈着	10			5	15			9
上皮小体	検査動物数	20	0	0	23	29	0	0	20
	アミロイド沈着	3			1	8			3
肺	検査動物数	26	35	27	27	36	35	27	27
	間質性肺炎	1				2	3		
	出血					1	1	1	
心臓	検査動物数	26	0	0	27	36	0	0	27
	アミロイド沈着	11			3	15			10
	動脈炎/弁膜炎	6			1	2			3
脾臓	検査動物数	25	5	4	27	36	7	12	27
	アミロイド沈着	8	2	2	2	8	4	4	6
	髄外造血亢進	5	2	1	7	7	3	4	1
肝臓	検査動物数	26	35	27	27	36	35	27	27
	亜急性炎症	26	31	26	27	34	35	26	26
	アミロイド沈着	12	13	7	4	10	17	7	8
	肝細胞肥大	19	32	23	22	22	16	18	15
	脂肪変性	8	5	8	6	5	3		3
	色素沈着増加		2	1	1	7	1	0↓	3
	壊死	8	14	5	5	16	28↑	12	12
腎臓	検査動物数	26	35	27	27	36	35	27	27
	アミロイド沈着	14	14	7	9	18	21	10	13
	腎症	25	35	27	26	29	35↑	24	25
	単核細胞浸潤	25	35	27	26	34	35	26	26
	尿細管色素沈着	3	2	1	2	4	2	3	1
	嚢胞	4	12	4	9	4	5	4	1
腺胃	検査動物数	26	1	1	27	36	0	1	27
	亜急性炎症	24			25	30		1	22
	アミロイド沈着	4				12			8
前胃	検査動物数	26	0	1	27	36	0	0	27
	アミロイド沈着	11			7	8			4
十二指腸	検査動物数	26	0	0	27	36	0	0	27
	アミロイド沈着	12			4	14			10
空腸	検査動物数	25	0	0	27	35	0	0	27
	アミロイド沈着	11			6	17			11

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ↑↓ : p < 0.01  
空欄は「0」を示す。

表 1-2 主要非腫瘍性病変【最終屠殺】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		26	35	27	27	36	35	27	27
回腸	検査動物数	25	1	0	27	36	0	0	27
	アミロイド沈着	12	1		10	22			13
腸間膜 リンパ節	検査動物数	24	11	7	25	35	16	12	27
	うっ血	4	7	6	6	15	9	8	12
	アミロイド沈着	4	3	1	2	11	7	3	7
	髄外造血	3	4	4	8	17	7	6	7
精巣	検査動物数	26	2	1	27	—	—	—	—
	精細管萎縮(両側性)	15	2		2♁	—	—	—	—
	アミロイド沈着	12			3♁	—	—	—	—
精嚢	検査動物数	26	4	7	27	—	—	—	—
	分泌増加	7	4↑	5	6	—	—	—	—
膀胱	検査動物数	26	0	1	27	35	0	0	27
	単核細胞浸潤	8		1	8	12			9
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	36	20	16	26
	嚢胞	—	—	—	—	22	16	13	17
	アミロイド沈着	—	—	—	—	12	13↑	4	8
	出血嚢胞	—	—	—	—	1	2	2	
子宮	検査動物数	—	—	—	—	36	28	22	27
	子宮内膜嚢胞状過形成	—	—	—	—	33	28	22	23
唾液腺	検査動物数	26	0	0	26	36	0	0	27
	単核細胞浸潤	10			16	15			7
胸腺	検査動物数	17	0	0	17	28	1	0	22
	細網細胞過形成					10	1		5
骨髓	検査動物数	26	0	0	27	36	0	0	27
	骨髓球過形成				4	2			1

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05 ♀♂ : p < 0.01  
空欄は「0」を示す。

表 1-3 主要非腫瘍性病変【全動物】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
副腎皮質	検査動物数	46	15	21	48	50	15	23	50
	アミロイド沈着	27	11	19↑	24	18	12	12	24
	被膜下細胞過形成	21	5	7	23	43	14	20	43
	色素沈着	15	7	8	16	32	10	15	34
甲状腺	検査動物数	49	15	23	50	50	15	23	50
	アミロイド沈着	27	12	21♁	25	26	12	16	25
上皮小体	検査動物数	39	13	17	42	39	12	21	43
	アミロイド沈着	10	2	6	4	11	6	4	8
肺	検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50
	間質性肺炎	6	3	6	8	6	7	2	5
	出血	2	2	2	5	1	3	5	5
心臓	検査動物数	49	15	23	50	50	15	23	50
	アミロイド沈着	25	11	14	19	24	11	8	20
	動脈炎/弁膜炎	11	6	4	10	3	6	2	6
脾臓	検査動物数	48	20	27	49	50	22	35	49
	アミロイド沈着	18	5	12	16	16	15♁	14	16
	髄外造血亢進	12	4	5	11	13	7	9	7
肝臓	検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50
	亜急性炎症	44	46	49	49	45	48	42	43
	アミロイド沈着	28	25	27	24	19	28	21	24
	肝細胞肥大	40	46	46	44	33	28	36	30
	脂肪変性	9	6	8	8	5	5		3
	色素沈着増加	1	3	2	4	9	1↓	0♁	5
	壊死	12	18	14	10	23	29	16	18
腎臓	検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50
	アミロイド沈着	31	26	28	30	28	33	27	31
	腎症	45	49	50	49	40	47	39	44
	単核細胞浸潤	45	50	49	48	45	48	46	47
	尿細管色素沈着	8	6	7	4	7	3	5	4
	嚢胞	7	13	10	11	4	5	4	2
腺胃	検査動物数	49	15	24	49	50	15	23	50
	亜急性炎症	36	7	16	37	38	8	17	36
	アミロイド沈着	19	3	9	19	17	9	14	15
前胃	検査動物数	49	15	24	50	50	15	23	50
	アミロイド沈着	28	9	19	20	13	8	8	11
十二指腸	検査動物数	47	13	19	48	49	14	21	48
	アミロイド沈着	24	10	16↑	20	22	10	15	26
空腸	検査動物数	45	13	20	47	45	15	21	47
	アミロイド沈着	24	11	17↑	23	24	12	15	26

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05 ♁♁ : p < 0.01  
 空欄は「0」を示す。

表 1-3 主要非腫瘍性病変【全動物】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
回腸	検査動物数	48	14	23	48	48	15	23	49
	アミロイド沈着	29	12	20↑	28	32	12	19	30
腸間膜 リンパ節	検査動物数	47	24	28	46	49	31	34	50
	うっ血	10	9	10	15	22	13	16	15
	アミロイド沈着	15	11	15	15	18	16	15	21
	髓外造血	5	4	6	11	20	8	11	9↓
精巣	検査動物数	49	17	24	50	—	—	—	—
	精細管萎縮(両側性)	26	10	14	9♁	—	—	—	—
	アミロイド沈着	26	10	16	16↓	—	—	—	—
精嚢	検査動物数	49	19	29	49	—	—	—	—
	分泌増加	12	8	11	11	—	—	—	—
膀胱	検査動物数	49	15	23	50	49	15	23	49
	単核細胞浸潤	14	5	3	12	16	5	10	14
卵巣	検査動物数	—	—	—	—	50	34	39	49
	嚢胞	—	—	—	—	26	20	20	25
	アミロイド沈着	—	—	—	—	20	23	18	19
	出血嚢胞	—	—	—	—	6	8	8	7
子宮	検査動物数	—	—	—	—	50	43	45	50
	子宮内膜嚢胞状過形成	—	—	—	—	43	36	37	38
唾液腺	検査動物数	49	15	23	49	50	15	23	50
	単核細胞浸潤	18	3	10	20	21	5	4	12
胸腺	検査動物数	29	9	13	29	36	12	19	41
	細網細胞過形成					11	1	1	6
骨髄	検査動物数	49	15	23	50	50	15	23	50
	骨髄球過形成	7	1	5	8	3		5	3

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05 ♁♂ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。

表 2-1 腫瘍性病変【死亡・切迫屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		24	15	23	23	14	15	23	23
下垂体	検査動物数	20	15	23	22	13	15	23	21
	B 腺腫					2	1	1	
副腎皮質	検査動物数	21	15	21	23	14	15	23	23
	B 腺腫		1						
甲状腺	検査動物数	23	25	23	23	14	15	23	23
	B C細胞腺腫							1	
肺	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	B 細気管支/肺胞腺腫	1	2	2	3	2	2	2	3
	M 細気管支/肺胞癌	1		1					
	B 細気管支/肺胞腺腫 (多発性)				1				
脾臓	検査動物数	23	15	23	22	14	15	23	22
	M 血管肉腫	2		1	1		1		1
肝臓	検査動物数	23	15	23	23	14	15	23	23
	B 肝細胞腺腫	1			2	1			
	M 血管肉腫			1					1
	M 肝細胞癌					1			
精巣	検査動物数	23	15	23	23	—	—	—	—
	B 良性間細胞腫			1		—	—	—	—
子宮	検査動物数	—	—	—	—	14	15	23	23
	B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—		1	1	
	B 平滑筋腫	—	—	—	—		1		1
膣	検査動物数	—	—	—	—	14	15	23	22
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—			1	
乳腺	検査動物数	9	4	8	13	12	15	23	17
	M 癌					1		1	
腹腔	検査動物数	0	0	0	1	1	1	2	0
	B 骨腫								
血液	検査動物数	0	0	0	0	1	2	3	2
	M 悪性リンパ腫(リンパ球性)						1	1	
	M 悪性リンパ腫(混合型)								1
	M 悪性リンパ腫(未分化型)					1	1	1	1
リンパ節 (その他)	検査動物数	1	0	1	3	1	2	4	2
	M 血管肉腫				1				
皮下組織	検査動物数	7	6	6	6	3	3	5	6
	M 骨肉腫		1						

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ♂ ♀ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

表 2-2 腫瘍性病変【最終屠殺】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		26	35	27	27	36	35	27	27
皮下組織	検査動物数	7	6	6	6	3	3	5	6
	M 骨肉腫		1						
ハーダー腺	検査動物数	2	0	0	1	0	0	0	0
	B 腺腫	2			1				
下垂体	検査動物数	26	0	0	27	35	1	0	25
	B 腺腫					1			3
甲状腺	検査動物数	26	0	0	27	36	0	0	27
	M C細胞癌				1				
肺	検査動物数	26	35	27	27	36	35	27	27
	B 細気管支/肺胞腺腫	4	4	2	4	1		3	1
	M 細気管支/肺胞癌	1	3	1				1	1
	B 細気管支/肺胞腺腫(多発性)				1				1
脾臓	検査動物数	25	5	4	27	36	7	12	27
	M 血管肉腫			2					
肝臓 <small>注1)</small>	検査動物数	26	35	27	27	36	35	27	27
	B 血管腫	1							
	B 肝細胞腺腫	2	1	2	7		1		
	M 血管肉腫		1	1					
	M 肝細胞癌		1	1					
	B 肝細胞腺腫(多発性)	1							1
腎臓	検査動物数	26	35	27	27	36	35	27	27
	B 線維腫							1	
精巣上体	検査動物数	26	1	0	27	—	—	—	—
	M 平滑筋肉腫	1				—	—	—	—
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	36	20	16	26
	B 黄体腫	—	—	—	—	1		1	
	B 良性顆粒膜/莢膜細胞腫	—	—	—	—			1	
子宮	検査動物数	—	—	—	—	36	28	22	27
	B 子宮内膜間質ポリープ <small>注2)</small>	—	—	—	—	2		2	5
	B 平滑筋腫	—	—	—	—				1
	M 血管肉腫	—	—	—	—		1	1	
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—			1	
子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	36	2	1	27
	B 平滑筋腫	—	—	—	—	1			
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—			1	
	B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—		1		

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ♂ ♀ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

注 1) : 論理的有病率検定。対照群と 125ppm 群を比較した。

注 2) : 論理的有病率検定。雌全群を比較した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変【最終屠殺】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		26	35	27	27	36	35	27	27
乳腺	検査動物数	13	0	0	13	36	0	0	27
	M 癌					1			1
皮膚	検査動物数	3	13	4	8	2	4	5	2
	B 血管腫					1			
腹腔	検査動物数	1	1	0	0	1	1	0	0
	B 骨腫						1		
血液	検査動物数	2	0	0	1	2	1	4	1
	M 悪性リンパ腫(リンパ球性)	2			1			3	
	M 悪性リンパ腫(混合型)					1	1	1	1
	M 悪性リンパ腫(未分化型)					1			
皮下組織	検査動物数	0	1	0	0	1	0	1	1
	M 粘液肉腫							1	

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ♂ ♀ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
下垂体	検査動物数	46	15	23	49	48	16	23	46
	B 腺腫					3	1	1	3
副腎皮質	検査動物数	46	15	21	48	50	15	23	50
	B 腺腫		1						
甲状腺	検査動物数	49	25	23	50	50	15	23	50
	B C細胞腺腫							1	
	M C細胞癌				1				
肺	検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50
	B 細気管支/肺胞腺腫	5	6	4	7	3	2	5	4
	M 細気管支/肺胞癌	2	3	2				1	1
	B 細気管支/肺胞腺腫(多発性)				2				1
	M 細気管支/肺胞癌(多発性)		1						
脾臓	検査動物数	48	20	27	49	50	22	35	49
	M 血管肉腫	2		3	1		1		1
肝臓	検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50
	B 血管腫	1							
	B 肝細胞腺腫	3	1	2	9	1	1		
	M 血管肉腫		1	2					1
	M 肝細胞癌		1	1		1			
	M 血管肉腫(多発性)				1				
	B 肝細胞腺腫(多発性)	1							1
腎臓	検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50
	B 線維腫							1	
精巣	検査動物数	49	17	24	50	—	—	—	—
	B 良性間細胞腫			1		—	—	—	—
精巣上体	検査動物数	49	16	23	50	—	—	—	—
	M 平滑筋肉腫	1				—	—	—	—
卵巢	検査動物数	—	—	—	—	50	34	39	49
	B 黄体腫	—	—	—	—	1		1	
	B 良性顆粒膜/莢膜細胞腫	—	—	—	—			1	
子宮	検査動物数	—	—	—	—	50	43	45	50
	B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	2	1	3	5
	B 平滑筋腫	—	—	—	—		1		2
	M 血管肉腫	—	—	—	—		1	1	
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—			1	
	M 子宮内膜間質肉腫	—	—	—	—			1	

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ :  $p < 0.05$  ↑↓ :  $p < 0.01$

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性



表 2-3 腫瘍性病変【全動物】—続き—

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	5	25	125	0	5	25	125
検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	50	17	24	50
	B 平滑筋腫	—	—	—	—	1			
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—			1	
	B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—		1		
膣	検査動物数	—	—	—	—	50	15	23	49
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—			1	
乳腺	検査動物数	22	4	8	26	48	15	23	44
	M 癌					2		1	1
皮膚	検査動物数	7	16	5	12	4	5	10	3
	B 血管腫					1			
腹腔	検査動物数	1	1	0	1	2	2	2	0
	B 骨腫						1		
血液	検査動物数	2	0	0	1	3	3	7	3
	M 悪性リンパ腫(リンパ球性)	2			1		1	4	
	M 悪性リンパ腫(混合型)					1	1	1	2
	M 悪性リンパ腫(未分化型)					2	1	1	1
リンパ節 (その他)	検査動物数	1	0	2	3	2	3	5	3
	M 血管肉腫				1				
皮下組織	検査動物数	7	7	6	6	4	3	6	7
	M 骨肉腫		1						
	M 粘液肉腫							1	
ハーダー腺	検査動物数	2	0	0	1	0	0	0	0
	B 腺腫	2			1				
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良 性	12	8	7	19	12	8	13	16
	悪 性	7	7	9	5	6	5	14	7
腫瘍総数		19	15	16	24	18	13	27	23
腫瘍動物数		15	13	12	19	17	11	19	18

Fisher の直接確率法 ↑ ↓ : p < 0.05    ♂ ♀ : p < 0.01

空欄は「0」を示す。

B: 良性 M: 悪性