

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.6 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

8.6.1 MCPA のラットにおける 3 世代繁殖性試験 (資料 No.T-4.1)

試験機関

報告書作成年 1977 年

検体純度：

試験動物： CD 系ラット、1 群の動物数雄：生育期 10 匹、繁殖期 8 匹、雌：生育期 20 匹、繁殖期 16 匹

投与期間： F₀ 世代；投与開始から F_{1b} 児離乳までの 22～30 週間
F₁ 世代；投与開始から F_{2b} 児離乳までの 22～30 週間
F₂ 世代；投与開始から F_{3b} 児離乳までの 22～30 週間
(試験期間：1974 年 12 月～1976 年 9 月)

投与方法： MCP 酸を 0、50、200 又は 1000 ppm 含有する粉末飼料を自由に摂食させた。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡：全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。雌については受胎能力、妊娠期間及び授乳行動を観察した。

体重： 親動物；各世代生育期の 10 週間まで週 1 回、妊娠確定時 (ほぼ妊娠 15 日)、分娩時、分娩後 1、4、12 及び 21 日ならびに離乳後 7 日に測定した。
児動物；哺育 0、1、4、12 及び 21 日に測定した。

摂餌量、摂餌効率及び検体摂取量：交配前 (生育期)10 週間にわたって週 1 回測定した。

交配及び妊娠の確認：親動物への投与開始後 11 週になった時点で交配を開始した。雌雄 1 対 1 で同居させ、交尾の有無を毎日確認した。受胎の確認又は交配回数が 6 回 (6 性周期) に達するまで、雄動物を変更して交配を続けた。【申請者注：交尾の確認法については報告書の記載がないが、膣栓の確認によると思われる。同じく本文中に記載はないが、データからは交配確認日を妊娠 0 日と定義したことが明らかである。】各世代の第 1 同産群は生後 21 日で離乳させて屠殺後廃棄した。雌親は第 2 同産群を得るために再度交配させたが、第 1 回交配で妊娠に至らなかった雌は再交配させなかった。各群の第 2 同産群からは雄 10 匹と雌 20 匹を無作為に選んで次の世代の親動物とした。

剖検： 親動物；試験期間中の死亡動物及び第 2 回同産群離乳後の各群雌雄各 8 匹について肉眼的病理検査を実施し、脳、生殖腺、心臓、腎臓、肝臓及び脾臓の重量を測定した。
児動物；F_{3b} 離乳児の各群雌雄各 10 匹について、肉眼病理学的検査を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

病理組織学的検査：親動物については剖検した 0 及び 1000 ppm 投与群の雌雄から各 5 匹、
児動物については剖検した F_{3b} 離乳児の 0 及び 1000 ppm 投与群の雌雄各 8~10
匹について、以下の組織の病理組織学的検査を実施した。

副腎、骨及び骨髄、脳、盲腸、結腸、食道、心臓、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、
卵巣、すい臓、上皮小体、坐骨神経、下垂体、前立腺、唾液腺、脾臓、胃、精巣、
甲状腺、気管、膀胱、子宮及び肉眼的新生物

繁殖性に関する指数：交配、妊娠及び分娩時の観察に基づき、以下の指標を算出した。

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾数}^1}{\text{要した性周期数}} \times 100$$

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾数}} \times 100$$

$$\text{雄の受胎率} = \frac{\text{雌を妊娠させた雄の数}}{\text{繁殖能力のある未妊娠雌と同居した雄の数}} \times 100$$

$$\text{雌の受胎率} = \frac{\text{妊娠した雌の数}}{\text{繁殖能力のある雄と同居した雌の数}} \times 100$$

$$\text{出産率} = \frac{\text{出産動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

1)：性周期当りの交尾数を 1 とした。1 性周期は 5 日間。

産児数及び外部異常：出生時の産児数、死産児数、喰殺児数、出生児数及び哺育 1、4、12
及び 21 日の児数を調べた。また離乳時に各児動物の外部異常検査を実施した。

生存指数：生存指数を以下の定義によって求めた。

$$\text{生存出生率} = \frac{\text{生存出生児数}}{\text{全出産児数}} \times 100$$

$$\text{1 日生存率} = \frac{\text{授乳 1 日生存児数}}{\text{生存出生児数}} \times 100$$

$$\text{4 日生存率} = \frac{\text{授乳 4 日生存児数}}{\text{生存出生児数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

$$12 \text{ 日生存率} = \frac{\text{授乳 12 日生存児数}}{\text{授乳 4 日に残した児数}} \times 100$$

$$21 \text{ 日生存率} = \frac{\text{授乳 21 日生存児数}}{\text{授乳 4 日に残した児数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 1-1 試験手順

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
F ₀	生育(10週)	雄 10/群、雌 20/群	一般症状、生死について毎日観察 体重及び摂餌量を週 1 回測定(生育期間のみ)
	第 1 回交配	雄 8/群、雌 16/群 雌雄 1 対 1 で交配、 交尾確認	交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠 15 日に体重測定
	出産 (F _{1a})		出産状況の観察 児動物の一般状態、生存児数、死産児数、外表 異常、性別及び同腹生存児体重測定
	哺育(3週)	出生後 4 日目に、各同腹児 数 10 匹に調整	哺育 0、1、4、12、21 日に母動物体重を測定 哺育 0、1、4、12、21 日に生存児数及び生存 児体重を測定 哺育児の一般状態を毎日観察
	離乳		全ての F _{1a} 動物を屠殺、破棄 離乳後 7 日に母動物体重測定
	第 2 回交配	雄 8/群、雌 16/群 雌雄 1 対 1 で交配、 交尾確認	交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠 15 日に体重測定
	出産 (F _{1b})		出産状況の観察 児動物の一般状態、生存児数、死産児数、外表 異常、性別及び同腹生存児体重測定
	哺育(3週)	出生後 4 日目に、 各同腹児数 10 匹に調整	哺育 0、1、4、12、21 日に母動物体重を測定 哺育 0、1、4、12、21 日に生存児数及び生存 児体重を測定 哺育児の一般状態を毎日観察
F ₁	離乳	継代用に F _{1b} 動物から各群 雄 10 匹、雌 20 匹を無作為 に選抜	各群雄雌各 8 匹の親動物を体重測定後に屠殺 し、剖検、臓器重量測定、対照群及び 1000 ppm 投与群の雄雌各 5 匹の組織学的検査を実施
	生育(10週) 第 1 回交配 妊娠(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

表 1-2 試験手順 (続き)

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
F ₁	出産 (F _{2a})		(F ₀ 世代に準ずる)
	哺育(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
	離乳		(F ₀ 世代に準ずる)
	第2回交配 妊娠(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
F ₂	出産 (F _{2b})		(F ₀ 世代に準ずる)
	哺育(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
	離乳	継代用に F _{2b} 動物から各群雄 10 匹、雌 20 匹を無作為に選抜	各群雄雌各 8 匹の親動物を体重測定後に屠殺し、剖検、臓器重量測定、対照群及び 1000 ppm 投与群の雄雌各 5 匹の病理組織学的検査を実施
	生育(10週)		
	第1回交配 妊娠(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
	出産 (F _{3a})		(F ₀ 世代に準ずる)
	哺育(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
	離乳		(F ₀ 世代に準ずる)
	第2回交配 妊娠(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
	出産 (F _{3b})		(F ₀ 世代に準ずる)
F ₃	哺育(3週)	(F ₀ 世代に準ずる)	
	離乳		各群雄雌各 8 匹の親動物を体重測定後に屠殺し、剖検、臓器重量測定、対照群及び 1000 ppm 投与群の雄雌各 5 匹の病理組織学的検査を実施 各群雄雌各 10 匹の児動物を体重測定後に屠殺し、剖検、対照群対照群及び 1000 ppm 投与群の雄雌各 5 匹の病理組織学的検査を実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

試験結果： 概要を表2にまとめた。

一般状態及び死亡： 検体投与に起因する症状及び死亡はなかった。

体重： 親動物；200ppm 群雌の生育期および F_{2b} 哺育期、1000ppm 群 F₀ 世代雌雄の生育期、F_{1a} および F_{1b} 妊娠・哺育期において体重の有意な低下が認められた。
児動物；1000 ppm 投与群において、F_{1a} の雌雄の哺乳 0、1、4、12 及び 21 日、F_{1b} の雌雄の哺乳 1、4、12 及び 21 日、F_{3a} の雌雄の哺乳 21 日並びに F_{3b} の雌雄の 21 日における平均体重が対照群と比較して有意に低下した。また 200 ppm 投与群において、F_{1a} の雄、F_{1b} の雌、F_{3a} の雌及び F_{3b} の雌雄の哺乳 21 日における平均体重が対照群と比較して有意に低下した。50 ppm 投与群においては、F_{1a} の雌雄及び F_{1b} の雄の哺育 12 及び 21 日並びに F_{3a} の雌及び F_{3b} の雌雄の哺乳 21 日における平均体重が対照群と比較して有意に低下した。【申請者注：本試験後に実施した 1 世代繁殖性試験（資料番号 T-24）の 1000 ppm 投与群においても児動物の体重増加抑制が認められたことから、1000 及び 200 ppm 投与群の児動物で認められた体重増加抑制は、検体投与による影響と考えた。50 ppm 投与群で認められた変化に用量関連性及び世代間での一貫性がないため、偶発性の変動と判断した。】

摂餌量、摂餌効率及び検体摂取量： 検体投与によると考えられる変化はなかった。

剖検： 親動物、児動物ともに検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。【申請者注：親動物の臓器重量測定においていくつかの項目で有意差が認められたが、いずれにも世代及び雌雄間の一貫性がなく、投与用量との関連性も認められないため、偶発性の変動と判断した。】

病理組織学的検査： F₂ 親動物の雌において、1000 ppm 投与群で軽度な子宮水腫が認められた。児動物には検体投与による影響は認められなかった。

繁殖性に関する指数： F_{2a} の 1000 ppm 投与群、F_{2b} の 200 及び 1000 ppm 投与群において受胎率が低下し、F_{2a} 及び F_{2b} の 1000 ppm 投与群において雌の受胎率の低下が認められた。その他の指数においては、対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。

産児数及び外部異常： F_{1a} の 1000 ppm 投与群において、哺乳 12 及び 21 日に平均産児数の減少が認められ、F_{1b} の 1000 ppm 投与群において、哺乳 21 日に平均産児数の減少が認められた。また、F_{3a} の 200 ppm 投与群において、同腹児数及び同腹生存出生児数の増加が認められた。これらの増減は、検体投与によるものとは考えられなかった。【申請者注：これらの変動は世代間での一貫性がないため、偶発的な変動であり検体投与による影響ではないと判断した。】離乳時の外部異常検査において、異常を示す児動物は認められなかった。

生存指数： 1000 ppm 投与群において F_{1a} の 1、4、12 及び 21 日、F_{1b} の 1、12 及び 21 日、F_{2a} の 4 日、F_{3a} 及び F_{3b} の 21 日生存率が有意に低下した。200ppm 群においては、F_{1a} の 12 及び 21 日、F_{1b} の 1 及び 21 日、F_{3a} の 1、4 及び 21 日生存率が有意に低下した。また 50 ppm 投与群において、F_{1a} の 1、12 及び 21 日、F_{1b} の出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

生時、1、12及び21日、F_{2a}の出生時、1および4日、F_{2b}の1および4日、F_{3b}の1および4日生存率の有意な低下が認められた。これらはいずれも検体投与による影響ではないと考えられた。[申請者注：有意差の認められた変化には用量関連性及び世代間での一貫性がないため、偶発性の変動と判断した。]

以上の結果より、3世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、1000 ppm 投与群で F2 親動物に受胎率及び雌の受胎率低下並びに軽度な子宮水腫が認められた。また、200 ppm 投与群で F2 親動物に受胎率低下が認められた。[申請者注：児動物では、200 及び 1000 ppm 投与群の F₁ 及び F₃ 世代において、軽度の体重増加抑制が認められた。]

したがって、無毒性量は親動物、児動物及び繁殖性に対して 50 ppm (雄 3.2~4.2 mg/kg/day、雌 3.5~4.6 mg/kg/day) であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 2-1-1 結果の概要：親 F₀、児 F₁

世代		親 F ₀ 、 児 F ₁								
投与量 (ppm)		0	50	200	1000					
親動物	動物数 (生育数/繁殖数)	雄 雌	10/8 20/16	10/8 20/16	10/8 20/16	10/8 20/16				
	一般状態		NE	NE	NE	NE				
	死亡数 (死亡率)	雄 雌	2/8 (25%) 0/16 (0%)	2/8 (25%) 0/16 (0%)	1/8 (25%) 1/16 (6%)	1/8 (25%) 0/16 (0%)				
	体重	雄：生育期 雌：生育期	NE NE	NE NE	NE 5,6,8 週↓、 4,7 週↓	2-7 週↓、9 週↓ 1 週↓、 2-10 週↓				
		F _{1a} 妊娠 15 日 F _{1a} 哺育期	NE NE	NE NE	NE NE	↓ 1 日↓、4 日↓				
		F _{1b} 妊娠 15 日 F _{1b} 哺育期	NE NE	NE NE	NE NE	NE 0, 12 日↓、 1, 4 日↓				
	摂餌量	雄 雌	NE NE	NE NE	NE NE	NE NE				
	検体摂取量 (mg/kg/day)	雄：生育期 雌：生育期	0.0 0.0	4.2 4.6	16.5 17.7	85.8 89.0				
	絶対臓器重量	雄 雌	NE NE	NE NE	NE NE	NE 心臓↓				
	肉眼的病理検査	雄 雌	NE NE	NE NE	NE NE	NE NE				
	病理組織学的検査	雄 雌	NE NE	— —	— —	NE NE				
	繁殖能力	交配回数(回目)	1	2	1	2	1	2	1	2
		交尾率(%)	69.8	58.6	76.2	43.6	54.5	43.2	66.7	55.9
		受胎率(%)	100.0	88.2	100.0	82.4	88.9	100.0	88.9	78.9
雄の受胎率(%)		100.0	100.0	100.0	85.7	100.0	85.7	87.5	100.0	
雌の受胎率(%)		100.0	93.8	100.0	87.5	100.0	100.0	100.0	93.8	
出産率(%)		93.8	93.3	100.0	78.6	100.0	87.5	93.8	100.0	

NE：異常なし

Scheffe 又は Turkey の多重比較検定法、↑↓：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2, 4-D協議会にある。

表 2-1-2 結果の概要：親 F₀、児 F₁

世代		親 F ₀				児 F ₁				
投与量 (ppm)		0		50		200		1000		
児動物世代番号		F _{1a}	F _{1b}	F _{1a}	F _{1b}	F _{1a}	F _{1b}	F _{1a}	F _{1b}	
児動物	産児数(平均)	13.1	11.0	11.7	8.5	12.1	10.9	12.2	9.1	
	生存児数(平均)	12.1	10.9	10.7	7.2	11.4	10.6	11.3	8.7	
	死産児数(平均)	1.0	0.1	1.0	1.1	0.6	0.4	0.9	0.4	
	喰殺児数(平均)	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	
	外表異常	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
	21日離乳児性比(雄%)	48.8	47.7	55.1	47.7	57.4	40.9	58.1	46.4	
	生存児体重 (g:平均)	0日齢	7	7	6	6	6	7	6↓	6
		1日齢	7	7	7	7	7	7	6↓	6↓
		4日齢	10	10	9	9	9	10	7↓	8↓
		12日齢	26	27	20↓	21↓	24	23	17↓	22↓
		21日齢:雄	47	52	43↓	46↓	43↓	43↓	30↓	39↓
		:雌	45	48	41↓	44	43	41↓	27↓	37↓
	生存率(%)	出生率	92.3	98.7	91.4	84.9***	94.3	96.7	92.3	95.6
		1日	96.7	100.0	88.3**	94.9*	94.0	96.8*	74.0***	91.5***
4日		90.1	91.4	84.8	91.1	86.3	92.6	66.9***	87.7	
12日		92.7	96.5	71.1***	69.1***	87.8***	92.7	48.1***	63.5***	
21日		89.1	94.8	60.9***	64.7***	87.8***	84.5**	29.8***	53.8***	

NE: 異常なし

Scheffe 又は Turkey の多重比較検定法、↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

Fisher の直接確率検定、*: p<0.05、**: p<0.01、***: p<0.001[申請者により実施]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 2-2-1 結果の概要：親 F₁、児 F₂

世代		親：F ₁				児：F ₂			
投与量 (ppm)		0		50		200		1000	
親動物	動物数 雄 (生育数/繁殖数)	10/10	10/9	8/8	8/8	20/16	20/16	20/16	20/16
	動物数 雌	20/16	20/16	20/16	20/16	20/16	20/16	20/16	20/16
	一般状態	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	死亡数 (死亡率) 雄	3/10 (30%)	1/9 (11%)	1/8 (13%)	0/8 (0%)	5/16 (31%)	3/16 (19%)	0/16 (0%)	2/16 (13%)
	死亡数 (死亡率) 雌	5/16 (31%)	3/16 (19%)	0/16 (0%)	2/16 (13%)	NE	NE	NE	NE
	体重 雄：生育期	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	雌：生育期	NE	NE	6週↓、	0-4, 6週↓	NE	NE	NE	NE
	F _{2a} 妊娠 15日	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	F _{2a} 哺育期	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	F _{2b} 妊娠 15日	NE	NE	↓	NE	NE	NE	NE	NE
	F _{2b} 哺育期	NE	4日↓	1日↓、	NE	NE	NE	NE	NE
					4, 12日↓				
	摂餌量 雄	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	摂餌量 雌	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	検体摂取量 (mg/kg/day) 雄：生育期	0.0	3.2	13.0	65.2	0.0	3.5	14.1	76.7
検体摂取量 (mg/kg/day) 雌：生育期	0.0	3.5	14.1	76.7	NE	NE	脾臓↓	NE	
絶対臓器重量 雄	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
絶対臓器重量 雌	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
肉眼的病理検査 雄	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
肉眼的病理検査 雌	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
病理組織学的検査 雄	NE	—	—	NE	NE	—	—	NE	
病理組織学的検査 雌	NE	—	—	NE	NE	—	—	NE	
繁殖能力	交配回数(回目)	1	2	1	2	1	2	1	2
	交尾率(%)	37.1	17.5	45.2	40.5	70.8	46.5	43.6	18.4
	受胎率(%)	100.0	85.7	100.0	73.3	94.1	60.0↓	76.5↓	56.6↓
	雄の受胎率(%)	75.0	75.0	75.0	87.5	100.0	87.5	87.5	100.0
	雌の受胎率(%)	100.0	54.5	100.0	84.5	100.0	75.0	86.7↓	45.5↓
	出産率(%)	100.0	100.0	92.9	72.7	100.0	100.0	84.6	80.0

NE：異常なし、—：検査せず

Scheffe 又は Turkey の多重比較検定法、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

↓：低下傾向あり（統計検定なし）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 2-2-2 結果の概要：親 F₁、児 F₂

世代		親 F ₁ 、				児 F ₂				
投与量 (ppm)		0		50		200		1000		
児動物	児動物世代番号	F _{2a}	F _{2b}	F _{2a}	F _{2b}	F _{2a}	F _{2b}	F _{2a}	F _{2b}	
	産児数(平均)	9.5	11.3	8.2	11.0	10.2	11.1	9.0	9.0	
	生存児数(平均)	9.4	10.0	7.5	10.5	9.8	9.7	8.7	9.0	
	死産児数(平均)	0.2	1.2	0.5	0.4	0.4	0.9	0.3	0.0	
	喰殺児数(平均)	0.0	0.2	0.2	0.1	0.1	0.5	0.0	0.0	
	外表異常	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
	21日離乳児性比(雄%)	57.7	50.0	50.0	54.7	50.8	57.3	50.0	45.5	
	生存児体重 (g:平均)	0日齢	7	7	7	7	6	7	7	6
		1日齢	8	7	7	7	7	7	8	7
		4日齢	12	12	12	10	11	11	12	13
		12日齢	25	27	26	26	25	28	28	28
		21日齢:雄	37	44	40	44	40	46	42	40
	:雌	35	45	38	42	38	45	38	41	
生存率(%) 出生率		98.1	88.2	91.6*	95.5	95.7	87.2	97.0	100.0*	
	1日	97.1	100.0	86.7**	92.9*	99.4	100.0	98.9	97.2	
	4日	97.1	98.3	85.7**	85.7**	99.4	98.3	95.5**	97.2	
	12日	96.8	100.0	96.0	98.4	97.1	100.0	98.8	100.0	
	21日	82.1	96.0	93.3*	84.1*	87.6	93.2	74.1	97.1	

NE: 異常なし

Scheffe 又は Turkey の多重比較検定法、↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

Fisher の直接確率検定、*: p<0.05、**: p<0.01、***: p<0.001[申請者により実施]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 2-3-1 結果の概要：親 F₂、児 F₃

世代				親 F ₂ 、		児 F ₃				
投与量 (ppm)		0		50		200		1000		
親動物	動物数 (生育数/繁殖数)	雄	10/8	10/8	10/8	10/8	10/8	10/8	10/8	
		雌	20/16	20/16	20/16	20/16	20/16	20/16	20/16	
	一般状態			NE	NE	NE	NE	NE	NE	
	死亡数 (死亡率)	雄	1/8 (13%)	1/8 (13%)	2/8 (25%)	0/8 (0%)				
		雌	0/16 (0%)	0/16 (0%)	1/16 (6%)	0/16 (0%)				
	体重	雄：生育期		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
		雌：生育期		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
		F _{2a} 妊娠 15 日		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
		F _{2a} 哺育期		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
		F _{2b} 妊娠 15 日		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
		F _{2b} 哺育期		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
	摂餌量	雄		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
		雌		NE	NE	NE	NE	NE	NE	
	検体摂取量 (mg/kg/day)	雄：生育期		0.0	3.4	13.3	69.3			
雌：生育期			0.0	3.6	14.6	82.7				
絶対臓器重量	雄		NE	NE	NE	腎臓↑				
	雌		NE	NE	肝臓↑	NE				
肉眼的病理検査	雄		NE	NE	NE	NE				
	雌		NE	NE	NE	NE				
病理組織学的検査	雄		NE	—	—	NE				
	雌		NE (子宮水腫 1/5)	—	—	子宮水腫 5/5				
繁殖能力	交配回数(回目)		1	2	1	2	1	2		
	交尾率(%)		54.8	51.6	34.1	43.3	41.0	56.7	50.0	63.6
	受胎率(%)		88.2	93.8	86.7	84.6	93.8	82.4	93.3	92.9
	雄の受胎率(%)		87.5	85.7	62.5	71.4	85.7	100.0	100.0	100.0
	雌の受胎率(%)		100.0	100.0	86.7	84.6	100.0	93.3	93.3	92.9
	出産率(%)		93.3	93.3	92.3	100.0	93.3	92.9	92.9	100.0

NE：異常なし、—：検査せず

Scheffe 又は Turkey の多重比較検定法、↑↓：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2, 4-D協議会にある。

表 2-3-2 結果の概要：親 F₂、児 F₃

世代		親 F ₂				児 F ₃				
投与量 (ppm)		0		50		200		1000		
	児動物世代番号	F _{3a}	F _{3b}	F _{3a}	F _{3b}	F _{3a}	F _{3b}	F _{3a}	F _{3b}	
児動物	産児数(平均)	7.1	8.6	8.7	9.8	11.0↑	11.8	10.1	11.1	
	生存児数(平均)	6.8	8.4	8.5	9.4	10.5↑	11.5	9.5	10.5	
	死産児数(平均)	0.1	0.1	0.0	0.5	0.5	0.2	0.4	0.2	
	喰殺児数(平均)	0.2	0.1	0.2	0.0	0.0	0.1	0.2	0.5	
	外表異常	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
	21日離乳児性比(雄%)	37.0	50.0	44.9	50.6	51.5	52.6	54.4	50.7	
	生存児体重 (g:平均)	0日齢	7	7	7	7	7	7	7	7
		1日齢	8	9	8	7	8	8	8	8
		4日齢	13	13	12	12	12	13	12	12
		12日齢	29	29	26	25	25	28	25	23
		21日齢:雄	53	53	48	43↓	49	45↓	44↓	35↓
		:雌	52	49	45↓	41↓	46↓	43↓	41↓	35↓
	生存率(%) 出生率		95.0	98.3	97.9	95.4	95.5	97.4	94.7	94.4
		1日	98.9	98.3	97.9	92.2*	93.9*	100.0	97.6	96.3
		4日	98.9	97.5	97.9	89.3*	86.4***	99.3	96.8	92.6
12日		100.0	96.4	96.4	100.0	96.6	98.4	98.3	90.9	
21日		100.0	94.5	92.9	97.5	88.0***	92.7	88.8***	60.9***	
肉眼病理学的検査	—	NE	—	NE	—	NE	—	NE		
病理組織学的検査	—	NE	—	—	—	—	—	NE		

NE: 異常なし、—: 検査せず

Scheffe 又は Turkey の多重比較検定法、↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

Fisher の直接確率検定、*: p<0.05、**: p<0.01、***: p<0.001[申請者により実施]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.6.2 MCPA のラットにおける 1 世代繁殖試験 (含む胎児観察) (資料 No.T-4.2)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1995 年

試験目的： MCPA のラット 3 世代繁殖試験 (資料 No.T-4.1)において、検体投与群の F1 児及び F3 児の離乳時体重に有意な低値が認められた。従って、MCPA のラットの繁殖能力と哺育期間中の児動物の発育におよぼす影響を再評価するために、1 世代繁殖試験を実施した。また、ラットを用いた催奇形性試験において MCPA 及び MCPA エチルの高濃度投与群において心室中隔欠損や腎欠損、腎盂拡張等が低頻度発生することが報告されているので (資料 No. T-4.3 及び T-4.4)、胎児と哺育児の内臓異常検査も行った。

検体純度：

試験動物： CD (SD)系ラット、1 群雄雌各 33 匹 (雌は胎児観察用 10 匹、哺育児観察用 23 匹)、
投与開始時 5 週齢、体重雄 149~168 g、雌 107~125 g

試験期間： 投与期間は交配までの 10 週間、交配、妊娠及び哺育期間 (出産 21 日まで)の約 9 週間 (合計 約 19 週間)：1994 年 12 月 6 日~1995 年 4 月 21 日

投与方法： 検体を 0、20、50、1000 ppm の濃度に配合した飼料を自由摂取させた。交配はケージ当り雄雌 1 対の同居で行った。膣栓又は膣垢中の精子の有無によって交尾を確認し、その日を妊娠 0 日として同居を終了させた。哺育児は生後 4 日目に淘汰し、1 腹 8 匹 (雄雌各 4 匹)に調整した。哺育児の離乳後 (生後 21 日目)に試験を終了させた。但し、各群 10 匹の雌については妊娠 20 日目に帝王切開し胎児の各指標について観察した。

投与量設定根拠：

試験方法及び試験項目：概要を表 1 にまとめた。

(1) F₀ 親動物

一般症状及び死亡率：個々の動物について毎日観察した。

摂餌量： 生育期間中は、雌雄とも 1 週ごとに 7 日間の摂餌量を測定した。繁殖期間中は、雄については 1 週ごとに 7 日間の摂餌量を、雌については妊娠 0~7 日、7~14 日、14~20 日及び哺育 0~7 日、7~14 日、14~21 日の各期間の摂餌量を測定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

した。

検体摂取量：各投与群の雌雄の F₀ 親動物について、生育期間（交配前投与期間）中における飼料摂取量及び投与量より検体摂取量（mg/kg/day）を算出した。

交配及び妊娠の確認：発情前期または発情期の状態にある雌を夕刻に同じ群の雄のケージに移し、1対1で一晩同居させることによって交配させた。翌朝、膣栓及び膣垢中の精子の有無を調べ、いずれかを認めた場合に交尾が行われたもの判断して、その日を妊娠 0 日とした。

繁殖性に関する指標：

①交配及び妊娠に関する検査：

雄の交尾率（%）=（交尾を認めた雄数／交配に用いた雄数）× 100

雌の交尾率（%）=（交尾を認めた雌数／交配に用いた雌数）× 100

妊娠率（%）=（妊娠雌数／交尾を認めた雌数）× 100

②妊娠 20 日における検査：

胎児観察用 F₀ 雌親動物について、妊娠子宮重量、卵巣重量、黄体数及び着床数を調べた。

③分娩後の検査：

出産率（%）=（正常出産雌数／妊娠雌数）× 100

妊娠期間=妊娠 0 日から分娩完了（哺育 0 日）までの日数

着床数=子宮内の着床数を記録し、各群の 1 腹当りの平均着床数を算出

精巣上体の精子数、運動性及び形態：F₀ 雄親動物について剖検時に精巣上体尾部の精子数及び運動性を精子自動解析装置にて調べ、形態を顕微鏡下で観察した。

病理学的検査：胎児観察用の F₀ 雌は妊娠 20 日に、哺育児観察用の F₀ 雌とすべての F₀ 雄親動物は F₁ 哺育児の離乳後に剖検した。

臓器重量：哺育児観察用 F₀ 雌雄の中から、各群雌雄それぞれ 10 匹について、以下の臓器重量を測定した。

脳、下垂体、卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精囊及び前立腺

(2) 妊娠 20 日齢胎児

生存胎児数、胚・胎児死亡率、性比、胎児体重、胎盤重量、外表及び内臓の奇形と変異について検査した。

(3) F₁ 哺育児

一般症状及び死亡率：個々の動物について毎日観察した。

平均産仔数：平均産仔数=総産仔数／正常出産雌数

性比：性比=総雄産仔数／総産仔数

生存率：哺育 0 日の生存率（%）=（哺育 0 日の生存児数／産仔数）× 100

哺育 4 日の生存率（%）=（哺育 4 日の生存児数／哺育 0 日の生存児数）× 100

哺育 21 日の生存率（%）=（哺育 21 日の生存児数／哺育 4 日の選抜児数）× 100

体重：各腹について、哺育 0、4、7、14 及び 21 日に雌雄別に 1 腹分まとめて測定し、平均体重を求めた。

病理学的検査：哺育 4 日の淘汰哺育児及び哺育 21 日の離乳児について体表、体孔及び頭部、胸部、腹部の諸臓器について剖検を実施した。心臓と腎臓についてはそれぞれ心室中隔と腎盂の観察も行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

試験結果： 概要を表 2 にまとめた。

(1) F₀親動物

一般症状及び死亡： 検体投与に起因するとみられる一般症状及び死亡はなかった。

体重： 1000 ppm 投与群の雄では試験を通して低値であった。同群の雌では生育期の体重が低値であり、妊娠期間中は妊娠 14 日及び 20 日で低値であった。哺育期間中は対照群の値と差はみられなかったが、剖検時には有意に低値であった。20 及び 50 ppm 投与群では試験を通して対照群と同様であった。

摂餌量： 1000 ppm 投与群の雄では試験を通して低値であり、同群の雌では生育期間中及び哺育期間中で低値であった。20 及び 50 ppm 投与群では、50 ppm 投与群の雄の 17 及び 18 週（繁殖期間）でみられた低値を除いて対照群と同様であった。

検体摂取量： 体重、摂餌量及び飼料中検体濃度から生育期間について以下の通り算出した。

投与量 (ppm)		20	50	1000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.34	3.28	65.9
	雌	1.55	3.87	79.0

繁殖性に関する指標： いずれの投与群においても検体投与に起因すると見られる変化はなかった。

肉眼病理学的検査： 検体投与に起因する変化は見られなかった。

臓器重量： 統計学的有意差を示した項目を表 2 に示した。1000 ppm 投与群の雄では、下垂体の体重比と精囊の絶対重量及び体重比が統計学的有意に高値であり、同群雌の子宮も絶対重量及び体重比が統計学的に有意に高値であった。50 ppm 投与群の雄では精囊に絶対重量の有意な高値がみられたが、体重比は対照群と同様であったことから、検体投与との関連は明らかではなかった。また、20 ppm 投与群の雌の子宮の絶対重量及び体重比で有意な高値がみられたが、50 ppm 投与群は対照群と同様であったことから、20 ppm 投与群で認められた子宮重量値の変動は偶発的変動と考えた。[申請者注： 申請者において有意差の認められた臓器重量変化について用量相関性に関する直線回帰分析を実施した結果、子宮重量に用量相関性は認められなかったが、精囊重量に関しては用量相関性が認められた。従って、50 及び 1000 ppm 投与群で認められた精囊の重量増加が検体投与に関連した変化である可能性は否定できないと考えた。]

(2) 胎児

生存胎児数、胚・胎児死亡率、胎児体重、胎盤重量： 検体投与群と対照群の間で差はみられなかった。

性比： 20 ppm 投与群で有意に高かったが、50 及び 1000 ppm 投与群では対照群と同様であった。

外表検査： 検体投与に起因すると考えられる異常は見られなかった。

内臓検査： 1000 ppm 投与群で内蔵変異としての腎盂拡張の出現頻度が有意に高かった。しかし、この所見は後述する哺育 4 日に淘汰した哺育児及び哺育 21 日に剖検した離乳児では認められなかったことから、一時的な発育遅延を反映しているものと解釈された。

内臓奇形： 検体投与に起因すると考えられる所見はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

(3) 哺育児：

一般症状及び死亡率、平均産仔数、性比、生存率：検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

体重： 1000 ppm 投与群の雄雌において、哺育 14 日及び 21 日の体重が対照群と比較して有意に低値であったが、他の群は対照群と同様であった。

病理学的検査：最終検査で離乳前に死亡した哺育児、哺育 4 日に淘汰した哺育児及び離乳後の全哺育児のいずれにも、検体投与に起因する変化はなかった。

結論： 親動物に対する検体の一般毒性学的な影響は、1000 ppm 投与群の雄雌にみられた明らかな体重増加抑制及び飼料摂取量の低下であった。また、最終観察の臓器重量測定において、同群の雄では下垂体及び精囊、同群の雌では子宮に有意な重量増加がみられた。親動物の繁殖能力に関しては、いずれの投与群の指標も対照群と同様であった。胎児の発生に及ぼす影響としては、1000 ppm 投与群において腎盂拡張の発生頻度が有意に増加した。哺育児の生後の発育に及ぼす影響としては、1000 ppm 投与群において平均体重が哺育 14 日及び 21 日に対照群より有意に低かった。

以上の結果より親動物、胎児及び F₁ 哺育児に対する無毒性量は 50 ppm (雄 3.28 mg/kg/day、雌 3.87 mg/kg/day)、繁殖性に対する無毒性量は 1000 ppm (雄 65.9 mg/kg/day、雌 79.0 mg/kg/day)と判断された。

申請者注： 申請者において、20 及び 50 ppm 投与群の親動物で認められた臓器重量変化について、用量相関性に関する直線回帰分析を実施した。その結果、子宮重量に用量相関性は認められなかったが、精囊重量に関しては用量相関性が認められた。従って、50 及び 1000 ppm 投与群で認められた精囊の重量増加が検体投与に関連した変化である可能性は否定できないと考えた。しかしながら、ラット亜急性毒性試験 (資料 No. T-2.1) 及びラット慢性毒性試験 (資料 No. T-3.2) では、最高投与群 (それぞれ 2560、2000 ppm) でも精囊に病理組織学的変化が認められていないので、この精囊の重量変化は有害な作用を意味するものでないと考えた。

従って、無影響量及び無毒性量を申請者として以下のように結論した。

親動物	無影響量	雄	20 ppm (1.34 mg/kg/day)
		雌	50 ppm (3.87 mg/kg/day)
	無毒性量	雄	50 ppm (3.28 mg/kg/day)
		雌	50 ppm (3.87 mg/kg/day)
胎児・哺育児	無影響量及び無毒性量	雄	50 ppm (3.28 mg/kg/day)
		雌	50 ppm (3.87 mg/kg/day)
繁殖性	無影響量	雄	1000 ppm (65.9 mg/kg/day)
		雌	1000 ppm (79.0 mg/kg/day)

表 1

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
親	生育(10週)	1群雄 33匹、雌 33匹に投与開始	体重、摂餌量を各週測定 (雄は試験終了まで同様)
	交配 (約3週)	雄雌 1対1で交配。 交配は膣栓又は膣垢中の精子の有無で確認 (妊娠 0日)	交配状況の観察、性周期の記録
胎児	妊娠 (22日間)		体重を妊娠 0、7、14、20日に、摂餌量を週 1回測定
	帝王切開 (妊娠 20日)	各群 33匹の雌の中から 10匹を選択し (胎児観察用雌親)、帝王切開	親: 妊娠子宮重量、卵巣重量、黄体数、着床数、肉眼病理検査 胎児: 生存数、死亡胚数、性別、胎児体重、胎盤重量、外表検査、内臓検査
	出産		出産状況の観察 出生児数、志望児数、性別、 哺育 0、7、14、21日に同腹児の合計体重を雄雌別に測定 同日に親の体重を測定 哺育 0、4、21日に生存率を算出
	哺育 (3週)	哺育 4日に各同腹児を雄 4雌 4匹に調製 (不可能な場合は雄雌合計 8匹)	離乳前に死亡した哺育児、哺育 4日に淘汰した哺育児の肉眼病理検査
親	離乳 (生後 21日)	試験終了	雄雌親動物を殺処分し、肉眼病理検査を実施 その内各群雄雌 10匹の指定臓器について重量測定 哺育児についても殺処分後、肉眼病理検査実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 2-1 試験結果 (親動物)

群 (ppm)		0	20	50	1000		
親動物	全親動物	動物数 (雄/雌)	33/33	33/33	33/33	33/33	
		一般状態	雄 NE	NE	NE	NE	
		雌 NE	NE	NE	NE	NE	
		死亡数 (雄/雌)	0/0	0/0	1 ¹⁾ /0	1 ¹⁾ /1 ¹⁾	
		体重	雄: 生育期間 NE	NE	NE	2-6 週↓~Ⅲ	
		繁殖期間 NE	NE	NE	NE		
		剖検時 NE	NE	NE	NE		
		雌: 生育期間 NE	NE	NE	NE	1-10 週↓~Ⅲ	
		妊娠期間 NE	NE	NE	NE	14, 20 日↓	
		哺育期間 NE	NE	NE	NE	NE	
		剖検時 NE	NE	NE	NE	↓	
		摂餌量	雄: 生育期間 NE	NE	NE	NE	2-4, 7 週↓~Ⅲ
		繁殖期間 NE	NE	NE	17, 18 週↓	12, 17, 18 週↓~Ⅲ	
		雌: 生育期間 NE	NE	NE	NE	3 週↓	
		妊娠期間 NE	NE	NE	NE	NE	
		哺育期間 NE	NE	NE	NE	7-21 日↓	
		検体摂取量	雄 (mg/kg/day) 0	1.34	3.28	65.9	
		雌 0	1.55	3.87	79.0		
		肉眼病理学的検査	NE	NE	NE	NE	
	臓器重量	雄: 精囊 絶対 100	111	116↑	117↑		
相対 100	107	117	126↑↑				
下垂体 相対 100	109	108	120↑				
雌: 子宮 絶対 100	144↑↑	118	126↑				
相対 100	146↑↑	118	131↑				
交尾率(%) 雄/雌	100/100	100/100	97/97	100/100			
妊娠率(%)	100.0	97.0	90.6	96.9			
精子観察	NE	NE	NE	NE			
用	哺育児観察	動物数	23	22	19	21	
		出産率(%)	100	100	100	100	
		妊娠期間(日)	22.5	22.4	22.4	22.5	
		着床数(1 腹平均)	15.4	14.5	14.7	14.6	
胎児観察用	胎児観察用	動物数	10	10	10	10	
		黄体数(1 腹平均)	16.4	18.3	16.4	16.0	
		着床数(1 腹平均)	15.5	16.3	15.6	15.2	
		胚・胎児死亡率(%)	7.3	10.5	6.3	11.1	
		妊娠子宮重量(g)	80	78	79	72	
		卵巣重量(mg)	57.5	61.7	60.3	59.1	

NE: 異常なし

1): いずれの死亡も検体投与に関連するとは考えられなかった。

Dunnet 又は Scheffe の多重比較検定法、あるいは Dunnet 又は Scheffe 型の順位和検定法

↑, ↓; P < 0.05、↑↑, ↓↓; P < 0.01、↑↑↑, ↓↓↓: P < 0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 2-2 試験結果 (胎児及び哺育児)

群 (ppm)		0	20	50	1000		
胎 児	総生存胎児数	143	146	146	135		
	平均生存胎児数	14.3	14.6	14.6	13.5		
	平均胎児体重(mg)	雄	3680	3320	3518	3372	
		雌	3471	3150	3303	3265	
	平均胎盤重量(mg)	471	483	474	448		
	性比(雄%)	44.8	61.6**	48.6	43.7		
	外表異常	発生動物数	0	2	0	1	
		小眼球症	0	2	0	1	
	内臓異常	発生動物数	0	0	0	2	
		全内臓逆位	0	0	0	1	
		心室中隔欠損	0	0	0	1	
		右大動脈弓	0	0	0	1	
	内臓変異	発生動物数	6	5	6	22***	
胸腺頸部残留		4	2	3	5		
右鎖骨下動脈の大動脈弓部起始		0	0	0	1		
腎盂拡張		1	1	3	11**		
左臍動脈		2	2	1	6		
哺 育 児	総児数(0日目)	321	292	252	275		
	平均生存児数	14.0	13.3	13.3	13.1		
	外表異常	NE	NE	NE	NE		
	一般状態	NE	NE	NE	NE		
	性比(雄%)	53.3	47.9	48.3	46.5		
	平均体重(g)	雄	0日	6.6	6.6	6.9	6.3
			4日	11.0	11.0	11.7	10.3
			7日	18.3	17.9	19.1	16.6
			14日	38.2	38.2	39.4	33.1 $\downarrow\downarrow\downarrow$
			21日	62.0	62.8	63.3	50.9 $\downarrow\downarrow\downarrow$
		雌	0日	6.2	6.2	6.5	6.1
			4日	10.6	10.8	11.0	10.0
			7日	17.4	17.6	18.1	15.9
			14日	37.2	37.3	37.8	31.9 $\downarrow\downarrow\downarrow$
			21日	60.2	60.5	60.3	49.3 $\downarrow\downarrow\downarrow$
	生存率(%)	0日	98.2	97.0	95.4	96.1	
		4日	97.4	94.9	98.4	96.5	
21日		90.2	94.9	94.7	98.2		
肉眼病理所見	生存	NE	NE	NE	NE		
	死亡	NE	NE	NE	NE		

NE : 異常なし

Dunnet 又は Scheffe の多重比較検定法、あるいは Dunnet 又は Scheffe 型の順位和検定法

†, ‡ : P < 0.05、††, ‡‡ : P < 0.01、†††, ‡‡‡ : P < 0.001

Fisher の直接確率計算法、** : P < 0.01、*** : P < 0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.6.3 MCPA のラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.3)

試験機関

報告書作成年 1993 年 [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : Wistar 系 (Wistar-Imamichi)SPF 雌ラット、10 週齢、交尾確認雌 23 匹/群、
試験開始時体重 212~249 g

投与期間 : 妊娠 7~17 日の 11 日間 (1992 年 8 月 18 日~8 月 28 日)

投与量設定の根拠 :

投与方法 : 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁して、0、25、70 及び 200 mg/kg/day の用量で、妊娠 7~17 日 (交尾確認日を妊娠 0 日として起算)の間 1 日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒の 0.5%CMC 水溶液のみを投与した。

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、7、9、11、13、15、17、19 及び 21 日目に体重を測定した。

妊娠 21 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児 ; 性別、体重及び外表異常の観察を行った。

各同腹児群の 1/2 の胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

結果：概要を別表に示した。

親動物； 200 mg/kg 投与群において2例に立毛が見られた。70及び200 mg/kg 投与群で体重増加量及び摂餌量が有意に低下した。200 mg/kg 投与群において着床後胚死亡率の上昇、生存胎児数の減少が有意に認められた。

生存胎児；外表及び骨格検査で観察された異常については群間に有意差はなく、いずれも自然発生的に観察される症例であった。70 mg/kg 投与群の雌、及び200 mg/kg 投与群の雌雄で胎児体重が有意に低下した。また、200 mg/kg 投与群で内臓異常の総出現頻度が有意に上昇した。これは心臓又は腎臓における異常の発生数が対照群より多かったことによるが、両者の発生頻度に統計学的有意差はなかった。また、同群で骨化進行度が有意に遅延した。200 mg/kg/day 投与群で認められたこれらの変化は、胎児の発育抑制を反映したものと考えられた。その他の群には投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの親動物及び胎児動物における無毒性量は25 mg/kg/dayと考えられた。また、最高投与量の200 mg/kg/dayでも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

別表：(親動物)

投与群 (mg/kg/day)		0	25	70	200	
1群当り動物数		23	23	23	22	
親動物	一般状態 (発生数)	NE	NE	NE	立毛 (2)	
	死亡数動物	0	0	0	0	
	妊娠動物数	23	23	23	22	
	全胎児死亡動物数	0	0	0	1	
	体重	NE	NE	妊娠 19,21 日 ↓	妊娠 13-21 日 ↓	
	平均体重増加量 (g) ¹⁾	70	67	62	47	
	摂餌量	NE	NE	妊娠 13-15 日 ↓ 妊娠 11-13,15-21 日 ↓	妊娠 7-21 日 ↓	
	平均摂餌量 (g) ¹⁾	26.6	25.9	25.1	13.4	
	着床所見	検査動物数	23	23	23	22
		平均黄体数	16.2	16.7	15.8	16.0
平均着床数		14.7	14.6	14.5	14.2	
平均生存胎児数		14.0	13.8	13.6	11.5 ↓	
	着床後胚死亡率 (%)	3.9	5.5	6.4	18.8**	

NE： 検体投与による変化なし

↑ ↓： p<0.05、↑ ↓： p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

*： p<0.05、**： p<0.01 (χ² 検定)

+： p<0.05、++： p<0.01 (Fisher の直接確率法)

1)： 妊娠 7-17 日の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

別表：(胎児、外表異常及び内臓異常)

投与群 (mg/kg/day)		0	25	70	200	
1 群当り親動物数		23	23	23	22	
胎児	平均体重 (g)	雄	5.34	5.40	5.23	4.20 ↓
		雌	5.07	5.03	4.87 ↓	3.92 ↓
	性比 (雄/雌)		0.92	0.94	0.97	1.00
	外表異常	検査胎児数	323	317	312	252 ↓
		発生胎児数(発生腹数)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	2 (2)
		発生率 (%)	0.3	0.0	0.3	0.7
		浮腫・下顎低形成	1 (1)	0	0	0
		腹壁破裂	0	0	1 (1)	0
		痕跡尾	0	0	0	1 (1)
		髄膜瘤	0	0	0	1 (1)
	内臓異常	検査胎児数	156	153	150	122
		発生胎児数(発生腹数)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	9 (7)
		発生率 (%)	0.6	1.3	0.7	7.4*
		心室中隔欠損	1 (1)	1 (1)	1 (1)	6 (5)
腎盂拡張		0	1 (1)	0	3 (3)	
尿管拡張		0	1 (1)	0	0	
異所性卵巣・腎・尿管		0	0	0	1 (1)	

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

* : p<0.05、** : p<0.01 (χ^2 検定)

+ : p<0.05、++ : p<0.01 (Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

別表：(胎児、骨格検査)

投与群 (mg/kg/day)		0	25	70	200	
1 群当り親動物数		23	23	23	22	
胎 児	検査胎児数	167	164	162	130	
	骨格異常	発生胎児数(発生腹数)	4 (4)	2 (2)	0	5 (4)
		発生率 (%)	2.4	1.2	0	3.8
		頭頂間骨分離	0	2 (2)	0	0
		胸骨不整列	1 (1)	0	0	1 (1)
		胸骨癒合	0	0	0	1 (1)
		頸椎奇形	1 (1)	0	0	3 (3)
		腰椎奇形	1 (1)	0	0	0
		板状肋骨	1 (1)	0	0	0
		肋骨癒合	0	0	0	1 (1)
	左後肢多指	1 (1)	0	0	0	
	骨格変異	発生胎児数(発生腹数)	6 (5)	2 (2)	3 (3)	16 (10)
		発生率 (%)	3.6	1.2	1.9	12.3
		14 肋骨	0	0	0	1 (1)
		胸骨 非対称	5 (4)	1 (1)	2 (2)	11 (8)
		分離	1 (1)	1 (1)	1 (1)	4 (4)
	胸・腰椎 椎体亜鈴型	0	0	0	1 (1)	
	骨化進行度	後頭骨 (%)	100.0	100.0	100.0	94.5**
		平均胸骨分節数	6.00	5.99	5.99	5.55↓
平均中手骨数		8.00	8.00	8.00	8.00	
平均中足骨数		9.99	10.00	10.00	9.84↓	
	平均仙尾椎骨数	11.34	11.47	11.11	9.58↓	

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

* : p < 0.05、** : p < 0.01 (χ^2 検定)

+ : p < 0.05、++ : p < 0.01 (Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.6.4 MCPA エチルのラットに対する催奇形性試験 (資料 No.T-4.4)

試験機関

報告書作成年 1993年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : Wistar 系 (Wistar-Imamichi)SPF ラット (10 週齢)、1 群 23 匹、
試験開始時体重 219~258 g

投与期間 : 妊娠 7~17 日 の 11 日間 (1992 年 9 月 2 日~1992 年 9 月 12 日)

投与方法 : 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、0、25、70 及び 200 mg/kg/day の投与量で、妊娠 7~17 日 (膣栓または膣腔中に精子が認められた日を妊娠 0 日として起算)の 11 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5% CMC 水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠 ;

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、7、9、11、13、15、17、19 及び 21 日に体重および摂餌量を測定した。妊娠 21 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

生存胎児 ; 性別、体重測定及び外表異常の観察を行った。各腹 1/2 の胎児について内臓検査を実施し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

試験結果：概要を表に示した。

親動物； 全ての群で検体投与による死亡は認められなかった。200 mg/kg/day 群において、体重増加量および摂餌量の有意な低下が認められた。200 mg/kg/day 群で着床後胚死亡率の増加傾向が認められた。

胎児動物； 70 及び 200 mg/kg/day 群の胎児体重の有意な低下が認められた。全ての群において外表および骨格異常において有意な差は認められなかった。200 mg/kg/day 群において胸骨非対称の発生頻度が有意に増加したが、同群における骨化遅延に関連した変化であると考えられた。その他の群には検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した時の親動物に対する無影響量は 70 mg/kg/day、胎児に対する無影響量は 25 mg/kg/day と考えられた。また、最高投与量の 200 mg/kg/day でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	25	70	200	
1群当りの動物数		23	23	23	23	
親動物	一般状態	NE	NE	NE	NE	
	妊娠動物数	23	23	23	23	
	死亡動物数	0	0	0	0	
	体重	NE	NE	NE	妊娠15日↓ 妊娠17~21日↓	
	体重増加量 (妊娠7-17日) (g)	69	69	66	51	
	摂餌量	NE	NE	NE	妊娠9~21日↓	
	肉眼病理学的検査 (発生数)	NE	NE	NE	水腎症 (1)	
	着床所見	検査親動物数	23	23	23	23
		黄体数 (平均)	16.2	16.7	15.9	15.7
		着床数 (平均)	14.4	14.8	14.9	14.4
生存胎児数 (平均)		13.6	13.8	14.0	12.6	
着床後胚死亡率 (%)		5.8	6.8	6.1	11.9	
全胎児吸収 (親動物数)		0	0	0	1	
胎児動物	平均体重 (g)	雄	5.38	5.34	5.22 ↓	4.52 ↓
		雌	5.06	5.02	4.87 ↓	4.22 ↓
	性比 (雄/雌)		0.80	0.92	0.98	0.88
	外表異常 検査胎児数 (腹数)		312 (23)	317 (23)	321 (23)	289 (22)
	発生胎児数 (発生腹数)		1 (1)	3 (3)	0	0
	発生率 (%)		0.3	0.9	0	0
	椎骨欠損・鎖肛・痕跡尾		1 (1)	0	0	0
	右前肢異形成		0	1 (1)	0	0
	頭蓋裂および腹壁裂		0	1 (1)	0	0
	二重体		0	1 (1)	0	0
	内臓異常 検査胎児数 (腹数)		150 (23)	151 (23)	155 (23)	142 (22)
	発生胎児数 (発生腹数)		1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
	発生率 (%)		0.7	0.7	0.6	0.7
	尿管蛇行		1 (1)	0	0	0
	心室中隔欠損		0	1 (1)	0	0
	横隔膜ヘルニア		0	0	1 (1)	0
鼠径ヘルニア		0	0	0	1 (1)	

NE : 投与による影響なし

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 結果の概要 (続き)

投与群 (mg/kg/day)		0	25	70	200
胎 児 動 物	骨格異常 検査胎児数 (腹数)	162 (23)	166 (23)	166 (23)	147 (22)
	奇形				
	発生胎児数 (発生腹数)	4 (4)	2 (2)	3 (3)	11 (8)
	発生率 (%)	2.5	1.2	1.8	7.5
	頸椎異常	2 (2)	0	1 (1)	5 (4)
	胸椎異常	3 (3)	0	1 (1)	3 (3)
	腰椎異常	0	0	0	1 (1)
	胸骨異常	1 (1)	0	0	4 (4)
	肋骨異常	1 (1)	0	0	1 (1)
	頭頂間骨分離	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)
	頭蓋骨欠損	0	1 (1)	0	0
	口蓋骨低形成	0	0	1 (1)	0
	変異				
	発生胎児数 (発生腹数)	5 (5)	4 (4)	8 (8)	19 (15)
	発生率 (%)	3.1	2.4	4.8	12.9**
	14肋骨	0	0	0	2 (2)
	胸骨 非対称	4 (4)	3 (3)	7 (7)	15 (13)**
	分離	1 (1)	1 (1)	1 (1)	3 (2)
	頸肋骨	0	0	1 (1)	0
	胸・腰椎 椎体歪鈴型	0	0	0	2 (2)
骨化進行度					
後頭骨 (%)	100	99.4	100	97.5	
胸骨分節 (平均数)	5.98	5.99	5.99	5.76 ↓	
中手骨 (平均数)	8.00	8.00	8.00	8.00	
中足骨 (平均数)	9.99	9.99	9.99	9.88	
仙尾椎 (平均数)	11.57	11.22	11.09 ↓	10.01 ↓	

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

* : p < 0.05、** : p < 0.01 (χ² 検定)

+ : p < 0.05、** : p < 0.01 (Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.6.5 MCPA のウサギにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.5)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : New Zealand 白色種ウサギ、雌、6 カ月齢、交尾確認動物数 1 群 16 匹

試験期間 : 1988 年 3 月 2 日～1988 年 4 月 6 日 (動物入手～帝王切開)

試験方法 : 検体を 0.5% CMC 水溶液に懸濁して 0、20、50 及び 125 mg/kg/day の投与量で妊娠 6 日から 18 日 (交尾確認の翌日を妊娠 0 日として起算)までの 13 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には溶媒の 0.5% CMC 水溶液のみを同様に経口投与した。妊娠 28 日目に全動物を屠殺して、以下の項目について観察又は検査を実施した。

投与量設定根拠 :

観察・検査項目 :

親動物 : 一般状態及び生死を毎日観察し、体重を妊娠 0、6、9、12、15、18、23 及び 28 日に測定した。摂餌量は個体別に毎日測定した。

妊娠 28 日の帝王切開時に妊娠の有無を確認し、各腹毎に黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数及び性比を検査して以下の指標を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

着床率 (%) = (着床数 / 黄体数) × 100

胚・胎児死亡率 = (死亡胚・胎児数 / 着床数) × 100

性比 = 雄生存胎児数 / 雌生存胎児数

また、全ての親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

胎児動物；全生存胎児について個体別に体重を測定し、外表及び内臓検査を実施した。内臓検査終了後の全胎児を80%エチルアルコールで固定後、Dawson法に準じてアリザリンレッドS染色骨格標本を作製し、骨格異常、変異及び骨化状態を検査した。

試験結果： 概要を表にまとめた。

親動物；

一般状態及び生死；125 mg/kg/day 投与群において、2例に鎮静、下痢、皮膚温低下及び後肢麻痺等の症状が観察され、妊娠12日及び13日に死亡または切迫殺した。対照群で死亡した1例は誤投与によるもので、検体投与による毒性ではなかった。その他の投与群では検体投与によると考えられる一般状態の変化及び死亡はなかった。

体重； 検体投与によると考えられる変化はなかった。

摂餌量； 125 mg/kg/day 投与群で投与期間中軽度の抑制が認められた。

肉眼病理学的検査；125 mg/kg/day 投与群の死亡例(1例)に、検体投与に起因するとみられる胃粘膜の菲薄化と潰瘍形成及び水溶性腸内容物が認められた。その他の投与群では検体投与によると考えられる変化はなかった。

卵巣、子宮及び同腹児データ；125 mg/kg/day 投与群の胚・胎児死亡率に統計学的有意な増加が認められた。25及び50 mg/kg/day 投与群の胚・胎児死亡率も増加傾向が認められたが、これは両群共に胚・胎児死亡率が80~100%と極端に高値を示す個体が少数例存在したために生じた変動であり、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。その他にはいずれの項目においても検体投与によると考えられる変化はなかった。

胎児動物；

体重； 検体投与によると考えられる変化はなかった。

外表及び内臓検査；検体投与によると考えられる外表及び内臓異常は認められなかった。

骨格検査；検体投与によると考えられる骨格異常、変異及び骨化状態に変化は認められなかった。

結論： 125 mg/kg/day 投与群で一部の母動物に鎮静、下痢、皮膚温低下、後肢麻痺及び死亡がみられ、胎児に対して軽度な致死作用を示したが、発育抑制及び催奇形性作用はなかった。25及び50 mg/kg/day 投与群では、母動物ならびに胎児の何れに対し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

でも影響は認められず、最大無作用量は 50 mg/kg/day と考えられる。[申請者注：125 mg/kg/day 投与群において胎児死亡率の有意な上昇が認められたが、本投与用量では親動物に一般状態の悪化、死亡など明らかな毒性的影響が認められている。また、胎児体重の低下や奇形や変異の増加は認められないため、125 mg/kg/day 投与群における胎児死亡率の上昇は、親動物の毒性的影響による二次的なものであり、検体投与による直接的な作用ではないと判断し、胎児動物の無毒性量は 125 mg/kg/day 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2, 4-D協議会にある。

表：結果概要

投与量 (mg/kg/day)		0	20	50	125	
親動物	供試動物数	16	16	16	16	
	妊娠動物数(%)	14 (87.5)	16 (100)	16 (100)	14 (87.5)	
	死亡及び切迫殺動物数	1 ^{a)}	0	0	2	
	一般状態	一過性の下痢	0	0	0	1
		鎮静, 下痢, 皮膚温低下及び後肢麻痺	0	0	0	2
	体重変化	NE	NE	NE	NE	
	摂餌量	NE	NE	NE	減少	
	肉眼的病理学的検査	NE	NE	NE	1例 胃粘膜菲薄化、 潰瘍形成、 水溶性腸内容物	
	検査対象妊娠動物数	13	16	16	12	
	着床所見	平均黄体数	9.7	9.1	9.0	9.2
平均着床数		8.5	8.1	8.4	8.5	
合計死亡胚・胎児数		4	26	26	24	
平均生存胎児数		8.2	6.4	6.8	6.5	
性比(雄%)		51.9	48.5	57.4	46.2	
着床率(%)		87.5	89.0	93.0	93.2	
	胚・胎児死亡率(%)	3.3	26.5	16.3	25.5*	
児動物	平均体重	雌	39.2	37.3	38.7	37.4
		雄	40.2	39.8	39.2	36.2
	外表異常	NE	NE	NE	NE	
	内臓異常	NE	NE	NE	NE	
	骨格	異常	NE	NE	NE	NE
		変異	NE	NE	NE	NE
骨化遅延		NE	NE	NE	NE	

NE：異常なし、a)：誤投与による死亡

*：対照群 (0 mg/kg/day) に比較して統計学的有意差あり (P<0.05、順位和検定法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.6.6 MCPA のマウスにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.6)

試験機関
報告書作成年 1993年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物： ICR系 (CD-1)妊娠マウス (10週齢)、1群 25匹、試験開始時体重 25.7~31.8g

投与期間： 妊娠期間中 10日間 (1992年 8月 5日~1992年 8月 14日)

投与方法： 検体を 0.5% CMC 水溶液に懸濁し、0、30、100及び 300 mg/kg/day の投与量で、妊娠 6~15日 (膣栓が認められた日を妊娠 0日として起算)の 10日間、毎日 1回経口投与した。なお、対照群には 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物： 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、8、10、12、14、16 及び 18日に体重および摂餌量を測定した。妊娠 18日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

生存胎児： 性別、体重測定及び外表異常の観察を行った。各腹 1/2 の胎児について内臓検査を実施し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格検査を行った。

試験結果： 概要を表に示した。

親動物： 全ての群で検体投与による死亡は認められなかった。300 mg/kg/day 投与群の 2例に蒼白、うち 1例に消瘦及び膣からの出血が認められた。また、この群において体重増加量および摂餌量の有意な低下が認められた。

300 mg/kg/day 投与群において有意差は認められなかったが、着床後胚死亡率の増加傾向及び生存胎児数の減少傾向が認められた。その他の群においては、着床所見に対する検体投与の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2, 4-D協議会にある。

胎児： 100 及び 300 mg/kg/day 投与群において胎児体重の有意な低下が認められた。300 mg/kg/day 投与群において口蓋裂の発生頻度増加が認められた。口蓋裂は、機械的刺激、薬物投与または摂餌制限等によるストレスにより誘発されることが確認されている。本試験においてもまた、同群において胸骨分離の発生頻度が有意に増加したが、これは骨化遅延に関連した変化であると考えられた。【申請者注：300 mg/kg/day 投与群において口蓋裂の発生数が増加したが、本投与用量では親動物に明らかな体重増加抑制等の毒性的影響が認められている。従って、口蓋裂の発生は親動物の受けたストレスに起因するものであり、検体投与による直接的な作用ではないと判断した。】

その他の外表および骨格異常には用量相関が認められず、また自然発生的に散見される所見であった。

以上の結果より、本剤を妊娠マウスに投与した時の親動物に対する無影響量は 100 mg/kg/day、胎児に対する無影響量は 30 mg/kg/day であった。【申請者注：また、最高投与量の 300 mg/kg/day においても胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと考えられる。】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 1 結果の概要 (親動物)

投与群 (mg/kg/day)		0	30	100	300	
1群当りの動物数		25	25	25	25	
親動物	一般状態(発生数)	NE	NE	NE	蒼白(2)、削瘦(1)、 膣からの出血(1)	
	妊娠動物数	21	24	24	20	
	死亡動物数	0	0	3 ¹⁾	0	
	早産動物数 ²⁾	2	1	1	1	
	体重	NE	NE	NE	妊娠14,16,18日 ↓	
	増体量(妊娠6-14日) (g)	12.9	12.2	11.8	9.3	
	摂餌量(g)	NE	NE	NE	妊娠10-16日 ↓	
	肉眼病理学的検査	NE	NE	NE	NE	
	着床所見	検査親動物数	19	23	20	19
		平均黄体数	14.8	14.8	14.9	15.1
平均着床数		13.5	14.0	14.4	14.0	
平均生存胎児数		12.8	12.9	13.7	11.3	
着床後胚死亡率(%)		5.9	8.1	4.8	20.0	
	全胎児吸収(腹数)	0	0	0	2	

NE : 異常なし

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

1) : 投与ミスにより死亡

2) : 早産動物は、妊娠 18 日目の体重、摂餌量及び帝王切開時の諸検査から除外した。出生児の内臓検査及び骨格検査は実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表2 結果の概要 (胎児)

投与群 (mg/kg/day)		0	30	100	300
1群当りの動物数		25	25	25	25
平均体重(g)	雄	1.39	1.32	1.24 ↓	0.98 ↓
	雌	1.33	1.29	1.19 ↓	0.94 ↓
性比 (雄/雌)		1.04	0.92	1.05	1.08
外表異常	検査胎児数 (腹数)	243 (19)	296 (23)	273 (20)	214 (19)
	発生胎児数 (腹数)	1 (1)	0	0	9 (5)
	発生率 (%)	0.4	0.0	0.0	4.2
	口蓋裂	1 (1)	0	0	9 (5)
	腹壁破裂	0	0	0	1 (1)
内臓異常	検査胎児数 (腹数)	129 (21)	149 (24)	136 (21)	111 (18)
	発生胎児数 (腹数)	1 (1)	0	0	3 (3)
	発生率 (%)	0.8	0.0	0.0	2.7
	口蓋裂	1 (1)	0	0	3 (3)
検査胎児数 (腹数)		141 (21)	163 (24)	149 (21)	117 (18)
骨格奇形	発生胎児数 (腹数)	2 (2)	2 (1)	2 (2)	10 (6)
	発生率 (%)	1.4	1.2	1.3	8.5
	頭頂骨形成不全	0	0	0	1 (1)
	口蓋裂	0	0	0	6 (3)
	胸骨	1 (1)	0	2 (2)	2 (2)
	肋骨	0	0	0	1 (1)
脊椎	1 (1)	2 (1)	0	0	
骨格変異	発生胎児数 (腹数)	71 (20)	73 (22)	79 (21)	72 (18)
	発生率 (%)	50.4	44.8	53.0	61.5
	14肋骨	44 (17)	45 (17)	55 (19)	46 (15)
	胸骨 非対称	17 (11)	9 (7)	12 (9)	10 (7)
	過剰	5 (5)	5 (5)	3 (2)	1 (1)
	分離	3 (1)	7 (6)	4 (4)	19 (11) ++
頸肋骨	26 (13)	19 (12)	18 (9)	16 (10)	
骨化進行度	後頭骨 (%)	100.0	97.2	90.5	42.6**
	胸骨分節 (平均数)	5.99	6.00	5.99	5.48 ↓
	中手骨 (平均数)	8.00	8.00	8.00	7.94
	中足骨 (平均数)	10.00	10.00	9.99	9.51 ↓
	仙尾椎 (平均数)	11.50	11.08	10.75	9.51 ↓

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

* : p<0.05、** : p<0.01 (χ^2 検定)、+ : p<0.05、++ : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.6.7 MCP エチルのマウスに対する催奇形性試験 (資料 No.T-4.7)

試験機関

報告書作成年 1993 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : CD-1 (ICR)系妊娠マウス (10 週齢)、1 群 25 匹、試験開始時体重 24.0~32.5 g

投与期間 : 妊娠期間中 10 日間 (1992 年 9 月 23 日~1992 年 10 月 2 日)

投与方法 : 検体を 0.5% CMC 水溶液に懸濁し、0、30、100 及び 300 mg/kg/day の投与量で、妊娠 6~15 日 (膣栓が認められた日を妊娠 0 日として起算)の 10 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5% CMC 水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠 ;

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、8、10、12、14、16 及び 18 日に体重および摂餌量を測定した。妊娠 18 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

生存胎児 ; 性別、体重測定及び外表異常の観察を行った。各腹 1/2 の胎児について内臓検査を実施し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格検査を行った。

試験結果 : 概要を次頁の表に示した。

親動物 ; 母動物の死亡が、300 mg/kg/day 投与群の 2 例および 100 mg/kg/day 投与群の 1 例で認められた。300 mg/kg/day 投与群の体重増加量および摂餌量、100 mg/kg/day 投与群の摂餌量の有意な低下が認められた。30 mg/kg/day 投与群においては検体投与の影響は認められなかった。

300 mg/kg/day 投与群で着床後胚死亡率の増加傾向が認められた。その他の群において、着床所見に対する検体投与の影響は認められなかった。

胎児 ; 300 mg/kg/day 投与群において胎児体重の有意な低下、後頭骨および胸骨分節の有意な骨化遅延が認められた。各投与群に認められた外表、内臓および骨格異常に有意差は認められず、自然発生的に散見される所見であった。300 mg/kg/day 投与群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

において 14 肋骨の発生数が有意に増加したが、14 肋骨の発生頻度には系統差、背景データのばらつきがあり、また 14 肋骨と関連のある異常は認められなかったことから、催奇形性的な意味は乏しいと判断した。その他の群については検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠マウスに投与した時の親動物に対する無影響量は 30 mg/kg/day、胎児に対する無影響量は 100 mg/kg/day と考えられた。[申請者注：また、最高投与量の 300 mg/kg/day においても胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと考えられる。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 1 結果の概要 (親動物)

投与群 (mg/kg/day)		0	30	100	300	
1群当りの動物数		25	25	25	25	
親動物	一般状態(発生数)	NE	NE	腹臥・流涙・痙攣(1) ¹⁾	腹臥・鎮静(2) ¹⁾	
	妊娠動物数	24	23	22	24	
	死亡動物数	0	0	1	2	
	早産動物数 ²⁾	1	2	1	0	
	体重	NE	NE	NE	妊娠18日↓	
	増体量(妊娠6-14日) (g)	11.5	12.8	11.0	9.5	
	摂餌量(g)	NE	NE	妊娠14~16 ↓	妊娠10~12日↓ 妊娠12~16日↓	
	肉眼病理学的検査	NE	NE	生存例: NE 死亡例: 胃内 黒色内容物	生存例: NE 死亡例: 胃底部 赤色化	
	着床所見	検査親動物数	23	21	20	22
		平均黄体数	13.6	14.1	13.5	13.3
平均着床数		12.1	13.6	12.8	12.5	
平均生存胎児数		11.0	12.6	11.4	10.6	
着床後胚死亡率(%)		8.5	6.8	10.5	20.1	
	全胎児吸収(腹数)	0	0	0	2	

NE: 異常なし

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

1): いずれも死亡動物で観察された

2): 早産動物は妊娠 18 日目の体重、摂餌量及び帝王切開時の諸検査から除外した。出生児の一部については内臓検査及び骨格検査を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表2 結果の概要 (胎児)

投与群 (mg/kg/day)		0	30	100	300
1群当りの動物数		25	25	25	25
平均体重(g)	雄	1.35	1.30	1.31	1.12 ↓
	雌	1.32	1.24	1.24	1.07 ↓
性比 (雄/雌)		0.80	1.01	1.11	1.04
外表異常	検査胎児数 (腹数)	254 (23)	265 (21)	228 (20)	233 (20)
	発生胎児数 (腹数)	0	1 (1)	1 (1)	7 (3)
	発生率 (%)	0	0.4	0.4	3.0
	口蓋裂	0	0	1 (1)	6 (2)
	眼瞼開存	0	0	0	3 (1)
	頭蓋裂	0	1 (1)	0	0
	下顎低形成	0	0	0	1 (1)
内臓異常	検査胎児数 (腹数)	127 (23)	136 (23)	112 (20)	112 (20)
	発生胎児数 (腹数)	0	0	1 (1)	5 (2)
	発生率 (%)	0	0	0.9	4.5
	口蓋裂	0	0	1 (1)	5 (2)
	小眼球症	0	0	0	2 (1)
検査胎児数 (腹数)		138 (24)	151 (23)	125 (21)	121 (20)
胎児 骨格奇形	発生胎児数 (腹数)	6 (5)	4 (4)	0	7 (6)
	発生率 (%)	4.3	2.6	0	5.8
	口蓋低形成	0	0	0	2 (2)
	頭蓋骨欠損	0	1 (1)	0	0
	頸椎異常	2 (1)	0	0	0
	胸椎異常	1 (1)	0	0	0
	肋骨 分離	0	0	0	1 (1)
	癒合	1 (1)	0	0	1 (1)
	胸骨 不整列	1 (1)	1 (1)	0	1 (1)
	癒合	2 (2)	2 (2)	0	2 (2)
骨格変異	発生胎児数 (腹数)	54 (22)	55 (16)	54 (19)	76 (20)
	発生率 (%)	39.1	36.4	43.2	62.8
	14肋骨	22 (16)	33 (13)	44 (18)	67 (19) ⁺
	胸骨 非対称	11 (10)	6 (4)	2 (2)	2 (2)
	過剰	0	3 (2)	4 (4)	0
	分離	7 (6)	1 (1)	4 (3)	8 (3)
頸肋骨	27 (12)	23 (10)	11 (7)	6 (3)	
骨化進行度	後頭骨 (%)	92.3	95.9	91.2	70.0 ^{**}
	胸骨分節 (平均数)	5.99	6.00	5.98	5.87 ↓
	中手骨 (平均数)	8.00	8.00	8.00	7.98
	中足骨 (平均数)	10.00	9.98	9.99	9.80
	仙尾椎 (平均数)	10.43	10.74	10.69	10.14

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe 検定)

* : p<0.05、** : p<0.01 (χ^2 検定)、+ : p<0.05、++ : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.6.8 MCPA の 3 系統マウスにおける催奇形性試験 (資料 No.T-4.8)

試験機関

報告書作成年 1985 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : ICR 系雌マウス (10 週齢)、1 群 23 匹
C3H/He 系雌マウス (10 週齢)、1 群 23 匹
ddY 系雌マウス (10 週齢)、1 群 23 匹

投与期間 : 妊娠期間中 10 日間
(ICR マウス : 1984 年 5 月 2 日~5 月 15 日)
(C3H/He マウス : 1984 年 6 月 6 日~6 月 23 日)
(ddY マウス : 1984 年 6 月 20 日~7 月 3 日)

投与方法 : 検体を 0、20、180 及び 1620 ppm の濃度の均一に配合した粉末飼料を、妊娠 6~15 日 (膈栓が認められた日を妊娠 0 日として起算) の 10 日間自由に摂取させた。

投与量設定根拠 :

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15 及び 18 日に体重及び摂餌量を測定した。妊娠 18 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査を実施し、肝臓、腎臓、脾臓及び心臓重量を測定した。

生存胎児 ; 性別、体重測定及び外表異常の観察を行った。各腹 1/2 の胎児について内臓検査を実施し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

結果：概要を次頁の表に示した。

- 親動物； 3系統とも投与に起因するとみられる臨床症状及び死亡は認められなかった。
ICR系及びddY系の1620 ppmで体重の減少が認められた。C3H/He系では検体投与に起因するとみられる変化はなかった。
ICR系の180及び1620 ppmならびにddY系の1620 ppmで摂餌量の減少が認められた。C3H/He系では検体投与に起因するとみられる変化はなかった。
各系統とも、剖検、臓器重量及び着床所見に検体投与に起因するとみられる変化はなかった。
- 胎児； 全ての系統において1620 ppm投与群の胎児体重の低下が認められた。
外表、内臓及び骨格異常については各系統とも、検体投与に起因するとみられる変化は認められなかった。
骨格変異では、C3H/He系及びddY系の1620 ppm投与群で14肋骨の増加が認められた。ICR系においては20および1620 ppm投与群で14肋骨の有意な増加が認められたが、用量相関性がない変化であった。
また、各系統とも1620 ppm投与群で指骨及び/または趾骨の骨化が低下した。

以上の結果より、本剤を妊娠マウスに投与した時の親動物に対する無影響量はC3H/He系マウスでは1620 ppm (322.1 mg/kg/day)、ICRおよびddY系マウスでは180 ppm (32.0~33.0 mg/kg/day)であり、胎児に対する無影響量は3系統とも180 ppm (32.0~35.6 mg/kg/day)と考えられた。また、いずれの系統とも、最高投与量の1620 ppm (269.3~322.1 mg/kg/day)においても胎児動物に対して催奇形性はないと判断された。

表1 結果の概要 (母動物)

系統		ICR				C3H/He				ddY			
投与群 (ppm)		0	20	180	1620	0	20	180	1620	0	20	180	1620
1群当りの動物数		23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23
一般状態		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
妊娠動物数		20	20	20	20	19	22	23	22	18	18	20	22
死亡動物数		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
早産動物数		4 ¹⁾	4	4	2	1	0	0	1	1	1	1	1
体重	妊娠12日	NE	NE	NE	↓	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	↓
	妊娠15日	NE	NE	NE	↓	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	↓
	妊娠18日	NE	NE	NE	↓	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	↓
摂餌量	妊娠6~9日	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	↓
	妊娠15~18日	NE	NE	↓	↓	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	↓
検体摂取量 (mg/kg/day)		0	3.7	33.0	311.2	0	4.1	35.6	322.1	0	3.5	32.0	269.3
剖検所見		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
臓器重量		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
着床所見	検査親動物数	17	16	16	18	18	22	23	21	17	17	19	21
	平均黄体数	14.9	14.1	14.1	13.2 ↓	10.0	10.0	10.1	10.1	13.5	13.4	13.5	13.8
	平均着床数	14.1	13.3	12.8	12.3 ↓	8.7	9.1	9.3	8.8	12.8	11.7	12.0	12.5
	平均生存胎児数	13.2	12.1	12.1	11.2 ↓	7.6	7.5	8.0	7.2	12.3	10.9	11.5	11.8
	着床後胎児死亡率(%)	5.9	9.0	5.9	8.6	12.2	17.9	13.6	17.8	3.7	7.0	4.4	5.7

NE: 異常なし

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01、↑ ↓ : p<0.001 (t検定: 母動物体重、摂餌量、黄体数、着床数、生存胎児数、臓器重量)

* : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001 (χ²検定: 着床後胎児死亡率)

1): 1例は胎児1匹を分娩し、他の胎児を帝王切開にて摘出、帝王切開成績に含めた。

表2 結果の概要 (胎児：外表異常及び内臓異常)

系統	ICR				C3H/He				ddy			
	0	20	180	1620	0	20	180	1620	0	20	180	1620
投与群 (ppm)	0	1.30	1.36	1.14	1.05	1.08	1.06	0.91	1.42	1.44	1.43	1.17
平均胎児体重(g)												
雄	1.32	1.30	1.36	1.14	1.05	1.08	1.06	0.91	1.42	1.44	1.43	1.17
雌	1.26	1.24	1.32	1.10	1.02	1.02	1.02	0.88	1.36	1.44	1.41	1.12
性比 (雄/雌)	0.99	1.27	1.14	0.92	0.90	0.81	0.88	1.05	1.01	1.43	0.95	0.98
検査胎児数(検査腹数)	225(17)	193(16)	193(16)	202(18)	137(18)	165(22)	184(23)	152(21)	209(17)	185(17)	218(19)	248(21)
発生胎児数(腹数)	0	3(2)	0	0	0	0	0	0	1(1)	0	0	0
発生率 (%)	0	1.6	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0
外表異常												
頭蓋裂	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
眼瞼開存	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
頭蓋裂・眼球突出	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
内反足	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)	0	0	0
検査胎児数(検査腹数)	106(17)	89(16)	92(16)	95(18)	63(18)	77(22)	86(22)	71(20)	100(17)	90(17)	106(19)	119(21)
発生胎児数(腹数)	1(1)	0	0	1(1)	0	0	0	0	0	1(1)	0	1(1)
発生率 (%)	0.9	0	0	1.1	0	0	0	0	0	1.1	0	0.8
内臓異常												
口蓋裂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)
腎盂拡張	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)	0	0
腎臓低形成	1(1)	0	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0

NE：異常なし

↑↓：p<0.05、↑↑：p<0.01、◆◆：p<0.001 (t検定：生存胎児体重、骨化進行度 (仙尾椎数))

*：p<0.05、**：p<0.01、***：p<0.001 (χ²検定：性比、骨化進行度 (指趾骨数、胸骨数)、外表・内臓・骨格異常及び変異)

表3 結果の概要 (胎児：骨格異常)

系統	ICR				C3H/He				ddY			
	0	20	180	1620	0	20	180	1620	0	20	180	1620
投与群 (ppm)	0											
検査胎児数(検査腹数)	119(17)	101(16)	101(16)	107(18)	74(18)	88(22)	97(23)	81(21)	108(17)	95(17)	112(19)	129(21)
発生胎児数(腹数)	1(1)	0	3(3)	4(4)	1(1)	3(3)	1(1)	4(4)	1(1)	0	0	0
発生率 (%)	0.8	0	3.0	3.7	1.4	3.4	1.0	4.9	0.9	0	0	0
胸骨癒合	1(1)	0	3(3)	3(3)	1(1)	3(3)	1(1)	4(4)	1(1)	0	0	0
肋骨癒合	0	0	1(1)	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0
頸椎椎弓癒合・低形成・分離	0	0	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
発生胎児数(腹数)	21(11)	42(14)	28(13)	86(18)	8(8)	10(10)	8(7)	62(21)	11(9)	3(2)	6(3)	53(18)
発生率 (%)	17.6	41.6***	27.7	80.4***	10.8	11.4	8.2	76.5***	10.2	3.2	5.4	41.1***
14肋骨	20(10)	38(12)	22(9)	85(18)	5(5)	4(4)	3(3)	59***(21)	4(3)	0(0)	4(1)	51***(17)
仙椎前脊椎数25	0	1(1)	0	0	1(1)	0	0	1(1)	1(1)	0	1(1)	0
胸骨 非対称	0	0	3(3)	4(3)	1(1)	3(3)	2(2)	6(6)	3(2)	3(2)	1(1)	3(3)
過剰	1(1)	4(2)	2(2)	2(2)	0	0	0	1(1)	1(1)	0	0	0
頸肋骨	1(1)	1(1)	3(3)	0	1(1)	3(3)	3(3)	1(1)	1(1)	0	0	1(1)
後頭骨(%) ¹⁾	100	100	100	100	100	98.9	100	100	100	100	100	100
胸骨分節(%) ²⁾	92.4	92.1	97.0	84.1	94.6	93.2	92.8	84.0	95.4	97.9	97.3	90.7
中手骨(%) ³⁾	99.2	92.9*	99.0	88.8***	93.2	79.5*	84.5	59.3***	99.1	100	99.1	96.8
中足骨(%) ⁴⁾	99.1	91.8*	95.7	74.5***	4.1	6.8	8.2	1.2	85.1	93.4	94.4*	57.5***
平均骨化仙尾椎	11.1	11.1	12.2	11.6	9.9	10.0	9.9	10.0	13.0	14.0	12.9	12.2

1)：後頭骨が完全に骨化した胎児、2)：胸骨分節が6個骨化した胎児、3)：中手骨が両手各4個骨化した胎児

4)：中足骨が両足各4個ずつ骨化した胎児

↑↓：p<0.05、↑↑：p<0.01、↑↑↑：p<0.001 (t検定)；生胎児体重、骨化進行度 (仙尾椎数)

*：p<0.05、**：p<0.01、***：p<0.001 (χ²検定)；性比、骨化進行度 (指趾骨数、胸骨数)、外表・内臓・骨格異常及び変異)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7 変異原性

8.7.1 MCPA の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 No.T-5.1)

試験機関

報告書作成年 1977 年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は DMSO (ジメチルスルホキシド)に溶解した。試験は 1、10、50、100、500、1000 及び 5000 µg/plate の濃度で、プレート法で実施した。

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株及びいずれの用量においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、β-PL、2-NF 及び 9-AA では S9 Mix の非添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。また 2AA では S9 Mix の添加により TA1535、TA100 及び TA98 の検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

復帰突然変異試験結果

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	TA1538
対照 (DMSO)	0	-	124	11	23	20	16	16
検体	1	-	110	9	33	20	9	7
	10	-	97	8	42	19	9	6
	50	-	126	8	31	18	8	7
	100	-	127	13	32	19	7	14
	500	-	118	12	24	17	8	8
	1000	-	116	14	28	19	8	13
	5000	-	*	3	28	*	9	*
対照 (DMSO)	0	+	103	9	31	22	12	18
検体	1	+	105	8	43	23	12	11
	10	+	139	12	46	24	12	17
	50	+	110	14	43	18	16	14
	100	+	113	11	51	22	13	14
	500	+	119	9	40	19	12	20
	1000	+	113	10	32	17	2	18
	5000	+	100	11	23	29	*	15
AF-2	0.1	-	1013		223	187		
β -PL	50	-		824				
2-NF	50	-						1244
9-AA	100	-					622	
2-AA	20	+	>3000	346		2290		

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

β -PL: β -propiolactone

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7.2 MCPAナトリウム塩の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 No.T-5.2)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP対応]

検体純度： 19.5% [MCP ソーダ塩]*

* : MCPA ナトリウム塩原体の代替については、抄録 p 78 を参照

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は蒸留水に溶解し、試験はプレインキュベーション法で行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株及びいずれの用量においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN₃, 2-NF, 9AA 及び MMC では S9 Mix の非添加で、また 2AA 及び B(a)P では S9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

用量設定試験結果

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (蒸留水)	0	-	123	7	88	18	16	4
検体	50	-	130	9	102	13	22	6
	100	-	139	9	100	10	28	7
	500	-	145	3	88	9	21	7
	1000	-	136	6	44	11	26	5
	5000	-	25*	2*	0*	14	5*	1*
対照 (蒸留水)	0	+	137	11	96	21	31	4
検体	50	+	130	9	131	17	27	7
	100	+	125	14	127	15	22	6
	500	+	139	11	124	13	30	6
	1000	+	152	9	104	12	27	3
	5000	+	63*	7*	1*	10	14*	2*
AF-2	0.01	-	374			75		
NaN ₃	0.5	-		74				
MMC	0.5	-			399			
2-NF	1.0	-					138	
9-AA	80.0	-						754
2-AA	2.0	+		198				
	20.0	+				486		
B(a)P	5.0	+	998		321		443	96

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃: sodium azide

MMC: mitomycin C

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

B(a)P: benzo(a)pyrene

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

復帰突然変異試験結果

検体	濃度 (µg/plate)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (蒸留水)	0	-	102	15	190	14	27	4
検体	156	-	103	10	190	/	24	2
	313	-	133	10	169	14	22	3
	625	-	115	14	144	12	34	3
	1250	-	110	10	105	8	28	6
	2500	-	119	9	33	11	28	3
	5000	-	38*	4*	0*	9	10*	0*
対照 (蒸留水)	0	+	153	11	199	18	32	7
検体	156	+	147	12	221	/	32	6
	313	+	132	11	225	21	28	11
	625	+	145	11	179	26	41	11
	1250	+	159	16	194	24	33	12
	2500	+	146	20	146	19	48	12
	5000	+	74*	7*	0*	21	18*	2*
AF-2	0.01	-	366			85		
NaN ₃	0.5	-		72				
MMC	0.5	-			414			
2-NF	1.0	-					161	
9-AA	80.0	-						886
2-AA	2.0	+		235				
	20.0	+				444		
B(a)P	5.0	+	1025		251		455	73

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃: sodium azide

MMC: mitomycin C

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

B(a)P: benzo(a)pyrene

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7.3 MCPA エチル (純品)の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 No. T-5.3)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は DMSO (ジメチルスルホキシド)に溶解し、試験はプレート法で行った。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株及びいずれの用量においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN_3 及び ICR-191 では S9 Mix の非添加で、また 2AA では S9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

用量設定試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	95	6	31	27	10
検体	1	-	95	6	33	18	13
	10	-	102	7	33	20	8
	100	-	102	6	40	17	12
	1000	-	76	7	34	15	7
	5000	-	0*	0*	30	0*	0*
対照 (DMSO)	0	+	94	10	41	31	15
検体	1	+	116	11	43	33	20
	10	+	115	9	55	32	19
	100	+	96	7	53	33	29
	1000	+	108	6	52	34	30
	5000	+	104	11	46	35	18
AF-2	0.01	-	422		285		
	0.1	-				557	
NaN ₃	0.5	-		281			
ICR-191	1	-					1008
2-AA	0.5	+				538	
	1	+	1423				
	2	+		504			360
	20	+			1463		

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃: sodium azide

ICR-191: acridine halmustard

2-AA: 2-aminoanthracene

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

復帰突然変異試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	91	7	36	18	6
検体	157	-	96	10		20	4
	313	-	98	7	38	20	7
	625	-	90	12	39	22	4
	1250	-	73	6	37	19	4
	2500	-	43*	0*	35	11	0*
	5000	-	27*	0*	31	0*	0*
対照 (DMSO)	0	+	114	11	45	30	19
検体	313	+	115	8	56	32	26
	625	+	119	10	55	26	26
	1250	+	124	8	55	28	27
	2500	+	119	9	59	26	17
	5000	+	106	6	59	26	13
AF-2	0.01	-	460		251		
	0.1	-				815	
NaN ₃	0.5	-		306			
ICR-191	1	-					1022
2-AA	0.5	+				507	
	1	+	1852				
	2	+		485			398
	20	+			1357		

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃: sodium azide

ICR-191: acridine halmustard

2-AA: 2-aminoanthracene

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7.4 MCPA エチルの細菌を用いた復帰変異試験 (資料 No.T-5.4)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は DMSO (ジメチルスルホキシド)に溶解し、試験はプレインキュベーション法で行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株及びいずれの用量においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN₃, 2-NF, 9AA 及び MMC では S9 Mix の非添加で、また 2AA 及び B (a)P では S9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

用量設定試験結果

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	101	6	83	13	13	4
検体	50	-	98	6	80	7	9	2
	100	-	95	4	92	10	12	3
	500	-	24*	0*	44	9*	3*	2*
	1000	-	0*	0*	12*	9*	0*	0*
	5000	-	0*	0*	0*	6*	0*	0*
対照 (DMSO)	0	+	104	10	103	12	24	5
検体	50	+	103	12	123	15	19	5
	100	+	102	10	129	7	27	4
	500	+	96	9	78	8	23	6
	1000	+	63	6	20	12	15	2
	5000	+	0*	1*	0*	10	4*	1*
AF-2	0.01	-	362			84		
NaN ₃	0.5	-		51				
MMC	0.5	-			456			
2-NF	1.0	-					159	
9-AA	80.0	-						577
2-AA	2.0	+		195				
	20.0	+				431		
B (a)P	5.0	+	968		354		435	85

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃: sodium azide

MMC: mitomycin C

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

B (a)P: benzo (a)pyrene

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

復帰突然変異試験結果

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	79	12	138	12	16	4
検体	20	-	72	13	/	22	21	3
	39	-	77	12	134	16	21	3
	78	-	81	7	132	18	8	1
	156	-	43*	0*	92	11	4*	2*
	313	-	46*	0*	82	7*	8*	1*
	625	-	0*	0*	64*	8*	0*	0*
	1250	-	/	/	32*	/	/	/
対照 (DMSO)	0	+	90	21	148	17	28	7
検体	156	+	88	17	200	/	31	5
	313	+	77	19	196	16	31	8
	625	+	82	13	171	24	24	5
	1250	+	63	8	94	26	14	4
	2500	+	33*	5*	44*	21	6*	2*
	5000	+	0*	1*	13*	19	0*	0*
AF-2	0.01	-	348			95		
NaN ₃	0.5	-		63				
MMC	0.5	-			399			
2-NF	1.0	-					139	
9-AA	80.0	-						849
2-AA	2.0	+		230				
	20.0	+				522		
B (a)P	5.0	+	1067		313		463	72

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃: sodium azide

MMC: mitomycin C

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

B (a)P: benzo (a)pyrene

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

復帰突然変異試験 (追加試験)結果

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	—	75	5	19	5
検体	10	—	70	8	14	5
	20	—	68	5	20	5
	39	—	90	8	11	8
	78	—	75	7	17	5
	156	—	46*	1*	2*	1*
AF-2	0.01	—	409			
NaN ₃	0.5	—		47		
2-NF	1.0	—			133	
9-AA	80.0	—				897

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃: sodium azide

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

*: 菌の生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7.5 MCPA のチャイニーズハムスターの CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験
(資料 No. T-5.5)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の継代した株化細胞 CHL を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を調べた。

検体は培地に溶解して用いた。観察は1濃度あたり200個の分裂中期像について行い、短時間処理法及び連続処理法の2試験を行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期像の出現頻度の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いた CPA (シクロフォスアミド)及び MMC (マイトマイシン C)では染色体異常を示す分裂中期像出現頻度の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

染色体異常試験結果

方法	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (hr)	S9 Mix	観察 細胞数	倍数体 (%)	ギャップ	構造異常出現頻度 (%)							判定		
								染色分体型		染色体型		その他	合計				
								切断	交換	切断	交換		+G	-G			
短時間 処理法	無処理	0	6-18	-	200	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-		
		0		+	200	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	-	
	検体	500		-	200	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-	
		1000			200	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.5	-	
		2000			200	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
		500			+	200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		1000				200	1.0	0.5	0.5	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	1.5	-	
		2000				200	0.5	0.0	0.0	2.5	0.0	0.0	0.0	2.5	2.5	-	
	CPA	10		-	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		10			+	200	0.0	2.0	33.5	67.0	0.5	1.0	0.0	83.5	82.5	+++	
連続 処理法	無処理	0	24-0	-	200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
	検体	250			200	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	1.5	1.0	-		
		500			200	0.0	0.5	0.5	0.5	0.0	0.5	0.0	2.0	1.5	-		
		1000			200	0.5	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	0.5	-		
	MMC	0.05			200	1.5	2.5	11.5	18.5	1.0	1.0	0.0	34.0	31.5	++		
	無処理	0	48-0	-	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
	検体	250			200	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-		
		500			200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
		1000			200	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-		
	MMC	0.05			200	0.0	1.5	14.5	29.5	0.0	1.5	0.0	39.0	38.0	++		

+G: ギャップを含む -G: ギャップを除く

CPA: シクロfosファミド MMC: マイトマイシンC

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7.6 MCPA ナトリウム塩のチャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL)を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No.T-5.6)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度： 19.5% [MCP ソーダ塩]*

* : MCPA ナトリウム塩原体の代替については、抄録 p 78 を参照

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の継代した株化細胞 CHL を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を調べた。

検体は生理食塩液に溶解して用いた。観察は1濃度あたり100個の分裂中期像について行い、短時間処理法及び連続処理法の2試験を行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は連続処理法では、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期像の出現頻度の増加を示さなかった。短時間処理法の代謝活性化存在下では最高濃度において、染色体異常を示す分裂中期像が増加し、その出現率は10%であった。

一方、陽性対照として用いたMMC及びDMNでは染色体異常を示す分裂中期像出現頻度の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性を有するものと判断される。

染色体異常試験結果

方法	薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理 時間 (時間)	S9 Mix	観察 細胞数	倍数体 (%)	ギャップ	構造異常出現頻度 (%)						判定		
								染色分体型		染色体型		その他	合計			
								切断	交換	切断	交換		+G		-G	
短時間 処理法	生食	0	6-18	-	100	0	1	0	0	0	0	0	1	0	-	
		0		+	100	0	2	2	0	0	0	0	4	2	-	
	無処理	0		-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		0		+	100	1	2	1	1	0	0	0	4	2	-	
	検体	275		-	ND											
		550		-	100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		1100		-	100	1	1	0	0	0	0	0	1	0	-	
		2200		-	100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
		275		-	ND											
		550		+	100	3	0	1	0	0	0	0	1	1	-	
		1100		+	100	3	2	2	0	0	0	0	4	2	-	
		2200		+	100	1	3	3	8	0	0	0	13	10	+	
	DMN	0.4		-	100	2	0	0	0	0	1	0	1	1	-	
		0.4		+	100	1	3	25	39	0	0	0	50	49	+++	
連続 処理法	生食	0	24-0	-	100	1	1	0	0	0	0	0	1	0	-	
		0		-	100	3	1	1	0	0	0	0	2	1	-	
	検体	275		-	ND											
		550		-	100	1	1	0	0	0	0	0	1	0	-	
		1100		-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
		2200		-	100	2	0	0	1	0	0	0	1	1	-	
	MMC	0.05		-	100	3	7	23	24	1	0	0	44	41	++	
	生食	0		48-0	-	100	1	0	1	0	0	0	0	1	1	-
		0			-	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	検体	275			-	ND										
		550			-	100	0	1	0	0	0	0	0	1	0	-
		1100			-	100	1	0	2	0	0	0	0	2	2	-
		2200			-	100	2	1	1	0	0	0	0	2	1	-
	MMC	0.05			-	100	1	3	28	52	0	1	0	66	65	+++

ND : 観察を行わなかった。 +G : ギャップを含む -G : ギャップを除く

DMN : ジメチルニトロソアミン MMC : マイトマイシン C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7.7 MCPA エチル (純品)のチャイニーズハムスターCHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験
(資料 No.T-5.7)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター肺由来の継代した株化細胞 CHL を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を調べた。

検体は DMSO (ジメチルスルホキシド)に溶解して用いた。観察は 1 濃度あたり 200 個の分裂中期像について行い、短時間処理法及び連続処理法の 2 試験を行った。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期像の出現頻度の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いた CPA (シクロフォスアミド)及び MMC (マイトマイシン C)では染色体異常を示す分裂中期像出現頻度の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

染色体異常試験結果

方法	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (時間)	S9 Mix	観察 細胞数	倍数体 (%)	ギャップ	構造異常出現頻度 (%)						判定			
								染色分体型		染色体型		その他	合計				
								切断	交換	切断	交換		+G		-G		
短時間処理法	DMSO	0	6-18	-	200	0	0	0	0	0	0.5	0	0.5	0.5	-		
		0		+	200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
	無処理	0		-	200	1	0.5	0	0	0	0	0	0	0.5	0	-	
		0		+	200	0	0	1.5	0	0.5	0	0	1.5	1.5	-		
	検体	400		-	200	0.5	0.5	0	0.5	0	0	0	0.5	0.5	-		
		800		-	200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
		1600		Tox													
		400		+	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
	800	+		200	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0.5	0	-		
		1600		+	200	1	0.5	1	1	0	0	0	2	1.5	-		
		CPA		10	-	200	0	0	0.5	0	0	0	0.5	0.5	-		
	10	+		200	1	3.5	20	49	0	0.5	0	58	56.5	+++			
	連続処理法	DMSO		0	24-0	-	200	0	0	0.5	0	0	0	0	0.5	0.5	-
		無処理		0		-	200	0.5	0	0.5	0.5	0	0	0	1	1	-
検体		25	-	200		0	0.5	0.5	1	0.5	0	0	2.5	2	-		
		50	-	200		1.5	0	1	1.5	0.5	0	0	3	3	-		
		100	-	200		0	1.5	0.5	2.5	0	0	0	4.5	3	-		
MMC		0.05	-	200		0	5.5	19.5	35.5	1	0	0	56	52	+++		
DMSO		0	48-0	-		200	0.5	0.5	1	0	0	0.5	0	2	1.5	-	
無処理		0		-		200	1.5	0	0.5	0	0	0.5	0	1	1	-	
検体		25		-		200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
		50		-		200	0	0.5	0	0	0	0	0	0.5	0	-	
		100		-		200	0	0	0.5	1	0	0	0	1.5	1.5	-	
MMC		0.05		-		200	0	4.5	26	35.5	0.5	2	0	52	50.5	+++	

Tox: 毒性のため分裂細胞が認められなかった。 +G: ギャップを含む -G: ギャップを除く
 DMSO: ジメチルスルホキシド CPA: シクロフォスファミド MMC: マイトマイシン C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.7.8 MCPA エチルのチャイニーズハムスターの CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験
(資料 No. T-5.8)

試験機関

報告書作成年 1987 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の継代した株化細胞 CHL を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を調べた。

検体は DMSO (ジメチルスルホキシド)に溶解して用いた。観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について行い、短時間処理法及び連続処理法の 2 試験を行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は連続処理法では、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期像の出現頻度の増加を示さなかった。短時間処理法の代謝活性化存在下では最高濃度において、染色体異常を示す分裂中期像が増加し、その出現率は 5%であった。

一方、陽性対照として用いた DMN (ジメチルニトロソアミン)及び MMC (マイトマイシン C)では染色体異常を示す分裂中期像出現頻度の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において弱い染色体異常誘発性を有するものと判断される。

染色体異常試験結果

方法	薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理 時間 (hr)	S9-Mix	観察 細胞数	倍数体 (%)	ギャップ	染色体構造異常出現頻度 (%)						評価		
								染色分体型		染色体型		その他	合計			
								切断	交換	切断	交換		-G		+G	
連続 処理 法	DMSO	0	24-0	-	100	0	0	2	0	0	0	0	2	2	-	
	無処理	0		-	100	1	0	0	1	0	0	0	1	1	-	
	検体	100		-	100	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		200		-	100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		400		-	100	1	0	1	0	0	0	0	1	1	-	
	MMC	0.05		-	100	2	1	14	26	0	0	0	36	36	++	
	DMSO	0	48-0	-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
	無処理	0		-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
	検体	100		-	100	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		200		-	100	0	0	0	0	0	1	0	1	1	-	
		400		-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
	MMC	0.05		-	100	0	1	23	41	0	1	0	54	54	+++	
	短時間 処理 法	DMSO	0	6-18	-	100	1	1	0	0	0	0	0	1	-	
			0		+	100	2	0	0	0	0	0	0	0	-	
無処理		0	-		100	1	1	1	0	0	0	0	1	2	-	
		0	+		100	1	1	1	0	0	0	0	1	2	-	
検体		575	-		100	2	0	2	1	0	0	0	3	3	-	
		1150			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
		2300			100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
		575	+		100	1	1	1	2	0	0	1	2	3	-	
		1150			100	0	1	1	0	0	0	1	2	-		
		2300			100	0	1	3	2	0	0	5	5	±		
DMN		0.4	-		100	0	0	2	0	0	0	0	2	2	-	
		0.4	+		100	1	4	34	45	0	0	0	60	60	+++	

-G: ギャップを除く、+G: ギャップを含む

DMSO: ジメチルスルホキシド、MMC: マイトマイシン C、DMN: ジメチルニトロソアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.7.9 MCPA ナトリウム塩のマウスを用いた小核試験 (資料 No. T-5.9)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体純度： 19.5% [MCP ソーダ塩]*

* : MCPA ナトリウム塩原体の代替については、抄録 p 78 を参照

供試動物： ICR 系マウス、1 群雄 6 匹、7 週齢、体重 36.5~39.5 g

試験方法： 検体を蒸留水に溶解し、150, 300 及び 600 mg/kg/day の投与レベルにて単回経口投与した。なお、対照群に蒸留水を同様に投与した。投与後 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ染色し骨髓標本作製した。陽性対照群には、マイトマイシン C を 10 mg/kg で単回投与し、24 時間後に動物を屠殺して骨髓標本作製した。各標本について、1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。また細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

用量設定根拠：

試験結果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの投与群においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

表 小核試験成績

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg/day)	性	観察 動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) % (平均値±SD)
48	陰性対照 (蒸留水)	0	雄	6	0.10±0.09	51.2±3.05
	検体	150	雄	6	0.15±0.12	47.9±5.98
		300	雄	6	0.05±0.08	46.1±5.05
		600	雄	6	0.17±0.19	38.1±7.51**
24	陽性対照 (マイトマイシンC)	10	雄	6	4.68±2.08***	53.3±6.95

PCE : 多染性赤血球

NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球の割合

** : $p \leq 0.05$ (t 検定)

*** : $p \leq 0.01$ (Kastenbaum-Bowman の数表)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.7.10 MCPA エチルのマウスを用いた小核試験 (資料 No. T-5.10)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : BDF₁系マウス、1群雄6匹、9週齢、体重 24.2~27.5 g

試験方法 : 検体をオリーブ油に溶解し、100, 200 及び 400 mg/kg の投与量を単回強制経口投与した。なお、対照群にオリーブ油を同様に投与した。投与 24 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ染色し骨髓標本を作製した。陽性対照群には、マイトマイシン C の 2 mg/kg を単回腹腔内投与し、24 時間後に動物を屠殺して骨髓標本を作製した。各標本について、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した後、引き続き 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。

用量設定根拠 :

試験結果 : 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

いずれの投与群においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 小核試験成績

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg/day)	性	観察 動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) % (平均値±SD)
24	陰性対照 (オリーブ油)	0	雄	6	0.18±0.18	60.2±3.7
	検体	100	雄	6	0.22±0.13	62.4±3.5
		200	雄	6	0.12±0.04	58.6±2.2
		400	雄	6	0.23±0.10	52.3±2.2 ^{##}
	陽性対照 (マトマイシンC)	2	雄	6	5.85±0.95 ^{**}	45.9±7.4 ^{##}

PCE : 多染性赤血球

NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球の割合

** : p<0.01 (Kastenbaum-Bowman の数表)

: P<0.01 (Dunnett の t 検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.7.11 MCPA の細菌を用いた DNA 修復試験 (資料 No. T-5.11)

試験機関

報告書作成年 1977 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復能保持株 (H-17, rec⁺)及び欠損株 (M-45, rec⁻)を用い、ストリーク法により DNA 損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。

試験は 2000 µg/disk を最高用量とし、以下 1000、500、200、100、20 µg/disk の 6 用量とした。

結果の判定は両株の間に明らかな生育阻止域の差が認められた場合に陽性とした。

試験結果： 結果を次表に示した。

検体は両菌株間に生育阻止域の差を生じさせなかった。

一方、陽性対照の MMC は両菌株間に明らかな生育阻止域の差を生じさせた。陰性対照の KM は両菌株に同程度の生育阻止域が認められた。

結論： 以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有しないと判断される。

表 DNA 修復試験成績

薬物	濃度 (µg/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)	0	0.0	0.0	0.0
検体	20	0.0	0.0	0.0
	100	0.0	0.0	0.0
	200	0.0	0.0	0.0
	500	<1.0	0.0	<1.0
	1000	1.0	<1.0	<1.0
	2000	2.0	1.0	1.0
陰性対照 KM	10	8.0	7.0	1.0
陽性対照 MMC	0.1	9.0	2.0	7.0

KM : Kanamycin

MMC : Mitomycin C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.7.12 MCPA ナトリウム塩の細菌を用いた DNA 修復試験 (資料 No. T-5.12)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度： 19.5% [MCP ソーダ塩]*

* : MCPA ナトリウム塩原体の代替については、抄録 p 78 を参照

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組替修復能保持株 (H-17, rec⁺)及び欠損株 (M-45, rec⁻)を用い、孢子法により代謝活性化の存在下および非存在下で DNA 損傷の誘発性を検定した。検体は蒸留水に溶解して用いた。
試験は 8000 µg/disk を最高用量として 5 用量 (500~8000 µg/disk)とし、試験は 2 連制で行った。
結果の判定は両株の間に 5 mm 以上の生育阻止域の差が認められた場合に陽性とした。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。
検体は代謝活性化の有無に関わらず、最高用量の 8000 µg/disk で 5 mm 以上の生育阻止の差が生じた。
一方、陽性対照の MMC (代謝活性化の非存在下)及び 2AA (代謝活性化の存在下)では両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた。陰性対照の KM (代謝活性化の非存在下)および SM (代謝活性化の存在下)では両菌株に同程度の生育阻止帯が認められた。

結論： 以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

表 DNA 修復試験成績

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S9 Mix の有無	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
溶媒対照 (蒸留水)	0	—	0.0	0.0	0.0
検体	500	—	0.0	0.0	0.0
	1000	—	0.0	0.0	0.0
	2000	—	0.0	0.0	0.0
	4000	—	2.7	0.0	2.7
	8000	—	5.2	0.0	5.2
陰性対照 KM	10	—	11.2	11.4	0.2
陽性対照 MMC	0.01	—	5.4	0.0	5.4
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	0	0.0	0.0
検体	500	+	0.0	0.0	0.0
	1000	+	0.0	0.0	0.0
	2000	+	1.1	0.0	1.1
	4000	+	3.1	0.0	3.1
	8000	+	6.6	0.0	6.6
陰性対照 SM	20	+	9.7	9.1	0.6
陽性対照 2AA	100	+	5.4	0.0	5.4

生育阻止帯の差 (2 連制の平均)を示した。

KM : Kanamycin

MMC : Mitomycin C

SM : Streptomycin

2AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.7.13 MCPA エチル (純品)の細菌を用いた DNA 修復試験 (資料 No. T-5.13)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組替修復能保持株 (H-17, rec⁺)及び欠損株 (M-45, rec⁻)を用い、孢子法により代謝活性化の存在下および非存在下で DNA 損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。

試験は 10000 µg/disk を最高用量として 5 用量 (625~10000 µg/disk)とし、試験は 1 連制で行った。

結果の判定は検体の用量-反応相関から最小生育阻止濃度 (MIC) MICrec⁺および MICrec⁻を求め、DNA 傷害度【MICrec⁺/MICrec⁻】が 2 以上の時に陽性とした。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次表に示した。

検体は代謝活性化の非存在下ではいずれの菌株においても生育阻止は認められなかった。

代謝活性化の存在下では 1250 µg/disk 以上の用量で生育阻止が認められたが、DNA 傷害度は 1.1 (MICrec⁺ 419 µg/disk、MICrec⁻ 383 µg/disk)であり、陽性判定基準の 2 未満であった。

一方、陽性対照の AF-2 (代謝活性化の非存在下)および 2AA (代謝活性化の存在下)では両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた。陰性対照の KM (代謝活性化の非存在下)では両菌株に同程度の生育阻止帯が認められた。

結論 : 以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有さないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

表 DNA 修復試験成績

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S9 Mix の有無	阻止帯の径 (mm)	
			M-45	H-17
溶媒対照 (DMSO)	0	—	0.0	0.0
検体	625	—	0.0	0.0
	1250	—	0.0	0.0
	2500	—	0.0	0.0
	5000	—	0.0	0.0
	10000	—	0.0	0.0
陰性対照 KM	10	—	6.0	6.0
陽性対照 AF-2	0.001	—	3.5	0
溶媒対照 (DMSO)	0	+	0.0	0.0
検体	625	+	0.0	0.0
	1250	+	1.7	1.5
	2500	+	2.5	2.1
	5000	+	3.0	2.4
	10000	+	3.5	2.8
陽性対照 2AA	5	+	4.3	0.0

KM : Kanamycin

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

2AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.7.14 MCPA エチルの細菌を用いた DNA 修復試験 (資料 No. T-5.14)

試験機関

報告書作成年 1987 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組替修復能保持株 (H-17, rec⁺)及び欠損株 (M-45, rec⁻)を用い、胞子法により代謝活性化の存在下および非存在下で DNA 損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。
試験は代謝活性化の存在下では 50~800 µg/disk の範囲で 5 用量、代謝活性化の非存在下では 500~8000 µg/disk の 5 用量とし、試験は 2 連制で行った。
結果の判定は両株の間に 5 mm 以上の生育阻止域の差が認められた場合に陽性とした。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。
検体は代謝活性化の有無に関わらず、両菌株の生育阻止域に 5 mm 以上の差を生じなかった。
一方、陽性対照の MMC (代謝活性化の非存在下)及び 2AA (代謝活性化の存在下)では両菌株間に明らかな生育阻止域の差を生じさせた。陰性対照の KM (代謝活性化の非存在下)および SM (代謝活性化の存在下)では両菌株に同程度の生育阻止域が認められた。

結論： 以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有さないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 DNA 修復試験成績

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S9 Mix の有無	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	0.0	0.0	0.0
検体	500	—	0.0	0.0	0.0
	1000	—	0.0	0.0	0.0
	2000	—	0.0	0.0	0.0
	4000	—	0.0	0.0	0.0
	8000	—	2.3	1.4	0.9
陰性対照 KM	10	—	13.1	11.5	1.6
陽性対照 MMC	0.01	—	3.9	0.0	3.9
溶媒対照 (DMSO)	0	+	0.0	0.0	0.0
検体	50	+	0.0	0.0	0.0
	100	+	0.0	0.0	0.0
	200	+	0.0	0.0	0.0
	400	+	2.6	0.9	1.7
	800	+	3.5	1.8	1.7
陰性対照 SM	20	+	10.5	10.0	0.5
陽性対照 2AA	100	+	5.4	0.0	5.4

生育阻止帯の差 (2 連制の平均)を示した。

KM : Kanamycin

MMC : Mitomycin C

SM : Streptomycin

2AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.7.15 MCPA の宿主経由試験 (資料 No. T-5.15)

試験機関

報告書作成 1977 年

検体純度 :

供試動物 : ICR 系マウス、7 週齢、1 群雄 6 匹

試験方法 : 検体を 5%アラビアゴムに懸濁し、50 および 200 mg/kg の投与用量を用いて 24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。なお、対照群には 5%アラビアゴムを投与した。2 回目投与直後に対数増殖期の *S. typhimurium* ヒスチジン要求性菌株 G46 をマウス腹腔内に注入した。3 時間後にマウスを頸椎脱臼により屠殺し腹腔内菌液を回収した後、復帰変異コロニー数と生存菌数を調べるため試験操作を行い最小寒天培地に上層した。37°C で 2 日間培養した後、復帰変異コロニー数および生菌数を計数した。陽性対照群は DMN を単回強制経口投与した。
また、G46 株を用いて *in vitro* 復帰突然変異試験を行った。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次頁の表 1 および表 2 に示した。

宿主経由試験において検体投与群は溶媒対照群と比較して復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群として用いた DMN 投与群では溶媒対照群と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

また、G46 株を用いた *in vitro* 復帰変異試験では、溶媒対照群と比較して復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた β -propiolactone では陰性対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体は復帰突然変異誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

表1 宿主経由試験成績

薬物	投与量 (mg/kg)	動物数	復帰変異 コロニー数/mL	生存菌数 ×10 ⁸ /mL	復帰変異コロニー数 /10 ⁸ 生存菌数 (平均±S.D.)
陰性対照 (5%アラビアゴム)	0	6	12.5	54.1	0.23±0.02
検体	50×2	6	17.2	47.3	0.36±0.12
	200×2	6	15.6	42.7	0.36±0.13
陽性対照 (DMN)	50	6	2389.3	38.5	64.1±30.3**

** : p<0.01

DMN : dimethylnitrosamine

表2 G46株を用いた復帰突然変異試験成績

薬物	濃度 (µg/plate)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/plate (2枚の平均値)
溶媒対照 (DMSO)	0	—	3
検体	1	—	6
	10	—	3
	50	—	4
	100	—	7
	500	—	3
	1000	—	1
	5000	—	*
β-propiolactone	1000	—	59

* : 生育阻害

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.8 生体機能影響

8.8.1 MCPA の生体の機能に及ぼす影響に関する試験 (資料 No. T-6.1)

試験機関

報告書作成年 1988 年

検体純度 :

試験期間 : 1987 年 12 月 16 日 ~ 1988 年 3 月 31 日

1) マウス及びウサギの中樞神経系に対する作用

(1) マウスにおける一般状態

供試動物 : ddy 系マウス、5 週齢、体重 23.5 ~ 29.0 g、1 群雄 5 匹

投与方法 : 検体を 0.5% CMC-Na に懸濁し、0、100、300 及び 1000 mg/kg を単回強制経口投与した。投与後 3 時間までと以後 5 及び 24 時間後に Irwin の方法に準じてマウスの行動を観察した。

試験結果 : 1000 mg/kg では投与 1 ~ 5 時間後に腹臥姿勢、自発運動能低下、警戒心低下、同側性屈曲反射亢進、疼痛反応亢進、耳介反射亢進、感覚機能低下、筋弛緩、呼吸促拍、体温低下及び振戦あるいはピクツキが認められ、投与後 27 時間以内に全例が死亡した。300 mg/kg では投与後 30 分より同側性屈曲反射亢進が、1 ~ 5 時間後に軽度歩行失調、筋弛緩及び正向反射低下が認められた。これらの症状は 24 時間後には回復した。100 mg/kg では変化は認められなかった。

(2) ウサギの体温に対する作用

供試動物 : 日本白色種ウサギ、体重 2.35 ~ 3.25 kg、1 群雄 5 匹

投与方法 : 検体を 0.5% CMC-Na に懸濁し、0、100、300 及び 1000 mg/kg を単回強制経口投与した。体温は投与前、投与後 30、60、120 及び 180 分に直腸温を測定した。

試験結果 : 投与 180 分後までの体温はいずれの投与群においても対照群と同等であり、検体投与による影響は認められなかった。1000 mg/kg 投与群の動物は投与 2 ~ 3 時間後にふらつき歩行、翌日には腹臥あるいは側臥姿勢を示し、3 日後までに全例が死亡した。

2) ウサギの呼吸、循環器系に対する影響

(1) ウサギの麻酔下に於ける呼吸、血圧、心拍数及び心電図に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、体重 2.00～2.50 kg、1 群雄 3 匹

試験方法：ペントバルビタールナトリウム及びウレタン麻酔下のウサギの気管及び大動脈にカニューレを挿入し、検体の 0.5% CMC-Na 懸濁液を 0、100、300 及び 1000 mg/kg で単回強制経口投与した。投与前及び投与 120 分後まで、呼吸、血圧、心拍数及び心電図を測定した。

試験結果：いずれの投与群においても検体の投与に起因する変化は認められなかった。

3) ウサギ及びモルモットの自律神経系に対する作用

(1) ウサギの瞳孔径に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、体重 2.10～2.40 kg、1 群雄 5 匹

試験方法：検体を 0.5% CMC-Na に懸濁し、0、100、300 及び 1000 mg/kg を単回強制経口投与した。投与前、投与後 30、60、120 及び 180 分に瞳孔径を測定した。

試験結果：いずれの投与群においても検体の投与に起因すると思われる瞳孔径の変化は認められなかった。1000 mg/kg 投与群の動物は投与 120 分後にふらつき歩行を示し、翌日に 4/5 例、3 日後に残り 1 例が死亡した。

(2) ウサギの摘出回腸の自動運動に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、体重 2.2～2.3 kg、1 群雄 3 匹

試験方法：脱血屠殺後回腸を摘出して空気を通じた Tyrode 液中に懸垂し、10% DMSO/Tyrode 液に溶解した検体を 0、 1×10^{-7} 、 1×10^{-6} 及び 1×10^{-5} g/mL の濃度で滴下した。検体溶液滴下後 10 分間、アイソトニックトランスデューサーを介して筋の収縮を測定した。

試験結果： 1×10^{-7} 及び 1×10^{-6} g/mL では検体に起因すると思われる変化は認められなかった。 1×10^{-5} g/mL では軽度な収縮高の減少が認められた。

(3) モルモットの摘出回腸の各アゴニストに対する作用

供試動物：Hartley 系モルモット、体重 410～490 g、1 群雄 5 匹

試験方法：脱血屠殺後回腸を摘出して空気を通じた Tyrode 液中に懸垂し、アイソトニックトランスデューサーを介して筋の収縮を測定した。10% DMSO/培地に溶解した検体を 0、 1×10^{-7} 、 1×10^{-6} 及び 1×10^{-5} g/mL の濃度で滴下し、3 分間検体単独の作用を観察した後、さらに各種アゴニスト (アセチルコリン 1×10^{-7} g/mL、ヒスタミン 1×10^{-6} g/mL、塩化バリウム 1×10^{-4} g/mL) を処置して筋収縮を測定した。

試験結果：いずれの濃度群においても検体の単独作用はなく、また各アゴニストに対する作用も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

4) マウス及びラットの消化管に対する作用

(1) マウスの炭末輸送能に対する作用

供試動物：ddY系マウス、5週齢、体重25.5～29.5g、1群雄10匹

試験方法：検体を0.5% CMC-Naに懸濁し0、100、300及び1000 mg/kgの投与用量で単回強制経口投与した。検体投与1時間後に5%炭末（炭素末/10%アラビアゴム）を0.1 mL/マウスの用量で経口投与した。炭末投与30分後に屠殺して小腸全長に対する炭末先進部の移行率を測定した。

試験結果：いずれの投与群においても検体の投与に起因すると思われる有意な変化は認められず、炭末輸送能に作用を及ぼさなかった。

(2) ラットの胃粘膜刺激作用

供試動物：Wistar系ラット、6～7週齢、体重134～148g、1群雄6匹

試験方法：検体を0.5% CMC-Naに懸濁し0、100、300及び1000 mg/kgの投与用量で約24時間絶食したラットに単回強制経口投与した。検体投与6時間後に脱血屠殺し、胃、十二指腸の内壁の障害の程度を1%ホルマリンに固定後肉眼的に観察した。

試験結果：1000 mg/kg投与群では腺胃部のびらん及び出血性潰瘍が、300 mg/kg投与群では腺胃部のびらんが認められた。100 mg/kg投与群では検体に起因する変化は認められなかった。

5) 血液に対する影響

(1) 血液凝固に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、6～7週齢、体重120～128g、1群雄6匹

試験方法：検体を0.5% CMC-Naに懸濁し0、100、300及び1000 mg/kgの投与用量で単回強制経口投与し、1時間後にエーテル麻酔下で腹部大静脈より採血した。クエン酸を加えて遠心分離して得た血漿について、フィブrometerを用いてプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

試験結果：いずれの投与群においても検体に起因する変化は認められなかった。

(2) 溶血作用

供試動物：日本白色種ウサギ、体重2.75～3.30 kg、1群雄3匹

試験方法：耳介静脈より採血してクエン酸加血液とした後、赤血球浮遊液を調製した。検体を10% DMSO/培地に0、 1×10^{-6} 、 1×10^{-5} 及び 1×10^{-4} g/mLの濃度で溶解した溶液5 mLに赤血球浮遊液0.25 mLを加え、37°Cで2時間インキュベート後遠心分離し、ダブルビーム分光光度計を用いて540 nmで測定した。

試験結果： 1×10^{-6} 及び 1×10^{-5} g/mLでは検体に起因すると思われ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、2, 4-D協議会にある。

1×10^{-4} g/mL では平均 35%の溶血が認められた。

6) ラットの骨格筋に対する影響

(1) ラットの坐骨神経腓腹筋に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、6～7週齢、体重144～183g、1群雄5匹

試験方法：ウレタン麻酔下のラットを背位固定し、気管カニューレを装着した。腓腹筋を踵部で切断して逆位端をFD・ピックアップに連結した。坐骨神経を露呈切断後、末梢側にスライド式双極電極を付け、電気刺激を与えて腓腹筋の収縮を測定した。測定は検体投与前より投与後2時間まで行なった。検体は0.5% CMC-Naに懸濁し0、100、300及び1000 mg/kgを単回強制経口投与した。

試験結果：いずれの投与群においても検体に起因すると思われる有意な変化は認められなかった。

以上の試験から、本剤は1000 mg/kgという致死量では中枢興奮作用が顕著に認められたが、その他呼吸・循環系、自律神経系、消化管、血液、骨格筋に対する作用は認められず、致死量の1/3量の300 mg/kgでは中枢興奮作用のみが認められ、1/10量の100 mg/kgでは、生体機能に及ぼす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、2, 4-D協議会にある。

8.8.2 MCPA の静脈内投与による行動観察並びに呼吸・血圧・心電図に及ぼす影響に関する試験
(資料 No. T-6.2)

試験機関

報告書作成年 1995 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験期間： 1994 年 11 月 18 日～1994 年 12 月 7 日

【ウサギにおける一般症状】

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 2.02～2.32 kg、1 群雄 3 匹

投与方法： 検体を NaOH 水溶液で可溶化した後、HCl 水溶液で pH 約 11 になるように調製し、投与容量 2 mL/kg で 0, 6.25, 25, 100 及び 400 mg/kg の用量を翼付注射針を用いて耳静脈より静脈投与した。投与前、投与後 1 分、30 分、1、3、6 時間目及び投与翌日以降は毎日、4 日目まで一般症状を多元観察した。

試験結果： 400 mg/kg の投与群において、体性神経系項目、自律神経系項目に中枢興奮や非特異的な抑制を示唆する症状が認められ、全例が投与後 30 分以内に死亡した。100 mg/kg の投与群においては異常歩調が認められたが、投与後 6 時間以内に正常に回復した。25 mg/kg 以下の投与群では、検体投与に起因する症状は認められなかった。

投与量 (mg/kg)	症 状	死亡
0	なし	0/3
6.25	なし	0/3
25	なし	0/3
100	異常歩調	0/3
400	自発運動の低下、四肢筋緊張の亢進、腹筋緊張の亢進、瞳孔反射の低下、角膜反射の低下、肛門反射の低下、皮膚反射の低下、跳び反射の低下、間代性痙攣、強直性痙攣、瞳孔径の低下(縮瞳)、呼吸数の減少、心拍数の減少及び低下粘膜色の低下	3/3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2, 4-D協議会にある。

【ウサギの呼吸、循環器系に対する影響】

ウサギの麻酔下に於ける呼吸、血圧及び心電図に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 2.05～2.50 kg、1 群雄 3 匹

試験方法： 検体を NaOH 水溶液で可溶化した後、HCl 水溶液で pH 約 11 になるように調製し、投与容量 2 mL/kg で 0, 25, 100, 200 及び 400 mg/kg の用量を翼付注射針を用いて耳静脈より静脈投与した。投与後 4 時間まで、呼吸、血圧及び心電図を測定した。

試験結果： 400 mg/kg 投与群において呼吸数、血圧及び心拍数の低下が認められ、投与 1 分後には詳細な検討は不可能であったが著明な RR 時間の延長が観察された。同投与群の動物は、投与 10 分以内に全例が死亡した。200 mg/kg 投与群においては呼吸数、血圧及び心拍数の低下が認められ、投与 1 分後に TP 時間の延長による RR 時間の延長が観察されたが、投与 1 時間後にはほぼ回復した。100 mg/kg 投与群においては呼吸数、血圧及び心拍数の低下が認められたが、投与 1 時間後にはほぼ回復した。25 mg/kg 投与群には検体に起因する変化は認められなかった。

投与量(mg/kg)	呼吸数	血圧	心電図	死亡
0	影響なし	影響なし	影響なし	0/3
25	影響なし	影響なし	影響なし	0/3
100	低下	血圧低下 心拍数低下	影響なし	0/3
200	低下	血圧低下 心拍数低下	TP 時間延長 RR 時間延長	0/3
400	低下	血圧低下 心拍数低下	RR 時間延長 (詳細検討不能)	3/3

以上の結果より、本剤は雄ウサギへの静脈内投与では、致死量近傍の用量で中枢興奮や異常症状が発現するが、それらは可逆的であることが示唆された。また、致死量の 1/4 である 100 mg/kg 以上の投与用量で呼吸・循環器系の異常が認められた。

MCPA の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 (1/2 頁)

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量	動物数 /群	作用量	無作用量
中枢神経系 一般状態 [Irwin 法]	マウス	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 5	300 mg/kg	100 mg/kg
中枢神経系 一般状態 [多元観察法]	ウサギ	静脈注射 (NaOH 水溶液で 溶解後、HCl 溶液 で pH11 に調整)	0, 6.25, 25, 100, 400 mg/kg	雄 3	100 mg/kg	25 mg/kg
中枢神経系 体温	ウサギ	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 5	体温 : なし 試験全体 : 1000 mg/kg	体温 : 1000 mg/kg 試験全体 : 300 mg/kg
呼吸・ 循環器系 呼吸、血圧、 心拍数、 心電図	ウサギ (麻醉下)	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 3	なし	1000 mg/kg
呼吸・ 循環器系 呼吸、血圧、 心電図	ウサギ (麻醉下)	静脈注射 (NaOH 水溶液で 溶解後、HCl 溶液 で pH11 に調整)	0, 25, 100, 200, 400 mg/kg	雄 3	呼吸・血圧 : 100 mg/kg 心電図 : 200 mg/kg	呼吸・血圧 : 25 mg/kg 心電図 : 100 mg/kg

MCPAの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 (2/2 頁)

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量	動物数 /群	作用量	無作用量
自律神経系 瞳孔径	ウサギ	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 5	瞳孔径： なし 試験全体： 1000 mg/kg	瞳孔径： 1000 mg/kg 試験全体： 300 mg/kg
					結果の概要；1000：ふらつき歩行、全例死亡	
自律神経系 摘出回腸 自発運動	ウサギ	<i>in vitro</i>	0, 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} g/mL	雄 3	1×10^{-5} g/mL	1×10^{-6} g/mL
自律神経系 摘出回腸の アゴニストに対 する作用	モルモット	<i>in vitro</i>	0, 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} g/mL	雄 5	なし	1×10^{-5} g/mL
消化管 炭末輸送能	マウス	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 10	なし	1000 mg/kg
消化管 胃粘膜 刺激作用	ラット	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 6	300 mg/kg	100 mg/kg
血液系 血液凝固	ラット	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 6	なし	1000 mg/kg
血液系 溶血作用	ウサギ	<i>in vitro</i>	0, 1×10^{-6} , 1×10^{-5} , 1×10^{-4} g/mL	雄 3	1×10^{-4} g/mL	1×10^{-5} g/mL
骨格筋 坐骨神経 腓腹筋に 対する作用	ラット (麻酔下)	経口 (CMC)	0, 100, 300, 1000 mg/kg	雄 5	なし	1000 mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9 製剤毒性

8.9.1 MCPA ナトリウム塩液剤

8.9.1.1 MCP ソーダ塩のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.1)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度: MCP ソーダ塩

試験動物: SD系 (CD)ラット、8週齢、絶食前体重 雄 258~303 g、雌 211~257 g

1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

試験方法: 固定用量法

投与方法: 検体は入手したままの状態です定量を単回経口投与した。動物は投与前約18時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 1700、2500、3500、5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 4200 (2855~5515) 雌 3000 (2234~3766)
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与後 23時間頃/2日 雌 投与後 4時間頃/3日
症状発現時間及び消失時間	雄 投与後 1時間/9日 雌 投与後 1時間/5日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄 2500 雌 1700

死亡率:

投与量 (mg/kg)		1700	2500	3500	5000
死亡率	雄	0/5	0/5	2/5	3/5
	雌	0/5	1/5	4/5	5/5

臨床症状: 運動失調、呼吸障害(湿性ラッセル音、不規則呼吸、過呼吸および/または減呼吸)、部分閉眼、活動低下が投与日に全群で認められ、高投与群では振戦、衰弱を示し、死亡に至った。

剖検所見: 死亡例では、主として肺の変色、胃腸の着色液状物、壁の退色であった。生存例

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

において著変は認められなかった。

8.9.1.2 MCP ソーダ塩のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.2)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度: MCP ソーダ塩

試験動物: ICR系 (CD-1)マウス、5~8週齢、絶食前体重 雄 25~30g、雌 20~28g
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

試験方法: 固定用量法

投与方法: 入手した状態のままの検体を用い、設定投与量を単回経口投与した。動物は投与前約18時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状、体重及び生死について定時的に14日間観察、測定した。死亡動物ならびに観察期間終了時全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 1000、2000、3000、4000、8000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 2700 (1987~3413)
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 投与後1時間/2日目
症状発現時間及び消失時間	雄 投与1時間後/6日目 雌 投与1時間後/3日目
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

死亡率:

投与量 (mg/kg)		1000	2000	3000	4000	8000
死亡率	雄	0/5	0/5	4/5	5/5	5/5
	雌	0/5	0/5	4/5	5/5	5/5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

臨床症状： 投与日には全ての群の動物において、運動失調、振戦、呼吸障害（呼吸低下、呼吸数増加、頻呼吸、呼吸困難、湿性ラッセル音及び不規則呼吸）、口からの分泌物、尿着色、低体温、活動低下、部分閉眼及び衰弱などが認められ、さらに高じて死亡に至った。2000 mg/kg の雄の 1/5 例に鼻周囲排泄物が認められ、また 3000 mg/kg 群では大部分の動物に腹痛様症状が認められた。雄の生存動物では投与 6 日目、雌の生存動物では投与 3 日目から試験終了日まで、異常は観察されなかった。

剖検所見： 死亡例には、胃や小腸の着色液状物質、壁の退色が認められ、また検体も散見された。生存例では著変は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.1.3 MCP ソーダ塩のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-1.3)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度: MCP ソーダ塩

供試動物: SD系 (CD)ラット、8週齢、絶食前体重 雄 307~359 g、雌 235~244 g
雌雄各5匹

観察期間: 14日間観察

投与方法: 胴の刈毛した無傷の定面積皮膚に、入手したままの状態の検体を所定量処理し、ガーゼで覆って24時間暴露後除去し、処理部位の余剰の検体を拭き取った。

観察・検査項目: 14日間にわたって定時的に体重測定、中毒症状ならびに処理部位における影響の程度につき測定、観察した。試験終了時全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

中毒症状: 投与期間中、特記すべき症状は認められなかった。

剖検所見: 主要な組織器官に著変は認められなかった。また、投与部位の皮膚に刺激性変化およびその他の異常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2, 4-D協議会にある。

8.9.1.4 MCP ソーダ塩のラットにおける急性吸入毒性 (資料 No. TF-1.4)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度： MCP ソーダ塩

供試動物： SD系 (CD)ラット、雄 7~8 週齢、雌 9~12 週齢、
体重：雄 228~280 g、雌 180~247 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間観察

暴露方法： 等量の蒸留水で希釈した検体から空気噴霧ノズル(1/4 インチ JSS Spraying Systems nozzle)を用いてミストを発生させ、4 時間全身暴露させた。なお、3.6 mg/L はミスト発生可能な最高濃度であった。ガラス繊維フィルターを用いて暴露空気を捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件：

設定濃度 (mg/L)	126	56	75
実際濃度 (mg/L)	3.6	2.1	2.3
空気力学的質量中位径 (μm)*	5.1 \pm 2.1	4.1 \pm 1.9	3.9 \pm 1.8
呼吸可能な粒子 ($\leq 10\mu\text{m}$) の割合 (%)	82 (79~85)	91 (87~95)	94 (87~95)
チャンバー容積 (L)	100		
チャンバー内通気量 (L/分)	20		
暴露条件	ミスト、4 時間、全身暴露		

*：4 回測定の平均 \pm SD

観察・検査項目：暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状ならびに生死を観察した。死亡動物ならびに観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

試験結果：

投与方法	吸入
暴露濃度 (mg/L)	2.1、2.3、3.6
LC ₅₀ (mg/L)	雄 >3.6 雌 2.3~3.6
死亡開始時間及び終了時間	暴露後2日から開始、暴露後3日に終了
症状発現及び消失時間	暴露後2時間から発現、暴露後6日に消失
毒性徴候の認められなかった最高暴露濃度 (mg/L)	<2.1
死亡例の認められなかった最高暴露濃度 (mg/L)	2.3

死亡率：

投与量 (mg/kg)		2.1	2.3	3.6
死亡率	雄	0/5	0/5	0/5
	雌	0/5	0/5	3/5

中毒症状は、雌雄に関係なく、暴露中は流涎、眼の局部的閉塞および活動低下が観察され、死亡例では振戦、よろめき歩行がみられた。

肉眼的病理検査では、死亡例、生存例ともに肺の変色、腎盂の拡張が散発的に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.1.5 MCP ソーダ塩のウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 No. TF-1.5)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度: MCP ソーダ塩

供試動物: ニュージーランド白色種ウサギ、8週齢、雄、体重 1.82~1.86 kg、一群 6匹

観察期間: 12日間

試験方法: 背部被毛を刈毛し、市販脱毛剤を用いて脱毛した。脱毛 24 時間後に、背部正中線の左右それぞれに 2.5 cm 四方の擦過部位と非擦過部位 1 部位ずつ合計 4 部位を設けた。擦過皮膚及び非擦過皮膚の各 1 部位ずつ合計 2 部位に、検体 0.5 mL をリント布を用いて適用し半閉塞貼付した。他の 2 部位はリント布のみを貼付し、無処置対照部位とした。暴露時間は 4 時間とし、残った検体は微温水を用いて拭き取った。

観察項目: 暴露開始の 4.5、24、48、72 時間及び 7、12 日後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮形成、浮腫)の有無を観察し、農水省ガイドライン評価基準に従って採点した。

試験結果: 観察した刺激性変化の採点結果は次頁の表のとおりである。

暴露開始 4.5 時間から 24 時間後より、4/6 例の擦過部位に軽度の紅斑 (評点 1)が認められた。1/6 例には被験物質暴露に起因する出血を伴った高度の紅斑が見られ、その周縁部では浮腫 (評点 1、2)

が認められ、その障害の大きさは暴露範囲の約 1/3 であった。

一方、非擦過部位においても 4/6 例に軽度の紅斑 (評点 1)が認められた。

これらの傷害は次第に硬度を増し、表皮剥離の後、7 日後に回復したが、傷害の強かった 1/6 例の擦過部位では、2 回の痂皮形成が認められ、その回復までに 12 日を要した。

以上の結果から、MCP ナトリウムはウサギの皮膚に対し、軽度の刺激性を有するものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 皮膚反応の評価点

動物 番号	観察項目	最高 評点	暴露開始後における皮膚反応評点											
			擦過部						非擦過部					
			4.5 時 間	24 時 間	48 時 間	72 時 間	7 日	12 日	4.5 時 間	24 時 間	48 時 間	72 時 間	7 日	12 日
1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	—	1	1	1	1	0	—
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	—	0	0	0	0	0	—
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	1	1	1	0	—	0	1	1	1	0	—
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	—	0	1	1	1	0	—
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	—	0	0	0	0	0	—
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	3	3	3	3	2	0	1	1	1	1	0	0
	浮腫	4	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	6	7	7	7	2	0	2	4	4	4	0	0
	浮腫	24	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1	1.2	1.2	1.2	0.3	0	0.3	0.7	0.7	0.7	0	0
	浮腫	4	0.2	0.3	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.1.6 MCP ソーダ塩の希釈液によるウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (資料 No. TF-1.6)

試験機関

報告書作成年 1987 年 [GLP 対応]

検体純度： MCP ソーダ塩 の 10 倍水希釈液

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ、雄、8 週齢、体重 1.70~1.86 kg、1 群 6 匹

試験期間： 1986 年 11 月 13 日~1987 年 1 月 10 日

観察期間： 12 日間

試験方法： 背部被毛を刈毛し、市販脱毛剤を用いて脱毛した。脱毛 24 時間後に、背部正中線の左右それぞれに 2.5 cm 四方の擦過部位と非擦過部位 1 部位ずつ合計 4 部位を設けた。擦過皮膚及び非擦過皮膚の各 1 部位ずつ合計 2 部位に、検体 0.5 mL をリント布を用いて適用し半閉塞貼付した。他の 2 部位はリント布のみを貼付し、無処置対照部位とした。暴露時間は 4 時間とし、残った検体は微温水を用いて拭き取った。

観察項目： 暴露開始の 4.5、24、48、72 時間後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮形成、浮腫)の有無を観察し、農水省ガイドライン評価基準に従って採点した。

試験結果： 投与 4.5 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間後における全例の擦過部位及び非擦過部位ともに、投与皮膚部位に対する紅斑、浮腫及び皮膚温度について異常な所見は何ら認められなかった。

以上の結果から、MCP ナトリウムの希釈液はウサギの皮膚に対し、刺激性はないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、2,4-D協議会にある。

8.9.1.7 MCP ソーダ塩のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-1.7)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度： MCP ソーダ塩

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ、雄、8週齢、体重 1.84~2.00 kg、
非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間： 21 日間

試験方法： 右眼下眼瞼の結膜嚢に検体 0.1 mL を適用し、1 秒間両眼瞼を穏やかに合せ保持した。
6 匹を非洗眼群、3 匹を洗眼群とし、洗眼群は被験物質適用 3 分後に微温湯で 1 分
間洗眼した。非処置眼 (左眼) は対照眼とした。

観察項目： 検体適用の 1、24、48、72 時間及び 7、14、21 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変
化を観察し、農水省ガイドラインの判定基準に従って採点した。

試験結果： 観察した眼の刺激性変化の採点結果を次ページの表に示す。
投与 1 時間後には非洗眼群と洗眼群の全例の角膜に混濁及び浮腫、多くの例に剥離
が認められた。角膜の浮腫は持続して認められ、剥離は数回繰り返す、その結果混
濁の程度は軽減し、回復までに 48 時間から 14 日を要した。虹彩では投与 1 時間後
より血管拡張が認められるようになり、非洗眼群では 7 日後、洗眼群では 14 日後に
回復した。結膜及び瞬膜においては、24 時間から 72 時間後に浮腫はほぼ回復した
が、逆に出血が顕著となった。試験終了時の 21 日後には非洗眼群では 2/6 例、洗眼
群では 1/3 例が回復したが、残りの例には結膜における血管拡張と瞬膜の辺縁部及
び眼球結膜に一部炎症反応が残って認められた。非洗眼群及び洗眼群の間には眼に
対する障害の程度に大差が認められなかった。

以上の結果から、MCP ソーダ塩は、ウサギの眼粘膜に対して重度の刺激性を有する
ものと判断される。適用後の眼洗浄効果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2, 4-D協議会にある。

表 眼の刺激性反応評価成績

動物番号	観察項目	最高 評点	適用後時間							
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	14 日	21 日	
非 洗 眼 群	1	角膜	4	1	1	0	0	0	0	0
		虹彩	2	0	1	1	1	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	1	2	2	1	1	1
			4	1	0	0	0	0	0	0
	2	角膜	4	3	1	1	1	<1	0	0
		虹彩	2	—	1	1	1	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	2	2	2	2	1	1
			4	2	1	1	0	1	0	0
	3	角膜	4	1	1	1	<1	0	0	0
		虹彩	2	0	1	1	1	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	1	2	2	2	0	0
			4	2	1	0	0	1	0	0
	4	角膜	4	2	1	1	<1	0	0	0
		虹彩	2	1	1	1	1	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	2	2	2	1	1	0
			4	1	1	0	0	0	0	0
	5	角膜	4	3	2	<1	<1	<1	0	0
		虹彩	2	—	1	1	1	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	2	2	2	2	1	0
			4	2	1	0	1	1	0	0
	6	角膜	4	2	1	<1	0	0	0	0
		虹彩	2	1	1	1	1	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	2	2	2	2	0	0
			4	1	1	0	0	0	0	0
合計		78	—	28	<24	<23	<15	4	2	
平均		13	—	4.7	<4.0	<3.8	<2.5	0.7	0.3	
洗 眼 群	7	角膜	4	2	1	1	1	1	0	0
		虹彩	2	0	1	1	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	2	2	2	1	1	1
			4	2	1	0	0	0	0	0
	8	角膜	4	2	1	1	1	0	0	0
		虹彩	2	1	1	1	1	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	1	1	2	2	1	0
			4	2	1	0	0	0	0	0
	9	角膜	4	3	2	1	<1	<1	0	0
		虹彩	2	—	1	1	1	1	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	2	2	2	1	1	1
			4	2	2	1	1	0	0	0
	合計		39	—	16	12	<12	<7	3	2
	平均		13	—	5.3	4.0	<4.0	<2.3	1.0	0.7

— : 観察不能

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.9.1.8 MCP ソーダ塩の希釈液のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-1.8)

試験機関

報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度 : MCP ソーダ塩 の 10 倍水希釈液

供試動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、雄、8 週齢、体重 1.84~1.98 kg、
非洗浄群 6 匹、洗浄群 3 匹

観察期間 : 72 時間

試験方法 : 右眼下眼瞼の結膜嚢に検体 0.1 mL を適用し、1 秒間両眼瞼を穏やかに合せ保持した。
6 匹を非洗浄群、3 匹を洗浄群とし、洗浄群は被験物質適用 3 分後に微温湯で 1 分
間洗眼した。非処置眼 (左眼) は対照眼とした。

観察項目 : 検体適用の 1、24、48、72 時間及び 7、14、21 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変
化を観察し、農水省ガイドラインの判定基準に従って採点した。

試験結果 : 観察した眼の刺激性変化の採点結果を次ページの表に示す。
観察期間を通じて、洗浄群、非洗浄群ともに眼の刺激性変化は全く認められなかつ
た。

以上の結果から、MCP ソーダ塩の 10 倍水希釈液は、ウサギの眼粘膜に対して刺激
性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 眼の刺激性反応評価成績

試験群	動物 番号	観察項目	最高 評点	適用後時間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非洗淨群	1	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	2	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	3	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	4	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	5	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	6	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
合計			78	0	0	0	0	
平均			13	0	0	0	0	
洗淨群 (3 匹平均)	角膜		4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	4	0	0	0	0	
		浮腫	3	0	0	0	0	
	合計				0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.1.9 MCP ソーダ塩のモルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. TF-1.9)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度: MCP ソーダ塩

試験動物: ハートレー系雌モルモット、7週齢、体重 300~356 g、
1群 20匹 (陽性対照群は 10匹)

試験期間: 感作開始から惹起後の観察終了まで 24日間

試験方法: Maximization test 法に従った。

投与量設定根拠:

感 作: モルモットの肩背部を刈毛し、検体試験群には Freund 完全アジュバント (FCA) 乳化液、検体の 5% 注射用蒸留水調製液及び検体の 5% FCA 乳化液を各々 0.05 mL 皮内注射した。陽性対照の DNCB (2,4-ジニトロクロロベンゼン) は 0.1% オリーブ油液及び 0.1% FCA 乳化液を同様に皮内注射した。その 6 日後、皮内注射部位の皮膚に 10% ラウリル硫酸ナトリウムを含むワセリン 0.2 g を塗布し、その翌日、同部位に検体の 25% 注射用蒸留水調製液 0.2 mL を、陽性対照群には 1% DNCB オリーブ油液を 48 時間閉塞貼付した。検体の対照群には注射用蒸留水を、DNCB 対照群にはオリーブ油を同様に投与した。

惹 起: 貼付感作の 2 週間後に刈毛した腹側部に、検体試験群および検体対照群には検体の 10% 注射用蒸留水調製液 0.1 mL を 24 時間閉塞貼付した。DNCB 試験群及び対照群には 0.01% DNCB オリーブ油液を同様に貼付した。

観察項目: 惹起 24, 48 及び 72 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に従って採点した。

肉眼的に変化なし	0
軽度のまばらな紅斑	1
中等度の瀰漫性紅斑	2
重度の紅斑及び浮腫	3

各観察時間ごとに各群の平均評点を算出した。また、評点 1 以上の皮膚反応が認められた動物を陽性反応動物とし、各試験群ごとに陽性率を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

試験結果： 各観察時間における感作性変化が認められた動物数を以下の表に示す。
 検体試験群および対照群のいずれの動物においても皮膚反応は認められなかった。
 一方で陽性対照の DNCB は 100%の陽性率が認められた。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断した。

表 皮膚感作性試験結果

群	感作		動物数	皮膚反応 評点	評点毎の反応動物数			陽性反応動物数			陽性率 (%)
	感作	惹起			惹起後の時間			24	48	72	
					24	48	72				
検体群	皮内：5% 貼付：25%	10%	20	0	20	20	20	0	0	0	0
				1	0	0	0				
				2	0	0	0				
				3	0	0	0				
平均評点					0.00	0.00	0.00				
検体 対照群	皮内：0% 貼付：0%	10%	20	0	20	20	20	0	0	0	0
				1	0	0	0				
				2	0	0	0				
				3	0	0	0				
平均評点					0.00	0.00	0.00				
DNCB	皮内：0.1% 貼付：1%	0.01%	10	0	0	0	0	10	10	10	100
				1	0	0	0				
				2	0	0	3				
				3	10	10	7				
平均評点					3.00	3.00	2.70				
DNCB 対照群	皮内：0% 貼付：0%	0.01%	10	0	10	10	10	0	0	0	0
				1	0	0	0				
				2	0	0	0				
				3	0	0	0				
平均評点					0.00	0.00	0.00				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.2 MCPA ナトリウム塩一水化物水溶液

8.9.2.1 粉状 MCP 水溶剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-2.1)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度： 粉状 MCP 水溶剤

供試動物： SD 系ラット、8 週齢、体重 182～195 g、1 群雌 3 匹

観察期間： 14 日間観察

試験方法： 毒性等級法

投与方法： 検体を蒸留水に懸濁 (投与容量は 10 mL/kg) して投与した。投与前に一晩絶食した。被験物質の急性経口毒性は極めて弱いと予想されることから、開始投与量を 2000 mg/kg を選択した。毒性等級法の手順に従い、第 2 及び第 3 投与段階の投与量は 300 mg/kg を選択した。1 投与段階 (1 群) の動物数は雌 3 匹とした。

観察項目： 中毒症状及び生死を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与後 1、3、7、10、14 日目に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	300 < LD ₅₀ ≤ 2000
死亡開始時間及び終了時間	投与 2 時間後～1 日後には全例死亡
症状発現時間及び消失時間	2000 mg/kg 投与 15 分後より死亡まで 300 mg/kg 投与 15 分後から翌日には消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	300

2000 mg/kg 投与群では投与 15 分後より異常歩行が全例に認められ、投与 30 分後には自発運動の減少、腹臥/横臥を呈し、投与 2 時間後から翌日までに全例死亡した。300 mg/kg 投与群では投与 15 分後より異常歩行が認められたが、翌日には消失した。体重、剖検所見では特に異常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2, 4-D協議会にある。

8.9.2.2 粉状 MCP 水溶剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-2.2)

試験機関

報告書作成年 2009 年 [GLP 対応]

検体純度： 粉状 MCP 水溶剤

供試動物： SD 系ラット、雄雌 8 週齢、体重：雄 259～272 g、雌 224～236 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を蒸留水で湿らせて剃毛した背部中央 (4×5 cm) に 24 時間閉塞貼付した。

観察項目：中毒症状および生死を14日間観察した。投与前、投与3、7、10日及び14日目に体重を測定した。試験終了時の全動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
毒性徴候の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中に死亡例はなく中毒症状も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に、刺激性変化及びその他の異常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2, 4-D協議会にある。

8.9.2.3 粉状MCP水溶剤のウサギにおける皮膚刺激性試験 (資料No. TF-2.3)

試験機関

報告書作成年 1985年 [GLP 対応]

検体純度： 粉状 MCP 水溶剤

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ、8週齢、体重 1.68~1.90 kg、1群 6匹

観察期間： 14日間

投与方法： 背部被毛を刈毛し、刈毛 24 時間後に、背部正中線の左右それぞれに 2.5 cm 四方の擦過部位と非擦過部位 1 部位ずつ合計 4 部位を設けた。擦過皮膚及び非擦過皮膚の各 1 部位ずつ合計 2 部位に、注射用蒸留水で湿らせた検体 0.5 g をリント布を用いて適用し半閉塞貼付した。他の 2 部位はリント布のみを貼付し、無処置対照部位とした。暴露時間は 4 時間とし、残った検体は微温水を用いて拭き取った。

観察項目： 暴露開始の 4.5、24、48、72 時間後及び 7、14 日後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮形成、浮腫)の有無を観察し、農水省ガイドライン評価基準に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点結果は次ページの表のとおりである。

擦過部位、非擦過部位ともに、暴露終了 30 分後には全例に深部に達する皮膚傷害が認められ、表層部の壊死 (評点 4)、高度から中等度の浮腫 (評点 3、4)が認められ、浮腫は 48 時間後に消失した。しかし、適用部位の壊死は時間経過とともに黒褐色の程度を増し、72 時間後以降痂皮の形成と剥脱を繰り返した。

以上の結果から、70.0%粉状 MCP 水溶剤はウサギの皮膚に対して重度の刺激性を有するものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 皮膚反応の評価点

動物 番号	観察項目	最 高 評 点	暴露開始後における皮膚反応											
			擦過部位						非擦過部位					
			時間				日		時間				日	
			4.5	24	48	72	7	14	4.5	24	48	72	7	14
1	紅斑・痂皮	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	浮腫	4	4	4	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	浮腫	4	4	4	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	浮腫	4	4	4	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	浮腫	4	3	3	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	0	0
	浮腫	4	4	4	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	浮腫	4	4	4	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0
合 計	紅斑・痂皮	24	24	24	24	24	24	24	23	23	23	23	20	20
	浮腫	24	23	23	0	0	0	0	20	19	0	0	0	0
平 均	紅斑・痂皮	4	4	4	4	4	4	4	3.8	3.8	3.8	3.8	3.3	3.3
	浮腫	4	3.8	3.8	0	0	0	0	3.3	3.2	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.2.4 粒状 MCP 水溶剤のウサギにおける眼刺激性試験 (資料 No. TF-2.4)

試験機関

報告書作成年 1985 年 [GLP 対応]

検体純度： 粉状 MCP 水溶剤

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ、雄、8 週齢、体重 1.70~1.90 kg、
洗浄群 3 匹、非洗浄群 6 匹

観察期間： 21 日間

投与方法： 右眼下眼瞼の結膜嚢に被験物質 0.1 g を適用し、両眼瞼を 1 秒間軽く閉じ合わせた。
6 匹を非洗浄群、3 匹を洗浄群とし、洗浄群は検体適用の 3 分後に微温湯で 1 分間
洗眼した。非処置眼 (左眼) は対照眼とした。

観察項目： 検体適用の 1、24、48、72 時間及び 7、14、21 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変
化を観察し、農水省ガイドラインの判定基準に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化を次頁の表に示す。

検体投与 1 時間後から非洗浄群と洗浄群の全例の角膜に真珠様の混濁 (評点 3, 4)、
剥離が認められた。24 時間後以降、角膜の剥離は何回も繰り返し認められ、虹彩の
識別が不可能となった。角膜の変化は、その後観察期間を通じて持続した。
結膜においても出血、血管拡張、浮腫及び眼瞼の浮腫が認められた。結膜は出血、
血管拡張、浮腫が 21 日後まで持続し、48 時間後より洗浄群、非洗浄群を問わず膿
性滲出物と多量の眼脂が認められ、7 日後には炎症が増悪し 14 日後には化膿により
眼球が突出し、眼瞼反射が消失した。

以上のように、検体適用により、角膜混濁、剥離、結膜浮腫、出血及び前眼部の化
膿性炎症が見られ、評点を超えた刺激性変化が見られた。虹彩は、初期には充血な
どが見られたが、角膜混濁が重度になるに従って識別不能になった。

以上の結果から、70.0%粉状 MCP 水溶剤は、ウサギの眼粘膜に対して重度の刺激性
を有するものと判断される。適用後の眼洗浄効果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2, 4-D協議会にある。

表 眼の反応評価成績

動物 番号	観察項目	最高 評点	適用後時間								
			1時間	24時間	48時間	72時間	7日	14日	21日		
非 洗 浄 群	1	角膜	4	4	4	3	3	3	4	4	
		虹彩	2	—*	—*	—*	—*	—*	—*	—*	
	結膜	発赤	3	1	1	2	2	2	1	1	
		浮腫	4	2	2	1	0	1	1	0	
	2	角膜	4	4	4	3	4	4	>4	>4	
		虹彩	2	—*	1	—*	—*	—*	—*	—*	
		結膜	発赤	3	1	1	1	2	2	2	—*
			浮腫	4	2	1	1	2	1	1	—*
	3	角膜	4	4	4	4	4	4	>4	>4	
		虹彩	2	—*	—*	—*	—*	—*	—*	—*	
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	2	1
			浮腫	4	2	2	2	2	1	1	0
	4	角膜	4	4	3	3	4	4	>4	>4	
		虹彩	2	—*	1	—*	—*	—*	—*	—*	
		結膜	発赤	3	1	1	1	2	2	2	—*
			浮腫	4	2	1	2	1	1	1	—*
	5	角膜	4	4	4	3	4	4	>4	>4	
		虹彩	2	—*	—*	—*	—*	—*	—*	—*	
		結膜	発赤	3	1	1	2	2	2	2	—*
			浮腫	4	2	2	2	2	1	1	—*
	6	角膜	4	4	4	3	4	4	>4	>4	
		虹彩	2	—*	—*	—*	—*	—*	—*	—*	
		結膜	発赤	3	1	1	1	2	2	2	2
			浮腫	4	2	2	1	1	1	1	0
合計		78	—**	—**	—**	—**	—**	—**	—**		
平均		13	—**	—**	—**	—**	—**	—**	—**		
洗 浄 群 3 匹 平 均	角膜	4	3.0	3.3	2.3	3.3	3.3	>4	>4		
	虹彩	2	1.0	1.0##	1.0###	1.0###	1.0###	—*	—*		
	結膜	発赤	3	1.3	1.3	1.7	1.7	2.0	2.0	1.0###	
		浮腫	4	1.7	1.3	1.7	1.7	1.0	1.0##	0.0###	
	合計	13	7.0	—**	—**	—**	—**	—**	—**		

—* : 角膜の混濁、剥離により観察不能 —** : 算出不能

: 2匹の平均 ### : 1匹の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.2.5粒状 MCP 水溶剤 300 倍水希釈液のウサギにおける眼刺激性試験 (資料 No. TF-2.5)

試験機関

報告書作成年 1993 年 [GLP 対応]

検体純度： 300 倍水希釈した粉状 MCP 水溶剤

供試動物： 日本白色種ウサギ、雌、15 週齢、体重 2.81~3.32 kg、洗眼群 3 匹、非洗眼群 6 匹

観察期間： 検体 1 回投与後 72 時間観察

投与方法： 試験には検体を注射用水を用いて 300 倍に希釈した。試験群の構成は非洗眼群 6 匹及び洗眼群 3 匹の 2 群とした。非洗眼群はウサギを固定し、左目の下眼瞼の結膜囊内に 300 倍希釈液 0.1 mL/動物を静かに適用した後、1 秒間両眼瞼をおだやかに合わせ保持した。無処理の右目は対照眼とした。洗眼群は非洗眼群と同様に検体を適用し、適用後 2~3 分に 200 mL の微温湯で洗眼した。右目も同様に 200 mL の微温湯で洗眼し、洗眼対照眼とした。

観察項目： 検眼は検体適用後 1、24、48 及び 72 時間まで検眼鏡を用いて実施した。眼の評価は「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」(農林水産省の 59 農蚕第 4200 号、昭和 60 年 1 月 28 日)に従って行った。結果は Federal Register に従ってその程度を区分した。

試験結果： 非洗眼群、洗眼群共に観察期間を通じて角膜、虹彩及び結膜に刺激性反応はみられなかった。また、眼のその他の変化も観察されなかった。

以上の結果より粉状 MCP 水溶液 300 倍水希釈液のウサギに対する眼刺激性は陰性と結論された。

項目		投 与 後 時 間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
洗眼群 (3 匹平均)	角 膜 (4)	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹 彩 (2)	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜発赤 (3)	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜浮腫 (4)	0.0	0.0	0.0	0.0
洗眼群 (3 匹平均)	角 膜 (4)	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹 彩 (2)	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜発赤 (3)	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜浮腫 (4)	0.0	0.0	0.0	0.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

8.9.2.6 粉状MCP水溶剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler Test法)
(資料No. TF-2.6)

試験機関

報告書作成年 2009年 [GLP 対応]

検体純度： 粉状 MCP 水溶剤

供試動物： ハートレー系白色モルモット、雌、6週齢、体重 318~389 g
検体感作群一群 20 匹、対照群 (検体非感作群) 一群 10 匹

試験験期： 48 時間観察

試験方法： [Buehler 法]

投与量設定根拠；

感 作：左側胴部を除毛して貼付部位を設け、検体原液 (50 w/v%) 0.2 mLを塗布した直径2.5 cmのパッチを貼付部位に貼付し、その上をポリエチレンフィルムのテープで覆い6時間閉塞貼付した。貼付終了後注射用水で湿らせた脱脂綿で貼付部位を清拭した。対照群 (検体非感作群)には、注射用水0.2 mLをそれぞれ検体感作群と同様に貼付した。この操作を感作開始日、7日後及び14日後の3回実施した。

惹 起：初回感作の27日後、すべての供試動物の右側胴部を刈毛し、検体の5 w/v%注射用水溶液0.2 mLを塗布した直径2.5 cmのパッチを感作処理と同様にして6時間閉塞貼付した。

陽性対照：試験受託施設において最近時に実施されたDNCB (1-Chloro-2,4-dinitrobenzene)を用いた試験結果 (試験番号：I-3337)を追記した。

観察項目： 惹起貼付除去24及び48時間後に、貼付部位の皮膚反応をMagnusson & Kligmanの基準 (1969、1970年)に従って判定した。また、初回感作日から観察終了日まで、毎日、動物の一般状態を観察した。

試験結果： 惹起後に認められた皮膚反応の採点結果を以下の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

検体感作群及び対照群（検体非感作群）ともに、24及び48時間後の観察において、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。
また、すべての動物に一般状態の異常は認められなかった。

以上の結果から、粉状MCP水溶剤はモルモットに対する感作性を有さないものと判断した。

表 各観察時間における皮膚反応の採点結果

群			供 試 動 物 数	皮膚反応動物数										陽性率	
感作	惹起	24 時間後					48 時間後					時間			
		皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	24	48		
		0		1	2		3	0	1	2				3	
検 体	検体 50%	検体 5%	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	注射 用水	検体 5%	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽 性 対 照	DNCB 1.0%	DNCB 0.25%	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100
	アセトン	DNCB 0.25%	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0

陽性対照群の結果は別途受託施設において実施された試験の結果を引用した。

(試験番号 I-3337；実施時期：2008年7月14日～2008年9月26日)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.9.3 MCPA エチル粒剤

8.9.3.1 粒状水中 MCP のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-3.1)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体純度： 粒状水中 MCP

供試動物： CD (SD)系ラット、投与時 6 週齢、体重 雄 158~169 g、雌 122~135 g
1 群雌雄各 6 匹

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 固定用量法

投与方法： 検体を注射用水に懸濁させ、20 mL/kg の容量にて単回経口投与した。動物は投与前約 18 時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 0、5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >5000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 なし
症状発現時間及び消失時間	雄 投与直後に発現、1 時間後目までに消失 雌 異常症状なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

臨床症状： 投与直後から 30 分後までに、5000 mg/kg 投与群において雄の全例で自発運動の減少が観察された。雌ラットでは異常症状は認められなかった。

剖検所見： 検体投与に関連する特記すべき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、4-D協議会にある。

8.9.3.2 粒状水中 MCP のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-3.2)

試験機関

報告書作成年 1992年 [GLP 対応]

検体純度： 粒状水中 MCP

供試動物： ICR (CD-1)系ラット、投与時6週齢、体重 雄 23.6~28.2 g、雌 20.1~22.7 g
1群雌雄各6匹

試験観察期： 14日間観察

試験方法： 固定用量法

投与方法： 検体を注射用水に懸濁させ、20 mL/kgの容量にて単回経口投与した。動物は投与前約17時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 0、5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >5000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共 異常症状なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

臨床症状：観察中に死亡例はなく、中毒症状も全く認められなかった。

剖検所見：検体投与に起因する特記すべき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、4-D協議会にある。

8.9.3.3 粒状水中 MCP のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-3.3)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体純度： 粒状水中 MCP

供試動物： CD (SD)系ラット、投与時 雄 7 雌 10 週齢、体重 雄 246~267 g、雌 227~255 g、
1 群雌雄各 6 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を注射用水に懸濁させ、剃毛した背部中央に、8 mL/kg の投与容量にて、24 時間塗布した。

観察・検査項目： 臨床症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 0、2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共 異常症状なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

臨床症状： 全身的な徴候はみられず、死亡例もなかった。塗布部皮膚にも刺激性反応は認められなかった。

剖検所見： 死亡例および生存例とも特記すべき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、4-D協議会にある。

8.9.3.4 粒状水中 MCP のウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 No. TF-3.4)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体純度： 粒状水中 MCP

供試動物： 日本白色種ウサギ、雌、15 週齢、体重 2.62~2.80 kg、一群 6 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 背部被毛を刈毛した 24 時間後、左側皮膚に蒸留水で湿らせた検体 0.5 g を 2.5 cm 四方のリント布を用いて半閉塞貼付した。右側にはリント布のみを貼付し、無処置対照部位とした。暴露時間は 4 時間とし、残った検体は微温水を用いて拭き取った。

観察項目： 被験物質除去後 1、24、48 及び 72 時間後に紅斑、痂皮形成、浮腫の有無を観察し、農水省ガイドライン評価基準に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点結果を次ページの表に示す。
いずれの観察時期においても、皮膚の刺激反応は認められなかった。

以上の結果から、粒状水中 MCP はウサギの皮膚に対して刺激性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 皮膚反応の評価点

動物 番号	観察項目	最高 評点	暴露開始後における皮膚反応			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.9.3.5 粒状水中 MCP のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-3.5)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体純度： 粒状水中 MCP

供試動物： 日本白色種ウサギ、雌、14～15 週齢、体重 2.51～2.81 kg、
非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間： 72 時間

試験方法： 左眼下眼瞼の結膜嚢に検体 0.1 g を適用し、1 秒間両眼瞼を穏やかに合せ保持した。
6 匹を非洗眼群、3 匹を洗眼群とし、洗眼群は被験物質適用 2～3 分後に微温湯 200 mL で 1 分間洗眼した。非処置眼 (右眼) は対照眼とした。

観察項目： 検体適用の 1、24、48、72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインの判定基準に従って採点した。

試験結果： 観察した眼の刺激性変化の採点結果を次ページの表に示す。
非洗眼群では適用 1 時間後に全例で結膜発赤及び結膜浮腫が、24 時間後には 2/6 例で角膜混濁が認められた。これらの反応は全て 72 時間までに消失した。洗眼群では適用 1 時間に全例で結膜発赤及び結膜浮腫が認められたが、これらの反応は全て 48 時間までに消失した。

以上の結果から、粒状水中 MCP は、ウサギの眼粘膜に対して刺激性を有すると結論され、適用後の眼洗浄効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は2, 4-D協議会にある。

表 眼の刺激性反応評価成績

動物番号	観察項目	最高 評点	適用後時間				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非 洗 浄 群	1102	角膜	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	2	2	1	0
			4	1	0	0	0
	1103	角膜	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	2	2	1	0
			4	2	0	0	0
	1104	角膜	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	2	2	1	0
			4	2	0	0	0
	1105	角膜	4	0	1	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	2	2	1	0
			4	1	1	0	0
	1106	角膜	4	0	1	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	2	2	1	0
			4	2	1	0	0
	1107	角膜	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	2	2	1	0
			4	2	0	0	0
合計		78	22	16	6	0	
平均		13	3.7	2.7	1	0	
洗 浄 群	2101	角膜	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	1	0	0
			4	1	0	0	0
	2102	角膜	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	1	0	0
			4	1	0	0	0
	2103	角膜	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
		結膜 発赤 浮腫	3	1	1	0	0
			4	1	0	0	0
	合計		39	6	3	0	0
	平均		13	2.0	1.0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

8.9.3.6 粒剤水中 MCP のモルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. TF-3.6)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体純度： 粒状水中 MCP

供試動物： ハートレー系モルモット、雌、7 週齢、体重 332~384 g、
1 群 20 匹 (陽性対照群は 10 匹)

試験期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 31 日間

試験方法： 予備試験によって感作及び惹起に貼付適用する検体濃度を定め、Buehler 法に準じて試験を行った。感作及び惹起は投与前日にそれぞれ動物の左肩甲部ならびに腹側部の適用部を剃毛し、いずれも検体 0.2 mL を 6 時間適用した。

投与量設定根拠：

感作： 検体の 25%液 0.2 mL を直径 2.5 cm のパッチに塗布し、ポリエチレンフィルムのテープで閉塞貼付した。貼付後 6 時間でパッチを除き、蒸留水で適用部位を清拭した。貼付は 7 日間隔で 3 回実施した。

惹起： 最終感作 2 週間後に検体の 25%液又は 0.25% DNCB 溶液 0.2 mL を直径 2.5 cm のパッチに塗布し、6 時間貼付適用した。

皮膚反応： 惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に誘発部位を観察し、その皮膚反応を Draize の基準に従って採点した。

試験結果： 結果を次表に示した。検体感作群では惹起後の何れの時間及び何れの動物においても皮膚反応は認められなかった。一方で、陽性対照の DNCB は全動物に明瞭な皮膚反応が認められた。

以上の結果から本検体はモルモットの皮膚に対する感作性を有しないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、4-D協議会にある。

表 皮膚反応の評価点

投与群	観察項目	暴露開始後における平均皮膚反応		
		24 時間	48 時間	陽性率
被験物質 感作群	紅斑・痂皮	0/20	0/20	0%
	浮腫	0/20	0/20	
	平均評点	0	0	
被験物質 非感作群	紅斑・痂皮	0/20	0/20	0%
	浮腫	0/20	0/20	
	平均評点	0	0	
DNCB 感作群	紅斑・痂皮	10/10	10/10	100%
	浮腫	4/10	0/10	
	平均評点	2.5	1.9	
DNCB 非感作群	紅斑・痂皮	0/10	0/10	0%
	浮腫	0/10	0/10	
	平均評点	0	0	