

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(8)繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

1) ラットを用いた次世代への影響 (繁殖性) 試験

(資料No. 14)

試験機関:

報告書作成年

検体の純度: %

供試動物: 系ラット、1 群雄15匹、雌30匹、投与開始時3週齢、
投与開始時平均体重 雄 57 g、雌50 g

投与期間: 投与開始からF3第2産児離乳時までの約20カ月
(実施期間:)

投与方法: 検体を0、100、500及び2500 ppmとなるように飼料に混入し、所定の投与期間
を通して自由に摂取させた。

用量設定の根拠;

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を次頁の表にまとめた。

親動物

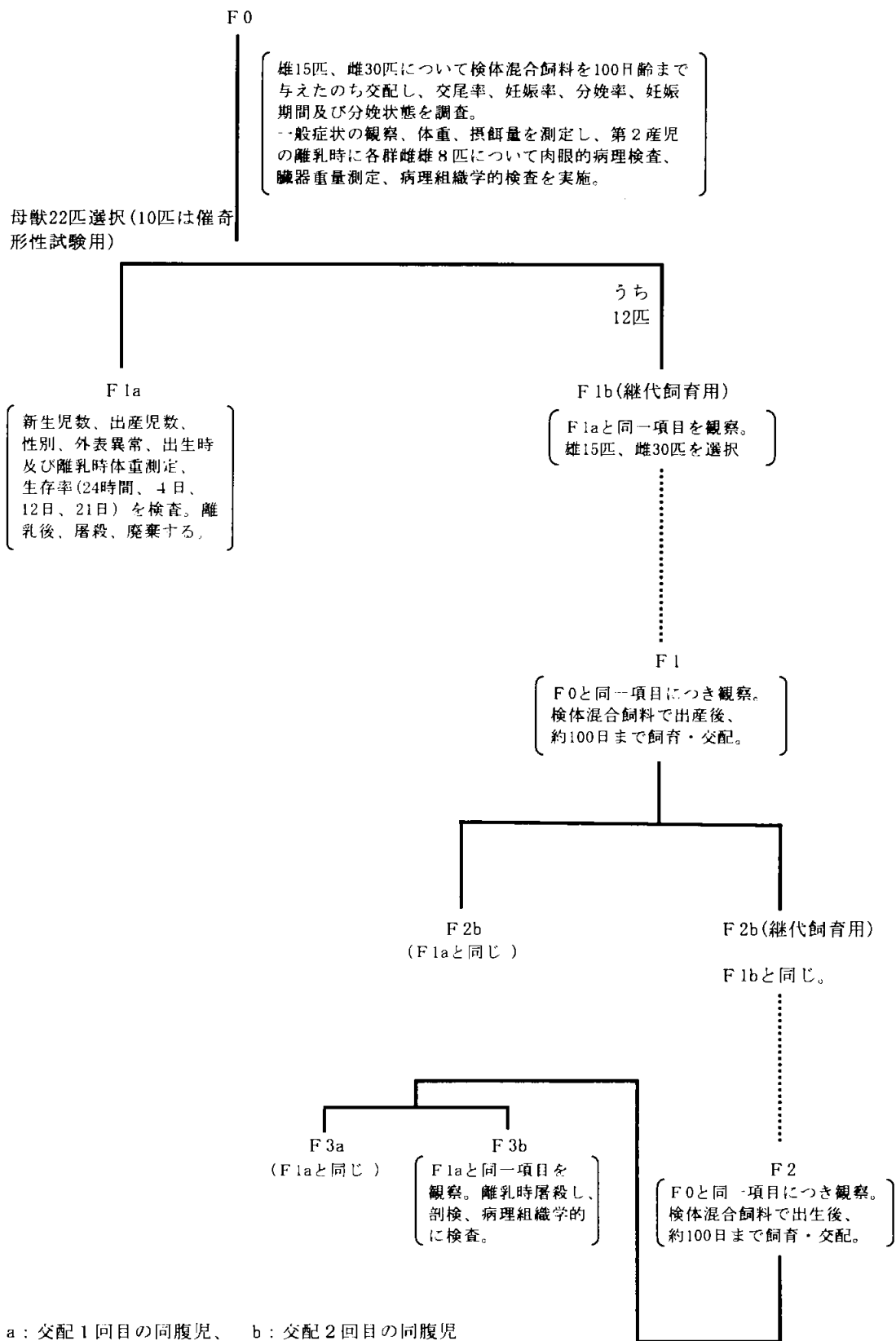
一般状態及び死亡率; 親動物について試験期間を通して全動物の一般状態及び生死を
毎日観察した。新生児については分娩時に外形異常を検査し、各同腹児につ
いて生存数及び死産数を記録した。哺育期間中は所定の間隔で生存状況を記
録し、離乳時に外形異常に関する最終検査を行った。同腹児が10匹以上の場
合は哺育4日に10匹に調整した。

体重; 各動物の体重を3週齢時に測定した。その後交配を始めるまで毎週1回体重測定
を行った。

摂餌量; 交配を始めるまで毎週1回摂餌量測定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表. 検体のラットを用いた次世代試験の試験方法及び試験項目の概要



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

交配及び妊娠の確認；100日齢に交配を開始した。雌は同じ投与群の雄とペアを組ませた。毎日交配の有無を確認し、繁殖能力、妊娠期間及び哺育行為について観察した。受胎が観察されるまで各雌が最高3匹の雄とペアを組ませ、10日間ごとに雄を交代させた。交尾確認日を妊娠0日とした。第1産児が哺育21日で離乳後、雌に10日間の休息を与え、第2産児を得るため再び同じ方法で交配させた。

繁殖性検査；交配、妊娠及び分娩時の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾雌数}^*}{\text{受精に必要な性周期数}} \times 100$$

*1性周期では交配は1とし、1性周期は5日とした。

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠雌数}}{\text{交尾雌数}} \times 100$$

$$\text{受精率} = \frac{\text{妊娠させ得た雄動物数}}{\text{分娩可能な雌と交尾した雄動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠雌数}}{\text{妊娠させ得る雄と交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{分娩率} = \frac{\text{分娩雌数}}{\text{妊娠雌数}} \times 100$$

肉眼的病理検査；試験期間中の死亡動物は発見後速やかに剖検した。第2産児が離乳した後、各群の親動物より雌雄各8匹を選んで最終体重を測定後屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。肉眼的病理検査は以下の臓器について行った。

皮膚、心、気管、肺、肝臓、膵臓、食道、胃、腸管、脾臓、リンパ節、腎臓、膀胱、精巣、卵巣、前立腺、精のう、子宮、膣、下垂体、副腎、唾液腺、甲状腺、骨格筋、骨、末梢神経、眼球、脳、胸腺、視神経及び大動脈

臓器重量；肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、心臓、脳について重量(絶対重量)を測定した。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物の内、対照群及び2500 ppm群から選んだ雌雄各5匹について、以下の臓器の病理組織学的検査を行った。

心臓、気管、肺、肝臓、膵臓、胃(噴門、基底、幽門)、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、盲腸、結腸、脾臓、リンパ節(頸部、腸間膜)、腎臓、膀胱、精巣、卵巣、前立腺、子宮、下垂体、副腎、唾液腺、甲状腺(含む上皮小体)、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

骨格筋、骨髄、末梢神経、脳(大脳、小脳、脳橋)、精のう、食道及び脊髄

さらに、F1雄動物で精巣に病変が認められたので、F1世代では検査動物数を追加して対照群、100及び500 ppm投与群で合計各8匹、2500 ppm投与群で合計7匹の動物について、精巣、精巣上体、前立腺及び精囊の組織学的検査を実施した。

児動物

児動物の調整、次世代用動物の選抜等；哺育4日に1腹の哺育児動物数が10匹となるように調整した。次世代の親動物としてF1bが離乳後1群雄15匹と雌30匹及びF2bでは1群雄10匹と雌20匹を選んだ。

児動物の観察；分娩終了後に産児数(生産児数、死産児数)及び性別を調べた。また、哺育期間中は哺育1、4、12及び21日に生存状況を記録した。新生児については以下の指数を求めた。

$$\text{生存産児率} = \frac{\text{生存産児数}}{\text{総産児数}} \times 100$$

$$\text{1日後生存率} = \frac{\text{哺育1日後生存児数}}{\text{生存産児数}} \times 100$$

$$\text{4日後生存率} = \frac{\text{哺育4日調整前生存児数}}{\text{生存産児数}} \times 100$$

$$\text{12日後生存率} = \frac{\text{哺育12日後生存児数}}{\text{哺育4日調整後生存児数}} \times 100$$

$$\text{21日後生存率} = \frac{\text{離乳時(哺育21日)生存児数}}{\text{哺育4日調整後生存児数}} \times 100$$

体重；新生児については、分娩時及び哺育21日に各動物の体重を測定した。

児動物の病理組織学的検査；F3b離乳児について、対照群及び500 ppm投与群の雌雄各5匹、さらに離乳時まで生存していた2500 ppm投与群の雄2匹について、病理組織学的検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

試験結果：概要を頁Ⅷ-133～頁Ⅷ-138にまとめた。

親動物

一般状態及び死亡率；一般状態には検体投与によると考えられる異常は見られなかった。F1世代雌雄の死亡率が高かったが、F0世代及びF2世代の親動物では死亡率の増加は見られなかったことから偶発的変化と考えた。

体重；2500 ppm投与群のF0世代雌雄、F1世代雌雄及びF2世代雌雄で体重増加抑制(対照群と比較し雄で84-96%、雌で87-95%)が認められ、対照群との間に有意差の見られる週が観察された。500及び100 ppm投与群の雌雄では、週ごとに比べるとF1世代のみに有意差のある低体重が認められたが、投与初期より有意差のある低体重で推移し(F2世代には同じ変化はみられていない)、体重増加量と比較すると500 ppm投与群の雄が対照群の97%(371 gに対して361 g)、雌が94%(209 gに対して196 g)、100 ppm投与群雄が対照群の90%(371 gに対して333 g)、雌が94%(209 gに対して197 g)であった。

<申請者注>

摂餌量；2500 ppm投与群の各世代雌雄において摂餌量の低値(対照群と比較し雄で78-88%、雌で85-88%)が認められた。500及び100 ppm投与群では、雄が低め(対照群の80-102%)で、雌が高め(対照群の101-115%)であった。

<申請者注>

食餌効率；検体投与の影響は見られなかった。

検体摂取量；各世代の親動物の検体摂取量(mg/kg/日)は以下のとおりである。

世代	性	100 ppm	500 ppm	2500 ppm
F0	雄	8.5	44.1	224.3
	雌	9.3	46.5	209.8
F1	雄	7.7	43.0	218.5
	雌	8.6	45.4	217.4
F2	雄	9.9	50.4	282.9
	雌	9.2	51.6	240.9

繁殖成績；2500 ppm投与群のF1及びF2世代の雌親動物で、ともに第一産目の交尾率及び妊娠率に有意な低値が認められた。その他の受胎率、受精率、分娩率には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日本化薬株式会社にある。

肉眼的病理検査；検体投与の影響は見られなかった。

臓器重量；F0世代において100 ppm以上投与群雄で腎臓体重比の増加、2500 ppm投与群雌で卵巣重量(絶対及び脳重量比)及び心臓絶対重量の低下、F1世代において100 ppm投与群雄で心臓体重比の増加、500 ppm投与群雌で腎臓重量(絶対及び体重比)の低下、2500 ppm投与群雌で脳、卵巣及び腎臓の絶対重量の低下、F2世代において500 ppm投与群雄の肝臓体重比の低下、2500 ppm投与群雄で脳絶対重量の低下が認められた。しかしこれらの変動は、用量との関連性がないか、低体重に随伴する変化又は各世代に共通しない一時的な変動で、検体投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査；2500 ppm投与群のF1世代雄において精巣(間質水腫、精上皮変性、巨細胞形成、精細管萎縮など)及び精巣上体(上皮細胞空胞変性、腔内精子減少)に病変が認められた。500 ppm投与群F1世代雄において2500 ppm投与群と同様の精巣及び精巣上体の変化が認められたが、その頻度及び程度とも2500 ppm投与群よりはるかに低かった。また100及び0 ppm投与群F1世代雄でも精巣の間質水腫、精上皮変性がみられた。

<申請者注>

児動物

生存産児率；2500 ppm投与群F3b児動物に生存産児率の低下が認められた。F1及びF2児動物の生存産児率に有意差が見られたが、対照群より高い値だった。

哺育期間中の生存率；F1、F2及びF3児動物の生存率では、500及び2500 ppm投与群で有意差のある低値が散見された。

離乳時平均体重；F1a及びF1b児動物では500(F1aの雄及びF1bの雌)及び2500 ppm投与群で、F2b児動物では2500 ppm投与群で、F3a児動物では100、500及び2500 ppm投与群で離乳時平均体重の低下がみられた。F2児動物では2500 ppm投与群の第一産児(a)の離乳時平均体重は対照群を上回っていた。F3児動物の第二産児(b)ではいずれの検体投与群にも有意差はみられなかった。以上の結果、第一産児と第二産児間、雌雄間及び世代間で一貫性のある変動は認められなかったことから離乳時平均体重に対する検体投与の影響はないものと判断した。

F3b児動物の病理組織学的検査；0、500及び2500 ppm投与群で検査した(2500 ppm投与群の雌は離乳時に生存例なし)が検体投与によると考えられる所見はみられな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

かった。

以上の結果から、検体は2500 ppmの投与で親動物に対して体重増加抑制、摂餌量低下、雌の交配率及び妊娠率の低値、精巢の病理組織学的病変を起こすと考えられることから、親動物に対する一般毒性及び繁殖能力に対する無毒性量は500ppm(F0、F1、F2世代の順に雄が44.1、43.0、50.4、雌が46.5、45.4、51.6 mg/kg/日)、児動物に対しては、生存産児率低下が2500 ppmの投与で、また哺育期間中の生存率低下が500及び2500 ppmの投与で認められたことから児動物に対する無毒性量は100ppm(F0、F1、F2世代の順に雄が8.5、7.7、9.9、雌が9.3、8.6、9.2 mg/kg/日)であると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表1. 検体のラットを用いた次世代試験の結果の概要(繁殖性試験の部)
その1(親F0 ; 児F1)

投与量(ppm)		0(対照群)	100	500	2500	
親動物	動物数	♂	15	15	15	15
		♀	30*	30*	30*	30*
	一般症状	♂	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
		♀	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
	死亡率%	♂	0	0	0	0
		♀	6.7	3.3	0	0
	体重	♂	—	対照群と差なし	対照群と差なし	2週時↓ 3-7週時↓
		♀	—	対照群と差なし	対照群と差なし	2-9週時↓ 10、11週時↓
	摂餌量	♂	—	対照群の94%	対照群の92%	対照群の88%
		♀	—	対照群の105%	対照群の103%	対照群の88%
	食餌効率	♂	—	対照群と差なし	対照群と差なし	対照群と差なし
		♀	—	対照群と差なし	対照群と差なし	対照群と差なし
	検体摂取量 (mg/kg/日)	♂	0	8.5	44.1	224.3
		♀	0	9.3	46.5	209.8
	交尾率%(雌)	a	79.3(23/29)	80.6(25/31)	85.2(23/27)	74.2(23/31)
		b	81.5(22/27)	91.3(21/23)	95.7(22/23)	81.5(22/27)
	受胎率%(雌)	a	95.7(22/23)	88.0(22/25)	95.7(22/23)	95.7(22/23)
		b	95.5(21/22)	100(21/21)	100(22/22)	100(22/22)
	受精率%(雄)	a	100(15/15)	93.3(14/15)	100(13/13)	100(13/13)
		b	100(14/14)	100(14/14)	100(12/12)	100(13/13)
妊娠率%(雌)	a	100(22/22)	100(22/22)	100(22/22)	100(22/22)	
	b	95.5(21/22)	100(21/21)	100(22/22)	100(22/22)	
分娩率%(雌)	a	100(22/22)	100(22/22)	95.5(21/22)	95.5(21/22)	
	b	100(16/16)	100(16/16)	100(17/17)	100(16/16)	

統計検定: ↓(↑), p<0.05で有意な減少(増加)、↓(↑↑), p<0.01で有意な減少(増加)
Tukeyの多元配置法又はSchffeの多元配置法; 親動物の体重及び臓器重量(絶対重量)
Wallisの多重比較法; 体重比臓器重量、脳重比臓器重量、t検定; 産児数及び離乳児体重

* : 22匹の妊娠動物を確保し、うち12匹を繁殖性試験に、10匹を催奇形性試験に供した。(F1世代も同様)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2. 検体のラットを用いた次世代試験の結果の概要(繁殖性試験の部)
その1(親F0 ; 児F1 つづき)

投与量(ppm)		0(対照群)	100	500	2500		
親動物	肉眼的病理検査	♂	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし	
		♀	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし	
	臓器重量	♂	—	腎臓(体重比)↑	腎臓(体重比)↑	腎臓(体重比)↑	
		♀	—	対照群と差なし	対照群と差なし	卵巣(絶対/脳重比)↓、 心臓(絶対): ↓	
	病理組織学的検査	♂	特に異常なし	(検査せず)	(検査せず)	対照群と差なし	
		♀	特に異常なし	(検査せず)	(検査せず)	対照群と差なし	
児動物	総産児数(腹平均)	a	146 (12.2)	135 (11.3)	132 (11.0)	136 (11.3)	
		b	138 (11.5)	147 (13.4)	143 (11.9)	136 (11.3)	
	生存産児率%	a	97.2	97.0	93.1	97.8	
		b	91.3	100.0 ^{**}	97.9 [↑]	97.7 [↑]	
	1日後生存率%	a	98.5	98.5	94.3	98.5	
		b	98.4	100.0	100.0	99.2	
	4日後生存率%	a	97.1	98.5	93.4	96.2	
		b	97.6	98.6	97.8	93.2	
	12日後生存率%	a	100.0	99.1	100.0	84.2 [↓]	
		b	92.0	99.0 [↑]	83.0 [↓]	63.7 [↓]	
	21日後生存率%	a	97.4	99.1	84.1 [↓]	41.2 [↓]	
		b	87.0	89.7	66.9 [↓]	42.5 [↓]	
	離乳時平均体重(g)	a	♂	44	47 [↑]	41	29 [↓]
			♀	43	46 ^{**}	38 [↓]	28 [↓]
		b	♂	51	51	43 [↓]	33 [↓]
			♀	47	46	44	29 [↓]

統計検定: ↓(↑), p<0.05で有意な減少(増加)、↓↓(↑↑), p<0.01で有意な減少(増加)

Tukeyの多元配置法又はSchifféの多元配置法; 親動物の体重及び臓器重量(絶対重量)

Wallisの多重比較法; 体重比臓器重量、脳重比臓器重量、t検定; 産児数及び離乳児体重

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表3. 検体のラットを用いた次世代試験の結果の概要(繁殖性試験の部)
その2(親F1 ; 児F2)

投与量(ppm)		0(対照群)	100	500	2500
動物数	♂	15	15	15	15
	♀	30	30	30	17*
一般症状	♂	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
	♀	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
死亡率%	♂	0	0	13.3	40↑
	♀	6.7	0	3.3	23.5
体 重	♂	—	0, 2, 3, 6週時, , 4, 5, 7週時↓	0-2週時↓,	0-10週時↓, 11週時↓
	♀	—	0-6週, 10週時↓, 11週時↓	0-11週時↓,	0-11週時↓
摂餌量	♂	—	対照群の80%	対照群の91%	対照群の78%
	♀	—	対照群の107%	対照群の107%	対照群の87%
食餌効率	♂	—	対照群と差なし	対照群と差なし	対照群と差なし
	♀	—	対照群と差なし	対照群と差なし	対照群と差なし
検体投与量 (mg/kg/日)	♂	0	7.7	43.0	218.5
	♀	0	8.6	45.4	217.4
交尾率%(雌)	a	45.1(23/51)	62.2(23/37)	61.1(22/36)	16.0(8/50, ,)
	b	30.6(19/62)	38.9(21/54)	56.4(22/39↑↑)	25.0(7/28)
受胎率%(雌)	a	95.2(22/23)	95.7(22/23)	100(22/22)	100(8/8)
	b	89.5(17/19)	95.2(20/21)	95.5(21/22)	100(7/7)
受精率%(雄)	a	75.0(9/12)	92.9(13/14)	92.3(12/13)	71.4(5/7)
	b	69.2(9/13)	71.4(10/14)	91.7(11/12)	55.6(5/9)
妊娠率%(雌)	a	100(22/22)	100(22/22)	100(22/22)	61.5(8/13↓, ,)
	b	85.0(17/20)	90.9(20/22)	95.5(21/22)	87.5(7/8)
分娩率%(雌)	a	86.4(19/22)	72.7(16/22)	95.5(21/22)	100(8/8)
	b	83.3(10/12)	86.7(13/15)	100(16/16)	100(7/7)
肉眼的 病理検査	♂	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし
	♀	特に異常なし	特に異常なし	異常なし	異常なし

統計検定: ↓(↑), p<0.05で有意な減少(増加)、↓↓(↑↑), p<0.01で有意な減少(増加)
Tukeyの多元配置法又はSchffeの多元配置法; 親動物の体重及び臓器重量(絶対重量)
Wallisの多重比較法; 体重比臓器重量、脳重比臓器重量、t検定; 産児数及び離乳児体重

* : 新生児生存率が悪かったため、計画数の親を確保できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表4. 検体のラットを用いた次世代試験の結果の概要(繁殖性試験の部)
その2(親F1 ; 児F2 つづき)

投与量(ppm)		0 (対照群)	100	500	2500		
親動物	臓器重量	♂	—	心臓(体重比) ↑	対照群と差なし	対照群と差なし	
		♀	—	対照群と差なし	腎臓(絶対/体重比) ↓	脳(絶対) ↓, 卵巣(絶対) ↓, 腎臓(絶対) ↓	
	病理組織学的検査	♂	精巣所見 間質浮腫 :1/8 精上皮変性:1/8 巨細胞生成:0/8 精細管萎縮:0/8 肉芽腫 :0/8	同左 : 4/8 同左 : 4/8 同左 : 0/8 同左 : 0/8 同左 : 0/8	同左 : 2/8 同左 : 2/8 同左 : 1/8 同左 : 1/8 同左 : 0/8	同左 : 3/7 同左 : 3/7 同左 : 3/7 同左 : 2/7 同左 : 3/7	
			精巣上体所見 上皮細胞の空胞変性:0/8 管腔内精子減少:0/8	同左 : 0/8 同左 : 0/8	同左 : 1/8 同左 : 1/8	同左 : 3/7 同左 : 3/7	
		その他臓器/組織 特に異常なし	(検査せず)	(検査せず)	対照群と差なし		
		♀	特に異常なし	(検査せず)	(検査せず)	対照群と差なし	
児動物	総産児数(平均)	a	65 (7.2)	55 (7.9)	95 (8.6)	65 (8.1)	
		b	61 (10.2)	91 (10.1)	105 (9.5)	57 (8.1)	
	生存産児率 %	a	76.9	87.3	95.8 [†]	96.9 [†]	
		b	90.2	83.5	99.0	87.7	
	1日後生存率 %	a	92.0	72.9 ↓	98.9	93.6	
		b	100.0	94.7	99.0	94.0	
	4日後生存率 %	a	92.0	72.9 ↓	97.8	92.1	
		b	100.0	92.1 ↓	97.1	88.0 ↓	
	12日後生存率 %	a	95.5	100.0	98.8	87.7	
		b	96.0	96.8	86.7	88.6	
	21日後生存率 %	a	93.2	97.1	98.8	80.7	
		b	96.0	95.2	81.6 ↓	65.9 ↓	
	離乳時平均体重 (g)	a	♂	50	51	49	52
			♀	45	47	49	47
b		♂	52	52	47	31	
		♀	47	44	47	32	

統計検定: ↓(†), p<0.05で有意な減少(増加)、↓(||), p<0.01で有意な減少(増加)
Tukeyの多元配置法又はSchffeの多元配置法; 親動物の体重及び臓器重量(絶対重量)
Wallisの多重比較法; 体重比臓器重量、脳重比臓器重量、t検定; 産児数及び離乳児体重

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表5. 検体のラットを用いた次世代試験の結果の概要(繁殖性試験の部)
その3(親F2 ; 児F3)

投与量(ppm)		0(対照群)	100	500	2500
動物数	♂	10	10	10	6*
	♀	20	20	20	12*
一般症状	♂	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
	♀	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
死亡率%	♂	30	30	20	33
	♀	15	10	15	25
体 重	♂	—	対照群と差なし	対照群と差なし	0-3週時↓, 4,5週時↓
	♀	—	対照群と差なし	対照群と差なし	0-8週時↓, 9,11週時↓
摂餌量	♂	—	対照群の98%	対照群の102%	対照群の85%
	♀	—	対照群の101%	対照群の115%	対照群の85%
食餌効率	♂	—	対照群と差なし	対照群と差なし	対照群と差なし
	♀	—	対照群と差なし	対照群と差なし	対照群と差なし
動 検体投与量 (mg/kg/H)	♂	0	9.9	50.4	282.9
	♀	0	9.2	51.6	240.9
物 交尾率%(雌)	a	37.8(14/37)	41.0(16/39)	50.0(12/24)	13.3(6/45↓)
	b	17.9(7/39)	15.2(7/46)	54.2(13/24↑)	15.8(3/19)
受胎率%(雌)	a	78.6(11/14)	75.0(12/16)	100(12/12)	83.3(5/6)
	b	85.7(6/7)	85.7(6/7)	92.3(12/13)	100(3/3)
受精率%(雄)	a	87.5(7/8)	77.8(7/9)	77.8(7/9)	100(4/4)
	b	66.7(4/6)	50.0(3/6)	100(7/7)	100(3/3)
妊娠率%(雌)	a	91.7(11/12)	100(12/12)	100(12/12)	41.7(5/12↓)
	b	60.0(6/10)	54.5(6/11)	100(12/12↑)	60.0(3/5)
分娩率%(雌)	a	100(11/11)	100(12/12)	100(12/12)	100(5/5)
	b	83.5(5/6)	100(6/6)	91.7(11/12)	100(3/3)
肉眼的 病理検査	♂	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし
	♀	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし	特に異常なし

統計検定: ↓(↑), p<0.05で有意な減少(増加)、↓↓(↑↑), p<0.01で有意な減少(増加)
Tukeyの多元配置法又はSchffeの多元配置法; 親動物の体重及び臓器重量(絶対重量)
Wallisの多重比較法; 体重比臓器重量、脳重比臓器重量、t検定; 産児数及び離乳児体重

* : 新生児生存率が悪かったため、計画数の親を確保できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表6. 検体のラットを用いた次世代試験の結果の概要(繁殖性試験の部)
その3(親F2 ; 児F3 つづき)

投与量(ppm)		0(対照群)	100	500	2500		
親動物	臓器重量	♂	—	対照群と差なし	肝臓(体重比)↓	脳(絶対),.	
		♀	—	対照群と差なし	対照群と差なし	対照群と差なし	
	病理組織学的検査	♂	特に異常なし	(検査せず)	(検査せず)	対照群と差なし	
		♀	特に異常なし	(検査せず)	(検査せず)	対照群と差なし	
児動物	総産児数(腹平均)	a	97 (8.8)	113 (9.4)	113 (9.4)	38 (7.6)	
		b	52 (10.4)	60 (10.0)	92 (8.4)	22 (7.3)	
	生存産児率%	a	84.5	92.9	89.4	92.1	
		b	90.4	98.3	85.9	59.1↓↓	
	1日後生存率%	a	98.8	98.1	90.1↓	97.1	
		b	95.7	100.0	96.2	100.0	
	4日後生存率%	a	85.4	98.1↑	88.1	97.1	
		b	91.5	98.3	91.1	100.0	
	12日後生存率%	a	98.6	98.0	86.4.,	73.5.,	
		b	87.5	100.0↑	97.0	53.8↓	
	21日後生存率%	a	79.7	90.2↑	81.8	23.5↓↓	
		b	85.0	98.1↑	83.3	15.4↓↓	
	離乳時平均体重(g)	a	♂	45	36 ..	35 ..	27
			♀	41	36 ↓	35 ..	21 ↓↓
		b	♂	39	45	41	31
			♀	39	41	41	NA
	病理組織学的検査(bのみ)	♂	特に異常なし	(検査せず)	対照群と差なし	対照群と差なし	
		♀	特に異常なし	(検査せず)	対照群と差なし	NA	

統計検定: ↓(↑), p<0.05で有意な減少(増加)、↓↓(↑↑), p<0.01で有意な減少(増加)
Tukeyの多元配置法又はSchffeの多元配置法; 親動物の体重及び臓器重量(絶対重量)
Wallisの多重比較法; 体重比臓器重量、脳重比臓器重量、t検定; 産児数及び離乳児体重

NA: 雌動物が零匹のためデータなし。また、離乳した雄はa, bとも2例のみ。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2)-1 ラットを用いた次世代への影響（繁殖性）試験 (資料No. 14-1)
試験機関
[G L P 対応]
報告書作成年

検体の純度： %

供試動物： ラット (), 1群雌雄各24匹
投与開始時週齢；F0世代 5週齢, F1世代 3週齢
投与開始時体重；F0世代 雄169~197 g, 雌125~149 g
F1世代 雄46~99 g, 雌49~95 g

投与期間： F0世代 雄は、投与開始から交配相手の分娩終了後の剖検終了までの約15週間。雌は、投与開始からF1児を離乳した後の剖検終了までの約16~19週間。
F1世代 雄は、F1親動物として選抜された後の育成開始から交配相手の分娩終了後の剖検終了までの約15週間。雌は、F1親動物として選抜された後の育成開始からF2児を離乳した後の剖検終了までの約16~19週間。

()

投与方法： 検体を0, 15, 75及び375 ppmの濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお、対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与用量設定根拠：

観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

親動物

一般状態及び死亡：投与期間中1日2回、全動物の一般状態及び生死を観察した。体重測定時は動物を手に取り、詳細に観察した。衰弱の著しい動物は発見時に安楽死させて剖検を実施した。

体重： 雄は、投与開始日、投与期間中は1週毎、及び剖検日に測定した。雌は、投与開始日、交配前投与期間中は1週毎、妊娠・哺育期間は妊娠0日、7日、14日、20日及び哺育0日、4日、7日、14日、21日及び剖検日に測定した。

体重増加量： 雄では投与開始日、雌では投与開始日、妊娠0日及び哺育0日の体重値を基準として各体重測定日について算出した。

摂餌量： 雄は、投与期間中、剖検日を除いて、1週毎に測定した。雌は、交配前投与期間中は1週毎、妊娠・哺育期間は妊娠0日、7日、14日、20日及び哺育0日、7日、14日、21日に測定した。ただし、雌雄ともに、交配中

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

の測定は行わなかった。

検体摂取量： 平均体重と平均摂餌量に基づき、下記の式から雌雄別に検体摂取量(mg/kg/日)を算出した。

検体摂取量(mg/kg/日)

$$= \text{群平均摂餌量(g/ラット/日)} \times \text{設定濃度(ppm)} \div \text{群平均体重(g)}$$

交配及び交尾の確認：雌を夕刻に同群の雄のケージに移し、1：1で連続同居方式で交配させた。なお、F1世代においては、兄妹交配を避けた。翌日から毎日、午前中に膣栓及び膣垢中の精子の有無を調べ、膣栓又は膣垢中の精子のいずれかが認められる雌は、交尾が行われたものと判断し、その日を妊娠0日とした。交配期間の限度を2週間とした。ただし、この期間に交尾が確認されなかった雌は、既に交尾が確認された同じ群の雄と、さらに7日間を限度として同居させた。

繁殖性に関する指標：親動物の交配、妊娠及び分娩の観察結果に基づき、次の指標を調べた。

性成熟： F1親動物として選抜された全動物を対象に、雄については包皮分離及び雌については膣開口を指標として、それぞれ生後35日及び25日から完成日まで毎日個々の動物を観察した。完成日に体重を測定した。

発情周期： 各群の雌親動物の性周期に伴う膣垢像の変化を、同居2週間前から交尾が確認されるまで調べた。雄と同居開始前の期間における性周期の観察結果から、性周期異常の判定及び平均発情期間隔の算出を行った。

交尾率： 交尾の確認を膣栓の有無又は膣垢中の精子の有無によって行い、雌雄それぞれについて、次の式から交尾率を求めた。

$$\text{雄の交尾率 (\%)} = (\text{交尾成立雄数} / \text{同居させた雄数}) \times 100$$

$$\text{雌の交尾率 (\%)} = (\text{交尾成立雌数} / \text{同居させた雌数}) \times 100$$

受胎率： 妊娠の確認を分娩の有無及び子宮内の着床痕の有無によって行い、次の式から受胎率を求めた。

$$\text{雄の受胎率 (\%)} = (\text{雌を妊娠させた雄数} / \text{交尾成立雄数}) \times 100$$

$$\text{雌の受胎率 (\%)} = (\text{妊娠雌数} / \text{交尾成立雌数}) \times 100$$

出産率： 1匹以上の生存児を出産した場合に正常出産とし、次の式から出産率を求めた。

$$\text{出産率 (\%)} = (\text{正常出産雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$$

妊娠期間： 交尾成立日(妊娠0日)から分娩終了日(哺育0日)までの期間を日数で表した。

着床数： 剖検時に各雌の子宮内の着床痕の数を肉眼的に数えた。

分娩率： 次の式から分娩率を求めた。

$$\text{分娩率 (\%)} = (\text{産児数} / \text{着床数}) \times 100$$

精子検査： 試験途中で安楽死させた動物を除くすべての雄親動物について、精巣及び精巣上体の精子の数、並びに精巣上体の精子の運動能及び形態を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

調べた。

精巣の精子細胞数；精巣（原則として右側）の白膜を除去して重量を測定後，精子頭部浮遊液を作製し，血球計算盤を用いて顕微鏡下で精子細胞の頭部を計数した。精子細胞数は，総数及び精巣1 g当たりの数として表した。

精巣上体の精子運動能；精子運動能解析装置（TOX IVOS, Hamilton Thorne Biosciences社）を用いて調べた。精子の運動能は，自動性を示す精子の百分率（運動率），良好精子の百分率，遊泳速度及び遊泳パターンで表した。

精巣上体の精子数；精子運動能の解析終了後の標本を希釈し，血球計算盤を用いて顕微鏡下で計数した。精子数は，精巣上体尾部当たりの数及び精巣上体尾部1 g当たりの数として表した。

精子の形態検査；精子の形態は，塗抹染色標本を作製して動物あたり200個の細胞を顕微鏡で観察し，異常形態精子の出現率として表した。

病理学的検査：

剖検； 試験途中で安楽死させた動物及び交配相手の分娩終了後（雄）又は哺育児離乳後（雌）の全生存親動物について剖検を行った。雌親動物については，瀕死のため安楽死させた動物を除き，剖検時の性周期段階を発情後期又は発情間期とした。

臓器重量； 剖検後，全ての親動物について，以下の臓器重量を測定し，相対重量（対体重比）を算出した。臓器重量の統計学的検定は，非妊娠例及び途中安楽死例を除外して評価した。
脳，下垂体，甲状腺，肝臓，脾臓，腎臓，副腎，精巣，精巣上体，精囊（凝固腺とともに分泌物含む），前立腺，卵巣及び子宮

病理組織学的検査；対照群及び高用量群においてはF0及びF1親動物の全例，低用量群及び中用量群においては，性周期の異常又は哺育児全例の死亡が認められた雌並びに交尾又は妊娠の証拠が得られなかった雌雄の組について下記の器官又は組織の病理組織学的検査を実施した。

精巣（原則として左側），精巣上体（頭部，体部，尾部，原則として左側），精囊，凝固腺，前立腺（腹葉），卵巣，子宮（角部及び頸部），卵管，下垂体，副腎及び膈

精巣については，異常の有無にかかわらず，すべての投与群のF0及びF1親動物について，精子形成の異常の有無を詳細に観察した。

臓器重量の変化として，高用量群の雄親動物の腎臓において，F0世代で絶対重量及び対体重比に，F1世代で対体重比に有意な高値が認められたため，対照群及び高用量群のF0及びF1雄全例について腎臓の検査を実施した。病理組織学的検査の結果，高用量群で検体投与に起因すると思われる異常は認められなかったことから，低用量群と中用量群のさらなる検査は行わなかった。

卵巣の原始卵胞数の測定は，F1世代の無作為に抽出した対照群及び高用量群の各10例の卵巣（右側）について実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

児動物

一般状態及び死亡：哺育期間中及び離乳後F1親動物選抜日又は剖検日まで、毎日哺育児又は離乳児を観察した。

産児数：生後0日に、正常に出産した腹毎に生存児数と死亡児数を数え、それらの合計を産児数とした。

性比： 児動物の性を、生後0日に目視による肛門と生殖突起の間の長さから判定して雌雄の数を記録し、次の式から腹毎に性比を求めた。
性比＝雄産児数／産児数

生存率： 生後0日、4日、7日、14日及び21日における哺育児の生存率並びに離乳率を次の式から腹毎に求めた。

生後0日生存率 (%)=(生後0日生存児数／産児数)×100

生後4日生存率 (%)=(生後4日生存児数／生後0日生存児数)×100

生後7日生存率(%)=(生後7日生存児数／生後4日に選抜した児数)
×100

生後14日生存率(%)=(生後14日生存児数／生後7日生存児数)×100

生後21日生存率 (%)=(生後21日生存児数／生後14日生存児数)×100

離乳率 (%)=(生後21日生存児数／生後4日に選抜した児数)×100

体重： 各腹の生存哺育児全例について、生後0日、4日、7日、14日及び21日に測定した。臓器重量を測定する離乳児については、生後26日(剖検日)にも測定した。

剖検： 生後4日に選抜されなかった哺育児は全例その日に剖検した。F1離乳児はF1世代の親動物を選抜した残りの動物を、F2離乳児はすべての動物をそれぞれ生後26日に剖検した。哺育期間中に死亡した児は、発見後速やかに剖検した。

血液学的検査： 器官・組織の保存用として選択された離乳児のうち出産日の早い順に各群雌雄各12例について、剖検時に腹部大動脈より採血し、赤血球数(RBC)、ヘマトクリット値(HCT)、ヘモグロビン濃度(HGB)及び網赤血球数(Reticulocyte)を測定した。

臓器重量： 器官・組織の保存用として選択された離乳児全例について剖検後、以下の臓器重量を測定し、相対重量(対体重比)を算出した。
脳、胸腺、脾臓、子宮

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表1：試験の概要

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
F0	育成 (10週間)		動物の一般状態を毎日観察。 体重及び摂餌量を週1回測定。 交配前2週間雌の性周期を観察。
	交配 (2週間)	雌雄を1:1で同居させた。膣栓又は膣垢中の精子の有無により交尾を確認。交尾確認日を妊娠0日とした。	交配状況の観察(交尾率)。
	妊娠 (3週間)		母動物の体重(妊娠0, 7, 14及び20日)及び摂餌量(妊娠0-7, 7-14及び14-20日)を測定。
	出産	分娩終了確認日を哺育0日とした。	出産状況の観察。 産児数, 生存児数, 死産児数, 性別, 受胎率, 出産率, 妊娠期間。
	哺育 (3週間)	哺育4日に, 各同腹児数を可能な限り, 雄4匹, 雌4匹に調整。	母動物の体重(哺育0, 4, 7, 14及び21日)及び摂餌量(哺育0-7, 7-14及び14-21日)を測定。 哺育児の一般状態を毎日観察し, 体重を生後0, 4, 7, 14及び21日に測定。 途中死亡及び生後4日に選抜されなかった児動物について剖検。
	離乳	F1親動物用の各群雌雄24匹ずつを無作為に選抜(原則各腹から雌雄各1匹)。	交配相手の分娩終了後(雄)又は哺育児離乳後(雌)の全親動物について剖検, 臓器重量測定, 雄の精子検査。 対照群と高用量群の雌雄及び低, 中用量群の不妊が疑われる動物の生殖器官, 下垂体及び副腎の病理組織学的検査。加えて, 全群の雄の精巣及び腎臓の病理組織学的検査。 F1哺育児の剖検, 各腹雌雄各1匹について, 脳, 脾臓, 胸腺及び子宮重量を測定, 各群雌雄12匹の血液学的検査。
F1	育成 (10週間)		F0世代に準ずるが, その他に発育指標として, 包皮分離及び膣開口を観察。
	交配 (2週間)	(F0世代に準ずるが, 兄妹交配を避けた)	(F0世代に準ずる)
	妊娠 (3週間)		(F0世代に準ずる)
	出産	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	哺育 (3週間)	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	F2	離乳	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結果：概要を表2-1～2-6 (親動物) 及び表3 (児動物) に示す。

親動物に対する影響

一般状態及び死亡：15 ppm群では，F0雄の1例で眼周囲被毛汚染，不正咬合がみられた。F1雄の1例で一時的な血尿が観察された。F0雌の1例では，哺育1日に外尿道口周囲被毛汚染，呼吸緩徐，自発運動の低下がみられ，衰弱が著しいため予後不良と判断し安楽死させた (剖検では脾臓の水腫，肝臓の黄褐色化，腎臓の黄褐色化，子宮の胎盤残留，皮膚の黄白色皮下腫瘍及び胸腔の無色透明漿液性胸水が認められた)。75 ppm群では，F0雄の1例で，鼻周囲/眼周囲被毛汚染，不正咬合，自発運動の低下がみられ，衰弱が著しいため予後不良と判断し安楽死させた (剖検では鼻骨骨折，切歯不正咬合及び胸腺の小型が認められた)。F1雌の1例で眼球突出がみられた。しかし，これらの変化は1例のみの発生であり，より高い用量群に同様の変化がみられないため，検体投与との関連性はないと考えられた。375 ppm群では，F1雌の1例で妊娠17日に膈口からの出血がみられたが，この動物の分娩及び哺育には異常は認められなかった。これらの所見は，1例のみの発生であることから，検体投与との関連性はないと考えられた。その他には，雌雄ともいずれの投与群においても，検体投与に関連する変化あるいは死亡はみられなかった。

体重変化：雌雄とも，いずれの世代においても投与期間を通じて検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

体重増加量：雄では，いずれの世代においても投与期間を通じて検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。
F0雌では，交配前投与期間，妊娠期間及び哺育期間を通じて検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。
F1雌では，交配前投与期間及び妊娠期間に検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。哺育期間では，15 ppm群において，哺育0-14日及び0-21日の体重増加量に対照群と比較して有意な低値がみられたが，より高い用量群では対照群との差は認められなかったことから，偶発性的変化と考えられた。75及び375 ppm群では，哺育0-4日及び0-7日の体重増加量に対照群と比較して有意な低値がみられた。

摂餌量：雌雄とも，いずれの世代においても投与期間を通じて検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

繁殖性に関する指標：

性成熟； F1世代の雄の包皮分離完成並びに雌の膈開口完成の平均日齢及び完成日の体重には，検体投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

発情周期； いずれの世代においても，正常性周期を示す雌の出現率及び発情期間隔には，検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

交尾率，受胎率；雌雄とも，いずれの世代においても検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

出産率，着床数，分娩率及び妊娠期間；いずれの世代においても検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

精子検査： いずれの世代においても、精巣の精子細胞数、精巣上体の精子数、精子運動率、良好精子率、精子の遊泳速度及び遊泳パターンの各指標に、検体投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。
精子形態検査では、F0雄の15 ppm群でバナナ型頭部精子頻度の有意な低下及びF1雄の375 ppm群でtailless精子頻度の有意な低下が認められた。しかし、いずれも異常形態精子率の低下であり、異常の総発生頻度に有意な差は認められなかったことから、検体投与と関連しない変化と考えられた。

剖検所見： 親動物の剖検では、検体投与群の雄又は雌で、切歯不正咬合、腎盂拡張、腎臓の灰白色部、腎臓の髓質白色部、腎盂内血液貯留、膀胱暗赤色尿貯留、精巣の大型、精巣の小型、精巣上体の小型、精巣の軟化、角膜白濁、視神経狭細化、子宮の内腔拡張、子宮の白色混濁粘稠液体貯留又は腔の閉鎖等がみられたが、自然発生と考えられる所見であり、発生頻度も低いことから、検体投与と関連のない変化と考えられた。

臓器重量： 雄の15 ppm群では、いずれの世代においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。75 ppm群では、F0世代で精巣の対体重比に有意な低値が、F1世代で脾臓の絶対重量及び対体重比に有意な低値がみられた。375 ppm群では、F0世代で腎臓重量の絶対及び対体重比に有意な高値が、F1世代で腎臓の対体重比に有意な高値、副腎の絶対重量及び対体重比、精囊の絶対重量に有意な低値がみられた。

雌の15 ppm群では、F1世代で腎臓の対体重比に有意な高値が認められた。75 ppm群では、いずれの世代においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。375 ppm群では、F0世代で肝臓の対体重比に有意な高値がみられた。

病理組織学的所見： 受胎能の確認された雄では、対照群を含む各試験群に、以下の所見が認められた。精巣の精細管の拡張、精巣の精細管の萎縮、間質の水腫及びライディッヒ細胞のび漫性過形成、精巣上体の精子減少及び管腔内細胞残屑、腎臓の尿細管の好塩基性化、硝子円柱、近位尿細管上皮の好酸性小体、尿細管肥大、尿細管拡張、腎盂拡張、腎盂結石、皮質の炎症性細胞浸潤、乳頭、皮質又は髓質の線維化、間質の巣状増生並びに嚢胞、前立腺の間質の炎症、下垂体の前葉の嚢胞、副腎の皮質の巣状過形成がみられた。

離乳児の得られた雌では、卵巣の嚢胞及び下垂体前葉の嚢胞がみられた。

これらはいずれも自然発生と考えられる所見であり、発生頻度も低いことから、検体投与と関連のない変化と考えられた。

交尾不成立、交配相手雌が妊娠不成立あるいは精子検査で異常が認められた雄の検査では、以下の所見が認められた。精巣の精細管の萎縮、間質の水腫及びライディッヒ細胞のび漫性過形成、精巣上体の精子減少及び管腔内細胞残屑、腎臓の尿細管の好塩基性化、前立腺の間質の炎症、下垂体の前葉の嚢胞がみられた。

性周期の異常、交尾不成立、妊娠不成立あるいは哺育途中で全哺育児の死亡がみられた雌の検査では、以下の所見が認められた。子宮角部では内膜の好中球浸潤、子宮頸部では固有層の炎症性細胞浸潤、腔では中隔、粘膜上皮の好中球浸潤がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

375 ppm群におけるF1雌の原始卵胞数に、対照群と比較して有意な差は認められなかった。

児動物に対する影響

一般状態及び死亡：哺育期間中の観察では、雌雄のF1及びF2児の死亡が対照群を含む各群で少数例に認められたが、発生頻度に検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。また、検体投与群の雄又は雌で索状尾、短尾、腹部膨満、眼球膨大等が少数例認められたが、いずれの所見も自然発生する所見であり、それらの発生頻度にも検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

産児数及び性比：産児数及び性比には、いずれの世代においても検体投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

生存率：哺育期間中の哺育児の生存率及び離乳率には、いずれの世代においても検体投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。なお、哺育期間途中の全哺育児死亡が、F0雌の対照群の3例及びF1雌の75 ppm群の1例にみられた。しかし、高用量群の動物では同様の異常は認められないことから、これらの変化は検体投与と関連しないと考えられた。

体重：雌雄とも、いずれの世代においても哺育期間中の体重に検体投与群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

剖検所見：哺育期間中に死亡したF1及びF2哺育児、生後4日又は生後26日に安楽死させた児動物の剖検では、対照群を含む各試験群に腎盂拡張等の所見が少数例みられた。しかし、これらの変化は発生頻度が低く、対照群でもみられることから自然発生と考えられた。なお、F2雄児の375 ppm群で1例に眼球膨大、角膜白濁及び視神経狭細がみられたが、1例のみの発生であることから、偶発性的変化と考えられた。哺育期間中に死亡した児動物の心臓内部の検査では、心室中隔欠損は認められなかった。

血液学的検査：F1及びF2雌雄とも、いずれの項目にも検体投与群と対照群の間に有意な差は認められず、貧血を示唆するような変化は認められなかった。

臓器重量：F1及びF2離乳児の臓器重量については、F1雌の375 ppm群で胸腺の絶対重量に対照群と比較して有意な低値がみられたが、対体重比には有意な差はみられず、F2雌では有意な変化はみられないことから、検体投与に関連しない変化と考えられた。

以上の結果から、本試験条件下におけるMCPBエチルの無毒性量 (NOAEL) は以下のよう

親動物の一般毒性：	雄	375 ppm	F0雄 23.6 mg/kg/day, F1雄 27.2 mg/kg/day
	雌	15 ppm	F0雌 1.24 mg/kg/day, F1雌 1.32 mg/kg/day
親動物の繁殖能力並びに	雄	375 ppm	F0雄 23.6 mg/kg/day, F1雄 27.2 mg/kg/day
児動物の発育及び発生：	雌	375 ppm	F0雌 31.4 mg/kg/day, F1雌 32.8 mg/kg/day

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2-1 結果の概要 (親動物-1)

世代		親動物：F0, 児動物：F1				親動物：F1, 児動物：F2				
投与量 (ppm)		0	15	75	375	0	15	75	375	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	一般状態	雄	不正咬合	1	1	1	0	0	0	0
		被毛汚染	1	1	1	0	0	0	0	
		自発運動の低下	0	0	1	0	0	0	0	
		血尿	0	0	0	0	0	1	0	
	雌	皮下腫瘍	0	1	0	0	0	0	0	
	被毛汚染	0	1	0	0	0	0	0		
	自発運動の低下	0	1	0	0	0	0	0		
	呼吸緩徐	0	1	0	0	0	0	0		
	眼球突出	0	0	0	0	0	0	1		
	臍出血	0	0	0	0	0	0	0		
	死亡/瀕死	雄	0	0	1	0	0	0	0	
	雌	0	1	0	0	0	0	0		
	体重 (g) ^a	雄	投与1日	100	100	100	100	100	100	100
			投与8日	100	99	100	99	100	99	99
投与15日			100	99	101	99	100	99	99	
投与22日			100	100	101	99	100	100	99	
投与29日			100	99	101	98	100	100	99	
投与36日			100	99	101	98	100	99	99	
投与43日			100	99	102	98	100	99	99	
投与50日			100	99	102	99	100	99	98	
投与57日			100	99	102	99	100	99	98	
投与64日			100	99	103	100	100	99	98	
投与71日			100	99	103	100	100	99	98	
投与78日			100	100	103	99	100	100	98	
投与85日			100	99	103	100	100	101	98	
投与92日			100	99	103	100	100	101	98	
投与99日		100	99	104	100	100	102	99		
雌		投与1日	100	100	100	100	100	100	100	
		投与8日	100	99	98	98	100	102	100	
		投与15日	100	99	99	99	100	100	101	
		投与22日	100	101	99	100	100	101	102	
		投与29日	100	99	100	98	100	101	100	
		投与36日	100	99	99	98	100	101	100	
		投与43日	100	100	100	98	100	101	100	
		投与50日	100	101	101	99	100	102	100	
		投与57日	100	100	99	98	100	102	100	
		投与64日	100	100	100	98	100	102	99	
		投与71日	100	101	100	99	100	103	100	
		妊娠0日	100	100	101	99	100	104	101	
		妊娠7日	100	101	100	99	100	102	99	
		妊娠14日	100	100	100	99	100	102	100	
		妊娠20日	100	99	98	98	100	101	100	
	哺育0日	100	99	99	98	100	103	102		
哺育4日	100	99	98	98	100	101	99			
哺育7日	100	98	98	96	100	101	99			
哺育14日	100	99	97	96	100	99	101			
哺育21日	100	99	98	98	100	98	100			

多重比較法 (Dunnett又はSteel法) : 体重

Fisherの正確確率検定法 : 一般状態

a : 変動の目安として対照群を100とした場合の値を表した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2-2 結果の概要 (親動物-2)

世代		親動物：F0, 児動物：F1				親動物：F1, 児動物：F2				
投与量 (ppm)		0	15	75	375	0	15	75	375	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	雄	投与8日	100	97	99	96	100	97	99	97
		投与15日	100	98	101	98	100	99	98	98
		投与22日	100	99	102	97	100	100	99	99
		投与29日	100	99	101	97	100	100	99	99
		投与36日	100	99	102	97	100	99	100	99
		投与43日	100	98	103	98	100	99	101	98
		投与50日	100	98	103	99	100	99	100	98
		投与57日	100	98	103	99	100	99	100	98
		投与64日	100	99	104	99	100	99	101	97
		投与71日	100	99	104	100	100	99	101	97
		投与78日	100	99	104	99	100	100	102	97
		投与85日	100	99	104	100	100	101	103	98
		投与92日	100	99	104	100	100	102	103	98
		投与99日	100	99	105	100	100	102	103	98
	雌	投与8日	100	94	91	93	100	104	106	101
		投与15日	100	96	97	96	100	100	103	103
		投与22日	100	102	99	100	100	101	102	103
		投与29日	100	98	99	95	100	101	101	100
		投与36日	100	99	99	96	100	102	100	100
		投与43日	100	100	100	95	100	102	100	100
		投与50日	100	101	101	99	100	103	101	100
		投与57日	100	100	99	96	100	102	101	100
		投与64日	100	101	100	96	100	103	102	99
		投与71日	100	102	100	98	100	104	101	100
		妊娠7日	100	104	91	98	100	92	93	88
		妊娠14日	100	101	94	98	100	94	95	96
		妊娠20日	100	95	91	96	100	95	96	97
		哺育4日b	11.0	10.7	9.5	13.1	10.4	5.9	-0.7↓	0.4↓
		哺育7日b	16.6	15.4	14.0	10.1	10.1	5.1	0.0↓	0.1↓
		哺育14日b	24.3	24.9	20.0	19.5	18.2	5.2↓	8.4	14.2
哺育21日b	-8.1	-8.4	-7.8	-7.0	-6.5	-22.9↓	-17.0	-14.3		

多重比較法 (Dunnett 又は Steel 法) : 体重増加量

↓ : p<0.05, ↓↓ : p<0.01

a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した。

b : 哺育 0 日を基準とした体重増加量を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2-3 結果の概要 (親動物-3)

世 代		親動物：F0, 児動物：F1				親動物：F1, 児動物：F2					
投与量 (ppm)		0	15	75	375	0	15	75	375		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24		
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24		
親動物	摂餌量 (g) ^a	雄	投与8日	100	99	100	98	100	99	100	99
		雄	投与15日	100	99	101	97	100	99	98	100
		雄	投与22日	100	100	103	100	100	100	100	99
		雄	投与29日	100	100	103	100	100	100	100	98
		雄	投与36日	100	100	102	98	100	99	100	96
		雄	投与43日	100	99	103	98	100	96	99	94
		雄	投与50日	100	100	104	100	100	101	103	99
		雄	投与57日	100	99	104	99	100	99	100	97
		雄	投与64日	100	100	104	102	100	99	102	96
		雄	投与71日	100	100	102	99	100	101	102	96
		雄	投与85日	100	99	99	100	100	102	103	99
		雄	投与92日	100	98	100	99	100	101	103	96
		雄	投与99日	100	100	104	101	100	101	103	97
		雌	投与8日	100	98	97	97	100	101	103	104
	雌	投与15日	100	100	98	100	100	101	103	103	
	雌	投与22日	100	102	101	102	100	101	101	98	
	雌	投与29日	100	101	102	100	100	106	104	101	
	雌	投与36日	100	99	99	101	100	106	102	100	
	雌	投与43日	100	104	102	101	100	103	98	96	
	雌	投与50日	100	104	102	101	100	105	103	101	
	雌	投与57日	100	100	97	100	100	105	104	101	
	雌	投与64日	100	104	102	102	100	104	103	98	
	雌	投与71日	100	102	99	101	100	108	104	104	
	雌	妊娠7日	100	103	97	100	100	103	102	103	
	雌	妊娠14日	100	100	98	97	100	103	103	103	
	雌	妊娠20日	100	100	98	101	100	100	99	103	
	雌	哺育7日	100	95	94	96	100	98	92	95	
	雌	哺育14日	100	94	91	95	100	98	100	100	
雌	哺育21日	100	97	96	99	100	97	98	97		
検体摂取量 (mg/kg/日) 投与期間平均		雄	*	0.94	4.76	23.6	*	1.10	5.52	27.2	
		雌	*	1.24	6.14	31.4	*	1.32	6.59	32.8	

多重比較法 (Dunnett 又は Steel 法) : 摂餌量

* : 該当なし

a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2-4 結果の概要 (親動物-4)

世代		親動物：F0, 児動物：F1				親動物：F1, 児動物：F2					
投与量 (ppm)		0	15	75	375	0	15	75	375		
動物数		雄	24	24	24	24	24	24	24		
		雌	24	24	24	24	24	24	24		
親動物	性成熟	包皮分離	日齢	*	*	*	*	41.3	40.8	41.0	41.6
			体重(g)	*	*	*	*	246.1	239.5	240.9	244.8
		膻開口	日齢	*	*	*	*	29.3	29.5	29.3	29.9
			体重(g)	*	*	*	*	112.5	113.4	112.4	114.2
	繁殖成績	正常性周期(%)		91.7	95.8	100	100	100	91.7	95.8	95.8
		発情期間隔 (日)		4.17	4.33	4.09	4.29	4.33	4.27	4.11	4.30
		交尾率(%)	雄	100	100	91.7	95.8	87.5	95.8	100	100
			雌	100	100	100	95.8	100	100	100	100
		受胎率(%)	雄	87.5	100	86.4	91.3	90.5	91.3	95.8	100
			雌	87.5	100	87.5	91.3	91.7	91.7	95.8	100
		出産率(%)		100	100	100	100	100	100	100	100
		妊娠期間(日)		22.1	22.1	22.1	22.2	22.1	22.3	22.1	22.1
		分娩率(%)		95.24	89.07	92.77	96.22	93.55	92.21	92.70	91.49
		着床数		15.3	15.8	14.6	15.0	15.5	15.2	14.5	15.4
産児数		14.6	14.0	13.4	14.5	14.5	14.1	13.4	14.0		
精子検査	精子数	精巣	×10 ⁶	199.29	208.93	193.88	203.46	212.94	221.02	215.65	221.90
			×10 ⁶ /g	113.47	118.50	114.37	118.57	127.34	131.36	129.72	134.96
		精巣上体	×10 ⁶	237.79	228.48	233.87	230.83	198.67	214.52	205.79	203.27
			×10 ⁶ /g	729.88	704.94	721.33	707.85	658.26	693.62	681.20	672.79
	精子運動率(%)		89.57	94.49	94.01	93.07	88.26	91.39	90.30	89.80	
	良好精子率(%)		47.22	47.74	47.93	46.28	42.95	46.58	47.26	44.68	
	総異常形態精子率(%)		1.56	1.15	1.13	1.38	3.33	1.73	1.77	1.29	
	バカ型頭部精子率(%)		0.27	0.06 ↓	0.09	0.15	0.19	0.19	0.29	0.15	
	Tailless 精子率(%)		1.17	0.98	0.85	1.17	3.10	1.46	1.44	1.10 ↓	

多重比較法 (Dunnett 又は Steel 法) : 性成熟完成日の日齢及び体重, 発情期間隔, 妊娠期間, 着床数,

分娩率, 産児数, 精巣又は精巣上体の精子数, 精子運動率, 異常形態精子率

Fisher の正確確率検定法 : 正常性周期率, 交尾率, 受胎率, 出産率

↓ : p<0.05, * : 該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2-5 結果の概要 (親動物-5)

世代			親動物：F0, 児動物：F1				親動物：F1, 児動物：F2				
投与量 (ppm)			0	15	75	375	0	15	75	375	
動物数		雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
		雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	剖検所見	雄	切歯不正咬合	1	1	1	0	0	0	0	0
		鼻骨骨折	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		胸腺:小型	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		腎盂拡張	0	0	0	1	2	1	0	0	3
		腎盂内血液貯留	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		腎臓:灰白色部	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		腎臓の嚢胞	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		腎臓:髓質白色部	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		精巣:軟化	0	0	0	1	0	0	1	0	0
		精巣:大型	0	0	0	0	1	1	0	0	0
		精巣:小型	0	0	0	0	1	1	0	0	0
		精巣上部:小型	0	0	0	1	1	2	1	0	0
		膀胱:暗赤色尿貯留	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		雌	角膜白濁	0	0	0	0	0	0	1	0
	視神経狭細化	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	腎盂拡張	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	子宮:内腔拡張	2	0	1	0	0	0	0	0	0	
	白色混濁粘稠液体貯留	2	0	1	0	0	0	0	0	0	
	胎盤残留	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	膣:閉鎖	2	0	1	0	0	0	0	0	0	
	肝臓:黄褐色化	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	腎臓:黄褐色化	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	無色透明漿液性胸水	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	膀胱:水腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	黄白色皮下腫瘤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	剖検時体重 a		雄	100	99	104	100	100	101	102	98
			雌	100	98	97	97	100	98	100	100
臓器重量 a	雄	腎臓	絶対重量	100	100	106	111↑	100	99	102	105
			対体重比	100	101	103	111↑	100	98	100	106↑
		脾臓	絶対重量	100	99	101	100	100	92	90↓	93
			対体重比	100	100	97	101	100	91	88↓	95
		副腎	絶対重量	100	102	102	93	100	92	94	85↓
			対体重比	100	103	98	93	100	92	92	86↓
	精巣	絶対重量	100	101	96	97	100	100	98	98	
		対体重比	100	102	93↓	97	100	100	96	101	
	精囊	絶対重量	100	103	101	94	100	94	98	91↓	
		対体重比	100	104	98	94	100	93	96	93	
	雌	肝臓	絶対重量	100	99	97	106	100	97	94	103
			対体重比	100	101	99	109↑	100	100	95	103
腎臓		絶対重量	100	101	101	101	100	103	103	104	
		対体重比	100	103	103	105	100	106↑	104	105	

多重比較法 (Dunnett 又は Steel 法) : 臓器重量

Fisher の正確確率検定法 : 剖検所見

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01

a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2-6 結果の概要 (親動物-6)

世代			親動物：F0, 児動物：F1				親動物：F1, 児動物：F2				
投与量 (ppm)			0	15	75	375	0	15	75	375	
動物数	雄		24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌		24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	病理組織学的所見	雄	精巣 (検査数)	24	24	24	24	24	24	24	24
		精細管の萎縮	0	0	0	1	1	2	1	0	
		精細管の拡張	0	0	0	0	1	0	0	0	
		間質の水腫	0	0	0	1	1	2	1	0	
		ライディッヒ細胞の過形成	0	0	0	1	1	2	1	0	
		精巣上体 (検査数)	24	0	5	24	24	5	2	24	
		精子減少	0	*	0	1	1	2	1	0	
		管腔内細胞残屑	0	*	0	1	1	2	1	0	
		前立腺 (検査数)	24	0	5	24	24	3	1	24	
		間質の炎症	10	*	1	7	8	2	1	5	
		腎臓 (検査数)	24	0	0	24	24	0	0	24	
		尿細管の好塩基性化	9	*	*	16	19	*	*	15	
		硝子円柱	3	*	*	4	8	*	*	6	
		近位尿細管上皮の過形成小体	2	*	*	0	3	*	*	0	
		尿細管肥大	1	*	*	0	0	*	*	0	
		尿細管拡張	0	*	*	1	0	*	*	0	
		腎盂拡張	0	*	*	1	2	*	*	3	
		腎盂結石	0	*	*	0	1	*	*	1	
		皮質の炎症性細胞浸潤	0	*	*	1	2	*	*	0	
		乳頭/皮質/髄質の線維化	0	*	*	1	1	*	*	0	
		間質の巣状増生	0	*	*	1	0	*	*	0	
		嚢胞	1	*	*	1	3	*	*	0	
		下垂体 (検査数)	24	0	5	24	24	3	1	24	
		前葉の嚢胞	0	*	0	2	2	0	0	0	
		副腎 (検査数)	24	0	5	24	24	3	1	24	
		皮質の巣状過形成	0	*	0	0	1	0	0	0	
		雌	卵巣 (検査数)	24	1	3	24	24	4	3	24
		嚢胞	1	0	0	1	0	0	0	0	
		子宮：角/頸部 (検査数)	24	2	3	24	24	4	3	24	
		内膜の好中球浸潤	2	0	0	0	0	0	0	0	
		固有層の炎症性細胞浸潤	1	0	0	0	0	0	0	0	
		胎盤壊死	0	1	0	0	0	0	0	0	
		膣 (検査数)	24	1	3	24	24	4	3	24	
		中隔	2	0	1	0	0	0	0	0	
		粘膜上皮の好中球浸潤	1	0	0	0	0	0	0	0	
		下垂体 (検査数)	24	1	3	24	24	4	3	24	
		前葉の嚢胞	1	0	0	1	0	0	0	1	
		異所性頭蓋咽頭組織	1	0	0	0	0	0	0	0	
		中間葉の嚢胞	0	0	0	0	1	0	0	0	
		膵臓 (検査数)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		間質水腫	*	1	*	*	*	*	*	*	
		肝臓 (検査数)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		限局性壊死	*	1	*	*	*	*	*	*	
		腎臓 (検査数)	0	1	0	0	0	0	0	0	
尿細管壊死/血栓	*	1	*	*	*	*	*	*			
乳腺 (検査数)	0	1	0	0	0	0	0	0			
腺癌	*	1	*	*	*	*	*	*			
原始卵胞数	*	*	*	*	178.7	*	*	172.8			

Fisher の正確率検定法：病理組織学的所見

Student の t 検定：原始卵胞数

*：該当なし/検査なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表3 結果の概要 (児動物)

世代		親動物：F0, 児動物：F1				親動物：F1, 児動物：F2					
投与量 (ppm)		0	15	75	375	0	15	75	375		
動物数 (腹数)	雄	21	24	21	21	22	22	23	24		
	雌	21	24	21	21	22	22	23	24		
児動物	性比 (雄/雄+雌)	0.450	0.523	0.467	0.505	0.506	0.486	0.473	0.499		
	一般状態	検体投与に関連する変化は認められなかった。									
生存率 (%)	生後 0 日	99.19	99.34	98.60	99.48	98.73	99.21	98.49	97.92		
	生後 4 日	84.47	94.92	94.29	96.85	94.62	94.88	90.46	91.97		
	生後 7 日	92.11	95.89	100	98.21	98.49	99.43	94.30	98.96		
	生後 14 日	99.31	98.91	99.40	100	100	100	100	100		
	生後 21 日	100	100	100	100	100	100	100	99.48		
	離乳率	91.45	94.80	99.40	98.21	98.49	99.43	94.30	98.44		
	体重 (g)	雄	生後 0 日	100	102	101	100	100	101	96	
生後 4 日			100	107	108	106	100	101	101		
生後 7 日			100	101	102	104	100	98	103		
生後 14 日			100	98	98	98	100	98	104		
生後 21 日			100	99	97	98	100	98	104		
雌		生後 0 日	100	103	101	99	100	100	101		
		生後 4 日	100	109	106	102	100	100	106		
		生後 7 日	100	98	96	97	100	100	104		
		生後 14 日	100	96	95	94	100	100	104		
		生後 21 日	100	97	95	95	100	100	104		
		剖検所見 (%)	生後 4 日	雄 索状尾	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.67	0.00
				腎盂拡張	0.00	4.76	0.00	0.00	0.00	0.00	1.75
				尿管拡張	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.75
			雌 腎盂拡張	0.00	5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
生後 26 日	雄 眼球膨大/角膜白濁 / 視神経狭小	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	腎盂拡張	1.75	0.00	1.67	1.19	0.00	5.68	0.00			
	精巣小型	1.75	0.00	0.00	0.00	1.14	0.00	0.00			
	精巣上体小型	1.75	0.00	0.00	0.00	1.14	0.00	0.00			
雌 腎盂拡張	3.95	0.00	0.00	1.59	1.89	1.14	0.00				
血液学的検査	雄	RBC(10 ⁴ /μL)	511.8	507.9	515.3	510.8	503.8	505.7	523.4		
		HGB(g/dL)	10.50	10.33	10.59	10.52	10.67	10.35	10.73		
		HCT(%)	34.26	33.59	34.42	34.46	34.65	33.83	34.49		
		網赤血球数(%)	20.895	20.711	20.060	19.713	20.995	21.620	19.757		
	雌	RBC(10 ⁴ /μL)	541.8	532.3	539.0	536.7	529.8	525.5	521.3		
		HGB(g/dL)	10.68	10.99	10.82	11.03	10.93	10.88	10.87		
		HCT(%)	34.46	35.42	35.03	35.52	35.07	34.90	34.88		
		網赤血球数(%)	19.342	19.889	19.447	18.778	20.069	19.548	18.981		
剖検時体重	雄	100	101	100	99	100	97	101			
	雌	100	99	96	95	100	100	103			
臓器重量	雄	脾臓	絶対重量	100	100	97	105	100	102		
			対体重比	100	100	97	106	100	105		
		胸腺	絶対重量	100	96	101	92	100	99		
			対体重比	100	96	101	93	100	102		
	脳	絶対重量	100	101	99	101	100	100			
		対体重比	100	101	99	102	100	102			
	雌	脾臓	絶対重量	100	91	90	93	100	100		
			対体重比	100	93	93	98	100	100		
		胸腺	絶対重量	100	92	95	87↓	100	99		
			対体重比	100	93	98	91	100	99		
		子宮	絶対重量	100	94	98	92	100	113		
			対体重比	100	97	102	98	100	115		
脳	絶対重量	100	99	98	100	100	100				
対体重比	100	102	103	105	100	101					

多重比較法 (Dunnett 又は Steel 法): 体重, 生存率, 離乳率, 性比, 臓器重量, 血液学的検査

Steel の検定法: 児動物の一般状態, 剖検所見

↓: p<0.05, a: 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) ラットを用いた次世代への影響(精巢に及ぼす影響)試験 (資料No. 15)

試験機関：
報告書作成年

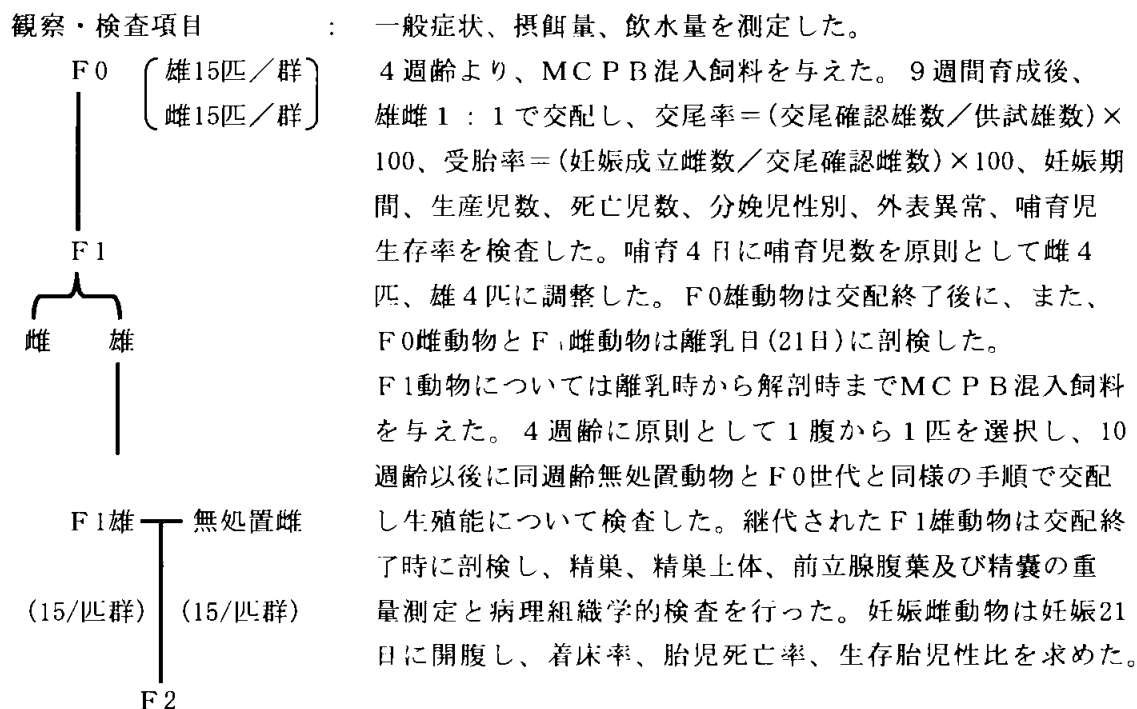
検体の純度：

供試動物： ラット、1群 雄15匹、雌15匹

試験期間：

試験の目的：先に実施されたラットを用いた次世代への影響(繁殖性)試験(資料No. 14)において認められたF1動物の精巢に対する本検体の障害作用の有無の再現性を調べるため、本試験を新たに追加実施した。

投与方法：MCPBを0、100、2500 ppmを含有する 添加飼料を調製し、F0世代の雌雄動物には9週間、またF1世代の雄動物群には離乳時から解剖時まで摂食させた。投与量として、資料No. 14においてF1世代雄の親動物で精巢の変性が認められた2500 ppmと、無作用量であった100 ppmを再確認のため設定した。



試験結果：試験結果を表1及び表2にまとめた。体重、摂餌量、飲水量及びF1雄の生殖器臓器重量については対照群を100とした場合の値を示した。F1動物に対する精巢障害作用に関しては、次のような結果であった。

1) 100 ppm投与群；F1動物の生殖器系臓器は前立腺及び精巢上部の重量が対

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

照群と比較して減少していたが、肉眼的な異常は認められなかった。病理組織学的検査では軽度な精細胞系細胞の変性・消失及び前立腺腔内の石灰沈着が観察されたが、これらの変化は対照群にも同様に認められ、検体投与に起因した変化とは認められなかった。またF1雄動物の全例が無処置雌動物を妊娠させ、生殖機能に異常は認められなかった。

2)2500 ppm群；F1雄動物の成長抑制が強く、外性器の発達も不十分であり無処置雌動物との交配で妊娠動物を得ることはできなかった。生殖器系臓器については肉眼的及び組織学的検査のいずれにおいても検体投与に起因した変化は認められなかった。

以上のように、MCPBは100 ppm(F0雄：9.9 mg/kg/日、雌：10.8 mg/kg/日、F1雄：9.9 mg/kg/日)の用量では精巣に対し、障害作用を及ぼさないものと結論された。2500 ppm(F0雄：223.4 mg/kg/日、雌：218.8 mg/kg/日、F1雄：269.6 mg/kg/日)の用量については、親動物に対する一般毒性が強く発現し、外生殖器の発育不良による継代不能な用量と思われたが、F1動物の精巣には検体投与に起因した形態学的な異常は認められなかった。また、病理組織学的検査においても検体投与に関連する異常所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表1. 検体のラットを用いた次世代への影響試験の結果(親：F0、児：F1)

世 代		親：F0 児：F1		
投 与 量		対 照 群	100 ppm	2500 ppm
動 物 数	♂	15	15	15
	♀	15	15	15
一 般 症 状	♂	変化なし	変化なし	変化なし
	♀	変化なし	変化なし	分娩から哺育期間にかけ立毛7例あり、うち3例は軽～中度の貧血
死 亡 率		0%	0%	0%
親 動 物 体 重	♂	投与1週		▼ 90
		投与2週		↓ 93
		投与3週		▼ 83
		投与4週		▼ 81
		投与5週		↓ 94
		投与6週		↓ 93
		投与7週		↓ 93
		投与8週		↓ 92
		投与9週		↓ 92
		投与10週		↓ 92
	♀	投与1週		▼ 87
		投与2週		▼ 91
		投与3週		▼ 83
		投与4週		↓ 96
		投与5週		↓ 96
		投与6週		▼ 82
		投与7週		▼ 83
		投与8週		▼ 83
		投与9週		▼ 84
		妊娠0日		▼ 86
		妊娠7日		▼ 84
		妊娠14日		▼ 83
		妊娠21日		▼ 80
		哺育0日		▼ 86
		哺育4日		▼ 84
		哺育7日		▼ 89
		哺育14日		↓ 95
		哺育21日		↓ 95

Studentのt検定、Aspin-Welch検定又は χ^2 乗検定

↑(↓)、*(.), ▲(▼) : $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$ 水準で増加(減少)、空欄は有意差なし
体重、摂餌量及び飲水量は、対照群を100とした場合の値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表 2. 検体のラットを用いた次世代への影響試験の結果(親 : F0、児 : F1つづき)

世 代		親 : F0 児 : F1			
投 与 量		対 照 群	100 ppm	2500 ppm	
親 動 物	摂 餌 量	♂	投与0-1週		↓ 73
			投与1-2週		↓ 76
			投与2-3週		▼ 65
			投与3-4週		▼ 78
			投与4-5週		↓ 86
		投与5-6週		↓ 86	
		投与6-7週	↓ 87	↓ 80	
		投与7-8週		↓ 81	
		投与8-9週		↓ 78	
		投与9-10週	↓ 86	↓ 79	
	♀	投与0-1週		↓ 70	
		投与2-3週		↓ 62	
		投与3-4週		↓ 81	
		投与4-5週		↓ 80	
		投与5-6週		↓ 79	
		投与7-8週		↓ 78	
		妊娠0-7日		▼ 74	
		妊娠7-14日		▼ 79	
		妊娠14-21日		▼ 80	
		哺育0-4日	.. 85	▼ 62	
	哺育4-7日		▼ 76		
	哺育7-14日	.. 92	▼ 61		
	哺育14-21日	.. 91	▼ 49		
	飲 水 量	♂	投与5-6週		↓ 84
			投与7-8週		↓ 73
			投与8-9週		↓ 70
			投与9-10週		↓ 71
♀		投与1-2週	↓ 92		
		妊娠0-7日		↓ 85	
		哺育0-4日		▼ 64	
		哺乳4-7日		▼ 70	
		哺育7-14日	.. 90	▼ 59	
		哺育14-21日	.. 91	▼ 47	

Studentのt検定、Aspin-Welch検定又は χ^2 乗検定

↑(↓)、*(.), ▲(▼) : $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$ 水準で増加(減少)、空欄は有意差なし
体重、摂餌量及び飲水量は、対照群を100とした場合の値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表3. 検体のラットを用いた次世代への影響試験の結果(親:F0、児:F1つづき)

世 代		親:F0 児:F1			
投 与 量		対 照 群	100 ppm	2500 ppm	
親動物	食餌効率	♂	異常なし	対照群と差なし	対照群と差なし
		♀	同上	同上	同上
	検体餌取量	♂	—	9.9 mg/kg/日	223.4 mg/kg/日
		♀	—	10.8 mg/kg/日	218.8 mg/kg/日
	交尾率		100% (15/15)	100% (15/15)	100% (15/15)
	妊娠率		100% (15/15)	93% (14/15)	100% (15/15)
肉眼的病理検査	♂	異常なし	異常なし	異常なし	
	♀	同上	同上	同上	
児動物	妊娠期間(日)		22.1	22.1	22.9
	新生児数(総数)		13.9 (209)	13.4 (188)	▼ 10.9 (163)
	生存産児数(総数)		13.9 (208)	13.4 (187)	▼ 10.3 (153)
	性比(雄/雌)		0.90 (103/105)	1.15 (100/87)	0.93 (74/80)
	新生児体重	♂	5.9 g	5.9 g	▼ 5.0 g
		♀	6.2 g	6.2 g	▼ 5.2 g
	4日後生存率		99.0% (206/208)	99.5% (186/187)	▼ 88.3% (136/154)
	21日後生存率		100.0% (120/120)	100.0% (112/112)	▼ 60.4% (64/106)
	4日後体重	♂	10.3 g	10.0 g	▼ 7.5 g
		♀	9.8 g	9.5 g	▼ 7.4 g
	7日後体重	♂	16.3 g	↓ 15.5 g	▼ 9.8 g
		♀	15.7 g	↓ 14.7 g	▼ 9.9 g
	14日後体重	♀	31.1 g	29.9 g	▼ 16.8 g
		♂	30.1 g	↓ 28.5 g	▼ 17.2 g
21日後体重	♂	51.6 g	↓ 48.3 g	▼ 25.6 g	
	♀	49.1 g	▼ 45.9g	▼ 24.0 g	
肉眼的病理検査		異常なし	異常なし	異常なし	

Studentのt検定、Aspin-Welch検定又は χ^2 乗検定

↑(↓)、*(.), ▲(▼) : $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$ 水準で増加(減少)、空欄は有意差なし

体重、摂餌量及び飲水量は、対照群を100とした場合の値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表4. 検体のラットを用いた次世代への影響試験の結果(親：F1、児：F2)

世 代		親：F1		児：F2			
投 与 量		対 照 群		100 ppm		2500 ppm	
動 物 数 (♂)		15		15		5	
一般症状		変化なし		変化なし		変化なし	
死 亡 率		0 %		0 %		16.7% (1/6)	
親	体 重	♂	投与4週			▼ 36	
			投与5週			▼ 38	
			投与6週		↓ 93	▼ 42	
			投与7週			▼ 50	
			投与8週		↓ 94	▼ 54	
			投与9週		↓ 94	▼ 59	
			投与10週		↓ 94	▼ 63	
	摂 餌 量	♂	投与8-9週		↓ 90		
			投与9-10週		↓ 90		
	動 物	飲 水 量	♂	投与4-5週		↓ 82	
投与5-6週					∴ 83		
投与6-7週					∴ 77		
投与7-8週					↓ 86		
投与8-9週					∴ 79		
投与9-10週					▼ 82		
食 餌 効 率		異常なし		対照群と差なし		対照群と差なし	
検体摂取量		—		9.9 mg/kg/日		269.6 mg/kg/日	
交 尾 率		100% (15/15)		100% (15/15)		第1回：0% (0/5) 第2回：20% (1/5)	
妊 娠 率		100% (15/15)		100% (15/15)		0% (0/1)	
肉眼的病理検査		異常なし		異常なし		異常なし	
臓 器 重 量	雄 生 殖 器	体重	472g	448g ↓ 95	401g a)		
		前立腺 (体重比)	717mg (0.152)	584mg ∴ 81 (0.130 ↓ 86)	628mg a) (0.155) a)		
		精巣上体	1205mg (0.256)	1095mg ∴ 91 (0.245 有意差なし)	1138 a) (0.285) a)		

Studentのt検定、Aspin-Welch検定又は χ^2 乗検定

↑(↓)、∴(∴)、▲(▼)： $p \leq 0.05$ 、 $p \leq 0.01$ 、 $p \leq 0.001$ 水準で増加(減少)、空欄は有意差なし
体重、摂餌量、飲水量及び臓器重量は、対照群を100とした場合の値を示した。

a) 発育不良のため交配時期が延び、19週齢にて解剖した。測定週齢が異なるため対照群との比較ができなかった(対照群及び100 ppm群は交配終了後13週齢にて解剖を実施した)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表5. 検体のラットを用いた次世代への影響試験の結果(親:F1、児:F2つづき)

世 代		親 : F1		児 : F2	
投 与 量		対 照 群	100 ppm	2500 ppm	
親 動 物	病理組織学的検査	異常なし	対照群と差なし	対照群と差なし	
	精巣				
	精細胞配列の変性・消失	15(100.0%)	14(93.3%)	4(80.0%)	
	+	0(0 %)	1(6.7%)	1(20.0%)	
	細精管の萎縮	15(100.0%)	15(100.0%)	5(100.0%)	
	間質性の浮腫	15(100.0%)	15(100.0%)	5(100.0%)	
	精巣上部	15(100.0%)	15(100.0%)	5(100.0%)	
	前立腺	15(100.0%)	15(100.0%)	5(100.0%)	
貯精嚢	15(100.0%)	15(100.0%)	5(100.0%)		
(—;正常 +;軽度な変化)					
児 動 物	黄体数(総数)	18.2 (273)	17.8 (267)	—	
	着床数(総数)	15.4 (231)	14.5 (217)	—	
	新生児数(総数)	14.9 (223)	13.9 (208)	—	
	性比(雄/雌)	1.10 (117/106)	0.93 (100/108)	—	
	新生児体重	♂	5.3 g	5.5 g	—
		♀	5.0 g	5.0 g	—
	外表異常	1匹に四肢の減形成、 腹部ヘルニアの合併	0	—	
	着床率	84.6% (231/273)	81.3% (217/268)	—	
死産児指数	3.5% (8/331)	4.1% (9/217)	—		

Studentのt検定、Aspin-Welch検定又は χ^2 乗検定

↑(↓)、*(.), ▲(▼) : $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$ 水準で増加(減少)、空欄は有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3) ラットにおける催奇形性試験

(資料No. 16)

試験機関：
報告書作成年

検体の純度：

供試動物： 系妊娠ラット(9週齢以上)、1群 24匹

試験期間：

投与方法：MCPBを 溶液に懸濁し、0、10、
50、250 mg/kg/日の投与レベルで妊娠6日から妊娠15日までの10日間、毎日1
回経口投与した。なお、対照群には 液を同様に投与した。
用量設定根拠；

交配方法：処女雌ラットの膣垢を採取し、発情前期の日に雄と1：1で同居させ、翌日の
膣栓または膣垢中に精子が確認された動物を妊娠0日と定めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

観察・検査項目：

母動物；a)一般症状及び生死、b)体重、c)摂餌量及び飲水量等の観察及び検査を行った。さらに妊娠21日目に母動物を帝王切開し、妊娠黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚、死亡胎児数について検査した。

生存胎児；性別、一腹平均体重観察した。

生存胎児の形態的検査：生存胎児については外表異常の有無を観察した後、約半数の胎児を99%アルコールに固定後、Dawson法に準拠して骨格標本作製し、骨格の異常・変異及び化骨状態について検査した。残りの胎児はブアン液に固定し、Wilson法及び顕微解剖法に準拠して内臓異常について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

試験結果：

表1. 検体のラットを用いた催奇形性試験の結果(母動物)

投与量 (mg/kg/日)		0	10	50	250	
1群当たり動物数		24	24	24	24	
母動物	一般症状	なし	なし	なし	投与開始5~7日より軽度の立毛を示すものあり	
	死亡率(%)	0	0	0 (ただし誤投与による1例あり)	0	
	体重変化	妊娠16日				▼ 84
		妊娠18日				▼ 81
		妊娠21日				▼ 83
	摂餌量	妊娠16日				▼ 54
		妊娠18日				▼ 67
	飲水量	妊娠16日				↓ 90
	着床所見	黄体数(総数)	17.8 (427)	18.5 (444)	18.7 (431)	17.5 (417)
		総着床数(総数)	15.2 (365)	↑ 16.3 (390)	15.6 (359)	15.1 (363)
		生存胎児数(率)	14.5 (93.2%)	↑ 15.6 (95.9%)	15.0 (96.1%)	.. 11.0 (73.0%)
		性比(雄/雌)	0.99 (173/175)	↑ 1.37 (216/150)	0.99 (172/173)	0.96 (130/135)
死亡胎児率(3日)		4.7% (17/365)	4.1% (16/370)	3.9% (14/357)	▲ 27.0% (98/363)	

Studentのt検定またはχ²乗検定

↑(↓)、↑(↓)、▲(▼) : p ≤ 0.05、p ≤ 0.01、p ≤ 0.001水準(χ²乗検定の場合p ≤ 0.005水準)で増加(減少)

空欄は有意差なし

注：体重変化、摂餌量及び飲水量は、対照群を100とした場合の値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表2. 検体のラットを用いた催奇形性試験の結果(胎児)

投与量 (mg/kg/日)		0	10	50	250
母動物数		24	24	23 a	22 b
体重 (g)	♂	5.3	5.3	5.4	▼ 4.1
	♀	5.0	5.0	5.0	▼ 4.0
外表異常数(率)		0/348 (0.0%)	1/374 (0.3%)	0/345 (0.0%)	1/265 (0.4%)
骨格異常数(率)		0/180 (0.0%)	0/190 (0.0%)	0/178 (0.0%)	0/136 (0.0%)
変異 12肋骨		0/180 (0.0%)	1/190 (0.5%)	1/178 (0.6%)	0/136 (0.0%)
変異 14肋骨		0/180 (0.0%)	1/190 (0.5%)	0/178 (0.0%)	↑ 5/136 (3.7%)
後頭骨鱗部化骨不全		0/180 (0.0%)	1/190 (0.5%)	0/178 (0.0%)	1/136 (0.7%)
第2胸骨化骨不全		0/180 (0.0%)	1/190 (0.5%)	1/178 (0.6%)	▲ 30/136 (22.1%)
第5胸骨化骨不全		0/180 (0.0%)	0/190 (0.0%)	1/178 (0.6%)	▲ 28/136 (20.6%)
第1, 3, 4, 6胸骨化骨不全		0/180 (0.0%)	0/190 (0.0%)	0/178 (0.0%)	4/136 (2.9%)
【胸骨化骨不全】		0/180 (0.0%)	1/190 (0.5%)	2/178 (1.1%)	▲ 42/136 (30.9%)
第2胸骨未化骨		0/180 (0.0%)	0/190 (0.0%)	0/178 (0.0%)	ˆˆ 7/136 (5.1%)
第5胸骨未化骨		0/180 (0.0%)	0/190 (0.0%)	0/178 (0.0%)	↑ 6/136 (4.4%)
【胸骨未化骨】		0/180 (0.0%)	0/190 (0.0%)	0/178 (0.0%)	▲ 13/136 (9.6%)
胸骨椎体と要骨椎体化骨不全		1/180 (0.6%)	0/190 (0.0%)	0/178 (0.0%)	0/136 (0.0%)
仙尾椎の化骨核数		11.0	11.1	11.2	▼ 9.0
内臓異常数(率)		6/168(3.6%)	10/183(5.5%)	15/167(9.0%)	▲ 28/128(21.9%)
心室中隔欠損数(率)		4/168(2.4%)	4/183(2.2%)	4/167(2.4%)	▲ 19/128(14.8%)
心室中隔欠損数(母親に対する発生率)		3/24 (12.5%)	3/24 (12.5%)	4/23 (17.5%)	↑ 11/22 (50.0%)

Studentのt検定または χ^2 乗検定

↑(↓), ˆˆ(.), ▲(▼) : $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$ 水準 (χ^2 乗検定の場合 $p \leq 0.005$ 水準)で増加(減少)

a: 誤投与により1例死亡、b: 全胚吸収

以上の結果、MCPBの10 mg/kg/日及び50 mg/kg/日投与群では、母動物及び胎児の全ての検査項目について、検体投与に起因すると考えられる変化は観察されなかった。250 mg/kg/日投与群においては、母動物体重は有意に減少しており、胎児死亡率は有意に増加した。更に胎児については生存胎児体重の有意な減少と化骨進行の遅延に有意な差があり、成長抑制がみられた。内臓検査では心室中隔欠損が250 mg/kg/日投与群で有意に増加したが、これは成長抑制の結果だと判断した。また、骨格の変異で250 mg/kg/日投与群において14肋骨の出現のみが対照群に比べ有意に増加した。しかし、催奇形性を示すと判断する外表異常、骨格異常及び内臓異常は観察されなかった。従って当試験における母動物及び胎児での無毒性量は50 mg/kg/日であり、MCPBはラットの胎児動物に対する催奇形性作用はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4) ウサギにおける催奇形性試験 (資料No. 17)

試験機関 :

[G L P 対応]

報告書作成年

検体の純度 :

供試動物 : 妊娠ウサギ(15~18週齢) 1群18匹
試験開始時の体重は2.9~3.9kgであった。

試験期間 :

投与方法 : 検体を に懸濁し、0、5、20及び80 mg/kg/日の投与
レベルで妊娠6日目から妊娠18日後までの13日間、毎日1回投与した。なお、
対照群には のみを同様に投与した。

用量設定根拠 :

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般症状及び生死を毎日観察し、妊娠1、6、8、10、14、19、23及び29日に体重を測定した。また、摂餌量を体重測定日から次の測定日までの間毎に測定した。

妊娠29日に頸椎脱臼法またはペントバルビタールナトリウムの静脈注射により屠殺した後、剖検し肉眼的検査を行った後、ただちに帝王切開し、黄体数、生存児動物数とその分布、胎児死亡数(初期、後期、中絶)とその分布状態について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

生存胎児；外表異常の観察を行った後、ペントバルビタールナトリウムの胸部注射により屠殺した後、体重測定、内臓異常の検査、性別の判定を行った。当初の観察で異常の疑いのある胎児は微細解剖、病理組織学的検査等による詳細な検査を行った。胎児は剥皮し、内臓を摘出し、74%メタノールで固定後、頭部は前頭頂骨縫合に沿って薄切し、脳の異常の有無を検査した。骨格検査用にカーカスを洗浄染色(Dawson変法)で骨格異常の有無を検査した。

試験結果：観察及び検査結果は、下表のとおりであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表 1. 検体のウサギを用いた催奇形性試験の結果

投与量 (mg/kg/日)		0	5	20	80	
1 群当たり動物数		18	18	18	18	
母動物	一般症状	なし	なし	なし	冷耳、糞排泄の減少、うずくまり姿勢、ふらつき	
	妊娠29日供試母動物数	15	16	15	9	
	死亡数、(%) (死亡+屠殺)	2 (11%) (1+1)	1 (6%) (1+0)	2 (11%) (1+1)	8 (44%) (1+7)	
	非妊娠母動物数	0	1	0	0	
	除外母動物数(不健康)	1	0	0	0	
	” (流産、全吸収)	0	0	1	8 (含む屠殺7匹)	
	摂餌量	妊娠6-7日				(85)
		妊娠8-9日				(83)
		妊娠10-13日				(89)
		妊娠14-18日				(95)
	体重変化	妊娠6日				(97)
		妊娠8日				(96)
		妊娠10日				(96)
		妊娠14日				(95)
		妊娠19日				(95)
着床所見	検査母動物数	15	16	15	9 [17]*	
	黄体数	11.3	10.8	10.7	10.0 [10.4]*	
	着床数	10.7	9.7	9.4	9.4 [9.8]*	
	生存胎児数(率)	9.5 (88.7%)	8.8 (90.7%)	9.1 (96.8%)	7.9(84.0%) [4.2(42.9%)]*	
	死亡胎児数(率)	1.1 (10.3%)	0.9 (9.3%)	0.3 (3.2%)	1.6(17.0%) [5.6(57.1%)]*	
胎児動物	体重(g)	40.6	42.5	39.6	45.3 (↑112)	
	性比(♂/腹、%)	50.7	56.0	52.7	51.6	
	奇形胎児数(率)	0/143 (0.0%)	3/140 (2.4%)	4/136 (2.9%)	1/71 (1.1%)	
	外表・内臓異常数(率)	16/143(11.4%)	14/137 (10.7%)	17/132 (12.7%)	10/70 (16.7%)	
	骨格異常数(率)	21/143(15.4%)	15/137 (11.1%)	20/132 (16.0%)	9/70 (13.3%)	
	12肋骨胎児数(率)	92/143(64.6%)	51/137 (37.3%)	73/132 (53.0%)	31/70 (45.3%)	
	13肋骨胎児数(率)	51/143(35.4%)	86/137 (62.7%)	59/132 (47.0%)	39/70 (54.7%)	
	変異胸骨胎児数(率)	30/143(21.0%)	15/137 (10.9%)	26/132 (20.3%)	4/70 (5.3%)	
正常胸骨胎児数(率)	113/143(79.0%)	122/137(89.1%)	106/132 (79.7%)	66/70 (94.7%)		

*: 全吸収胚の母親動物(8匹)を含め計算した場合

Kruskal-Wallis test: ↑; 対照群に比較してp<0.05水準で増加

空欄は有意差なし、()は参考値

注: 体重変化、摂餌量及び飲水量は、対照群を100とした場合の値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

〔親動物〕

一般症状；80 mg/kg/日投与群において、冷耳、糞排泄の減少、うずくまり姿勢、ふらつき等の検体投与に関連したと思われる中毒症状が認められた。比較的強い症状(うずくまり姿勢、肢の硬直化、ふらつき)を示した動物は、胎児の全喪失を示した動物であった。その他の検体投与群及び対照群では一般症状の異常は認めなかった。

死亡率；対照群及び検体投与群における、健康状態不良による死亡数と中毒症状による切迫屠殺数の合計は、0、5、20及び80 mg/kg/日投与群でそれぞれ2/18、1/18、2/18及び8/18であり、80 mg/kg/日投与群において明らかな影響が認められた。

摂餌量；80 mg/kg/日投与群において検体投与期間中、摂餌量の減少が認められた。その他の検体投与群では検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。

体重変化；80 mg/kg/日投与群において検体投与期間の初期(妊娠6日～8日)に明らかな体重減少が認められた。その後の投与期間は明らかな体重増加抑制が認められたが、投与終了後は回復に向かった。その他の検体投与群では対照群と差を認めなかった。

妊娠率；検体投与群と対照群の間に差を認めなかった。

解剖所見；80 mg/kg/日投与群において、死亡動物に共通して小腸内容物の減少が認められた。その他、腎臓皮質の傷痕と心臓の蒼白化がそれぞれ2例及び1例認められた。その他、生存動物では対照群を含めすべての群で異常を認めなかった。

着床所見；80 mg/kg/日投与群において、胎児の全喪失を示す母動物数が明らかに増加し、8/17が影響を受けた。1腹当たりの児動物数は、胎児全喪失の母親動物を含めると死亡胎児数は顕著に増加し、これに伴い1腹当たりの生存児動物数は減少した。しかし、胎児全喪失の母親動物を含めないと、1腹当たりの児動物数に及ぼす影響はわずかであり、統計的に有意ではなかった。その他の検体投与群では対照群の間に差を認めなかった。

〔胎児動物〕

体重；80 mg/kg/日投与群の胎児体重は対照群に比較し有意に増加した。この変化はこの投与群において1腹当たりの児動物数がわずかに少なかったことの起因した結果と考えられた。その他の検体投与群では対照群の間に差を認めなかった。

性差；検体投与群と対照群の間に差を認めなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

外表異常及び内臓異常；検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。

骨格異常；検体投与群において、余剰肋骨を持った胎児の平均発生率が対照群より大きかったが、投与用量に相関した増加を示さず投与との関係はないものと考えられた。

以上の結果から、MCPBを妊娠ウサギに投与した場合、80 mg/kg/日投与群で母動物に冷耳、出産胎児数の減少がみられた。また、母動物によってはふらつき、うずくまり姿勢等の中毒症状を示し、8/18が死亡した。生存母動物も検体投与期間の初期には摂餌量及び体重の減少がみられたが、投与終了時には対照群と同程度の体重に回復した。80 mg/kg/日投与群では胎児動物の全喪失例が増加し(8/17)、これら母動物ではさらに顕著な中毒症状を示した。胎児に対しては奇形、異常、骨格変異の発生頻度の明確な悪影響はみられず、催奇形性作用は認められなかった。従って当試験における母動物での無毒性量は20 mg/kg/日であり、胎児動物に対する催奇形性作用はないと判定した。

申請者注：胎児動物における無毒性量は以下のとおり評価した。

胎児動物 無毒性量 80 mg/kg/日

(9) 変異原性

1) 細菌を用いるDNA損傷誘発性試験(Rec-assay)

(資料No. 18)

試験機関：

報告書作成年

検体の純度：

試験方法：Bacillus subtilisの組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用いて、賀田らのRec-assay法でDNAの損傷の誘発性を検定した。

試験結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)*	阻止域(mm)		差(mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 ()		0	0	0
MCPB-エチル	0.226	0	0	0
	1.13	0	0	0
	2.26	0	0	0
	5.66	0	0	0
	11.3	0	0	0
	22.6	0	0	0
陰性対照 カマイシン	10 $\mu\text{g}/\text{disk}$	7	6	1
陽性対照 マイトマイシンC	0.1 $\mu\text{g}/\text{disk}$	10	1	9

* 原文では濃度(% v/v)で表示されているが、純品の密度1.1313 g/cm^3 (25°C)を用いて、処理量0.2 mLで換算した数値を記載した。

MCPBエチルの存在下においては、両株に生育阻止を認めなかった。
一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCでは、両株の間に著明な生育阻止の差が生じた。

以上の結果から、MCPBエチルのDNA損傷誘発性はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) 復帰変異性試験

(資料No. 18)

試験機関：

報告書作成年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性の Salmonella typhimurium(TA1535、TA100、TA1537、TA1538、およびTA98)およびトリプトファン要求性の Escherichia coli (WP 2 her)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。

試験結果：

試験 1

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix無、復帰変異コロニー/plate						S-9Mix有、復帰変異コロニー/plate					
		塩基対置換型			フレームシフト型			塩基対置換型			フレームシフト型		
		WP2her	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	WP2her	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 ()		NA	NA	NA	NA	NA	NA	14 14	9 12	81 95	5 3	11 6	17 24
MCPBエチル	10	16 18	15 23	107 101	5 12	5 17	21 24	10 22	5 9	89 75	10 11	18 19	49 29
	100	14 17	13 14	96 78	2 0	10 11	11 15	14 12	6 11	98 100	9 6	7 9	11 11
	1000	17 17	5 7	38 24	1 2	3 3	5 8	18 19	6 10	94 100	6 1	5 8	4 13
陽性対照		1484 ^{a)} 1766 ^{a)}	12 ^{b)} 12 ^{b)}	140 ^{c)} 258 ^{b)} 781 ^{d)} 970 ^{d)}	25 ^{b)} 27 ^{b)}	18 ^{b)} 20 ^{b)}	275 ^{c)} 182 ^{c)}	NA	352 ^{b)} 278 ^{b)}	2976 ^{b)} 3848 ^{b)}	448 ^{b)} 455 ^{b)}	2518 ^{b)} 2174 ^{b)}	2658 ^{b)} 3118 ^{b)}

a) 0.25 μg/plate AF-2 d) 0.05 μg/plate AF-2
 b) 20 μg/plate 2-aminoanthracene NA = data not available
 c) 0.1 μg/plate AF-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

試験 2

薬物	濃度 μg/plate	S-9 Mix無、復帰変異コロニー/plate					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		WP2 her	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 ()		24	11	119	4	8	19
		28	25	134	7	12	26
MCPBエチル	100	22	32	118	4	7	13
		25	49	126	13	11	14
	1000	22	22	57	0	4	13
		32	30	58	3	9	14
	10000	12	19	66	0	5	4
		18	21	69	2	6	11
陽性対照		1146 ^{a)}	1280 ^{b)}	719 ^{f)}	10000 ^{c)}	2640 ^{d)}	200 ^{e)}
		1278 ^{a)}	1624 ^{b)}	760 ^{f)}	10000 ^{c)}	2884 ^{d)}	213 ^{e)}

- a) 0.25 μg/plate AF-2 d) 50 μg/plate 2-nitrofluorene
b) 50 μg/plate β-propiolactone c) 0.1 μg/plate AF-2
c) 200 μg/plate 9-aminoacridine f) 0.05 μg/plate AF-2

MCPB存在下では、いずれの変異株においても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、2-aminoanthracene、β-propiolactone、9-aminoacridine、2-nitrofluoreneでは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。なお、代謝活性試験においても、対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果から、MCPBの復帰変異誘発性はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) 復帰変異性試験

(資料No. 18-1)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537) とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA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、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。

検体を に溶解し、公比2で5段階の計6用量あるいは6段階の計7用量 [S9 mix非存在下：5.86～188 μ g/plate (TA1535)、11.7～750 μ g/plate (TA100、TA1537) および156～5000 μ g/plate (TA98、WP2uvrA)、S9 mix存在下：46.9～1500 μ g/plate (TA100、TA1535、TA1537) および156～5000 μ g/plate (TA98、WP2uvrA)] の試験群で試験を実施した。各濃度につき3枚のプレートで行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

各菌株のS9 mix存在下及び非存在下のいずれの試験系列においても、被験物質群の復帰変異コロニー数の平均値は陰性対照群の平均値の2倍未満であり、被験物質の用量の増加にともなう復帰変異コロニー数の増加も認められなかった。生育阻害は、S9 mix非存在下ではTA100、TA1535、TA1537の188 μ g/plate以上

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

で、S9 mix存在下ではTA1535の750 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上、TA100、TA1537の1500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上、TA98の2500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上で各々観察された。被験物質の析出は、各菌株のS9 mix非存在下で2500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の用量で各々観察された。各菌株の陰性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は、すべて試験施設の背景データに基づく管理値の範囲内であった。各菌株の陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値には、それぞれの陰性対照群の平均値と比較して2倍以上の明確な増加が認められた。

以上の結果より、MCPBエチルは、当該試験条件下において試験菌株に対する遺伝子突然変異誘発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日本化薬株式会社にある。

試験結果：

本試験結果-1 (TA100、TA1535及びTA1537)

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ Plate)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照	-	-	83	12	/	/	11
MCPBエチル	5.86	-	/	9	/	/	/
	11.7	-	89	8	/	/	12
	23.4	-	76	10	/	/	7
	46.9	-	56	5	/	/	8
	93.8	-	54	6	/	/	7
	188	-	49*	5*	/	/	2*
	375	-	45*	/	/	/	2*
	750	-	39*	/	/	/	2*
溶媒対照	-	+	106	13	/	/	16
MCPBエチル	46.9	+	96	9	/	/	19
	93.8	+	93	7	/	/	21
	188	+	96	7	/	/	18
	375	+	99	9	/	/	19
	750	+	79	10*	/	/	13
	1500	+	62*	6*	/	/	5*
陽性対照	AF-2	0.01	-	634	/	/	/
	NaN ₃	0.5	-	/	364	/	/
	9-AA	80	-	/	/	/	375
	2-AA	1	+	1685	/	/	/
	2-AA	2	+	/	506	/	319

*：生育阻害が観察された。

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド、NaN₃：アジ化ナトリウム

9-AA：9-アミノアクリジン塩酸塩、2-AA：2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

本試験結果-2 (WP2uvrA及びTA98)

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 (μ g/ Plate)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照	-	-	/	/	24	14	/
MCPBエチル	156	-	/	/	16	13	/
	313	-	/	/	17	8	/
	625	-	/	/	20	8	/
	1250	-	/	/	16	8	/
	2500	-	/	/	13#	5#	/
	5000	-	/	/	12#	5#	/
溶媒対照	-	+	/	/	23	34	/
MCPBエチル	156	+	/	/	26	28	/
	313	+	/	/	25	32	/
	625	+	/	/	25	22	/
	1250	+	/	/	24	26	/
	2500	+	/	/	20	18*	/
	5000	+	/	/	15	15*	/
陽性 対照	AF-2	0.01	-	/	/	85	/
	AF-2	0.1	-	/	/	286	/
	2-AA	0.5	+	/	/	384	/
	2-AA	10	+	/	/	1275	/

*: 生育障害が観察された。

#: 析出が観察された。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3) 宿主経路試験 (資料No. 18)

試験機関：
報告書作成年

検体の純度：

方法：宿主にICR系マウス、菌株として *S. typhimurium* のヒスチジン要求株 (G46) を用い、Legatorらの方法により *in vitro* における変異原性を検定した。マウスへの投与は、胃ゾンデを用いた強制経口投与とした。

試験結果：

薬物	総投与量 mg/kg	復帰変異 菌数 10^8 /mL	生存菌数 $\times 10^8$ /mL	復帰変異菌数 /生存菌数	平均値 \pm SD
対 照		20.00	38.9	0.51	0.48 \pm 0.14
		23.33	39.8	0.59	
		10.83	35.5	0.31	
		20.83	34.3	0.61	
		10.83	36.4	0.30	
		27.50	47.3	0.58	
MCPB エチル	175 \times 2	20.83	39.9	0.52	0.42 \pm 0.09
	175 \times 2	17.50	36.4	0.48	
	175 \times 2	13.33	31.7	0.42	
	175 \times 2	10.83	42.8	0.25	
	175 \times 2	14.17	34.3	0.41	
	175 \times 2	15.00	35.3	0.42	
	350 \times 2	28.33	38.7	0.73	0.51 \pm 0.25
	350 \times 2	30.83	38.8	0.79	
	350 \times 2	22.50	41.4	0.54	
	350 \times 2	15.00	67.1	0.22	
	350 \times 2	34.17	61.7	0.55	
	350 \times 2	12.50	62.0	0.20	
陽性対照 DMN	50	1783.33	25.4	70.21	74.21 \pm 16.29***
	50	2010.00	27.1	74.17	
	50	1636.67	19.1	85.69	
	50	1590.00	23.6	67.37	
	50	2540.00	26.0	97.69	
	50	1733.33	34.6	50.10	
参 考；Amesらの方法でG46株を用いたときの復帰変異試験の結果					
MCPBエチル μ g/plate	0	100	1,000	10,000	陽性対照 β -propiolactone 1,000 μ g/plate
復帰変異 コロニー数/ plate	3	4	1	5	126
	5	5	3	4	152

検定 *** : $p < 0.001$ (検定法不明)

DMN : dimethyl-nitrosamine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

宿主経路試験においても、MCPB存在下でS. thophilum G46株における復帰変異コロニー数は、対照群のそれと比較して増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたDMN (dimethyl-nitrosamine) では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、MCPBの宿主経路試験での復帰変異誘発性はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

4) MCPAの変異原性

(資料No. 19)

試験機関：

報告書作成年

MCPBの主要代謝物であるMCPA(2-メチル-4-クロルフェノキシ酢酸)の生物に対する変異原性を試験した。

① Rec-assay

検体の純度：

方 法：Bacillus subtilisの組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、
賀田らのRec-assay法でDNAの損傷の誘発性を検定した。

結 果：

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域(mm)		差(mm)
		M-45	H-17	
対 照		0	0	0
		0	0	0
MCPA	250	0	0	0
		0	0	0
	500	0	0	0
		0	0	0
	1,000	0.5	0	0.5
		0	0	0
	2,500	3.0	2.5	0.5
		3.0	3.0	0
	5,000	7.0	6.5	0.5
		7.0	7.0	0
10,000	8.0	7.5	0.5	
	8.0	7.5	0.5	
カナマイシン (陰性対照)	10	4.5	4.0	0.5
		4.0	4.0	0
マイトマイシンC (陽性対照)	0.1	9.0	1.5	7.5
		8.0	1.0	7.0

MCPAの存在下においては、両株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCでは、両株の間に著明な生育阻止の差が生じた。

以上の結果から、MCPAのDNA損傷性はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

② 復帰変異性試験

検体の純度：

方 法：ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium*(TA1535、TA100、TA1537、TA1538、およびTA98)およびトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (WP2hcr-)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。

結 果：

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/ plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対 照		-	17	6	109	10	8	18
			16	3	101	7	6	15
MCPA	10	-	15	3	103	6	6	10
			16	3	126	8	4	12
	50	-	22	8	105	11	12	16
			21	7	102	10	9	9
	100	-	24	2	109	9	10	14
			18	8	104	10	8	17
	500	-	19	8	114	5	7	19
			21	3	100	8	5	13
	1,000	-	17	5	121	5	3	15
			22	5	103	10	3	14
	5,000	-	20	9	129	5	5	7
			15	2	101	5	8	9
対 照 ()		+	23	8	111	18	11	20
			21	7	130	11	16	26
MCPA	10	+	22	5	133	24	18	22
			28	9	139	15	21	26
	50	+	31	5	114	16	18	30
			28	11	134	17	17	34
	100	+	24	8	126	21	21	22
			24	7	132	18	18	18
	500	+	26	7	127	17	18	25
			21	8	138	17	12	17
	1,000	+	30	4	131	17	12	30
			24	3	139	20	15	20
	5,000	+	36	11	114	10	16	17
			35	5	112	6	12	19
陽性対照 2-amino- anthracene	10	-	20	6	158	9	10	22
			16	8	149	14	8	18
	10	+	514	464	>2,000	298	>2,000	>2,000
陽性対照*		-	>2,000 ^{a)}	>451 ^{b)}	>918 ^{c)}	>516 ^{d)}	>2,000 ^{e)}	>238 ^{f)}
			>2,000	442	998	628	>2,000	222

註)- ; S-9 Mix 無、 + ; S-9 Mix 有

a) 0.25 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

b) 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ β -propiolactone

c) 0.05 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

d) 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-aminoacridine

e) 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-nitrofluorene

f) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

MCPAの存在下では、いずれの変異株においても対照群と比べ、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた2-aminoanthracene、AF-2、 β -propiolactone、9-amino-acridine、2-nitrofluoreneでは対照群と比較して、著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、MCPAの復帰変異誘発性はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

5) チャイニーズ・ハムスターの細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料No. 20)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年

検体の純度：

方 法：チャイニーズ・ハムスターの卵巣組織由来の継代培養した CHO-K1 細胞を用いて、代謝活性化および非代謝活性によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は 〃 に溶解して用いた。

用量設定のため実施した細胞分裂抑制試験の結果、代謝活性化および非代謝活性とも組織培養培地に検体が溶解する最大濃度 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でも有糸分裂指数の低下が認められなかったことより、本試験の濃度は代謝活性化法および非代謝活性化法とも 2、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 用量とした。

観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について行い、検体試験群は 2 連性で行った。

結 果：結果を次表に示した。

MCPB は構造的な染色体異常を誘発しなかった。

以上の結果から、MCPB の染色体異常誘発性はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

薬物	濃度 μg/mL	処理 時間	観察 細胞 数	S-9 Mix の有無	染色体異常数										染色体異常を有する細胞				判定	
					I B F	B W F	B F	I	R	S M	A	I S O	C H R	除くギャップ		含むギャップ				
														数	%	数	%			
無処理	—	20	100	—											1		1			—
		20	100	—						1		1			1	0.5	1	0.5	—	
		20	100	—										0		0		—		
		20	100	—										0		0				
溶媒対照	10	20	100	—		1	1								2		2		—	
		20	100	—										0	1.0	0	1.0	—		
		20	100	—					1			2		1		1				—
		20	100	—		1								1		1				
MCPB	2	20	100	—											0	0	0	0	陰性	
		20	100	—											0	0	0	0	陰性	
	10	20	100	—											0	0	0	0	陰性	
		20	100	—											0	0	0	0	陰性	
20	20	100	—											0	0	0	0	陰性		
	20	100	—											0	0	0	0	陰性		
溶媒対照	10	20	100	—											0	0	0	0	—	
		20	100	—											0	0	0	0	—	
陽性対照 マイトマイシンC	0.4	20	100	—	1	9	3		1	5	3	1	1	***	1	1	***	陽性		
		20	100	—	1	4	2		1	9	1	1	7	9.0	7	9.0	陽性			
無処理	—	2	100	+		2	1				1		1	4	1.25	4	1.25	—		
		2	100	+										0		0		—		
		2	100	+										0		0				
		2	100	+			1							1		1				
溶媒対照	10	2	100	+		1						1	1		2		—			
		2	100	+									0	0.25	0	0.5				
		2	100	+									0		0					
		2	100	+									0		0					
MCPB	2	2	100	+										0	0.5	0	0.5	陰性		
		2	100	+							1	1	1	1		1		陰性		
	10	2	100	+										0	0	0	0	陰性		
		2	100	+										0	0	0	0	陰性		
20	2	100	+										0	0	0	0	陰性			
	2	100	+										0	0	0	0	陰性			
溶媒対照	10	2	100	+										0	0.5	0	0.5	—		
		2	100	+		1								1		1				
陽性対照 マイトマイシンC	0.4	2	100	+	4	1		3	3		5	6	***	7	***	***	陽性			
		2	100	+	2	11	4	1	2	3		1	0	8.0	10	8.5	陽性			

***: P<0.001, Fisher's test

I B F : 断片を有す同位染色分体切断

B W F : 断片を有す染色分体切断

B F : 断片を有さない染色分体切断

I : 転座

R : 環状染色体

S M : 単純微細化

A : 無動原体切断

C H R : 染色体ギャップ

I S O : 同位染色体ギャップ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

6) マウスを用いた小核試験

(資料No. 21)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度：

供試動物： 系マウス（7週令、体重 雄24.5～30.6g）

1群雄6匹

試験方法：検体を

（

）に懸濁し、125、250、500、600、720 mg/kg/日の投与レベルで、24時間間隔で強制的に2回経口投与した。なお、溶媒対照群には を同様に投与した。

最終投与18～24時間後に動物を屠殺し、各動物の両側大腿骨の骨髄を採取してスライドグラスの上にメタノール固定後、0.005%アクリジンオレンジ溶液で染色し骨髄標本を作製した。

陽性対照群にはマイトマイシンCの1 mg/kg/日を腹腔内に1回投与し、投与18～24時間後に動物を屠殺した。

本試験では、検体投与群の高用量から3試験群について、動物番号順に各群5匹の動物を評価対象とし、骨髄標本を作製した。なお、評価対象としなかった動物と125および250 mg/kg/日群動物については、標本作製を行わず安楽死させた。

各動物標本について、2000個の幼若赤血球を観察し、小核を有する幼若赤血球の全幼若赤血球数に対する比率（小核出現頻度）を求めた。さらに、各動物標本500個の赤血球を計算し、全赤血球中の幼若赤血球の占める比率（幼若赤血球の比率）を求めた。

用量設定根拠：

結 果：骨髄標本の観察結果を次頁に示す。

一般状態として500 mg/kg/日群では、投与1日目に6例中2例に、600および720 mg/kg/日群では、両群ともに、投与1日目に6例中3例ならびに投与2日目に6例中1例で、自発運動の低下が認められた。その他の投与群の動物の一般状態には異常は認められなかった。

小核を有する幼若赤血球数の全幼若赤血球数に対する比率（小核出現頻度）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

は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ず、検体投与による小核誘発性は認めなかった。全赤血球中の幼若赤血球の比率は、いずれも溶媒対照群に対して低く、統計学的にも有意な差があり、骨髄への影響が認められた。

陽性対照群であるマイトマイシンCでは、小核出現頻度および幼若赤血球の比率に、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。

採取時間	薬物	投与量 (mg/kg/日)	性	観 察 動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) % (平均値±SD)
最終投与後 18～24時間	溶媒対照	—	♂	5	0.18±0.12	62.8±3.6
	MCPB	500	♂	5	0.09±0.07	51.5±6.1 ^b
		600	♂	5	0.08±0.03	43.6±9.0 ^b
		720	♂	5	0.07±0.06	50.2±7.3 ^b
	陽性対照 (マイトマイシンC)	1 mg/kg	♂	5	3.50±0.80 ^a	55.4±5.5 ^c

MNPCE : 多染性赤血球2000個のうち、小核を有する多染性赤血球数

PCE : 多染性赤血球数、 NCE : 正染性赤血球数

^a : 溶媒対照群に対して $p \leq 0.01$ で有意 (the Conditional Binomial test)。

^b, ^c : 溶媒対照群に対して $p \leq 0.01$ 、 $p \leq 0.05$ で有意 (Student's t-test)。

以上の結果から、本試験条件下において、MCPBは骨髄細胞に小核を誘発せず、染色体異常誘発性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(10) 生体の機能に及ぼす影響

MCPBにおける薬理試験

(資料No. 22)

試験機関：

報告書作成年

検体の純度：

1) マウスおよびラットの中樞神経系に対する作用

① マウスにおける運動協調性に及ぼす影響

ロータロッド法

供試動物： 系雄マウス、5週令、体重 20.6～25.5 g、1群 10匹

投与方法：マウスを毎分 14 回転する直径 3 cm の回転棒の上に乗せて、1 分以上落下しなかった動物を 1 群あたり 10 匹選んだ。

検体を に懸濁して 0、125、500 および 2000 mg/kg を経口投与し、その 0.5、1、2、3、4 および 5 時間後に回転棒上に乗せ、1 分間以内に落下するか否かを調べた。

陽性対照としては chlorpromazine 10 mg/kg を経口投与した。

結果：検体の 125 および 500 mg/kg 投与群では、回転棒からの落下はみられなかったが、2000 mg/kg 投与群では、投与 0.5 時間後に 10 例中 7 例、1 時間後に 8 例、2～5 時間後に 9 例の落下が認められた。

chlorpromazine 10 mg/kg 投与群では、投与 2 時間後をピークに 10 例中 2～5 例の落下が認められた。

② マウスにおける自発運動に及ぼす影響

供試動物： 雄マウス、5週令、体重 23.6～29.3 g、1群 9～12匹

方法：各群、3匹ずつ 3～4 グループに分けた。

検体を に懸濁して 0、31.3、125 および 500 mg/kg を経口投与し、投与直前、投与 0～10、25～35、55～65、115～125、175～185、235～245 および 295～305 分後の各 10 分間のグループ毎の自発運動量を実験動物運動量測定装置を用いて測定した。

陽性対照としては chlorpromazine 10 mg/kg を経口投与した。

結果：検体の 31.3 および 125 mg/kg 投与群では対照群と比較し自発運動量に差はみられなかった。500 mg/kg 投与群では投与 25～35 分後より 295～305 分後まで自発運動量の減少がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

chloropromazine 10 mg/kg 投与群では、投与 115～125 分後より 295～305 分後まで自発運動量の減少がみられた。

③ マウスにおける麻酔延長作用

供試動物： 雄マウス、5 週令、体重 22.1～28.6 g、1 群 11～12 匹

方 法：検体を に懸濁して 0、31.3、125 および 500 mg/kg を経口投与し、120 分後にヘキソバルビタール 75 mg/kg を腹腔内に投与し、正向反射が消失してから回復するまでの時間を測定した。
陽性対照としては chloropromazine 10 mg/kg を経口投与した。

結 果：検体の 31.3 および 125 mg/kg 投与群では対照群と比較し睡眠時間に影響はみられなかった。500 mg/kg 投与群ではヘキソバルビタールによる睡眠時間が対照群の 2.4 倍となり、有意な延長が認められた。
chloropromazine 10 mg/kg 投与群では、睡眠時間が対照群の 4.7 倍となり、有意な延長が認められた。

④ ラットの体温に及ぼす影響

供試動物： 系雄ラット、7～9 週令、体重 167～183 g、1 群 7～8 匹
ラットの直腸体温を 1 時間間隔で 2 回測定し、2 回の測定値の変動の少ない動物を選んで試験に供試した。

方 法：検体を に懸濁して 0、31.3、125 および 500 mg/kg を経口投与し、投与直後、投与 0.5、1、2、3、4 および 5 時間後の直腸体温をサーミスタ式体温計を用いて測定した。
陽性対照としては aminoantipyrine 100 mg/kg を経口投与した。

結 果：検体の 31.3 および 125 mg/kg 投与群では対照群と比較し体温の変化に差は認められなかったが、500 mg/kg 投与群では投与 2 時間後より有意な体温の下降がみられ、投与 5 時間後には対照群と比較して 3.0℃ 下降した。なお、500 mg/kg 投与により、投与 3～4 時間日には筋弛緩によると思われる歩行異常がほぼ全例に認められた。
aminoantipyrine 100 mg/kg 投与群では、投与 0.5 時間後より 3 時間後にかけて、対照群に比して 0.5～1.7℃ の有意な体温下降が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) モルモットの自律神経系に対する作用

摘出モルモット回腸に及ぼす影響

供試動物： 雄モルモット、7～9週令、体重 341～472 g、1群3～5匹の摘出回腸。

① 直接作用

方 法：マグヌス法に従い検体濃度 1×10^{-4} g/mL～ 1×10^{-8} g/mL（界面活性剤としてを用い十分に混合した後 Tyrode 液にて乳濁液とした）による直接作用性を検討した。また、検体濃度 1×10^{-5} g/mL の直接作用に対する atropine および diphenhydramine の影響についても検討した。

結 果：検体濃度 1×10^{-6} g/mL 以上の適用において摘出モルモット回腸の収縮が認められ、 1×10^{-4} g/mL の濃度では持続的収縮が認められた。
なお、検体濃度 1×10^{-5} g/mL による収縮は、 6.5×10^{-5} M の atropine では抑制されなかったが、 3.5×10^{-5} M の diphenhydramine の適用により抑制された。

② Ach および His に対する作用

方 法：マグヌス法に従い検体濃度 1×10^{-4} g/mL～ 1×10^{-8} g/mL（界面活性剤としてを用い十分に混合した後 Tyrode 液にて乳濁液とした）に対する Ach (1×10^{-7} ～ 3×10^{-5} M) および His (1×10^{-7} ～ 3×10^{-5} M) による収縮に対する作用性を検討した。

結 果：検体濃度 1×10^{-6} g/mL 以下の適用では、Ach および His による収縮に対する影響は認められなかった。 1×10^{-5} g/mL および 1×10^{-4} g/mL の濃度では、検体自体の収縮作用の影響により測定が困難であったが、Ach および His による収縮はともに抑制された。しかし、対応する濃度の sorpol 1200 でもほぼ同程度の抑制が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3) ラットの骨格筋に対する作用

供試動物： 雄ラット、7～9週令、体重248～260g、1群3～4匹

方 法：ウレタン麻酔下でラットの左側坐骨神経と腓腹筋標本を作成し、坐骨神経の電気刺激による腓腹筋のれん縮を、検体を と十分に混和した後生理食塩液に乳濁させ、31.3 mg/kg および 125 mg/kg を腹腔内に投与し、終投与の120分後まで観察した。

結 果：検体の31.3 mg/kg 投与群では坐骨神経刺激による腓腹筋の収縮に影響はみられなかった。125 mg/kg 投与群では投与約30分後より腓腹筋の収縮が抑制される傾向がみられはじめ、その程度は徐々に増大し、60分後には投与前値と比較し約30%、120分後では約40%抑制された。

以上の結果から、MCPBの薬理作用としては中枢神経抑制作用、腸管に対する直接作用を有するものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

「生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg, g/mL)	動物数 /群	作用量 (mg/kg, g/mL)	無作用量 (mg/kg, g/mL)	結果の概要
中枢神経系 ①運動協調性 ローレット法	経口	0, 125, 500, 2000	10	2000	500	125~500mg/kg: 作用なし 2000mg/kg: 0.5hr;7/10、 1hr;8/10、2~5hr;9/10回転棒よ り落下
②自発運動量	経口	0, 31.3, 125, 500	9~12	500	125	31.3~125mg/kg: 作用なし 500mg/kg: 自発運動量の減少
③麻酔延長作用	経口	0, 31.3, 125, 500	11~12	500	125	31.3~125mg/kg: 作用なし 500mg/kg: 麻酔時間が2.4倍延長
④体温への作用	経口 液	0, 31.3, 125, 500	7~8	500	125	31.3~125mg/kg: 作用なし 500mg/kg: 2hrより体温下降、 5hr; 3℃下降、3~4hr歩行異常
自律神経系 ①直接作用 マグヌス法	<i>in vitro</i>	10^{-8} , 10^{-7} 10^{-6} , 10^{-5} 10^{-4}	3~5	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8} , 10^{-7} : 作用なし 10^{-6} ~ 10^{-4} : 摘出回腸が収縮 10^{-4} : 摘出回腸の持続的収縮 10^{-5} での収縮は $6.5 \times 10^{-5} M$ atropinでは抑制されず、 $3.5 \times 10^{-5} M$ diphen-hydramineで抑制
②摘出回腸 マグヌス法 (Ach, His作用)	<i>in vitro</i>	10^{-8} , 10^{-7} 10^{-6} , 10^{-5} 10^{-4}	3~5	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7} , 10^{-6} : 作用なし 10^{-5} ~ 10^{-4} : 検体自体の収縮作用 あり Ach, Hisでの収縮を抑制、 でも同程度の抑制
骨格筋 坐骨神経、腓腹 筋標本	<i>in vitro</i>	31.3, 125	3~4	125	31.3	31.3mg/kg: 作用なし 125mg/kg: 収縮抑制

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(11) 参考資料

ラットの血液学的検査およびコリンエステラーゼ活性を含む (資料No. 参考1)
生化学的検査項目に及ぼす影響について

試験機関：
報告書作成年

検体の純度：

供試動物： ラット、1群雌雄各4匹、開始時5週齢

試験期間：4週間

方 法：検体を0、125、500 および2000 ppmの濃度で飼料に混入し、4週間にわたり自由に摂取させた。コリンエステラーゼ活性測定用血液は実験開始3週間後に眼底より少量採血し供試したが、その他の血液学的および生化学的検査用血液は4週間後に腹部大動脈より採血し検査に供した。

試験項目：一般症状を毎日観察するとともに、体重を毎週1回測定した。また、血液学的検査としては赤血球数、白血球数、血色素量、ヘマトクリット値および白血球分画、生化学的検査としてはコリンエステラーゼ活性に加え、アルカリフォスファターゼ活性、トランスアミラーゼ活性(GPT、GOT)、総コレステロール量、血糖量、血清尿素窒素、タンパク質を測定した。

結 果：一般症状および体重変化に関しては、2,000 ppm投与群雌雄で僅かではあるが体重増加抑制が認められた以外、検体摂取による影響は認められなかった。血液学的検査では明瞭な変化は認められなかった。生化学的検査でも血球および血漿コリンエステラーゼ活性の低下が2000 ppm投与群雌雄で認められた以外、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果から、MCPBエチルを飼料に混入し、4週間連続投与してもコリンエステラーゼ活性に及ぼす影響を除き、ラットに対して血液学的および生化学的変化を惹起しないものと考えられた。なお、コリンエステラーゼ活性は有機りん剤、カーバメイト剤などと比較すれば、その活性低下は僅かであり、2000 ppmの曝露においても急性中毒を生ずる恐れは全くないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2. 製剤を用いた試験成績

(1) 20%乳剤の急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験(20%乳剤)

(資料No. AK-1)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤

[組成] M C P B エチル原体 20.0%
有機溶剤、界面活性剤等 80.0%

供試動物： 雌雄ラット、各4～6週令、1群各5例

投与時体重；雄 95～131 g、雌 91～112 g

観察期間：14日間

投与方法：検体を に溶解して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

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

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、1500、2300、3400、 5100、7600
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 6190 (4600～12790) 雌 4650 (3790～5880)
死亡開始時間及び終了時間	投与後2時間から開始 投与後9日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後30分以内から開始 投与後12日に終了
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 3400 雌 1500

中毒症状としては、雌雄に関係なく円背位、立毛、流涎、無気力、嗜眠、体毛の汚れ、下痢、脱毛等が観察された、
剖検所見では、主要な臓器・器官に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日本化薬株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験(20%乳剤)

(資料No. AK-2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤

[組成] MCPBエチル原体 20.0%
有機溶剤、界面活性剤等 80.0%

供試動物： 系雌雄マウス、各4～6週令、1群各5例

投与時体重；雄23～30g、雌20～27g

観察期間：14日間

投与方法：検体を に溶解して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

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

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雄 0、2300、3000、3900、 5100、6600、8600 雌 0、1800、2300、3000、 3900、5100、6600、8600
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 3170 (2500～3730) 雌 2510 (1850～3050)
死亡開始時間及び終了時間	投与後30分以内から開始 投与後5日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後30分以内から開始 投与後11日に終了

中毒症状としては、雌雄に関係なく円背位、立毛、流涎、無気力、嗜眠、体毛の汚れ、下痢、脱毛、緩慢な呼吸、低体温、痙攣、震え、運動失調、眼瞼下垂などが観察された。

剖検所見では、主要な臓器・器官に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日本化薬株式会社にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験(20%乳剤)

(資料No. AK-3)

試験機関：

〔GLP対応〕

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤

〔組成〕MCPBエチル原体 20.0%
有機溶剤、界面活性剤等 80.0%

供試動物：系雌雄ラット、1群各5例

投与時体重；雄 200～212 g、雌 200～209 g

観察期間：14日間

試験方法：限度試験

投与方法：検体原液を剃毛した背部皮膚（5×5 cm）に均一に24時間塗布した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む臓器・器官の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡動物なし
症状発現時間及び消失時間	症状発現なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

中毒症状は認められなかった。

体重増加量への影響は認められなかった。

剖検では、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日本化薬株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験(20%乳剤)

(資料No. 23)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度: 20%乳剤

〔組成〕 MCPBエチル原体	23.0%
有機溶剤	70.0%
界面活性剤	7.0%

供試動物: 雄ウサギ(体重 2.51~3.17 kg)、1群6匹

観察期間: 14日間観察

方法: ウサギの背部被毛を適用前日に電動バリカンで剪毛し、電気カミソリで剃毛した。2×3 cmの試験部位を左右2か所設けた。左側には検体0.5 mLを塗布した2×3 cmのガーゼを、右側にはガーゼのみを適用した。適用時間は4時間とし、皮膚に残った検体は除去した。

観察項目: 検体除去1、24、48及び72時間後に、その後は14日後まで毎日、塗布部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無を観察し、皮膚反応の判定を行った。一般状態及び体重変化についてもあわせて観察した。

結果: 観察した刺激性変化の評点は、次頁の表のとおりである。

検体除去1時間後の観察において非常に軽度(評点1)の紅斑が6例中4例、はっきりとした紅斑(評点2)が1例、中等度ないし高度の紅斑(評点3)が1例、非常に軽度の浮腫(評点1)が2例認められた。紅斑及び浮腫は漸次その程度が増し、48時間後にはっきりとした紅斑(評点2)が1例、中等度ないし高度の紅斑(評点3)が5例となった。また72時間から5日後までに6例に痂皮形成が認められた。浮腫も72時間後に非常に軽度の浮腫(評点1)が1例、軽度の浮腫(評点2)が3例、中等度の浮腫(評点3)が2例認められた。しかし、紅斑、痂皮及び浮腫はその後回復に向かい7日後には浮腫が、14日後には紅斑及び痂皮が消失した。

一般症状及び体重変化には、検体投与によると思われる異常はいずれの動物においても認められなかった。

以上の結果から、MCPB 20%乳剤はウサギの皮膚に対して刺激性があると判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

MCPB20%乳剤の皮膚刺激性試験 個別刺激性評点

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間						
			1時間	24時間	48時間	72時間	5日	7日	14日
1	紅斑・痂皮	4	1	2	3	4	4	4	0
	浮腫	4	0	1	2	2	1	0	0
2	紅斑・痂皮	4	3	3	3	4	2	1	
	浮腫	4	1	2	2	2	0	0	
3	紅斑・痂皮	4	1	3	3	3	4	4	0
	浮腫	4	1	2	2	3	1	0	0
4	紅斑・痂皮	4	2	3	3	3	4	1	
	浮腫	4	0	1	1	1	0	0	
5	紅斑・痂皮	4	1	3	3	4	4	4	
	浮腫	4	0	2	3	3	0	0	
6	紅斑・痂皮	4	1	2	2	3	4	4	0
	浮腫	4	0	0	1	2	2	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	9	16	17	21	22	18	0
	浮腫	24	2	8	11	13	4	0	0
平均	紅斑・痂皮	4.0	1.5	2.7	2.8	3.5	3.7	3.0	0.0
	浮腫	4.0	0.3	1.3	1.8	2.2	0.7	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日本化薬株式会社にある。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験(20%乳剤)

(資料No. 24)

試験機関：

〔G L P 対応〕

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤

〔組成〕M C P B エチル原体	23.0%
有機溶剤	70.0%
界面活性剤	7.0%

供試動物：雄ウサギ(体重 2.22~2.68 kg)、洗眼群 3 匹、非洗眼群 6 匹

観察期間：21日間観察

方法：検体をそのまま0.1 mL/眼を右眼に点眼し、うち3匹は2分後に洗眼した。
6匹については洗眼しなかった。

観察項目：投与後1、24、48及び72時間後に、その後は21日後まで角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

洗眼・非洗眼両群において、角膜ではび漫性の混濁が、虹彩では著明な深い褶及び充血が、結膜では明らかな充血や眼瞼の外反を伴う腫脹、眼瞼の1/2以上の閉塞を伴った腫脹が認められた。

角膜での最大反応は洗眼、非洗眼とも24時間後にみられ、洗眼群で7日、非洗眼群では11日後までには消失した。結膜の発赤は洗眼群で24時間後、非洗眼群で72時間後に最大となった。また結膜の浮腫は1時間後最大となり、洗眼群で10日後、非洗眼群で13日後に消失した。しかし、発赤は21日後の観察最終日においても認められ、洗眼の効果も顕著には認められなかった。

以上の結果から、M C P B 20%乳剤はウサギの眼粘膜に対して、強い刺激性があり、この刺激性は洗眼によってほとんど軽減されないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

MCPB20%乳剤の眼刺激性試験 個別刺激性評点

項目		最高 評点	適用後時間									
			1時間	1日	2日	3日	5日	7日	14日	21日		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	4	0	0	0	0	0				
		虹彩	2	0	0	0	0	0				
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	0			
			浮腫	4	2	1	1	1	0			
	動物 番号 2	角膜混濁	4	0	0	0	0	0				
		虹彩	2	0	0	0	0	0				
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	0			
			浮腫	4	2	1	1	1	0			
	動物 番号 3	角膜混濁	4	1	1	1	2	1	1	0	0	
		虹彩	2	0	1	1	1	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	2	3	1	1	1	1
			浮腫	4	2	2	2	2	1	1	0	0
	動物 番号 4	角膜混濁	4	1	1	1	0	0	0			
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0			
		結膜	発赤	3	1	3	2	2	1	1		
			浮腫	4	2	2	1	1	0	0		
	動物 番号 5	角膜混濁	4	1	2	2	2	1	0	0	0	
		虹彩	2	1	1	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	1	1	1
			浮腫	4	2	1	2	2	0	0	0	0
	動物 番号 6	角膜混濁	4	1	1	1	1	1	0	0		
		虹彩	2	1	1	1	1	0	0	0		
		結膜	発赤	3	1	2	3	3	2	1	1	
			浮腫	4	3	2	2	2	1	0	0	
合計		78	25	29	27	28	11	6	3	2		
平均		13	4.2	4.8	4.5	4.7	1.8	1.5	1.0	1.0		
洗 眼 群 (3匹平均)	角膜混濁	4	0.3	0.7	0.3	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0		
	虹彩	2	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	結膜	発赤	3	1.0	1.7	1.3	1.3	1.0	0.3	0.3	0.3	
		浮腫	4	2.7	1.3	1.3	1.0	0.3	0.3	0.0	0.0	
	合計		39	12	11	9	7	5	2	1	1	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

6) ウサギを用いた眼刺激性試験 (20%乳剤の使用時濃度) (資料No. 25)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度: 20%乳剤

〔組成〕 MCPBエチル原体	23.0%
有機溶剤	70.0%
界面活性剤	7.0%

MCPB 20%乳剤の3000倍希釈液(使用時濃度: 0.0067%)

〔組成〕 水	2999部
MCPB 20%乳剤	1部

供試動物: 雄ウサギ(体重 2.20~2.81 kg)、洗眼群 3匹、非洗眼群 6匹

観察期間: 3日間観察

方法: 検体を蒸留水で3000倍に希釈し、0.1mL/眼を右眼に点眼した。うち3匹は2分後に洗眼した。6匹については洗眼しなかった。

観察項目: 投与後1、24、48時間及び3日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁のとおりである。

非洗眼群及び洗眼群とも、いずれの項目の観察時においても刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、MCPB 20%乳剤の使用時濃度(3000倍希釈液)はウサギの眼粘膜に対して、刺激性はないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

MCPB20%乳剤の使用時濃度希釈液の眼刺激性試験
 個別別刺激性評点

項目			最高 評点	適 用 後 時 間				
				1時間	1日	2日	3日	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	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
	動物 番号 2	角膜混濁	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
	動物 番号 3	角膜混濁	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
	動物 番号 4	角膜混濁	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
	動物 番号 5	角膜混濁	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
	動物 番号 6	角膜混濁	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	0.0	0.0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁		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	
		浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	
	合計			39	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日本化薬株式会社にある。

7) モルモットにおける皮膚感作性試験(20%乳剤)

(資料No. AK-4)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤

[組成] MCPBエチル原体	20.0%
有機溶剤、界面活性剤等	80.0%

供試動物：雄モルモット、5週令、1群各20匹(陽性対照群10匹)

投与開始時体重 331~397 g

観察期間：惹起後48時間

試験方法：[Buehler法]

投与量設定根拠：

感 作；剃毛した左側胴部に、検体25%水溶液0.5 mLを塗布した2×2 cmのリント布を6時間閉塞貼付した。非感作群の動物には精製水のみを同様に処理した。この処理を7日間間隔で3回行った。陽性対照群の感作動物にはDNCB 1%を含む白色ワセリン0.5 gを同様に処理し、非感作動物には白色ワセリンのみを処理した。

惹 起；最終感作の14日後、剃毛した右側胴部に検体0.2%水溶液0.5 mLを24時間閉塞貼付した。陽性対照群には0.1%DNCB エタノール水溶液0.5 mLを処理した。

観察項目：惹起後24および48時間に適用部位の皮膚反応を観察し、Draize法により評価を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

群			供試動物数	感作反応動物数						陽性率 (%)					
				24時間後			48時間後			24時間	48時間				
	感 作			惹 起		皮膚反応評点		計	皮膚反応評点			計			
	0	1		2	3	計	0		1	2	3		計		
検体	25% 検体	0.2% 検体	20	20				0/20	20				0/20	0	0
	精製水	0.2% 検体		20					0/20	20				0/20	—
陽性対照	1%DNCB 白色ワリン	0.1%DNCB エタノール 水溶液	10			7	3	10/10		1	2	7	10/10	100	100
	白色ワリン	0.1%DNCB エタノール 水溶液		10					0/10	10				0/10	—

検体処理群においては、皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性対照群においては、全動物に明瞭な紅斑または浮腫がみられた。

以上の結果から、MCPB20%乳剤の皮膚感作性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(2) 20%乳剤 (EW) の急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験 (20% EW)

(資料No. AK-5)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度 : 20%乳剤

〔組成〕 MCPBエチル原体	20.0%
水、界面活性剤等	80.0%

供試動物 : 系雌雄ラット、各7週令、1群各5匹

投与時体重 ; 雄 206~237g、雌 170~192 g

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体を に溶解し、20 mL/kg の用量で経口投与した。投与前に約 16 時間絶食した。対照群には溶媒のみを同様に投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を投与後 6 時間までは頻繁に、その後は毎日 1 回 14 日間観察した。体重を投与直前、投与後 1、2、3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時に全例について肉眼的病理検査を行った。14 日間の累積死亡率をもとに Van der Waerden 法で LD₅₀ 値および 95%信頼限界値を算出した。

結 果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、1600、2000、2600、3200、4000、5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 3440 (3162~3743) 雌 3606 (3110~4181)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 2 時間から開始 投与後 2 日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後 5 分から開始 投与後 3 日に終了
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2600

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

中毒症状として、全ての検体投与群で自発運動減少、腹臥、横臥および聴覚刺激に対する反応性亢進が投与後5～30分に発現し、2000 mg/kg以上の投与群では投与後30分ないし1時間から縮瞳、間代性痙攣、流涎および流涙が認められた。これらの症状は2000 mg/kg以下の投与群では投与後2日以内に消失した。

2600 mg/kg以上の投与群では投与後1～2日に眼瞼周囲暗赤色、尿道口周囲着色、鼻口周囲着色等が認められ、これらの症状は投与後3日に回復した。

体重に対する影響として、雄では2000 mg/kg以上の投与群で体重増加量の統計学的に有意な低下が認められた。雌では3200 mg/kgおよび4000 mg/kg投与群の生存例で投与後7日間に低値が認められたが、その後順調に増加し、観察期間中の体重増加量は対照群とほぼ同等であった。

剖検では、3200 mg/kg以上の死亡動物で腺胃に暗赤色点散在が、また5000 mg/kg投与群の死亡動物1例で脾臓の萎縮が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験(20%EW)

(資料No. AK-6)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤(20%EW)

〔組成〕MCPBエチル原体	20.0%
水、界面活性剤等	80.0%

供試動物：系雌雄マウス、各7週令、1群各5匹

投与時体重；雄25.7~30.0g、雌20.9~25.5g

観察期間：14日間

投与方法：検体を に溶解し、20 mL/kg の用量で経口投与した。投与前に約16時間絶食した。対照群には溶媒のみを同様に投与した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を投与後6時間までは頻繁に、その後は毎日1回14日間観察した。体重を投与直前、投与後1、2、3、7、10および14日に測定した。試験終了時に全例について肉眼的病理検査を行った。14日間の累積死亡率をもとにVan der Waerden法でLD₅₀値および95%信頼限界値を算出した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、2000、2600、3200、4000、5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 3741 (3428~4083) 雌 3934 (3437~4503)
死亡開始時間及び終了時間	投与後2時間から開始 投与後3日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後5分から開始 投与後3日に終了
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 3200 雌 2600

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

中毒症状として、全ての検体投与群で投与後5～15分に自発運動減少または腹臥が認められた。2600 mg/kg以上の投与群で投与後5～30分に聴覚刺激に対する反応性亢進が見られ、4000 mg/kg以上の投与群で投与後5～30分間に間代性痙攣が認められた。これらの症状は2000 mg/kg投与群では投与後6時間に消失し、2600 mg/kg以上投与群では投与後1～2日または死亡時まで持続した。

体重に対する影響として、4000 mg/kg投与群雄の生存動物1例で体重増加抑制が認められた。同投与群雌および3200 mg/kg以下投与群の雌雄では検体投与の影響は認められなかった。

剖検では、5000 mg/kg投与群の8例で腺胃に暗赤色点散在、うち1例で脾臓の萎縮が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験(20%EW)

(資料No. AK-7)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤(20%EW)

〔組成〕MCPBエチル原体	20.0%
水、界面活性剤等	80.0%

供試動物：系雌雄ラット、各7週令、1群各5匹

投与時体重；雄242～263g、雌192～210g

観察期間：14日間

試験方法：限度試験

投与方法：検体原液を剃毛した背部皮膚(4×5cm)に均一に塗布した。24時間適用後、塗布部位を温水を浸したガーゼで洗浄し、検体を除去した。対照群には蒸留水のみを同様に塗布した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を投与後6時間までは頻繁に、その後は毎日1回14日間観察した。試験終了時に全例について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡動物なし
症状発現時間及び消失時間	症状発現なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

中毒症状は認められなかった。

体重増加量への影響は認められなかった。

剖検では、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日本化薬株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験(20%EW)

(資料No. AK-8)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤(20%EW)

[組成] MCPBエチル原体 20.0%
水、界面活性剤等 80.0%

供試動物： ウサギ、14週令、雌9匹

投与時体重範囲；2.81～3.21 kg

観察期間：14日間

投与方法：検体0.5 mLをリント布(2.5×2.5 cm)上に塗布し、剃毛した動物の背部皮膚に閉塞貼付した。4時間後に貼付物を除去し、皮膚に残った検体を水で湿らせたガーゼで拭いた。

観察・検査項目：暴露終了後1、24、48および72時間に適用部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	適用後時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑・痂皮	4	1	1	0.5	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	1	1	0.5	0

暴露後1時間に軽度の紅斑(評点1)が全例で認められたが、暴露後72時間には消失した。

以上の結果から、MCPB20%乳剤(EW)はウサギの皮膚に対してごく軽微な刺激性があると思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験 (20% E W)

(資料No. AK-9)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年

検体の純度：20%乳剤(20% E W)

〔組成〕 M C P B エチル原体	20.0%
水、界面活性剤等	80.0%

供試動物： 雌ウサギ、14週令、1群6匹 (洗眼群 3匹)

投与時体重範囲；2.49~2.73kg

観察期間：72時間

投与方法：検体 0.1 mL を左眼結膜嚢内に適用し、約1秒間両眼瞼を合わせて閉眼させた。
右眼は無処理対照とした。3匹については2~3分後に両眼を微温湯で1分間洗眼した。6匹については洗眼しなかった。

観察・検査項目：適用後1、24、48 および72時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize らの評価方法に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

目		最高 評点	投与後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群 (6匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	0.5	0.2	0
		浮腫	4	1	0.2	0.2	0
	分泌物	3	2	0	0	0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
	分泌物	3	2	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日本化薬株式会社にある。

非洗眼群および洗眼群の全例で適用後 1 時間に結膜の発赤（評点 1）、浮腫（評点 1）および分泌物（評点 2）が認められた。これらの反応は洗眼群では適用後 24 時間、非洗眼群では適用後 72 時間に消失した。

以上の結果から、MCPB20%乳剤（EW）はウサギの眼粘膜に対してわずかな刺激性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

6) モルモット用いた皮膚感作性試験(20%EW)

(資料No. AK-10)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年 1998年

検体の純度：20%乳剤(20%EW)

〔組成〕MCPBエチル原体	20.0%
水、界面活性剤等	80.0%

供試動物：ハートレー系雌モルモット、6~8週令、1群20匹（陽性対照群10匹）

投与開始時体重 345~460 g

観察期間：惹起後48時間

試験方法：[Buehler法]

投与量設定根拠：

感 作；剃毛した左側胴部（5×5cm）に、検体の原液（100%）0.2 mLを塗布した直径2.5 cmのパッチを6時間閉塞貼付した。非感作群の動物には注射用水のみを同様に処理した。この処理を7日間間隔で3回行った。陽性対照群の感作動物には1%DNCBエタノール溶液を同様に処理し、非感作動物にはエタノールのみを処理した。

惹 起；最終感作の14日後、剃毛した右側胴部に検体の原液0.2 mLを感作時と同様に6時間閉塞貼付した。陽性対照群には0.25%DNCBエタノール溶液を処理した。

観察・検査項目：惹起後24および48時間に適用部位の皮膚反応を観察し、Draizeの方法で評価を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

群	感 作 惹 起		供試動物数	感作反応動物数						陽性率 (%)					
				24時間後			48時間後			24時間	48時間				
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点						
				0	1	2	3		0	1	2	3			
検体	100% 検体	100% 検体	20	20				0/20	20				0/20	0	0
	注射用水	100% 検体		20					0/20	20				0/20	—
陽性対照	1%DNCB エタノール溶液	0.25% DNCB エタノール溶液	10		8	2		10/10		9	1		10/10	100	100
	エタノール	0.25% DNCB エタノール溶液		10				0/10	10				0/10	—	—

検体処理群においては、皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性対照群においては、全動物に明瞭な紅斑がみられた。

以上の結果から、MCPB20%乳剤（EW）の皮膚感作性は陰性であると判断される。

IX. 動植物および土壌等における代謝分解

〈代謝分解試験一覧表〉

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁																																																																				
代-1 (GLP)	動物体内における代謝	ラット 雌雄	薬物動態試験 (1群各4匹) 排泄試験 (1群各4匹) 経時的組織分布試験 (1群各3匹) 単回強制経口投与 ・低用量は4 mg/kg体重 ・高用量は250 mg/kg体重		IX-8																																																																				
<p>[試験結果の概要]</p> <p>1) 薬物動態試験 薬物動態パラメータは以下の通りであった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">低用量群</th> <th colspan="2">高用量群</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>T_{max} (時間)</td> <td>1.8</td> <td>2.0</td> <td>22.5</td> <td>13.5</td> </tr> <tr> <td>C_{max} (μg-cq/g)</td> <td>10.29</td> <td>12.89</td> <td>271.29</td> <td>255.75</td> </tr> <tr> <td>AUC_{0-∞} (μg-cq/g/時間)</td> <td>85.68</td> <td>139.67</td> <td>11569.60</td> <td>9105.38</td> </tr> <tr> <td>t_{1/2} (時間)</td> <td>4.1</td> <td>4.9</td> <td>11.9</td> <td>11.3</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> ・薬物動態パラメータにおいて、性差は認められなかった。 ・相対的全身暴露において、用量依存性が認められた。 <p>2) 排泄試験 投与72時間後(低用量群)又は120時間後(高用量群)における放射能の分布は以下の通りであった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">低用量群</th> <th colspan="2">高用量群</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>87.08</td> <td>85.53</td> <td>82.23</td> <td>79.43</td> </tr> <tr> <td>ケージ洗液</td> <td>10.49</td> <td>8.97</td> <td>9.12</td> <td>11.65</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>4.48</td> <td>3.66</td> <td>7.19</td> <td>6.26</td> </tr> <tr> <td>カーカス</td> <td>0.93</td> <td>0.68</td> <td>1.79</td> <td>1.93</td> </tr> <tr> <td>組織</td> <td>0.25</td> <td>0.28</td> <td>0.25</td> <td>0.38</td> </tr> <tr> <td>総回収率</td> <td>103.23</td> <td>99.13</td> <td>100.58</td> <td>99.66</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> ・投与放射能の総回収率は全群で>99%であった。 ・主要排泄経路は尿であった(79.43~87.08% TAR)。 ・動物体組織の残留量に性差は認められなかった。 <p>3) 組織分布試験 低用量群：投与72時間後のカーカスを除く動物組織中の残留は合計で約0.3% TARであり、主に肝臓、脂肪組織および腎臓に分布した。 高用量群：投与120時間後のカーカスを除く動物組織中の残留は合計で約0.3~0.4% TARであり、主に脂肪組織並びに雌の副腎、卵巣、脾臓および子宮に分布した。 組織中濃度において性差は認められなかった。</p> <p>4) 吸収率：投与量の約82%以上が体内に吸収された。</p> <p>5) 代謝 尿： 主要代謝物はMCPA[C] (低用量群, >34% TAR; 高用量群, >33% TAR)であった。その他の両群で共通な代謝物は、 (低用量群, 約10% TAR; 高用量群, 約8~14% TAR)、 および 並びに の であった(低用量群, 約3% TAR並びに約5~6% TAR; 高用量群, 約8~17% TAR並びに約1~1.6% TAR)。さらに の [I] が低用量群(約16% TAR)に、 が高用量群(約7~8% TAR)にそれぞれ固有に認められた。低用量群では高用量群との固有代謝物の相違を考慮すると、MCPB エチルはより広範囲に代謝された。 ケージ洗液：尿中の主要代謝物が認められた。 糞： 主要代謝物はMCPA[C]、 および]であった(<2% TAR)。</p>							低用量群		高用量群		雄	雌	雄	雌	T _{max} (時間)	1.8	2.0	22.5	13.5	C _{max} (μg-cq/g)	10.29	12.89	271.29	255.75	AUC _{0-∞} (μg-cq/g/時間)	85.68	139.67	11569.60	9105.38	t _{1/2} (時間)	4.1	4.9	11.9	11.3		低用量群		高用量群		雄	雌	雄	雌	尿	87.08	85.53	82.23	79.43	ケージ洗液	10.49	8.97	9.12	11.65	糞	4.48	3.66	7.19	6.26	カーカス	0.93	0.68	1.79	1.93	組織	0.25	0.28	0.25	0.38	総回収率	103.23	99.13	100.58	99.66
	低用量群		高用量群																																																																						
	雄	雌	雄	雌																																																																					
T _{max} (時間)	1.8	2.0	22.5	13.5																																																																					
C _{max} (μg-cq/g)	10.29	12.89	271.29	255.75																																																																					
AUC _{0-∞} (μg-cq/g/時間)	85.68	139.67	11569.60	9105.38																																																																					
t _{1/2} (時間)	4.1	4.9	11.9	11.3																																																																					
	低用量群		高用量群																																																																						
	雄	雌	雄	雌																																																																					
尿	87.08	85.53	82.23	79.43																																																																					
ケージ洗液	10.49	8.97	9.12	11.65																																																																					
糞	4.48	3.66	7.19	6.26																																																																					
カーカス	0.93	0.68	1.79	1.93																																																																					
組織	0.25	0.28	0.25	0.38																																																																					
総回収率	103.23	99.13	100.58	99.66																																																																					

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
代-2 (GLP)	植物体内運命	イネ	0.8% a. i. 粒剤を施用。 施用：1.6 mg a. i./ポット(慣行施用量320 g a. i./ha相当量) イネ幼苗移植後21日に田面水に1回施用		IX-19
<p>[試験結果の概要]</p> <p>試料：施用35日後(茎葉部)、施用91日後(玄米、籾殻、稲わら、根部)</p> <p>1) 総放射性残留物(TRR)のレベル</p> <p>茎葉部：0.113 mg eq./kg 玄米：0.125 mg eq./kg 籾殻：0.119 mg eq./kg 稲わら：0.164 mg eq./kg 根部：4.471 mg eq./kg</p> <p>2) 分布</p> <p>茎葉部：抽出液；55.77%TRR、抽出後固形物(PES)；44.23%TRR 玄米：抽出液；7.08%TRR、PES；92.92%TRR 稲わら：抽出液；46.90%TRR、PES；53.10%TRR</p> <p>3) C18固相抽出液中の分布</p> <p>：茎葉部；10.77%、玄米；1.29%、稲わら；6.58%TRR ：茎葉部；9.37%、玄米；4.58%、稲わら；7.94%TRR ：茎葉部；28.81%、玄米；1.23%、稲わら；24.18%TRR</p> <p>4) 主要代謝物</p> <p>茎葉部：MCPA[C](0.0030 mg eq./kg、2.6%TRR)、(0.0048 mg eq./kg、4.2%TRR)、(0.0098 mg eq./kg、8.6%TRR)、(0.0091 mg eq./kg、8.0%TRR) 玄米：固相抽出液画分のTRRレベルは0.0015～0.0057 mg eq./kg と低かった。 稲わら：MCPA[C](0.0048 mg eq./kg、3.0%TRR)、(0.0038 mg eq./kg、2.3%TRR)、(0.0115 mg eq./kg、7.1%TRR)、(0.0117 mg eq./kg、7.2%TRR)</p> <p>5) 成分 および の特徴づけ</p> <p>酸および酵素による加水分解処理の結果、 およびMCPA[C]が遊離したため、この2成分は およびMCPA[C]の と推定した。</p> <p>6) PES 中放射能の特徴づけ</p> <p>玄米では、放射能はデンプンおよびタンパク画分に分布し、また稲わらではリグニン、ヘミセルロースとセルロース画分に分布していた。</p> <p>7) 代謝経路</p> <p>MCPBエチル[A]の加水分解によりMCPB酸[B]が生成し、次にその酪酸部位のβ酸化によりMCPA[C]が、およびMCPA[C]の酸化的脱炭酸(又は加水分解)により が生成した。これらの代謝物はさらに数種の糖抱合を受け、また、リグニン、ヘミセルロースやセルロースなどの植物体構成成分に取り込まれて結合型残留物を形成した。</p>					

資料 No.	試験の種類	供試動 植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
代-3 (GLP)	植物体内 運命	カンキツ (ネーブル オレンジ)	20% EC剤 4年生の樹木に1本当たり55.76 mg/575 mL/区画/施用(400 g a. i. /ha相当量) 2回散布(最終収穫前49、21日)		IX-30
<p>[試験結果の概要]</p> <p>試料：施用0、7および21日後(果実)、施用21日後(葉部)</p> <p>1) 総放射性残留物(TRR)のレベル</p> <p>果実：0.159~0.303 ppm；表面洗浄液(0.002~0.012 ppm、0.6~4.0%TRR) 果皮(0.143~0.275 ppm、89.4~91.4%TRR) 果肉(0.014~0.021 ppm、5.4~8.9%TRR)</p> <p>葉部：5.706 ppm；表面洗浄液(1.092 ppm、19.1%TRR)、 洗浄葉部(4.614 ppm、80.9%TRR)</p> <p>2) 分布</p> <p>果実：果皮抽出液(85.5~87.7%TRR)、果肉抽出液(5.1~8.5%TRR)、 総PES(3.9~4.3%TRR) TTRの約96%が洗浄および含水土有機溶媒で抽出された。</p> <p>葉部：抽出液(68.3%TRR)、PES(12.5%TRR) TTRの約87%が洗浄および含水土有機溶媒で抽出された。</p> <p>3) 主要代謝物</p> <p>果実：MCPA[C]およびその (含量で36~66%TRR)、MCPB酸[B](4.2~13.8% TRR)、 [G]の (5.0~19.4%TRR)、 その他に の の 、MCPB-エチル[A]が<10%TRRで検出された。</p> <p>葉部：MCPB酸[B](13.9%TRR)、 (13.0%TRR)および の抱合(33.0%TRR)。 その他に 、MCPAおよびその および MCPB エチルが<10%TRRで検出された。</p> <p>4) 代謝経路</p> <p>MCPB-エチルは、エステルの加水分解、側鎖の水酸化、側鎖の酸化的開裂およびエーテル結合の開裂により広範囲に代謝された。第1次水酸化代謝物は糖抱合体として存在した。</p>					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

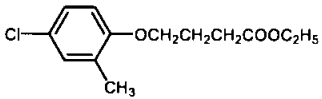
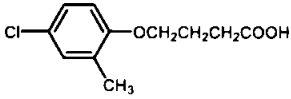
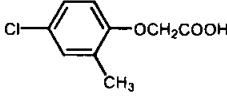
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
代-4 (GLP)	植物体内運命	りんご	20% EC剤 約17年生の樹木に1本当たり55.76 mg/875 mL/区(400g a. i. /ha相当量) 1回散布(成熟期収穫前 28日)		IX-43
	<p>[試験結果の概要] 試料：施用0、14および28日後(果実)、施用28日後(葉部)</p> <p>1) 総放射性残留物(TRR)のレベル 果実：0.0731～0.0897 ppm；表面洗浄液(0.0014～0.0072 ppm、1.96～8.08%TRR) ジュース(0.0208～0.0412 ppm、23.21～56.39%TRR) 搾りかす(0.0305～0.0616 ppm、41.65～68.71%TRR) 葉部：3.8519 ppm；表面洗浄液(0.5122 ppm、13.30%TRR)、 洗浄葉部(3.3397 ppm、86.70%TRR)</p> <p>2) 分布 果実搾りかす：抽出液(38.71～60.27%TRR)、PES(2.94～8.44%TRR) 洗浄葉部：抽出液(79.75%TRR)、PES(6.95%TRR) TRRの約93%が洗浄および含水有機溶媒で抽出された。</p> <p>3) 主要代謝物 果実洗浄液：MCPB-エチル(1.54～7.26%TRR)。 洗浄果実：0日後の果実ではMCPB-エチル(14.36%)およびMCPA(59.02%)。 14日後の果実では、 (20.15～36.54%TRR)。 28日後収穫の成熟果実では、 (19.97～34.92%TRR)であり、合計で約76%TRRであった。その他にMCPB-エチル、MCPBおよびMCPAが認められた(0.10～2.82 %TRR)。 葉部： (21.92%TRR)および (45.68%TRR)。 MCPB-エチルは9.07 %TRR検出され、主に葉部表面に存在した。</p> <p>4) 代謝経路 MCPBエチルは、エステルの加水分解、メチル基および側鎖の水酸化、側鎖の酸化的開裂ならびにエーテル結合の開裂により、広範囲に代謝された。第1次水酸化代謝物は糖抱合体として存在した。</p>				
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
参考資料	代謝物の作物残留試験	りんご、日本なし、温州みかん、夏みかん	および の作物への残留を液体クロマトグラフ・質量分析計を用い、推定した。		IX-55
	<p>温州みかん(果肉)においては のみが、温州みかん(果皮)においては対象の3成分()及び ()が検出され、その残留濃度は定量限界値前後から最大その数倍程度と推定された。 夏みかんにおいては、対象の3成分()及び ()が検出されその残留濃度は定量限界値前後と推定された。 りんご及び日本なしにおいては、 および ()が検出され、その残留濃度は定量限界値前後と推定された。</p>				

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
代-5 (GLP)	土壌中運命	好氣的 湛水土壌	水田土壌(埼玉県熊谷市)軽埴土 施用濃度0.32 ppm(320g a. i. /ha相 当量)25±2°C、180日間。		IX-60
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
代-6 (GLP)	土壌中運命	好氣的 土壌	畑地土壌(埼玉県久喜市)、砂壤土 施用濃度0.4 ppm(400g a. i. /ha相当 量)、25±2°C、60日間。		IX-71

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
代-7 (GLP)	水中運命	加水分解	pH 7.0およびpH 9.0緩衝液 試験温度：25±1°C、30日間 試験開始時濃度：1.014 µg/mL		IX-80
	<p>[試験結果の概要]</p> <p>1) 物質収支 ¹⁴C回収率は92.7～106.4%であった。</p> <p>2) 主要分解物(30日後)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ pH 7.0緩衝液 MCPB-エチル：主要残留物であり、残留率は92.8%ARであった。 MCPB酸：4.0%AR(最大値)が検出された。 ・ pH 9.0緩衝液 MCPB-エチル：<2%AR。 MCPB酸：主要分解物であり、103.0% AR(最大値)が検出された。 <p>3) 半減期 pH 7.0緩衝液：533日 pH 9.0緩衝液：4.5日</p> <p>4) 分解経路</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ MCPBエチルはpH 7.0緩衝液中では緩やかに加水分解し、pH 9.0緩衝液中では急速に分解した。 ・ 主要加水分解物はMCPB酸であり、MCPB エチルのエステルの開裂により形成する。 				
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関 (報告年)	頁
代-8 (GLP)	水中運命	水中光分解	自然水：湖水() 蒸留水：0.05 M pH 4緩衝液 キセノン光：22.8 W/m ² (300～400 nm) 試験温度：25±2°C、11日間 試験濃度：0.968～1.073 µg/mL		IX-87
	<p>[試験結果の概要]</p> <p>1) 物質収支 ¹⁴C回収率は92.2～107.5%であった。</p> <p>2) 主要分解物</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ MCPBエチルは急速に分解し、11日後には検出されなかった。 ・ 主要分解物は であり、自然水では0.33日後に、緩衝液では1日後にそれぞれ最大43.4%ARおよび61.6%ARになったが、11日後には何れも検出されなかった。 ・ CO₂：11日後に、21.4～22.7%AR検出された。 <p>3) 半減期 自然水：0.23日 緩衝液：0.20日</p> <p>4) 春の東京の太陽光換算の半減期 自然水：0.67日 緩衝液：0.59日</p> <p>5) 分解経路</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ MCPB-エチルはフェニル環の脱塩素と水酸化により、 が生成され、その後さらにフェニル環の水酸化により多数の極性物質と¹⁴CO₂が生成する。 				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(代謝分解物一覧表)

	由来	名称	化学名	構造式
A	親化合物	MCPB-エチル	Ethyl 4-(4-chloro- <i>o</i> -tolylloxy) butyrate	
B	動物 植物 土壌 水	MCPB酸	4-(4-chloro- <i>o</i> -tolylloxy) butyric acid	
C	動物 植物 土壌	MCPA	4-Chloro- <i>o</i> -tolylloxyacetic acid	
D	動物 植物 土壌			
E	動物 植物			
F	動物			
G	動物 植物			
H	動物 植物			
I	動物			
J	動物			
K	動物			
L	土壌			
M	光			
N	光			
O	光			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1. 動物中運命に関する試験

ラットにおける体内運命試験

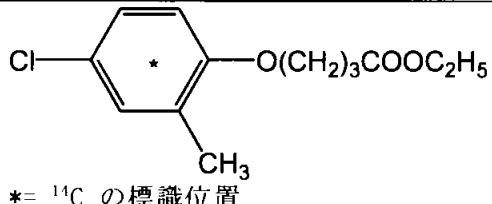
(資料 No. 代-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学名	Ethyl 4-(4-chloro- <i>o</i> -tolylxy) butyrate
化学構造	 <p>* = ¹⁴C の標識位置</p>
標識化合物名	[¹⁴ C]MCPB-エチル
ロット番号	
放射化学的純度	% (提示値)
比放射能	

標識位置の選定理由：

供試動物：雌雄の

系ラット、投与時7~11週齢

試験方法：

投与； [¹⁴C]MCPB-エチル及びMCPB-エチルを で懸濁して投与液を調製した(排泄及び分布試験, 0.390及び25.436 mg MCPBエチル/g；薬物動態試験, 0.421及び25.000 mg MCPBエチル/g)。低用量は4 mg/kg体重、高用量は250 mg/kg体重とし、単回強制経口投与した。

投与用量設定根拠；

試験項目・試験群；表1に示す試験群を設定した。

排泄及び分布試験については、4 mg/kg及び400 mg/kgの用量で実施した予備試験の結果、糞への排泄率が投与量の20%未満であったので、胆汁排泄試験は実施しなかった。また、予備試験の結果、呼気への排泄は認められなかったため、呼気の採取は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表 1 試験設計概要

試験項目	投与用量 (mg/kg)	雌雄 動物数	屠殺時点 (hr)	主たる採取試料	投与時体重(g)	
					雄	雌
薬物動態試験	4	各4	72	血液/血漿	351-377	235-255
	250	各4	120		290-310	247-263
排泄試験	4	各4	72 ^a	尿、糞、 ケージ洗液、 組織、カーカス	320-338	227-253
	250	各4	120 ^a		332-355	219-238
経時的組織分布試験	4	各3	2、24、72		303-358 ^b	214-253 ^b
	250	各3	24、48、120		330-355 ^b	219-238 ^b

^a : 経時的組織分布試験を兼ねる ^b : 排泄試験用動物を含む

薬物動態試験；

ラットに挿入した頸静脈カニューレから血液試料を採取した。4 mg/kg及び250 mg/kgの用量で実施した薬物動態試験の予備試験結果に基づき、以下の時点で血液試料を採取し、血漿及び全血試料中の放射エネルギーを測定した。

投与用量 (mg/kg)	採取時点(hr)									
	4	0.25	0.5	1	2	6	12	24	48	72
250	0.25	0.5	1	2	6	12	24	48	72	96 120

排泄試験；

各用量群の尿及び糞を以下の時点で採取した。

試料	投与用量 (mg/kg)	採取時点(hr)							
		尿	4	6	12	24	48	72	
	250	6	12	24	48	72	96	120	
ケージ 洗液	4	6	12	24	48	72			
	250	6	12	24	48	72	96	120	
糞	4			24	48	72			
	250			24	48	72	96	120	

経時的組織分布試験；

表 1 に示す屠殺時点で、ケージ洗液、血液、下表の組織及びカーカス中の放射エネルギーを定量した。

副腎、骨(大腿骨)、骨髓(大腿骨)、脳、脂肪組織、心臓、胃(内容物を含む)、腸(内容物を含む)、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮、全血、血球及び血漿
--

屠殺時点は、薬物動態パラメーターに基づいて選定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

分析；

全放射能の測定；

液体試料は直接、固体試料(組織試料、糞、消化管、骨及び全血)は燃焼後、LSCで分析した。

薬物動態試験；

全血の一部を遠心分離して血漿と血球に分離し、血漿中の放射能を求め、以下の薬物動態パラメーターをコンピュータープログラムWinNonlinの非コンパートメント解析により算出した。

- ・ 血漿中放射能の最高濃度到達時間(T_{max})
- ・ T_{max} における血漿中放射能濃度(C_{max})
- ・ 血漿中濃度-時間曲線下面積(AUC)
- ・ 消失半減期($t_{1/2}$)

赤血球中の濃度は下式により、求めた。

$$RBC(ppm) = [(全血ppm濃度) \times (1 g) - (血漿ppm濃度) \times (1 - Hct)] / Hct$$

ここで、Hctは血液試料の平均ヘマトクリット値を示す

排泄試料の放射能の分布；

代謝物の単離及び同定；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果：

吸収・排泄：

血中濃度推移；

血漿、全血及び赤血球中の放射能濃度(MCPBエチル換算)を表2及び表3に要約し、
血漿中濃度の推移を図1に示す。また薬物動態パラメーターを表4に要約する。

表2 4 mg/kg群における血漿、全血及び赤血球中の平均放射能濃度(単位：ppm)

時間 (hr)	雄				雌			
	血漿	全血	Hct	赤血球	血漿	全血	Hct	赤血球
0.25	5.83	3.26	0.43	0.00	6.02	3.41	0.41	0.00
0.5	7.95	4.48		0.00	10.37	5.18		0.00
1	9.87	5.76		0.00	11.56	6.49		0.00
2	9.91	5.65		0.00	12.88	6.87		0.00
6	6.20	3.44		0.00	10.05	5.28		0.00
12	1.81	1.02		0.00	4.07	2.33		0.00
24	0.09	0.05		0.00	0.33	0.20		0.00
48	0.02	0.01		0.01	0.04	0.03		0.00
72	0.00	0.01		0.02	0.00	0.01		0.02

表3 250 mg/kg群における血漿、全血及び赤血球中の平均放射能濃度(単位：ppm)

時間 (hr)	雄				雌			
	血漿	全血	Hct	赤血球	血漿	全血	Hct	赤血球
0.25	145.58	89.52	0.42	12.53	152.16	114.01	0.43	62.49
0.5	201.29	140.65		57.38	169.32	131.99		81.59
1	213.60	155.99		76.88	190.03	145.21		84.69
2	203.15	143.49		61.56	199.30	164.03		116.40
6	227.28	176.24		106.14	214.83	175.01		121.25
12	228.99	179.70		112.02	227.68	196.34		154.03
24	251.61	227.79		195.07	229.01	191.91		141.82
48	102.32	71.02		28.05	42.22	31.17		16.24
72	22.32	8.91		0.00	2.33	1.79		1.06
96	1.66	2.96		4.73	1.02	1.10		1.20
120	1.13	1.35	1.66	0.84	0.86	0.89		

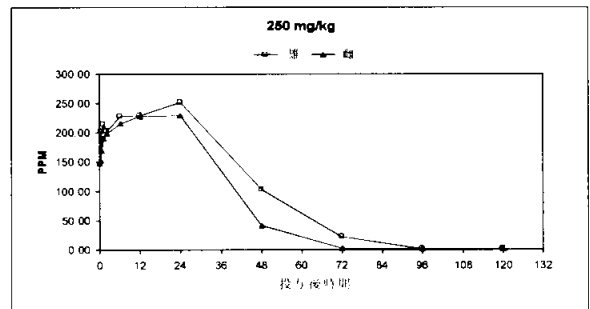
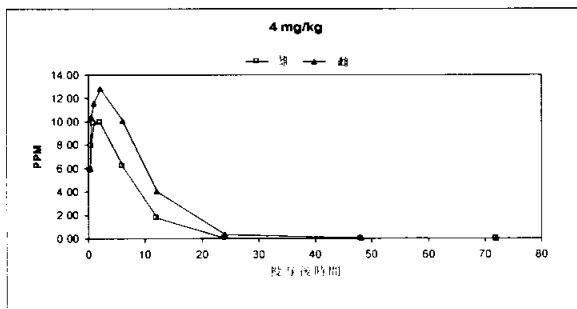


図1 血漿中放射能濃度の推移

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表4 薬物動態パラメーター

投与量(mg/kg)	4		250	
	雄	雌	雄	雌
T _{max} (時間)	1.8	2.0	22.5	13.5
C _{max} (ppm)	10.29	12.89	271.29	255.75
AUC _{0-∞} (ppm/時間)	85.68	139.67	11569.60	9105.38
半減期(時間)	4.1	4.9	11.9	11.3

MCPBエチル換算の最高血漿中濃度(C_{max})は、4 mg/kg群では10.29~12.89 ppm、250 mg/kg群では255.75~271.29 ppmであった。C_{max}に達する時間(T_{max})は4 mg/kg群では1.8~2時間後、250 mg/kg群では13.5~22.5時間後であった。消失半減期(t_{1/2})は、4 mg/kg群で4.1~4.9時間、250 mg/kg群で11.3~11.9時間であった。薬物動態パラメーターにおいて、明確な性差は認められなかった。

血漿中C_{max}及びAUC値の比較により、2用量による相対的な全身暴露では用量依存性が認められた。

排泄；

1) 投与放射能の回収率

最終屠殺時点における尿、ケージ洗液、糞、組織及びカーカス中の放射能の回収率を表5に要約する。

表5 排泄試験における投与量に対する回収率 (%)

投与量(mg/kg)	4		250	
	雄	雌	雄	雌
尿	87.08	85.53	82.23	79.43
ケージ洗液	10.49	8.97	9.12	11.65
糞	4.48	3.66	7.19	6.26
カーカス	0.93	0.68	1.79	1.93
組織	0.25	0.28	0.25	0.38
総回収率	103.23	99.13	100.58	99.66

投与放射能の総回収率は、全群で>99%であった。放射能の排泄は両群の雌雄でほぼ類似しており、投与量の大部分が尿(79.43~87.08% TAR)及びケージ洗液(8.97~11.65% TAR)に排泄され、糞(3.66~7.19% TAR)中への排泄は少量であった。従って両群における主要排泄経路は尿であった。

また組織中には、4 mg/kg群で0.25~0.28% TAR、250 mg/kg群で0.25~0.38% TARが認められた。カーカス中の放射能は、4 mg/kg群では0.68~0.93% TAR及び250 mg/kg群では1.79~1.93% TARであった。

組織中の残留量において性差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) 累積放射能排泄率

各採取時点における糞、尿及びケージ洗液の累積放射能排泄率を表6及び表7に要約する。

表6 4 mg/kg群の尿、糞及びケージ洗液への累積排泄量(単位：%TAR)

時間 (hr)	雄				雌			
	尿	糞	ケージ 洗液	計	尿	糞	ケージ 洗液	計
6	35.52	NS	4.37	39.90	20.64	NS	4.00	24.64
12	76.58	NS	9.43	86.01	70.26	NS	7.09	77.35
24	85.07	3.18	10.25	98.49	81.92	0.97	8.33	91.21
48	86.76	4.36	10.41	101.53	85.13	3.43	8.64	97.20
72	87.08	4.48	10.49	102.04	85.53	3.66	8.97	98.17

NS：試料なし。糞は24時間後から採取を開始した。

表7 250 mg/kg群の尿、糞及びケージ洗液への累積排泄量(単位：%TAR)

時間 (hr)	雄				雌			
	尿	糞	ケージ 洗液	計	尿	糞	ケージ 洗液	計
6	6.00	NS	1.41	7.40	5.83	NS	2.50	8.33
12	14.18	NS	2.58	16.75	16.65	NS	3.45	20.10
24	33.13	1.13	5.06	39.33	39.59	2.37	7.22	49.18
48	65.43	3.85	8.21	77.49	70.83	4.83	10.97	86.62
72	81.13	6.97	8.94	97.04	78.49	6.11	11.44	96.03
96	81.90	7.15	9.05	98.10	79.11	6.22	11.53	96.85
120	82.23	7.19	9.12	98.54	79.43	6.26	11.65	97.35

NS：試料なし。糞は24時間後から採取を開始した。

4 mg/kg群では、投与量の97%以上が48時間後までに排泄された。250 mg/kg群では、投与量の96%以上が72時間後までに排泄された。

組織中放射能の分布；

各採取時点における組織中放射能の分布を表8及び表9に示す。

4 mg/kg群では、組織中濃度は投与2時間後で全組織において最高となり、その後全組織で経時的に減少した。72時間後においてカーカスを除く組織中に合計約0.3%TARが残留し、主に肝臓(雄で0.144 ppm、0.16%TAR及び雌で0.160 ppm、0.17%TAR)、脂肪組織(雄で0.114 ppm、0.01%TAR及び雌で0.071 ppm、0.01%TAR)及び腎臓(雄で0.065 ppm、0.01%TAR及び雌で0.104 ppm、0.02%TAR)で認められ、その他の組織では0.06 ppm未満であった(濃度(ppm)はいずれもMCPBエチル換算)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

250 mg/kg群において、組織中の最高濃度は、雄の副腎及び脂肪組織を除く全組織で投与24時間後に、雄の副腎及び脂肪組織では48時間後にみられた。その後組織中濃度は、全組織で経時的に減少した。120時間後においてカーカスを除く組織中に約0.3～0.4% TARが残留し、主に脂肪組織(雄でMCPBエチルとして9.351 ppm相当、0.01% TAR及び雌で36.701 ppm相当、0.08% TAR)で認められた。雌では、副腎、卵巣、膵臓及び子宮の残留濃度がMCPBエチル換算で9.483～17.286 ppm相当(0.00～0.02% TAR)であった。その他の組織は9 ppm未満であった。

何れの群でも組織中濃度において性差は認められなかった。

表 8 組織中平均残留レベル(単位: ppm MCPBエチル換算)

臓器・組織	4 mg/kg投与量						250 mg/kg投与量					
	雄			雌			雄			雌		
	採取時点(hr)						採取時点(hr)					
	2	24	72	2	24	72	24	48	120	24	48	120
副腎	1.821	0.273	0.058	2.299	0.087	0.027	65.695	102.056	8.821	117.687	58.965	17.286
全血	6.501	0.091	0.000	7.163	0.166	0.000	145.437	56.375	0.945	155.909	124.281	0.985
骨	0.814	0.022	0.010	0.873	0.030	0.007	25.758	13.393	1.718	25.152	20.876	1.270
骨髄	1.256	0.009	0.004	1.698	0.027	0.000	61.083	24.103	1.131	56.661	39.962	1.995
脳	0.311	0.002	0.000	0.423	0.007	0.000	9.051	2.060	0.000	8.465	5.304	0.000
脂肪組織	1.621	0.411	0.114	1.790	0.123	0.071	35.493	83.566	9.351	100.573	72.611	36.701
心臓	3.037	0.043	0.002	3.947	0.073	0.005	81.133	29.341	0.557	78.735	60.504	0.600
胃	59.572	0.062	0.018	102.917	0.126	0.027	2752.117	36.082	1.646	3607.132	46.146	1.498
腸	3.924	0.390	0.022	3.650	0.531	0.024	273.863	92.946	1.947	224.702	162.626	3.431
腎臓	14.060	0.328	0.065	11.806	0.578	0.104	154.857	95.663	3.153	152.801	131.113	3.318
肝臓	8.096	0.371	0.144	7.093	0.424	0.160	133.757	57.007	8.936	125.448	86.648	5.617
肺	3.809	0.099	0.010	4.917	0.098	0.012	101.694	49.892	1.515	116.104	86.952	1.582
筋肉	0.890	0.035	0.007	0.957	0.021	0.005	23.017	11.541	1.270	22.792	16.606	2.265
卵巣	NA	NA	NA	3.383	0.078	0.028	NA	NA	NA	83.355	58.780	13.872
血球	1.011	0.019	0.000	1.214	0.026	0.000	74.883	18.442	1.049	73.573	56.872	0.975
膵臓	1.330	0.142	0.032	2.117	0.078	0.036	40.401	35.160	3.012	44.599	29.506	9.483
下垂体	2.158	0.000	0.000	3.035	0.030	0.000	51.587	19.784	0.416	60.697	57.808	0.000
血漿	12.377	0.161	0.000	15.282	0.290	0.014	238.410	96.701	0.000	247.202	185.948	0.529
前立腺	1.990	0.156	0.016	NA	NA	NA	28.466	21.879	3.082	NA	NA	NA
脾臓	0.981	0.020	0.004	1.192	0.028	0.000	38.381	15.630	0.620	35.096	27.743	1.312
精巣	1.195	0.026	0.004	NA	NA	NA	39.291	16.329	0.836	NA	NA	NA
胸腺	1.193	0.065	0.013	1.217	0.038	0.007	33.781	31.247	1.771	38.961	26.008	1.676
甲状腺	2.144	0.059	0.000	2.386	0.050	0.000	45.687	28.020	1.281	58.467	42.793	1.568
子宮	NA	NA	NA	3.384	0.077	0.022	NA	NA	NA	78.878	60.274	12.598
カーカス	1.412	0.121	0.044	1.532	0.100	0.032	40.395	26.241	5.877	42.641	32.325	6.298

NA: 適用なし

胃及び腸については内容物を含む

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表9 組織中平均残留レベル(単位：%TAR)

臓器・組織	4 mg/kg投与量						250 mg/kg投与量					
	雄			雌			雄			雌		
	採取時点(hr)						採取時点(hr)					
	2	24	72	2	24	72	24	48	120	24	48	120
副腎	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.02	0.01	0.00
骨	0.06	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00	0.04	0.03	0.00
骨髓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脳	0.04	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00
脂肪組織	0.15	0.04	0.01	0.21	0.02	0.01	0.05	0.10	0.01	0.15	0.12	0.08
心臓	0.21	0.00	0.00	0.33	0.01	0.00	0.10	0.04	0.00	0.13	0.09	0.00
胃	22.63	0.03	0.01	19.80	0.05	0.01	24.44	0.31	0.01	40.55	0.24	0.01
腸	5.90	0.73	0.05	6.26	0.92	0.06	7.91	2.43	0.06	7.94	4.21	0.13
腎臓	2.14	0.05	0.01	1.85	0.09	0.02	0.47	0.29	0.01	0.54	0.43	0.01
肝臓	6.46	0.34	0.16	5.52	0.33	0.17	1.76	0.77	0.14	1.94	1.17	0.10
肺	0.35	0.01	0.00	0.60	0.01	0.00	0.19	0.09	0.00	0.31	0.24	0.00
筋肉	0.15	0.01	0.00	0.26	0.01	0.00	0.08	0.04	0.00	0.12	0.08	0.01
卵巣	NA	NA	NA	0.05	0.00	0.00	NA	NA	NA	0.05	0.02	0.01
膵臓	0.06	0.01	0.00	0.12	0.00	0.00	0.02	0.03	0.00	0.04	0.02	0.01
下垂体	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
前立腺	0.06	0.00	0.00	NA	NA	NA	0.01	0.01	0.00	NA	NA	NA
脾臓	0.04	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.03	0.01	0.00	0.03	0.02	0.00
精巣	0.22	0.01	0.00	NA	NA	NA	0.14	0.06	0.00	NA	NA	NA
胸腺	0.03	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00	0.02	0.02	0.00
甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
子宮	NA	NA	NA	0.22	0.00	0.00	NA	NA	NA	0.06	0.06	0.02
カーカス	20.68	1.92	0.93	24.32	1.50	0.68	11.35	7.62	1.79	13.51	10.14	1.93
総計	59.21	3.17	1.19	59.84	2.93	0.96	46.64	11.83	2.04	65.47	16.92	2.32

NA：適用なし

胃及び腸については内容物を含む

吸収率：

[¹⁴C]MCPBエチルの吸収率を排泄試験の尿及び組織分布試験における胃を除く組織中の残留量から計算した(申請者実施)。結果を表10に示す。

表10 吸収率

投与量(mg/kg)	4		250	
	雄	雌	雄	雌
吸収率(%TAR)	88.26	86.48	84.26	81.74

[¹⁴C]MCPBエチルの投与量の約82%以上が体内に吸収された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

代謝：尿、糞及びケージ洗液のプール試料をHPLC分析し、代謝物の同定及び/又は特徴付けを行った結果を表11に示す。

表11 尿、ケージ洗液及び糞における放射能¹の分布(単位：%TAR)

試料	尿				ケージ洗液				糞			
	4 mg/kg		250 mg/kg		4 mg/kg		250 mg/kg		4 mg/kg		250 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
プール試料 ²	85.07	81.92	81.13	78.49	9.43	7.09	8.21	10.97	4.36	3.43	6.97	6.11
同定(合計)	70.33	68.98	67.06	65.26	5.83	3.86	5.56	8.03	1.02	0.76	4.24	2.89
HPLC保持時間37.47分のピーク (MCPA[C])	35.73	34.22	33.20	33.74	4.18	2.38	2.63	4.36	0.37	0.31	1.82	0.81
HPLC保持時間36.82分のピーク (Hydroxy-MCPB[H])	10.32	10.17	8.01	14.34	1.12	1.05	1.16	2.49	0.45	0.30	1.05	1.33
HPLC保持時間25.22分のピーク	15.75	16.36	ND ³	ND ³	0.02	ND ³	ND ³	ND ³	ND ³	ND ³	ND ³	ND ³
HPLC保持時間24.67分のピーク	2.71	3.01	17.13	8.38	0.51	0.42	1.67	1.11	0.19	0.15	1.37	0.76
HPLC保持時間34.32分のピーク	5.81	5.22	1.60	0.97	ND ³	ND ³	0.10	0.08	ND ³	0.01	ND ³	ND ³
HPLC保持時間27～30分のフラクション(主要成分、)	—	—	7.13	7.84	—	—	ND ³	ND ³	—	—	—	—
未同定(合計)	14.73	12.94	14.06	13.23	3.60	3.23	2.66	2.93	2.81	2.19	2.01	2.47
総計 ⁴	85.07	81.92	81.13	78.49	9.43	7.09	8.21	10.98	3.83	2.95	6.25	5.37

¹：各時点/性/投与群ごとにプールした各試料の値の合計

²：プール試料：各時点の個別動物の試料を一定の割合(%)で分取し、混合したもの

³：ND = 検出せず(検出限界以下)。合計算出には0として計算

⁴：総計 = 同定(合計) + 未同定(合計)

—：個別データはなく、未同定画分に含まれる

保持時間：HPLCの保持時間(分)

代謝物の同定及び/又は特徴付け；

- ・ 保持時間37.47分のピーク

参照標準品とのHPLC保持時間の一致およびLC-MSにおけるフラグメントパターンの一致から、MCPAと同定した。

- ・ 保持時間36.82分のピーク

分子量がMCPB酸より16マス多く、LC-MSにより水酸基の存在を、LC-MS-MSによりベンゼン環やメチル基の未変化を確認したため、MCPB-エチルまたはMCPB酸の過程で生じた と推定した。

- ・ 保持時間34.32分のピーク

尿のHPLC試料を冷蔵保存後、再分析したところ、保持時間34分付近のピークが消失し、代わりに保持時間29分付近にピークが出現した。このピーク画分を単離し、LC-MS-MSで分析したところ、分子量から の存在が示唆され、MCPAの と推定された。このことから、MCPAが動物体内で により、 (29分付近のピーク)を経て、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(34分付近のピーク)へ代謝され、排泄されたものと推定した。なお、
は確認できたが、 は捕捉していないため、
経路の一部である のみ、推定代謝経路に含めた。

・保持時間27～30分の画分

分子量がMCPB酸より16マス多く、LC-MS-MS分析により、 の存在および
の水酸化を確認したため、 と推定した。

・保持時間25.22分のピーク

LC-MS分析により、 の の分子量と一致したため、 に
よる加水分解処理を行なったところ、生成物と 参照標準品の保持時間が一致
したことから、 の と推定した。

・保持時間24.67分のピーク

LC-MS分析により、2成分の混在を認めた。

一方は、分子量がMCPAより16マス多く、LC-MS-MS分析により、 の
を確認したため、 と推定した。

もう一方は、分子量がMCPB酸より32マス多く、LC-MS-MS分析により、側鎖および
の一つずつ の存在を確認したため、 と推定した。

代謝物の分布

1)尿中代謝物

4 mg/kg群の雌雄ラットの主要代謝物はMCPAであり、34% TAR以上であった。10%
TAR以上認められた代謝物は、 及び の であった。その他に、
、 及びMCPAの 同定さ
れた(2.71 [+]～5.81 [MCPAの
] %TA)。代謝物プロファイルに、性差は認められなかった。

250 mg/kg群の雌雄ラットの主要代謝物はMCPAであり、33% TAR以上であった。その
他の顕著な代謝物として 、 、 及び
が検出された。MCPAの 、 0.97～
1.60% ADが認められた。4 mg/kg群で認められた代謝物と比較すると、 の
が検出されず、新たに が認められた。この相違は、4 mg/kg群
ではMCPBエチルの代謝がより広範囲であることを示唆した。

2)ケージ洗液中代謝物

ケージ洗液中には尿中の主要代謝物が認められた。従って、ケージ洗液中の放射能
は、尿由来のものであった。

3)糞中代謝物

両投与群の雌雄ラットの糞中には、尿中代謝物のうちMCPA、
、
及び の4代謝物が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

代謝経路：

MCPBエチルは排泄物中に検出されず、完全に代謝されていた。

主要代謝物はMCPAであった。他の主要代謝物は の硫酸抱合体(4 mg/kg群のみ)、
(250 mg/kg群のみ)、

MCPAの 及び であった。これらの代謝物は、
脱エステル化、側鎖及びメチル基の酸化、側鎖の酸化的開裂、エーテル開裂及びグルタチオン経路による抱合及び硫酸抱合を含むいくつかの代謝反応から生成された。
推定代謝経路を図2に示す。

図2 ラットにおけるMCPB-エチルの推定代謝経路