

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

2. 土壌残留性試験

(1) 分析法の原理と操作概要

試料をアセトンで抽出し、アセトン留去後、多孔性ケイソウ土カラムで抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、ガスクロマトグラフ (FPD-P) で定量する。

(2) 分析対象化合物

① アセフェート

化学名 ; O,S-ジメチル-N-アセチルホスホアミドチオエト

分子式 ; $C_4H_{10}NO_3PS$

分子量 ; 183.17

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

(3) 残留試験結果

① 圃場試験

推定半減期

アセフェート	火山灰軽埴土(日植防研 牛久)	1.9日
	沖積埴壤土(日植防研 高知)	1.0日

供試薬剤：アセフェート5%粒剤(MBI-951 5G)

分析機関：株式会社 エスコ

試料調製 及び 採取場所	供試薬剤 の量 (/10a)	使 用 回 数	経 過 日 数	分 析 値 (ppm)		
				アセフェート		
				最高値	回数	平均値
日 植 防 (牛 久) 火山灰 軽埴土	10kg	—	—	<0.01	2	<0.01
		2	0	20.7	2	19.6
		2	1	5.22	2	5.06
		2	3	3.37	2	3.34
		2	5	3.25	2	3.01
		2	7	2.52	2	2.48
		2	14	0.06	2	0.06
		2	30	<0.01	2	<0.01
日 植 防 (高 知) 沖 積 埴 壤 土	10kg	—	—	<0.01	2	<0.01
		2	0	5.62	2	5.30
		2	1	3.60	2	3.36
		2	3	0.68	2	0.66
		2	5	0.24	2	0.21
		2	7	0.05	2	0.05
		2	14	<0.01	2	<0.01
		2	30	<0.01	2	<0.01

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

② 容器内試験

推定半減期

アセフェート	火山灰軽埴土(日植防研 牛久)	3.9日
	沖積埴壤土(日植防研 高知)	5.6日

供試薬剤:アセフェート標準品

試験実施温度:25~27℃

分析機関:株式会社 エスコ

試料調製 及び 採取場所	供試薬剤 の量 (/10a)	使 用 回 数	経 過 日 数	分 析 値 (ppm)		
				アセフェート		
				最高値	回数	平均値
日 植 防 (牛 久) 火 山 灰 軽 埴 土	5ppm (100µg /20g)	-	—	<0.01	2	<0.01
		1	0	3.90	2	3.80
		1	1	3.25	2	3.14
		1	3	2.13	2	2.11
		1	5	1.69	2	1.68
		1	7	1.30	2	1.22
		1	10	0.68	2	0.66
		1	15	0.21	2	0.20
		1	30	0.02	2	0.02
日 植 防 (高 知) 沖 積 埴 壤 土	5ppm (100µg /20g)	-	—	<0.01	2	<0.01
		1	0	4.36	2	4.31
		1	1	3.24	2	3.23
		1	3	2.32	2	2.30
		1	5	1.81	2	1.80
		1	7	1.44	2	1.42
		1	10	0.96	2	0.92
		1	15	0.46	2	0.40
		1	30	0.12	2	0.10

本頁に記載された原体の情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation に、製剤の情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全農にある。

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に及ぼす影響

No	試験の種類 ・検体	供試生物	1群当りの 供試数	試験 方法	試験水温 (℃)	LC50又はEC50値(mg/L) [()内は有効成分換算値]				試験機関 (報告年)	抄録頁
						24h	48h	72h	96h		
1	魚類急性毒性 原体	コイ	10	止水	23.2-24.0	>100 (>98.22)	>100 (>98.22)	>100 (>98.22)	>100 (>98.22)	(株)エスコ (1998年)	111
2	ミシノ類 急性遊泳阻害 原体	オオミシノコ	20	止水	20.6-21.0	>100 (>98.22)	>100 (>98.22)				112
3	藻類生長阻害 原体	<i>P.subcapitata</i> 注旧学名: <i>S.capricornutum</i> ATCC 22662	初期濃度 0.80~1.03 ×10 ⁴ cells/ml	振とう 培養法	24.4-24.8	ErC ₅₀ (0~72) : >100 (98.5) NOECr (0~72) : 100 (98.5)				(株)エスコ (2000年)	113
4	魚類急性毒性 水溶剤 (50%)	コイ	10	止水	23.7-24.5		>1000	>1000	>1000	(株)エスコ (1998年)	114
5 GLP	ミシノ類 急性遊泳阻害 水溶剤(50%)	オオミシノコ	20	止水	20.4-20.8		860	81		Safepharma (2004)	115
6	藻類生長阻害 水溶剤(50%)	<i>P.subcapitata</i> 注旧学名: <i>S.capricornutum</i> ATCC 22662	初期濃度 0.75~1.00 ×10 ⁴ cells/ml	振とう 培養法	23.5-23.9	ErC ₅₀ (0~72) : >1000 NOECr (0~72) : 1000				(株)エスコ (2000年)	116
7 GLP	魚類急性毒性 粒剤 (5%)	コイ	14	半止水	19.8-20.8	>1000	>1000	>1000	>1000	Safepharma (2005)	117
8 GLP	ミシノ類 急性遊泳阻害 粒剤(5%)	オオミシノコ	40	止水	20.6-20.8	>1000	>1000			Safepharma (2005)	118
9 GLP	藻類生長阻害 粒剤(5%)	<i>P. subcapitata</i> CCAP278/4	初期濃度 1.11 ×10 ⁴ cells/ml	振とう 培養法	24.0-25.0	ErC ₅₀ (0~72) : >1000 NOECr (0~72) : 1000				Safepharma (2005)	119

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporationにある。

1. 原体

1) 魚類急性毒性試験

コイを用いた急性毒性

(資料 水生 1)

試験実施機関:(株) エスコ (日本)

報告書作成年:1998年

被験物質 : アセフェート原体

供試生物 : コイ (*Cyprinus carpio*)

一群 10 匹、平均体長: 5.1±0.2 cm、平均体重: 1.5±0.2g

方 法 : 暴露期間: 96時間、暴露方法: 止水式、試験水量: 50L、照明: 16時間/日

方法は昭和40年11月25日付農政B第2735号に準じて実施した。

コイを入手後約24°Cで約1ヶ月馴化後試験に供試した。各濃度区当りの被験物質を精秤し、ビーカーに移した後、水槽の水を加え、水槽に少量ずつ添加攪拌して試験液を調製した。ガラス製箱型水槽(58×28×35cm)に50Lを入れコイを放した。

生死の判定は鰓蓋の運動が停止し、ガラス棒で刺激しても反応しない状態を死亡とした。

試験水温: 23.2~24.0°C

結 果 : 3、6、24、48、72及び96時間後に一般状態の変化及び死亡の有無を観察した。

死亡例及び一般状態の変化はいずれの濃度区のもいずれの観察時点においても認められなかった。

試験水中の被験物質濃度は測定していないが、被験物質の水溶解度は高く(727g/L)、また試験水のpHは試験期間中6.9~7.4であったことから、加水分解及び水中光分解は殆どない(pH7における加水分解の半減期は560日、自然水中における光分解の半減期は20日)と考えられる。従って96時間の試験期間中の被験物質濃度は、設定濃度を維持していたと考えられる。

以上の結果から、本試験条件下における検体のコイに対する半数致死濃度(LC₅₀)は、96時間まで100mg/L以上、最大無影響濃度は100mg/Lであった。

試験濃度 (mg/L)	0、6.3、12.5、25、50、100	
LC ₅₀ (mg/L)	24 時間	>100 (>98.22)
	48 時間	>100 (>98.22)
	72 時間	>100 (>98.22)
	96 時間	>100 (>98.22)
NOEC (mg/L)	100 (98.22)	
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L)	100 (98.22)	

()内の数字は有効成分換算

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporationにある。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 水生 2)

試験実施機関:(株) エスコ (日本)

報告書作成年:1998年

被験物質 :アセフェート原体

供試生物 :オオミジンコ (*Daphnia magna*) 1群 各 20頭 (生後 24時間以内の個体)

方法 : 暴露期間; 48時間、暴露方法; 止水式、試験水量; 100mL、2連制、照明; 14時間/日
方法は農林水産省農産園芸局植物防疫課長通知、「農薬のミジンコ類急性遊泳阻害試験法(案) (平成 10年 1月 9日)に準じて実施した。被験物質を供試水(活性炭により脱塩素した水道水を 20°Cで 1日インキュベータ内に保持した水)に溶解して、100mg/Lの原液を調製し、さらに供試水を用いて希釈し、試験濃度として 6.25、12.5、25、50及び 100mg/Lを調製した。
基準物質としてペンタクロロフェノール ナトリウム塩(80%)を用いた。10匹のミジンコを 100mLの試験液が入ったビーカーに入れ、各濃度につき 2 反復とした。1、3、6、24 及び 48 時間後に一般状態及び死亡を観察した。遊泳阻害の判定は、容器を軽く揺すったのち 15 秒間全く遊泳しない個体を遊泳阻害とした。触角や胸肢などに観察可能な運動が全く認められない個体を死亡個体と判定した。

試験水温 : 20.6~21.0°C

結果 : いずれの濃度区でも死亡例は認められなかった。遊泳阻害個体は 100mg/L 群の 48 時間後に 3 個体認められた。これらの個体は触角は動かすが、容器の底に横臥して遊泳出来なかった個体であった。検体の遊泳阻害に対する EC₅₀ 値を下記に示した。その他の一般状態の変化として 24 時間後の 100mg/L 群で過敏な遊泳、48 時間後の 50mg/L 群で過敏な遊泳、100mg/L 群で横臥個体、過敏な遊泳及び自発運動の低下が認められた。
試験液中の検体の濃度は試験液調製時で 84.2~92.6%、試験終了時で 91.3~97.0%であったこのことから結果の記載には設定濃度を用いた。

試験濃度 (mg/L)	0、6.25、12.5、25、50、100	
EC ₅₀ (mg/L)	24 時間	>100 (>98.22)
	48 時間	>100 (>98.22)
NOEC (mg/L)	24 時間	50 (49.11)
	48 時間	25 (24.56)
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L)		100 (98.22)

()内の数字は有効成分換算

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporationにある。

3) 藻類生長阻害試験

(資料 水生 3)

試験実施機関:(株) エスコ (日本)

報告書作成年:2000年

被験物質 :アセフェート原体

供試生物 :藻類(学名:*Pseudokirchneriella subcapitata*、旧学名:*Selenastrum capricornutum*)、
ATCC22662株

初期濃度:0.80~1.03 × 10⁴ cells/mL

方法 : 振とう培養法(100rpm)、暴露期間; 72時間、試験水量; 100mL、照明; 4000Lux (連続照明)、pH;
無調整、3連制

濃度は100mg/Lを最高濃度とし、以下公比2で50及び25mg/Lの3濃度を設定した。一定量の被験物質をOECD培地に溶解し試験原液とした。この試験原液を所定濃度となるように試験培地に溶解した。

基準物質としてペンタクロロフェノールナトリウム塩を用いた。

暴露開始後24、48及び72時間に各濃度群の細胞濃度を粒子計数装置を用いて測定した。

試験水中の被験物質濃度は、暴露開始時と暴露終了時に各試験群の中層から一部を採取しHPLCで分析した。

培養温度 : 24.4~24.8°C

結果 :

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0、25、50、100
	実測濃度 (平均値*)	0、22.6、45.6、91.5
ErC ₅₀ (mg/L) (設定濃度)		0~72h : >100 (>98.5)**
NOECr(mg/L) (設定濃度)		100 (98.5)**

* : 試験開始前及び 72 時間後の平均値

** : ()内の数字は有効成分換算

暴露開始時及び暴露終了時とも試験培地中の被験物質の濃度は設定濃度の 80%以上であった。

無処理対照区における細胞濃度は、72 時間の培養期間中に開始時の約 80 倍に達した。

被験物質の各濃度群においてもほぼ同等で約 7×10⁵cell/mLであった。

いずれの検査時点においても顕著な生長阻害は認められなかった。

一方基準物質の生長阻害濃度は 0.38mg/Lであった。これは同実施機関で通常本基準物質が示す範囲内(0.31~0.39mg/L)であった。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

2. アセフェート水溶剤

1) 魚類急性毒性試験

コイを用いた急性毒性

(資料 水生4)

試験実施機関:(株) エスコ (日本)

報告書作成年:1998年

被験物質 : アセフェート50%水溶剤 (50.0%)

供試生物 : コイ (*Cyprinus carpio*) 一群 10 匹、平均体長 ; 5.5±0.4 cm、平均体重 ; 1.7±0.4g

方 法 : 暴露期間; 96時間、暴露方法: 止水式、試験水量; 50L、照明; 16時間/日

方法は昭和40年11月25日付農政B第2735号に準じて実施した。コイを入手後約24℃で約1ヶ月馴化後試験に供試した。各濃度区当りの被験物質を精秤し、供試水(活性炭により脱塩素した水道水)に溶解し、水槽に少量ずつ添加攪拌して試験液を調製した。ガラス製箱型水槽(58×28×35cm)に試験液50Lを入れコイを放した。

濃度は予備試験の結果に基づき、上限を1000mg/Lの濃度として以下公比1.5で316mg/Lまでの5濃度で実施した。生死の判定は鰓蓋の運動が停止し、ガラス棒で刺激しても反応しない状態を死亡とした。半数致死濃度は、死亡率に基づきダートロフの方法により求めた。

試験水温 : 23.7~24.5℃

結 果 : 3、6、24、48、72及び96時間後に一般状態の変化及び死亡の有無を観察した。

死亡例は認められなかった。一般状態の変化としては、24時間後の観察時点で呼吸数の増加、行動の不活発、鼻上げであった。この症状は72時間後には低濃度区にも認められた。

試験濃度 (mg/L)	0、316、422、563、750、1000	
LC ₅₀ (mg/L)	24 時間	>1000
	48 時間	>1000
	72 時間	>1000
	96 時間	>1000
NOEC (mg/L)	<316	
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L)	1000	

以上の結果から、本試験条件下における被験物質のコイに対する 96 時間後の半数致死濃度(LC₅₀)は、1000mg/L 以上であった。また、一般状態の変化により NOEC は 316mg/L 以下と判断された。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 水生 5)

試験実施機関: Safepharm Laboratories Limt.(英国) (GLP対応)

報告書作成年: 2004年

被験物質 : アセフェート50%水溶剤 (50.0%)

供試生物 : オオミジンコ (*Daphnia magna*) 1群 各 20 頭 (生後 24 時間以内の個体)

方法 : 暴露期間; 48 時間、暴露方法; 止水式、試験水量; 200mL、照明; 16 時間/日

脱イオン水を用いて硬度 250mg/L(CaCO₃)の水を調製し、試験水として用いた。被験物質の一定量 (1000mg)をこの試験水に溶解し、1000mg/L 溶液を調製してさらに試験水を用いて希釈し、各用量の試験溶液を調製した。

200mLの各用量の試験溶液を入れた 250mL 容器に 10 匹のオオミジンコを入れ 20℃の温度制御室に置いた。容器には蒸発を避けるため覆いをした。暴露期間中は給餌をせず、通気もしなかった。各用量につき 2 反復とした。

無処理対照群は被験物質を投入しなかった以外は被験物質暴露群と同様にした。

基準物質群として 0.32、0.56、1.0、1.8 及び 3.2mg/L の濃度の重クロム酸カリウムを用いて同様に処理した。

暴露開始 3、24 及び 48 時間後に遊泳阻害及び毒性的な影響について観察、記録した。

溶液を静かに攪拌後約 15 秒間ミジンコが泳ぐことができなくなった場合に遊泳阻害があったと判断した。

予備試験の結果に基づき、本試験を 10、18、32、56、100、180、320、560 及び 1000mg/L の用量で実施した。

試験水温 : 20.4~20.8℃

結果 : 24 及び 48 時間後の EC₅₀ 値はプロビット法により求めた。

各時間における EC₅₀ 値は以下の表の通りであった。

一方基準物質の 48 時間後の EC₅₀ 値は 1.0mg/L で、95%信頼限界は 0.91-1.2mg/mL であった。

また 48 時間後の無影響濃度は 0.56mg/L であった。

試験濃度 (mg/L)	0、10、18、32、56、100、180、320、560、1000	
EC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24 時間	>860 [720~1100]
	48 時間	>81 [69~96]
NOEC (mg/L)	24 時間	320
	48 時間	32
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L)	32	

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

3) 藻類生長阻害試験

(資料 水生6)

試験実施機関:(株) エスコ (日本)

報告書作成年:2000年

被験物質 : アセフェート水溶剤 (50.0%)

供試生物 : 藻類 (学名:*Pseudokirchneriella subcapitata* 旧学名:*Selenastrum capricornutum*),

ATCC22662株

初期濃度 $0.75 \sim 1.00 \times 10^4$ cells/mL

方法 : 振とう培養法(60rpm)、暴露期間; 72時間、試験水量; 100mL、照明; 4000Lux (連続照明)、pH ; 無調整、3連制

予備試験の結果に基づき本試験の濃度は1000mg/Lを最高濃度とし、以下公比2で500及び250mg/Lの3用量を設定した。一定量の被験物質をOECD培地に溶解し試験原液とした。この試験原液を所定濃度となるように試験培地に溶解した。

基準物質としてペンタクロロフェノールナトリウム塩を用いた。

暴露開始後24、48及び72時間に各濃度群の細胞濃度を粒子計数装置を用いて測定した。

培養温度 : 23.5~23.9°C

結果 : 無処理対照区における細胞濃度は、72時間の培養期間中に開始時の100倍に達した。

被験物質の各濃度群においてもほぼ同等で約 9×10^5 cell/mLであった。いずれの検査時点においても顕著な生長阻害は認められなかったことから被験物質の *Selenastrum capricornutum* に対する半数生長阻害濃度(EC_{50})は1000 mg/L以上と判断された。

一方基準物質の生長阻害濃度は0.38mg/Lであった。これは同実施機関で通常本基準物質が示す範囲内(0.31~0.39mg/L)であった。

試験濃度(mg/L)	0、250、500、1000
ErC_{50} (mg/L) (0~72時間)	>1000
NOEC(mg/L)	1000

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

3. アセフェート粒剤

コイを用いた急性毒性

(資料 水生7)

試験実施機関: Safepharma Laboratories Limt. (GLP対応)

報告書作成年: 2005年

被験物質 : アセフェート5% 粒剤 (5.0%)

供試生物 : コイ (*Cyprinus carpio*) 濃度区は一群14匹、対照区は一群7匹
平均体長 ; 4.8±0.2 cm(終了時)、平均体重 : 2.39±0.3g (終了時)

方法 : 暴露期間; 96時間、暴露方法; 半止水式、試験水量; 20L/7匹、照明; 16時間/日
活性炭を通して脱塩素し、CaCO₃換算で100mg/Lになるように調製した水を試験水として用いた。
被験物質の一定量(20.0g)を試験水に分散させ、1000mg/Lの濃度になるように調製した。
20L容器に各濃度の試験溶液を入れコイを7匹ずつ入れ、20.9℃下で96時間暴露した。試験は2
反復で実施した。
暴露3、6、24、48及び96時間後に死亡数及び致死状態のコイを肉眼観察した。
用量は10、100及び1000mg/Lの濃度で実施した予備試験の結果致死的な状態がどの濃度群にお
いても観察されなかったことから、本試験は1000mg/Lの1濃度で実施した。
基準物質として0.10、0.18、0.32、0.56及び1.0mg/Lの濃度のペンタクロロフェノールナトリウム塩を
用いて陽性対照群とした。

水温 : 19.8~20.8℃

結果 : 被験物質のLC₅₀値を下記に示した。
被験物質暴露による死亡及び致死的な状態のコイは観察されなかった。従って被験物質のLC₅₀値
は1000mg/L以上と判断され、無影響濃度は1000mg/Lであった。
一方基準物質暴露群では、0.32mg/L以上の群で死亡が認められ、96時間後のLC₅₀値は0.24(95%
信頼限界0.18 - 0.32)と計算された。

試験濃度 (mg/L)	0、1000	
LC ₅₀ (mg/L)	24 時間	>1000
	48 時間	>1000
	72 時間	>1000
	96 時間	>1000
NOEC (mg/L)	1000	
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L)	1000	

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 水生8)

試験実施機関: Safepharm Laboratories Limt. (英国)(GLP対応)

報告書作成年: 2005年

被験物質 : アセフェート5% 粒剤 (5.0%)

供試生物 : オオミジンコ (*Daphnia magna*) (生後 24 時間以内の個体)

濃度区は一群 40 匹、対照区は一群 20 匹

方法 : 暴露期間; 48 時間、暴露方法; 止水式、試験水量; 200mL/10 匹、照明; 16 時間/日

脱イオン水を用いて硬度 250mg/L(CaCO₃)の水を調製し、試験水として用いた。被験物質の一定量(500mg)をこの試験水に溶解し、1000mg/L 溶液を調製した。

200mL の各濃度の試験溶液を入れた 250mL 容器に 10 匹のオオミジンコを入れ 20℃の温度制御室に置いた。容器には蒸発を避けるため覆いをした。暴露期間中は給餌をせず、通気もしなかった。濃度区は 4 反復とした。

無処理対照群は被験物質を投入しなかった以外は被験物質暴露群と同様にした。基準物質群として 0.32、0.56、1.0、1.8 及び 3.2mg/L の濃度の重クロム酸カリウムを用いて同様に処理した。

暴露開始 3、24 及び 48 時間後に遊泳阻害及び毒性的な影響について観察、記録した。溶液を静かに攪拌した後約 15 秒間ミジンコが泳ぐことができなくなった場合に遊泳阻害があったと判断した。

1.0、10、100 及び 1000mg/L の用量で実施した予備試験の結果、どの濃度においても遊泳阻害が認められなかったことから本試験の濃度は 1000mg/L の 1 用量で実施した。

試験水温 : 20.6~20.8℃

結果 : 各時間における EC₅₀ 値は以下の通りで、オオミジンコに対する被験物質の 48 時間後の EC₅₀ 値は、本試験で被験物質の影響が認められなかったことから、1000mg 以上であると判断され、また 48 時間後の無影響濃度は 1000mg/L であった。

一方基準物質の 48 時間後の EC₅₀ 値は 1.2mg/L で、95%信頼限界は 1.0-1.3mg/mL であった。また 48 時間後の無影響濃度は 0.56mg/L であった。

試験濃度 (mg/L)	0、1000	
EC ₅₀ (mg/L)	24 時間	>1000
	48 時間	>1000
NOEC (mg/L)	1000	
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L)	1000	

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

3) 藻類生長阻害試験

(資料 水生 9)

試験実施機関: Safepharm Laboratories Limt.(英国) (GLP対応)

報告書作成年: 2005年

被験物質 : アセフェート5% 粒剤 (5.0%)

供試生物 : 藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) CCAP278/4株

初期濃度 1.11×10^4 cells/mL

方法 : 振とう培養法(150rpm)、暴露期間; 72時間、試験水量; 100mL、照明; 4000Lux (連続照明)、pH 無調整、3連制

1.0、10、100及び1000mg/Lの濃度で実施した予備試験の結果、1000mg/Lでも生長に影響は認められなかったため、本試験の濃度は1000mg/Lの1濃度を選択した。

試験は6反復とした。

一定量(1000mg)の被験物質をASTM培地に分散させ2000mg/Lになるように500mLに定溶し、この溶液500mLを藻類懸濁液500mLと混合して1000mg/Lの濃度に調製した。対照群は被験物質に暴露させない以外は被験物質投与群と同様に処理した。

基準物質として重クロム酸カリウムを用いた。

暴露開始後24、48及び72時間に各濃度群の細胞濃度を血球メーター及び光学顕微鏡を用いて測定した。

培養温度: 24.0~25.0°C

結果: 被験物質の72時間暴露による*P. subcapitata*の生長には何等影響を与えなかった。

対照群では、72時間後には初期濃度の51倍に達していた。

被験物質投与群のEbC₅₀(0~72時間)、ErC₅₀(0~72時間)、無影響量を下表にまとめた。

基準物質に暴露した陽性対照群のEbC₅₀(0~72時間)値は1.8mg/L、ErC₅₀(0~72時間)値は2.7mg/Lであった。

試験濃度(mg/L)	0, 1000	
ErC ₅₀ (mg/L)	0~72時間	>1000
EbC ₅₀ (mg/L)	0~72時間	>1000
NOEC(mg/L)	1000	

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

2-1 蚕に対する影響

No.	供試生物 (齢期)	1 群 当り 供試数	被 験 物 質	投与方法 投与量	結 果	試験機関 (報告年)
1	蚕(錦秋× 鐘和) (4齢起蚕)	50頭/反復 2反復	水溶剤 (50%)	1000倍液 を 120L/10a 散布した 桑葉を 給与	安全基準日数50日	山形県蚕糸総 合研究センター (1998)
2					安全基準日数31日	岩手県農業 研究センター (1998)
3	蚕(ぐんま X200) (4齢起蚕)				安全基準日数31日	群馬県蚕業 試験場 (1998)

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

・試験 1

試験機関：山形県蚕糸総合研究センター

試験年度：1998年

試験方法：

試験蚕期 ; 初秋蚕期・晩秋蚕期

供試蚕品種 ; 錦秋 X 鐘和

供試桑 ; 剣持(根刈仕立)

供試薬剤 ; アセフェート水溶剤(有効成分50%含有)

供試濃度 ; 1000倍、 散布量; 120L/10a

散布方法 ; 4齡起蚕日の所定日数前に肩掛噴霧器を用いて桑葉全体に散布

給与期間 ; 処理桑葉を4齡期間中給与し、以後上蔭まで無処理の桑葉を給与

試験規模 ; 1区50頭、2連制

調査項目 ; 4～5齡経過日数、発育の斉一度、結繭蚕数、日別死亡数、4～5齡減蚕歩合、化蛹歩合、雌雄別繭重、繭層歩合、中毒症状の観察、試験実施中の気象

結果：初秋蚕期、晩秋蚕期共、1000倍液を桑葉に散布し、散布60～20日後に4齡蚕に給与した結果、散布60～50日後区では中毒症状は認められなかった。

散布40～30日後区では苦悶、吐液、吐糸、蚕体縮小等の中毒症状が数頭に発現したが、顕著な中毒症状は認められなかった。散布20日後区では、4齡1日目から給与桑から忌避し始め、吐液、吐糸、徘徊、蚕体が縮小し、食桑不活発、発育不良、発育不揃等の中毒症状が発現し、死亡する蚕が多かった。

また、食桑不活発で初秋蚕期で2日、晩秋蚕期で1日4齡の経過が延長した。

5齡蚕に無処理桑葉を給与したところ、散布20日後区では次第に回復し営繭したが、軟化症状の斃死蚕が多く、結繭蚕数及び化蛹歩合が劣った。

以上のことから、アセフェート水溶剤の蚕に対する安全基準日数は30日と考えられた。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

・試験 2

試験機関：岩手県農業研究センター

試験年度：1998年

試験方法：

試験蚕期 ; 晩秋蚕期

供試蚕品種 ; 錦秋 X 鐘和

供試桑 ; あおばねずみ (平成7年植え付け、根刈仕立、春切)

供試薬剤 ; アセフェート水溶剤(有効成分50%含有)

供試濃度 ; 1000倍、 散布量 ; 120L/10a

散布方法 ; 4齢起蚕予定日の48、41、31及び20日前に電池式小型噴霧器を用いて桑葉全体に散布

給与期間 ; 4齢起蚕日に摘葉し、ポリエチレン袋に入れ、冷蔵庫に保管した。4齢期間中、毎日給与した。

試験規模 ; 1区50頭、2連制

調査項目 ; 4～5齢経過日数、発育の斉一度、結繭蚕数、日別死亡数、4～5齢減蚕歩合、化蛹歩合、雌雄別繭重、繭層歩合、中毒症状の観察、試験実施中の気象

結果： 20日前散布区では4齢期間が1日延長し、4齢就眠時に蚕体が熟蚕様に変化し、体色の黄化・背地性を示した。この症状は5齢蚕に無処理桑葉を給与すると回復した。48日、41日及び31日前散布区では中毒症状は認められなかった。

中毒症状の認められなかった蚕の繭質は無散布区とほぼ同等であった。

以上のことから、アセフェート水溶剤の蚕に対する安全基準日数は31日と考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

・試験 3

試験機関：群馬県蚕業試験場

試験年度：1998年

試験方法：

試験蚕期；初秋蚕期(6月29日掃立)

供試蚕品種；ぐんま X 200

供試桑；一の瀬

供試薬剤；アセフェート水溶液(有効成分50%含有)

供試濃度；1000倍、散布量；120L/10a

散布方法；4齢起蚕日の所定日数前に肩掛型噴霧器を用いて桑葉全体に散布した。

給与期間；処理桑葉を4齢期間中給与し、以後上簇まで無処理桑葉を給与した。

試験規模；1区50頭、2連制

調査項目；4～5齢経過日数、発育の斉一度、結繭蚕数、日別死亡数、4～5齢減蚕歩合、化蛹歩合、雌雄別繭重、繭層歩合、中毒症状の観察、試験実施中の気象

結果： 薬剤散布した桑葉を散布20日、31日、40日、49及び60日後に4齢期間中給与し、蚕に対する残毒性を検討した結果、散布20日後区の数頭が頭を振って苦しむ軽い中毒症状を示し、4齢期間がやや延長した。繭中死蚕が目立ったため化蛹歩合が低下し、繭質も明らかに低下した。その他の区には特に異常は認められず無処理区と同等の飼育成績であった。

以上のことから、アセフェート水溶液の蚕に対する安全基準日数は31日と考えられた。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

2-2 ミツバチに対する影響

No.	供試生物 (齢期)	1 群 当り 供試数	被 験 物 質	投与方法 投与量	結 果	試験機関 (報告年)										
1	セイヨウ ミツバチ (20日齢 以上)	100頭	水溶剤 (50%)	接触毒性: 1000,2000,4000,8000,1 6000,32000,64000,128 000,256000倍液を5秒 間直接散布	死亡率(120時間) <table border="1"> <thead> <tr> <th>希釈倍数 (倍)</th> <th>死亡率 (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1000~32000</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>64000</td> <td>96.3</td> </tr> <tr> <td>128000</td> <td>22.7</td> </tr> <tr> <td>256000</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	希釈倍数 (倍)	死亡率 (%)	1000~32000	100	64000	96.3	128000	22.7	256000	0	三重大学 生物資源学部 (1998)
		希釈倍数 (倍)		死亡率 (%)												
		1000~32000		100												
64000	96.3															
128000	22.7															
256000	0															
(600~ 800頭/ 巣箱)	群体への影響: 帰巣働きバチに 1000倍液を500cc/巣 箱散布	巣内の女王蜂、働き蜂とも散布1 ~6日まで異常行動あり、働きバ チの攻撃性は1~4日まで昂進 した。7日後までの累積死亡数 は平均3961.3頭(コロニー全体 の約半数に相当)														
	訪花活動への影響: 1000倍液を開花中 のレンゲ圃場(20a) に散布(80L/10a)	散布3時間後まで訪花忌避 散布1日後以降は無処理区と同 等の訪花個体数であった														

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

ミツバチに対する影響

試験機関 三重大学生物資源学部

試験年度 1998年

・急性毒性

供試薬剤：アセフェート水溶液(有効成分50%含有)

試験方法：1000、2000、4000、8000、16000、32000、64000、128000、256000倍に希釈した供試薬剤を、金網かごに収容した働きバチ成虫100頭に5秒間直接に散布した。散布後32℃の恒温室で飼育した。

観 察：処理12、24、48、72、96及び120時間後に累積死亡数を観察した。

結 果：1000から32000倍では死亡率は100%で強い殺虫性を示した。

・群態への影響

供試薬剤：アセフェート水溶液(有効成分50%含有)

試験方法：帰巢する働きバチを対象に巣箱入り口より1m上方から小型電動スプレーを用いて供試薬剤の1000倍を巣箱当たり500ccずつ3群に対して10分間隔で6回に分けて散布した(600~800頭/巣箱)。

観 察：下記の表中の項目について7日後までの毎日と、以後30日後まで10日毎に観察した。

結 果：結果を下記の表にまとめた。

調査項目		散布後日数										
		直後	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	10日	20日	30日
女王の異常	処理	—	3	3	3	3	2	1	—	—	—	—
	無処理	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
女王に対する働き蜂の異常行動	処理	—	3	3	3	3	2	1	—	1*	—	—
	無処理	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
巣内における働き蜂の異常行動	処理	—	3	3	3	3	2	1	—	—	—	—
	無処理	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
働き蜂の攻撃性昂進	処理	—	3	3	1	1	—	—	—	—	—	—
	無処理	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

各処理共3群を用いた。*印以外は3群共に同じ反応が認められた。*印は3群の内1群のみに認められた。1;軽い症状、2;やや重症、3;重症

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

1群当たりの働きバチ平均死亡数(頭)

	散 布 後 の 日 数											累計 死亡 数
	散布 前	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	10日	20日	30日	
処理	0	1670.3	966.0	768.7	317.0	213.3	21.7	4.3	0	0.3	0.3	3962.0
無処理	0	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0.7	0.3	0	0.3	0.7	3.3

散布直後は影響は認められなかったが、1日後から6日後まで、女王に異常、女王に対する働きバチの異常、巣内における働きバチの異常、攻撃性の昂進などの影響が重症状態で継続した後、7日後において沈静化した。また、巣箱当たりの働きバチの死亡数は1670.3頭で2日以降の死亡数は減少したが7日後までの累積死亡数は平均3961.3頭でコロニー全体の半数に達した。これは巣箱入り口で被液した個体以外にも、巣内の内役バチも死亡したためと考えられた。

・ 訪花活動への影響

供試薬剤：アセフェート水溶剤(有効成分50%含有)

試験方法：供試薬剤の1000倍液を開花中のレンゲ圃場(20a)に散布(80L/10a)。散布直後、1時間後、3時間後及び5日後まで毎日夫々10～12時の10分間、3区画(1区画：3×3m)を訪花しているミツバチの個体数を調査した。

結 果：結果を下記の表にまとめた。

	散 布 後 の 訪 花 個 体 数(3区平均)								
	散 布 直 前	散 布 直 後	1時間後	3時間後	1日後	2日後	3以後	4日後	5日後
処理	52.3	0	1.7	4.0	52.0	53.0	52.3	51.0	53.3
無処理	51.0	53.0	47.7	52.0	51.3	52.7	52.3	52.0	52.7

散布当日は散布3時間後でも訪花忌避の行動は見られたが、散布1日後以降は無処理区と同等の訪花数であった。

以上のことからアセフェート水溶剤は供試濃度の1000倍においてはミツバチに対する殺虫性は強く、野外活動中の個体や巣箱へ散布された場合、外役ハチや群態に対して群勢を著しく衰退させる強い影響があると判断される。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。但し、天敵に対する影響試験に関する権利及び責任は全国農業協同組合連合会にある。

2-3 天敵に対する影響

No.	供試生物 (齢期)	1 群 当り 供試数	被 験 物 質	投与方法 投与量	結 果	試験機関 (報告年)
1	アブラバチ (成虫)	21~23頭 /区	水溶剤 (50%)	薬液浸漬 大根葉に 放虫	死虫率(24時間後): 1000倍: 100% 10000倍: 81% 100000倍: 28.6%	全農・ 営農・技術センター (1999年)
2	ナミテントウ (1齢幼虫)	5頭/区 2反復		薬液浸漬 (3~5秒)	死虫率(24時間後): 1000倍: 100% 10000倍: 80% 100000倍: 10%	
3	ケナガカブリダニ 雌(成虫)	8~12頭 /区 3反復	水溶剤 (50%)	リーフ ディスク法	死虫率(24時間後) 1000倍: 89.3% 10000倍: 10.7% 100000倍: 10.7%	全農・ 営農・技術センター (2001年)

2-4 鳥類に対する影響

No.	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1 群 当りの 供試数	投 与 方 法	投 与 量	LD ₅₀ 又は LC ₅₀ 及び 無影響量	観察された 影響等	実施機関 (報告年)
1	急性経口 毒性試験 原体	ウズラ	♂5 ♀5	強制 経口 (単回)	(mg ai/kg): 0、23.3、 38.9、64.8、 108、180、300	LD ₅₀ : 92.9mg ai/kg 無影響量 特定できず	飼料摂取量の低下、抑鬱 症、嗜眠、協調性の消失、 下肢の弱り、外的刺激に 対する反応の低下等	Wildlife International (2005年)
2	混餌投与 試験 原体	ウズラ	10	混餌 (5日間)	(ppm): 0、100、200、 400、800、 1600	LC ₅₀ : 928 ppm 無影響量: 100 ppm	飼料摂取量の低下、抑鬱 症、嗜眠、協調性の消失、 下肢の弱り、 外的刺激に対する反応 の低下等	Wildlife International (2006年)

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

Ⅶ 使用時安全上の注意、解毒方法等

1. 使用時安全上の注意事項

50%水溶剤

- (1) 誤飲、誤食などのないよう注意すること。誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。
- (2) 本剤の解毒剤としては動物実験で硫酸アトロピン製剤及びPAM製剤が有効であると報告されている。
- (3) 本剤は眼に対して刺激性があるので、眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (4) 散布の際は、農業用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。
作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに洗眼すること。
- (5) 街路、公園等で使用する場合は、散布中及び散布後(少なくとも散布当日)に小児や散布に関係のない者が散布区域に立ち入らないよう縄囲いや立て札を立てるなど配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

5%粒剤

- (1) 本剤の解毒剤としては動物実験で硫酸アトロピン製剤及びPAM製剤が有効であると報告されている。
- (2) 本剤は眼に対して刺激性があるので、眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (3) 散布の際は農業用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに洗眼すること。
- (4) 街路、公園等で使用する場合には、散布中及び散布後は(少なくとも散布当日)に小児や散布に関係のない者が散布区域に立ち入らないように縄囲いや立札を立てるなど配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

2. 解毒方法及び治療法

本剤による中毒に対しては、硫酸アトロピン、PAM剤の投与が有効である。

3. 製造時、使用時等における事故例

事故例なし。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。但し*印を付した試験に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

Ⅷ. 毒性

〈毒性試験一覧表〉

原 体

資料 番号	試験の 種類・期間	供試 動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量(mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記 載 頁
1 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経口 (強制)	♂♀共 900, 1200, 1590	♂♀共 1038	Corning Hazleton Eu. (英国) (1995)	8
2 (GLP)	急性毒性 14日間観察	マウス	♂♀ 各5	経口 (強制)	♂♀共 175, 250, 360	♂: 301 ♀: 281	Corning Hazleton Eu. (英国) (1995)	10
3 (GLP)	急性毒性 14日間観察	マウス	♀5	経口 (強制)	300	>300	(財)食品農医薬品 安全性評価センター (2008)	12
4 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経皮	♂♀共 2000	♂♀共 >2000	Corning Hazleton Eu. (英国) (1995)	14
5 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	吸入	♂♀共 6.26 mg/ml	♂♀共 >6.26 mg/L	Covance Lab. Limited (英国) (1996)	15
6 (GLP)	皮膚一次刺激 72時間観察	ウサギ	♂5 ♀1	パッチ	500mg / 3cm x 2cm	極軽度の 刺激性	Corning Hazleton Eu. (英国) (1995)	17
7 (GLP)	眼一次刺激 72時間観察	ウサギ	♀6	点眼	51mg/眼	刺激性なし	Corning Hazleton Eu. (英国) (1995)	18
8 (GLP)	皮膚感作 Maximization法 72時間観察	モルモット	♀20	感作暴露: 皮内; 10%(蒸留水) 経皮; 80%, 40%(蒸留水) 惹起暴露: 皮; 80%, 40%(蒸留水)		感作性なし	Corning Hazleton Eu. (英国) (1995)	19
9* (GLP)	急性経口投与 神経毒性 15日間	ラット	♂♀ 各10	経口 (強制)	0, 5, 20, 80	5	Huntingdon International (英国) (2006)	21
10 (GLP)	急性遅発性 神経毒性 42日間観察	ニワトリ	♀42	経口 (強制)	700	遅発性神経 毒性なし	Covance Laboratories (米国) (1998)	24
11 (GLP)	90日間反復経口 投与毒性 13週間	イヌ	♂♀4 1, 4 群: ♂♀ 8	経口 (混餌)	♂♀共 0, 50, 225, 1000ppm ♂ 0, 2.1, 8.3, 39.6 ♀ 0, 2.0, 9.8, 39.8	♂ 50ppm (2.1) ♀ 50ppm (2.0)	Corning Hazleton Eu. (英国) (1996)	28
12 (GLP)	90日間反復経口 投与毒性 13週間	ラット	♂♀10	経口 (混餌)	♂♀共 0, 10, 500, 1500 ppm ♂ 0, 0.7, 36.7, 111.8 ♀ 0, 0.8, 40.0, 122.5	♂ 10ppm (0.7) ♀ 10ppm (0.8)	Covance Laboratories GmbH (独国) (1998)	37

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。但し*印を付した試験に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

資料 番号	試験の 種類・期間	供試 動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量(mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁	
13	21日間反復経皮 投与毒性	急性経皮毒性試験の結果から強い経皮毒性を有する恐れはないと判断されることから試験省略							43
14	90日間反復吸入 投与毒性	急性吸入毒性試験の結果から強い吸入毒性を有する恐れはないと判断されることから試験省略							44
15* (GLP)	反復経口投与 神経毒性 13週間	ラット	♂♀ 各10	経口 (混餌)	0、10、100、1500ppm ♂ 0、0.6、6.8、104.1 ♀ 0、0.7、7.7、122.9	♂♀共10ppm ♂ (0.6) ♀ (0.7)	Huntingdon International (英国) (2005)	45	
16	28日間反復投与 遅発性神経毒性	急性遅発性神経毒性試験の結果、遅発性神経毒性を誘発するにはかなりの高濃度が必要であり、その様な濃度ではコリン作動性毒性が現れ、動物を致死させる。このことから遅発性神経毒性は有さないと判断され、試験省略							54
17 (GLP)	1年間反復経口 投与毒性/ 慢性毒性 12ヶ月	イヌ	♂♀4 1,4 群:♂♀ 8	経口 (混餌)	♂♀共 0、30、175、1000ppm ♂ 0、1.1、6.9、38.6 ♀ 0、1.2、7.4、38.1	♂ 30ppm (1.1) ♀ 30ppm (1.2)	Covance (英国) (1999)	55	
18 (GLP)	2年間反復経口 投与毒性/ 慢性・発癌性併合 24ヶ月	ラット	♂♀50	経口 (混餌)	♂♀共 0、10、500、1500 ppm ♂ 0、0.49、25.34、79.58 ♀ 0、0.60、30.49、96.80	♂10ppm (0.49) 10ppm (0.60) ♂♀共 10ppm で発癌性なし	Covance Laboratories Gmbh (独国) (1999)	64	
19 (GLP)	発癌性 80週	マウス	♂♀50	経口 (混餌)	♂♀共 0、50、160、500ppm ♂ 0、7.85、25.05、81.42 ♀ 0、9.67、30.55、90.13	♂ 50ppm (7.85) ♀ 50ppm (9.67) ♂♀共: 160ppm 以下 で発癌性なし	Covance Laboratories Gmbh (独国) (1999)	76	
20 (GLP)	2世代繁殖性	ラット	♂♀25	経口 (混餌)	♂♀共 0、10、70、500ppm 親動物 (P) 交配前 ♂ 0、0.7、5.0、36.4 ♀ 0、0.8、5.9、42.3 妊娠中♀ 0、0.8、5.2、37.7 哺育中♀ 0、1.8、11.6、78.0 児動物 (F1) 交配前 ♂ 0、0.8、6.0、45.8 ♀ 0、1.0、6.6、50.4 妊娠中♀ 0、0.8、5.1、37.5 哺育中♀ 0、1.5、10.3、69.3	親動物 (P) ♂10ppm (0.7) ♀ 10ppm (0.8) 児動物 (F1) ♂ 10ppm (0.8) ♀ 10ppm (1.0) 繁殖性 ♂ 10ppm (0.7) ♀ 10ppm (0.8)	Covance Laboratories Gmbh (独国) (1999)	83	

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。但し*印を付した試験に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

資料 番号	試験の 種類・期間	供試 動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量(mg/kg)	LD50値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁	
21 (GLP)	発生毒性	ラット	♀ 24	経口	♀ 0、10、25、50 (溶媒: 蒸留水)	催奇形性なし 親・胎児共 25	Corning Hazleton Europe (英国) (1997)	92	
22 (GLP)	発生毒性	ウサギ	♀ 18	経口	♀ 0、10、25、50 (溶媒: 蒸留水)	催奇形性なし 親 25 胎児50	Corning Hazleton Europe (英国) (1997)	98	
23 (GLP)	変異原性 復帰変異	サルモネラ菌: TA1535 TA1537 TA98 TA100 腸菌: WP2urva ⁻		µg/プレート、溶媒: 蒸留水 0、50、150、500、1500、5000		直接法、代謝 活性化法共に 陰性	Safepfarm Laboratories (英国) (1998)	107	
24 (GLP)	変異原性 染色体異常	ハムスター / CHL 細胞	100 細胞	µg/ml 0、114.36、228.75、457.5、915、1830		直接法: 陽性	Safepfarm Laboratories (英国) (1998)	109	
25 (GLP)	変異原性 不定期DNA合成	ラット/ 肝細胞	150 細胞	経口	0、200、600	陰性	Safepfarm Laboratories (英国) (1998)	111	
26 (GLP)	変異原性 小核試験	マウス	赤血球 2000個	0、12.5、25、50		陰性	Safepfarm Laboratories (英国) (2005)	113	
27*	生体 の機 能に 及ぼ す影 響	一般状態 (Irwin法)	マウス	♂ 5	経口	0、15、50、150	50	(財) 食品農薬薬品 安全性評価センター (1997年)	115
		自発運動量 (スパーメックス)	マウス	♂ 8	経口	0、15、50、150	15		
		痙攣誘発 (電撃痙攣)	マウス	♂ 10	経口	0、15、50、150	50		
		体温 (直腸温)	ラット	♂ 6	経口	0、50、150、500	全投与群で有 意な低下		
		呼吸 / 循環器系	ウサギ	♂ 4	静脈 注射	0、15、50、150	50		
		摘出回腸	モルモット	♂ 5	—	$5 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-3} \text{ g/ml}$	5×10^{-4}		
		消化器系 (小腸輸送)	マウス	♂ 10	経口	0、15、50、150	影響なし		
		骨格筋 (懸垂動作)	マウス	♂ 10	経口	0、15、50、150	50		
		血液凝固	ラット	♂ 6	経口	0、15、50、500	影響なし		
28*	コレステラーゼ阻害	サル	♂ 3 2,4群: ♂ 5	経口 (カプセル)	0、0.3、0.6、1.2	1.2	Covance Laboratories GmbH (独国) (2001)	121	
29*	コレステラーゼ阻害	ラット サル ヒト	ラット: 5 サル: 6 ヒト: 5	血漿、 血球	0.1、0.2、0.6、1.0、6.0、10、 20、60、100mM	感受性 血漿: ラット>サル>ヒト 血球: サル>ラット>ヒト	残留農薬研究所 HAB協議会附属 霊長類機能研究所 (2001)	125	

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

代謝物毒性試験一覧表

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

代謝物毒性試験一覧表 (つづき)

〈毒性試験一覧表〉

製剤

資料 番号	試験の 種類・期間	供試 動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量(mg/kg)	LD ₅₀ 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記 載 頁
31 (GLP)	急性毒性 (水溶剤50%) 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経口 (強制)	♂♀共 707、1000、1414、 2000、2828	♂♀共 3150	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	149
32 (GLP)	急性毒性 (水溶剤50%) 14日間観察	マウス	♂♀ 各5	経口 (強制)	♂♀共 397、500、630、794、 1000	♂:481 ♀:561	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	151
33 (GLP)	急性毒性 (水溶剤50%) 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経皮	♂♀共 2000	♂♀共 >2000	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	153
34 (GLP)	皮膚一次刺激 (水溶剤50%) 72時間観察	ウサギ	♂6	パッチ	500mg /2.5cm x 2.5cm	軽度の刺激性	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	154
35 (GLP)	眼一次刺激 (水溶剤50%) 72時間観察	ウサギ	♂6	点眼	65mg/眼	軽度の刺激性	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	155
36 (GLP)	皮膚感作 (水溶剤50%) Buehler法 72時間観察	モルモット	♂20	感作暴露: 75%(蒸留水) 惹起暴露: 75%、50%(蒸留水)		感作性なし	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	156
37 (GLP)	急性毒性 (粒剤5%) 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経口 (強制)	♂♀共 5000	♂♀共 >5000	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	158
38 (GLP)	急性毒性 (粒剤5%) 14日間観察	ラット	♀6	経口 (強制)	2000	>2500	Safepharm Laboratories (英国) (2005)	160
39 (GLP)	急性毒性 (粒剤5%) 14日間観察	マウス	♂♀ 各5	経口 (強制)	♂♀共 5000	♂♀共 >5000	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	161
40 (GLP)	急性毒性 (粒剤5%) 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経皮	♂♀共 2000	♂♀共 >2000	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	162
41 (GLP)	急性毒性 (粒剤5%) 14日間観察	ラット	♂♀ 各5	経皮	♂♀共 2000	♂♀共 >2000	Safepharm Laboratories (英国) (2005)	163
42 (GLP)	皮膚一次刺激 (粒剤5%) 72時間観察	ウサギ	♂5 ♀1	パッチ	500mg /2.5cm x 2.5cm	軽度の刺激性	Safepharm Laboratories (英国) (1998)	164
43	皮膚一次刺激 (粒剤5%) 72時間観察	ウサギ	♀3	パッチ	500mg /6cm ²	刺激性なし	食品農医薬品 安全性評価センター (1999)	165

資料 番号	試験の 種類・期間	供試 動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量(mg/kg)	LD50値又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記 載 頁
44 (GLP)	皮膚一次刺激 (粒剤5%) 72時間観察	ウサギ	♂2 ♀1	パッチ	500mg /2.5cm x 4.0cm	刺激性なし	Safepfarm Laboratories (英国) (2005)	166
45 (GLP)	眼一次刺激 (粒剤5%) 72時間観察	ウサギ	♂8 ♀1	点眼	95mg/眼	中等度の 刺激性	Safepfarm Laboratories (英国) (1998)	167
46	眼一次刺激 (粒剤5%) 72時間観察	ウサギ	♀3	点眼	100mg/眼	刺激性なし	食品農医薬品 安全性評価センター (1999)	169
47	眼一次刺激 (粒剤5%) 72時間観察	ウサギ	♂8 ♀1	点眼	95mg/眼	軽度の 刺激性	Safepfarm Laboratories (英国) (2005)	172
48 (GLP)	皮膚感作 (粒剤5%) Buehler法 72時間観察	モルモット	♂20	感作暴露: 75%(蒸留水) 惹起暴露: 75%、50%(蒸留水)		感作性なし	Safepfarm Laboratories (英国) (1998)	173
49 (GLP)	皮膚感作 (粒剤5%) マウス局所リンパ節 増殖試験 6日間観察	マウス	♀4		0、1、2.5、5.0%溶液 (溶媒ジメチル硫酸)	感作性なし	Safepfarm Laboratories (英国) (2005)	176

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

I. 原体を用いた毒性試験

(1). 急性毒性

1) 経口毒性試験

① ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 1)

試験実施機関: Coming Hazleton Europe (英国) (GLP対応)

報告書作成年: 1995年

検体純度:

試験動物 : Crl:CD. BR系ラット 1群雌雄各 5匹 雄; 6~8週齢 雌; 9~10週齢

開始時体重 雄; 238~297g 雌; 215~254g

観察期間 : 14日間

方法 : 検体を各用量になるように蒸留水に懸濁させ、一晚絶食させたラットに 20ml/kgの容量で1回強制経口投与した。給餌は投与後3時間から行った。

観察・検査項目: 一般状態及び死亡の有無を14日間観察した。体重は投与日の前日、投与日の投与前、投与後8及び15日目に測定した。途中死亡動物、切迫屠殺についてはその都度、生存動物については試験終了時に屠殺・剖検した。

結果:

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	900、1200、1590
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共: 1038 (747 - 1441)
死亡開始及び終了時間	雌雄共 開始: 1日 終了: 4日
症状発現及び消失時間	雌雄共 発現: 30分 消失: 11日
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	< 900

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

1590mg/kg投与群雄では投与後2日以内に、雌では3日以内に全動物が死亡した。1200mg/kg投与群雄では、投与当日、2日目及び4日目に夫々1匹ずつ、合計5匹中3匹が死亡した。同群雌では投与当日、2日目及び4日目に1匹ずつ死亡した。900mg/kg投与群では雄が投与2日目及び3日目に1匹ずつ、雌が投与当日及び2日目に1匹ずつ死亡した。

処理に関連して認められた症状は、流涎、振戦、呼吸困難、眼球突出、喘ぎ呼吸、攣縮及び嗜眠であった。更に生殖器上部の汚れ、腹部及び背部の毛或いは口吻部のしみ、脇腹の窪み、活動の低下、円背位、血涙、鼻出血、外股歩行及び腹臥位が散見された。これらの症状は投与11日目には完全に回復した。

投与後8日目の体重測定時では、僅かの体重減少が認められた動物もあったが、第2週目には順調な体重増加が認められた。

1200mg/kg投与群の雌2匹に子宮の膨満、胸腺の赤色化が認められたが、その他の動物には処理に関連した剖検所見は認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

② マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 2)

試験実施機関: Corning Hazleton(Europe)(英国)(GLP対応)

報告書作成年: 1995年

検体純度 :

試験動物 : CrI:CD-1(ICR)BR系マウス 1群雌雄各 5匹 5~6週齢

開始時体重 雄; 24~29g 雌; 21~29g

観察期間 : 14日間

方法 : 検体を蒸留水に分散させ、4時間給餌を止めていたマウスに20ml/kgの容量で1回強制経口投与した。給餌は投与後2時間から行った。

観察・検査項目 : 一般状態及び死亡の有無を14日間観察した。体重は投与日の前日、投与日の投与前、投与後8及び15日に測定した。死亡及び切迫屠殺動物についてはその都度、生存動物については試験終了時に屠殺し、剖検した。

結果 :

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	175、250、360
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 : 301(219-480) 雌 : 281(207-436) 両性 : 291(249-352)
死亡開始及び終了時間	雄 開始 : 2日 終了 : 4日 雌 開始 : 2日 終了 : 5日
症状発現及び消失時間	雄 発現 : 1時間 消失 : 12日 雌 発現 : 1時間 消失 : 13日
毒性兆候の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 : 175

175mg/kg投与群では死亡例は認められなかった。250mg/kg群雄では4日目に1匹が、雌では3日目に2匹が死亡した。360mg/kg投与群では雄で2日目に3匹、3日目に1匹が、雌では2日目に2匹、3及び5日目に夫々1匹ずつが死亡した。この5日目の死亡動物は下顎が欠損していた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

処理に関連した臨床症状として、嗜眠、流涎、振戦、攣縮、流涙、呼吸困難、活動の低下、外股歩行、眼瞼下垂、円背位、眼瞼閉鎖が認められた。また、運動失調、眼球突出、脇腹の窪み、乱毛、毛のぬれ及び眼の周囲の脱毛が散見された。

投与第1週目に体重減少が認められた動物或いは体重変化の認められなかった動物を含めて、全生存動物で第2週目には体重増加が認められた。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

③ マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 3)

試験実施機関:(財)食品農医薬品安全性評価センター (GLP対応)

報告書作成年:2008年

検体純度 :

試験動物 :Slc: ICR(SPF)系マウス 6週齢

開始時体重 ;27.6~29.5g 1群雌 5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 毒性等級法

投与方法 : 検体を注射用水に溶解し、30mg/mLの濃度溶液を調製した。投与前約3時間絶食させたマウスに体重10g当り0.1mLの容量で、胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。給餌は投与後3時間から再開した。投与用量は300mg/kgで実施した予備試験の結果に基づき300mg/kgとした。300mg/kgの用量で死亡が認められなかったが、以前の試験結果及び同時期に実施した50%水溶剤の結果から2000mg/kgでは死亡が確実視されたためこの用量の試験は実施せず、300mg/kgの1用量とした。性はガイドラインで推奨されている雌を選択した。6匹ずつの2群を設け1回目投与群と2回目投与群に分けたが、1回目投与で死亡例が認められなかったことから、2回目の投与は実施しなかった。本試験には6匹の内体重の大きな動物から5匹を選別して投与した。

観察・検査項目 : 一般状態及び死亡の有無を14日間観察した。体重は投与日(0日)の投与前、投与後7及び14日目に測定した。観察期間終了時にエーテル麻酔下で放血により屠殺し、剖検した。

結 果 :

投 与 経 路	経 口
投 与 量 (mg / kg)	300
LD ₅₀ (mg / kg)	>300
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	発現 : 1時間 消失 : 13日
毒性兆候の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

一般状態の変化としては投与後1時間から5時間に全例に振戦が認められたが、6時間後には消失した。流涎が投与後2時間に3例に観察され、そのうち1例では3時間後にも観察された。流涎が投与後1時間に1例、眼瞼下垂が投与後6時間に2例に観察された。投与後1日目には全ての症状は消失したが、投与2日後から全例に眼瞼下垂が認められ1例では12日後まで観察された。投与13日後には全ての症状は消失した。

体重は投与7日後の測定時には全例で減少していたが、14日後には全例投与前に比較して増加していた。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

2) 経皮毒性試験

ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No. 4)

試験実施機関: Corning Hazleton Europe (英国) (GLP対応)

報告書作成年: 1995年

検体純度:

試験動物 : Crl:CD.BR系ラット 1群雌雄各5匹 雄; 6~8週齢、雌; 9~10週齢
開始時体重 雄; 244~282g 雌; 216~240g

観察期間 : 14日間

方法 : ラットの背部6×8 cmを剪毛し、そのうちの5×5 cm(全体表面積の約10%)を0.2mlの蒸留水で湿らせた後、体重1kg当たり2000mgの検体を均一に適用した。その上をガーゼで覆い伸縮性の目の粗い粘着性包帯で固定した。24時間後にガーゼ及び包帯を除去し、検体が残存しないように軽くブラシで掃い、水で拭き取った。

観察・検査項目 : 一般状態及び死亡の有無を14日間観察した。体重は、投与前日、投与日の投与前、投与8及び15日後に測定した。試験終了時に全ての生存動物を屠殺し、剖検を実施した。

結果 :

投与経路	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	雌雄共 : >2000
死亡開始及び終了時間	雌雄共 : 死亡例なし
症状発現及び消失時間	毒性症状認められず
毒性兆候の認められなかった 最高投与用量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

雌雄共死亡例は認められなかった。

検体に関連した一般状態の変化は認められなかった。処理後2日目と3日目に雄の2動物の処理部に弛緩症が観察されたが、4日目には完全に回復した。全ての動物は、正常な体重増加を示した。剖検所見では雄2匹及び雌1匹に胸腺の暗調化、雌2匹に子宮の拡張が認められた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

3) 急性吸入毒性

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No. 5)

試験実施機関: Covance Laboratories (英国) (GLP対応)

報告書作成年: 1996年

検体純度 :

試験動物 : CrI:CD.BR系ラット 1群雌雄各5匹

開始時 7~8週齢 開始時体重 雄; 240~262g 雌; 211~233g

観察期間 : 14日間

暴露方法 : 検体をHPLC用の水に29%(w/v)になるように溶解し、内部容積50Lの頭部暴露チャンバーを用いて頭部のみを4時間連続して下記の条件で暴露した。暴露室内の酸素濃度は対照群で20.5から20.8%、処理群で20.0から20.6%であった。暴露空気中の空気力学的質量中位径の平均値は2.98 μ mで、1 μ m以下の粒子は15%であった。噴霧溶液中の検体の平均実測濃度は6.26mg/Lであった。

暴露条件:

設定濃度 (mg/m ³)	113.3 mg/L
実際濃度 (乾燥重量)	6.26 \pm 1.56
粒子分布 (%) 1 μ m以下の粒子	15%
空気力学的質量中位径 (μ m)	2.98 μ m
チャンバー容積 (L)	50 L
チャンバー内通気量 (L/分)	18L/分
暴露条件	29%水溶液、4時間、頭部

観察・検査項目: 暴露期間中1時間毎に、その後は日に1度一般症状を観察し、死亡は毎日2度観察した。

体重は暴露直前、直後、第2、8、15日目及び剖検時に測定した。試験終了時に全生存動物を屠殺し、剖検を実施した。また肺及び気管の重量を固定前に測定した。

結果 :

投与経路	吸入
投与量 (mg/L)	6.26
LD ₅₀ (mg/L)	> 6.26
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	発現: 直後 消失: 4日
死亡例の認められなかった最高投与量	雌雄共6.26 mg/L

処理に関連した臨床症状は、暴露直後に全動物に認められた嗜眠、振戦及び伏臥姿勢であったが、嗜眠及び振戦は暴露5時間後には消失し、伏臥姿勢を示した動物も第4日目には回復した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

処理群の雄動物の体重減少が2日目まで認められたが、以後は全動物で同様の体重増加が認められた。

剖検時の肉眼的観察では異常は認められなかった。

肺の絶対体重は対照群及び処理群で差は認められなかったが、肺の対体重比が対照群に比較して処理群でやや高い値が認められたが、これは処理群での最終体重がやや低かった事によると思われた。

以上のことから、アセフェートの急性吸入毒性は極めて弱く、半数致死濃度は雌雄共に6.26mg/L以上であると考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 6)

試験実施機関: Corning Hazleton Europe (英国) (GLP対応)

報告書作成年: 1995年

検体純度 :

試験動物 : CrI:NZW/Kbl(BR)系ニュージーランド白色ウサギ 13~17週齢

開始時体重 2.33~3.30kg、 1群6匹(雄5匹、雌1匹)

観察期間 : 72時間

方 法 : 6匹のウサギの背部(30×20mm)を検体適用の前日に剪毛し、検体適用直前に剪毛部位を0.1mlの蒸留水で湿らせた後、検体の粉末500mgを均一に塗布してガーゼ(30×20mm)で覆い、更にもうその上を大きなガーゼパッチ(40×40 mm)で覆った。パッチは動かない様に伸縮性のテープで胴に固定した。4時間後にガーゼを取り除き適用部位を湿らせた脱脂綿で残存する検体を拭き取った。

観察・検査項目 : 検体除去1、24、48及び72時間後に適用部位の皮膚反応を観察した。

刺激性変化の採点は、Draize法に準拠した。

結 果 : 観察された刺激性変化の評点(Draize法)を下表に示した。

項 目	最高 評点	塗 布 後 時 間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑・痂皮	4	0.2	0.2	0.0	0.0
浮 腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	8	0.2	0.2	0.0	0.0

数字は6匹の平均

4匹の動物には全く刺激性は認められなかった。塗布1時間及び24時間後に夫々1匹ずつに僅かな紅斑が認められたが、48時間までには全ての刺激性は消失した。
検体適用による全身的な毒性症状は認められなかった。

結 論 : アセフェート原体を4時間半閉塞状態でウサギに接触させて一次刺激性の指数を計算した結果、0.2となり、アセフェート原体は皮膚に対して極僅かな刺激性があると判断された。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

2) 眼刺激性

ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No. 7)

試験実施機関: Corning Hazleton Europe (英国) (GLP対応)

報告書作成年: 1995年

検体純度 :

試験動物 : Crl: NZW/Kbl(BR)系ニュージーランド白色ウサギ 12~17週齢

開始時体重 2.60~3.27 kg 非洗眼群雌6匹

観察期間 : 72時間

方法 : 検体の粉末51mgを6匹のウサギの左眼に適用し、右眼は無処理対照とした。
洗眼はしなかった。

観察・検査項目: 検体適用後1、4、24、48、72時間及び7日目に角膜、虹彩及び結膜の変化を観察した。
刺激性変化の採点は、Kay and Calandraの基準に従った。

結果 : 観察された刺激性変化の評点(Draize法)を下表に示した。

	最高 評点	点眼後時間				
		1時間	4時間	24時間	48時間	72時間
角膜	80	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
虹彩	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
結膜	発赤	6	0.7	0.0	0.0	0.0
	浮腫	8	0.0	0.0	0.0	0.0
	分泌物	6	0.0	0.0	0.0	0.0
合計評点	110	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0

数字は群の平均を示す。

処理1時間後の検査時に2匹の動物に結膜血管の充血が認められたが、3時間後には全動物で異常は認められなかった。投与24時間後の検査時に点眼したフルオレセインの吸収は認められなかった。

結論 : アセフェート原体を6匹のウサギの結膜嚢に1回点眼した場合、結膜に一過性の変化を引き起こしたが、4時間以内に全ての反応は消失した。角膜及び虹彩には検体による影響は認められなかった。Kay and Calandraの分類に従い本試験結果を評価した結果、アセフェート原体は眼に対して刺激性はないと判断された。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 8)

試験実施機関: Corning Hazleton (Europe) (英国) (GLP対応)

報告書作成年: 1995年

検体純度 :

試験動物 : Dunkin-Hartley系モルモット 6~8週齢
開始時体重 408~546g、 1群20匹 (陽性対照群1群10匹)

観察期間 : 33日間

方 法 : Maximisation法

投与量設定根拠: 感作暴露用の皮内投与には2匹のモルモットを用いて、0.1%から実際に注入できる最高濃度である20%まで水溶液を、感作暴露用には、2匹のモルモットを用いて20%から実質的な最高濃度である80%までの水溶液を、また惹起暴露用には3匹のモルモットを用いて20%から実質的な最高濃度である80%までの水溶液で実施した投与量選別試験の結果から、①処理により全身毒性の影響が認められないこと、②皮内投与には中等度の刺激性より重篤な症状を示さず、かつ壊死部の中央病巣が極微で、注射部位に顕著な組織障害を示さない最高濃度を、③感作暴露用には中等度の刺激性より重篤な症状を示さず、壊死及び他の顕著な組織障害を示さない最高濃度を、④惹起暴露用には皮膚刺激性が認められない最高濃度を下記のように選別した。

皮内感作暴露 : 10%水溶液

経皮感作暴露 : 80%水溶液

経皮惹起暴露 : 80%及び40%水溶液

第2回惹起暴露 : 80%及び40%水溶液

溶媒対照であるDNCBはコーンオイルに溶解し下記の濃度を用いた。

皮内感作暴露 : 0.1%

経皮感作暴露 : 0.5%

経皮惹起暴露 : 0.2% 及び 0.05%

[感作] 動物の肩甲骨上を剃毛し、検体の10%水溶液、検体の10%FCA(FreundのComplete Adjuvant)溶液、FCAを0.1mlずつ皮内投与した。陽性対照としてDNCBの0.1%コーンオイル溶液を用いて同様に処理した。1週間後に肩甲骨上を再度剃毛し、検体の80%水溶液或いは対照群には蒸留水を夫々0.5ml含んだ25 x 45 mmの大きさの濾紙を張り付けた。溶媒対照群には、0.5%DNCBのコーンオイル溶液及び対照群にはコーンオイルのみを同様に処理した。この処理部を被覆し、48時間維持した後に刺激性及び皮膚変化を観察した。

[惹起] 22日目に剃毛した動物の左腹部に0.1mlの溶媒、右腹部に検体の80%及び40%水溶液を含んだFinn chamberを貼付し、被覆して24時間固定した。24時間後に検体を除去し、その24及び48時間後の皮膚の反応を評価した。更に29日目に同様に検体及び溶媒を処理し、同様に24時間被覆保持した後、被覆物を除去し、その24時間及び48時間後の皮膚の反応を評価した。溶媒対照はコーンオイル中にDNCBを0.2及び0.05%溶解させたものを同様に処理した。

観察項目 : 惹起貼付除去後24及び48時間目に、右腹部皮膚の感作性変化を観察した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

結 果 : 各観察時間における感作性変化が認められた動物数を下記に示した。

第1回目の惹起暴露の結果1匹が陽性反応を示し、3匹に擬陽性が認められたが、第2回目の惹起暴露ではこれらは確認されず、検体が皮膚感作性を示すような結果は得られなかった。

陽性対照であるDNCBの感作暴露時に2匹を切迫屠殺したが、残りの8匹では感作反応が認められた。

結 論 : 以上のことからアセフェート原体はモルモットの皮膚に対して感作性はないと判断された。

試験群		供試動物数	24時間後の感作反応動物数											
			紅斑					紅斑以外の反応 ³⁾						
			皮膚反応の強さ					反応の種類						
			0	1	2	3	4	Sp	Sc	E	F	Q	D	N
検体 ¹⁾	感作群(80%)	20	18	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	感作群(40%)	20	17	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	溶媒対照群	20	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
検体 ²⁾	感作群(80%)	20	15	5	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0
	感作群(40%)	20	19	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	溶媒対照群	20	16	4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
陽性対照	感作群(0.05%)	8 ⁴⁾	6	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	感作群(0.2%)	8 ⁴⁾	7	0	0	1	0	0	0	5	0	1	3	1
	溶媒対照群	8 ⁴⁾	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

試験群		供試動物数	48時間後の感作反応動物数											
			紅斑					紅斑以外の反応 ³⁾						
			皮膚反応の強さ					反応の種類						
			0	1	2	3	4	Sp	Sc	E	F	Q	D	N
検体 ¹⁾	感作群(80%)	20	18	3	0	0	0	1	0	0	0	6	0	0
	感作群(40%)	20	17	3	0	0	0	1	0	0	0	7	0	0
	溶媒対照群	20	20	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
検体 ²⁾	感作群(80%)	20	15	5	0	0	0	2	1	0	0	5	0	0
	感作群(40%)	20	19	1	0	0	0	1	2	0	0	4	0	0
	溶媒対照群	20	16	4	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
陽性対照	感作群(0.05%)	8 ⁴⁾	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	感作群(0.2%)	8 ⁴⁾	8	0	0	0	0	0	0	7	3	1	0	2
	溶媒対照群	8 ⁴⁾	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1) : 22日目の惹起暴露後の反応、

2) : 29日目の惹起暴露後の反応、

3) : セクション3.9.3で示した紅斑及び痂皮の分類中の紅斑以外の症状を示した動物数。

Sp; 斑点、Sc; 痂皮、E; 深部にまで及ぶ痂皮、F; 亀裂、Q; 剥離、D; 褪色、N; 壊死

4) : 陽性対照群は1群10匹であったが、21日目に感作暴露部位が悪化した2動物を屠殺した。

試験群		供試動物数	感作程度別動物数		
			-	±	+
検体	22日後	20	16	3	1
	29日後	20	20	0	0
陽性対照	22日後	8	0	0	8

- ; 陰性
± ; 擬陽性
+ ; 陽性

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

(4) 急性神経毒性試験

ラットを用いた急性経口投与神経毒性試験

(資料 No. 9)

試験実施機関：Huntingdon International (英国) (GLP 対応)
報告書作成年：2006 年

検体の純度：

試験動物：CrI:CD(SD)IGS BR 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、開始時 7 週齢

投与期間：2005 年 10 月 31 日～11 月 3 日

投与方法：検体を蒸留水に溶解し、0、5、20 及び 80mg/kg の用量で、目盛り付きシリンジとゴム製カテーテルを用いて単回強制経口投与した。投与容量は 10mL とした。対照群には蒸留水のみを投与した。毎日各群から同数の動物が観察できるように、機能検査を実施する順番に、各群の 20 匹を 4 バッチ(5 匹)に分け、各群の 4 バッチのうち 1 バッチずつ、4 日間連続して投与した。各動物の投与の間隔は約 1 分間、1 日の各バッチへの投与間隔は 25 分とした。動物には標準的なげっ歯類用飼料を、投与前の 1 晩及び機能検査日の最後の検査が実施されるまでの期間以外は自由に摂取させた。また公共水道から取った飲料水も自由に与えた。

用量設定根拠：10、30、100 及び 500mg/kg の用量で実施した用量設定試験に基づき、投与用量を決定した。この用量設定試験において 10mg/kg 以上の用量で運動に機能障害が認められ、500 mg/kg 投与群では全動物を切迫屠殺せざるを得なかった。100mg/kg 投与群は最大耐量であった。10mg/kg 投与群では雌に比較して雄に影響が強く認められ、振戦、円背位、活動の低下が認められた。この結果本試験に用いる用量を 0、5、20 及び 80mg/kg とした。

観察・検査項目及び結果：

死亡率；日に少なくとも 2 度観察した。投与に起因する死亡例は認められなかった。
高用量群の 1 匹が事故により負傷したため第 2 週目の終わりに屠殺した。

一般状態；日に少なくとも 2 度観察した。投与に起因した一般状態の変化は認められなかった。

体重変化；投与 7 日前、投与日(投与前)、第 8 日目、第 15 日目及び剖検前に測定した。
体重及び体重増加量には投与の影響は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；与えた飼料の重量、残存量及び漏失したと思われる量を 1 週毎に計算した。
飼料摂取量及び飼料効率には投与による影響は認められなかった。

詳細な状態の観察；試験開始前、試験第 1 日目(投与 3 時間後、投与後最も影響の現れる時間)、8 日及び 15 日目に実施した。

変化が認められた症状を次表に示す。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

検査項目	検査 時期 (日)	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	5	20	80	0	5	20	80
詳細な状態観察									
傾眠	1	5	3	0	0	4	3	0	0
円背位	1	4	2	0	0	3	3	0	0
咀嚼行為	1	0	1	4	10	0	0	0	6
振戦	1	0	0	0	6	0	0	0	1
眼瞼閉鎖	1	7	4	1	0	5	3	0	1
移動回数	1	6.7	12.5	↑14.1	5.2	34.1	26.8	27.1	↓8.6
立ち上り回数	1	3.4	6.6	5.6	1.0	19.9	14.8	12.8	↓1.7
体温	1	37.2	37.1	36.7	↓33.4	37.6	37.5	37.0	↓34.0
機能検査									
ビームブレイク(高)	1	228.3	211.7	↓219.3	↓14.2	487.2	↓267.0	↓270.9	↓46.6
ビームブレイク(低)	1	746.1	769.4	↓497.2	↓257.6	1040.7	↓776.5	↓737.8	↓348.3

Barlettの検定: ↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01

5mg/kg 投与群動物には投与に関連した変化は認められなかった。

20mg/kg 及び 80mg/kg 投与群では、1日目の最高影響時点(投与3時間後)に投与の影響が認められたが、8日目及び15日目の観察時点では認められなかった。投与の影響として認められたのは以下の通りであった。

20mg/kg 及び 80mg/kg 投与群でのうずくまり姿勢の減少、眼瞼閉鎖の減少、咀嚼動作の増加。直腸挿入体温計を用いて測定した体温が 80mg/kg 投与群で対照群に比較して平均 3.5℃低下した。20mg/kg 投与群動物でも僅かな体温の低下は認められたが統計学的に有意な差ではなかった。

何れも1日目の最高影響時点でのみ観察され、8日目及び15日目の観察時点では認められなかった。

機能検査; 試験開始前、試験第1日目(投与3時間後、投与後最も影響の現れる時間)、8日及び15日目に実施した。

5mg/kg 投与群動物には投与に関連した変化は認められなかった。

20mg/kg 及び 80mg/kg 投与群では、1日目の最高影響時点(投与3時間後)に投与の影響が認められたが、8日目及び15日目の観察時点では認められなかった。投与の影響として認められたのは以下の通りであった。

20mg/kg 及び 80mg/kg 投与群での体温の低下、尾のつまみ反応の低下、緩慢な正向反射及び 80mg/kg 投与群での聴覚驚愕反射の無反応がみられた。

自発運動の観察において、5mg/kg 投与群の雌、20mg/kg 及び 80mg/kg 投与群の雌雄においてビーム遮断係数が用量に相関して減少した。

剖検及び組織学的観察; 試験に供試した全動物を観察終了時(ケージ内で事故にあった1匹は第2週目に)バルビタールを腹腔内に過剰注入して屠殺し、剖検、組織学検査、脳の解剖学的

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

計測及び重量を測定した。尚、組織病理学的検査は対照群と高用量群の動物についてのみ実施した。

脳の解剖学的計測及び脳重量、肉眼的及び組織病理学的検査には処理による変化は認められなかった。

神経病理学検査においても処理による影響は認められなかった。

末梢神経の検査では僅かな変性の発生頻度の変動が認められたが、次表に示すように対照群及び高用量群の動物で同様の頻度で認められ、処理に関連した変化とは考えられなかった。

組織病理検査		検査 動物数	性及び用量 (ppm)			
			雄		雌	
			0	80	0	80
脛骨神経	腓腹枝	5	0	1	0	0
	膝枝	5	1	0	0	0
坐骨神経	切痕	5	0	2	1	1

以上の結果から、本試験で認められた全ての所見は一過性(投与2,3時間後に生じたが完全に回復が見られた)であり、形態学的な変化はなく、コリンエステラーゼ活性阻害(移動/立ち上がり回数の減少、振戦、姿勢における変化、体温の低下等)に起因するものであった。

本試験では20mg/kg以上の用量で明白な行動への変化が認められ、80mg/kg投与での所見は、この用量あるいはこの用量近辺が最大耐量(MTD)であることを示していた。

5mg/kg 投与の変化は投与当日に雌動物の自発運動が低下したのみであり、この用量が本試験における無毒性量(NOEL)であると考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

ニワトリを用いた急性遅発性神経毒性試験

(資料 No. 10)

試験実施機関：Covance Laboratories (米国) (GLP対応)

報告書作成年：1998年

検体純度：

試験動物：単冠白色レグホン 処理群雌42匹

開始時 56週齢、開始時体重 1243g～1818g

試験期間：42日間

試験方法：検体を蒸留水に溶解し、350mg/mlの濃度に調製して2ml/kgの容量を1回経口投与し、700mg/kgの用量とした。

陽性対照としてtri-ortho-tolyl phosphate(TOTP)をコーンオイルに混合し、300mg/mlの濃度に調製し、2ml/kgの容量を1回経口投与し、600mg/kgの用量とした。

陰性対照として蒸留水を同様に投与した。

解毒剤として5mg/kgの用量の硫酸アトロピンを、検体投与の全動物には、投与1時間後から3日の間に3から5回、陽性対照動物の一部には、投与後に1回皮下投与した。

陰性対照動物には硫酸アトロピンの投与は実施しなかった。

検体投与動物が遅発性の神経毒性を示さなかったため、投与第22日目に検体投与群及び陽性対照群の生存動物に、第1日目と同様に第2回目の投与を実施した。

飼料は第1回目及び第2回目の投与日の前の1晩及び第22及び43日目の剖検前の1晩絶食させた以外は自由に与えた。飲料水は自動給水器から自由に与えた。

用量設定根拠：400、600、800及び1000mg/kgの用量で実施した用量設定の結果、LD₅₀は440mg/kg (95%信頼限界335-578 mg/kg)、LD₇₅は538mg/kg(95%信頼限界418-2mg/kg)であったことから、LD₅₀及びLD₇₅より高い用量として本試験には700mg/kgを選択した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；各投与(第1日及び22日)の15分、1、2及び4時間後とその後は計画屠殺まで、毎日朝夕の2回一般状態及び死亡について観察した。

死亡率；検体投与群では、第3日目に1動物が死亡し、5、25及び26日目に1匹ずつ切迫屠殺した。陽性対照群では6日目に1動物が死亡し、18日目に1動物を切迫屠殺した。これら以外には、陰性対照群を含めて他に死亡例は認められなかった。

一般状態；検体投与群では、第1回目の投与1時間から24時間後及び第2回目の投与2時間から48時間後の観察時に飼料摂取量の低下、嗝嚢の拡大、運動量の低下、便の褪色、軟便及び液状便、円背位、青味がかかった冠、運動失調、閉眼、虚脱状態等が観察された。生存動物では、第1回目の投与後8日から11日また、第2回目の投与後の28日から30日の間に回復した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

陽性対照群では、第2及び3日目から飼料摂取量の低下、嚔囊の拡大、運動量の低下、便の褪色、軟便及び液状便、排便量の減少、円背位及び運動失調が認められたが、殆どの動物で4日から7日目までに回復が認められた。第12から15日までこの時期に、は全ての動物が運動量の低下、円背位、運動失調、飼料摂取量の低下、排便量の減少及び脱毛等の症状を示した。これらの症状は運動量のスコアの増加に伴って認められた。

陰性対照群の動物の殆どが試験期間中正常であったが、4匹の動物に飼料摂取量の低下、排便量の減少及び脱毛が認められた。

運動量の評価；投与第2、4、8、11、15、18及び22日に強制運動をさせて運動量を観察した。

検体投与群及び陰性対照群の動物については、第2回目投与後の第23、25、29、32、36及び43日目にも実施した。運動量の評価は、床上での姿勢、歩行状態、運動量、とまり木上での平衡状態及びとまり木からの着地を各4段階に分けて点数により数値化した。結果を次の表にまとめた。

群平均の運動量スコア

日	1*	2	4	8	11	15	18	22*	23	25	29	32	36	39	43
検 体	1.0	1.9	1.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0	1.7	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
陽性対照	1.0	1.5	1.1	1.0	1.0	1.4	2.4	2.4	—	—	—	—	—	—	—
陰性対照	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

*；投与日。 —；試験は22日で終了のため観察なし。

検体投与群動物では2、4、23及び25日目に運動量の低下を示した。

これらの症状は、第1日及び22日目の投与後に観察された急性のコリン性の症状に起因していた。第1回目の投与後7から10日、第2回目の投与後7日(29日目)には正常に復した。陽性対照であるTOTP処理動物の運動量の低下は15日目に明らかになり、22日目の観察時まで続いた。陰性対照動物では、運動量の低下は認められなかった。

体 重；体重は投与当日、その後は週に1回及び終了時の計画屠殺時に測定した。

試験途中で死亡した動物及び切迫屠殺した動物についても体重を測定した。

検体投与動物の平均体重は、第2週(8日)、3週(15日)、5週(29日)、6週(36日)及び7週(43日)に陰性対照群に比較して統計学的に有意に低下した。

TOTP投与動物の平均体重は、第2週(8日)及び4週(22日)で陰性対照群に比較して有意に低下していた。

平均体重変化は、検体投与群の各週で、TOTP投与群では1～2週(1～8日)及び2～3週(8～15日)で陰性対照群との間で統計学的に有意な差が認められた。

生化学的検査[神経毒性標的エステラーゼ(NTE)及びアセチルコリンエステラーゼ(AChE)]；

陰性対照群及び検体投与群については第1及び2回目投与の24時間及び72時間後に、TOTP投与群については第1回目投与の24時間後に、各群から無作為に3匹ずつを選別し過剰のペントバルビタールナトリウムを投与後放血屠殺して脳及び脊髄を採取した。これらの組織を液体窒素中で凍結保存し、分析機関に送付した。

定法により、AChE活性はアセチルチオコリンを基質(吸収波長、412nm)として分光光度計を用

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

いて定量した。NTE活性はフェニルバルレイトを基質(吸収波長、510nm)としてmipafax(マイパホクス)の存在下及び非存在下で、パラオクソンと共に保持した組織中における加水分解された基質の量の差で決定した。

群毎の脳及び脊髄中のNTE及びAChE活性の阻害率を次の表に示した。

脳及び脊髄組織中のAChE活性阻害率

群	脳組織中での阻害率(%)				脊髄組織中阻害率(%)			
	第1回投与後日数							
	2	4	23 ¹⁾	25 ¹⁾	2	4	23 ¹⁾	25 ¹⁾
陽性対照群 (T0TP)	39↓				11			
検体投与群 (MBI-951)	86↓	83↓	84↓	89↓	8↓	80↓	74↓	82↓

1); 第2回目投与の1及び3日後、Dunnettのt検定: ↑↓; p<0.05

脳及び脊髄組織中のNTE活性阻害率

群	脳組織中での阻害率(%)				脊髄組織中阻害率(%)			
	第1回投与後日数							
	2	4	23 ¹⁾	25 ¹⁾	2	4	23 ¹⁾	25 ¹⁾
陽性対照群 (T0TP)	91↓				63↓			
検体投与群 (MBI-951)	57↓	44	28	68↓	17	58↓	47	55↓

1); 第2回目投与の1及び3日後、Dunnettのt検定: ↑↓; p<0.05で陰性対照との間で有意差有り。

検体投与群の脳及び脊髄のAChE活性は全ての観察時点で陰性対照群と比較して統計学的に有意に阻害された。これに対して検体投与群の脳NTE活性は低下していたが、陰性対照群との間で有意差が認められたのは第2日目と25日目のみであり、また脊髄のNTE活性は第4日目と25日目のみに有意に低下した。陽性対照のT0TP投与群では脳及び脊髄中のNTE活性は陰性対照群に比較し統計学的に有意に低下し、その程度は検体投与群に比較して大きかった。

病理学的検査; 第1回目の投与22日目に各群から7匹ずつ、また43日目に陰性対照群から7匹及び検体投与群から8匹を過剰のペントバルビタールナトリウムを投与して麻酔し、体重を測定した後に放血屠殺した。

2.5%glutaraldehyde/2.0%paraformaldehydeの0.1Mリン酸緩衝液で全身還流により固定して剖検した。剖検として体の外表、全開口部、頭蓋腔、脳及び脊髄、胸腔、腹腔、骨盤腔及び内臓の肉眼的観察を実施した。組織病理学的検査は、群及び時期当たり6匹の肉眼的病変、脳(前脳、大脳、中脳、大脳/脳橋)、脊髄(上部頸管部、中位腹部、腰仙部)、末梢神経(坐骨神経両側、両脛骨、両側の末端枝)及び腓腹筋両側を上記の液で固定して実施した。パラフィンに封入後切片を作成し、ヘマトキシリン及びエオシン、Luxol fast blue(ミエリン)及びSevier-Mumger(軸索)で染色して顕微鏡観察を実施した。更に末梢神経系については2%オスミウムで後固定し、エポキシ

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

樹脂に封入してトルイジンブルーで染色して顕微鏡観察に供した。

肉眼的観察では、検体投与群及び陽性対照群の両方に皮膚の紅斑、皮下の浮腫、腹腔の腫脹及び骨格筋内の紅斑が認められたが、これらの変化は偶発的なもので、検体及びTOTPの投与に関連した変化ではなかった。組織病理学的観察では、投与に関連した病変は陰性対照群及び検体投与群の動物には認められず、TOTP投与群のみに認められた。これらの病変は、延髄、脊髄及び末梢神経中に認められ、ミエリンの変性或いは軸索の変性(腫脹或いは断裂)であった。これらの変化は既に公表されている有機リンエステルの誘導する遅発性神経毒性の症状と一致するものであった。

結論： 以上の様にニワトリに対する急性経口毒性のLD₅₀より高い用量の700mg/kgの用量のアセフェート原体を、ニワトリに3週間間隔で2度経口投与した結果、急性のコリン作働性の毒性症状は認められたが、生化学的にも病理学的にも遅発性神経毒性を示す症状は認められなかった。一方陽性対照として用いたTOTPでは、典型的な有機リンで誘導される遅発性神経毒性症状が生化学的、病理学的に認められた。本試験の前に実施した用量設定試験では、1000mg/kg投与群の全動物が硫酸アトロピン処理により解毒処置を採られていたにも係わらず、切迫状態で屠殺された。アセフェートが有機リン誘導遅発性神経毒性を誘発するには、かなり高い用量が必要とされると考えられ、その様な用量では急性のコリン作働性毒性が現れ致死に至らせる。

これらのことからアセフェート原体は、ニワトリに対して急性遅発神経毒性を誘発しないと考えられる。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(6) 90日間反復経口投与毒性

1) 4週間の回復期間を伴ったイヌを用いた90日間反復経口投与毒性試験

(資料No. 11)

試験実施機関 : Coming Hazleton (Europe) (英国) (GLP対応)

報告書作成年 : 1996年

検体純度 :

試験動物 : ビーグル犬、5~6ヶ月齢

1群雌雄各4匹、(回復試験用として対照群及び高用量群に雌雄各4匹追加)

開始時体重 雄 ; 7.45kg~10.75kg、雌 ; 6.35kg~9.65kg

試験期間 : 13週間 (1995年11月2日~1996年2月1日)

投与方法 : 検体を基礎飼料に0、50、225及び1000ppmで混入し、13週間にわたって自由に摂取させた。

検体添加飼料は週1回調製した。調製飼料は室温での保存では不安定なため、1日当たりに各動物が摂取するのに十分な量を夫々別々のプラスチックバッグにつめて凍結保存した。使用するその日に解凍して動物に与えた。飼料は毎日400gを与え、午後にその日の残量を測定した。対照群の動物には、検体を含まない基礎飼料のみを同様に与えた。

飲料水は自動給水装置により自由に与えた。

13週間の投与終了後に、対照群及び高用量群の動物に、基礎飼料のみを4週間与え回復期間とした。

用量設定根拠; 投与用量は同研究所でビーグル犬を用いて、0、50、225及び1000ppmの濃度で4週間混餌投与した用量設定試験(CLE試験番号1297/28)の結果に基づき決定した。即ち、1000ppmで赤血球数の僅かな減少と血漿及び脳コリンエステラーゼ活性の低下が認められたことから予備試験と同用量を本試験にも用いた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率; 一般状態については少なくとも日に1回観察して記録し、更に週毎に詳細な身体検査を実施した。死亡は毎日朝夕の2回観察した。

投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

死亡例は認められなかった。

体重変化 ; 体重は投与前及び週に1度、更に解剖前に測定した。

50ppm及び225ppm群の体重には検体投与の影響は認められなかった。

1000ppm投与群の殆どの動物の第1週目に体重減少(50から350g)が認められ、雌に比較して雄の方に影響が強く現れた。1000ppm投与群の第1週から13週までの体重増加量は、雌雄共対照群に比較して統計学的に有意に低下した(雄 : $p < 0.01$ 、雌 : $p < 0.05$)。

回復期間中(第13週から17週)の1000ppm群の群平均体重増加量は、対照群に比較して統計学的に有意に増加した(雌雄共 : $p < 0.01$)。

摂餌量及び飼料効率; 処理期間中の飼料摂取量を毎日記録し、g/動物/週で表した。飼料効率は各動物について体重及び週毎の飼料摂取量に基づき計算した。

50ppm群では検体投与の影響は認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

225及び1000ppm群雄動物の群平均飼料摂取量は、処理期間の前半では処理前及び対照群に比較して僅かに低値を示したが統計学的に有意差はなく、又同群雌動物では、処理期間及び回復期間中の飼料摂取量は、処理前及び対照群に比較して僅かに低く、統計学的な有意差は認められなかった。

全処理群共、飼料効率には処理の影響を示すような一定の傾向は認められなかった。

検体摂取量；各群の平均検体摂取量は以下の通りであった。

50ppm群	雄；2.1 (2.1~2.2)mg/kg/日、	雌；2.0 (1.8~2.2)mg/kg/日
225ppm群	雄；8.3 (7.9~8.6)mg/kg/日、	雌；9.8 (9.1~10.7)mg/kg/日
1000ppm群	雄；39.6(36.1~41.1)mg/kg/日、	雌；39.3 (36.8~41.2)mg/kg/日

注：括弧の前の数値は申請者の計算による。

眼 検 査；Keelerの間接検眼鏡を用いて投与前及び投与第13週目に全動物について実施した。

検査前に散瞳剤(1%tropicamide)を点眼した。

全動物共、投与による影響は認められなかった。尚第13週目の検眼により異常は認められなかったため、回復期間終了時の第17週目には眼検査は実施しなかった。

血液学的検査；投与前、投与後4、13及び17週目に全動物を一晩絶食させた後、翌朝飼料摂取前に頸静脈から血液を採取し(17週目は対照群及び高用量群のみ)、下記の項目について検査した。抗凝固剤としてETDAを用いた。

ヘモグロビン濃度 (Hb)、赤血球数 (RBC)、ヘマトクリット値 (PCV)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、網赤血球数 (RETIC)、総白血球数及びディファレンシャル白血球数、血小板数(PLAT)

また、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを用いて下記の項目について検査した。

プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

対照群と比べ統計学的に有意な差が認められた項目を次頁の表にまとめた。

13週目の高用量群の雌ではモグロビン以外の全ての検査項目で対照群との間で有意な差が認められた。赤血球数の減少、ヘマトクリット値の低下、平均赤血球色素濃度の低下、平均赤血球容積及び平均赤血球色素量の増加が認められ、統計学的に有意な差ではなかったが網赤血球数の増加も認められていたことから造血機能亢進を伴った貧血と考えられた。同群雄では同様の傾向が認められたが雌より軽い貧血あるいは貧血からの既に回復状態にあると推測された。中用量群の雄では対照群との間で有意な差が認められた項目はなかったが、雌では高用量群と同様の傾向が認められ、造血亢進を伴った貧血と推測された。

低用量群では雌のヘモグロビン及び雌雄の赤血球数の低下が認められたが、これらの変化は僅かで当該試験機関での背景データの範囲内にあり、検体投与の影響の可能性は残るが毒性学的な意義はないと考えられた。

高用量群の雌雄で投与後4及び13週間目の測定時の活性化部分トロンボプラスチン時間が統計学的に有意に長くなった。これは検体投与の影響と考えられた。中用量群でも僅かに高い値が認められたが、対照群の範囲を超えた動物が1、2匹いたため、統計学的に有意な差もなく検体投与の影響とは考えられなかった。低用量群では検体投与の影響は認められなかった。

認められた変化の大部分が、4週間の回復期間後には完全に或いは部分的に回復した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

検査項目	検査 時期 (週)	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		50	225	1000	50	225	1000
ヘモグロビン濃度	13			↓92	↓92	↓88	(86)
赤血球数	13	↓89	(96)	↓88	↓91	↓88	↓83
ヘマトクリット値	13					↓91	↓90
平均赤血球容積	13			↑106			↑108
	17			↑104			↑105
平均赤血球血色素量	13			↑105			↑105
平均赤血球血色素濃度	13					↓97	↓97
血小板数	4					↑128	
	13					↑137	↑131
	17						↑141
白血球数	4					↑132	
	13						↑123
	17						↑150
活性化部分トロンボプラスチン 時間	4			↑141			↑144
	13			↑138			↑130

Dunnett検定: ↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01、↑↓ P≤0.001、

表中の(数値は対照群に対する変動率(%))を示す。()を付した値は対照群との間に有意な差はなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査に用いた血液の血清について下記の項目の検査を実施した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アルカリフォスファターゼ(AP)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(γ-GT)、Na、K、Ca、P、Cl、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比(A/G比)、総コレステロール、グルコース、尿素、総ビリルビン(Tbil)、クレアチニン(Crea)、血漿コリンエステラーゼ(PChe)、赤血球コリンエステラーゼ(RBCChe)

又、脳コリンエステラーゼ活性については、剖検時に全動物の脳を採取し、左半分の重量を測定した後、氷冷した生理食塩水中に保存し、脳コリンエステラーゼ(Bche)活性測定に供試した。

対照群と比較して統計学的に有意な差が認められた項目を次頁の表にまとめた。

赤血球コリンエステラーゼ活性以外の検査項目では、統計学的に有意な差が認められた項目もあったが何れも濃度に相関した変化ではなく、処理の影響を示唆するような変化ではなかった。

血漿コリンエステラーゼ活性は、高用量群の雌動物で、4及び13週に対照群と比較して僅かな低下が認められたが、統計学的に有意な差ではなかった。

赤血球コリンエステラーゼ活性は、雄では中及び高用量群の13週目に、雌では中用量群の13週目に高用量群の4及び13週目に対照群と比較して有意に低下を示した。

回復期間終了時にも高用量群の赤血球コリンエステラーゼ活性は低下していたが、雌ではその程度は4及び13週に比較して軽かった。

脳コリンエステラーゼ活性は、中及び高用量群の雄及び雌の全処理群で、対照群に比較して低下を示したが、雌の高用量群以外は統計学的に有意な差ではなかった。回復期間終了時には対照群と同等であった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

他の生化学的検査項目では、有意な変化が認められた項目もあったが濃度相関がなく、検体投与に関連するとは考えられなかった。

検査項目	検査 時期 (週)	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		50	225	1000	50	225	1000
アラニンアミノトランスフェラーゼ*	4		↓66				↓73
アルカリホスファターゼ*	13		↓63				
Ca	4	↓96					
尿素	13		↑130				
クレアチニン	13		↑118				
総ビリルビン	4		↑350	↑250			
血球コリンエステラーゼ*	4						↓64
	13		↓74	↓61		↓63	↓58
	17			↓58			↓78
脳コリンエステラーゼ	13						↓46
	17						↑150

Dunnett検定: ↑↓ P≤0.05、↑▽ P≤0.01、▲▼ P≤0.001、
表中の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。

尿検査；尿試料は血液採取と同時期に、直接膀胱にカテーテルを挿入して採取し、下記の項目について測定した。

外観(色調、混濁度)、尿沈査、比重、pH*、蛋白*、グルコース*、ケトン体*、
総ビリルビン*、潜血*、ウロビリノーゲン*、含量減少物質*

*；半定量的に測定

投与に関連した尿の変化は認められなかった。

臓器重量；全動物を試験の終了時に一晚絶食させてチオペンタナトリウムを静脈内注射して屠殺し、放血後下記の臓器について重量を測定し、対体重比を計算した。

副腎、脳、心、腎、肝、肺、卵巣、脾、下垂体、前立腺、脾、精巢(精巢上体共)、
胸腺、甲状腺(上皮小体共)

左右対のある臓器は一緒にして重量を測定した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

表に示した如く統計学的に有意な差が散見されたが、雄の低用量群の副腎の絶対重量の低下及び高用量群の肝の対体重比の増加については、他の用量群及び雌には全く認められていないこと、また高用量群の回復期間後の変化については、投与期間中には対照群との間に有意な差は認められていないことから、これらの変化が検体投与との関連を示すものとは考えられなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		50	225	1000		50	225	1000	
剖検時期(週)		13	13	13	17	13	13	13	17
体重 (g)		965 (96)	1056 (105)	939 (93)	1030 (106)	779 (96)	8288 (103)	811 (100)	821 (104)
副腎	絶対重量	↓76							
肝	対体重比			↑119					
肺	対体重比				↓89				
脾	絶対重量								↓79
	対体重比								↓78
心	絶対重量								↓83
	対体重比								↓89
前立腺	絶対重量				↓42				
	対体重比				↓40				

↑: p<0.05で統計学的有意差(Dunnett, t-test)を示す。表中の()内の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。

肉眼的病理所見；全動物を試験の終了時にチオペンタトリウムを静脈内注射して屠殺し、放血後外表及び内臓の肉眼的観察を実施した。

肉眼的観察における変化は、この種及びこの齢で通常認められる症状であった。
処理に関連した病変は認められなかった。

組織病理学的所見；下記の組織を採取し、10%ホルマリン緩衝液に保存した。但し、骨髄はメタノールで、視神経はDavidson液で固定した。

副腎、大動脈、骨髄塗抹標本*、脳**、盲腸、結腸、十二指腸、眼球及び視神経、大腿骨(骨髄及び関節を含む)、胆嚢、肉眼的病変、心、回腸、空腸、腎、涙腺、肝、肺、乳腺、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、筋肉、食道、卵巣、脾、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾、脾、胸骨(骨髄を含む)、胃、精巣及び精巣上体、胸腺、甲状腺及び上皮小体、舌*、気管、膀胱、子宮、膣

** : コリンエステラーゼ活性測定のために採取した。 * を付した以外の組織は、パラフィンBPに封入し、5µmの切片にしてヘマトキシリン・エオシンで染色し、光学顕微鏡を用いて検査した。

造血組織中の細胞充満及び/または好塩基の僅かな増加を伴った僅かな骨髄過形成が、高用量群の処理終了時の殆どの雄動物と全雌動物の胸骨及び/または大腿骨に認められた。また、雌雄の脾において造血の頻度が増加した。更に脾の色素沈着の程度が対照群に比較して全般的に増加した。

回復期間終了時の高用量群の全雄動物及び殆どの雌動物の胸骨に、また高用量群の雄1匹、殆どの雌動物及び対照群の雌1匹の大腿骨に、極僅かな骨髄過形成が認められた。更に高用量群の雄1匹の肝及び雄1匹と雌2匹の脾に造血が認められた。また、雄の脾の色素沈着の頻度が増加した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

その他の組織では、この種及びこの齢の動物に通常認められる範囲内の症状であった。

結果：以上の様に、アセフェート原体を50、225、及び1000ppmの濃度で13週間にわたってビーグル犬に混餌投与した結果、1000ppm投与群雌雄の殆どの動物が第1週目に体重減少を示し、第1週から13週までの体重増加量は、雌雄共対照群に比較して統計学的に有意に低下した(雄： $p<0.01$ 、雌： $p<0.05$)。しかし、回復期間中(第13週から17週)の平均体重増加量は、対照群に比較して、有意に増加した(雌雄共： $p<0.01$)。また、225及び1000ppm群雌雄動物の群平均飼料摂取量は、統計学的に対照群との間で有意な差はなかったが、処理前及び対照群に比較して僅かに低かった。

血液検査項目に対する検体投与の影響は高用量群雌雄及び中用量群雌に見られ、赤血球数の減少、ヘマトクリット値の低下、平均赤血球色素濃度の低下、平均赤血球容積の及び平均赤血球色素量の増加が認められ、統計学的に有意な差ではなかったが網赤血球数の増加も認められていたことから造血機能亢進を伴った貧血と考えられた。13週目に最低及び最高投与群雌並びに全投与群雌で赤血球数が有意に減少した。低用量群での変化は僅かであり、当該試験機関の背景データの範囲内であったことから、検体投与の影響の可能性はあるが毒性学的に意義のある変化ではないと考えられた。

回復期間終了時の検査では、雄動物では殆ど対照群と同じであった。雌動物では、血小板数及び白血球数においてまだ影響は残っていたが、他の検査項目では、対照群と同等であった。

225及び1000ppm投与群の動物で、血漿-、赤血球-及び脳コリンエステラーゼ活性の低下が、片性か又は両性において、統計学的に有意な差がある、なしに係らず低下した。これは有機リン剤の広く知られている影響で、可逆的であることが認められた。

造血組織中の細胞充満及び/または好塩基の僅かな増加を伴った僅かな骨髓過形成が、高用量群の処理終了時の殆どの雄動物と全雌動物の胸骨及び/または大腿骨に認められた。また雌雄の脾において造血の頻度が増加した。更に脾の色素沈着の程度が対照群に比較して全般的に増加した。

回復期間終了時の高用量群の全雄動物及び殆どの雌動物の胸骨に、また高用量群の雄1匹、殆どの雌動物及び対照群の雌1匹の大腿骨に、極僅かな骨髓過形成が認められた。更に高用量群の雄1匹の肝及び雄1匹と雌2匹の脾に造血が認められた。また、雄の脾の色素沈着の頻度が増加した。その他の組織では、この種及びこの齢の動物に通常認められる範囲内の症状であった。

以上の結果から、50ppmで認められた血液学的変化は僅かではあったが、この変化により本試験では明確な無影響量は確定出来なかった。

申請者注：無毒性量は、雌雄共 50ppm (雄 ;2.1mg/kg/日、雌 ;2.0mg/kg/日)と考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

組織病理学的検査（最終計画殺動物）

臓器/組織	病理所見	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	50	225	1000	0	50	225	1000
皮膚/皮下	棘細胞増生	0	0	0	0	0	0	0	1
大腿骨/骨髄	骨髄過形成	0	0	0	3	0	0	0	4
胸骨	骨髄過形成	0	0	0	3	0	0	0	3
肝	炎症性細胞集簇	4	4	4	4	4	4	4	4
	巣状壊死	0	0	0	1	0	0	0	1
	線維化	0	0	0	0	1	0	0	1
腸間膜	リンパの過形成	2	0	0	0	0	0	0	0
脾	うっ血/出血	0	1	0	0	0	0	0	0
	色素沈着	1	2	2	3	1	3	1	3
	髓外造血	0	0	3	4	1	1	2	3
脾	顆粒減少	0	0	0	0	1	1	0	0
腎	円柱	2	0	0	0	0	0	0	0
	乳頭の鉍質沈着	4	4	4	4	4	4	4	4
	皮質の鉍質沈着	0	0	0	0	1	0	0	1
	炎症性細胞集簇	0	0	0	0	0	1	0	0
	好塩基性尿管	0	0	0	1	1	0	0	0
	巣状腎症	1	1	1	0	0	0	0	1
	腎盂炎	0	0	0	0	0	0	0	1
移行上皮過形成	0	0	0	0	1	0	0	1	
胃	鉍質沈着	1	2	0	1	1	0	1	1
胆嚢	リンパの過形成	0	0	0	0	1	0	0	0
十二指腸	うっ血/出血	1	0	0	0	0	0	0	0
回腸	うっ血/出血	1	0	0	0	0	0	0	0
盲腸	うっ血/出血	2	2	3	3	3	1	3	1
結腸	うっ血/出血	1	0	0	1	0	0	1	0
直腸	炎症	0	1	0	0	0	0	0	0
	直腸炎	0	1	0	0	0	0	0	0
子宮	発情期	—	—	—	—	1	0	1	1
膀胱	うっ血/出血	0	0	0	0	1	0	0	0
	筋炎	0	0	0	1	0	0	0	0
	膀胱炎	0	1	0	1	1	1	1	2
前立腺	炎症性細胞集簇	1	0	0	0	—	—	—	—
	前立腺炎	0	0	1	1	—	—	—	—
精巣	分節低形成	0	1	0	1	—	—	—	—
卵巢	発情期	—	—	—	—	1	0	0	1
	鉍質沈着	—	—	—	—	0	1	0	0

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

組織病理学的検査（最終計画殺動物） つづき

臓器/組織	病理所見	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	50	225	1000	0	50	225	1000
胸腺	のう胞	0	1	2	2	0	1	1	0
	萎縮	0	1	0	0	0	0	0	0
甲状腺	C細胞複合体	1	0	1	0	1	0	1	1
	のう胞性濾胞	0	0	0	1	0	0	0	0
	のう胞	2	2	0	0	1	1	1	0
上皮小体	のう胞	0	2	2	1	2	1	1	1
肺	うっ血/出血	1	0	0	0	0	1	0	0
	異所性骨	0	1	0	0	0	0	1	1
	泡沫組織球	0	0	0	0	0	0	1	0
	炎症性細胞集簇巢	0	2	2	0	1	2	3	1
	肺炎	1	0	1	0	0	0	0	1
食道	炎症性細胞集簇巢	2	1	0	0	1	1	2	1
	腺炎	0	0	0	0	1	0	0	0
下垂体	のう胞	0	0	0	0	1	1	1	1
脳	炎症性細胞集簇巢	1	0	0	0	0	1	0	0
膣	発情期	—	—	—	—	0	1	0	0

組織病理学的検査（回復試験動物）

臓器/組織	病理所見	性及び用量 (ppm)			
		雄		雌	
		0	1000	0	1000
皮膚/皮下	皮膚炎/毛包炎	1	1	2	1
大腿骨/骨髄	骨髄過形成	0	1	1	3
胸骨	骨髄過形成	0	4	0	2
肝	炎症性細胞集簇巢	4	4	4	4
	巣状壊死	0	1	0	0
	造血	0	1	0	0
脾	色素沈着	2	2	1	4
	血鉄素保有小結節	0	0	2	0
	造血	0	1	0	2
腎	円柱	0	2	0	0
	乳頭の鉍質沈着	4	4	4	4
	皮質の鉍質沈着	0	0	1	0
	炎症性細胞集簇巢	0	1	0	0

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

組織病理学的検査 (回復試験動物) つづき

臓器/組織	病理所見	性及び用量 (ppm)			
		雄		雌	
		0	1000	0	1000
腎	好塩基性尿細管	1	3	0	0
	巣状腎症	1	0	1	0
	腎盂炎	0	0	1	0
	移行上皮過形成	1	0	0	0
胃	鉍質沈着	1	1	0	0
	肉芽腫	1	0	0	0
十二指腸	うっ血/出血	0	0	1	0
回腸	うっ血/出血	0	0	0	1
盲腸	うっ血/出血	2	4	1	4
直腸	鉍質沈着	0	1	0	0
膀胱	膀胱炎	0	0	2	3
前立腺	前立腺炎	2	0	—	—
精巣	鉍質沈着	1	0	—	—
卵巣	鉍質沈着	—	—	2	0
胸腺	のう胞	1	2	1	1
下顎骨	色素沈着	0	1	1	0
	C細胞複合体	0	0	1	0
甲状腺	のう胞	2	0	0	1
	のう胞	1	1	0	1
上皮小体	のう胞	1	1	0	1
心	動脈炎	0	0	1	0
肺	うっ血/出血	0	2	0	0
	泡沫組織球	2	2	2	4
	炎症性細胞集簇	1	0	0	0
	肺炎	2	2	2	2
食道	炎症性細胞集簇	0	0	1	0
	食道炎	0	1	0	1
下垂体	のう胞	0	0	0	1
脳	炎症性細胞集簇	0	0	1	0

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

2) ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.12)

試験実施機関 : Covance Laboratories GmbH (独国) (GLP対応)

報告書作成年 : 1998年

検体純度 :

試験動物 : Crl:CD(SD)BR Sprague Dawley系ラット 1群雌雄各10匹、開始時 6週齢
開始時体重 雄 ; 129g~165g、雌 ; 117g~165g

試験期間 : 13週間 (1997年5月13日~1997年8月13日)

投与方法 : 検体を基礎飼料に0、10、500及び1500ppmになるように均一に混入し、13週間にわたって自由に摂取させた。検体添加飼料は月1回調製した。調製飼料は室温での保存では不安定なため、1日当りに各動物が摂取するのに十分な量を夫々別々のプラスチックバッグにつめて凍結保存した。使用するその日に解凍して動物に与えた。対照群には基礎飼料のみを同様に与えた。飲料水は自動給水装置により自由に摂取させた。

用量設定根拠 ; 投与用量は同研究所で1群雌雄各10匹の同系統のラットを用い、0、25、50及び1000ppmの濃度で4週間混餌投与した用量設定試験の結果に基づき決定した。即ち、1000ppmで飼料摂取量の低下に伴う体重増加抑制が僅かに認められたことにより最高用量を1500ppmとし、以下500、10ppmとした。

試験項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態については少なくとも日に1回観察して記録し、死亡については朝夕の2度観察した。

投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

雄の対照群の1例が93日目に死亡しているのが認められた。

雌動物では対照群1例、10ppm群5例、500ppm群3例及び1500ppm群の1例が86日/87日目の血液採取後に死亡しているのが認められたが、これらの死亡は生化学的検査及び追加のコリンエステラーゼ活性検査のために大量の血液を採取したことが原因で、検体投与に関連するものではなかった。

体重変化 ; 体重は投与前、第1日目及び処理期間中は週に1度、更に解剖前に測定した。

雄動物では、1500ppm投与群で、統計学的に有意な体重増加抑制が認められたが、500ppm及び10ppm投与群では体重には影響は認められず、10ppmでは対照群に比較して統計学的に有意な体重増加が認められた。

一方雌動物では、1500ppm投与群で全試験期間を通じて体重増加の抑制が認められたが、統計学的に有意な差ではなかった。500及び10ppm投与群では体重に影響は認められなかった。

摂餌量及び飼料効率 ; 処理期間中の飼料摂取量を毎日記録し、週毎に平均飼料摂取量を算出した。

1500ppm投与群の雌雄で第1週目及び第12週目の飼料摂取量が僅かに減少した。500ppm及び10ppm投与群の飼料摂取量が統計学的に有意な変化が認められた時期もあったが、毒学的に意義がある変化とは考えられなかった。

検体摂取量 ; 各群の平均検体摂取量は以下の通りであった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

10ppm群	雄; 0.7mg/kg/日、	雌; 0.8mg/kg/日
500ppm群	雄; 36.7mg/kg/日、	雌; 40.0mg/kg/日
1500ppm群	雄; 111.8mg/kg/日、	雌; 122.5mg/kg/日

血液学的検査; 投与終了時の全生存動物について約16時間絶食させた後にエーテル麻酔下で眼窩血脈洞穿刺により血液を採取し、下記の項目について検査した。

白血球数(WBC)及び白血球百分率、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HB)、ヘマトクリット値(PCV)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、網状赤血球、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)。

対照群と比較し統計学的に有意な差が認められた項目を次の表にまとめた。

検査項目	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	10	500	1500	10	500	1500
RBC			↓92			
PCV						↓93
MCHC				↑104	↑103	↑105
WBC					↑189	↑165

Dunnett の検定: ↑↓: $P \leq 0.05$ 表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

対照群の白血球数の群平均値がかなり低かった(測定値: 対照群; 3.7、低用量群; 5.3、中用量群; 7.0、高用量群; 6.1)ために500及び1500ppm投与群の値が正常範囲内にあったにも関わらず、統計学的に有意な差が認められた。その他上記の如く統計学的に有意な差が認められた項目もあったが、毒性的に重要な意義を示す変化ではなかった。

血液生化学的検査: 血液学的検査に用いた血液の血清について下記の項目の検査を実施した。

総ビリルビン、クレアチニン、尿素窒素(BU)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アルカリフォスファターゼ(AP)、グルコース、コレステロール、トリグリセロイド、P、Ca、Na、K、Cl、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比(A/G比)、血球、血漿及び脳コリンエステラーゼ活性

対照群と比較して統計学的に有意な差が認められた項目を次頁の表にまとめた。

血漿コリンエステラーゼ活性は雌の500及び1500ppm投与群で対照群と比較して統計学的に有意に低下した。

血球コリンエステラーゼ活性は、対照群を含めて群間を超えての個体別の変動が大きく、処理に関連した変化とは考えられなかった。

脳コリンエステラーゼ活性は雌の500及び1500ppm及び雄の500ppm投与群で統計学的に有意に低下した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

検査項目	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	10	500	1500	10	500	1500
総ビリルビン	↓87	↓86	↓67		↑134	
クレアチニン		↓87	↓86			↓88
尿素窒素	↓83	↓84	↓84			
AST			↓80			
トリグリセロイド					↑158	↑127
Ca		↓95	↓92			
K					↑113	↑113
血漿コリンエステラーゼ*					↓44	↓29
血球コリンエステラーゼ*	↓58					
脳コリンエステラーゼ*	↑127	↓63			↓56	↓58

Dunnett のt検定: †: P ≤ 0.05 表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

前記以外の血液生化学的検査項目には、統計学的に有意な差が認められた項目もあったが、一定の傾向は認められず、投与に起因した変化とは考えられなかった。

尿検査 ; 投与終了時の解剖前に16時間絶食させその間の尿を採取した。

尿のpH、尿量及び比重を測定し、次の項目については半定量的に定量した。

蛋白、血液(RBC/WBC)、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、窒素、遠心分離後沈殿物の検鏡(上皮細胞、白血球、赤血球、有機物、円柱及び無機物)

投与に関連した尿変化は認められなかった。

臓器重量 ; 全生存動物を試験の終了時にペントバルビタールナトリウムを皮下注射して放血屠殺して下記の臓器について重量を測定し、対体重比を計算した。

副腎、脳、心、腎、肝、卵巣、下垂体、前立腺、脾、精巣(精巣上体共)、甲状腺(上皮小体共)

対照群と比較し統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

臓器		性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	500	1500	10	500	1500
体重	実重量(g)	513.4	448.7	417.0	305.0	306.9	266.3
	対対照			↓87			
肝	絶対重量			↓83			
	対体重比						
心	絶対重量						↓85
	対体重比						
精巣	絶対重量						
	対体重比		↑113	↑120			

Dunnett のt検定: †: P ≤ 0.05 表中の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

前頁の表の如く統計学的に有意な差が散見されたが、検体投与との関連を示す変化とは考えられなかった。

肉眼的病理所見；全生存動物を試験の終了時にペントバルビタールナトリウムを皮下注射して放血屠殺して外表及び内臓の肉眼的観察を実施した。

肉眼的観察においては特筆すべき変化は認められなかった。

組織病理学的所見；途中死亡した動物を含めた全試験動物の下記の臓器を、肉眼的観察で認められた病変と共に10%ホルマリン中性緩衝液に保存した。第1群(対照群)及び第4群(1500ppm投与群)のこれらの組織をパラフィンに包埋し、5 μ mの厚さの切片を作成してヘマトキシリン及びエオシンで染色した後に顕微鏡観察を実施した。他の群の組織については固定状態で保存した。

副腎、大動脈(大動脈弓及び腹大動脈)、骨髄、脳(脳皮質、視床、中脳、髄、小脳)、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼(視神経)、心、回腸、空腸、腎、肝、肺(気管支幹を含む)、リンパ腺(下顎骨及び腸間膜)、卵巣、膵、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺(顎下腺)、坐骨神経、精囊腺、骨格筋、皮膚及び乳腺、脊髓(頸部)、脾、胸骨、胃、精巣、胸腺、舌、気管、甲状腺、膀胱、子宮、全異常病変。

組織病理学的観察においても検体投与に関連した変化は認められなかった。

結論：以上の様に、アセフェート原体を13週間にわたってラットに投与した結果、10ppm投与群では雌の平均赤血球血色素濃度の増加、雄の総ビリルビン及び尿素窒素の低下、血球コリンエステラーゼ活性の低下及び脳コリンエステラーゼ活性の増加に統計学的に有意な差が認められたが、用量相関性がないことから検体の影響とは考えられなかった。
500ppm投与群では、明らかな検体投与の毒性症状は認められなかったが、雌の血漿及び脳のコリンエステラーゼ活性が阻害され、検体投与の影響と考えられた。
1500ppm投与群では、飼料摂取量の低下、体重増加抑制が認められ、検体投与の影響であると考えられた。また脳及び血漿コリンエステラーゼ活性は、中用量群と同様に、雄では検体の影響は判然としなかったが、雌では明らかに検体の影響により低下した。

申請者注：以上の結果から、本試験におけるコリンエステラーゼ活性の影響を除いた無毒性量は、雌雄共中用量の500ppm(雄：36.7mg/kg/日、雌：40.0mg/kg/日)、コリンエステラーゼ活性の影響に関する無毒性量は、10ppm(雄：0.7mg/kg/日、雌：0.8mg/kg/日)であると考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

組織病理学的検査 (13 週計画屠殺)

臓器・所見	性及び用量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	10	500	1500	0	10	500	1500	
動物数	9	10	10	10	9	5	7	9	
腎	管腔拡張	2	1	1	1	0	0	0	3
	腎盂拡張	0	0	0	0	0	0	1	0
	尿細管空胞化	0	0	1	0	0	0	0	0
	好塩基化	4	2	2	9	2	0	1	6
	腎症	0	0	0	0	1	0	0	0
	皮質鉍質沈着	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎乳頭鉍質沈着	0	0	0	0	0	0	0	1
	浮腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	うっ血	0	1	0	0	0	0	0	0
	炎症性細胞集簇巢	4	0	0	7	4	0	1	4
	間質性腎炎	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎盂炎	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎乳頭萎縮	0	0	0	0	1	0	1	0
肝	単細胞壊死	0	0	0	0	1	0	0	0
	炎症性細胞集簇巢	7	0	0	9	8	0	0	8
肺	炎症性細胞集簇巢	3	0	0	3	2	0	0	3
	泡沫組織球増殖	0	0	0	1	0	0	0	1
下顎リンパ腺	重度うっ血/出血	3	4	2	2	3	1	1	1
	リンパ腺炎	1	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ球増生	0	0	0	0	0	0	0	1
視神経	神経症	1	0	0	1	1	0	0	0
卵巣	うっ血	-	-	-	-	1	0	0	0
脾臓	炎症性細胞集簇巢	0	0	0	0	1	0	0	0
下垂体	のう胞	1	0	0	0	0	0	0	1
	細胞空胞化	2	1	0	0	0	0	0	0
精巣	炎症性細胞集簇巢	1	0	0	0	-	-	-	-
胃	のう胞状拡張	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺	重度うっ血/出血	0	1	1	2	1	0	0	5
膀胱	炎症性細胞集簇巢	1	0	0	0	0	0	0	0
子宮	子宮水腫	-	-	-	-	0	0	0	1
	浮腫	-	-	-	-	0	0	0	1

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

組織病理学的検査 (死亡動物及び切迫殺動物)

臓器・所見	性及び用量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	10	500	1500	0	10	500	1500	
動物数	1	—	—	—	1	5	3	2	
副腎 空胞化巣	0	—	—	—	0	0	1	0	
盲腸 リンパ球増生	0	—	—	—	0	0	1	0	
十二指腸 重度うっ血/出血	0	—	—	—	1	0	0	0	
心 出血	0	—	—	—	0	1	0	0	
腎	管腔拡張	0	—	—	—	0	1	0	0
	好塩基化	0	—	—	—	0	1	0	0
	腎乳頭鉍質沈着	0	—	—	—	0	0	1	0
	うっ血	0	—	—	—	1	1	0	1
	炎症性細胞集簇巣	0	—	—	—	0	0	1	1
	腎盂腎炎	1	—	—	—	0	0	0	0
肝	単細胞壊死	1	—	—	—	0	1	0	1
	うっ血	0	—	—	—	0	0	0	2
	重度うっ血/出血	1	—	—	—	0	0	0	0
	炎症性細胞集簇巣	0	—	—	—	0	5	2	1
	脈管炎	0	—	—	—	0	0	0	1
肺	うっ血	0	—	—	—	0	0	0	1
	炎症性細胞集簇巣	0	—	—	—	1	0	0	0
下顎リンパ腺	重度うっ血/出血	0	—	—	—	1	0	0	0
	リンパ球増生	0	—	—	—	0	1	0	0
胸腺 重度うっ血/出血	0	—	—	—	1	2	2	2	
気管 うっ血	0	—	—	—	0	0	0	1	
膀胱 膀胱炎	1	—	—	—	0	0	0	0	

— ; 雄の検体投与群では試験期間中に死亡した動物がいなかったため検査はしていない。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

(資料No. 13)

試験未実施

急性経皮毒性試験成績からの考察で対応

ラットを用いた急性経皮毒性試験では、全投与動物に異常な行動及び中毒症状は認められておらず、剖検所見においても特に異常は認められなかった。これらの結果からアセフェート原体は強い経皮毒性を有する恐れはないことから、試験を省略しても良いと判断される。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(8) 90日間反復吸入毒性

(資料No. 14)

試験未実施

急性吸入毒性試験成績の考察から対応

ラットを用いた急性吸入毒性試験において処理に関連した臨床症状は、暴露直後に認められた嗜眠、振戦及び伏臥姿勢であったが、嗜眠及び振戦は暴露5時間後には消失し、伏臥姿勢を示した動物も第4日目には回復した。処理群の雄動物の体重減少が2日目まで認められたが、以後は全動物で同様の体重増加が認められた。また、剖検時の肉眼的観察では異常は認められなかった。

肺の絶対重量は対照群及び処理群で差は認められなかったが、対体重比が対照群に比較して処理群でやや高い値が認められた。これは処理群での最終体重がやや低かったことに起因したと考えられたことなどから、アセフェートの急性吸入毒性は極めて弱いと判断される。従ってアセフェート原体の反復吸入毒性試験の実施は省略しても良いと判断される。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた 13 週間反復経口投与神経毒性試験

(資料 No. 15)

試験実施機関 : Huntingdon International (英国) (GLP 対応)

報告書作成年 : 2005 年

検体純度 :

試験動物 : CrI:CD(SD)IGS BR 系ラット、

神経毒性試験 1 群雌雄各 10 匹、開始時 6 週齢

サテライト群* 1 群雌雄各 5 匹、開始時 6 週齢

* : 血液及び脳コリンエステラーゼ活性の測定

投与期間 : 2003 年 11 月 17 日～2004 年 2 月 16 日

投与方法 : 検体を粉砕した飼料に混合し、必要濃度になるように飼料のプレミックスで希釈した。対照群には白飼料のみを与えた。試験飼料は週 1 回調製した。飼料中で検体の安定性に限界があるため、各調製時に 7 等分して 1 日分用ずつに小分けし、使用時まで凍結保存(約 -20°C)した。飼料中の検体の均一性及び安定性については第 1 週、6 週及び 12 週目に投与する飼料について分析し、確認した。また公共水道から取った飲料水をポリカーボネート製ボトルから自由に摂取させた。

用量設定根拠 ; 10、500 及び 1,500ppm で以前に実施したラットの 90 日間反復経口投与毒性試験(資料番号 11)及び文献(米国 EPA/RED 1998)中に報告されている行動(後肢の弱化、正向反射及び自発運動への影響)を検討した結果、ラットの 90 日間反復経口投与毒性試験の中用量 500ppm の代わりに本試験の中用量を 100ppm とし、低及び高用量は 90 日間反復経口投与毒性試験と同じ 10 ppm 及び 1500ppm とした。

また、神経毒性を観察する群とは別に、同用量群で雌雄各 5 匹ずつ、血液及び脳コリンエステラーゼ活性測定のみを目的としてサテライト群を設けた。

観察・検査項目及び結果 :

死亡率 ; 日に少なくとも 2 度観察した。

投与に起因する死亡例は認められなかった。

一般状態 ; 日に少なくとも 2 度観察した。

試験の後期に対照群と比較して、100 及び 1500ppm 投与群の前肢の脱毛の頻度が僅かに高かった。第 2 週目に 1500ppm 投与群の雄 1 匹が痩せて歩行が不安定であった。その後の週毎の一般状態観察時に同様のことは観察されなかったが、機能検査評価時に投与群の幾匹かに歩行の変化が認められたことから、この雄 1 匹の症状は投与による影響と考えられた。

また、100ppm 及び 1500ppm 投与群動物の前肢の脱毛の発生頻度が対照群及び 10ppm 投与群と比較して僅かに増加した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

体重変化；投与開始1週間前、投与日(投与前)、投与期間中は週に1度と剖検前に測定した。

更に神経行動スクリーニング(各種刺激に対する反応、歩行、自発運動等)の1部として体重を記録した。

対照群と比較すると1500ppm投与群動物の体重増加量が投与第1週目に低く、その後も体重増加量は低いまま推移したが第1週目ほど顕著ではなかった。

10及び100ppm投与群動物の体重増加量には投与の影響は認められなかった。

投与開始(第0週)から第13週までの各群の平均体重増加量を下記の表に示した。

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
平均体重増加量(g)	298 (—)	346 116	305 102	214 ↓72	122 —	124 102	122 100	87 ↓71

下段数値は対照群に対する%。Dunnett 検定 ↑↓: p<0.01

飼料摂取量及び飼料効率；各動物に与えた飼料の重量、残存量及びこぼれ落ちた飼料の推定量を毎日記録し動物当たりの週毎の平均飼料摂取量を計算した。飼料効率は飼料摂取合計値と体重増加量から計算した。

1500ppm投与群動物の第1週目の飼料摂取量が低下したが、その後の飼料摂取量には影響は認められず、その結果全体的な飼料摂取量への影響は明らかではなかった。

10及び100ppm群の飼料摂取量には影響は認められなかった。

検体摂取量；各週の検体の飼料中の理論濃度、飼料摂取量及び体重データから算出した13週間の投与期間中の実際の群平均検体摂取量は以下の通りであった。

性別	雄	雌
投与 用量	10ppm 0.6 mg/kg/日	0.7mg/kg/日
	100ppm 6.8mg/kg/日	7.7mg/kg/日
	1500ppm 104.1mg/kg/日	122.9mg/kg/日

詳細な状態の観察；試験開始前及び試験の第2、4、8及び13週に全動物について実施した。

ケージ内観察；ケージの一部を静かに引上げ、体位、振戦、筋攣縮、痙攣、眼瞼閉鎖状態、啼鳴について観察し、夫々程度別に記録した。

第13週目に、100及び1500ppm群の数匹及び10ppm投与群雄の2、3匹がケージ内で体を丸め眠っているようになっているのが観察された。これらの所見は通常認められる症状であるが、第13週目の発生頻度分布から見ると、投与の影響であると考えられた。

その他の観察項目にはどの検体投与群も対照群との間に差は認められなかった。

ケージ内観察による第13週に多く認められた姿勢を示した動物数を次頁の表に示した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

ケージ内観察による姿勢

症状	性及び用量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	10	100	1500	0	10	100	1500	
1 群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
姿勢	円背位	1	3	5	5	0	0	0	1
	傾眠	1	1	3	3	0	0	0	1

ハンドリングによる観察；ケージから出す際の扱い易さ、ハンドリングに対する反応を5段階に、流涎、被毛及び啼鳴については4段階に、眼瞼突出及び立毛については2段階に分類して記録した。

対照群と比較して高い頻度で認められた変化は以下の通りであった。

第4、8及び13週の1500ppm投与群においては雌の約半数に粗毛が背部表面及びあるいは臀部に観察された。

これら以外の観察項目には検体投与群と対照群との間に変化は認められなかった。

ハンドリングによる観察 被毛の光沢の消失/粗毛/汚れ

観察時期	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
1 群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
2 週	0	2	3	3	1	0	0	2
4 週	2	2	3	5	1	1	1	5
8 週	6	6	8	8	1	2	2	6
13 週	5(1)	8(4)	10(4)	9(5)	3(1)	5(1)	4(1)	9(1)

程度1(軽度)及び程度2(中等度)の合計。13週については中等度を示した動物数を括弧内に示した。

ハンドリングによる観察 前肢の脱毛

観察時期	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
1 群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
2 週	0	0	2	3	0	0	0	1
4 週	0	0	1	3	0	0	1	1
8 週	0	0	3	3	0	0	0	1
13 週	0	0	3	4	1	2	0	0

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

アリーナでの観察 ;床を行動の計測ができるように 6 等分になるように区分したアリーナ(653×500mm)に動物を入れ、3 分間次の項目について観測した。

覚醒(5 段階に分類)、歩行(4 段階に分類)、身づくろい(3 段階)、また移動数は侵入した区の数を計測記録計で計測し、動物が両方の前肢を床から離して立ち上がる数を記録した。また、眼瞼閉鎖、体位、振戦、筋攣縮及び痙攣についてはケージ内動物観察と同様に観測した。更に糞粒数、糞の外観異常、尿量も程度別に記録した。

1500ppm 投与群の殆どどの動物が異常歩行を示したか、あるいは動きが非常に少ないため歩行の評価が困難であるとされた動物が各観察時期に認められた。1500ppm 投与群の雌では各観察時期に、つま先歩行が対照群に比較して多く観察された(4 匹から 6 匹、対照群では 2 匹まで)。

その他の投与群では対照群に比較して特に多く認められた異常歩行は観察されなかった。

異常歩行及び歩行の評価が出来なかった動物数を次表に示した。

アリーナでの観察 歩行

観察時期	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
1 群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
歩行評価不可能								
2 週	0	0	0	2	0	0	0	0
4 週	3	1	0	7	0	1	0	0
8 週	3	3	2	7	0	0	0	2
13 週	3	2	4	6	0	0	0	1
軽度/中等度の異常歩行								
2 週	3	1	1	4	2	1	0	6
4 週	1	1	2	1	1	0	0	6
8 週	2	0	2	0	2	2	5	4
13 週	4	1	0	2	2	1	2	5
正常歩行								
2 週	7	9	9	4	8	9	10	4
4 週	6	8	8	2	9	9	10	4
8 週	5	7	6	3	8	8	5	4
13 週	3	7	6	2	8	9	8	4

1500ppm 投与群の雄の第 4 週及び第 8 週において自覚(覚醒)の程度が明らかに低下していた。この症状は第 4 週には雄 7 匹に、第 8 週には雄 8 匹に認められた。一方対照群雄では、第 4 週で 3 匹、第 8 週では 4 匹であった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

その他の観察項目では検体投与群と対照群との間に変化は認められなかった。

機能検査：試験開始前及び試験の第2、4、8及び13週に全動物について実施した。

触診；触診により下記の検査を実施し、夫々程度別に分類し、記録した。

接近反応；動物の鼻部に探針を近付けた時の動物の反応を3段階に分類、記録した。

接触反応；動物の背部を探針で静かに撫で、その反応を3段階に分類、記録した。

聴覚驚愕反応；動物を静止させ、音源が見えないようにして突然大きな音をたてた時の動物の反応を4段階に分類、記録した。

尾のつまみ反応；動物の尾の先端から約3分の1の部位をピンセットで強くつまみ、その反応を4段階に分類、記録した。

正向反射；動物を仰向けにして腹部表面の上部をつまんで離し、正向能力を3段階に分類、記録した。

体温；直腸挿入体温計を用いて測定した。

着地肢幅；各後肢の外指を無毒性ペイントで印を付し、肩をつまんで背中を丸くさせ、30cmの高さから紙製シートの上に落とし、シートに付いたペイントの印の間の距離をmmで記録した。2反復させた。

体重；各動物の体重を測定した。

握力；握力計を用いて前肢及び後肢の握力を測定した。2度測定した。

瞳孔閉鎖反応；暗黒下に動物を置き、暗闇に慣れさせた後にライトの明光線に対する反応時の瞳孔収縮を各片目別々に観察して4段階に分類、記録した。また、その他の眼の異常についても記録した。

尾のつまみに対して、1500ppm投与群の雄に特に激しい反応が認められた。

次に過度の反応を示した各群動物数を示した。

触診による観察 尾のつまみに対して過剰反応を示した動物数

観察時期	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
1群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
2週	0	0	2	3	0	0	0	1
4週	0	0	1	3	0	0	1	1
8週	0	0	3	3	0	0	0	1
13週	0	0	3	4	1	2	0	0

その他触診観察において対照群に比較して統計学的に有意な差が認められた項目を次頁にまとめた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

触診観察で認められた主な変化

観察時期	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
1 群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
群平均着地幅 (mm)								
2 週	95	102	84	95	86	84	76	↓65
4 週	110	103	112	106	89	86	92	85
8 週	107	117	110	101	98	96	94	78
13 週	116	121	113	97	105	99	87	↓72
群平均体温 (°C)								
2 週	37.0	37.1	37.2	37.0	38.3	38.0	38.2	38.0
4 週	36.5	36.6	36.9	36.5	38.4	38.1	37.9	↓37.8
8 週	36.8	36.4	↓36.1	↓36.0	38.3	37.9	37.9	↓37.4
13 週	37.1	37.1	36.8	36.8	36.5	38.1	↓37.8	↓37.5
群平均体重 (g)								
2 週	297	309	300	↓267	207	207	209	↓189
4 週	377	397	379	↓339	239	237	238	↓212
8 週	464	501	472	↓409	274	271	269	↓239
13 週	530	575	538	↓450	301	298	301	↓258
群平均前肢握力								
2 週	0.90	0.89	0.93	0.76	0.91	0.91	0.88	↓0.73
4 週	1.10	1.06	1.11	↓0.89	0.98	1.00	0.94	↓0.72
8 週	1.24	1.08	1.14	↓0.88	0.94	0.95	0.98	↓0.62
13 週	1.18	1.15	1.15	↓0.79	0.95	0.81	0.90	↓0.72

Fisher E-検定: ↓: p<0.05、↓↓: p<0.01

着地肢幅は 1500ppm 投与群の雌で対照群に比較して小さくなった。

体温は雌の 1500ppm 投与群及び 100ppm 投与群で僅かに低下した。雄では第 8 週目の 100 及び 1500ppm 投与群で僅かに低下したが、1 検査時期のみであったため、投与の影響であるとは明確に判断できなかった。

触診期間中の体重測定は、通常の週毎の体重測定で認められた結果と同様に 1500ppm 投与群の雌雄で明らかに対照群に比較して低下していた。

また、握力測定では、雌の前肢の握力が第 2 週目を除いて、雌雄共 1500ppm 投与群の全検査時期で低下していた。

その他の検査項目には検体投与群と対照群との間には差は認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

自発運動: 動物をポリカーボネート製ケージに入れ、6分間隔で10回赤外線光線をあて、その光線の遮断回数(ビームブレイク数)を数えた。10回の光線は2つの高さ(5回は高い位置、5回は低い位置)にセットし、ケージ床の検査(横方向の動き)及び立ち上がり動作(縦方向の動き)を観察した。これらは Rodent Activity Monitoring System を用いて実施した。

自発運動の結果を次表にまとめた。

自発運動 - ビームブレイク合計数 (雄)

観察時期	ビームの位置及び用量 (ppm)							
	高い位置				低い位置			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
1群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
2週	453.0	386.7	405.1	↓265.3	1201.7	1258.3	1172.9	↓961.6
4週	389.2	490.9	461.6	314.6	1143.2	1459.4	1345.2	1088.5
8週	284.4	307.3	297.3	225.3	1221.6	1143.1	1068.5	1020.6
13週	206.0	248.4	232.0	174.2	767.3	977.5	857.8	772.1

Fisher E-検定: ↓: p<0.05、◇: p<0.01

自発運動 - ビームブレイク合計数 (雌)

観察時期	ビームの位置及び用量 (ppm)							
	高い位置				低い位置			
	0	10	100	1500	0	10	100	1500
1群当り動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
2週	428.7	365.1	451.4	↓268.8	1366.0	1097.0	1233.4	◇832.7
4週	409.0	316.0	348.3	↓221.8	1170.6	969.7	964.7	↓857.1
8週	313.9	297.4	279.5	↓184.3	1165.2	1062.5	961.0	↓861.0
13週	286.2	271.6	319.9	195.6	867.6	844.9	976.1	731.6

Fisher E-検定: ↓: p<0.05、◇: p<0.01

1500ppm 投与群の雌雄の全検査時期に高い位置のビームブレイク数が対照群に比較して低下した。低い位置のビームブレイク数の低下は第2週目の雌雄及び第4及び8週目の雌に認められた。第13週目のビームブレイク数の合計数には対照群と投与群の間に統計学的に有意な差は認められなかったが、1500ppm 投与群では最初の6分間に高い位置のビームブレイク数低下が雌に認められ、1時間の観察期間のほとんどでブレイク数が低かった。同様の傾向は雄にも認められた。

眼科学的検査: 投与第13週目に対照群及び高用量群(1500pp 群)の全動物について、双眼間接検眼鏡を用いて検査した。検査の前に各動物の瞳孔を0.5%トロピカミド検眼液を用いて散瞳させ、付属器、結膜、角膜、強膜、前房、虹彩、水晶体、ガラス体及び眼底を検査した。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

13 週間の観察期間においては投与の影響は認められなかった。

血液及び脳コリンエステラーゼ活性：

血液コリンエステラーゼ活性；投与第 1、3、5、7、9 及び 13 週に、全てのサテライト群の動物の側尾脈から血液採取した(0.5ml)。採取血液は凝固剤としてヘパリンリチウムを含有している試験管に集め、2 分間攪拌した後、3000rpm で 10 分間遠心分離して血漿を分離し、Ellman 検定法の改定法により血漿及び血球アセチルコリンエステラーゼ活性を測定した。

脳コリンエステラーゼ；13 週間の投与期間終了時に各サテライト群の動物を炭酸ガス吸入により屠殺し、剖検時に脳を除去して重量を測定した後、液体窒素中で急冷凍した後 -70 °C で保存した。この保存脳試料を上記血漿及び血球アセチルコリンエステラーゼ活性測定と同様の方法及び機器を用いて脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

夫々の活性を対照群に対するパーセンテージで表示した値を次表に示した。

血液及び脳コリンエステラーゼ活性の対照群に対する割合

観察時期	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	10	100	1500	10	100	1500
1 群当り動物数	5	5	5	5	5	5
血漿アセチルコリンエステラーゼ						
第 1 週	104	↓64	↓24	93	↓68	↓25
第 3 週	102	↓63	↓30	111	↓64	↓25
第 5 週	98	↓63	↓31	91	↓62	↓21
第 7 週	103	↓78	↓32	95	↓62	↓42
第 9 週	104	↓70	↓31	93	↓59	↓20
第 13 週	101	↓71	↓31	97	↓59	↓19
血球アセチルコリンエステラーゼ						
第 1 週	↓82	↓64	↓22	105	95	↓26
第 3 週	132	76	↓23	97	79	↓17
第 5 週	↑159	65	↓31	68	62	↓14
第 7 週	66	↑231	↓4	93	71	↓72
第 9 週	81	↓70	↓14	115	95	↓24
第 13 週	↓80	↓57	↓21	123	102	↓29
脳コリンエステラーゼ						
第 13 週	↓81	↓43	↓16	↓80	↓46	↓17

Fisher E 検定： ↑: p<0.05、 ↓: p<0.01

血漿アセチルコリンエステラーゼ活性は 100 及び 1500ppm 投与群の雌雄で全ての検査時期で統計学的に有意に低下したが、10ppm 投与群では殆んど影響は認められなかった。

血球アセチルコリンエステラーゼ活性は、1500ppm 投与群の雌雄では全検査時期で統計学的に

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社、Sinon Corporation 及び全国農業協同組合連合会にある。

有意に低下し、100ppm 投与群でも同様の傾向が認められた。10ppm 投与群では影響は判然としなかった。

脳コリンエステラーゼ活性は全投与群で統計学的に有意に低下し、明確な用量相関が認められた。1500ppm 投与群では対照群の約 6 分の 1 にまで低下し、その程度は雌雄でほぼ同様であった。

肉眼的観察：サテライト群の動物を除いて、試験に用いた全ての動物を 13 週間の投与終了後に、バルビタールを腹腔内に過剰注入して屠殺し、グルタルアルデヒド:パラホルムアルデヒド固定液で還流固定した後、組織の肉眼的観察を実施した。どの動物にも投与による変化は認められなかった。

脳重量：各動物から脳を摘出し、脳重量を測定した。

脳の絶対重量には投与の影響は認められなかった。

脳の解剖学的測定：各動物の脳を第一頸椎神経上部の脊髄から切り離し、嗅葉を除去した後、大脳半球の上部と小脳の最も下部の間の長さ及び大脳半球の最も広い部分の長さを測定した。対照群と投与群との間に上記の測定項目に差は認められず、投与の影響はなかったと判断された。

組織病理学的検査：前記で固定した動物の下記の組織について組織標本を作製してヘマトキシリン/エオシンあるいはトルイジンブルーで染色して顕微鏡観察した。尚、観察は対照群及び高用量群の動物番号の若い 5 匹の雌雄について実施した。

脳(6 部位)、脊髄、背根神経節、背根神経、腹根線維、眼(網膜)、視神経、骨格筋、坐骨神経、脛骨神経

投与による影響はどの動物にも認められなかった。

アセフェート原体を 13 週間にわたりラットに 10、100 及び 1500ppm の用量で混餌投与した結果、1500ppm 投与群での行動、認識及び前肢の握力の低下が認められ、粗毛/被毛の汚れ及び異常歩行が高い頻度で認められた。100ppm 投与群においては 1500ppm 投与群に比較して程度は軽いが同様の傾向が認められた。しかし、神経病理学的変化は認められず、脳重量、脳容積あるいは眼科学的变化もまた、認められなかった。血球及び血漿アセチルコリンエステラーゼ活性は 1500ppm 投与群では対照群に比較して統計学的に有意に低下し、同様の傾向が 100ppm 投与群でも認められたが、10ppm 投与群では投与の影響は明確ではなかった。脳コリンエステラーゼ活性は全投与群で統計学的に有意な低下を示した。このことにより本試験では無影響量は決定できなかった。しかし 10ppm 投与群で認められた生化学的变化が明確な行動への影響として現れず、またこれらの動物の体重増加量及び飼料摂取量が対照群と同様であったことから、本試験の無毒性量は 10ppm(雄: 0.6mg/kg 体重/日、雌: 0.7mg/kg 体重/日)であると考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性

(資料No.16)

未実施

急性遅発性神経毒性試験成績からの考察で対応

ニワトリに対する急性経口毒性のLD₅₀より高い用量の700mg/kgの用量のアセフェート原体を、ニワトリに3週間間隔で2度経口投与した結果、急性のコリン作働性の毒性症状は認められたが、生化学的にも病理学的にも遅発性神経毒性を示す症状は認められなかった。この試験の前に実施した用量設定試験では、1000mg/kg投与群の全動物が硫酸アトロピン処理により解毒処置を採られていたにも係わらず、切迫状態で屠殺せざるをえなかった。

アセフェートが有機リン誘導遅発性神経毒性を誘発するには、かなり高い用量が必要とされたと考えられ、その様な用量では急性のコリン作働性毒性が現れ致死に至らせる。これらのことからアセフェート原体は、ニワトリに対して急性遅発性神経毒性を誘発しないと考えられた。

以上の結果からアセフェート原体は遅発性神経毒性を有するとは考えられないことから、試験を省略しても良いと判断される。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

1) イヌを用いた1年間反復経口投与毒性試験(含回復試験)

(資料 No.17)

試験実施機関 : Covance Laboratories Limited (英国) (GLP 対応)

報告書作成年: 1999 年

検体純度 :

試験動物 : ビーグル犬

投与開始時週齢; 雌雄とも 8 ヶ月齢

投与開始時体重; 雄 5.45~9.35kg、雌 5.20~7.75kg

1 群雌雄各 4 匹、回復試験用として対照群及び高用量群のみ雌雄各 4 匹を追加

投与期間 : 52 週間(1996 年 8 月 28 日~1997 年 8 月 27 日)

回復試験 60 週間(1996 年 8 月 28 日~1997 年 10 月 22 日)

投与方法 : 検体を 0、30、175 及び 1000ppm の濃度になるように基礎飼料に均一に混合し、毎日 1 回(4 時間)投与期間中随時摂食させた。

投与用量設定根拠

先に同試験機関でビーグル犬を用い 0、50、225 及び 1000ppm の濃度で実施した 13 週間反復経口投与毒性試験(資料番号 10)の結果、高用量群の血液検査項目及び初期体重増加に対する影響がみられた。したがって、本試験の投与量を毒性作用が期待される 1000ppm を高用量とし、低用量を 30ppm とし、比例配分した 175ppm を中間用量とした。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日 2 回観察した。更に、1 週毎に詳細な身体検査を行った。

投与期間中に死亡した動物はなかった。高用量群雄 1 例に投与後 3 週目に行動低下がみられたが、これは他の動物による攻撃の結果であった。また中用量群雌の 1 例に投与 14 及び 15 週の体重測定後に痙攣/発作がみられたが、有機リン剤特有の症状は認められず、いずれも検体の投与によるものではないものと考えられた。

体重変化; 全動物について、投与 3 週前から投与期間中毎週 1 回体重を測定し、さらに剖検前に最終体重を測定した。

以下に各投与期間中の各群の体重増加量の表を示す。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

投与期間 (週)	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	175	1000	0	30	175	1000
1～13週	1.66	1.83	1.70	1.34	1.45	1.36	1.69	1.03
13～26週	0.15	0.44	-0.09	↑0.90	0.29	0.25	0.54	0.48
26～39週	0.25	0.23	0.18	0.34	0.30	0.11	0.33	0.19
39～52週	-0.03	0.11	0.03	0.20	0.06	0.08	0.11	0.14
52～60週	-0.12			↑0.71	0.14			↑0.65

Dunnnett 検定: ↑ P ≤ 0.01

高用量群の雌雄で投与 1 から 13 週までの体重増加が低い傾向を示したが、その後の増加量は対照群より大きく、回復期間中においても対照群に比較して高い値を示した。

摂餌量; 全動物について、投与 3 週前から投与期間を通じて毎日、各動物の飼料残量を測定して各個体各日の摂餌量を算出した。

高用量群の雄で投与 1 から 13 週まで、雌では投与期間中、対照群に比較して低い傾向を示した。しかし、回復期間中においては対照群と同等であった。

食餌効率は、対照群と同等であった。

検体摂取量; 各群の平均検体摂取量は次表の通りであった。

投与量 (ppm)	平均検体摂取量 (mg/kg/日)	
	雄	雌
30	1.1	1.2
175	6.9	7.4
1000	38.6	38.1

眼科学的検査; 投与開始後 26 及び 52 週目の 2 回全動物の検眼鏡による検査を行った。

いずれの投与群にも検体投与による変化は認められなかった。

血液学的検査; 投与開始前、投与開始後 13、26 及び 52 週目の 4 回全動物の頸静脈から採血し、適切な凝固剤を加えた血液を用いて以下の項目を測定した。なお、採血時には前夜一晩絶食させた。

赤血球数、ヘモグロビン量、平均赤血球容積、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球血色素量、血小板数、白血球数、白血球百分比、網赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期(週)	性及び用量(ppm)					
		雄			雌		
		30	175	1000	30	175	1000
ヘモグロビン量	13			↓ 91			
赤血球数	13		↓ 89	↓ 87			↓ 92
	52		↓ 88				↓ 90
	60						↓ 90
平均赤血球容積	13		↑ 105	↑ 107		↑ 105	↑ 107
	26		↑ 105	↑ 107		↑ 105	↑ 105
	52			↑ 106		↑ 106	↑ 106
	60						↑ 108
平均赤血球血色素量	13			↑ 105			↑ 104
	26						
	52						↑ 104
	60						↑ 105
平均赤血球血色素濃度	13			↓ 98		↓ 98	↓ 98
	26			↓ 98		↓ 97	↓ 98
	52			↓ 98		↓ 97	↓ 98
	60			↓ 98			↓ 97
APTT	13			↑ 135			↑ 134
	26			↑ 132			↑ 136
	52			↑ 127			↑ 125
	60						↓ 93

Dunnett 検定: ↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01 ↑↓ P≤0.001

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したものである。

1000ppm 投与群で 13 週時にヘモグロビン量、赤血球数及び平均赤血球血色素濃度の低下、並びに APTT、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の増加が認められ、促進することはなかったが、26 及び 52 週時においても同様の傾向を示した。回復試験においても雌の赤血球数及び平均赤血球血色素濃度の減少並びに平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の増加は回復せず検体投与の影響と考えられた。175ppm 投与群では影響は小さかったが、雄の赤血球数、平均赤血球容積及び雌の平均赤血球容積、平均赤血球血色素濃度が同様の傾向を示した。30ppm 投与群では影響は見られなかった。

血液生化学的検査;血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、グルコース、尿素、クレアチン、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、コレステロール、トリグリセライド、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、γ-GTP、血漿コリンエステラーゼ、赤血球コリンエステラーゼ、脳コリンエステラーゼ

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期 (週)	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	175	1000	30	175	1000
ALT	13			↑ 157			
	60			↑ 213			
AST	60			↑ 128			
γ-GTP	60			↑ 133			
アルブミン	13			↑ 107			
総ビリルビン	13				↑ 233		
	26				↑ 200	↑ 180	↑ 180
	52	↑ 121	↑ 136	↑ 129	↑ 138	↑ 138	↑ 123
カルシウム	13						↓ 96
カリウム	26						↓ 88
	60			↑ 118			
無機リン	26						↑ 113
総コレステロール	13						↓ 81
トリグリセライド*	13						↓ 77
血球コリンエステラーゼ*	13		↓ 64	↓ 36		↓ 61	↓ 48
	26		↓ 56	↓ 51			↓ 58
	52		↓ 40	↓ 25		↓ 46	↓ 25
脳コリンエステラーゼ*	52		↓ 64	↓ 42			↓ 52

Dunnett 検定 : ↑↓ P ≤ 0.05, ↑▽ P ≤ 0.01, ▲▼ P ≤ 0.001

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

175ppm 以上の投与群雌雄でいずれの検査時期においても赤血球コリンエステラーゼ活性の低下を示した。用量相関性もあり、検体投与に関連した変化であると考えられた。1000ppm 群の 8 週間の回復試験では対照群とほぼ同等までに回復した。

屠殺時の脳コリンエステラーゼ活性も回復試験で回復するが、同様に用量相関性のある低下が認められた。30ppm 群では低下傾向が認められたが、統計学的に有意な差はなかった。

その他、1000ppm 投与群の雄 13 週時の ALT の高値、雌 13 週時の総コレステロール低下、及び 26 週以降の全投与群の総ビリルビンの増加が認められたが、いずれも軽度であり、毒性的な意義はないものと考えられた。

その他有意な差が認められた値は投与前の値と近く、検体投与による影響とは考えられなかった。

尿検査; 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を測定した。

外観、pH、比重、蛋白、グルコース、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、含量減少物質及び尿沈渣

すべての尿検査項目において、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。

臓器重量; 投与終了後、全動物の体重を測定し、チオペンタナトリウムの静脈注射で致死させた後、以下の臓器重量を測定し、相対重量を算出した。

副腎、脳、心、腎、肝、肺、卵巣、膵、脾、下垂体、前立腺、精巣及び精巣上体、胸腺、甲状腺、子宮及び上皮小体

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

臓器		性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	175	1000	30	175	1000
体重		108	100	113	97	110	99
腎臓	相対重量			↓ 82			
下垂体	絶対重量	↑ 117				↓ 81	

ANOVA 検定：↑↓ P ≤ 0.05 表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

腎相対重量及び下垂体重量に統計学的に有意な差が認められたが、腎では関連する組織病理学的な変化はなく、下垂体では用量相関性がなく検体投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査;すべての動物について剖検を行った。

検体投与に関連した肉眼的変化はいずれの投与群にも認められなかった。

組織病理学的検査;剖検時にすべての動物から以下の臓器・組織を摘出し、10%緩衝ホルマリン液で固定後パラフィン切片を作成し、HE染色した後鏡検した。

肉眼的異常部位、副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼球及び視神経、大腿骨及び関節、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎、肝、肺、リンパ節、乳腺、筋肉、食道、卵巣、膵、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、座骨神経、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨及び骨髄、胃、精巣及び精巣上部、胸腺、甲状腺及び上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮、膣

観察された組織病理学的所見及びその発生数を別表に示した。

175ppm 以上の投与群雌雄において、用量相関性がある肝小葉中心性の炎症及び色素沈着が見られた。この所見は、8週間の回復試験においても回復しなかった。

また、血液検査の結果でヘモグロビン量、赤血球数の低下及び平均赤血球容積、平均赤血球色素量の増加と関連すると考えられる脾の色素沈着及び造血がすべての投与群に認められた。この脾における僅かな変化は、赤血球の変化に対応する生理反応と考えられた。また、30ppm 投与群での変化は、対照の範囲を僅かに超えているだけであり、毒性的には問題ないと考えられた。その他の認められた変化は、一般的にビーグル犬で見られる自然発生的な変化であり、検体投与に起因するものとは考えられなかった。

以上の結果、検体をビーグル犬に対し 1 年間反復経口投与したところ、1000ppm 投与群の雌雄で投与 13 週までの初期に体重増加及び飼料摂取量が低い傾向が示され、13 週時のヘモグロビン量、赤血球数、平均赤血球色素濃度の低下、並びに APTT、平均赤血球容積及び平均赤血球色素量の増加が認められた。また、175ppm 以上の投与群雌雄で赤血球コリンエステラーゼ活性及び脳コリンエステラーゼ活性の低下を認めた。ただし、いずれも回復試験で回復した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

組織病理学的検査では、175ppm 以上の投与群雌雄において、用量相関性がある肝小葉中心性の炎症及び色素沈着が見られた。また、脾の色素沈着及び造血がすべての投与群に認められた。この脾における僅かな変化は、赤血球の変化に対応する生理反応と考えられた。

これらすべての変化は、肝を除いて 8 週間後には回復した。また、30ppm 投与群でみられた血液検査の変化及び脳コリンエステラーゼ活性の低下は極僅かであり、毒性学的には意義がないと判断されたことにより、本試験における無毒性量は雌雄とも 30ppm (雄 ; 1.1 mg/kg/日、雌 ; 1.2mg/kg/日) と判断された。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

別表 1. 組織病理学的検査(最終屠殺)

所 見		性及び用量(ppm)							
		雄				雌			
		0	30	175	1000	0	30	175	1000
皮膚・皮下	検査例数	4	4	4	4	4	4	4	4
	肉芽腫	0	1	1	0	0	0	0	0
	うっ血/出血	0	0	1	0	0	0	0	0
乳腺	検査例数	3	4	3	2	4	4	4	4
	過形成	0	0	0	0	0	1	2	0
検査例数		4	4	4	4	4	4	4	4
坐骨神経	末梢神経障害	0	1	0	1	0	0	0	0
大腿骨	脂肪組織減少	1	2	2	2	2	1	3	0
肝	炎症性細胞集簇巣	3	3	3	1	2	3	2	0
	小葉中心性炎症/色素沈着	0	0	1	4	0	0	2	4
脾	被膜の線維化	1	0	0	0	0	0	0	0
	うっ血/出血	2	0	0	0	0	0	2	0
	色素沈着	0	1	0	4	0	2	3	2
	髓外造血	0	1	1	4	0	3	3	2
	リンパ球過形成	0	0	1	0	0	0	0	0
膵	小葉萎縮	0	0	0	1	0	1	1	0
	うっ血/出血	0	0	0	0	0	0	0	2
副腎	空胞化	1	0	0	0	0	1	0	0
腎	乳頭の鈣質沈着	4	4	3	4	4	4	4	4
	腎盂炎	0	0	0	0	2	1	0	1
	炎症性細胞集簇巣	0	1	0	0	1	1	1	0
	皮質の癒痕	0	0	0	0	0	0	0	1
胃	のう胞	0	0	0	0	0	0	1	0
	リンパ球過形成	0	0	3	0	0	0	0	0
	リンパ球性の胃炎	0	0	0	0	0	0	0	1
十二指腸	ブルネル腺腺炎/萎縮	0	0	0	0	0	0	1	0
	うっ血/出血	0	1	1	0	0	0	0	0
空腸	うっ血/出血	1	0	0	0	1	0	0	1
回腸	うっ血/出血	0	1	0	0	0	3	1	1
盲腸	うっ血/出血	4	4	4	2	4	3	4	4
結腸	うっ血/出血	1	0	1	1	1	1	3	3
子宮	発情期	-	-	-	-	1	2	3	1
膀胱	リンパ球過形成	0	0	0	0	0	1	0	0
	膀胱炎	1	1	0	0	3	3	0	1
	炎症性細胞集簇巣	0	0	0	0	0	0	2	0
前立腺	前立腺炎	2	1	0	1	-	-	-	-
	のう胞状拡張	0	0	0	1	-	-	-	-
精巣	精巣炎	1	0	0	1	-	-	-	-
	精細管萎縮	0	0	0	1	-	-	-	-
卵巣	発情期	-	-	-	-	1	2	2	1
胸腺	のう胞	2	3	2	1	2	2	1	1
下顎	リンパ球過形成	0	0	0	2	2	0	0	2
	色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	2
	刺青様色素沈着	0	0	0	0	1	0	0	0

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

別表1 組織病理学的検査(つづき)

所 見		性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	30	175	1000	0	30	175	1000
検査例数		4	4	4	4	4	4	4	4
甲状腺	のう胞	2	0	0	0	1	0	0	0
	炎症性細胞集簇	1	0	0	0	0	0	0	0
	C細胞過形成	0	0	0	0	1	0	0	0
	甲状腺炎	0	0	0	0	0	0	1	0
	形成異常	0	1	0	0	0	0	0	0
上皮小体	のう胞	1	1	1	1	0	4	1	1
心	鉍質沈着	0	0	0	0	0	0	0	1
	心筋炎	0	0	0	0	0	0	0	1
	心膜癒着	0	0	1	0	0	0	0	0
肺	炎症性細胞集簇	2	1	1	1	1	0	3	2
	肺虚脱	1	0	1	0	0	0	0	0
	気管支炎/細気管支炎	0	0	0	0	1	1	0	1
	胸膜線維化癒着	0	0	0	0	0	0	1	0
	うっ血/出血	0	0	0	0	0	0	2	0
	肺炎	0	1	1	0	0	0	1	0
	組織球	0	1	0	0	0	0	0	0
食道	炎症性細胞集簇	0	1	0	0	0	0	0	0
舌	肉芽腫	0	0	0	0	0	0	1	0
	筋炎	0	0	0	0	0	0	1	0
	炎症性細胞集簇	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体	のう胞	1	0	1	0	0	1	2	1
腹腔	先天性異常	1	0	0	0	0	0	0	0

別表2 組織病理学的検査(回復試験)

所 見		性及び用量 (ppm)			
		雄		雌	
		0	1000	0	1000
検査動物数		4	4	4	4
皮膚・皮下	膿瘍	1	0	0	0
筋肉	ミオパシー	0	0	0	1
坐骨神経	末梢神経障害	0	2	0	0
大腿骨	脂肪組織減少	0	0	2	0
肝	炎症性細胞集簇	4	0	4	1
	小葉中心性炎症/色素沈着	0	4	0	3
	線維症	0	2	0	3
腸間膜	リンパ球過形成	0	0	0	1
脾	うっ血/出血	0	1	0	0
	色素沈着	0	2	0	3
	造血	0	2	0	0
	リンパ球過形成	0	0	0	1

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

別表2 組織病理学的検査(回復試験)(つづき)

所 見		性及び用量 (ppm)			
		雄		雌	
		0	1000	0	1000
検査動物数		4	4	4	4
脾	うっ血/出血	1	0	0	0
	血管炎	0	0	0	1
腎	乳頭の鈣質沈着	3	4	1	3
	炎症性細胞集簇	0	0	2	0
	巣状腎症	0	1	0	0
	尿細管空胞化	0	0	0	2
胃	リンパ球過形成	0	0	1	0
	リンパ球性の胃炎	0	1	0	0
	うっ血/出血	0	0	0	1
	肉芽腫	0	0	1	0
十二指腸	うっ血/出血	2	3	0	0
空腸	うっ血/出血	1	0	0	0
回腸	うっ血/出血	1	0	0	1
盲腸	うっ血/出血	2	1	3	3
結腸	うっ血/出血	1	0	0	1
直腸	リンパ球過形成	0	0	0	1
	うっ血/出血	0	0	0	1
子宮	発情期	-	-	0	2
膀胱	うっ血/出血	1	0	0	0
前立腺	前立腺炎	1	1	-	-
精巣	精細管萎縮	0	1	-	-
精巣上体	動脈炎	0	1	-	-
卵巣	発情期	-	-	0	2
	鈣質沈着	-	-	0	2
胸腺	のう胞	1	0	0	0
唾液腺	炎症性細胞集簇	0	1	2	1
	小葉萎縮	1	0	0	0
下顎	リンパ球過形成	1	0	0	0
上皮小体	のう胞	2	1	2	1
心	炎症性細胞集簇	0	0	1	0
肺	炎症性細胞集簇	3	3	3	4
	気管支炎/細気管支炎	1	0	0	0
食道	炎症性細胞集簇	0	1	1	0
舌	肉芽腫	0	1	1	0
	炎症性細胞集簇	1	1	3	0
下垂体	のう胞	1	0	1	0
脳	炎症性細胞集簇	0	0	1	0
膣	発情期	0	0	0	1

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

2) ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性試験 (資料No.18)

試験実施機関: Covance Laboratories GmbH (独国) (GLP対応)
報告書作成年: 1999年

検体純度 :

供試動物 : CH:CD(SD)BR 系ラット、1群雌雄各 80 匹、開始時 7 週齢

投与開始時体重範囲: 雄 170~315g、雌 142~285g

主群; 1 群雌雄各 50 匹、投与 24 ヶ月後に全生存例を最終計画殺に供した。

衛星群; 1 群雌雄各 30 匹、投与 26 週、52 週及び 72 週後に各 10 匹を中間計画殺に供した。

投与期間 : 24 ヶ月間(104 週間) (1997 年 5 月 12 日~1999 年 5 月 28 日)

投与方法 : 検体を 0、10、500 及び 1500ppm の濃度で基礎飼料に混入し、24 ヶ月間にわたって自由に摂食させた。
検体を混入した飼料は 1 ヶ月に 1 度調整し、冷凍 (-20°C) 保存した。

投与用量設定根拠: 本試験に先立って実施したラットにおける 4 週間亜急性経口毒性試験及びラット繁殖性予備試験の結果に基づいて設定した。すなわち、4 週間亜急性経口毒性試験では、0、25、50、及び 1000ppm の濃度で、ラット繁殖性予備試験では、0、100、500、1500 及び 2000ppm の濃度で実施した結果、1000ppm 以上の濃度で飼料摂取量の低下及び体重増加抑制がみられ、2000ppm では食欲不振と瘦衰がみられた。以上の結果より本試験の投与用量を 0、10、500 及び 1500ppm と設定した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態は毎日 1 回、生死を朝夕の 2 回観察した。また、一般状態の詳細な観察を毎日 1 回行った。

検体投与に関連する一般状態の異常はみられなかった。

検体投与群の死亡数は下表の通りであり、対照群と同程度であった。

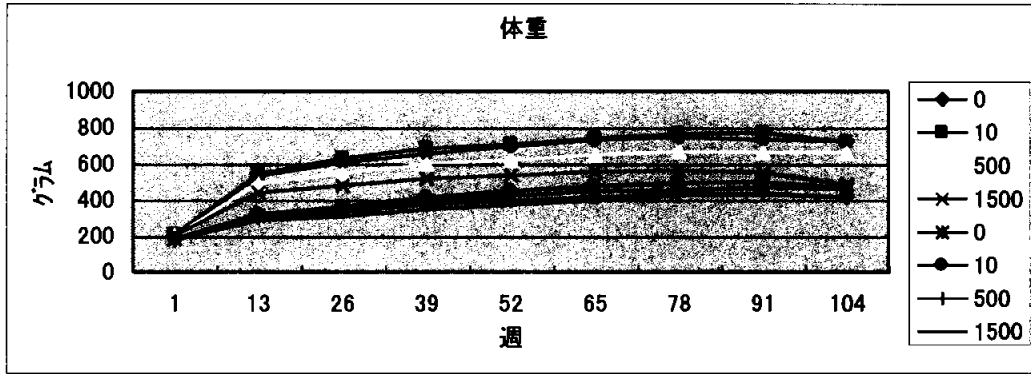
項目	検査動物数	性別及び投与量(ppm)								
		雄				雌				
		0	10	500	1500	0	10	500	1500	
計画殺	26週時	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	52週時	10	1	0	0	0	0	0	0	0
	78週時	10	0	3	0	2	3	2	3	0
主群	105週時	50	24	22	16	12	34	33	30	32

体重変化; 投与 13 週間までは毎週 1 回、その後投与終了までは 2 週毎に全動物の体重を測定した。

体重の推移を次図に、体重増加を次表に示す。500ppm 以上の投与群雄ではほぼ全期間を通じて、雌では雄に比較して軽度であったが、体重増加抑制がみられ、検体投与の影響と考えられた。

10ppm 投与群では、影響がなかった。

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。



投与期間 (週)	性別及び投与量(ppm)					
	雄			雌		
	10	500	1500	10	500	1500
1~26		↓84.6	↓68.3			
1~52			↓67.4			↓68.2
1~78		↓75.7	↓65.5			
1~105			↓59.0			

Dunnettのt検定: ↓ P ≤ 0.05

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

飼料摂取量; 投与 13 週間までは毎日、その後は 4 週毎に、1 週間毎日摂取量を測定した。

統計学的に有意差が認められた週を示す。

投与期間 (日)	性別及び投与量(ppm)							
	雄				雌			
	0	10	500	1500	0	10	500	1500
1~8	190.4	191.8	↓177.2	↓149.4	140.2	140.9	134.2	↓127.7
8~15	197.8	205.1	195.9	↓182.7	—	—	—	—
15~22	192.8	194.4	186.6	↓177.3	—	—	—	—
29~36	221.2	214.5	↓206.9	↓194.9	—	—	—	—
36~43	194.0	194.6	191.9	↓180.0	—	—	—	—
43~50	197.6	196.4	194.5	↓183.5	—	—	—	—
50~57	199.2	191.6	↑189.0	↓178.5	—	—	—	—
57~64	201.3	194.8	↓191.2	↓176.0	—	—	—	—
64~71	199.6	↑190.8	↓185.5	↓174.6	—	—	—	—
71~78	193.0	193.9	↓183.4	↓169.7	—	—	—	—
78~85	189.8	188.2	↓176.3	↓160.2	—	—	—	—
85~92	199.2	193.1	↓180.0	↓164.9	136.7	136.4	↑131.2	↑128.4
113~120	197.2	↑181.2	↓160.0	↓149.8	141.3	140.6	136.2	↑134.4
141~148	195.3	↓184.9	↓168.9	↓157.3	141.4	139.4	↑135.2	↓132.9
169~176	179.1	181.9	↓164.8	↓148.2	140.6	↑130.6	↓126.2	↓123.3
197~204	195.1	191.4	↓174.5	↓166.8	149.8	145.8	↓138.2	↓137.0
225~232	184.5	182.1	↓175.2	↓158.1	149.7	150.2	143.1	↑139.6
253~260	184.7	↓171.4	↓163.1	↓148.1	152.3	148.2	↓138.3	↓139.0
281~288	193.1	186.5	↓169.6	↓154.0	157.0	161.6	↓143.1	↓141.7
309~316	192.9	↑180.0	↓161.6	↓151.9	149.2	152.0	↓137.4	↓135.9

Dunnettのt検定: ↓ P ≤ 0.05, ↓ P ≤ 0.01, — : 有意差が認められなかった週

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

投与期間 (日)	性別及び投与量(ppm)							
	雄				雌			
	0	10	500	1500	0	10	500	1500
337~344	190.8	191.2	↓168.8	↓156.4	161.9	157.3	↓143.5	↓143.2
365~372	189.0	182.6	↓170.6	↓156.5	152.5	150.4	↓136.6	↓140.2
393~400	200.3	204.7	↓181.2	↓168.9	154.3	↑169.8	148.5	150.8
421~428	192.8	↑179.8	↓159.8	↓145.1	143.9	140.5	133.2	↓129.4
449~456	194.1	↑175.7	↓163.3	↓145.1	165.4	↓147.1	↓127.7	↓128.6
477~484	192.8	180.4	↓169.9	↓152.0	—	—	—	—
505~512	178.9	187.2	172.4	↓154.5	—	—	—	—
533~540	178.0	185.0	170.9	↓152.3	—	—	—	—
561~568	193.1	189.4	↑175.3	↓166.1	—	—	—	—
617~624	200.1	199.5	185.3	↑176.7	—	—	—	—
645~652	200.7	193.0	190.7	↓170.9	—	—	—	—
673~680	200.5	198.5	194.4	↑172.5	—	—	—	—
701~708	206.5	192.2	185.6	↓156.9	—	—	—	—

Dunnetのt検定: ↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01、—:有意差が認められなかった週

雄動物で統計学的(Dunnetのt検定)に有意な変化が1500ppm投与群の1日から22日、29日から708日に、500ppm投与群では1日から8日、29日から36日、50日から484日及び561日から568日の間に認められた。

10ppm投与群では2、3の有意な変化が認められたが、これらの変化は非常に僅かで、従って10ppm投与群では飼料摂取量には影響はなかったと判断された。

雌動物では雄動物ほど影響は大きくなかった。統計学的に有意な変化は、1500ppm投与群の1日から8日、85日から372日及び421日から456日の間に、500ppm投与では85日から92日、141日から204日、253日から372日及び421日から456日の間に認められた。10ppm投与群では2、3の有意な変化が認められたが、これらの変化は非常に僅かで、従って10ppm投与群では飼料摂取量には影響はなかったと判断された。

雌雄共500ppm以上の投与群では検体投与の影響と考えられ、10ppm投与群では影響がなかった。

検体摂取量;投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量(ppm)	性別	10	500	1500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.49	23.54	79.58
	雌	0.60	30.49	96.80

眼科学的検査;投与開始前に全動物について、さらに投与開始後26、52、78週目の計画殺及び最終屠殺時の対照群と最高用量投与群の全動物について検眼鏡による眼底検査を行った。

検体投与に関連する異常はみられなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

血液学的検査;投与開始後 26、52、78 及び 104 週目の 4 回雌雄各群 10 匹の動物の眼窩静脈から採血し、適切な抗凝固剤を加えた血液を用いて以下の検査を行った。なお、採血時は前夜から一晩絶食させた。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球血色素量、血小板数、白血球数、白血球百分比、網赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	検査時期(週)	性別及び投与量(ppm)					
		雄			雌		
		10	500	1500	10	500	1500
赤血球数	26		↓93.5	↓90.8		↓92.6	↓89.9
	52		↓87.0	↓89.8			
	78		↓85.7				
ヘモグロビン濃度	26					↓96.0	↓94.0
	52		↓87.5	↓88.5			
ヘマトクリット値	26		↓94.8			↓94.3	↓92.5
	52		↓89.0	↓90.5			
	78	↓91.1	↓83.8				
平均赤血球血色素量	26						↑104.2
	52						↑104.8
	78						↑106.6
	104						↑110.9
平均赤血球血色素濃度	52						↑104.3
プロトロンビン時間	104					↓87.3	↓87.3
活性化部分トロンボプラスチン	104					↓89.0	↓85.3
白血球数	52						↓64.9

Dunnett の t 検定: † ‡ P ≤ 0.05

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したものである。

500ppm 以上の投与群雌雄で赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の僅かな低下が認められ、投与に関連した影響と考えられた。特に、1500ppm 群雄では 104 週時でもそれぞれ対照群に対して 86%、77%、80%となり、統計学的に有意な差ではなかったが、僅かに低下し、貧血の症状が認められた。

尿検査;投与開始後 26、52、78 及び 104 週目の雌雄各群 10 匹から一晩採尿し、以下の項目の測定を行った。

色調、尿量、pH、比重、グルコース、蛋白、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び尿沈渣、窒素

検体投与に関連する異常はみられなかった。

血液生化学的検査;血液学的検査で使用した血液から得られた血清を以下の項目の測定を行った。

ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、グルコース、尿素、クレアチン、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、コレステロール、アルカリホスファターゼ、グルタミントランスフェラーゼ、AST、ALT、赤血球、血漿及び脳コリンエステラーゼ

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	検査時期 (週)	性別及び投与量(ppm)					
		雄			雌		
		10	500	1500	10	500	1500
総ビリルビン	104			+61.8			
アルカリホスファターゼ	104	+63.9	+59.9				
グルタミントランスフェラーゼ	26					+49.2	+55.8
グルコース	78		+81.7	+80.2			
総コレステロール	104			+69.3			
カルシウム	52		+96.8	+92.6			+93.2
	78			+94.3			
	104			+94.8			
塩素	104				+97.0	+96.9	+97.1
総蛋白	52		+96.0	+94.6			
	78			+94.6			
アルブミン	52			+89.5			
血漿-Chol.	26		+74.3	+57.8		+32.8	+28.7
	52		+49.3	+38.2		+43.4	+50.2
	78		+58.6	+50.7		+58.8	+50.3
	104		+74.6	+36.5		+53.3	+38.6
血球-Chol.	26		+55.2		+57.8		
	52	+79.7	+81.6	+81.5	+88.6	+86.8	
	78						
	104					+48.7	+40.4
脳-Chol.	26		+139	+163	+155	+161	+182
	52		+72.1	+65.1	+75.0	+63.6	+77.3
	78	+68.2	+45.5	+54.5			
	104	+78.6		+136		+66.7	+57.6

Dunnet の t 検定: $\uparrow \downarrow P \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したものである。

雌雄共に統計学的に有意な差が認められた検査項目・検査時期もあったが、コリンエステラーゼ活性阻害を除いて用量相関性を示すものではなく、検体投与の影響は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性については、血漿コリンエステラーゼ活性が雌雄共に用量に相関して低下し、中及び高用量群では全期間で統計学的に有意な差が認められた。赤血球コリンエステラーゼ活性は、104 週の中及び高用量群雌で有意な低下がみられ、検体投与の影響と考えられた。26 週で見られた変化は用量相関性はなく、また 52 週での変化はほぼ 20% 以下であり、毒性的な意義はないと考えられた。脳のコリンエステラーゼ活性については、雌雄間及び投与群間での個体差が大きく明確な判断はできなかった。

臓器重量; 全動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

副腎、脳、心、腎、肝、卵巣、精巣(上体を含む精巣、脾、及び甲状腺(上皮小体を含む))

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す(最終計画殺時)。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

臓器		検査 時期 (週)	性別及び投与量(ppm)					
			雄			雌		
			10	500	1500	10	500	1500
体重		26	↑110		↓79			↓88
		52			↓75			↓80
		78		↑82	↓74			
		104			↓71			
腎	絶対重量	26		↑89	↓76			
		52			↓76			↑83
		78			↓74			
		104		↑86	↓78			
	相対重量	26						↑115
104		↑88						
肝	絶対重量	26			↓74			
		52	↑113					↓77
		78		↑80	↓64		↓77	
		104		↑87	↓79			
	相対重量	78			↑115			
104								
心	絶対重量	26			↓83			
		52			↓83			
		78			↓77			↓84
		104			↑130			
脳	相対重量	26			↑121			
		52			↑126			
		78		↑130	↑140			
		104			↑142			
副腎	絶対重量	52						↓52
	相対重量	104			↑143			
甲状腺	絶対重量	104		↓76	↓69			
	相対重量	104	↑100	↑100				
脾	相対重量	104	↑142					
卵巣	絶対重量	26						↓61
精巣	絶対重量	52			↓88			
		104			↓78			
	相対重量	26			↑116			
		52			↑116			

Dunnet t-検定: ↑↓ P≤0.05、

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

500ppm以上の投与群で、雌雄とも肝、腎、甲状腺及び精巣(雄)の絶対重量が成長抑制に相関して低下した。その結果、著しい影響が見られた雄動物では相対重量も増加した。これらの変化は、体重増加抑制と関連する二次的な影響と考えられ、毒性的な意義は少ないと考えられた。

肉眼的病理検査;すべての動物について剖検を行った。

1500ppm投与群雄の104週時に精巣上体の小型化がみられ、病理検査での萎縮と一致した。それ以外には中間計画屠殺、途中死亡及び最終計画屠殺のいずれの動物においても、異常な剖検所見はみられなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

臓器及び所見			性別及び投与量(ppm)									
			雄				雌					
			0	10	500	1500	0	10	500	1500		
検査動物数			50	50	50	50						
最終屠殺	精巢上体	小	2	4	6	12						

申請者による検定; Fisher-Iwinの検定: $\hat{0}$ $P \leq 0.01$

組織病理学的検査; 剖検時にすべての動物から以下の臓器・組織を摘出し、眼及び視神経を除いて10%緩衝ホルマリン液で固定後、対照群、高用量投与群及び途中死亡の全動物について、パラフィン切片を作成し、HE染色した後鏡検した。また、中及び低用量投与群の全動物については、肝、肺、腎、鼻甲介及び剖検による病変部位について鏡検した。

肉眼的異常部位、副腎、大動脈(大動脈弓及び腹部大動脈)、脳、盲腸、結腸、十二指腸、食道、眼及び視神経、大腿骨及び関節、胆嚢、ハーダー腺、心、回腸、空腸、肝、涙腺、肺及び気管支幹、リンパ節、乳腺、鼻腔、卵巣、膝、末梢神経、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精嚢、骨格筋、皮膚、脊髄、脾、胸骨及び骨髄、胃、精巢、胸腺、甲状腺及び上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮、膣、ジンバル腺

鼻腔にみられた検体投与に起因すると考えられる組織病理学的所見及びその発生数を次表に示した。

500ppm以上の投与群雌雄の動物に嗅上皮変性再生、鼻甲介変形癒着、鼻腔管内残渣、及び1500ppm投与群雌雄の動物に鼻炎、扁平上皮過形成が有意に増加した。鼻腔の腫瘍性病変については、500ppm以上の投与群雌動物において増加傾向であった。

これら用量相関性の病理所見は、粉末餌に混合した本剤をラットの口部及び鼻部周辺から局所的にしかも連続的に暴露及び微粉末の吸入した結果であると考えられた。

その他の器官、組織では、検体に関連する全身性の毒性及び腫瘍性に係わる所見は認められなかった。10ppmは無作用量であった。

以上の結果から、本検体の104週間混餌経口投与によるラット慢性/発癌性併合試験における影響としては、500ppm以上の投与群雌雄の動物でみられた摂餌量の低下、体重増加抑制及び1500ppm投与群雄での貧血であった。組織病理学的な検査結果では、500ppm以上の投与群雌雄の動物に嗅上皮変性再生、鼻甲介変形癒着、鼻腔管内残渣、及び1500ppm投与群雌雄の動物に鼻炎、扁平上皮過形成が有意に増加した。また、鼻腔の腫瘍性病変が500ppm以上の投与群雌動物において増加傾向であった。

さらに、コリンエステラーゼ活性については、血漿コリンエステラーゼ活性が雌雄共に用量に相関して低下し、中及び高用量群では全期間で統計学的に有意な差が認められた。赤血球コリンエステラーゼ活性は、104週の中及び高用量群雌で有意な低下がみられ、検体投与の影響と考えられた。26週で見られた変化は用量相関性はなく、また52週での変化はほぼ20%以下であり、毒性的な意義はないと考えられた。脳のコリンエステラーゼ活性については、雌雄間及び投与群間での個体差が大きく明確な判断はできなかった。

申請者注: 以上のことから、本試験の無影響量は雌雄とも10ppm以下、無毒性量は10ppm(雄:0.49mg/kg/日、雌:0.60mg/kg/日)と判断される。発がん性は最高用量の1500ppmでも認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

変化が認められた鼻腔の主な病変

鼻腔病変		性別及び投与量(ppm)							
		雄				雌			
		0	10	500	1500	0	10	500	1500
26週 途中計画殺 動物	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	嗅上皮変性/再生	0	0	↑10	↑10	0	0	↑10	↑10
	鼻甲介変形癒着	0	0	3	↑7	0	0	↑5	↑4
	管内残渣	0	0	0	2	0	0	1	2
52週 途中計画殺 動物	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	嗅上皮変性/再生	0	0	↑10	↑10	0	0	↑10	↑10
	鼻甲介変形癒着	0	0	↑7	↑7	0	0	↑9	↑10
	管内残渣	0	0	0	↑4	0	0	1	2
78週 途中計画殺 動物	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	嗅上皮変性/再生	0	0	10	10	0	0	10	10
	鼻甲介変形癒着	0	0	6	9	0	0	6	9
	管内残渣	0	0	3	5	0	0	3	5
	鼻炎	0	1	1	4	1	1	1	1
	扁平上皮化生	0	0	0	0	0	0	0	1
	扁平上皮過形成	0	0	0	1	0	0	0	0
	横紋筋肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
104週 最終計画殺 動物	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	嗅上皮変性/再生	0	1	↑49	↑49	2	0	↑50	↑50
	鼻甲介変形癒着	0	1	↑40	↑40	0	0	↑36	↑39
	管内残渣	1	4	↑11	↑9	0	1	↑8	↑18
	鼻炎	8	6	8	↑18	0	0	6	↑14
	腺腫様過形成	0	0	1	↑4	0	0	0	2
	基底細胞過形成	0	0	0	1	0	0	0	1
	扁平上皮過形成	0	0	3	3	0	0	2	↑6
	腺腫	1	0	1	0	0	0	0	1
	鼻腔神経上皮腫	0	0	1	1	0	0	2	0
	扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	0	1
横紋筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	

Fisher exact検定：↑ P≤0.05、↑ P≤0.01

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

非腫瘍性病変

臓器及び所見			性別及び投与量(ppm)							
			雄				雌			
			0	10	500	1500	0	10	500	1500
26週 途中計画殺 動物	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	鼻腔	嗅上皮変性/再生	0	0	↑10	↑10	0	0	↑10	↑10
		鼻甲介変形癒着	0	0	3	↑7	0	0	↑5	↑4
		管内残渣	0	0	0	↑4	0	0	1	2
52週 途中計画殺 動物	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	鼻腔	嗅上皮変性/再生	0	0	↑10	↑10	0	0	↑10	↑10
		鼻甲介変形癒着	0	0	↑7	↑7	0	0	↑9	↑10
		管内残渣	0	0	0	↑4	0	0	1	2
78週 途中計画殺 動物	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	鼻腔	嗅上皮変性/再生	0	0	10	10	0	0	10	10
		鼻甲介変形癒着	0	0	6	9	0	0	6	9
		管内残渣	0	0	3	5	0	0	3	5
104週 最終計画殺 動物	検査動物数		50	25	16	48	49	33	33	49
	腸間膜	組織球集簇	3	6	6	↑13	5	4	10	7
	検査動物数		50	27	21	49	-	-	-	-
	精囊腺	収縮	0	3	6	↑8	-	-	-	-
	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	鼻腔	嗅上皮変性/再生	0	1	↑49	↑49	2	0	↑50	↑50
		鼻甲介変形癒着	0	1	↑40	↑43	0	0	↑36	↑39
		管内残渣	1	4	↑11	↑9	0	1	↑8	↑18
		鼻炎	8	6	8	↑18	0	0	6	↑14
		腺腫様過形成	0	0	1	↑4	0	0	0	2
扁平上皮過形成		0	0	3	3	0	0	2	↑6	

申請者による検定; Fisher-Irwin検定: † P≤0.05, ‡ P≤0.01

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

腫瘍性病変

臓器及び所見			性別及び投与量(ppm)							
			雄				雌			
			0	10	500	1500	0	10	500	1500
26 週途中 計画殺動物	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	乳腺	癌	—	—	—	—	1	0	0	0
52 週途中 計画殺動物	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	乳腺	線維腺腫	—	—	—	—	1	1	1	0
		腺腫	—	—	—	—	0	1	0	0
		癌	—	—	—	—	0	2	0	0
	甲状腺	C細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	1
下垂体	腺腫	0	0	0	0	2	2	3	1	
78 週途中 計画殺動物	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	皮膚	線維腫	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺	線維腺腫	—	—	—	—	1	3	0	2
		腺腫	—	—	—	—	1	0	1	2
		癌	—	—	—	—	1	1	0	2
	肝	肝細胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎	良性褐色細胞腫	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎	尿細管腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0
	卵巣	管状間質性腺腫	—	—	—	—	0	0	0	1
	子宮	ポリープ	—	—	—	—	1	0	1	0
		肉腫	—	—	—	—	0	0	1	0
	膣	良性顆粒細胞腫	—	—	—	—	0	0	0	1
	舌	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	C細胞腺腫	1	0	0	1	0	0	0	1
		濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1
	上皮小体	腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	下垂体	腺腫	6	1	0	1	6	8	1	4
	脊髄	星状膠細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	1
	鼻腔	横紋筋肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
	耳	神経線維肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0
104 週 最終計画殺動物	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	皮膚	脂肪腫	0	1	0	0	0	1	1	0
		線維腫	1	2	2	2	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0
		基底細胞腫	1	0	0	0	0	0	1	0
		皮脂腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
		毛嚢腫瘍	0	1	0	1	0	1	0	0
		神経線維腫	0	1	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌	0	0	0	0	2	0	0	0
		肉腫	0	2	0	1	1	0	1	0
		組織球性肉腫	0	0	1	3	0	0	0	0
		悪性シュワン細胞腫	0	1	0	0	0	0	0	0
	平滑筋肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	
	乳腺	線維腺腫	—	—	—	—	23	26	12	19
		腺腫	—	—	—	—	3	4	4	4
		癌	—	—	—	—	6	10	5	7
		癌肉腫	—	—	—	—	0	1	1	0
	肝	肝細胞腺腫	0	0	2	2	1	0	2	0
		肝細胞癌	0	0	0	1	0	0	0	0

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

腫瘍性病変(つづき)

臓器及び所見		性別及び投与量(ppm)							
		雄				雌			
		0	10	500	1500	0	10	500	1500
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
脾	血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0
腸間膜	血管腫	0	0	0	0	0	1	9	1
膵	島細胞腺腫	4	0	0	1	0	0	0	0
	島細胞癌	0	0	1	0	0	0	0	1
	腺房細胞腺癌	0	0	0	1	0	0	0	0
胃	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1	0	0	0	0
副腎	良性褐色細胞腫	13	9	8	8	5	2	2	1
	皮質腺腫	0	1	0	1	1	0	0	0
	悪性褐色細胞腫	1	0	3	0	1	0	0	0
	皮質癌	0	1	0	0	0	0	0	0
腎	脂肪腫	0	0	0	0	0	1	0	0
	尿細管細胞腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
	肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1
	脂肪肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
精巣	間細胞腺腫	1	0	1	0	—	—	—	—
	良性中皮腫	1	0	0	0	—	—	—	—
卵巣	管状間質腺腫	—	—	—	—	1	0	1	0
子宮	良性顆粒細胞腫	—	—	—	—	0	0	1	0
	ポリープ	—	—	—	—	2	2	2	1
	癌	—	—	—	—	0	0	1	0
	肉腫	—	—	—	—	0	1	1	1
	悪性シュワン細胞腫	—	—	—	—	0	0	0	1
膣	良性顆粒細胞腫	—	—	—	—	1	0	0	1
	扁平上皮乳頭腫	—	—	—	—	0	0	0	1
	肉腫	—	—	—	—	0	0	0	1
検査動物数		47	23	16	43	45	35	31	47
胸腺	良性胸腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0
	悪性胸腺腫	0	0	0	0	0	2	0	0
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
心	良性シュワン細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	1
検査動物数		50	25	16	50	50	34	33	50
舌	良性顆粒細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0
検査動物数		47	27	21	49	50	35	34	48
甲状腺	良性C細胞腺腫	12	1	4	6	3	4	3	5
	悪性C細胞腺腫	0	0	1	2	0	1	0	1
	良性濾胞細胞腺腫	0	0	0	2	0	0	0	1
	悪性濾胞細胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
検査動物数		49	23	17	49	48	24	31	47
上皮小体	腺腫	0	0	0	2	1	0	0	0
検査動物数		49	34	24	49	50	49	44	50
下垂体	腺腫	28	23	14	18	41	43	40	34
	癌	0	0	0	0	0	2	0	0
検査動物数		50	25	16	50	50	35	33	50
脳	悪性稀突起膠腫	1	0	0	1	0	0	0	0
	悪性星状膠腫	0	0	0	0	1	0	0	1

104週
最終計画殺
動物

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

腫瘍性病変(つづき)

臓器及び所見		性別及び投与量(ppm)								
		雄				雌				
		0	10	500	1500	0	10	500	1500	
104 週 最終計画殺 動物	検査動物数		44	24	13	48	48	32	29	49
	外耳道腺	腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
		癌	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		50	25	17	50	50	35	33	50
	リンパ腺	リンパ白血病	2	0	0	2	0	0	0	1
		顆粒性白血病	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(リンパ球)	0	0	1	1	0	0	0	1
		悪性リンパ腫(多形成)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	鼻腔	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1	0	0	0	0
		腺腫	1	0	1	0	0	0	0	1
		鼻腔神経上皮腫	0	0	1	1	0	0	2	0
		扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	0	1
		横紋筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		31	30	36	26	33	36	25	26
	四肢	肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		0	0	1	2	1	0	3	0
	尾	角化棘細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		1	2	3	1	1	2	1	1
	腹腔	悪性シュワン細胞腫	1	0	0	0	0	0	0	0
組織球肉腫		0	1	0	0	0	0	0	0	

申請者による検定; Fisher-Iwin 検定: †† P ≤ 0.05, †‡ P ≤ 0.01

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

3) マウスを用いた経口投与(混餌)による発がん性試験

(資料No. 19)

試験実施機関: Covance Laboratories GmbH(独国)(GLP 対応)

報告書作成年: 1999 年

検体純度 :

供試動物 : Crl:CD-1(CR)BR 系マウス、1群雌雄各 50 匹、

投与開始時7週齢

投与開始時体重範囲; 雄 26.4~36.2g、雌 21.1~28.3g

投与期間 : 18ヶ月間(80週間)(1997年1月20日~1998年8月7日)

投与方法 : 検体を 0、50、160 及び 500ppm の濃度で基礎飼料に混合し、18ヶ月間にわたって自由に摂取させた。

検体を混合した飼料は1ヶ月に1度調製し、冷凍(-20℃)保存した。

投与用量設定根拠; 同機関で検体を 0、50、500、750、1000ppm の投与量で実施した 13 週間混餌投与試験の結果、500ppm 以上の投与群で呼吸困難、食欲不振及び自発運動の低下等の症状を示し、摂餌量の低下及び体重増加抑制がみられた。また、赤血球、血漿及び脳コリンエステラーゼ活性の低下があり、肝重量の増加が認められた。

以上の結果より、検体投与の影響がでることが想定される 500ppm を最高用量とし、以下公比を約 3 とした 0、50、160 及び 500ppm を本試験の投与量とした。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態は毎日1回、生死を朝夕の2回観察した。また、一般状態の詳細な観察を毎日1回行った。

変化が認められた症状を次表に示す。

所見	性別及び用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	160	500	0	50	160	500
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
呼吸困難	0	0	0	6	0	0	0	3
眼球混濁	1	2	7	7	6	4	4	4

高用量群の雌雄において初期に呼吸困難を示す個体があった以外には検体投与による影響は認められなかった。群間で腫瘍の発生に差が見られたが、検体投与による毒性作用を示すようなものではなかった。また、眼の混濁の発生は、検体投与の直接的な影響ではなく、眼窩静脈叢から出血が繰り返し起こったことによるものと考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

検体投与群の死亡数は次表の通りであり、対照群と同程度であった。

死亡分類	性別及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	160	500	0	50	160	500
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡、瀕死	8	7	7	12	9	3	16	15
事故死	0	0	0	0	0	1	0	0

体重変化：投与 13 週間までは毎週 1 回、その後投与終了までは 2 週毎に全動物の体重を測定した。

投与群の体重に対照群と比較して統計学的に有意な変動のあった投与週を次表に示す。

投与週	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	160	500	50	160	500
2			↓ 88			↓ 86
3			↓ 88			↓ 86
4			↓ 91			↓ 91
5			↓ 90			↓ 91
6			↓ 91			↓ 91
7			↓ 90			↓ 92
8			↓ 89			↓ 92
9			↓ 88			↓ 94
10			↓ 91			↓ 92
11			↓ 90			↓ 94
12			↓ 89			↓ 93
13			↓ 89			↓ 92
15			↓ 89		↑ 105	↓ 92
17			↓ 86		↑ 106	↓ 94
19			↓ 85		↑ 107	↓ 94
21			↓ 85		↑ 108	↓ 95
23			↓ 85		↑ 105	↓ 92
25			↓ 75			↓ 93
27			↓ 85		↑ 107	↓ 95
29			↓ 92			↓ 92
31			↓ 85			↓ 94
33			↓ 85			↓ 94
35			↓ 85			↓ 94
37			↓ 85			↓ 94
39			↓ 84			↓ 95
41			↓ 84			↓ 94
43			↓ 82			↓ 94
45		↓ 96	↓ 84			↓ 94
47			↓ 87	↑ 107		
49			↓ 85			↓ 92
51			↓ 84			
53			↓ 84			
55		↓ 85	↓ 84			

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(つづき)

投与週	性別及び投与量(ppm)					
	雄			雌		
	50	160	500	50	160	500
57		↓ 94	↓ 84			
59		↓ 94	↓ 85			↓ 94
61		↓ 92	↓ 84	↑ 106		
63		↓ 93	↓ 84			↓ 93
65		↓ 94	↓ 86			↓ 93
67		↓ 91	↓ 84			
69		↓ 92	↓ 84			
71		↓ 93	↓ 86			
73		↓ 91	↓ 84			
77		↓ 91	↓ 84			
79		↓ 90	↓ 82			
81		↓ 92	↓ 84			

Dunnett の t検定: ↑↓ P≤0.05, ↓ P≤0.01

表中の()内の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

160ppm以上の投与群雄及び500ppm投与群雌で体重抑制がみられ、検体投与の影響と考えられた。とくに雄では、投与80週後の体重増加抑制率が、160ppm投与群で28.2%、500ppm投与群で53.2%と対照群に比して有意に抑制された。

摂餌量; 投与13週間までは毎日、その後は4週毎に、1週間毎日摂餌量を測定した。

500ppm投与群では雌雄とも全期間を通じて摂餌量が有意に低下した。160ppm以下の投与群においても投与の一定期間において摂餌量の低下が認められ、検体の影響と考えられた。

検体摂取量; 投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量(ppm)		50	160	500
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	7.85	25.05	81.38
	雌	9.67	30.55	90.13

血液学的検査; 投与開始後52、78週目及び最終屠殺時の3回対照及び高用量群の全動物の眼窩血脈から採血し、血液塗抹標本を作製し白血球百分比を測定した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	検査時期	性別及び投与量(ppm)			
		雄		雌	
		0	500	50	500
WBC-Bc(%)	78	2	↑5		
	81	4	↑6		
リンパ球数(%)	78	67	↓60		
	81	67	↓62		

Dunnett の t検定: ↑↓ : p<0.05

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

2項目において対照群と比べ有意な変化が認められたが、差は小さく検体によるものではなく、偶発的なものと考えられた。

血液生化学的検査;最終屠殺時、全群の雌雄各10匹から採血し、赤血球及び血漿コリンエステラーゼ並びに脳コリンエステラーゼ濃度を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目 (コリンエステラーゼ濃度)	性別及び投与量(ppm)					
	雄			雌		
	50	160	500	50	160	500
赤血球	↓72	↓77	↓73	↓65	↓63	↓60
血漿	↓40	↓18	↓9	↓30	↓8	↓8
脳	↓74	↓56	↓49	↓64	↓55	↓52

Dunnettのt検定: ↓; p<0.05

表中の()内の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したものである。

雄の赤血球コリンエステラーゼは、用量相関性が認められなかったが、その他のコリンエステラーゼ活性については、いずれも有意に低下し、用量相関性が認められた。

肉眼的病理検査;すべての動物について剖検を行った。

対照群と比べ発生が多く認められた項目を次表に示す。

臓器及び所見		性及び用量(ppm)							
		雄				雌			
		0	50	160	500	0	50	160	500
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肺	褪色病巣	1	5	4	26	2	4	17	27
肝	褪色病巣	1	1	1	3	1	1	2	6
	斑状	1	0	0	4	0	0	0	10
	腫瘤	2	5	4	6	1	0	1	9

剖検で認められた高用量投与群の雄及び中用量以上の投与群雌での肺の褪色病巣並びに高用量投与群雌雄にみられた肝の褪色病巣、斑状及び腫瘤は、各臓器の組織病理学検査結果と関連するものであり、検体投与による影響と考えられた。

組織病理学的検査;剖検時にすべての動物から以下の臓器・組織を摘出し、10%緩衝ホルマリン液で固定後、対照群、高用量投与群及び途中死亡の全動物について、パラフィン切片を作製し、HE染色した後鏡検した。また、中及び低用量群の全動物については、肝、肺、腎、鼻腔及び剖検による病変部位について鏡検した。

肉眼的異常部位、副腎、大動脈(大動脈弓及び腹部大動脈)、脳、盲腸、結腸、十二指腸、食道、眼及び視神経、大腿骨及び関節、胆嚢、ハーダー腺、心、回腸、空腸、腎、涙腺、肝、肺及び気管支幹、リンパ節、乳腺、鼻甲介、卵巣、脾、末梢神経、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄、脾、胸骨及び骨髄、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮、膈

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

変化が認められた主な組織病理学的所見及びその発生数を次頁以降に示した。

主として、呼吸器及び肝に種々の所見の発生頻度が用量に関連して増加する傾向にあった。

呼吸器官の病変としては、全投与群の雌雄で肺の組織球の色素沈着及び鼻炎を伴った鼻腔の嗅上皮の変性/再生が増加傾向を示し、高用量群の雄及び雌の夫々1匹に腺腫及び新生癌が最終的に認められた。

これら用量相関性が認められた病理所見は、粉末餌に混合した本剤をマウスの口部及び鼻部周辺から局部的にしかも連続的に暴露及び微粉末の吸入した結果であると考えられた。

投与に関連した肝の組織病理学的所見としては、中用量以上の雌雄の肝細胞の巨大細胞/巨大核、組織球色素沈着及び高用量群(500ppm)雌での肝細胞腫瘍の増加であった。

その他の腫瘍性病変には有意な増加はなかった。

以上の結果、本検体の経口投与(混餌)による発癌性試験における影響として、160ppm以上の投与群雄及び500ppm投与群雌で体重抑制及び摂餌量の低下がみられ、検体投与の影響と考えられた。また、雄の赤血球コリンエステラーゼは、用量相関性が認められなかったが、その他のコリンエステラーゼ濃度については、いずれも有意に低下し、用量相関性が認められた。組織病理学的検査では、呼吸器及び肝に種々の所見の発生頻度が用量に関連して増加する傾向にあった。呼吸器官の病変としては、全投与群の雌雄で肺の組織球の色素沈着及び鼻炎を伴った鼻腔の嗅上皮の変性/再生が用量に関連して増加傾向を示し、高用量群の雄及び雌の夫々1匹に腺腫及び未分化癌が最終的に認められた。これら用量相関性の病理所見は、粉末餌に混合した本剤をマウスの口部及び鼻部周辺から局部的にしかも連続的に暴露及び微粉末を吸入した結果であると考えられた。

投与に関連した肝の組織病理学的所見としては、160ppm以上の投与群雌雄の肝細胞の巨大細胞/巨大核、組織球色素沈着及び高用量群(500ppm)雌での肝細胞腫瘍の増加であった。これらの変化は、検体投与に関連した影響であると考えられた。その他の腫瘍性病変に有意な増加はなかった。

これらの結果から、本試験におけるコリンエステラーゼ活性の影響を除いた無毒性量(NOEL)は、低用量の50ppm(雄;7.85mg/kg/日、雌;9.67mg/kg/日)であると考えられた。コリンエステラーゼ活性の影響に関する無毒性量は、50ppm以下(雄;7.85mg/kg/日、雌;9.67mg/kg/日)であった。また、腫瘍性病変に関しての無影響量は、中用量の160ppm(雄;25.05mg/kg/日、雌;30.55mg/kg/日)であると考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

表 1. 非腫瘍性病変

発生頻度が対照群に比較して統計学的に有意に増減した所見を次表に示す。

臓器及び所見		性及び用量(ppm)							
		雄				雌			
		0	50	160	500	0	50	160	500
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肝	単細胞壊死	3	4	5	↑14	6	↓0	3	5
	組織球色素沈着	2	4	7	↑37	12	8	17	↑45
	巨大細胞化/巨大核	1	3	↑7	↑27	1	0	↑17	↑28
	クッパー細胞過形成	0	0	1	↑5	2	2	3	5
	好塩基性変異細胞巣	5	3	3	2	0	1	1	↑10
肺	炎症性細胞集簇巣	6	7	4	↑19	7	10	↑17	↑22
	好酸性組織球	1	3	5	↑8	2	2	3	7
	組織球色素沈着	1	↑13	↑29	↑44	3	7	↑37	↑45
	泡沫組織球	0	1	↑5	↑7	5	↓0	9	12
	細気管支炎	0	0	4	↑13	1	1	2	5
鼻腔	嗅上皮変性/再生	3	↑22	↑49	↑50	2	↑24	↑45	↑49
	鼻炎	4	↑21	↑46	↑43	4	↑17	↑44	↑44
	呼吸上皮萎縮	0	1	3	↑8	1	0	1	↑13
	過形成	0	0	0	↑8	0	0	0	↑12
	異物	0	0	4	3	0	0	4	↑7

申請者による検定; Fisher-Irwin検定: ↑↓ P≤0.05, ↑↓ P≤0.01

表 2. 鼻腔の嗅上皮変性/再生及び鼻炎の程度

臓器及び所見		性及び用量(ppm)							
		雄				雌			
		0	50	160	500	0	50	160	500
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
鼻腔嗅上皮変性/再生	総発生数	3	22	49	50	2	24	45	49
	軽微	3	20	13	0	1	24	20	0
	軽度	0	2	32	2	0	0	22	1
	中等度	0	0	3	9	1	0	3	10
	高度	0	0	1	38	0	0	0	38
	重度	0	0	0	1	0	0	0	0
	総発生数	4	21	46	43	4	17	44	44
鼻炎	軽微	3	21	30	25	3	17	33	23
	軽度	1	0	10	11	0	0	9	12
	中等度	0	0	5	5	1	0	2	4
	高度	0	0	1	2	0	0	0	4
	重度	0	0	0	0	0	0	0	1
	総発生数	4	21	46	43	4	17	44	44

申請者による検定; Fisher-Irwin検定: ↑↓ P≤0.05, ↑↓ P≤0.01

上記2表ともに統計処理は雌雄の合計値で実施した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

表3. 腫瘍性病変(全動物)

臓器及び所見		性及び用量(ppm)							
		雄				雌			
		0	50	160	500	0	50	160	500
検査動物数		49	8	6	50	50	5	15	50
副腎	皮質腺腫	10	0	0	↓2	0	0	0	0
検査動物数		50	7	7	50	50	3	14	50
脳	星状膠細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0
検査動物数		45	7	6	48	47	6	14	48
十二指腸	腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺癌	0	1	0	0	0	0	0	0
検査動物数		2	5	5	4	2	1	3	4
造血器	リンパ腫	2	4	5	3	1	1	3	4
	顆粒球性白血病	0	1	0	1	1	0	0	0
検査動物数		50	8	7	50	50	3	14	50
ハーダー腺	腺腫	2	1	1	1	0	0	0	4
検査動物数		50	50	50	50	50	50	49	50
腎	尿管腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
検査動物数		50	50	50	50	50	50	49	50
肝	肝細胞腺腫	2	5	4	5	1	1	1	↑11
	血管腫	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝細胞癌	2	0	0	1	0	0	0	↑6
	組織球性肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
検査動物数		50	50	50	50	50	50	49	50
肺	細気管支・肺胞腺腫	4	3	5	5	3	5	3	1
	細気管支・肺胞腺癌	2	6	4	5	1	0	1	1
検査動物数		50	50	50	50	50	50	49	50
鼻腔	腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	未分化癌	0	0	0	0	0	0	0	1
検査動物数		—	—	—	—	49	47	38	50
卵巣	嚢胞腺腫	—	—	—	—	0	1	0	0
検査動物数		50	7	7	49	50	3	14	49
下垂体	腺腫	1	0	0	0	1	0	0	0
検査動物数		0	0	0	0	0	0	0	1
骨髄	骨腫	0	0	0	0	0	0	0	1
検査動物数		50	9	6	49	50	8	17	50
皮膚・乳腺	骨肉腫	0	1	0	0	1	0	0	0
	線維性組織球腫	0	0	0	0	1	0	0	0
検査動物数		05	13	11	50	50	10	20	50
脾	血管肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0
検査動物数		49	11	7	47	49	5	13	47
胃	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	1	0	0	0
検査動物数		—	—	—	—	50	46	43	50
子宮	腺癌	—	—	—	—	1	0	2	0
	平滑筋肉腫	—	—	—	—	1	0	1	0
	組織球性肉腫	—	—	—	—	1	4	2	1
	子宮内膜間質肉腫	—	—	—	—	0	0	3	1

申請者による検定; Fisher-Irwin検定: † P≤0.05, †† P≤0.01

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

(12). 繁殖毒性及び発生毒性

ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. 20)

試験実施機関: Covance Laboratories GmbH (GLP 対応)

報告書作成年: 1999 年

検体純度 :

試験動物 : SD 系ラット、1 群雌雄各 25 匹、投与開始時 6 週齢

体重 雄 179~227g、雌 145~183g

投与期間 : P 世代; 投与開始から F1 児離乳までの 19 週間、F1 世代; 離乳時から F2 児離乳までの 20 週間。
(1997 年 5 月 12 日~1998 年 3 月 2 日)

投与方法 : 検体を 10、70 及び 500ppm の濃度で基礎飼料に混合して調製した。飼料は週に一度調製し、1 日当りの十分な量を夫々別々のプラスチックバッグにつめ使用するまで -20℃ で凍結保存した。対照群には基礎飼料のみを与えた。飼料及び飲料水は試験開始前から剖検時まで自由に摂取させた。

投与用量選定根拠; 検体の投与量は、同一機関で実施した予備試験の結果に基づいて決定した。

すなわち、検体を 0、100、500、1500 及び 2000ppm の濃度で混餌投与した結果、100ppm 投与群で親動物及び出生児のコリンエステラーゼ活性が僅かに低下し、500ppm 投与群では親動物への毒性(体重及び飼料摂取量への影響、コリンエステラーゼ活性の低下)及び僅かな胎児の死亡が観察された。1500ppm 以上の投与群では出生児数の大幅な減少、死亡が観察された。

これらの結果に基づき、本試験の投与濃度は 10ppm を無毒性量になるように低用量とし、高用量群として明確な処理に関連した影響を持つ 500ppm を選択し、中用量群濃度は僅かに影響がでる濃度として 70ppm を選択した。

方法及び試験項目: 概要を表 1 に示す。

一般状態及び死亡; 全ての動物の疾病と生死を試験期間中、毎日朝夕 2 回観察した。また、一般状態の詳細な観察を毎日 1 回行った。

体重; 親となる雌雄の体重は交配前の期間、交配期間は週に 1 度測定した。尚、交尾後に雄の体重及び交尾の確認が得られなかった雌についても測定した。

飼料摂取量; 飼料は定量を飼料ホッパーに入れ、毎日取替えた。

雌雄の親動物の飼料摂取量を交配前の期間には毎日測定し、週毎に評価した。

妊娠期間中の雌動物の飼料摂取量を毎日記録し、データは交尾後の 0 から 4 日、4 から 7 日 7 から 14 日及び 14 から 20 日の期間としてまとめた。

哺育期間中の雌動物についても飼料摂取量を毎日記録し、データは出産後の 0 から 7 日、7 から 14 日及び 14 から 20 日の期間としてまとめた。

交配及び妊娠の確認; 同一用量群の雌雄の動物を 1:1 で 2 週間同居させ、毎朝膣垢中の精子の有無、または膣栓の有無を調べ、その存在により交尾が行われたものと判断し、その日を妊娠 0 日とした。この期間中に交尾の認められなかった雌については、既に交尾の確認された雄とともに 1 週間同居させた。また、14 日までに交尾の確認されなかった雄については、無処理の雌と同居させた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

妊娠は、出産の有無及び剖検時に着床痕の有無を調べることによって確認した。

繁殖性に関する指標;繁殖期間中の観察に基づき、次の指標を算出した。

授精日数 = 授精に成功するまでの日数の総計 / 授精した動物数

授精率 = (授精に成功した動物数 / 同居させた動物数) × 100

雌の受胎率 = (妊娠動物数 / 授精動物数) × 100

雄の受胎率 = (妊娠させた動物数 / 授精動物数) × 100

産出率 = (出生児数 / 着床数) × 100

出産率 = (出生児のいる腹数 / 妊娠動物数) × 100

出生率 = (出産児数 / 着床数) × 100

4日生存率 = (生後4日生存児数 / 出産児数) × 100

離乳率 = (生後21日生存児数 / 生後4日生存児数) × 100

性比 = (雄の数 / 出生胎児数) × 100

身体発育分化及び機能検査;哺育期間中に児動物を毎日観察し、下記の身体発育及び機能検査を行った。

耳介の開展、切歯萌出、眼瞼開裂、精巣降下(哺育26日後)、包皮分離、
膣の開孔、瞳孔反射、驚愕反応、フィールドテスト(F1のみ)

臓器重量;全ての親動物について、以下の臓器の重量を測定した。

精巣上体、心、腎、肝、肺、脾、精巣(雄)

病理学的検査;全親動物及び選別されなかった離乳児について、屠殺時に剖検した。

また、剖検時に全ての雄動物の精子の運動活性と形態を観察した。

対照群と中間用量群の全親動物について、以下の臓器の組織病理学的検査を行った。

凝固腺、精巣上体(右側)、卵巣、下垂体、前立腺、精囊腺、精巣、
子宮(妊娠動物)、膣、剖検で異常の見られた臓器

コリンエステラーゼ測定;全F1動物の血漿及び赤血球コリンエステラーゼ並びに全ての親動物及びF1動物
(分娩4日後及び身体発育分化の検査後に各腹毎に雌雄各2匹)について、脳コリンエステラーゼの
測定を行った。

結果:概要を表2に示す。

P世代及びF1世代の70ppm投与群の雄の親動物1匹ずつが夫々処理111日目及び110日目に死亡しているのが認められたが、これらの死亡は検体投与に関連したものではなかった。

親動物の一般状態は、いずれの世代においても検体投与に関連した変化はみられなかった。

親動物の体重増加量は、P世代では育成期間の1~8日で500ppm投与群雌雄で有意に減少し、1~71日では有意な差ではなかったが減少傾向が認められた。また、妊娠期間中の体重増加も有意に抑制された。

10及び70ppm投与群では対照群と同様な体重増加が認められた。

F1世代では500ppm投与群の雌雄で育成期間の1~8日の体重増加が統計学的に有意に抑制され、雄では全育成期間を通じて有意に抑制された。更に妊娠期間及び哺育期間にも有意な体重増加抑制が認められた。70ppm投与群でも育成期間の1~71日の雄で有意な体重増加抑制が、また、同群の哺育期間中の体重増加量が有意に抑制された。これら70ppm及び500ppm投与群で認められた体重増加抑制は検体投与に起因したものと考えられた。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

10ppm投与群の育成期間の1～8日に雌動物で統計学的に有意に体重増加抑制が認められたが、用量に相関した変化ではなく、検体投与の影響ではないと考えられた。

親動物の飼料摂取量は、P世代では500ppm投与群の哺育期間の1～4日に統計学的に有意な減少が認められた。F1世代では500ppm投与群の妊娠期間及び哺育期間のいずれの時期においても統計学的に有意な低下が認められ、P世代及びF1世代のこれらの減少は検体投与の影響と判断された。また、F1世代70ppm投与群で統計学的には有意でなかったが、減少傾向がみられた。10ppm投与群では検体投与による影響は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性は、P世代の500ppm投与群雄の脳コリンエステラーゼ活性が有意に低下し、同群雌でも有意な差ではなかったが低下が認められた。F1世代では、500ppm及び70ppm投与群雄の脳コリンエステラーゼ活性と血漿コリンエステラーゼ活性、500ppm投与群雌の血漿コリンエステラーゼ活性が有意に低下し、これらのコリンエステラーゼ活性における変化は検体投与の影響と考えられた。10ppm投与群では検体投与の影響は認められなかった。

精子の運動活性や形態検査では、500ppm投与群で運動活性のない精子の割合が僅かにではあるが統計学的に有意に増加した。しかし用量相関が認められないこと、対照群との差が僅かであり受胎率に影響が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

親動物の繁殖能力については、妊娠期間、受胎率、出産率、性比などの指標では対照群との間に差は認められなかったが、F1世代の着床数及びP並びにF1世代の500ppm投与群の出生児数及び腹毎の出生生存胎児数が統計学的に有意に減少し検体投与の影響と考えられた。また、P世代500ppm投与群及びF1世代70ppm投与群において統計学的には有意ではなかったが、着床数に減少傾向が認められ、検体投与の影響が示唆された。10ppm投与群では検体投与の影響は認められなかった。

臓器重量については、P世代の70ppm投与群雌雄の脾の相対重量及び10ppm投与群雌の脾の相対重量が増加したが、いずれも用量相関を示すものではなく検体投与の影響とは考えられなかった。F1世代の500ppm投与群で脳、精巣上体及び精巣の相対重量が増加したが、これは体重の低下に伴いこれらの臓器重量も低下したが、その程度が臓器重量の方が比較的良かったことによると考えられる。これらF1世代500ppm投与群で認められた変化は体重増加抑制に関連した変化であり、検体投与による直接的な影響とは考えられなかった。また、10ppm投与群雌の心の相対重量が有意に低下したが、用量相関性はないことから検体投与の影響ではなく、偶発的なものと考えられた。

親動物の剖検及び組織病理学検査においては検体投与の影響は認められなかった。

500ppm投与群のF1及びF2児動物の出産児数及び出生生存児数が有意に減少し、検体投与の影響と考えられた。また、F2児動物の生存率及び離乳率は、統計学的には有意ではなかったが、低下が認められた。この低下は当該試験機関の背景データの範囲外であり、検体投与の影響の可能性が高いと考えた。

70ppm及び10ppm投与群では検体投与の影響は認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

F1 児動物の体重はいずれの投与群においても対照群との間に差は認められず、検体投与の影響はなかったと考えられた。

500ppm投与群のF2 児動物の体重は統計学的に有意な差は認められなかったが、対照群と比較した場合低い値で推移し検体投与の影響が示唆された。

70ppm及び 10ppm投与群では検体投与の影響は認められなかった。

生後 4 日目のF1児動物の脳コリンエステラーゼ活性は、70ppm投与群雌で統計学的に有意に低下した(対照群に対して 20%低下)が、10ppm 及び 500ppm 投与群で増加し用量相関性がなく、雄では有意な低下はないが同様に用量相関性がないことから検体投与の影響ではなく偶発的なものと考えられた。F2 児動物では 500ppm 投与群の雌雄で統計学的に有意に低下(対照群に対して、雄 41%低下、雌 34%低下)し検体投与の影響と考えられた。また、70ppm 群雌で有意に低下(対照群に対して 12%)したが、低下の程度が 12%であり、検体投与の影響であると明確に判断できなかった。雄では 10ppm 投与群で有意に低下(対照群に対して 13%)したが、70ppm 投与群は対照群に対して 24%増加しており、用量相関性は認められないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

身体発育検査終了後(発育分化後)の脳コリンエステラーゼ活性については、10ppm 投与群のF2 児動物の雌雄で統計学的に有意な低下(対照群に対して、雄 44%、雌 33%)が認められたが、500ppm 及び 70ppm 投与群では有意差はなく、それぞれ 8-10%、5-13%の低下で、用量相関性もないことから検体投与の影響ではないと判断した。

児動物の身体発育、機能検査、組織病理学的検査ではいずれも検体投与の影響は認められなかった。

以上のように、500ppm投与群では、親動物のP世代及びF1 世代の体重増加抑制、飼料摂取量の低下、P世代雄の脳コリンエステラーゼ活性の低下、雌の低下傾向、F1 世代雌雄の脳コリンエステラーゼ活性の低下、F1世代雌雄の血漿コリンエステラーゼ活性の低下、F1 世代の着床数の減少、P世代及びF1 世代の出生児数の減少及び腹毎の出生生存児数の減少、F1 及び F2 胎児の生存率及び離乳率の低下、F1 児動物の体重の低下傾向及びF2児動物の生後4日目の脳コリンエステラーゼ活性の低下が検体投与の影響として認められた。

70ppm投与群では、P 世代親動物の体重増加抑制、P 世代の飼料摂取量の低下、F1 世代の飼料摂取量の低下傾向、F1 世代の雄の脳及び血漿コリンエステラーゼ活性の低下、F1 世代の着床数の低下傾向が検体投与に起因する影響として現れた。

10ppm投与群では対照群との間で統計学的に有意な変化が認められた検査項目もあったが、いずれも用量相関性のない偶発的な変化であり、検体投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、親及び児動物に対する無作用量及び無毒性量は及び繁殖性に関する無作用量及び無毒性量は、以下のように判断された。

親及び児動物に対する無毒性量

親動物	雄 : 10ppm(0.7mg/kg/日)、	雌 : 10ppm(0.8mg/kg/日)
児動物	雄 : 10ppm(0.8mg/kg/日)、	雌 : 10ppm(1.0mg/kg/日)

繁殖性に関する無作用量及び無毒性量

雄 : 10ppm(0.7mg/kg/日)	雌 : 10ppm(0.8mg/kg/日)
------------------------	------------------------

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

申請者注：繁殖性の無毒性量に関して報告書では、着床数の減少傾向(統計学的な有意差はない)を除いて70ppmを無毒性量と判断しているが、この着床数の減少を検体投与の影響と考え、10ppmを繁殖性に対する無毒性量とした

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Simon Corporation にある。

表 1. 試験の概要

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	育成(10)		動物の一般状態、生死について毎日2回観察。 体重(週1回)及び摂餌量(毎日)を測定
	交配(3)	雌雄 1:1 で同居させ、交尾が確認されるまで同居を継続	性周期は同居期間の3週間毎日観察 膣垢中の精子の有無または 膣栓の有無により交尾を確認 交尾確認日を妊娠0日
	妊娠(3)		体重(交尾後 0、7、14 及び 20 日)及び摂餌量 (交尾後 0~7、7~14、14~20 日)を測定
	出産	分娩4日後に各腹10匹(雌雄5匹) になるよう調整	各出産児、生存児及び死産児の数、性及び 外表異常の観察
	哺育(3)		全ての母獣及び生存児の体重(分娩後 1、 4、7、14 及び 21 日)、摂餌量(分娩後 0~4、 4~7、7~14、14~21 日)を測定 死亡胎児または哺育中屠殺胎児の外表及び 内臓異常を検査 哺育中の胎児の身体発育分化を調査及び 瞳孔反射、驚愕反応、行動を観察
P/F1 F1	離乳	哺育児の離乳後、すべての親動物を 屠殺、剖検 親動物として、各群雌雄 25 匹を 選抜。選抜されなかった全ての 離乳児を身体発育分化の検査後、 屠殺、剖検	全ての親動物及び選別されなかった離乳児の 剖検、全ての親動物の臓器重量の測定 対照群と高用量群の全ての親動物の組織学的 検査 剖検時に全ての雄動物の精子の運動活性 及び形態検査 剖検時に全ての F1 動物の血漿及び赤血球並 びに全ての親動物及び F1 動物(分娩4日後) と身体発育分化の検査後に各腹毎に(雌雄各 2 匹)について、脳コリンエステラーゼの測定
F1	育成(11) 交配(3) 妊娠(3) 出産 哺育(3)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
F1/F2	離乳	すべての離乳児と親動物を屠殺。	(P 世代に準ずる)

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

表 2. 試験結果の概要

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2				
投与量(ppm)		0	10	70	500	0	10	70	500	
動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25	
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25	
親	一般状態	— 検体投与に関連した異常はみられなかった				— 検体投与に関連した異常はみられなかった				
	死亡	雄	0	0	1	0	0	0	1	0
		雌	0	0	0	0	0	0	0	0
	体重増加量(育成期間)	(g) 1~8日 雄	52.6	51.5	51.6	↓43.4	57.4	57.7	58.4	↓50.8
		雌	19.8	19.3	19.6	↓15.4	44.5	↑39.9	41.3	↓36.0
	1~71日	雄	196.1	212.1	205.9	187.3	365.9	351.1	↑333.7	↓309.3
		雌	77.7	81.5	85.2	75.2	182.3	167.0	168.8	165.8
	(妊娠期間)	124.8	129.1	120.2	↓107.7	139.8	132.1	128.3	↓103.9	
	(哺育期間)	17.6	↑43.4	30.3	33.8	20.4	17.3	↑7.5	↑4.9	
	動物	摂餌量(育成期間)	(g) 1~71日 雄	25.6	25.0	25.0	24.6	28.8	28.9	27.8
雌			18.3	18.6	19.0	18.7	21.6	21.1	20.6	20.1
(妊娠期間)		24.1	23.8	23.7	23.1	25.8	25.6	25.0	↓23.1	
(哺育期間)		1~4日	34.7	32.1	32.5	↓27.9	39.2	36.4	35.2	↓30.8
1~21日		56.3	57.0	54.8	50.9	56.4	55.0	50.9	↓43.5	
検体摂取量(交配前)		(mg/kg/day) 雄	-	0.7	5.0	36.4	-	0.8	6.0	45.8
	雌	-	0.8	5.9	42.3	-	1.0	6.6	50.4	
	(妊娠中)	-	0.8	5.2	37.3	-	0.8	5.1	37.5	
	(哺育中)	-	1.8	11.6	78.0	-	1.5	10.3	69.3	
物	コリンエステラーゼ濃度(μg)	脳 雄	0.15	↑0.33	0.18	↓0.06	0.72	0.68	↑0.49	↑0.21
		雌	0.23	↑0.29	0.24	0.18	0.36	0.44	0.41	0.43
	赤血球	雄	-	-	-	-	889	731	675	708
		雌	-	-	-	-	1433	1661	1658	↑2526
	血漿	雄	-	-	-	-	140	121	↑102	↑72
		雌	-	-	-	-	669	↑890	578	↓220

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2					
投与量(ppm)		0	10	70	500	0	10	70	500		
動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25		
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25		
親動物	精子活動停止精子率(%)		26.5	27.0	31.8	28.0	32.4	34.0	31.8	35.9	
	形態正常率(%)		88.3	89.9	91.4	87.5	92.7	93.8	93.0	92.9	
	性周期(平均日数)		4.4	4.5	4.3	4.2	4.3	4.5	4.5	4.1	
	授胎率(%)	雄	96	100	96	92	100	100	100	100	
		雌	96	96	96	92	100	100	100	100	
	出産率(%)		96	100	100	95	100	100	100	100	
	妊娠期間(日)		22.2	21.9	22.3	22.1	22.0	21.9	21.8	22.0	
	着床数		15.5	15.6	15.0	14.5	15.6	14.6	13.6	12.0	
	産出率(%)		88.2	89.3	86.9	82.6	93.6	95.1	97.6	93.8	
	臓器重量	脾(相対重量)	雄	0.162	0.160	0.173	0.171	0.175	0.166	0.177	0.178
			雌	0.205	0.221	0.220	0.199	0.216	0.212	0.221	0.224
		脳(相対重量)	雄					0.402	0.395	0.406	0.468
			雌								
		精巣上体(相対)	雄					0.287	0.279	0.293	0.313
雌											
心(相対重量)	雄					0.703	0.694	0.713	0.784		
	雌					0.386	0.356	0.375	0.351		
肝(相対重量)	雄					3.760	3.704	3.678	4.420		
	雌										
病理所見	剖検	雄	-	検体投与に関連した			-	検体投与に関連した			
		雌	-	異常はみられなかった			-	異常はみられなかった			
	組織病理	雄	-	検体投与に関連した			-	検体投与に関連した			
		雌	-	異常はみられなかった			-	異常はみられなかった			
児動物	出産児数		13.7	14.0	13.0	12.0	14.6	13.9	13.3	11.3	
	出生率(%)		96	100	100	95	100	100	100	100	
	腹毎の出生生存児数		13.3	13.4	11.9	10.5	14.0	13.2	13.1	10.4	
	生存率(%, 哺育0~4日)		96	95	84	84	95	97	94	72	
	離乳率(%, 哺育4~21日)		99	100	98	97	91	90	85	58	
	性比(%, 雄)		45	54	55	46	54	50	51	48	
	体重	哺育1日	雄	7.13	6.26	6.68	6.44	6.79	6.93	6.51	6.43
			雌	6.59	5.98	6.35	5.97	6.42	6.45	6.22	6.10
		哺育4日	雄	9.77	8.58	9.34	8.89	8.77	8.81	8.31	7.20
			雌	9.22	8.05	9.01	8.28	8.37	8.32	8.03	7.05
哺育21日		雄	39.64	41.24	41.43	38.85	39.66	40.22	35.97	35.39	
		雌	37.66	39.5	39.87	35.84	37.66	38.17	35.00	33.30	

臓器重量に関しては有意差のあるものについてのみ記載した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2						
投与量(ppm)		0	10	70	500	0	10	70	500			
動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25			
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25			
児	剖検	雄	検体投与に関連した				雌	検体投与に関連した				
		雌	異常はみられなかった					異常はみられなかった				
	コリンエステラーゼ濃度(μg)											
	脳(哺育4日後)	雄	0.88	0.83	0.66	0.91	1.02	↓0.89	1.26	↓0.61		
	雌	0.73	↑1.43	↓0.51	1.61	1.06	0.97	↓0.90	↓0.70			
	(発育分化後)	雄	0.27	↑0.37	0.29	0.23	0.39	↓0.22	0.34	0.36		
		雌	0.28	↑0.39	0.33	0.24	0.39	↓0.24	0.37	0.35		
動物	身体発育分化											
	耳介の開展											
	切歯萌出		—	検体投与に関連した				—	検体投与に関連した			
	眼瞼開裂		異常はみられなかった									
	精巣降下(哺育26日後)		75.9	88.7	74.5	↓46.7						
包皮分離		—	検体投与に関連した									
		異常はみられなかった										
膺の開孔		—	検体投与に関連した				異常はみられなかった					
機能検査												
瞳孔反射												
驚愕反応		—	検体投与に関連した				—	検体投与に関連した				
オープンフィールド試験		異常はみられなかった										

Dunnett の t 検定及び Wilcoxon Rank-Sum 検定: †↓ P ≤ 0.05、†↓P ≤ 0.01

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

2) 発生毒性

① ラットを用いた発生毒性試験

(資料 No. 21)

試験実施機関：Corning Hazleton (Europe) (英国) (GLP対応)

報告書作成年：1997年

検体純度：

試験動物：CrI:CD(SD)BR 系妊娠ラット 1群24匹

開始時 8週齢

開始時体重 190g～298g

投与期間：10日間 — 妊娠第6日～妊娠第15日

(1996年4月15日～1996年4月24日)

投与方法：検体を純水に溶解し、10、25及び50mg/kg/日の投与用量で妊娠6日から15日までの10日間毎日1回プラスチック製シリンジのゴム製カテーテルを用いて強制経口投与した。

投与容量は最も新しい体重に基づき、体重1kg当り5mLとした。検体は毎日純水に溶解して調製した。対照群には純水のみを投与した。

交尾の確認は、膣栓或いは膣垢中に精子を確認した雌を交尾成立動物と判定し、妊娠0日とした。

投与用量設定根拠；投与用量は、10、50及び200mg/kg/日の用量で妊娠6から15日まで投与した用量設定試験の結果に基づいた。200及び50 mg/kg/日群で用量に相関した体重抑制及び飼料摂取量の低下が投与開始から認められ、200 mg/kg/日群では雌雄の胎児重量減少が認められたため、本試験における最高用量を50 mg/kg/日とし、以下25及び10 mg/kg/日とした。

観察・検査項目：

母動物；一般状態を毎日妊娠4日から20日まで観察した。

体重は妊娠4、6、7、8、9、12、15、17及び20日に測定した。

飼料摂取量は妊娠4から6日、6から7日、7から8日、8から9日、9から12日、12から15日、15から17日までと17から20日までの間測定した。

妊娠20日に頸椎脱臼により屠殺して卵巣及び子宮を摘出し、妊娠状態、子宮重量、黄体数、生存胎児数、早期吸収死胚数、後期吸収死胚数、死亡胎児数及び夫々の子宮内位置を記録し、胎盤重量を測定した後、着床前損失率、着床後損失率及び雄胎児率等を算出した。

卵巣及び子宮摘出後の母動物は剖検し、臓器の肉眼的観察を実施した。

胎児；生存胎児はペントバルビタールナトリウム溶液を腹腔内注射により屠殺した。

個体別体重を記録し、外形検査及び性別を調査した後、半数の胎児は解剖して内臓検査を実施した後、内臓摘出し化骨検査を実施した。残りの胎児は固定または部分脱灰のためにブアン液中に保存した。胎児の異常は、奇形及び変異に分けて記録した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

結果：結果の概要を次頁の表にまとめた。

母動物に及ぼす影響；

50 mg/kg/日投与群の1匹が14日目に死亡した。

一般状態には、検体投与による影響は認められなかった。

10及び25mg/kg/日投与群の体重には投与の影響は認められなかった。

50mg/kg/日投与群では妊娠6日と8日(投与始めの2日間)に体重増加率の有意な低下が認められ、妊娠20日の修正体重(体重から妊娠子宮重量を引いた値)は有意に減少した。また、投与期間及びその後の期間を通じて、対照群に比較して飼料摂取量も有意に低下した。これらは検体投与による影響と考えられた。

10及び25mg/kg/日投与群では体重及び飼料摂取量のいずれにおいても投与の影響は認められなかった。

50mg/kg/日投与群では投与期間及びその後の期間を通じて、対照群に比較して飼料摂取量の減少が認められた。

50mg/kg/日投与群で死亡した動物に加え、各投与群の動物1例ずつに腎盂の拡張が認められた。更に25mg/kg/日投与群の1例の腎が白色化し僅かな肥大が認められた。これらの変化は投与群のみに限られていたが、発生頻度も少なく、用量相関性も認められなかったことから検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

剖検所見、妊娠率、着床所見のいずれも、検体投与による影響は認められなかった。

以上のように、検体投与による母動物への影響は50mg/kg群に見られた飼料摂取量及び体重増加の有意な低下であった。

胎児に及ぼす影響；

胎児の性比には検体投与の影響は認められなかった。

50mg/kg/日投与群の雌雄の平均胎児重量は対照群に比較して有意に低く、この結果同産群の平均重量が僅かに低下した。

外形及び内臓検査では胎児の奇形は対照群を含めた全群に認められたが、発生頻度は少なく用量相関も認められなかった。骨格の奇形は中用量群に1例のみで他の投与群には認められなかった。

また、変異に関しては50mg/kg/日投与群では舌骨弓の骨化遅延を持つ胎児が対照群の約2倍の頻度で認められたが、統計学的な有意差は認められなかった。更に全胎児数に対する頭頂骨の骨化遅延を持つ胎児数の割合が有意に増加したが、用量相関性はなかった。25mg/kg投与群においても同程度の頭頂骨骨化遅延が発生したが、頭骨のその他の骨化遅延が数多く見られ、何れも発生頻度は対照群と同程度であったことから、この頭頂骨の骨化遅延の発生は偶発的なものであると考えられた。10mg/kg/日投与群では胎児に投与の影響は認められなかった。

以上のように検体の50mg/kg/日投与により、胎児の平均体重が有意に低下したが、胚及び胎児に催奇形性の影響は認められなかった。

25及び10 mg/kg/日投与では胎児動物には何等影響は認められなかった。

結論： 検体の50mg/kg/日の投与は、母動物の飼料摂取量の低下及び体重増加抑制が認められ、胎児の体重を低下させた。胎児の催奇形性は認められなかった。

25及び10 mg/kg/日投与では母動物及び胎児共に影響は認められなかった。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

以上の結果から、親動物及び胎児における無毒性量はいずれも25mg/kg/日と判断された。

また最高用量である50 mg/kg/日投与においても催奇形性はないと判断された。

〈母動物〉

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
1群当たり動物数		24	24	24	24
不妊動物数		0	1	2	0
妊娠動物数		24	23	22	24
検査動物数		24	23	22	23
一般状態		検体投与に起因する異常は認められなかった			
死亡動物数		0	0	0	1
20日の修正体重 (g)		305	305	304	↓287
体重変化 ^a (g)	4~6日	12	8	↓7	↓6
	6~7日	6	6	7	3
	7~8日	6	7	5	3
	8~9日	7	6	7	6
	9~12日	22	22	22	19
	12~15日	24	23	20	21
	15~17日	25	25	27	23
	17~20日	42	43	42	41
飼料摂取量 ^a (g)	6~7日	30	29	27	↓25
	7~8日	29	29	28	26
	8~9日	29	29	29	↓25
	9~12日	91	89	86	↓77
	12~15日	97	94	90	↓85
	15~17日	69	69	68	↓62
	17~20日	102	100	97	95
	妊娠率 (%)	100.0	95.8	91.7	100.0
剖検所見		検体投与に起因する異常は認められなかった			
着床所見	黄体数 ^b	14.6(350)	14.6(335)	16.1(354)	15.0(345)
	着床数 ^b	13.0(311)	13.0(300)	13.3(293)	12.9(296)
	着床率 (%) ^b	96.8	96.6	95.2	93.3
	妊娠子宮重量 (g)	75	74	73	70
	生存胎児数 ^b	12.5(301)	12.6(290)	12.6(278)	12.1(278)
	吸収胚数及び死亡胎児数 ^b	10	10	15	18
	早期吸収死胚数 ^c	9	10	15	15
	後期吸収死胚数 ^c	1	0	0	3
	死亡胎児数	0	0	0	0
	着床前胚損失率 ^b	10.0	9.4	14.6	14.6
着床後胚損失率 ^c	3.2	3.4	4.8	6.7	

統計処理: ↑↑ ; P<0.05%、↑↓ P≤0.01、↑↓ P≤0.001、_下線部分は濃度相関あり (P<0.05%)

a: Dunnett の t 検定:

b: Kruskal Wallis、Jonckheere 及び Wilcoxon の検定

c: Fisher E 検定

黄体数、着床数及び生存胎児数の()内数時は群当りの総数

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

胎児の奇形及び変異のまとめ

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
生存胎児体重 ^a (g)	雄	3.88	3.87	3.80	↓3.69
	雌	3.66	3.64	3.58	↓3.47
性比(雄/雌)		0.97(148/153)	0.80(129/161)	0.84(127/151)	1.04(142/136)
外表 及び 内臓 検査	検査胎児数	301	290	278	278
	検査腹(雌)数	24	23	22	23
	奇形発生胎児数	1	1	4	3
	奇形発生胎児率(%) ^b	0.3	0.3	1.4	1.1
	奇形胎児を持つ雌数	1	1	4	2
	変異発生胎児数	36	57	57	45
	変異発生胎児率(%) ^a	12.5	20.0	20.5	16.4
	変異胎児を持つ雌数	16	21	18	18
骨格 検査	検査胎児数	157	150	145	145
	検査腹(雌)数	24	23	22	23
	奇形発生胎児数	0	0	1	0
	奇形発生胎児率(%) ^b	0.0	0.0	0.1	0.0
	奇形胎児を持つ雌数	0	0	1	0
	変異発生胎児数	127	120	125	121
	変異発生胎児率(%) ^b	81.2	79.7	86.2	83.3
	変異胎児を持つ雌数	24	23	22	23
奇形 合計	奇形発生胎児数	1	1	4	3
	奇形発生胎児率(%) ^b	0.3	0.3	1.4	0.1
	奇形胎児を持つ雌数	1	1	4	2

統計処理: †↓ ; P<0.05%

a: Kruskal Wallis, Jonckheere及び及びWilcoxonの検定

b: Cochran-Armitage検定

胎児の奇形頻度表

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
外表検査/内臓検査:					
眼	無眼球	1(0.3)			
	小眼球		1(0.3)		
体幹	浮腫(全身)				1(0.4)
	鎖肛			1(0.4)	
	短躯			1(0.4)	
尾	索状尾			1(0.4)	
胸部	逆位(胸部)				1(0.4)
腹部	膈ヘルニア			1(0.4)	
	逆位(内臓)				1(0.4)
	小脾症				1(0.4)
	水腎			2(0.7)	2(0.7)
	無子宮				1(0.4)
	無卵巣症				1(0.4)
骨格検査					
椎骨	仙椎欠損			1(0.7)	
	尾椎欠損			1(0.7)	
	椎骨の奇形			1(0.7)	

()内の数字は検査胎児数に対する割合

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

胎児の変異頻度表

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50	
外表検査/内臓検査;						
頭部/頭骨	ドーム頭		1 (0.3)		1(0.4)	
	頭部 出血-皮下	3(1.0)	8(2.8)	7(2.5)	7(2.5)	
	頭部 広汎性出血-皮内			2(0.7)		
眼	虹彩出血	2(0.7)	1(0.3)	2(0.7)		
	眼周囲 - 出血		1(0.3)			
	小眼	5(1.7)	2(0.7)			
顎/舌/歯 ^a	顎/口 出血 - 皮下 ^a	3(1.0)	5(1.7)	5(1.8)	14(5.0)	
耳	耳 出血 - 皮下		1(0.3)	1(0.4)		
体幹	腹部脂肪褥部 出血 - 皮下				1(0.4)	
	体幹 出血 - 皮下	1(0.3)	3(1.0)	12(4.3)	5(1.8)	
	蒼白な胎児			1(0.4)		
	体幹 浮腫 - 皮下			3(1.1)		
四肢	四肢 出血 - 皮下	5(1.7)	21 (7.2)	10(3.6)	7(2.5)	
尾	尾 出血 - 皮下	2(0.7)	1(0.3)	2(0.7)	1(0.4)	
心/大血管	無名動脈欠損				1(0.4)	
胸部	中間肺小葉無発生				1(0.4)	
	胸腺の肥大	1(0.3)		1(0.4)		
腹部	肝小葉の肥大		1(0.3)			
	臍帯の膨潤/硬化 - 僅			1(0.4)		
	尿管拡張	14(4.7)	14(4.8)	16(5.8)	11(4.0)	
	骨盤腎の空洞形成の増加(両側)	1(0.3)		2(0.7)	1(0.4)	
	骨盤腎の空洞形成の増加(片側)	6(2.0)	5(1.7)	6(2.2)	7(2.5)	
	胆嚢内容物の白色化		2(0.17)			
骨格検査						
頭骨	舌骨弓骨化遅延 ^a	5(3.2)	8(5.3)	6(4.1)	12(8.3)	
	全頭骨骨化遅延			1(0.7)	2(1.4)	
	頬弓以外の全頭骨の骨化遅延		1(0.7)	1(0.7)	2(1.4)	
	縫合骨	1(0.6)				
	鼻骨骨化遅延	8(5.19)	10(6.7)	9(6.2)	10(6.9)	
	前頭骨骨化遅延	5(3.2)	4(2.7)	2(1.4)	6(4.1)	
	頭頂骨骨化遅延 ^{a*}	5(3.2)	4(2.7)	11(7.6)	10(6.9)	
	頭頂骨間の骨化遅延	20(12.7)	36(24.0)	31(21.4)	25(17.2)	
	後頭骨骨化遅延	8(5.1)	13(8.7)	13(9.0)	14(9.7)	
	頭頂骨間の開裂	1(0.6)				
	舌骨弓未骨化	23(14.6)	19(12.7)	25(17.2)	21(14.5)	
	側頭鱗骨化遅延	1(0.6)		1(0.7)	2(1.4)	
	胸骨分節	1~4胸骨未骨化				2(1.4)
		1~4胸骨骨化遅延	6(3.8)	10(6.7)	8(5.5)	10(6.9)
1~4胸骨分割					1(0.7)	
5~6胸骨未骨化		44(28.0)	33(22.0)	28(19.3)	34(23.4)	
5~6胸骨骨化遅延		73(46.5)	71(47.3)	67(46.2)	59(40.7)	
5~6胸骨分割		1(0.6)		2(1.4)		
胸骨変形		2(1.3)				

()内の数字は検査胎児数に対する割合

a: Cochran-ArmitageE検定、*: 用量相関性あり

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

胎児の変異頻度表 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
骨格検査					
肋骨	頸肋		1(0.7)		1(0.7)
	過剰胸腰肋	27(17.2)	29(19.3)	19(13.1)	24(16.6)
	肋骨骨化遅延	1(0.6)			
	肋骨短縮		1(0.7)		
	肋骨痕跡	1(0.6)	1(0.7)		
	肋骨結節形成	1(0.6)	1(0.7)		3(2.7)
椎骨	頸椎中枢/骨化遅延		2(1.3)		
	頸椎弓骨化遅延			1(0.7)	2(1.4)
	胸椎中枢骨化遅延	2(1.3)	3(2.0)	3(2.1)	4(2.8)
	胸椎中枢/分割	1(0.6)	1(0.7)	5(3.4)	1(0.7)
	胸椎中枢/半椎体			1(0.7)	
	胸椎中枢/未骨化			1(0.7)	1(0.7)
	胸椎弓骨化遅延				2(1.4)
	腰椎中枢/骨化遅延			1(0.7)	1(0.7)
	腰椎中枢/分割			1(0.7)	
	仙椎中枢/骨化遅延		1(0.7)		
	仙椎中枢/未骨化				1(0.7)
	仙椎未骨化				1(0.7)
	仙椎弓骨化遅延	7(4.5)	8(5.3)	17(11.7)	11(7.6)
	仙椎弓未骨化			1(0.7)	1(0.7)
胸椎中枢/僅かな変形	2(1.3)	1(0.7)	3(2.1)	1(0.7)	
骨盤帯	第2腰椎の骨盤帯の挿入(両側)	2(1.3)	3(2.0)		
	坐骨未骨化			1(0.7)	1(0.7)
	坐骨骨化遅延		1(0.7)		
	恥骨未骨化				1(0.7)
	恥骨骨化遅延	1(0.6)	3(2.0)	2(1.4)	3(2.1)
四肢	中手骨骨化遅延	23(14.6)	23(15.3)	30(20.7)	29(20.0)
	中手骨未骨化	37(23.6)	35(23.3)	57(39.3)	54(37.2)
	腓骨骨化遅延				1(0.7)
	中趾骨骨化遅延	1(0.6)			1(0.7)
	中趾骨の未骨化			1(0.7)	2(1.4)

()内の数字は検査胎児数に対する割合

a : Cochran-Armitage検定

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

② ウサギを用いた発生毒性試験 (資料No. 22)

試験実施機関 : Corning Hazleton (Europe) (英国) (GLP対応)

報告書作成年 : 1997年

検体純度 :

供試動物 : ニュージールランドホワイト種妊娠雌ウサギ 1群18匹
開始時 4~7ヶ月齢 開始時体重 2.90kg~4.24kg

投与期間 : 13日間 —妊娠第7日~妊娠第19日
(1996年5月13日~1996年5月25日)

投与方法 : 検体を純水に溶解し、10、25及び50mg/kg/日の投与用量で妊娠7日から19日までの13日間
毎日1回プラスチック製シリンジを用いて強制経口投与した。投与容量は最新の体重に基づき、
体重1kg当たり5mLとした。

検体は毎日純水に溶解して調製した。対照群には純水のみを投与した。

膣栓或いは膣垢中に精子を確認した雌を交尾成立動物と判定し、その日を妊娠0日とした。

妊娠雌動物は妊娠2日目に供給元から搬入させた。

投与用量設定根拠; 投与用量は、150、75、40及び30mg/kg/日の用量で実施した用量設定試験の結果に基づいた。即ち、150及び75mg/kg/日投与群では、明らかな飼料摂取量の低下と体重抑制が認められ、40及び30mg/kg/日投与群では僅かな飼料摂取量低下及び体重抑制が認められたが、明らかな毒性症状は認められなかった。この結果に基づき、本試験の最高用量を50mg/kg/日とし、以下25及び10mg/kg/日に設定した。

観察・検査項目:

母動物 ; 一般状態を毎日観察した。

体重は妊娠3、7、8、9、12、15、19、24及び29日に測定した。

飼料摂取量は毎日記録し、体重測定の間隔と同じ期間についてまとめた。

妊娠29日目にペントバルビタールナトリウム溶液を皮下注射して屠殺し、卵巣及び子宮を摘出して妊娠状態、子宮重量、黄体数、生存胎児数、早期吸収死胚数、後期吸収死胚数、死亡胎児数及び夫々の子宮内位置を記録し、胎盤重量を測定した後、着床前損失率、着床後損失率及び雄胎児率等を算出した。

卵巣及び子宮摘出後の母動物は剖検し、臓器の肉眼的観察を実施した。

胎児 ; 生存胎児はペントバルビタールナトリウム溶液の腹腔内注射により屠殺した。

個体別体重を記録し、外形検査及び性別を調査した。その後半数の胎児は解剖して内臓検査を実施した後、内臓を摘出して化骨検査を実施した。

胎児の異常は、奇形及び変異に分けて記録した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

結果：結果の概要を次頁の表にまとめた。

母動物に及ぼす影響；

50mg/kg/日投与群で妊娠24日目に1例が死亡した。剖検の結果、胃粘膜の数箇所が陥没し、小腸、大腸に炎症がみられ、肝の全小葉に斑点がみられた。また、27日に1例が流産した。さらに、妊娠9日から19日までの飼料摂取量は対照群に比較して有意に低下し、同じ期間の体重増加が有意に抑制された。これらは検体投与の影響と考えられた。

25mg/kg/日投与群で妊娠29日に1例が流産したが、妊娠29日に生存胎児を分娩しており、この系統のウサギの妊娠期間が通常30日～32日であることを考えると、むしろ分娩の開始がややはやまったものと判断される。原文ではいずれも「aborted」としているが、内容は早産と考えられ、50 mg/kg/日投与群の流産例とは異質なものと考えられた。早産の原因を確定することは出来ず、検体投与によることも否定できないが、ウサギに早産の発生は知られていること及びこの親動物には僅かな体重の低下を除きその他の指標に明らかな検体投与の影響が見られなかったことから、25mg/kg/日投与群で観察された流産(早産)が検体投与に起因する可能性は低いと考えられる。対照群の1動物が飼料を食べず顕著な体重減少を示したため、妊娠9日に屠殺した。

生存動物では、疎毛、脱毛、軟便等が散見されたが、検体投与に起因した一般症状の異常はいずれの投与群にも認められなかった。

25及び10mg/kg/日投与群では体重変化及び飼料摂取量には影響は認められなかった。

いずれの投与群においても、生存動物の剖検所見及び帝王切開による着床所見に検体投与に関連する影響は認められなかった。

胎児に及ぼす影響；

平均胎児重量は全処理群で対照群に比較して僅かに低い値が認められたが、統計学的に有意差はなく、用量相関もないことから検体投与の影響とは考えなかった。

性比については、いずれの投与群も対照群と変わらず、検体投与の影響はなかった。

外形及び内臓の奇形は、50mg/kg/日投与群以外の対照群を含めた全ての群で認められた。また、骨格奇形も対照群を含めた全ての群で認められた。これら奇形については発生頻度に有意差は無く、発生分布もかわらないことから、検体投与に関連した発生とは考えなかった。

外表及び内臓変異は全ての群で認められ、50mg/kg/日投与群での発生頻度が対照群の2倍以上の値を示し、異常胎児を持つ雌数は有意な用量相関がみられた。しかし、これらは胆嚢中に白色の内容物を持った動物及び胃のガス様膨満を示す動物の数が多かったことに起因していた。これらの変異は、ニュージーランド白色種ウサギに通常観察されるものであり、検体投与に関連した変異とは考えられなかった。25及び10mg/kg/日投与群では検体投与による影響は認められなかった。

また、50 mg/kg/日投与群では対照群に比較して中手骨の未骨化及び距骨の未骨化ならびに骨化遅延が多く認められた。これら距骨及び中手骨の骨化における変異は一般的に未成熟と関連し、体重が低値に推移した胎児に認められた。(*)

*申請者注：本記述に関しては別途申請者が統計分析を実施し、その結果及び考察を後頁に記載した。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

結論： 50mg/kg/日投与群では、体重の減少、飼料摂取量の低下及び流産が1例認められ、明らかに母動物に対して毒性が認められた。
 25mg/kg/日投与群では流産が1例認められたのみで、それ以外には毒性は認められなかった。
 10mg/kg/日投与群では何等母動物に対して影響は与えなかった。
 胎児に対しては全ての群で何等影響は認められなかった。

以上のことから母動物に対する無毒性量(NOEL)は25mg/kg/日、胎児に対しては50mg/kg/日と判断された。催奇形性は無かった。

〈母動物〉

投与量 (mg/kg/日)		0	10	25	50
1群当たり動物数		18	18	18	18
不妊動物数		2	1	0	1
妊娠動物数		16	17	18	17
検査動物数		15	17	17	15
一般状態		検体投与に起因する異常は認められなかった			
死亡動物数		1(切迫殺)	0	0	1
流産		0	0	1	1
29日の修正体重 (kg)		3.23	3.33	3.25	3.17
体重変化 a) (%)	7~12日	0.07	0.06	0.06	0.00
	12~15日	0.00	0.04	0.03	↓-0.14
	15~19日	0.04	0.00	-0.03	↓-0.06
	19~24日	0.10	0.09	0.09	0.13
	24~29日	0.07	0.02	0.08	↑0.16
平均飼料摂取量 a) (g)	7~12日	737	791	762	695
	12~15日	379	421	393	↓168
	15~19日	443	496	342	↓209
	19~24日	699	694	604	612
	24~29日	671	541	555	721
妊娠率 (%)		89	94	100	94
剖検所見		検体投与に起因する異常は認められなかった			
着床所見	生存胎児を持つ雌数	15	17	17	15
	黄体数 b)	9.9 (148)	10.9 (174)	11.2 (191)	11.5 (173)
	着床数 b)	8.3 (125)	9.8 (166)	9.6 (163)	9.8 (147)
	着床率 (%)	93.6	89.5	91.8	89.7
	妊娠子宮重量 (kg)	0.44	0.47	0.48	0.45
	生存胎児数 b)	7.9 (118)	8.8 (149)	8.8 (149)	8.7 (130)
	吸収胚数及び死亡胎児数	7	17	14	17
	早期吸収死胚数 c)	0.2 (3)	0.5 (8)	0.4 (7)	0.7 (10)
	後期吸収死胚数 c)	0.3 (4)	0.5 (8)	0.4 (7)	0.5 (7)
	死亡胎児数 c)	0.0 (0)	0.1 (1)	0.0 (0)	0.0 (0)
	着床前胚損失率 (%) c)	14.5	14.2	13.6	15.5
	着床後胚損失率 (%) c)	6.4	10.5	8.2	10.3

統計処理： ↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01、↕ P≤0.001

- a): Dunnett検定
 b): Kruskal Wallis 検定
 c): Cochran-Armitage検定

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

〈胎児〉

胎児の奇形、変異のまとめ表

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
生存胎児体重 (g) b)	雄	40.1	36.5	38.4	36.7
	雌	39.9	36.9	37.7	36.2
性比(雄/雌) b)		1.11(62/56)	0.91(71/78)	0.80(66/83)	1.00(65/65)
検査胎児数		118	149	149	130
検査雌数		15	17	17	15
外表 及び 内臓 検査	奇形発生胎児数	1	4	1	0
	奇形発生胎児率(%)	0.6	2.5	0.7	0.0
	奇形胎児を持つ雌数c)	1	4	1	0
	変異発生胎児数	14	26	10	34
	変異発生胎児率(%)	11.0	14.7	7.3	25.2
	変異胎児を持つ雌数c)	6	8	8	12
骨格 検査	奇形発生胎児数	3	3	1	3
	奇形発生胎児率(%)	2.5	1.9	0.7	2.4
	奇形胎児を持つ雌数c)	3	2	1	2
	変異発生胎児数	104	132	129	118
	変異発生胎児率(%)	85.3	88.4	85.6	91.3
	変異胎児を持つ雌数c)	15	17	17	15
奇形 合計	奇形発生胎児数	3	5	2	3
	奇形発生胎児率(%)	2.5	3.4	1.3	2.3
	奇形胎児を持つ雌数c)	3	4	2	2

b): Kruskal Wallis 検定

c): Cochran-Armitage検定

胎児の奇形頻度表

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
外表検査/内臓検査;					
頭部/頭骨	無頭症		1 (0.7)		
体部	胸腹壁破裂		1 (0.7)		
	二分脊椎(髄膜瘤)		1 (0.7)		
	囊状二分脊椎(水脊髄髄膜瘤)	1 (0.8)			
四肢	関節拘縮		1 (0.7)		
心/大血管	心室中隔欠損			1 (0.7)	
	単心室		1 (0.7)		
	大動脈弓拡張、肺動脈弁欠損		1 (0.7)		
	肺動脈幹形成不全		1 (0.7)		
	総頸動脈形成不全		1 (0.7)		
	大動脈弓拡張 肺動脈幹欠損			1 (0.7) 1 (0.7)	
腹部	肝臓肥大		1 (0.7)		
骨格検査					
全身	脊椎側弯	1 (0.8)		1 (0.7)	
頭骨	前頭骨融合	1 (0.5)			
	頭頂骨間の奇形	1 (0.5)			
	後頭骨の奇形	1 (0.5)			
胸骨核	胸骨矮小		1 (0.7)		

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

胎児の奇形頻度表(つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
骨格検査					
肋骨	肋骨欠損				1 (0.8)
	肋骨分岐	1 (0.8)		1 (0.7)	1 (0.8)
	肋骨融合				
	肋骨近位ゆ合	1 (0.8)			1 (0.8)
	肋骨形態異常				1 (0.8)
	椎弓への間接異常	1 (0.8)			
椎骨	椎弓開存	1 (0.8)	1 (0.7)		
	仙椎弓ゆ合		1 (0.7)		
	尾椎ゆ合		1 (0.7)		
	片側性の胸椎半椎(肋骨の関節あり)	1 (0.8)			1 (0.8)
	胸椎椎体欠損				1 (0.8)
	胸椎弓欠損				1 (0.8)

胎児の変異頻度表

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
外表検査/内臓検査;					
頭部/頭骨	皮下出血 : 頭部	1 (0.8)			
眼	虹彩出血				1 (0.8)
	レンズ混濁		4 (5.1)		
	眼球突出		1 (0.7)		1 (0.8)
	網膜皺壁		1 (1.4)	2 (2.8)	
体幹	蒼白胎児		1 (0.7)		
心/大血管	総頸動脈の異常、左総頸動脈 起始異常(無名動脈より)	1 (0.8)	2 (1.3)		
胸部	肺中葉無発生	1 (0.8)	2 (1.3)	3 (2.0)	2 (1.5)
	胸腺肥大		1 (0.7)		1 (0.8)
	甲状腺肥大			1 (0.7)	
腹部	胃のガス状物貯留による膨満	2 (1.7)	3 (2.0)	1 (0.7)	5 (3.8)
	肝葉一斑点		1 (0.7)		
	腹部膨満		1 (0.7)		
	尿管拡張				1 (0.8)
	腸内容物淡色	11 (9.3)	11 (7.4)	4 (2.7)	25 (19.2)
	腹腔一ゲル状物貯留		1 (0.7)		
	脾臓/淡色	1 (0.8)			2 (1.5)

本頁に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

胎児の変異頻度表(つづき)

骨格検査					
頭骨	舌骨二分骨化	1 (1.5)		2 (2.6)	1 (1.4)
	舌骨弓骨化遅延 a)	5 (7.7)	9 (11.4)	5 (6.4)	12 (17.4)
	縫合骨	3 (4.6)	2 (2.5)	2 (2.6)	1 (1.4)
	前頭骨化遅延	1 (1.5)			2 (2.9)
	頭頂骨骨化遅延	7 (10.8)	2 (2.5)		1 (1.4)
	頭頂間骨骨化遅延	1 (1.5)		1 (1.3)	1 (1.4)
	頭頂間骨裂			1 (1.3)	
	鼻骨裂	1 (1.5)	1 (1.3)		1 (1.4)
	前頭骨裂	1 (1.5)	2 (2.5)		
	頭頂骨裂		1 (1.3)		1 (1.4)
	後頭骨裂		1 (1.3)		
	泉門拡張		1 (1.3)		1 (1.4)
	舌骨形態異常				1 (1.4)
	胸骨核	過剰胸骨核(第一胸骨核前方)			
胸骨核ゆ合		1 (0.8)		3 (2.0)	1 (0.8)
未骨化(1-4)			1 (0.7)		2 (1.5)
骨化遅延(1-4)			1 (0.7)		1 (0.8)
非対称性骨化(1-4)					1 (0.8)
未骨化(5-6)		13 (11.0)	25 (16.8)	23 (15.4)	12 (9.2)
骨化遅延(5-6)		16 (13.6)	26 (17.4)	17 (11.4)	10 (7.7)
非対称性骨化(5-6)		1 (0.8)	1 (0.7)		1 (0.8)
二分(骨化)(5-6)		3 (2.5)	1 (0.7)	2 (1.3)	3 (2.3)
胸骨核形態異常		2 (1.7)	2 (1.3)	3 (2.0)	3 (2.3)
肋骨	頸肋	1 (0.8)	2 (1.3)	1 (0.7)	
	過剰肋骨	93 (78.8)	112 (75.2)	103 (69.1)	89 (68.5)
	肋骨結節		2 (1.3)		
	肋骨形態異常(軽度)				1 (0.8)
椎骨	歯突起骨化遅延	2 (1.7)	5 (3.4)		5 (3.8)
	歯突起未骨化				4 (3.1)
	腰椎椎体/軽度 形態異常	1 (0.8)			
	棟椎弓配列異常	1 (0.8)			
	頸椎椎体非対称		1 (0.7)		1 (0.8)
	頸椎椎体二分(骨化)				1 (0.8)
	頸椎弓骨化遅延				1 (0.8)
	胸椎椎体骨化遅延	3 (2.5)	2 (1.3)	5 (3.4)	5 (3.8)
	胸椎椎体非対称	1 (0.8)			
	腰椎椎体非対称			1 (0.7)	
	腰椎弓配列異常	1 (0.8)			1 (0.8)
	尾椎配列異常(遠位)結合または欠損	1 (0.8)	1 (0.7)	2 (1.3)	2 (1.5)
	頸椎椎体の過剰骨化片(前方)	2 (1.7)	1 (0.7)		
	胸椎椎体欠損				1 (0.8)
	椎弓軽度形態異常		1 (0.7)		
	尾椎骨化遅延		1 (0.7)		
	胸椎椎体形態異常(軽度)	2 (1.7)		2 (1.3)	1 (0.8)
	椎弓に隣接/ゆ合した過剰骨化片				1 (0.8)
	頸椎椎体形態異常(軽度)				1 (0.8)
	環椎弓形態異常(軽度)	1 (0.8)			
頸椎弓形態異常(軽度)		1 (0.7)			

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

胎児の変異頻度表(つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	10	25	50
骨格検査					
腰帯	第2仙椎上の腰帯の附着(両側)	36 (30.5)	38 (25.5)	46 (30.9)	31 (23.8)
	第2仙椎上の腰帯の附着(片側)	7 (5.9)	15 (10.1)	12 (8.1)	12 (9.2)
	恥骨未骨化		1 (0.7)		1 (0.8)
	恥骨骨化遅延		1 (0.7)		1 (0.8)
	2仙椎への腰帯の附着	3 (2.5)		1 (0.7)	
四肢	前肢指節骨化遅延	6 (5.1)	1 (0.7)	1 (0.7)	4 (3.1)
	前肢指節未骨化	9 (7.6)	6 (4.0)	17 (11.4)	15 (11.5)
	中手骨骨化遅延	2 (1.7)	5 (3.4)	14 (9.4)	8 (6.2)
	中手骨未骨化 c)	1 (0.8)	20 (13.4)	15(10.1)	21(16.2)
	後肢指節骨化遅延			1 (0.7)	
	後肢指節未骨化		1 (0.7)	1 (0.7)	2 (1.5)
	距骨骨化遅延 c)	1 (0.8)	1 (0.7)		8 (6.2)
	距骨未骨化 c)		4 (4.2)	2 (1.3)	7 (5.4)

c): Cochran-Armitage検定

申請者注 :

胎児の骨格変異は以上であるが、50mg/kg/日投与群で比較的発生頻度が高いのは中手骨未骨化、距骨骨化遅延及び距骨未骨化であったことから、腹毎の胎児数、胎児の体重及び腹毎の変異発生頻度を個別別表から作成し次頁以降に示した。

表から明らかのようにこれらの変異は親動物全体の腹に認められているわけではなく、一部の腹に認められた。さらに、胎児数が多い腹から生まれた胎児の体重は低値に推移し、骨格変異の発生頻度が高い傾向がみられた。

上記3つの変異について、検体投与との関連性を検討するために、申請者が各投与群と対照群間の各腹当りの出現頻度に基づく統計分析(Mann-Whitney 検定)を実施したが、いずれの変異に関しても各投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。これらのことから、距骨及び中手骨に認められた骨化遅延及び未骨化は、胎児の未成熟に関連する変化と考えられる。

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

中手骨未骨化、距骨骨化遅延及び距骨未骨化の腹毎の発生数

投与量 mg /kg	母動物 番号	体重 kg (妊娠 29日 時)	生 存 胎 児 数	生存 胎児の 平均 体重 g	発生胎児数			投与量 mg /kg	母動物 番号	体重 kg (妊娠 29日 時)	生 存 胎 児 数	生存 胎児の 平均 体重 g	発生胎児数		
					中手 骨未 骨化	距骨 骨化 遅延	距骨 未骨 化						中手 骨未 骨化	距骨 骨化 遅延	距骨 未骨 化
0	1	3.74	6	42.5				10	19	3.58	9	34.5	1	0	0
	3	3.43	7	35.2					20	3.92	7	40.7	0	0	0
	4	3.16	7	32.2	1				21	3.73	9	39.6	0	0	0
	5	3.38	5	44.6					22	3.54	8	36.7	0	0	0
	6	3.69	6	39.6					23	3.38	10	38.3	0	0	0
	7	3.79	3	48.3					24	4.09	11	37.4	0	0	0
	8	3.98	9	41.2					25	3.86	3	49.3	0	0	0
	10	3.78	11	36.5					26	4.49	12	37.1	0	0	0
	11	4.00	9	37.8					27	3.43	8	34.7	0	0	0
	12	3.76	7	45.5					28	3.56	11	28.7	5	1	0
	13	4.13	10	45.6					29	3.36	4	41.1	0	0	0
	14	3.41	11	30.5					30	3.28	10	34.3	0	0	0
	15	3.78	13	30.6					31	4.58	7	40.6	3	0	0
	17	3.49	5	45.4					32	3.40	13	28.2	7	0	2
	18	3.51	9	39.7					34	3.76	6	38.6	0	0	0
							35	4.12	13	31.1	4	0	2		
							36	4.49	8	40.9	0	0	0		
合計	15		118		1	1	0	合計	17		149		20	1	4
平均		3.67	7.9	39.7				平均		3.80	8.8	37.2			
母動物数					1	1	0	母動物数					5	1	2

本頁に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は丸紅株式会社及び Sinon Corporation にある。

中手骨未骨化、距骨骨化遅延及び距骨未骨化の腹毎の発生数 (つづき)

投与量 mg/kg	母動物 番号	体重 kg (妊娠 29日 時)	生存 胎児 数	生存 胎児の 平均 体重 g	発生胎児数			投与量 mg/kg	母動物 番号	体重 kg (妊娠 29日 時)	生存 胎児 数	生存 胎児の 平均 体重 g	発生胎児数		
					中手 骨未 骨化	距骨 骨化 遅延	距骨 未骨 化						中手 骨未 骨化	距骨 骨化 遅延	距骨 未骨 化
25	37	4.19	8	48.8		0	0	50	55	3.82	16	28.0		11	3
	38	3.99	6	43.4		0	0		57	3.90	7	37.9	1	0	0
	39	3.23	8	35.9		0	0		59	3.14	9	33.8	1	1	0
	40	4.02	11	32.6	3	1	0		60	4.15	9	38.5		0	0
	41	3.71	7	39.0		0	0		61	3.60	9	33.8	1	3	1
	42	3.65	6	44.0		0	0		63	3.39	6	40.2		0	0
	43	4.15	10	38.8	1	0	0		64	3.21	10	30.4	1	0	1
	44	3.62	9	39.7		0	0		65	3.57	6	43.3	1	0	0
	45	3.90	13	29.3	1	2	0		66	3.76	6	46.8		0	0
	46	3.24	8	36.7	1	1	0		67	3.48	8	36.0		0	0
	48	3.35	10	32.1	1	5	0		68	3.35	9	29.4	1	4	1
	49	3.86	12	30.4	1	2	0		69	3.45	3	47.1		0	0
	50	3.31	8	36.0		0	0		70	3.93	10	31.0		1	0
	51	3.64	6	45.5		0	0		71	3.95	11	33.4		1	2
	52	4.37	9	41.2		0	0		72	3.56	11	33.9	2	0	0
	53	3.47	9	31.7	2	4	0								
	54	3.75	9	40.4	4	0	0								
合計	17		149		14	15	0	合計	15		130		8	21	8
平均		3.73	8.8	38.0				平均		3.62	8.7	36.2			
母動物数					8	6	0	母動物数					7	6	5

腹当りの出現頻度

投与量(母動物数)	中手骨身骨化	距骨骨化遅延	距骨未骨化
0 (15)	1.0 ± 3.7	0.5 ± 2.0	0.0 ± 0.0
10 (17)	10.8 ± 19.2	0.5 ± 2.2	1.8 ± 5.1
25 (17)	8.7 ± 15.7	0.0 ± 0.0	1.2 ± 3.5
50 (15)	11.8 ± 20.8	4.6 ± 7.1	4.1 ± 7.3