

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(7) 21 日間反復経皮投与毒性

ウサギを用いた 21 日間経皮毒性試験

(資料 4-A-3)

試験機関 インターナショナル・リサーチ・アンド・デベロップメント・コーポレーション  
報告書作成年 1982 年

検体の純度: % (原体)

供試動物: New Zealand White系アルビノウサギ 1群雌雄各10匹

投与期間: 21日間(1981年3月31日～1981年4月29日)

投与方法: 投与前に動物の背部を剪毛した。投与開始後は、必要に応じて剪毛した。各群5匹の皮膚を擦過し、残りの5匹は非擦過とし、擦過部位は毎週2回検体投与前に擦過した。

検体をそのまま、剃毛した皮膚に、0、200、1,000、4,000\* mg/kg/日を1日6時間、1週間に5日間の割合で反復して、3週間塗布し続けた。検体投与量と、体表面の割合は以下の通りであった。

投与群(mg/kg/日)	検体を塗布した体表面の割合(%)
対 照	0
200	5～10
1,000	20
4,000	30

\* 試験開始時 5,000mg/kg/日を高用量群として設定したが死亡率が高かったため4,000mg/kg/日群を新たに設定した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態を毎日、生死を1日2回観察した。

軟便、下痢等の症状が対照群を含む全群に見られたが、いずれも投与によるものと考えられなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

(原報告書 P.68 APPENDIX A Individual Animal Group Placement and Fate)

投与量(mg/kg/日)		0	200	1,000	4,000
死亡率(%)	非擦過群	雄	0	0	0
		雌	20	0	20
	擦過群	雄	20	0	20
		雌	20	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

体重変化;投与開始前及び、投与後は毎週2回すべての生存動物の体重を測定した。非擦過群の雄の200、1,000、4,000mg/kg/日投与群で体重の減少が認められた以外、検体投与に伴う変化はなかった。

摂餌量;全動物の摂餌量を毎日測定した。

試験期間を通じて、投与群と対照群との間に差は認められなかった。

血液学的検査;試験開始前及び終了時に、各群につき雌雄各5匹を対象として、ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数、総白血球数、及び白血球百分率、血小板、網状赤血球数、平均血球量、平均血球ヘモグロビン、平均血球ヘモグロビン濃度について検査した。全投与群につき、検体の投与に関連したと思われる影響は認められなかった。

血液生化学的検査;上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いてグルコース、血中尿素窒素、GOT、アルカリホスファターゼ、GPT、総蛋白、アルブミン、グロブリン、カルシウム、コレステロール、総ビリルビン、クレアチニン、乳酸脱水素酵素、ナトリウム、カリウム、塩化物、リンを測定した。全投与群につき、検体の投与に関連したと思われる影響は認められなかった。

臓器重量;試験終了時に全生存動物を対象として、解剖ののち肝臓、腎臓、心臓、精巣、卵巣、副腎、甲状腺、上皮小体及び下垂体の各重量を測定した。また、対体重比も算出した。

4,000 mg/kg/日投与群の雄の下垂体平均重量及び対体重比に、変動率が各々131%及び132%の統計学的に有意な増加が認められた。しかし、この変動が毒性学的に意味のあるものかは明確でなかった。

肉眼的病理検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。全投与群の検体経皮投与面の皮膚に、肥厚及び痂皮形成が認められ、用量相関が認められた。臓器及び組織には、肉眼的な異常は認められなかった。

病理組織学的検査;全供試動物を対象として、検体投与皮膚、非投与皮膚、肝臓、腎臓、及び肉眼的病変部について、病理標本を作成し、鏡検した。

1,000mg/kg/日投与群以上の検体を投与した皮膚に潰瘍性皮膚炎が観察され、用量相関が認められた。その他の病変は、散発的で検体の投与による影響とは考えられない。

以上の結果から、アラクロールの21日間経皮投与による亜急性経皮毒性試験における影響として、1,000 mg/kg/日以上投与群に用量相関を示す潰瘍性皮膚炎が認められ、4,000mg/kg/日投与群の雌に死亡の増加が認められたので、全身性毒性作用の無毒性量は200mg/kg/日であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(8) 反復経口投与神経毒性

アラクロールの反復経口投与神経毒性試験

(資料4-A-5)

提出除外申出書作成者  
申出書作成年

日本モンサント株式会社  
2002年

アラクロールが反復経口投与において神経毒性を示す可能性について、既存の毒性データ及び既知神経毒性物質の化学構造との相関に基づき考察した。

亜急性経口毒性試験からの考察:ラットの亜急性経口毒性試験(資料4-A-2)において、以下のとおり致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

詳細な状態の観察項目;外観、体位、姿勢、自律神経系機能、歩行の異常、動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応、神経系、及び異常行動について、詳細な状態の観察が実施されている。レポートには個々の観察項目ごとの記載はないが、試験成績において、対照群と比較して異常所見を認めなかったとしているので、致死量以下の用量でこれらの項目について特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

また、この試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)において特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

機能検査項目;刺激に対する感覚運動反応、握力、及び自発運動量については、この試験の報告書中には特に記載はない。

病理組織学的検査項目;

- ① 脳:致死量以下の用量で「脳」に関して、特異的な神経毒性を示唆する病理所見はない。また、この試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)において特異的な神経毒性を示唆する所見はない。
- ② 坐骨神経:この試験の報告書中には特に記載はない。しかし、この試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)において特異的な神経毒性を示唆する病理所見はない。
- ③ 骨格筋:この試験の報告書中には特に記載はない。しかし、この試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)において特異的な神経毒性を示唆する病理所見はない。
- ④ 脊髄:この試験の報告書中には特に記載はない。しかし、この試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)において特異的な神経毒性を示唆する病理所見はない。
- ⑤ 眼球およびその付属器:この試験の報告書中には特に記載はない。しかし、この試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)において特異的な神経毒性を示唆する病理所見はない。

その他の検査における致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見の有無:

- ① 脳重量:致死量以下の用量で「脳重量」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。またこの試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)において特異的

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

な神経毒性を示唆する所見はない。

- ② 眼科的検査:この試験の報告書中には特に記載はない。しかし、この試験よりも高用量で実施されたラット慢性混餌投与試験(資料5-2)の眼科的検査において特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

その他の試験(90日より長期の試験)からの考察:1年間反復経口毒性試験等において、以下のとおり致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

犬を用いた6ヶ月亜急性経口毒性試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料4-A-1)。

犬を用いたカプセル投与による慢性毒性試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料5-1)。

ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料5-2)。

ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料5-3)。

ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性特別試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料5-4)。

マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料5-5)。

マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料5-6)。

ラットを用いた繁殖試験;致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない(資料7-1)。

既知神経毒性物質との化学構造の相関:現在の科学的知見において、アラクロールは既知神経毒性物質との化学構造の相関はない。

以上の考察に基づき、本剤を反復経口投与神経毒性試験実施の対象から除外することが妥当であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(9) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

1) 犬を用いたカプセル投与による1年間反復経口投与毒性試験

(資料 5-1)  
試験機関 モンサント環境衛生研究所  
[GLP 対応]  
報告書作成年 1984年

検体の純度: %(原体)

供試動物: 純系ビーグル犬 1群雌雄6匹、体重(雄 7.8kg、雌 6.6kg)、  
開始時 6.5ヶ月齢

投与期間: 12ヵ月(1983年2月18日～1984年2月23日)

投与方法: 検体を希釈せず0、1、3、10 mg/kg/日の用量となるようゼラチンカプセル内に封入し調製後、  
1日1回経口投与した。

用量設定根拠;

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1日2回観察した。3及び10mg/kg/日群の雌雄に糞便の  
変化(下痢、粘液性便ないしメレナ)及び流涎がみられた。

対照群雌の1例が投与開始150日後に突然死亡した。試験期間中、その他の群での死亡例は  
なかった。

体重変化; 投与開始後13週間は週1回、その後は2週に1回すべての生存動物の体重を測定した。

8ヶ月時より、10mg/kg/日投与群雄の体重増加率が対照群に比べ減少し始めた。その他の群  
では検体投与による影響はみられず、試験終了時の体重は対照群に比べやや増加した。

摂餌量及び食餌効率; 全動物の摂餌量を投与開始から4週間は週5回、その後は週2回測定した。各  
群の雌雄とも摂餌量は対照群と同等であり、異常はなかった。

血液学的検査; 投与開始前、投与後1、3、6、9ヶ月時及び終了時に全動物を対象として、頸静脈から  
採血し、赤血球数、白血球数、血小板数、白血球百分比、ヘマクリット値、ヘモグロビン濃度、平  
均血球容積、平均血球ヘモグロビン量、平均血球ヘモグロビン濃度、網赤血球、凝血時間につ  
いて検査した。

10mg/kg/日投与群の雄において、全ての検査時に赤血球数ヘモグロビン濃度及びヘマトク  
リット値の減少及び網赤血球数及び平均血球容量の増加を示した。

血液生化学的検査; 上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を  
用いてアルブミン、総タンパク、血中尿素窒素、総ビリルビン、グロブリン、リン、直接ビリルビン、グ  
ルコース、GPT、LDH、アルカリホスファターゼ、GOT、γGTP、クレチアニン、コレステロール、  
カルシウム、塩素、ナトリウム、カリウム、BSPについて検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。(原報告書 TABLE V)

項目	時期 性別	1/mg/kg/日					3/mg/kg/日					10/mg/kg/日							
		投与前	1ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	9ヶ月	終了時	投与前	1ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	9ヶ月	終了時	投与前	1ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	9ヶ月	終了時
総ビリルビン	雄															↑ 214			
アルブミン	雄							↑ 104											
	雌																		↑ 113
アルカリ ホスファターゼ	雄		↑ 145	↑ 154		↑ 155	↑ 157												
	雌													↑ 136					
GOT	雄					↓ 81													
GPT	雄								↓ 74						↓ 79				
	雌								↓ 84										
γGPT	雄									↑ 174							↑ 187		
	雌													↑ 215					
グロブリン	雌		↑ 109																
塩素	雄		↑ 103	↑ 102					↑ 102						↑ 102				
	雌															↑ 104			
カリウム	雄																		↓ 91

Dunnettの両側検定 ↑ ↓ : p ≤ 0.05

上記のうち、各検査時期において1mg/kg/日群のアルカリホスファターゼ活性が有意に高かったが、他の群の雌雄においても高い傾向を示した。しかし、対照群雄の1ヶ月時の値(群平均値281.0)が、試験開始前の全動物平均(381.0)より異常に低いこと、用量相関が見られないことから、動物の群分けにより結果的に生じた変動と考えられた。

また、統計学的に有意ではなかったが、BSPが高用量群の雄で試験終了時に高い値を示した。その他の変動も散発的であり、検体の投与による影響とは考えられなかった。

尿検査;投与開始前、投与後1、3、6、9ヶ月時及び終了時に全動物を対象として、pH、タンパク、潜血、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、外観、濁度、比重を検査し、沈渣の鏡検を行った。各検査時期とも各投与群で検体投与に関連する異常は認められなかった。

眼科学的検査;投与開始前、投与後6ヶ月及び投与終了時に全動物を検査した。各検査時期また各投与群とも、検体の投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

臓器重量;投与終了後、全生存動物を対象にして、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、下垂体、精巣、甲

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

状態の各重量を測定した。また、対体重比及び対脳重量比も算出した。

下表に対照群と比較して統計学的有意差を示した項目を表記する。

(原報告書 TABLE VII)

性別	雄			雌		
投与群(mg/kg/日)	1	3	10	1	3	10
脳重量					↓ 90	
肝重量 対体重比			↑ 115			
			↑ 121			
下垂体重量		↓ 83				

重量: Dunnettの検定 ↑ ↓:  $p \leq 0.05$   
 対体重比: Bonferoni Inequality法を用いたMann-Whitneyの検定 ↑ ↓:  $p \leq 0.05$   
 表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

10mg/kg/日投与群の肝重量及び対体重比の増加がみられ、検体の投与による影響と考えられた。

肉眼的病理検査; 試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、剖検後、肉眼的病理検査を実施した。

検体投与に関連すると思われる肉眼的病理所見は認められなかった。

病理組織学的検査; 全動物を対象として、副腎、大動脈、脳、食道、視神経を伴う眼、胆のう、心臓、腎臓、結腸、盲腸、直腸、肝臓、肺、腸間膜リンパ節、骨格筋、鼻腔、坐骨神経、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、下顎唾液腺、皮膚、十二指腸、空腸、回腸、脊髄(3ヶ所)、脾臓、胃(3ヶ所)、骨髄を伴った肋骨、精巣上体を伴った精巣、胸腺、乳腺、上皮小体を伴う甲状腺、気管、尿管、膀胱、子宮、すべての腫瘍及び病変部の病理標本を作成し、鏡検した。

病理組織学的検査の所見を表1に示した。投与に関連していると思われた病変は以下の通りであった。

#### 10mg/kg/日群雄

尿細管上皮細胞の細胞質内及び門脈周囲の肝細胞及び脈管周囲の肝細胞内における多量のヘモシデリン。

脾臓の食細胞内へのヘモシデリンの増加。

#### 3mg/kg/日群雄

脾臓のヘモシデリン沈着、腎臓のヘモシデリン沈着。

以上の結果から、本剤の1年間カプセル投与による反復投与経口毒性試験における影響として3mg/kg/日投与群以上の雌雄の一般症状、10mg/kg/日群の雄のわずかな体重抑制、10mg/kg/日投与群の雌雄の肝重量の増加、雄におけるBSPの増加、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理組織学的検査から示唆される10mg/kg/日投与群以上の雄の貧血などがみられたので、無毒性量は1.0mg/kg/日であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 病理組織学的検査での病変の発生数 (原報告書 P.AI23 Table 7)

臓器及び病変			投与量(mg/kg/日)	雄				雌			
				0	1	3	10	0	1	3	10
全動物	腎臓	左	剖検動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
		ヘモシデリン沈着	0	0	0	3	0	0	0	0	
	右	ヘモシデリン沈着	0	0	1	3	0	0	0	0	
	肝臓	剖検動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	
		門脈/脈管周辺肝細胞 ヘモシデリン沈着	0	0	0	3	0	0	0	1	
	肺	剖検動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	
		間質性/巨細胞肺炎	1	0	1	0	1	2	2	0	
	脾臓	剖検動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	
		ヘモシデリン過多	0	0	1	2	0	0	0	0	
	胸腺	剖検動物数	5	6	6	3	6	5	5	6	
		萎縮/退縮	3	4	3	2	2	1	0	3	



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

2) ラットを用いた飼料混入投与による反復経口投与毒性試験

(資料 5-2)

試験機関 バイオダイナミクス社

報告書作成年 1981年

検体の純度: % 初めの11ヶ月間投与  
% 12ヶ月目以降投与 (原体)

供試動物: Long-Evans系ラット(体重:雄180g、雌147g)1群雌雄各50匹、  
開始時50日齢

投与期間:雄 27ヶ月(1978年4月12日~1980年7月1~2日)  
雌 25ヶ月(1978年4月12日~1980年4月21~24日)

投与方法: 検体をアセトンに溶解して、0、14、42、126mg/kg/日の用量となるよう混入し、雄で27ヶ月(812-813日)、雌で25ヶ月(741-744日)にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

用量設定根拠;

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1日2回観察した。

試験期間中2年目に、角膜の混濁が126mg/kg/日群の動物に頻繁にみられた。その他は、投与によるものと思われる変化は認められなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。42mg/kg/日投与群雌以外で対照群に比べ死亡率が増加した。

(原報告書 P.43 Table 1及びP.48 Table 2)

投与量(mg/kg/日)		0	14	42	126
死亡率(%)	雄	48	66	64	62
	雌	34	46	36	60

体重変化; 投与開始後13週までは週1回、その後は2週に1回すべての生存動物の体重を測定した。

雄の42mg/kg/日投与群では86週時及び98週時以降に、また126mg/kg/日投与群では、50週時及びそれ以降に有意な減少がみられた。これらの変動以外、検体投与に伴う変化はなかった。

摂餌量及び食餌効率; 全動物の摂餌量を第13週まで週1回、第14週から試験終了まで2週間に1回測定し、食餌効率も算出した。

雌雄とも対照群と投与群との間に差はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

飲水量；投与開始後12及び18ヶ月時に1群雌雄10匹について3日間の、また試験終了時に2日間の飲水量を測定した。

全投与群の雌において減少がみられた。

血液学的検査；投与後4、8、12、18、24ヶ月及び試験終了時(雄のみ27ヶ月時)に各群雌雄各10匹ずつを対象として、眼窩静脈洞から採血し、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数(貧血症状を呈した場合)、血小板数、白血球数、白血球百分率、赤血球の形態について検査した。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

(原報告書 TABLE VII, P.149 T13-1及びP.156 T14-1)

投与量		14/mg/kg/日						42/mg/kg/日						126/mg/kg/日					
項目	時期	4ヶ月	8ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	24ヶ月	終了時	4ヶ月	8ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	24ヶ月	終了時	4ヶ月	8ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	24ヶ月	終了時
	性別																		
ヘモグロビン	雌	↑ 103																	
ヘマトクリット値	雄		↓ 96		↑ 104				↓ 96						↓ 96				
	雌							↑ 104											
赤血球数	雌															↑ 105			
網状赤血球	雄																		↓ 72
	雌								↓ 66		↑ 367				↓ 66				
血小板数	雄		△ 122																

F検定とStudent's t検定：↑ ↓ :  $p \leq 0.05$  △ ▽ :  $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

126mg/kg/日投与群の雌において平均ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び赤血球数がやや減少した。同時に、網状赤血球及び白血球数の平均値がやや増加した。これらの変化は、特定の3動物(動物番号816、823、828)の測定値の変動が大きかったことに起因していた。

これらの変動には用量相関がなく一貫性が認められないことから、検体の投与に関連するものとは考えられなかった。

血液生化学検査；上記の血液学的検査における同一検査時期、動物を対象として、その血清を用いてGOT、GPT、アルカリホスファターゼ(SAP)、乳酸脱水素酸素(LDH)、尿素窒素(BUN)、絶食時グルコース、コレステロール、総タンパク、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、総ビリルビン、カリウム、カルシウムの測定を行った。

次頁の表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(原報告書 TABLE VIII, P.163 T15-1及びP.178 T16-1)

投与量		14mg/kg/日					42mg/kg/日					126mg/kg/日							
項目	時期	4ヶ月	8ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	24ヶ月	終了時	4ヶ月	8ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	24ヶ月	終了時	4ヶ月	8ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	24ヶ月	終了時
	性別																		
GOT	雄								↓79						↓77	↓77	↓73		
	雌		↓80						↓81	↓73					▽73				
GPT	雄			↓74				↓90		↓74						▽65	▽69		
	雌									↓59					▽65	↓63			
カルカリホスファターゼ	雌			↑119						↑126									
乳酸脱水素酵素	雄														↓64				
	雌														↓68				
尿素窒素	雌		↓84																
絶食時グルコース	雄		↓88																
コレステロール	雄		▽78							↑130					↓80	↑138			
	雌							↑112						↑120					
総タンパク	雌										△110							↓87	
アルブミン	雄			↓92						↓92						↓90			
	雌									↑107									
グロブリン	雄					↑111			↑107										
アルブミン/グロブリン比	雄			↓90						↓90				↓86				↓90	
総ビリrubリン	雄			↑125			↓75												
	雌																	▽73	
カリウム	雄					↑111													
カルシウム	雄																		↓97
	雌			↓96					↑104	↑104									▽91

F検定とStudent's t検定: ↑ ↓ : p ≤ 0.05 △ ▽ : p ≤ 0.01  
 表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

対照群と比べ統計学的に有意な変動が散見されたが、用量相関がなく、発現の時期にも一貫性がないため、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

尿検査;各雌雄10匹について、投与後4、8、12、18、24ヶ月時及び試験終了時(雄のみ)に外観、比重、pH、タンパク、グルコース、ケトン、ビリルビン、潜血を検査し沈渣の検鏡を実施した。

各検査時期また各投与群で対照群と統計学的有意差はなく、異常は認められなかった。

眼科学的検査;投与後86、106及び115週(雄は115週のみ)に眼検査を実施した。検体の投与による影響として、用量依存性のブドウ膜の障害が認められた。

臓器重量;試験終了時の全生存動物を対象として剖検後、副腎、脳(脳幹を伴う)、精巣、卵巣、心臓、腎臓、下垂体、脾臓、甲状腺重量について測定した。また、対体重比も算出した。

下表に対照群と比較して統計学的有意差を示した項目を表記する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(原報告書 TABLE X)

性 別	雄			雌		
	14	42	126	14	42	126
体重		↓91	▽78			▽83
脳重量						
対脳重比			△127			△118
卵巣重						↓74
対脳重比						↓76
脾重量						△174
対体重比			△132			△206
対脳重比						△166
心重量				↑115		
対体重比			△140			△130
対脳重比			↑110	↑113		
腎重量				△116		
対体重比			△130			△125
対脳重比				↑113		
肝重量			↑113	↑116		△123
対体重比			△147			△148
対脳重比			↑116			△125
甲状腺重量					△128	
対体重比		↑175			△129	△139
対脳重比		↑158			△130	↑118

Dunnett の t 検定: ↑ ↓ :  $p \leq 0.05$  △▽ :  $p \leq 0.01$   
 表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

126mg/kg/日投与群雄の心臓及び肝臓の平均重量、対体重比、対脳重量比がやや増加した。また14mg/kg/日投与群以上の雄の甲状腺重量、対体重比、対脳重量比がやや増加した。雌では卵巣重量、対体重比、対脳重量比がやや減少し、肝臓、脾臓、甲状腺の重量がやや増加した。

42mg/kg/日投与群雌では、甲状腺重量、対体重比、対脳重量比が増加した。その他にも変動が見られたが、生物学的に正常な変動範囲内であった。

肉眼的病理検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物、切迫殺動物を対象として、剖検後、肉眼的病理検査を実施した。

126mg/kg/日投与群に白内障及び腺胃の腫瘍が認められた。

病理組織学的検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物、切迫殺動物を対象として、副腎、大動脈(腹部)、骨及び骨髄(肋骨、肋軟骨結合部)全脳幹を伴う脳、精巣上体、食道、気管、甲状腺/上皮小体、視神経及びハーダー腺を伴う眼、頭頂骨を伴う頭部、冠状動脈を伴う心臓、腸(盲腸、結腸、十二指腸/膵臓、回腸、空腸)、腎臓、肝臓、主幹気管支及び気管を伴う肺、リンパ節(縦隔及び腸間膜)、卵巣、下垂体、前立腺/精のう、唾液腺(顎下)、骨格筋/坐骨神経(右大腿二頭筋)、皮膚及び乳腺(右鼠径部)、脊髓(頸部)、脾臓、胃、精巣、胸腺、膀胱、子宮、肉眼的病変部(同組織の正常部分も含む)、腫瘍または腫瘍と思われる部分及び近傍リンパ節について病理組織学的検査を実施した。

#### [非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

126mg/kg/日投与群雌雄において、高度の白内障、網膜変性及び虹彩萎縮が高頻度で認められ、検体の投与に関連すると考えられた。下表に眼病変の発生頻度を示す。

(原報告書 P.255 TABLE21-A)

性 別	雄				雌			
	0	14	42	126	0	14	42	126
投与量 (mg/kg/日)								
白内障	7/46	1/47	5/45	35/46	7/47	0/50	2/47	48/50
網膜変性	0/46	0/47	0/45	16/46	1/47	0/50	1/48	38/44
虹彩萎縮	0/46	0/47	0/45	14/46	0/47	0/50	0/47	18/43

126及び42mg/kg/日投与群雌雄の肝臓に小葉中心性肝細胞肥大、細胞質くもり硝子変性、同心円状層板小体、小葉中心性肝細胞壊死、及び肝包膜面の陥凹を特徴とする病変がみられた。これら病変の発生頻度を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(原報告書 P.255 TABLE 21-A)

性 別	雄				雌			
	0	14	42	126	0	14	42	126
投与量 (mg/kg/日)								
小葉中心性肝細胞肥大	2/50	4/50	12/50	13/50	5/50	9/50	29/50	15/50
細胞質くもり硝子変性	0/50	1/50	7/50	1/50	0/50	0/50	21/50	4/50
同心円状層板小体	1/50	0/50	6/50	9/50	0/50	0/50	4/50	5/50
小葉中心性肝細胞壊死	0/50	5/50	9/50	11/50	0/50	5/50	1/50	21/50
肝包膜面の陥凹	0/50	1/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/50	4/50

これらの病変のうち、小葉中心性肝細胞肥大、細胞質くもり硝子変性、及び同心円状層板小体は、肝細胞の酵素誘導に関連した変化であり、126及び42 mg/kg/日投与群雌雄における小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度の増加は、検体の投与に対する肝臓の代謝適応反応を示唆するものであると考えられる。小葉中心性肝細胞壊死、及び肝包膜面の陥凹は、検体の投与による慢性肝毒性を示唆していた。その他、126及び42mg/kg/日投与群雌雄において結節性過形成がわずかに増加した。

126mg/kg/日投与群雌雄において、膀胱の移行上皮過形成の発生頻度が増加し、検体投与との関連が示唆されたが、腫瘍に移行する傾向は認められなかった。

#### [腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。

126mg/kg/日投与群雌雄において、腺胃の悪性混合腫瘍の発生が高頻度で観察され、統計学的に有意であった。42mg/kg/日投与群雌1例においても類似の胃混合腫瘍が認められた。この所見は、統計学的には有意ではないが、まれな所見であること及び126mg/kg/日投与群に高頻度で観察されたことから、生物学的に有意であり、検体の投与に関連すると考えられた。以下に胃の腫瘍の発生頻度を示す：

(原報告書 P.203 TABLE 19A)

性 別	雄				雌			
	0	14	42	126	0	14	42	126
投与量 (mg/kg/日)								
平滑筋肉腫	0/49	0/50	0/50	1/50	0/50	0/50	0/50	1/49
骨肉腫	0/49	0/50	0/50	3/50	0/50	0/50	0/50	4/49
胃腺癌	0/49	0/50	0/50	2/50	0/50	0/50	0/50	1/49
悪性混合胃腫瘍	0/49	0/50	0/50	11/50	0/50	0/50	1/50	17/49

胃で観察された腫瘍と同様の形態学的特徴を持つ悪性混合腫瘍が途中死亡した14mg/kg/日投与群雄1例の結腸に発生し、検体投与との関連が考えられたが、126及び42mg/kg/日投与群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

には認められなかったことから、この腫瘍の毒性学的意義は不明である。

126及び42mg/kg/日投与群雌雄の鼻腔組織の呼吸上皮において、腫瘍の発生が認められた。発生頻度を下表に示す：

(原報告書 P.203 TABLE 19A)

性 別	雄				雌			
	0	14	42	126	0	14	42	126
投与量 (mg/kg/日)								
腺腫	0/46	0/46	10/41	23/42	0/49	0/47	4/45	10/48
腺癌	0/46	0/46	1/41	0/42	0/49	0/47	1/45	0/48

126及び42mg/kg/日投与群雌雄の甲状腺において腫瘍の発生が認められた。発生頻度を下表に示す：

(原報告書 P.203 TABLE 19A)

性 別	雄				雌			
	0	14	42	126	0	14	42	126
投与量 (mg/kg/日)								
小胞性腺腫	1/48	0/50	1/49	11/50	0/49	0/44	2/46	2/49
小胞性腺癌	0/48	0/50	0/49	2/50	0/49	0/44	0/46	2/49

その他、126mg/kg/日投与群において、脳の上皮細胞腫瘍(雌)、乏突起膠種(雄)が1例ずつ観察され、46mg/kg/日投与群では上皮細胞腫瘍が雌雄各2例、及び顆粒性細胞種が雄1例、14mg/kg/日投与群では、星状細胞腫が雌1例に認められた。星状細胞腫は対照群雌1例でも観察された。本試験における脳腫瘍の全体での発生頻度は9/400(2.25%)と自然発生性脳腫瘍の予想発生率(1~1.6%)の範囲を越えていたが、検体投与との関連は不明である。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表のとおりであった。

(原報告書 P.203 TABLE 19A)

性 別	雄				雌				
	0	14	42	126	0	14	42	126	
投与群 (mg/kg/日)									
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
腫瘍数	良 性	41	63	63	80	65	55	62	67
	悪 性	37	26	23	47	14	21	13	42
腫瘍総数	78	89	86	127	79	76	75	109	
腫瘍動物数	41	44	38	47	45	46	43	45	

以上の結果から、本剤の雄25ヶ月間、雌27ヶ月間にわたる飼料混入投与による反復経口投与毒性試験における影響として、42 mg/kg/日投与以上の投与群に投与に関連すると思われる腫瘍発生が腺胃、鼻腔、甲状腺に認められ、また、14 mg/kg/日以上の投与群に眼病変及び肝毒性が認められたため、無毒性量は14 mg/kg/日以下であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数 (原報告書 P.264 TABLE 21)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	14	42	126	0	14	42	126
死亡・切迫殺	眼	剖検動物数	24	31	27	27	16	23	17	30
		白内障	4	0	0	16**	1	0	0	28**
		剖検動物数	23	31	27	27	16	23	17	25
		網膜変性	0	0	0	5	0	0	0	19**
	骨髄	剖検動物数	22	25	30	27	15	21	16	23
		汎血球骨髄過形成	3	4	9	15**	3	6	4	17**
	鼻腔組織	剖検動物数	21	30	23	23	16	20	14	29
		鼻腔小ポリープ	0	1	0	0	0	0	0	0
	心臓	剖検動物数	24	33	32	30	17	23	18	30
		心房血栓	2	4	1	5	0	0	0	4
	甲状腺	剖検動物数	22	33	31	31	17	21	18	30
		小胞萎縮	1	0	7	5	0	0	0	13**
	胃	剖検動物数	24	33	32	31	17	23	18	29
		胃粘膜萎縮	0	0	0	2	0	0	0	1
	肝臓	剖検動物数	24	33	32	31	17	23	18	30
		好酸性肝細胞小増殖巣	3	2	2	1	0	0	3	3
		好塩基性肝細胞小増殖巣	0	0	1	0	1	0	0	1
		小葉中心性肝細胞壊死	0	5	9**	9**	0	5	0	14**
		小葉中心性肝細胞肥大	1	2	1	1	1	0	3	5
		細胞質くもり硝子変性	0	1	0	0	0	0	0	0
肝包膜面の陥凹		0	1	0	0	0	0	0	0	
結節性過形成	0	0	0	2	0	1	0	1		
膀胱	剖検動物数	21	33	28	30	16	22	16	30	
	移行上皮過形成	1	3	1	7	0	0	2	6	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.272 TABLE 22)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	14	42	126	0	14	42	126
最終屠殺	眼	剖検動物数	23	16	18	19	31	27	30	20
		白内障	3	1	3	19**	6	0	2	20*
		剖検動物数	23	16	18	19	31	27	31	19
		網膜変性	0	0	0	11**	1	0	1	19**
		剖検動物数	23	16	18	19	31	27	30	18
		虹彩萎縮	0	0	0	14**	0	0	0	18**
	骨髄	剖検動物数	23	17	17	18	32	27	31	19
		汎血球骨髄過形成	1	0	0	1	2	3	3	7**
	鼻腔組織	剖検動物数	25	16	18	19	33	27	31	19
		鼻腔小ポリープ	0	1	0	0	0	0	1	0
	心臓	剖検動物数	26	17	18	19	33	27	32	20
		心房血栓	1	0	0	1	0	1	0	1
	胃	剖検動物数	25	17	18	19	33	27	32	20
		胃粘膜萎縮	0	0	1	2	0	0	0	2
		上皮過形成及び好塩基球増加症	0	0	0	0	0	0	0	2
	肝臓	剖検動物数	26	17	18	19	33	27	32	20
		好酸性肝細胞小増殖巣	6	4	7	6	7	6	12	8
		好塩基性肝細胞小増殖巣	5	1	2	1	5	1	5	2
		明細胞肝細胞小増殖巣	0	0	0	0	0	0	1	0
小葉中心性肝細胞壊死		0	0	0	2	0	0	1	7	
小葉中心性肝細胞肥大		1	2	11**	12**	4	9	26**	10**	
細胞質くもり硝子変性		0	0	7**	1	0	0	21**	4*	
肝包膜面の陥凹		0	0	0	0	0	0	1	4*	
結節性過形成		0	0	1	2	2	0	2	0	
同心円状層板小体		1	0	6*	9**	0	4*	0	5**	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.255 TABLE 21-A)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	14	42	126	0	14	42	126
全動物	眼	剖検動物数	46	47	45	46	47	50	47	50
		白内障	7	1*	5	35**	7	0	2	48**
		剖検動物数	46	47	45	46	47	50	48	44
		網膜変性	0	0	0	16**	1	0	1	38**
		剖検動物数	46	47	45	46	47	50	47	43
		虹彩萎縮	0	0	0	14**	0	0	0	18**
	骨髓	剖検動物数	45	42	47	45	47	48	47	42
		汎血球骨髓過形成	4	4	9	16**	5	9	7	24**
	鼻腔組織	剖検動物数	46	46	41	42	49	47	45	48
		鼻腔小ポリープ	0	2	0	0	0	0	1	0
	心臓	剖検動物数	50	50	50	49	50	50	50	50
		心房血栓	3	4	1	6	0	1	0	5
	甲状腺	剖検動物数	49	50	49	50	49	44	46	49
		小嚢萎縮	1	0	7	5	0	0	0	13**
	胃	剖検動物数	49	50	50	50	50	50	50	49
胃粘膜萎縮		0	0	0	2	0	0	0	3	
剖検動物数		49	50	50	50	50	50	50	50	
上皮過形成及び好塩基球増加症		0	0	1	2	0	0	0	2	
肝臓	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	好酸性肝細胞小増殖巣	9	6	9	7	7	6	15	11	
	好塩基性肝細胞小増殖巣	5	1	3	1	6	1	5	3	
	明細胞肝細胞小増殖巣	0	0	0	0	0	0	1	0	
	小葉中心性肝細胞壊死	0	5	9**	11**	0	5	1	21**	
	小葉中心性肝細胞肥大	2	9	12*	13**	5	4	29**	15*	
	細胞質くもり硝子変性	0	0	7*	1	0	1	21**	4	
	肝包膜面の陥凹	0	0	0	0	0	1	1	4	
	結節性過形成	0	1	1	4	2	0	2	1	
	同心円状層板小体	1	0	6	9**	0	4	0	5	
膀胱	剖検動物数	48	50	45	49	47	48	48	49	
	移行上皮過形成	5	3	1	14*	0	1	4	6*	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*: p<0.05; \*\*: p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生数 (原報告書 P.219 TABLE 19C)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	14	42	126	0	14	42	126
死亡・切迫殺	脳	剖検動物数	24	33	32	31	17	23	18	30
		乏突起膠腫	0	0	0	1	0	0	0	0
		上衣細胞腫	0	0	0	1	0	0	2	1
		星状細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0
	リンパ節	剖検動物数	23	33	29	26	17	23	18	28
		リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	剖検動物数	22	33	31	31	17	21	18	30
		小胞性腺腫	0	0	0	6*	0	0	0	2
		小胞性腺癌	0	0	0	2	0	0	0	2
	胃	剖検動物数	24	33	32	31	17	23	18	29
		平滑筋肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1
		骨肉腫	0	0	0	3	0	0	0	4
		胃腺癌	0	0	0	1	0	0	0	1
		悪性混合胃腫瘍	0	0	0	5	0	0	0	10**
	結腸	剖検動物数	24	32	32	30	17	23	18	30
		悪性混合腫瘍	0	1	0	0	0	0	0	0
	膵臓	剖検動物数	23	31	31	30	16	22	16	25
		腺房細胞腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	剖検動物数	24	33	32	31	17	23	18	30
		肝細胞腺腫	0	0	0	1	0	0	0	2
膀胱	剖検動物数	24	33	28	30	16	22	16	30	
	乳頭腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0	
	移行上皮性乳頭腫	0	0	0	1	0	0	0	0	
鼻腔組織	剖検動物数	21	30	23	23	16	20	14	29	
	腺腫(呼吸上皮)	0	0	7**	13**	0	0	1	7*	
	腺癌(呼吸上皮)	0	0	1	0	0	0	1	0	
乳腺	剖検動物数	17	20	19	24	14	20	18	27	
	腺様線維腫	0	0	0	0	1	5	6	5	
	線維腺腫	0	0	0	0	1	0	0	1	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.212 TABLE 19B)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	14	42	126	0	14	42	126
最終屠殺	脳	剖検動物数	26	17	18	19	33	27	32	20
		上衣細胞腫	0	0	0	1	0	0	0	0
		星状細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0
		顆粒細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	剖検動物数	25	17	18	19	33	27	31	19
		脂肪肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	甲状腺	剖検動物数	26	17	18	19	32	23	28	19
		小胞性腺腫	1	0	1	5	0	0	2	0
	胃	剖検動物数	25	17	18	19	33	27	32	20
		胃腺癌	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性混合胃腫瘍	0	0	0	6**	0	0	1	7**
	膵臓	剖検動物数	26	17	18	18	32	26	31	20
		島細胞腺癌	0	0	0	0	0	0	0	1
	肝臓	剖検動物数	26	17	18	19	33	27	32	20
		肝細胞腺腫	1	0	2	0	0	0	1	1
	膀胱	剖検動物数	24	17	17	19	31	26	32	19
		移行上皮性乳頭腫	0	0	0	2	0	0	0	0
		乳頭腺癌	2	0	0	0	0	0	0	0
	鼻腔組織	剖検動物数	25	16	18	19	33	27	31	19
		腺腫(呼吸上皮)	0	0	3	10**	0	0	3	3*
乳腺	剖検動物数	18	11	12	11	26	26	32	15	
	腺様線維腫	0	0	0	0	5	6	6	6	
	線維腺腫	0	0	0	0	0	3	0	2	
	乳頭状腺癌	0	0	0	0	1	0	0	0	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.203 TABLE 19A)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	14	42	126	0	14	42	126
全動物	脳	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		乏突起膠腫	0	0	0	1	0	0	0	0
		上衣細胞腫	0	0	0	2	0	0	2	1
		星状細胞腫	0	0	0	0	1	1	0	0
		顆粒細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	剖検動物数	48	50	50	49	50	50	49	49
		脂肪肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ節	剖検動物数	48	49	47	45	50	49	49	48
		リンパ芽球性リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	剖検動物数	48	50	49	50	49	44	46	49
		小胞性腺腫	1	0	1	11**	0	0	2	2
		小胞性腺癌	0	0	0	2	0	0	0	2
	胃	剖検動物数	49	50	50	50	50	50	50	49
		平滑筋肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1
		骨肉腫	0	0	0	3	0	0	0	4
		胃腺癌	0	0	0	2	0	0	0	1
		悪性混合胃腫瘍	0	0	0	11**	0	0	1	17**
	結腸	剖検動物数	50	49	50	49	50	49	50	50
		悪性混合腫瘍	0	1	0	0	0	0	0	0
	膵臓	剖検動物数	49	48	49	48	48	48	47	45
		島細胞腺癌	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺房細胞腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫	1	0	2	1	0	0	1	3
膀胱	剖検動物数	48	50	45	49	47	48	48	49	
	乳頭腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0	
	移行上皮性乳頭腫	0	0	0	1	0	0	0	0	
	移行上皮性乳頭癌	0	0	0	2	0	0	0	0	
	乳頭腺腫	2	0	0	0	0	0	0	0	
鼻腔組織	剖検動物数	46	46	41	42	49	47	45	48	
	腺腫(呼吸上皮)	0	0	10**	23**	0	0	4*	10**	
	腺癌(呼吸上皮)	0	0	1	0	0	0	1	0	
乳腺	剖検動物数	35	31	31	35	40	46	50	42	
	腺様線維腫	0	0	0	0	6	11	12	11	
	線維腺腫	0	0	0	0	1	3	0	3	
	乳頭状腺癌	0	0	0	0	1	0	0	0	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

### 3) ラットを用いた飼料混入投与による反復投与毒性試験

(資料 5-3)

試験機関 モンサント環境衛生研究所  
報告書作成年 1983年

検体の純度: % (原体)

供試動物: Long-Evans系ラット(体重:雄239g、雌170g)1群雌雄各50匹、  
開始時7週齢

投与期間: 24ヶ月(1980年8月20日～1982年10月4日)

投与方法: 検体をアセトンに溶解して、0、0.5、2.5、15mg/kg/日の用量となるように混入し、24ヶ月間  
にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

用量設定根拠;

#### 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。

全試験期間を通じて、検体投与に伴う異常所見は認められなかった。試験終了時の死亡率を  
下表に示す。この死亡率の変動は、毒性学的に有意であるとは考えられなかった。

(原報告書 P.40 C-2. Table1 Summary of Unscheduled Deaths)

投与量(mg/kg/日)		0	0.5	2.5	15
死亡率 (%)	雄	66	42	42	54
	雌	56	48	54	72

体重変化; 投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。

検体投与に伴う変化は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率; 全動物の摂餌量を投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回測定し、  
食餌効率も算出した。

検体投与に伴う変化は認められなかった。

血液学的検査; 試験終了時に各群雌雄10匹を対象として、後大静脈から血液を摂取し、赤血球数、  
白血球数、血小板数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、白血球百分率を測定した。また、赤血  
球指標として、平均血球容積(MCV)、平均血球、ヘモグロビン量(MCHC)を測定した。

15mg/kg/日投与群の雌において、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)及び、平均赤血球ヘモ  
グロビン濃度(MCHC)の計算値の有意な減少が認められたが、一般的な変動範囲内であり検体  
投与による影響とは考えられない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

血液生化学的検査;試験終了時、上記の血液学的検査における同一の検査動物を対象として、その血清を用いて、アルブミン、総タンパク、血液尿素窒素(BUN)、総ビリルビン、直接ビリルビン、グルコース、GPT、GOT、アルカリホスファターゼ(SAP)、乳酸脱水素(LDH)、クレチアニン、コレステロール、カルシウム、リン、塩素、ナトリウム及びカリウムを測定した。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

(原報告書 P.101 C-8.Table V及びP.104 Summary of Serum Chemistry-Group Mean Data)

投与量(mg/kg/日)		0.5	2.5	15
項目	性別			
グルコース	雌			↑144
乳酸脱水素酵素	雌	▽52	▽48	▽35
リン	雄		↑117	
塩素	雄		↑102	
ナトリウム	雄			↓98
カリウム	雄		↑130	↑130

Dunnettの両側検定 ↑ ↓ :p<0.05 △▽:p<0.01

乳酸脱水素酵素活性の減少が雌雄に観察され、雌においては統計学的に有意であったが、この研究機関における他の試験と比較しても変動範囲内であり用量相関も認められないことから、検体の投与には関連していないと考えられた。

眼科学的検査;投与後ほぼ3ヶ月毎に眼検査を行い、投与後13ヶ月と24ヶ月時には詳細な検査を行った。

13ヶ月時の検査で対照群を含む大部分の生存動物に瞳孔辺縁部の色素過形成が認められた。この時点で高用量群の雌の2例の網膜に色素斑点がみられたが、これ以後の検査で、この症状の発生頻度は投与群において対照群に比べ有意に増加していなかったことから、偶発的なものとみなされ、検体の投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

臓器重量;試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち、副腎、上皮小体を伴う甲状腺、卵巣、精巣上体を伴う精巣、脾臓、腎臓、肝臓の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

臓器重量及び対体重比とも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。

肉眼的病理検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物、切迫殺動物を対象として剖検、肉眼的病理検査を実施した。

途中死亡動物のうち、15mg/kg/日投与群雄に下垂体腺肥大及びうつ血、15及び2.5mg/kg/日投与群雌に甲状腺肥大が観察された。計画殺動物のうち、15mg/kg/日投与群雄に肝臓の病巣、及び甲状腺肥大、15及び2.5mg/kg/日群雄に甲状腺内増生が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

病理組織学的検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物、切迫殺動物を対象として、重量測定臓器を含め大動脈、骨髄を伴う大腿骨、リンパ節(腸間膜及び顎下)、坐骨神経、下垂体、胃、食道、精のう、大腿直筋、皮膚、膀胱、子宮、肺、乳腺、唾液腺、脾臓、前立腺、脊髄、気管、心臓、脳、鼻、視神経を伴う眼、十二指腸、空腸、回腸、大腸、胸腺、増生組織、腫瘍または腫瘍、及び病理学者が指摘した病変部について病理組織学的検査を実施した。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

15mg/kg/日投与群雌雄で鼻粘膜下腺過形成及び鼻腔の管腔炎症が認められた。加齢ラットによくみられる心筋線維症及び腎病変が雌でやや増加したが用量相関がなく検体投与との関連ははっきりしなかった。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。

15mg/kg/日投与群雌雄で鼻腔上皮の腺腫が高頻度で観察され、投与に関連した病変と考えられた。雌で副腎の好クロム性細胞腫及び胸部リンパ肉腫が観察されたが、検体投与との関連は認められなかった。2.5mg/kg/日投与群において、鼻腔上皮の腺腫が雌の1例に、腺胃の腫瘍が雄の1例に認められた。雄に1例認められた腺胃の腫瘍は試験の初期に発生したもので、投与との関連は弱いと考えられる<sup>1)</sup>。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍総数は下表のとおりであった。

(原報告書 P.2005 A Chronic Feeding Study of Alachlor in Rats-Individual Animal Number with Each Neoplasm)

性 別		雄				雌			
投与群(mg/kg/日)		0	0.5	2.5	15	0	0.5	2.5	15
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良 性	59	44	41	61	70	76	68	76
	悪 性	28	19	15	16	19	21	21	31
腫瘍総数		87	63	56	77	89	97	89	107
腫瘍動物数		43	36	36	44	46	46	47	46

以上の結果から、本剤の24ヶ月間飼料混入投与による反復投与毒性試験における影響として、15mg/kg/日投与群に、鼻腔上皮の腺腫が認められ、また、2.5mg/kg/日投与群に腺胃及び鼻腔の腺腫が1例ずつ認められたので、催腫瘍性に関する検体の無作用量は0.5mg/kg/日であると判断される。また、非腫瘍性の反復投与毒性に関するアラクロールの無毒性量は15mg/kg/日で鼻腔の炎症性病変が増加したため2.5mg/kg/日であると判断される。

<申請者注>

- 1) これまでの試験において腺胃の腫瘍が発生したのは126mg/kg/日群の雌雄と42mg/kg/日群の雄1例で雌のほうが罹患率が高く、発生は試験の後期においてであった。また2.5mg/kg/日群あるいは42mg/kg/日以下のどの投与量においても胃の前癌的症状は認められていない。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数

(原報告書 800218-AI-96-12 Table 12, 800218-AI-123-13 Table13及び800218-AI-141-14 Table14)

臓器及び病変			雄				雌					
			投与量 (mg/kg/日)									
			0	0.5	2.5	15	0	0.5	2.5	15		
死亡・切迫殺	副腎		剖検動物数	33	21	21	27	28	24	27	35	
			皮質毛細血管拡張	0	1	0	2	16	8	9	16	
	心臓		剖検動物数	33	21	21	27	28	24	27	35	
			筋線維症/癒痕	1	1	0	0	0	1	4	5	
	腎臓	左側		剖検動物数	33	21	21	27	28	24	27	35
				単核細胞浸潤 (慢性間質性腎炎)	23	17	12	21	10	12	14	25**
				ヘモシデリン沈着	2	0	1	4	1	4	4	5
				尿細管硬化症	4	4	2	6	0	1	2	5
		右側		鉍質沈着微小結石	4	3	2	1	5	2	13**	9
				単核細胞浸潤 (慢性間質性腎炎)	19	16	12	21	10	12	14	24**
				尿細管拡張/嚢胞	19	10	11	20	13	16	14	27**
				ヘモシデリン沈着	1	0	1	3	1	5	3	5
		尿細管硬化症	4	3	4	5	1	2	2	6		
	鼻腔		剖検動物数	28	19	16	22	20	18	24	34	
		鼻腔炎症	1	1	1	3	2	2	0	6		
		鼻腔内粘膜下の鼻腺過形成	2	0	0	10**	1	2	3	5		
最終屠殺	副腎		剖検動物数	17	29	29	23	21	26	23	14	
			皮質毛細血管拡張	0	1	1	3	13	13	9	11	
	心臓		剖検動物数	17	29	29	23	22	26	23	14	
			筋線維症/癒痕	0	1	0	1	0	2	0	1	
	腎臓	左側		剖検動物数	17	29	29	23	22	26	23	14
				単核細胞浸潤 (慢性間質性腎炎)	16	28	27	23	15	21	15	11
				ヘモシデリン沈着	1	0	1	1	0	5	3	0
		右側		尿細管硬化症	8	11	12	7	1	4	2	2
				単核細胞浸潤 (慢性間質性腎炎)	15	27	27	21	15	19	15	11
				ヘモシデリン沈着	1	0	0	0	0	6**	3	1
		尿細管硬化症	7	7	6	0	0	2	2	1		
	腎盂腎炎	0	4	7**	3	2	0	1	0			
鼻腔		剖検動物数	17	29	29	23	22	26	23	14		
		鼻腔炎症	3	3	3	6	1	5	2	5**		
		鼻腔内粘膜下の鼻腺過形成	0	1	3	11**	1	3	2	6**		

統計処理法:Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き)

臓器及び病変			雄				雌				
			投与量 (mg/kg/日)								
			0	0.5	2.5	15	0	0.5	2.5	15	
全動物	副腎	剖検動物数	50	50	50	50	49	50	50	49	
		皮質毛細血管拡張	0	2	1	5**	29	21	18	27	
	心臓	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	49	
		筋線維症/癒痕	1	2	0	1	0	3	4	6**	
	腎臓	左側	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
			単核細胞浸潤 (慢性間質性腎炎)	39	45	39	44	25	33	29	36**
			尿細管上皮変性	31	42**	39	38	29	31	22	32
			ヘモシデリン沈着	3	0	2	5	1	9**	7**	5
			尿細管硬化症	12	15	14	13	1	5	4	7**
		右側	単核細胞浸潤 (慢性間質性腎炎)	34	43**	39	42	25	31	29	35**
			尿細管上皮変性	30	42**	40**	39	28	26	26	33
			ヘモシデリン沈着	2	0	1	3	1	11**	6	6
			尿細管硬化症	11	10	10	11	1	4	4	7**
			剖検動物数	45	48	45	45	42	44	47	48
	鼻腔	鼻腔炎症	4	4	4	9	3	7	2	11	
		鼻腔内粘膜下の鼻腺過形成	2	1	3	21**	2	5	5	11**	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生数

(原報告書 800218-AI-96-12 Table 12, 800218-AI-123-13 Table13及び800218-AI-172-15 Table15)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	0.5	2.5	15	0	0.5	2.5	15
死亡・切迫殺	副腎	剖検動物数	33	21	21	27	28	24	27	35
		好クロム性細胞腫 (良性)	5	1	0	2	1	0	2	2
		好クロム性細胞腫 (悪性)	1	0	0	1	1	0	0	0
	鼻腔	剖検動物数	28	19	16	22	20	18	24	34
		鼻腔呼吸上皮腺腫	0	0	0	4	0	0	0	3
	胸腺	剖検動物数	32	21	19	27	26	24	26	29
		リンパ肉腫	0	0	1	0	0	1	1	1
	胃	剖検動物数	33	21	21	27	28	24	27	36
		腺癌	0	0	1	0	0	0	0	0
	最終屠殺	副腎	剖検動物数	17	29	29	23	21	26	23
好クロム性細胞腫 (良性)			3	6	2	4	0	1	1	3
好クロム性細胞腫 (悪性)			1	2	0	1	0	0	0	0
鼻腔		剖検動物数	17	29	29	23	22	26	23	14
		鼻腔呼吸上皮腺腫	0	0	0	7**	0	0	1	6**
胸腺		剖検動物数	17	29	27	23	22	26	22	14
	リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	1	2	
全動物	副腎	剖検動物数	50	50	50	50	49	50	50	49
		好クロム性細胞腫 (良性)	8	7	2	6	1	1	3	5*
		好クロム性細胞腫 (悪性)	2	2	0	2	1	0	0	0
	鼻腔	剖検動物数	45	48	45	45	42	44	47	48
		鼻腔呼吸上皮腺腫	0	0	0	11**	0	0	1	9**
	胸腺	剖検動物数	49	50	46	50	48	50	48	43
		リンパ肉腫	0	0	1	0	0	1	2	3*
	胃	剖検動物数	50	50	50	49	50	50	50	48
腺癌		0	0	1	0	0	0	0	0	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

4) ラットを用いた飼料混入投与による反復投与毒性特別試験

(資料 5-4)

試験機関 モンサント環境衛生研究所  
報告書作成年 1984年

検体の純度: % (原体)

供試動物: Long-Evans系ラット(体重: 雄164.0~209.9g、雌136.5~155.0g)、投与群雌雄各100匹、  
対照群雌雄各6匹、試験開始時7週齢

投与期間: 24ヶ月(1980年8月20日~1982年10月5日)

投与方法: 検体をアセトンに溶解して、126mg/kg/日の用量となるように混入し、以下のI~III群に別  
けて各々の摂食期間内に随時摂食させた。

I群; 試験終了まで検体の混餌投与を続け、8ヶ月以後に死亡または屠殺した動物。  
(雄70匹、雌31匹)

II群; 検体の混餌投与を続け、5~8ヶ月の間に死亡または屠殺した動物。  
(雄10匹、雌20匹)

III群; 5~6ヶ月時まで検体の混餌投与を続け、その後試験終了時まで基礎飼料のみを摂取  
させた動物。(雄20匹、雌49匹)

投与開始後5~6ヶ月時に、混餌投与動物から雄20匹及び雌49匹を無作為に選抜し、基礎  
飼料のみの投与に切り替えた。投与開始5~8ヶ月時に対照群の雌雄各2匹投与群の雄10匹、  
雌20匹を屠殺した。雄は無作為に、雌は眼異常の有無に基づき数匹ずつ選抜した。これらの動  
物について、上記の群別けに従い区別して評価した。

飼料は1週間に1回調製した。

用量設定の根拠;

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1日2回観察した。各群の試験終了時の死亡動物数と死  
亡率は次頁の表の通りであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(原報告書 D.1.TABLE I Special Chronic Study of Alachlor in Rats-Mortality)

群	雄		雌	
	死亡動物数	(%)	死亡数動物	(%)
I	52/70	74	27/31	87
II	10	—	20	—
III	14/20	70	33/49	67

体重変化;投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。

I 群の雌は、III群の雌より体重の増加量が少なかった。

血液学的検査;試験終了時に I 群の雄10匹を対象として、後大静脈から採取し、赤血球数、白血球百分比、血小板数、ヘマトクリット、ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網赤血球数を測定した。

結果は全て正常値の範囲内であった。

血液性化学的検査;上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いてアルブミン、総タンパク、血中尿素窒素、総ビリルビン、直接ビリルビン、グルコース、GPT、GOT、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酸素、クレアチニン、コレステロール、カルシウム、リン、塩素、ナトリウム、カリウムを測定した。

結果は全て正常値の範囲内であった。

臓器重量;試験終了時に I 群の全生存動物を対象として、副腎上皮小体を伴う甲状腺、卵巣、精巣上体を伴う精巣、脾臓、腎臓、肝臓、心臓の各重量を測定した。本試験で用いた系統の背景データと比較できるのは雄のみであり、雌はデータが少なすぎ有意な判定はできなかった。

比較した結果を下表に示した。雄の副腎、肝臓、甲状腺重量が同系統の背景データ正常値に比べ増加した。

(原報告書 P.24 臓器重量及びP.37 Group I -Table3)

性 別	雄	
投与群(mg/kg/日)	126	同系統の正常値
副 腎 重 量	00.138g	00.070g
肝 重 量	22.894g	19.206g
甲 状 腺 重 量	00.195g	00.058g

肉眼的病理検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、肉眼的病理検査を行った。

以下の肉眼的病変が同系統の背景データから予想される発生頻度を上回っていた。

I 群 雄 脳:増生/腫瘍、鼻:増生/腫瘍、胃:増生/腫瘍、甲状腺:増生/腫瘍、肥大、膀胱:増生/腫瘍  
雌 脳:変色、眼:小型化、角膜混濁、胃:増生/腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

II群 雌雄 眼:変性性病変

III群 雌雄 眼:変性性病変、肝臓:退色、変性巣、腫瘤、胃:増生/腫瘤、鼻:増生/腫瘤、甲状腺:肥大

病理組織学的検査;上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、大動脈、副腎、骨髄を含む大腿骨、リンパ節(腸間膜、下顎)、坐骨神経、下垂体、胃、上皮小体を伴う甲状腺、食道、卵巣、精巣上体を含む精巣、精のう、骨格筋、皮膚、脾臓、膀胱、子宮、腎臓、肝臓、肺、乳腺、唾液腺、膵臓、前立腺、脊髄、気管、心臓、脳、鼻、眼球、十二指腸、空腸、回腸、大腸、胸腺、組織増生部、腫瘤または腫瘍その他の肉眼的病変部の病理組織学的検査を実施した。

#### [非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

眼の変性性病変(ブドウ膜-網膜症)は5~6ヶ月間投与したIII群の雌の約半数、全期間投与したI群の雌の全例に発生した。雄は雌に比べはるかに罹患率が低かった。前腫瘍性変化の可能性のある肝病変が全期間投与したI群の雄動物の36%に発生した。しかし、雌動物の発生頻度はこれよりかなり低かった。また加齢 Long-Evans 系ラットに予想される発生頻度を上まわる率で、この肝病変が実の腫瘍となることはなかった。その他、骨髄球系細胞過形成が認められた。

#### [腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。

鼻腔上皮の腺腫あるいは腺癌は5~6ヶ月あるいは、それ以上の期間、検体を投与した動物の半数以上に発生した(I群、III群)。それ以後、投与を続けても発生頻度の増加は認められなかった(I群)。

腺胃の混合腫瘍(癌肉腫)が全期間投与したI群雌動物の61%に発生した。雄では4%に発生がみられた。5~6ヶ月間投与し、その後は基礎飼料に切り換えたIII群の雌での混合腫瘍の発生率は2%であり、雄には発生しなかった。腺胃の混合腫瘍の発生には、鼻腔上皮の腫瘍発生に要する期間よりも長い期間、検体の投与が必要であると考えられる。

甲状腺腺腫性のう胞、腺腫及び腺癌の発生頻度は、検体の混餌投与6ヶ月以後、増加の傾向を示した。混餌投与2年後の(I群)甲状腺腫瘍の発生は、雄32%及び雌13%であった。

高用量群の3例のラットの脳で神経上皮腫がみられた<sup>1)</sup>。神経上皮腫は一次神経管に発する神経上皮の分化に進んでいない腫瘍であるとされている(Moulton, 1961; Minckler, 1971)。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は次の表のとおりであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(原報告書 P.91 Group I -Table7、P.98 Group II -Table9及びP.116 Group III-Table11)

性 別		雄						雌					
		I 群		II 群		III 群		I 群		II 群		III 群	
		0	126	0	126	0	126	0	126	0	126	0	126
検 査 動 物 数		4	70	2	10	4	20	4	31	2	20	4	49
腫 瘍 数	良 性	9	112	0	0	9	23	6	47	0	0	6	86
	悪 性	1	45	0	0	1	12	1	28	0	0	1	20
腫 瘍 総 数		10	157	0	0	10	35	7	75	0	0	7	106
腫 瘍 動 物 数			56		0		10		27		0		21

以上のように、以前に実施した同系統のラットにおける試験(資料5-2)で認められた眼病変、非腫瘍性病変、鼻部、胃及び甲状腺の腫瘍は本試験においても確認された。アラクロールの5~6ヶ月にわたる高用量(126mg/kg/日)での投与は本系統のラットにおいて眼病変、鼻腔上皮及び甲状腺の腫瘍の発生を誘発するのに十分であったが、胃の腫瘍、及び非腫瘍性肝病変の発生にはさらに長い期間の投与が必要であった。眼病変は投与初期から発生した雌の罹患率が特に高かった。また、5ヶ月にわたる126mg/kg/日の投与でこうした眼病変が発生し、6ヶ月以前に投与を停止しても、発生を阻止、又は回復を施すことはなかった。

<申請者注>

1) 高用量群3例に認められた脳の神経上皮腫について

本試験報告書作成後、この神経上皮腫と診断された腫瘍3例についてさらに詳しく検査を行った。この再検査は、米国環境保護庁(U.S. EPA)が本試験の報告書を早急に提出するよう要請したため、最終報告書中に含めることはできなかった(追加提出資料参照のこと)。

これらの「脳」腫瘍が、鼻甲介に発生した他の腫瘍と類似していたため、モンサントはこの腫瘍の性質を確認するための再検査を実施した。この3例の腫瘍は、鼻と脳の間が存在する篩上板の後面に隣接した脳の前方に発生し、脳自体の中にはまったく発生していなかった。これらの腫瘍の電子顕微鏡による検査も実施した。3例の腫瘍はいずれもケラチンに典型的な線維をもち、1例にはムチン滴が存在したことから、いずれの腫瘍も上皮性で神経由来のものではないと判断された。すなわち、これらの腫瘍は鼻部の上皮腺癌であり脳腫瘍ではないと診断された。モンサントは、化学工業毒性研究所(CIIT)の神経上皮病理学者2名にもこれらの腫瘍の検査を要請した。2名の病理学者は、これらの腫瘍が鼻部の腺癌の進展したものであるという診断に同意した。モンサントが最近実施したラット、マウス及びサルにおける全身オートラジオグラフィ試験(資料12-13)によると、<sup>14</sup>C-アラクロールによる標識物質は中枢神経に入らないことが判明している。

以上のことから、当初神経上皮腫と判断されたこれらの腫瘍は、「鼻甲介の腫瘍の進展したものと」と診断すべきであったことは明らかである。したがって、アラクロールが脳腫瘍を誘発するという証拠は存在しない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

2) 鼻部の腫瘍発生について

鼻部の腫瘍発生は、以前の試験結果と比べて、投与量が高いほど短い投与期間で発生することが疑われる。その結果、腫瘍の誘発に必要な最低の総投与量が存在することが考えられた。同時に実施された2つの試験(資料5-3、5-4)の鼻甲介腫瘍データを試験期間と、合計の投与量との関係で再度分析し下表に示す。

鼻甲介腫瘍の発生時期及び合計投与量									
1日当り 投与量 (mg/kg)	期間 (月)	発生係数 <sup>1)</sup> (合計)	(%)	600日目 <sup>2)</sup> までの 腫瘍	(%)	600日目 <sup>3)</sup> 以降 の腫瘍	(%)	最初の 腫瘍発生 までの日数	最初の 腫瘍発生 までの 合計投与量 (mg/kg)
0	25	0/87	(0)	0/21	(0)	0/66	(0)	N/A	N/A
0.5	25	0/92		0/15		0/77		N/A	N/A
2.5	25	1/92		0/16		1/76	(1)	770(♀)	1,925
15	25	29/93	(31)	1/19	(5)	28/74	(38)	516(♀)	7,740
126	5~6	30/63	(48)	3/14	(21)	27/49	(55)	526(♀)	18,550 <sup>4)</sup>
126	25	62/86	(72)	7/18	(39)	55/68	(81)	371(♀)	46,746

- 1)雌雄の検査動物中病理組織学的検査で観察された鼻甲介腫瘍数
- 2)試験 600 日までに死亡した動物中病理組織学的検査で観察された鼻甲介腫瘍数
- 3)試験 600 日以降までに生存した動物中病理組織学的検査で観察された鼻甲介腫瘍数
- 4)試験 5ヶ月(147日)で基礎飼料にきりかえた動物に対する合計投与量

これらの試験では途中計画殺は実施しなかったが、観察可能な腫瘍を発生させる合計投与量を推定するのに十分な数の動物が試験終了時まで死亡または切迫殺されていた。最終屠殺時あるいはそれに近い時点でラットにおいて観察された腫瘍と、試験のもっと早い時点で観察されたものとを区別するために任意に20ヶ月(600日)という時点を選んだ。表1に示したデータを検討した結果、鼻部腫瘍の発生に関し、以下の点が明らかになった。

- (1) 全ての用量において鼻部腫瘍の大部分は20ヶ月齢以上で死亡または屠殺された動物で観察されている。
- (2) 1日投与量及び合計投与量が増加するに伴い早期に発生する腫瘍数が増加している。
- (3) 合計投与量が低い場合には鼻部腫瘍が最初に発生するまでの期間が長くなっている。

合計投与量1,925mg/kgにおいて、92例中1例の鼻部腫瘍が観察された。しかし、合計投与量 385mg/kg以下では、92例に腫瘍の発生はみられなかった(0.5mg/kg/日×770日)。同様に合計投与量 1,500mg/kg以下でも16例に腫瘍は観察されず(2.5mg/kg/日×600日)、残りの75例では 1,925mg/kgを投与されても腫瘍は発生しなかった。したがって、1,925mg/kgは、鼻部腫瘍の発生に必要なおよその最小合計投与量であると考えられる。わずか5~6ヶ月の間にアラクロールの合計投与量として少なくとも18,500mg/kgを投与されたラットは、2.5mg/kg/日投与群において鼻部腫瘍の発生した最小合計投与量(1,925mg/kg)の10倍近くを投与されており、また15mg/kg/日投与群において最終的に鼻部腫瘍の発生した合計投与量の2倍以上を投与されていた。この群における腫瘍の発生頻度は、126mg/kg/日または15mg/kg/日の用量で25ヶ月間反復投与したラットにおける発生頻度の中間に位置する。また、126mg/kg/日を5~6ヶ月だけ投与したラットに最初に腫瘍を観察した時期は15mg/kg/日投与群と同様であった。しかしながら、126mg/kg/日の用量で25ヶ月間反復投与した群では、最初の腫瘍を観察するまでの時間はかなり短い。このことは、反復投与量が高くなる



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

のに伴い、腫瘍を誘発するまでの潜伏期間が短くなることを報告した AdamsonとSieber (1983)の所見と一致する。1日あたりの投与量が高い場合には、限界合計投与量に達するのに必要な投与期間(回数)は少なくなり、逆に1日あたりの投与量が低い場合には限界合計投与量に達するのに必要な期間は長くなる。以上の考察に基づき、アラクロールの非常に高い用量を5～6ヶ月間投与した後に最終的に腫瘍が発生したことは異常なことではないといえる。

このことは、たとえラット鼻部の腫瘍をヒトに外挿することが妥当だとしても、実際の使用に伴う場合のように低い暴露量の短期間の暴露では腫瘍の誘発は起こらないことを示唆している。

### 参考文献

Minckler, J. (1971) Pathology of the Nervous System, pg. 2111.

Ulton, J.E. (1961) Tumors in Domestic Animals, pg. 207

Adamson, R. and S. Sieber (1983) in Organ and Species Specificity in Chemical Carcinogenesis, pp.129-156. R. Langenbach, S. Neanow and J. Rice (ed.) Plenum.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変の発生数

(原報告書 P.70 Group I - Table6, P.98 Group II - Table9及びP.116 Group III - Table11)

臓器及び病変		雄		雌		
		投与量				
		0	126	0	126	
I 群	骨髄	剖検動物数	4	66	3	31
		骨髄球系細胞過形成	0	14	0	13
	脳	剖検動物数	4	70	4	31
		鼻甲介腫瘍の進展	0	4	0	0
	眼	剖検動物数	4	69	4	31
		虹彩、網膜内のメラニン色素過剰	0	30	0	30***
		血漿の両眼房への漏出	0	43*	0	11
		前眼房への虹彩、網膜内メラニン色素放出	0	24	0	16
		眼球萎縮/虚脱	0	7	0	23**
		網膜変形/剥離	0	13	0	18*
		白内障/水晶体線維変性	0	13	0	25**
		網膜の水晶体への癒着	0	6	0	11
		水晶体鉱質化/眼房への漏出	0	3	0	18*
		視神経円盤/網膜神経線維層の浮腫	0	5	0	6
	角膜変形	0	0	0	6	
	肝臓	剖検動物数	4	70	4	31
		変異細胞巣	1	25	0	1
		中心性小葉萎縮/壊死	0	1	0	7
		良性の過形成結節	1	8	1	2
	鼻腔/鼻甲介	剖検動物数	4	61	4	25
鼻腔内移行部位の炎症		0	10	0	6	
粘膜下腺過形成		0	6	0	0	
脾臓	剖検動物数	4	69	4	30	
	炎症	1	33	0	10	
骨格筋	剖検動物数	4	67	4	31	
	筋細胞膜細胞増殖	1	28	1	2	
胃	剖検動物数	4	68	4	31	
	非腺胃上皮過形成、上皮角質増殖、上皮真珠	1	5	0	1	
精巣	剖検動物数	4	70			
	精細管萎縮(両側)	1	16			
	慢性動脈周囲炎	1	9			
甲状腺	剖検動物数	4	69	4	31	
	コロイド貯留/減少/デンプン様	1	13	1	11	
	小胞状のう胞/腺腫性のう胞	1	37	1	8	
膀胱	剖検動物数	4	68	4	31	
	上皮過形成	0	9	0	4	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

表1 非腫瘍性病変の発生数(続き)

臓器及び病変			雄		雌	
			投与量			
			0	126	0	126
II 群	眼	剖検動物数	2	10	2	20
		虹彩、網膜内のメラニン色素過剰	0	2	0	6
		血漿の両眼房への漏出	0	0	0	9
		前眼房への虹彩、網膜内メラニン色素放出	0	0	0	5
		眼球萎縮/虚脱	0	0	0	4
		網膜変形/剥離	0	0	0	4
		白内障/水晶体線維変性	0	0	0	2
III 群	骨髄	剖検動物数	4	19	3	48
		骨髄球系細胞過形成	0	4	0	10
	眼	剖検動物数	4	20	4	49
		虹彩、網膜内のメラニン色素過剰	0	2	0	20
		血漿の両眼房への漏出	0	1	0	20
		前眼房への虹彩、網膜内メラニン色素放出	0	1	0	12
		眼球萎縮/虚脱	0	1	0	15
		網膜変形/剥離	0	1	0	18
		白内障/水晶体線維変性	0	0	0	22
		網膜の水晶体への癒着	0	0	0	11
	水晶体鉍質化/眼房への漏出	0	0	0	9	
	視神経円盤/網膜神経線維層の浮腫	0	0	0	9	
	肝臓	剖検動物数	4	20	4	49
		変異細胞巣	1	6	0	8
		良性の過形成結節	1	0	1	4
鼻腔/鼻甲介	剖検動物数	4	17	4	46	
	粘膜下腺過形成性	0	5	0	13	
甲状腺	剖検動物数	4	20	4	49	
	小胞状のう胞/腺腫性のう胞	1	4	1	4	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表2 腫瘍性病変の発生数 (原報告書 P.91 Group I - Table7及びP.116 Group III - Table11)

臓器及び病変			雄		雌	
			投与量			
			0	126	0	126
I 群	脳	剖検動物数	4	70	4	31
		神経上皮腫(良性)	0	1	0	1
		神経膠腫/星状細胞腫(良性)	0	1	0	1
	肝臓	剖検動物数	4	70	4	31
		肝細胞腺腫(良性)	0	3	0	1
	鼻腔/鼻甲介	剖検動物数	4	61	4	25
		乳頭状腺腫(良性)	0	42*	0	11
		腺癌(悪性)	0	7	0	2
	胃	剖検動物数	4	68	4	31
		混合癌肉腫(悪性)	0	2	0	6
		退形成肉腫(悪性)	0	1	0	1
		腺癌(悪性)	0	0	0	3
		平滑筋肉腫(悪性)	0	0	0	3
		未分化の肉腫(悪性) a	0	0	0	5
		未分化の癌(悪性) b	0	0	0	1
	甲状腺	剖検動物数	4	68	4	31
		小胞状腺腫(良性)	1	8	0	4
		小胞状腺癌(悪性)	0	10	0	0
III 群	脳	剖検動物数	4	20	4	49
		神経上皮腫(良性)	0	0	0	1
	肝臓	剖検動物数	4	20	4	49
		肝細胞腺腫(良性) d	1	0	0	1
		肝細胞癌(悪性)	0	0	0	1
	鼻腔/鼻甲介	剖検動物数	4	17	4	46
		乳頭状腺腫(良性)	0	10	0	19*
		腺癌(悪性)	0	0	0	1
	胃	剖検動物数	4	20	4	48
		未分化の癌(悪性) c	0	0	0	1
甲状腺	剖検動物数	4	10	4	49	
	小胞状腺腫(良性)	1	1	0	2	
	剖検動物数	4	20	4	49	
	小胞状腺癌(悪性)	0	1	0	2	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

(a、b、c 申請者注:腫瘍の再評価(6-9)の結果、主として低分化型の胃カルチノイドと診断された)

(d 申請者注:原報告書には NEOPLASTIC NODULE と記載されているが、肝細胞腺腫に統一した)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

5) マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 5-5)

試験機関 バイオダイナミックス社  
報告書作成年 1981年

検体の純度: % 初めの11ヶ月投与  
% 12ヶ月目以降投与(原体)

供試動物: Charles River CD-1系マウス(体重:雄27.8g、雌23.4g)、  
1群雌雄50匹、開始時7週齢

投与期間: 79週間(1978年4月14日～1979年10月14日～18日)

投与方法: 検体をアセトンに溶解して、0、26、78及び260mg/kg/日の用量となるように混入し、79週間にわたって随時摂食させた。ただし、投与開始1週間は雌雄とも0、100、300、及び1,000ppmの濃度で摂食し、2週から4週までは雄に0、23.96、72.04、240.23mg/kg/日、雌に0、29.27、83.78、280.03mg/kg/日含有した飼料を摂食させた。

検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

用量設定根拠;

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1日2回観察した。

全試験期間を通じて検体投与に伴う異常所見は認められなかった。試験終了時の死亡率を下表に示す。いずれの群も、投与による死亡率への影響はなかった。

(原報告書 P.21 Appendix B)

投与量(mg/kg/日)		0	26	78	260
死亡率(%)	雄	52	68	52	56
	雌	60	34	54	70

体重変化; 投与開始から14週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。

投与開始50週以後260mg/kg/日投与群の雌にみられたわずかな体重増加の抑制(約7%)以外、検体投与に伴う変化はなかった。

摂餌量及び食餌効率; 全動物の摂餌量を投与開始から14週間は週1回、その後は2週間に1回測定し、食餌効率も算出した。

食餌効率にはばらつきが見られたが、用量相関もなく検体投与に伴う影響とは考えられなかった。

飲水量; 飲水量を各群10匹について、投与開始後75週時、及び試験終了時の2～3日間測定した。

260mg/kg/日投与群の雌雄で各検査時に飲水量が増加した。

血液学的検査; 投与後12ヶ月及び試験終了時に各群雌雄10匹を対象として、眼球後部静脈叢から

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

採取し、血色素量、ヘマトクリット値、赤血球数、血小板数、総白血球数及び白血球百分率、赤血球の形態につき検査した。

試験終了時において260mg/kg/日投与群雌の平均血色素量、ヘマトクリット値及び赤血球数が対照群に比較してわずかに低下したが、この差は1匹の動物に起因したもので、この動物を除くと、投与群の雌雄について中間検査(12ヶ月時)及び試験終了時ともに異常は認められなかった。

臓器重量;試験終了時に全生存動物を対象として剖検後、脳、脾臓、副腎、心臓、精巣、腎臓、卵巣、肝臓、下垂体の重量を測定した。また、対体重比及び対脳重量比も算出した。

以下に、対照群と比較して統計学的有意差を示した項目を表記する。

(原報告書 TABLE VII及びP.115 Appendix H)

性 別	雄			雌		
投与群 (mg/kg/日)	26	78	260	26	78	260
腎重量		↑ 112		↑ 115		
対体重比		↑ 112	△ 115	↑ 115		
対脳重比		↑ 110	↑ 110			
肝重量			↑ 124			△ 124
対体重比			△ 137	↑ 122	↑ 125	
対脳重比			△ 128			↑ 128

Dunnett の t-検定 ↑ ↓ : p ≤ 0.05 △▽ : p ≤ 0.01  
表中の数字は対照群に対する変動率(%)を表す。

260mg/kg/日投与群の雌雄に、肝重量、対体重比及び対脳重量比の増加がみられた。肝重量対体重比の増加は78mg/kg/日投与群の雌にも認められた。78mg/kg/日投与群の雄に、腎重量、対体重比及び対脳重量比の増加がみられた。260mg/kg/日投与群の雄でも腎重量対体重比及び対脳重量比が増加した。26mg/kg/日投与群の雌では、腎重量の増加がみられた。これらの変動は統計学的に有意であったが、用量相関がないこと、肉眼的病理検査で異常が認められなかったので検体による影響とは考えられなかった。

肉体的病理検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡、切迫殺動物を対象として、検査を行った。検体の投与と関連すると思われる病変はみられなかった。

病理組織学的検査;試験終了時の全生存動物及び途中死亡、切迫殺動物を対象として、腹部大動脈、副腎、血液塗沫、骨及び骨髓、脳、精巣上体、食道、眼球、胆のう、生殖腺、頭、心臓、腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、脾臓、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胃、胸腺、甲状腺、膀胱、子宮、肉眼的病変部、組織腫瘍について病理組織学的検査を実施した。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示した。

全身アミロイド症が対照群にも投与群にも高頻度で発生した(対照群72%、26mg/kg/日投与群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

91%、78mg/kg/日投与群91%、260mg/kg/日投与群86%)。アミロイド沈着の生じた頻度の高かった臓器は甲状腺、腎臓、肝臓、副腎、肺及びリンパ節であった。種々の臓器におけるアミロイド沈着は投与群のほうが対照群よりも高頻度に生じたが、用量依存性は明らかではなかった。この系統のマウス(CD-1)にアミロイド症は本来よく認められ、検体投与とアミロイド症との厳密な関係は不明であった。アミロイド沈着が高度であったためその続発性病変である腎糸球体アミロイド症が本試験における死因の76%を占めた。

網膜萎縮が対照群から26、78、260mg/kg/日投与群において5、8、8及び12%の頻度で観察された。同様の網膜症はマウスの数系統に100%自然発生することが知られており、また、遺伝的なものとされているので、本試験における網膜萎縮と検体投与との関係は不明であった。この発生頻度は、雌雄の平均で示した。

これら以外の非腫瘍性病変と検体投与との関係は認められなかった。

網膜萎縮の発生数は下表の通りであった。(原報告書 P.199 TABLE 21A)

性別	雄				雌			
	0	26	78	260	0	26	78	260
投与群(mg/kg/月)								
検査動物数	50	49	49	50	50	50	49	50
網膜萎縮	1	2	2	6	4	6	6	6

統計処理法: Bonferroni 不等式を用いた Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

#### [腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示した。

260mg/kg/日群で肺腫瘍及び肝腫瘍が有意に増加した。これは主として雌の細気管支肺胞腺腫及び雄の肝細胞腫によるものであった。26mg/kg/日群及び260mg/kg/日群における子宮の腫瘍が増加している傾向が認められたが、統計学的に有意ではなかった。

総腫瘍数及び腫瘍動物は260mg/kg/日群でのみ増加した。また良性腫瘍と悪性腫瘍を分類すると、良性腫瘍は260mg/kg/日群で有意に増加し、悪性腫瘍は全投与群で増加の傾向はあるが、78、260mg/kg/日群と26mg/kg/日群で発生頻度が逆転していた。

投与群における腫瘍は対照動物に比較して多型性や退形成性とは認められなかった。また、これら観察された腫瘍のタイプは本系統のマウスで頻繁に観察されるもので、特に肝細胞腫瘍は雄に好発することが報告されている。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表の通りであった。

(原報告書 P.173 TABLE 19A)

性 別		雄				雌			
投与群 (mg/kg/日)		0	26	78	260	0	26	78	260
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良性	14/50	6/50	8/50	18/50	6/50	10/50	8/50	15/50
	悪性	5/50	11/50	9/50	10/50	4/50	8/50	6/50	7/50
腫瘍総数		19/50	17/50	17/50	28/50	10/50	18/50	14/50	22/50
腫瘍動物数		14/50	14/50	14/50	25/50	9/50	14/50	13/50	16/50

以上の結果から、本剤の18ヶ月飼料混入投与による発がん性試験における影響として、260 mg/kg/日投与群雌に体重の増加の抑制、雌雄に飲水量の増加がみられ、78 mg/kg/日投与群以上に肝重量と腎重量の増加がみられたので、無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも26 mg/kg/日であると判断される。

高用量群 (260mg/kg/日) において、統計学的に有意な肺腫瘍発頻度の増加がみられたが、自然発生性のもので過去の同系統のマウスの対照データの変動範囲内にあったことから投与の影響とは考えられない。よって、アラクロールのマウスにおける催腫瘍性は本試験条件において認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変(アミロイド)の発生数

(原報告書 P.207 TABLE 21、P.213 TABLE 22及びP.200 TABLE 21A)

臓器及び病変		雄				雌			
		投与量 (mg/kg/日)							
		0	26	78	260	0	26	78	260
死亡・切迫殺	剖検動物数	26	34	26	28	29	17	27	35
	心臓	2	1	3	3	0	0	0	0
	剖検動物数	19	28	13	18	20	11	17	22
	甲状腺	6	11	6	8	6	5	6	12
	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35
	肝臓	19	23	19	21	18	10	20	28
	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	34
	肺	5	4	16**	7	1	1	6*	5
	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35
	腎臓	21	28	24	20	23	15	24	30
最終屠殺	剖検動物数	24	16	24	22	20	32	23	15
	心臓	0	0	1	0	0	0	1	0
	剖検動物数	20	11	19	18	16	25	16	14
	甲状腺	1	0	1	2	0	5	2	1
	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
	肝臓	6	5	8	8	1	20**	10**	8**
	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
	肺	2	1	4	6	1	9	1	2
	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
	腎臓	8	11	12	13	9	25*	18*	10
全動物	剖検動物数	50	50	50	50	49	49	50	50
	心臓	2	1	4	3	0	0	1	0
	剖検動物数	39	39	32	36	36	36	33	36
	甲状腺	7	11	7	10	6	10	8	13
	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝臓	25	28	27	29	19	30*	30*	36**
	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
	肺	7	5	20**	13	2	10*	7	7
	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	腎臓	29	39	36	33	32	40	42	40
全動物	剖検動物数	42	45	48	48	47	50	49	48
	副腎	22	27	29	29	24	35	36	35
	剖検動物数					50	50	50	49
	子宮					1	3	5	9**
	剖検動物数	42	36	41	40	41	41	43	45
	腸間膜リンパ節	11	10	22*	18	8	18*	16	17

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生数 (原報告書 P.179 TABLE 19C)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	26	78	260	0	26	78	260
死亡・切迫殺	脳	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35
		星状細胞腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ系	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35
		リンパ肉腫	0	1	0	1	1	2	1	2
	肝臓	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35
		肝細胞腺腫	2	0	0	1	0	0	0	1
		肝細胞腺癌	0	2	0	2	0	0	0	0
	脾臓	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35
		血管内皮腫	1	0	0	0	1	0	0	0
		リンパ肉腫	0	1	0	1	0	0	0	0
	肺	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35
		細気管支・肺胞腺腫	2	1	1	5	0	1	3	6*
		細気管支・肺胞腺癌	1	0	0	0	0	0	0	1
		線維肉腫(縦隔)	0	0	0	0	0	0	0	1
	卵巣	剖検動物数					30	17	27	35
		乳頭状のう胞腺腫					1	0	0	0
	子宮	剖検動物数					30	17	27	35
		平滑筋肉腫					0	0	1	0
		平滑筋腫					0	1	0	0
		線維性血管性子宮内膜ポリープ					1	0	0	1
血管腫						1	1	0	0	
顆粒細胞性筋芽細胞腫						0	0	0	1	
ハート腺	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35	
	乳頭上腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	
骨髄	剖検動物数	26	34	26	28	30	17	27	35	
	骨髄性白血病	1	0	0	0	0	0	0	0	
	顆粒球性肉腫	0	1	0	1	0	0	0	0	

統計処理法: Fisher 直接確率法

\*:p<0.05; \*\*:p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.177 TABLE 19B)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	26	78	260	0	26	78	260
最終屠殺	肝臓	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
		肝細胞腺腫	3	1	4	6	0	0	0	0
		肝細胞腺癌	0	1	1	2	0	0	1	0
		血管腫	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
		血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0
		骨髄肉腫	0	0	0	0	0	2	0	0
	肺	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
		細気管支・肺胞腺腫	4	0	3	5	2	3	4	4
		細気管支・肺胞腺癌	2	5	7	2	1	1	1	0
	皮膚	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
		扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1	0	0	1	0
	副腎	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15
		褐色細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0
	子宮	剖検動物数					20	33	23	15
		平滑筋肉腫					1	0	1	3
		平滑筋腫					0	1	0	0
		線維性血管性子宮内膜ポリープ					0	3	0	2
血管肉腫						0	1	0	0	
ハタゲ腺	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15	
	乳頭上腺腫	2	3	0	0	0	0	0	0	
骨髄	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15	
	顆粒球性肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	
頭部	剖検動物数	24	16	24	22	20	33	23	15	
	線維肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	

統計処理法: Fisher 直接確率法 \*: $p < 0.05$ ; \*\*: $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.173 TABLE 19A)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (mg/kg/日)							
			0	26	78	260	0	26	78	260
全動物	脳	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		星状細胞腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ系	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		リンパ肉腫	0	1	0	1	1	2	1	2
	肝臓	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫	5	1	4	7	0	0	0	1
		肝細胞腺癌	0	3	1	4	0	0	1	0
		血管腫	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0
		骨髓肉腫	0	0	0	0	0	2	0	0
		血管内皮腫	1	0	0	0	1	0	0	0
		リンパ肉腫	0	1	0	1	0	0	0	0
	肺	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		細気管支・肺胞腺腫	6	1	4	10	2	4	7	10*
		細気管支・肺胞腺癌	3	5	7	2	1	1	1	1
		線維肉腫(縦隔)	0	0	0	0	0	0	0	1
	皮膚	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1	0	0	1	0
	副腎	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		褐色細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0
	卵巣	剖検動物数					50	50	50	50
		乳頭状のう胞腺腫					1	0	0	0
	子宮	剖検動物数					50	50	50	50
		平滑筋肉腫					1	0	2	3
		平滑筋腫					0	2	0	0
線維性血管性子宮内膜ポリープ						1	3	0	3	
血管肉腫						0	1	0	0	
子宮内膜腺癌						0	1	0	0	
血管腫						1	1	0	0	
顆粒細胞性筋芽細胞腫					0	0	0	1		
ハーター腺	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	乳頭上腺腫	3	3	0	0	0	0	0	0	
骨髄	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	骨髄性白血病	1	0	0	0	0	0	0	0	
	顆粒球性肉腫	0	1	1	1	0	0	0	0	
頭部	剖検動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	線維肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	

統計処理法: Fisher 直接確率法 \*: $p < 0.05$ ; \*\*: $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

6) マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 5-6)

試験機関 モンサント環境衛生研究所  
[GLP 対応]  
報告書作成年 1994 年

検体の純度: %

供試動物: CD-1系アルビノマウス、1群雌雄60匹、開始時6週齢

体重: 雄25.9~31.2g、雌20.6~25.2g、

投与後12ヶ月時に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

投与期間: 18ヶ月(1992年1月14日~1993年7月24日)

投与方法: 検体を0、100、400及び1,600ppmの濃度で飼料に混入し、18ヶ月間にわたって随時摂取させた。検体の混入した飼料は週1回調製した。

用量設定根拠;

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観察した。

検体投与に関連のある症状は認められなかった。下表に試験終了時の死亡率を示す。

(原報告書 P.44 Table1 Appendix1)

投与量(ppm)		0	100	400	1,600
死亡率 (%)	雄	18	20	18	18
	雌	20	14	28	20

Lifetest 法(Statistical Analysis System, SAS Institute, Cary, North Carolina)

体重変化; 投与開始から13週は週1回、その後最低4週に1回全生存動物の体重を測定した。

検体投与に伴う変化はなかった。

摂餌量及び食餌効率; 投与開始から13週間は週1回、その後は最低4週に1回測定した。

雄では100ppm投与群で投与後最初の10週間までの間で軽度の増加がみられ、週によって有意差があった。雌では全投与群で増加の傾向が見られ、1,600ppm投与群の摂取量は投与後170日から試験終了時までの期間を通じて有意な増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

検体摂取量; 投与期間中の平均検体摂取量は、次の通りであった。

(原報告書 P.76 Table6 Appendix1)

投与量(ppm)		0	100	400	1,600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0	16.64	65.42	262.40
	雌	0	23.73	90.34	399.22

血液学的検査; 投与後12ヶ月時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、屠殺前一夜絶食させた後、後大静脈から採血し、下記の項目について測定した: 赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、血小板数(PLT)、ヘマトクリット値(HCT)、ヘモグロビン濃度(HGB)、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)、及び白血球百分率。

下表に対照群と比して、統計学的有意差の認められた検査項目を示す。

(原報告書 P.92 Table7)

性別	投与量(ppm)	100		400		1,600	
	検査時期(月)	12	18	12	18	12	18
雄	好中球数			▽75		↓61	
雌	血小板数				↓32		

投与後12ヶ月時の検査において、雄の400及び1,600ppm投与群で好中球数の減少、試験終了時の検査において、雌の中用量群で血小板数の減少が見られたが、用量相関性がなく、加齢に伴う変動範囲内であるため、検体投与による影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査; 血液学的検査と同時期に採取した血液を遠心分離し、得られた血清を用いて、下記の検査項目を測定した: アルブミン、アルカリホスファターゼ(ALP)、尿素窒素(BUN)、カルシウム、塩素、コレステロール(CHOL)、クレアチニンホスホキナーゼ(CPK)、クレアチニン、直接ビリルビン、γ-グルタミルトランスペプチターゼ(GGT)、グルコース、無機リン、カリウム、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ/グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(AST/SGOT)、ナトリウム、総ビリルビン及び蛋白(TP)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

下表に対照群と比して統計学的有意差の認められた検査項目を示す。

(原報告書 P.102 Table8 Appendix1)

性別	投与量 (ppm)	100		400		1,600	
	検査時期 (月)	12	18	12	18	12	18
雄	AST/SGOT						▽52
	グルコース			↑126			
	無機リン					↑109	
雌	AST/SGOT			↑139			
	CPK				▽64		
	コレステロール					↑131	
	ナトリウム						△103
	塩素						△104

Bartlett の検定後、Dunnett の多重比較検定法; ↑ ↓ :p<0.05 △▽:p<0.01  
表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

上記の検査項目の変動の程度は小さく、用量相関性がなく、検査時期で一貫性がないため、検体投与による影響とは考えられなかった。

臓器重量; 投与後12ヶ月の中間屠殺と試験終了時の全生存動物を対象として、剖検後、脳、腎臓、肝臓及び精巣の重量を測定し、対体重比を算出した。

下表に統計学的有意差の認められた検査項目を示す。

(原報告書 P.113 Table9 Appendix 1及びP.117 Table10 Appendix1)

性別	投与量 (ppm)		100		400		1,600	
	検査時期 (月)		12	18	12	18	12	18
雄	腎臓	重量		↑108		↑108		△111
		対体重比		↑110				△111
	肝臓	重量						↑109
		対体重比						↑109
雌	腎臓	重量						▽90
		対体重比					↓86	
	肝臓	重量	↑116				↑119	
		対体重比						△114

投与後12ヶ月時に、雌の低用量群及び高用量群で肝重量の増加が認められたが、低用量群の増加は検体投与による影響とは考えられなかった。また、試験終了時に、高用量群で雄の肝重量及び対体重比が増加を示し、雌の肝重量対体重比も増加しており、検体の投与によると考えられる。それ以外の変化は用量相関性がみられず、投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査; 投与12ヶ月次の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、検査を行った。

いずれの所見も自然発生的な変化であり、検体によるものではなかった。

病理組織学的検査; 上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

組織標本を作成し、病理組織学的検査を実施した：副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、両眼、膝関節部位の大腿骨、胆のう、心臓、回腸、空腸、腎臓、肉眼的異常部位(病理的組織学的所見と関連性のある)及び腫瘤、肝臓、肺(主幹気管支を含む)、リンパ節(腸間膜及び下顎)、大腿四頭筋、鼻介骨、坐骨神経、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺(下顎)、精のう、皮膚(乳腺組織を含む)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胸骨(骨髄を含む)、胃、精巣、胸腺、甲状腺・上皮小体、気管、膀胱及び子宮(体部及び頸部)

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

投与後18ヶ月時(試験終了時)にCD-1系や他の系統のマウスの加齢病変のひとつである慢性腎炎の発生率が雄の1,600ppm投与群で有意に増加した。雄の発生動物数は100ppm投与群から増加する傾向がみられたが、雌の各投与群の発生率は対照群と比較して統計学的に有意差がなく、群間変動の範囲であった。また、雄の1,600ppm投与群で腎尿細管上皮の鉍質沈着の発生頻度が高かった。

雄の400ppm群及び1,600ppm投与群で小葉中心性肝細胞肥大が有意に増加したが、本所見は毒性の反応よりもむしろ代謝適応反応であり、小胞体またはペルオキシソームの増加が反応したものと考えられた。雄の1,600ppm投与群で肝臓の好酸性病巣の発生頻度が有意に高かった。

投与後18ヶ月時(試験終了時)に屠殺した1,600ppm投与群の雌マウスと投与後12ヶ月から18ヶ月の期間に死亡した雌マウスの骨、主として胸骨で線維性骨異栄養症の発生率が有意に高かった。本所見はCD-1系や他の系統のマウスにおける自然発生性の加齢病変のひとつである。1,600ppm投与群雌雄で鼻甲介の嗅上皮好酸化の発生頻度が高く、雄で有意差があった。

(原報告書 P.210 Table19 Appendix1)

臓器	所見	性	投与量 (ppm)			
			0	100	400	1,600
腎臓	慢性腎炎	雄	36/59	41/60	47/60	△ 55/59
		雌	43/60	47/60	37/60	38/60
	尿細管上皮の鉍質沈着	雄	0/59	2/60	4/60	↑ 7/59
		雌	0/60	2/59	2/58	0/60
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	雄	16/59	26/60	↑ 29/60	△ 44/60
		雌	1/59	1/59	2/59	4/59
	好酸性病巣	雄	0/59	2/60	0/60	8/60 **
		雌	0/59	0/59	0/58	1/59
大腿骨	アミロイド沈着	雄	0/59	1/60	0/59	0/60
		雌	1/58	4/60	4/59	8/59
胸骨	線維性骨異栄養症	雄	0/59	0/59	1/60	0/60
		雌	1/58	8/60	3/60	△ 14/59
鼻甲介	嗅上皮好酸化	雄	0/53	0/55	0/57	↑ 6/54
		雌	1/56	1/59	0/52	5/58

表中の数値は、所見を有する動物数/検査動物数を示す。

統計処理法: Bonferroni の不等式を用いた Fisher の直接確率法(↑ ↓ : p < 0.05, △ ▽ : p < 0.01)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。

肺の細気管支・肺胞腺腫が400ppm投与群雄において、統計学的に有意な増加を示した。また、細気管支・肺胞腺腫と腺癌の合計した発生頻度は投与群雌雄で散発的に増加し、400ppm投与群雄では統計学的に有意な増加を示した。しかし、これらの腫瘍の発生頻度には用量相関がなく、雌雄間における一貫性及び投与による発生の早期化(潜伏期間の短縮化)も認められなかった。また、前がん病変の増加、腫瘍の進行度、悪性度の増加も認められなかった。これらの腫瘍は同系統のマウスに自然発生性の腫瘍であり、発生頻度が試験間で対照群においても大きなばらつきがあることが認められており、この試験において投与に関連した多発性腫瘍の増加が認められないことから、検体の投与と関連しないと結論された。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表のとおりであった。

(原報告書 P.167 Table16、P.177 Table17、P.195 Table18、P.210 Table19、P.237 Table21、P.241 Table22、P.245 Table23、及びP.249 Table24)

性別		雄				雌			
投与群(ppm)		0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
腫瘍数	良性	12	18	26	25	5	14	8	16
	悪性	5	4	11	6	14	9	14	17
腫瘍総数		17	22	37	31	19	23	22	33
腫瘍動物数		13	18	29	26	18	17	20	25

以上のように、本剤のマウスを用いた18ヶ月間飼料混入投与による発がん性試験において、1,600ppm投与群において、雄の肝重量が増加し、雌では肝重量対体重比の増加が認められ、検体投与に起因すると考えられた。雄の400ppm投与群及び1,600ppm投与群で小葉中心性肝細胞肥大が有意に増加したが、本所見は毒性の反応よりもむしろ代謝適応反応であると考えられる。

アラクロールをマウスに18ヶ月にわたり混餌投与した場合の無毒性量(NOEL)は100ppm(雄 16.6mg/kg/日、雌 23.7mg/kg/日)であると判断された。また、催腫瘍性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数 (原報告書 P.167 Table16)

臓器及び病変		雄				雌			
		投与量 (ppm)							
		0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
副腎	剖検動物数	10	9	10	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	1	0	0	0	0	1	0	0
	皮質の肥大 色素沈着	—	—	—	—	1	0	0	1
盲腸	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	—	—	—	—	0	0	0	1
結腸	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	—	—	—	—	0	0	0	0
十二指腸	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	—	—	—	—	0	1	0	1
回腸	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	2	1	1	0	0	1	3	1
空腸	剖検動物数	10	10	9	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	1	0	0	0	0	1	1	1
腎臓	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	—	—	—	—	0	1	3	6
	アミロイド沈着(糸球体)	—	—	—	—	0	0	0	1
	尿細管上皮の増生/変性	4	3	6	9	—	—	—	—
	尿細管上皮の鉍質沈着	0	0	1	0	—	—	—	—
	慢性腎炎	6	3	6	9	6	5	5	6
肝臓	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	アミロイド沈着	—	—	—	—	0	1	0	1
	好酸性病巣(I)	0	1	0	1	—	—	—	—
	小葉中心性肝細胞肥大	5	7	5	8	0	0	0	1
肺	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	間質性炎症	0	1	0	0	0	0	0	1
腸間膜リンパ節	剖検動物数	8	9	10	8	8	9	9	10
	アミロイド沈着	2	0	0	0	0	1	0	1
鼻甲介	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	腔内分泌液	0	1	0	0	0	0	0	0
	鼻涙管リンパ球様細胞浸潤/集簇	8	5	6	4	5	2	3	5
	嗅上皮好酸化	0	0	0	3	1	0	0	0
	鼻粘膜腺の拡張	1	1	0	1	0	0	0	0
卵巣	剖検動物数					10	10	10	10
	アミロイド沈着					0	1	3	1
上皮小体	剖検動物数	10	10	9	9	10	9	10	10
	アミロイド沈着	1	0	0	0	0	1	0	1
胃	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	粘膜下組織の単核球浸潤	0	4	3	3	0	5*	1	4
	アミロイド沈着	—	—	—	—	0	1	0	1

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いたFisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

— : 検査を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き)(原報告書 P.195 Table18)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
12 ヶ月	甲状腺	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
		アミロイド沈着	2	0	0	0	0	1	0	1
	気管	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
		粘膜腺の拡張	3	2	2	4	0	6*	0	3
	膀胱	剖検動物数	10	10	10	9	10	10	10	10
		単核球の浸潤	0	2	1	0	4	4	4	3
	子宮	剖検動物数					10	10	10	10
		アミロイド沈着					0	0	0	1
管腔, 子宮内膜の拡張						0	0	2	0	
死亡・ 切迫殺	副腎	剖検動物数	8	10	9	7	9	7	12	9
		アミロイド沈着	0	1	1	4	0	1	2	5*
		皮質の肥大	0	0	0	1	—	—	—	—
		色素沈着	0	1	0	0	—	—	—	—
	大腿骨	剖検動物数	9	10	9	9	9	8	13	9
		アミロイド沈着	—	—	—	—	0	1	1	1
	胸骨	剖検動物数	9	10	9	9	10	8	14	10
		線維性骨異栄養症	—	—	—	—	0	1	1	1
	盲腸	剖検動物数	9	10	9	9	4	1	4	1
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	0	0
	結腸	剖検動物数	9	10	9	9	7	4	9	4
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	1	1
	十二指腸	剖検動物数	5	5	6	2	4	4	7	5
		アミロイド沈着	0	0	1	1	0	0	1	3
	心臓	剖検動物数	9	10	9	9	10	7	13	10
		アミロイド沈着	—	—	—	—	0	0	1	0
回腸	剖検動物数	6	3	5	3	4	3	6	3	
	アミロイド沈着	0	1	2	2	2	3	1	2	
空腸	剖検動物数	3	4	5	2	4	2	6	2	
	アミロイド沈着	0	1	3	1	0	0	1	1	
腎臓	剖検動物数	8	10	9	8	10	7	12	10	
	アミロイド沈着	0	1	1	4	0	0	2	4	
	アミロイド沈着(糸球体)	—	—	—	—	1	2	1	2	
	尿細管上皮の増生/変性	1	2	4	2	2	2	4	1	
	尿細管上皮の鉍質沈着 慢性腎炎	0 2	1 2	1 4	3 6	— 4	— 4	— 6	— 1	

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いたFisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

— : 検査を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
肝臓		剖検動物数	8	10	9	9	9	7	12	9
	アミロイド沈着		0	1	0	2	0	0	3	4
	小葉中心性肝細胞肥大		2	5	3	3	0	0	0	1
肺		剖検動物数	8	10	9	9	9	7	13	10
	間質性炎症		0	1	0	0	0	0	2	2
腸間膜リンパ節		剖検動物数	6	9	7	3	8	6	10	5
	アミロイド沈着		0	0	1	2	0	1	2	3
鼻甲介		剖検動物数	6	8	8	6	8	10	9	9
	腔内分泌液		0	0	1	0	0	0	0	0
	鼻涙管リンパ球様細胞浸潤/集簇		1	7*	3	1	1	0	3	1
	嗅上皮好酸化		0	0	0	0	0	1	0	0
	鼻粘膜腺の拡張		1	0	0	0	0	0	1	1
卵巣		剖検動物数					8	7	11	9
	アミロイド沈着						0	2	3	5
膵臓		剖検動物数	9	10	9	9	9	7	11	7
	アミロイド沈着		—	—	—	—	0	0	1	0
上皮小体		剖検動物数	8	8	9	7	8	6	10	6
	アミロイド沈着		0	1	1	3	0	1	3	3
直腸		剖検動物数	9	10	9	9	6	4	9	4
	アミロイド沈着		—	—	—	—	1	0	0	0
唾液腺		剖検動物数	9	10	9	9	10	7	13	10
	アミロイド沈着		—	—	—	—	0	0	1	0
下顎リンパ節		剖検動物数	9	10	9	9	7	6	13	9
	アミロイド沈着		—	—	—	—	0	0	1	1
胃		剖検動物数	6	9	9	5	7	6	10	9
	アミロイド沈着		0	1	0	0	0	0	1	4
精囊		剖検動物数	8	10	9	8				
	アミロイド沈着		0	1	0	0				
甲状腺		剖検動物数	7	9	9	7	9	7	10	7
	アミロイド沈着		0	1	1	4	0	2	3	4
子宮		剖検動物数					10	7	12	8
	アミロイド沈着						1	0	0	2
	管腔, 子宮内膜の拡張						1	0	2	1

統計処理法 : Bonferroni 不等式を用いたFisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

— :検査を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.177 Table17)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
最終屠殺	副腎	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
		アミロイド沈着	6	0	2	1	7	3	1	4
		皮質の肥大	1	5	3	7	—	—	—	—
		色素沈着	0	3	1	0	1	7	2	7
		大腿骨	剖検動物数	41	40	41	40	40	42	36
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	3	3	7
	胸骨	剖検動物数	40	39	41	41	39	42	36	39
		線維性骨異栄養症	0	0	1	0	1	7	2	13**
	盲腸	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
		アミロイド沈着	4	0	0	1	7	1	0	3
	結腸	剖検動物数	41	40	41	40	40	42	36	40
		アミロイド沈着	0	0	0	1	6	1	0	3
	十二指腸	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
		アミロイド沈着	3	0	1	1	5	3	1	3
	胆嚢	剖検動物数	41	40	41	40	40	40	36	40
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	0	0
	心臓	剖検動物数	41	40	41	40	40	42	36	40
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	0	0
	回腸	剖検動物数	41	40	41	41	40	41	36	40
		アミロイド沈着	8	4	4	1	9	6	5	3
空腸	剖検動物数	41	40	41	40	40	41	36	39	
	アミロイド沈着	6	3	1	1	5	4	2	3	
腎臓	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40	
	アミロイド沈着	1	0	0	0	5	0	1	1	
	アミロイド沈着(糸球体)	6	4	2	1	3	5	1	2	
	尿細管上皮の増生/変性	27	35	35	38**	27	34	25	25	
	尿細管上皮の鈣質沈着	0	1	2	4	0	2	2	0	
慢性腎炎	28	36*	37*	40**	—	—	—	—		
肝臓	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40	
	アミロイド沈着	4	0	2	1	4	3	2	3	
	好酸性病巣(I)	0	1	0	7*	6	3	1	10	
	小葉中心性肝細胞肥大	9	14	21*	33**	1	1	2	2	
	炎症を伴う壊死	0	0	4	1	0	8**	3	1	
肺	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40	
	アミロイド沈着	0	1	0	0	1	0	0	0	
	間質性炎症	0	1	2	1	0	6*	0	1	
腸間膜リンパ節	剖検動物数	38	39	40	39	40	42	36	40	
	アミロイド沈着	1	1	2	0	5	2	0	2	

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いた Fisher の直接確率法 (\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01)

— : 検査を実施していない。(B): 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
最終屠殺	鼻甲介	剖検動物数	37	37	39	38	38	41	33	39
		腔内分泌液	0	5	3	0	0	1	1	1
		鼻涙管リンパ球様細胞浸潤/ 集簇	14	17	14	10	13	16	6	16
		嗅上皮好酸化	0	0	0	3	0	0	0	5
		鼻粘膜腺の拡張	0	1	2	6*	0	0	0	2
	卵巣	剖検動物数					40	42	36	40
		アミロイド沈着					7	3	1	3
	膵臓	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	0	0
	前立腺	剖検動物数	41	40	40	41				
		腺上皮過形成	1	4	8*	3				
	上皮小体	剖検動物数	38	34	40	37	40	41	34	37
		アミロイド沈着	4	1	2	1	7	2	2	2
	直腸	剖検動物数	41	40	41	41	37	41	35	39
		アミロイド沈着	—	—	—	—	4	0	0	1
	唾液腺	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	0	0
	下顎リンパ節	剖検動物数	37	39	40	40	40	42	36	40
		アミロイド沈着	0	1	1	0	—	—	—	—
	脾臓	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
アミロイド沈着		0	1	1	0	1	2	0	2	
胃	剖検動物数	41	39	41	41	40	42	36	40	
	アミロイド沈着	3	1	2	0	6	2	0	2	
	粘膜下組織の単核球浸潤	11	18	22*	14	16	24	9	17	
精巣	剖検動物数	41	40	41	41					
	アミロイド沈着	1	0	0	0					
甲状腺	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40	
	アミロイド沈着	5	1	3	1	8	4	2	3	
膀胱	剖検動物数	41	40	40	40	39	42	36	40	
	単核球浸潤	2	11*	8	5	25	15	21	18	
	蛋白性嚢胞	1	8*	3	0	—	—	—	—	
子宮	剖検動物数					39	42	36	40	
	アミロイド沈着 管腔, 子宮内膜の拡張					0	0	0	1	
						0	2	4	4	

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いた Fisher の直接確率法 (\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01)

— : 検査を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き) (原報告書 P.210 Table19)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
全動物	副腎	剖検動物数	59	59	60	58	59	59	58	59
		アミロイド沈着	7	1	3	5	7	5	3	9
		皮質の肥大	1	5	3	8*	1	0	0	1
		色素沈着	0	4	1	0	1	9*	3	7
	大腿骨	剖検動物数	59	60	59	60	58	60	59	59
		アミロイド沈着	0	1	0	0	1	4	4	8
	胸骨	剖検動物数	59	59	60	60	58	60	60	59
		線維性骨異栄養症	0	0	1	0	1	8	3	14**
	盲腸	剖検動物数	55	51	54	52	54	53	50	51
		アミロイド沈着	4	0	0	1	8	1	0	4
	結腸	剖検動物数	57	54	57	52	57	56	55	54
		アミロイド沈着	0	0	0	1	7	1	1	5
	十二指腸	剖検動物数	56	55	57	53	54	56	53	55
		アミロイド沈着	3	0	2	2	5	4	2	7
	胆嚢	剖検動物数	60	60	60	60	53	52	48	53
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	0	0
心臓	剖検動物数	60	60	60	60	60	59	59	60	
	アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	1	0	
回腸	剖検動物数	57	53	56	54	54	54	52	53	
	アミロイド沈着	10	6	7	3	11	10	9	6	
空腸	剖検動物数	54	54	55	52	54	54	52	51	
	アミロイド沈着	7	4	4	2	5	5	4	5	
腎臓	剖検動物数	59	60	60	59	60	59	58	60	
	アミロイド沈着	1	0	0	0	5	1	3	5	
	アミロイド沈着(糸球体)	6	5	3	5	4	7	2	5	
	尿細管上皮の増生/変性	32	40	45*	49**	34	39	33	29	
	尿細管上皮の鉱質沈着	0	2	4	7*	0	2	2	0	
慢性腎炎	36	41	47	55**	43	47	37	38		
肝臓	剖検動物数	59	60	60	60	59	59	58	59	
	アミロイド沈着	4	1	2	3	4	4	5	8	
	好酸性病巣(I)	0	2	0	8**	—	—	—	—	
	小葉中心性肝細胞肥大	16	26	29*	44**	1	1	2	4	
炎症を伴う壊死	3	0	5	1	0	9**	3	1		
肺	剖検動物数	60	60	60	60	59	59	59	60	
	アミロイド沈着	0	1	0	0	1	0	0	0	
	間質性炎症	0	3	2	1	0	6*	2	4	
腸間膜リンパ節	剖検動物数	52	57	57	50	56	57	55	55	
	アミロイド沈着	3	1	3	2	5	4	2	6	

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いた Fisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

— : 検査を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変の発生数(続き)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
全動物	鼻甲介	剖検動物数	53	55	57	54	56	61	52	58
		腔内分泌液	0	6*	4	0	0	1	1	1
		鼻涙管リンパ球様細胞浸潤/集簇	23	29	23	15	19	18	12	22
		嗅上皮好酸化	0	0	0	6*	1	1	0	5
		鼻粘膜腺の拡張	2	2	2	7	0	0	1	3
	卵巣	剖検動物数					58	59	57	59
		アミロイド沈着					7	6	7	9
	膵臓	剖検動物数	60	60	60	60	59	59	57	57
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	1	0
	前立腺	剖検動物数	57	59	59	59				
		腺上皮過形成	1	5	8	3				
	上皮小体	剖検動物数	56	52	58	53	58	56	54	53
		アミロイド沈着	5	2	3	4	7	4	5	6
	直腸	剖検動物数	60	60	60	60	52	55	54	53
		アミロイド沈着	—	—	—	—	5	0	0	1
	唾液腺	剖検動物数	60	60	60	60	60	59	59	60
		アミロイド沈着	—	—	—	—	1	0	1	0
	下顎リンパ節	剖検動物数	55	58	59	53	55	55	58	58
		アミロイド沈着	0	1	1	0	0	0	1	1
	脾臓	剖検動物数	59	60	60	57	60	59	58	60
アミロイド沈着		0	2	1	0	1	2	1	5	
胃	剖検動物数	57	58	60	56	57	58	56	59	
	アミロイド沈着	3	2	2	0	6	3	1	7	
	粘膜下組織の単核球浸潤	12	22	28**	17	17	29	10	22	
精巣	剖検動物数	59	60	60	59					
	アミロイド沈着	1	0	0	0					
甲状腺	剖検動物数	58	59	60	58	59	59	56	57	
	アミロイド沈着	7	2	4	5	8	7	5	8	
膀胱	剖検動物数	59	59	58	57	59	59	56	56	
	単核球浸潤	3	13*	9	5	33	20	28	21	
	蛋白性嚢胞	3	10	4	1	—	—	—	—	
子宮	剖検動物数					60	59	58	58	
	アミロイド沈着 管腔, 子宮内膜の拡張					1 1	0 2	0 8*	4 5	

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いたFisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

— : 検査を実施していない。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生表 (原報告書 P.237 Table21)

臓器及び病変				雄				雌			
				投与量 (ppm)							
				0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
12 ヶ 月	肝臓	肝細胞腺腫	剖検動物数	10	10	10	10	-	-	-	-
			(B)	0	1	2	0	-	-	-	-
	肺	気管支肺胞腺腫	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
			(B)	0	0	1	1	0	1	0	1
	下垂体	腺腫	剖検動物数	10	9	10	10	9	10	10	10
			(B)	-	-	-	-	0	1	0	0
	多臓器	悪性リンパ腫	剖検動物数	3	1	1	0	0	1	3	2
			(M)	-	-	-	-	-	0	0	1

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いた Fisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

- : 検査を実施していない。(B): 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

(原報告書 P.245 Table23)

臓器及び病変				雄				雌			
				投与量 (ppm)							
				0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
脳	星状細胞腫	剖検動物数	8	10	9	8	10	7	12	10	
		(M)	0	0	1	0	-	-	-	-	
十二指腸	腺腫	剖検動物数	5	5	6	2	4	4	7	5	
		(B)	-	-	-	-	0	0	1	0	
脊髄	神経節性神経腫	剖検動物数	8	10	8	8	10	7	13	10	
		(M)	0	1	0	0	-	-	-	-	
肝臓	肝細胞腫	(B)	2	0	0	0	-	-	-	-	
		(M)	0	0	0	1	1	0	0	0	
		(M)	0	0	1	0	-	-	-	-	
		(M)	0	0	1	0	-	-	-	-	
肺	気管支肺胞腺腫	剖検動物数	10	10	10	10	9	7	13	10	
		(B)	1	0	1	1	1	1	2	2	
		(M)	1	0	1	0	0	1	1	0	
皮膚	線維肉腫	剖検動物数	9	10	9	8	10	7	12	9	
		(M)	-	-	-	-	0	0	1	0	
子宮	子宮血管肉腫	(M)					10	7	12	8	
		(M)					0	0	1	0	
		(M)					0	0	1	0	
膣	腫瘍(未定細胞型)	剖検動物数					0	0	2	0	
		(M)					-	-	1	-	
皮下組織	骨肉腫	剖検動物数	3	0	1	0	1	0	1	0	
		(M)	1	-	0	-	-	-	-	-	
多臓器	組織球肉腫	(M)	0	2	3	5	3	5	6	10	
		(M)	-	0	0	2	0	1	0	3	
多臓器	悪性リンパ腫	(M)	-	-	-	-	2	0	3	0	
		(M)	-	-	-	-	2	0	3	0	

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いた Fisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

- : 検査を実施していない。(B): 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生表(続き) (原報告書 P.241 Table22)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
最終屠殺	盲腸	剖検動物数					40	42	36	40
		平滑筋腫 (B)					1	0	0	0
	胆嚢	剖検動物数	39	40	41	40	40	40	36	40
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	1	0
	腎臓	剖検動物数	41	40	41	41	-	-	-	-
		間葉性腫瘍 (M)	0	0	1	0	-	-	-	-
	肝臓	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
		肝細胞腺腫 (B)	6	4	8	10	1	1	0	0
		血管肉腫 (M)	1	1	1	0	0	3	0	1
		肝細胞腺癌 (M)	2	1	3	3	0	0	1	0
	肺	剖検動物数	41	40	41	41	40	42	36	40
		気管支肺胞腺腫 (B)	3	11*	14**	11	2	6	4	7
		気管支肺胞腺癌 (M)	0	0	2	0	1	0	0	3
	皮膚	剖検動物数	-	-	-	-	40	42	36	40
		線維肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	脾臓	剖検動物数	-	-	-	-	40	42	36	40
		血管腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
	胃	剖検動物数	41	39	41	41	40	42	36	40
		扁平上皮乳頭腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
	甲状腺	剖検動物数	-	-	-	-	40	42	36	40
		ろ胞腺腫、ろ胞状嚢腺腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
	上皮小体	剖検動物数	38	34	40	37	40	41	34	37
		腺腫 (B)	0	1	0	0	-	-	-	-
	膀胱	剖検動物数	41	40	40	40	40	42	36	40
		乳頭腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	2
	精巣	剖検動物数	41	40	41	41				
辜丸間質細胞腫 (B)		0	0	0	1					
精巣上皮腫 (B)		0	0	0	1					
卵巢	剖検動物数					40	42	36	40	
	乳頭状嚢胞腺腫 (B)					0	1	0	0	
子宮	剖検動物数					40	42	36	40	
	腺癌、癌 (M)					1	0	0	0	
	血管肉腫 (M)					0	0	0	1	
	平滑筋腫 (B)					0	0	0	1	
	平滑筋肉腫 (M)					1	0	0	0	
	粘膜ポリープ (B)					0	1	0	0	
多臓器	剖検動物数	10	5	5	1	14	10	9	11	
	組織球肉腫 (M)	-	-	-	-	1	1	1	1	
	悪性リンパ腫 (M)	0	1	1	0	5	3	4	7	
	白血病 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0	

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いたFisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

- : 検査を実施していない。(B): 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生表(続き) (原報告書 P.249 Table24)

臓器及び病変			雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
全動物	脳	剖検動物数	59	60	60	59	60	59	58	60
		星状細胞腫 (M)	0	0	1	0	—	—	—	—
	盲腸	剖検動物数	55	51	54	52	54	53	50	51
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	1	0	0	0
	十二指腸	剖検動物数	56	55	57	53	54	56	53	55
		腺腫 (B)	—	—	—	—	0	0	1	0
	胆嚢	剖検動物数	53	53	54	52	53	52	48	53
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	1	0
	ハタゲ腺	剖検動物数	—	—	—	—	0	1	0	0
		腺腫 (B)	—	—	—	—	—	1	—	—
	腎臓	剖検動物数	59	60	60	59	60	59	58	60
		間葉性腫瘍 (M)	0	0	1	0	—	—	—	—
	脊髄	剖検動物数	59	60	59	59	59	59	58	59
		神経節性神経腫 (M)	0	1	0	0	—	—	—	—
	肝臓	剖検動物数	59	60	60	60	59	59	58	59
		肝細胞腺腫 (B)	8	5	10	10	1	1	0	0
		血管肉腫 (M)	1	1	1	1	1	3	0	1
		肝細胞腺癌 (M)	2	1	4	3	0	0	1	0
	肺	剖検動物数	60	60	60	60	59	59	59	60
		気管支肺胞腺腫 (B)	4	11	16**	13	3	8	6	10
気管支肺胞腺癌 (M)		1	0	3	0	1	1	1	3	
下垂体	剖検動物数	59	57	60	56	58	58	54	59	
	腺腫 (B)	—	—	—	—	0	1	0	0	
皮膚	剖検動物数	60	60	60	59	60	59	58	59	
	線維肉腫 (M)	—	—	—	—	1	0	1	0	
脾臓	剖検動物数	59	60	60	57	60	59	58	60	
	血管腫 (B)	—	—	—	—	0	0	0	1	
胃	剖検動物数	57	58	60	56	57	58	56	59	
	扁平上皮乳頭腫 (B)	—	—	—	—	0	0	0	1	
尾	剖検動物数	0	0	0	1	0	0	0	1	
	血管腫 (B)	—	—	—	—	—	—	—	1	
甲状腺	剖検動物数	58	59	60	58	59	59	56	57	
	ろ胞腺腫、ろ胞状囊腺腫 (B)	—	—	—	—	0	1	0	0	
上皮小体	剖検動物数	56	52	58	53	58	56	54	53	
	腺腫 (B)	0	1	0	0	—	—	—	—	
膀胱	剖検動物数	59	59	58	57	59	59	56	56	
	乳頭腫 (B)	—	—	—	—	0	0	0	2	
精巣	剖検動物数	59	60	60	59					
	間質細胞腫 (B)	0	0	0	1					
	精巣上皮腫 (B)	0	0	0	1					
卵巣	剖検動物数					58	59	57	59	
	乳頭状囊胞腺腫 (B)					0	1	0	0	

統計処理法 : Bonferroni 不等式を用いたFisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

— : 検査を実施していない。(B): 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変の発生表(続き)

臓器及び病変				雄				雌			
				投与量 (ppm)							
				0	100	400	1,600	0	100	400	1,600
全動物	子宮	剖検動物数					60	59	58	58	
		腺癌、癌 (M)					1	0	0	0	
		血管肉腫 (M)					0	0	1	1	
		平滑筋腫 (B)					0	0	0	1	
		平滑筋肉腫 (M)					1	0	1	0	
	粘膜ポリープ (B)					0	1	0	0		
	膺	剖検動物数					0	0	2	0	
		腫瘍(未定細胞型) (M)					—	—	1	—	
	皮下組織	剖検動物数	3	1	1	0	1	0	1	0	
		骨肉腫 (M)	1	0	0	—	—	—	—	—	
	多臓器	剖検動物数	13	8	9	6	17	16	18	23	
		組織球肉腫 (M)	0	0	0	2	1	2	1	4	
		悪性リンパ腫 (M)	0	1	1	0	7	3	7	8	
		剖検動物数					17	16	18	23	
	白血病 (M)					1	0	0	0		

統計処理法 : Boferroni 不等式を用いたFisher の直接確率法 (\*:p<0.05,\*\*:p<0.01)

— : 検査を実施していない。(B): 良性腫瘍、(M)悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(10) 繁殖毒性及び催奇形性

1) ラットを用いた繁殖試験

(資料 7-1)

試験機関            バイオダイナミックス社  
報告書作成年        1981年

検体の純度:        %(原体)

供試動物: Sprague-Dawley系CDラット、1群雄12匹、雌24匹、投与開始時6週齢

投与期間: P世代; 投与開始からF<sub>1b</sub>児離乳時までの29週間、F<sub>1</sub>世代; 離乳時からF<sub>2b</sub>児離乳時までの32週間、F<sub>2</sub>世代; 離乳時からF<sub>3b</sub>児離乳時までの33週間。  
(1978年6月13日～1980年3月38日)

投与方法: 動物の体重、飼料摂餌量から算出して、検体を0、3、10、30mg/kg/日を含む飼料となるよう調製し摂取させた。なお、飼料に添加する際アセトンに溶かして行った。

用量設定根拠;

交配、調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を表1にまとめた。

一般状態及び死亡率; 全動物の全検査期間に一般状態及び生死を1日2回観察した。

交配及び妊娠の確認; 交配は同一投与群内の雄1匹、雌2匹を行い、精子または膣栓により交尾が確認されるまで最大15日同居させた。交配の確認された日を妊娠0日と定めた。妊娠の確認は触診及び出産をもって行った。

繁殖性に関する指標; 交配、妊娠及び保育時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率(\%)} = \frac{\text{交尾を認めた動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率(\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率(\%)} = \frac{\text{最低1匹以上の雌を妊娠せしめた雄動物数}}{\text{交尾を認めた雌動物数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

妊娠期間＝交尾を確認した日から出産までの日数

$$\text{出産時生存率(\%)} = \frac{\text{生存産児数}}{\text{出産児数}} \times 100$$

$$\text{哺育4日生存率(\%)} = \frac{\text{哺育4日目における生存児数}}{\text{生存産児数}} \times 100$$

$$\text{哺育21日生存率(\%)} = \frac{\text{哺育21日目における生存児数}}{\text{哺育4日目における生存児数}}$$

$$\text{離乳児数(\%)} = \frac{\text{哺育21日目生存児(1匹以上)を育てた雌雄動物数}}{\text{哺育4日目における生存児数}}$$

病理組織学的検査；副腎、大動脈、骨及び骨髄（胸骨）、脳、両眼球（視神経及びハーダー腺を含む）、性腺、心臓、腸、結腸、十二指腸、回腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ腺、乳腺、膵臓、下垂体、唾液腺、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胃、甲状腺、膀胱、子宮または前立腺、肉眼的異常部位、腫瘤、胸腺について病理標本を作成し、そのうちP、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>の親動物及びF<sub>3b</sub>の産児について対照群及び30mg/kg/日投与群の雌雄各10匹について検鏡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 交配、調整・選抜及び観察・検査項目の概要

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	生育(9週間) 交配(2週)	6週齢より投与開始 雌2匹に対し雄1匹の割合で交配 交尾は膣栓及び精子で確認 (妊娠0日)	体重、餌を週1回測定 交配状況の観察 体重、餌を週1回測定
	妊娠(3週)		妊娠0,6,15及び20日目体重を測定
	出産		出産状況の観察 新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹生存児 体重測定
	哺育(3週)		母動物の出産後哺育0,4,14及び21日目体重を測定 生存児数、同腹生存児体重を哺育0,4及び14日目に 測定 21日目には個体別離乳児体重を測定
	離乳	F <sub>1a</sub> 児屠殺	F <sub>1a</sub> 児離乳時に剖検
F <sub>1a</sub>	休養(2~3週) 交配(2週) 妊娠(3週)	個別飼育 (F <sub>1a</sub> を産する場合に準ずる)	体重、餌を週1回測定 (F <sub>1a</sub> を産する場合に準ずる)
	出産		
	哺育(3週)	(F <sub>1a</sub> を産する場合に準ずる)	(F <sub>1a</sub> を産する場合に準ずる)
F <sub>1b</sub>	離乳	F <sub>1a</sub> 児より継代用の各群雄12匹、 雌24匹ずつ各腹から少なくとも各1匹の 雌雄をとるように無作為に選抜	親動物の対照群と30mg/kg/日投与群ついて病理組織 学的検査 全剖検例で臓器重量測定 また継代用以外のP <sub>1b</sub> 児を離乳時に剖検
	生育(13週) 交配(2週) 妊娠(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	出産		(P世代に準ずる)
	哺育(3週)		(P世代に準ずる)
F <sub>2a</sub>	離乳	F <sub>2a</sub> 児屠殺	(F <sub>1a</sub> 世代に準ずる)
	休養(2~3週) 交配(2週) 妊娠(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
F <sub>2b</sub>	出産		
	哺育(3週)		
	離乳	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
F <sub>2c</sub>	生育(13週) 交配(2週) 妊娠(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	出産		
F <sub>3a</sub>	哺育(3週)		
	離乳	F <sub>3a</sub> 児屠殺	(F <sub>1a</sub> 世代に準ずる)
F <sub>3b</sub>	休養(2~3週) 交配(2週) 妊娠(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	出産		
	哺育(3週)		
F <sub>3b</sub>	離乳	F <sub>3b</sub> 児屠殺	(P世代に準ずる)
			F <sub>3b</sub> 児離乳後に対照群及び30mg/kg/日投与群 の雌雄10匹を病理組織学的検査

結 果:

死亡、体重、摂餌量;死亡率に対する検体投与の影響は認められなかった。

P世代の育成及び休養期間中における、10及び30mg/kg/日投与群の雄の平均体重は、対照群よりも僅かに低かった。F<sub>1</sub>においては、すべての検体投与群の雄で平均体重が育成期間の大部分を通じて、対照群より低かったが、同時期の体重変化は、3及び10mg/kg/日投与群で対照群より一様に高かった。雄の体重における同様の傾向は、F<sub>2</sub>育成期の10及び30mg/kg/日投与群にも認められた。雌の平均体重は、対照群と投与群の間で差は認められなかった。

P世代の平均摂餌量は、対照群と投与群の間で差は認められなかった。F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代における毎週の摂餌量は、10及び30mg/kg/日投与群で育成及び休養期間において高い値を示す傾向が認められた。

交尾率;試験を通じて、雄の交尾率あるいは妊孕率には検体投与の影響は認められなかった。同様に、雌の交尾率及び妊娠率にも検体投与の影響は認められなかった。雌の交尾率は、F<sub>1</sub>世代の30mg/kg/日投与群の2回の交配及びF<sub>1</sub>の10mg/kg/日投与群の2回目の交配においてやや低かった。しかし、これら投与群における交尾率の低下には、統計学的有意差はなく、F<sub>2</sub>世代にはこのような影響は認められなかった。

妊娠、分娩、出生児;試験期間中、母動物体重、妊娠期間、分娩成績(分娩時の生存及び死亡児数、あるいは出生児の生存率)に投与の影響は認められなかった。哺育児についても、雌雄の分布、体重、生存及び死亡児の剖検所見に検体投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量;F<sub>3b</sub>離乳児雄の平均臓器重量は、対照群と投与群の間で差が認められなかった。30mg/kg/日投与群のF<sub>3b</sub>雄においては、腎臓の対体重比に有意な増加がみられた。腎臓の対脳重量比でも同様の増加がみられたが、この差は統計学的に有意ではなかった。F<sub>3b</sub>雄その他の臓器重量は対照群と投与群の間で差がなかった。

P及びF<sub>1</sub>の投与群雄の臓器重量は、対照群との間に差がなかった。雌においては、各世代の30mg/kg/日で卵巣重量の低下がみられたが、Pの絶対及び対脳重量比だけで有意差が認められた。F<sub>2</sub>世代における30mg/kg/日群雌雄の腎重量は、対照群より有意に高かった。平均腎重量対脳重量比では統計学的に有意な差はなかったが、F<sub>2</sub>雄の30mg/kg/日の対体重比では有意な増加が認められた。F<sub>2</sub>世代の動物における、その他の臓器重量は対照群と投与群の間で差がなかった。

肉眼的病理検査;成熟動物の肉眼的病理検査の結果、腎臓の褪色の頻度がF<sub>2</sub>動物の30mg/kg/日投与群で対照群に比し増加した。しかし、この所見は、この試験において他の動物にも散発的に観察されて、投与との関連性は明らかではなかった。

P、F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代においては、投与に関連性のある肉眼的病理所見は認められなかった。

病理組織学的検査;P、F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代の親動物とF<sub>3b</sub>離乳児の対照群及び30mg/kg/日投与群から無作為に選んだ組織の病理組織学的検査では、F<sub>2</sub>雄30mg/kg/日群において慢性腎炎の有意な増加が認められた。しかし、慢性腎炎はP、F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代において対照群を含めて散発的に認められ、その他の投与群では有意に増加していなかったことから、この所見と投与との関連性の有無は明らかではなかった。(表3参照)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

以上の結果から、三世代にわたって本剤を飼料に混入して投与した場合、30mg/kg/日群のP世代雌で卵巣重量及び対脳重量比の低下、F<sub>2</sub>世代雄で腎重量及び対体重比の増加並びに慢性腎炎、雌で腎重量の増加、F<sub>3b</sub>雄で腎臓の対体重比の増加が認められた。このことから、一般毒性に関する最小毒性量は30mg/kg/日と判断される。繁殖能については何ら影響がみられなかった。

したがって、無毒性量は親動物及び児動物に対して10mg/kg/日と判断される。繁殖については最高用量の30mg/kg/日でも影響はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 結果の概要

(原報告書 P.61 Table 6, P.63 Table7, P.65 Table8, P.71 Table9及びP.168 M-6.77-2006)

世代		親:P、児:F1a、F1b				親:F1、児:F2a、F2b				親:F2、児:F3a、F3b				
投与量(mg/kg/日)		対照群	3	10	30	対照群	3	10	30	対照群	3	10	30	
動物数	雄 a	12	12	12	12	12	12	11	11	12	11	12	12	
	b	12	12	10	12	12	12	11	11	12	12	12	10	
	雌 a	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	23	24	
	b	18	20	21	22	24	24	24	24	17	22	21	18	
一般状態														
死亡率(%)	雄	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	8.3%	8.3%	0.0%	8.3%	0.0%	0.0%	
	雌	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	4.2%	0.0%	
体重変化(g)	0~9週間				1~13週間				1~13週間					
	雄	239.1	239.4	209.0	224.8	321.3	339.8	351.9	316.2	305.2	290.4	309.4	310.8	
雌	107.7	103.8	113.3	109.3	151.5	157.4	163.2	167.9	134.9	133.3	139.4	153.5		
採餌量の 対照群との 有意差 (数値は週を示す)	雄			↑7	↓7			↑7 △8、 13	↑7、 8 △13				↑11	
	雌				▽7			△5、 10、 11、 16	△5、 10、 13、 16			↑2、 8、9 △5、7		
肉眼的病理検査														
臓器重量	雄												重量 腎臓↑119.3 対体重比 腎臓△125.4	
	雌				重量 卵巣↓83.2 対脳重量比 卵巣↓82.4								重量 腎臓△110.5	
病理組織学的検査														
慢性腎炎	雄	0/10			3/10	4/10			5/10	1/10			8/10 * \$§	
	雌	0/10		0/1	1/10	2/10			3/11	2/10		1/1	2/10	
交尾率(%)	雄 a	100.0%	100.0%	91.7%	100.0%	83.3%	83.3%	100.0%	72.7%	100.0%	100.0%	100.0%	91.7%	
	b	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	91.7%	91.7%	74.7%	81.8%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
妊娠率(%)	雄 a	83.3%	95.8%	95.8%	95.8%	79.2%	83.3%	95.8%	66.7%	91.7%	100.0%	95.7%	83.3%	
	b	100.0%	100.0%	95.2%	95.5%	83.3%	75.0%	66.7%	66.7%	100.0%	100.0%	81.0%	94.4%	
妊孕率(%)	雄 a	90.0%	86.9%	91.3%	95.7%	89.5%	90.0%	91.3%	93.8%	77.3%	91.7%	95.5%	90.0%	
	b	100.0%	80.0%	90.0%	85.7%	95.0%	77.8%	81.3%	87.5%	94.1%	95.5%	94.1%	88.2%	
妊娠期間(日)	雄 a	100.0%	100.0%	90.9%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	87.5%	100.0%	100.0%	100.0%	90.9%	
	b	100.0%	83.3%	100.0%	91.7%	90.9%	81.8%	100.0%	83.9%	91.7%	100.0%	91.7%	100.0%	
同腹産児数	雄 a	21.9	21.7	22.0	21.9	21.8	21.7	21.9	22.0	21.7	21.7	21.9	21.8	
	b	21.7	21.7	21.6	21.7	21.9	22.0	21.9	22.0	21.5	21.6	21.6	21.8	
出産時性比 (雄/雌)	雄 a	12.4	11.4	12.5	12.6	13.4	11.8	12.0	12.2	11.9	11.9	12.0	13.0	
	b	13.0	11.8	13.5	13.8	13.3	12.3	13.6	12.4	12.9	13.1	13.9	14.1	
出産時生存率(%)	雄 a	1.1	1.0	0.9	1.0	0.9	0.9	0.8	0.9	1.1	1.3	1.2	1.0	
	b	1.1	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5	1.2	0.9	1.1	1.1	0.9	
同腹生存児数	雄 a	97.8%	97.8%	99.2%	98.6%	97.8%	99.5%	97.6%	98.9%	96.5%	98.9%	99.2%	98.7%	
	b	99.6%	99.5%	97.6%	98.0%	95.9%	99.4%	94.8%	98.1%	98.2%	99.1%	99.1%	95.3%	
4日後生存率(%)	雄 a	12.2	11.2	12.4	12.4	13.1	11.8	11.7	12.1	11.5	11.8	11.9	12.8	
	b	12.9	11.7	13.3	13.5	13.0	11.8	13.5	11.8	12.7	12.9	13.8	13.5	
21日後生存率(%)	雄 a	97.3%	95.5%	90.4%	97.1%	96.8%	92.9%	97.6%	93.9%	96.9%	99.6%	98.4%	97.4%	
	b	98.3%	96.3%	98.8%	98.8%	95.5%	93.9%	99.4%	97.6%	94.6%	97.0%	95.9%	98.0%	
出産時児体重(g)	雄 a	99.5%	96.2%	98.7%	100.0%	99.5%	99.5%	95.0%	95.9%	99.5%	99.6%	98.9%	98.7%	
	b	100.0%	97.8%	94.5%	97.1%	100.0%	99.4%	100.0%	99.4%	99.5%	99.6%	96.7%	96.5%	
4日後体重(g)	雄 a	6.0	6.0	5.9	5.9	5.9	5.8	6.0	6.1	6.2	6.2	6.2	6.1	
	b	6.0	5.9	6.0	5.9	6.2	6.1	6.1	6.4	6.0	5.9	5.8	6.0	
21日後体重(g)	雄 a	9.7	9.9	9.7	9.4	9.4	8.6	9.8	9.6	9.7	9.5	9.8	9.6	
	b	9.3	9.4	9.0	9.0	9.8	10.0	9.6	9.9	8.6	8.4	8.1	8.7	
同腹離乳児数	雄 a	39.4	40.7	37.4	37.0	41.0	39.0	43.0	43.1	37.9	36.4	37.4	34.0	
	b	35.5	36.1	33.9	34.3	42.7	42.9	40.4	42.4	38.6	37.4	35.5	38.2	
離乳児率(%)	雄 a	11.8	10.3	12.2	12.0	12.6	11.5	10.9	10.9	11.8	11.7	11.5	12.3	
	b	12.7	11.0	12.4	12.9	12.4	11.0	13.5	11.4	11.9	12.5	12.8	12.7	
臨床観察	雄 a	100.0%	100.0%	90.5%	100.0%	100.0%	94.4%	100.0%	100.0%	94.1%	100.0%	100.0%	100.0%	
	b	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
肉眼的病理	雄 a													
	b													
臓器重量	雄 a												対体重比 腎臓↑110.6	
	雌 a													
病理組織学的 検査	例数/検査動物数													
	慢性腎炎	雄 a												
雌 a										0/10			0/10	
雌 b										0/10			0/10	

注)Dunnett の t検定 ↑:p<0.05 ↓:p<0.01  
申請者注)Fisherの直接確率法 \*:p<0.01、  
慢性腎炎の程度を含めた統計学的解析:Wilcoxonの順位和検定 \$:p<0.05, \$\$:p<0.01  
a:第一次産児 b:第二次産児空欄は投与に関連する影響なし、斜線は検査実施せずを示す。

表3 慢性腎炎の程度

性別	雄										雌																			
	対照群 (0mg/kg/日)					高用量 (30mg/kg/日)					対照群 (0mg/kg/日)					中用量 (10mg/kg/日)					高用量 (30mg/kg/日)									
P (親世代)	検査動物数																													
	10					10					10					1					10									
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
	0					1					0					0					0									
動物数																														
10					7					3					10					1					9					
F1b (F1 親世代)	検査動物数																													
	10					10					10					0					11									
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
	2					1					2					-					-									
動物数																														
6					4					5					8					-					8					
F2b (F2 親世代)	検査動物数																													
	10					10					10					1					10									
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
	0					0					2					0					0					2				
動物数																														
9					1					8					8					0					8					
F3b (児動物)	検査動物数																													
	10					10					10					0					10									
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
	0					0					0					0					0					0				
動物数																														
10					0					10					-					10										

程度: 0=Not Remarkable, 1=Minimal, 2=Slight, 3=Moderate, 4=Moderately Severe/High, 5=Severe/High  
統計学的解析法: Wilcoxonの順位検定 \$: p<0.05, \$\$: p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

## 2) ラットにおける催奇形性試験

(資料 7-2)

試験機関 インターナショナル・リサーチ・アンド・ディベロップメント・  
コーポレーション  
報告書作成年 1980年

検体の純度: % (原体)

供試動物: Charles River COBS®CD®系ラット(体重255g)、1群25匹、開始時約14週齢

投与期間: 妊娠6日から妊娠19日までの14日間

(1974年4月22日～1979年5月9日)

1974年4月16日に交配を開始し、最終の帝王切開は5月10日に終了した。

投与方法: 検体をMazolaコーンオイルに懸濁し、10ml/kgの定容に50、150 400mg/kg/日の投与用量で妊娠6日から妊娠19日までの14日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群に溶媒のMazolaコーンオイルを同様に投与した。

妊娠の判定は、交配後膣栓及び膣に精液の痕跡があるかを毎日検査し、確認された日を妊娠0日とした。

用量設定根拠;

観察・検査項目:

親動物; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、16、20日に体重を測定した。

妊娠20日に帝王切開し、生存及び死亡胎児数とその位置、初期及び後期吸収胚数、総着床数、黄体数を検査した。

生存胎児; 性別、体重及び外表異常の観察を行った。

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

結果: 概要を表1に示した。

400mg/kg/日投与群において母動物に肛門から生殖器周辺の被毛のもつれ、着色、脱毛、鼻口部及び前肢の乾性赤色物質、軟便がみられ、体重増加が抑制され、死亡(4例)が観察された。4例の死因を剖検で解明することはできなかった。50、150mg/kg/日投与群及び対照群には、一般症状の異常及び死亡は観察されなかった。

全投与群において死亡胎児は観察されなかった。各投与群の平均生存胎児数、後期あるいは初期吸収胚数、着床後死胚数、総着床数、黄体数、性比及び平均胎児体重とも、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

対照群と比較して統計学的に有意な差異は認められなかった。しかし、400mg/kg/日投与群において、初期及び後期吸収胚数がわずかに増加したことから、平均着床後死胚数がわずかに増加し、平均生存胎児数が減少した。また、150及び400mg/kg/日投与群では、対照群と比較して平均胎児体重のわずかな減少が認められた。

奇形が観察されたのは対照群と50mg/kg/日投与群のみであったが、生物学的に意味のあるものではなかった。全投与群における発生遺伝学的変異は対照群と同等であった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したとき、母動物及び児動物における無毒性量は150mg/kg/日であった。また、最高投与量の400mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 結果の概要

投与群(mg/kg/日)		対照	50	150	400	
1群当り動物数		25	25	25	25	
親動物	一般状態	—	—	—	肛門～生殖器周辺の被毛のもつれ、着色、脱毛、鼻口部及び前肢の乾性赤色物質軟便	
	死亡数(率)	0	0	0	4(16%)	
	体重変化(g)	151	142	137	102	
	妊娠数(率)	25(100%)	20(80%)	23(92%)	23(92%)	
	着床数	検査親動物数	25	25	25	21
		黄体数	17.0	16.5	16.3	15.9
		総着床数(率) <sup>a)</sup>	15.7(92.4%)	15.2(92.1%)	15.4(94.5%)	15.2(95.6%)
		生存胎児数(率)	14.7(100%)	14.3(100%)	14.8(100%)	13.9(100%)
		初期吸収胚数(率) <sup>b)</sup>	1.0(6.4%)	0.9(5.6%)	0.6(4.0%)	1.1(7.3%)
		後期吸収胚数(率) <sup>c)</sup>	0.0(0%)	0.0(0%)	0.0(0%)	0.1(1.0%)
死胚数(率)		1.0(6.6%)	0.9(5.6%)	0.6(4.0%)	1.2(8.0%)	
胎児動物	体重(g)	3.5	3.5	3.4	3.3	
	性比(雄%)	51.80%	50.70%	49.70%	44.50%	
	外表異常					
	検査胎児数	367	286	340	265	
	外脳症	1(0.3%)	0	0	0	
	蝶形骨底の奇形	1(0.3%)	0	0	0	
	矮小発育症	7(1.9%)	3(1.0%)	0	0	
	脊柱側弯	1(0.3%)	0	0	0	
	糸状尾小肛門	1(0.3%)	0	0	0	
	骨格異常					
	検査胎児数	183	143	170	131	
	27前仙椎	1(0.5%)	0	2(1.2%)	0	
	第14番目の痕跡肋骨	40(21.9%)	22(15.4%)	26(15.3%)	29(22.1%)	
	第13番目の肋軟骨を有する肋骨	2(1.1%)	0	0	1(0.8%)	
	舌骨未化骨	8(4.4%)	0	0	1(0.8%)	
	頬骨化骨不全	0	1(0.7%)	0	0	
	恥骨未化骨	0	0	0	1(0.8%)	
	第5乃至第6胸骨分節未化骨	25(13.7%)	25(17.5%)	17(10.0%)	27(20.6%)	
	その他の胸骨分節未化骨	2(1.1%)	0	1(0.6%)	3(2.6%)	
	胸骨分節の不整および癒合	0	1(0.7%)	0	0	
	奇形	10(2.7%)*	3(1.0%)*	0	0	
	内臓異常					
	検査胎児数	184	143	170	134	
腎乳頭未発達/尿管の拡張	5(2.7%)	2(1.4%)	4(2.4%)	5(3.7%)		
奇形	0	0	0	0		

\* 骨格奇形のほとんどは外的に見えたので、外表検査胎児数に対する率とした。

a) 着床率は総着床総数の黄体に対する比率(%)

b) 初期吸収胚数=(着床痕数+残存胎盤数)×100×着床数

c) 後期吸収胚数=(浸軟仔数+死亡胎児数)×100×着床数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

### 3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 7-3)  
試験機関 バイオダイナミクス社  
[GLP対応]  
報告書作成年 1988年

検体の純度: %

供試動物: New Zealand White系ウサギ(体重4.1kg、約5~6ヶ月齢)  
1群18匹

投与期間: 妊娠7日から19日までの13日間 (1987年9月15日~1987年10月22日)

交配がずれたために、交配したそれぞれの雌が妊娠7日に達して投与を開始した日は、1987年9月15日から10月10日に及んだ。それぞれの雌が妊娠19日に達して投与を完了した日は、1987年9月27日から10月22日であった。

投与方法: 検体をMazolaコーンオイルに懸濁し、1ml/kg/日の定容に50、100、150mg/kg/日の投与量で妊娠7日から19日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒のMazolaコーンオイルを同様に投与した。

妊娠の判定は、雌を雄の個別ゲージに入れ交尾が確認されたら、その雌を異なる雄の個別ゲージに入れ交尾を確認し、2回とも交尾が確認された時をもって、その雌動物の妊娠0日とした。

用量設定根拠;

観察・検査項目:

親動物; 一般状態及び生死を毎日2回観察し、妊娠0日、7~19日、24日及び30日に詳細な臨床観察を実施した。また、体重は妊娠0、7、10、13、16、19、24及び30日に測定した。

流産または早産した動物は、その証拠が認められた日に屠殺して剖検した。妊娠30日に全生存動物を屠殺、解剖し、生存及び死亡胎児数とその位置、吸収胚数、総着床数及び体数を検査した。

生存胎児; 性別、体重及び外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常の有無を検査し、その後骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果: 概要を表1に示した。

投与群の母動物に死亡はみられなかった。対照群で母動物2匹が死亡したが、いずれの場合も動物は、投与後すぐに死亡しており、投与時の損傷に起因するものと考えられた。一般状態の観察結果に検体投与の影響は認められなかった。

妊娠中の各測定時期における平均体重は、対照群と各投与群でほぼ同等であった。投与期間中(妊娠7-19日)、対照群と各投与群の間で各測定時期における体重変化にかなりの変動がみられた。

150mg/kg/日投与群では、投与期間中(妊娠7-19日)摂餌量の低下がみられ、対照群の40%に対して81%の動物に体重の低下が認められた。しかし、この期間の平均体重の差は、対照群と比し統計学的に有意ではなかった。その後は、平均摂餌量、平均体重増加量とも対照群より上回っていた。その他に母動物に対する影響はみられなかった。

50及び100 mg/kg/日投与群では、それぞれ妊娠14-19日、妊娠7-19日において平均摂餌量の低下がみられた。その他に投与に関すると思われる母動物に対する影響はみられなかった。

150mg/kg/日投与群1例が妊娠22日に流産し、50及び100 mg/kg/日投与群では、それぞれ2例が妊娠30日の計画殺の前に早産した。この試験の対照群では流産及び早産はみられなかった。同じ試験機関において1982年から1987年の間に実施された同系のウサギを用いた17の催奇形性試験から得られた19の対照群データをまとめた下表の背景データとの比較に基づき、投与群でみられた流産または早産は投与に関連するとは考えられなかった。

	流産	早産
発生率全体平均	3.1% <sup>a)</sup>	3.7% <sup>b)</sup>
認められた対照群の数	4(21.1%)	8(42.1%)
各試験における発生率の範囲	6.3-33.3%	4.5-14.3%

a) 流産した雌の数/生存した妊娠雌の数[流産=妊娠25日までにケージの受け皿に胎児・胎児組織が存在する]

b) 早産した雌の数/生存した妊娠雌の数[早産=妊娠26-30日に児を出産したもの]

子宮内の着床に関するデータに検体投与の影響は認められなかった。

投与群の平均胎児体重は対照群と比べやや低かったが統計学的有意差は認められず、検体投与の影響は認められなかった。50mg/kg/日投与群において雄の胎児数が対照群に比して低く、性比にも統計学的有意差が認められた。しかし、100及び150mg/kg/日投与群における性比には同様の変化はみられず対照群と同等であったことから、投与に関連する変化とは考えられなかった。

検査した全ての胎児において外表変化(奇形または変異)は認められなかった。

対照群と150mg/kg/日投与群の胎児に内臓奇形が観察され、その出現頻度はそれぞれ0.7%(1/142胎児)及び1.6%(2/123胎児)であった。50及び100mg/kg/日投与群では、内臓奇形はみられなかった。150mg/kg/日投与群でみられた奇形は低頻度であり、検体投与に関連する影響とは考えられなかった。投与群の胎児には内臓変異はみられなかった。対照群における内臓変異の出現頻度は0.7%(1/142胎児)であった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

骨格奇形の出現頻度が、胎児あたりと腹あたりのいずれにおいても50mg/kg/日投与群と150mg/kg/日投与群で増加したが、対照群との差は統計学的に有意ではなかった。これらの投与群で最も高い頻度で観察された骨格奇形は舌骨弓の角状化または胸骨核癒合であった。

50、100、150mg/kg/日投与群における舌骨弓の角状化の出現頻度は、それぞれ3.8% (5/131)、1.4% (2/141) 及び2.4% (3/123) であった。これらの出現頻度は対照群(0.7%)に比してやや高かったが、この試験機関において1982年から1987年の間に実施された同系のウサギを用いた催奇形性試験から得た背景データの範囲(0 - 3.7%)内にあり、用量相関性(Armitage検定)も認められないことから、投与に関連するとは考えられなかった。また、150 mg/kg/日投与群において胸骨核癒合が2.4% (3/123) の出現頻度で認められ、対照群の出現頻度(0.7%)より高かったが、同様に背景データの範囲(0 - 15.2%)内にあった。

この様に、投与群においてわずかな骨格奇形の出現頻度の上昇がみられたが、その程度は軽度であり、かつ背景データの範囲内であること、ならびに用量反応性(Armitage検定)も認められないことから、検体投与に関連した影響によるものではないと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したとき、母動物における無毒性量は100mg/kg/日であった。児動物に対する毒性影響は、最高投与量の150mg/kg/日においても認められなかった。また、最高投与量の150 mg/kg/日においても児動物に対して催奇形性作用を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 結果の概要

投与群(mg/kg/日)		対照	50	100	150	
1群当り動物数		20	18	18	18	
親動物	一般状態	—	—	—	—	
	死亡数(率)	2(10%)	0	0	0	
	体重変化(g) (妊娠0~30日)	202	189	207	204	
	妊娠数(率)	17(85.0%)	17(94.4%)	17(94.4%)	16(88.9%)	
	着床数	検査親動物数	18	18	18	18
		黄体数	9.6	10.5	10.4	9.5
		総着床数(率) <sup>a)</sup>	9.1(94.8%)	9.3(88.6%)	10.0(96.2%)	8.8(92.6%)
		生存胎児数(率)	8.9(100%)	8.7(100%)	9.4(100%)	8.2(100%)
		初期吸収胚数(率) <sup>b)</sup>	0.1(1.4%)	0.3(3.6%)	0.1(0.1%)	0.2(2.3%)
		後期吸収胚数(率) <sup>c)</sup>	0.1(1.4%)	0.3(2.9%)	0.5(5.3%)	0.4(4.5%)
胎児動物	体重(g)	45.89	43.27	43.26	43.54	
	性比(雄%)	53.90%	36.80%	52.10%	57.30%	
	外表異常					
	検査胎仔数	142	131	141	123	
	奇形数	0	0	0	0	
	骨格異常					
	検査胎児数	142	131	141	123	
	舌骨弓角状化	1(0.7%)	5(3.8%)	2(1.4%)	3(2.4%)	
	歯状突起奇形	0	0	0	1(0.8%)	
	胸椎不整	0	1(0.8%)	0	0	
	胸椎奇形	0	1(0.8%)	0	0	
	胸椎横突起化骨不全	0	1(0.8%)	0	0	
	胸椎横突起欠損	0	1(0.8%)	0	0	
	胸椎横突起肥大	0	1(0.8%)	0	0	
	胸椎横突起の不整	0	1(0.8%)	0	0	
	胸骨核融合	1(0.7%)	0	0	3(2.4%)	
	胸骨付加	0	0	0	1(0.8%)	
	肋骨分岐	0	1(0.8%)	0	0	
	肋骨欠損	0	1(0.8%)	0	0	
	奇形	2(1.4%)	7(5.3%)	3(1.4%)	8(6.5%)	
	内臓異常					
	検査胎児数	142	131	141	123	
	横隔膜ヘルニア	0	0	0	1(0.8%)	
	異所性の腎	1(0.7%)	0	0	0	
	膨張腎盤	0	0	0	1(0.8%)	
	異所性の卵巣	1(0.7%)	0	0	0	
	奇形	1(0.7%)	0	0	2(1.6%)	

a) 着床率は総着床総数の黄体に対する比率(%)

b) 初期吸収胚数=(着床痕数+残存胎盤数)×100×着床数

c) 後期吸収胚数=(浸軟仔数+死亡胎児数)×100×着床数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

(11)変異原性

1) 遺伝子突然変異原性

① 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 8-1)

試験機関 (財)残留農薬研究所  
報告書作成年 1980年

検体の純度: %(分析用標準品)

試験方法:ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA1535、TA100、TA1537、TA1538、TA98)及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 hcr株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下でAmesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はDMSOに溶解し、10~5,000 $\mu$ g/プレートの範囲の6濃度で実施した。試験は2連制とし、2回行った。

用量設定根拠;

試験結果: 結果を表1に示した。

2回の試験において検体はS-9 Mixの有無にかかわらず、最高用量である5,000 $\mu$ g/プレートの濃度においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、 $\beta$ -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を示した。また、2-アミノアントラセンは、S-9 Mixを加えることにより活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 結 果

薬 物	濃度(μg/プレート)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)			11	7	138	8	12	26
			13	8	126	9	15	24
アラクロール	10	-	12	9	153	7	15	25
			10	14	124	4	14	21
	50	-	7	5	125	6	9	22
			14	5	122	7	12	15
	100	-	16	5	127	3	10	16
			14	11	122	1	13	19
	500	-	8	4	122	2	14	23
			8	8	120	7	12	13
	1,000	-	14	4	130	4	7	14
			10	6	131	6	14	13
5,000	-	17	7	73	*	4	12	
		15	4	91	*	6	11	
対照 (DMSO)		+	9	6	127	11	10	23
			9	7	132	7	10	26
アラクロール	10	+	12	14	97	7	11	25
			11	10	120	5	18	22
	50	+	12	11	122	10	12	20
			13	13	124	9	11	21
	100	+	18	9	156	7	15	23
			14	8	134	10	13	14
	500	+	5	12	151	7	12	13
			13	8	130	9	18	15
	1,000	+	12	11	134	8	14	15
			18	16	132	5	15	22
5,000	+	13	3*	100	*	15	11	
		11	7*	99	*	9	14	
2- アミノアントラセン	10	-	10	12	161	20	22	37
			11	10	158	10	28	46
	10	+	54	388	>3,000	404	>3,000	>3,000
			69	432	>3,000	396	>3,000	>3,000
陽性対照		-	1,186 <sup>1)</sup>	1,286 <sup>2)</sup>	748 <sup>3)</sup>	10,000 <sup>4)</sup>	3,000 <sup>5)</sup>	372 <sup>6)</sup>
			1,896	1,298	680	10,000	3,000	408

\* 菌株の生育阻止を認める

1) 0.25μg/プレート AF-2

3) 0.05μg/プレート AF-2

5) 50μg/プレート 2-ニトロフルオレン

2) 50μg/プレート β-プロピオラクトン

4) 200μg/プレート 9-アミノアクリジン

6) 0.1μg/プレート AF-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

- ② チャイニーズハムスター卵巣由来細胞系ヒポキサンチン-グアニンフォスフォリボシル転移酵素(CHO/HGPRT)を用いた *In Vitro* 遺伝子突然変異試験 (資料 8-2)

試験機関 ファーマコン・リサーチ・インターナショナル

[GLP 対応]

報告書作成年 1984 年

検体の純度: %(原体)

試験方法:チャイニーズハムスター卵巣由来細胞(CHO)の *In Vitro* 培養系のヒポキサンチン-フォスフォリボシル転移酵素(HGPRT)遺伝子座位における突然変異誘発能を調べた。通常 CHO細胞は6-チオグアニン(6-TG)の毒性に対し感受性であるが、変異細胞は耐性を示す。したがって6-TG存在下において変異細胞はコロニーを形成するが変異しない細胞は死滅する。

突然変異試験ではCHO細胞懸濁液に検体をS-9Mix存在下あるいは非存在下で処理した。同様にS-9Mix存在下での陽性対照としてジメチルニトロサミン(DMN)、非存在下での陽性対照としてエチルメタンサルホン酸(EMS)の処理を行った。また、陰性対照区も設けた。CHO細胞は、5時間検体存在下で培養後、洗浄し再度19時間培養した。細胞を遺伝子の表現型の発現期間とした8日間平板培養し、このうちプレート当たり $2 \times 10^5$ 個の細胞を取り出して6-TGを含む培地でさらに7日間培養した。

クローン形成率は6-TG非存在下で200細胞を培養して以下の式で求めた。

$$\text{クローン形成率(CE)} = \frac{\text{コロニー形成数}}{\text{プレートした細胞数}}$$

6-TG存在下で7日間培養した後形成された変異体コロニー数を数えて以下式による突然変異体発生率を求めた。

$$\text{突然変異体発生率(M.F.)} = \frac{\text{変異体コロニー数}}{\text{プレートした細胞数}} \times \frac{1}{\text{CE}}$$

統計学的解析は Snee と Irr(Mutation Research, 85:77-93,1980)に基づき線形成に関する分散分析及び Student の t-検定による対照群と処理群の組比較を行い、溶媒対照群と同一である確率 $p \leq 0.01$ で有意差なしとした。

用量設定根拠;

結果: 結果を次表に示した。

表 1 結 果(S-9 Mix 2%)

薬 劑	濃 度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	S-9 Mix の 有無 (%)	細胞毒性 処理後 細胞生存率	変異原性			
				突然変異 (5 プレート)	平均生存 細胞数 (3 プレート)	見かけ上の 生存率(%)	突然変異体 発生率 $\times 10^{-6}$
対照 (培地)	—	—	88.4	3.0	181.1	90.6	3.3
検体	15	—	85.6	0.7	162.7	813.0	0.8
	30	—	74.6	4.7	171.8	85.9	5.4
	60	—	54.1	6.0	157.1	78.6	7.6
	100	—	39.9	2.7	160.3	80.2	3.3
	150	—	13.2	0.0	160.5	80.3	0.0
陰性対照 (エタノール)	—	—	88.4	3.0	181.1	90.6	3.3
陽性対照 (EMS)	200	—	48.9	183	142.5	71.2	275.1
対照 (培地)	—	+	93.1	6.7	180.9	90.5	7.5
検体	15	+	79.5	2.7	178.9	89.5	3.0
	30	+	65.9	3.0	167.0	83.5	3.7
	60	+	58.5	5.3	171.2	85.6	6.8
	100	+	47.7	2.0	175.6	87.8	2.1
	200	+	18.9	0.7	157.7	78.8	1.0
陰性対照 (エタノール)	50	+	92.9	3.7	170.0	85.0	4.4
陽性対照 (EMS)	100	+	26.0	144.7	77.4	38.7	371.1

CHO/HGPRTを用いた本試験において、2%代謝活性化系(S-9Mix)の非存在下では細胞生存率は10~91%であり、存在下では13~84%であった。S-9Mixの有無を問わず、検体のどの濃度においても突然変異体発生率の統計学的に有意な増加は認められなかった。また5%S-9Mix存在下において本試験を検体濃度30、60、100及び200 $\mu\text{g/ml}$ の培地において実施したが突然変異発生率の有意な増加は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 結 果(S-9 Mix 5%)

薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	S-9 の 有無 (%)	細胞毒性 処理後 細胞生存率	変異原性			
				突然変異 (5 プレート)	平均生存 細胞数 (3 プレート)	見かけ上の 生存率 (%)	突然変異体 発生率 $\times 10^{-6}$
対照 (培地)	—	—	100.0	4.0	193.7	96.8	4.2
対照 (培地)	—	+	92.4	6.3	179.0	89.6	7.1
検体	30	+	91.1	7.7	182.3	91.2	8.4
	60	+	77.2	3.3	188.7	94.3	3.6
	100	+	55.1	3.3	167.8	83.9	4.0
	200	+	20.3	7.0	168.6	84.3	8.3
	330	+	0	—	—	—	—
陰性対照 (エタノール)	10	—	99.3	4.3	167.4	83.7	5.1
陰性対照 (エタノール)	10	+	96.8	5.0	167	83.5	5.9
陽性対照 (EMS)	200	—	43.1	208.3	138.3	69.2	304.4
陽性対照 (EMS)	100	+	20.5	161	88.1	44.0	376.1

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験の条件下において、遺伝子突然変異誘発能を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

## 2)染色体異常誘発性

### ① ラット骨髓細胞を用いた *In Vivo* 細胞遺伝学的試験

(資料 8-3)

試験機関      ヘイゼルトン研究所  
報告書作成年 1984 年

検体の純度:    %(原体)

供 試 動 物: Sprague-Dawley CD系ラット 1群雌雄各24匹

試 験 方 法: 検体をコーンオイルに溶解し、100、330及び1,000mg/kgの投与濃度で経口挿管法により単回投与した。また、溶媒対照としてコーンオイルを、陽性対照としてシクロホスファミド40mg/kgを投与した。

投与約4、10、22及び46時間後に各群雌雄各6匹に対し 2.0mg/kgのコルヒチンを腹腔内注射し、分裂中期像を得るため有糸分裂を停止させた。コルヒチン注射後約2時間に動物を屠殺し、各動物両側大腿部より骨髓細胞を採取し、固定、染色後スライドグラスにマウントした。

陽性対照群では薬剤投与22時間後にコルヒチン注射、その2時間後に屠殺した。

各時点で各群雌雄別に 300細胞を可能な限り分析し、細胞遺伝学的異常を以下の項目について検索した。

- 1) 染色分体切断 ;断片及び欠失なども含む
- 2) 染色体切断 ;無動原体、欠失及び微小染色体なども含む
- 3) 染色分体及び染色体ギャップ
- 4) 交 換 ;環状染色体、二動原体、転座四放射型及び三放射型
- 5) 10以上の異常を有する細胞
- 6) 細粉化した細胞

用量設定根拠;

結 果: 結果を表1に示した。

本試験ではラットの死亡例は観察されなかったが、予備試験においてみられたのと同様の臨床的毒性徴候を観察した。さらに検体1,000mg/kgを投与した雄では投与22時間後及び46時間後に統計学的に有意な体重減少がみられた。

陰性対照群と比較して検体はどの用量においても、またどの時点においても、染色体または染色分体数の異常を引き起こさなかった。検体による分裂遅延が観察されなかったのので48時間後に屠殺した動物については検査を実施しなかった。モード(検査した分裂中期の細胞数当たりの平均染色体数)に関しても検体投与群と対照群の間に差はなかった。シクロホスファミド投与群では染色体異常を有する細胞及び細胞当たり平均染色体異常数において有意な増加を示し、本試験の有効性が実証された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

以上の結果から、本試験の条件下において検体はラットの骨髄細胞に対して細胞遺伝学的異常を誘発しないと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

② ラットを用いた小核試験

(資料 8-4)

試験機関 モンサント環境衛生研究所  
[GLP 対応]

報告書作成年 1992 年

検体の純度: %(原体)

供試動物: Long-Evans系ラット雌雄 1群5匹

試験方法: Long-Evans系ラット雌雄各群に150、300及び600mg/kg体重の低用量、中用量及び高用量の目標投与量で検体をコーンオイルに溶解または懸濁し、腹腔内投与した。陰性対照群には溶媒(コーンオイル10ml/kg体重)のみを投与し、陽性対照群にはシクロホスファミド(40mg/kg体重)を投与した。

検体投与群及び溶媒対照群のラットから、投与24、48及び72時間後に骨髄を採取した。シクロホスファミド陽性対照群については、投与24時間後の1回のみ骨髄を採取した。骨髄細胞のスライドを各群雌雄各5動物/採取時期で作製し、小核を有する多染色性赤血球(PCE)の出現頻度を計数し、PCE/赤血球比を求めた。

また、検体またはその代謝物が骨髄に達していることを証明するために、放射能標識アラクロールを用いた補足試験を実施した。放射能標識アラクロール約600mg/kgを雄2動物(約48 $\mu$ ci/動物)及び雌2動物(28~30 $\mu$ ci/動物)に投与し、投与8時間後に動物を屠殺し、全血及び大腿骨からの骨髄試料を採取した。試料は、サンプルオキシダイザーで燃焼し、液体シンチレーションカウンターで燃焼試料中の放射能を測定した。

用量設定根拠;

結果: 結果を表1に示した。

臨床観察及び体重; 600mg/kg体重投与群において3例の死亡(雄2/21例、雌1/21例)が認められた。600mg/kg体重投与群以外には死亡例は認められなかった。毒性を示す臨床症状(活気が無い)が150、300及び600mg/kg体重投与群雄及び、300及び600mg/kg体重投与群雌に投与後48時間まで認められた。150mg/kg体重投与群雌は投与後72時間まで、そして対照群の全動物は試験期間を通じて正常であった。

溶媒対照群と比較して統計学的に有意な平均体重の減少が、24時間及び48時間の時点で屠殺した600mg/kg体重投与群雌雄及び72時間の時点で屠殺した600mg/kg体重投与群雄に認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

られた。その他の投与群では統計学的に有意な平均体重の変化は認められなかった。細胞学的検査; 対応する溶媒対照群と比較して、統計学的に有意なPCE/赤血球の比率の減少はいずれの投与群、いずれの屠殺時点においても認められなかった。一方、シクロホスファミドを投与した陽性対照群では、予想される小核PCEの頻度の増加が認められ、試験条件が反応の検出に適していることが確認された。

補足試験; 放射能標識アラクロールを用いた試験の結果は、この小核試験で用いた条件下において検体またはその代謝物が骨髄に達していることを示していた。およそ600mg/kgの用量で放射能標識アラクロールを腹腔内投与し、8時間後に採取した試料において、骨髄中に0.05~0.3μg相当/g 組織の放射能が観察された。全血中濃度は0.18~0.31μg相当/g 組織であった。検体はラット全血とタンパク結合することが別の試験(資料12-22)の結果からも判明しており、従って全血中の値は血漿中の値を過大に示していると考えられる。

表 1 結 果

採取時間 (hr)	薬物	投与量	性別	観察動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE)% (平均値±SD)	
24	陰性対照 (コーンオイル)	10ml/kg	雄	5	0.16±0.11	0.46±0.03	
			雌		0.12±0.08	0.39±0.05	
	検体	150mg/kg	雄	5	0.26±0.26	0.42±0.08	
			雌		0.18±0.16	0.35±0.04	
		300mg/kg	雄	5	0.22±0.27	0.46±0.02	
			雌		0.22±0.19	0.41±0.04	
		600mg/kg	雄	5	0.02±0.05	0.41±0.04	
			雌		0.14±0.11	0.39±0.07	
	陽性対照 (シクロホスファミド)	40mg/kg	雄	5	1.32±0.65**	0.29±0.06**	
			雌		0.74±0.34**	0.32±0.07	
48	陰性対照 (コーンオイル)	10ml/kg	雄	5	0.06±0.09	0.37±0.07	
			雌		0.08±0.08	0.47±0.04	
	検体	150mg/kg	雄	5	0.22±0.08	0.38±0.08	
			雌		0.12±0.16	0.41±0.06	
		300mg/kg	雄	5	0.14±0.17	0.38±0.07	
			雌		0.08±0.08	0.42±0.06	
		600mg/kg	雄	5	0.12±0.13	0.34±0.08	
			雌		0.16±0.11	0.42±0.03	
	72	陰性対照 (コーンオイル)	10ml/kg	雄	5	0.18±0.11	0.41±0.04
				雌		0.20±0.14	0.44±0.07
検体		150mg/kg	雄	5	0.06±0.13	0.38±0.07	
			雌		0.12±0.13	0.46±0.07	
		300mg/kg	雄	5	0.14±0.06	0.40±0.04	
			雌		0.12±0.08	0.43±0.04	
		600mg/kg	雄	5	0.10±0.12	0.35±0.06	
			雌		0.18±0.21	0.44±0.05	

\* p≤0.05; \*\* p≤0.01片側 t-検定による陰性対照群との比較小核を有するPCEの統計解析には平方根で変換したデータを用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

以上の結果から、本試験の条件下において、検体はLong-Evans系ラット雌雄の骨髄細胞中に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

③ マウスを用いた小核試験

(資料 8-8)

試験機関 モンサント環境衛生研究所  
[GLP 対応]

報告書作成年 1995 年

検体の純度: %(原体)

供試動物: CD-1系マウス雄 1群雄5匹、9~10週齢

試験方法: CD-1系マウス雄に、250、500及び1,000mg/kg体重の用量で検体をコーンオイルオイルに溶解し、単回経口投与した。陰性対照群には溶媒(コーンオイル 10ml/kg 体重)のみを投与し、陽性対照群にはシクロホスファミド(40mg/kg 体重)を投与した。検体投与群及び溶媒対照群のマウスから投与24時間及び48時間後に骨髓を採取した。シクロホスファミド陽性対照群については、投与24時間後の1回のみ骨髓を採取した。骨髓細胞のスライドを各群5動物/採取時期で作製し、小核を有する多染性赤血球(PCE)の出現頻度を計数し、PCE/赤血球比を求めた。

用量設定根拠;

結 果:

一般症状及び体重;本試験では、高用量の1,000mg/kgで明らかな毒性の徴候が認められた。1,000mg/kg投与群のマウス15匹のうち1匹が死亡し、3匹は明らかな中毒症状(立毛及び脱糞の減少)を示した。他検体投与群、溶媒対照群及び陽性対照群では、死亡例はなく、臨床的に中毒症状を示す動物は認められなかった。溶媒対照群と比較して、検体投与群及び陽性対照群のマウスの平均体重変化については、統計学的に有意な減少は認められなかった。

細胞学的検査;各検体投与群の平均多染性赤血球数と赤血球数との比率については、統計学的に有意な減少は認められなかった。

小核を有する多染性赤血球(MN PCE)の成績の解析結果、同時に試験した陽性対照群と比較して、各検体投与群の小核を有する多染性赤血球数の平均値について、統計学的に有意な増加は認められなかった。小核を有する多染性赤血球数の平均値は背景データの範囲内を超えることはなかった。シクロホスファミド陽性対照群の小核を有する多染性赤血球の出現頻度は期待通り陽性反応を示し、この試験条件が適切であったことを示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 1 結 果

採取時間 (hr)	薬物	投与量	性別	観察 動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE)% (平均値±SD)
24	陰性対照 (コーンオイル)	10ml/kg	雄	5	0.11±0.04	0.50±0.03
	検体	250mg/kg	雄	5	0.09±0.10	0.54±0.06
		500mg/kg	雄	5	0.06±0.07	0.52±0.05
		1,000mg/kg	雄	5	0.09±0.05	0.55±0.06
	陽性対照 (シクロホスファミド)	40mg/kg	雄	5	1.99±0.78**	0.52±0.05
48	陰性対照 (コーンオイル)	10ml/kg	雄	5	0.12±0.04	0.52±0.06
	検体	250mg/kg	雄	5	0.12±0.08	0.50±0.07
		500mg/kg	雄	5	0.08±0.08	0.52±0.07
		1,000mg/kg	雄	5	0.09±0.05	0.51±0.06

\*  $p \leq 0.05$ ; \*\*  $p \leq 0.01$ 片側 Dunnett検定による陰性対照群との比較。小核を有するPCEの統計解析には、平方根で変換したデータを用いた。

PCE : 多染色赤血球数

NCE : 正染色赤血球数

MNPCE : 多染色赤血球1,000個のうち、小核を有する多染色赤血球数

以上の結果により、本試験の条件下において、検体によるCD-1系マウス雄の骨髓細胞中に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

④ *In Vitro* 染色体異常試験

(資料 8-9)

提出除外申出書作成者  
申出書作成年

日本モンサント株式会社  
2002年

アラクロールについては、*in vitro*、*in vivo*を含め各種の試験方法での遺伝毒性試験が実施されている。これら入手可能な変異原性試験成績、代謝などのメカニズムの考察を含め、発がん性との関連性を総合的に評価し、*in vitro*染色体異常試験の追加提出が必要であるかを考察した。

*In Vitro* 試験(表1-1):*In vitro*においてアラクロールは細菌または哺乳動物細胞に対し、ミクロソーム代謝活性化系(肝及び鼻部嗅部組織のS9画分)の存在下、非存在下を問わず、変異原性を示さなかった。2~3の試験において復帰変異体の軽微な増加が見られたが、増加の程度が低く(バックグラウンドの2倍以内)再現性もなかったことから、生物学的に有意ではないと考えられた。

*In Vitro* 染色体異常試験(表2-1):*In vitro*試験のなかでも染色体異常試験については、国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター変異遺伝部で、日本モンサント株式会社の提供した被験物質アラクロール( )を用いて実施されたものをはじめとする7つの公表文献がある。これらの試験からは上記の*in vitro*変異原性試験と異なり、いずれも陽性の結果が得られている。

S9代謝活性化系の存在下、非存在下を問わず観察されたこれらの反応は、Ashbyら(1996)のアセトクロールに関する論文のP.724に示されている通り、ヒトの末梢リンパ球のようにグルタチオン濃度の低い試験系における塩素の置換メカニズムにより説明することが出来る。クロロアセチル置換基は細胞内のグルタチオン(GSH)のチオール基(-SH)と親和性をもっているが、グルタチオンのような求核物質が欠乏すると塩素の置換によってアラクロールは染色質(クロマチン)のようなタンパクに結合し染色体の構造的異常を生じると考えられる。グルタチオン濃度の高い細胞すなわち肝細胞などではアラクロールがグルタチオン抱合を受け核内タンパクとの反応が防止される。このメカニズムは前述のAshbyら(1996)の研究によって、アラクロールと同じクロロアセトアニリド系化合物であるアセトクロールが*in vitro*で染色体異常を生じるのに対しその脱塩素体では生じないことを示した試験で実証されている。

*In Vivo* 試験(表1-2):アラクロールは、モンサント社製とは異なる性質を持つ被験物質で実施された1つの試験を除き、*in vivo*においてすべての遺伝毒性試験で陰性を示した。DNA損傷を検出する試験(コメットアッセイ)において、アラクロールが発がん性を示す用量(126 mg/kg)で投与したラットの鼻部組織におけるDNA結合性試験が陰性を示したことは最も重要な所見である。同様に発がん性を示す用量で18週にわたってアセトクロールを投与したラットの鼻部組織を用いたコメットアッセイにおいても陰性の結果が得られている。このことはラットの鼻部組織における腫瘍発生のメカニズムが、遺伝毒性によるものでないことを示す重要な証拠を提供している。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

アラクロールの遺伝毒性:以上のことから、アラクロールは*in vivo*において遺伝毒性をもたず、ラットの鼻部、甲状腺、胃において観察された腫瘍が遺伝毒性以外のメカニズムによるものであると結論される。この結論はEUの農薬ラベルにおける分類を検討する作業部会でも支持された。

以上の考察に基づき、*in vitro*におけるアラクロールの染色体異常試験については十分な知見がすでに存在しており、またその目的である発がん性などの関連性の考察に必要な情報はこの試験からは得られないので、本考察と参考文献の提出によって、*in vitro*染色体異常試験成績の追加提出に代わるものとする。

表1-1 アラクロールを用いた遺伝毒性試験

エンドポイント	試験系	結果 <sup>1</sup>		説明 <sup>2</sup>
		-	+	
<i>In vitro</i>				
遺伝子突然変異	細菌, +/- S9, <i>Salmonella typhimurium</i>	4	2	1つの文献(Mirkova, Zaikov, 1986)では <i>Salmonella</i> 菌の TA1538 (-S9)株で陽性の結果が得られたが他の試験では確認されなかった。 1つの文献(Wetmore et al, 1999)では <i>Salmonella</i> 菌の TA100. 株で復帰変異に2倍の増加が認められた。しかし、この結果の明瞭な用量依存性がなく、再現性もなかったため全般的には陰性と考えられた。 陰性:Shirasu et al, 1980(資料8-1), Salamon, Smith, 1976a, Salamon, Smith, 1976b, Kier, Stegeman, 1990.
	CHO 細胞, マウスリンパ腫細胞, +/-S9	1	1	1つの文献(Wetmore et al, 1999)でマウスリンパ腫細胞の突然変異の有意な増加がラットの嗅覚部組織のS9の存在下で認められた。しかしこれは毒性の認められる濃度(相対増殖率8%)でしか観察されなかったため全般的には陰性と考えられた。 陰性:Godek et al, 1984(資料8-2)
染色体異常	CHO/IL細胞、CHO細胞、ヒトリンパ球, +/-S9,		7	染色体異常が <i>in vitro</i> で観察されたが、これはグルタチオン濃度の低い細胞で塩素結合の交換が起こるためと考えられた。
姉妹染色分体交換	ヒトリンパ球, +/-S9		2	Dunkelberg et al, 1994, Ribas et al, 1996.
DNA 損傷	V79 細胞, ラット肝細胞, ヒトリンパ球, +/-S9		2	アルカリ溶出法(Dunkelberg et al, 1994)、コメットアッセイ(Ribas et al, 1995)。

<sup>1</sup> 陰性または陽性の反応を示した試験(文献)数。

<sup>2</sup> 参考文献に出典を示す。申請資料に含まれているものは、資料番号を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表1-2 アラクロールを用いた遺伝毒性試験

エンドポイント	試験系	結果 <sup>1</sup>		説明 <sup>2</sup>
		-	+	
(b) (4)				
染色体異常	ラット	2	1	細胞遺伝学的試験の1例(Georgian et al, 1983)では急性(腹腔内)投与で陽性、慢性(経口)投与で陰性の結果が得られた。しかし、被験物質はモンサント社製と比べ製造法が異なり毒性も高いものを用いていた。 陰性:細胞遺伝学的試験(Farrow, Cortina, 1984(資料8-3)及び小核試験(Kier, 1992(資料8-4)。
	マウス	1		小核試験(Stegeman et al, 1995)
DNA 損傷	ラット	4		不定期DNA合成試験(肝細胞)(Mirsalis, Tyson, 1984(資料8-5))(Hamilton, 1992(資料8-6), アルカリ溶出法(肝細胞)(Taningher et al, 1993), コメットアッセイ(鼻部上皮細胞)(Ashby, Tinwell, Lefevre, 1997)
	マウス	1		アルカリ溶出法(Taningher et al, 1993)
DNA 結合	ラット	1		肝細胞、鼻部上皮細胞(Asbury, Willson, 1994(資料6-5)

<sup>1</sup> 陰性または陽性の反応を示した試験(文献)数。

<sup>2</sup> 参考文献に出典を示す。申請資料に含まれているものは、資料番号を示した。

表 2-1 アラクロールの *In Vitro* 染色体異常試験(添付文献)

試験(被験物質)	試験系	用量	結果	注記	出典
<i>In Vitro</i> 染色体異常 (99.5%、日本モン サント提供)	CHL/IL細胞 マウスS9	24、48時間処理 5, 10, 20 µg/ml 18時間処理 20,40,80µg/ml (±S9)	24、48時間 10, 20 µg/ml で陽性。 18時間 -S9 40µg/ml ± 80µg/ml + +S9 80µg/ml ± いずれも構造 的異常。		染色体異常試験データ集 改訂1998年版 監修 国立医薬品食品衛 生研究所安全性生物試験 研究センター変異遺伝部 部長 祖父尼俊雄 株式会社エルアイシー刊 (1999年)公表文献
<i>In Vitro</i> 染色体異常 (95%原体、台湾 Sinnung社)	CHO 細胞 ラット肝S9	18時間処理 1.25, 2.5, 5, 10, 20 µg/ml (±S9)	10 及び 20 µg/ml で陽性 (用量依存的)。 S9存在下で増 加。ギャップと 切断。		Lin <i>et al</i> , <i>Mutation Res.</i> 188:241-250(1987) 公表文献
<i>In Vitro</i> 染色体異常 (90% 原体、 Dr.Ichim)	ヒトリンパ球	24時間処理: 1, 2, 4, 10, 20, 40 µg/ml	4 µg/ml から 用量依存的に 陽性反応。 ギャップと切 断。	40 µg/mlでは細 胞に激しい損 傷。	Georgian <i>et al</i> , <i>Mutation Res.</i> 116:341-348(1983) 公表文献
<i>In Vitro</i> 染色体異常 (99.4%、 Dr. Ehrenstofer)	ヒト2例の提供 者からの リンパ球	30時間処理: 1, 5, 10,20 µg/mL	20 µg/mL で2 例とも陽性。 染色分体型異 常。		Ribas <i>et al.</i> , <i>Mutagenesis</i> 11(3):221-227(1996) 公表文献

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2-2 アラクロールの *In Vitro* 染色体異常試験(添付文献)

試験(被験物質)	試験系	用量	結果	注記	出典
小核試験 (99.4%, Dr. Ehrenstofer)	ヒト2例の提供者からのリンパ球 S9 Iffa Credoからの動物由来 S9 画分。	48時間処理: 1, 5, 10, 20 µg/mL (-S9) 2時間処理: 40, 80, 160, 320µg/mL (±S9)	48時間処理 1例の提供者で 20 µg/mL において、もう1例では 1 及び 10 µg/mL で陽性。 2時間処理 1例のみで 320 µg/mL (+S9) で陽性。	1例では 20 µg/mL でもう1例では 10 µg/mL で細胞毒性が観察された。(48時間処理)	Ribas <i>et al.</i> , <i>Mutagenesis</i> 11(3):221-227(1996) 公表文献
セントロメア (CM)とキネトコア(KC, 動原体)を識別する2つの方法と2つの染色法(DAPI, May-Grünwald-Giemsa)を用いた小核試験(99.4%, Dr. Ehrenstofer)	3例の提供者からのヒトリンパ球	48時間処理: 5-20 µg/mL	染色法が DAPI の場合、すべての提供者で 10 µg/mL において陽性。	20 µg/mL で細胞毒性。アラクロールは CM 及び KC 陰性の小核のみを誘導したので染色体異常を生じる物質と判定された。	Surrallés <i>et al.</i> , <i>Mutagenesis</i> 10:417-423(1995) 公表文献
ARA-C (DNA 修復阻害剤)を用いた小核試験(99.4%, Dr. Ehrenstofer)	4例の提供者からのヒトリンパ球	1-20 µg/mL 培養開始時(G <sub>0</sub> phase)に処理し 16 時間保持	10 µg/mL (1例目), at 5 µg/mL (2例目), 5 及び 10 µg/mL (3例目)で陽性。	20 µg/mL で細胞毒性。ARA-C の非存在下ではアラクロールの影響は認められなかった。	Surrallés <i>et al.</i> , <i>Mutation Res.</i> , 342:43-59 (1995) 公表文献

## 参考文献

- Asbury, Wilson, 1994. Determination of alachlor derived radioactivity in rat. Monsanto Company. 未発表 (既提出 資料6-5)
- Ashby *et al.*, 1996. Evaluation of the potential carcinogenicity and genetic toxicity to humans of the herbicide acetochlor, *Human & Experimental Toxicology* 15: 702-735
- Ashby, Tinwell, Lefevre, 1997. Comet assay of nasal epithelium from Alpk:Apf SD rats. Monsanto Company. 未発表
- Dunkelberg *et al.*, 1994. Genotoxic effects of the herbicides alachlor, atrazine, pendimethaline and simazine in mammalian cells, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 52:498-504
- Farrow, Cortina, 1984 In Vivo bone marrow chromosome study in rats, Hazleton Laboratories America Monsanto Company. 未発表 (既提出 資料8-3)
- Godek *et al.*, 1984. CHO/HGPRT Mammalian cell forward gene mutation assay. Pharmakon Research, Monsanto Company. 未発表 (既提出 資料8-2)
- Hamilton *et al.*, 1992. Unscheduled DNA synthesis. SRI, Monsanto Company. 未発表 (既提出 資料8-6)
- Hydens *et al.*, 1999. An evaluation of the carcinogenic potential of the herbicide alachlor to man, *Human & experimental Toxicology* 18: 363-391.
- Kier *et al.*, 1992. Rat bone marrow micronucleus assay, Monsanto Company Environmental Health Laboratories. 未発表 (既提出 資料8-4)
- Kier, Stegeman, 1990. Bacterial gene mutation assay (plate incorporation). Monsanto Company Environmental Health Laboratories. 未発表
- Milkova, Zaikov, 1986. Investigation of mutagenic action of alachlor with the microbial test system of Ames, *Khig. Zdraveopay* 29:26-31.
- Mirsalis, Tyson, 1984. Unscheduled DNA synthesis. SRI, Monsanto Company. 未発表 (既提出 資料8-5)
- Ribas *et al.*, 1995. Herbicide-induced DNA damage in human lymphocytes evaluated by the single-cell gel electrophoresis(SCGE) assay. *Mutation Research* 344:41-54.
- Salaman, Smith, 1976a. Bacterial gene mutation assay (rat host mediated). Monsanto Company. 未発表
- Salaman, Smith, 1976b. Bacterial gene mutation assay (rat host mediated). Monsanto Company. 未発表
- Shirasu *et al.*, 1980. アラクロールの細菌を用いた変異原性試験報告. (財)残留農薬研究所、日本モンサント株式会社. 未発表 (既提出 資料8-1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

Stegeman et al, 1995. Micronucleus assay of bone marrow cell from CD-1 mice. Monsanto Company. 未発表

Taningher et al, 1993. Lack of alachlor induced DNA damage as assayed in rodent liver by the alkaline elution test, *Toxicology* 85:117-122.

Wetmore et al, 1999. Evidence of site-specific bioactivation of alachlor in the olfactory mucosa of the Long-Evans rat. *Toxicological Science* 49:202-212.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

### 3) DNA損傷誘発性

#### ① 細菌を用いたDNA修復試験(Rec - Assay)

(資料 8-1)

試験機関 (財)残留農薬研究所  
報告書作成年 1980年

検体の純度: %(分析用標準品)

方法: 枯草菌(*Bacillus Subtilis*)の組換修復機構保持株(H17)と欠損株(M-45)を用い賀田らのRec-Assay法でDNAの損傷の誘発性を検定した。

検体はDMSOに溶解し、20~2,000 $\mu$ g/ディスクの範囲の6濃度で実施した。

用量設定根拠;

試験結果: 結果を次表に示した。

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ディスク)	阻止域(mm)		差(mm)
		M 45	H 17	
対照 (DMSO)		0	0	0
アラクロール	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1,000	<1	<1	<1
	2,000	<1	<1	<1
陰性対照 (Kanamycin)	10	6	5	1
陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	8.5	2	6.5

検体投与群では両株にほとんど生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照として用いた Mitomycin C では、組換修復機構保持株(H17)に比べ修復機構欠損株(M45)に著明な生育阻止帯を生じ、陰性対照として用いた Kanamycin では両株に同程度の育成阻止帯を認めた。

以上の結果より、検体は本試験の条件下においてDNA損傷の誘発性が無いものと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

② ラット肝細胞を用いた *In Vivo-In Vitro* DNA修復過程における不定期DNA合成誘発試験

(資料 8-5)

試験機関        スタンフォード・リサーチ・インシュチュート・インターナショナル  
報告書作成年    1984年

検体の純度:    %(原体)

供試動物: Fischer-344系ラット 1群雄3匹

試験方法: 検体を50、200、1,000mg/kgの投与量で各群3匹の雄ラットに屠殺前2時間または12時間に経口挿管法により投与した。また陰性対照群として3ml/kgのコーンオイルを陽性対照群として50mg/kgの2-アセチルアミノフルオレンをそれぞれ1群2匹の雄ラットに屠殺12時間前に投与した。屠殺時に各ラットから肝細胞を採取した。

DNA修復試験では肝細胞を  $^3\text{H}$ -チミジンを加えた培地で4時間培養し、次に非標識チミジンを含む培地で14~16時間培養した。スライド標本を作成したのち、Kodak NTB-2乳剤に浸漬し、 $-20^\circ\text{C}$ で12~14日間、静置した後現像した。細胞は1%メチルグリーンピロニンYで染色した。

核及び細胞質のトリチウムによって感光したフィルム上のグレイン数を自動グレインカウンターで計数した。計数には、計数を行う核に隣接している細胞質で最も強く標識されている領域の核2つ分の最も高いグレイン数を核で計数したグレイン数から減じて、正味の核の1個あたりのグレイン数を算出した。スライドあたり最低50細胞、動物あたり3スライド、投与時期、群あたり3動物を検査し、各投与時期、用量群あたり 450細胞を評価した。

試験結果の評価にあたっては、正味のグレイン数及び修復細胞の百分比が溶媒(陰性)対照群よりも有意に増加している場合に陽性とした。修復細胞とみなすには核あたりグレイン数5以上とした。

用量設定の根拠;

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

結果:結果を次表に示した。

投与後試料採取時間	薬物	投与量 (mg/kg)	平均グレイン数 (NG) (平均±標準誤差)	平均修復細胞百分率比(%) (平均±標準誤差)
2時間	検体	50	-6.6±0.4	1±0
		200	-2.4±4.6	19±18
		1,000	-2.4±4.6	11±11
12時間	検体	50	-6.5±1.0	3±2
		200	-5.4±0.8	5±2
		1,000	2.1±2.4	35±12
12時間	陰性対照 (コーンオイル)	—	-6.0±1.5	0±0
	陰性対照 (2-アセチルアミノフルオレン)	50	18.7±4.6	82±11

平均グレイン数及び平均修復細胞百分比において、1,000mg/kg/群の屠殺12時間前の投与で対照群に比べ増加が認められた。屠殺12時間前の投与では平均修復細胞百分比に用量反応相関があるように思われる。屠殺2時間前の投与では平均グレイン数は陰性対照群に比べ検体のどの投与でも有意な増加はみられなかった。屠殺2時間前の投与では平均修復細胞百分比は陰性対照群に比べ、やや増加していたが、用量反応相関は明らかでなかった。

屠殺12時間前の投与では1,000mg/kg群で、屠殺2時間前の投与では1,000mg/kg群及び200mg/kg群において、動物間の変動が異常に大きかったことは註記すべきである。この変動の理由は不明である。

陽性対照物質2-アセチルアミノフルオレン投与群は、陰性対照群に対し、平均グレイン数においても、平均修復細胞百分比においても有意な増加を示し、本試験の有効性を実証した。

以上の結果から、検体は *In vivo* - *In vitro* 肝細胞DNA修復試験において微弱な肝細胞DNA損傷誘発性があると判断される。しかし、誘発性が観察されたのは本薬剤の急性経口LD<sub>50</sub>値にほぼ相当する投与量においてであり、動物個体差が大きく、また、用量相関も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

③ アラクロールの *In Vivo* - *In Vitro* の不定期DNA合成及びS-フェーズの合成誘発能

(資料 8-6)

試験機関      スタンフォード・リサーチ・インスティテュート・インターナショナル

[GLP対応]

報告書作成年 1992年

検体の純度:      %(分析用標準品)

供試動物: Fischer-344系ラット 1群雄5匹

試験方法: 検体を50、200、500及び1,000mg/kgの投与量で各群5匹のFischer-344系ラット雄に、屠殺前2時間または12時間に強制経口投与した。陽性対照として、50mg/kgの用量の2-アセチルアミノフルオレンを屠殺前12時間に、また溶媒対照としてコーンオイルを屠殺前2時間または12時間前に投与した。

ラットは約60mg/kgの用量のペントバルビタールナトリウムで麻酔した後、肝臓をコラゲナーゼ溶液で灌流し、肝細胞を分離した。採取した細胞は、2mMのL-グルタミン、硫酸ゲンクマシン50 $\mu$ g/ml及び10%ウシ胎児血清を添加したWilliams培地E(WE培地)を入れた培養皿に播種し、37 $^{\circ}$ C、二酸化炭素5%の加湿状態で1.5-2時間培養した、死細胞を洗浄して除き、 $^3$ H-メチル-チミジンの10 $\mu$ ci/mmolを含むWE培地(比放射能: 約80Ci/mmol)で4時間培養し、ついで非標識チミジン0.25mmolを含むWE培地で14-18時間培養した。

培養細胞を1%クエン酸ナトリウム溶液を用いて膨潤化させた後、1:3 氷酢酸/エタノール溶液で固定した。これをKodak NTB乳剤に浸漬、-20 $^{\circ}$ Cで約7日間露出後現像した。細胞は1%メチルグリーンピロニンYで染色した。

スライドをオートラジオグラフィー処理し、顕微鏡で評価した。評価は形態学的に損傷の認められない100個の細胞についてグレイン数を計数し、核当たりのグレイン数(NG)を求めた。修復細胞(最低5NGのグレイン数を有する細胞)の数の比率(%R)も求めた。各投与群、各動物について少なくとも3つのスライドの計数を行った。また、フェーズ(DNA複製)の細胞を、各動物の3スライドについて1,000個の細胞を計数し、S-フェーズ細胞の比率(%S)を各投与群に対して算出した。

試験は1週間の間隔をおいて、2回実施した。

データの評価基準は下記のとおりであった:

陽性: いずれかの投与群の正味のグレイン数の平均値が0NGを超え、その投与群の修復細胞が20%以上の場合。

陰性: すべての投与群の正味グレイン数が0NGを下回り、修復細胞が20%以下の場合。

その他: 結果が明らかに陽性または陰性の反応を示さなかった場合。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

用量設定の根拠；

結果：2回の検定のUDSデータ評価結果を表1に示した。S-フェーズ合成の評価結果を表2に示した。

*In vivo* のUDSデータの評価基準によれば、すべての検体投与群は陰性である。しかし、屠殺12時間前の1,000mg/kg投与群5匹中2匹に通常の範囲を越えるNG増加が認められた。このことから、標準的基準に基づく結論として、屠殺前12時間投与の1,000mg/kg投与群のUDSは陰性であるが、1,000mg/kgの用量を投与した個々のラットの数例に弱いUDS反応の誘発された可能性があった。

S-フェーズ合成の評価結果は、該当する2時間または12時間溶媒対照群と比較し、全検体投与群及び2-AFF対照群とも有意な増加は認められなかった。

表 1 アラクロールの *In Vivo* - *In Vitro* の不定期DNA合成誘発能の評価総括表

供試薬剤	用量 (mg/kg)	時間	動物数	平均	NG 標準偏差	平均	%IR 標準偏差	平均	NGIR 標準偏差
対照/ コーンオイル		2	3	-9.8	0.7	0	0	-	-
		12	3	-8.0	0.8	1	1	7.5	1.0
2-AFF	50	12	6	15.2	2.2	77	6	18.9	1.8
アラクロール	50	2	5	-7.8	0.7	2	1	9.0	1.2
	50	12	5	-5.9	0.4	2	0	8.4	0.7
	200	2	4	-7.3	0.4	1	0	9.6	2.0
	200	12	5	-5.7	0.3	3	1	8.1	0.3
	500	2	4	-6.4	0.5	3	1	9.0	1.2
	500	12	4	-6.2	0.6	3	0	8.5	0.5
	1,000	2	5	-7.3	0.9	2	1	9.1	0.7
	1,000	12	5	-1.4	1.5	16	5	10.3	0.6

標準偏差は動物個体の変動を示す。

NG : 正味のグレイン数/核

%IR : 制定5NGを有する細胞の比率

NGIR : 正味のグレイン数/修復細胞の核の平均

表 2 Sのフェーズ合成の評価総括表

供試薬剤	用量 (mg/kg)	時間	動物数	%SPS 平均±標準偏差
対照/コーンオイル	0.00	2	3	0.44±0.16
アラクロール	50.00	2	5	0.43±0.12
	200.00	2	4	0.57±0.08
	500.00	2	4	0.54±0.12
	1,000.00	2	5	0.31±0.10
対照/コーンオイル	0.00	12	3	0.40±0.17
2-AFF	50.00	12	5	0.58±0.09
アラクロール	50.00	12	5	0.31±0.08
	200.00	12	5	0.26±0.06
	500.00	12	4	0.35±0.07
	1,000.00	12	5	0.41±0.12

%IR: 制定5NGを有する細胞の比率

標準偏差は動物個体間の変動を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

以上の結果は、標準的基準に基づくと、屠殺前12時間投与の1,000mg/kg投与群のUDSは陰性であると結論できるが、1,000mg/kg体重の用量で投与した個々のラット数例においては、弱いUDS反応が誘発された可能性があることを含んでいた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

④ アラクロールを急性投与したラットにおける肝毒性と細胞増殖に与える影響

(資料 8-7)

試験機関 モンサント環境衛生研究所  
[GLP対応]

報告書作成年 1994年

検体の純度: %(分析用標準品)

供試動物:Fischer-344系ラット;各群雄5匹、10週齢、体重:170.7-229.9g

試験方法:検体をラットに急性投与した後の肝毒性、細胞増殖及び肝臓のグルタチオン濃度への影響を評価する目的で試験を実施した。

コーンオイルに溶解した検体を50、200、500及び1,000mg/kgの用量で強制経口投与し、12時間後に二酸化炭素で安楽死させた。対照群にはコーンオイルのみを与えた。

屠殺時に採血を行い、肝臓を摘出し秤量した後、組織学的検査と肝細胞増殖の検討と、グルタチオン濃度の分析に供した。それぞれの検討に用いた方法は下記によった。

グルタチオンの分析;約1gの肝臓試料を細断、ホモジナイズし、5倍用量の5mMのEDTA、5%のスルホサリチル酸を添加、遠沈し、HPLC法で上澄液の酸化型グルタチオン(GSSG)と還元型グルタチオン(GSH)を測定した(GSSGは再現性のある定量はできなかった)。

血清酵素の分析;後大静脈から採血した試料を遠沈し、得られた血清は分析に供するまで-70℃で保存した。日立717分析機を用い、アラニンアミノトランスフェラーゼ(SGPT/ALT)、アスパルテートアミノトランスフェラーゼ(SGOT/AST)、乳酸脱水素酵素(LDH)を分析した。

病理組織学的検査;組織は固定、洗浄、脱水、パラフィン包埋し、約5ミクロンに薄切りしヘマトキシリン及びエオジンで染色した。予備試験の動物の切片試料は中葉及び後側葉から、本試験の切片試料は中葉、尾状葉、左側葉、右側葉から調製し、鏡検した。

細胞増殖;組織を固定、パラフィン包埋し、約5ミクロンに薄切した。増殖細胞核抗原(PCNA)を検出するためにVectastain Elite ABCキットを用いて染色し、各切片から10視野について検鏡した。

用量設定の根拠;

結果:結果を表1から5に示した。

グルタチオン;GSH濃度;検体を投与したラットの肝臓では10%から56%のGSH濃度の低下が認められた(表1)。

非タンパクスルフィド濃度;GSHと同様に全投与群に低下が認められた(表2)。

血清酵素;1,000mg/kg投与群のALTとASTは統計的に有意な上昇を示し、統計学的に有意ではな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

かったがLDHに大幅な上昇が認められた。500mg/kg以下の群でも血清酵素の上昇が見られたが有意ではなかった(表3)。

細胞増殖; 対照群、50mg/kgの低用量群及び1,000mg/kgの高用量群について検討した結果、標識された細胞/動物の平均値には対照群と投与群に有意な差は認められなかった(表4)。細胞/動物の平均数には、対照群と1,000mg/kg投与群で有意な差は認められたが、この補償性増殖の認められない細胞の数が軽度に減少していたことは細胞毒性に関連するものと考えられた。

組織学的検査; 投与群の肝臓には、用量に応じて極めて軽度、軽度、中等度/重度の顕微鏡的病変が観察された。認められた病変及びその発生率を表5に示す。

本試験の結果を、先に実施した検体をFischer-344系ラット雄に強制経口投与した *In Vivo/In Vitro* のUDS試験(資料8-6)の結果と比較して以下のように考察した。

以前のUDS試験で検体を1,000mg/kgの用量で投与した群に、非常に弱いUDS反応が認められた。500mg/kg以下の用量群ではUDS反応は認められなかったが、動物間に大きな変動が見られた。本試験で認められた肝毒性における個々の動物間の変動、特に血清酵素濃度に関する変動は、先のUDS試験で観察された動物間の変動と一貫している。また、血清酵素濃度の検討で認められた用量反応は、UDS試験で見られた用量反応と極めて類似していた。これらの結果から、検体を1,000mg/kgの用量で投与したFischer-344系ラットに見られた非常に弱いUDS反応は、恐らくは肝毒性に関連するものと考察される。

表 1 GSH濃度

投与群	投与量 mg/kg	GSH:Umole/g湿組織 平均±標準偏差	GSH(対照群比)
対照群	0	2.82±0.50	100
投与群	50	2.53±0.55	90
	200	1.42±0.71	50**
	500	2.21±0.82	78
	1,000	1.23±1.01	44*

\* p<0.05 Student t-検定、両側検定

\*\* p<0.01 Student t-検定、両側検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表 2 非タンパクスルフヒドリル濃度

投与群	投与量 mg/kg	スルフヒドリル:Umole/g湿組織 平均± 標準偏差	スルフヒドリル (対照群比)
対照群	0	4.44±0.94	100
投与群	50	3.11±0.41	70*
	200	2.32±0.43	53**
	500	2.87±1.19	65*
	1,000	1.62±1.22	36**

\* p<0.05 Student t-検定、両側検定

\*\* p<0.01 Student t-検定、両側検定

表 3 血清酵素 (単位はIU/l)

投与群	投与量 mg/kg	SGPT/ALT <sup>a</sup>		SGOT/AST <sup>b</sup>		LDH <sup>c</sup>	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
対照群	0	59	23	108	37	211	169
投与群	50	70	43	127	55	377	359
	200	44	21	89	32	129	138
	500	211	131	347	240	429	435
	1,000	5,800**	5,327	7,437**	6,039	6,928	3,623

\*\* p≤0.01 Mann-whitney 検定

a: ノンパラメトリック ; p≤0.05、用量に関し、陽性の線形相関

b: ノンパラメトリック ; p≤0.05、用量に関し、陽性の線形相関

c: ノンパラメトリック

表 4 細胞増殖 (単位はIU/l)

投与群	投与量 mg/kg	標識細胞/動物		標識細胞/動物	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差
対照群	0	0.70	0.39	92.7	6.51
投与群	50	0.93	0.19	93.1	3.11
	1,000	0.48	0.28	83.5*	4.98

\* p<0.05 Dunnett 検定



表 5 病理組織学的所見の発生頻度

所 見		対照群	50mg/kg	200mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg
左側葉: 中心小葉	剖検動物数	7	5	5	5	5
	肝細胞空胞化	4	4	5	1	2
	うっ血/出血	0	0	0	0	3*
	細胞質の好酸球増加	0	0	0	0	3*
	肝細胞変性/壊死	0	0	0	0	3*
中葉: 中心小葉	剖検動物数	6	5	5	5	5
	肝細胞空胞化	3	5	4	1	0
	肝細胞変性/壊死	0	0	0	4*	3
	うっ血/出血	0	0	0	3	3
	炎症	0	0	0	5*	3
	細胞質の好酸球増加	0	0	0	4	2
	うっ血/出血	0	0	0	0	2
全葉	肝細胞変性/壊死	0	0	0	0	2
	剖検動物数	7	5	5	5	5
	肝細胞空胞化	1	5**	4*	0	0
右側葉: 中心小葉	細胞質の好酸球増加	0	0	0	3*	2
	肝細胞変性/壊死	0	0	0	2	4*
	炎症	0	0	0	2	2
	肝細胞肥大	0	0	0	4**	1
	うっ血/出血	0	0	0	0	1
全葉	細胞質の好酸球増加	0	0	0	0	2
	肝細胞変性/壊死	0	0	0	0	1
	剖検動物数	6	5	5	5	5
	肝細胞空胞化	2	3	1	0	1
尾状葉: 中心小葉	細胞質の好酸球増加	0	0	0	1	2
	肝細胞変性/壊死	0	0	0	1	1
	炎症	0	0	0	1	0
	うっ血/出血	0	0	0	1	2
	肝細胞肥大	0	0	0	1	1

\*  $p \leq 0.05$  Fisher直接法

\*\*  $p \leq 0.01$  Fisher直接法