

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(7) 90日間反復経口毒性

① ラットを用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験

(資料 15)

試験機関:

報告書作成年: 1982年

検体の純度: %

試験動物: Fisher344系ラット, 1群雌雄各20匹, 開始時5週齢,

体重 雄: 105~120g, 雌: 83~94g

試験期間: 3ヶ月 (1982年1月22日~4月23日)

投与方法: 検体を0, 100, 500及び2500ppmの濃度で飼料に混入し, 3ヶ月にわたって随時摂食させた。粉立ち防止のため, オリーブ油を2%飼料に添加した。検体を混入した飼料は隔週1回調製した。

投与量設定根拠: 1群雌雄各10匹を用い0, 1000, 5000, 10000及び50000ppmの投与濃度で4週間投与試験(本報告書に添付)を実施した。その結果,

① 1000ppmでは死亡例はなく, 肝と腎重量及び対体重比が増加した以外は明らかな毒性発現はみられなかった。

② 5000ppmでは生存率が30%に低下したほか, 体重変化, 摂餌量, 肝と腎実重量及び対体重比の各項目とも明らかな毒性発現がみられた。

以上の結果より, 本試験の最高投与濃度は5000ppmの1/2とし, 以下公比5で合計3用量を設定した。

試験項目及び結果:

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。

2500ppm投与群で, 雄の1例と雌の数例に立毛及び瘦削がみられた。その他の動物では検体投与による影響は認められなかった。

いずれの群においても死亡例はなかった。

体重変化: 毎週1回, 全ての生存動物の体重を測定した。

2500ppm投与群雌雄及び500ppm投与群雌で統計学的に有意な体重の増加抑制が認められた。その他の投与群では検体投与に伴う変化はなかった。

摂餌量及び食餌効率: 全動物の摂餌量を週1回測定し, 食餌効率も算出した。

2500ppm投与群で, 雌は全期間を通じて摂餌量が少なかったのに対し, 雄では投与後3週までは少なかったが投与後6週からは多い傾向を示した。食餌効率は雄の2500ppm投与群, 雌の500ppm以上投与群で低かった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

検体摂取量：摂餌量及び投与濃度から算出した1日あたりの平均検体摂取量を下記の表に示す。

投与量 (ppm)		100	500	2500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	7.00	35.9	183
	雌	7.84	40.2	157

飲水量：各群雌雄 10 匹ずつを対象として、投与後 1、6 及び 12 週時に測定した。

雄は検体投与量に比例して多い傾向を示した。雌では 2500ppm 投与群で投与後 1 週時で少なかったほかは変化がなかった。

血液学的検査：投与後 13 週時に各群雌雄 10 匹ずつを対象として、開腹後腹部大動脈から採血し、白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、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) 及び血小板数 (PLT) を測定した。また、血液塗抹標本を鏡検することにより白血球百分率を求めた。

下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

測定項目	性別 投与群	雄			雌		
		100ppm	500ppm	2500ppm	100ppm	500ppm	2500ppm
RBC				↓89	↓96	↓93	↓77
HGB				↓94			↓87
HCT				↓92		↓96	↓85
MCV				↑103	↑103	↑104	↑111
MCH				↑106	↑103	↑106	↑112
MCHC				↑103		↑102	↑101
WBC						↓79	

Student の t-検定 ↑↓ : P<0.05 ↑↑ : P<0.01 ↑↓↓ : P<0.001

2500ppm 投与群雌雄において HCT、HGB 及び RBC の減少が認められ貧血傾向が示唆されたほか、雌の 500ppm 投与群でも HCT 及び RBC がわずかに低かった。これ以外の変動は、対照群との差が小さく、いずれも正常範囲内のものであると考えられた。

血液生化学検査：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 GOT、GPT、総蛋白、LDH (血漿)、アルブミン、アルカリホスファターゼ (ALP)、総ビリルビン、総コレステロール、カルシウム、無機リン、血糖、尿素窒素、尿酸、ナトリウム、カリウム及び塩素を測定した。

下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

測定項目	性別 投与群	雄			雌		
		100ppm	500ppm	2500ppm	100ppm	500ppm	2500ppm
GOT		↑146	↑183				
GPT		↑165	↑293				
総蛋白			↑106		↑105		↓92
LDH		↑181	↑186		↑128		
アルブミン		↑105	↑110	↑108	↑162	↑102	
ALP		↓87	↓78	↓65			↑137
総ビリルビン			↓84			↓79	↓64
総コレステロール			↑126	↑125			↓84
カルシウム			↑109		↑105	↑104	
無機リン		↓86	↓86	↓81	↑120		↑132
血糖				↓89			
尿素窒素							↑159
尿酸					↓87	↓73	
カリウム				↑104			

Student の t-検定 ↑↓: P<0.05 ↑↓: P<0.01 ↑↓: P<0.001

雄では 2500 及び 500ppm 投与群で総コレステロールの増加が認められた。雌では 2500ppm 投与群に ALP 及び尿素窒素の増加が認められた。

雄の 500 及び 100ppm 投与群に GOT、GPT 及び LDH の増加が認められたが、個体による変動が大きく、また 2500ppm 群では増加していないことから、偶発的な変化と考えられた。また全投与群に ALP の減少が認められたが、雌では増加していることから、毒性学的意義はないものと考えられた。

雌の 2500 及び 500ppm 投与群で総ビリルビンが減少したが、毒性学的意義はないものと考えられた。

その他の変動は、変動量がわずかであること、用量との関連性がみられないことから、偶発的なものと考えられた。

尿検査：投与後 13 週時に、各群雌雄 10 匹ずつを対象として尿量、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン及び比重を検査した。

雄の 2500ppm 投与群及び雌の 500ppm 以上の投与群で、酸性尿の個体がわずかに増加したほかケトン体が増加した。補足試験（資料 29）結果より、ケトン体試験紙での陽性反応は、検体の代謝物による偽陽性反応であると示唆された。これ以外には検体の影響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剖検後、脳、心、肺、肝、腎、脾、精巣及び卵巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

以下に対照群と比して、統計学的有意差の認められた項目を表記する。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性別	雄			雌		
	100	500	2500	100	500	2500
体重			↓89		↓92	↓71
脳 重量		↓98	↓94		↓97	↓89
対体重比	↓96		↑106		↑105	↑126
心 重量			↓88		↓92	↓73
対体重比	↓96	↓95				↑104
肺 重量			↓94			↓77
対体重比			↑106		↑106	↑110
肝 重量	↑110	↑122	↑124	↑108	↑110	98
対体重比	↑107	↑122	↑139	↑109	↑119	↑139
腎 重量	↑108	↑115	↑114	↑105		↓86
対体重比	↑105	↑115	↑128	↑106	↑110	↑122
脾 重量	↑107		↓92	↑105		↓79
対体重比	↑104	↑104		↑106	↑105	↑111
精巣 重量	↑102		↑106	/	/	/
対体重比			↑119	/	/	/
卵巢 重量	/	/	/	↑115		↓65
対体重比	/	/	/	↑115	↑110	

Student の t-検定 ↑↓: P<0.05 ↑↑: P<0.01 ↑↑↑: P<0.001

全投与群雌雄の肝重量および全投与群雄の腎重量が対体重比の増加を伴って増加し、検体の投与によるものと考えられた。

2500ppm 投与群雄の精巣重量の増加は、病理所見が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

2500ppm 投与群雌雄及び500ppm 群雌で認められたその他の変化は、体重増加抑制を反映したのと考えられた。これ以外の変動は用量関連性がなく、病理所見も認められなかったことから、偶発的なものと考えられた。

肉眼的病理検査：試験終了時の全生存動物を対象として検査を行った。

雌の2500ppm 投与群で子宮の萎縮が認められた。

その他の所見はいずれも自然発生的な変化と考えられた。

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、重量測定臓器を含む脊髄、眼、下垂体、唾液腺、胸腺、甲状腺、副甲状腺、肺と付属した気管支、気管、食道、胃、大腸、小腸、副腎、膵臓、膀胱、大動脈、前立腺、子宮体部及び頸管、リンパ節、大腿骨、大腿筋、皮膚、坐骨神経及び乳腺について病理標本を作成し、検鏡した。

認められた主な所見を下表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性別	雄				雌			
	0	100	500	2500	0	100	500	2500
投与用量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
肝臓 肝細胞の脂肪変性	0	3	8**	9***	0	0	0	0
膵臓 膵実質の萎縮・線維化	0	0	0	0	0	0	0	6*
子宮 内膜と筋層の萎縮	-	-	-	-	0	0	1	20***
卵巣 黄体数の減少	-	-	-	-	0	0	0	10***

Fisher 検定 * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

雌の2500ppm投与群において、子宮の内膜と筋層の軽い萎縮が全例にみられたほか、半数例に黄体形成不全による黄体数の減少が認められた。さらに膵実質の萎縮と線維化が数例で局所的に認められた。これらの変化は著しい体重増加抑制が関連しているものとも考えられた。

一方、雄では検体投与と関連して軽度な肝細胞脂肪変性がみられた以外特記すべき変化はなかった。

その他に認められたいずれの変化も対照群とほぼ同じ頻度であることから、自然発生的なものと考えられた。

以上の結果から、2500ppm投与群雌雄に体重増加抑制及び摂餌量の減少、RBC、HGB及びHCTの減少、肝重量増加、雄に総コレステロールの増加および腎重量の増加、雌にALP及び尿素窒素の増加が認められた。病理組織学的所見としては、雄に肝細胞の脂肪変性、雌に膵臓の膵実質の萎縮と線維化、子宮の内膜と筋層の萎縮及び卵巣に黄体数減少が認められた。

500ppm投与群では、雌雄に肝重量増加、雄に総コレステロールの増加、腎重量の増加および肝細胞の脂肪変性、雌に体重増加抑制、RBC及びHCTの減少が認められた。

100ppm群投与群では雌雄に肝重量の増加、雄に腎重量の増加が認められた。

したがって、本試験における無毒性量は100ppm（雄7.00mg/kg/日、雌7.84mg/kg/日）より低いものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

② マウスを用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験

(資料 16)

試験機関：
報告書作成年：1982年

検体の純度： %

試験動物：B6C3F₁系マウス，1群雌雄各20匹，開始時5週齢

体重 雄：19.1～24.4g、雌：16.1～19.2g

試験期間：3ヶ月（1982年1月16日～4月17日）

投与方法：検体を0、100、500及び2500ppmの濃度で飼料に混入し、3ヶ月にわたって随時摂食させた。粉立ち防止のため、オリーブ油を2%飼料に添加した。検体を混入した飼料は隔週1回調製した。

投与量設定根拠：1群雌雄各10匹を用い0、1000、5000、10000及び50000ppmの投与濃度で

4週間投与試験（本報告書に添付）を実施した。その結果、

① 1000ppmでは死亡例はなく、肝実重量及び対体重比が増加した以外は明らかな毒性発現はみられなかった。

② 5000ppmでは生存率は雄90%、雌100%であったが、体重変化、摂餌量、肝と腎実重量及び対体重比の各項目とも明らかな毒性発現がみられた。

以上の結果より、本試験の最高投与濃度は5000ppmの1/2とし、以下公比5で合計3用量を設定した。

試験項目及び結果：

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。

試験期間中、一般状態に投与による変化は認められなかった。2500ppm投与群で雌雄各1匹が死亡した（雄は死因不明、雌は事故死）。

体重変化：毎週1回、全ての生存動物の体重を測定した。

2500ppm投与群雌雄で統計学的に有意な体重増加抑制が認められた。また、500ppm投与群雌では試験終了時の体重が対照群よりわずかに高かった。

摂餌量及び食餌効率：全動物の摂餌量を週1回測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量は2500ppm投与群雌で有意に減少したが、500ppm投与群雌雄では増加した。

2500ppm投与群雄および100ppm群雌雄では変化は認められなかった。食餌効率は2500ppm群雌雄で統計学的に有意に減少した。

検体摂取量：摂餌量及び投与濃度から算出した1日あたりの平均検体摂取量を下記の表に示す。

投与量 (ppm)		100	500	2500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	17.6	90.3	480
	雌	23.7	121	571

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

飲水量：各群雌雄 9~10 匹ずつを対象として、投与後 1、6 及び 12 週時に測定した。

2500ppm 投与群雌雄で減少したほかは変化がなかった。

血液学的検査：投与後 13 週時に各群雌雄 9~10 匹ずつを対象として、開腹後腹部大動脈から採血し、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)及び血小板数(PLT)を測定した。また、血液塗抹標本を検鏡することにより白血球百分率を求めた。

下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

測定項目 性別	雄			雌			
	投与群	100ppm	500ppm	2500ppm	100ppm	500ppm	2500ppm
RBC				↓94		↓98	↓95
HGB		↑105	↑107	↑104			↓97
MCV			↑102	↑104	↑101	↑103	↑104
MCH		↑107	↑109	↑110	↑102	↑102	↑102
MCHC		↑107	↑107	↑106			↓98

Student の t-検定 ↑↓ : P<0.05 ↑↑ : P<0.01 ↑↓ : P<0.001

2500ppm 投与群雌雄において RBC の減少が認められた。これ以外の変動は、対照群との差が小さく、いずれも正常範囲内のものであると考えられた。

血液生化学検査：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 GOT、GPT、総蛋白、アルブミン、アルカリホスファターゼ(ALP)、総コレステロール、カルシウム、血糖、尿素窒素、尿酸を測定した。

下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

測定項目 性別	雄			雌			
	投与群	100ppm	500ppm	2500ppm	100ppm	500ppm	2500ppm
総蛋白					↓98	↓98	
アルブミン				↑103	↓97		↓97
ALP				↑135			↑146
総コレステロール				↑115			
尿素窒素				↑139			
尿酸							↑130

Student の t-検定 ↑↓ : P<0.05 ↑↑ : P<0.01 ↑↓ : P<0.001

2500ppm 投与群雌雄に ALP の増加、雄に総コレステロール及び尿素窒素の増加が認められた。これ以外の変動は、用量関連性がなく、わずかな変動であることから、いずれも偶発的なものと考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

尿検査：投与後13週時に、各群雌雄9～10匹ずつを対象として、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン及びビリルビンを検査した。

2500ppm投与群雌雄で酸性尿及びケトン体高値、雄で蛋白及びウロビリノーゲンの増加を示す個体数が増加した。500ppm投与群雌雄でケトン体高値を示す個体の増加が認められた。補足試験（資料29）結果より、ケトン体試験紙での陽性反応は、検体の代謝物による偽陽性反応であると示唆された。また、雄に認められた蛋白とウロビリノーゲンの増加については、関連する病理所見が認められないことから、毒性学的な意味はないものと考えられた。

これ以外には検体の影響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後、脳、心、肺、肝、腎、脾、精巣及び卵巣の重量を測定した。また対体重比も算出した。

以下に対照群と比して統計学的有意差の認められた項目を表記する。

性別	雄			雌			
	投与群 (ppm)	100	500	2500	100	500	2500
体重				↓85		↑106	↓88
脳 重量				↓98			↓92
対体重比				↑113		↓93	↑104
心 重量							↓92
対体重比				↑115			
肺 重量				↓94			↓88
対体重比				↑110	↓94	↓93	
肝 重量		↑110	↑107	↑109	↑115	↑107	
対体重比		↑110	↑126	↑104	↑108	↑120	
腎 重量							↓92
対体重比				↑112			
脾 重量					↑129		
対体重比				↑117	↑113	↑112	
精巣 重量				/	/	/	
対体重比				↑113	/	/	/
卵巣 重量	/	/	/				↓47
対体重比	/	/	/				↓50

Student の t-検定 ↑↓: ↑↓: P<0.05 ↑↓: P<0.01 ↑↓: P<0.001

2500及び500ppm投与群雌雄に対体重比の増加を伴う肝臓の重量増加が認められた。また、2500ppm投与群雌に卵巣の重量低下が認められた。

2500ppm投与群でこの他にみられた変動は、病理組織学的所見が認められないことから、体重増加抑制を反映したものと考えられた。500及び100ppm群においてこの

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

他に認められた変動は、変動がわずかであること、用量関連性がないこと及び病理組織学的所見も認められなかったことから、偶発的な変動と考えられた。

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検査を行った。

認められた所見はいずれも自然発生的な変化と考えられた。なお、投与後1週時に死亡した雄(1例)は、肺にうっ血と骨髄の色素沈着を認めた以外器質的な変化はみられず、死因は明らかではなかった。

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、重量測定臓器を含む食道、脊髄、眼、唾液腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、大腸、膵、膀胱、前立腺、子宮体部及び頸管、リンパ節、骨格筋、坐骨神経、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、肺と付属した気管支、気管、副腎、大動脈、大腿骨、皮膚、乳腺、胆嚢及び骨髄について病理標本作製し、検鏡した。

認められた主な所見を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	100	500	2500	0	100	500	2500
投与用量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
肝臓 肝細胞核の大小不同性	0	2	6*	19***	0	1	4	18***
卵巣 黄体数の減少	-	-	-	-	0	0	0	18***

Fisher 検定 * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

雌雄とも500ppm以上の投与群で、肝細胞核の大小不同性が増加し、検体の影響が示唆されたが、病変の程度から可逆性の変化とみなされた。また、雌の2500ppm投与群では卵巣に軽度の黄体数減少がみられ、投与の影響と考えられたが、体重増加抑制が著しいことが関連しているものとも考えられた。その他に認められた変化は、いずれも自然発生的なものと考えられた。

以上の結果から、2500ppm投与群雌雄に体重増加抑制、摂餌量の低下(雌)、食餌効率の低下、RBCの減少、ALPの増加、総コレステロール及び尿素窒素の増加(雄)、肝重量の増加、卵巣重量の減少(雌)、肝細胞核の大小不同性の増加及び卵巣の黄体減少(雌)が認められた。

500ppm投与群雌雄に肝臓の重量増加および肝細胞核大小不同性の増加が認められた。

したがって、無毒性量は100ppm(雄17.6mg/kg/日、雌23.7mg/kg/日)と考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

③ イヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

試験未実施

省略の理由：

本検体のイヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験は、(1) および (2) の試験成績から 90 日間のイヌへの毒性が評価可能であるため、試験実施を省略した。具体的な理由は以下の通りである。

(1) イヌ 1 年間反復経口投与毒性試験の予備試験として、28 日間反復経口毒性試験 (資料 14) を、一群雌雄各 2 匹を用いて、0、10、50 および 250mg/kg/日の用量で実施した。その結果、全ての検査項目において投与による影響は認められなかった。

(2) (1) の試験結果をもとにイヌ 1 年間反復経口投与毒性試験 (資料 18) を 0、1、15、250 および 1000mg/kg/日の用量で実施した結果、15mg/kg/日以上 of 投与群で肝重量の増加、250mg/kg/日以上 of 投与群で赤血球系諸項目値の減少および皮膚/皮下組織に化膿性肉芽腫性皮膚炎が認められ、無毒性量は 1mg/kg/日であった。

したがって、これらイヌの反復経口投与毒性試験成績より 90 日間反復経口投与毒性は評価可能であると考えられ、90 日間投与した場合の無毒性量を以下の通り推定する。

下表に両試験で得られた結果を示した。

投与量 (mg/kg/日)	1	10	15	50	250	1000
28 日間投与試験	-	NE	-	NE	NE	-
1 年間投与試験	NE	-	肝重量増加	-	皮膚炎 赤血球関連項目への影響 肝重量増加	皮膚炎 赤血球関連項目への影響 肝重量増加

- : 実施せず、NE : 影響なし

両試験の結果を考え合わせると、本検体をイヌに 90 日間投与した場合の無毒性量は、1mg/kg/日以上になると推定される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(8) 反復経口投与神経毒性

(資料 17)

試験未実施

90日間反復経口毒性試験で神経毒性に関連する観察項目を網羅していると考えられ、その他長期試験も含め神経毒性を示す所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから試験は実施しなかった。

下記に、90日間反復経口毒性試験での神経毒性に関連する観察内容の概要、及び、反復経口投与急性神経毒性に対する総合考察を記載する。

1. ラットの90日間反復経口投与毒性試験(毒性資料15)

- (1) 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、神経系および異常行動」については、試験実施機関のSOPではこれらの項目について調査を行うこととなり何らかの所見があればレポートに記載されることになっている。これらの項目についてレポートへの記載はなく、詳細な状態の観察項目に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考える。
- (2) 病理組織学的検査項目:脳、坐骨神経、骨格筋、脊髄、眼球および付属器に関して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。
- (3) その他の検査項目:脳重量、眼科学的検査に関して、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。

2. その他長期試験

ラットを用いた慢性毒性・発がん性試験(毒性資料19)、マウスを用いた発がん性試験(毒性資料20)、イヌを用いた慢性毒性試験(毒性資料18)、ラットを用いた繁殖試験(毒性資料21)にて、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報告されていない。

以上より、反復投与神経毒性に関連する観察項目は網羅していると考えられ、反復経口投与による神経毒性を示す所見はなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(9) 28日間反復投与遅発性神経毒性

13生産第3986号「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）の運用についての「3. 試験成績の除外について」（2）⑬の規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

・有効成分がリン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。

(10) 一年間反復経口投与及び発がん性試験

①イヌを用いたカプセル経口投与による慢性毒性試験

(資料 18)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1998 年

検体の純度: %

試験動物: ビーグル犬、1群雌雄各4頭、最高用量群のみ雌雄各2頭、

投与開始時約7カ月齢

投与開始時体重 ♂: 5.7~10.3 kg、♀: 6.1~7.5 kg

試験期間: 投与期間52週間(1996年5月13日~1997年5月11日)

投与方法: 最近時の各動物の体重に基づいて秤量した検体をゼラチンカプセルに充填し、1群雌雄各4頭の3投与群に1、15及び250 mg/kg/日、さらに雌雄各2頭の群に1000 mg/kg/日の用量で1日1回連続52週間経口投与した。対照群雌雄各4頭には空カプセルを同様に投与した。

投与量設定根拠: 10、50及び250 mg/kg/日の用量で28日間経口投与した予備試験(資料14)において、体重、摂餌量、血液学的及び血液生化学的検査項目に影響がみられなかった。したがって、上記試験結果とADI(許容1日摂取量)値及びラットの慢性/発がん性併合試験(資料19)を考慮して、本試験の用量を1、15及び250 mg/kg/日に設定した。さらに、28日間投与予備試験(資料14)において250 mg/kg/日までの用量で悪影響がなかったため、安全域を規定するため、1000 mg/kg/日を追加した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 臨床症状検査、死亡及び瀕死状態の確認を1日2回実施した。全身の身体検査を毎週1回行い、さらに、試験30週時点ですべての動物を1日1回触診し、リンパ節肥大の有無を検査した。

投与に関連した死亡はなかった。1mg/kg/日投与群の雌1頭が、投与89日目に偶発的に死亡した。肉眼的および病理組織学的所見は内側頸部領域からの内出血による死亡であり、死亡の2日前に実施した採血操作に関連するものと判断された。

投与15週以降、250mg/kg/日群で痂皮形成、創傷、赤色化のような他の皮膚変化、並びに被毛の希薄化および四肢の腫脹あるいは出血を伴う、趾間の隆起物が認められ、その後徐々に15あるいは1000mg/kg/日群でも発現した。1mg/kg/日群でも同様の隆起物が投与46週に観察された。これらは、顕微鏡検査で足裏および趾間の皮膚で化膿性肉芽腫性皮膚炎の所見が見られたことから、おそらく、投与動物の糞に接触したことにより局所刺激を引き起こしたものと考えられた。

いずれの投与群にも検体の経口投与による臨床症状への影響は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

体重変化；投与開始前日に1回、投与期間中は投与13週まで毎週1回、その後は4週間に1回、さらに剖検の1~2日前及び剖検日に体重を測定した。
体重に対する検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。
検体投与の影響は認められなかった。

血液学的検査；全動物について、投与開始前、投与第4、13、26、39及び52週に、一夜絶食後頸静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (HGB)、ヘマトクリット (HCT)、赤血球指数 [平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)]、血小板数 (PLT)、白血球分画 (相対値及び絶対値)、細胞形態学的検査、網状赤血球数 (RETIC)

以下に統計学的に有意差の認められた項目を表に示す。

性別	雄							
	250				1000			
投与量 (mg/kg/日)								
検査時期 (週)	13	26	39	52	13	26	39	52
白血球		↑ 165	↑ 165	↑ 197	156	118	144	187
赤血球					94	82	82	84
ヘモグロビン	↓ 85	↓ 83	↓ 82	↓ 82	91	79	76	77
ヘマトクリット	↓ 86	↓ 84		↓ 84	95	78	78	80
血小板				↑ 151	149	158	146	153
好塩基球:相対値		↓ 33			33	33	50	33
好中球:絶対値			↑ 174	↑ 220	182	125	152	210
単球:絶対値		↑ 196	↑ 250	↑ 233	175	131	220	214
巨大未分化細胞:絶対値	↑ 275	↑ 200	↑ 233		238	200	267	260

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnnett または Dunn 検定)。

1000mg/kg/日投与群は動物数が2頭のため統計解析を実施しなかった。

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性別	雌									
	15		250				1000			
投与量 (mg/kg/日)										
検査時期 (週)	39	52	13	26	39	52	13	26	39	52
白血球			↑144	↑216	↑224	↑176	115	152	257	112
赤血球							99	90	89	80
ヘモグロビン							92	84	80	85
ヘマトクリット				↓87			93	84	82	80
血小板	↑153				↑185		151	154	190	118
好中球:相対値				↑117	↑121	↑111	97	109	121	87
リンパ球:相対値	↓81			↓64	↓61	↓74	102	71	54	128
好塩基球:相対値		↓60				↓60	50	25	33	60
好中球:絶対値			↑158	↑255	↑275	↑196	114	166	313	101
単球:絶対値				↑236		↑173	138	243	427	135
巨大未分化細胞: 絶対値			↑162				123	192	575	150

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnnett または Dunn 検定)。

1000mg/kg/日投与群は動物数が2頭のため統計解析を実施しなかった。

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

250 及び 1000 mg/kg/日投与群雌雄において、雄では投与 4 週以降、雌では投与 26 週以降、赤血球系諸項目 (RBC、HGB、HCT) に軽度の低下がみられた。白血球、好中球、単球及び巨大未分化細胞が増加し、対照群との差は時に統計学的に有意となった。これらの白血球系項目の変化は皮膚の炎症に関連していると考えられた。また、雌の 15mg/kg/日投与群も含めて血小板の増加が認められたが、経時的な関連性がないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

血液凝固系検査；血液学的検査と同時に採取した血液を用い、以下の項目の測定を行った。

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

検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液化学的検査；血液学的検査と同時に採取した血液を用い、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、無機リン (PHOS)、グルコース (GLUC)、尿素窒素 (UREAN)、クレアチニン (CRE-S)、ガンマグルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、総コレステロール (CHOL)、総ビリルビン (BIL-T)、総蛋白 (TP)、アルブミン (ALB)、グロブリン (計算値) (GLOB)、A/G 比、カルシウム (CA)、塩化物 (CL-S)、カリウム (K-S)、ナトリウム (NA-S)、トリグリセリド (TRIG)

以下に統計学的に有意差の認められた項目を表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性別	雄									
	15					250				
投与量 (mg/kg/日)										
検査時期 (週)	4	13	26	39	52	4	13	26	39	52
GGT						↓73				
総ビリルビン						↓71				
塩素			↓94							
アルブミン								↓81	↓81	↓79
グロブリン								↑132	↑131	↑150
A/G比								↓64	↓67	↓55
クレアチニン									↓81	
ALP										↑186
総たんぱく										↑113

性別	雄				
	1000				
投与量 (mg/kg/日)					
検査時期 (週)	4	13	26	39	52
GGT	55	50	40	40	40
総ビリルビン	96	120	125	119	119
塩素	103	94	97	95	95
アルブミン	90	90	75	74	74
グロブリン	112	132	155	150	150
A/G比	77	67	45	56	56
クレアチニン	102	95	82	78	78
ALP	87	82	106	117	117
総タンパク	100	113	114	115	115

性別	雌										
	1	15					250				
投与量 (mg/kg/日)											
検査時期 (週)	13	4	13	26	39	52	4	13	26	39	52
AST	↑ 131										
トリグリセリド	↓66		↓ 58								
グロブリン					↑138			↑119	↑152	↑152	↑143
A/G比					↓73			↓73	↓54	↓64	↓62
クレアチニン									↓83		
アルブミン				↓88	↓88	↓85			↓82	↓88	↓88
総たんぱく									↑113	↑116	
尿素窒素										↓68	
ナトリウム						↓98					

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnnett または Dunn 検定)

1000mg/kg/日投与群は動物数が2頭のため統計解析を実施しなかった。

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性別	雄				
	1000				
投与量 (mg/kg/日)	1000				
検査時期 (週)	4	13	26	39	52
AST	100	131	94	94	94
トリグリセリド	129	62	73	73	73
グロブリン	114	110	130	130	130
A/G 比	80	82	69	69	69
クレアチニン	83	79	71	71	71
アルブミン	97	91	85	85	85
総タンパク	104	102	105	105	105
尿素窒素	114	92	86	86	86
ナトリウム	103	99	100	100	100

1000mg/kg/日投与群は動物数が2頭のため統計解析を実施しなかった。

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

検体投与に関連した変化は認められなかった。

グロブリンの増加、アルブミンおよび A/G 比の減少は皮膚の炎症に関連しているものと考えられた。

尿検査： 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

尿量 (VOL)、性状 (色調及び外観)、比重 (SG)、グルコース (GLUC)、ビリルビン (BIL)、ケトン体 (KET)、塩化物 (CL-U)、亜硝酸塩 (NIT)、潜血、pH、蛋白、ウロビリノーゲン (UBG)、ナトリウム (NA-U)、カリウム (K-U)、沈渣の顕微鏡検査

軽度のケトン体尿が 15、250 あるいは 1000 mg/kg/日投与群では投与 4 週以降全例に、1 mg/kg/日投与群でも投与 13 週以降ごく軽微に認められた。補足試験 (資料 29) 結果より、ケトン体試験紙での陽性反応は、検体の代謝物による偽陽性反応であると示唆された。

眼科学的検査：全動物について、投与開始前に 1 回、投与 26、39 及び 52 週に検眼鏡 (倒像検眼鏡) 検査及びスリットランプ検査を実施した。

15mg/kg/日以上投与群 4 頭 (15、250 および 1000mg/kg/日群でそれぞれ雄 1 頭、雌雄各 1 頭、雄 1 頭) において、26 週に角膜の白濁が認められた。これらの変化は 39 週でも認められたが、52 週にはかすかな癒痕が残る程度であった。影響のみられた動物数が少なく、用量および投与期間に関連するものではなかったことから、検体投与による変化とは考えられなかった。

臓器重量：全動物について下記の臓器を摘出し、脂肪を除去した後に重量を測定した。両側性

の臓器は合わせて重量を測定した。絶対及び相対（対最終体重比及び対最終脳重量比）臓器重量を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺（気管を含む）、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、子宮

以下に、統計学的有意差の認められた項目を表に示す。

性別		雄			雌	
投与量 (mg/kg/日)		15	250	1000	250	1000
肝	絶対重量		↑ 129	143		126
	相対重量					
	体重比	↑ 115	↑ 127	142		142
	脳重量比		↑ 130	142	↑ 124	124

Dunnett 検定 ↑ ↓ : p < 0.05

1000mg/kg/日投与群は動物数が2頭のため統計解析を実施しなかった。数値は対照群に対する変動率 (%) を示す。

250 及び 1000 mg/kg/日投与群雌雄、15mg/kg/日投与群雄で、肝重量（絶対ないし相対）が増加した。

この他にはいずれの投与群においても、検体による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；すべての動物について剖検を行った。

以下に統計学的有意差の認められた項目を表に示す。

性別		雄					雌				
投与群 (mg/kg/日)		0	1	15	250	100	0	1	15	250	100
臓器	所見/検査動物数	4	4	4	4	2	4	4	4	4	2
リンパ節	腫大	0	1	2	4*	2	0	0	3	4*	2
	硬化	0	0	0	4*	2	0	0	1	2	2
皮膚及び皮下組織	膨隆	0	0	2	4*	2	0	0	3	4*	2

* : p < 0.05 統計検定 : Fisher 直接確率検定

1000mg/kg/日投与群は動物数が2頭のため統計解析を実施しなかった。

15、250 あるいは 1000 mg/kg/日の用量で、皮膚及び皮下組織（足裏及び趾間の皮膚隆起）ならびに前肩甲骨、膝窩及び腸骨リンパ節（腫大）に肉眼的変化が認められた。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、大動脈（胸部）、脳（大脳皮質、中脳、小脳及び髄質）、盲腸、結腸、精巣上体、食道、眼球、大腿骨及び骨髄、胆嚢、心臓、腎臓、肝臓（2葉のサンプル）、肺（気管支を含む、2葉）、リンパ節（下顎、腸間膜）、乳腺（鼠径部）、視神経、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

卵巣、直腸、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺（下顎）、坐骨神経、骨格筋、皮膚及び皮下組織（鼠径部）、十二指腸、回腸、空腸、脊髄（中胸部、頸部及び腰部）、脾臓、胸骨及び骨髄、胃（噴門部、底部、幽門部）、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮（角及び体部）、膾、すべての肉眼的異常／腫瘍、動物識別部、

検査結果（主な病変）の表を次頁に示す。

足裏及び趾間部分の皮膚において、ケラチンと思われる薄い褐色物質の沈着を伴った化膿性肉芽腫性皮膚炎が、15 mg/kg/日投与群の数頭ならびに 250 及び 1000 mg/kg/日投与群の全頭で認められた。これらの変化は投与動物の糞にこれらの部分が接触したことによる局所刺激性作用に起因するものと考えられた。皮膚及び皮下組織のその他の所見は、表皮過形成、正常角化あるいは不全角化角質増殖、皮膚線維症および軽度のリンパ球形質細胞性炎症などであったが、これらは、投与による直接作用ではなく、むしろ慢性炎症に伴う二次的なものと考えられた。

その他の所見は、肺、リンパ節及び副腎で認められた。

肺では、化膿性肉芽腫が 250 mg/kg/日投与群の 3 頭及び 1000 mg/kg/日投与群の 2 頭で認められた。炎症は化膿性肉芽腫性皮膚炎の異常部位と同様、薄い褐色物質の沈着に集中しており、動物が四肢を舐めたときにケラチンを吸入したことによる二次的な影響と考えられた。

リンパ節では、過形成および化膿性肉芽腫性リンパ節炎が全ての投与群動物の膝窩、前肩甲骨および腸骨リンパ節で見られたが、検体の直接作用によるものではなく、化膿性肉芽腫性皮膚炎に伴う二次的なものと考えられた。

その他の所見は、偶発的な変化と考えられた。

以上の結果から、1000 及び 250 mg/kg/日投与群雌雄での赤血球系諸項目値の減少、肝臓重量の増加、皮膚/皮下組織に化膿性肉芽腫性皮膚炎が認められた。15 mg/kg/日投与群では雄に肝臓重量の増加が認められた。

したがって、無毒性量は雄 1 mg/kg/日、雌 15mg/kg/日と考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

病理組織学的検査結果（主な病変）

性別		雄					雌				
投与群 (mg/kg/日)		0	1	15	250	1000	0	1	15	250	1000
臓器	所見/ 検査動物数	4	4	4	4	2	4	4	4	4	2
肝臓	炎症	0	1	2	3	1	1	2	1	3	2
肺	化膿性肉芽腫	0	0	0	3	1	0	0	0	0	1
	間質性肺炎	4	4	3	4	2	4	2	2	3	2
	気管支肺炎	2	1	1	3	1	0	2	1	1	1
リンパ節	化膿性肉芽腫性 リンパ節炎	0/1	0/2	1/3	3	2	0/0	0/2	3/3	1	2
	過形成	0/1	1/2	1/3	4	2	0/0	1/2	3/3	4	2
皮膚/ 皮下組織	化膿性肉芽腫 皮膚炎	0	0	2	4*	2	0	0	3	4*	2
	角質増殖	0	0	1	2	0	0	0	1	0	0
	表皮過形成	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
下垂体	嚢胞	4	0*	1	3	0	2	2	1	2	1

* : $p < 0.05$

統計検定 : Fisher 直接確率検定

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

② ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験

(資料 19)

試験機関：
報告書作成年：1985年

検体の純度： %

試験動物：Fisher344系ラット，1群雌雄各70匹（その他1群雌雄各10匹を予備として試験終了時迄飼育したが、検査実施せず。）、開始時5週齢

体重：体重 雄：83～105g、雌：71～89g

投与後52及び78週時に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

試験期間：24ヶ月（1982年6月14日～1984年6月11日）

投与方法：検体を0、3、30及び300ppmの濃度で飼料に混入し、24ヶ月にわたって随時摂食させた。粉立ち防止のため、オリーブ油を2%飼料に添加した。検体を混入した飼料は2週間に1回調製した。

投与量設定根拠：一群雌雄各20匹を用いて、0、100、500及び2500ppmの濃度で混餌飼料を3ヶ月間与えた試験の結果（資料20）を参考にした。この試験では全群で肝臓および腎臓の重量増加が認められたことから、本試験では最高投与量を300ppmとし、以下公比10として30及び3ppmを設定した。

試験項目及び結果：

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。

瘦削、皮下及び腹腔内の腫瘍、眼球の混濁、脱毛、運動不活発等の症状が対照群を含む全群に観察されたが、いずれも発生率は低く投与によるものとは考えられなかった。

試験終了時の死亡率（%）を以下に示す。

投与群 (ppm)	0	3	30	300
雄	21.6	8.1	27.4	26.1
雌	24.4	29.0	26.1	13.0

雌雄とも死亡率の低い群が各1群ずつあったが、これを含め全ての群とも本試験機関における背景死亡率の範囲内にあり、投与による影響はなかった。

体重変化：投与開始から26週間は週1回、その後は2週間に1回全ての生存動物の体重を測定した。

300ppm投与群雌雄で試験期間を通じて統計学的に有意な体重増加抑制が認められた。また、30ppm投与群雌では28～74週の間対照群より平均体重がわずかに大きかった。それ以外の投与群では、対照群との間に差はなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率：全動物の摂餌量を週1回測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量は投与52週まで300ppm投与群雌雄ならびに30ppm投与群雌で対照群に比して多かったが、それ以降は散発的に多い週がみられたものの殆んど差はなかった。食餌効率は300ppm投与群雌雄で対照群より低かった。それ以外の投与群では、摂餌量及び食餌効率とも対照群との間に差はなかった。

検体摂取量：摂餌量及び投与濃度から算出した1日あたりの平均検体摂取量は以下の通りである。

投与量 (ppm)		3	30	300
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.193	1.95	21.5
	雌	0.203	2.01	21.1

飲水量：投与後1、13、26、52及び78週時に、各群雌雄9～10匹について測定した。

いずれの投与群とも、測定したすべての時期で対照群と差がなく、検体による影響はなかった。

血液学的検査：投与後52、78及び104週時に各群雌雄9～10匹ずつを対象として、開腹後腹部大動脈から採血し、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)及び血小板数(PLT)を測定した。また、血液塗抹標本を鏡検することにより白血球百分率を求めた。

下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別	雄								
	3ppm			30ppm			300ppm		
用量	52	78	104	52	78	104	52	78	104
測定項目/週									
RBC	↓98			↓96			↓96	↓95	
HGB				↓97				↓95	
HCT				↓95			↓96	↓93	
MCHC	↑101	↑102		↑102	↑102	↑103		↑102	↑102
PLT			↓82			↓79			

性別	雌								
	3ppm			30ppm			300ppm		
用量	52	78	104	52	78	104	52	78	104
測定項目/週									
RBC							↓95	↓95	↓89
MCV				↑101	↑102		↑104	↑106	↑104
MCH		↑102		↑102	↑102		↑105	↑106	↑105
MCHC	↑101			↑101			↑101		
PLT							↓92		↑113

Student の t-検定 ↑↓ : P<0.05 ↓↓ : P<0.01 ↓↓ : P<0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

雄の 300 及び 30ppm 投与群で、RBC、HGB 及び HCT が減少した。雌の 300ppm 投与群で RBC が減少し、MCV 及び MCH が増加した。

300ppm 投与群雌、30 及び 3ppm 投与群雄に認められた PLT の変動は用量関連性がなく、また、変動に一貫性がないことから、投与による変動とは考えられなかった。

この他の有意差は変動がわずかであることから、生理的変動の範囲内であると考えられた。

血液生化学検査：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 GOT、GPT、総蛋白、LDH (血漿)、アルブミン、アルカリホスファターゼ (ALP)、総ビリルビン (T-BIL)、総コレステロール (CHOL)、カルシウム、無機リン、血糖、尿素窒素、尿酸、クレアチニン (CRE)、ナトリウム、カリウム及び塩素を測定した。

下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別 用量	雄								
	3ppm			30ppm			300ppm		
測定項目/週	52	78	104	52	78	104	52	78	104
GOT									↑137
GPT							↑190		
総蛋白			↓95					↓95	↓90
LDH									
アルブミン								↓97	↓93
ALP		↓89	↑124		↓88			↓91	
T-BIL							↓92	↓91	
CHOL			↓61					↑132	
カルシウム									
無機リン			↓89			↓83			
血糖						↑132			
尿素窒素									
尿酸			↓81			↓69			
ナトリウム							↓99		
カリウム									

Student の t-検定 ↑↓ : P<0.05 ↓↓ : P<0.01 ↑↓ : P<0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

性別	雌								
	3ppm			30ppm			300ppm		
用量	52	78	104	52	78	104	52	78	104
測定項目/週									
GOT							↓75	↓77	
GPT		↑153						↓82	
総蛋白							↑105		
LDH					↓74			↓67	↓33
アルブミン	↑105			↑105	↓97		↑111		
ALP				↓85			↓84	↓79	
T-BIL		↓87			↓92		↓88	↓91	
CHOL								↑118	
カルシウム		↓97			↓97			↓97	
無機リン					↓72				
血糖		↑113						↑103	
尿素窒素					↓78			↓79	
尿酸				↓88			↓67	↓85	
CRE	↓94			↓89				↑106	
ナトリウム									
カリウム							↓89	↓97	

Student の t-検定 ↑ ↓ : P < 0.05 ↑ ↓ : P < 0.01 ↑ ↓ : P < 0.001

雄では 300ppm 投与群で GOT、GPT 及び CHOL が増加し、総蛋白が減少した。全投与群 78 週で認められた ALP の減少は対照群の値 (75 ± 8) が背景データ (62 ± 7) より大きかったことによるもので検体による影響とは考えられなかった。

雌では 300 ないし 30ppm 投与群に尿酸、尿素窒素、GOT、GPT、LDH 及び ALP が減少したが、毒性学的な意義はないと考えられた。78 週的全投与群で認められたビリルビンの減少は、対照群の値 (0.53 ± 0.03) が背景データ (0.45 ± 0.07) よりも大きかったことによるもので検体による影響とは考えられなかった。

これ以外の有意差は変動に用量関連性がみられず、経時的な一貫性もみられないことから、投与による変動とは考えられなかった。

尿検査：投与後 52、78 及び 104 週時に各群雌雄 9~10 匹ずつを対象として、尿量、色調、混濁、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン及び比重を検査した。

300ppm 投与群雌雄の 52 週にケトン体およびビリルビン陽性動物数の増加ならびに比重の増加が認められた。同群 78 週では、雌雄にケトン体、雌にビリルビン陽性動物の増加が認められたが、いずれの項目もその変動は軽微で、104 週には対照群と同等であった。30ppm 投与群雌の 52 週にビリルビン陽性動物数の増加及び比重の増加が認められた。

補足試験 (資料 29) 結果より、ケトン体試験紙での陽性反応は、検体の代謝物による

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

偽陽性反応であると示唆された。この他に検体の影響は認められなかった。

臓器重量:投与後52及び78週時の中間屠殺動物と試験終了時の生存動物を対象として剖検後、脳、心、肺、肝、腎、副腎、脾、精巣及び卵巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

以下に対照群と比して、統計学的有意差の認められた項目を表記する。

性別	雄								
	3ppm			30ppm			300ppm		
用量	52	78	104	52	78	104	52	78	104
臓器/週									
体重		↑106			↑108				↓91
脳 実重量									↓97
対体重比		↓95			↓94				↑107
心 実重量		↑108							
対体重比					↓95		↓94		↑108
肺 実重量									
対体重比									↑110
肝 実重量							↑120	↑127	↑113
対体重比							↑118	↑123	↑125
腎 実重量							↑111	↑119	↑116
対体重比							↑109	↑115	↑129
脾 実重量				↑110	↑115		↑115	↑130	
対体重比							↑113	↑126	
精巣 実重量									↓75
対体重比									
性別	雌								
体重					↑109		↓94		
脳 実重量									↓98
対体重比					↓91				
心 実重量			↑106				↓94		
対体重比				↓95					
肺 実重量									
対体重比					↓86		↑106		
肝 実重量							↑108	↑109	
対体重比							↑115	↑108	
腎 実重量									
対体重比							↑106		
副腎 実重量		↑108	↑112						
対体重比							↑112		
脾 実重量			↑165		↑107		↑116		
対体重比	↑106		↑168				↑122		

Student の t-検定 ↑ ↓ : P < 0.05 ↑↓ : P < 0.01 ↑↓↓ : P < 0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

雄は 300ppm 投与群で各検査時期において、肝及び腎重量が対体重比の増加を伴って増加した。また、同群 52 及び 78 週の脾臓で対体重比の増加を伴った重量の増加、30ppm 投与群 52 及び 78 週で実重量の増加もみられたが、104 週ではいずれの投与群にも統計学的に有意な差は認められなかった。

雌では 300ppm 投与群の 52 及び 78 週で肝重量の増加、52 週時では脾重量の増加が認められた。

300ppm 群でみられたこの他の変動は体重増加抑制を反映したものと考えられた。

この他散見された有意差は偶発的なもので投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査：投与後 52 及び 78 週時の中間屠殺動物、試験終了時の生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。

検体投与によると考えられる所見は認められなかった。各検査時期において、対照群を含め雌雄とも胸腺の軽い萎縮が高頻度で観察されたほか、腎の小結節性変化や下垂体の肥大等がみられたが、いずれも自然発生的な変化であった。

病理組織学的検査：投与後 52 週時の中間屠殺動物、試験終了時の生存動物及び途中死亡動物を対象として、重量測定臓器を含む下垂体、脊髄、眼、唾液腺、胸腺、甲状腺、肺に付属した気管支、気管、食道、胃、大腸、小腸、膵、膀胱、前立腺、子宮体部及び頸管、頸部及び腸間膜リンパ節、大腿筋、皮膚、坐骨神経、乳腺及び肉眼的病変部について病理標本作製し、検鏡した。

主な非腫瘍性病変および腫瘍性病変の発生率を以下の表に示した。

非腫瘍性病変： 48 頁～51 頁

腫瘍性病変： 52 頁～57 頁

非腫瘍性病変

52 週の間屠殺動物では、300ppm 投与群雄の肝臓に脂肪変性、延髄上部の硝子体沈着例の増加が認められた。

試験終了時に屠殺した動物及び途中死亡した動物では、300ppm 投与群雄に慢性腎症の病変の増強が観察されたが、これは体重増加抑制等の影響により自然発生病変が二次的に軽い亢進を示した結果と考えられた。また、同群雌雄の肝臓に小肉芽巣、雄に脂肪変性が認められた。その他認められた変化はいずれも対照群にほぼ同等にみられたことから、自然発生的または加齢による変化であり検体投与に起因するとは考えられなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

腫瘍性病変

投与群で認められたいずれの腫瘍性病変も対照群との間に発生率の差はなく、また早期化を示すことはなかった。

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次表のとおりであり、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		対照	3	30	300	対照	3	30	300
検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
腫瘍数	良 性	90	96	101	92	39	36	45	36
	悪 性	12	7	10	12	13	17	15	11
腫瘍総数		102	103	111	104	52	53	60	47
腫瘍動物数		49	50	50	50	37	33	41	32

本試験結果を要約すると次の通りであった。

投与レベル (ppm)	試験結果要旨
3	検体投与に起因する変化なし
30	血液学的検査値の一部変動 (RBC, HGB, HCT 減少) (雄) 尿中のビリルビン陽性動物数の増加、比重の増加 (雌) 脾重量増加 (雄)
300	体重増加抑制及び食餌効率減少 血液学的及び血液生化学的検査値変動 尿中のビリルビン陽性動物数の増加、比重の増加 肝、腎 (雄)、脾重量増加 慢性腎症の病変増強 (雄)、肝臓の脂肪変性増加 (雄) 及び小肉芽巣増加

以上の結果から、本検体のラットを用いた2年慢性毒性/発がん性併合試験における無毒性量は、雌雄ともに3ppm(雄:0.193mg/kg/日、雌:0.203mg/kg/日)であると判断した。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変（中間屠殺52週 計画屠殺動物） (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	9	10	10	10	10	10	10	10
52週	腎臓	石灰沈着	1	2	1	4	10	10	10	10
		色素沈着	4	3	2	7	2	5	0	2
		再生上皮	6	7	10	9	1	0	0	0
		蛋白様円柱	8	7	10	9	0	0	0	2
	胸腺	萎縮	7	10	10	9	10	9	10	10
	肝臓	脂肪変性	1	1	2	8**	0	1	0	0
		胆管増生	6	6	6	6	0	1	0	0
	脾臓	色素沈着	9	10	10	10	10	10	10	10
	脳	延髄上部内硝子体	1	0	4	6*	1	1	1	1

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表2 非腫瘍性病変 (中間屠殺 52 週+主群 104 週 死亡・切迫屠殺動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300	
	臓器	所見/動物数	13	3	13	14	13	16	16	5	
死亡	肺	肉芽性炎	0	0	0	0	1	1	3	5**	
	腎臓	慢性腎症	2	0	4	10**	3	4	3	0	
		線維化	5	0	0	9	1	0	0	0	
		色素沈着	5	1	8	11	12	12	11	2	
		再生上皮の出現	7	2	5	11	4	2	1	1	
		石灰沈着	1	0	2	3	13	16	15	5	
		蛋白様円柱	13	2	12	11	10	14	9	4	
	副腎	皮質内空胞	12	3	11	12	9	13	11	3	
	切迫屠殺	肝臓	脂肪変性	8	1	7	10	7	10	10	2
			色素沈着	1	1	1	0	2	4	5	0
肝細胞壊死			1	1	1	1	3	5	5	1	
小肉芽巣			1	0	0	1	1	2	3	1	
小胆管増生			9	2	11	11	2	4	2	5	
殺	脾臓	色素沈着	8	0	10	8	4	9	10	0	
		萎縮	2	0	2	2	1	2	1	0	
動物	甲状腺	C細胞増生	1	1	1	1	1	0	1	0	
	精巣	萎縮	5	0	4	6	-	-	-	-	
		精子形成低下	6	3	13	11	-	-	-	-	
	卵巣	色素沈着	-	-	-	-	13	16	11	5	
下垂体	下垂体	色素沈着	5	0	7	6	7	8	7	2	
		血管腔拡張	6	0	9	9	9	10	14	3	

Fisher 検定 *: p<0.05、 **: p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表3 非腫瘍性病変 (主群 104 週 最終屠殺動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	38	47	37	36	37	34	34	45
最終屠殺動物	肺	肉芽性炎	1	0	0	0	0	0	0	0
	胸腺	萎縮	37	47	37	35	36	33	34	43
	腎臓	慢性腎症	18	14	16	30**	4	8	4	3
		線維化	22	11	11	25	0	0	0	2
		色素沈着	35	40	33	33	30	30	32	36
		再生上皮	36	44	36	35	19	19	20	29
		石灰沈着	1	4	6	4	31	33	34	41
		蛋白様円柱	38	47	37	36	35	33	32	41
	副腎	皮質内空胞	22	18	26	28	29	29	28	24
	肝臓	脂肪変性	24	36	28	31	33	28	28	38
		色素沈着	0	0	2	3	4	2	1	7
		肝細胞壊死	0	0	0	0	2	3	2	1
		小肉芽巣	3	4	4	10*	13	15	15	26*
		小胆管増生	33	45	35	32	3	0	1	2
	脾臓	色素沈着	36	45	34	33	36	28	31	41
		萎縮	0	0	0	0	1	1	0	2
	脳	延髄上部内硝子体	35	39	31	28	31	28	25	34
	甲状腺	C細胞増生	7	4	8	1	6	9	10	6
	精巣	萎縮	5	1	2	4	-	-	-	-
		精子形成低下	36	47	37	36	-	-	-	-
	卵巣	色素沈着	-	-	-	-	37	33	34	43
	下垂体	色素沈着	7	10	16	13	15	17	16	21
		前葉の増生	3	7	5	2	4	5	5	0
血管腔拡張		16	13	20	16	28	17	28	31	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表4 非腫瘍性病変 (中間屠殺 52 週+主群 104 週 全動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	肺	肉芽性炎	1	0	0	0	1	1	3	5
	胸腺	萎縮	57	60	59	58	59	58	59	56
	腎臓	慢性腎症	20	14	20	40**	7	12	7	3
		線維化	28	11	11	37	1	0	0	2
		色素沈着	44	44	43	51	44	47	43	40
		再生上皮	49	53	51	55	24	21	21	30
		石灰沈着	3	6	9	11*	54	59	59	56
		蛋白様円柱	59	56	59	56	45	47	39	47
	副腎	皮質内空胞	43	31	47	50	38	42	39	27
	肝臓	脂肪変性	33	38	37	49**	40	39	38	40
		色素沈着	1	1	3	4	6	6	6	7
		肝細胞壊死	1	1	1	1	5	8	7	2
		小肉芽巣	4	4	4	14**	16	23	22	33**
		小胆管増生	48	53	52	49	5	5	3	7
	脾臓	色素沈着	53	55	54	51	50	47	51	51
		萎縮	2	0	2	2	2	3	1	2
	脳	延髄上部内硝子体	41	41	44	42	39	39	30	37
	甲状腺	C細胞増生	8	5	9	2	7	9	11	6
	精巣	萎縮	10	2	8	12	-	-	-	-
		精子形成低下	44	51	52	49	-	-	-	-
	卵巣	色素沈着	-	-	-	-	50	49	45	48
	下垂体	色素沈着	12	10	23	19	22	25	24	24
		前葉の増生	6	7	5	4	7	6	7	1
血管腔拡張		22	13	30	25	38	27	44	38	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表5 腫瘍性病変 (中間屠殺52週 全動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
52週	腎臓	脂肪腫 (b)	0	0	0	0	0	0	1	0
	中枢神経系	星状膠細胞腫 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0
	甲状腺	嚢胞腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1
	子宮	腺癌 (m)	-	-	-	-	1	0	0	0

Fisher 検定 * : p<0.05, ** : p<0.01

表6 腫瘍性病変 (主群104週 死亡・切迫屠殺動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	12	3	13	14	13	16	16	5
104週 死亡・ 切迫 屠殺	肺	腺腫 (b)	0	0	1	0	1	0	0	0
		骨腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腎臓	脂肪腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0
		腺癌 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0
		腎芽腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	副腎	褐色細胞腫 (b)	2	0	1	0	0	0	1	0
	脾臓	悪性リンパ腫 (m)	4	2	3	4	9	7	5	3
		血管肉腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	島細胞	島細胞腺腫 (b)	1	0	2	0	0	0	1	0
	中枢神経系	悪性膠腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	小腸	腺腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	リンパ節	悪性リンパ腫 (m)	0	1	0	1	0	0	1	0
	甲状腺	C細胞腺腫 (b)	1	0	1	0	1	0	0	0
		腺癌 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0

Fisher 検定 * : p<0.05, ** : p<0.01

(b) : 良性 (m) : 悪性

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 6 腫瘍性病変 (主群 104 週 死亡・切迫屠殺動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	12	3	13	14	13	16	16	5
104 週	皮膚/皮下	線維腫 (b)	0	1	1	2	0	0	0	0
		角化棘細胞腫 (b)	0	0	3	2	1	0	0	0
		悪性線維性組織球腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	1
	精巣	間質細胞腫 (b)	6	3	10	8	-	-	-	-
死亡・切迫屠殺	子宮	子宮内膜間質ポリープ (b)	-	-	-	-	0	1	0	2
	乳腺	線維腺腫 (b)	0	0	0	0	0	3	1	0
		嚢胞腺腫 (b)	0	0	0	0	1	1	0	0
	下垂体	腺腫 (b)	6	0	9	9	4	7	6	1
		平滑筋腫 (b)	0	0	0	0	0	0	1	0
		腺癌 (m)	0	0	0	0	0	1	1	0
		漏斗腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	骨	骨肉腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱	移行上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0
	原発部位特定できず	中皮腫 (m)	0	0	1	1	0	0	0	0

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

(b) : 良性 (m) : 悪性

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表7 腫瘍性病変（主群 104週 最終屠殺動物）（ラット）

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	38	47	37	36	37	34	34	45
104週 最終 屠殺	肺	腺腫 (b)	1	2	0	0	0	0	0	1
	胸腺	悪性リンパ腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	腺腫 (b)	1	0	0	2	0	0	0	0
		脂肪腫 (b)	0	1	1	0	0	1	0	0
		腺癌 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
		腎芽腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫 (b)	4	4	3	2	1	0	1	1
		神経芽細胞腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	血管腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0
		肝細胞腺腫 (b)	0	1	0	0	1	0	0	0
		血管肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
		肝細胞癌 (m)	1	1	0	1	0	0	0	0
	脾臓	悪性リンパ腫 (m)	1	2	2	2	1	6	4	2
	膵臓	腺腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
	島細胞	島細胞腺腫 (b)	5	7	5	0	1	0	3	1
	中枢神経系	悪性膠腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	胃	乳頭腫 (b)	0	2	0	0	0	1	0	0
	大腸	悪性線維性組織球腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	C細胞腺腫 (b)	5	6	3	4	5	4	2	2
		腺腫 (b)	1	2	2	2	0	0	0	1
腺癌 (m)		2	1	0	0	0	1	0	0	
皮膚/皮下	線維腫 (b)	2	2	1	3	0	0	1	1	
	角化棘細胞腫 (b)	1	2	2	1	2	2	0	0	
	良性基底細胞腫瘍 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	線維粘液腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0	
精巣	間質細胞腫 (b)	35	46	35	34	-	-	-	-	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01 (b) : 良性腫瘍 (m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表7 腫瘍性病変（主群 104週 最終屠殺動物） (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	38	47	37	36	37	34	34	45
104週 最終屠殺	子宮	子宮内膜間質ポリープ (b)	-	-	-	-	3	2	2	2
		平滑筋腫 (b)	-	-	-	-	0	1	0	0
	乳腺	線維腺腫 (b)	1	1	0	2	3	1	2	2
		嚢胞腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌 (m)	0	0	0	0	0	1	3	0
	下垂体	腺腫 (b)	17	13	18	18	15	11	23	20
	骨	骨腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	膀胱	乳頭腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0
	筋肉	神経鞘腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0
	原発部位特定できず	中皮腫 (m)	0	0	1	2	0	0	0	0

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

(b) : 良性腫瘍 (m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 8 腫瘍性病変 (中間屠殺 52 週+主群 104 週 全動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	肺	腺腫 (b)	1	2	1	0	1	0	0	1
		骨腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	0	1	0
	胸腺	悪性リンパ腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	腺腫 (b)	1	0	0	2	0	0	0	0
		脂肪腫 (b)	0	1	1	1	0	1	1	0
		腺癌 (m)	0	0	0	1	1	0	0	0
		腎芽腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	1
	副腎	褐色細胞腫 (b)	6	4	4	2	1	0	2	1
		神経芽細胞腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	血管腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0
		肝細胞腺腫 (b)	0	1	0	0	1	0	0	0
		血管肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
		肝細胞癌 (m)	1	1	0	1	0	0	0	0
	脾臓	悪性リンパ腫 (m)	5	4	5	6	10	13	9	5
		血管肉腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	膵臓	腺腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
	島細胞	島細胞腺腫 (b)	6	7	7	0	1	0	4	1
	中枢神経系	星状膠細胞腫 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性膠腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	1
胃	乳頭腫 (b)	0	2	0	0	0	1	0	0	
小腸	腺腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0	
大腸	悪性線維性組織球腫 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1	
リンパ節	悪性リンパ腫 (m)	0	1	0	1	0	0	1	0	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

(b) : 良性腫瘍 (m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 8 (つづき) 腫瘍性病変 (中間屠殺 52 週+主群 104 週 全動物) (ラット)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	甲状腺	C 細胞腺腫 (b)	6	6	4	4	6	4	2	2
		腺腫 (b)	1	2	2	2	0	0	0	1
		嚢胞腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌 (m)	2	1	1	0	0	1	0	0
	皮膚/皮下	線維腫 (b)	2	3	2	5	0	0	1	1
		角化棘細胞腫 (b)	1	2	5	3	3	2	0	0
		悪性線維性組織球腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	1
		良性基底細胞腫瘍 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維粘液腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
	精巣	間質細胞腫 (b)	41	49	45	42	-	-	-	-
	子宮	子宮内膜間質ポリープ (b)	-	-	-	-	3	3	2	4
		平滑筋腫 (b)	-	-	-	-	0	1	0	0
	乳腺	線維腺腫 (b)	1	1	0	2	3	4	3	2
		嚢胞腺腫 (b)	0	0	0	0	1	1	0	1
		腺癌 (m)	0	0	0	0	0	1	3	0
	下垂体	平滑筋腫 (b)	0	0	0	0	0	0	1	0
		腺腫 (b)	23	13	27	27	19	18	29	21
		腺癌	0	0	0	0	0	1	1	0
		漏斗腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	骨	骨腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
		骨肉腫 (m)	1	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱	乳頭腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	0
		移行上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0
筋肉	神経鞘腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0	
原発部位特定できず	中皮腫 (m)	0	0	2	3	0	0	0	0	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

(b) : 良性腫瘍

(m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

③ マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験

(資料 20)

試験機関：

報告書作成年：1985年

検体の純度： %

試験動物：B6C3F₁系マウス，1群雌雄各70匹，開始時5週齢

体重：体重 雄：19.6～25.0g、雌：15.5～19.8g

投与後52及び78週時に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

試験期間：24ヶ月（1982年5月28日～1984年5月27日）

投与方法：検体を0、3、30及び300ppmの濃度で飼料に混入し、24ヶ月にわたって随時摂食させた。粉立ち防止のため、オリーブ油を2%飼料に添加した。検体を混入した飼料は2週間に1回調製した。

投与量設定根拠：一群雌雄各20匹を用いて、0、100、500及び2500ppmの濃度で混餌飼料を3ヶ月間与えた(資料16)。この試験では2500ppm群に体重増加抑制及び肝重量の増加がみられたことから、本試験では最高投与量を300ppmとし、以下公比10として30及び3ppmを設定した。

試験項目及び結果：

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。

瘦削、立毛、皮下または腹腔内腫瘍、眼分泌物及び運動不活発等の症状が対照群を含む全群に観察されたが、いずれも発生率は低く投与によるものとは考えられなかった。

試験終了時の死亡率(%)を下表に示す。

投与群(ppm)	0	3	30	300
雄	21.0	11.2	30.5	24.8
雌	29.5	27.4	21.5	15.4

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化：投与開始から26週間は週1回、その後は2週間に1回全ての生存動物の体重を測定した。

雄の30及び300ppm投与群では体重増加抑制が認められたが、雌の3及び300ppm投与群では対照群と比較して体重増加量が増加した。雄の3ppm投与群及び雌の30ppm投与群では対照群とほぼ同等であった。

摂餌量及び食餌効率：全動物の摂餌量を週1回測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量は300ppm投与群雌雄では試験期間を通じて、30ppm群雄では試験期間前半に増加した。食餌効率は試験の前半に雄の300および30ppm投与群で低く、雌の

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

300ppm 投与群で高かった。この他の投与群では対照群とほぼ同等であった。

検体摂取量：摂餌量及び投与濃度から算出した1日あたりの平均検体摂取量を以下の通りである。

投与量(ppm)		3	30	300
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.495	5.11	52.8
	雌	0.615	6.52	63.6

飲水量：投与後 1、13、26、52 及び 78 週時に、各群雌雄 5 匹について測定した。

いずれの投与群も対照群とほぼ同等であった。

血液学的検査：投与後 52、78 及び 104 週時に各群雌雄 8~10 匹ずつを対象として、開腹後腹部大動脈から採血し、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、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)及び血小板数(PLT)を測定した。また、血液塗抹標本を検鏡することにより白血球百分率を求めた。

下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別 用量	雄								
	3ppm			30ppm			300ppm		
測定項目/週	52	78	104	52	78	104	52	78	104
RBC							↓93		
HGB							↓94		
HCT							↓94		
MCV	↓98						↑102	↑102	
MCH		↑104			↑104			↑104	↑103
MCHC	↑102		↑102		↑102	↑102		↑102	↑103
WBC				↓58	↓67		↓71	↓56	
性別	雌								
RBC			↓93				↓96	↓84	
HGB			↓92			↓93			
HCT			↓92			↓94			
MCV							↑103	↑105	
MCH		↓98					↑102		
MCHC		↓98						↓98	
WBC									↑162
PLT	↑106								

Student の t-検定 ↑↓: P<0.05 ↑↑: P<0.01 ↑↑↑: P<0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

雄では 300ppm 投与群の 52 週時に RBC、HGB 及び HCT が減少した。また白血球が 300 及び 30ppm 群の 52 及び 78 週時にわずかに減少した。

雌では 300ppm 投与群の 52 および 78 週時に RBC がわずかに減少した。

これ以外の変動は変動量がわずかであること及び用量に関連していないことから、検体による影響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の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて GOT、GPT、総蛋白、アルブミン、アルカリホスファターゼ(ALP)、総コレステロール(CHOL)、血糖、尿素窒素、尿酸を測定した。
下記に対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別	雄								
	3ppm			30ppm			300ppm		
用量									
測定項目/週	52	78	104	52	78	104	52	78	104
総蛋白									↑110
アルブミン									↑110
CHOL					↓69				
血糖									↓80
尿酸				↓81		↓78			↓63

性別	雌								
	3ppm			30ppm			300ppm		
用量									
測定項目/週	52	78	104	52	78	104	52	78	104
GOT				↑109			↑127		↑139
GPT	↑131						↑150		
総蛋白	↓96	↓94							
アルブミン		↓94	↓91						↓91
CHOL		↓84					↑132		
血糖									↑155
尿酸									↓71

Student の t-検定 ↑↓: P<0.05 ↑↓: P<0.01 ↑↓: P<0.001

雌の 300ppm 投与群で GOT の増加が認められた。

これ以外に散見された変動は、用量関連性がなく、またその他の関連する項目に変化がみられないことから、偶発的なもので検体による影響とは考えられなかった。

尿検査：投与後 52、78 及び 104 週時に各群雌雄 8~10 匹ずつを対象として、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン及びビリルビンを検査した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

雌雄とも 30ppm 以上投与群において各検査時期ともケトン体陽性動物の増加が認められた。補足試験（資料 29）結果より、ケトン体試験紙での陽性反応は、検体の代謝物による偽陽性反応であると示唆された。

これ以外には検体の影響は認められなかった。

臓器重量：投与後 52 及び 78 週時の中間屠殺動物と試験終了時の生存動物を対象として剖検後、脳、心、肺、肝、腎、副腎、脾、精巣及び卵巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

以下に対照群と比して、統計学的有意差の認められた項目を表記する。

性別	雄								
	3ppm			30ppm			300ppm		
用量	52	78	104	52	78	104	52	78	104
臓器/週									
体重						(98)	(93)	↓91	↓94
脳 実重量						↑102			↑102
対体重比								↑110	↑108
肺 実重量									↓90
対体重比					↓87				
肝 実重量									
対体重比							↑110		
腎 実重量									↓96
対体重比									
脾 実重量									
対体重比							↑114		
精巣 実重量							↓91		
対体重比						↑105			↑107
性別	雌								
体重	(109)		↑109	(108)			↑121		(107)
脳 実重量									
対体重比			↓92				↓81		↓94
心 実重量									
対体重比							↓85		
肺 実重量									
対体重比							↓86		
肝 実重量				↑109			↑120		
対体重比									
卵巣 実重量		↓80						↓80	
対体重比		↓73							

Student の t-検定 ↑↓ : P < 0.05 ↑↓ : P < 0.01 † : P < 0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

雌の 300ppm 投与群で、肝重量の増加が認められた。これ以外の 300ppm 群雌雄で認められた変動は最終体重を反映しているものと考えられた。

3 及び 30ppm 投与群雌雄でみられた変動は、用量関連性が認められないことから、偶発的なもので投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査：投与後 52 及び 78 週時の中間屠殺動物、試験終了時の生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。

雌の 30ppm 以上の投与群の最終屠殺動物にリンパ節の腫大の増加が認められたが、(発現頻度は用量増加順に、2/3/7/7)、対応する病理組織学的所見は認められなかった。その他に検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査：投与後 52 週時の中間屠殺動物、試験終了時の生存動物及び途中死亡動物を対象として、重量測定臓器を含む病変部組織、腫瘍部組織塊及び所属リンパ節、胆嚢、肺に付属した気管支、下垂体、甲状腺、脊髄、眼、唾液腺、胸腺、気管、食道、胃、小腸、大腸、膵、膀胱、前立腺、子宮体部及び頸管、頸部リンパ節、大腿骨、大腿筋、皮膚、坐骨神経及び乳腺について病理標本を作製し、検鏡した。

主な非腫瘍性病変および腫瘍性病変の発生率を以下の表に示した。

非腫瘍性病変： 64 頁～67 頁

腫瘍性病変： 68 頁～73 頁

非腫瘍性病変

雌の全投与群において、肝細胞核の大小不同性、肝細胞壊死及び色素沈着が増加し、肝細胞核の大小不同性と肝細胞壊死は最低用量の 3ppm 投与群でも有意差が見られた。3ppm 投与群の雌の肝細胞核の大小不同性については当試験機関の背景データの範囲内(試験数=8、範囲:8.0~92.0%、8 試験あわせると 127 例/400 例)にあったことから、少なくともこの群での変化は投与によるものとは考えられなかった。

背景データ

試験 No.	発生動物数/検査動物数 (発生率%)	
	雄	雌
1	6/50 (12.0)	6/50 (12.0)
2	19/50 (38.0)	5/50 (10.0)
3	-	4/50 (8.0)
4	47/50 (94.0)	46/50 (92.0)
5	25/50 (50.0)	12/50 (24.0)
6	15/50 (30.0)	10/50 (20.0)
7	46/50 (92.0)	32/50 (64.0)
8	20/50 (40.0)	12/50 (24.0)

-: 該当なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

また、同群の死亡動物に多く見られた肝細胞壊死は、用量関連性がないことから、投与による変化とは考えられなかった。

腫瘍性病変

投与群で認められた腫瘍性病変は、対照群との間に発生率の差はなく、また早期化を示すことはなかった。

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次記のとおりであり、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。

性 別		雄				雌			
投与群 (ppm)		対照	3	30	300	対照	3	30	300
検査動物数		60	60	61*	60	60	62*	60	61*
腫瘍数	良 性	33	22	26	28	18	16	28	27
	悪 性	13	12	16	13	14	15	9	12
腫 瘍 総 数		46	34	42	41	32	31	37	39
腫瘍動物数		33	27	35	34	26	24	29	26

*投与後 78 週時屠殺予定動物の一部を途中死亡した為、検査対象に加えた、本試験結果を要約すると次の通りであった。

投与レベル(ppm)	試 験 結 果 要 旨
3	検体投与に起因する変化なし
30	体重増加抑制 (雄) 血液学的検査値の一部変動 (雄) 肝細胞核大小不同性及び肝の色素沈着 (雌) 増加
300	体重増加抑制 (雄) 血液学的及び血液生化学的検査値(雌)の一部変動 肝重量増加 (雌) 雌雄とも体重変動に起因する臓器重量・体重比の変動 肝細胞核大小不同性及び肝の色素沈着 (雌)、 肝細胞壊死 (雌) 増加

以上の結果から、本検体のマウスを用いた 2 年慢性毒性/発がん性併合試験における無毒性量は、雌雄ともに 3ppm(雄: 0.495mg/kg/日, 雌: 0.615mg/kg/日)であると判断した。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変（中間屠殺52週 計画屠殺動物） (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	10	10	9	10	10	10	10	10
52週	腎臓	尿細管上皮の脂肪変性	10	10	9	8	0	0	0	0
	副腎	紡錘形細胞増生	4	6	5	5	10	10	10	9
	肝臓	脂肪変性	4	8	6	2	6	6	2	4
		肝細胞核大小不同性	2	2	2	2	0	0	3	1
		小肉芽巣	0	1	0	0	4	4	4	2
	リンパ節	色素沈着	1	1	0	2	2	2	2	0
	骨髄	色素沈着	2	2	1	2	2	1	3	0
	子宮	内膜嚢胞状増生	-	-	-	-	10	8	10	10

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表2 非腫瘍性病変(死亡・切迫屠殺動物) (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	11	6	17	13	15	15	11	8
死亡・切迫屠殺動物	肺	リンパ球集簇	0	0	0	0	0	1	0	0
		うっ血	4	1	8	5	5	5	3	4
	胸腺	萎縮	11	6	15	10	13	14	10	8
	腎臓	脂肪変性	11	5	12	**5	0	0	0	0
		再生上皮	4	5	4	5	2	1	*6	1
		石灰沈着	4	3	4	*0	0	3	0	0
		色素沈着	0	0	0	0	0	1	2	0
	副腎	紡錘細胞増生	7	4	10	8	15	15	11	8
	肝臓	脂肪変性	3	1	4	4	2	3	0	0
		色素沈着	1	0	1	2	1	2	1	0
		肝細胞核大小不同性	3	2	2	3	2	4	3	4
		小肉芽巣	0	0	2	0	3	3	0	1
		肝細胞壊死	4	3	4	2	0	**6	2	1
	脾臓	色素沈着	1	0	0	1	5	1	4	2
		髄外造血	3	3	6	5	4	9	5	1
	脳	延髄上部内硝子体	5	3	8	8	9	6	3	4
	リンパ節	色素沈着	2	2	4	1	1	1	2	*4
	骨髓	色素沈着	0	0	1	1	6	4	4	3
	卵巣	卵巣嚢腫		-	-	-	1	0	2	2
	子宮	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	12	10	7	4
下垂体	前葉の増生	0	0	0	0	2	2	0	0	
	血管腔拡張	0	0	0	0	2	0	1	2	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表3 非腫瘍性病変 (主群 104 週 最終屠殺動物) (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	39	44	35	37	35	37	39	43
最終屠殺動物	肺	リンパ球集簇	2	1	1	0	6	*1	2	2
	胸腺	萎縮	39	43	35	37	35	37	38	43
	腎臓	脂肪変性	36	38	29	**21	0	0	0	0
		再生上皮	22	31	17	13	9	5	7	6
		石灰沈着	12	20	13	7	3	3	1	1
		色素沈着	0	0	0	0	2	2	1	8
	副腎	紡錘細胞増生	33	40	32	29	35	37	36	43
	肝臓	脂肪変性	8	14	7	9	13	12	7	**4
		色素沈着	2	7	3	6	3	5	*12	*13
		肝細胞核大小不同性	13	19	*22	*21	10	18	**24	**35
		小肉芽巣	9	11	11	11	13	19	**27	24
		肝細胞壊死	4	3	3	4	1	2	2	7
	脾臓	色素沈着	1	2	1	5	11	19	20	18
		髓外造血	3	3	3	2	1	3	4	2
	脳	延髄上部内硝子体	31	35	24	32	26	25	26	26
	リンパ節	色素沈着	8	14	5	10	8	9	10	9
	骨髄	色素沈着	14	*6	11	10	12	10	14	17
	卵巣	卵巣嚢腫		-	-	-	9	7	11	5
	子宮	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	32	36	39	38
	下垂体	前葉の増生	1	0	0	0	3	3	3	2
血管腔拡張		0	0	0	1	8	5	9	5	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表4 非腫瘍性病変（全動物） (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	60	60	61	60	60	62	60	61
全動物	肺	リンパ球集簇	2	1	1	0	6	2	2	2
		うっ血	5	2	8	5	5	6	3	4
	胸腺	萎縮	50	49	50	48	49	51	48	51
	腎臓	脂肪変性	57	53	50	**34	0	0	0	0
		再生上皮	26	*36	21	18	11	6	14	7
		石灰沈着	17	23	17	*7	3	6	1	1
		色素沈着	0	0	0	0	2	3	3	8
	副腎	紡錘細胞増生	44	50	47	42	60	62	57	60
	肝臓	脂肪変性	15	23	17	15	21	21	**9	**8
		色素沈着	3	7	4	8	4	7	*13	*13
		肝細胞核大小不同性	18	23	26	26	12	*22	**30	**40
		小肉芽巣	9	12	13	11	20	26	*31	27
		肝細胞壊死	8	6	7	6	1	*8	5	*8
	脾臓	色素沈着	2	2	1	6	20	24	28	25
		髄外造血	6	6	9	7	5	12	9	3
	脳	延髄上部内硝子体	36	39	33	43	37	32	32	34
	リンパ節	色素沈着	11	17	9	13	11	12	14	13
	骨髄	色素沈着	16	8	13	13	20	15	21	26
	卵巣	卵巣嚢腫		-	-	-	11	7	13	7
	子宮	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	54	54	56	52
下垂体	前葉の増生	1	0	0	0	5	5	3	2	
	血管腔拡張	0	0	0	1	10	5	10	7	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表5 腫瘍性病変（中間屠殺52週 計画屠殺） (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	10	10	9	10	10	10	10	10
52週	肺	気管支/肺胞上皮腺腫(b)	0	1	0	1	0	0	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫(b)	1	0	1	1	0	0	0	0
	卵巣	良性奇形腫(b)	-	-	-	-	0	0	0	1
	子宮	子宮内膜間質ポリープ(b)	-	-	-	-	0	0	0	1

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01 b) : 良性 (m) : 悪性

表6 腫瘍性病変（死亡・切迫屠殺動物） (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	11	6	17	13	15	15	11	8
死亡・切迫屠殺	肺	気管支/肺胞上皮腺腫(b)	2	0	0	0	0	2	1	1
		腺癌(m)	0	0	0	0	1	0	0	0
	胸腺	悪性リンパ腫(m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫(b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	血管腫(b)	2	0	1	2	0	0	0	0
		肝細胞腺腫(b)	4	2	4	2	1	0	2	1
		悪性リンパ腫(m)	1	0	0	0	2	2	1	0
		血管肉腫(m)	1	1	0	0	0	0	0	0
		肝細胞癌(m)	1	1	2	5	0	2	0	0
	脾臓	血管腫(b)	0	0	0	0	0	1	1	0
		悪性リンパ腫(m)	0	0	1	0	1	0	0	0
		血管肉腫(m)	0	0	1	0	0	0	1	0
	胃	乳頭腫(b)	0	0	1	0	0	0	0	1
	リンパ節	悪性リンパ腫(m)	3	0	5	3	5	4	3	4
	甲状腺	腺腫(b)	0	0	0	0	0	0	2	0
ハーダー腺	腺腫(b)	1	0	0	0	0	0	0	0	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01 b) : 良性 (m) : 悪性

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 6 (つづき) 腫瘍性病変 (死亡・切迫屠殺動物) (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	11	6	17	13	15	15	11	8
死亡・切迫屠殺動物	皮膚/皮下	血管腫(b)	0	0	0	0	0	1	0	0
		血管肉腫(m)	0	0	0	0	0	0	0	1
		平滑筋肉腫(m)	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(m)	0	0	1	0	0	1	0	0
	骨髄	血管腫(b)	0	0	0	0	0	0	1	0
		白血病(m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	卵巣	腺癌(m)	-	-	-	-	1	0	0	0
	子宮	平滑筋腫(b)	-	-	-	-	1	0	0	0
		子宮内膜間質ポリープ(b)	-	-	-	-	1	1	0	1
		子宮筋肉腫(m)	-	-	-	-	0	1	0	0
	下垂体	腺腫(b)	0	0	0	0	1	0	1	2
	骨	骨肉腫(m)	0	0	0	0	1	0	0	1
	末梢神経	神経芽細胞腫(m)	0	0	0	0	0	1	0	0
	原発部位特定できず	中皮腫(m)	0	0	0	1	0	0	0	0

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

b) : 良性 (m) : 悪性

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表7 腫瘍性病変 (104週 最終屠殺動物) (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	39	44	35	37	35	37	39	43
最終屠殺	肺	気管支/肺胞上皮腺腫(b)	4	6	5	0	1	1	0	3
	腎臓	腺腫(b)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	血管腫(b)	0	0	0	2	0	1	0	0
		肝細胞腺腫(b)	13	8	8	11	6	5	7	3
		血管肉腫(m)	0	0	1	0	0	0	0	0
		肝細胞癌(m)	5	3	1	*0	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(m)	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	血管腫(b)	0	1	0	2	1	0	0	2
		白血病(m)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(m)	0	1	0	0	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(m)	1	0	0	0	1	1	0	2
	中枢神経系	類表皮嚢胞(b)	0	0	0	0	0	0	1	0
	島細胞	島細胞腺腫(b)	0	0	0	1	0	0	0	0
	胃	乳頭腫(b)	4	2	2	3	1	0	0	1
		腺癌(m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	小腸	悪性リンパ腫(m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	リンパ節	血管腫(b)	1	0	0	1	0	0	1	0
		悪性リンパ腫(m)	0	2	3	3	0	2	3	3
	ハーダー腺	腺腫(b)	1	0	2	1	1	1	0	0
	甲状腺	腺腫(b)	0	2	0	0	0	0	1	0
食道	乳頭腫(b)	0	0	0	0	0	0	0	1	
皮膚/皮下	脂肪腫(b)	0	0	1	0	0	0	0	0	
	血管腫(b)	0	0	0	0	0	0	0	1	
	悪性線維性組織球腫(m)	0	0	0	0	0	0	1	1	
下垂体	腺腫(b)	0	0	0	0	1	1	6	3	
骨髄	血管腫(b)	0	0	1	0	0	0	0	0	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01 (b) : 良性腫瘍 (m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表7 (つづき) 腫瘍性病変 (104週 最終屠殺動物) (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	38	47	37	36	37	34	34	45
最終屠殺	精巣上体	悪性線維性組織球腫(m)	0	0	1	0	-	-	-	-
	子宮	子宮内膜間質ポリープ(b)	-	-	-	-	1	1	2	2
		平滑筋腫(b)	-	-	-	-	0	0	1	1
	卵巣	良性奇形腫(b)	-	-	-	-	0	0	0	1
	乳腺	腺腫(b)	0	0	0	0	1	1	1	1
		腺癌(m)	0	0	0	0	0	1	0	0
	筋肉	神経鞘腫(b)	0	1	0	0	0	0	0	0

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

(b) : 良性腫瘍 (m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 8 腫瘍性病変 (全動物) (マウス)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
	臓器	所見/動物数	60	60	61	60	60	62	60	61
全動物	肺	気管支/肺胞上皮腺腫(b)	6	7	5	1	1	3	1	4
		腺癌(m)	0	0	0	0	1	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫(b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	胸腺	悪性リンパ腫(m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	腺腫(b)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	血管腫(b)	2	0	1	4	0	1	0	0
		肝細胞腺腫(b)	18	10	13	14	7	5	9	4
		血管肉腫(m)	1	1	1	0	0	0	0	0
		肝細胞癌(m)	6	4	3	5	0	2	0	0
		悪性リンパ腫(m)	1	0	0	0	3	2	1	0
	脾臓	血管腫(b)	0	1	0	2	1	1	1	2
		悪性リンパ腫(m)	1	0	1	0	2	1	0	2
		白血病(m)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(m)	0	1	1	0	0	0	1	0
	中枢神経系	類表皮嚢胞(b)	0	0	0	0	0	0	1	0
	島細胞	島細胞腺腫(b)	0	0	0	1	0	0	0	0
	胃	乳頭腫(b)	4	2	3	3	1	0	0	2
		腺癌(m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	小腸	悪性リンパ腫(m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	リンパ節	血管腫(b)	1	0	0	1	0	0	1	0
悪性リンパ腫(m)		3	2	8	6	5	6	6	7	
ハーダー腺	腺腫(b)	2	0	2	1	1	1	0	0	
甲状腺	腺腫(b)	0	2	0	0	0	0	3	0	
食道	乳頭腫(b)	0	0	0	0	0	0	0	1	

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

(b) : 良性腫瘍 (m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表 8 (つづき) 腫瘍性病変 (全動物) (マウス)

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群(ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300	
	臓器	所見/動物数	60	60	61	60	60	62	60	61	
全	皮膚/皮下	脂肪腫(b)	0	0	1	0	0	0	0	0	
		血管腫(b)	0	0	0	0	0	1	0	1	
		悪性線維性組織球腫(m)	0	0	1	0	0	1	1	1	
		血管肉腫(m)	0	0	0	0	0	1	0	1	
		平滑筋肉腫(m)	0	0	0	0	1	0	0	0	
動	下垂体	腺腫(b)	0	0	0	0	2	1	7	5	
	骨髄	血管腫(b)	0	0	1	0	0	0	1	0	
		白血病(m)	0	1	0	0	0	0	0	0	
物	精巣上体	悪性線維性組織球腫(m)	0	0	1	0	-	-	-	-	
	子宮	子宮内膜間質ポリープ(b)	-	-	-	-	2	2	2	4	
			平滑筋腫(b)	-	-	-	-	1	0	1	1
			子宮筋肉腫(m)	-	-	-	-	0	1	0	0
	卵巢	良性奇形腫(b)	-	-	-	-	0	0	0	2	
		腺癌(m)	-	-	-	-	1	0	0	0	
	乳腺	腺腫(b)	0	0	0	0	1	1	1	1	
		腺癌(m)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	骨	骨肉腫(m)	0	0	0	0	1	0	0	1	
	筋肉	線維肉腫(m)	0	1	0	0	0	0	0	0	
末梢神経	神経芽腫(m)	0	0	0	0	0	1	0	0		
原発部位特定できず	中皮腫(m)	0	0	0	1	0	0	0	0		

Fisher 検定 * : p<0.05、** : p<0.01

(b) : 良性腫瘍 (m) : 悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(11) 繁殖毒性に及ぼす影響及び催奇形性

1) 繁殖性に及ぼす影響

ラットを用いた繁殖試験

(資料 21)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1985 年

検体の純度: %

試験動物: SD (CD) 系ラット, 1 群雌雄各 30 匹

投与開始時 週齢 (体重-雄: 134.5~179.7g, 雌: 124.1~146.0g)

投与期間: P₁ 世代; 投与開始から F₁ 児の離乳時までの 33 週間,

F₁ 世代; 離乳時から F₂ 児の離乳時までの 38 週間

F₂ 世代; 離乳時から 13 週間

(1983 年 4 月 28 日~1984 年 12 月 21 日)

投与方法: 検体を 0, 5, 20 及び 100ppm 含有した飼料を自由に摂食させた。

投与量設定根拠: 1 群雌雄各 10 匹を用い 0, 20, 100, 500 及び 2500ppm の投与濃度で交配 2 週間前より出産までの間 (雄は交配終了迄) 投与試験を実施した (本報告書に添付)。

その結果,

① 2500ppm では交配前に瀕死状態となった。

② 100ppm 以上の雌及び 500ppm の雄に体重増加抑制が認められた。

③ 100ppm 以上で新生児に対する影響が認められた。

以上の結果より、本試験では 100ppm を最高投与濃度として、合計 3 用量を設定した。

方法及び試験項目: 概要を 76 頁の表にまとめた。

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毎日観察した。

交配及び妊娠の確認; 交配は雌雄 1 対 1 で同居させ、翌日膣栓及び精子により交尾を確認した。

膣栓あるいは精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

妊娠の確認は、出産及び流産をもって行った。

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

$$\text{雄 交尾率 (\%)} = \frac{\text{交尾した雄動物数}}{\text{雌と同居した雄動物数}} \times 100$$

$$\text{雌 交尾率 (\%)} = \frac{\text{交尾した雌動物数}}{\text{雄と同居した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{雄 受精率 (\%)} = \frac{\text{1 匹以上の雌を妊娠させた雄動物数}}{\text{交尾した雄動物数}} \times 100$$

$$\text{雌 受精率 (\%)} = \frac{\text{妊娠又は妊娠兆候が認められた雌動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

(妊娠率)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

$$\text{出産率 (\%)} = \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{授乳率 (\%)} = \frac{\text{離乳時に生存児を伴っていた雌動物数}}{\text{生存児を出産した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{4日目生存率 (\%)} = \frac{\text{4日目(選抜前)の平均生存児数}}{\text{出生日の平均生存児数}} \times 100$$

$$\text{離乳率 (\%)} = \frac{\text{21日目(選抜前)の平均生存児数}}{\text{4日目(選抜後)の平均生存児数}} \times 100$$

体 重；生育期間中は一週間に1回、妊期間中は0、7、14及び20日、授乳期は1、4、7、14及び21日に測定した。

摂 餌 量；生育期間中は一週間に1回、妊娠期間中は0～7日、8～14日及び15～20日、授乳期間中(F1aのみ)は0～4日、5～7日、8～14日及び15～21日に測定した。

検体摂取量；体重及び摂餌量から算出した (mg/kg/体重/g)。

性	雄			雌		
	5	20	100	5	20	100
投与群 (ppm)	5	20	100	5	20	100
P世代	0.35	1.37	7.19	0.42	1.66	8.63
F ₁ 世代	0.32	1.31	7.07	0.43	1.75	9.05
F ₂ 世代	0.38	1.57	8.15	0.46	1.79	10.19

臓器重量；脳、心、肝、脾、腎、副腎、精巣/卵巣について測定した。

病理組織学的検査；脳、下垂体、胸部脊髄、眼、唾液腺、甲状腺、胸腺、心、肺、肝、胃、脾、膵、副腎、腎、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、頸部リンパ節、腸間膜リンパ節、膀胱、精巣及び精巣上体(雄)、精嚢(雄)、前立腺(雄)、卵巣(雌)、子宮(雌)、坐骨神経、乳腺、骨髄及び異常病変が認められた部位について病理標本を作成し検鏡した。

表1. 概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P ₁	生育(14週間) 第1回交配	雌雄1対1で交配。 交尾は膣栓と精子で確認 (妊娠0日)	体重および摂餌量の測定(毎週)、 交配状況の観察
	妊娠(3週間)		妊娠0, 7, 14, 20日に体重、摂餌量を測定
	出産…………… (F ₁ a)		出産状況の観察 新生児数, 死産児数, 性別, 生存児体重の測定
	哺育(3週間)		母動物の出産後0, 4, 7, 14, 21日目に体重、摂餌量を測定 出産後4, 7, 14, 21日目に生存児数、生存児体重を測定
F ₁	離乳……………	生後21日目に児動物を屠殺	途中死亡及び屠殺動物の肉眼的病理検査
	第2回交配	(P ₁ 世代に準ずる)	(P ₁ 世代に準ずる)
	妊娠(3週間)		
	出産…………… (F ₁ b)		(P ₁ 世代に準ずる)
	哺育(3週間)	(P ₁ 世代に準ずる)	(P ₁ 世代に準ずる)
	離乳……………	継代用(各群雌雄各30匹)及び 病理組織学的検査用(各群雌雄各5匹)にF ₁ 児動物を 選抜 親動物と残りの児動物屠殺	選抜児動物の臓器重量測定及び病理組織学的検査 肉眼的病理検査
	生育(18週間) 第1回交配	(P ₁ 世代に準ずる)	(P ₁ 世代に準ずる)
	妊娠(3週間)		
	出産…………… (F ₂ a)		(P ₁ 世代に準ずる)
	哺育(3週間)	(P ₁ 世代に準ずる)	(P ₁ 世代に準ずる)
離乳……………	(F ₁ 世代に準ずる)		
第2回交配	(P ₁ 世代に準ずる)	(P ₁ 世代に準ずる)	
妊娠(3週間)			
出産…………… (F ₂ b)		(P ₁ 世代に準ずる)	
哺育(3週間)	(P ₁ 世代に準ずる)		
F ₂	離乳……………	継代用(各群雌雄各10匹)及び 病理組織学的検査用(各群雌雄各5匹)にF ₂ 児動物を 選抜 親動物を病理組織学的検査用(各群雄10匹, 雌25匹) に選抜 親動物(P ₂)と残りの児動物 屠殺	(P ₁ 世代に準ずる) 臓器重量測定及び病理組織学的検査
	生育(13週間)		体重、摂餌量を週1回測定 離乳後13週に屠殺し、臓器重量測定及び病理組織学的検査

*体重のみ

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

世代		親 : P ₁		児 : F ₁						
投与量 (ppm)		対照群	5	20	100					
動物数	雄	30	30	30	30					
	雌	30	30	30	30					
一般状態										
死亡動物数	雄	1	1	0	0					
	雌	0	2	1	2					
体重変化	生育期 (体重)	雄	513.7	532.5	525.2	516.3				
		雌	285.8	283.4	284.8	271.2'				
	妊娠期 (雌)	a	121.5	111.4	118.5	118.8				
		b	120.3	117.2	119.6	134.4				
	授乳期 (雌)	a	34.8	29.9	33.3	35.6				
		b	2.9	-1.1	-2.2	16.9				
摂餌量	生育期	雄			対照群とほぼ同等					
	雌									
	妊娠期 (雌)	a	-----	対照群とほぼ同等	対照群より有意に低い	対照群とほぼ同等				
		b								
授乳期 (雌)	a			対照群とほぼ同等						
b		測定せず (児動物の過度の餌こぼしのため)								
肉眼的病理検査		雄				(雌) 胃粘膜暗病巣, 肺斑点, 子宮拡張				
交尾率	a	雄	90	83	97	90				
		雌	97	93	100	100				
	b	雄	80	79	80	83				
		雌	93	90	87	97				
受精率	a	雄	96	88	83	74'				
		雌	93	86	80	70'				
	b	雄	92	65'	71	88				
		雌	86	59'	73	76				
妊娠期間	a	22	22	22	22					
	b	22	22	22	22					
出産率	a	100	100	100	100					
	b	100	100	100	100					
授乳率	a	100	92	88	86					
	b	100	94	94	94					
平均新生児数/母動物	a	♂6.1 ♀6.7	♂5.9 ♀5.3	♂6.0 ♀6.0	♂6.6 ♀5.9					
	b	♂5.7 ♀5.4	♂6.3 ♀5.4	♂5.5 ♀5.7	♂6.2 ♀6.2					
平均死産児数/母動物	a	0.4	0.1	0.2	0.3					
	b	0.9	0.9	0.4	0.6					
一般状態		a								
b										
同腹生存児体重 (g)	a	雄	6.2	37.7	6.3	41.2	6.5	39.6	6.4	36.7
		雌	5.8	35.0	5.9	38.3	6.1	36.9	5.9	34.7
	左: 出産時	雄	6.3	42.6	6.3	44.0	6.4	43.2	6.2	35.3'
		雌	5.9	40.7	5.8	41.8	6.2	42.7	5.8	33.6'
4日目生存率 (%) (母動物当たり)	a	雄	95 (5.8)	88 (5.2)	97 (5.8)	70 (4.6)				
		雌	94 (6.3)	85 (4.5)'	93 (6.3)	75 (4.4)'				
	b	雄	96 (5.5)	92 (5.8)	98 (5.4)	82 (5.1)				
		雌	98 (5.7)	89 (4.8)	100 (5.9)	87 (5.5)				
離乳時生存率 (%) (母動物当たり)	a	雄	87 (4.0)	81 (3.8)	74 (3.4)	77 (3.4)				
		雌	87 (4.0)	90 (3.6)	89 (4.1)	76 (3.2)				
	b	雄	95 (4.2)	98 (4.6)	98 (4.0)	73 (3.0)				
		雌	98 (4.3)	100 (4.0)	100 (4.5)	80 (3.7)				
肉眼的病理検査		a				肺の腫瘍増加				
b						腎盂拡張の増加				
臓器重量		b								
病理組織学的検査 (発生率%)	雄	腎盂拡張 (20)	腎盂拡張 (20)	腎盂拡張 (60)	腎盂拡張 (60)					
	雌	腎盂拡張 (40)	腎盂拡張 (20)	腎盂拡張 (80)	腎盂拡張 (100)					

注) 体重変化 (g) 生育期: 雌雄 14 週時体重値, 妊娠期: 各期間における体重増加量 空欄は検体投与による起因する変化なし
 *: P<0.05 (Dunnett's test) **: P<0.05 (申請者による検定, Fisher の正確確率検定, Bonferroni の補正を併用)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

世代				親: F ₁		児: F ₂					
投与量 (ppm)		対照群		5		20		100			
動物数	雄	30		30		30		30			
	雌	30		30		30		30			
一般状態		雄/雌									
死亡動物数	雄	0		1		1		2			
	雌	1		0		0		0			
体重変化	生育期	雄	542.3		537.1		527.9		483.2*		
		雌	284.0		291.5		291.4		286.2		
	妊娠期(雌)	a	110.1		110.8		114.2		113.5		
		b	115.0		123.7		112.8		127.6		
	授乳期(雌)	a	19.8		25.4		13.9		17.0		
		b	20.4		19.3		15.8		6.1		
摂餌量	生育期	雄	-----		対照群とほぼ同等		対照群より有意に低い		対照群とほぼ同等		
	妊娠期(雌)	a	-----		対照群とほぼ同等		対照群より有意に低い		対照群とほぼ同等		
		b	-----		対照群とほぼ同等		対照群とほぼ同等		対照群とほぼ同等		
授乳期(雌)	a/b	-----		測定せず(児動物の過度の餌ごぼしのため)		測定せず(児動物の過度の餌ごぼしのため)		測定せず(児動物の過度の餌ごぼしのため)			
肉眼的病理検査		雄/雌				腎盂拡張および胃粘膜暗病巣(雌)増加					
臓器重量		雄						副腎重量増加(107)			
		雌									
病理組織学的検査		雄		腎盂拡張(10)		腎盂拡張(20)		腎盂拡張(30)		腎盂拡張(50)	
(発生率%)		雌		腎盂拡張(16)		腎盂拡張(16)		腎盂拡張(28)		腎盂拡張(52)**	
						胃粘膜暗病巣(16)		胃粘膜暗病巣(12)			
交尾率	a	雄	80		87		83		83		
		雌	90		100		90		97		
	b	雄	83		83		73		67		
		雌	97		93		93		90		
	受精率	a	雄	88		85		75		63*	
		雌	85		77		70		52*		
b	雄	67		72		55		50			
	雌	61		64		46		37			
妊娠期間		a	22		23		22		23		
		b	22		22		23		22		
出産率		a	100		100		100		100		
		b	100		100		100		100		
授乳率		a	96		96		68*		73		
		b	100		100		92		100		
平均新生児数/母動物		a	♂5.5 ♀4.9	♂4.7 ♀6.0	♂5.6 ♀6.0	♂5.4 ♀5.9	♂5.9 ♀5.7	♂6.5 ♀7.1	♂5.1 ♀5.9	♂6.2 ♀7.7	
死産児数/母動物		a	0.3		0.4		0.3		0.4		
		b	0.8		0.6		0.5		0.2		
一般状態		a/b									
同胞生存児体重(g)		a	雄	6.5		36.4		6.5		33.1	
			雌	6.1		33.9		6.0		31.2	
左: 出産時			雄	6.3		40.3		6.2		37.2	
右: 離乳時			雌	6.0		38.7		5.8		36.1	
4日目生存率(%) (母動物当たり)	a	雄	98(5.4)		98(4.6)		96(5.4)		78(4.2)		
		雌	100(4.9)		93(5.6)		90(5.4)		78(4.6)		
	b	雄	100(6.0)		97(6.5)		82(4.2)		84(5.2)		
		雌	100(5.8)		94(6.7)		81(4.8)		88(6.8)		
離乳時生存率(%) (母動物当たり)	a	雄	96(4.3)		88(3.5)		56(2.7)*		39(1.5)*		
		雌	95(4.1)		89(4.2)		58(2.5)*		48(1.9)*		
	b	雄	95(4.2)		92(4.5)		100(3.8)		94(4.5)		
		雌	94(4.5)		96(4.7)		89(4.0)		98(4.9)		
肉眼的病理検査		a/b									
臓器重量		b									
病理組織学的検査(発生率%)		b	雄					腎盂拡張(60)		腎盂拡張(80)	
			雌					腎盂拡張(20)		腎盂拡張(40)	

(注) 体重変化 (g) 生育期: 雄 18、雌 18 週時体重値、妊娠期、授乳期; 各期間における体重増加量

空欄は検体投与による起因する変化なし、*: P<0.05 (Dunnett's test)。

** : P<0.05 (申請者による検定、Fisher の正確確率検定、Bonferroni の補正を併用)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

世代		児動物 (離乳後) : F ₂			
投与量 (ppm)		対照群	5	20	100
雌	動物数	雄 雌	10 10	10 10	10 10
	一般状態	雄 雌			
乳	死亡動物数	雄 雌	0 0	0 0	0 0
	体重変化 (g)	雄 雌	484.6 267.0	462.2 263.3	451.8 265.3
後	摂餌量	雄 雌		対照群とほぼ同等	対照群よりやや低い 対照群とほぼ同等
	肉眼的病理検査	雄 雌			腎盂拡張増加 胃粘膜暗病巣増加
動	臓器重量	雄 雌			脳 (↓92)、心 (82↓) 重量有意に低い
	病理組織学的検査 (発生率%)	雄 雌	腎盂拡張 (20) 腎盂拡張 (30)	腎盂拡張 (10)	腎盂拡張 (10) 腎盂拡張 (30)

(注) 体重変化 (g) 生育期: 13 週時体重値, 空欄は検体投与による起因する変化なし

* ; P<0.05 (Dunnett's test)

** ; P<0.05 (申請者による検定, Fisher の正確確率検定, Bonferroni の補正を併用)

一般毒性

親動物

- P₁ : 100ppm 投与群で雌の生育期間での体重が対照群と比較して低かった。
100ppm 投与群の雌で胃粘膜暗病巣, 肺の斑点及び子宮拡張の軽度の増加がみられた。
- F₁ : 100ppm 投与群の雄で, 生育期間での体重と摂餌量が対照群と比較して低かった。
100ppm 投与群の雌で副腎重量 (↑107) が増加したが, 病理所見が認められないことから, 毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。
- F_{1a} の 20ppm 以上の投与群で雌の妊娠期間中の摂餌量が対照群と比較して低く, 授乳率も低かった。また, 腎盂拡張及び胃粘膜の暗病巣 (雌) の増加がみられた。

児動物

- F_{1a}, F_{1b} 児 : F_{1a} では 100ppm 投与群で肺の腫瘍の発生率が増加したが, F_{1b} では同様の所見は認められず, 病理組織学的検査においても変化は認められなかった。
F_{1b} では 100ppm 投与群で離乳時の体重が対照群と比較して低かった。
また F_{1b} の 20ppm 以上投与群で, 腎盂拡張の増加がみられた。
100ppm 及び 5ppm 投与群で母動物あたりの F_{1a} 雌の 4 日目生存率が有意に低かったが, 5ppm 投与群においては, 用量関連性がなく F_{1b} 及び F₂ では同様の変化が認められていないことから投与による変化とは考えられなかった。
- F_{2a}, F_{2b} : F_{2a} の 100ppm 投与群の雄で離乳時の体重が低かった。また F_{2a} の 20ppm 以上投与群で, 離乳時生存率が低かった。また F_{2b} の 20ppm 以上投与群で腎盂拡張の増加がみられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

繁殖毒性

- P : 100ppm 投与群において、受精率が低かった。
5ppm 投与群の第2回目の交配において受精率の低下が認められたが、用量関連性もみられず、第1回目と第2回目の結果を総合すると対照群とほぼ同等であったことから、投与による変化とは考えられなかった。
- F₁ : 100ppm 投与群で第1回目の交配および第2回目の交配とも授精率が低かった。
- F₂ (離乳後) : 100ppm 投与群の雄で、生育1週目の体重が対照群と比較して低かった。また、脳および心臓の重量が低下したが、体重増加抑制を反映したものと考えられた。同群雄で腎盂拡張の増加がみられ、また雌で胃粘膜暗病巣の発現率が軽度増加した。

以上の結果から、ベンソフェナップの親及び児の一般毒性に関する無毒性量は5ppm (雄 0.32mg/kg/日, 雌 0.42mg/kg/日) であると判断した。

繁殖性に関する無毒性量は20ppm (雄 1.31 mg/kg/日, 雌 1.66 mg/kg/日) であると判断した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

2) 催奇形性

① ラットにおける催奇形性試験

(資料 22)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1985 年

検体の純度: %

試験動物: Sprague-Dawley Crl:CD(SD)BR 系妊娠ラット 1群 25匹
(妊娠0日雌体重; 234~239g)

投与期間: 10日間 妊娠6~15日目

試験方法: Tween80を添加したカルボキシメチルセルロース溶液に検体を懸濁させ、8、40及び200mg/kgの投与レベルで妊娠後6日目から15日目までの10日間毎日1回経口投与した。なお、対照群には溶媒のみを同様に投与した。

投与量設定根拠: 1群雌雄各5匹を用い0、2、12及び25mg/kg/日の投与量で妊娠6から15日までの10日間の投与試験を実施した(本報告書に添付)。その結果、最高用量でも毒性発現がみられなかったため、2mg/kg/日投与群を投与終了後50mg/kg/日の投与量に上げて更に5日間投与したところ、母動物に立毛の増加と児動物(1匹)に浮腫が認められた。

以上の結果と、亜急性毒性試験(資料15)の最高投与量が2500ppm(157~183mg/kg/日)であることを参考にして本試験の最高投与量は200mg/kg/日とし、以下公比5で合計3用量を設定した。

試験項目:

親動物; 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、8、12、16及び20日目に体重を測定した。

妊娠20日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数及び死亡胎児数を検査した。

生存胎児; 性別、体重および外表異常の観察を行った。

各同腹児群のほぼ1/2の胎児について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格異常の有無を検査した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

試験結果：

投与群 (mg/kg/日)		対 照	8	40	200	
1 群当り動物数		25	25	25	25	
親動物	一 般 状 態	-				
	死 亡 数	0	0	1	0	
	体 重 変 化	-	対照群と差なし 妊娠 6~16 日に有意な増加抑制			
	妊 娠 数 (率)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	
	妊娠子宮重量 (g)	75.5	82.7	70.7	74.8	
	着床所見	検査動物数	25	25	24	25
		黄 体 数	16.6	16.4	15.7	17.9
		着 床 数	14.4	15.2	13.8	15.6
		着床後死胚数 (率)	0.8 (5.2)	0.7 (4.7)	0.7 (4.7)	1.0 (6.7)
		生存胎児数	13.7	14.5	13.1	14.6
死亡胎児数		0	0	0	0	
胎児動物	体 重 (g)	雄	3.3	3.2	3.0*	2.8*
		雌	3.1	3.1	2.8*	2.7*
	性 別 (雄%)		52.1	54.1	50.4	47.1
	骨格異常	化 骨 遅 延 内訳 (抜粋)	36/177	69**/185	59**/163	110**/186
		上後頭骨	11/177	14/185	10/163	31**/186
		胸椎	7/177	8/185	10/163	32**/186
		尾椎	1/177	2/185	2/163	20**/186
	変 異 過剰肋骨	1/177	4/185	7*/163	24**/186	
	奇形	0/177	0/185	0 /163	0 /186	
	内臓異常	変 異 腎盂拡張	3/165	13*/176	9/152	9/178
奇 形		0/165	2 / 176 (水頭症 1) (脳ヘルニア等 1)	1/152 (水腎症)	0/178	

(注) 着床所見は妊娠動物当たりの数値。異常 (骨格, 内臓), 数値: 該当胎児数/検査胎児数。空欄は検体投与に起因する変化なし。

*: P<0.05 ** : P<0.01 (胎児体重: Tukey-Kramer 正確有意差検定、胎児所見: Fisher 直接確率検定)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

親動物への影響

40及び200mg/kg投与群で、対照群と比較して体重減少および骨格変異の増過が認められた。また、200mg/kg投与群において統計学的有意な化骨遅延（上後頭骨、胸椎、および尾椎）が認められた。8mg/kgおよび40mg/kg投与群においても、対照と比較して化骨遅延を示す胎児数が増加したが、本試験実施機関において実施された催奇形性試験における対照群の化骨遅延の発生率が20～52%であるため、8および40mg/kg投与群における化骨遅延は、検体投与に起因するとは考えられなかった。

8mg/kg投与群で有意差が認められた内臓変異の腎盂拡張は、明確な用量関連性が認められないことから、偶発的な変化であり投与によるものとは考えられなかった。（申請者注：「ラットにおける繁殖試験」において20ppm以上検体含有飼料投与群（雄：1.30mg/kg/日、雌：1.73mg/kg/日）の児動物に腎盂拡張の増加が認められており、検体投与に起因するものとも考えられる。しかしながら、本試験条件においては、8mg/kg投与群で発現した腎盂拡張は検体投与による明らかな毒性兆候とは考えにくい。）

生存率、性別および外表異常では検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

以上の結果から、本検体をラットに投与した場合、親動物および胎児における無毒性量は8mg/kg/日であると判断した。また、胎児に対する催奇形性は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

②ウサギにおける催奇形性試験

(資料 23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1984年

検体の純度： %

試験動物：ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ 1群 17匹
(妊娠0日雌体重；3749 ~ 3823 g)

投与期間：13日間 妊娠7~19日目

試験方法：Tween80を添加したカルボキシメチルセルロース溶液に検体を懸濁させ、4、20及び100mg/kgの投与量で人工受精後7日目から19日目までの13日間毎日1回経口投与した。なお、対照群には溶媒のみを同様に投与した。

投与量設定根拠：1群雌4匹を用い0、5、20及び40mg/kg/日の投与量で妊娠7から19日までの13日間の投与試験を実施した(本報告書に添付)。その結果、最高用量でも毒性発現がみられなかったため、5mg/kg/日投与群を投与終了後80mg/kg/日の投与量に上げて更に5日間投与したが毒性兆候が認められなかった。このため、投与量を160mg/kg/日に更に上げて引き続き7日間投与したところ、親動物に食欲不振と体重減少が認められた。

また、胎児の平均体重が対照群と比較して有意差はないものの少なかった。

以上の結果より、中毒量は80~160mg/kg/日のレベルにあると推定されたので本試験の最高投与量は100mg/kg/日とし、以下公比5で合計3用量を設定した。

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、7、14、20、24及び29日目に体重を測定した。

妊娠29日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数及び死亡胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。

全胎児の内臓異常の有無を検査するとともに、各同腹児群のほぼ1/2の胎児については頭部を切断、固定した。内臓検査後、全胎児の骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

試験結果：

投与群 (mg/kg/日)		対 照	4	20	100	
1 群当り動物数		17	17	17	17	
親	一 般 状 態	-				
	死 亡 数	0	0	0	0	
	体 重 変 化	-			妊娠 7~20 日に軽度な増加抑制	
	妊 娠 数 (率)	16 (94.1)	14 (82.4)	15 (88.2)	14 (82.4)	
	流 産	0	0	0	1	
	総吸収胚数	0	0	1	0	
動物	生存児を有する動物数	16	14	14	13	
	着床所見	黄 体 数	13.1	12.7	12.1 [12.9]	11.6
		着 床 数	7.6	6.6	7.2 [7.7]	7.5
		着床後死胚数(率)	0.8 (10.7)	0.6 (8.6)	0.8 (11.1)	1.0 (13.4)
		生存胎児数	6.6	6.1	6.3 [6.8]	6.2
		死亡胎児数	0	0	0.1 [0.1]	0.2
胎児動物	体 重 (g)	雄	43.3	43.5	43.0	43.5
		雌	43.8	40.2	41.5	43.4
	性 別 (雄%)	51.9	45.9	55.8	48.1	
	外 表 異 常	2 (2) / 106 (臍帯ヘルニア)	1 (1) / 85 (二分脊椎)	1 (1) / 96 (臍帯ヘルニア)	1 ¹⁾ (1) / 84 (二分脊椎)	
	骨 格 異 常	化 骨 遅 延				
		舌骨の未骨化	6 (6) / 106	2 (2) / 85	4 (4) / 95	4 (3) / 81
		椎体の未骨化	7 (6) / 106	2 (2) / 85	7 (6) / 95	1 (1) / 81
		変 異				
	奇 形	頭骨閉鎖 75%以下	4 (3) / 106	5 (3) / 85	3 (2) / 95	4 (3) / 81
		肋骨末端部肥大	7 (4) / 106	12 (8) / 85	11 (6) / 95	17** (7) / 81
		奇 形	1 (1) / 106 (頸肋痕跡)	3 (3) / 85 (頭骨閉鎖<50% 1) (12 肋骨以下・腰椎 /仙椎弓未化骨 1) (癒合肋骨 1)	2 (2) / 95 (癒合肋骨 2)	1 ¹⁾ (1) / 81 (仙椎弓未化骨 1)
	内 臓 異 常	変 異				
肺中間葉の欠損		7 (5) / 106	3 (2) / 85	13 (6) / 95	10 (7) / 81	
奇 形	0 (0) / 106	2 (2) / 85 (変位腎 1) (胆嚢欠損 1)	1 (1) / 95 (心室中隔欠損)	2 (2) / 81 (胆嚢欠損 1) (心房中隔欠損・ 大動脈拡大 1)		

(注) 空欄は検体投与に起因する変化なし。

着床所見は一腹当たりの数値、[]内数値は生存児を有する動物数当たりの数値。

胎児動物所見の () 内数字は親動物数。異常 (外表, 骨格, 内臓), 数値: 該当胎児数 / 検査胎児数。

¹⁾ 同一個体。*: P<0.05, **: P<0.01 (親動物体重: Levine's test, 胎児所見: Fisher 直接確率検定)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

親動物への影響

100mg/kg 投与群で、投与期間中（妊娠7～20日）、体重増加抑制がみられた。

胎児動物への影響

骨格検査において、100mg/kg 投与群で肋骨末端部肥大（変異）を示す例が増加した。20mg/kg 以下の投与群においては、生存率、体重、性別及び異常（外表、骨格、内臓）発現率の各項目とも対照群と投与群との間に差は認められず、検体投与によると考えられる影響はなかった。

以上の結果から、本検体をウサギに投与した場合、親動物および児動物における無毒性量は20mg/kg/日であると判断した。また、胎児に対する催奇形性は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(12) 変異原性

①細菌を用いた復帰突然変異試験

(毒性 24)

試験機関:

報告書作成年: 1981年

検体の純度: %

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP 2 *uvrA*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、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 に溶解した。労働安全衛生法に基づく (変異原性試験) のガイドラインに準じて最高投与量を 5000 μ g/プレートとし、5~5000 μ g/プレートの範囲の7濃度で実施した。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体は、代謝活性化を含め最高投与量である 5000 μ g/プレートの濃度においても、復帰コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、ACR、2-NF、B(a)P 及び 2-AA ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

結果(2回測定した平均値)

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		-	15	12	111	12	17	32
検体	5	-	22	5	118	12	20	30
	10	-	15	11	112	17	16	25
	50	-	13	8	102	11	19	34
	100	-	16	9	100	6	15	38
	500	-	16	10	83	6	16	49
	1000	-	17	10	22	11	9	7
	5000	-	2	5	-	-	-	-
対照(DMSO)		+	16	9	124	22	35	46
検体	5	+	16	8	128	14	31	38
	10	+	15	9	131	25	37	50
	50	+	21	9	119	21	43	66
	100	+	13	4	132	23	40	64
	500	+	18	8	122	20	31	49
	1000	+	17	7	120	21	45	52
	5000	+	10	9	104	20	23	57
陽性 対照	AF-2	0.01	-	419		751		
	AF-2	0.1	-					663
	ENNG	5	-		226			
	ACR	80	-				561	
	2-NF	2	-					501
	2-AA	4	+		217			
	2-AA	40	+	1183				
B(a)P	5	+			774	294	396	864

- AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
 ENNG : 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン
 ACR : 9-アミノアクリジン
 2-NF : 2-ニトロフルオレン
 2-AA : 2-アミノアントラセン
 B(a)P : 3,4-ベンツピレン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

② チャイニーズハムスターの肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(毒性 25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度： %

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した肺線維芽細胞を用いた検体は DMSO に溶解して用いた。あらかじめ細胞増殖抑制試験を行い、50%細胞増殖抑制濃度以上が1点含まれる4濃度を試験濃度として設定した。本試験の濃度は非代謝活性化法で56µg/mL、代謝活性化法(S-9Mix 添加)の160µg/mLまでとした。各濃度で200個の分裂中期像を観察した。染色体異常をギャップ(gap)、切断(break)、交換(exchange)、環状形成(ring formation)、細片化(fragmentation)、その他(others)に分類し計測した。異常を有する細胞の出現頻度は5%未満を陰性(-)、5~10%を擬陽性(±)、10%以上を陽性(+)とした。

結果：

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (µg/mL)	適用後 時間	異常を有する細胞数						評価	
				ギャップ	切断	交換	環状形成	細片化	その他		
非活性化	対照 (DMSO)	0	24	1	0	0	0	0	0	-	
			48	0	0	1	0	0	0	-	
	検体	7	24	1	1	0	0	0	1	-	
			48	2	2	0	0	0	0	-	
			14	24	2	0	0	0	0	0	-
				48	3	0	1	0	0	0	-
			28	24	2	0	0	0	0	0	-
48	6	0		2	0	0	0	-			
56	24	24	1	0	0	0	0	0	-		
		48	0	0	1	0	0	0	-		
	陽性対照 (MNNG ¹⁾)	3	48	8	45	72	9	2	10	+	
活性化	対照 (DMSO)	0	6	0	0	0	0	0	0	-	
			20	3	0	0	0	0	0	-	
	検体	40	6	1	0	2	0	0	0	-	
			80	0	0	0	0	0	0	-	
			160	6	3	1	1	0	0	0	-
				6	3	1	1	0	0	0	-
	陽性対照 (B(a)P ²⁾)	30	6	10	39	94	13	0	3	+	

1) N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2) 1,2-ベンゾピレン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

検体投与群は細胞増殖を抑制した濃度を含め、染色体異常の発現頻度は各濃度とも 24、48 時間処理のいずれにおいても溶媒対照に比して有意な増加はなかった。

一方、陽性対照として用いた MNNG、B(a)P では顕著な染色体異常の増加がみられた。

以上の結果から、本検体におけるチャイニーズハムスター肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験での変異原性は陰性であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

③ 細菌を用いた DNA 修復性試験

(毒性 26)

試験機関：

報告書作成年： 1981 年

検体の純度： %

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、代謝活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。最高投与量を 5000 μ g/disk とした。

結果：

薬物	濃度 (μ g/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照 (DMSO)	0	0	0	0
検体	100	0	0	0
	500	1	2	< 0
	1000	3	3	0
	5000	12	12	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	12	11	1
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	13	0	13

(注) 数字は 3 回測定した平均値

検体投与群では最高投与量である 5000 μ g/disk においても両株に生育阻止の差を認めなかった。一方、陽性対照のマイトマイシン C では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果から、ベンゾフェナップは DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

④ マウスにおける小核試験

(資料 27)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2007年

検体の純度： %

供試動物：ICR(Crlj:CD-1)系マウス、(試験開始時：9週齢、体重雄 33.1~37.4g)
1群雄各5匹

投与方法：検体を局方オリーブ油に懸濁し、0、500、1000および2000mg/kgの投与量で強制経口投与した。シクロホスファミドは注射用蒸留水を用いて調製し、同一の方法で投与した。陰性対照には局方オリーブ油のみを同一の方法で投与した。投与回数は24時間間隔で2回とした。投与用量はいずれの場合も10mL/kg体重とした。最終投与24時間後に、各動物の尾静脈から血液を採取して検査用の塗抹標本を作製した。標本を染色後、落射蛍光顕微鏡を用いて評価した。各動物につき2000個の幼若赤血球を観察し、小核を有する赤血球の出現頻度を記録した。同時に1000個の赤血球を観察し、全赤血球に対する幼若赤血球の割合を記録した。

用量設定の根拠：

急性経口毒性試験の結果(資料5)を基に、小核試験の限度用量である2000mg/kgについて骨髓の細胞毒性を検討した結果、造血機能に何ら影響を示さなかった。この結果に基づいて、最高用量を2000mg/kgとし、公比2で1000および500mg/kgを設定した。

試験結果：

1) 一般症状

全群において、死亡および一般症状の変化は認められなかった。
各投与群において、投与による体重の変化は認められなかった。

2) 突然変異誘発性

塗抹標本の観察結果を表に示した。

幼若赤血球中の小核出現頻度に関して、陰性対照群と検体投与群の間に生物学的に重要あるいは統計学的に有意な差は認められなかった。また、各投与群共に全赤血球に対する幼若赤血球の割合に変化は見られず、骨髓に対する細胞毒性は認められなかった。

陽性対照であるシクロホスファミドの小核出現頻度は、統計学的に有意な増加が認められた。また、全赤血球に対する幼若赤血球の割合については、統計学的な有意差は

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

認められないものの、減少傾向を示し、骨髄に対する細胞毒性が示唆された。

以上の結果から本試験条件下において、検体は末梢血の幼若赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

薬物	投与量 (mg/kg×2)	MNPCE (%) (平均値±SD)	PCE/RBC (%) (平均値±SD)
陰性対照 局方オリーブ油	0	2.3±1.3	3.2±1.6
検体	500	3.2±1.5	2.9±0.7
	1000	2.3±1.2	3.1±0.7
	2000	3.3±2.3	3.3±0.5
陽性対照 シロホスファミド	40	12.0±3.6**	1.4±0.7

** : $p < 0.01$ KastenbaumとBowmanの検定

MNPCE : 小核を有する幼若赤血球

PCE/RBC : 幼若赤血球/全赤血球

(13) 生体の機能に及ぼす影響
ベンゾフェナップの一般薬理試験

(資料 28)

試験機関：
報告書作成年：1986年

検体の純度： %

投与方法：検体は0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC）水溶液に懸濁し
3000mg/kgを強制経口投与した。投与容量は0.2ml/10g（マウス）、2.0ml/100g
（ラット）とし、対照群にはCMC水溶液を同容量投与した。

① マウスの自発行動に及ぼす影響

供試動物：ICR系マウス 体重27.3~31.3g, 1群雄10匹

観察方法：症状の観察はIrwinの多次元観察法に準じた。

結果：対照群と比較して何ら特異な症状はみられなかった。

② マウスの自発運動に及ぼす影響

供試動物：ICR系マウス, 供試時; 体重25.0~29.5g, 1群雄10匹

観察方法：自発運動の運動量をIrwinの回転カゴ法に従って検討した。

結果：対照群と比較して極めて軽度の抑制がみられたが統計学的に有意な変化は認められなかった。

③ ラットの体温への影響

供試動物：Wistar系ラット, 供試時; 体重168~205g, 1群雄10匹

観察方法：投与前、投与30分、1、3、5及び24時間後、直腸温を測定した。

結果：対照群と比較して有意な変化はみられなかった。

以上の試験結果より、検体は哺乳動物の生体機能に影響を及ぼさないと考えられる。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

項目		投与経路	投与量 mg/kg	動物数/ 群	無作用量 mg/kg	作用量 mg/kg	結果の 概要
中 枢 神 経 系	マウスの自発行動 (Irwin法)	経口	0, 3000	♂:10	♂:3000	—	影響なし
	マウスの自発運動 (回転カゴ法)	経口	0, 3000	♂:10	♂:3000	—	影響なし
	ラットの体温	経口	0, 3000	♂:10	♂:3000	—	影響なし

(14) その他

検体投与による尿中アセト酢酸測定試験

(資料 29)

試験機関：

報告書作成年：1991年

検体の純度： %

試験動物：B6C3F₁系マウス 10週齢雌 投与群5匹、対照群3匹(体重範囲17.0~18.3g)
フィッシャー系ラット 10週齢雌 投与群5匹、対照群3匹(体重範囲137~153g)
いずれも長期毒性試験に使用した系統と同じ。

投与方法(投与量)：0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、金属製ソンドを用いて単回強制経口投与(3000mg/kg)した。

試験方法：投与後16時間に腹部圧迫法により新鮮尿を採取し、①試験紙による尿中ケトン体の検査および②尿中アセト酢酸のHPLCによる分析を行った。

また、ベンゾフェナップをアルカリ条件下で分解させ、試験紙との反応性と、化学構造の解析を行った。さらにラット及びマウスの尿中代謝物について検討した。

結果：マウスおよびラットとも尿試験紙検査では、対照群で陰性、ベンゾフェナップ投与群では陽性であった。一方、全動物の尿についてケトン体のうち試験紙で陽性反応を示すアセト酢酸を分析したところ、いずれの動物の尿からもアセト酢酸は検出されなかった。

また、マウス・ラット尿中代謝物についてGC/MSで解析したところ、ベンゾフェナップのp-メチルアセトフェノン部分が開裂し、フェニル環が水酸化されたと思われる代謝物(ベンゾイックギ酸)の存在が示唆された。

さらに、ベンゾフェナップのアルカリ分解物のうち、試験紙で陽性反応を示したものについて構造解析をしたところ、p-メチルベンゾイックギ酸が生成していた。

以上のことから、ケトン体試験紙での陽性反応は、ベンゾフェナップの代謝物による偽陽性反応であり、その代謝物はベンゾフェナップのp-メチルアセトフェノン部分が開裂し、さらにフェニル環が水酸化された化合物であることが推定された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物

(1) 急性毒性

①原体混在物・動物、植物及び土壌中代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験
(資料 30)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度： %

試験動物：Wistar系ラット（6週齢）1群雌雄各10匹

体重 雄：130～147g、雌：99～108g

試験期間：14日間観察

方法：検体を滅菌蒸留水で希釈して強制経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共に>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時期	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

死亡例はなく、LD₅₀は雌雄とも5000mg/kg以上であった。

観察期間を通じて中毒症状の発現はなく、また生存例の解剖でも諸臓器に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

②原体混在物・動物、植物、土壌及び水中代謝物のラットにおける急性経口毒性試験
(資料 31)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1985年

検体の純度: %

試験動物: Wistar系ラット (6週齢) 1群雌雄各10匹

体重 雄: 123~143g、雌: 97~111g

試験期間: 14日間観察

方法: 検体を0.25%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 100, 130, 169, 220, 286 (公比 1.30) 雌 76.9, 100, 130, 169, 220 (公比 1.30)
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 144 (122~170) 雌 100 (85~117)
死亡開始時間及び終了時間	投与後2時間~3日
症状発現及び消失時期	投与後1時間~3日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 100, 雌 76.9

投与後1時間より自発性運動減少、横臥、体温低下、流涙、眼瞼下垂及び閉眼等が観察されて死亡例が発生した。

死亡及び生存動物ともに、解剖時の所見では雌雄ともに肉眼的異常は認められなかった。