

(11) 1年間反復経口投与毒性および発がん性

1) ラットを用いた混餌投与による24ヶ月間反復経口投与毒性試験

(資料 No.11)

試験機関:

報告書作成年:1982年

検体の純度:

試験動物 : SD系ラット 1群雌雄各55匹、開始時5週齢、体重:雄 149~188g、雌 102~149g

試験期間 : 24ヶ月

試験方法 : 検体を0、5、20、200および2000ppmの濃度で粉末飼料に混入し、固型飼料に成型して24ヶ月間にわたり随時摂食させた。検体混入飼料は約10週間毎に調製した。

投与開始後6および12ヶ月にそれぞれ1群雌雄各5匹および10匹を計画屠殺した。

【投与量設定根拠】

試験項目および試験結果:

一般症状;一般状態および生死を毎日観察した。

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。

試験期間中の死亡率を以下に示す。

投与量(ppm)		0	5	20	200	2000
死亡率 (%)	雄	20/40 (50)	26/40 (65)	21/40 (53)	23/40 (58)	16/40 (40)
	雌	21/40 (53)	22/40 (55)	22/40 (55)	26/39* (63)	27/40 (68)

\* :12ヶ月計画屠殺予定動物のうち1匹が死亡したため

体重変化;最初の3ヶ月間は毎週、その後は毎月1回測定した。

2000ppm群雌雄において投与後1ヶ月間の体重増加が軽度に抑制された。その後12ヶ月までは雌雄の投与群ともに対照群と比較して差はなかったが、投与13ヶ月以降2000ppm投与群の雌では体重の増加抑制が認められた。

摂餌量 : 最初の3ヶ月間は毎週、その後は毎月1回1週間の摂餌量を測定した。また、1ヵ月毎の食餌効率を算出した。

摂餌量および食餌効率ともに検体投与に伴う変化は認められなかった。

検体摂取量;摂餌量および投与濃度から算出した投与期間中の1日当たりの平均検体摂取量を次頁表に示す。

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農薬株式会社にある。

投与量 (ppm)		5	20	200	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.26	0.90	8.71	89.46
	雌	0.33	1.12	11.19	114.71

血液学的検査;投与 6 および 12 ヶ月時の計画屠殺動物と、24 ヶ月時の全生存動物を対象として、以下の項目を検査した。

赤血球数、白血球数、白血球百分率、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、MCV、MCH、MCHC

対照群と比較して有意差のみられた項目を下表に示す。

統計学的に有意であった群間差は、偶発的なもので毒性学的に有意ではないと考えられた。

投与量 (ppm)	5			20			200			2000									
	雌			雄			雌			雄			雌						
検査時期 (週)	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	
赤血球数					↑ 115														
Hb		↓ 91																↓ 95	
Ht		↓ 90																↓ 94	
白血球数														↑ 125					
リンパ球数					↑ 127			↓ 82						↓ 86			↑ 121		
好中球数					↓ 62			↑ 174			↓ 65			↑ 149			↓ 63		↑ 138
MCV					↓ 93						↓ 94						↓ 94		
MCH									↑ 105								↑ 104		
MCHC					↑ 105												↑ 107		↑ 106

↓ ↑: p<0.05、↓↑: p<0.01 で統計学的有意差を示す (Student の t-検定)

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。5 ppm 群雄では対照群と比較して有意差はみられなかった。

血液生化学的検査;投与 6 および 12 ヶ月時の計画屠殺動物と、24 ヶ月時の全生存動物を対象として剖検時に採血し、分離した血清または血漿を用いて以下の項目について検査した。

グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、乳酸脱水素酵素(LDH)、アルカリホスファターゼ(ALP)、コリンエステラーゼ(Ch-E)、総タンパク(TP)、アルブミン(Alb)、A/G 比およびタンパク画分、糖(Gluc)、中性脂肪(TG)、総コレステロール(Chol)、リン脂質、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Creat)、Na、K、Cl

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農薬株式会社にある。

対照群と比較して有意差のみられた項目を下表に示す。

統計学的に有意であった群間差は、偶発的なもので毒性的に有意ではないと考えられた。

投与量 (ppm)	5						20						200						2000						
	雄			雌			雄			雌			雄			雌			雄			雌			
検査時期 (週)	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	
GPT																			↓ 77			↓ 70			
GOT																			↓ 72			↓ 69			
ALP													↓ 63									↓ 59			↓ 68
Ch-E																			↓ 79						↑ 137
TG											↓ 64								↓ 71						↓ 43
Chol					↑ 122									↑ 136						↑ 137				↑ 119	
Creat						↓ 93																↓ 35			
Gluc					↓ 91						↓ 85						↓ 82					↓ 75	↓ 93	↓ 81	
TP											↑ 109									↑ 105					
Alb								↓ 97						↓ 97						↓ 95				↓ 94	
A/G																								↓ 92	
α1-glob																				↑ 109				↓ 89	
α2-glob																				↑ 101					
α3-glob									↓ 82						↓ 79							↓ 77			
β-glob														↓ 88											
γ-glob																								↑ 132	
Cl														↑ 101										↓ 98	

↓ ↑ : p<0.05, ↓↓ ↑↑ : p<0.01 で統計学的有意差を示す (Student の t-検定)

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

BSP 排泄試験; 24 ヶ月時に対照群および 2000ppm 群の雌雄各 5 匹を対象に、BSP 投与後 15 分の血清を用いて、血中停滞率を測定した。

対照群の 1 匹でわずかな BSP の停滞がみられたが、その他の動物では異常値はみられなかった。

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農薬株式会社にある。

尿検査 ; 投与 6 および 12 ヶ月時の計画屠殺動物と、24 ヶ月時の全生存動物を対象として、以下の項目について検査した。

pH、糖、タンパク質、ウロビリノーゲン、沈渣

いずれの項目についても、検体投与に伴う変化は認められなかった。

PSP 排泄試験 ; 24 ヶ月時に対照群および 2000ppm 群の雌雄各 5 匹を対象に、1 匹当たり PSP の 0.6 mg を筋肉内注射後 30 分および 2 時間に採取した尿を用いて PSP 排泄率を測定した。

対照群雄 3 匹で 50% 以下の総排泄率を示したが、2000ppm 群雌雄ではいずれも 50% 以上の総排泄率であった。

臓器重量 ; 6 および 12 ヶ月時の計画屠殺動物と、24 ヶ月時の全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、体重比を算出した。

脳、下垂体、甲状腺、心、肺、胸腺、肝、腎、脾、副腎、精巣、精囊腺、前立腺、  
卵巣、子宮

対照群と比較して有意差のみられた項目を次表に示す。

6 ヶ月の検査で 2000ppm 群雌において甲状腺の重量および体重比の増加、2000ppm 群雌雄で肝の体重比が増加した。2000ppm 群雌で腎の体重比が増加したが、本群の体重が対照群と比較して低いことに起因するものであった。12 ヶ月の検査では 2000ppm 群雌雄において肝重量および体重比が増加し、2000ppm 群雌で甲状腺重量および体重比が増加した。試験終了時の検査では 2000ppm 群雄で肝重量および体重比が増加し、2000ppm 群雌で肝体重比が増加した。

その他にも対照群と比較して有意差のみられた臓器が散見されたが、用量に依存した変化ではないことから検体投与に関連するものではなかった。

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農薬株式会社にある。

投与量 (ppm)	5						20						200						2000							
	雄			雌			雄			雌			雄			雌			雄			雌				
検査時期 (週)	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104	26	52	104		
脳重量			↑ 102																		↑ 103					
脳体重比																								↑ 119		
下垂体重量																		↑ 191								
下垂体体重比					↑ 150													↑ 197								
甲状腺重量																					↑ 176	↑ 153	↑ 125			
甲状腺体重比																						↑ 170	↑ 129			
胸腺重量			↓ 69																							
胸腺体重比												↓ 50														
心体重比																		↑ 116						↑ 119		
肺体重比																		↑ 112								
肝重量																					↑ 122	↑ 115		↑ 130		
肝体重比																					↑ 121	↑ 123	↑ 124	↑ 127	↑ 134	↑ 112
脾重量			↑ 145																							
腎体重比																		↑ 113	↑ 117	↑ 111		↑ 117	↑ 113	↑ 121		
副腎体重比																										
前立腺重量			↓ 76												↓ 76											
前立腺体重比															↓ 71											
精囊腺体重比			↓ 76												↓ 74											

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 で統計学的有意差を示す (Student の t-検定)

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

肉眼的病理検査; 投与6および12ヶ月時の計画屠殺動物と、24ヶ月時の全生存動物および死亡動物を対象として肉眼的病理検査を実施した。途中死亡動物および切迫屠殺動物はその都度剖検した。

6ヶ月の検査では、2000ppm 群雄で肝腫大が観察された。試験終了時の検査では2000ppm 投与

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農薬株式会社にある。

群において、肝の暗褐色調が雌雄それぞれ数例に、粟粒大の暗赤色巣が雄に多く認められ、また、甲状腺の腫大が雄で多く認められた。その他には検体投与に伴う変化は認められなかった。

病理組織学的検査:重量を測定した臓器に加え、以下の臓器・組織について病理組織学的に検査した。また、肝および腎については、凍結切片を作成し Sudan III 染色した。6ヶ月時計画屠殺動物の 2000ppm 群の雌雄各 2 匹、24ヶ月時最終屠殺動物の 2000ppm 群の雄 1 匹について肝の電子顕微鏡検査を実施した。

眼球、脾、食道、胃、小腸、大腸、唾液腺、腸間膜リンパ節、膀胱、骨髄、  
腫瘍発生が認められた全臓器・組織

#### 【非腫瘍性病変】

検体投与による変化は、肝および甲状腺に認められた。2000ppm 群の雌雄ともに小葉中心帯肝細胞の肥大がみられた。次表に肝および甲状腺に観察された病変を示す。

12ヶ月の検査では肝細胞の肥大は雄では 4/10 匹に、雌では 10/10 匹にみられ、雌では肝細胞核の軽度肥大を伴っていた。24ヶ月の検査では、肝細胞肥大増生結節の発生頻度が対照群におけるよりもやや高かった。2000ppm 群雌雄で甲状腺濾胞上皮細胞の肥大、増生がいずれの検査時でもほとんど全ての例に観察され、200ppm 群では、12ヶ月検査時に雄の数例で観察された。肝の電子顕微鏡検査では、滑面小胞体の増生が観察されたが、その他の細胞内小器官には異常はみられなかった。

非腫瘍性病変発生頻度

検査 時期	性		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	5	20	200	2000	0	5	20	200	2000
6 ヶ 月	検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	肝	肝細胞脂肪化	4	5	5	5	5	5	4	4	5	4
		肝細胞肥大	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
		肝細胞核肥大	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0
		単細胞性肝細胞壊死	2	2	4	2	2	1	2	2	1	1
		巣状肝細胞壊死	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		胆管増生	0	1	1	2	0	1	1	1	1	2
		限局性類洞拡張	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
		門脈域小円形細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
	小円形細胞浸潤巣	3	4	4	5	5	5	3	3	4	5	
	甲状腺	小濾胞増加	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1
		濾胞上皮細胞肥大・増生	0	0	0	1	5	0	0	0	1	5
		旁濾胞細胞増生	0	1	0	1	3	0	0	0	0	0
1 2 ヶ 月	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	肝	肝細胞脂肪化	10	10	10	10	10	10	8	10	8	9
		肝細胞水種性変性	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
		肝細胞肥大	0	0	0	0	4	2	0	0	0	10
		肝細胞核肥大	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
		単細胞性肝細胞壊死	1	3	3	4	0	0	0	0	0	1
		巣状肝細胞壊死	0	1	0	1	1	0	0	0	2	4
		明調肝細胞巣	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		肝細胞肥大増生巣	5	0	1	1	1	0	0	0	0	1
		肝細胞肥大増生結節	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		胆管増生	0	0	2	0	1	0	0	4	1	1
		限局性類洞拡張	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1
		血腫	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
		門脈域出血	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		クッパー細胞肥大	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1
		類洞炎症細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		門脈域炎症細胞浸潤	2	2	3	3	2	0	0	0	1	3
		小円形細胞浸潤巣	1	2	6	4	4	2	3	5	9	7
髓外造血巣	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0		

X<sup>2</sup>-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農薬株式会社にある。

検査 時期	性		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	5	20	200	2000	0	5	20	200	2000
1 2 ヶ月	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	甲状腺	小濾胞増加	3	3	4	2	5	0	1	4	2	9
		濾胞上皮細胞肥大・増生	0	0	0	2	8	0	0	0	0	10
		旁濾胞細胞増生	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
		上皮小体肥大	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0
2 4 ヶ月	検査動物数		20	14	19	17	24	19	18	18	15	13
	肝	肝細胞脂肪化	20	14	19	17	23	18	17	18	14	11
		肝細胞水腫変性	8	8	8	5	7	1	7	3	0	2
		肝細胞硝子様小体	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		肝細胞肥大	1	0	0	0	7	0	0	0	0	2
		肝細胞核肥大	5	6	8	4	6	6	6	6	6	6
		単細胞性肝細胞壊死	6	7	8	1	11	2	3	3	0	6
		巣状肝細胞壊死	1	3	7	0	6	2	1	5	2	4
		肝細胞肥大増生巣	7	7	8	6	9	5	6	5	5	6
		肝細胞肥大増生結節	1	1	4	0	7	0	2	2	3	5
		胆管増生	9	7	12	5	11	10	6	7	8	10
		胆管嚢胞	0	0	0	1	2	1	1	1	0	2
		限局性類洞拡張	7	5	3	2	13	6	2	4	2	3
		門脈域出血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		クッパー細胞肥大	13	9	9	2	10	10	7	8	8	6
		限局性クッパー細胞増生	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		類洞炎症細胞浸潤	3	8	7	0	0	0	0	0	0	0
		門脈域小円形細胞浸潤	5	0	1	8	10	8	6	6	7	6
		小円形細胞浸潤巣	11	8	8	9	14	16	11	14	11	7
		線維増生	0	4	3	0	1	0	1	0	0	0
	瘢痕形成	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	髓外造血巣	0	0	0	0	1	4	2	3	4	1	
	甲状腺	小濾胞増加	5	1	0	3	4	2	1	0	3	6
		濾胞上皮細胞肥大・増生	0	1	0	1	24	0	0	0	0	9
		旁濾胞細胞増生	2	1	0	3	19	0	0	0	0	10
		旁濾胞細胞増生結節	0	0	0	0	1	3	2	4	6	1
		甲状腺炎	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
動脈周囲炎		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
上皮小体肥大		4	5	6	4	4	4	8	6	4	4	

X<sup>2</sup>-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農薬株式会社にある。

【腫瘍性病変】

下垂体腺腫および乳腺腺腫など加齢に伴って高頻度に出現する変化が、対照群および各投与群にみられたが、発生頻度に有意差はみられなかった。また、対照群あるいは投与群の少数例にみられた腫瘍についても検体投与によると考えられる影響はなかった。

結 論： 以上から、200ppm 以上の投与群で小葉中心帯肝細胞の肥大および甲状腺濾胞上皮の肥厚、増生が認められたことから、本剤の最大無作用量は 20ppm (雄 0.90 mg/kg/日、雌 1.12 mg/kg/日)であると判断する。また、発がん性はみられなかった。

<申請者註> 本試験における無毒性量も雌雄ともに 20ppm と判断された。

腫瘍性病変発生頻度-1

性			雄					雌				
投与量(ppm)			0	5	20	200	2000	0	5	20	200	2000
6ヶ月	検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	下垂体	B 腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
12ヶ月	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	下垂体	B 腺腫	0	0	1	0	0	0	2	3	2	0
	副腎	B 褐色細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮	B 平滑筋腫	/	/	/	/	/	1	0	1	0	0
	皮下組織	B 線維腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
B 乳腺腺腫		0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	
24ヶ月	検査動物数		20	14	19	17	24	19	18	18	15	13
	脾	B 脾島腺腫	0	0	0	2	1	2	2	0	0	0
	胃	B 腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	小腸	M 細網肉腫	1	0	0	0	0		1	0	0	0
	腎	B 腺腫	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
		B 腎芽腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	M 腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	M 血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	脾	M リンパ肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ節	M リンパ肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M 細網肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	胸腺	B 胸腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	下垂体	B 腺腫	10	5	13	9	15	13	15	16	14	12
		B 神経細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	M 腺癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		B 旁濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	1	2	1	0	0	0
	上皮小体	B 腺腫	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	副腎	B 皮質腺腫	2	2	1	1	5	2	2	1	5	1
		M 癌腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		B 褐色細胞腫	9	5	5	8	4	0	0	0	1	3
	子宮	B 腺腫	/	/	/	/	/	0	0	1	0	0
		M 腺癌	/	/	/	/	/	0	0	1	0	0
		B 平滑筋腫	/	/	/	/	/	2	2	0	0	0
		B 血管腫	/	/	/	/	/	0	1	0	0	0

B: 良性腫瘍、 M: 悪性腫瘍 X<sup>2</sup>-検定

腫瘍性病変発生頻度-2

性			雄					雌				
投与量(ppm)			0	5	20	200	2000	0	5	20	200	2000
24ヶ月	検査動物数		20	14	19	17	24	19	18	18	15	13
	皮下組織	B 線維腫	/	/	/	/	/	1	0	0	0	0
		B 線維腫	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		M 線維肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		B 脂肪腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		B 血管腫	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
		M 乳腺腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		B 乳腺腺腫	0	1	0	0	1	13	12	13	8	7
皮膚	M 脂腺腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
途中死亡・切迫屠殺	検査動物数		20	26	13	23	16	21	22	22	26	27
	膵	B 膵島腺腫	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0
		M 腺癌	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0
	小腸	M 細網肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腎	B 腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		M 癌腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	M 神経鞘腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	リンパ節	M 細網肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	血液系	M 白血病	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		下垂体	B 腺腫	5	11	10	7	5	15	19	21	16
	M 腺癌		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	B 腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		M 腺癌	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		B 旁濾胞細胞腺腫	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
	上皮小体	B 腺腫	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	副腎	B 皮質腺腫	0	0	0	1	0	0	0	4	1	2
		B 褐色細胞腫	2	0	1	0	2	0	0	1	1	1
	子宮	B 腺腫	/	/	/	/	/	1	0	0	1	0
		M 腺癌	/	/	/	/	/	0	1	1	0	0
		M 扁平上皮癌	/	/	/	/	/	0	1	0	0	0
M 平滑筋肉腫		/	/	/	/	/	0	0	0	1	0	
大脳	B 希突起膠細胞腫	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	
	B 髓芽細胞腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍 X<sup>2</sup>-検定

腫瘍性病変発生頻度-3

性			雄					雌					
投与量 (ppm)			0	5	20	200	2000	0	5	20	200	2000	
途中死亡・切迫屠殺	検査動物数		20	26	21	23	16	21	22	22	26	27	
	延髄	B	上衣細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		B	上衣細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	小脳	B	上衣細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		B	上衣細胞腫	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	脊髄	B	上衣細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		B	希突起膠細胞腫	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	胸腔内	M	細網肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	腹腔内	M	細網肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
皮下組織	B	線維腫	1	0	3	1	0	1	0	1	0	1	
	M	乳腺腺癌	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
	B	乳腺腺腫	0	0	0	0	0	4	3	6	9	10	
全動物	検査動物数		55	55	55	55	55	55	55	55	55	55	
	膵	B	膵島腺腫	2	1	0	2	1	2	2	0	0	0
		M	腺癌	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0
	胃	B	腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	小腸	B	腺腫	2	0	0	0	0	0	1	0	0	
	腎	B	腺腫	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
		B	腎芽腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		M	癌	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	肺	B	腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M	腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	心	M	血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		M	神経鞘腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	リンパ節	B	血管腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	リンパ肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M	細網肉腫	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
	胸腺	B	胸腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		M	細網肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	血液系	M	悪性リンパ腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	下垂体	B	腺腫	17	17	25	19	21	32	38	40	35	35
		M	腺癌	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	B	腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
B		旁濾胞細胞腺腫	0	1	1	1	1	0	2	0	0	0	
M		腺癌	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	

B: 良性腫瘍、 M: 悪性腫瘍 X<sup>2</sup>-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農薬株式会社にある。

腫瘍性病変発生頻度-4

性		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	5	20	200	2000	0	5	20	200	2000	
全動物	検査動物数		55	55	55	55	55	55	55	55	55	
	上皮小体	B 腺腫	0	2	2	1	3	0	0	0	0	
	副腎	B 皮質腺腫	6	10	4	5	8	8	5	6	9	7
		B 褐色細胞腫	16	9	10	11	6	1	0	1	2	5
		M 癌	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮	B 腺腫	/	/	/	/	/	1	0	1	1	0
		B 平滑筋腫	/	/	/	/	/	3	2	2	0	1
		B 血管腫	/	/	/	/	/	0	1	0	0	0
		M 腺癌	/	/	/	/	/	0	1	2	0	0
		M 扁平上皮癌	/	/	/	/	/	0	1	0	0	1
	膣	B 線維腫	/	/	/	/	/	1	0	0	0	0
	大脳	B 希突起膠細胞腫	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
		B 髓芽腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	小脳	B 上衣細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	脊髓	B 希突起膠細胞腫	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	腹腔内	M 細網肉腫	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
		M 平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	B 皮脂腺腫	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	皮下	B 線維腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		B 脂肪腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		B 海綿状血管腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		B 乳腺腺腫	0	1	0	0	1	21	19	20	20	19
		M 線維肉腫	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
		M 乳腺腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0
	総腫瘍数		48	47	53	44	44	80	77	77	70	73
担腫瘍動物数		35	29	30	27	28	38	44	43	40	39	
1匹当たりの腫瘍数		1.4	1.6	1.8	1.8	1.6	2.1	1.8	1.8	1.8	1.9	

B: 良性腫瘍、 M: 悪性腫瘍 X<sup>2</sup>-検定

2) ラットを用いた混餌投与による24ヶ月間経口投与毒性試験

肝臓および甲状腺の病理組織学的再検査

(資料 No. 71)

試験機関:

報告書作成年:1995年

背景および目的:

方法: ラットを用いた混餌投与による24ヶ月間経口投与慢性毒性試験および発がん性試験における肝臓および甲状腺病変の病理組織学的検査所見を再分類するために病理組織標本を SEP\* (EPA/OPP)に準じて再検査した。

\* SEP: Standard Evaluation Procedure: Oncogenicity Evaluation [Office of Pesticide Programs; Harzard Evaluation Division]

結果: 肝臓および甲状腺の病理組織学検査の原報告および再検査所見で統計学的有意差のみられた項目を以下に示す。

<肝臓>

腫瘍性、過形成性および肥大性病変を下表に示す。

性別		雄					雌				
投与量(ppm)		0	5	20	200	2000	0	5	20	200	2000
肝細胞腺腫	再検査	1/39 (2.6%)	1/37 (2.7%)	3/39 (7.7%)	0/40 (0.0%)	4/40 (10.0%)	0/39 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	3/39 (7.7%)
	原報告	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)
肝細胞癌	再検査	1/39 (2.6%)	0/37 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0.0%)	1/40 (2.5%)	0/39 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/39 (0.0%)
	原報告	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)
肝細胞腺腫 + 肝細胞癌	再検査	2/39 (5.1%)	1/37 (2.7%)	3/39 (7.7%)	0/40 (0.0%)	5/40 (12.5%)	0/39 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	3/39 (7.7%)
	原報告	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0/0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)
過形成性結節	原報告	2/40 (5.0%)	1/40 (2.5%)	5/40 (12.5%)	1/40 (2.5%)	7/40# (17.5%)	0/30 (0.0%)	3/40 (7.5%)	2/40 (5.5%)	4/40# (10.0%)	6/40# (15.0%)
過形成巣	原報告	8/40 (20.0%)	10/40 (25.0%)	10/40 (25.0%)	10/40 (25.0%)	10/40 (25.0%)	6/39 (15.4%)	10/40 (25.0%)	6/40 (15.0%)	7/40 (17.5%)	11/40 (27.5%)
小葉中心性肥大	再検査	0/39 (0.0%)	0/37 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0.0%)	11/40# (27.5%)	0/39 (0.0%)	0/37 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/40 (0.0%)	14/39# (35.9%)
び慢性肥大	再検査	2/39 (5.1%)	2/37 (5.4%)	3/39 (7.7%)	2/40 (5.0%)	7/40# (17.5%)	5/39 (12.8%)	1/39 (2.6%)	3/40 (7.5%)	4/40 (10.0%)	6/39 (15.5%)

#: p<0.05(カイニ乗検定)

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農薬株式会社にある。

原報告書では過形成結節の発生率が2000ppm 群雌雄および200ppm 群雌で有意に増加した。再検査では、200ppm 群雌(4/40)の過形成性結節はいずれも肝細胞腺腫に分類されなかった。2000ppm 群雌雄では過形成性結節の雄4例(原報告7/40例)および雌3例(原報告6/40例)が肝細胞腺腫に再分類された。

時間相関性の可能性をみるために検査時期に応じた発生頻度を検討した結果、下表に示すように2000ppm 群雌雄で肥大性病変のみが増加し、早期化はみられなかった。

性別		雄			雌		
検査時期		6ヶ月	12ヶ月	24ヶ月	6ヶ月	12ヶ月	24ヶ月
肝細胞腺腫	対照群	0.0%	0.0%	2.6%	0.0%	0.0%	0.0%
	2000ppm 群	0.0%	10.0%	10.0%	0.0%	0.0%	7.7%
肝細胞癌	対照群	0.0%	0.0%	2.6%	0.0%	0.0%	0.0%
	2000ppm 群	0.0%	0.0%	2.5%	0.0%	0.0%	0.0%
肝細胞腺腫 + 肝細胞癌	対照群	0.0%	0.0%	5.2%	0.0%	0.0%	0.0%
	2000ppm 群	0.0%	10.0%	12.5%	0.0%	0.0%	7.7%
小葉中心性肥大	対照群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	2000ppm 群	20.0%	40.0%	27.5%	100.0%	100.0%	35.9%
びまん性肥大	対照群	0.0%	0.0%	5.1%	0.0%	0.0%	12.8%
	2000ppm 群	0.0%	0.0%	17.5%	0.0%	0.0%	15.4%

潜在的な前腫瘍性病変と考えられる病変の発生頻度を下表に示す。200ppm 群雌において虎斑状好塩基性細胞巣が統計的に有意に増加したが、いずれの投与群においても用量に相関した増加はみられなかった。

病変	性	0 ppm	5 ppm	20 ppm	200 ppm	2000 ppm
好酸性細胞巣	雄	8/39 (20.5%)	5/37 (13.5%)	5/39 (12.8%)	6/40 (15.0%)	7/40 (17.5%)
単一好塩基性細胞巣		1/39 (2.5%)	2/37 (5.4%)	5/39 (12.8%)	1/40 (2.5%)	0/40 (0.0%)
虎斑状好塩基性細胞巣		3/39 (7.7%)	9/37 (24.3%)	3/39 (7.7%)	1/40 (2.5%)	4/40 (10.0%)
好酸性細胞巣	雌	4/39 (10.3%)	4/39 (10.3%)	5/40 (12.5%)	9/40 (22.5%)	11/39 (28.2%)
単一好塩基性細胞巣		1/39 (2.5%)	2/39 (5.1%)	2/40 (5.0%)	3/40 (7.5%)	0/39 (0.0%)
虎斑状好塩基性細胞巣		0/39 (0.0%)	1/39 (2.5%)	4/40 (10.0%)	6/40# (15.0%)	2/39 (5.1%)

#: p<0.05(カイ二乗検定)

再検査した病理組織学的検査で有意に増加した病変は、2000ppm 群雄の小葉中心性および、び

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農薬株式会社にある。

慢性肝細胞肥大、2000ppm 群雌の小葉中心性肝細胞肥大のみであった。本所見は、肝臓が肥大により生理学的に代償するために、軽度から中等度の肝毒性作用を示していると考ええる。

<甲状腺>

甲状腺病変の再検査結果を下表に示す。

病変	性	0 ppm	5 ppm	20 ppm	200 ppm	2000 ppm
濾胞上皮細胞腺腫	雄	0/36 (0.0%)	0/35 (0.0%)	0/38 (0.0%)	0/39 (0.0%)	1/39 (2.6%)
濾胞上皮細胞癌		0/36 (0.0%)	0/35 (0.0%)	0/38 (0.0%)	1/39 (2.6%)	0/39 (0.0%)
濾胞上皮細胞腺腫 + 濾胞上皮細胞癌		0/36 (0.0%)	0/35 (0.0%)	0/38 (0.0%)	1/39 (2.6%)	1/39 (2.6%)
濾胞上皮細胞肥大		6/36 (16.7%)	11/35 (31.4%)	12/38 (31.6%)	19/39# (48.7%)	25/39# (64.1%)
濾胞上皮細胞過形成		0/36 (0.0%)	0/35 (0.0%)	0/38 (0.0%)	0/39 (0.0%)	1/39 (2.6%)
C細胞腺腫		3/36 (8.3%)	2/35 (5.7%)	2/38 (5.3%)	1/39 (2.6%)	0/39 (0.0%)
C細胞癌		0/36 (0.0%)	0/35 (0.0%)	1/38 (2.6%)	1/39 (2.6%)	2/39 (5.1%)
C細胞腺腫 + C細胞癌		3/36 (8.3%)	2/35 (5.7%)	3/38 (7.9%)	2/39 (5.1%)	2/39 (5.1%)
C細胞過形成		22/36 (61.1%)	22/35 (62.9%)	28/38 (73.7%)	25/39 (64.1%)	33/39# (84.6%)
濾胞上皮細胞腺腫	雌	0/37 (0.0%)	0/36 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/33 (0.0%)	1/39 (2.6%)
濾胞上皮細胞癌		1/37 (0.0%)	0/36 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/33 (0.0%)	1/39 (2.6%)
濾胞上皮細胞腺腫 + 濾胞上皮細胞癌		1/37 (2.7%)	0/36 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/33 (0.0%)	2/39 (5.1%)
濾胞上皮細胞肥大		3/37 (8.1%)	2/36 (5.6%)	0/40 (0.0%)	1/33 (3.0%)	20/39# (51.3%)
濾胞上皮細胞過形成		0/37 (0.0%)	0/36 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/33 (0.0%)	1/39 (2.6%)
C細胞腺腫		2/37 (5.4%)	1/36 (2.8%)	0/40 (0.0%)	1/33 (3.01%)	0/39 (0.0%)
C細胞癌		0/37 (0.0%)	0/36 (0.0%)	0/40 (0.0%)	0/33 (0.0%)	0/39 (0.0%)
C細胞腺腫 + C細胞癌		2/37 (5.4%)	1/36 (2.8%)	0/40 (0.0%)	1/33 (3.01%)	0/39 (0.0%)
C細胞過形成		22/37 (59.5%)	20/36 (55.6%)	24/40 (60.0%)	23/33 (66.7%)	32/39# (82.1%)

#: p<0.05 (カイニ乗検定)

2000ppm 群雌雄では濾胞上皮細胞肥大およびC細胞過形成が有意に増加し、200ppm 群雌で濾胞上皮細胞肥大が有意に増加した。また、甲状腺腫瘍の増加はみられなかった。

下表に検査時期別の甲状腺病変の発生頻度を示す。時間に相関した病変の発生頻度の増加はみられなかった。



性別		雄			雌		
検査時期		6ヶ月	12ヶ月	24ヶ月	6ヶ月	12ヶ月	24ヶ月
濾胞上皮細胞腺腫	対照群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	2000ppm群	0.0%	0.0%	2.6%	0.0%	0.0%	2.6%
濾胞上皮細胞癌	対照群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	2.7%
	2000ppm群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	2.6%
濾胞上皮細胞腺腫 + 濾胞上皮細胞癌	対照群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	2.7%
	2000ppm群	0.0%	0.0%	2.6%	0.0%	0.0%	5.2%
濾胞上皮細胞肥大	対照群	20.0%	60.0%	17.0%	0.0%	40.0%	8.0%
	2000ppm群	40.0%	56.0%	64.0%	60.0%	90.0%	51.0%
濾胞上皮細胞過形成	対照群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	2000ppm群	40.0%	44.0%	33.0%	60.0%	10.0%	2.6%
C細胞腺腫	対照群	0.0%	0.0%	8.0%	0.0%	0.0%	2.6%
	2000ppm群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	5.4%
C細胞癌	対照群	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	2000ppm群	0.0%	0.0%	5.0%	0.0%	0.0%	0.0%
C細胞腺腫 + C細胞癌	対照群	0.0%	0.0%	8.0%	0.0%	0.0%	2.6%
	2000ppm群	0.0%	0.0%	5.0%	0.0%	0.0%	5.4%
C細胞過形成	対照群	40.0%	60.0%	61.0%	0.0%	50.0%	59.0%
	2000ppm群	40.0%	100.0%	85.0%	60.0%	100.0%	82.0%

原報告書で報告された甲状腺病変の発生率を以下に示す。原報告では濾胞上皮細胞癌が 20ppm 群および 2000ppm 群雄で各 1 例、濾胞上皮細胞腺腫が 2000ppm 群雌で 1 例観察されているが偶発的所見と考えられたため割愛した。

雌雄ともに濾胞上皮細胞肥大または過形成は 2000ppm 群で有意に増加した。

病変	性	0 ppm	5 ppm	20 ppm	200 ppm	2000 ppm
濾胞上皮細胞の肥大 または過形成	雄	1/40 (2.5%)	1/40 (2.5%)	0/40 (0.0%)	3/40 (7.5%)	32/39# (82.0%)
	雌	0/39 (0.0%)	0/39 (0.0%)	0/40 (0.0%)	1/40 (2.5%)	17/40# (43.0%)

#:  $p < 0.05$  (カイニ乗検定)

原報告および再検査ともに、甲状腺が高用量で刺激されていることを示しているが、この高用量では肝臓にも肥大性反応が生じているので、甲状腺への影響は予想外のものではない。この甲状腺への影響は、おそらく肝臓での T3/T4 転換の増加に伴う TSH 分泌増加によるものと思われ、これはラットで既知の機序である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上より、検体により小葉中心性肝細胞肥大および甲状腺肥大および過形成が誘発されることは明らかである。これらはラットでは既知の徴候で、認められた甲状腺濾胞上皮細胞肥大および過形成の顕著で有意な増加は、肝臓に対する二次的影響と思われる。したがって、検体を 2000 ppm までラットに 24 ヶ月間混餌投与しても、肝臓または甲状腺に発がん性はないと結論される。

<発がん性試験に対する OPP/SEP 該当部分の適用>

EPA/OPP はげっ歯類発がん性における所見の評価ガイダンス(SEP: Standard Evaluation Procedure: Oncogenicity Evaluation)を定めている。SEP は、動物発がん性試験におけるデータの質の評価および/またはある物質がヒトに発がん性の危険要因をもたらす可能性のあるデータに基づく評価に一貫性を持たせるため EPA で作成されたものである。後者は、ある物質がヒトに腫瘍形成性または発がん性危険要因をもたらす可能性の評価であり、質的危険性の評価である。腫瘍形成性または発がん性作用の危険要因をもたらす可能性があることが確認されている物質に暴露した場合の危険性の量的評価とは異なる。

本ガイダンスに準じて、ラットを用いた混餌投与による 24 ヶ月間反復経口投与毒性試験(資料 No.11)を評価した。その結果、本試験は EPA ガイドライン 83-5(慢性毒性/発がん性併合げっ歯類試験)を満たし、「データの質」の問題であると考えられた。

再評価の結果、肝病変では有意な上昇を示した病変は 2000ppm 群雄の小葉中心性および、び漫性肝細胞肥大、ならびに 2000ppm 群の小葉中心性肝細胞肥大のみである。雌雄ラットの肝臓に腫瘍性病変の有意な増加はなく、用量傾向および時間傾向は認められない。

甲状腺については、対照群と比較していずれの投与群の雌雄も甲状腺腫瘍の有意な増加のないことは明らかである。甲状腺の腫瘍性病変に用量傾向および時間傾向は認められない。甲状腺では、非腫瘍性病変のみが増加している。2000ppm 群雌雄では濾胞上皮細胞肥大および C 細胞過形成がともに増加し、200ppm 群雄では濾胞上皮細胞肥大が有意に増加している。雄では濾胞上皮細胞肥大の用量傾向が有意であるが、時間傾向はみられない。

以上より、ラットにブプロフェジンを 24 ヶ月間混餌投与しても、総腫瘍数、いずれの部位の腫瘍数も統計学的に有意な増加を示さないと結論される。

3) ビーグル犬における 107 週間慢性毒性試験

(資料 No.12)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年 1982 年

検体の純度:

試験動物 : 純系ビーグル犬 1 群雌雄各 6 頭、開始時 24 週齢、入荷時体重: 5.0~8.1 kg

試験期間 : 107 週間

試験方法 : 各動物の最も新しい体重値をもとに検体を 0、2、20 および 200 mg/kg/日となるようにゼラチンカプセルに直接封入し、毎日 1 回、週 7 回、107 週間にわたり経口的に投与した。

【投与量設定根拠】

試験項目および試験結果:

一般症状: 毎日、一般状態および生死を観察した。

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。また、死亡動物も認められなかった。

体重変化: 週 1 回の頻度で測定した。

200 mg/kg/日群雄で投与最初の 6 ヶ月間で体重の増加抑制がみられたが、統計的に有意な変化ではなかった。200 mg/kg/日群雌では投与 1 年目以降に体重増加抑制がみられ、検体投与に伴う変化と考えられた。

摂餌量および飲水量: 摂餌量を毎日測定した。飲水量は、飲水状態、尿排泄、糞便の状態および一般状態から評価し、量的測定はしなかった。

200 mg/kg/日群雄で全試験期間を通じて摂餌量のわずかな低下が認められた。その他に検体投与に伴う変化はみられなかった。飲水量では検体投与に伴う変化は認められなかった。

外部検査: 投与開始前、投与後 5、9、12、16、20、27、31、37、42、46、51、55、60、63、67、72、77、81、85、89、93、97、102 および 106 週に以下の項目について検査した。

歯および歯肉、口腔粘膜および皮膚、耳(外耳道)、表在リンパ節、腹部(触診を含む)、外部生殖器および乳腺、胸部(心臓と肺の聴診を含む)、歩様および姿勢(脚部の触診を含む)、一般行動および外観

検体投与に伴う変化は認められなかった。

眼科学的検査: 投与開始前、投与開始後 5、10、12、27、53、79 および 102 週に各動物の両眼を倒立検眼鏡で検査した。対照群および高用量群の動物については投与開始前と 102 週に両眼の網膜写真を撮影した。

検体投与に伴う変化は認められなかった。

血液学的検査(末梢血): 投与開始前、投与開始後 4、8、12、16、19、26、52、77 および 102 週に、全動物を対

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

象にして一晩絶食後、頸静脈から採血して以下について測定した。

赤血球沈降率(ESR)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン濃度(Hb)、白血球数(WBC)、白血球百分率、ヘマトクリット値(Ht)、血小板数、網赤血球数、活性化トロンボプラスチン時間(PTTK)、プロトロンビン時間(PT)、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)

また、投与 29 週間後に全動物を対象に追加採血し、活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

対照群と比較して有意差のみられた項目を以下に示す。

200mg/kg/日群雄の 26 週および 102 週で PTTK の有意な延長がみられた。200mg/kg/日群雄では 2 匹において投与開始前の検査から一貫して対照群の最大値を上回る値を示しており、これに起因するものと考えられた。したがって、26 週および 102 週時の PTTK の延長は偶発的変化と判断された。その他の変化は用量または時間に依存しないものであった。

血液学的検査—雄(4~26 週)

投与量 (mg/kg/日)	2						20						200					
	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26
RBC					↑ 108													
Hb			↑ 108		↑ 109								↑ 109			↑ 109	↑ 108	↑ 106
Ht					↑ 109												↑ 109	↑ 109
WBC						↓ 81									↑ 126			
好中球数															↑ 143			
リンパ球数								↑ 132				↑ 129						
好酸球数		↓ 44				↓ 40												
MCV									↑ 106			↑ 106	↑ 104		↑ 106	↑ 106	↑ 103	↑ 104
MCH							↑ 104	↑ 104				↑ 104	↑ 104	↑ 104	↑ 109	↑ 109		
MCHC											↑ 103	↓ 97						
血小板数														↓ 125				
PTTK										↑ 110								↑ 133
PT					↑ 111	↑ 116												

↑ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 で統計学的有意差を示す(Student の t-検定)

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農薬株式会社にある。

血液学的検査一雄(52~102 週)

投与量 (mg/kg/日)	2			20			200		
	52	77	102	52	77	102	52	77	102
検査時期 (週)									
Ht		↑ 109							
好中球数				↓ 50					
リンパ球数						↑ 126			
好酸球数		↓ 29			↓ 43	↓ 33			
MCV				↑ 104	↑ 105		↑ 107	↑ 106	
MCH					↑ 104		↑ 104		↑ 104
MCHC			↑ 100						↑ 100
PTTK									↑ 122

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01、↓ ↓ ↑ : p<0.001 で統計学的有意差を示す(Student の t-検定)

血液学的検査一雌(4~26 週)

投与量 (mg/kg/日)	2						20						200						
	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26	
検査時期 (週)																			
RBC			↓ 93	↓ 93															
Hb		↓ 92	↓ 94	↓ 92															
Ht		↓ 92		↓ 92															
リンパ球数									↓ 74										
MCH						↑ 100													
MCHC			↓ 97			↓ 97													
血小板数																		↑ 119	

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 で統計学的有意差を示す(Student の t-検定)

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

血液学的検査—雌(52~102週)

投与量 (mg/kg/日)	2			20			200		
検査時期 (週)	52	77	102	52	77	102	52	77	102
RBC	↓ 90								
Hb	↓ 87	↓ 92							
Ht	↓ 88								
MCH	↓ 96								
PT		↓ 87							

↓ ↑ : p<0.05 で統計学的有意差を示す(Student の t-検定)

血液学的検査(骨髓): 全動物を対象として、104 週後に生検により骨髓組織を採取し、塗抹標本を作成し骨髓球/赤芽球比、細胞の種類および細胞数について検査した。

検体投与に伴う変化は認められなかった。

血液生化学的検査: 全動物を対象として血液学的検査と同時期に血液を採取し、血漿または血清を用いて、以下を測定した。

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)、乳酸脱水素酵素(LDH)、総タンパク質(TP)、タンパク分画、血糖(Gluc)、総コレステロール(TC)、尿素(BUN)、総ビリルビン(TB)、直接ビリルビン(DB)、Na、K、および Ca

また、39 週後に全動物を対象として ALP 活性を測定し、104 週時に ALP アイソザイムについて検査した。

投与開始前、投与開始後 4、8、12、16、20、27、52、78、102 および 106 週時に、サイロキシン(T4)、ヨウ素結合蛋白(TBI)およびトリヨードサイロニン(T3)を測定した。

対照群と比較して有意差のみられた項目を下表に示す。

20 および 200 mg/kg/日群雌雄で ALP 活性が試験期間を通じて増加した。この ALP 活性の増加は、アイソザイムの分析から肝由来のものと考えられた。また、200 mg/kg/日群雌雄で投与 52 週目以降に ALT 活性が増加した。200 mg/kg/日群雌では血清 T4 濃度が軽度に減少した。検体投与群において、TP、タンパク分画および電解質の低値がみられたが、軽度であること、一貫性が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。その他には、検体投与に伴う変化は認められなかった。

血液生化学的検査—雄(4~26週)

投与量 (mg/kg/日)	2						20						200					
	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26
ALP							↑ 133	↑ 142	↑ 147	↑ 149	↑ 154	↑ 171	↑ 255	↑ 288	↑ 321	↑ 380	↑ 442	↑ 457
ALT			↑ 139															
AST			↑ 156	↑ 117					↑ 150									
LDH			↑ 171															
Gluc						↑ 111	↑ 111					↑ 108						↑ 111
TB				↓ 100						↓ 100							↓ 67	
TP							↓ 93						↓ 95	↓ 90				
Alb								↓ 88				↓ 94	↓ 90					
α1-glob			↓ 78				↓ 80	↓ 89		↓ 67			↓ 70					↓ 75
α2-glob						↓ 67		↑ 117				↓ 83		↑ 117				↓ 75
β-glob	↓ 94						↓ 88						↓ 88					
γ-glob																	↓ 75	
Na		↓ 90						↓ 99										
K			↓ 92		↓ 93				↓ 92						↓ 92			
Ca						↓ 95							↓ 93			↓ 95		↓ 95
T4									↑ 150									↓ 63

↓ ↑ : p<0.05、↑↑:p<0.01、↓ ↑ : p<0.001 で統計学的有意差を示す(Studentのt-検定)

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農薬株式会社にある。

血液生化学的検査一雄(52~102週)

投与量 (mg/kg/日)	2			20			200		
検査時期 (週)	52	77	102	52	77	102	52	77	102
ALP				↑ 186	↑ 202	↑ 240	↑ 503	↑ 555	↑ 689
ALT							↑ 187	↑ 182	↑ 247
AST	↑ 123								
LDH								↑ 214	
Gluc									
TB									
TP	↓ 94		↓ 93						
Alb				↓ 88			↓ 91		↓ 88
α1-glob		↓ 63							
α2-glob	↓ 83		↓ 80				↑ 117		
β-glob			↓ 83						
γ-glob			↓ 83						
Na			↑ 101						
K				↓ 93			↓ 89		
Ca				↓ 95					
T4									

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01、↓ ↓ ↑ : p<0.001 で統計学的有意差を示す(Student の t-検定)



血液生化学的検査—雌(4~26 週)

投与量 (mg/kg/日)	2						20						200					
	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26	4	8	12	16	19	26
ALP							↑ 204	↑ 198	↑ 212	↑ 232	↑ 237	↑ 274	↑ 269	↑ 365	↑ 396	↑ 500	↑ 602	↑ 621
AST																	↓ 65	
LDH																	↓ 58	
BUN											↑ 123							
Gluc							↓ 89											↑ 113
TB							↑ 133											
TP	↓ 94	↓ 85	↓ 96			↓ 95	↓ 95		↓ 94				↓ 92		↓ 93		↓ 95	
Alb		↓ 80	↓ 94	↓ 90	↓ 87		↓ 88				↓ 90		↓ 91		↓ 94	↓ 90	↓ 87	
α2-glob	↓ 83													↑ 133		↑ 100		
β-glob	↓ 88				↑ 114			↓ 85					↓ 88					
γ-glob	↓ 80				↓ 83				↓ 80									↓ 83
Na		↓ 99												↓ 99				
K								↓ 93										
Ca									↓ 96						↓ 96			
T3																	↓ 77	

↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01、↓ ↓ : p<0.001 で統計学的有意差を示す (Student の t-検定)

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

血液生化学的検査一雌(52~102週)

投与量 (mg/kg/日)	2			20			200		
	52	77	102	52	77	102	52	77	102
ALP				↑ 351	↑ 356	↑ 296	↑ 709	↑ 800	↑ 514
ALT							↑ 189	↑ 253	↑ 479
AST							↓ 82		
LDH	↓ 68								
BUN					↑ 124				
Gluc		↓ 92			↓ 89			↓ 93	
TC			↓ 66						↓ 65
TP			↓ 93						↓ 94
α1-glob			↓ 57						↓ 71
α2-glob						↑ 122			
K							↓ 99		
T4							↓ 63	↓ 67	↓ 54*
T3									↓ 71

↑: p<0.05、↑↑: p<0.01、↓↑: p<0.001 で統計学的有意差を示す(Studentのt-検定)

\*: 106週の検査値

肝機能検査: 全動物を対象として投与53週および103週間後にBSP滞留試験を行った。

20および200mg/kg/日群雌において、投与103週間後におけるBSP滞留が対照群よりわずかに高い値を示した。

尿検査: 全動物を対象として投与開始前、投与開始9、17、27、51、77および102週時に以下の項目について検査した。

外観、量、pH、比重、総還元物質、糖、タンパク質、ケトン体、胆汁色素、ウロビリ、血色素、沈渣

検体投与に伴う変化は認められなかった。

臓器重量: 全動物を対象として107週の剖検後、以下の臓器について重量を測定した。また、体重比を算出した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心、肺、胸腺、肝、腎、脾、副腎、精巣、卵巣、

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農薬株式会社にある。

### 前立腺、子宮

対照群と比較して有意差のみられた項目を下表に示す。

2 および 200 mg/kg/日群の雌において肝重量の増加が認められた。また、肝体重比は、2 および 20 mg/kg/日投与群雌ならびに 200 mg/kg/日群の雌雄で増加した。2 mg/kg/日群雌の変化は、対照群の値がやや低く、変動が小さかったことによるものであり、生物学的意義のない変化であった。200 mg/kg/日群雌雄で甲状腺体重比の増加が認められた。本群雌でサイロキシンの有意な低下がみられたが、甲状腺重量に有意差が認められないこと、病理組織学的に甲状腺に異常が認められないことから、投与の影響ではないと判断された。

		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		2	20	200	2	20	200
体重							83 <sub>↓</sub>
脳	体重比						116 ↑
下垂体	体重比	83 ↓					
心	体重比						120 <sub>↑</sub>
肺	重量			88 ↓			
	体重比		90 ↓				125 <sub>↑</sub>
肝	重量					125 ↑	130 <sub>↑</sub>
	体重比			126 <sub>↑</sub>	121 ↑	132 ↑	157 ↑
胸腺	体重比						65 ↓
腎	体重比				117 ↑		129 ↑
甲状腺	体重比			143 <sub>↑</sub>			172 <sub>↑</sub>
副腎	体重比						129 ↑
子宮	重量					242 <sub>↑</sub>	
	体重比					251 <sub>↑</sub>	
卵巣	重量					208 <sub>↑</sub>	
	体重比					222 ↑	209 ↑

↓ ↑ : p<0.05、<sub>↓</sub>↑: p<0.01、↓ ↑ : p<0.001 で統計学的有意差を示す (Student の t-検定)

肉眼的病理検査: 全動物を対象として肉眼的病理検査を実施した。

検体投与に伴う変化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以下の臓器/組織について病理組織学的検査を実施した。

脳は 5ヶ所(小脳、大脳皮質、視床核、中脳、延髄)を検索し、脊髄は 2ヶ所(頸部、胸部~腰部)の横断面を検索した。

脳、下垂体、眼球および視神経(左測)、甲状腺(および上皮小体)、心(心房、心室)、大動脈(胸部)、肺、気管、気管支、胸腺、肝、胆嚢、腎、脾、膵、副腎、精巣、精巣上体、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

前立腺、卵巣、子宮、子宮頸管、坐骨神経、食道、胃(噴門部、幽門部)、十二指腸、回腸、盲腸、唾液腺、リンパ節(頸部、腸間膜、気管支周囲)、膀胱、皮膚、乳腺(下腹部)、骨格筋、脊髄、胸骨(骨髄を含む)、その他肉眼的病変部

病理組織学的検査の結果、検体投与に伴うと考えられる変化は、20 および 200 mg/kg/日群の肝にみられた小葉周辺性の肝細胞腫大および胆管増生であった。これらの発生頻度を下表に示す。その他にも変性性および炎症性の種々の病変が認められたが、これらは試験機関において一般的に観察される程度および発生頻度と同様のものであり、検体投与に起因しないと考えられる。

投与量 (mg/kg/日)	雄				雌			
	0	2	20	200	0	2	20	200
検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
小葉周辺性肝細胞腫大	0	0	2	3	0	0	0	1
胆管増生	0	0	3	2	0	0	3	5

結論： 以上より、20 mg/kg/日以上での投与群でアルカリホスファターゼ活性の上昇および肝における小葉周辺性の肝細胞腫大、胆管増生がみられたことから、本剤の最大無作用量は雌雄ともに 2 mg/kg/日であると判断する。

<申請者註> 本試験における無毒性量も雌雄ともに 2mg/kg/日と判断された。

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農薬株式会社にある。

4) マウスにおける 24 ヶ月飼料混入投与による慢性毒性および発癌性併合試験

(資料 No.13)

試験実施機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年: 1984 年

検体の純度:

供試動物 : ICR 系マウス 1 群雌雄各 80 匹、開始時 5 週齢

開始時平均体重: 雄 27.8g、雌 23.1g

投与開始後 52 週目に、各群雌雄各 10 匹を中間屠殺した。

試験期間 : 24 カ月

投与方法 : 検体を 0、20、200、2000 および 5000ppm の濃度で混入した飼料を 24 カ月にわたって自由に摂取させた。対照群には基礎飼料を摂取させた。

検体混入飼料は、毎週 1~2 回調製した。

【投与量設定根拠】

試験項目および結果:

一般状態および死亡率: 全ての動物について、一般状態および死亡の有無を毎日観察した。さらに詳細な観察を毎週 1 回実施した。

投与期間を通じて、検体投与に起因すると思われる変化は観察されなかった。

各群における死亡率は下表の通りであり、検体投与による影響は認められなかった。

投与量(ppm)		0	20	200	2000	5000
死亡率(%)	雄	55.7	61.4	54.3	67.1	50.0
	雌	57.1	52.9	57.1	55.7	55.7

体重変化: 全ての生存動物について、投与開始後 26 週目までは毎週 1 回、その後は投与終了時まで隔週 1 回の割合で体重を測定した。

5000ppm 群雄で投与開始後 6~84 週目、同群雌で 9~100 週目(96 週を除く)まで統計学的に有意な体重増加抑制が認められ、その後も低値で推移した。

2000ppm 群雌雄でも一過性の軽度な体重増加抑制が認められた。

摂餌量 : 各投与群の雌雄ともに試験開始時に定めた 8 ケージ(32 匹)の動物について、投与開始後 26 週目までは毎週 1 回、その後は投与終了時まで隔週 1 回、摂餌量を測定した。

各投与群の雌雄ともに試験期間を通じて摂餌量の低下あるいは増加が散見されたが、投与量に依存した一定の傾向がみられず、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体摂取量； 摂餌量および検体の飼料中理論濃度から、1日当りの平均検体摂取量(mg/kg/日)を算出し、下表に示した。

投与量(ppm)		20	200	2000	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.82	17.4	190	481
	雌	1.89	17.9	191	493

食餌効率； 各週における体重増加量と摂餌量から、毎週の平均食餌効率を算出した。

試験期間中、各投与群の雌雄ともに対照群と同様であった。

飲水量； 各投与群の雌雄ともに試験開始時に定めた4ケージ(16匹)の動物について、投与開始後26週目までは毎週1回、その後は投与終了時まで隔週1回、飲水量を測定した。

試験期間中、各投与群の雌雄ともに対照群と同様であった。

尿検査； 投与開始後52週目に各群雌雄各10匹、投与終了時の全生存動物を対象として、膀胱上面の体表部圧迫法にて採尿し、以下の項目について検査した。

比重、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、潜血  
統計学的に有意差のみられた検査項目を次表に示す。

投与量(ppm)	20				200				2000				5000						
	雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌				
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104			
比重															↓99	↓98	↓99	↓98	↓99
pH																			
タンパク																		↓	↓
ケトン体				↓				↓										↓	↓

↑ ↓: p<0.05, ↓↑: p<0.01 で統計学的有意差を示す[Mann-Whitney U-Test]

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。その他は定性的データのため変動率の算出は不能。

比重の減少が、5000ppm群雌雄で投与52および104週目に、また2000ppm群雌で投与52週目に観察され、投与の影響と考えられた。

タンパク濃度の減少が、5000ppm群雌雄および200ppm群雌で投与104週目にみられた。ケトン体陰性を示す個体の増加が2000および5000ppm群雌の104週目にみられた。pHにも統計学的に有意な変化が散見されたが、用量に依存した変化はなく毒性学的意義はないものと考えられた。

血液学的検査； 投与開始後52週目および試験終了時に各群雌雄各10匹を対象として、後大静脈より採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数、白血球百分率、血小板数、平均血球容積(MCV)、平均血球血色素量(MCH)、平均血球血色素濃度(MCHC)、網赤血球数(貧血が認められた場合のみ測定)

統計学的に有意差のみられた検査項目を下表に示す。

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農薬株式会社にある。

投与量(ppm)	20				200				2000				5000			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104
赤血球数						↑ 120										↓ 93
ヘモグロビン濃度						↑ 113										↓ 95
ヘマトクリット値						↑ 117										↓ 94
リンパ球数															↑ 142	↑ 155
血小板数															↑ 119	↑ 125
MCH						↓ 95										
MCHC						↑ 104										

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 で統計学的有意差を示す〔Student t-Test〕

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

5000ppm 群雌で投与 52 週目に赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値が減少したが、網赤血球数には影響はなかった。5000ppm 群雌雄で投与 104 週目にリンパ球数および血小板数が増加し、投与の影響と考えられた。

その他にも統計学的に有意な変化が散見されたが、用量に依存した変化はなく毒性学的意義はないものと考えられた。

血液生化学的検査：血液学的検査と同一時期および同一動物から採血し、その血漿を用いて以下の項目について検査した。

総タンパク、尿素窒素、グルコース、総コレステロール(TC)、カルシウム、GOT、GPT、アルカリホスファターゼ(ALP)

統計学的に有意差のみられた検査項目を下表に示す。

投与量(ppm)	20				200				2000				5000			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104
TC		↑ 152							↓ 76		↑ 135			↑ 134	↑ 139	
カルシウム							↓ 96									
GOT															↓ 71	
ALP		↑ 258														

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 で統計学的有意差を示す〔Student t-Test〕

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農薬株式会社にある。

2000 および 5000ppm 群雌で投与 52 週目に総コレステロール濃度が増加した。その他にも統計学的に有意な変化が散見されたが、用量に依存した変化はなく、毒性学的意義はないものと考えられた。

臓器重量： 投与開始後 52 週目の中間屠殺動物および投与終了時の全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、剖検時体重をもとにして、相対重量を算出した。

心、脾、胸腺\*、肝、下垂体、甲状腺、副腎、腎、精巣、卵巣、脳

\*：投与開始後 52 週目の中間屠殺動物についてのみ測定。

統計学的に有意差のみられた臓器を下表に示す。

投与量(ppm)		20				200				2000				5000			
性		雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
検査時期(週)		52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104
心	重量					↑				↑							
	体重比					110				112							
肝	重量					↑				↑	↑			↑	↑	↑	
	体重比					122				118	120			140	133	133	
下垂体	重量					↓				↑				↓			
	体重比					88				112				80			
甲状腺	体重比																↑
副腎	重量									↑				↑			
	体重比									143				138			
腎	重量															↓	
																91	

↑ ↓ :p<0.05、↑↓:p<0.01、↑↓ ↓ :p<0.001 で統計学的有意差を示す[Student t-Test]

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

200ppm 以上の群雄および 2000ppm 以上の群雌の 52 週目、ならびに 5000ppm 群雄の 104 週目に肝重量および体重比が増加した。2000ppm 以上の群雄で投与 52 週目に副腎重量および体重比が増加したが、104 週目には認められなかった。

その他にも統計学的に有意な変化が散見されたが、用量に依存した変化はなく、毒性学的意義はないものと考えられた。

肉眼的病理検査： 途中死亡動物、切迫屠殺動物、投与開始後 52 週目の中間屠殺動物および投与終了時の全生存動物を対象として剖検し、外表面、全ての体孔、頭蓋腔、脳、脊髄の表面および断面、胸腔・骨盤腔内臓器、頸部の組織およびカーカスについて詳細に観察した。

統計学的に有意に増加した所見を次頁表に示す。



(数値は出現動物数)

投与量(ppm)		0		20		200		2000		5000	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
検査動物数(全動物)		80	80	80	80	80	80	79	80	79	80
肝	混濁	0	2	2	3	4	2	2	4	15**	8*
	暗調化	0	0	2	1	0	0	3	4	13**	18**
	結節・腫瘤	18	6	19	4	24	3	25	8	29*	9
検査動物数(死亡・切迫動物)		39	40	43	37	38	40	46	39	34	39
肺	結節・腫瘤	2	7	6	9	7	11	7	9	10**	8
精巣	萎縮・軟化	0	—	1	—	1	—	2	—	4*	—

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 で統計学的有意差を示す[Fisher の直接確率法]

5000ppm 群雌雄では、肝の混濁ないし暗調化の総発生頻度が対照群と比較して有意に増加した。混濁の発生頻度は、雄では52週の計画屠殺例、104週の計画屠殺例および死亡・切迫屠殺例においても増加した。雌においても52週の計画屠殺例で増加した。肝の暗調化は、雄では104週の計画屠殺例および死亡・切迫屠殺例、雌では52および104週の計画屠殺例でも増加した。これらの変化は、病理組織学的検査における小葉中心性肝細胞腫大および、びまん性肝細胞腫大と対応するものであった。5000ppm 群で対照群と比較して有意に増加した所見は、雄における肝の結節・腫瘤(全動物)、肺の結節・腫瘤(死亡・切迫屠殺例)および精巣の萎縮・軟化(死亡・切迫屠殺例)であった。肺の結節・腫瘤および精巣の萎縮・軟化については全動物に対する総発生頻度では有意差はみられず、これらの所見に対する病理組織学的変化にも有意差はみられなかった。その他、5000ppm 群で有意差がみられた所見は、発生頻度の減少であった。

病理組織学的検査：途中死亡動物、切迫屠殺動物、投与開始後 52 週目の中間屠殺動物および投与終了時の全生存動物について以下の臓器・組織を採取し、病理標本を作製して検鏡した。

気管、肺(主気管支と全ての肺葉を含む冠状2断面)、心(2ヶ所)、胸部大動脈、骨・骨髄(胸骨、脊椎、大腿骨および膝関節)、脾(2ヶ所)、胸腺、リンパ節(頸部、腸間膜)、唾液腺、肝(2ヶ所)、膵、食道、胃(前胃部、腺胃部、幽門部)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、胆嚢、下垂体、甲状腺(両側)、上皮小体(両側)、副腎(両側)、腎(両側)、膀胱、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、精嚢、卵巣(両側)、子宮(体部、頸部)、脳(3ヶ所)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、眼および付属腺(両側)、乳腺(腹部)、皮膚(腰背部)、骨格筋(下腿三頭筋)、鼻咽頭、喉頭、舌、口腔粘膜、頭(鼻腔、副鼻腔および中耳を含む冠状3断面)および肉眼的病変部

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農薬株式会社にある。

〈非腫瘍性病変〉 統計学的に有意に増加した所見は下表の通りであった。

(数値は出現動物数)

性		雄					雌				
投与量(ppm)		0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000
検査動物数(全動物)		80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
肝	小葉中心性肝細胞腫大	3	3	0	10*	13**	3	4	3	15**	12**
	びまん性肝細胞腫大	9	9	10	14	42**	2	2	1	1	24**
	肝細胞過形成	12	17	17	13	27**	2	5	7	9*	8*
検査動物数(52週計画殺動物)		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
脾	髓外造血の亢進	0	0	2	3	10**	1	3	3	2	3
検査動物数(104週計画殺動物)		—	—	—	—	—	30	33	30	31	31
卵巢	萎縮	—	—	—	—	—	7	14	13	16*	15*

\*: p<0.05、\*\*:P<0.01 で統計学的有意差を示す[Fisherの直接確率法]

投与量に相関した変化が 2000ppm 以上の群の雌雄の肝に認められた。全動物に対する総発生頻度において、肝の小葉中心性肝細胞腫大が雌雄の 2000ppm 以上の群で有意に増加し、びまん性肝細胞腫大も 5000ppm 群の雌雄で増加した。5000ppm 群雌雄および 2000ppm 群雌では、肝細胞過形成(肝細胞の限局性過形成あるいは数個の過形成巣が融合した結節性過形成)の総発生頻度が対照群と比較して有意に増加した。また、投与期間に関連した変化ではなかったが、脾の髓外造血の亢進が雄の 5000ppm 群の 52 週計画屠殺例で、卵巢の萎縮が雌の 2000 および 5000ppm 群の 104 週計画屠殺例で増加した。その他、5000ppm 群で有意差がみられた所見は発生頻度の減少であった。

〈腫瘍性病変〉 本試験でみられた良性および悪性腫瘍を死亡時期別、性別に次表に示した。

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農薬株式会社にある。

性			雄					雌					
投与量 (ppm)			0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000	
検査時期	臓器	腫瘍名	腫瘍性病変発生数										
52週 計画屠殺	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	肺	B	腺腫	0	2	2	2	2	1	2	1	2	0
	肝	B	肝細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	甲状腺	B	濾胞腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	子宮角	B	平滑筋腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
途中死亡 切迫屠殺	検査動物数		39	43	38	47	35	40	37	40	39	39	
	心	M	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	全身	M	骨髓性白血病	1	1	1	1	2	0	2	2	2	1
		M	悪性リンパ腫	5	5	4	4	6	15	11	10	9	11
		M	全身性肥満細胞腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ節 (その他)	M	悪性組織球腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	脾	B	血管腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		M	血管肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肺	B	腺腫	4	4	6	3	5	4	2	6	5	5
		M	腺癌	3	8	6	6	6	3	2	4	6	4
	下顎腺	M	腺癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	前胃	M	扁平上皮癌	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	腺胃	B	腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	小腸	B	腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝	B	肝細胞腺腫	6	5	3	5	5	1	0	1	2	2
		B	血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	肝細胞癌	7	7	7	15	13	1	0	0	2	4
		M	肝芽腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		M	血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		M	胆管癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M	悪性組織球腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	膵	B	島細胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎	M	悪性肥満細胞腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	精巣	B	間細胞腺腫	0	0	1	1	0	—	—	—	—	—
		B	血管腫	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—
	前立腺	B	腺腫	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—
		B	平滑筋腫	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—
	卵巣	B	顆粒膜細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
		B	莢膜細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	0	0	2
		B	血管腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
		M	悪性顆粒膜細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
M		平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0	
M	悪性神経鞘腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0		

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農薬株式会社にある。

性			雄					雌				
投与量 (ppm)			0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000
検査時期	臓器	腫瘍名	腫瘍性病変発生数									
途中死亡 切迫屠殺	検査動物数		39	43	38	47	35	40	37	40	39	39
	子宮角	B 乳頭腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
		B 脂肪腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
		B 血管腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
		B 平滑筋腫	—	—	—	—	—	2	1	0	1	0
		M 腺癌	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
		M 子宮内膜間質肉腫	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	1	1	0	0	0	
	子宮頸	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	下垂体	B 前葉腺腫	0	0	0	0	0	2	3	7	2	3
		M 前葉腺癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	B 濾胞腺腫	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
		M 濾胞腺癌	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎	B 皮質腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		B 皮膜下細胞腺腫	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
		B 褐色細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	大脳	M 悪性神経鞘腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ハーダー腺	B 腺腫	1	1	0	1	5	1	4	0	5	1
	皮膚	B 血管腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		B 神経鞘腫	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
		M 扁平上皮癌	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0
		M 線維肉腫	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		M 基底細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
		M 脂肪肉腫	0	1	0	2	0	2	0	1	2	3
		M 血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		M 骨肉腫	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
		M 悪性神経鞘腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		M 悪性組織球腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M 悪性繊維性組織球腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		乳腺	B 腺腫	0	0	0	0	0	1	0	1	1
	M 腺癌		0	0	1	0	0	3	6	5	3	4
	胸腔	M 横紋筋肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		M 骨肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M 悪性組織球腫		1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	
M 悪性繊維性組織球腫		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
腹腔	B 脂肪腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	M 平滑筋肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	M 血管肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
104週 計画屠殺	検査動物数		31	27	32	23	35	30	33	30	31	31
	全身	M 骨髓性白血病	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
		M 悪性リンパ腫	2	2	1	1	0	9	3*	6	5	5
	腸間膜 リンパ節	B 組織球腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾	B 血管腫	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		M 血管肉腫	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0

\*: p<0.05 (Fisher の直接確率法)

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農薬株式会社にある。

性			雄					雌				
投与量 (ppm)			0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000
検査時期	臓器	腫瘍名	腫瘍性病変発生数									
104週 計画屠殺	検査動物数		31	27	32	23	35	30	33	30	31	31
	肺	B 腺腫	10	12	15	11	14	12	6	4*	7	6
		M 腺癌	0	0	0	1	3	2	5	3	0	4
	口腔	B 乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	前胃	B 乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺胃	M 悪性組織球腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	大腸	B 平滑筋腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝	B 肝細胞腺腫	7	7	13	6	10	1	2	0	5	6
		M 肝細胞癌	0	0	0	0	1	2	2	0	2	0
		M 肝芽腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		M 悪性組織球腫	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1
	膵	B 島細胞腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎	B 腺腫	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
		M 腺癌	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	B 間細胞腺腫	1	0	4	0	1	—	—	—	—	—
	精囊腺	M 腺癌	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—
	卵巢	B 乳頭腫	—	—	—	—	—	0	1	1	0	0
		B 莢膜細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
		B 黄体腫	—	—	—	—	—	1	1	0	0	0
		B 血管腫	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
		M 悪性顆粒細胞腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
	卵管	B 腺腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
		B 平滑筋腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
	子宮角	B 乳頭腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
		B 血管腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
		B 平滑筋腫	—	—	—	—	—	2	1	1	2	1
		M 子宮内膜間質肉腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0	
	下垂体	B 前葉腺腫	0	0	0	0	0	3	4	5	0	4
	甲状腺	B 濾胞腺腫	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	上皮小体	B 腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	副腎	B 皮質腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		M 悪性褐色細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
ハーダー腺	B 腺腫	2	1	2	1	1	1	3	2	6	0	
皮膚	B 乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	B 線維腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	B 血管腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	M 脂肪肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	
	M 横紋筋肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	M 線維肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
乳腺	B 腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	M 腺癌	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1	
腹腔	B 脂肪腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

\*: p<0.05 (Fisher の直接確率法)

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農薬株式会社にある。

性			雄					雌					
投与量 (ppm)			0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000	
検査時期	臓器	腫瘍名	腫瘍性病変発生数										
全動物	検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	
	心	M	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	全身	M	骨髄性白血病	1	2	1	1	2	0	2	3	2	1
		M	悪性リンパ腫	6	7	5	5	6	24	14*	16	14*	16
		M	全身性肥満細胞腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	B	組織球腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	リンパ節(その他)	M	悪性組織球腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	脾	B	血管腫	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
		M	血管肉腫	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	肺	B	腺腫	14	18	23	16	21	17	10	11	14	11
		M	腺癌	3	8	6	7	9	5	7	7	6	8
	口腔	B	乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	下顎腺	M	腺癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	前胃	B	乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
		M	扁平上皮癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腺胃	B	腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		M	扁平上皮癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M	悪性組織球腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	小腸	B	腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	大腸	B	平滑筋腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝	B	肝細胞腺腫	13	12	16	11	17	2	2	1	7	8*
		B	血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	肝細胞癌	14	11	11	18	15	3	2	0	4	4
		M	肝芽腫	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
		M	血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		M	胆管癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M	悪性組織球腫	0	0	1	0	0	2	0	0	1	1
	M	悪性繊維性組織球腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	脾	B	島細胞腺腫	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	腎	B	腺腫	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
		M	腺癌	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	悪性肥満細胞腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	精巣	B	間細胞腺腫	1	0	5	1	1	—	—	—	—	—
		B	血管腫	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—
	精囊線	M	腺癌	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—
	前立腺	B	腺腫	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—
		B	平滑筋腫	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—

\*: p<0.05 (Fisher の直接確率法)

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農薬株式会社にある。

性			雄					雌				
投与量 (ppm)			0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000
検査時期	臓器	腫瘍名	腫瘍性病変発生数									
検査動物数			80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
全動物	卵巣	B 乳頭腫	—	—	—	—	—	0	1	1	0	0
		B 顆粒細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
		B 莢膜細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
		B 黄体腫	—	—	—	—	—	1	1	0	0	0
		B 血管腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	1
		M 悪性顆粒細胞腫	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0
		M 平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
	M 悪性神経鞘腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0	
	卵管	B 腺腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
		B 平滑筋腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
	子宮角	B 乳頭腫	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0
		B 脂肪腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
		B 血管腫	—	—	—	—	—	1	0	0	2	1
		B 平滑筋腫	—	—	—	—	—	4	3	1	3	1
		M 腺癌	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
		M 子宮内膜間質肉腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	2	1	0	0	0	
	子宮頸	M 平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	下垂体	B 前葉腺腫	0	0	0	0	0	5	7	12	2	7
	甲状腺	B 濾胞腺腫	0	1	0	2	0	1	0	1	0	1
		M 濾胞腺癌	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	上皮小体	B 腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	副腎	B 皮質腺腫	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
		B 皮膜下細胞腺腫	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
		B 褐色細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		M 悪性褐色細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	大脳	M 悪性神経鞘腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
骨	B 骨腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	B 軟骨腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
ハーダー腺	B 腺腫	3	2	2	2	6	2	7	2	11*	1	

\*: p<0.05 (Fisher の直接確率計算法)

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農薬株式会社にある。

性			雄					雌						
投与量 (ppm)			0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000		
検査時期	臓器	腫瘍名	腫瘍性病変発生数											
全動物	検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80	80	80		
	皮膚	B	乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		B	線維腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		B	血管腫	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	
		B	神経鞘腫	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	
		M	扁平上皮癌	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	
		M	基底細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
		M	線維肉腫	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
		M	脂肪肉腫	0	1	0	2	0	2	1	1	3	5	
		M	血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	
		M	横紋筋肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	
		M	骨肉腫	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
		M	悪性神経鞘腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
		M	悪性組織球腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	M	悪性繊維性組織球腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
	乳腺	B	腺腫	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	
		M	腺癌	0	0	1	0	0	4	7	7	5	5	
	胸腔	M	骨肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		M	横紋筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		M	悪性組織球腫	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
		M	悪性繊維性組織球腫	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	
	腹腔	B	脂肪腫	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		M	平滑筋肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
		M	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	

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農薬株式会社にある。

5000ppm 群雌で肝細胞腺腫(8/80)が対照群(2/80)と比較して統計学的に有意に増加した。しかし、5000ppm 群雌における肝細胞腺腫と肝細胞癌の合計発生頻度は 12/80 で、対照群の発生頻度 5/80 との間に有意差は認められなかった。さらに背景データにおける雌の肝細胞腺腫と肝細胞癌の合計発生頻度は 2/79~10/80 の範囲であり、概ね背景データの上限值に近い値であった。これらのことから 5000ppm 群雌の肝腫瘍が対照群と比較して高値を示したことに對して検体投与との関連性はないものと判断された。

また、肺腫瘍(腺腫+癌)の総発生頻度が雄の 5000ppm 群(30/80)および 200ppm 群(29/80)で、対照群(17/80)と比較して有意に増加した。しかしながら、背景データ(17/80~35/80)の範囲内にあり、対照群における発生が低率であったことに起因するものと考えられた。

その他検体投与に関連した変化は認められなかった。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性および良性腫瘍数は下表の通りである。

性 投 与 量 (ppm)	雄					雌				
	0	20	200	2000	5000	0	20	200	2000	5000
良 性 腫 瘍 数	33	37	50	37	47	42	36	36	45	35
悪 性 腫 瘍 数	33	35	29	40	37	50	41	41	39	46
総 腫 瘍 数	66	72	79	77	84	92	77	77	84	81
担 良 性 腫 瘍 動 物 数	27	29	38	29	40	31	31	30	35	28
担 悪 性 腫 瘍 動 物 数	29	31	25	36	28	42	34	35	34	38
担 腫 瘍 動 物 数	47	51	57	56	55	58	51	54	54	52

結 論 : 以上の結果から、検体のマウスを用いた 24 ヶ月間飼料混入投与による慢性毒性および発癌性併合試験において、2000ppm 以上の群の雌雄で体重増加抑制、2000ppm 群雌および 5000ppm 群雌雄で尿比重の減少、5000ppm 群雌雄でリンパ球数および血小板数の増加、5000ppm 群雌で赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少が観察された。また、200ppm 以上の群の雄および 2000ppm 以上の群の雌で肝の絶対および相対重量が増加し、2000ppm 以上の群の雌雄で肝細胞腫大および肝細胞過形成が認められた。したがって、最大無作用量は雄で 20ppm(1.82 mg/kg/日)、雌で 200ppm(17.9 mg/kg/日)であると判断される。

また、催腫瘍性はないものと考えられる。

<申請者註>本試験における無毒性量も雄で 20ppm、雌で 200ppm と判断された。

(12) 繁殖毒性および催奇形性

1) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No.14)

試験機関:

報告書作成年:1982年

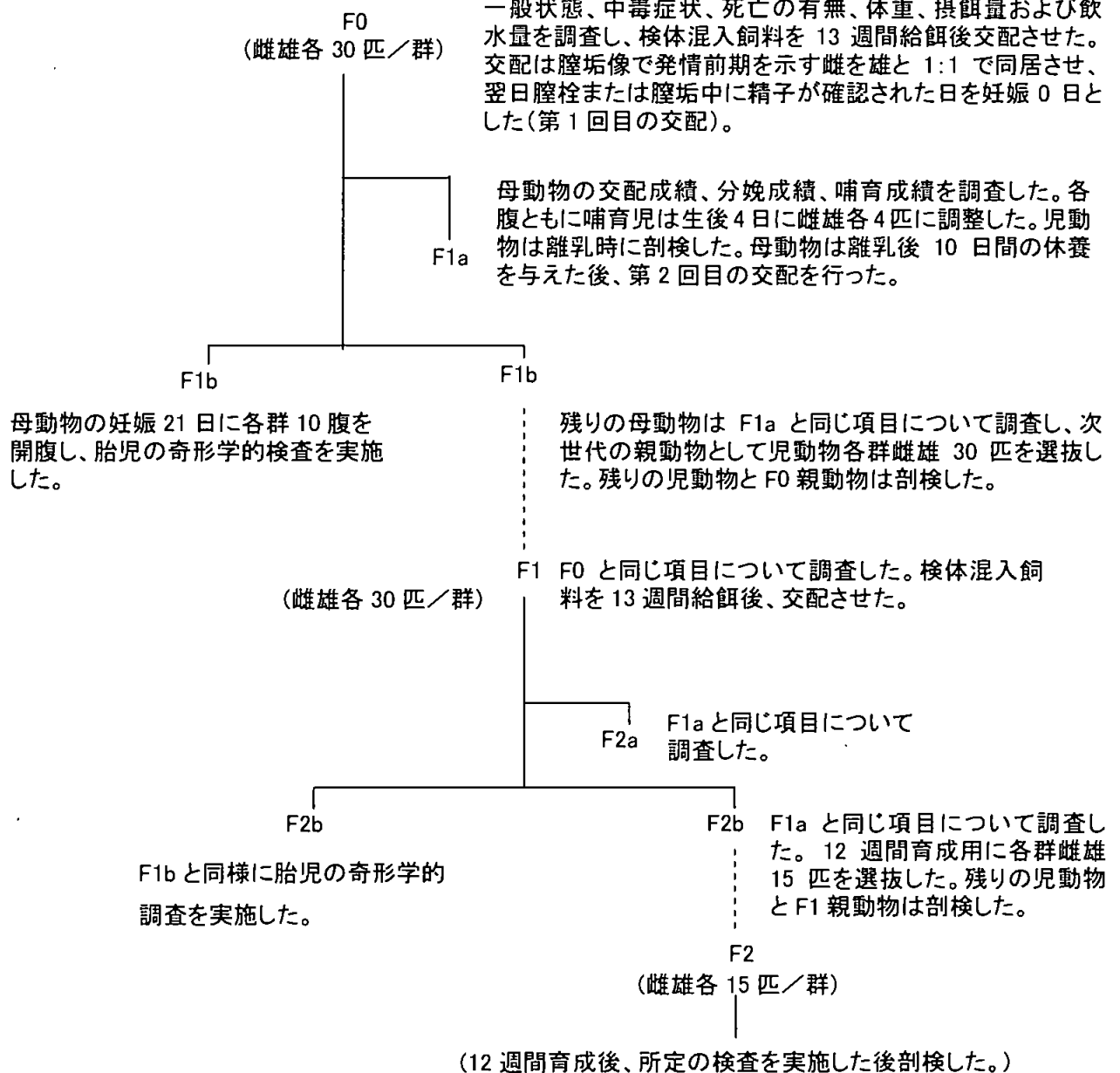
検体の純度:

試験動物 : Wistar-Imamichi ラット 1群雌雄各 30 匹、開始時 4 週齢  
開始時体重; 雄 71~85g、雌 65~81g

試験期間 :

投与方法 : 検体を 0、10、100 および 1000ppm 含有した固型飼料を F0 世代試験開始時から F2 世代試験終了時までの 2 世代にわたり随時摂食させた。

試験方法 :



観察および検査項目：

一般状態および死亡率；飼育期間中、一般状態、中毒症状および死亡率を毎日観察した。

体重；育成期間中は毎週、妊娠期間中は妊娠 0、7、14 および 21 日、哺育期間中は哺育 0(分娩日)、7、14 および 21 日に体重を測定した。

摂餌量および摂水量；雌雄各 3 匹／群について、体重測定時にあわせて個体別に測定し、平均値を求めた。また、摂餌量および体重から食餌効率を算出した。

妊娠期間中の観察；交尾の成立した雌について、流産、早産を観察した。雄については、第 2 回目の交配で雌を妊娠させることができなかつた場合に限り、無処理群の雌と交配して妊孕能を確認した。また、第 2 回目の交配で妊娠しなかつた雌については、妊孕能の確認されている同群の雄、無処理群の雄の順に交配させて妊娠能を確認した。

以下の指標を算出した。

$$\text{妊娠率} = (\text{妊娠成立雌数} / \text{供試雌数}) \times 100$$

$$\text{妊孕率} = (\text{妊孕能確認雄数} / \text{供試雄数}) \times 100$$

分娩・哺育期間中の観察；分娩異常の有無を観察し、妊娠期間、産児数および死産児数、性別、および外表奇形を調査し、性比(生存雌数／生存雄数)を求めた。

哺育期間中には母動物の哺育状態を観察し、哺育児の死亡、哺育児の体重(0、4、7、14 および 21 日)を調べ、以下のように哺育 4 日生存率および哺育 21 日生存率を求めた。

$$\text{哺育 4 日生存率} = (\text{生後 4 日生存児数} / \text{出生時生存児数}) \times 100$$

$$\text{哺育 21 日生存率} = (\text{生後 21 日生存児数} / \text{生後 4 日調整児数}) \times 100$$

哺育児の発育指標として、F1b および F2b 児について耳介展開(哺育 4 日)、毛生および切歯萌出(哺育 10 日)および眼瞼開裂(哺育 16 日)を調べ、各腹についてそれぞれの分化率=(分化陽性児数／哺育児数)×100 を求めた。また、離乳日(哺育 21 日)に正向反射、聴覚反射、痛覚反射、握り反射および歩行と歩行状態を調べた。

帝王切開時の観察；黄体数、着床数、生存胎児数、胚・胎児死亡数、性別、胎児体重および外表奇形を調査し、着床率、胎児生存率および性比を求めた。

$$\text{着床率} = (\text{着床数} / \text{黄体数}) \times 100$$

$$\text{胎児死亡率} = (\text{胚・胎児死亡数} / \text{着床数}) \times 100$$

$$\text{性比} = (\text{生存雌数} / \text{生存雄数}) \times 100$$

胎児の奇形学的観察；各腹半数の生存胎児について骨格標本を作製し、骨格異常および骨化状態を調べた。また、残りの半数の胎児についてはブアン固定し、free hand razor 法により内臓奇形を調べた。

肉眼的病理検査；試験に供した全動物について肉眼的病理検査を実施した。各世代の雌雄各 10 匹／群について肝臓、腎臓、脾臓、心臓、胸腺、精巣／卵巢、前立腺、子宮の重量を測定し、比体重を求めた。

試験結果:結果を後記の表に示す。

一般状態および死亡率:各世代ともに試験期間を通じて、本剤投与に起因すると考えられる中毒症状の発現および健康状態の悪化はみられなかった。

死亡あるいは切迫屠殺動物は、F0 世代で雄 1 例(自己融解のため死因不明)、雌 2 例(産道通過障害、分娩後健康状態悪化)、F1 世代で雄 1 例(下垂体腫瘍)、雌 2 例(事故、難産に起因した健康状態の悪化)であったが、F2 世代での死亡はみられなかった。

体重変化:F0 世代では雌雄ともに 1000ppm 群で投与初期に一過性の体重増加抑制がみられた。妊娠、哺育期間中における母動物の体重は、妊娠末期から哺育初期にかけて各群ともに対照群を下まわった。F1 世代の各投与群における雌雄の体重は、測定開始時から対照群を下まわり、1000ppm 群雄ではほぼ全期間にわたりこの傾向が持続した。F2 世代においても F1 世代と同様な傾向がみられた。特に 1000ppm 群雄では全期間にわたり低値が続いた。

F1 および F2 世代の各投与群の投与開始時における対照群との間の体重差は、乳児期の低体重に起因するものであり、1000ppm 群雄を除き、意味のない変動と考えられた。

摂餌量:F0 世代の雌、F1 世代の雄において対照群と比較してやや低値がみられたが、用量相関性に乏しく意味のある変化とは考えられなかった。食餌効率については、各世代の雌雄ともに群間に差が散見されたが、特記すべき変化ではなかった。

摂水量:各世代ともに対照群と比較して差はみられなかった。

交配成績:各世代における雄の生殖能力は各投与群ともに対照群と同等であった。同じ投与群内で雌を受胎させ得なかった雄は、F0 世代の 10ppm 群および 100ppm 群で各 1 例みられたが、いずれも無処置の雌との交配により妊孕性が確認された。F1 世代では対照群で 1 例、10ppm 群で 1 例、100ppm 群で 5 例みられたが、10ppm 群の 1 例を除き、無処置雌との交配により妊孕性が確認された。雌の妊娠率についても各投与群と対照群とで同等であった。同じ投与群内の雄および無処置の雄との交配により妊娠しなかった例は、F0 世代では 10ppm 群の 1 例、F1 世代では対照群の 1 例、10ppm 群 2 例、100ppm 群の 2 例であった。

分娩成績:F0 および F1 世代ともに難産および分娩遅延を示す母動物が対照群を含む各投与群で少数観察された。平均産児数では、F1 世代の 100 および 1000ppm 群の第 2 産次で産児数の極端に少ない母動物が含まれていたため、対照群と比較して低値を示した。新生児の外表面奇形は、各世代の各産次を通じてみられなかった。

哺育成績:F0 世代の第 1 産次において各投与群に哺育不良動物が観察された。哺育 4 日までに新生児の半数以上を失った例が、対照群で 1 例、10ppm 群で 8 例、100ppm 群で 3 例、1000ppm 群で 6 例認められた。哺育不良の母動物は、F0 世代の第 2 産次および F1 世代の各産次でも散見されたが低頻度であった。哺育不良動物の出現は F0 世代の第 1 産次に偏っており、用量相関性および世代の進行に伴って増強されないところから投与に起因しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

F0世代の第1産次では分娩日から哺育4日までの各投与群における哺育児の死亡が難産および母動物の哺育不良を反映して増加し、哺育4日生存率は10および1000ppm群でそれぞれ68.5%および71.4%であり、対照群(94.1%)と比較して有意であった。

出生日における哺育児体重は、F0世代の第1産次で各投与群とも対照群と比較して低値を示したが、その後の体重増加は1000ppm群を除き対照群と同等であった。1000ppm群の離乳日(哺育21日)の哺育児の体重は各世代の各産次ともに対照群よりも低値を示し、投与の影響と考えられた。

哺育児の耳介展開、切歯萌出、毛生および眼瞼開裂の分化率には群間で差がなく、離乳日における各種の反射、歩行および歩行状態に異常はみられなかった。

帝王切開成績;着床率についてはF1bの100ppm群で対照群と比較して低値であったが、これは妊娠黄体数が多かったための見かけ上の変化であった。胎児体重についてはF1bにおいて対照群と比較して全投与群で低値を示したが、F2bでは再現されなかったことから投与による影響とは考えられなかった。胎児の外表異常が少数例認められたが、自然発症例と考えられた。

胎児の骨格検査;胎児の骨格異常が少数例認められたが、自然発症例と考えられた。

胎児の内臓検査;胎児の内臓異常が少数例認められたが、自然発症例と考えられた。

臓器重量;各世代の雌雄ともに対照群と比較して有意差が散見されたが、用量相関性はみられなかった。

以上より、1000ppmの投与量において親動物の体重増加抑制および哺育期間中のラット児動物の体重増加抑制がみられたが生殖能力には影響はみられず、胎児致死作用や催奇形作用を示さないものと結論された。

したがって、ラットの次世代に及ぼす影響に関する本剤の最大無作用量は、親動物、児動物ともに100ppmと判断された。また、1000ppmの投与によっても繁殖性への影響はみられなかった。

<申請者註>本試験における無毒性量は親動物、児動物ともに100ppm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農薬株式会社にある。

繁殖性(1)

世代		親:F0 児:F1a、F1b				親:F1 児:F2a、F2b				親:F2				
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	15	15	15	15	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	15	15	15	15	
中毒症状	雄	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。												
	雌	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。												
死亡数	雄	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
	雌	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
体重	雄				増加抑制				増加抑制				増加抑制	
	雌				増加抑制				増加抑制					
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	—	0.7	6.3	66.3	—	0.6	6.0	62.5	—	0.8	8.1	86.5	
	雌	—	0.9	8.0	79.5	—	0.8	7.8	79.7	—	0.8	7.9	85.2	
摂餌量/食餌効率	雄	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。												
	雌	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。												
摂水量	雄	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。												
	雌	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。												
肉眼的病理所見	雄						#							
	雌	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。												
妊娠期間(日)	第1産次	22.5	22.4	22.6	22.6	22.5	22.2	22.3	22.4					
	第2産次	22.1	22.2	22.1	22.5	22.4	22.2	22.5	22.6					
交尾動物数 <sup>1)</sup>	雄	第1産次	30/30	27/30	28/30	29/30	28/30	27/30	25/30	29/30				
		第2産次	29/30	30/30	28/30	30/30	30/30	28/29	28/29	29/29				
	雌	第1産次	29/30	30/30	28/30	30/30	30/30	29/29	29/29	30/30				
		第2産次	30/30	27/30	28/30	29/30	28/30	28/30	27/30	30/30				
妊娠動物数 <sup>2)</sup>	第1産次	29/29	29/30	28/28	30/30	30/30	28/29	29/29	30/30					
	第2産次	28/30	25/27	24/28	29/29	28/28	28/28	25/27	30/30					
妊娠能(%) <sup>3)</sup>		30/30 (100)	29/30 (96.7)	30/30 (100)	30/30 (100)	29/30 (96.7)	28/30 (93.3)	28/30 (93.3)	30/30 (100)					
受胎能(%) <sup>4)</sup>		30/30 (100)	30/30 (100)	30/30 (100)	30/30 (100)	30/30 (100)	29/30 (96.7)	30/30 (100)	30/30 (100)					
分娩遅延動物数	第1産次	0	0	0	0	1	0	0	0					
	第2産次	0	0	0	1	0	0	1	3					
難産動物数	第1産次	0	2	1	0	0	0	0	0					
	第2産次	0	0	0	0	0	1	0	0					
生存産仔数 (腹当たり)	第1産次	12.3	12.6	13.7	13.3	12.3	13.2	13.4	12.9					
	第2産次	13.9	13.2	13.9	11.7	15.1	13.1	12.1**	11.7*					
死産仔数 (腹当たり)	第1産次	0.24	1.03	0	0.10	0.43	0.64	0	0.07					
	第2産次	0	0.28	0.32	0.20	0.06	0.50	0.27	0.10					
性比(雌/雄)	第1産次	0.96	0.97	0.99	0.98	0.96	0.88	0.96	0.98					
	第2産次	1.02	0.91	1.25	0.84	1.23	1.03	1.14	0.93					

空欄は異常なし。

<sup>1)</sup>: 交尾動物数/供試動物数

<sup>2)</sup>: 妊娠成立動物数/交尾成立雌数

<sup>3)</sup>: 無処置雄との交配を含む(妊娠成立雌数/供試雌数)×100

<sup>4)</sup>: 無処置雌との交配を含む(妊娠成立雄数/供試雄数)×100

\* p<0.05、\*\* p<0.01(Studentのt-検定)

#:下垂体腫瘍(1例)、片側性精巣萎縮(1例)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

繁殖性(2)

世 代		親:F0 児:F1a、F1b				親:F1 児:F2a、F2b						
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000			
母 動 物 数	第1産次	29	29	27	30	20	18	19	20			
	第2産次	28	25	24	29	17	18	15	20			
哺育4日生存率(%) <sup>1)</sup>	第1産次	94.1	68.5*	80.0	71.4**	95.9	85.7	80.7	93.0			
	第2産次	95.7	85.7	82.3	84.6	95.7	91.1	91.8	94.9			
哺育21日生存率(%) <sup>2)</sup>	第1産次	100	100	100	100	99.5	97.9	100	99.5			
	第2産次	99.4	100	100	99.2	100	100	100	100			
繁 殖 性 児 動 物	哺 育 児 体 重 (g)	第1産次 (雄)	出生時	6.1	5.8	5.8#	5.7##	6.2	6.0	6.1	6.2	
			4日	10.1	9.2	9.7	8.9	10.6	9.5#	9.9	9.5##	
			7日	16.1	14.9#	15.3	14.0###	17.2	15.0##	15.9#	14.9###	
			14日	31.6	30.7	30.5	26.7###	33.1	30.2#	30.8##	28.6###	
		第1産次 (雌)	出生時	5.8	5.5#	5.5#	5.4###	5.8	5.6	5.7	5.8	
			4日	9.6	8.9	9.1	8.5###	9.9	9.0	9.0#	9.1#	
			7日	15.4	14.2#	14.6	13.4###	16.2	14.3##	14.5##	14.2###	
			14日	30.0	29.2	29.1	25.4###	31.4	29.0##	28.8##	27.2###	
		第2産次 (雄)	出生時	47.3	45.7	45.9	39.0###	54.5	51.1	51.8#	46.8###	
			4日	6.3	5.9#	6.1	6.3	6.1	5.9	6.3	6.4	
			7日	10.2	9.8	9.4	10.0	9.4	9.2	9.9	9.8	
			14日	16.3	16.0	15.0	15.2	15.6	14.7	15.6	15.1	
		第2産次 (雌)	出生時	32.3	32.2	30.8	29.3#	31.3	30.4	30.9	28.2###	
			4日	52.4	51.8	49.0	45.8##	50.7	49.8	51.6	45.4##	
			7日	6.3	5.9#	6.1	6.3	6.1	5.9	6.3	6.4	
			14日	10.2	9.8	9.4	10.0	9.4	9.2	9.9	9.8	
		第2産次 (雌)	出生時	5.9	5.7	5.6	6.0	5.7	5.6	5.9	6.0	
			4日	9.4	9.3	8.9	9.7	9.0	8.6	9.3	9.1	
			7日	15.0	15.0	14.1	14.7	14.8	13.6	14.6	14.2	
			14日	30.6	30.1	29.5	28.4	29.9	28.9	28.8	26.9###	
		分 化 率 (%)	耳介展開	第2産次	97.7	100	97.2	100	99.6	100	98.2	99.1
			切歯萌出	第2産次	87.0	87.1	85.0	88.2	92.6	86.7	96.3	96.4
			毛 生	第2産次	100	100	100	100	100	100	100	100
			眼瞼開裂	第2産次	100	100	100	100	99.3	100	100	100
外形異常	第1産次	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。										
	第2産次	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。										
肉眼的病理所見	第1産次	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。										
	第2産次	検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。										

空欄は異常なし。

<sup>1)</sup> (哺育4日の総生存児数/出生時の総生存児数)×100

<sup>2)</sup> (哺育21日総生存児数/哺育4日の調整後総児数)×100

\* p<0.05、\*\* p<0.01 (順位和検定)

# p<0.05、## p<0.01、### p<0.001(Studentのt-検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

催奇形性

世 代		親:F0 児:F1b				親:F1 児:F2b					
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000		
動物数(雌)	第2産児	10	10	10	10	10	10	10	10		
催 奇 形 性	着 床 所 見	黄体数(1腹当たり)	17.3	17.9	18.2	16.3	16.1	16.7	18.9	16.8	
		着床数(1腹当たり)	14.5	16.8	16.3	14.4	14.5	15.1	14.0	15.3	
		着床率(%)	83.8	93.9###	89.2	88.3	90.1	90.4	74.1###	91.1	
		胚・胎児死亡数	早期	10	13	6	13	11	10	10	18
			後期	2	1	1	1	2	0	1	5
			合計	12	14	7	14	13	10	11	23
	胎児死亡率(%)	12/145 (8.3)	14/168 (8.3)	7/163 (4.3)	14/144 (9.7)	13/145 (9.0)	10/151 (6.6)	11/140 (7.9)	23/153 (15.0)		
	生存胎児数(1腹当たり)	13.3	15.4	15.6	13.0	13.2	14.1	12.9	13.0		
	生存胎児体重(g)	雄	5.6	5.2#	5.2#	5.3#	5.4	5.4	5.2	5.2	
		雌	5.2	4.8#	4.9#	4.9#	5.0	5.0	4.9	4.9	
	性 比(雌/雄)		0.96	1.03	1.03	0.91	0.89	1.20	0.98	1.36	
	胎 児 の 異 常	外形異常	検査胎児数	133	154	156	130	132	141	129	130
			矮小胎児	0	0	1	0	1	0	2	0
浮腫・髄膜瘤			0	0	0	0	0	1	0	0	
髄膜瘤			0	0	0	0	0	0	1	0	
骨格異常		検査胎児数	70	78	82	67	68	74	66	68	
		第4頸椎椎弓分離	1	0	0	0	0	0	0	0	
		第3頸椎椎弓短縮	1	0	0	0	0	0	0	0	
		第13胸椎椎体分離	0	0	0	1	0	0	0	0	
		第13肋骨短縮	0	0	0	1	1	0	2	0	
第4-5胸骨癒合		0	0	0	0	0	0	1	1		
内臓異常		検査胎児数	63	75	74	63	63	66	60	62	
		腎盂拡張	1	0	1	0	0	0	0	0	
		水尿管症	7	0	1	0	0	0	0	0	

空欄は異常なし。

# p<0.05、## p<0.01、### p<0.001(Studentのt-検定)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

臓器重量〔表中の数値は対照群に対する割合(%)を示す〕

世 代		親:F0				親:F1				親:F2				
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
検査動物数		雄	10	10	10	10	10	10	10	10	15	15	15	15
		雌	10	10	10	10	10	10	10	10	15	15	15	15
体 重		雄										105 ↑	93 ↓	
		雌				109 ↑			110 ↑			105 ↑		
肝 臓	重 量	雄							110 ↑			91 ↓		
		雌				123 ↑			120 ↑					
	体重比	雄							111 ↑			87 ↓	114 ↑	
		雌				114 ↑			109 ↑				109 ↑	
腎 臓	重 量	雄												
		雌						109 ↑				96 ↓		
	体重比	雄				77 ↓		95 ↓	109 ↑				110 ↑	
		雌			95 ↓			108 ↑	93 ↓		95 ↓	91 ↓		
脾 臓	重 量	雄												
		雌												
	体重比	雄		89 ↓					109 ↑				110 ↑	
		雌		88 ↓		84 ↓			89 ↓					
心 臓	重 量	雄									91 ↓		92 ↓	
		雌				112 ↑							107 ↑	
	体重比	雄									95 ↓	95 ↓		
		雌		95 ↓								96 ↓	104 ↑	
肺	重 量	雄			90 ↓							113 ↑		
		雌						94 ↓				89 ↓		
	体重比	雄											110 ↑	
		雌		91 ↓		90 ↓			90 ↓	89 ↓		84 ↓		
精 巢	重 量		91 ↓	93 ↓									95 ↓	
	体重比		92 ↓	91 ↓										
前立腺	重 量						78 ↓					121 ↑	115 ↑	
	体重比				86 ↓		81 ↓						123 ↑	
卵 巢	重 量												119 ↑	
	体重比												116 ↑	
子 宮	重 量		131 ↑											
	体重比		130 ↑											
胸 腺	重 量						64 ↓							
	体重比						66 ↓							
副 腎	重 量	雄			87 ↓									
		雌				118 ↑					88 ↓	88 ↓		
	体重比	雄		111 ↑	122 ↑			90 ↓	90 ↓			85 ↓		
		雌									86 ↓	82 ↓		

↑ ↓ :p<0.05、↑↓:p<0.01、↑↓ ↓ :p<0.001 で統計学的有意差を示す〔Student t-Test〕

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農薬株式会社にある。

2) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. 72)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体の純度:

供試動物: Wistar-Imamichi ラット、1 群雄 26 匹、雌 26 匹、投与開始時 5 週齢  
開始時平均体重; 雄 106 g、雌 92 g

投与期間: P 世代; 投与開始から F<sub>1</sub> 児離乳時までの 19 週間  
F<sub>1</sub> 世代; 離乳時から F<sub>2</sub> 児離乳時までの 19 週間

投与方法: 検体を 0、10、100、1000 ppm の濃度で含有した飼料を自由に摂取させた。なお、飼料の調製は、3 ないし 4 週に 1 回の頻度で実施した。

用量設定根拠:

交配・調整・選抜および観察・検査項目: 概要を次表にまとめた。

一般状態および死亡率: 全動物の全検査期間に一般状態および生死を 1 日 1 回観察した。

体重変化: P および F<sub>1</sub> 世代の雄は群分け日から解剖日まで 1 週間に 1 回測定した。P および F<sub>1</sub> 世代の雌は、交配前までは 1 週間に 1 回測定し、妊娠および哺育期間中は妊娠 0、7、14、21、および哺育 0(分娩日)、4、7、14、21 日に測定した。

摂餌量: P および F<sub>1</sub> 世代の雄ならびに交配前の雌は、体重測定日に給餌量を、その 2 日後に残量をケージ単位で測定し、その測定値から 2 日間の平均摂餌量(g/ラット/日)を算出しその週の摂餌量とした。交配期間中は摂餌量を測定しなかった。妊娠および哺育期間中の雌は、体重測定日に測定し、その間の平均摂餌量(g/ラット/日)を個体毎に求めた。

検体摂取量: 摂餌量の測定結果から、次式により検体摂取量を算出した。

$$\text{検体摂取量 (mg/kg/日)} = \frac{\text{飼料中の検体濃度 (ppm)} \times \text{1 日平均摂餌量 (g/日/ラット)}}{\text{体重測定日間の平均体重 (g)}}$$

交配および妊娠の確認: 交配に先立ち 8 日間膣垢像を観察し、発情前期にある雌を同群内の雄と 1 対 1 で 3 週間を限度として同居させた。翌日膣栓および精子により交尾を確認した。F<sub>1</sub> 世代については兄妹交配を避けて行った。膣栓または精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

繁殖性に関する指標: 交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率 (雄)} = (\text{交尾確認雄動物数} / \text{供試雄動物数}) \times 100$$

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農薬株式会社にある。

交尾率(雌) = (交尾確認雌動物数/供試雌動物数) × 100

授精率 = (雌を妊娠させた雄動物数/交尾確認雄動物数) × 100

妊娠率 = (妊娠雌動物数/交尾確認雌動物数) × 100

妊娠期間 = 分娩日 - 交尾確認日

出産率 = (生存児を出産した雌動物数/妊娠雌動物数) × 100

性比 = 雄生存児数/雌生存児数

産児数 = 生後 0 日の生存児数 + 死亡児数

生後 0 日生存率 = (生後 0 日生存児数/産児数) × 100

生後 4 日生存率 = (生後 4 日の調整前の生存児数/生後 0 日生存児数) × 100

生後 21 日生存率 = (生後 21 日生存児数/生後 4 日の調整後の児数) × 100

児動物の体重: F<sub>1</sub> および F<sub>2</sub> 児動物体重を、生後 0、4、7、14 日には雌雄別に腹毎に、21 日には個体別に測定した。

性成熟: F<sub>1</sub> 世代の生育動物について、雄ラットでは包皮の分離を、雌ラットでは膣開口を経日的に個体ごとに完了するまで観察した。

臓器重量: P および F<sub>1</sub> 世代親動物の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

子宮、卵巢、精巢、精巢上体、精囊(凝固腺を含む)、前立腺、下垂体、脳、肝臓、腎臓、脾臓、副腎

肉眼的病理検査: すべての動物(P および F<sub>1</sub> 世代親動物、生後 4 日調整余り動物、F<sub>1</sub> 世代選抜余り離乳動物、F<sub>2</sub> 世代離乳動物)について剖検を行った。雌親動物は着床痕数を記録した。

病理組織学的検査: P および F<sub>1</sub> 世代親動物の対照群および高用量群の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。

膣、子宮(子宮頸管および卵管)、卵巢、精巢、精巢上体、精囊および凝固腺、前立腺、下垂体

また、臓器重量に変化が認められた臓器において、下記の臓器について検体投与の影響を判定するために病理組織学的検査を実施した。

肝臓: P および F<sub>1</sub> 世代雌雄親動物の 0、100 および 1000 ppm 群を対象

腎臓: P および F<sub>1</sub> 世代雄親動物の 0 および 1000 ppm 群を対象

副腎: P および F<sub>1</sub> 世代雌親動物の 0 および 1000 ppm 群を対象

精子検査: P および F<sub>1</sub> 世代の各群 10 匹の雄および授精能のみられなかった雄について剖検時に精巢上体尾部より精子を採取し、数(精巢上体 1 g 当たりの精子数)、活動性および形態(200 精子中の形態異常精子出現率)を検査した。

試験の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(10週)	雌雄1対1で交配。交尾は膣栓または膣垢中の精子で確認(妊娠0日)	体重、摂餌量を週1回測定 交配に先立ち8日間性周期を検査
	交配(3週)		交配状況の観察
	妊娠(3週)		雌は妊娠0、7、14、21日に体重、摂餌量を測定 雄は解剖日まで体重、摂餌量を週1回測定
	出産	生後4日に各同腹児数を雄4匹、雌4匹に調整(1腹児数が8匹に満たない場合、調整しない)	出産状況の観察 生存児数、死亡児数、性別、外表異常および同腹生存児体重測定(分娩日を生後0日とする)
	哺育(3週)		母動物の哺育0(分娩日)、4、7、14、21日に体重、摂餌量を測定 生後4、7、14、21日に生存児数、児体重を測定 生後4日調整余り動物について異常の検査
	離乳		全親動物について臓器重量測定、肉眼的病理検査。 各群雄10匹および授精能のみられなかった雄について剖検時に精子検査 親動物の対照群と最高投与群について病理組織学的検査。継代用以外の児動物の肉眼的病理検査
F <sub>1</sub>	生育(10週)	(P世代に準ずる)	包皮分離、膣開口の観察
	交配(3週)		(P世代に準ずる)
	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)	(P世代に準ずる)
	離乳		(F <sub>1</sub> 世代に準ずる) 離乳後に屠殺し、肉眼的病理検査

結果:概要を後記の表に示した。

<親動物>

一般状態および死亡動物;一般状態の変化および死亡は P および F<sub>1</sub> 世代の雌雄ともに観察されなかった。

体重および摂餌量;P および F<sub>1</sub> 世代の雌雄ともに検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

体重における統計学的に有意な変化は、雄では P 世代の 10 ppm 群および F<sub>1</sub> 世代の 100 ppm 群でそれぞれ 1 回ずつ対照群を上回った。雌では生育期間中に P 世代の 100 ppm 群で 1 回および F<sub>1</sub> 世代の 100 ppm 群ならびに 1000 ppm 群でそれぞれ 2 回ずつ対照群を上回った。妊娠および哺育期間中では P 世代の投与群で対照群を有意に上回る変化がみられたが、F<sub>1</sub> 世代ではほとんど有意な変化が認められなかったことから、体重増加に検体投与の影響はないものと考えられた。

摂餌量については、P 世代の雄の 10 および 100ppm 群および F<sub>1</sub> 世代の雌の 10 ppm 群で対照群と比較して散発的に有意な低下が認められた以外、いずれも投与群が対照群を上回っており、摂餌量に対する検体投与の影響はなかったものと考えられた。

検体摂取量;P および F<sub>1</sub> 世代の雌雄ともに投与用量に比例した摂取量であった。

性周期; P および F<sub>1</sub> 世代ともに異常は認められなかった。

交配成績; P 世代の 100 ppm 群で交尾不成立が 1 組、不妊が 1 組認められたが、対照群およびその他の投与群で全例の動物で交尾および妊娠が確認され、対照群と投与群との間に有意な差は認められなかった。F<sub>1</sub> 世代では全ての交配で、交尾および妊娠が確認された。

出産・哺育成績;P 世代の 100 ppm 群で 1 例に出産が認められなかったが、対照群およびその他の投与群では全例が出産した。P および F<sub>1</sub> 世代ともに妊娠期間、生存児数、死亡児数、着床数、生後 0 日の生存率および性比について対照群と投与群との間に有意な差はみられなかった。また、哺育 4 日および 21 日の生存率についても群間の差はなかった。

精子検査;P 世代における 100ppm 群の交尾不成立の 1 例では正常であったが、不妊の 1 例については精巣および精巣上体に萎縮が観察され、精液の採取が不可能であり精子検査に至らなかった。授精能の認められた P および F<sub>1</sub> 世代の動物ではともに検体投与の影響は認められなかった。

臓器重量;P 世代では 1000ppm 群雄において肝臓および腎臓、雌において副腎の有意な絶対および相対重量の増加が認められた。F<sub>1</sub> 世代では 1000ppm 群雄で腎臓の絶対および相対重量の有意な増加が認められた。病理組織学的検査を実施した P および F<sub>1</sub> 世代の雌雄動物の肝臓、雄の腎臓および雌の副腎については、検体投与に関連する所見は認められなかった。しかし、肝臓重量の増加については、ラット 90 日間反復経口投与毒性試験(資料 No.27)において 5000 ppm 群で病理組織学的変化を伴った肝臓重量の増加がみられ、1000 ppm 群でも軽度ながら病理組織学的変化が認められていること、雌に重量増加傾向が認められていること、また本試験の投与期間が 90 日間反復経口投与毒性試験より 6 週間程度長いことを考慮すると、肝臓の重量増加は検体投与に関連した変化と考えられた。また、雄の腎臓および雌の副腎の重量増加については、病理組織学的検査で、検体投与に関連した所見は認められないこと、90 日間反復経口投与毒性試験(資料 No.27)におい

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農薬株式会社にある。

て本試験と同様な変化が認められないことから検体投与によるものとは考えられなかった。

肉眼的病理検査;PおよびF<sub>1</sub>世代ともに、いくつかの所見が散見されたが、これら所見は、いずれも低頻度であり対照群と投与群との間に有意差もないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査;PおよびF<sub>1</sub>世代ともに、生殖器系臓器および下垂体で所見がみられたが、いずれも低頻度で特異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。臓器重量の変化が認められた雌雄の肝臓、雄の腎臓および雌の副腎についても病理組織学的検査で有意な差は認められなかった。

#### <児動物>

生存産児数、死亡児数、性比および生後0日、4日および21日の生存率;対照群と投与群との間に有意な差は認められなかった。

包皮分離および膣開口;F<sub>1</sub>世代の雄の包皮分離および雌の膣開口について対照群と投与群との間に有意な差はなく検体投与の影響は認められなかった。

哺育児体重;F<sub>1</sub>世代の哺育児の体重に検体の影響は認められなかったが、F<sub>2</sub>世代の哺育児の体重は1000 ppm 群雄で哺育の前半で対照群に比べ有意に高値であったが、後半では低値に推移した。1000 ppm 群の体重増加量は生後7-14日で有意な低下が認められ、生後14-21日においても対照群に比べ低値で推移した。生後0日からの各測定日の体重増加量については、1000 ppm 群で雌雄ともに生後0-14および0-21日の増加量は対照群を有意に下回った。前回の試験(資料 No.14)では、明らかな哺育児の体重増加抑制が認められていることから、本検体の1000 ppm 投与は次世代の哺育児の体重増加を抑制するものと考えられた。

肉眼的病理検査;F<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>哺育児ともに肉眼的異常が散見されたが、これら所見は、いずれも低頻度であり対照群と投与群との間に有意差もないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果より、2世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、軽度ではあるが1000 ppm 群で親動物に肝臓重量の増加、F<sub>2</sub>哺育児に体重増加抑制が認められた。100および10 ppm 群では検体投与の影響は認められなかった。

したがって、最大無毒性量は、親動物および児動物とも100 ppm であると判断された。また、1000ppmの投与によっても繁殖性への影響はみられなかった。

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農薬株式会社にある。

結果の概要

世代		親:P		児:F <sub>1</sub>		親:F <sub>1</sub>		児:F <sub>2</sub>			
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000		
供試動物数	雄	26	26	26	26	26	26	26	26		
	雌	26	26	26	26	26	26	26	26		
一般状態		検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。									
死亡数		0	0	0	0	0	0	0	0		
親動物	・ 体重	雄	2週		↑103						
			18週						↑105		
	・ 体 重	雌	生育時	5週			↑104				
				9週						↑104	↑104
	・ 体 重	雌	妊娠時	10週						↑104	↑↑105
				0日						↑105	↑↑105
	・ 体 重	雌	妊娠時	7日							
				14日			↑104				
	・ 体 重	雌	妊娠時	21日		↑↑105	↑↑107	↑↑104			
				0日		↑↑106	↑↑106				
	・ 体 重	雌	哺育時	4日		↑↑109	↑↑112	↑↑106			
				7日		↑↑108	↑↑111	↑↑107			
	・ 体 重	雌	哺育時	14日		↑↑106	↑↑109	↑↑108			
				21日			↑104	↑↑104			
・ 摂 餌 量	雄	1-2週					↑↑109	↑106	↑106		
		2-3週					↑109				
		5-6週				↑↑109					
		6-7週				↑↑112		↑105			
		11-12週						↑↑107	↑105		
		12-13週		↓↓93	↓94			↑106	↑106		
		13-14週			↓94			↑↑107	↑↑107		
		16-17週							↑108		
	17-18週		↑109		↑110						
	雌	生育時	0-1週		↑↑112	↑106					
5-6週							↓93				
8-9週									↑109		
妊娠時		0-7日			↑105						
哺育時	0-4日		↑118	↑↑122	↑↑120						
	14-21日						↑106				

\*: 表中の数値は対照群を100とした場合の変動率を示し、統計学的に有意な場合のみ示した。

Dunnett 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農薬株式会社にある。

結果の概要結果の概要

世代		親:P		児:F <sub>1</sub>		親:F <sub>1</sub>		児:F <sub>2</sub>		
Dose (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	—	0.64	6.46	66.00	—	0.75	7.42	73.97	
	雌	—	0.92	9.21	93.11	—	1.02	10.20	99.57	
性周期		検体投与の影響は認められなかった。								
交尾率 (%)	雄	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	25/26 (96.2)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	
	雌	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	25/26 (96.2)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	
授精率 (%)		26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	24/25 (96.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	
妊娠率 (%)		26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	24/25 (96.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	
妊娠期間 (日)		22.6	22.5	22.7	22.9	22.1	22.3	22.6	22.9	
出産率 (%)		26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	23/24 (95.8)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	26/26 (100.0)	
着床痕数 <sup>a</sup>		13.6±1.7	14.1±1.5	14.3±3.3	14.2±1.5	15.8±2.2	15.1±1.6	15.5±1.7	15.9±1.6	
新生児数		12.6±2.5	12.8±1.8	13.3±2.9	12.3±2.2	14.0±2.5	13.7±1.9	13.0±2.9	13.3±2.7	
異常児数		0	0	0	1	0	0	0	0	
精子検査	活動性 (匹)	+++ <sup>b</sup>	10	9	6	10	7	6	9	7
		++ <sup>c</sup>	0	1	4	0	3	4	1	3
	精子数 <sup>a</sup> (×10 <sup>6</sup> )	1377±453	1406±303	1427±538	1377±350	1034±275	1043±339	1124±252	1083±229	
	形態異常率 <sup>a</sup> (%)	1.7±1.5	2.3±1.2	1.6±1.0	2.0±1.0	1.3±0.9	1.5±0.8	1.2±0.6	0.8±0.6	

<sup>a</sup>: 表中の数値は平均値±SDを示す。

<sup>b</sup>: 非常に活発

<sup>c</sup>: 中等度に活発



結果の概要(続き)

世代		親:P		児:F <sub>1</sub>		親:F <sub>1</sub>		児:F <sub>2</sub>				
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000			
親動物	雄	下垂体	重量							↑↑115		
			対体重比									
		肝	重量		↑111		↑↑115		↑107		↑108	
			対体重比		↑107		↑↑111					
		腎	重量		↑107		↑↑112		↑↑107	↑↑109	↑↑110	
			対体重比				↑↑108				↑↑106	
		副腎	重量		↑110		↑110				↑↑112	
			対体重比									
		雌	下垂体	重量			↑115	↑114				
				対体重比								
	卵巢		重量			↑↑115						
			対体重比									
	肝		重量				↑↑111					
			対体重比									
	腎臓		重量		↑↑107							
			対体重比		↑↑106						↓92	
	副腎		重量				↑↑116				↑108	
			対体重比				↑110					
	脾臓	重量			↑↑121							
		対体重比			↑118							
肉眼的病理検査		異常所見の有意な増加は認められなかった。										
病理組織学的検査		異常所見の有意な増加は認められなかった。										

\*:表中の数値は対照群を100とした場合の変動率を示し、統計学的に有意な場合のみ示した。

Dunnett 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農薬株式会社にある。

結果の概要 (続き)

世代		親:P		児:F <sub>1</sub>		親:F <sub>1</sub>		児:F <sub>2</sub>			
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000		
児動物	生後0日生存児数*	12.6±2.5	12.8±1.8	13.3±2.9	12.3±2.2	14.0±2.5	13.7±1.9	13.0±2.9	13.3±2.7		
	生後0日死亡児数	3	4	3	4	1	3	6	1		
	性比 (雄/雌)	0.99	1.12	1.21	0.97	1.11	0.99	0.84	1.23		
	生存率 (%)	生後0日	98.6	98.9	99.1	98.5	99.7	99.2	98.2	99.8	
		生後4日	93.6	93.1	97.0	96.7	96.1	93.3	88.1	94.3	
		生後21日	99.5	98.5	98.9	98.6	98.6	98.6	100.0	96.0	
	包皮分離* (日)	31±2	31±1	30±1	31±1	-	-	-	-		
	膣開口* (日)	32±2	33±2	32±2	33±2	-	-	-	-		
	体重 (g)	雄	生後0日	6.0±0.4	6.2±0.4	6.3±0.3*	6.2±0.6*	6.0±0.5	5.9±0.4	6.1±0.4	6.3±0.5*
			生後4日 <sup>b</sup>	9.4±1.4	9.6±0.8	9.5±0.8	9.9±1.0	9.0±1.3	9.0±0.9	9.5±1.0	9.9±1.1*
			生後4日 <sup>c</sup>	9.4±1.4	9.7±0.7	9.6±0.9	10.0±1.0	9.1±1.2	9.2±0.9	9.6±1.0	9.9±1.1*
			生後7日	14.4±2.0	14.7±1.3	14.6±1.7	14.8±1.4	13.5±1.9	13.6±1.3	14.6±1.4	14.1±1.6
			生後14日	29.3±2.8	29.9±1.7	30.0±2.8	28.6±1.9	27.7±2.8	27.7±2.0	29.6±1.9*	26.2±3.3
			生後21日	47.4±4.4	48.7±3.6	48.0±4.3	46.5±3.4	45.2±4.3	45.6±3.4	48.6±3.1**	43.1±4.6
雌		生後0日	5.6±0.4	5.7±0.4	5.8±0.3	5.9±0.4*	5.6±0.5	5.5±0.4	5.8±0.5	5.8±0.4	
		生後4日 <sup>b</sup>	8.8±1.4	8.9±0.8	9.0±1.0	9.3±0.8*	8.4±1.3	8.4±0.8	9.0±1.2	9.1±1.1	
		生後4日 <sup>c</sup>	8.9±1.3	9.1±0.8	9.2±0.9	9.5±0.8**	8.6±1.2	8.6±0.7	9.1±1.2	9.3±1.1	
		生後7日	13.6±1.8	13.9±1.4	14.3±1.5	14.0±1.3	12.8±1.8	12.7±1.2	13.7±1.5	13.1±1.7	
		生後14日	27.9±2.2	28.0±1.9	28.7±2.4	27.3±1.9	26.6±2.3	26.2±1.7	27.9±2.0	24.4±3.4	
		生後21日	45.1±3.9	46.0±3.4	46.3±3.7	44.3±3.3	43.0±3.6	42.8±2.7	45.3±3.1*	40.2±4.9	

\*: 表中の数値は平均値±SD の値を示す。

<sup>b</sup>: 生後4日の調整前

<sup>c</sup>: 生後4日の調整後

Dunnett 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農薬株式会社にある。

結果の概要(続き)

世代		親:P		児:F <sub>1</sub>		親:F <sub>1</sub>		児:F <sub>2</sub>		
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
児 重 加 物 ⑥	雄	生後 0-4 <sup>b</sup> 日	-	-	-	-	3.0±0.9	3.1±0.6	3.4±0.8	3.5±0.7
		生後 4 <sup>c</sup> -7 日	-	-	-	-	4.4±1.0	4.5±0.9	5.0±0.6*	4.2±1.0
		生後 7-14 日	-	-	-	-	14.3±1.4	14.1±1.3	15.0±1.3	12.1±2.5**
		生後 14-21 日	-	-	-	-	17.5±1.9	17.8±1.8	19.0±1.8**	16.9±1.7
		生後 0-7 日	-	-	-	-	7.5±1.6	7.7±1.2	8.5±1.2	7.8±1.3
		生後 0-14 日	-	-	-	-	21.8±2.6	21.8±2.0	23.5±1.7*	19.9±3.1*
		生後 0-21 日	-	-	-	-	39.3±4.1	39.6±3.2	42.5±3.0**	36.8±4.3*
	雌	生後 0-4 <sup>b</sup> 日	-	-	-	-	2.8±0.9	3.0±0.5	3.2±0.9	3.2±0.8
		生後 4 <sup>c</sup> -7 日	-	-	-	-	4.2±0.9	4.1±1.0	4.6±0.6	3.8±1.1
		生後 7-14 日	-	-	-	-	13.8±1.0	13.5±1.1	14.2±1.4	11.3±2.7**
		生後 14-21 日	-	-	-	-	16.4±1.6	16.6±1.6	17.5±1.6	15.8±1.9
		生後 0-7 日	-	-	-	-	7.3±1.5	7.3±1.1	8.0±1.2	7.2±1.4
		生後 0-14 日	-	-	-	-	21.0±2.0	20.8±1.6	22.1±1.8	18.5±3.2*
		生後 0-21 日	-	-	-	-	37.4±3.3	37.3±2.6	39.6±2.8*	34.3±4.7*
肉眼的病理検査		異常所見の有意な増加は認められなかった。								

\*: 表中の数値は平均値±SD の値を示す。

<sup>b</sup>: 生後 4 日の調整前

<sup>c</sup>: 生後 4 日の調整後

Dunnett 検定 \*: P<0.05、 \*\*: P<0.01

3) ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.15)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年: 1987 年

検体の純度:

試験動物 : SD 系ラット、開始時 8~10 週齢

1 群交尾確認雌 22 匹、開始時体重 193~240g

試験期間 : 妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間投与

試験方法 : 検体を 2%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、50、200 および 800 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には溶媒のみを投与した。

なお、膣垢中に精子が確認された日あるいは 3 個以上の膣栓が認められた日を妊娠 0 日とした。

【投与量設定根拠】

検査項目 :

親動物 : 試験期間を通じて一般状態および生死を毎日観察し、体重を妊娠 0、3、6~16 (毎日)、18 および 20 日に測定した。摂餌量は妊娠 0~2、3~5、6~15 (毎日)、16~17 および 18~20 日の各期間ごとに、飲水量は試験期間中毎日測定した。妊娠 20 日に二酸化炭素を過吸入させて屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。また、黄体数、着床数、生存および死亡胎児数、死亡胚数(初期および後期)および胎盤重量について検査した。切迫屠殺動物についても詳細な肉眼的検査を実施した。

胎児動物 : 全ての胎児体重を測定後、性別を判定し外表異常を観察した。各親動物の約半数の胎児について頸部、胸腔および腹腔内の臓器を肉眼的に検査し、その後骨格標本を作製して骨格異常を観察した。また、残りの胎児については Wilson の連続切片法により内臓検査を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

親動物および胎児の検査、観察に基づき以下のパラメータを算出した。

妊娠率(%)	=	妊娠動物数/交尾確認雌動物数 × 100
全胚死亡動物率(%)	=	全胚死亡動物数/妊娠動物数 × 100
着床率(%)*	=	着床数/黄体数 × 100
着床前死亡率(%)*	=	(黄体数-着床数)/黄体数 × 100
着床後死亡率(%)*	=	(着床数-生存胎児数)/着床数 × 100
生存胎児率(%)*	=	生存胎児数/着床数 × 100
性比*	=	雄の生存胎児数/雌の生存胎児数
各異常所見の発生率(%)	=	各異常所見がみられた胎児数/検査胎児数 × 100

\* : 各群のそれぞれの検査値の総数を用いて算出した。

試験結果: 結果を次表に示す。

#### 【親動物】

一般状態および死亡率: 800mg/kg/日群では、22匹の親動物のうち13匹が次の症状の1つ以上を示した。すなわち、軟便、生殖・泌尿器周囲の被毛の汚れ、嗜眠、円背位、るい瘦、立毛、眼瞼の半閉である。これらの症状は妊娠10~13日に観察され、1日ないし2~3日継続した。また、同群では妊娠12日に1匹が切迫屠殺された。  
200mg/kg/日群の1例は剖検時に不妊であることが確認された。

体重: 投与開始から5日間、800mg/kg/日群の体重は全く増加しなかった。本群の体重はそれ以降増加し、その程度も対照群と比較してわずかに低いものであったが、初期の差を埋め合わせるには至らなかった。

摂餌量: 800mg/kg/日群では投与期間中を通じて減少した。200mg/kg/日群でも妊娠14日に減少したが、妊娠15日の摂餌量には影響がなく、体重増加量にも影響はみられなかった。

摂水量: 800mg/kg/日群では妊娠7~16日の毎日、有意に増加し、200 mg/kg/日群では妊娠8~16日に有意に増加した。

剖検所見: いずれの動物にも検体投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

着床所見: 800mg/kg/日群において、4匹の親動物に全胚の吸収が観察された。この着床胚の死亡は、着床後初期に生じたものと考えられた。妊娠20日まで生存胎児を有していた800 mg/kg/日群の動物では、生存胎児数の減少、着床後死亡率の増加がみられ、これらはほとんどが初期の吸収によるものと考えられた。また、本群では胎児体重の減少もみられた。

#### 【胎児動物】

外表および内臓検査: 800mg/kg/日群では矮小胎児(< 2.70g)の軽微な増加および皮下浮腫の発生頻度が増加した。連続切片法による胎児検査では体壁と臓器の間に空隙のある胎児数の増加がみられた。

骨格検査: 800mg/kg/日群で後頭上骨および頭頂間骨、胸骨分節、尾椎および中手骨の骨化遅延および第1胸椎椎体の欠損がみられた。これらの変化は、胎児体重の減少と同様に軽微な胎児の発育遅延を示すものと考えられた。200mg/kg/日群では、頭頂間骨の骨化遅延が増加した。

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農薬株式会社にある。

結 論: 検体を妊娠ラットの器官形成期に投与した結果、200 mg/kg/日以上で親動物において飲水量の増加、胎児において頭蓋骨の骨化遅延が認められた。また、800mg/kg/日群では親動物で一般状態の変化、摂餌量の低下、摂水量の増加、体重増加量の低下がみられ、胎児において胎児体重の低下、矮小胎児数および皮下浮腫の増加、骨化遅延の増加がみられた。したがって、親動物および胎児に対する無毒性量はいずれも50 mg/kg/日と申請者は判断する。また、最高投与量の800 mg/kg/日においても胎児に対する催奇形性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農薬株式会社にある。

投 与 量 (mg/kg/日)		0	50	200	800		
1群当たりの動物数		22	22	22	22		
親	一 般 症 状	異常なし	異常なし	異常なし	円背位、軟便、 るい瘦、嗜眠、 眼瞼の半閉、 泌尿生殖器周囲 の被毛汚染		
	死亡動物数 <sup>a)</sup>	0 / 22	0 / 22	0 / 22	1 / 22		
	体 重 増 加 量 (g) <sup>b)</sup>	121	122	117	89 <sup>***</sup>		
	平均摂餌量 (g/匹/日)	26.6	26.9	26.1	21.5 <sup>c)</sup>		
	平均飲水量 (ml/匹/日)	42.8	46.9	51.8 <sup>d)</sup>	56.3 <sup>d)</sup>		
肉眼的病理検査		投与に起因すると思われる所見は認められなかった。					
動	妊 娠 動 物 数 (%)	22 (100)	22 (100)	21 (95)	22 (100)		
	不妊動物数	0	0	1	0		
	全胚死亡動物数 (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (18.2)		
	検査対象親動物数	22	22	21	17		
物	着床所見 (一親動物当たり)	黄 体 数	15.7	16.2	15.6	16.9	
		着 床 数 (%)	14.6 (93.0)	15.0 (92.6)	14.7 (94.2)	15.2 (89.9)	
		着床前死亡数 (%)	1.1 (7.0)	1.2 (7.4)	0.9 (5.5)	1.7 (10.1)	
		着床後死亡数	初期死亡胚数	0.6	0.6	0.8	1.9
			後期死亡胚数	0.1	0.2	0.2	0.4
			計 (%)	0.7 (4.8)	0.9 (6.0)	1.0 (6.8)	2.2 (14.5*)
		生存胎児数 (%)	13.9 (95.2)	14.1 (94.0)	13.7 (93.2)	12.9 (84.9)	
胎 盤 重 量 (g)	0.51	0.53	0.49	0.49			

<sup>a)</sup> : 切迫屠殺動物数。

<sup>b)</sup> : 投与開始(妊娠 6 日)から試験終了(妊娠 20 日)までの増加量。

<sup>c)</sup> : 試験期間の平均値については検定していない。日単位の検定で妊娠 7 日以降有意( $p < 0.01$  または  $p < 0.001$ 、Student の t-検定)に減少した。

<sup>d)</sup> : 試験期間の平均値については検定していない。妊娠 7 または 8 日から妊娠 16 日まで有意( $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$  または  $p < 0.001$ 、Student の t-検定)に増加した。

\*\*\* :  $P < 0.001$  (Student の t-検定)      \* :  $p < 0.05$ 、\*\*\*、 $P < 0.001$  (Mann-whitney の U-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農薬株式会社にある。

投与量 (mg/kg/日)		0	50	200	800
胎 児 動 物	胎児体重(g)	3.40	3.41	3.34	3.04**
	雄生存胎児数	6.6	6.6	7.0	5.9
	雌生存胎児数	7.3	7.5	6.6	7.1
	性 比	0.91	0.87	1.06	0.83
	外表異常 (発生率%)	矮小胎児 (2.0)	矮小胎児 (1.0)	矮小胎児 (2.1)	矮小胎児 (14.5*)
	内臓変異 (発生率%)	皮下浮腫 (15.1)	皮下浮腫 (9.9)	皮下浮腫 (21.5)	皮下浮腫 (45.4**)
		体壁・臓器の 空隙 (1.3)	体壁・臓器の 空隙 (0.7)	体壁・臓器の 空隙 (2.8)	体壁・臓器の 空隙 (18.5*)
	骨格変異 (発生率%)	後頭上骨の化骨遅延 (14.4)	後頭上骨の化骨遅延 (16.4)	後頭上骨の化骨遅延 (22.4)	後頭上骨の化骨遅延 (25.0)
頭頂間骨の化骨遅延 (39.9)		頭頂間骨の化骨遅延 (42.1)	頭頂間骨の化骨遅延 (60.8**)	頭頂間骨の化骨遅延 (74.1***)	
第3胸骨分節の化骨遅延 (5.2)		第3胸骨分節の化骨遅延 (6.9)	第3胸骨分節の化骨遅延 (14.0)	第3胸骨分節の化骨遅延 (25.9***)	
第1胸椎椎体の欠損 (1.3)		第1胸椎椎体の欠損 (1.3)	第1胸椎椎体の欠損 (0.7)	第1胸椎椎体の欠損 (10.7*)	
尾椎の化骨遅延 (2.6)		尾椎の化骨遅延 (3.8)	尾椎の化骨遅延 (3.5)	尾椎の化骨遅延 (14.3*)	
中手骨の化骨遅延 (52.9)		中手骨の化骨遅延 (57.2)	中手骨の化骨遅延 (59.4)	中手骨の化骨遅延 (82.1**)	

\*\* : Student のt-検定

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01、\*\*\* : p<0.001 (Mann-Whitney の U-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農薬株式会社にある。

4) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.16)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度:

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ(開始時 21~27 週齢)

1 群交尾確認雌 17 匹、開始時体重 3.52~4.64kg

試験期間 : 妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間投与

試験方法 : 検体を 2%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、10、50 および 250 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間毎日 1 回強制経口投与した。性周期を同期化させたウサギに人工授精し、授精日を妊娠 0 日とした。

【投与量設定根拠】

検査項目 :

親動物 : 全試験期間を通じて一般状態および生死を毎日観察し、体重を毎日測定した。摂餌量および飲水量は、妊娠 1~5、6~12、13~19、20~23 および 24~28 日の各期間ごとに測定した。

妊娠 29 日にペントバルビタールナトリウムの静脈内注射により屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚数(初期および後期)および胎盤重量について調査した。途中死亡動物、切迫屠殺動物および流産のため屠殺した動物についても詳細な肉眼的検査を実施した。

胎児動物 : 全ての生存胎児の体重を測定し、外表異常を観察した。生存胎児はペントバルビタールナトリウムの皮下注射により屠殺し、全例について頭部、胸腔および腹腔内の臓器を検査し、また性別を判定した。各親動物の 1/3 の胎児についてはブアン固定後、頭部の連続切片を作製して観察した。内臓検査後、頭部の連続切片に供した胎児の胸部および残りの全ての胎児について骨格標本作製し、骨格異常を観察した。

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農薬株式会社にある。

親動物および胎児の検査、観察に基づき以下のパラメータを算出した。

妊娠率(%)	= 妊娠動物数/人工授精雌動物数 × 100
着床率(%)*	= 着床数/黄体数 × 100
着床前死亡率(%)*	= (黄体数-着床数)/黄体数 × 100
着床後死亡率(%)*	= (着床数-生存胎児数)/着床数 × 100
生存胎児率(%)*	= 生存胎児数/着床数 × 100
性比	= 雄の生存胎児数/雌の生存胎児数
各異常の発生率(%)	= 各異常がみられた胎児数/検査胎児数 × 100

\* : 各群の総数を用いて算出した。

試験結果: 結果を次表に示す。

#### 【親動物】

一般状態および死亡率; 250mg/kg/日群では投与開始後から摂餌量の低下および糞便量の減少がみられた。その他の群では試験期間を通じて対照群と同等であった。10mg/kg/日群で1匹が死亡し、1匹を切迫屠殺した。これらの動物の剖検では、胃腸管または呼吸器系の障害がみられたが、投与に起因するものとは考えられなかった。

体重; 250mg/kg/日群では投与開始時から4日目までの間に顕著な体重減少が認められた。その後は対照群と同等の体重増加率を示し急速な回復がみられたが、試験終了時まで初期の体重減少を回復するには至らなかった。

摂餌量および摂水量; 250mg/kg/日群で投与期間の前半に摂餌量の減少がみられたが、その後は対照群と同等であった。摂水量に投与の影響はみられなかった。

肉眼的病理検査; 投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

流産および全胎児死亡例; 50mg/kg/日群の1匹が体重減少後流産した。250mg/kg/日群の2匹では全胎児の吸収がみられた。その他の母動物では異常はみられなかった。

着床所見および胎児体重; 着床数および生存胎児数、着床前および着床後死亡率、または胎児体重および胎盤重量に投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

#### 【胎児動物】

胎児の外表、内臓および骨格検査; 矮小胎児(体重 < 32.0g)、精巣の鬱血、脳の囊胞性拡張、種々の部位における骨の骨化不全等が観察されたが、いずれも本系統のウサギの対照群にみられる種類および頻度のものであった。

頭部の観察; 少数の所見がみられたが、投与に起因するものとは考えられなかった。

結論: 検体を妊娠ウサギの器官形成期に投与した結果、250 mg/kg 群で親動物の体重減少、摂餌量の減少が認められたところから、親動物に対する最大無作用量は 50 mg/kg/日、胎児に対する最大無作用量は 250mg/kg/日であった。また、最高投与量の 250 mg/kg/日においても胎児に対して催奇形性は認められなかった。

<申請者註> 本試験における無毒性量は親動物で 50 mg/kg/日、胎児で 250mg/kg/日と判断される。

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農薬株式会社にある。

投 与 量(mg/kg/日)		0	10	50	250		
1群当たりの動物数		17	17	17	17 <sup>a)</sup>		
親 動 物	一 般 症 状	異常なし	異常なし	異常なし	摂餌量および糞便量の減少		
	死 亡 数	0/17	2/17 <sup>b)</sup>	0/17	0/16		
	体 重 増 加 量(kg)	0.47	0.49	0.47	0.31		
	摂 餌 量(g/匹/日)	169	180	175	158		
	摂 水 量(ml/匹/日)	407	481	497	477		
	肉眼的病理検査	投与に起因すると思われる所見は認められなかった。					
	妊 娠 動 物 数(%)	16(94)	16 (94)	17 (100)	14 (82)		
	不 妊 動 物 数	1	1	0	2		
	流 産 動 物 数	0	0	1	0		
	全胚死亡動物数(%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (14.3)		
	検査対象親動物数	16	14	16	12		
	着床所見(一親動物当たり)	黄 体 数	11.1	10.1	10.8	9.8	
		着 床 数(%)	9.6 (86.5)	8.2 (81.2)	9.5 (88.0)	8.4 (85.7)	
		着床前死亡数(%)	1.5 (13.6)	1.9 (19.0)	1.3 (12.1)	1.4 (14.4)	
		着床後死亡数	初期死亡胚数	0.1	0.2	0.5	0.4
			後期死亡胚数	0.4	0.1	0.5	0.2
			計 (%)	0.6 (5.9)	0.4 (4.3)	1.0 (10.5)	0.6 (6.9)
雄生存胎児数		4.3	3.4	4.4	3.4		
雌生存胎児数		4.8	4.5	4.1	4.4		
生存胎児数 (%)		9.0 (93.8)	7.9 (96.3)	8.5 (89.5)	7.8 (92.9)		
胎 盤 重 量(g)	5.6	6.3	5.8	6.2			

統計的有意差なし(t-検定、Mann-WhitneyのU-検定、 $\chi^2$ -検定またはFisherの正確確率検定)

<sup>a)</sup>: 1匹を妊娠6日に試験から除外した(報告書に除外理由が未記載)。

<sup>b)</sup>: 2匹中1匹は切迫屠殺動物。

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農薬株式会社にある。

投 与 量(mg/kg/日)		0	10	50	250
胎 児 動 物	胎 児 体 重(g)	42.0	44.0	41.8	41.2
	性 比	0.90	0.76	1.07	0.77
	外表異常 (発生率 %)	矮小胎児(7.6)	矮小胎児(3.6)	矮小胎児(9.6)	矮小胎児(9.6)
	内 臓 変 異 <sup>c)</sup> (発生率 %)	精巢の鬱血 (0.0) 脳の嚢胞性 拡張(17.4) ひだ状網膜 (17.3)	精巢の鬱血 (2.1) 脳の嚢胞性 拡張(12.9) ひだ状網膜 (25.8)	精巢の鬱血 (2.8) 脳の嚢胞性 拡張(9.8) ひだ状網膜 (29.3)	精巢の鬱血 (2.4) 脳の嚢胞性 拡張(6.9) ひだ状網膜 (6.9)
	骨 格 変 異 <sup>d)</sup> (発生率 %)	胸骨分節の化 骨不全(69.4) 長骨の化骨 不全(61.1) 後頭上骨の化 骨不全(4.1) 非対称骨盤 (4.2)	胸骨分節の化 骨不全(70.9) 長骨の化骨 不全(59.1) 後頭上骨の化 骨不全(2.5) 非対称骨盤 (5.5)	胸骨分節の化 骨不全(66.9) 長骨の化骨 不全(63.2) 後頭上骨の化 骨不全(1.1) 非対称骨盤 (2.2)	胸骨分節の化 骨不全(52.2) 長骨の化骨 不全(72.3) 後頭上骨の化 骨不全(4.6) 非対称骨盤 (8.5)

統計的有意差なし(t-検定)

<sup>c)</sup> : 頭部については各親動物の 1/3 の胎児、内臓については全胎児を対象に検査した。

<sup>d)</sup> : 頭部については各親動物の 2/3 の胎児、他の部位については全胎児を対象に検査した。

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農薬株式会社にある。

(13)変異原性

1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 No.17)

試験機関:

報告書作成年: 1980 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 *S. typhimurium* の TA1535 株、TA1537 株、TA1538 株、TA98 株および TA100 株ならびにトリプトファン要求性の大腸菌 *E. coli* の WP2uvrA を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

試験結果 : 検体処理群では、S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの変異株においても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。  
一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(AF-2)、N-エチル-N'-ニト-N-ニトロソグアニジン(ENNG)、9-アミノアクリジン塩酸塩(9-AA)および 2-ニトロフルオレン(2-NF)では S-9Mix の非存在下で、2-アミノアントラセン(2-AA)では S-9Mix の存在下において、対照群と比較して著明な復帰コロニー数の増加が認められた。

結 論 : 以上の結果から検体には復帰変異誘発性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ / プレート)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)		-	108	5	29	52	9	11
			104	5	25	37	5	8
検体	10	-	123	11	19	36	11	7
			118	9	17	37	12	9
	50	-	77	2	16	44	4	16
			102	2	14	36	7	11
	100	-	109	6	19	48	6	12
			95	6	15	33	10	18
	500	-	89	5	15	25	12	12
			104	7	23	26	5	20
	1000	-	113	6	20	45	6	10
			130	7	25	45	3	11
	5000	-	132	8	22	41	8*	13
			92	8	28	32	6*	10
溶媒対照 (DMSO)		+	110	5	18	22	3	18
			105	11	22	26	7	13
検体	10	+	121	4	15	33	10	25
			139	7	23	24	8	23
	50	+	126	5	28	30	10	16
			117	7	13	35	3	19
	100	+	102	5	21	27	5	12
			115	5	29	30	7	22
	500	+	130	9	25	27	5	14
			91	5	17	28	3	17
	1000	+	115	3	20	22	7	20
			90	5	26	32	2	15
	5000	+	114	5	26	19	1	17
			133	6	20	7	7	7
陽性対照	名 林		AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA	2-NF
	$\mu\text{g}$ /プレート		0.01	10	0.04	0.1	80	2
	コロニー数 /プレート	-	441	1125	487	493	1084	264
			465	852	503	489	1379	248
	名 称		2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	$\mu\text{g}$ /プレート		0.5	2	40	0.5	2	0.5
	コロニー数 /プレート	+	816	158	454	217	128	160
			710	177	426	193	147	178
	コロニー数 /プレート	-	139	8	24	45	10	8
130			10	23	41	7	9	

\*: 生育抑制

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 No. 73)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年:1988 年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下および非存在下で、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、1.6~5000  $\mu$ g/プレート の範囲の 6 濃度で実施した。試験は 3 反復とし、2 回行った。2 回目の試験で、S9 mix 非存在下における TA98 株に対する陽性対照物質 Daunomycin HCl の反応が弱かったため、TA98 株を用いて S9 mix 非存在下における 3 回目の試験を行った。

用量設定根拠:

試験結果: 結果を次表に示した。

2 回の試験において検体は S9 mix 存在下ではすべての菌株で、S9 mix 存在下では TA100、TA1535、TA1537 および TA1538 株で復帰変異コロニー数を増加させなかった。いずれの場合も最高濃度(5000  $\mu$ g/プレート)で沈殿物がみられ、試験系における検体の溶解限界であることが示唆された。1 回目試験において TA98 株(S9 mix 非存在下)の低用量群(1.6  $\mu$ g/プレート)で復帰変異コロニー数の統計学的に有意な増加がみられた。しかし、溶媒対照値の 2 倍を超えないこと、より高濃度の用量では有意な増加がみられないこと、この増加をマスクする毒性がみられないこと、2 回目の試験では再現性がみられないことから、この影響は検体に処理に起因するものとは考えられない。  
一方、陽性対照として用いた Acridine Mutagen ICR191(ICR191)、2-Aminoanthracene (2AA)、Daunomycin HCl (Dr)、4-Nitro-o-phenylene diamine (4NPD) および N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1 回目試験

(対照では 5 反復、検体では 3 反復、陽性対照では 2 反復の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 mix の有無	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			
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538	
対照(DMSO)		—	66.4	28.8	12.4	9.2	7.0	
検体	1.6	—	68.7	27.0	24.3*	6.0	7.0	
	8.0	—	59.3	26.7	17.7	8.0	5.7	
	40	—	69.7	27.7	10.3	7.3	7.0	
	200	—	59.7	18.0	9.7	6.0	6.7	
	1000	—	52.7	23.0	9.3	9.0	5.0	
	5000	—	68.7	25.0	13.0	6.7	9.7	
対照(DMSO)		+	72.2	21.2	16.4	7.4	11.0	
検体	1.6	+	80.0	18.3	11.0	8.0	8.3	
	8.0	+	74.0	20.3	14.0	8.7	11.7	
	40	+	81.3	29.3	17.0	9.7	14.3	
	200	+	73.7	24.0	11.0	8.7	12.7	
	1000	+	69.3	16.0	21.3	10.3	15.0	
	5000	+	75.7	22.3	18.3	10.3	8.3	
陽性 対照	ICR191	0.5	—				46.0*	
		1.0	—				87.0*	
		2.0	—				199.5*	
	2AA	0.2	+	200.5*		112.5*		135.5*
		0.5	+	406.5*	54.5*	357.0*	35.0*	236.5*
		1.0	+	774.0*	66.0*	660.5*	47.5*	524.0*
		2.0	+		95.5*		171.0*	
	Dr	0.2	—			136.5*		
		0.5	—			462.0*		
		1.0	—			895.0*		
	4NPD	1.0	—					77.0*
		2.0	—					82.0*
		5.0	—					231.0*
	MNNG	1.0	—	160.0*	27.5			
		2.0	—	535.0*	587.0*			
5.0		—	1757.0*	1983.0*				

注) ICR191: Acridine Mutagen ICR191、2AA: 2-Aminoanthracene、Dr: Daunomycin HCl、  
4NPD: 4-Nitro-o-phenylene diamine、MNNG: N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

\*:  $p < 0.01$  (片側 Student t 検定)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2 回目試験

(対照では 5 反復、検体では 3 反復、陽性対照では 2 反復の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 mix の有無	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			
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538	
対照(DMSO)		—	61.0	40.6	8.2	7.8	5.6	
検体	1.6	—	66.7	34.3	5.3	9.7	7.0	
	8.0	—	55.3	27.0	7.0	9.3	6.0	
	40	—	66.7	28.3	9.3	10.7	6.7	
	200	—	58.0	31.3	6.0	10.7	6.3	
	1000	—	55.7	32.7	6.7	7.7	7.7	
	5000	—	56.3	30.3	7.3	10.0	5.3	
対照(DMSO)		+	89.2	32.4	10.4	11.0	9.0	
検体	1.6	+	79.3	27.3	9.3	8.3	9.3	
	8.0	+	76.0	29.0	10.7	8.3	9.0	
	40	+	81.3	35.3	9.7	12.3	8.0	
	200	+	68.7	28.0	7.0	12.0	8.7	
	1000	+	69.7	33.7	10.0	9.7	8.0	
	5000	+	61.3	27.0	10.3	12.0	8.3	
陽性対照	ICR191	0.5	—				44.5*	
		1.0	—				91.0*	
		2.0	—				200.5*	
	2AA	0.2	+	196.0*		100.0*		102.0*
		0.5	+	436.5*	62.5*	212.0*	24.0*	213.5*
		1.0	+	880.5*	84.5*	442.0*	55.0*	430.5*
		2.0	+		128.0*		139.5*	
	Dr	0.2	—			10.5		
		0.5	—			21.0*		
		1.0	—			50.5*		
	4NPD	1.0	—					82.5*
		2.0	—					127.0*
		5.0	—					303.5*
	MNNG	1.0	—	147.0*	53.5			
		2.0	—	510.0*	536.0*			
5.0		—	1739.5*	2129.0*				

注) ICR191: Acridine Mutagen ICR191、2AA: 2-Aminoanthracene、Dr: Daunomycin HCl、  
4NPD: 4-Nitro-o-phenylene diamine、MNNG: N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

\*:  $p < 0.01$  (片側 Student t 検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3回目試験(対照では5反復、検体では3反復、陽性対照では2反復の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート
			フレームシフト型 TA98
対照(DMSO)		—	11.6
検体	1.6	—	15.0
	8.0	—	11.0
	40	—	8.3
	200	—	12.7
	1000	—	10.3
	5000	—	8.3
陽性対照	Dr	0.2	57.5*
		0.5	173.0*
		1.0	524.0*

注) Dr: Daunomycin HCl

\*:  $p < 0.01$  (片側 Student t 検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) マウスリンフォーマ TK 試験による変異原性試験

(資料 No. 74)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年:1988 年

検体純度:

試験期間:

試験方法: マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK<sup>+</sup> -3.7.2c 株を用い、代謝活性化系(S9 mix)の存在下および非存在下で、マイクロウェル法を用いてトリフルオロチミジン(TFT)抵抗性細胞の出現頻度を測定し、突然変異誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。試験は 2 回行い、それぞれ下記濃度で実施した。

S9 mix 存在下および非存在下で対数増殖期の細胞を各濃度の検体と 2 時間処理した。試験は 2 反復で実施した。処理後、細胞を洗浄し、その一部をマイクロウェルプレートに播種して 12 日間培養し、処理直後の生存率を算出した。残りの細胞は 72 時間の突然変異発現期間中に、増殖率を保ち、毎日継代した。その後マイクロウェルプレートに TFT 存在下および非存在下で播種して 12 日間培養し、それぞれコロニーを含まないウェルを計数して、突然変異頻度を算出した。

試験濃度

試験	S9 mix 非存在下 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix 存在下 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
1	42.2, 31.6, 23.7, 17.8	100.0, 75.0, 56.3, 42.2, 31.6, 23.7, 17.8
2	31.6, 23.7, 17.8, 13.3	100.0, 75.0, 56.3, 42.2, 31.6

結果の判定: 過度の細胞毒性を誘発する用量(生存率 10%未満)だけでなく統計学的に有意な用量依存性の突然変異頻度の増加が認められ、変異体数が溶媒対照値を超えて増加し、反応に再現性のある場合は、陽性反応とみなす。突然変異頻度に、再現性のある統計学的に有意な用量依存性の増加が認められない場合は、陰性反応とみなす。

用量設定根拠:

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農薬株式会社にある。

結果： 結果を表に示した。

細胞毒性：

S9 mix 非存在下では、L5178 細胞に対する検体の細胞毒性によって制限される用量 (42.2 および 31.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) まで試験した。

S9 mix 存在下では、培養条件下における検体の溶解度によって制限される用量 (100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) まで試験した。この濃度では著しい細胞毒性 (生存率の減少) が認められた。

突然変異頻度：

S9 mix の有無にかかわらず、検体は、L5178Y 細胞に著しい細胞毒性を生じる濃度においても、有意な突然変異頻度の上昇は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたメタンスルホン酸エチル (EMS) および N-ニトロソジメチルアミン (DMN) では明らかな突然変異頻度の上昇が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系存在の有無にかかわらず、本試験条件下で突然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農薬株式会社にある。

試験結果

(2 反復の平均値)

	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix の有無	生存率 (%)	突然変異頻度 ( $\times 10^{-4}$ )
試験 1	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{L}/\text{mL}$	—	100	2.8
	検体	42.2	—	13	2.0
		31.6	—	80	1.7
		23.7	—	98	2.2
		17.8	—	101	2.6
		陽性対照(EMS)	1000	—	92
	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{L}/\text{mL}$	+	100	3.0
	検体	100.0	+	53	2.4
		75.0	+	63	2.3
		56.3	+	75	2.1
		42.2	+	78	2.1
		31.6	+	77	2.0
		23.7	+	81	2.4
		17.8	+	90	2.0
陽性対照(DMN)	0.9 $\mu\text{L}/\text{mL}$	+	62	17.6	
試験 2	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{L}/\text{mL}$	—	100	3.0
	検体	31.6	—	20	2.6
		23.7	—	64	2.5
		17.8	—	78	3.1
		13.3	—	86	4.3
	陽性対照(EMS)	1000	—	68	14.2
	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{L}/\text{mL}$	+	100	3.0
	検体	100.0	+	8	3.1
		75.0	+	83	2.8
		56.3	+	86	2.6
		42.2	+	92	2.9
		31.6	+	109	2.1
陽性対照(DMN)	0.9 $\mu\text{L}/\text{mL}$	+	76	21.0	

統計解析は実施しなかった。

注) EMS:メタンサルホン酸エチル

DMN:N-ニトロソジメチルアミン

4) ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No.18)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年 1988 年

検体の純度:

方 法 : 男女各 1 名の提供者から得たヒトリンパ球を薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下あるいは非存在下において、検体を含む培地で約 3 時間処理し、その後検体を含まない培地にかえて約 24 時間培養した。培養終了前に 2 時間コルヒチン処理を行い分裂を分裂中期で停止させ、スライド標本を作成した。各提供者から得たリンパ球とも、各濃度あたり 200 個(スライド 1 枚につき 100 個、2 反復)の中期分裂像を観察した。染色体の異常を、ギャップ、切断、断片・細片、多種の異常、交換およびその他に分類して計数した。ギャップを除いた異常を有する細胞の割合(%)について Fisher の直接確率法を用いて統計学的解析を行った。

培地中の検体濃度は、試験前に実施した細胞毒性試験から、溶解限界を最高濃度とし、10、60 および 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。陽性対照として、S-9 mix 存在下では Cyclophosphamide (CPA)、S-9 mix 非存在下では Mitomycin C (MMC)を用いた。溶媒対照として DMSO を用いて同様に試験し、また無処理対照を設けた。

結 果 : 結果を次頁の表に示す。

検体処理群では、溶媒対照群および無処理対照群と比較して全処理群において有糸分裂指数の若干の低下がみられたが、最高濃度の 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ においても染色体異常を有する細胞の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた MMC および CPA では顕著な異常細胞数(%)の増加が認められた。

結 論 : 以上のように、検体のヒトリンパ球を用いた *in vitro* 細胞学遺伝的試験における染色体異常誘発性は、陰性であった。

本資料に記載した情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

S-9 mix の有無	薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	検 査 細胞数 <sup>a)</sup>	染 色 体 異 常 数 <sup>a)</sup>						平均異常 細胞数(%) (ギャップを 除く)	果常数/細胞 (ギャップを 除く)	平均有糸 分裂指数 (%)
				ギャップ	切 断	断片・ 細片	多種の 異常	交 換	その他			
-	無処理対照	-	200	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	11.5
			200	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	13.0
	溶媒対照 (DMSO)	1 $\mu\text{l}/\text{ml}$	200	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	12.0
			200	2	2	1	0	0	1	1.00	0.110	12.0
	検 体	10	200	0	1	0	0	0	0	0.50	0.005	11.0
			200	0	1	0	0	0	0	0.50	0.005	11.0
		60	200	0	2	1	0	0	0	1.50	0.020	7.0
			200	1	0	1	0	0	0	0.50	0.005	5.5
		100	200	0	0	0	0	0	1	0.50	0.005	7.5
			200	6	1	0	0	0	0	0.50	0.005	9.0
	陽性対照 (MMC)	0.5	30	0	3	5	0	0	4	33.33**	0.500	5.0
			35	0	2	11	0	1	4	40.00**	1.029	4.0
+	無処理対照	-	200	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	11.0
			200	2	0	0	0	0	0	0.00	0.000	9.5
	溶媒対照 (DMSO)	1 $\mu\text{l}/\text{ml}$	200	1	0	0	0	0	0	0.00	0.000	11.0
			200	2	0	0	0	0	0	0.00	0.000	11.0
	検 体	10	200	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	6.0
			200	4	2	0	0	0	0	1.00	0.010	10.0
		60	200	0	0	1	0	0	0	0.50	0.005	4.5
			200	1	0	1	0	0	0	0.50	0.005	7.5
	100	200	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	4.5	
		201	2	1	0	0	0	0	0.50	0.005	8.5	
	陽性対照 (CPA)	100	25	0	4	4	0	0	2	24.00**	0.560	6.0
			26	8	7	8	0	0	3	46.15**	1.346	3.0

各処理群とも、2人の提供者から得たリンパ球についての結果を2段に記載した。

<sup>a)</sup> : 陽性対照群についてはスライド1枚の観察結果。その他の群についてはスライド1枚につき100個の細胞、2連反復の観察結果。

\*\* : P<0.01 (Fisherの直接確率法による片側検定)。

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農薬株式会社にある。

5) チャイニーズハムスターの培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No.75)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年 2006 年

検体の純度:

方法: チャイニーズハムスター由来の継代培養した CHL/IU 細胞を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を評価した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して用いた。検体の処理時間は 6、20 および 40 時間とし、6 時間処理では代謝活性化(S9 mix)および非活性化の両条件下で、20 および 40 時間処理では非活性化条件下で検討した。また、各条件において、陽性対照および溶媒対照群を設けた。各濃度あたり 2 枚のプレートを作製し、1 プレートあたり 100 個、各濃度あたり計 200 個の分裂中期像について観察を行った。

用量設定根拠:

結果: 結果を次表(次頁)に示す。検体は処理時間、代謝活性化の有無に関わらず、すべての処理群において染色体の構造異常を有する分裂中期細胞の出現頻度ならびに数的異常である倍数体の出現頻度の増加を示さなかった。一方、陽性対照として用いたシクロフォスファミドおよびマイトマイシン C では、染色体の構造異常を有する分裂中期細胞の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、プロフェジン原体は代謝活性化を含む本試験条件下において、染色体の構造異常および数的異常誘発性を示さないと結論される。



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農薬株式会社にある。

6 時間処理の結果表

薬剤	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	S9 mix の有無	構造異常細胞の 出現頻度(GAPを除く) (%)	倍数性細胞の 出現頻度 (%)	細胞生存率 (%)
溶媒対照 (DMSO)	-	+	0.0	1.0	-
ブプロフェジン	64.1		0.5	0.0	56.1
	70.6	+	0.0	1.0	71.6
	77.9		0.0	1.0	42.7
陽性対照 (CP)	10.0	+	33.0**	1.0	72.5
溶媒対照 (DMSO)	-	-	1.5	1.0	-
ブプロフェジン	26.5		0.0	1.0	60.6
	31.8	-	0.0	0.5	53.2
	38.2		0.0	1.5	38.5
陽性対照 (MMC)	0.100	-	29.5**	1.0	80.4

\*\* :  $p < 0.01$  vs 溶媒対照 (Fisher's exact test)

DMSO: Dimethylsulfoxide, CP: Cyclophosphamide, MMC: Mitomycin C

20 時間および 40 時間処理の結果表

暴露 期間	薬剤	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	構造異常細胞の 出現頻度(GAPを除く) (%)	倍数性細胞の 出現頻度 (%)	細胞生存率 (%)
20 時間 細胞周期 (1.5 正常)	溶媒対照 (DMSO)	-	0.5	0.5	-
	ブプロフェジン	10.9	0.0	1.5	74.8
		15.3	1.5	0.5	61.0
		21.4	0.5	2.0	35.0
	陽性対照 (MMC)	0.0700	30.5**	1.0	66.5
40 時間 細胞周期 (3.0 正常)	溶媒対照 (DMSO)	-	0.5	0.5	-
	ブプロフェジン	7.79	0.5	1.5	98.7
		10.9	0.5	0.5	79.9
		15.3	0.0	1.5	46.2
	陽性対照 (MMC)	0.0700	42.0**	0.5	76.0

\*\* :  $p < 0.01$  vs 溶媒対照 (Fisher's exact test)

DMSO: Dimethylsulfoxide, MMC: Mitomycin C

6) マウスを用いた小核試験

(資料 No.29)

試験機関:

報告書作成年: 1983 年

検体の純度 :

試験動物 : BDF1 系マウス、1 群雌雄各 6~8 匹、投与開始時 7 週齢

方 法 : 検体を 2% Tween80 水溶液に懸濁し、胃ゾンデを用いてマウスへ強制経口投与した。1 回投与法においては、用量 6400、8000 または 10000mg/kg で投与し、反復投与法においては用量 10000mg/kg で 4 日間にわたり 24 時間間隔で反復投与した。1 回投与法の 10000mg/kg 群、反復投与各群においては投与 12、24、48 および 72 時間後に動物を屠殺し、大腿骨から骨髓を採取した。1 回投与法の 6400 および 8000mg/kg 群では投与 24 時間後に屠殺し、大腿骨から骨髓を採取した。採取した骨髓細胞をスライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ液で染色し、骨髓標本を作製した。陽性対照群の動物にはマイトマイシン C を用量 2.0mg/kg で 1 回腹腔内投与した。

骨髓標本を観察し、多染性赤血球 (PCE) 1000 個中における小核を有するもの (MNPCE) の出現頻度を求めた。また、骨髓抑制の指標として全赤血球 (多染性赤血球 PCE + 正染性赤血球 NCE) 1000 個中に占める多染性赤血球の割合も求めた。

【用量設定根拠】

試験結果: 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示す。

1 回投与法において 10000mg/kg 群の雌雄で投与後 24 時間の標本においてのみ MNPCE 頻度の統計学的に有意な高値がみられた。また、1 回投与法の 6400 および 8000mg/kg 群の投与後 24 時間の標本において、雄でのみ MNPCE 頻度の統計学的に有意な高値がみられた。これらの結果の再現性を確認するため、雌雄に 6400、8000 または 10000mg/kg を投与し 24 時間後に標本を作製し観察したところ、雌雄とも溶媒対照群に比べて統計学的に有意な MNPCE の高値はみられなかった。溶媒対照群および各投与群の個別値ならびに背景データの検討から、投与後 24 時間でみられたこれらの高値はごくわずかな数字の上方変動であった。以上のことから、上記の MNPCE の高値は検体投与に起因する変化とは考えられなかった。その他、反復投与法の結果も含め、溶媒対照群に比べて検体投与群で有意な MNPCE の高値は認められなかった。一方、陽性対照物質であるマイトマイシン C は統計学的に

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農薬株式会社にある。

有意で明らかな MNPCE 頻度の高値がみられ、本試験系の妥当性が確認された。骨髄抑制の指標である全赤血球(多染性赤血球+正染性赤血球)中に占める多染性赤血球の割合については、反復投与方法の24時間後の雄で低値がみられたが、著しい骨髄抑制とは考えられなかった。その他、いずれの条件下でも特筆すべき変化はみられなかった。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

小核試験の結果(1回投与法)

試験物質	用量(mg/kg) × 投与回数	採取時間(hr)	性	観察動物数	PCE/[PCE+NCE] 平均(%)	MNPCE/PCE 平均(%)
ブプロフェジン	0×1 10000×1	12	雄	6	52.2	0.07
					56.2	0.18
	0×1 10000×1	24			55.8	0.12
					54.3	0.27*
	0×1 10000×1	48			52.0	0.23
		51.1	0.23			
	0×1 10000×1	72			58.5	0.18
					48.6	0.10
マイトマイシン C	2.0×1	24			44.9	6.28***
ブプロフェジン	0×1 10000×1	12	雌	6	54.2	0.17
					59.2	0.08
	0×1 10000×1	24			52.1	0.10
					61.1	0.30*
	0×1 10000×1	48			63.6	0.15
		59.0	0.20			
	0×1 10000×1	72			63.7	0.18
					56.1	0.10
マイトマイシン C	2.0×1	24			53.6	4.10***
ブプロフェジン	0×1 6400×1 8000×1	24	雄	6	63.4	0.03
					59.1	0.15*
					65.2	0.20**
	0×1 6400×1 8000×1	24	雌		63.1	0.10
					64.1	0.13
			62.6	0.08		

MNPCE: 小核を有する多染性赤血球、PCE: 多染性赤血球、NCE: 正染性赤血球

\*: p<0.05, \*\*:p<0.01, \*\*\*:p<0.001 (Kastenbaum-Bowman の検定)

小核試験の結果(1回投与法の確認試験)

試験物質	用量(mg/kg) × 投与回数	採取時間 (hr)	性	観察動物数	PCE/[PCE+NCE] 平均(%)	MNPCE/PCE 平均(%)
ブプロフェジン	0×1	24	雄	6	68.2	0.10
	6400×1				49.0	0.07
	8000×1				66.1	0.17
	10000×1				69.7	0.03
	0×1	24	雌		58.6	0.02
	6400×1				60.3	0.03
	8000×1				65.6	0.03
	10000×1				58.2	0.05

MNPCE: 小核を有する多染性赤血球、PCE: 多染性赤血球、NCE: 正染性赤血球

(Kastenbaum-Bowman の検定を実施したが有意差なし)

小核試験の結果(反復投与法)

試験物質	用量(mg/kg) × 投与回数	採取時間 (hr)	性	観察動物数	PCE/[PCE+NCE] 平均(%)	MNPCE/PCE 平均(%)		
ブプロフェジン	0×4	12	雄	6	65.2	0.18		
	10000×4			8	41.1	0.26		
	0×4	24		6	63.7	0.15		
	10000×4			6 <sup>1)</sup>	31.9	0.15		
	0×4	48		6	60.4	0.10		
	10000×4			7 <sup>2)</sup>	47.4	0.14		
	0×4	72		6	68.4	0.08		
	10000×4			7 <sup>2)</sup>	53.5	0.01		
	ブプロフェジン	0×4		12	雌	6	60.3	0.10
		10000×4				8	41.2	0.23
0×4		24	6	65.7		0.08		
10000×4			8	49.4		0.16		
0×4		48	6	62.0		0.12		
10000×4			8	49.9		0.14		
0×4		72	6	66.0		0.07		
10000×4			8	61.1		0.15		

MNPCE: 小核を有する多染性赤血球、PCE: 多染性赤血球、NCE: 正染性赤血球

(Kastenbaum-Bowman の検定を実施したが有意差なし)

1): 8匹に投与したが2匹が死亡し、骨髄標本観察動物数は6匹であった。

2): 8匹に投与したが1匹が死亡し、骨髄標本観察動物数は7匹であった。

7) マウスを用いた小核試験

(資料 No.76)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年 2006 年

検体の純度:

試験動物: ICR 系マウス、1 群雄各 5 匹、投与開始時 8 週齢

方 法: 検体をオリーブ油に懸濁し、500、1,000 および 2,000 mg/kg の投与量で 24 時間間隔で 2 回、強制経口投与した。陰性対照群にはオリーブ油を同様に投与し、陽性対照群にはマイトマイシン C を 3 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与した。いずれの群も最終投与 24 時間後に動物を屠殺し、大腿骨から骨髓を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、アクリジンオレンジ溶液で染色し、骨髓標本を作製した。標本は蛍光観察した。1 個体あたり 2,000 個の幼若赤血球を観察し、小核を有する幼若赤血球の出現頻度を計測した。また、骨髓毒性の指標として 1 個体あたり 200 個の赤血球を評価し、全赤血球に対する幼若赤血球の割合を求めた。確認試験では、検体はオリーブ油に懸濁し、2,000 mg/kg の投与量で同様に投与した。陰性対照群にはオリーブ油を同様に投与し、陽性対照群にはマイトマイシン C あるいはコルヒチンをそれぞれ 3 および 1 mg/kg の投与量で単回腹腔内投与した。いずれの群も最終投与 24 時間後に動物を屠殺して、上述同様の方法で骨髓標本を作製、観察した。加えて、小核の発生機構を検索するため、抗動物抗体による免疫染色を施した骨髓標本を作製した。1 個体あたり 100 個(陰性対照群は 20 個)の小核について蛍光観察を行い、抗動物抗体陽性率を求めた。

【用量設定根拠】

試験結果: 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示す。

2,000mg/kg 群では幼若赤血球の頻度が有意に低下し、軽度な骨髓細胞毒性が示唆された。

小核を有する幼若赤血球の頻度は、500 および 1,000 mg/kg 群では変化は認められなかったが、2,000mg/kg 群では溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した。その出現頻度は 20.2%に達し、溶媒対照群の 13.5 倍に増加した。確認試験においても、2,000mg/kg 群の小核を有する幼若赤血球の頻度は統計学的に有意に増加し、その頻度は 3.4%で溶媒対照群の約 3 倍となった。

確認試験において検討した小核の抗動物抗体陽性率は溶媒対照群が 24.0±

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農薬株式会社にある。

6.5%に対して、異数性誘発物質であるコルヒチンで  $61.2 \pm 5.9\%$ 、染色体構造異常誘発物質であるマイトマイシン C で  $14.6 \pm 3.2\%$  とそれぞれ統計学的に有意な増減がみられた。しかし、ブプロフェジン原体の 2,000 mg/kg 群における小核の抗動原体抗体陽性率は  $31.6 \pm 6.7\%$  であり、溶媒対照値と比較して有意な変化は認められなかった。

これらの結果から、ブプロフェジン原体は本試験条件においてマウス骨髄細胞に対して小核誘発性を示すと判断された。小核の誘発機構については、小核中の動原体の有無で判別を試みたが、その頻度に変化はなく、明確な結論を得ることはできなかった。

#### 《申請者注》

ブプロフェジン原体のマウス骨髄細胞における小核誘発性は、以前に実施された試験では 10,000mg/kg の 4 日間反復経口投与で陰性であったが、本試験では 2,000mg/kg の 2 回経口投与で再現性を持って陽性結果が示された。この試験結果の差の原因については不明であるが、試験条件の違いによってブプロフェジン原体が高用量の反復投与でマウス骨髄に小核を誘発する場合があると考えられた。しかし、ブプロフェジン原体の発癌性は、十分な高用量で実施されたマウスおよびラットの発癌性試験において陰性であると結論されている。また、ラット繁殖毒性試験において繁殖性に影響は認められず、さらにラットおよびウサギを用いた催奇形性試験において催奇形性は認められていない。従って、その毒性学的意義は小さいと判断する。

#### 初回試験／小核試験

薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNIE (per 1,000 IE) <sup>1)</sup>	IE/TE (%) <sup>1)</sup>
陰性対照 (オリーブ油)	—	5	$1.5 \pm 0.6$	$52.3 \pm 4.5$
ブプロフェジン	500	5	$1.2 \pm 1.0$	$56.2 \pm 1.4$
	1,000	5	$1.8 \pm 1.8$	$52.5 \pm 4.8$
	2,000	5	$20.2 \pm 12.3$ *	$43.4 \pm 5.5$ #
陽性対照 (マイトマイシン C)	3	5	$69.5 \pm 11.7$ *	$43.4 \pm 4.6$ #

MNIE: 小核を有する幼若赤血球の割合

IE/TE: 幼若赤血球／総赤血球

1) 平均値±SD

\* :  $p < 0.01$  vs Olive oil (Kastenbaum & Bowman の検定方法)

# :  $p < 0.05$  vs Olive oil (Wilcoxon の順位和検定)

第2回試験／確認試験

薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNIE (per 1,000 IE) <sup>1)</sup>	IE/TE (%) <sup>1)</sup>	観察小核 ／動物	動原体陽性 小核(%) <sup>1)</sup>
陰性対照 (オリーブ油)	—	5	1.1±0.4	54.5±5.0	20	24.0±6.5
検体	2,000	5	3.4±1.0 *	48.8±4.3	100	31.6±6.7
陽性対照 (マイトマイシン C)	3	5	46.5±7.7 *	45.8±1.3 #	100	14.6±3.2†
(コルヒチン)	1	5	19.0±6.6 *	45.8±1.9 #	100	61.2±5.9††

MNIE: 小核を有する幼若赤血球の割合

IE/TE: 幼若赤血球／総赤血球

1) 平均値±SD

\* : p<0.01 vs Olive oil (Kastenbaum & Bowman の検定方法)

# : p<0.05 vs Olive oil (Wilcoxon の順位和検定)

† : p<0.05、††: p<0.01 vs Olive oil (Fisher's exact test)



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農薬株式会社にある。

8) 細菌を用いた DNA 損傷誘発性(Rec-assay)

(資料 No.17)

試験機関:

報告書作成年:1980 年

検体の純度:

試験方法 : 枯草菌 *B. subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、賀田らの Rec-assay 法で DNA 損傷の誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、最高濃度を 5000  $\mu$ g/disk として 8 段階の用量を設定した。

試験結果 :

薬物	濃度 ( $\mu$ g/disk)	阻止域(mm)		差(mm)
		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
検体	20	0	0	0
	50	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
	5000	0	0	0
Kanamycin	10	6	5	1
Mitomycin C	0.1	9	1.5	7.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体の最高濃度(5000  $\mu$ g /disk)においても両株に生育阻止を認めなかった。  
一方、陰性対照として用いた Kanamycin では両株に同程度の生育阻止を示し、陽性対照として用いた Mitomycin C では両株の間に著明な生育阻止の差がみられた。

結 論 : 以上の結果より、検体には DNA 損傷性は認められなかった。

9) ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成(UDS)試験

(資料 No. 77)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年:1988 年

検体純度:

供試動物: Alderley Park 系 (Alpk:APfSD) 雄ラット (肝細胞分離前体重 206~279 g)

試験方法: 未処理動物からコラゲナーゼ灌流法により得た肝細胞浮遊液を用いて初代培養細胞を調製した。検体は DMSO に溶解した。

ペトリ皿に入れたカバースリップに細胞を付着させた後(約 1.5~2.5 時間)、上清培養液を除去し、 $[^3\text{H}]$ チミジンおよび各濃度の検体または対照物質を含む培養液と交換した。17~20 時間培養後、上清を除去し、非標識チミジンを含む培養液でさらに一夜培養(約 24 時間)後、細胞を洗浄、固定、乾燥し、カバースリップの細胞付着面をスライドガラスにマウントした。スライドガラスを写真乳剤で被覆し、暗所 4°C で 14 日間露光後、現像して細胞を染色した。処理群のスライド標本はそれぞれ 3 枚を準備した。

自動画像解析装置を用いて標本を分析(処理群あたり約 100 細胞)し、平均正味粒子数(核上の数 - 細胞質上の数)および修復細胞百分率(平均正味粒子数が 5 以上)を算出した。

陰性対照(溶媒および培養液)および陽性対照(6BT:6-p-dimethylaminophenylazo-benzthiazole)についても同様に試験した。

試験は下記濃度で実施したが、 $10^{-3}$  および  $10^{-4}\text{M}$  では強い細胞毒性が認められたため、UDS 誘発能の評価には弱い細胞毒性がみられた  $10^{-5}\text{M}$  を最高濃度とした。試験は 3 回行った。

試験濃度および UDS 評価濃度

試験	試験濃度(M)	UDS 評価濃度(M)
1	$10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$	$10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$
2	$10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$	$10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$
3	$10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$	$10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$

UDS 誘発能の判定として、平均正味粒子数が 5 以上で、修復細胞率が 20% 以上の場合は、陽性反応とみなす。平均正味粒子数が 0 以下の場合は、陰性反応とみなす。

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農薬株式会社にある。

結果： 結果を表に示した。  
3 試験ともに、すべての用量で平均正味粒子数が 0 より小さく、修復細胞百分率も陰性対照と同等であった。  
一方、陽性対照では平均正味核粒子数および修復細胞百分率に溶媒対照を超えた著しい増加が生じた。

以上の結果から本試験条件下において、検体は初代培養肝細胞に不定期 DNA 合成を誘発せず、DNA 修復誘発性を有しないものと判断される。

UDS 試験結果

(n=3 の平均値)

	薬物	濃度 (M)	核粒子数	細胞質粒子数	正味粒子数 平均±SE	修復細胞 <sup>a</sup> (%)
試験 1	溶媒対照 (DMSO)	-	18.71	27.72	-9.01±0.53	0
	培養液対照	- <sup>b</sup>	25.56	33.41	-7.85±0.81	1
	検体	10 <sup>-5</sup> <sup>b</sup>	26.89	37.33	-10.44±0.78	3
		10 <sup>-6</sup> <sup>b</sup>	20.45	27.44	-6.99±0.56	0
		10 <sup>-7</sup>	24.59	33.16	-8.57±0.67	3
		10 <sup>-8</sup>	17.44	25.88	-8.44±0.66	0
陽性対照 (6BT)	10 <sup>-6</sup> <sup>b</sup>	93.10	42.64	50.46±2.48	98	
試験 2	溶媒対照 (DMSO)	- <sup>b</sup>	16.36	23.76	-7.40±0.57	0
	培養液対照	- <sup>b</sup>	22.16	31.36	-9.20±0.75	0
	検体	10 <sup>-5</sup> <sup>b</sup>	17.72	23.48	-5.67±0.51	0
		10 <sup>-6</sup>	19.25	26.25	-7.00±0.50	1
		10 <sup>-7</sup> <sup>b</sup>	17.29	23.77	-6.48±0.57	0
		10 <sup>-8</sup>	18.08	26.39	-8.31±0.72	1
陽性対照 (6BT)	10 <sup>-7</sup> <sup>c</sup>	83.54	43.28	40.26±3.65	96	
試験 3	溶媒対照 (DMSO)	- <sup>b</sup>	6.94	12.18	-5.24±0.35	1
	培養液対照	- <sup>b</sup>	7.03	12.27	-5.24±0.38	0
	検体	10 <sup>-5</sup> <sup>d</sup>	8.63	14.93	-6.30±0.39	1
		10 <sup>-6</sup> <sup>b</sup>	6.75	12.28	-5.53±0.46	0
		10 <sup>-7</sup> <sup>d</sup>	6.68	13.36	-6.68±0.63	3
		10 <sup>-8</sup>	*	*	*	*
陽性対照 (6BT)	10 <sup>-7</sup> <sup>b</sup>	24.30	12.34	11.96±1.09	76	

<sup>a</sup> 修復細胞とは、正味核粒子数が 5 以上のもの

<sup>b</sup> スライド 1 枚の正常形態細胞が不十分なため、このスライドは分析せず

<sup>c</sup> スライド 2 枚の正常形態細胞が不十分なため、これらのスライドは分析せず

<sup>d</sup> 十分なデータが分析スライド 2 枚で蓄積されたため、スライド 1 枚は分析せず

\* 技術上の手落ちのため、スライドが判読不能

注) 6BT: 6-p-dimethylaminophenylazo-benzthiazole