

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.8.2 ラットにおける飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験（資料No.T-3.2）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

試験動物： Sprague-Dawley系ラット、開始時6週齢、1群雌雄各60匹
 体重範囲 雄176～225g 雌132～207g
 各群雌雄各10匹を52週間後中間屠殺動物に割り当てた（このうち52週以前に死亡した動物は途中死亡例とし、他の動物を割り当てなかった）

試験期間： 104週間投与（1984年8月31日～1986年9月4日）

投与方法： 検体をアセトンに溶解し、0.1、0.5、1.0および5.0ppmの濃度で粉末飼料に混入し、自由摂取させた。対照群にはアセトンのみを混合した飼料を与えた。製飼料は毎週作製し、室温保管した。検体は飼料中で26週間以上安定であった。

投与量設定根拠：「ラットにおける飼料混入投与による亜急性毒性試験」[資料No.21]の結果に基づき、最大耐量と考えられる5.0ppmを最高投与量とした。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および死亡の有無を毎日観察し、詳細な検査を週1回実施した。死亡率を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0
投与開始時動物数		60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡率 (%)	投与52週	6	6	6	2	0	2	6	2	2	0
	投与64週	12	10	14	4	8	6	10	6	6	4
	投与76週	34	18	24	24	30	16	18	18	16	14
	投与88週	46	42	46	42	44	46	38	34	36	44
	投与終了時*	70	74	76	74	72	68	54	56	60	72

*雄：投与100週、雌：投与104週

雌雄共に投与76週から生存率が低下した。雄については死亡率が75%を上回る可能性があったため、投与開始後100週で試験を終了した。死亡動物数は各群ともほぼ同様であり、検体投与の影響は認められなかった。検体投与に関連のある一般症状として5.0ppm投与群の雌で自発運動の減少が認められた。その発現頻度を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0
所見：自発運動の減少	発現動物数	17	19	12	18	14	11	13	14	15	23
	発現回数	68	133	114	144	49	107	76	70	81	363

それ以外の投与群の雌および全ての雄では検体投与に関連のある所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

体重変化； 投与開始後 13 週間は毎週 1 回、その後は投与終了時まで 4 週間毎に測定した。

いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

摂餌量； 各動物の摂餌量を投与開始後 13 週間は毎週、その後は 4 週間毎に測定した。いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

検体摂取量； 週平均摂餌量、飼料中検体濃度および体重を用いて算出した平均検体摂取量 (mg/kg/day) を以下に示す。

投与量 (ppm)		0.1	0.5	1.0	5.0
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.0044	0.022	0.045	0.222
	雌	0.0056	0.028	0.055	0.280

血液学的検査； 投与開始後 26 週、52 週、76 週および投与終了時に、各群雌雄各 10 匹を対象として一夜絶食した後、眼窩血管叢から採血し、以下の項目について検査を行った。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数
また、同時期に対照群および 5.0ppm 投与群を対象として白血球百分率を測定した。

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)		雄				雌			
		0.1	0.5	1.0	5.0	0.1	0.5	1.0	5.0
投与 52 週	ヘモグロビン量								95↓↓
投与 104 週	好酸球数								17↓↓

表中の数字は対照群に対する変動率 (%)

統計学的検定：Dunnnett の多重比較検定 (↓↓↑↑; P<0.01)

いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

5.0ppm 投与群雌で投与 52 週にヘモグロビン量の低下が認められたが、それ以外の時期には変化がなく、雄では同様の変化がなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。また、5.0ppm 投与群雌で投与終了時に好酸球数の現象が認められたが、他の時期には変化がなかったことから、検体投与との関連性はないと考えられた。

血液生化学的検査； 投与開始後 26 週、52 週、76 週および投与終了時に、各群雌雄各 10 匹を対象として一夜絶食した後、眼窩血管叢から採血し、血清を用いて以下の項目を測定した。

グルコース、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、クレアチニン、クレアチンホスホキナーゼ、尿素窒素、ビリルビン、無機リン、塩素、カルシウム、ナトリウム、カリウム、総タンパク、アルブミン

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)		雄				雌			
		0.1	0.5	1.0	5.0	0.1	0.5	1.0	5.0
投与 100 週	アルブミン		85↓	85↓					

表中の数字は対照群に対する変動率 (%)

統計学的検定：Dunnnett の検定 (↓↑; P<0.05)

いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

0.5ppm および 1.0ppm 投与群雄で投与終了時にアルブミンの低下が認められたが、同時期に 5.0ppm 投与群では変化が認められず、雌雄共にそれ以外の検査時期には変化がなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

尿検査； 投与開始後 26 週、52 週、76 週および投与終了時に、各群雌雄各 10 匹を対象として非絶食下で代謝ケージを用いて一夜尿を採取し、以下の項目の検査を行った。

外観、尿量、比重、タンパク、グルコース、ケトン体、潜血、沈渣いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性；投与開始後 4 週、26 週、52 週、76 週および投与終了時に、各群雌雄各 10 匹を対象として非絶食下で眼窩血管叢から採血し、血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性を DTBN 法で測定した。また、各群雌雄各 10 匹の中間屠殺動物および終了時屠殺動物から脳を摘出し、脳コリンエステラーゼ活性を DTBN 法で測定した。

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)	雄				雌			
	0.1	0.5	1.0	5.0	0.1	0.5	1.0	5.0
赤血球	投与 4 週				83↓↓			69↓↓
	投与 26 週				79↓↓			73↓↓
	投与 52 週							91↓
	投与 76 週				77↓↓			79↓↓
	投与 100 週				87↓↓			83↓
血漿	投与 4 週				82↓			43↓↓
	投与 26 週				78↓↓			51↓↓
	投与 52 週				80↓↓			62↓
	投与 76 週				63↓↓			48↓↓
	投与 104 週							50↓↓

表中の数字は対照群に対する割合 (%)

統計学的検定：Dunnett の検定、Dunn の多重比較検定、t 検定
(↓↑；P<0.05、↓↓↑↑；P<0.01)

5.0ppm 投与群雌雄で投与期間を通じて赤血球および血漿コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。それ以外の投与群では検体投与の影響は認められなかった。

全ての投与群の脳コリンエステラーゼ活性には検体投与の影響が認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与終了時に全動物について検眼鏡を用いて検査を行った。

いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

臓器重量； 各群雌雄各 10 匹の中間屠殺動物および投与終了時の生存動物を対象として以下の臓器の重量を測定した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、精巣、卵巣

いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

肉眼的病理検査； 全例を対象として、死亡時または計画屠殺時に検査を行った。

いずれの投与群でも検体投与と関連する変化は認められなかった。

病理組織学的検査； 剖検時に全動物から以下の臓器を摘出し、ホルマリン固定後、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。

脳、脊髄（頸部、胸部および腰部）、下垂体、甲状腺／上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、胸骨（および骨髄）、大腿骨（および骨髄）、大腿筋、皮膚、眼球、顎下腺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、腔、乳腺（雌）、大動脈、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節、坐骨神経、肉眼的異常部位、腫瘍

[非腫瘍性病変]

観察された主な非腫瘍性病変および発現頻度を別表に示す。

いずれの投与群にも検体投与と関連する変化は認められなかった。

慢性進行性腎症、動脈炎/動脈周囲炎、心筋症、神経変性、骨格筋変性等の自然発生性病変が対照群を含む全ての試験群で認められた。これらは、加齢に伴って発現した病変であり、検体投与とは関連がないとみなされた。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変および発現頻度を別表に示す。

途中死亡動物および投与終了時屠殺動物における腫瘍発生率を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)	雄					雌					
	0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
検査動物数	51	50	51	50	50	50	51	50	51	51	
腫瘍数	良性	43	43	29	45	49	66	51	51	50	61
	悪性	18	14	20	21	20	29	23	22	16	19
腫瘍総数	61	57	49	66	69	95	74	73	66	80	
腫瘍動物数	良性	23	25	22	28	37	42	30	35	37	27
	悪性	12	11	16	18	18	26	20	18	11	14
担腫瘍動物総数	31	28	32	38	41	50	38	41	38	35	

いずれの投与群でも検体投与と関連すると考えられる腫瘍性病変または腫瘍発生率の増加は認められなかった。

以上の結果より、検体の 104 週間（雄は 100 週間）飼料混入投与の影響として、5.0ppm 投与群雌雄で赤血球および血漿コリンエステラーゼ活性の低下が認められ、同群雌で自発運動の減少が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 1.0ppm（雄 0.045mg/kg/day、雌 0.055mg/kg/day）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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[主な非腫瘍性病変-1]

	性別及び投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
52週中間屠殺	検査動物数	9	10	9	10	10	10	9	10	9	9	
	心臓	心筋変性	2				2	1			2	
	肝臓	限局性単核細胞浸潤	9	10	9	7	9	10	9	10	8	7
		非化膿性胆管周囲炎	9	10	9	10	10	10	9	10	9	9
		胆管線維化	2	1	6	3	2	7	4	3	5	4
	腎臓	慢性進行性腎症	9	10	9	10	10	10	8	8	9	8
移行上皮過形成		1	3	2	4	2	4	2	2	2	1	
途中死亡	検査動物数	36	37	39	37	36	34	28	30	32	37	
	脳	動脈炎/動脈周囲炎		2	3	2	1	1	1		1	
	頸部脊髄	脊髄神経変性		1		1		2		1	3	
	胸部脊髄	脊髄神経変性	1		1	1		2	4		3	
	腰部脊髄	脊髄神経変性	5	13	9	6	9	6	6	11	12	12
	心臓	心筋変性	31	35	37	35	34	28	20	23	28	29
		動脈炎/動脈周囲炎	3	2	4	4	2		3	3	2	5
	骨格筋	動脈炎/動脈周囲炎	2	5	3	1	4	2				1
		変性/線維化	6	17	10	18	8	7	7	8	6	10
	肝臓	動脈炎/動脈周囲炎	7	10	14	14	10		1	5	3	3
		非化膿性胆管周囲炎	34	36	36	36	36	30	26	26	29	36
		胆管線維化	17	16	10	13	12	18	15	17	18	17
		胆管増生	31	35	32	32	32	30	25	27	30	32
	腎臓	動脈炎/動脈周囲炎	10	12	13	13	14	7	10	10	7	15
		慢性進行性腎症	36	37	39	37	36	34	27	29	32	37
		移行上皮過形成	17	22	27	22	21	16	13	15	14	20
	精巣	動脈炎/動脈周囲炎	25	28	28	24	27					
	卵巣	動脈炎/動脈周囲炎						3	3	4	2	5
	坐骨神経	変性	12	20	15	23	9	11	6	8	14	13
	投与終了時屠殺	検査動物数	15	13	12	13	14	16	23	20	19	14
頸部脊髄		脊髄神経変性		5	1		2		5	5	3	4
胸部脊髄		脊髄神経変性	5	1	2	1	7	7	8	5	8	9
腰部脊髄		脊髄神経変性	10	10	8	8	12	14	17	18	18	12
心臓		心筋変性	13	1			14	16				14
骨格筋		変性/線維化	5	3	2		5	9	11	9	9	7
肝臓		限局性単核細胞浸潤	11	9	7	9	10	7	13	14	9	6
		非化膿性胆管周囲炎	15	13	12	12	14	16	22	20	18	13
		胆管線維化	10	7	10	6	7	13	15	11	10	8
		胆管増生	13	13	12	11	12	16	23	19	18	13
腎臓		動脈炎/動脈周囲炎	2	1	4	6	3	6	9	3	4	1
		慢性進行性腎症	15	13	12	13	14	15	23	20	19	14
		移行上皮過形成	9	9	11	10	11	14	19	16	15	13
坐骨神経		変性	9	11	9	8	10	14	19	20	18	12

空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[主な非腫瘍性病変－2]

	性別及び投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
途中死亡および投与終了時屠殺	検査動物数	51	50	51	50	50	50	51	50	51	51	
	脳	動脈炎/動脈周囲炎		2	3	2	1	1	1		1	
	頸部脊髄	脊髄神経変性		6	1	1	2	2	5	6	3	7
	胸部脊髄	脊髄神経変性	6	1	3	2	7	7	10	9	8	12
	腰部脊髄	脊髄神経変性	15	23	17	14	21	20	23	29	30	24
	心臓	心筋変性	44	36	37	35	48	44	20	23	28	43
		動脈炎/動脈周囲炎	6	2	4	4	3	2	3	3	2	6
	骨格筋	動脈炎/動脈周囲炎	2	5	3	1	4	2				1
		変性/線維化	11	20	12	18	13	16	18	17	15	17
	肝臓	動脈炎/動脈周囲炎	7	10	16	16	11	2	2	6	3	3
		非化膿性胆管周囲炎	49	49	48	48	50	46	48	46	47	49
		胆管増生	51	56	53	49	50	55	53	55	57	53
	腎臓	動脈炎/動脈周囲炎	12	13	17	19	17	13	19	13	11	16
		慢性進行性腎症	51	50	51	50	50	49	50	49	51	51
		移行上皮過形成	26	33	38	32	32	30	32	31	29	33
	精巣	動脈炎/動脈周囲炎	33	30	30	26	35					
卵巣	動脈炎/動脈周囲炎						4	3	4	2	6	
坐骨神経	変性	21	31	24	31	19	25	25	28	32	25	

空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変-1]

	性別及び投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
52 週 中間 屠殺	検査動物数	9	10	9	10	10	10	9	10	9	9	
	下垂体 腺腫	B				1						
	甲状腺 C細胞腺腫	B				1	3				2	
	肺 肺胞/細気管支腺腫	B					1					
	副腎 皮質腺腫	B				1						
	卵巣 男性胚細胞腫	B									1	
	乳腺 腺癌	M					1			1		
途 中 死 亡	検査動物数	36	37	39	37	36	34	28	30	32	37	
	脳	悪性星状細胞腫	M	1	2	1	1		2	1	1	1
		顆粒細胞腫瘍	M							1		
	腰部脊髄	悪性星状細胞腫	M	1								
		腺腫	B	8	11	5	11	5	9	7	5	7
	下垂体	癌	M									1
		C細胞腺腫	B	2	13	6	7	5	6	8	9	12
	甲状腺	濾胞細胞腺腫	B			1		1				
		C細胞癌	M	3	2	4	3	3	9	3	4	1
	上皮小体	腺腫	B		1		1					
	胸腺	胸腺腫	M		1		1	1		1		2
		角化棘細胞腫	B	1	1	2	1					2
	皮膚	扁平細胞乳頭腫	B		1		1	1				
		扁平細胞癌	M								1	
		基底細胞癌	M				1					
	眼球	平滑筋腫	B	1								
		扁平細胞癌	M					1				
	肝臓	肝細胞腺腫	B			1						
		肝細胞癌	M			1						
		胆管癌	M								1	
	膵臓	腺房細胞腺腫	B		1	1						
		ラ氏島細胞腺腫	B				2					
		ラ氏島細胞癌	M					1		1		
	腎臓	尿細管細胞腺腫	B				1					
		血管腫	B				1					
		尿細管細胞癌	M			1						
		悪性混合腫瘍	M	1								
	副腎	皮質腺腫	B	3		1		3	2	1	1	
		褐色細胞腫	B	8	7	4	7	13	1	2		1
		悪性褐色細胞腫	M	3	3	3	5	1			1	
		皮質癌	M					1				
	精巣	中皮腫	M	1	1	1						
精巣上体	中皮腫	M		1								
前立腺	腺癌	M				1						
精囊	腺癌	M	1									
卵巣	卵巣間膜平滑筋腫	B							1			
	顆粒層-英膜細胞腫瘍	B						1				
	乳頭状腺腫	B									1	
	癌	M								1		

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変-2]

	性別及び投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
途 中 死 亡	検査動物数	36	37	39	37	36	34	28	30	32	37	
	子宮	子宮内膜ポリープ B					2		2	2	1	
		子宮内膜間質肉腫 M							1			
	乳腺	線維腺腫 B	1	1	1	3		12	6	12	6	8
		腺腫 B						1		1	1	1
		腺癌 M	1					5	6	3	2	3
	胃	扁平細胞乳頭腫 B		1								
		線維肉腫 M									1	
	空腸	平滑筋腫 B								1		
	回腸	腺癌 M					1					
	膀胱	移行上皮癌 M						1				
	全身性	悪性リンパ腫 M						1	1		1	
		悪性組織球腫 M			1	2	1			1	1	
	皮下組織	線維腫 B	1	3	1		1		1	1		
		塩基性扁平細胞癌 M					1					
		粘液肉腫 M		1	1			1				
		神経線維肉腫 M	1		2	3	2					
		線維肉腫 M					1	1			1	
	胸腔	血管肉腫 M			1							
	包皮腺	腺腫 B	1				1					
ジンバル腺	腺腫 B						1					
	腺癌 M	2	1	2		1	5					
骨格筋	血管肉腫 M		1									
骨	骨肉腫 M				1							
投 与 了 時 屠 殺	検査動物数	15	13	12	13	14	16	23	20	19	14	
	下垂体	腺腫 B	4	3	2	2	3	7	6	3	4	7
	甲状腺	C細胞腺腫 B	5			1	5	8	1	2	1	3
		C細胞癌 M	1			1	1	2	1	4	4	4
	上皮小体	腺腫 B						1				
	皮膚	胸腺 胸腺腫 M							1			
		角化棘細胞腫 B	2		1							
		扁平細胞乳頭腫 B					1					
		扁平細胞癌 M									1	
	肝臓	肝細胞腺腫 B				1				1		
		肝細胞癌 M					1					
	脾臓	ラ氏島細胞癌 M		1								
	腎臓	血管腫 B									1	
	副腎	皮質腺腫 B							1			
		褐色細胞腫 B	2		2		4	2			1	
		悪性褐色細胞腫 M			2	1	3					
	精巣	中皮腫 M	2									
精巣上体	中皮腫 M	1										
卵巣	顆粒層-英卵細胞腫瘍 B						1		1			
	乳頭状腺腫 B									1		
子宮	子宮内膜ポリープ B							1	2	1	1	
	癌 M						1					

B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍
空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変-3]

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
投与終了時屠殺	検査動物数	15	13	12	13	14	16	23	20	19	14	
	乳 腺	線維腺腫 B					1	8	15	11	10	13
		腺腫 B						1		1		
		腺癌 M						3	4	4	3	
	胃	扁平細胞乳頭腫 B					1					
		扁平細胞癌 M					1					
	全身性	悪性組織球腫 M		1				1				
	皮下組織	脂肪腫 B	1			1						
		粘液腫 B			1		1					
		線維腫 B	3			5						
		粘液肉腫 M		1								
		神経線維肉腫 M					1					
		線維肉腫 M			1							
		血管肉腫 M								1		
	腸間膜	血管腫 B				1						
口腔	扁平細胞癌 M				1							
陰核腺	腺腫 B								1			
途中死亡および投与終了時屠殺	検査動物数	51	50	51	50	50	50	51	50	51	50	
	脳	悪性星状細胞腫 M		1	2	1	1		2	1	1	1
		顆粒細胞腫 M								1		
	腰部脊髄	悪性星状細胞腫 M	1									
	下垂体	腺腫 B	12	14	7	13	8	16	13	8	11	17
		癌 M										1
	甲状腺	C細胞腺腫 B	7	13	6	8	10	14	9	11	13	10
		濾胞細胞腺腫 B			1			1				
		C細胞癌 M	4	2	4	4	4	11	4	8	5	8
	上皮小体	腺腫 B		1		1		1				
	胸 腺	胸腺腫 M		1		1	1		2			2
		角化棘細胞腫 B	3	1	3	1						2
		扁平細胞乳頭腫 B		1		1	2					
		扁平細胞癌 M									1	1
	皮 膚	基底細胞癌 M				1						
		眼	平滑筋腫 B	1								
			扁平細胞癌 M						1			
	肝 臓	肝細胞腺腫 B			1	1					1	
		肝細胞癌 M			1		1					
		胆管癌 M									1	
	脾 臓	腺房細胞腺腫 B		1	1							
		ラ氏島細胞腺腫 B				2						
		ラ氏島細胞癌 M		1			1		1			
	腎 臓	尿細管細胞腺腫 B					1					
		血管腫 B				1						1
		尿細管細胞癌 M			1							
		悪性混合腫瘍 M	1									

B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍
空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変 - 4]

	性別及び投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0
途中死亡および投与終了時屠殺	検査動物数	51	50	51	50	50	50	51	50	51	50
	副腎	皮質腺腫 B	3		1		3	2	2	1	
		褐色細胞腫 B	10	7	6	7	17	3	2		1
		悪性褐色細胞腫 M	3	3	5	6	4				1
		皮質癌 M						1			
		中皮腫 M	3	1	1						
	精巣上体	中皮腫 M	1	1							
	前立腺	腺癌 M				1					
	精囊	腺癌 M	1								
	卵巣	卵巣間膜平滑筋腫 B							1		
		顆粒層細胞腫瘍 B						1	1	1	
		乳頭状腺腫 B									2
	子宮	癌 B									1
		子宮内膜ポリープ B						2	1	4	3
		子宮内膜間質肉腫 M								1	
	乳腺	癌 M						1			
		線維腺腫 B	1	1	1	3	1	20	21	23	16
		腺腫 B						2		2	1
	胃	腺癌 M	1					8	10	7	5
		癌 B									
		扁平細胞乳頭腫 B		1			1				
	空腸	扁平細胞癌 M					1				
		線維肉腫 M									1
	回腸	平滑筋腫 B								1	
	膀胱	腺癌 M					1				
		移行上皮癌 M							1		
	全身性	悪性リンパ腫 M							1	1	1
		悪性組織球腫 M		1	1	2	1		1	1	1
	皮下組織	線維腫 B	4	3	1	5	1		1		1
		脂肪腫 B	1			1					
粘液腫 B				1		1					
塩基性扁平細胞癌 M						1					
粘液肉腫 M			2	1				1			
神経線維肉腫 M		1		2	3	3					
線維肉腫 M				1			1	1			
腸間膜	血管肉腫 M								1		
	血管腫 B				1						
口腔	扁平細胞癌 M				1						
胸腔	血管肉腫 M			1							
包皮腺/陰核腺	腺腫 B	1				1				1	
ジンバル腺	腺腫 B							1			
	腺癌 M	2	1	2		1	5				
骨格筋	血管肉腫 M		1								
骨	骨肉腫 M				1						

B : 良性腫瘍、M : 悪性腫瘍
空欄は「0」を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.8.3 マウスにおける飼料混入投与による発がん性試験（資料No.T-3.3）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

試験動物： Swiss-Webster系マウス、開始時6週齢、1群雌雄各60匹
体重範囲 雄 24.9～30.6g 雌 19.9～24.3g
各群雌雄各10匹を52週間後中間屠殺群に割り当てた（このうち52週以前に動物が死亡しても52週間後中間屠殺群以外の動物を割り当てなかった）。

試験期間： 97週間（1984年9月26日～1986年7月31日）

投与方法： 検体をアセトンに溶解し、0.1、0.5、1.0および5.0ppmの濃度で粉末飼料に混入し、自由摂取させた。対照群にはアセトンのみを混合した飼料を与えた。調製飼料は毎週作製し、室温保管した。検体は飼料中で26週間以上安定であった。

投与量設定根拠；検体を0.1、0.3、1.0、3.0、10.0、33.0、100.0ppmの濃度で飼料に混入してマウスに28日間投与した用量設定試験において、雄では10.0ppm以上で血漿コリンエステラーゼ活性の低下、33.0ppm以上で赤血球および脳コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。雌では3.0ppm以上で血漿コリンエステラーゼ活性の低下、10.0ppm以上で赤血球コリンエステラーゼ活性の低下、33.0ppm以上で脳コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。従って本試験では、長期間の投与によって血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が発現すると考えられる5.0ppmを最高用量とした。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および死亡の有無を毎日観察し、詳細な検査を週1回実施した。

死亡率を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)	雄					雌					
	0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
投与開始時動物数	59*	60	60	59*	60	60	60	60	60	60	
死亡率 (%)	投与52週	8	8	10	2	6	14	6	12	6	8
	投与78週	45	42	40	22	38	42	42	36	44	44
	投与終了時**	76	54	68	47	70	70	74	62	68	64

*個体識別の誤認により各1例が除外された。

**雄：投与97週、雌：投与94週

雌雄共に投与 78 週以後、死亡率が増加し続け、75%を上回る可能性があったため、雄については投与 97 週、雌については投与 94 週で投与を終了した。検体投与群と対照群の間で投与期間中の生存率に有意な差は認められず、途中死亡動物数、切迫屠殺動物数、および投与終了時の生存動物数にも統計学的有意差は認められなかった。

いずれの投与群にも検体投与に関連する一般症状は認められなかった。

体重変化； 投与開始後 13 週間は毎週 1 回、その後は投与終了時まで 4 週間毎に測定した。

いずれの投与群にも検体投与に関連する変化は認められなかった。

摂餌量； 個体別摂餌量を投与開始後 13 週間は毎週、その後は 4 週間毎に測定した。統計学的有意差の認められた時期を下表に示す。

性別及び 投与量(ppm)	雄				雌			
	0.1	0.5	1.0	5.0	0.1	0.5	1.0	5.0
投与 2 週								111↑
投与 3 週			90↓					
投与 5 週			89↓↓	89↓↓				
投与 13 週							82↓	
投与 38 週	106↑							

表中の数字は対照群に対する変動率 (%)

統計学的検定：Dunn の多重比較検定 (↓↑; P<0.05、↓↓↑↑; P<0.01)

いずれの投与群にも検体投与に関連する変化は認められなかった。

雌雄で散発的に認められたこれらの変動には、生物学的意義がないと考えられた。

検体摂取量； 週平均摂餌量、飼料中検体濃度および体重を用いて算出した平均検体摂取量 (mg/kg/day) を下表に示す。

投与量 (ppm)	0.1	0.5	1.0	5.0
検体摂取量 雄	0.014	0.072	0.141	0.705
(mg/kg/day) 雌	0.020	0.097	0.189	1.008

血液学的検査； 投与開始後 52 週、76 週および投与終了時に、各群雌雄各 10 匹を対象として非絶食下で尾から採血し、血液塗沫標本を作製した。検査は対照群および 5.0ppm 投与群のみ実施し、白血球 100 個を算定して以下の型に分類した。

リンパ球、分葉核球、杆状核球、好酸球、単球

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)	雄				雌			
	0.1	0.5	1.0	5.0	0.1	0.5	1.0	5.0
投与 76 週	リンパ球							122↑
	分葉核球							70↓

表中の数字は対照群に対する変動率 (%)

統計学的検定：Dunnnett の検定 (↓↑; P<0.05)

いずれの投与群にも検体投与に関連する変化は認められなかった。

5.0ppm 投与群雌にみられた投与76週のリンパ球増加および分葉好中球減少の原因は、同時期に対照群雌でリンパ球が減少し、分葉好中球が増加したためであった。対照群雄でも投与52および76週にリンパ球の減少および分葉好中球の増加が認められた。これら対照群の低値は、試験施設で同一系統のマウスを用いて実施した過去の試験でもみられていることから、本試験の対照群の値に異常はないと判断された。従って、5.0ppm 投与群雌にみられたリンパ球および分葉好中球の変動に検体投与の影響はないと考えられた。

コリンエステラーゼ活性；投与開始後4週、26週、52週、76週および投与終了時に、各群雌雄各10匹を対象として非絶食下で眼窩血管叢から採血し、血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性をDTNB法で測定した。なお、雌については、死亡率の増加により試験を早期に終了させる可能性があったため、投与開始後88週にも血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性の測定を実施した。各群雌雄各10匹の中間屠殺動物および終了時屠殺動物から脳を摘出し、脳コリンエステラーゼ活性をDTNB法で測定した。
統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)		雄				雌			
		0.1	0.5	1.0	5.0	0.1	0.5	1.0	5.0
赤血球	投与4週				74↓↓				80↓↓
	投与26週								77↓↓
	投与52週				77↓↓				77↓↓
	投与76週				75↓↓				72↓↓
	投与88週	—	—	—	—	84↓			68↓↓
	投与97週				76↓↓	—	—	—	—
血漿	投与4週				24↓↓				32↓↓
	投与26週				37↓↓				31↓↓
	投与52週				36↓↓				35↓↓
	投与76週				28↓↓				41↓↓
	投与88週	—	—	—	—				42↓↓
	投与94週	—	—	—	—		76↓		40↓↓
	投与97週				30↓↓	—	—	—	—

表中の数字は対照群に対する割合(%)

—：対象動物なし

統計学的検定：Dunnnettの検定、Dunnの多重比較検定またはt検定

(↓↑；P<0.05、↓↓↑↑；P<0.01)

5.0ppm 投与群雌雄で投与期間中を通じて赤血球および血漿コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。

0.1ppm 投与群雌で投与88週に赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められ、0.5ppm 投与群雌で投与終了時に血漿コリンエステラーゼ活性の低下が認められたが、いずれの場合も他の測定時期には変化がなく、他の投与群では変化がなかったことから、検体投与には関連しないと考えられた。脳コリンエステラーゼ活性には検体投与の影響が認められなかった。

臓器重量； 各群雌雄各 10 匹の中間屠殺動物および投与終了時の生存動物を対象として以下の臓器の重量を測定した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、精巣、卵巣

いずれの投与群にも検体投与と関連する変化は認められなかった。

肉眼的病理検査； 全例を対象として、死亡時または計画屠殺時に検査を行った。

いずれの投与群にも検体投与と関連する変化は認められなかった。

病理組織学的検査； 剖検時に全動物から以下の臓器を摘出し、ホルマリン固定後、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。

脳、脊髄（頸部、胸部および腰部）、下垂体、甲状腺（および上皮小体）、胸腺、気管、肺、心臓、胸骨（および骨髄）、大腿骨（および骨髄）、筋肉（大腿部）、皮膚、眼球、顎下腺、肝臓、胆嚢、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上部、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、乳腺（雌）、大動脈、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節、坐骨神経、肉眼的異常部位、腫瘍

[非腫瘍性病変]

観察された主な非腫瘍性病変および発現頻度を別表に示す。

52 週後中間屠殺動物にみられた非腫瘍性病変およびその発現頻度は、対照群および検体投与群ともにほぼ同じであり、検体投与の影響は認められなかった。

途中死亡動物および最終屠殺動物の統計学的有意差が認められた所見を発現頻度と共に下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0
副腎	検査動物数	48	48	50	48	49	50	50	50	50	50
	皮質萎縮	9	20↑	13	16	19↑	10	16	21↑	14	22↑
	皮質限局性過形成	8	18↑	10	15	23↑↑	0	7	5	0	0
腎臓	検査動物数	49	50	50	49	50	50	50	50	50	50
	壊死性動脈炎	3	4	5	11↑	12↑	1	4	2	3	3
十二指腸	検査動物数	49	26	34	23	48	50	50	50	50	50
	粘膜過形成	1	0	0	0	2	6	6	11	5	17↑↑

統計学的検定：Fisher の確率検定（↓↑；P<0.05、↓↓↑↑；P<0.01）

検体投与に関連する所見として 5.0ppm 投与群雌雄で副腎皮質萎縮の発現率の有意な増加が認められ、同群の雄で副腎皮質限局性過形成、雌で十二指腸粘膜過形成の発現率の有意な増加が認められた。また、1.0ppm および 5.0ppm 投与群雄で腎臓の壊死性動脈炎の発現率の有意な増加が認められた。副腎皮質萎縮の発現率の有意な増加が 0.1ppm 投与群雄および 0.5ppm 投与群雌でも認められたが、Cochran-Armitage の傾向検定では、有意な傾向が認められないため、検体投与の影響とは考えられなかった。

雄では、副腎皮質限局性過形成の発現率に傾向検定で有意な傾向が認められたが、発現動物数を個々にみた場合、対照群と 0.5ppm 投与群がほぼ同数であり、0.1ppm 投与群には検体投与の影響はないと考えられた。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変および発現頻度を別表に示す。

腫瘍発生率を下表に示す。

	性別及び 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0
52 週後 中間屠殺群	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	腫瘍数	良性	0	2	1	2	0	0	0	1	0
		悪性	2	2	1	0	1	0	2	0	3
	総腫瘍数	2	4	2	2	1	0	2	1	3	5
	胆腫瘍 動物数	良性	0	2	1	2	0	0	0	1	0
		悪性	2	0	1	0	1	0	2	0	3
胆腫瘍動物総数	2	2	2	2	1	0	2	1	3	5	
途中死亡 + 投与終了時 屠殺	検査動物数	49	50	50	49	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	10	8	4	12	8	16	9	10	9
		悪性	33	35	22	37	55	53	50	59	35
	総腫瘍数	43	43	26	49	63	69	59	69	44	41
	胆腫瘍 動物数	良性	10	7	4	10	7	13	8	10	8
		悪性	23	31	20	29	33	36	35	38	28
胆腫瘍動物総数	29	35	23	35	37	39	37	39	34	38	

52 週後中間屠殺動物に認められた腫瘍性病変は、腫瘍数が少なく、発現頻度が低く、対照群と検体投与群の間で差異が認められなかったことから、検体投与の影響があるとは考えられなかった。

途中死亡動物および最終屠殺動物の統計学的有意差が認められた所見を発現頻度と共に下表に示す。

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0
肺	検査動物数	49	50	50	49	50	50	50	50	50	50
	細気管支-肺胞腺腫及び腺癌	19	29 ↑	14	17	26	18	17	17	12	14
肝臓	検査動物数	49	50	50	49	50	50	50	50	50	50
	腺腫及び腺癌	1	1	2	7 ↑	4	1	1	0	1	0
全身	検査動物数	49	50	50	49	50	50	50	50	50	50
	リンパ網内系腫瘍	6	5	5	8	11	12	12	17	12	12

統計学的検定：Fisher の確率検定 (↓ ↑ ; P<0.05)

いずれの投与群にも検体投与と関連する変化は認められなかった。

0.1ppm および 5.0ppm 投与群雄で肺の細気管支-肺胞腺腫および腺癌の発現率が増加し、0.1ppm 投与群で有意差が認められた。しかし有意な増加傾向は認められず、過去に実施した別の試験では対照群の 49 例中 25 例 (51%) に細気管支-肺胞腺腫瘍が認められていることから、検体投与と発現頻度の間に関連性はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

1.0ppm 投与群雄で肝臓の腺腫および腺癌の発現率が有意に増加した。しかし5.0ppm 投与群では有意差が認められず、有意な増加傾向もないことから、1.0ppm 投与群の変化は検体投与とは無関係と考えられた。それ以外に1.0ppmおよび5.0ppm 投与群雄でリンパ網内系腫瘍の発現頻度の軽度な増加が認められた。しかし統計学的有意差がなく、大部分のリンパ腫が加齢に伴う自然発生性腫瘍と判断されたことから、検体投与とは無関係な変化と考えられた。

以上の結果より、検体の飼料混入投与の影響として、5.0ppm 投与群雌雄で赤血球および血漿コリンエステラーゼの低下が認められた。病理組織学的に5.0ppm 投与群雌雄で副腎萎縮、同群の雄で副腎皮質限局性過形成、雌で十二指腸粘膜過形成が認められた。また、1.0ppm および5.0ppm 投与群雄で腎臓に壊死性動脈炎が認められた。従って、無毒性量は雄0.5ppm (0.072mg/kg/day)、雌1.0ppm (0.189mg/kg/day) と判断された。発がん性はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[主な非腫瘍性病変-1]

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
52 週 中 間 屠 殺 (含 む 途 中 死 亡)	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	肺	細気管支周囲リンパ球集簇	9	5	6	7	5	8	9	9	4	
		肺胞内泡沫細胞		2		1		1		3	1	
	肝臓	小葉中心帯肝細胞過形成	5	8	5	2	7	2		2		
		リンパ球浸潤	3	2	1		2	5	2		1	
	脾臓	ヘムデリン沈着	2				5	5		1	5	
		髓外造血亢進	2	1			1	3	1		2	
		リンパ組織過形成						1				
	腎臓	皮質尿管拡張	8	4	3	2	5	6	5	1	3	
		腎臓様円柱	8	9	5	5	3	6	6	4	5	
		リンパ球浸潤	8	7	8	8	9	7	8	9	8	
		マンギウム細胞肥厚		1								
		壊死性動脈炎									1	
	副腎	皮髄境界部リンパ球沈着	4		1		8	8	1		1	
		球状帯紡錘状細胞過形成	1					9	1		1	
		皮質萎縮	3				7					
皮質過形成		2										
十二指腸	粘膜過形成					1				2		
腸間膜リンパ節	リンパ組織過形成					1						
坐骨神経	軸索変性	1										
途 中 死 亡	検査動物数	37	27	34	24	35	35	37	31	34	32	
	肺	細気管支周囲リンパ球集簇	12	9	14	6	13	10	19	10	13	18
		肺胞内泡沫細胞	13	12	10	3	10	7	11	6	8	8
	肝臓	小葉中心帯肝細胞過形成	11	11	9	10	9		1	1		2
		リンパ球浸潤	4		4	7	5	4	5	10	4	4
	脾臓	ヘムデリン沈着	9	10	7	5	8	7	7	7	5	8
		髓外造血亢進	11	11	15	9	16	12	16	17	18	22
		リンパ組織過形成	4	1	1	3	6	4	3	8	5	3
	腎臓	皮質尿管拡張	11	5	8	5	10	13	17	12	12	13
		腎臓様円柱	24	13	21	11	18	14	22	21	17	19
		リンパ球浸潤	29	20	21	15	24	21	24	21	22	22
		マンギウム細胞肥厚	12	12	13	9	7	12	14	7	13	7
		壊死性動脈炎	1	3	4	6	6	1	4	1	2	2
	副腎	皮髄境界部リンパ球沈着	20	13	18	14	19	29	35	29	31	29
		球状帯紡錘状細胞過形成	2	3	6	6	4	27	33	28	32	29
		皮質萎縮	8	7	7	6	16	5	7	11	6	10
皮質過形成		2	8	8	7	15		3	3			
十二指腸	粘膜過形成					1		5	5	1	8	
腸間膜リンパ節	リンパ組織過形成	7	1	5	8	5	6	5	2	6	5	
縦隔リンパ節	リンパ組織過形成	4	1	4	1	6	3	5	1	5	3	
坐骨神経	軸索変性	8	4	11	7	7	10	10	7	9	9	

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[主な非腫瘍性病変-2]

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
投与終了時屠殺	検査動物数	12	23	16	25	15	15	13	19	16	18	
	肺	細気管支周囲リンパ球集簇	7	16	10	17	6	10	7	8	15	11
		肺胞内泡沫細胞	3	5	1	3	4	4	1	4	5	3
	肝臓	小葉中心帯肝細胞過形成	5	7	4	10	5					
		リンパ球浸潤	2	1	2	7	2	7	8	10	10	7
	脾臓	ヘミデリン沈着	2				5	6	1	1		6
		髓外造血亢進	8	1			10	10	3	4		17
		リンパ組織過形成	4				2	9	1			6
	腎臓	皮質尿細管拡張	3	2	2	5	2	5	2	3	8	3
		タンパク様円柱	12	20	16	23	12	7	3	7	12	4
		リンパ球浸潤	10	21	15	20	13	9	8	11	14	14
		マンギウム細胞肥厚	3	8	4	13	4	5	3	7	8	6
		壊死性動脈炎	2	1	1	5	6			1	1	1
	副腎	皮髄境界部リンパ球沈着	5				10	15				18
		球状帯紡錘状細胞過形成	1				3	14				18
		皮質萎縮	1	13	6	10	3	5	9	10	8	12
		皮質過形成	4	10	2	8	8		4	2		
	十二指腸	粘膜過形成	1				1	6		2	1	9
	腸間膜リンパ節	リンパ組織過形成	6			1	9	5				8
	縦隔リンパ節	リンパ組織過形成	1				1	2				
坐骨神経	軸索変性	8	11	10	14	6	6	7	14	13	13	
途中死亡および投与終了時屠殺	検査動物数	49	50	50	49	50	50	50	50	50	50	
	肺	細気管支周囲リンパ球集簇	19	25	24	23	19	20	26	18	28	29
		肺胞内泡沫細胞	26	17	11	6	14	11	12	10	13	11
	肝臓	小葉中心帯肝細胞過形成	16	18	13	20	14		1	1		2
		リンパ球浸潤	6	1	6	14	7	11	13	20	14	11
	脾臓	ヘミデリン沈着	11	10	7	5	13	13	8	8	5	14
		髓外造血亢進	19	12	15	9	21	22	19	21	18	39
		リンパ組織過形成	8	1	1	3	8	13	4	8	5	9
	腎臓	皮質尿細管拡張	14	7	10	10	12	18	19	15	20	16
		タンパク様円柱	36	33	37	34	30	21	25	28	29	23
		リンパ球浸潤	39	41	36	35	37	30	32	32	36	36
		マンギウム細胞肥厚	15	20	17	22	11	17	17	14	21	13
		壊死性動脈炎	3	4	5	11	12	1	4	2	3	3
	副腎	皮髄境界部リンパ球沈着	25	13	18	14	29	44	35	29	31	47
		球状帯紡錘状細胞過形成	3	3	6	6	7	41	33	28	32	47
		皮質萎縮	9	20	13	16	19	10	16	21	14	22
		皮質過形成	6	18	10	15	23		7	5		
	十二指腸	粘膜過形成	1				2	6	5	7	2	17
	腸間膜リンパ節	リンパ組織過形成	13	1	5	9	14	11	5	2	6	13
	縦隔リンパ節	リンパ組織過形成	5	1	4	1	7	5	5	1	5	3
坐骨神経	軸索変性	16	15	21	21	13	16	17	21	22	22	

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変-1]

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
52週中間屠殺(含む途中死亡)	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	肺	細気管支-肺胞腺腫 B		2		2			1			
		細気管支-肺胞腺癌 M			1			1		1	2	
	胸骨	顆粒細胞肉腫 M	1									
	肝臓	肝細胞腺腫 B			1							
	精巣	間質細胞腫瘍 M	1									
		子宮	間質肉腫 M							1		
	十二指腸	腺癌 M									1	
		平滑筋肉腫 M									1	
	膀胱	平滑筋肉腫 M					1			1	1	
全身性	リンパ肉腫/白血病 M						1					
途中死亡	検査動物数	37	27	34	24	35	35	37	31	34	32	
	下垂体	腺腫 B					1					
	胸腺	リンパ肉腫/白血病 M	1				1	3		1		
		肺	細気管支-肺胞腺腫 B	4	4	1		3	2	3	1	2
	細気管支-肺胞腺癌 M		7	8	7	6	14	8	9	5	6	6
	胸骨	線維肉腫 M					1					
	大腿骨	顆粒細胞肉腫 M	2				1		1			
	皮膚	乳頭腫 B						1				
		扁平細胞癌 M		1	1		1		3			
		線維肉腫 M	1									
		塩基性扁平細胞癌 M					1					
	肝臓	血管内皮腫 M							1			
		肝細胞腺腫 B		1	1	2	2					
		顆粒細胞肉腫 M	1		1			1				
		血管内皮腫 M								1		
	脾臓	血管腫 B					1					
		リンパ肉腫/白血病 M			2	2	4	2	1	1	2	3
		顆粒細胞肉腫 M			1	1			1	1		2
		網内細胞肉腫 M	1									
		混合型リンパ肉腫 M				1					2	
		赤白血病 M							1	1		
	血管内皮腫 M									1		
	睪臓	ラ氏島細胞腺腫 B					1					
	腎臓	皮質腺癌 M				1						
		副腎	副腎皮質腫瘍 B				1					
			皮質腺腫 B	1			1					
			髓質褐色細胞腫 B								1	
		皮質球状帯紡錘細胞腫瘍 M						1				
	皮質腺癌 M					1						
	精巣	血管肉腫 M				1						
精巣上体	平滑筋肉腫 M				1	1						
精囊	腺腫 B		1									
	平滑筋肉腫 M	2										

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍
空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変 - 2]

性別及び投与量 (ppm)		雄					雌					
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
途 中 死 亡	検査動物数	37	27	34	24	35	35	37	31	34	32	
	卵 巢	黄体腫 B						1	1			1
		莢膜腫 B										2
		顆粒膜細胞腫瘍 B										1
	子 宮	子宮内膜ホリフ B						4		3	1	3
		平滑筋肉腫 M						2	4	3	5	3
		血管内皮腫 M							1			
	腔	ホリフ B						3				
		平滑筋肉腫 M						2	1	1		1
	乳 腺	腺癌 M							1			
	胃	扁平細胞癌 M							1			
		骨肉腫 M						1				
	回 腸	腺癌 M				1					1	
	膀 胱	平滑筋肉腫 M	2	3	1	4	3		2		1	2
	リンパ 節	リンパ肉腫/白血病 M	5	1	2	3	3	10	6	12	7	7
		混合型リンパ肉腫 M		1		1	1		2	1		
	その他の リンパ 節	リンパ肉腫/白血病 M		1			2					
	陰 茎	線維肉腫 M					1					
	涙 腺	腺腫 B										1
		腺癌 M					1					
	頸 部	平滑筋腫 B							1			
	皮下組織	血管内皮腫 M								1		
	大 網	脂肪肉腫 M										1
	投 与 終 了 時 屠 殺	検査動物数	12	23	16	25	15	15	13	19	16	18
		下垂体	腺腫 B			1			1			1
		胸 腺	リンパ肉腫/白血病 M					1	3	3	1	
肺			細気管支-肺胞腺腫 B	3	2		1				3	
		細気管支-肺胞腺癌 M	5	15	6	10	9	8	5	8	4	6
		癌肉腫 M	1									
皮 膚		塩基性扁平細胞癌 M					1					
		脂肪肉腫 M		1								
		線維肉腫 M								1		
肝 臓		肝細胞腺腫 B	1		1	5	1		1		1	
		肝細胞腺癌 M					1	1				
脾 臓		リンパ肉腫/白血病 M	1	1		1	5	6	3	7		10
		混合型リンパ肉腫 M								1		
		血管内皮腫 M								1		
腎 臓		皮質腺腫 B				1						
		皮質乳頭状腺腫 B				1						
		皮質腺癌 M					1					
副 腎		皮質腺腫 B	1					2				
卵 巢		顆粒層-莢膜細胞腫瘍 B							1			1
		莢膜-黄体腫瘍 B								1		
		乳頭状嚢胞腺腫 B									1	

B : 良性腫瘍、M : 悪性腫瘍

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変-3]

性別及び投与量 (ppm)			雄					雌					
			0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
投与終了時屠殺	検査動物数		12	23	16	25	15	15	13	19	16	18	
	子宮	子宮内膜ホリフ	B					1	1	1	3	1	
		平滑筋腫	B							1			
		平滑筋肉腫	M					2		2		2	
		血管内皮腫	M							1		1	
		骨肉腫	M									1	
	乳腺	腺癌	M					1					
	胃	扁平細胞癌	M	1					1	1			
	空腸	混合型リンパ肉腫	M		1								
		腺癌	M		1								
	膀胱	平滑筋肉腫	M	2		1		2	1		1	1	
	リンパ節	リンパ肉腫/白血病	M				3	1	2	4	4	3	3
		混合型リンパ肉腫	M								1		1
	涙腺	腺腫	B				1						
	ハーダー腺	腺腫	B									1	
	その他のリンパ節	リンパ肉腫/白血病	M		3		1						
肥満細胞腫瘍		M	1					1					
途中死亡および投与終了時屠殺	検査動物数		49	50	50	49	50	50	50	50	50		
	下垂体	腺腫	B			1		2				1	
	胸腺	リンパ肉腫/白血病	M	1				2	3	6	1	1	
	肺	細気管支-肺胞腺腫	B	7	6	1	1	3	2	3	4	2	2
		細気管支-肺胞腺癌	M	12	23	13	16	23	16	14	13	10	12
		癌肉腫	M	1									
	胸骨	線維肉腫	M					1					
	大腿骨	顆粒細胞肉腫	M	2				1		1			
	皮膚	乳頭腫	B							1			
		扁平細胞癌	M		1	1		1			3		
		線維肉腫	M	1							1		
		脂肪肉腫	M		1								
		塩基性扁平細胞癌	M					1	1				
		血管内皮腫	M								1		
	肝臓	肝細胞腺腫	B	1	1	2	7	3		1		1	
		肝細胞腺癌	M					1	1				
		顆粒細胞肉腫	M	1		1			1				
		血管内皮腫	M									1	
	脾臓	血管腫	B						1				
		リンパ肉腫/白血病	M	1	1	2	3	9	8	4	8	2	13
		顆粒細胞肉腫	M			1	1			1	1		2
		網内細胞肉腫	M	1									
混合型リンパ肉腫		M				1				1	2		
赤白血病		M							1	1			
	血管内皮腫	M							1	1			
膀胱	ラ氏島細胞腺腫	B					1						

B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[腫瘍性病変 - 4]

性別及び投与量 (ppm)			雄					雌					
			0	0.1	0.5	1.0	5.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	
途 中 死 お よ び 投 与 終 了 時 屠 殺	検査動物数		49	50	50	49	50	50	50	50	50	50	
	腎 臓	皮質乳頭状腺腫	B				1						
		皮質腺腫	B				1						
		皮質腺癌	M				1	1					
	副 腎	副腎皮質腫瘍	B					1					
		皮質腺腫	B	2			1		2				
		髓質褐色細胞腫	B								1		
		皮質腺癌	M					1					
		皮質球状帯紡錘細胞腫瘍	M						1				
	精 巢	血管肉腫	M			1							
	精巢上体	平滑筋肉腫	M			1	1						
	精 囊	腺腫	B		1								
		平滑筋肉腫	M	2									
	卵 巢	黄体腫	B						1	1			1
		莢膜腫	B										2
		顆粒膜細胞腫瘍	B										1
		顆粒層-莢膜細胞腫瘍	B							1			1
		乳頭状嚢胞腺腫	B									1	
		莢膜-黄体腫瘍	B								1		
	子 宮	子宮内膜ホリブ	B						5	1	4	4	4
		平滑筋腫	B								1		
		平滑筋肉腫	M						4	4	5	5	5
		血管内皮腫	M							1	1		1
		骨肉腫	M										1
		腺癌	M							1			
	膣	ホリブ	B						3				
		平滑筋肉腫	M						2	1	1		1
	乳 腺	腺癌	M							2	1		
扁平細胞癌		M	1						1				
胃	骨肉腫	M						1					
	混合型リンパ肉腫	M		1									
空 腸	腺癌	M		1									
	腺癌	M		1									
回 腸	腺癌	M				1					1		
膀 胱	平滑筋肉腫	M	4	3	2	4	5	1	2		2	3	
リンパ 節	リンパ肉腫/白血病	M	5	1	2	6	4	12	9	16	10	10	
	混合型リンパ肉腫	M		1		1	1		2	2		1	

B : 良性腫瘍、M : 悪性腫瘍

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.9 繁殖毒性および催奇形性

8.9.1 ラットにおける繁殖試験 (資料 No. T-4.1)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 :

試験動物 : Sprague-Dawley 系 fBR ラット、投与開始時 6 週齢、1 群雌雄各 25 匹

投与期間 : P1 世代 ; 雄 投与開始から交配前 8 週間、交配期間および解剖日まで

雌 投与開始から交配前 8 週間、交配、妊娠、哺育期間および解剖日まで

F1 世代 ; 雄 離乳後 11 週間、交配期間および解剖日まで

雌 離乳後 11 週間、交配、妊娠、哺育期間および解剖日まで

試験期間 : 1985 年 3 月 22 日～1986 年 7 月 29 日

投与方法 : 検体をアセトンに溶解して、飼料に 0、0.1、0.5 および 5.0ppm の濃度に混入し、動物に自由摂取させた。

投与量設定根拠 : 投与量設定試験結果に基づき設定した。1 群雌 10 匹雄 5 匹を用い、検体を 0、0.1、0.5、1.0 および 5.0ppm の濃度で餌中に混入して 2 週間自由摂取させた後、交配した。交配後、さらに離乳まで同濃度の餌を与えた。なお、雌は交配時に交尾が確認された最初の 5 匹を用いた。交配前に血漿コリンエステラーゼ (ChE) 活性を、試験終了時に血漿 ChE 活性、赤血球 ChE 活性および脳 ChE 活性を測定した。その結果、5.0ppm 群における交配前血漿 ChE 活性は対照群と比べ、雄で 15%、雌で 41%減少し、試験終了時では、雄で 23%、雌で 54%低下した。赤血球 ChE 活性および脳 ChE 活性に影響は認められなかった。親動物の体重、摂餌量および一般状態に有意な変化は認められなかった。児動物の生存率、体重および繁殖指標に有意な変化は認められなかった。以上より、本試験における最高投与量を 5.0ppm に設定した。

試験項目および方法 : 概要を別表にまとめた。

一般状態および死亡率 ; 全動物について毎日一般状態および生死を観察した。

体重変化 ; 交配前育成期間は P1 および F1 世代のいずれも、毎週 1 回測定した。妊娠期間および哺育期間は雌についてそれぞれ 0、6、15、20 および 0、4、7、14、21 日に測定した。

摂餌量 ; 交配前育成期間は P1 および F1 世代のいずれも、毎週 1 回測定した。交配期間および哺育期間中は測定しなかった。

交配および妊娠の確認 ; 雌雄を最大 7 日間同居させ、膣栓または膣垢中の精子により交尾を確認した。交尾が成立しなかった場合には、雄を取り替えて再度交配した。2 回の交配でも交尾が成立しない場合は、雌を不妊とした。なお、膣垢中に精子を確認した日を妊娠 0 日とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および分娩～哺育期間中の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\begin{aligned} \text{交尾率} &= \frac{\text{観察した交尾数}}{\text{交尾機会数}^{1)} } \times 100 \\ \text{妊娠率} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾数}} \times 100 \\ \text{授胎率(雄)} &= \frac{\text{1匹以上の雌を妊娠させた雄動物数}}{\text{交配雄動物数}} \times 100 \\ \text{受胎率(雌)} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{着床数交尾が確認された雌動物数}} \times 100 \\ \text{出産率} &= \frac{\text{出産した雌動物数}}{\text{妊娠雌動物数}} \times 100 \\ \text{24時間生存率} &= \frac{\text{哺育1日目の生存胎児数}}{\text{生存出産児数}} \times 100 \\ \text{4日目生存率} &= \frac{\text{哺育4日目の生存哺育児数}}{\text{生存出産児数}} \times 100 \\ \text{14日目生存率} &= \frac{\text{哺育14日目の生存哺育児数}}{\text{哺育4日目に調製した哺育児数}} \times 100 \\ \text{哺育率} &= \frac{\text{哺育21日目の生存哺育児数}}{\text{哺育4日目に調製した哺育児数}} \times 100 \end{aligned}$$

1) 交尾機会数；発情周期（1周期5日間）数として定義

コリンエステラーゼ(ChE)活性測定；P1 および F1 世代の親動物について F1a および F2a 世代作出時には交配直前に、F1b および F2b 世代作出時には哺育児の離乳時に、各群の雌雄各 10 匹の眼窩静脈叢より非絶食下で採血し、血漿および赤血球 ChE 活性を DTNB 法で測定した。また、脳 ChE 活性を屠殺時に、血漿および赤血球 ChE を測定した動物について DTNB 法で測定した。

児動物の体重および観察；F1 および F2 世代の児動物体重を出産時、出産後 4、7、14 および 21 日に測定した。出産時に、生存児数、死産児数、食殺児数、性別を調べた。また、外表奇形についても調べた。

臓器重量；親動物および病理組織学的検査に選択した離乳児について以下の臓器重量を測定した。

脳、卵巣、精巣および精巣上部、心臓、肝臓、腎臓、副腎

肉眼的病理検査；すべての親動物および離乳児について剖検を行った。

以下の臓器を保存した。

膈および子宮、卵巣、精巣および精巣上部、精囊、前立腺、脳、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脊髄、坐骨神経、肉眼的異常の見られた臓器および部位

病理組織学的検査；対照群および最高用量群の親動物、F1b および F2b の各群から雌雄各 10 匹について病理組織学的検査を実施した。

結 果： 概要を表に示す。

親動物；

体 重；F1 世代 5ppm 投与群雌親動物に認められた育成期間における体重増加量の有意な減少、F2b 妊娠期間および哺育期間における体重の有意な低値は、同群雄親動物の育成期間における体重増加量が有意に減少したことから検体投与に起因する変化と考えられた。F1 世代 0.1 および 0.5ppm 投与群で認められた体重の有意な変化は、0.1ppm 投与群で認められた変化が概して 0.5ppm 投与群で認められず、また、両投与群では ChE 活性抑制が認められないことから検体投与に起因する変化とは考えられなかった。その他の投与群では雌雄とも体重に対する影響は認められなかった。

ChE 活性；5ppm 投与群の血漿および赤血球 ChE 活性が有意に減少した。脳 ChE 活性には検体投与の影響は認められなかった。F 世代雌では 0.5ppm 群で血漿 ChE 活性が有意ではないが減少した。

臓器重量；5ppm 投与群において、P1 および F1 世代雄肝臓の対脳重比が有意に減少し、F1 世代雄脳の対体重比が有意に増加した。また、同群の F1 世代雌雄心臓の絶対重量が有意に減少した。

繁殖成績；F1 世代の F2a 作出時の交尾率が、0.1 および 0.5ppm 群で有意に減少したが、これは対照群の通常よりも高い交尾率(100%)に起因しており、また、投与量に関連した変化でもないことから、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

病理組織学的検査；検体投与に起因する変化は認められなかった。。

児動物；

産児生存率および発育；F2b の死産発生率が 0.5 および 5ppm 投与群で、有意に増加し、これに関連して、これらの群の産児生存率が有意に減少した。しかしながら、F1a、F1b および F2a 出産時で有意差はみられず、F2b 対照群の死産発生率は本試験における他の F2b の中でも最も低いものであることから、検体投与との関係について明らかではなかった。

児動物の臓器重量；5ppm 投与群における、F1b 雄産児副腎の対体重比が有意に増加した。しかしながら、関連する病理組織学的所見および F2b では変化がみられないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

以上から、2 世代にわたって検体を飼料混入投与した場合、5ppm 投与群では、P1 および F1 世代親動物に体重および体重増加抑制がみられ、血漿および赤血球 ChE 活性の抑制が認められた。0.5ppm 群の F1 世代雌親動物では血漿 ChE 活性の低下が認められた。また、肝臓、脳、心臓の体重比または絶対重量に影響が認められた。F2b の死産発生率が 0.5 および 5ppm 投与群で、有意に増加し、これに関連して、これらの群の産児生存率が有意に減少した。

したがって、本実験条件下における、無影響量は親動物および児動物いずれも 0.1ppm (雄親動物：0.005mg/kg/day、雌親動物：0.007mg/kg/day) と考えられた。繁殖への影響は最高投与量でも認められなかった。

申請者注) 本試験では F2b 出産児に死産数の増加がみられたこと、F1 雌親動物の血漿 ChE 活性に抑制がみられたことより、最低毒性影響発現量 (LOEL) は 0.5ppm (0.025mg/kg/day) と判断した。

しかしながら、死産数の増加は、F2b 出産児のみであり、その他の F1a、F1b および F2a 出産児では増加がみられなかった。また、F2b における 0.5 および 5ppm 群の死産発生率に有意差がみられたが、これは対照群の死産発生率が本試験における 4 回の出産中で最も低いことが原因になったと考えられた。F1 雌親動物の血漿 ChE 活性抑制については、統計学的に有意差はみられず、血漿 ChE 活性抑制は毒性学的に有害作用とは考えられない (食品中の残留農薬の毒性学的評価の原理 ; Environmental Health Criteria 104, WHO, 1990) 。したがって、本試験における無毒性量は親動物では雌雄いずれも 0.5ppm (0.025mg/kg/day) 、児動物では 5ppm (0.25mg/kg/day) と考えられた。

なお、FAO/WHO 合同残留農薬会議 (JMPR, 1991) および食品衛生調査会 (1996) のいずれでも本試験の無毒性量は 0.5ppm (0.025mg/kg/day) と判断された。

毒性試験担当者の判断では上記のとおりであるが、国際的評価 (JMPR) および日本の厚生省食品衛生調査会での評価はいずれも無毒性量 (NOEL) は 0.5ppm (0.025mg/kg/day) 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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

試験の流れを以下に示す。

世代	期間	作業手順	項目
P1	生育(14週)	1群 雄25匹 雌25匹	一般状態、生死を毎日観察 体重を週1回、摂餌量を週1回測定
	交配(2週)	雌雄1対1で交配。 交尾は膣栓および膣垢中の精子で確認 (妊娠0日)	交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠動物の体重測定
	F1a出産 — 哺育(21日)	-----	出産状況の観察、出産仔数、生存仔数、外表異常および同腹生存仔体重測定 分娩0, 4, 7, 14及び21日目に体重測定
	離乳 ---	-----	親動物の血漿および赤血球ChE活性を交配前に測定
親動物8週間休息			
F1	交配(2週)	(P1世代に準じる)	(P1世代に準じる)
	妊娠(3週)		
	F1b出産 — 哺育(21日)	-----	親動物屠殺し、血漿、赤血球および脳ChE活性を離乳後に測定、病理組織学的検査
	離乳 ---	---継代用の各群雌雄25匹を選抜---	
	生育(11週)		
	交配(2週)	(P1世代に準じる)	
	妊娠(3週)		
	F2a出産 — 哺育(21日)	-----	
	離乳 ---	-----	(P1世代に準じる)
	親動物[F ₁]8週間休息		
交配(2週)			
妊娠(3週)	(P1世代に準じる)		
F2b出産 — 哺育(21日)	-----		
離乳 ---	-----	F2bの剖検 (各群雌雄10匹病理組織学的検査) 親動物屠殺し、血漿、赤血球および脳ChE活性を離乳後に測定、病理組織学的検査	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

世 代			親 : P1				親 : F1b					
投与量(ppm)			0	0.1	0.5	5	0	0.1	0.5	5		
使用動物数	雄		25	25	25	25	25	25	25	25		
	雌		25	25	25	25	25	25	25	25		
死亡動物数	雄		0	0	0	0	0	0	0	0		
	雌		1	0	0	0	0	0	1	0		
検体摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	育成期間	雄	—	5.2	25.9	262.3	—	5.5	28.1	287.1		
		雌	—	7.3	34.0	339.8	—	7.5	37.7	373.5		
	妊娠期間	雌	—	6.0	30.4	317.1	—	6.0	29.6	311.8		
一般症状			検体投与に起因する変化は認められなかった。									
親動物	育成期間	雄	交配前増加量	174.2	186.0	174.2	169.6	312.1	297.0	303.4	286.8	
			最終増加量	273.4	277.7	259.5	255.9	433.4	418.1	415.6	387.4	
		雌	交配前増加量	74.5	79.9	76.5	73.0	137.7	122.4	131.9	125.2	
			最終増加量	139.3	140.9	134.3	134.0	207.4	190.9	198.3	187.5	
	体重変化 (g)	妊娠期間	雌	0日	262.2	265.9	262.7	261.5	283.4	271.3	279.4	274.0
				6日	286.6	288.0	284.0	283.9	303.6	291.4	298.8	295.5
				15日	316.2	322.2	316.5	312.0	336.3	326.5	329.9	330.4
				20日	375.7	385.5	374.7	366.5	402.4	390.4	390.7	395.6
		哺育期間	雌	0日	302.0	306.0	301.2	303.1	316.1	308.0	306.9	317.9
				4日	309.9	310.9	309.4	310.2	321.9	309.6	313.1	315.9
7日				312.9	315.3	315.4	317.5	328.3	316.5	321.0	323.0	
14日				323.8	319.1	318.0	317.6	344.6	326.2	335.2	330.9	
21日	302.2	309.3	309.7	307.0	336.0	315.7	327.2	324.2				
摂餌量 (g/匹/週)	育成期間	雄	168.0	169.7	167.1	168.3	183.2	178.6	178.5	177.5		
		雌	117.6	129.1	126.6	126.2	140.6	134.5	137.5	134.5		
	妊娠期間	1-6日	117.5	119.1	116.0	121.6	119.0	116.8	115.9	121.4		
		6-15日	186.3	177.5	183.3	185.7	197.8	187.6	190.6	199.6		
15-20日		111.8	118.4	108.5	113.4	114.0	109.4	109.0	117.1			
交配成績	交尾率(%)		66.7	72.7	75.0	100.0	100.0	75.0	78.6	88.0		
	妊娠率(%)		78.6	82.1	82.1	84.0	95.6	88.9	95.6	81.5		
	授胎率(%)		80.0	80.0	80.0	84.0	88.0	80.0	84.0	84.0		
	受胎率(%)		88.0	92.0	92.0	84.0	88.0	96.0	88.0	88.0		
	出産率(%)		91.7	95.8	95.8	91.3	95.6	96.0	95.6	91.7		
	妊娠期間(日)		22.4	22.5	22.3	22.4	22.3	22.0	22.3	22.1		
ChE活性 (交配前)	赤血球 (u/ml) (対対照比%)	雄	1.94 (100)	2.02 (104)	1.93 (99)	1.59 (82)	2.01 (100)	2.08 (103)	1.95 (97)	1.60 (80)		
		雌	2.03 (100)	2.04 (100)	2.04 (100)	1.66 (82)	1.91 (100)	1.89 (99)	1.84 (96)	1.44 (75)		
	血漿(u/ml) (対対照比%)	雄	0.50 (100)	0.46 (92)	0.49 (98)	0.42 (84)	0.48 (100)	0.48 (100)	0.47 (98)	0.39 (81)		
		雌	2.56 (100)	2.70 (105)	2.84 (111)	1.40 (55)	3.24 (100)	2.54 (78)	2.30 (71)	1.40 (43)		

統計学的検定法 ; ANOVA、Bartlett 検定、Dunnett 検定、T-検定、Dunn 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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

世 代			親 : P1				親 : F1b				親 : F1b				児 : F2b																																							
投与量 (ppm)			0				0.1				0.5				5																																							
親動物	使用動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25																																				
		雌	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25																																				
	死亡動物数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																																				
		雌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																																				
	検体摂取量 (µg/kg/day)	妊娠期間	雌	—	5.9	29.1	297.1	—	5.7	27.7	296.6	—	5.7	27.7	296.6	—	5.7	27.7	296.6																																			
	一般状態			投与に関連する異常は認めなかった																																																		
	体重変化 (g)	妊娠期間	雌	0日	303.1	304.9	305.5	301.4	324.5	303.9, ↓	315.3	305.7, ↓	6日	323.9	324.0	320.8	320.3	339.3	319.2, ↓	330.3	323.0	15日	347.5	354.7	350.8	350.2	371.3	352.7, ↓	357.5, ↓	355.0	20日	394.2	413.0	416.2	415.7	438.7	421.6	408.5, ↓	421.8															
				0日	334.7	347.1	332.5	336.6	352.5	339.7	336.8	347.0	4日	338.0	345.2	337.1	337.5	362.3	344.4, ↓	349.7	345.2	7日	344.5	343.1	335.0	341.3	364.9	348.8	351.5	350.0	14日	349.2	350.5	348.8	346.9	369.6	356.9	359.3	356.0	21日	336.8	341.6	334.0	334.3	365.8	345.8, ↓	349.5	343.7, ↓						
				1-6日	135.6	133.5	127.7	130.5	135.3	132.3	128.6	133.1	6-15日	194.3	203.9	194.0	198.5	200.3	186.2	183.1, ↓	199.8	15-20日	103.9	110.2	112.0	112.7	111.4	109.5	105.5	115.3																								
				交尾率 (%)	85.0	100.0	88.0	95.6	88.5	88.0	77.8	83.3	妊娠率 (%)	61.5	73.1	88.5*	84.0	91.7	91.7	91.3	87.0	授胎率 (%)	56.0	80.0	84.0*	84.0*	80.0	80.0	79.2	72.0	受胎率 (%)	66.7	76.0	92.0*	84.0	88.0	88.0	87.5	80.0	出産率 (%)	76.2	79.2	95.8	87.5	95.6	95.6	95.5	90.9	妊娠期間 (日)	22.4	22.0	22.0	22.2	22.2
ChE 活性 (最終)		赤血球 (u/ml) (対対照比%)	雄	1.96 (100)	2.06 (105)	1.97 (101)	1.75 (89)	2.64 (100)	2.53 (96)	2.58 (98)	2.13, ↓ (81)	雌	1.81 (100)	1.82 (101)	1.77 (98)	1.48, ↓ (82)	2.39 (100)	2.33 (97)	2.35 (98)	1.95, ↓ (82)																																		
			雄	0.57 (100)	0.55 (96)	0.55 (96)	0.47, ↓ (82)	0.63 (100)	0.61 (97)	0.60 (95)	0.46, ↓ (73)	雌	3.18 (100)	3.98 (125)	3.23 (102)	1.54, ↓ (48)	3.70 (100)	3.26 (88)	2.76 (75)	1.62, ↓ (44)																																		
		脳 (u/ml) (対対照比%)	雄	11.84 (100)	11.47 (97)	11.91 (101)	11.81 (100)	12.29 (100)	11.91 (97)	12.25 (100)	12.32 (100)	雌	11.63 (100)	11.75 (101)	11.81 (102)	11.60 (100)	12.32 (100)	12.05 (98)	12.38 (100)	12.17 (99)																																		
			雄	2.181	2.233	2.172	2.208	2.283	2.280	2.278	2.284	雌	1.647	1.654	1.596	1.602	1.822	1.718, ↓	1.704	1.694, ↓																																		
	臓器重量	脳	雄	0.393	0.398	0.393	0.409	0.374	0.382	0.383	0.404*	雌	0.295	0.294	0.289	0.296	0.297	0.287	0.285	0.298																																		
			雄	75.775	74.302	73.554	72.746	79.982	75.359	74.838	74.355	雌	1.168	1.220	1.197	1.165	1.356	1.273	1.279	1.257, ↓																																		
心臓		雄	0.354	0.367	0.368	0.359	0.382	0.377	0.370	0.375	雌	56.502	58.047	57.975	56.456	63.909	59.998	59.972	59.391																																			
		雄	18.434	17.239	18.003	16.983	21.858	20.278	20.592	18.944, ↓	雌	3.294	3.063	3.245	3.128	3.556	3.382	3.444	3.337																																			
肝臓		雄	848.611	773.457	828.432	771.886, ↓	957.800	889.361	904.267	830.823, ↓	雌	—	—	—	—	—	—	—	—																																			
		病理組織学的検査			検体投与に起因する変化は認められなかった。																																																	

注) 臓器重量は統計学的に有意差の見られた臓器のみ記載した。

統計学的検定法 ; ANOVA、Bartlett 検定、Dunnett 検定、T-検定、Dunn 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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

世 代		親 : P1				親 : F1b				
投与量 (ppm)		0	0.1	0.5	5	0	0.1	0.5	5	
生 存 性 児 動 物	出産児数	265	282	260	252	278	287	255	295	
	出産児数/腹	12.6	12.3	11.3	12.0	12.6	12.0	12.1	13.4	
	生存児数 (%)	252 (95.1)	274 (97.2)	242 (93.1)	244 (96.8)	257 (92.4)	270 (94.1)	234 (91.8)	279 (94.6)	
	死産児数 (%)	13 (4.9)	8 (2.8)	18 (6.9)	8 (3.2)	21 (7.6)	17 (5.9)	21 (8.2)	16 (5.4)	
	食殺児数 (%)	1 (0.4)	1 (0.4)	0 (0)	0 (0)	2 (0.8)	1 (0.4)	3 (1.3)	0 (0)	
	生存率 (%)	1日	99	99	99	96	98	99	97	99
		4日	97	92	95	93	95	97	88	97
		7日	100	100	100	100	100	100	100	100
		14日	100	100	100	100	99	100	99	100
		21日	100	100	100	100	99	99	99	100
一般状態		投与に関連する変化は認められなかった。								
外表異常		投与に関連する異常は認められなかった。								
哺育時体重 (g)	雄	0日	6.8	6.8	6.8	7.1	6.7	6.8	6.8	6.7
		4日	11.1	11.6	11.5	11.2	11.3	10.6	10.9	10.6
		7日	17.8	18.3	18.2	17.9	17.5	16.7	17.0	16.7
		14日	35.7	36.4	35.7	35.8	35.7	33.8	34.6	34.3
		21日	60.0	65.7	60.6	63.5	58.7	54.7	57.7	57.6
	雌	0日	6.4	6.4	6.4	6.6	6.5	6.4	6.5	6.3
		4日	10.6	11.0	10.9	10.7	10.6	10.3	10.6	10.2
		7日	16.9	17.5	17.5	17.0	16.5	16.2	16.2	15.9
		14日	34.2	35.0	34.5	34.4	34.3	33.0	32.9	32.9
		21日	56.7	61.4	57.8	59.0	56.2	53.0	53.9	54.7

注) 臓器重量は統計的に有意差の見られた臓器のみ記載した。

統計学的検定法 ; ANOVA、Bartlett 検定、Dunnnett 検定、T-検定、Dunn 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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

世 代			親 : P1				親 : F1b				親 : F1b				児 : F2b																				
投与量(ppm)			0				0.1				0.5				5																				
児 動 物	生 存 性	出産児数	215				237				304				264				285				296				249				265				
		出産児数/腹	13.4				12.4				13.2				12.6				13.0				13.5				11.9				13.3				
		生存児数 (%)	205 (95.3)				227 (95.8)				292 (96.1)				260 (98.5)				283 (99.3)				290 (98.0)				239 (96.0)				252 (95.1)				
		死産児数 (%)	10 (4.7)				10 (4.2)				12 (3.9)				4 (1.5)				2 (0.7)				6 (2.0)				10 (4.0)				13 (4.9)				
		食殺児数 (%)	0 (0)				0 (0)				0 (0)				2 (0.8)				0 (0)				0 (0)				0 (0)				0 (0)				
		生存率 (%)	0日	99				99				100				99				99				100				100				100			
	4日		95				96				99				93				95				97				97				98				
	7日		100				100				100				100				100				100				100				100				
	14日		100				100				100				100				100				100				100				100				
	21日		100				100				100				100				99				100				100				100				
	一般状態			投与に関連する変化は認められなかった。																															
	外表異常			投与に関連する異常は認められなかった。																															
	哺育時体重(g)	雄	0日	6.6				6.8				6.6				6.7				6.9				6.9				7.1				6.8			
			4日	11.2				11.3				11.2				10.8				11.0				11.1				12.2				11.2			
			7日	18.3				18.5				18.2				17.6				17.8				17.9				19.4				18.0			
14日			36.7				37.5				37.2				35.8				36.3				36.3				38.0				36.3				
21日			60.2				60.8				59.8				59.3				58.6				57.5				61.4				59.9				
雌		0日	6.4				6.5				6.3				6.3				6.4				6.4				6.7				6.5				
		4日	10.5				10.6				10.7				10.4				10.4				10.4				11.5				10.8				
		7日	17.2				17.6				17.6				17.0				16.9				16.9				18.2				17.4				
		14日	35.0				36.0				35.8				34.8				34.5				34.4				35.9				35.4				
		21日	56.5				57.8				57.1				56.7				54.9				54.4				56.6				56.8				
病理組織学的検査			検体投与に起因する変化は認められなかった。																																
臓器重量	副腎	雄	絶対重量(g)	0.017				0.019				0.020				0.021				0.022				0.018				0.020				0.020			
			対体重比(%)	0.025				0.029				0.032				0.033'				0.035				0.029				0.029				0.032			
			対脳重比(%)	1.065				1.209				1.252				1.344				1.372				1.102				1.230				1.214			

注) 臓器重量は統計学的に有意差の見られた臓器のみ記載した。

統計学的検定法 ; ANOVA、Bartlett 検定、Dunnett 検定、T-検定、Dunn 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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.9.2 ラットにおける催奇形性試験（資料No. T-4.2）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

試験動物： Sprague-Dawley系成熟ラット、各群交尾確認雌25匹

試験期間： 1985年2月25日（交配開始）～1985年3月26日（帝王切開）

方法： 検体をコーンオイルに懸濁し、0、2.0、6.0および18.0mg/kgを妊娠6～15日の10日間毎日1回強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを投与した。交配は雌雄を1：1で同居させ、翌朝、膣垢中に精子の認められた動物を試験に用いた。膣垢中に精子を確認した日を妊娠0日とした。

投与量設定根拠；予備試験結果に基づき設定した。試験は1群10匹の妊娠雌ラットを用い、検体を0、0.2、1.0、5.0および20.0mg/kgの用量で、妊娠6日～15日にかけて毎日経口投与した。その結果、20.0mg/kg投与群で2例が死亡し、自発運動量低下、振戦、腹部の汚れ、下痢、流涙、着色流涙および脱毛などの臨床症状が認められた。5.0mg/kg投与群では2例で腹部の汚れ、1例に着色流涙が認められた。その他の投与群では検体投与の影響は認められなかった。以上の結果より、本試験における最高投与量を18.0mg/kgに設定した。

試験項目および方法：

親動物； 一般症状および生死を毎日観察した。体重を妊娠0日、6～15日、20日に測定した。個体別摂餌量を毎週算出した。妊娠20日にCO₂を吸引させて屠殺し、子宮を摘出して母動物の肉眼的病理検査を行うとともに、着床部位、早期および後期吸収胚数、生存および死亡胎児数、黄体数を調べた。

胎児動物； 性別、体重および外表異常の観察を行った後、同腹児の約半数を骨格観察用に、残りの胎児を内臓観察用とした。内臓観察用胎児については、ブアン固定し、Wilson薄切法で観察した。骨格観察用胎児は融解して骨格標本作製し、骨格の異常ならびに化骨進行度の観察を行った。また、脊椎、胸椎、肋骨、仙骨および中足骨数を調べた。

結果； 試験結果を次表に要約する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与群(mg/kg/day)		0	2.0	6.0	18.0		
動物数		25	25	25	25		
親動物	一般症状	異常を認めず			1例に口腔分泌物、自発運動量低下、下痢、腹部の汚れ、着色流涙、振戦、1例に下痢	振戦、自発運動量低下、下痢、脱毛、発声、口腔分泌物、着色流涙、眼球突出、攣縮、流涙、	
	死亡動物数		0	0	0	0	
	妊娠動物数		23	25	25	25	
	体重(g)	妊娠 0日	240	243	240	243	
		妊娠 6日	270	271	267	273	
		妊娠15日	308	308	302	279 ↓	
		妊娠20日	382	383	379	356 ↓	
	摂餌量(g)	妊娠 0～6日	121	124	124	130 ↑	
		妊娠 6～15日(投与期間)	163	166	167	137 ↓	
		妊娠15～20日	119	122	124	109 ↓	
	着床所見	黄体数		15.7	16.5	15.8	16.7
		着床数		12.6	12.5	12.5	13.6
		産児数		12.0	11.8	12.1	13.1
		胎児生存率(%) (生産児数/着床数)		95.8	94.6	96.8	96.8
		胎児死亡率(%) (死産数/着床数)		0	0	0	0
		吸収胚	早期吸収率(%) (早期吸収胚/着床数)	3.8	5.1	3.2	2.4
			後期吸収率 (後期吸収胚/着床数)	0.3	0	0	0
全腹児死亡腹数		0	0	0	0		

統計学的検定法；Fisherの確率検定、Dunnett検定

↑ ↓ : p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与群(mg/kg/day)		0	2.0	6.0	18.0			
検査胎児数		277	295	302	328			
生存胎児数		277	295	302	328			
死亡胎児数		0	0	0	0			
胎児体重(g)		3.90	3.88	3.94	3.63 ↓			
性比(雄/総数)(%)		48.4	49.8	46.0	52.4			
検査胎児数		277	295	302	328			
胎 児 表	外 奇 形	無尾	胎児(%)	0(0)	0(0)	1(0.3)	0(0)	
			腹(%)	0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)	
		無眼症	胎児(%)	0(0)	0(0)	1(0.3)	0(0)	
			腹(%)	0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)	
		生殖突起閉鎖	胎児(%)	0(0)	0(0)	1(0.3)	0(0)	
			腹(%)	0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)	
	臍帯ヘルニア	胎児(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.3)		
		腹(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(4.0)		
	異 常	小眼球症	胎児(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.3)	
			腹(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(4.0)	
	内 臟	奇 形	無眼症	胎児(%)	0(0)	0(0)	1(0.7)	0(0)
				腹(%)	0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)
			生殖突起閉鎖	胎児(%)	0(0)	0(0)	1(0.7)	0(0)
				腹(%)	0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)
結腸閉鎖		胎児(%)	0(0)	0(0)	1(0.7)	0(0)		
		腹(%)	0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)		
臍帯ヘルニア		胎児(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.6)		
		腹(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(4.0)		
異 常		膀胱拡張	胎児(%)	0(0)	0(0)	1(0.7)	0(0)	
			腹(%)	0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)	
	腎盂拡張	胎児(%)	6(4.4)	9(6.2)	15(9.8)	10(6.0)		
		腹(%)	5(21.7)	7(28.0)	13(52.0)	4(16.0)		
	異所性腎	胎児(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.6)		
		腹(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(4.0)		
小眼球症	胎児(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.6)			
	腹(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(4.0)			
変 異	尿管拡張	胎児(%)	14(10.2)	17(11.7)	19(12.4)	26(15.7)		
		腹(%)	8(34.80)	10(40.0)	9(36.0)	12(48.0)		
	尿管蛇行	胎児(%)	23(16.8)	22(15.2)	21(13.7)	31(18.7)		
		腹(%)	14(60.9)	14(56.0)	13(52.0)	16(64.0)		

統計学的検定法 ; Fisherの確率検定、Dunnett検定

↑ ↓ : p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与群(mg/kg/day)		0	2.0	6.0	18.0	
胎 骨 異 常 変 異	検査胎児数	140	150	149	162	
	奇形	頸椎欠損	胎児(%) 0(0)	1(0.7)	0(0)	0(0)
		腹(%) 0(0)	1(4.0)	0(0)	0(0)	
	上顎骨二分	胎児(%) 0(0)	0(0)	1(0.7)	1(0.6)	
		腹(%) 0(0)	0(0)	1(4.0)	1(4.0)	
	肋骨癒合	胎児(%) 0(0)	1(0.7)	0(0)	1(0.6)	
		腹(%) 0(0)	1(4.0)	0(0)	1(4.0)	
	胸椎欠損	胎児(%) 0(0)	1(0.7)	0(0)	1(0.6)	
		腹(%) 0(0)	1(4.0)	0(0)	1(4.0)	
	胸椎横突起癒合	胎児(%) 0(0)	1(0.7)	0(0)	1(0.6)	
		腹(%) 0(0)	1(4.0)	0(0)	1(4.0)	
	脊柱湾曲	胎児(%) 0(0)	0(0)	1(0.7)	0(0)	
		腹(%) 0(0)	0(0)	1(4.0)	0(0)	
	胸骨柄部分化骨	胎児(%) 12(8.6)	10(6.7)	5(3.4)	12(7.4)	
		腹(%) 8(34.8)	8(32.0)	4(16.0)	11(44.0)	
	波状肋骨	胎児(%) 0(0)	4(2.7)	2(1.3)	4(2.5)	
		腹(%) 0(0)	3(12.0)	2(8.0)	3(12.0)	
	仙椎横突起部分化骨	胎児(%) 13(9.3)	24(16.0)	20(13.4)	23(14.2)	
		腹(%) 8(34.8)	10(40.0)	13(52.0)	11(44.0)	
	第3胸骨鋸齒状	胎児(%) 6(4.3)	3(2.0)	2(1.3)	8(16.2)	
		腹(%) 3(13.0)	3(12.0)	2(8.0)	4(16.0)	
	第4胸骨鋸齒状	胎児(%) 11(7.9)	6(4.0)	5(3.4)	5(3.1)	
		腹(%) 5(21.7)	5(20.0)	3(12.0)	5(20.0)	
	第5胸骨欠損	胎児(%) 8(5.7)	10(6.7)	6(4.0)	55(34.0) ↑↑	
		腹(%) 7(30.4)	8(32.0)	5(20.0)	19(76.0) ↑↑	
	胸椎中心分離	胎児(%) 5(3.6)	6(4.0)	9(6.0)	14(8.6)	
		腹(%) 3(13.0)	6(24.0)	8(32.0)	8(32.0)	
	剣状突起欠損	胎児(%) 1(0.7)	5(3.3)	9(6.0)	30(18.5) ↑↑	
		腹(%) 1(4.3)	4(16.0)	8(32.0) ↑	13(52.0) ↑↑	
	尾椎欠損(<4)	胎児(%) 34(24.3)	41(27.3)	29(19.5)	87(53.7) ↑↑	
腹(%) 14(60.9)		17(68.0)	16(64.0)	21(84.0)		
中手骨欠損(<8)	胎児(%) 3(2.1)	1(0.7)	6(4.0)	17(10.6) ↑		
	腹(%) 3(13.0)	1(4.0)	4(16.0)	9(36.0)		
第3胸骨部分化骨	胎児(%) 25(17.9)	29(19.3)	27(18.1)	51(31.5) ↑↑		
	腹(%) 12(52.2)	15(60.0)	15(60.0)	20(80.0) ↑		
第4胸骨部分化骨	胎児(%) 35(25.0)	62(41.3)	58(38.9)	99(61.1) ↑↑		
	腹(%) 18(78.3)	24(96.0)	23(92.0)	25(100) ↑		
後頭骨部分化骨	胎児(%) 2(1.4)	3(2.0)	8(5.4)	11(6.8) ↑		
	腹(%) 2(8.7)	3(12.0)	6(24.0)	7(28.0)		
胸椎中心部分化骨	胎児(%) 42(30.0)	27(18.0) ↓	52(34.9)	53(32.7)		
	腹(%) 19(82.6)	14(56.0)	21(84.0)	20(80.0)		

統計学的検定法 ; Fisherの確率検定、Dunnett検定
注) 骨格変異は有意差の認められた所見のみ記述

↑ ↓ : p<0.05、↑↑: p<0.01

親動物;いずれの投与群にも死亡は認められなかった。18mg/kg群では検体投与に起因する変化として、一般状態の変化として振戦、自発運動の低下、流涎などの症状が認められ、また、体重および体重増加量が有意に減少した。6mg/kg群でも一般状態の変化として振戦、自発運動の低下などの症状が認められたが、その程度は18mg/kg群よりも軽度であった。2mg/kg群では検体投与に起因する変化は認められなかった。

胎児;18mg/kg群では、胎児体重が有意に減少した。また、骨格検査において、第5胸骨欠損を有する腹数および胎児数、剣状突起欠損を有する腹数および胎児数、尾椎欠損を有する胎児数、中手骨欠損を有する胎児数、第3胸骨部分化骨を有する腹数および胎児数、第4胸骨部分化骨を有する腹数および胎児数および後頭骨部分化骨を有する胎児数が有意に増加した。6mg/kg群では、剣状突起欠損を有する腹数が有意に増加した。骨格検査で認められた変化は、いずれも検体投与に起因する化骨進行度の低下と考えられた。ただ、18mg/kg群では有意ではないが、平均胎児数の増加していることから、胎児体重の減少、化骨進行度の低下はそれに起因する可能性もある。6mg/kg群では腎盂拡張を有する腹数が有意に増加したが、18mg/kg群では増加が認められないことから、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。外表検査および内臓検査で6および18mg/kg群で奇形を有する胎児が観察されたが、いずれも単発的であり、用量との関連がみられないことから、検体投与に起因しない偶発的なものと考えられた。

以上の結果より、検体の親動物および胎児に対する無毒性量は2mg/kgと考えられた。また、最高投与群でも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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.9.3 ウサギにおける催奇形性試験 (資料No. T-4.3)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度 :

試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ、各群交尾確認雌20匹

試験期間 : 1984年4月15日 (交配開始) ~ 同年5月23日 (帝王切開)

方法 : 検体をコーンオイルに懸濁し、0、0.1、0.3および0.9mg/kgを妊娠7~19日の13日間毎日1回強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを投与した。交配は雌雄を1:1で同居させ、交尾を確認した雌を試験に用いた。交尾を確認した日を妊娠0日とした。

投与量設定根拠; 予備試験結果に基づき設定した。試験は1群8匹の妊娠ウサギを用い、検体を0、0.2、1.0、5.0および20.0mg/kgの用量で、妊娠7日~19日にかけて毎日経口投与した。その結果、20.0mg/kg投与群で全例が死亡し、5.0mg/kg投与群では3/8例が、1.0mg/kg投与群では2/8例が死亡した。0.20mg/kg投与群では毒性症状は認められなかった。以上の結果より、母動物に対する毒性を軽減し、死亡を回避するため本試験の最高投与量を0.9mg/kgに設定した。

試験項目および方法:

親動物 ; 一般症状および生死を毎日観察した。体重を妊娠0日、7~19日、21、28および29日に測定した。個体別摂餌量を毎週算出した。妊娠29日にCO₂またはエーテルを吸引させて屠殺し、子宮を摘出、母動物の肉眼的病理検査を行うとともに、着床部位、早期および後期吸収胚数、生存および死亡胎児数、黄体数を調べた。

胎児動物 ; 性別、体重および外表異常の観察を行った後、内臓検査を行った。全胎児について骨格標本作製し、骨格の異常ならびに化骨進行度の観察を行った。また、脊椎、胸椎、肋骨、仙骨、足根骨、中足骨および指節骨数を調べた。

結果 : 試験結果を次表に要約する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与群(mg/kg/day)		0	0.1	0.3	0.9	
動物数		20	20	20	20	
親動物	一般症状	妊娠3～6日： 流涙1例、 妊娠9～21日： ラッセル音1例、 妊娠29日： 死亡1例	妊娠9日：下痢1例	妊娠15日：死亡、 衰弱、呼吸困難、 及びラッセル音 1例、 妊娠16～19日： ラッセル音1例、 妊娠29日： 下痢1例	妊娠9日： 過敏症2例、 妊娠8～23日： 下痢4例、 妊娠15～20日： ラッセル音4例、 妊娠19日： 呼吸困難例、よろ めき歩行及び運 動失調1例、 妊娠23日： 衰弱1例、筋肉協 調性低下1例	
	妊娠動物数	20	20	20	20	
	死亡動物数	1	0	1	2	
	流産動物数	0	1	0	2	
	早産動物数	1	1	0	1	
	体重(kg)	妊娠 0日	3.99	4.10	3.99	4.04
		妊娠 7日	4.13	4.20	4.11	4.13
		妊娠14日	4.08	4.16	4.08	4.10
		妊娠19日	3.99	4.13	4.06	3.99
		妊娠21日	4.02	4.12	4.09	3.99
妊娠28日		4.10	4.15	4.11	4.04	
妊娠29日		4.09	4.15	4.10	4.04	
摂餌量(g)	妊娠 0～7日	1257.6	1245.2	1262.6	1263.5	
	妊娠 7～14日	786.9	792.9	828.6	817.9	
	妊娠14～21日	908.7	956.4	961.2	906.3	
	妊娠21～28日	896.1	800.3	862.1	820.6	
	妊娠14～21日	1281.5	1326.6	3521.6	1312.5	
	妊娠 7～19日(投与期間)	3445.7	3436.7	3521.6	3454.4	
着床所見	黄体数	10.2	10.8	9.5	9.3	
	着床数	8.9	9.4	9.0	8.9	
	産児数	8.1	8.5	8.1	7.7	
	胎児生存率(%) (生産児数/着床数)	86.3	90.0	89.5	85.1	
	胎児死亡率(%) (死産数/着床数)	3.7	0	0	0	
	吸収胚	早期吸収率(%) (早期吸収胚/着床数)	5.0	4.1	8.8	11.2
		後期吸収率 (後期吸収胚/着床数)	5.0	5.3	1.8	3.0
	吸収胚を有する腹数(%)	8(44.4)	8(44.4)	8(42.1)	6(40.0)	
	全吸収胚の腹数	0	0	0	0	

統計学的検定法；Fisherの確率検定またはDunnnett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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)			0	0.1	0.3	0.9
検査胎児数			145	153	153	115
生存胎児数			139	153	153	114
死亡胎児数			6	0	0	1
胎児体重 (g)			37.3	35.6	37.9	35.6
性比 (雄/総数) (%)			50.4	56.2	54.9	46.5
外 表	奇 形	検査胎児数	145	153	153	115
		外脳症	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	1(0.7) 1(5.3)	0(0) 0(0)
異 常	無眼瞼症	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	2(1.3) 1(5.3)	0(0) 0(0)	
		胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	1(0.7) 1(5.3)	0(0) 0(0)	
内 臓	奇 形	外脳症	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	1(0.7) 1(5.3)	0(0) 0(0)
		無眼瞼症	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	2(1.3) 1(5.3)	0(0) 0(0)
胎 骨 児 格 変 異	大 奇 形	頭頂骨異形	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	1(0.7) 1(5.3)	0(0) 0(0)
		頭頂間骨欠損	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	1(0.7) 1(5.3)	0(0) 0(0)
		後頭頂骨欠損	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	1(0.7) 1(5.3)	0(0) 0(0)
	小 奇 形	胸骨柄鋸歯状	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	3(2.6) 1(6.7)
		胸骨癒合	胎児 (%) 1(0.7) 腹 (%) 1(5.6)	1(0.7) 1(5.6)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)
		胸骨異形	胎児 (%) 5(3.4) 腹 (%) 5(27.8)	4(2.6) 3(16.7)	2(1.3) 2(10.5)	7(6.1) 2(13.3)
		胸骨鋸歯状	胎児 (%) 9(6.2) 腹 (%) 5(27.8)	9(5.9) 6(33.3)	10(6.5) 8(42.1)	8(7.0) 3(20.0)
		胸骨分離	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	2(1.3) 1(5.3)	1(0.9) 1(6.7)
		剣状突起分岐	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	2(1.7) 2(13.3)
	格 変 異	剣状突起鋸歯状	胎児 (%) 3(2.1) 腹 (%) 2(11.1)	2(1.3) 2(11.1)	0(0) 0(0)	2(1.7) 2(13.3)
		痕跡状過剰肋骨	胎児 (%) 8(5.5) 腹 (%) 5(27.8)	5(3.3) 4(22.2)	3(2.0) 3(15.8)	1(0.9) 1(6.7)
		第2胸骨欠損	胎児 (%) 0(0) 腹 (%) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	1(0.9) 1(6.7)
第2胸骨部分化骨		胎児 (%) 1(0.7) 腹 (%) 1(5.6)	6(3.9) 5(27.8)	5(3.3) 3(15.8)	0(0) 0(0)	
第5胸骨欠損		胎児 (%) 11(7.6) 腹 (%) 6(33.3)	17(11.1) 9(50.0)	17(11.1) 7(36.8)	2(1.7) 2(13.3)	
第5胸骨部分化骨		胎児 (%) 60(41.4) 腹 (%) 16(88.9)	61(39.9) 17(94.4)	71(46.4) 17(89.5)	39(33.9) 14(93.3)	
化骨遅延を有する胎児 および腹		胎児 (%) 3(2.1) 腹 (%) 2(11.1)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	2(1.7) 2(13.3)	

統計学的検定法 ; Fisherの確率検定またはDunnett検定

親動物; 対照群では1例が29日に死亡したが、死因は不明であった。また、同群では1例が29日に早産した。0.1mg/kg投与群では1例が22日に流産し、1例が28日に早産した。0.3mg/kg投与群では1例が15日に死亡した。0.9mg/kg投与群では20および23日にそれぞれ1例死亡した。また、同群では2例が27日に流産し、1例が28日に早産した。検体投与に起因する変化として一般状態に、0.3mg/kg投与群では死亡した1例では死亡直前に呼吸困難、ラッセル音および衰弱が認められ、その他の動物では16～19日にラッセル音が認められた。0.9mg/kg群では過敏症(2例)、ラッセル音(4例)、下痢(4例)、呼吸困難、よろめき歩行および運動失調(1例)、筋協調性低下および衰弱(1例)が認められた。体重変化および摂餌量に有意差は認められなかった。

胎児; 外表検査、内臓検査および骨格検査において検体投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果より、検体の親動物および胎児に対する無毒性量はそれぞれ0.1および0.9mg/kgと考えられた。また、最高投与群でも催奇形性は認められなかった。

(申請者注)

親動物について、0.1mg/kg投与群で妊娠9日に下痢が認められ、0.3mg/kg投与群では妊娠15日以降に衰弱、呼吸困難、下痢等が認められ、0.9mg/kg投与群では妊娠8日以降に下痢、呼吸困難、よろめき歩行、運動失調、筋肉協調性低下等が認められた。投与は妊娠7～19日に行われており、0.1及び0.3mg/kg投与群において投与初期には投与に関連した症状が報告されていない。従って、親動物における単回投与時の無毒性量は0.3mg/kgと推定される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10 変異原性

8.10.1 細菌を用いた復帰変異性試験 (資料No. T-5.1)

試験機関 :

報告書作成年 :

検体の純度 :

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌株 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA1538、TA98およびTA100を用い、Amesらの方法で、検体の復帰変異誘発性を調べた。

検体を、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、ラット肝臓から調製したS-9Mixの存在下では、0、12、60、300、600および1200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、非存在下では、0、3.4、17、85、170および340 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 濃度を使用菌株に処理し、48時間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。陽性対照として、2-ニトロフルオレン(2NF)、アジ化ナトリウム(SA)、9-アミノアクリジン(9AA)、2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。

用量設定根拠; TA100株を用いた予備毒性試験結果に基づき設定した。検体をDMSOに溶解し、S-9Mixの存在下および非存在下において、0、10、33、67、100、333、667、1000、3333、6667および10000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 濃度でTA100株に処理して培養後、菌に対する毒性を調べた。その結果、S-9Mixの存在下では1000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上で、S-9Mixの非存在下では300 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の濃度で菌に対する毒性が認められた。以上の結果に基づき、本試験の最高濃度を、S-9Mixの存在下では1200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、S-9Mixの非存在下では340 $\mu\text{g}/\text{plate}$ に設定した。

結 果 : 各菌株における復帰変異コロニー数を表1に示す。

表に示すように、代謝活性化の有無にかかわらず、検体処理プレートでは復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照物質を処理したプレートでは著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上より、本試験条件下における検体の変異原性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 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
溶媒対照 (DMSO)	0	-	119	23	29	8	17
検体	3.4		107	22	31	7	16
	17		104	21	35	6	10
	85		102	21	26*	5*	12
	170		100*	17*	23*	5*	13
	340		98*	15*	22*	5*	15
溶媒対照 (DMSO)	0	+	104	11	17	7	31
検体	12		114	11	19	7	22
	60		106	13	23	8	26
	300		102	11*	19	5	18*
	600		106*	8*	17*	6*	20*
	1200		84*	9**	19*	4**	14**
陽性 対照	2NF	-	/	/	729	/	1212
	SA		1587	1290	/	/	
	9AA	+	/	/	/	1124	/
	2AA		3578	263	3274	420	2874

注) *, ** ; 菌に対する毒性が認められた事を示す。

(表中の数値は3枚のプレートの平均値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.2 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. T-5.2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌株 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA1538、TA98およびTA100を用い、Amesらの方法で、検体の復帰変異誘発性を調べた。

検体を、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、ラット肝臓から調製したS-9Mixの存在下および非存在下において、0、8、40、200、600および900 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 濃度を使用菌株に処理し、48時間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。陽性対照として、2-ニトロフルオレン(2NF)、アジ化ナトリウム(SA)、9-アミノアクリジン(9AA)、2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。

用量設定根拠；TA100株を用いた予備毒性試験結果に基づき設定した。検体をDMSOに溶解し、S-9Mixの存在下および非存在下において、0、10、33、67、100、333、667、1000、3333、6667および10000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 濃度でTA100株に処理し、菌に対する毒性を調べた。その結果、S-9Mixの存在下および非存在下いずれにおいても、1000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の濃度で菌に対して強い毒性が認められた。以上の結果に基づき、本試験の最高濃度を、代謝活性化を行う場合および行わない場合のいずれも最高処理を1000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ に設定した。

結果：各菌株における復帰変異コロニー数を表1に示す。

表1に示すように、TA1537株以外、代謝活性化の有無にかかわらず、検体処理プレートでは復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照物質を処理したプレートでは著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。TA1537株では、代謝活性化を行った場合、40 $\mu\text{g}/\text{plate}$ のみで対照の2.5倍の復帰変異コロニー数が認められ、200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上では対照群の復帰変異コロニー数と同程度であった。このため、TA1537株を用い、確認試験を実施した。確認試験の結果を表2に示す。表に示すように、検体にいずれの処理濃度でも対照群と比べ、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上より、本試験条件下における検体の変異原性は陰性と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1 本試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 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	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	80	17	13	4	11	
検体	8		74	16	15	2	5	
	40		76	14	12	5	8	
	200		76	12	13	4	8	
	600		57*	7*	11*	4*	11*	
	900		40*	3*	8*	3*	6*	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	88	12	21	4	14	
検体	8		97	11	24	4	14	
	40		85	12	24	10	14	
	200		90	7	21	8	9	
	600		60*	11	17	4	8	
	900		47*	11*	9*	3*	9*	
陽性 対 照	2NF	5.0	-			748		1116
	SA	5.0		685	835			
	9AA	75					271	
	2AA	4.0		+	1234	176	1388	167

注) * ; 菌に対する毒性が認められた事を示す。

(表中の数値は3枚のプレートの平均値)

表2 再試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 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	
			TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	9	
検体	8		10	
	40		10	
	200		11	
	600		6	
	900		6*	
陽性対照	9AA	75	-	525
	2AA	4	+	310

注) * ; 菌に対する毒性が認められた事を示す。(表中の数値は3枚のプレートの平均値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.3 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. T-5.3)

試験機関：

報告書作成年：

[GLP対応]

検体の純度：

方法：トリプトファン要求性の大腸菌(*Escherichia coli*) WP2 *uvrA*株を用い、Amesらの方法で、検体の復帰変異誘発性を調べた。

検体を、ジメチルスルホオキシド(DMSO)に溶解し、ラット肝臓から調製したS-9Mixの存在下では、0、20、39、78、156および313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、非存在下では、0、313、625、1250、2500および5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 濃度を使用菌株にプレインキュベーション法により処理した。処理後48時間培養し、復帰変異コロニー数を計数した。陽性対照として、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(AF-2)、2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。

用量設定根拠；予備毒性試験結果に基づき設定した。検体をDMSOに溶解し、S-9Mixの存在下および非存在下において、0、20、78、313、1250および5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 濃度でWP2 *uvrA*株にプレインキュベーション法にて処理した。処理後48時間培養し、復帰変異コロニー数を計数した。その結果、S-9Mixの存在下では313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上で、S-9Mixの非存在下では2500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の濃度で菌に対する生育阻害が認められた。以上の結果に基づき、本試験の最高濃度を、S-9Mixの存在下では313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、S-9Mixの非存在下では5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ に設定した。

結果：復帰変異コロニー数を次表に示す。

表に示すように、代謝活性化の有無にかかわらず、検体処理プレートでは復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照物質を処理したプレートでは著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上より、本試験条件下における検体の変異原性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート	
		塩基置換型	
		-S9 Mix	+S9 Mix
溶媒対照 (DMSO)	0	22	30
検体	20	/	23
	39		23
	78		25
	156		24
	313	29	13*
	625	16	/
	1250	20	
	2500	20*	
	5000	11*	
陽性対照	AF-2	0.01	99
	2AA	10	413

注) * ; 菌に対する毒性が認められた事を示す。(表中の数値は2枚のプレートの平均値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.4 チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO 細胞)を用いた前進性突然変異試験

(資料 No. T-5. 4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

方法：チャイニーズハムスター卵巣由来の株細胞 CHO 細胞を用い、ラット肝臓より調製した S-9Mix の存在下および非存在下で検体を処理し、6-チオグアニン(6TG)耐性細胞の出現頻度を指標とする HGPRT 遺伝子座の前進性突然変異を調べた。

検体の処理濃度は代謝活性化を行わない場合、0、80、85、90、95 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、行う場合、0、110、120、130、140 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を用いた。検体の溶媒としてジメチルスルホオキシド(DMSO)を用いた。S-9Mix の存在下および非存在下で、細胞に処理し、処理 5 時間後に検体を除き新しい培地を加えてさらに、18-19 時間培養した。なお、各濃度あたり 2 つのシャーレを用いた。培養後、細胞をシャーレより剥離し、さらに、7-10 日間、突然変異発現のため培養した。また、一部の細胞を用い、細胞の生存率を調べた。突然変異発現時間終了後、変異細胞を選別するため、10 μM の 6TG を添加した培地中で培養後、コロニー数を計数した。また、同時に一部の細胞を用いてコロニー形成率も調べた。

陽性対照としてエチルメタンサルホネート (EMS) およびベンゾ(a)ピレン(BaP)を用いた。結果の判定は溶媒対照群と比べ 2 倍以上の 6TG 耐性細胞が出現し、かつ、用量に依存して増加が認められた場合陽性と判定した。

投与量設定根拠：予備細胞毒性試験結果に基づき設定した。試験は S-9Mix の存在下および非存在下で細胞に検体を 0、10、25、50、75、100、125、150、175 および 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で 5 時間処理し、コロニー形成率を調べた。その結果、S-9Mix の非存在下では 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で、S-9Mix の存在下では 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で強い細胞毒性が観察された。以上より、本試験における最高処理濃度は、代謝活性化を行わない場合は 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、行う場合は 110 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に設定した。

結果：試験結果を次表に示す。

代謝活性化を行わなかった場合、85 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理群のみで、6TG 耐性の突然変異頻度が溶媒対照群と比べ、2 倍に増加した。しかしながら、90 および 95 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理群の突然変異頻度は溶媒対照群と同程度もしくはそれ以下であり、用量との関連は認められなかった。したがって、検体の突然変異誘発性については、不明確であった。代謝活性化を行った場合、いずれの検体処理群でも、溶媒対照群に対する相対生存率は 40%未満であった。試験の有効性基準は 1 つ以上の検体処理群で溶媒対照群に対する相対生存率濃度が 40%以上であることを要求していることから、代謝活性化を行った場合の試験結果は無効であった。なお、陽性対照群では明らかな突然変異頻度の増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

以上より、本試験条件下における検体の変異原性は代謝活性化非存在下の場合は、不明確であった。代謝活性化を行った場合、試験の有効性基準を満たさないので無効であった。

処 理	S-9mix の有無	処理濃度 (nl/ml)	変異細胞数/ 10 ⁶ cells	コロニー形成率 (%)	相対細胞 毒性 ¹⁾ (%)
無処理	—	—	<2.2	45	118
溶媒対照 (DMSO)		—	17.3	52	100
検 体		80	10.3	55	87
		85	34.6	80	96
		90	18.7	78	86
		95	7.3	68	57
陽性対照 (EMS)		0.2	560.7	56	87
無処理	+	—	21.2	52	83
溶媒対照 (DMSO)		—	3.5	72	100
検 体		110	2.1	48	16
		120	9.1	44	8
		130	15.6	64	6
		140	<1.8	55	<2
陽性対照 (BaP)		2	29.1	86	105

1) 相対細胞毒性；薬剤処理終了時における溶媒対照群に対する相対生存率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.5 チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO細胞)を用いた前進性突然変異試験

(資料 No. T-5.5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

方法：チャイニーズハムスター卵巣由来の株細胞 CHO 細胞を用い、ラット肝臓より調製した S-9Mix の存在下および非存在下で検体を処理し、6-チオグアニン(6TG)耐性細胞の出現頻度を指標とする HGPRT 遺伝子座の前進性突然変異を調べた。

検体の処理濃度は代謝活性化を行わない場合、0、2.50、5.00、7.50、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0、75.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、行った場合、0、5.00、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0、75.0、100、125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を用いた。検体の溶媒としてジメチルスルホキシド(DMSO)を用いた。S-9Mix の存在下および非存在下で、細胞に処理し、処理 5 時間後に検体を除き新しい培地を加えてさらに、19 時間培養した。なお、各濃度あたり 2 つのフラスコを準備した。培養後、細胞をフラスコより剥離し、さらに、7 日間、突然変異発現のため培養した。また、一部の細胞を用い、細胞の生存率を調べた。突然変異発現時間終了後、変異細胞を選別するため、12.50 μM の 6TG を添加した培地中で培養後、コロニー数を計数した。また、同時に一部の細胞を用いてコロニー形成率も調べた。

陽性対照としてエチルメタンサルホネート (EMS) およびジメチルニトロソアミン(DMN)を用いた。結果の判定は 10^6 個の細胞あたり 50 個以上の 6TG 耐性細胞が出現し、かつ、用量に依存して増加が認められた場合陽性と判定した。

投与量設定根拠；予備細胞毒性試験結果に基づき設定した。試験は S-9Mix の存在下および非存在下で細胞に検体を 0、0.167、0.5、1.67、5、16.7、50、167、500、1670 および 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で処理した。処理 5 時間後に検体を除き、さらに約 19 時間培養後、コロニー形成率を調べた。その結果、S-9Mix の非存在下では 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で、S-9Mix の存在下では 167 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上でほとんどの細胞が生存していなかった。以上より、本試験における最高処理濃度は、代謝活性化を行わない場合は 75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、行う場合は 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に設定した。

結果：表 1 に代謝活性化を行わない場合の結果を、表 2 に代謝活性化を行った場合の結果について示す。表に示すように、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの検体処理濃度でも変異細胞の出現率の増加は認められなかった。一方、陽性対照群では変異細胞の出現率の著明な増加が認められた。

なお、代謝活性化を行わない場合、75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では高い細胞毒性が認められたため、データから除外した。

以上より、本試験条件下における検体の変異原性は陰性と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 1. 代謝活性化を行わない場合

処 理	S-9mix の 有無	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	プレート	変異細胞数/ 10^6cells	細胞毒性 ¹⁾ (%)
無処理	—	—	1	1.0	91.9
			2	13.2	108.1
溶媒対照 (DMSO)		—	1	12.1	121.5
			2	12.5	113.1
検 体		2.5	1	3.4	107.6
			2	3.9	90.3
		5.0	1	4.8	121.7
			2	4.9	110.2
		7.5	1	2.4	102.9
			2	10.6	82.2
		10	1	3.2	119.2
			2	2.2	115.6
		20	1	2.2	122.5
			2	15.5	85.9
	30	1	<1.2	84.4	
		2	2.5	75.9	
	40	1	2.2	103.4	
		2	2.3	116.6	
	50	1	<1.0	81.4	
		2	2.2	91.2	
	75	1	細胞毒性	—	
		2	細胞毒性	—	
陽性対照 (EMS)	200	1	274.1	80.0	
		2	372.3	83.4	

1) 細胞毒性；薬剤処理終了時における相対生存率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表2. 代謝活性化を行った場合

処 理	S-9mix の 有無	処理濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	プレート	変異細胞数/ 10^6cells	細胞毒性 ¹⁾ (%)
無処理	+	—	1	4.0	121.5
			2	20.9	113.1
溶媒対照 (DMSO)		—	1	9.5	107.6
			2	2.9	94.4
検 体		5	1	<1.0	117.3
			2	1.0	92.4
		10	1	1.0	75.4
			2	5.7	110.5
		20	1	8.1	136.4
			2	4.6	137.6
		30	1	2.3	170.7
			2	4.8	151.2
		40	1	1.0	126.8
			2	1.2	112.2
	50	1	5.6	111.9	
		2	1.4	133.1	
	75	1	11.2	91.9	
		2	16.6	89.5	
	100	1	1.1	46.8	
		2	2.1	41.4	
125	1	13.9	28.6		
	2	2.2	17.1		
陽性対照 (DMN)	200	1	382	29.8	
		2	793	42.2	

1) 細胞毒性；薬剤処理終了時における相対生存率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.6 チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO細胞)を用いた染色体異常試験 (資料No. T-5.6)

試験機関 :

報告書作成年 :

検体の純度 :

方 法 : チャイニーズハムスター卵巣由来の株細胞であるCHO細胞を用い、ラット肝細胞より調製したS-9Mixの存在下および非存在下で検体を処理して、検体の染色体異常誘発性を調べた。検体の溶媒としてジメチルスルホオキシド(DMSO)を用いた。代謝活性化を行う場合および行わない場合のいずれも、6.25、12.5、25、50および75nl/mlの濃度で検体を細胞に処理した。処理は代謝活性化を行う場合、S-9Mixの存在下で2時間処理後、検体を除き、さらに14時間培養した。代謝活性化を行わない場合、16時間連続処理した。処理後、染色体標本を作製し、観察が可能な上位4濃度について染色体の異常を観察した。なお、濃度あたり2個の培細胞養フラスコを用い、無処理対照群および溶媒対照群も設けた。また、染色体異常試験と並行して、染色体異常試験と同濃度で細胞毒性試験を実施した。陽性対照としてトリエチレンメラミン(TEM)およびシクロフォスファミド(CP)を用いた。

用量設定根拠 ; 細胞毒性試験結果に基づき設定した。試験は最初、プラスチック製容器を用いて行ったが、検体がプラスチックと反応したため、別途ガラス製容器を用いて試験を行った。試験は代謝活性化を行わない場合、細胞に0、6.25、12.5、25、50、100、200および400nl/mlの濃度で検体を16時間処理した。代謝活性化を行う場合、0、12.5、25、50、100、200および400nl/mlの濃度で検体を2時間処理後、検体を除き、さらに、14時間培養した。処理後、生存細胞数を測定し、溶媒対照群との相対細胞生存率(%)を算出した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、200nl/ml以上の濃度では細胞が死滅し、100nl/mlでは50%以上の細胞増殖抑制が認められた。以上より本試験での最高処理量を75nl/mlに設定した。

結 果 : 結果を次表に示す。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの濃度でも染色体異常を有する細胞数の増加は認められなかった。一方、陽性対照を処理した細胞では染色体構造異常を有する細胞が明らかに増加した。

以上の結果より、検体の染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

薬物	濃度 ¹⁾ (nl/ml)	処理後 時間 ²⁾	観察 細胞数	S-9 Mix の有無	染色体異常数								構造異常 細胞出現 率 (%) ⁶⁾	細胞 当たりの 異常数	相対細胞 生存率 (%)
					ギャップ ⁶⁾	染色分体型 ³⁾		染色体型 ⁴⁾			著しい 細胞 損傷 ⁵⁾				
						切断	交換	切断	二動 原体	環状		核内 倍化			
無処理対照	—	16	100	—	1	0	0	0	2	0	0	0	2.0	0.02	100
溶媒対照 (DMSO)	—				1	0	0	0	2	0	0	0	2.0	0.02	100
検体	12.5 (13.1)				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
	25 (26.3)				0	0	0	0	3	0	0	0	3.0	0.03	92
	50 (52.5)				1	1	0	0	4	0	0	0	5.0	0.05	68
75 (78.8)	0				0	0	0	2	0	0	0	2.0	0.02	46	
陽性対照 (TEM)	1µg/ml				2	33	52	38	5	3	0	11	72.0	1.51	69
無処理対照	—	2-14	100	+	0	0	0	1	1	0	0	0	2.0	0.02	100
溶媒対照 (DMSO)	—				0	0	0	1	1	0	0	0	2.0	0.02	100
検体	12.5 (13.1)				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	87
	25 (26.3)				1	0	1	0	1	0	0	0	2.0	0.02	96
	50 (52.5)				0	0	0	1	0	0	1	0	2.0	0.02	82
75 (78.8)	1				1	0	0	0	1	2	0	4.0	0.04	78	
陽性対照 (CP)	50µg/ml				2	16	57	53	2	8	0	2	69.2	1.56	63

- 1) ()内は申請者の検体の比重 1.05 より算出したµg/ml 濃度。
- 2) S-9Mix 存在下で 2 時間検体を処理後、さらに 14 時間培養した。
- 3) 染色分体型切断は、染色分体および同位染色分体の切断、断片化を含む。染色分体型交換は四放射状、三放射状、複雑型再結合を含む。
- 4) 染色体型切断は、切断、染色体断片を含む。
- 5) 著しい細胞損傷は、1 本以上の細粉化染色体を持つ細胞、10 個以上の異常を持つ細胞を含む。
- 6) ギャップのみの細胞は除く。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.7 ラットを用いた染色体異常試験 (資料 No.T-5.7)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度:

供試動物: Sprague Dawley CD(Charles River UK)系ラット (雄 75日齢、体重 262-384g、雌 83日齢、体重 172-227g)

1群雌雄各5匹

試験方法: 検体をコーン油に懸濁し、雄雌ともに 68.3mg/kg の投与レベルで 1回強制経口投与した。なお、対照群はコーン油を同様に投与した。検体及び媒体投与ラットは投与 6, 24 ならびに 48 時間後に屠殺した。屠殺 1 時間前にコルヒチンを動物の腹腔内に投与し、動物を屠殺後大腿骨より骨髓細胞を採取し染色体標本を作製した。陽性対照群にはシクロホスファミドの 40 mg/kg を 1 回投与し 24 時間後に動物を屠殺して染色体標本を作製した。標本はギムザ液で染色し、可能な限り各動物当り 100 個の分裂中期細胞を顕微鏡下で観察した。分裂指数は各動物あたり 500 細胞について検査した。

用量設定根拠: 1群雄雌夫々5匹のラットに 12, 16.8, 23.5, 32.9, 46.1, 64.5, 90.4 及び 126.5 mg/kg の投与レベルで 1回強制経口投与した結果、雄は 90.4mg/kg 以上、雌は 46.1mg/kg 以上で死亡が認められ、投与 2 日後の LD₅₀ 値は 85.4mg/kg (雄+雌) であった。従って染色体異常試験の用量は雄雌ともに LD₅₀ 値の 80%相当量である 68.3mg/kg を設定した。

試験結果: 骨髓細胞標本の観察結果を次頁の表に示した。

雌の検体投与 48 時間後群の 2 例が死亡したため追加投与した動物から骨髓細胞標本を作製した。雄はいずれの投与群にも死亡動物はなかった。検体投与群の異常細胞出現頻度は雌雄ともにいずれの標本作製時間においても溶媒対照群と同様であり、統計学的に有意差は認められなかった。陽性対照であるシクロホスファミドでは、異常細胞出現頻度が雌雄ともに溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した。

以上の結果から本試験条件下において、検体のラットの骨髓細胞に対する染色体異常誘発性は陰性と判断される。

表 ラットの骨髄細胞染色体異常試験結果

屠殺時間	処理群	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	合計観察細胞数	分裂頻度	異常の種類					総異常細胞数			異常細胞出現頻度(%)			
							染色体			染色分体		その他	ギャップを含む	構造異常 + 数的異常	構造異常	ギャップを含む	構造異常 + 数的異常	構造異常
							ギャップ	欠失	交換	欠失	交換							
6	コーン油	0	雄	5	472	0.68	7	1	0	6	0	7	21	14	7	3.8	2.8	1.5
			雌	5	386	0.60	5	0	0	1	0	3	9	4	1	2.3	1	0.3
			雄+雌	10	858	0.64	12	1	0	7	0	10	30	18	8	3.1	2	0.9
	検体	68.3	雄	5	500	0.44	4	0	0	4	0	4	12	8	4	2.4	1.6	0.8
			雌	5	386	0.36	10	0	0	1	0	4	14	4	1	3.6	1	0.3
			雄+雌	10	886	0.40	14	0	0	5	0	7	26	12	5	2.9	1.4	0.6
24	コーン油	0	雄	5	462	0.64	5	0	0	1	0	9	15	10	1	3.2	2.2	0.2
			雌	5	500	1.48	5	2	0	4	0	3	14	9	6	2.4	1.6	1
			雄+雌	10	962	1.06	10	2	0	5	0	12	29	19	7	2.8	1.9	0.6
	検体	68.3	雄	5	482	1.52	1	1	0	3	0	9	14	13	4	2.8	2.6	0.8
			雌	5	432	0.96	3	1	0	3	0	7	14	11	4	2.8	2.2	0.8
			雄+雌	10	913	1.24	4	2	0	6	0	16	28	24	8	2.8	2.4	0.8
48	コーン油	0	雄	5	494	0.56	6	0	0	3	0	4	13	7	3	2.4	1.4	0.6
			雌	5	405	1.00	3	2	0	4	0	7	16	13	6	3.7	3.2	1.5
			雄+雌	10	899	0.78	9	2	0	7	0	11	29	20	9	3	2.2	1
	検体	68.3	雄	5	500	1.40	7	1	0	3	1	2	14	7	5	2.8	1.4	1
			雌	5	500	1.16	5	0	0	3	0	5	13	8	3	2.4	1.6	0.6
			雄+雌	10	1000	1.28	12	1	0	6	1	7	27	15	8	2.6	1.5	0.8
24	CPA	40	雄	5	482	---	61	35	4	289	90	90	569	508	501	55	52	51
			雌	5	432	---	76	34	0	253	82	76	521	445	437	55	52	51
			雄+雌	10	914	---	137	69	4	542	172	166	1090**	953**	938**	55	52	51

CPA : Cyclophosphamide

** : p<0.001 (カイ二乗検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシーケミカル株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.8 ラット肝細胞を用いた不定期DNA合成試験（資料No. T-5.8）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

試験動物： Sprague-Dawley系成熟雄ラット

方法： 雄ラットより調製した初代培養肝細胞を用いた不定期DNA合成試験を行い、検体の遺伝子損傷性を調べた。Williamsらの方法に基づき、摘出した肝臓からコラゲナーゼ処理により、肝細胞を集め、カバーガラスを入れた試験管内で培養した。培養開始後2時間に、 $10\mu\text{Ci/ml}$ の H^3 -チミジンを含む培地と交換した。次に検体をエタノールに溶解して、10、20、25、30、40および45 n1/ml濃度で処理し、18時間培養した。培養後、細胞を洗浄し、細胞をエタノール-氷酢酸溶液で固定後、オートラジオグラフィ用の感光乳剤をコーティングして、6日間冷蔵庫中で感光し、現像した。次に、細胞をヘマトキシリン-エオジン溶液で染色した。染色した標本は、標本当たり25個の細胞について、核および細胞質上の粒子数を測定した。核の正味粒子数は、核粒子数から細胞質の粒子数を差し引いて算出した。また、UDS試験と並行して、各濃度当たり3つの細胞培養を準備し、細胞毒性試験を実施した。細胞毒性試験はUDS試験と同様の処理を行い、処理後、トリパンプルー染色にて生存細胞数を測定した。また、陽性対照として、2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF)を用いた。結果の評価は核上の正味粒子数が対照と比べ、5倍以上増加した場合を陽性とした。

投与量設定根拠；予備毒性試験結果に基づき設定した。試験は本試験と同様の方法で調製した初代培養ラット肝細胞に、検体をエタノールに溶解して0.05、0.1、0.5、1、5、10、50、100、500および1000 n1/ml濃度で18時間処理した。処理後、トリパンプルー染色にて生存細胞数を測定した。その結果、50および100 n1/mlでそれぞれ36.89および100%の相対細胞毒性が観察されたため、本試験における最高処理濃度を70 n1/mlに設定した。しかしながら、最初に行った、本試験では高濃度処理群で強い細胞毒性が認められたため、再度、本試験は10、20、25、30、40および45 n1/mlの濃度で実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

結 果 : 次表に示す

処 理	濃度 ¹⁾ (nl/ml)	観察 細胞数	粒子数/核 (平均値±SD)	相対細胞毒性 (%)
対照(DMSO)	—	75	-0.3±2.1	100
検 体	10 (11)	75	0.7±2.8	84.82
	20 (21)	75	0.5±2.3	66.07
	25 (26)	75	0.2±2.7	41.07
	30 (32)	75	0.3±2.1	47.32
	40 (42)		NT ²⁾	7.14
	45 (47)		NT ²⁾	0
陽性対照(2-AAF) (µg/ml)	2	75	19.8±4.7	20.21
	20	75	26.7±7.0	13.83

1) ()内は申請者が検体の比重1.05より算出したµg/ml濃度

2) NT; 強細胞毒性が認められたため測定せず

検体処理細胞では正味核内粒子数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照物質処理細胞ではの正味核内粒子数の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体の不定期DNA合成誘発性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.10.9 マウス胎仔細胞 BALB/3T3 を用いた形質転換試験 (資料 No. T-5.9)

試験機関 :

[G L P 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 :

方法 : マウス胎仔由来の BALB/3T3 のクローン A31-1 細胞株を用い、ラット肝臓より調製した S-9Mix の存在下および非存在下で検体の形質転換誘発性を調べた。

初回試験では検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、代謝活性化を行わない場合には 0、0.01、0.03、0.05 および 0.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で、代謝活性化を行う場合には 0、0.06、0.07、0.08 および 0.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で処理し、2 時間振とう培養した。培養後検体を除き、 10^4 細胞/60mm プレーットの細胞密度で 12-15 枚のプレートに播種して 4-6 週間培養後、形質転換細胞巣 (フォーカス) を計数した。また、検体処理後、一部の細胞を用い、250 細胞/60mm プレートで細胞を播種し、7-10 日間培養後にコロニー数を計数して細胞毒性を評価した。陽性対照物質として、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) およびベンゾ (a) ピレン (BaP) を用いた。

初回試験で代謝活性化を行った場合、フォーカス数の有意な増加が認められたため、確認試験として、初回試験と同様の方法で、代謝活性化系の存在下において検体を 0、0.06、0.07、0.08 および 0.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で処理し、フォーカスおよび細胞毒性を調べた。

フォーカスは Reznikoff らの基準に従い、タイプ II およびタイプ III に分類して記録し、タイプ II および III のフォーカス出現頻度を統計学的 (改変ポアソン分布) に検定した。なお、本試験に用いた用量は予備細胞毒性試験結果に基づき設定した。

結果 : 初回試験結果を表 1 に、確認試験結果を表 2 に示す。

表 1 に示すように、初回試験では代謝活性化を行った場合、0.07 および 0.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度においてタイプ III のフォーカス出現頻度が有意に増加した。表 2 に示すように、確認試験では 0.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度においてタイプ III のフォーカス出現頻度が有意に増加した。

陽性対照では初回試験および確認試験のいずれでもタイプ III のフォーカス出現頻度が有意に増加した。

以上より、本試験条件下において、検体は代謝活性化を行った場合、BALB/3T3 細胞に形質転換誘発性を有すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 1. 初回試験

処 理	S-9mix 有無	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	総フォーカス数/総プレート		形質転換頻度 ($\times 10^{-4}$)	相対細胞毒性 (%)
			タイプ II	タイプ III		
溶媒対照 (DMSO)	—	—	1/14	1/14	0.15	100
検 体		0.01	2/14	6/14	1.05	87.2
		0.03	1/15	3/15	0.50	85.1
		0.05	1/14	2/14	0.40	76.6
		0.07	1/14	2/14	0.38	80.9
陽性対照 (MNNG)	0.5	7/14	11/14	2.71 $\uparrow\uparrow$	61.7	
溶媒対照 (DMSO)	+	—	0/14	1/14	0.17	100
検 体		0.06	0/13	1/13	0.18	97.7
		0.07	5/13	8/13	2.05 $\uparrow\uparrow$	69.8
		0.08	2/15	2/15	0.53	58.1
		0.09	4/15	8/15	5.33 $\uparrow\uparrow$	23.3
陽性対照 (BaP)		4/14	10/14	3.57 $\uparrow\uparrow$	46.5	

統計学的検定法；改変ポアソン分布 $\uparrow\uparrow\uparrow$; $p < 0.01$

表 2. 確認試験

処 理	S-9mix 有無	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	総フォーカス数/総プレート		形質転換頻度 ($\times 10^{-4}$)	相対細胞毒性 (%)
			タイプ II	タイプ III		
溶媒対照 (DMSO)	+	—	0/14	1/14	< 0.15	100
検 体		0.06	2/14	0/14	< 0.16	91.5
		0.07	0/15	1/15	0.52	87.2
		0.08	0/14	3/14	0.70 \uparrow	80.9
		0.09	3/14	1/14	0.19	80.9
陽性対照 (BaP)		4/14	10/14	3.57 $\uparrow\uparrow$	27.7	

統計学的検定法；改変ポアソン分布 \uparrow ; $p < 0.5$, $\uparrow\uparrow\uparrow$; $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.11 生体機能影響

8.11.1 生体の機能に及ぼす影響(資料No.T-6.1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

1. 一般状態および行動に及ぼす影響

使用動物：ICR系(Crj;CD-1)マウス 5週齢 1群雌雄各5匹

体重範囲；雄25.9-31.2g、雌19.5-22.7g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、6.7、20および60mg/kgの用量で強制経口投与した。

一般症状を投与前、投与後30分、1、2、4および24時間に、Irwinの多次元観察法に準じて観察した。なお、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：次表に示す。

投与量 (mg/kg)	結 果
6.7	影響なし
20	雄では、投与30分後に1/5例で皮膚蒼白、投与4時間後に2/5例で下痢が認められた。雌では、投与30分から4時間後にかけて3/5例で立毛、投与1時間後に1/5例に自発運動の低下、投与1から4時間後にかけて1/5例によるめき歩行、投与2時間後に躯体の弛緩が認められた。
60	雄では、投与投与30分あるいは1時間から4時間にかけて、全例に群居性の低下、自発運動の低下、よろめき歩行、腹這い姿勢が、4/5例で下痢、体温低下、皮膚蒼白が認められ、3/5例でwrithing反応、立毛、握力低下、2/5例で震せん、1/5例で躯体の弛緩、四肢の弛緩、流涎が認められ、1例では24時間でも症状が認められた。雌では、投与30分あるいは1時間から4時間に全例で自発運動の低下、立毛、よろめき歩行、四肢の弛緩が、4/5例で writhing反応、下痢、握力低下、体温低下、皮膚蒼白が認められた。投与30分から1時間にかけて3/5例で群居性の低下が認められた。投与4時間から24時間に1/5例が死亡した。

2. 中枢神経系に及ぼす影響

①自発運動に及ぼす影響

使用動物：ICR系(Crj;CD-1)マウス 5週齢 1群雄5匹 体重範囲；24.8-29.4g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、6.7、20および60mg/kgの用量で強制経口投与した。投与前、投与後30分、1、2、4および24時間に運動量測定装置(Animex MK-110、室町機械)を用いて10分間測定した。なお、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：次表に示す。

投与量 (mg/kg)	結 果
6.7	影響なし
20	影響なし
60	投与後30分から4時間にかけて自発運動量が有意に低下した。投与後24時間までに3/5例が死亡した。生存の2例のうち1例は自発運動量が低下した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

②睡眠時間に対する作用

使用動物：ICR系(Crj;CD-1)マウス 5週齢 1群雄5匹 体重範囲；雄27.0-31.5g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、6.7、20および60mg/kgの用量で強制経口投与した。投与後1時間に、ヘキソバルビタール 80mg/kgを腹腔内投与し、正向反射を指標に睡眠時間を測定した。なお、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：睡眠時間の延長傾向を示した。

③鎮痛作用

使用動物：ICR系(Crj;CD-1)マウス 5週齢 1群雄5匹 体重範囲；24.8-29.4g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、6.7、20および60mg/kgの用量で強制経口投与した。投与後2時間に0.6%酢酸水溶液を0.1mL/10g体重の用量で腹腔内投与し、酢酸溶液投与後20分間writhing回数を測定した。なお、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：検体20および60mg/kg投与群では対照群と比べ、writhing回数の有意な増加が認められた。

④体温に及ぼす影響

使用動物：SD系(Crj;CD)ラット 6週齢 1群雄5匹 体重範囲；205-229g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、3、10および30mg/kgの用量で強制経口投与した。投与前、投与後30分、1、2および4時間に直腸温を測定した。なお、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：いずれの検体投与群でも影響は認められなかった。

3. 骨格筋系に及ぼす影響

①懸垂試験

使用動物：ICR系(Crj;CD-1)マウス 5週齢 1群雄5匹 体重範囲；24.6-28.4g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、6.7、20および60mg/kgの用量で強制経口投与した。投与前、投与後30分、1、2、4および24時間に動物を針金に懸垂させ、動物が後肢を針金に掛けるまでの時間を測定した。

なお、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：検体60mg/kg投与群では投与1から4時間にかけて、対照群と比べ、懸垂時間の有意な延長が認められた。

②摘出横隔膜神経筋標本に及ぼす影響

使用動物：SD系(Crj;CD)ラット 7週齢 1群雄4匹 体重範囲；247-284g

方 法：動物を断頭屠殺し、横隔膜神経標本を作製した。検体をポリエチレングリコールに溶解し、横隔膜神経標本を懸架したマグナス槽内に溶媒、 10^{-6} 、 10^{-5} および 10^{-4} Mの検体を5分間隔で累積的に適用した。

結 果： 10^{-4} Mでは有意な抑制が認められた。

4. 自律神経系に及ぼす影響（瞳孔径に及ぼす影響）

使用動物：SD系(Crj;CD)ラット 6週齢 1群雄5匹 体重範囲；165-181g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、3、10および30mg/kgの用量で強制経口投与した。投与前、投与後30分、1、2、4および24時間に瞳孔径を測定した。なお、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：30mg/kg投与群で、投与後1および4時間にかけて有意な縮瞳が認められたが、24時間後では回復した。

5. 呼吸および循環器系に及ぼす影響

使用動物：ビーグル犬 6か月齢 1群雄3匹 体重範囲；8.6kg

方 法：ペントバルビタール30mg/kgを静脈内投与して麻酔した動物に、検体をポリエチレングリコールに溶解し、0、0.1、0.3および1mg/kgの用量で左大腿静脈のカニューレから、漸増的に前用量の影響がなくなったことを確認しながら投与して、呼吸数、血圧、血流量、心電図および心拍数を測定した。なお、各測定項目は投与前、投与1、3、5、10、15および30分に測定した。また、動物は投与前18-20時間絶食した。

結 果：次表に示す。

検査項目	結 果
呼吸数	0.3mg/kgでは有意な減少または減少傾向が認められた。1mg/kgでは有意な減少が認められた。しかしながら、投与前から有意差が認められており、投与前の値と比較すると変化はなかった。
血 圧	影響なし
血流量	影響なし
心電図	0.3および1mg/kgでP波時間に対して有意な延長が認められた。1mg/kgではPQ間隔に有意な増加が認められた。しかしながら、これらのパラメータは投与前から有意な延長が認められていた。
心拍数	1mg/kgでは有意な減少が認められた。しかしながら、投与前から有意差が認められており、投与前の値と比較すると変化はなかった。

6. 消化器系に及ぼす影響

①摘出モルモット回腸運動に及ぼす影響

使用動物：ハートレー系モルモット 6週齢 1群雄4匹 体重範囲；414-424g

方 法：動物を放血屠殺し、回腸を摘出した。作製した回腸標本は、30°CのTyrode液を満したマグヌス槽内に懸垂し、収縮反応を等張性トランスデューサー(TD-112S、日本光電工業社製)を介して記録した。収縮薬として、アセチルコリン 10^{-6} M、二塩酸ヒスタミン 10^{-6} M、塩化バリウム 10^{-3} Mを用いた。検体はポリエチレングリコールに溶解し、 10^{-6} 、 10^{-5} および 10^{-4} M濃度で適用した。

結 果： 10^{-4} M濃度では有意な抑制が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

②胃腸管炭末輸送能に及ぼす影響

使用動物：ICR系(Crj;CD-1)マウス 5週齢 1群雄5匹 体重範囲；24.6-28.4g

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、6.7、20および60mg/kgの用量で強制経口投与した。投与後、10%アラビヤゴム液に炭末を5%懸濁した溶液を、10ml/kgの用量で経口投与した。炭末投与30分後に動物を頸椎脱臼にて屠殺し、幽門から炭末先端までの長さを測定し、小腸全体の長さに対する比率を算出した。

結 果：20および60mg/kgでは有意差はなかったが、炭末輸送能を亢進する傾向が認められた。

7. 腎機能に及ぼす影響

使用動物：SD系(Crj;CD)ラット 6週齢 1群雄5匹 体重範囲；193-218g

方 法：動物は投与前18-20時間絶食し、薬剤投与2時間前に絶水し、さらに、投与直前に膀胱を圧迫して排尿させた。検体をコーン油に溶解し、0、3、10および30mg/kgの用量で強制経口投与した。検体投与直後に生理食塩水を30ml/kg経口負荷して、動物を代謝ケージに個別に収容した。生理食塩水負荷4時間後に、尿を採取し、尿量、尿中Na⁺、尿中K⁺、尿中Cl⁻、尿pHを測定した。

結 果：いずれの検体投与群でも影響は認められなかった。

8. 血液凝固系に及ぼす影響

使用動物：日本白色種ウサギ 10週齢 1群雄3匹 体重範囲；2.06-2.41kg

方 法：検体をコーン油に溶解し、0、6.7、20および60mg/kgの用量で強制経口投与した。投与前、投与後30分、1、2および4時間に耳介動脈より採血し、3000rpmで10分間遠心分離して乏血小板血漿を調製した。この血漿について、プロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結 果：いずれの検体投与群でも影響は認められなかった。

以上の結果より、検体の経口投与における無影響量は6.7mg/kgであり、60mg/kgでは自発運動抑制、鎮痛作用および体温低下などの一部中枢神経の抑制作用と、縮瞳や下痢などの自律神経系の興奮作用、骨格筋弛緩作用、平滑筋の非特異的な抑制作用、さらに、呼吸・循環器系の抑制作用を有する可能性が示唆された。筋組織に対する直接的な抑制作用が認められた。腎機能および血液凝固系に対する作用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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

《一般薬理総括表》

試験項目	試験動物 (麻酔の有無)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 (匹/群)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般状態・行動 (Irwin法)	マウス	経口 (コーン油)	0、6.7、20、60	♂♀5	6.7	20	60mg/kgでは自発運動抑制、鎮痛作用および体温低下などの中枢神経の抑制作用と、縮瞳、下痢などの自律神経の興奮作用が認められた。 死亡例 60: ♀1
中枢神経系	自発運動	マウス	経口 (コーン油)	♂5	20	60	投与後20分から4時間にかけて自発運動量が有意に減少。 死亡例 60: ♂3
	睡眠時間	マウス	経口 (コーン油)	♂5	20	60	60mg/kgで延長傾向
	鎮痛	マウス	経口 (コーン油)	♂5	6.7	20	20および60mg/kgでwrithing回数が有意に増加
	体温	ラット	経口 (コーン油)	♂5	30	30	影響なし
骨格筋	懸垂試験	マウス	経口 (コーン油)	♂5	20	60	懸垂時間の有意な延長
	横隔膜神経筋	ラット	<i>in vitro</i> (PG*)	♂4	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M	有意な抑制
自律神経系	瞳孔径	ラット	経口 (コーン油)	♂5	10	30	縮瞳
呼吸循環器系	呼吸・血圧・血流量・心電図・心拍数	ビーグル犬 (麻酔)	静脈内 (PG*)	♂3	0.1	0.3	呼吸数が有意に減少
消化器系	炭末輸送管	マウス	経口 (コーン油)	♂5	60	60	炭末輸送能允進傾向
	摘出回腸	モルモット	<i>in vitro</i> (PG*)	♂4	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M	有意な抑制
腎臓	腎機能	ラット	経口 (コーン油)	♂5	30	30	影響なし
血液	血液凝固	ウサギ	経口 (コーン油)	♂3	60	60	影響なし

PG*: ポリエチレングリコール

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.12 解毒および治療

8.12.1 ラットを用いた硫酸アトロピンおよび2-PAMの解毒試験 (資料No. T-7.1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

試験動物： Sprague-Dawley系CFBRラット、若齢成獣、1群雌雄各10匹
投与時体重範囲；雄 208～263g、雌 183～239g

試験期間： 14日間観察

方法： 検体をコーンオイルに溶解し、単回強制経口投与後、解毒剤として硫酸アトロピンまたはピリジンアルドジメトクロライド (2-PAM) の単独投与および両剤を同時投与した。解毒剤は検体投与後毒性症状が発現した時点と検体投与後24時間の2回投与した。動物は投与前1晩絶食した。

群	性別	検体濃度 (mg/kg)	解毒剤 (投与量)
1	雄	66	なし
		115	
	雌	38	
		100	
2	雄	66	硫酸アトロピン (100mg/kg)
		115	
	雌	38	
		100	
3	雄	66	2-PAM (100mg/kg)
		115	
	雌	38	
		100	
4	雄	66	硫酸アトロピン (100mg/kg) + 2-PAM (100mg/kg)
		115	
	雌	38	
		100	

観察項目： 生死および臨床症状については、投与当日は 0.5、1、2、3、4および6時間後に、その後13日間は1日2回、14日目は1回観察した。体重は投与当日、7および14日目に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

結 果 : 次表に結果を示す。

解毒剤を投与しなかった第1群では中毒症状として、間代性痙攣、振戦、運動失調、接触および音に対する過敏症、腹部の汚れ、自発運動量の低下、下痢、流涙、着色膿様流涙、紅涙および横臥が認められた。解毒剤として2-PAMを投与した第3群は第1群と同程度の中毒症状が観察された。解毒剤として硫酸アトロピンを単独投与した第2群および硫酸アトロピン+2-PAMを投与した第4群では中毒症状の発現率および持続時間は第1群と同程度であったが、中毒症状の程度は軽度であった。剖検所見として、生存動物には異常は見られなかったが、死亡動物については第1群および第3群では数例に胃の点状出血、胃、腸または膀胱に血液が認められた。第2群では2例に胃の点状出血が認められた。第4群では2例に胃の点状出血が認められた。全生存動物の体重は試験終了時には増加した。

群	性別	検体濃度 (mg/kg)	解毒剤	死亡率	死亡開始/消 失時間	症状発現/消 失時間
1	雄	66	なし	3/10	2日/4日	30分/4日
		115		6/10	2時間/3日	30分/13日
	雌	38		0/10	死亡例なし	90分/2日
		100		10/10	2時間/1日	30分
2	雄	66	硫酸アトロピン	0/10	死亡例なし	30分/6日
		115		0/10↓	死亡例なし	30分/8日
	雌	38		0/10	死亡例なし	30分/4日
		100		8/10	1日/4日	30分/7日
3	雄	66	2-PAM	3/10	2日/3日	30分/8日
		115		10/10	1日/2日	30分
	雌	38		0/10	死亡例なし	1時間/2日
		100		10/10	6時間/2日	30分
4	雄	66	硫酸アトロピン +2-PAM	0/10	死亡例なし	30分/8日
		115		2/10	1日/2日	30分/8日
	雌	38		0/10	死亡例なし	30分/6日
		100		9/10	1日/5日	30分/11日

統計学的検定法 ; Fischerの確率検定 ↓ ↑ : p<0.05)

注) 症状について脱毛および解毒剤注射部位の変化は除外した。

以上より、検体の中毒症状に対して、解毒剤として硫酸アトロピン単独投与または硫酸アトロピン+2-PAM併用投与では症状軽減の効果が認められた。2-PAM単独投与では効果が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.12.2 ラットを用いた硫酸アトロピンおよび2-PAMの解毒試験 (資料番号 No.T-7.2)

試験機関 :

報告書作成 :

検体の純度 :

試験動物 : Crj:CD(SD)系ラット、6週齢

試験期間 : 14日間

方法 : 100%致死量のカズサホスを経口投与後、解毒剤として硫酸アトロピン (皮下注射) または2-PAM (筋肉内注射) を単独または両剤併用投与した。

観察項目 : 硫酸アトロピンまたは2-PAMを投与後 14日間生死・毒性症状などから解毒・治療の効果を観察した。(アトロピン、PAMと略記する)

試験方法及び結果 :

(予備試験)

・カズサホス経口投与致死量の設定

カズサホス原体を1群雄雌各5匹からなる各群に、雄ラット 90~190mg/kg、雌ラット 63~130mg/kg の用量で経口投与して、1回投与で100%致死する量を次の通り設定した。

雄 155mg/kg 雌 118mg/kg

・アトロピン、PAM投与上限量の設定

1群雄雌各5匹からなる各群に、アトロピン 100、200mg/kg (皮下注射)、2-PAM50、100、200mg/kg (筋肉内注射)を処理したところ、いずれの群にも重篤な症状は認められなかった。したがって、アトロピン及びPAMの投与上限は200mg/kg以上であると考えられた。

(本試験)

・解毒剤単回投与

カズサホス原体を雄に155mg/kgを経口投与し、その1時間後にアトロピンまたはPAMを投与し、14日間観察した(雌の試験は省略)。

無解毒剤	死亡率	2/5	
アトロピン 30~300mg/kg 投与	死亡率	5/5	効果認められず
PAM 50~200mg/kg 投与	死亡率	4/5~5/5	効果認められず
アトロピン(30~300) + PAM(50~200)併用	死亡率	4/5~5/5	効果認められず

・解毒剤繰返し投与

カズサホス 投与量 雄 155mg/kg 雌 118mg/kg

カズサホス投与 1,7,13,25 時間後にアトロピンを4回繰返し投与

アトロピン、PAM 無投与-----死亡率 ♂ 2/5 ♀ 3/5

アトロピン 30+10+10+10 mg/kg 計4回投与 4/5 4/5

アトロピン 30+30+30+30 mg/kg 計4回投与 5/5 3/5

PAMを1,7時間後、2日後(投与翌日)の午前午後投与

PAM 50+50+50+50 mg/kg 計4回投与 4/5 5/5

更に3日の午前午後2回追加 計6回投与 3/5 5/5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

アトロピン+PAM併用

上記のアトロピン4回+PAM4回（又は6回）の組合せも死亡率低減の効果は認められなかった。

・解毒剤繰返し投与の増回

アトロピン 30mg/kg 6回、PAM 50mg/kg 8回の繰返し投与とアトロピン+PAMの繰返し併用投与も死亡率の低減効果は認められなかったが、死亡発現時間の延長傾向が認められた。

今回実施した試験の条件内では硫酸アトロピンおよび2-PAMのカズサホス中毒への解毒治療効果は確認できなかった。

しかし、硫酸アトロピン投与または硫酸アトロピン+2-PAM併用投与による死亡発現遅延傾向、毒性症状の軽減などの変化が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.12.3 ラットを用いた硫酸アトロピンおよび 2-PAM の解毒試験(資料 No.T-7.3)

試験機関 :

報告書作成年 :

検体の純度 :

試験動物 : Sprague-Dawley 系(Jcl:SD)ラット、若齢成獣、1 群雌 5 匹

試験期間 : 平成 14 年 12 月 10 日～平成 14 年 12 月 24 日

方法 : 検体をオリーブ油に溶解し、1 群 5 匹の雌ラットに対して、38、48、62、79 及び 100mg/kg の投与用量で 1 晩絶食後に単回強制投与した。その後、解毒剤として硫酸アトロピン及び 2-PAM を用いて、ヒトにおける治療方法を参考とし、次の通り投与した。各検体投与濃度について解毒剤を処理しない区 (非治療区) を設けた。

	溶媒	投与方法	投与容量
カズサホス原体	オリーブ油	一晩(17 時間)絶食後、強制単回経口投与	10 ml/kg
硫酸アトロピン	生理食塩水	カズサホス投与直後～12 時間後まで 1 時間間隔、12～24 時間後は 2 時間間隔、以後は最大 5 日目まで個体ごとに症状が消失するまで適宜(2～12 時間間隔)。皮下投与。	1 回あたり 10 ml/kg (5 mg/kg)
2-PAM	—	カズサホス投与直後～1 時間後までは 15 分間隔、1～6 時間後は 30 分間隔、6～24 時間後は 1 時間間隔、以後は最大 6 日目まで個体ごとに症状が消失するまで適宜、筋肉内投与。	1 回あたり 0.4 ml/kg(10 mg/kg)

観察項目 : 生死及び臨床症状については、カズサホス投与日～翌日は頻回、その後は 1 日 2 回以上(休日を除く)観察した。体重はカズサホス投与時、投与 7 日後及び 14 日後に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を実施した。また、臨床症状を数値化して比較する目的で、無症状、軽度、中等度、重度及び死亡を、それぞれ、評点 1、2、3、4 及び 5 とスコア化し、観察時間ごとに統計学的有意差検定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

結果：次表に結果を示す。

区	検体用量 (mg/kg)	死亡率	死亡開始/ 消失時間	症状発現/ 消失時間	臨床症状 スコア
非治療区	38	0/5(0%)	—	3時間/2日	—
	48	0/5(0%)	—	1時間/3日	—
	62	1/5(20%)	3日	1時間/4日	—
	79	1/5(20%)	18時間	2時間/3日	—
	100	3/5(60%)	12時間～ 3日	2時間/6日	—
治療区	38	0/5(0%)	—	3時間/4日	NS
	48	0/5(0%)	—	3時間/4日	NS
	62	0/5(0%)	—	2時間/4日	↓(12h)
	79	1/5(20%)	5日	3時間/6日	↓(6～12h) ↓(24h)
	100	0/5(0%)	—	3時間/6日	↓(6h～18h) ↓(24h)

死亡率：Fisherの直接確率計算法

臨床症状スコア：Mann-WhitneyのU検定：NS:有意差なし、↓: $p \leq 0.05$ 、↓↓: $p \leq 0.01$

非治療区では、62及び79mg/kg投与群で5例中1例(死亡率20%)、100mg/kg投与群で5例中3例(死亡率60%)が死亡した。一方、治療区では、79mg/kg投与群の1例を除きいずれの群でも死亡はみられなかった。両区の100mg/kg群の死亡率を1対1で比較した場合、統計学的有意差はみられないものの(Fisherの直接確率計算法で $p=0.083$)、生存率は改善される傾向がみられた。治療区でみられた1例の死亡は、カズサホス投与91時間後(5日目)に確認された。カズサホス投与85時間後から91時間後までの6時間は、アトロピン・2-PAM投与ができなかったことから、この間も間欠的に治療を続けた場合は、この動物は死亡しなかった可能性も考えられる。

本試験で認められた症状(流涎、流涙、震顫等)は、解毒剤投与の有無を問わず原則コリンテラーゼ阻害作用に起因するものであった。

臨床症状スコアについては、治療区の62mg/kg以上の投与群で、非治療区のそれぞれの投与群と比較して、統計学的有意差が認められ、解毒剤の効果が確認された。

体重については、試験前半の増体量は治療区で非治療区に比べ低値を示したが、試験後半は逆に非治療区に比べ増体量が上回る傾向がみられた。試験を通じた増体量は、治療区の方が低い傾向であった。

以上のことから、雌ラットにおけるカズサホス原体の急性経口毒性に対して、アトロピンと2-PAMの間欠投与により、明らかな治療効果が認められた。

8.13 代謝物の毒性

8.13.1 代謝物記号

の Maus における急性経口毒性試験

(資料 No. T-8.1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度:

試験動物: ICR 系 Maus、開始時 5~6 週齢、体重: 雄 29.3~34.3g 雌 22.2~26.4g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察 (1999 年 3 月 9 日~3 月 23 日)

方法: 検体を注射用水に溶解し、10ml/kg の容量でゾンデを用いて経口投与した。
投与前に 3 時間絶食した。溶媒対照群には注射用水のみを同様に投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を投与日には頻繁に、その後は毎日 2 回観察した。体重を投与日、投与後 1 日、2 日、3 日、7 日および 14 日に測定した。死亡動物および観察終了時の生存動物について肉眼的病理検査を行った。LD₅₀ 値をプロビット法で算出した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、2000、2200、2420、2662、2928
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 2584 (2426~2764) 雌 2537 (2363~2737)
死亡開始および終了時間	雄 1 日、1 日 雌 1 日、2 日
症状発現および消失時間	雌雄 5 分、2 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2200

中毒症状としては、全群雌雄で自発運動の減少、歩行異常、深呼吸、鎮静化、流涙、または眼瞼下垂、2420mg/kg 以上の群雌雄で横臥、腹臥、体温低下が認められた。これらの症状は投与後 3~6 時間に最も多く認められ、投与後 1~2 日に消失した。

2420mg/kg 群雄および 2662mg/kg 群雌雄で投与後 1 日に体重低下が認められ、2420mg/kg 以上の群雌雄で軽度な体重増加抑制がほぼ全観察期間に認められた。

肉眼的病理検査では、2662mg/kg 群雄 1 例および雌 3 例の死亡動物ならびに 2928mg/kg 群雌 2 例の死亡動物で胃に暗赤色斑が認められた。その他の死亡動物および生存動物では異常が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.13.2 代謝物記号

の細菌を用いた復帰変異性試験（資料No. T-8. 2）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：

方 法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌株 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA98、TA100およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrAを用い、プレインキュベーション法にて、検体の復帰変異誘発性を調べた。

検体を、蒸留水に溶解し、ラット肝臓から調製したS-9Mixの存在下および非存在下において、0、312.5、625、1250、2500および5000 μ g/プレートの濃度を使用菌株に処理し、48時間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。陽性対照として、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(AF-2)、アジ化ナトリウム(SA)、9-アミノアクリジン(9AA)、2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。

用量設定根拠；用量設定試験結果に基づき設定した。試験は、検体を蒸留水に溶解し、S-9Mixの存在下および非存在下において、0、5、10、50、100、500、1000および5000 μ g/プレート濃度で本試験と同じ菌株に処理し、48時間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。その結果、S-9Mixの存在下および非存在下いずれにおいても、最高濃度の5000 μ g/プレートでも菌に対して毒性が認められず、復帰変異コロニー数の増加も見られなかった。以上の結果に基づき、本試験の最高濃度を、代謝活性化を行う場合および行わない場合のいずれも5000 μ g/プレートに設定した。

結 果：用量設定試験結果を表1に、本試験結果を表2に示す。

表1および2に示すように、いずれの試験でも、代謝活性化の有無にかかわらず、検体処理プレートでは復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質を処理したプレートでは著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上より、本試験条件下における検体の変異原性は陰性と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表1 用量設定試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 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	WP2uvrA	TA1537	TA98	
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	140	15	34	25	7	
検体	5		142	13	36	21	9	
	10		145	13	35	21	8	
	50		146	12	31	23	9	
	100		135	10	35	18	6	
	500		141	13	35	22	8	
	1000		146	17	34	20	7	
5000	155		14	25	22	9		
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	152	16	43	38	14	
検体	5		168	15	46	38	10	
	10		153	15	43	36	11	
	50		167	17	42	38	14	
	100		162	14	39	35	14	
	500		160	11	40	34	13	
	1000		163	14	41	33	14	
5000	164		14	44	34	15		
陽性 対照	AF-2	0.01	-	557		280		
		0.1				513		
	SA	0.5			458			
	9AA	80					531	
	2AA	0.5		+			533	
		1			1160			
		2				283		275
10					773			

注) 表中の数値は2枚のプレートの平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 2. 本試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 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	WP2uvrA	TA1537	TA98	
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	134	11	31	23	10	
検体	312.5		136	10	32	25	7	
	625		147	8	33	24	12	
	1250		133	14	31	22	7	
	2500		145	10	39	22	9	
	5000		128	15	30	22	9	
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	158	12	40	38	14	
検体	312.5		154	14	35	42	17	
	625		163	14	39	41	9	
	1250		149	14	40	32	11	
	2500		154	13	36	40	15	
	5000		165	14	35	40	13	
陽性 対照	AF-2	-	0.01	438	204			
			0.1			536		
	SA		0.5		484			
	9AA		80				524	
	2AA		+	0.5			533	
				1	1130			
				2		268		205
				10			796	

注) 表中の数値は2枚のプレートの平均値 (溶媒対照群のみ3枚)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.14 マイクロカプセル原液の毒性

8.14.1 マイクロカプセル原液のラットにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-9.1)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: FMC67825 20% (マイクロカプセル封入)
マイクロカプセル膜剤、界面活性剤、水等 80%

試験動物: SD系ラット、体重: 雄 247~262g 雌 200~260g、若齢成熟
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察 (1997年11月4日~12月4日)

方法: 検体をゾンデを用いて経口投与した。投与前に一夜絶食した。

試験項目: 中毒症状および生死を投与日には頻繁に、その後は毎日観察した。体重を投与日、投与後7日および14日に測定した。死亡例および観察終了時の生存例について肉眼的病理検査を行った。LD₅₀値をLogit-Linear Regression Programを用いて算出した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 1000、1500、2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >2000 雌 1097 (686~1507)
死亡開始および終了時間	雄 2日、2日 雌 4時間、3日
症状発現および消失時間	雄 30分、5日 雌 30分、13日
死亡のみられなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 <2000 雌 <1000

中毒症状としては、全群雌雄で異常姿勢、血涙、鼻汁、縮瞳、眼球突出、過敏反応、発声、自発運動の減少、下痢、流涎等、1000~2000mg/kg 群雌で呼吸困難、振戦または強直性痙攣がみられた。これらの症状は投与後3時間~3日に多く認められ、その後消失したが、1000mg/kg 群雌1例で投与後7~12日に脱毛がみられた。

体重に対する影響は認められなかった。

肉眼的病理検査では2000mg/kg 群雌雄および1500mg/kg 群雌の死亡例で胃および腸管に血液貯留が認められた。生存動物には異常が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.14.2 マイクロカプセル原液のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料No.T-9.2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: FMC67825 20% (マイクロカプセル封入)
マイクロカプセル膜剤、界面活性剤、水等 80%

試験動物: Sprague-Dawley系ラット、体重: 雄 266~291g 雌 205~285g、若齢成熟
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察 (1997年10月31日~1998年1月12日)

方法: 検体をガーゼパッド (2×2インチ) に載せ、刈毛した背部皮膚に24時間貼付した。その後、ガーゼパッドを除去し、貼付部位を水で洗浄した。

試験項目: 中毒症状および生死を投与日には頻繁に、その後は毎日観察した。体重を投与日、投与後7日および14日に測定した。死亡例および観察終了時の生存例について肉眼的病理検査を行った。LD₅₀値をLogit-Linear Regression Programを用いて算出した。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄 4000、5000、7000 雌 3000、4000、5000、7000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 6008 (3597~8420) 雌 >5000
死亡開始および終了時間	雄 2日、3日 雌 2日、3日
症状発現および消失時間	雄 6時間、7日 雌 1日、8日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 <4000 雌 3000

中毒症状としては、各群雌雄で投与後1~2日に自発運動の減少、流涙、流涎、血涙、鼻汁、振戦、眼球突出、異常姿勢、歩行異常、縮瞳または呼吸困難等が認められた。これらの症状は投与後1~2日に最も多く認められ、雄では投与後3~4日、雌では投与後4~5日にほぼ消失したが、4000mg/kg群の雄1例で発育不全が投与後6日、雌1例で頭部に外傷が投与後7日に認められた。7000mg/kg群雌2例で投与部位の皮膚に亀裂または鱗屑が認められ、3000mg/kg群雌1例で紅斑が認められた。

生存動物で観察終了時に体重増加が認められた。

肉眼的病理検査において5000mg/kg群雄の死亡動物2例で脾臓の萎縮がみられた。その他の死亡動物および生存動物では異常が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.14.3 マイクロカプセル原液のラットにおける急性吸入毒性試験（資料No.T-9.3）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度： FMC67825 20%（マイクロカプセル封入）
マイクロカプセル膜剤、界面活性剤、水等 80%

試験動物： Sprague-Dawley系若齢成熟ラット、体重：雄 246g～269g 雌 229g～247g
1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察（1997年10月30日～11月14日）

方法： 検体をエアゾール発生装置内部で圧縮空気と混合して霧化させ、これを暴露チャンバー内に導入し、試験動物に4時間鼻部暴露した。暴露濃度はエアゾール発生装置への検体供給量によって調整し、検体をエアゾール化して得られる最高濃度に設定した。

実測濃度： 暴露チャンバー内に設置されたグラスファイバー製フィルターに暴露空気を暴露中頻繁に採取した。検体が有効成分を含む不揮発性の成分および水で構成されており、エアゾール化するとエアゾールと蒸気の両方が発生することから、試料容積ならびに採取直後の重量および乾燥後重量を用いて暴露濃度を求めた。

実測濃度の測定では、最初にフィルターに採取した試料容積および重量を測定し、次にフィルターを一夜乾燥させ、乾燥後重量を測定した。この乾燥後重量を予め算出した固型成分の割合（42±1.0%）で除して有効成分濃度を算出した。

粒子径分布： Sierra Model 218 カスケード・インパクトを使用し、動物の鼻部付近の空気を採取し、粒子径分布および質量中位径を求めた。

曝露条件： チャンバー容積 11リットル
チャンバー内平均温度 18.9℃
チャンバー内平均相対湿度 91%
暴露における濃度および粒子径分布は次の通りであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

設定濃度 (mg/l)	23.10	
実測濃度 (mg/l)	3.87	
粒子径分布 (%) *	< 0.54 μm	0.42
	< 0.84 μm	5.63
	< 1.50 μm	16.10
	< 2.60 μm	31.52
	< 4.10 μm	47.54
	< 6.90 μm	65.69
	< 21.00 μm	92.49
質量中位径 (μm)	4.385	

*2回の測定の平均値

試験項目： 中毒症状および生死を暴露中および暴露後14日間観察した。体重を暴露直前、暴露後7日および暴露後14日に測定した。死亡動物および観察終了時の生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	吸入
投与量 (mg/l)	雌雄 3.87
LC ₅₀ 値 (mg/l)	雌雄 >3.87
死亡開始および終了時間	雄 2日、4日 雌 なし
症状発現および消失時間	雄 暴露直後、4日 雌 暴露直後、6日
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/l)	雄 <3.87 雌 3.87

中毒症状としては腹部弛緩、下腹部の汚れ、運動失調、自発運動の減少、呼吸困難、眼球突出、流涙、流涎、ラッセル音、横臥、後肢開脚、失調性歩行、振戦等が暴露直後から暴露後2日の間に多く観察された。

肉眼的病理検査では死亡例(2例)および生存例ともに肉眼的異常は認められなかった。

体重は、雌4例で暴露後～7日後に体重低下が認められたが、観察終了時には全ての生存例で増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.14.4 マイクロカプセル原液のウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料No.T-9.4)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: FMC67825 20% (マイクロカプセル封入)
マイクロカプセル膜剤、界面活性剤、水等 80%

試験動物: New Zealand 白色ウサギ、若齢成熟、雌雄各 3 匹、体重 2.25~2.49kg

試験期間: 72時間観察 (1997年11月3日~1997年11月6日)

方法: 検体 0.5ml を、刈毛した背部皮膚にガーゼパッチ (6cm×6cm) で閉塞貼付した。4時間後にガーゼパッチを除去して適用部位を水を含ませたガーゼで拭いた。

試験項目: パッチ除去後 1 時間、24 時間、48 時間および 72 時間に皮膚の刺激性変化を観察し、Draize の方法に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点結果を以下に示す:

刺激性変化	最高 評点	パッチ除去後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計評点	8	0	0	0	0

全ての観察時点で刺激性反応が認められなかった。

以上の結果より、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性がないと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.14.5 マイクロカプセル原液のウサギにおける眼一次刺激性試験 (資料No.T-9.5)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: FMC67825 20% (マイクロカプセル封入)
マイクロカプセル膜剤、界面活性剤、水等 80%

試験動物: New Zealand 白色ウサギ、若齢成熟、雌雄各 3 匹、体重 2.25~2.45kg

試験期間: 72 時間観察 (1997 年 11 月 3 日~1997 年 11 月 6 日)

方法: 検体 0.1ml を右眼に適用し、左眼を対照とした。

試験項目: 適用後 1 時間、24 時間、48 時間および 72 時間に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize の方法に従って採点した。また、適用後 24 時間の観察では、フルオレセインナトリウムを用いて角膜損傷の有無を調べた。

結果: 観察した刺激性変化の採点結果を以下に示す:

試験群	刺激性変化		最高 評点	適用後時間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜	程度	4	0	0	0	0
		混濁	範囲	4	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0.8	0	0	0
		結膜浮腫	4	0.3	0	0	0
		分泌物	3	1.5	0	0	0
	合計*		110	5.2	0	0	0

*Draize の方法による計算値

適用後 1 時間に 5 例で結膜発赤 (評点 1)、2 例で結膜浮腫 (評点 1)、全例で分泌物 (評点 1~3) がみられたが、適用後 24 時間には全ての変化が消失した。

以上の結果より、本剤はウサギの眼に対して軽微な刺激性があると思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.14.6 マイクロカプセル原液のモルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料No.T-9.6)

試験機関:

[G.L.P 対応]

報告書作成年:

検体の純度: FMC67825 20% (マイクロカプセル封入)
マイクロカプセル膜剤、界面活性剤、水等 80%

試験動物: Hartley系モルモット、若齢成熟、1群雄10匹、体重334~397g

試験期間: 7日間隔で3回感作処理後2週に誘発処理し、48時間観察
(1997年11月5日~1997年12月10日)

方法: (Buehler 法)

投与量の設定根拠: 予備試験において、検体原液を4匹の背部に6時間、適用した後、皮膚に刺激性反応がみられなかったことから、原液を感作および誘発に使用した。

感作: 検体 0.5ml をヒルトップチャンバー (Hill Top Chamber™) を用いて動物の刈毛した右肩甲上部に6時間、閉塞貼付した。この処理を7日間隔で3回実施した。非感作群は未処理とした。

誘発: 最終感作の14日後、刈毛した左肩甲上部に、検体 0.5ml を感作時と同様の方法で6時間処理した。

陽性対照: 1群10匹の雄モルモットに、DNCB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene) を用いて検体処理と同一方法で感作および誘発処理を行った。

試験項目: 誘発処理後24時間および48時間に、Buehler法の判定基準に従って処理部位の観察を行った。

結果: 結果を以下に示す:

試験薬物		動物数	感作処理濃度 (%)	誘発処理濃度 (%)	誘発後の皮膚反応陽性数	
					24時間	48時間
検体	試験部位	10	100%	100%	0	0
	対照部位	10	—	100%	0	0
陽性対照物質	試験部位	10	0.4%*	0.025%*	10	9
	対照部位	10	—	0.025%	2	0

* DNCB/80%エタノール (w/v) 溶液

** DNCB/アセトン (w/v) 溶液

検体感作群および検体非感作群では誘発処理後、いずれの観察時点でも皮膚反応が認められなかった。

DNCB感作群の10例中9~10例では、誘発処理後24時間および48時間に中等度~強度の紅斑がみられた。

以上の結果より、本剤は本試験条件下でモルモットに対し皮膚感作性がないと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.15 製剤毒性

8.15.1 ラグビーMC 粒剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料No.TF-1.1)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: マイクロカプセル剤
FMC67825 3%
担体、界面活性剤 97%

試験動物: SD系ラット、開始時5~6週齢、体重:雄160.3~170.0g 雌132.8~135.9g
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察(1999年3月3日~3月17日)

方法: 検体を1% CMC水溶液に懸濁し、10ml/kgの容量でゾンデを用いて経口投与した。投与前に約18時間絶食した。溶媒対照群には1% CMC水溶液のみを同様に投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を投与日には頻繁に、その後は毎日2回観察した。体重を投与日、投与後1、2、3、7日および14日に測定した。観察終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
症状発現および消失時間	雌雄 15分、1日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

中毒症状としては、雌雄で投与後15分~1時間に自発運動の減少、流涎、または軟便、投与後3時間に歩行異常、不規則呼吸、眼瞼下垂等がみられた。大部分の症状はその後消失し、投与後6時間に自発運動の減少および歩行異常がみられたが、投与後1日には消失した。

雌雄で統計学的に有意な体重増加抑制が投与後1日にみられたが、その後体重は増加し、観察終了時は対照群と同等であった。

肉眼的病理検査では検体投与と関連する所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.15.2 ラグビーMC 粒剤のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料No.TF-1.2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: マイクロカプセル剤
FMC67825 3%
担体、界面活性剤 97%

試験動物: ICR系マウス、開始時 5~6 週齢、体重: 雄 30.1~32.3g 雌 22.2~24.3g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察 (1998 年 11 月 25 日~12 月 9 日)

方法: 検体を 1% CMC 水溶液に懸濁し、10ml/kg の容量でゾンデを用いて経口投与した。投与前に約 3 時間絶食した。溶媒対照群には 1% CMC 水溶液のみを同様に投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を投与日には頻繁に、その後は毎日 2 回観察した。体重を投与日、投与後 1、2、3、7 日および 14 日に測定した。観察終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
症状発現および消失時間	雌雄 30 分、 6 時間
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

中毒症状としては、投与後 30 分に雌雄全例で自発運動の減少、ならびに雌雄各 2 例で不整呼吸および眼瞼下垂がみられた。これらの症状はいずれも軽度であり、投与後 1~3 時間に回復がみられ、投与後 6 時間には全て消失した。

生存動物の肉眼的病理検査では異常所見は認められなかった。

雄で投与後 1~2 日に体重増加抑制がみられ、雌で投与後 2~3 日に増加抑制傾向がみられたが、その後回復し、雌雄ともに観察終了時の体重は溶媒対照群と同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.15.3 ラグビーMC 粒剤のラットにおける急性経皮毒性試験（資料No.TF-1.3）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度： マイクロカプセル剤
FMC67825 3%
担体、界面活性剤 97%

試験動物： Sprague-Dawley 系ラット、開始時 8 週齢、体重：雄 286～296g 雌 185～210g
1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察（1998 年 9 月 22 日～10 月 6 日）

方法： 検体を注射用水で湿らせてリント布（4×5cm）に載せ、刈毛した背部皮膚に 24 時間貼付した。その後、リント布を除去し、貼付部位を洗浄した。

試験項目： 中毒症状および生死を投与日には頻繁に、その後は毎日 2 回観察した。体重を投与日、投与後 1 日、2 日、3 日、7 日および 14 日に測定した。観察終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡開始および終了時間	雌雄 死亡例なし
症状発現および消失時間	雌雄 症状発現なし
無毒性量 (mg/kg)	雌雄 >2000

一般症状に異常は認められず、体重にも特記すべき変化はなかった。
投与部位の皮膚に、刺激性変化やその他の異常は認められず、肉眼的病理検査においても異常所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.15.4 ラグビーMC 粒剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験（資料No.TF-1.4）

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年：

検体の純度： マイクロカプセル剤
カズサホス 3%
担体、界面活性剤等 97%

試験動物： 日本白色種ウサギ、9～10 週齢、雄 6 匹、体重 1.71～1.95kg

試験期間： 72 時間観察（1998 年 10 月 27 日～10 月 30 日）

方法： 検体 0.5g を少量のオリーブオイルと共にリント布パッチ上に載せ、予め刈毛した背部皮膚の検体適用部位（2.5cm×2.5cm）に閉塞貼付した。対照部位にはオリーブオイル 0.5ml を塗布したリント布パッチを同様に適用した。4 時間後にリント布パッチを除去し、適用部位をオリーブオイルで拭った。

試験項目： パッチ除去後 1 時間、24 時間、48 時間および 72 時間に皮膚の刺激性変化を観察し、農林水産省のガイドラインに従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点結果を以下に示す：

試験物質	刺激性変化	最高 評点	適用後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
検 体	紅斑・痂皮	4	0.3	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0
	合計評点	8	0.3	0	0	0
対 照 (オリーブオイル)	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0
	合計評点	8	0	0	0	0

検体適用部位では、適用後 1 時間に 2 例で紅斑（評点 1）が認められた。適用後 24 時間には反応が認められなかった。オリーブオイルを適用した対照部位では、いずれの観察時点でも皮膚反応が認められなかった。

以上の結果より、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性がないと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.15.5 ラグビーMC 粒剤のウサギにおける眼一次刺激性試験（資料No.TF-1.5）

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： マイクロカプセル剤
カズサホス 3%
担体、界面活性剤等 97%

試験動物： 日本白色種ウサギ、9～10 週齢、雄 9 匹、体重 1.75～1.96kg

試験期間： 4 日間観察（1998 年 10 月 27 日～10 月 31 日）

方法： 検体 0.1g を右眼に適用し、左眼を対照とした。適用後 3 分に 3 例の両眼を生理食塩水で洗浄し、6 例は洗浄しなかった。

試験項目： 適用後 1 時間、24 時間、48 時間、72 時間および 4 日に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize の方法に従って採点した。

結果：

試験群	刺激性変化		最高 評点	適用後時間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
		範 囲	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	1.0	1.2	0.3	0.2	0
		結膜浮腫	4	1.3	0.5	0	0	0
		分 泌 物	3	0.3	0.2	0	0	0
	合 計		110*	2.6	1.9	0.3	0.2	0
洗 眼 群 (3 匹平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
		範 囲	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	0.3	0	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	0
		分 泌 物	3	0	0	0	0	0
	合 計		110	0.3	0	0	0	0

* Draize の方法による計算値。

非洗眼群では適用後 1 時間に全例で結膜発赤（評点 1）および浮腫（評点 1～2）、1 例で分泌物（評点 1）が認められた。適用後 24 時間にも全例で結膜発赤（評点 1～2）が認められ、3 例で浮腫（評点 1）、1 例で分泌物（評点 1）が認められた。適用後 48 時間には 2 例で結膜発赤（評点 1）が認められたのみであった。適用後 72 時間にも 1 例で結膜発赤（評点 1）が認められたが、適用後 4 日には消失した。洗眼群では適用後 1 時間に 1 例で結膜発赤（評点 1）が認められたが、適用後 24 時間には消失し、洗眼効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

以上の結果より、本剤はウサギの眼に対して軽度の刺激性が認められたが、適用直後に洗眼することにより刺激性変化の発現を軽減できるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.15.6 ラグビーMC 粒剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料No.TF-1.6)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: マイクロカプセル剤

FMC67825 3%

担体、界面活性剤 97%

試験動物: Hartley 系モルモット、開始時 5~6 週齢、体重; 296~422g

1 群雌 20 匹 (対照群は各群雌 10 匹)

試験期間: 7 日間隔で 3 回感作処理後 2 週に誘発処理し、48 時間観察

(1998 年 11 月 10 日~12 月 10 日)

方法: (Buehler 法)

投与量設定根拠; 検体をオリーブオイルに懸濁し、調製および投与可能な 50%を最高濃度として以下 25、12.5、6.25、3.13 および 1.56%の懸濁液を調製し、4 匹の背部に 1 濃度当り 0.2ml ずつ 6 時間、閉塞貼付した。いずれの濃度でも皮膚に刺激性反応は認められなかったことから、本試験では感作および誘発濃度に 50%を設定した。

感作: 検体 50%オリーブオイル懸濁液 0.2ml をリント布 (2×2cm) に塗布して動物の刈毛した左側腹部に 6 時間、閉塞貼付した。この処理を 7 日間間隔で合計 3 回実施した。非感作群は未処理とした。
陽性対照群には、1.0% DNCB/80%エタノール溶液を同様に処理した。

誘発: 最終感作の 14 日後、刈毛した右側腹部に、検体 50%オリーブオイル懸濁液 0.2ml を感作処理と同様の方法で 6 時間処理した。
陽性対照群には、0.1% DNCB アセトン溶液を処理した。

試験項目: 誘発および再誘発後 24 時間および 48 時間に誘発処理部位の観察を行い、Magnusson and Kligman の方法に従って皮膚反応の強さを判定し、感作陽性率を算出した。

結果: 結果を以下に示す。

試験薬物		動物数	感作処理濃度 (%)	誘発処理濃度 (%)	皮膚反応陽性数		皮膚感作率 (%)
					24 時間	48 時間	
検体	試験部位	20	50	50	0	0	0
	対照部位	10	0	50	0	0	
DNCB	試験部位	10	1.0	0.1	10	10	100
	対照部位	10	0	0.1	0	0	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

検体投与群および検体非感作群ではパッチ除去後のいずれの観察時点でも皮膚反応が認められなかった。陽性対照群ではパッチ除去後 24 および 48 時間に浮腫を伴う強度の紅斑が全例で認められ、皮膚感作率は 100%であった。

以上の結果より、本剤は本試験条件下でモルモットに対し皮膚感作性がないと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

8.16 その他

8.16.1 ラグビーMC粒剤処理時の作業者の暴露とハウス内気中濃度について (資料 No. TF-2.1)

試験機関：

報告書作成年：

検体： 3%マイクロカプセル粒剤
カズサホス (マイクロカプセル封入) 3%
担体、界面活性剤等 97%

試験期間： 処理後 31 日間調査 (1998 年 9 月 8 日～1998 年 10 月 8 日)

試験方法： 検体を作付けしていないカマボコ型ビニールハウス (間口 4.5m、奥行き 15m、高さ 2.5m) 内に 30kg/10a の割合で検体を散布し、耕耘機を用いて土壤に混和した。散布には 3.5 分、その後の耕起混和を含めた作業時間は 23 分であった。

試験項目：

[作業者の被曝量]

- 1) 検体散布作業前に、作業者衣服外側の下記部位にガーゼパット (10×10cm) を貼付し、作業終了後直ちにこのガーゼパットを回収し、薬剤付着量をガスクロマトグラフ分析により測定した。

頭部、胸部、左背部、右背部、左肘部、右肘部、左膝部、右膝部

- 2) 作業者に 3M 防塵マスクを着用させ、作業終了時にマスクを回収、薬剤付着量測定した。
- 3) 作業者の口元付近にシリカゲルカラムを装着し、作業実施中、3 l/min の割合で吸引し、呼気域付近の空気を採取後、この空気中薬剤量を測定した。
- 4) 作業終了後、作業者に 200ml の蒸留水でうがいさせ、このうがい液中薬剤濃度を測定した。

[気中薬剤濃度]

ハウス中央部地上 0.5m、1.2m 及び 2.0m、ハウス入り口から 3m、地上 1.2m、及びハウス最奥部から 3m、地上 1.2m の 5 地点で以下に時点に各 2 時間毎分 3 l/min の割合で空気を捕集し、空気中薬剤濃度を測定した。

処理後 0～2 時間、3～5 時間、6～8 時間、1 日、3 日、6 日、13 日、20 日及び 31 日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

試験結果 :

[作業者の被曝量]

ガーゼパットに対する薬剤付着量及び推定被曝量を下表に示す。

		ガーゼパットの農 薬付着量 (μg)	体表面積の 割合 (%)	推定被曝量 (μg)	
身体 区分 被 曝 量	頭	<1.0	9	5	
	胸	6.9	18	209	
	背部	左	<1.0	9	9
		右	<1.0	9	12
	上肢	左	6.9	9	105
		右	4.1	9	62
	下肢	左	7.9	18	239
		右	9.1	18	276
推定全身被曝量		—	—	917	
農薬有効成分散布量		—	—	60g	
農薬被曝率		—	—	0.0015%	

作業者の呼吸域気中薬物濃度、マスク付着量及び口腔内薬剤暴露量を下表に示す。

呼吸域気中濃度	$5.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$
マスク薬剤付着量	$7.54 \mu\text{g}/\text{マスク}$
口腔内暴露量	痕跡程度

作業者に対する推定暴露量は $917 \mu\text{g}/65\text{kg}=14 \mu\text{g}/\text{kg}$ であり、ウサギにおける経皮投与での LD_{50} 値である $24\text{mg}/\text{kg}$ の約 $1/1700$ であった。また、呼吸域における気中薬剤濃度 $5.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ はラットにおける急性吸入毒性試験の LC_{50} 値 $26\text{mg}/\text{m}^3$ の約 $1/4700$ であった。したがって、経皮暴露及び吸入暴露による毒性的影響はほとんどないものと考えられる。マスクには $7.5 \mu\text{g}$ 程度の薬剤の付着が認められたが、マスク着用により、経気道あるいは経口摂取を防止できると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

[気中薬剤濃度]

ハウス内空気中薬剤濃度推移を下表に示す。

処理後	気中濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)					
	①	②	③	④	⑤	平均
0～2時間	1.44	1.26	1.00	1.66	0.71	1.21
3～5時間	1.33	1.37	1.24	1.13	0.89	1.19
6～8時間	0.88	1.24	1.56	1.32	2.13	1.43
1日	1.59	1.75	1.66	0.14	2.65	1.56
3日	0.28	0.21	0.39	0.50	0.56	0.39
6日	0.33	0.22	0.17	0.20	0.17	0.22
13日	1.15	0.16	0.23	0.31	0.14	0.39
20日	0.29	0.91	0.20	0.54	0.48	0.48
31日	1.15	0.07	0.09	0.21	0.26	0.36

①は入り口から3m、地上1.2m、②はハウス中央、地上2m、③はハウス中央、地上1.2m、
④はハウス中央、地上0.5m、⑤は最奥から3m、地上1.2m

気中薬剤濃度は処理当日及び翌日が最も高く、2日以降は急激に低下した。

9. 動物、植物及び土壌等における動態

<動態試験一覧表>

抄録番号	資料 No.	試験の種類及び項目	供試動物等	投与化合物 投与量・投与方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
9.1.1	M-1.1	動物における代謝試験 尿糞及び呼吸中排泄、組織内残留	雌雄ラット	¹⁴ C-FMC 67825 低用量 1mg/kg 3 投与群 1) 単回経口投与 2) 単回静脈投与 3) 反復経口投与* *：非標識体を 14 日間投与後 15 日目に ¹⁴ C 標識体を 1 回経口投与	<u>排泄</u> ：投与後 24 時間までに投与放射能の約 90%以上が排泄された。168 時間までの排泄率は 90～114%。 尿中排泄率：63～92%、糞中排泄率：4～13%、呼吸中排泄率：11～17% <u>経口投与後の推定吸収率</u> ：80～91% (静脈内投与後尿中排泄率に対する経口投与後尿中排泄率の比率) <u>組織内残留</u> ：投与後 168 時間での放射能の体内残留率は 1～2%。 肝臓、脂肪に比較的高濃度検出。 放射能動態に顕著な性差及び投与群差は認められない。		197
9.1.2	M-1.2	動物における代謝試験 尿糞及び呼吸中排泄、組織内残留	雌雄ラット	¹⁴ C-FMC 67825 高用量 20mg/kg 単回経口投与	<u>排泄</u> ：投与後 24 時間までに投与放射能の 91～95%が排泄された。168 時間までの排泄率は 103～108%。 尿中排泄率：75～79%、糞中排泄率：15%、呼吸中排泄率：13～14% <u>組織内残留</u> ：投与後 168 時間での放射能の体内残留率は 2%。 肺、肝臓に比較的高濃度検出。 放射能動態に性差は認められない。		203
9.1.3	M-1.3	動物における代謝試験 尿及び糞中代謝物	雌雄ラット	¹⁴ C-FMC 67825 低用量 1mg/kg 高用量 20mg/kg M-1 及び M-2 の 0-24 時間の尿糞試料を分析	 の生成も認められた。		207
9.2.1	M-2.1	植物における代謝試験 吸収、移行及び代謝分解	とうもろこし	¹⁴ C-FMC 67825 20%粒剤 播種時 2.7kg ai/ha 処理 処理後 30、60、78 及び 106 日後 (収穫期) に試料採取し分析	<u>総放射性残留物濃度 (TRR, 親換算)</u> ： 30 日茎葉；1.542ppm 60 日茎葉；0.845ppm 78 日生牧草；0.869ppm 106 日飼い葉；2.867ppm 106 日穀粒；0.230ppm		212

抄録番号	資料 No.	試験の種類及び項目	供試動物等	投与化合物 投与量・投与方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
9.2.2	M-2.2	植物における代謝試験 吸収、移行及び代謝分解	結実 初期 バナナ	¹⁴ C-FMC 67825 11.5%モノリポイト製剤 バナナ樹株元に 3.35g ai/樹処理 処理後 158 日に (収穫期) に試料採取。 緑色果実、成熟黄色果実及び葉を分析。	総放射性残留物濃度 (TRR, 親換算) : (2 樹のうち高い濃度を記載) 黄色果実果肉 ; 0.052ppm 黄色果実果皮 ; 0.031ppm 緑色果実果肉 ; 0.031ppm 緑色果実果皮 ; 0.038ppm 葉 ; 0.021ppm		217
9.2.3	M-2.3	植物における代謝試験 吸収、移行及び代謝分解	はつか だい こん	¹⁴ C-FMC 67825 9kg ai/ha 表層 10cm 土壌混和。 処理後 50 日 (収穫期) に試料採取。 根部及び茎葉部を分析。	総放射性残留物濃度 (TRR, 親換算) : 根部 ; 1.585ppm、茎葉 ; 5.027ppm、		222
9.3.1	M-3.1	好気性土壌における動態試験 (米国土壌)	シルト質 壤土	¹⁴ C-FMC 67825 3.04ppm 処理 水分含量 75% 培養温度 25°C 培養期間 90 日	FMC 67825 の半減期 : 11.3 日		229
9.3.2	M-3.2 及び M-3.3	好気性土壌における動態試験 (米国土壌)	シルト質 壤土 砂壤土	¹⁴ C-FMC 67825 3.0ppm 処理 水分含量 75% 培養温度 25°C 培養期間 120 日 M-3.2 : 分解速度及び代謝分解物 M-3.3 : 120 日後の結合性抽出残渣の分析	FMC 67825 の半減期 : シルト質壤土 ; 45 日、砂壤土 ; 45 日		233
9.3.3	M-3.4	好気性及び嫌気性土壌における比較動態試験 (米国土壌)	シルト質壤 土	¹⁴ C-FMC 67825 2.92ppm 処理 処理後 15 日目に注水により嫌気性条件へ転換 培養温度 25°C	嫌気性条件に転換後の半減期 : FMC 67825 ; 55 日 FMC 78121 (G) ; 16 日		238
9.3.4	M-3.7	圃場消失及び移動性 (米国圃場)	6試験地 10 圃場	FMC 67825 20%粒剤、6%乳剤 3.36 kg ai/ha 0-15、15-30、30-45、45-60cm 土層分析	FMC 67825 は主に表層 0-15cm に留まり分解。 処理 0 日後に 15-30cm 層で検出された以外、FMC 67825 の残留は 15cm より下層で認められない。		243

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

抄録 番号	資料 No.	試験の種類 及び項目	供試 動物等	投与化合物 投与量・投与方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
9.4.1	M-4.1	加水分解試験	滅菌緩 衝液 pH5、pH7 及びpH9	¹⁴ C-FMC 67825 3ppm 25°C	FMC 67825 の推定半減期： pH5；安定、pH7；安定、pH9；178.9日		247
9.4.2	M-4.2	加水分解試験	0.01～ 1N 塩酸 0.01～ 1N 水酸 化ナトリウム	¹⁴ C-FMC 67825 10ppm 1時間還流処理	FMC 67825 残存率： 0.01～1N 塩酸；93%以上 0.01～1N 水酸化ナトリウム；2%未満 酸性条件下で安定。 強アルカリ条件下で分解。		250
9.4.3	M-4.3	水中光分解 試験	滅菌蒸 留水、 非滅菌 自然水 (荒川河 川水)	非標識 FMC 67825 5ppm、25～27.7°C キセノンランプ 連続照射 36.5w/m ² (300-400nm) 404w/m ² (300-800nm)	推定半減期： 蒸留水；照射区 6.8日(太陽光換算値 32 日)、暗所区 1年以上 自然水；照射区 3.3日(太陽光換算値 15 日)、暗所区 1年以上		252
9.4.4	M-4.4	水中光分解 試験	滅菌蒸 留水	¹⁴ C-FMC 67825 5ppm、25°C 太陽光照射	FMC 67825 の半減期： 増感剤(アセトン)無添加照射区 174日 増感剤(アセトン)添加照射区 115日		254
9.5.1	M-3.5	土壌吸着試験 (日本土壌)	シルト質埴 壤土、 砂質埴 壤土、 軽埴土、 軽埴土	非標識 FMC 67825 土壌/水比=1/5 試験溶液濃度： 0.1、0.5、2、5ppm 添加溶液の実測濃度： 0.086、0.430、1.72 4.30ppm 試験温度 25°C	吸着平衡時間；24時間 ポイントリット吸着パラメーター： 土壌吸着係数(K _F ^{ads})；2.49～6.27 有機炭素吸着係数(K _F ^{ads} _{oc})；187～287 物質収支；98～103%		258
9.5.2	M-3.6	土壌吸着試験 (米国土壌)	砂土、 砂壤土、 シルト質埴 土、シルト 粘土質 土壌	¹⁴ C-FMC 67825 土壌/水比=1/5 試験溶液濃度： 5、50、100ppm 試験温度 25°C	吸着係数 K _F ^{ads} ；2～6 有機炭素吸着係数 K _F ^{ads} _{oc} ；144～351		261

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	略称	化学名	構造式
A	親化合物 (カスサホス)	FMC 67825	<i>S, S</i> -di- <i>sec</i> -butyl <i>O</i> -ethyl phosphorodithioate <i>S, S</i> -ジ- <i>sec</i> -ブチル=O-エチル=ホスホロジチオアト	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{SCHCH}_2\text{CH}_3)_2$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

記号	由来	略称	化学名	構造式