

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

8) 反復経口投与神経毒性

ラットにおける混餌投与による 28 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 No.T21)

試験機関：株式会社 化合物安全性研究所
〔GLP〕

報告書作成年：2007 年

検体の濃度：

試験動物： SD系 SPF ラット (5 週齢)、体重 114~181 g
1 群雄雌各 10 匹

観察期間： 28 日間 (雄：2007 年 3 月 28 日~4 月 25 日、雌：2007 年 3 月 29 日~4 月 26 日)

方法： 検体の 0 (対照)、10、30 および 100 ppm の混合飼料を、1 群につき雄雌各 10 匹の SD 系 SPF ラットに 28 日間摂取させた。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態および死亡率；全例について生死、外観、行動等を、投与開始日を投与 1 日として起算し、投与 1 日から 29 日まで観察した。投与 28 日までは毎日午前、午後の 2 回、投与 29 日は午前中に 1 回観察した。

各投与群 (10、30 および 100 ppm 群) の雄雌ともに、投与期間中に検体に関連した変化は認められなかった。

体重推移；全例について体重を、投与 1、4、8、11、15、18、22、25 および 29 日の午前中に測定した。

体重推移では、30 ppm 群雌で投与 4、8 および 29 日に有意な低値、100 ppm 群雄で投与 15 日、雌でも投与 4、8、18 および 29 日に有意な低値が

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

認められた。これらの変化は摂餌量の低値と相関していることから検体投与に関連した増加抑制と考えられた。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた体重 (g) を下表に示す。

投与後	雄 (ppm)				雌 (ppm)			
	対照	10	30	100	対照	10	30	100
投与 4 日	192.1	191.1	189.1	182.9	151.4	144.5	↓142.5	↓137.4
投与 8 日	229.2	225.9	222.0	217.7	165.0	156.8	↓154.9	↓152.4
投与 15 日	291.7	279.7	279.7	↓270.6	190.0	181.4	179.4	177.4
投与 18 日	310.2	299.3	301.9	293.5	202.8	189.5	188.6	↓183.9
投与 29 日	276.1	360.6	365.9	348.4	227.9	215.4	↓206.5	↓206.2

Dunnett の多重比較 : ↓ p ≤ 0.05、↓ p ≤ 0.01

摂餌量；全例について摂餌量を、投与 1、4、8、11、15、18、22、25 および 29 日の午前中に測定した。給与量から残量を減じた後、測定日間の日数で除して 1 日分の消費量を算出し、摂餌量とした。

30 ppm 群雄で投与 4~8、8~11 および 11~15 日、雌で投与 1~4、15~18 および 25~29 日に有意な低値、また、100 ppm 群雄で投与 11~15 日、雌で投与 1~4、11~15、15~18、22~25 および 25~29 日に有意な低値が認められ、この変化は検体に対する忌避による摂餌量の低下と考えられた。

10ppm 群では雄で投与 11~15 日にのみ有意な低値がみられ、この変化は偶発的な変化と考えられた。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた摂餌量 (g) を下表に示す。

投与後	雄 (ppm)				雌 (ppm)			
	対照	10	30	100	対照	10	30	100
投与 1-4 日	20.86	20.27	19.34	19.14	16.66	15.73	↓14.60	↓12.78
投与 4-8 日	23.56	22.47	↓21.26	21.75	17.07	17.18	15.58	15.80
投与 8-11 日	25.53	23.36	↓22.84	23.46	17.53	17.29	16.01	16.24
投与 11-15 日	27.15	↓24.40	↓23.79	↓24.59	18.20	17.18	16.24	↓15.77
投与 15-18 日	26.57	24.86	24.21	24.95	18.78	17.26	↓16.23	↓15.50
投与 22-25 日	26.84	25.20	24.94	25.07	17.50	18.04	16.37	▽15.35
投与 25-29 日	26.89	25.48	24.60	24.26	18.20	17.42	↓15.82	↓15.87

Dunnett の多重比較 : ↓ p ≤ 0.05、↓ p ≤ 0.01、Mann-Whitney の U 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アグロカネショウ株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均摂取量と飼料中検体濃度から算出した検体摂取量を下表に示す。

群	雄 (mg/kg/日)	雌 (mg/kg/日)
10 ppm 群	0.86	0.95
30 ppm 群	2.50	2.69
100 ppm 群	8.73	8.79

詳細な状態観察；全例について、投与開始前ならびに投与 7、14、21 および 28 日に以下の項目について実施した。

ケージ外から[体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動／回転・旋回、異常行動／自咬]

ケージから取り出す時[取り出し易さ、取扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、皮膚、眼、眼球および粘膜の外観、瞳孔径、流涙、流涎、その他分泌物の有無]

オープンフィールド内[歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動、排泄状態／排尿・排糞、常同行動／身繕い・首振り、異常行動／後ずさり・異常発生、攻撃性]

各投与群（10、30 および 100 ppm 群）の雄雌ともに検体投与に関連した変化は認められなかった。

機能検査；全例について、投与開始前ならびに投与 4 週に、以下の機能検査および測定を行った。

視覚刺激（接近反応）、触覚刺激（接触反応）、聴覚刺激（音に対する反応）、痛覚刺激（尾根部挟む）、固有受容器刺激（強制姿勢からの復帰）、空中正向反射、握力、自発運動量

投与開始前の 100 ppm 投与群に偶発的な変化と考えられる雌における後肢の握力の低値および雄における自発運動量の一過性の高値が認められたのみであり、投与 4 週には各投与群の雄雌ともに検体投与に関連した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アグロカネシヨウ株式会社にある。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

項目	雄 (ppm)				雌 (ppm)			
	対照	10	30	100	対照	10	30	100
検査時期\検査例数	10	10	10	10	10	10	10	10
<投与開始前>								
後肢の握力	224.80	245.97	208.26	235.53	271.31	241.76	259.94	↓215.54
自発運動量 0-10分	275.6	411.4	374.6	↑462.7	431.7	494.2	392.3	449.2
総運動量：0-60分	533.2	792.3	801.3	△870.9	1422.8	1470.5	1053.7	1438.9
<投与4週>								
後肢の握力	479.47	499.30	446.24	482.03	518.97	469.74	548.37	521.38
自発運動量 0-10分	467.7	598.1	435.4	542.7	634.1	690.5	519.4	675.1
総運動量：0-60分	1287.7	1630.1	1524.3	1505.9	2088.5	2241.2	1702.3	2149.6

Dunnettの多重比較 : ↑ $p \leq 0.05$ 、Mann-WhitneyのU検定 : △ $p \leq 0.05$

眼科学的検査；投与開始前（馴化期間中に実施）は全例、投与4週は対照群および高用量群（100 ppm 群）の全例について、散瞳させ、個々の動物の両眼についてスリットランプ及び眼底カメラを使用して観察した。

投与開始前では、いずれの供試動物にも両眼に異常は認められなかった。投与4週では、検査を行った100 ppm 群の雄雌ともに検体投与に関連した変化は認められなかった。

剖検所見；投与29日に、各群5例について、ペントバルビタールナトリウムによる深麻酔下にて全身灌流固定を行った。灌流固定後、以下の器官・組織を摘出し、肉眼的に観察した。摘出した器官・組織灌流固定液中に保存した。前脳および海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経および網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大、腰膨大、脊髄神経節、神経線維の前根および後根、近位の坐骨神経、近位の脛骨神経（膝部）および脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋（腓腹筋）

各投与群の雄雌ともに検体投与に関連した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アグロカネショウ株式会社にある。

病理組織学的検査；各投与群の灌流固定実験動物の全例について、保存組織全てをパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した。脊髄および末梢神経の切片は、横断面および縦断面の両方を含めて行った。

なお、末梢神経系組織の樹脂包埋標本を作製したが、末梢神経系に神経障害が疑われる所見は認められなかったため薄切標本は作製しなかった。

各試験群の雄雌ともに前脳および海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経および網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大、腰膨大、脊髄神経節、神経線維の前根および後根、近位の坐骨神経、近位の脛骨神経（膝部）および脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋（腓腹筋）のいずれにおいても、浮腫や空胞変性、退行性変性等は認められず、検体投与による神経系に対する毒性変化は認められなかった。

以上の結果から、検体投与に関連した変化として、30ppm 以上投与群雌雄における摂餌量の低下、30ppm 以上投与群雌及び 100ppm 投与群雄での体重増加抑制が認められた。

一方、神経毒性学的な変化は雌雄共に最高投与量の 100ppm においても認められなかった。

したがって、本試験条件下におけるシアナジン原体の一般毒性学的な無毒性量は雌雄共に 10ppm（雄：0.86 mg/kg/日、雌：0.95 mg/kg/日）、神経毒性学的な無毒性量は雌雄共に 100ppm（雄：8.73 mg/kg/日、雌：8.79 mg/kg/日）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アグロカネショウ株式会社にある。

9) 28日間反復投与遅発性神経毒性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

10) 2年間反復経口投与毒性及び発がん性

①ラットを用いた飼料混入投与による2年間慢性毒性試験

(資料 No.T22)

試験機関： トンストール研究所
(英国)

報告書作成年： 1970年

病理再検索： 癌研究所 (1978年)
順天堂大学

検体の純度：

試験動物： Carworth Farm 'E' 系ラット、投与群は1群雌雄各33匹、対照群は1群雌雄各66匹

投与後44週に投与群雌雄各9匹、対照群雌雄各18匹及び78週に一部の動物を病理解剖した。

投与期間： 2年間 (報告書に投与期間の詳細な記載なし)

投与方法： 検体を6、12、25及び50 ppmの濃度で粉末飼料中に混入し、2年間にわたり自由に摂取させた。
対照群には無処理の粉末飼料を与えた。

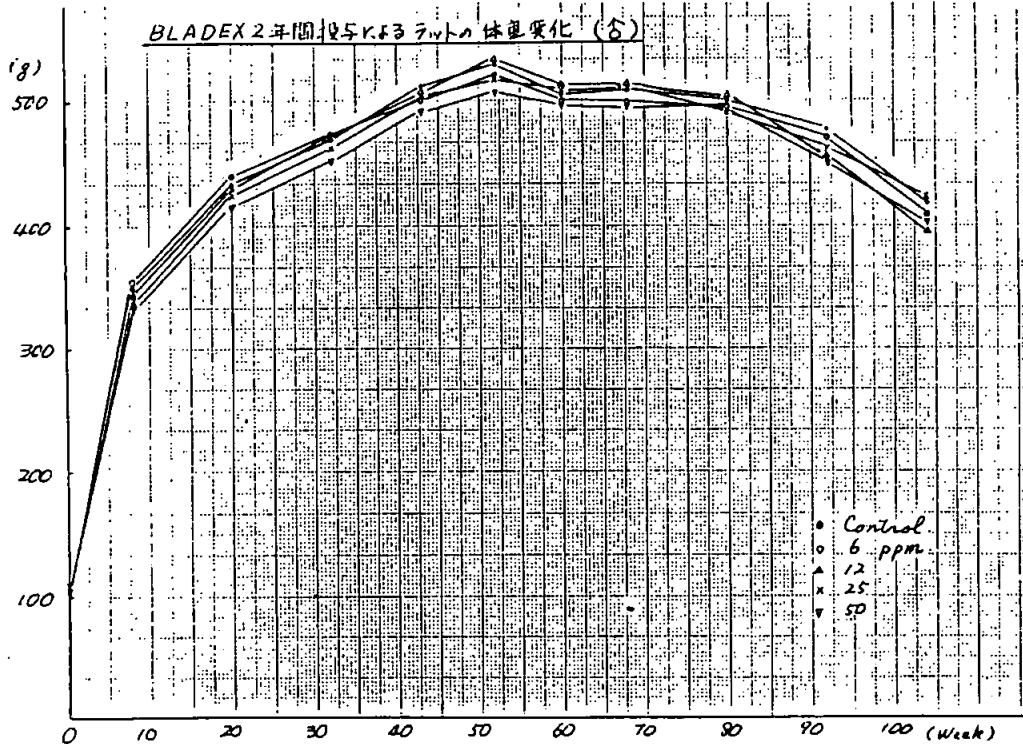
試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

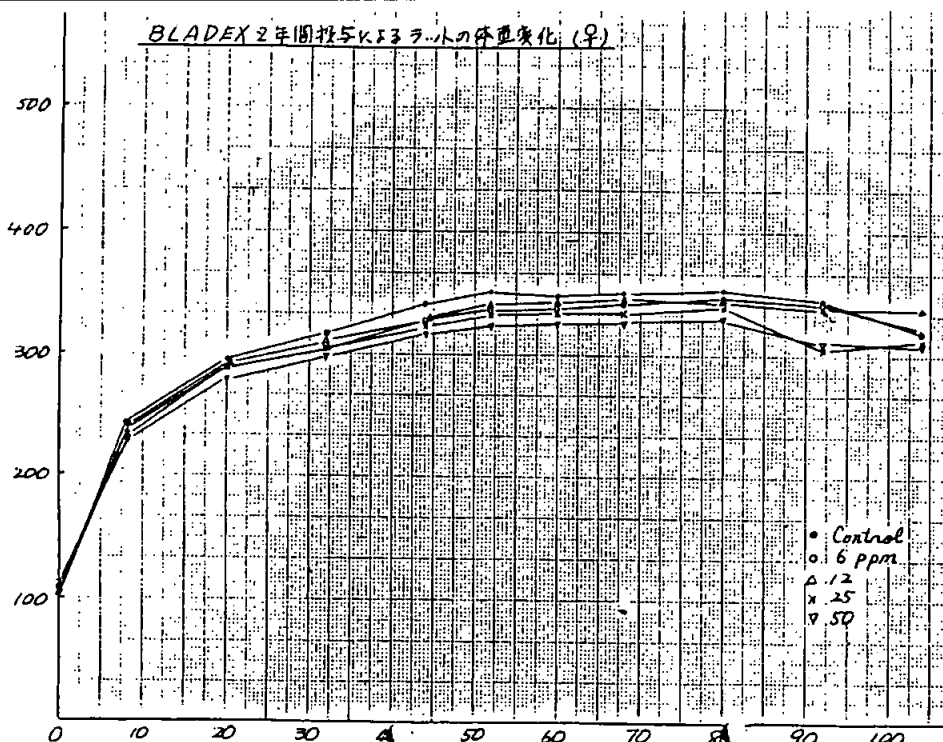
一般状態、行動及び生死を毎日観察したが、投与群と対照群の間に差はみられなかった。

体重変化； 投与開始時より13週までは週1回、それ以降4週に1回全ての生存動物の体重を測定した。

雄における体重変化



雌における体重変化



50 ppm 群雄では、試験期間を通して体重増加抑制がみられたが、試験後半の 96 週以降は、有意差がみられなかった。12 及び 25 ppm 群雄におい

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

でも有意な体重増加抑制がみられたが、最初の 12 週間のみであった。

雌では、全投与群で有意な体重増加抑制がみられる週もあったが、64 週以降も有意な体重増加の抑制がみられたのは、25 及び 50 ppm 群のみであった。

※統計検定は student の t 検定 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) を実施

摂餌量； 投与開始時より 13 週までは週 1 回、それ以降 4 週に 1 回全ての生存動物の摂餌量を測定した。

雄の各投与群で散発的に軽度の減少がみられたが、検体投与の影響とは考えられない。

雌の 25 及び 50 ppm 群で、24 週まで抑制がみられたが、その後は回復していることから、検体投与の影響ではないと考えられる。

検体摂取量；

投与量 (ppm)		6	12	25	50
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.32	0.65	1.31	2.69
	雌	0.38	0.77	1.62	3.24

血液学的検査；

投与後 44 週、78 週及び 104 週に心臓穿刺により採血し、赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球分画を測定した。

次頁に対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

投与群	6 ppm						12 ppm					
	雄			雌			雄			雌		
検査時期 (週)	44	78	104	44	78	104	44	78	104	44	78	104
Hb												
Ht						↓94						
RBC	↑107											
WBC												

投与群	25 ppm						50 ppm					
	雄			雌			雄			雌		
検査時期 (週)	44	78	104	44	78	104	44	78	104	44	78	104
Hb			↑117			↓91						
Ht			↑115			↓89						
RBC						↓88						
WBC											↑157	

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

散発的に変化がみられたが用量相関性がなく、いずれも検体投与による影響とは考えられない。

血液生化学検査；

投与後44週、78週及び104週に心臓穿刺により採血し、総蛋白、尿素窒素、ALP、GPT、Na、K、Cl及び蛋白分画を調べた。

次頁に対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を示した。

投与群	6 ppm						12 ppm					
	雄			雌			雄			雌		
検査時期 (週)	44	78	104	44	78	104	44	78	104	44	78	104
蛋白						↓97						
尿素窒素	↓95										↑118	
GPT												
Na												
K												

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

投与群	25 ppm						50 ppm					
	雄			雌			雄			雌		
検査時期 (週)	44	78	104	44	78	104	44	78	104	44	78	104
蛋白質					↑108						↑109	
尿素窒素	↑112				↑116						↑116	
GPT					↑136		↑143					
Na												↓97
K											↓67	

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

いくつかの項目でわずかな変化がみられたが、投与終了時にはほとんどの変化について対照群との差はみられず、また用量相関性のある変化も認められなかったため、これらの変化は検体投与の影響とは考えられなかった。

臓器重量；投与後 44 週、78 週及び 104 週に動物を屠殺し、脳、心、肝、腎及び精巣重量を測定した。

次頁に対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

投与群		6 ppm						12 ppm					
性別		雄			雌			雄			雌		
検査時期(週)		44	78	104	44	78	104	44	78	104	44	78	104
最終体重			↓94										
脳	絶対重量												
	比重量		↑106										
心	絶対重量		↓85										
	比重量												
肝	絶対重量												
	比重量	↓93											
腎	絶対重量												
	比重量												

投与群		25 ppm						50 ppm					
性別		雄			雌			雄			雌		
検査時期(週)		44	78	104	44	78	104	44	78	104	44	78	104
最終体重													
脳	絶対重量												
	比重量												
心	絶対重量		↓78										
	比重量		↓80										
肝	絶対重量												
	比重量												
腎	絶対重量					↑129							
	比重量					↑133							

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

78 週解剖時の脳、肝及び腎比重量ならびに心絶対重量に変化がみられたが
いずれも用量相関性がなく、検体投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；

投与後 44 週、78 週及び 104 週に動物を病理解剖し、肉眼的病理検査を行
った。

検体投与に関連した異常は認められなかった。

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アグロカネショウ株式会社にある。

投与後 44 週、78 週及び 104 週に動物を病理解剖し、中枢神経、心、肝、脾、腎、生殖腺、胃、膵、リンパ節、前立腺、胸腺、副甲状腺、肺、副腎、小腸、大腸、舌下腺、膀胱、子宮を常法に従い病理組織標本とし、ヘマトキシリン・エオジン染色をして鏡検した。

対照群を含む各群で、週齢の増加にともない慢性腎症の発生頻度及び病変の重症度が増加し、同時に多発性動脈炎の合併がみられた。

多発性動脈炎は主として膵及び腸間膜にみられ、腎、脾、甲状腺、心、精巣、卵巣、肝、腸管にもみられた。

消化管には寄生虫（線虫）がしばしばみられた。胃には加齢にともない固有粘膜の萎縮とリンパ濾胞の増生がみられた。

肝ではグリソン氏鞘における小胆管の増生がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

主要な非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	6	12	25	50	0	6	12	25	50
44週屠殺	肝	小胆管増殖	3 (3)				4 (5)	11(11)				5 (4)
	腎	慢性腎症	16(16)				3 (9)	11(13)				5 (7)
	心	線維化	3 (3)				1 (0)	4 (4)				0 (0)
	脾	ヘモジデリン沈着	3 (0)				4 (0)	13 (0)				5 (0)
	胃	底腺の拡張	5 (0)				1 (0)	5 (0)				3 (0)
	結腸	線虫	10(11)				3 (4)	1 (1)				2 (2)
	肺	細気管支周囲炎	6 (7)				6 (7)	4 (4)				3 (3)
	甲状腺	コロイドろ胞	10(11)				6 (6)	1 (1)				0 (0)
	精巣	萎縮	2 (2)				0 (0)					
		検査動物数		17(17)				9 (9)	18(18)			
78週屠殺及び途中死亡	肝	小胆管増殖	4 (3)	0 (0)	2 (2)	2 (2)	0 (0)	4 (4)	0 (0)	2 (1)	2 (2)	3 (4)
	腎	慢性腎症	13(21)	5 (8)	5 (8)	8(10)	3 (4)	12(12)	3 (3)	9(11)	9(10)	4 (6)
	心	線維化	3 (5)	1 (2)	2 (3)	2 (4)	0 (0)	3 (3)	1 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)
	副腎	反質結節性肥大	2 (3)	1 (1)	1 (0)	2 (2)	2 (1)	4 (1)	2 (2)	4 (4)	0 (1)	1 (0)
	結腸	線虫	2 (3)	2 (2)	2 (2)	3 (2)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	2 (2)	3 (3)	0 (0)
	肺	細気管支周囲炎	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (2)	2 (0)
		脂質含有マクロファージ	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (3)	2 (2)	4 (3)
	甲状腺	コロイドろ胞	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)
	精巣	萎縮	2 (4)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)					
	多発性動脈炎		1 (1)	3 (2)	2 (2)	1 (1)	0 (0)	4 (4)	1 (1)	2 (2)	3 (3)	0 (0)
	検査動物数		28(28)	12(12)	10(10)	10(10)	8 (8)	24(24)	9 (9)	18(18)	11(11)	9 (9)
104週屠殺	肝	小胆管増殖	6 (6)	3 (3)	3 (4)	0 (0)	1 (1)	11(11)	7 (7)	2 (4)	7 (5)	7 (7)
		結節性肥大	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	1 (2)	1 (2)	1 (0)	1 (0)	4 (4)
	腎	慢性腎症	18(18)	8 (9)	12(12)	14(14)	12(13)	15(18)	10 (9)	6 (6)	7(11)	11(12)
	心	線維化	15(16)	6 (6)	8 (9)	9 (8)	4 (4)	14(10)	8 (8)	3 (3)	3 (1)	9 (9)
	結腸	線虫	12(12)	3 (3)	8 (9)	4 (5)	1 (1)	8 (7)	5 (5)	2 (2)	7 (7)	6 (6)
	肺	細気管支周囲炎	2 (0)	2 (2)	0 (0)	3 (2)	2 (2)	2 (3)	2 (2)	2 (2)	1 (0)	5 (2)
		脂質含有マクロファージ	1 (0)	1 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	10(10)	5 (5)	3 (3)	8 (8)	9 (9)
	甲状腺	コロイドろ胞	0 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (2)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (1)	1 (0)
	精巣	萎縮	7 (5)	4 (4)	5 (5)	5 (4)	1 (1)					
	多発性動脈炎		6 (4)	6 (5)	3 (4)	3 (3)	3 (3)	7 (7)	4 (4)	1 (1)	7 (7)	2 (3)
	検査動物数		19(19)	9 (9)	13(13)	14(14)	14(14)	22(22)	12(12)	8 (8)	11(11)	15(15)

()内の数字は、癌研/順天堂大による再検索の結果を示す。

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

甲状腺では、嚢腫と大小コロイド濾胞の形成がしばしばみられた。また、副腎皮質細胞の嚢胞化、結節性肥大がみられた。

以上のように、各種臓器に組織学的な変化がみられたが、いずれの変化も投与量との相関性はなく、検体投与の影響とは考えられなかった。

腫瘍発生率 (%) を下表に示した。

投与群 (ppm)	0		6		12		25		50	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
途中屠殺例 又は死亡例	48	85	67	100	75	73	43	63	57	83
104 週屠殺例	58	77	89	75	77	50	79	69	79	87

腫瘍の発生頻度に関して、検体投与の影響はみられなかった。

以上の結果から、本剤の 2 年間反復経口投与毒性試験における影響として、雄 50 ppm 群、雌 25 ppm 及び 50 ppm 群で有意な体重増加抑制がみられたので、無毒性量は雄 25ppm (1.31 mg/kg/日)、雌 12 ppm (0.77 mg/kg/日) 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アグロカネショウ株式会社にある。

悪性腫瘍

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投 与 量 (ppm)		0	6	12	25	50	0	6	12	25	50
0~43 週	(腫瘍発生なし)											
	検 査 動 物 数		1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
44 週	(腫瘍発生なし)											
	検 査 動 物 数		17(17)				9 (9)	18(18)				9 (9)
45 77 週	皮 膚	基底細胞癌	1 (1)									
	腎	未分化癌*	1 (0)									
	脾	未分化癌*	1 (0)									
	腹 膜	未分化癌*	1 (0)									
	尿 道	筋肉腫			0 (1)							
	全 身	リンパ肉腫							1 (1)			
	検 査 動 物 数		7 (7)	1 (1)	4 (4)	2 (2)	5 (5)	12(12)	3 (3)	3 (3)	4 (4)	3 (3)
78 週	脳	星状細胞腫				1 (1)						
	肝	細胞癌						1 (0)				
	検 査 動 物 数		5 (5)		2 (2)	3 (3)	1 (1)	4 (4)		4 (4)	3 (3)	3 (3)
79 103 週	皮 膚	潰瘍性癌	1 (1)									
	小 腸	腺癌	1 (0)									
	甲状腺	腺癌	1 (0)	2 (1)				2 (2)			1 (0)	1 (1)
	後 肢	基底細胞癌	1 (1)									
	皮 膚	扁平上皮癌		1 (1)				1 (1)				
	脾	未分化癌*					1 (1)					
	大動脈	癌						1 (0)				
	乳 腺	腺癌							1 (1)	1 (1)		1 (1)
	肝	細胞癌								1 (1)		
	全 身	リンパ肉腫								1 (1)		
	骨 盤	軟骨肉腫								0 (1)		
	悪 性 松果体	腺腫	1 (1)									
	後 肢	血管肉腫		1 (1)								
	頸	退形成性腺癌			0 (1)							
検 査 動 物 数		15(15)	10(10)	4 (4)	5 (5)	2 (2)	8 (8)	6 (6)	11(11)	4 (4)	2 (2)	
104 週	甲状腺	腺癌	4 (2)	2 (2)	2 (0)	3 (2)	1 (1)	6 (5)	1 (1)	1 (0)	1 (1)	2 (2)
	皮指腺	上皮癌							1 (1)			
	大髄筋	血管肉腫								1 (1)		
	下垂体	腺癌			0 (1)							0 (1)
	検 査 動 物 数		19(19)	9 (9)	13(13)	14(14)	14(14)	22(22)	12(12)	8 (8)	11(11)	15(15)

*anaplastic carcinoma

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

良性腫瘍

検査時期	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	6	12	25	50	0	6	12	25	50	
0-43週			(腫瘍発生なし)										
	検査動物数		1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
44週	甲状腺	腺腫	0 (1)					2 (2)				1 (1)	
	検査動物数		17(17)				9 (9)	18(18)				9 (9)	
45 77週	尿道	線維腫			1 (0)								
	唾液腺	粘液腫			1 (1)								
	甲状腺	腺腫			1 (1)		1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)	
	精巣	間質細胞腫				1 (1)							
	副腎	髓質細胞腫					1 (1)						
	神経	線維腫					1 (1)						
	乳腺	線維腺腫						9 (6)	1 (1)	3 (2)	1 (0)	2 (2)	
		腺腫						1 (1)		0 (1)			
	副腎	皮質腺腫									1 (0)		
	下垂体	腺腫						0 (1)			1 (1)		
	脳	上皮腫										1 (1)	
	肝	芽細胞腫	(1)										
検査動物数		7 (7)	1 (1)	4 (4)	2 (2)	5 (5)	12(12)	3 (3)	3 (3)	4 (4)	3 (3)		
78週	下垂体	腺腫	1 (1)							1 (1)	1 (1)		
	上皮小体	腺腫			1 (0)								
	皮膚	乳頭腫					1 (1)						
	乳腺	腺腫						1 (1)					
	甲状腺	腺腫			0 (1)			2 (2)			1 (1)	1 (1)	
	肝	腺腫						0 (1)					
	乳腺	線維腺腫								1 (1)			
検査動物数		5 (5)		2 (2)	3 (3)	1 (1)	4 (4)		4 (4)	3 (3)	3 (3)		
79 103週	副腎	髓質細胞腫	3 (3)	3 (3)	2 (2)	1 (1)		1 (1)					
		皮質腺腫	1 (1)					1 (0)					
	十二指腸	腺腫	1 (1)										
	脾	島細胞腺腫		1 (1)					1 (1)				
	下垂体	腺腫		2 (2)		1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)				
	頸	乳頭腫		1 (1)									
		指腺腺腫		1 (1)									
	前肢神経	線維腫		1 (1)									
	甲状腺	腺腫	(1)	0 (1)	1 (1)		1 (1)		2 (2)	3 (2)	0 (1)		
	乳腺	線維腺腫						3 (3)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	
腺腫								1 (1)					
検査動物数		15(15)	10(10)	4 (4)	5 (5)	2 (2)	8 (8)	6 (6)	11(11)	4 (4)	2 (2)		

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投 与 量 (ppm)		0	6	12	25	50	0	6	12	25	50
104 週	甲状腺	腺腫	3 (3)	4 (4)	4 (4)	2 (3)	7 (5)	3 (3)	2 (2)	2 (3)	4 (3)	3 (3)
	副 腎	褐色細胞腫	1 (1)	4 (2)	4 (4)	7 (5)	4 (3)	3 (2)		1 (1)		2 (0)
	下垂体	腺腫	2 (2)	1 (1)	2 (1)	3 (3)	3 (3)	7 (6)	4 (4)	2 (2)	2 (2)	3 (2)
	副 腎	皮質腺腫	1 (0)				2 (1)	2 (1)		2 (2)	0 (1)	1 (1)
	腎	腺腫		1 (1)			1 (1)	0 (1)				
	膵	島細胞腺腫			1 (1)			1 (1)	1 (0)		1 (1)	1 (0)
	精巣	間質細胞腫					1 (1)					
	乳 腺	線維腺腫						3 (1)	4 (3)	3 (3)	1 (1)	4 (4)
		腺腫						1 (3)	0 (1)			
	頸	乳頭状腺腫						1 (1)				
	甲状腺	髓質腫							1 (1)			
	脳	髄膜腫									1 (0)	
	子 宮	平滑筋腫										1 (1)
		内膜乳頭状腺腫										1 (0)
検 査 動 物 数			19(19)	9 (9)	13(13)	14(14)	14(14)	22(22)	12(12)	8 (8)	11(11)	15(15)

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

腫瘍のまとめ

性 別	雄					雌				
	0	6	12	25	50	0	6	12	25	50
投 与 量 (ppm)										
良 性 腫 瘍 数	13(15)	19(18)	18(16)	15(14)	23(19)	43(38)	21(20)	22(22)	16(14)	24(19)
悪 性 腫 瘍 数	13 (6)	6 (5)	2 (3)	4 (3)	2 (2)	11 (8)	3 (4)	5 (4)	2 (1)	4 (5)
総 腫 瘍 数	26(21)	25(23)	20(19)	19(17)	25(21)	54(46)	24(24)	27(26)	18(15)	28(24)
腫 瘍 動 物 数	21(19)	15(15)	15(16)	15(15)	16(15)	41(33)	16(19)	19(17)	15(11)	19(16)
検 査 動 物 数	64(64)	21(21)	23(23)	24(24)	31(31)	64(64)	21(21)	26(26)	22(22)	33(33)

()内の数字は、癌研/順天堂大による再検索の結果を示す。

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

② ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 No.T23)

試験機関： トンストール研究所
(英国)

報告書作成年： 1973年

検体の純度：

試験動物： Carworth Farm E系ラット、1群雌雄各34匹（ただし、対照群は雌雄各58匹）。

投与後、26及び52週時に各群雌雄各5匹を中間屠殺した。

投与期間： 2年間（報告書に投与期間の詳細な記載なし）

投与方法： 検体を0、1、3及び25 ppmの濃度で粉末飼料に混合し、24ヵ月間にわたって随時摂食させた。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

一般状態及び生死を毎日観察した。投与後、3ヵ月時に、対照群を含む全群で痙攣が認められたが、用量相関性がみられず、投与によるものとは考えられなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量(ppm)	0	1	3	25
雄	75%	63%	58%	63%
雌	60%	47%	63%	58%

各投与群の死亡率は対照群と比べて少なく、投与による影響はなかった。

体重変化； 投与開始から13週間は週1回、その後は4週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。25 ppm投与群の雌雄で、投与開始から52週時までの

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

間、対照群と比べ有意な体重増加抑制が認められた。

摂餌量；投与開始から13週間は週1回、その後は4週間に1回すべての生存動物の摂餌量を測定した。対照群と比較して、各投与群で軽度な摂餌量の変化が散見されたが、統計的な変化がみられなかったため、投与による影響とは考えられなかった。

検体摂取量；

投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		1	3	25
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.05	0.15	1.25
	雌	0.05	0.15	1.25

※INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY : Environmental Health Criteria 104 : Principles for the Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food (1990)の AnnexII. Approximate relation of parts per million in the diet to mg/kg body weight per daya)に基づき申請者が計算

血液学的検査；

投与後26、52及び104週時に、心臓穿刺により採血し、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、白血球数百分比（対照群及び25ppm投与群のみ）、プロトロンビン時間、部分トロンボプラスチン時間を測定した。検査動物数及び対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査時期	性別 投与量(ppm)	雄				雌			
		0	1	3	25	0	1	3	25
26週	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	ヘマトクリット							↑105	
	白血球						↑123	↑134	
	部分トロンボプラスチン時間		↑110		↑110				↑112
52週	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	白血球			↑126					
104週	検査動物数	12	9	10	9	19	11	9	10
	ヘモグロビン			↓89					
	ヘマトクリット			↓89					
	赤血球			↓90					

統計学的方法：t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

各検査時期のいくつかの項目で、統計学的有意な変化が認められたが、い

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

いずれも用量相関性のある変化ではなく、投与による影響とは考えられなかった。

血液化学的検査；

上記の血液学的検査における同一の検査時期に、同一の動物を対象として、その血液を用いて、血清尿素窒素、総蛋白、Na、K、Cl、血漿アルカリホスファターゼ、GPT、アルブミン及びグロブリン分画を測定した。対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査時期	性 別 投与量(ppm)	雄			雌		
		1	3	25	1	3	25
26 週	総蛋白		↑ 103				
52 週	血清尿素窒素	↓ 85			↓ 85		↓ 85
	GPT				↓ 80	↓ 80	
104 週	総蛋白				↑ 108		
	血清尿素窒素				↓ 82		
	Cl		↑ 103				

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

各検査時期のいくつかの項目で、統計学的有意な変化が認められたが、いずれも用量相関性のある変化ではなく、投与による影響とは考えられなかった。

臓器重量； 投与後 26 及び 52 週時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち、脳、心、肝、腎及び精巢の重量を測定した。また、比重量（対体重比）も算出した。次頁に対照群と比較して統計学的有意差を示した項目を表記する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	性別		雄			雌		
	投与量(ppm)		1	3	25	1	3	25
26週	最終体重*				↓ 96			
	脳	絶対重量						
		比重量		↓ 95	↓ 94			
	心	絶対重量						
		比重量			↓ 87			
52週	最終体重				↓ 97			
	脳	絶対重量						↓ 95
		比重量						
	心	絶対重量						
		比重量	↑ 111		↑ 110			
	腎	絶対重量			↓ 85			
		比重量						
	精巣	絶対重量						
比重量			↓ 85					
104週	最終体重							
	脳	絶対重量			↓ 97			
		比重量		↑ 109				
	肝	絶対重量	↓ 85	↓ 84				
		比重量						
	腎	絶対重量		↓ 86				
		比重量						

統計学的方法：t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

※24週時の体重を示す。

各検査時期のいくつかの臓器で、絶対重量または比重量に統計学的有意差が散見されたが、対照群と比べて差が小さく、用量相関性もなく、また病理学的変化が認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；

投与後26及び52週時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、検査を行った。

各検査時期の各動物で、検体投与によると思われ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アグロカネショウ株式会社にある。

病理組織学的検査；

投与後 52 週時の対照群及び 25 ppm 投与群の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、主要臓器について病理標本を作製し、検鏡した。

主要な非腫瘍性病変の発生頻度を表 1、腫瘍性病変の発生頻度を表 2 及び 3 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

表 1. 主要な非腫瘍性病変

検査時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (ppm)		0	1	3	25	0	1	3	25
52 週 中間屠殺	検 査 動 物 数		5	0	0	5	5	0	0	5
	肝	細管過形成	3			2	3			3
	腎	ネフローゼ	5			4	3			2
	脾	ヘモジデリン沈着	4			4	4			5
途中死亡	検 査 動 物 数		36	15	12	15	28	12	15	13
	心	線 維 症	15	4	7	7	5	2	4	3
	肝	細管増殖	11	5	5	2	12	2	3	1
		造 血	8	1	1	1	7	5	2	2
	腎	ネフローゼ	36	11	12	15	17	10	12	10
	副 腎	皮質過形成	9	2	5	4	10	2	8	5
	脾	ヘモジデリン沈着	16	3	3	3	14	4	5	8
		髓外造血	3	3	0	3	3	4	2	1
	腸	線 虫	5	3	2	3	4	1	1	4
	精 巢	萎 縮	12	2	2	1	—	—	—	—
卵 巢	囊 胞	—	—	—	—	4	3	1	2	
最終屠殺	検 査 動 物 数		12	9	12	9	20	11*	9	11
	心	線 維 症	11	9	10	9	16	11	8	11
	肝	細管増殖	2	4	5	2	10	2	1	4
		造 血	1	0	0	2	2	1	0	1
	腎	ネフローゼ	11	8	12	9	19	12	9	10
	副 腎	皮質過形成	8	3	4	4	9	7	6	7
	脾	ヘモジデリン沈着	2	1	5	2	10	8	3	6
		髓外造血	5	1	3	2	13	9	4	6
	腸	線 虫	9	3	7	3	7	2	6	5
	精 巢	萎 縮	3	3	6	5	—	—	—	—
卵 巢	囊 胞	—	—	—	—	3	3	0	3	

* 別の群用の飼料を与えたため、1匹を除外した。

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 2. 良性腫瘍

検査時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (ppm)		0	1	3	25	0	1*	3	25
0~51 週	検 査 動 物 数		2	3	0	3	1	2	2	2
	乳 腺	線維腺腫						1	1	
52 週 中間屠殺	検 査 動 物 数		5	0	0	5	5	0	0	5
	甲状腺	腺 腫	1	-	-	1		-	-	
	乳 腺	腺 腫		-	-			-	-	1
53~ 78 週	検 査 動 物 数		13	5	4	6	13	3	4	4
	胃	乳 頭 腫	1							
	副 腎	褐色細胞腫	1							
	下垂体	腺 腫	1							1
	甲状腺	腺 腫	1				2			
	乳 腺	線維腺腫					5	1	2	1
79~ 103 週	検 査 動 物 数		21	7	8	6	14	6	9	7
	肝	細胞腺腫								1
	腎	血管腫					1			
	副 腎	褐色細胞腫	3	2		1				
		皮質腺腫	1	1						
	脾	島細胞腺腫	1				1			
	下垂体	色素嫌性腺腫			1	1				1
	甲状腺	腺 腫			1	1	3	1		
乳 腺	線維腺腫					9	3	4	5	
最終屠殺	検 査 動 物 数		12	9	12	9	20	12	9	11
	腎	明細胞腺腫	1		1					
		乳頭状腺腫		1						
		血管腺								1
	副 腎	褐色細胞腫	4	4	6	2			2	1
		皮質腺腫		1						
	脾	島細胞腺腫	2		2		3			
	下垂体	色素嫌性腺腫	2			1	3	5	1	3
		好塩基性腺腫					1	2	1	
	甲状腺	腺 腫			3		4	3	1	2
	皮膚	線 維 腫		1						
	腸間膜	血管腫	1							
		線維腺腫								
	乳 腺	線 維 腫					2	4	1	3
		線 維 腫								1
卵 巢	嚢胞腺腫					1				
子 宮	血管腫					1				
子宮頸管	線 維 腫								1	

* 別の群用の飼料を与えたため、1匹を除外した。

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 3. 悪性腫瘍

検査時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (ppm)		0	1	3	25	0	1*	3	25
0~51 週	検 査 動 物 数		2	3	0	3	1	2	2	2
	心	退形成性癌		1						
	肺	退形成性癌		1						
	皮下組織	退形成性癌		1						
	皮 膚	線維肉腫					1			
	乳 腺	癌							1	
52 週 中間屠殺	検 査 動 物 数		5	0	0	5	5	0	0	5
			(腫 瘍 発 生 な し)							
53~ 78 週	検 査 動 物 数		13	5	4	6	13	3	4	4
	全 身	リンパ肉腫					1			
	脳	星状細胞腫						1		
	腎	明細胞癌	1							
79~ 103 週	検 査 動 物 数		21	7	8	6	14	6	9	7
	全 身	リンパ肉腫						1		
	下垂体	癌	1							
	乳 腺	乳 腺 癌								1
	唾液腺	癌			1					
最終屠殺	検 査 動 物 数		12	9	12	9	20	12	9	11
	肝	細 胞 癌							1	
	腎	明細胞癌	1			1	1			
	膵	ラ島細胞癌							1	
	下垂体	癌								1
		色素嫌性癌					1			
	膀胱	癌					1			
	皮 膚	扁平上皮癌				1				
卵 巢	細網肉腫						1			

* 別の群用の飼料を与えたため、1匹を除外した。

統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

52 週時に中間屠殺した動物では、対照群を含む全群（1 及び 3ppm 投与群は検査を実施せず）の雌雄で肝の細管過形成、腎のネフローゼ及び脾のヘモジデリン沈着が認められたが、いずれの変化も検体投与によるものとは考えられなかった。

104 週時に屠殺した動物または途中死亡した動物では、心の線維症、肝の細管過形成、腎のネフローゼ、副腎皮質過形成、脾のヘモジデリン沈着及び髓外造血が対照群を含む全群の雌雄に高頻度で認められたが、いずれの変化も検体投与によるものとは考えられなかった。

良性腫瘍及び悪性腫瘍の発生頻度を表 2 及び表 3 に示す。腫瘍性病変としては、特に乳腺の線維腺腫、副腎の褐色細胞腫、下垂体の色素嫌性腺腫及び甲状腺腺腫が本系統においては高かった。ただし、検体投与に関連した発生率の上昇及び早期化を示すことはなかった。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表のとおりであり、腫瘍の発生頻度に検体投与による影響は認められなかった。

性 別		雄				雌			
投 与 量 (ppm)		0	1	3	25	0	1	3	25
検 査 動 物 数		53	24	24	29	53	23	24	29
腫瘍数	良 性	20	10	14	7	36	20	13	22
	悪 性	3	3	1	2	5	3	3	2
腫 瘍 総 数		23	13	15	9	41	23	16	24
腫 瘍 動 物 数		20	11	12	8	31	18	16	14

以上の結果から、本剤の 2 年間飼料混入投与による反復経口投与毒性試験における影響として、25 ppm 投与群で体重増加抑制がみられたので、無毒性量は 3 ppm（雌雄ともに 0.15 mg/kg/日※）であると判断される。

※申請者の計算値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

③ ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験
(資料 No.T24)

試験機関：デュポン社ハスケル研究所
(米国) [GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検体の純度：

試験動物：[CrI: CD®BR] 系ラット、1群雌雄各62匹、
開始時体重範囲 雄 32.5~63.3g、雌 36.7~62.5g
投与後12ヵ月時に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

試験期間：2年間(1987年7月9日~1989年7月14日)

投与方法：検体を0、1、5、25及び50 ppmの濃度で直接飼料に混入し、2年間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は週1回調製した。

<投与量設定根拠>

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

試験項目及び結果：

死亡率； 生死を毎日観察した。

下表に示すように、50 ppm 投与群雄では生存率が対照群と比較して統計学的に有意に高く、試験期間中の体重増加量の抑制による二次的影響であると考えられる。

雌には、統計学的に有意な影響は認められなかった。

投与量(ppm)	雄		雌	
	死亡数 ^a	生存率(%)	死亡数 ^a	生存率(%)
0	35/52	33	31/52	40
1	32/52	38	26/52	50
5	34/52	35	27/52	48
25	32/52	38	29/52	44
50	23/52*	56	23/52	56

a：分母は供試動物数、ただし中間屠殺動物を除く。

分子は事故死及び切迫屠殺動物を含む。

統計学的方法：Fisher の直接確率法、*： $p \leq 0.05$

一般状態； 一般状態を毎日観察した。

50 ppm 群雄で過敏反応の発現頻度に統計学的に有意な増加が認められたが、雌ではこのような傾向は認められず、その他に関連した行動の異常も認められなかったので、偶発的な変化であり、検体投与には関連がないと考えられた。

50 ppm 群雄では立毛の発現頻度に有意な減少が認められたが、毒性学的意義はないと考えられた。50 ppm 群雌では、対照群に比較して鼠径部における腫瘍の発現頻度に有意な増加が認められた。雌における鼠径部の腫瘍及び総腫瘍の発現頻度は、乳腺の腫瘍及び乳腺の腺癌または癌肉腫の発現頻度の増加と関連があった。腫瘍の発現頻度を表 1 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 1. 腫瘍の発現頻度

発現部位 投与群 (ppm)	雄					雌				
	0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
検査動物数	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62
腹部	0	2	2	1	0	9	7	16	10	11
背部	5	6	1	5	4	1	0	1	0	0
胸部	2	0	3	1	0	10	6	5	7	11
耳	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0
顎	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
顔面	1	4	1	1	3	1	1	0	1	2
頭部	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
腰部	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
鼠径部	14	15	16	16	8	27	24	30	36	41*
脚部	1	2	1	1	3	0	0	0	0	1
口	1	0	1	0	2	0	1	1	2	1
頸部	2	2	0	1	1	1	0	2	2	3
鼻	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
陰茎	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
足底	0	0	0	0	0	7	2	6	10	14
会陰部	0	1	1	0	0	2	1	1	3	4
陰囊	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
肩甲部	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
側腹部	2	4	5	6	6	20	15	20	22	27
尾	1	1	0	0	2	0	0	0	0	0
精巣	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
合計	25	27	25	23	28	38	38	42	40	51*
初発日中央値	469	357	455	553	462	406	427	427	370	343

統計学的方法 : Bonferroni の補正後 Fisher の直接確率法、* : $p \leq 0.05$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

体重変化；最初の6ヵ月は毎週、その後は2週間に1回、全生存動物の体重を測定した。

25及び50 ppm群では、雌雄とも体重増加率に検体投与に関連した減少が認められた。これらの体重増加の抑制は、全てが摂餌量の減少で説明できるものではなかった。

体重変化を表2に示す。

その他の投与群には、検体投与による影響が認められなかった。

表2. 体重増加量

時 期 \ 投与量 (ppm)	体 重 (g)									
	雄					雌				
	0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
0 ~ 91日	402.8	408.1	396.4	381.6	347.8*	151.4	156.1	153.9	135.5*	133.5*
91 ~ 182日	119.1	108.8	105.3*	105.0*	84.7*	55.6	56.2	64.9	49.7	46.5
182 ~ 371日	117.1	114.4	113.9	104.7	90.1*	92.1	107.5	100.8	75.9	70.0*
0 ~ 371日	641.0	630.7	614.6	595.0*	509.9*	296.9	317.2	315.5	259.0*	249.9*
371 ~ 721日	-8.7	-47.7	36.7	6.5	12.8	68.3	107.9	73.1	75.4	66.4
0 ~ 721日	630.6	549.0	609.5	587.1	513.4	354.4	419.0	392.0	340.0	294.9

統計学的方法：Dunnnettの検定、*： $p \leq 0.05$

摂餌量及び食餌効率；

最初の6ヵ月間は毎週、その後は2週間に1回、群あたりの摂餌量を測定した。群あたりの摂餌量は、各給餌期間の調製量から残量と給餌器からの掻き出し量の合計を差し引いて算出した。また、これらの摂餌量と体重データから食餌効率を算出した。

25及び50 ppm投与群では、雌雄とも摂餌量の軽度の減少が認められ、食餌効率も体重増加量の抑制に関連した減少が認められた。

検体摂取量；

投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投 与 量 (ppm)		1	5	25	50
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.040	0.198	0.985	2.06
	雌	0.053	0.259	1.37	2.81

血液学的検査；

各群雌雄各10匹を無作為に選抜し、これらの動物を対象として、試験開始後約3、6、12、18及び24ヵ月時に眼窩静脈叢より採血し、以下の項

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

目の測定を行った。ただし、これらの群の動物が試験途中死亡した場合は、同一投与群の残りの動物を補充した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、総白血球数、白血球百分比、血小板数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)

統計学的有意差の認められた項目を表 3 に示す。

表 3. 血液学的検査

時 期	投与量 (ppm)	雄				雌			
		1	5	25	50	1	5	25	50
3 ヶ月	総白血球数							↓ 70	
	リンパ球比							↓ 72	↓ 78
6 ヶ月	好中球比		↓ 56		↓ 55				
	単球比				↓ 54				
12 ヶ月	ヘモグロビン	↑ 109	↑ 111	↑ 111	↑ 112				
	ヘマトクリット	↑ 107		↑ 109	↑ 109				
	MCH	↑ 106	↑ 106		↑ 106				
	MCHC		↑ 103	↑ 103	↑ 103				
18 ヶ月	単球比		↓ 58						
24 ヶ月	リンパ球比			↑ 136					
	MCH							↓ 100	
	好酸球比					↓ 21			

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

統計学的方法：Mann & Whitney の U-検定、または Dunnett の検定 (↑↓ : p < 0.05)

12 ヶ月時の検査で大部分の投与群雄でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCH、MCHC に有意な高値が確認されたが、これは対照群の動物 1 匹の結果が異常な低値を示したことで、対照群全体の平均値が異常に低くなったことが原因であり、検体投与に起因したものではない。その他統計学的に有意な変化が散見されたが、用量相関性が認められず、検体投与の影響とは考えられない。

血液生化学的検査；

血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ (ALT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、クレ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

アチンキナーゼ (CK)、グルコース、BUN、カルシウム、無機リン、ビリルビン、コレステロール、クレアチニン、総タンパク、アルブミン、グロブリン、ナトリウム、カリウム、塩素

統計学的有意差の認められた項目を次表 4 に示す。

表 4. 血液生化学的検査

時 期	項目 投与量 (ppm)	雄				雌			
		1	5	25	50	1	5	25	50
3 ヵ月	カルシウム				↓ 96				
	コレステロール		↓ 79	↓ 76					
	クレアチニン				↓ 86				
	総タンパク				↓ 94				
	グロブリン				↓ 92				
	ナトリウム			↓ 99					
	塩素		↑ 103		↑ 104	↑ 101	↑ 102	↑ 101	↑ 101
6 ヵ月	グルコース			↓ 91	↓ 91				↑ 117
	カルシウム			↓ 97	↓ 97				
	ナトリウム			↓ 99	↓ 98				
	AST					↓ 51			
	クレアチニン							↑ 113	
12 ヵ月	ALT		↑ 158						
	グルコース	↑ 114							
	アルブミン				↑ 112				
	CK						↓ 69		
	ナトリウム								↑ 103
	塩素					↑ 102			↑ 103
18 ヵ月	BUN			↓ 79					
	アルブミン			↑ 119					
	塩素		↑ 103		↑ 103	↑ 104	↑ 103		
	グルコース						↑ 107	↑ 113	↑ 117
	ナトリウム								↑ 102
24 ヵ月	CK		↓ 43	↓ 51	↓ 34				
	無機リン			↓ 79					
	ビリルビン					↓ 74			
	コレステロール					↓ 45			
	塩素					↑ 102			

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

統計学的方法 : Mann & Whitney の U-検定、または Dunnett の検定 (↑ : p<0.05)

統計学的有意な変化が散見されたが、用量相関が認められず、正常な生物学的変動の範囲内にあるか、加齢にともなう生理的变化によるもので、いずれも生物学的意義のあ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アグロカネショウ株式会社にある。

尿検査；血液学的検査と同じ時期に、同一動物から採取した尿について、以下の項目を検査した。

外観、尿量、オスモル濃度、pH、グルコース、タンパク、ビリルビン、ウロビリノーゲン、ケトン体、潜血、沈渣

検体投与と関連があると思われる変化は認められなかった。

眼科学的検査；

試験開始約 2 週前に全動物を対象に検査し、中間屠殺前及び最終屠殺前に対照群及び 50 ppm 群の全生存動物について検査した。

雌雄とも、検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量；1 年時の中間屠殺動物及び 2 年時の最終屠殺動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、比重量（対体重比）も算出した。

脳、心、肝、脾及び精巣

統計学的有意差の認められた項目を次表 5 に示す。

表 5. 臓器重量

時期	項目	投与量 (ppm)	雄				雌			
			1	5	25	50	1	5	25	50
最終屠殺	最終体重									
	腎	絶対重量				↓ 84				
		比重量								
	精巣	絶対重量								
		比重量				↑ 134				

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

統計学的方法：Dunnett の検定 (↑↓: p<0.05)

投与後 1 年の中間屠殺動物では、対照群と比較して検査したいずれの臓器にも統計学的有意な変化が認められなかった。

最終屠殺動物では、50 ppm 群雄で腎絶対重量の有意な低値及び精巣比重量の有意な高値がみられたが、これらの臓器で関連した病理組織学的変化が認められなかったため、毒性学的意義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アグロカネショウ株式会社にある。

肉眼的病理検査；

途中死亡動物、切迫屠殺動物、中間屠殺及び試験終了時の全動物について、剖検を行った。

試験開始後 1 年の中間屠殺動物では、雌雄とも対照群に比較して肉眼的変化の有意な増加は認められなかった。

1 年後死亡または切迫屠殺動物及び最終屠殺動物では、肉眼的病理検査でいくつかの有意な変化が認められた。これらの変化を表 6 に示す。

50 ppm 群雄で認められた皮膚腫瘤の発現頻度の増加は、増加の幅が小さく、用量相関性が認められなかったため、偶発的な変化であると考えられた。

また、雌で認められた臍内に体液／液体を有する動物数の有意な減少も、偶発的な変化と考えられた。25 及び 50 ppm 群雌で認められた乳腺腫瘤の発現頻度の増加は、乳腺の腺癌及び癌肉腫の発現頻度の増加と関連があった。

その他の統計学的有意差が認められた変化は、いずれも体重増加の抑制に関連した二次的変化であり、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

表 6. 主要な肉眼的病理変化

部位・所見		投与量 (ppm)		雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
検査動物数		50	52	47	48	50	49	50	51	52	51		
皮膚	腫瘤／小結節	7	13	5	10	↑16	11	2	12	4	7		
眼周囲	血 涙	22	13	16	13	↓11	20	20	25	17	20		
精 巢	小 型 化	13	13	12	11	↓5	—	—	—	—	—		
下垂体	腫瘤／小結節	22	19	16	17	↓11	34	32	33	37	39		
臍	体液／液体	—	—	—	—	—	8	5	4	3	↓1		
乳 腺	腫 瘍	0	0	1	0	0	24	29	24	37	↑39		

統計学的方法：Fisher の直接確率法、↑↓：p<0.05

病理組織学的検査；

50 ppm 群及び対照群の全生存動物、及び全群の死亡及び切迫屠殺動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

皮膚、骨髓、リンパ節（腸間膜、下顎）、胸腺、脾、大動脈、心、鼻、気管、肺、唾液腺、食道、胃、肝、膵、小腸（十二指腸、空腸）大腸（盲腸、結腸、直腸）、腎、胆嚢、下垂体、甲状腺及び上皮小体、副腎、前立腺、精巢、精巢上体、精嚢、乳腺、卵巣、子宮、臍、脳、脊髄、末梢神経（坐骨）、骨、筋肉（大腿）、眼、外眼窩涙腺、ハーダー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

腺及び全ての肉眼的異常部位

さらに、1、5及び25 ppm 群の計画屠殺動物を対象に、肝、腎、肺及び全ての肉眼的異常部位を検査した。

<非腫瘍性病変>

中間屠殺動物では、対照群に比較していずれの投与群でも統計学的有意な変化は認められなかった。

1年後死亡または切迫屠殺動物及び最終屠殺動物では、病理組織学的検査でいくつかの有意な非腫瘍性変化が認められた。これらの変化を表7に示す。

しかし、これらの非腫瘍性病変（50ppm 投与群雄：心の冠状動脈/大動脈石灰沈着、鼻の繊維性骨異栄養症、上皮小体のび慢性過形成、脳の側面陥没、大腿骨の繊維性骨異栄養症、精巣の両側性精細管萎縮・多発性動脈炎、精巣上体の片側/両側性精子減少）は体重増加の抑制にともなう二次的変化か、偶発的な変化であり、生物学的な意義はないと考えられた。

<腫瘍性病変>

死亡・切迫殺及び最終と殺例について、5、25及び50 ppm 群の雌で乳腺腫瘍の発現増加が認められた。しかし、対照群の雌における発現頻度（8.3%、4匹/48匹）が、歴史的背景データ（10.1~22.7%）より低く、その背景データと比較した場合、25及び50 ppm 群において用量依存的に発現頻度が有意に増加（ $p < 0.05$ 、Fisherの直接確率法）していることから、検体投与の影響と考えられる。

以上の結果から、本剤のラットに対する2年間飼料混入投与による慢性毒性/発癌性併合試験における影響として、25 ppm 以上の投与群の雌雄で体重増加抑制、25ppm 以上投与群雌における乳腺腫瘍の増加が認められたので、慢性毒性および発がん性における無毒性量は、雌雄共に5 ppm（雄 0.198 mg/kg/日、雌 0.259 mg/kg/日）であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表7. 主要な非腫瘍性病変

部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
肝	検査動物数		50	52	47	48	50	49	50	51	52	51
	小葉辺縁性脂肪化		12	6	8	2	5	11	9	10	5	1 ↓
心	検査動物数		50	38	30	33	50	49	25	29	29	51
	冠状動脈/大動脈石灰沈着		8	8	11	5	0 ↓	3	—	1	—	—
	心筋症		36	31	28	25	37	29	12	11	6	18 ↓
鼻	検査動物数		50	37	34	32	50	49	32	33	30	51
	線維性骨異栄養症		11	6	12	5	0 ↓	2	—	—	—	—
	歯牙周囲/歯牙炎症		2	8	3	3	6	13	10	7	4	5 ↓
上皮小体	検査動物数		47	37	25	33	41	40	21	25	26	39
	瀰漫性過形成		18	11	14	11	4 ↓	1	—	2	1	—
脳	検査動物数		50	41	33	34	50	49	34	39	39	51
	側面陥没		22	19	15	14	11 ↓	36	32	34	34	40
大腿骨	検査動物数		49	35	30	31	50	49	25	28	29	51
	線維性骨異栄養症		10	6	12	6	0 ↓	3	—	1	—	—
胸骨	検査動物数		49	35	30	31	50	49	25	29	29	51
	線維性骨異栄養症		10	6	12	6	0 ↓	2	—	1	—	—
精巣	検査動物数		50	41	33	36	50	—	—	—	—	—
	両側性精細管萎縮		26	20	16	12	14 ↓	—	—	—	—	—
	多発性動脈炎		17	10	9	5	5 ↓	—	—	—	—	—
精巣上体	検査動物数		50	38	30	32	50	—	—	—	—	—
	片側/両側性精子減少		24	14	14	13	9 ↓	—	—	—	—	—

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：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アグロカネショウ株式会社にある。

表 8. 腫瘍性病変

検査 時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
0 ? 368 日 (死亡・ 切迫殺・ 途中計画 殺例)	腹部 リンパ節	検査動物数	2	1	5	4	2	0	0	0	0	0	
		リンパ肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	脾	検査動物数	12	0	6	6	12	13	2	1	0	11	
		リンパ肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	下垂体	検査動物数	12	0	5	4	12	13	8	3	4	11	
		腺腫 (B)	3	0	0	0	2	2	5	1	2	2	
	甲状腺	検査動物数	12	0	5	4	12	12	2	0	0	11	
		C-細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	脳	検査動物数	12	0	5	4	12	13	2	1	1	11	
		神経膠星状細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	乳腺	検査動物数	-	-	-	-	-	12	11	4	7	11	
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
		線維腺腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	1	1	1	
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	1	0	2	0	
	皮膚	検査動物数	12	1	6	6	12	13	6	3	3	11	
		線維腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		線維肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	原発部位 不明	検査動物数	2	1	5	4	2	0	0	0	0	0	
リンパ肉腫 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：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アグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 ? 734 日 雌 370 ? 736 日 (死亡・ 切迫殺例)	造血系	検査動物数		50	40	35	35	50	49	25	28	29	51
		リンパ肉腫 (M)		1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
		白血病 (M)		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
			顆粒細胞白血病 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝	検査動物数		37	35	31	31	38	30	25	28	29	25
		肝細胞腺腫 (B)		1	3	1	0	0	0	0	0	0	1
	胃	検査動物数		37	21	16	17	38	49	26	31	29	51
		線維肉腫 (M)		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫 (B)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数		37	35	31	31	38	30	25	28	29	25
		腺腫 (B)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	鼻	検査動物数		37	20	18	15	38	30	7	10	7	25
扁平上皮乳頭腫 (B)			0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
扁平上皮癌 (M)			0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	
腎	検査動物数		37	35	31	31	38	20	25	28	29	25	
	腺腫 (B)		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 ? 734 日 雌 370 ? 736 日 (死亡・ 切迫殺例)	膀胱	検査動物数	49	37	30	32	50	49	25	27	25	51	
		移行上皮腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	脾	検査動物数	50	40	35	35	50	49	27	32	33	51	
		線維性組織球肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	下垂体	検査動物数	37	25	19	19	38	29	20	23	26	25	
		腺腫 (B)	27	22	20	23	14	28	20	23	24	23	
		癌 (M)	0	0	0	1	0	2	3	2	2	1	
	甲状腺	検査動物数	37	21	14	11	38	28	1	5	7	25	
		C細胞腺腫 (B)	0	1	1	1	1	1	0	0	0	3	
		濾胞腺腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
		濾胞嚢胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		C細胞癌 (M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
		濾胞上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	
	上皮小体	検査動物数	47	37	25	33	41	40	21	25	26	39	
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
	副腎皮質	検査動物数	37	20	15	14	38	30	5	11	11	25	
腺腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
癌 (M)		0	2	1	0	0	0	1	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 > 734 日 雌 370 > 736 日 (死亡・ 切迫殺例)	副腎髄質	検査動物数	36	20	16	13	37	20	5	11	10	25	
		褐色細胞腫 (B)	5	6	6	6	3	0	0	0	1	0	
		褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	脾	検査動物数	36	16	16	14	38	29	1	7	8	25	
		ラ島細胞腺腫 (B)	3	4	1	0	2	2	0	1	1	6	
	脳	検査動物数	50	41	33	34	50	49	34	39	39	51	
		神経膠星状細胞腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
	骨髄	検査動物数	50	34	30	31	49	48	25	28	29	51	
		神経膠星状細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	乳腺	検査動物数	-	-	-	-	-	30	25	27	29	26	
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	2	3	3	0	
		線維腺腫 (B)	-	-	-	-	-	13	11	11	10	16	
線維腫 (B)		-	-	-	-	-	1	0	0	0	0		
腺癌 (M)*		-	-	-	-	-	2	2	8 [↑]	7 [↑]	6 [↑]		
癌肉腫 (M)*		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0		
精巣	検査動物数	50	41	33	36	50	-	-	-	-	-		
	間質細胞腺腫 (B)	1	0	1	1	1	-	-	-	-	-		
前立腺	検査動物数	49	36	30	33	50	-	-	-	-	-		
	腺腫 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01（申請者実施）

* 乳腺の腺癌及び癌肉腫はその合計値で統計学的に処理し、腺癌の欄に表示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 ? 734 日 雌 370 ? 736 日 (死亡・切迫殺例)	卵巣	検査動物数	-	-	-	-	-	20	8	11	8	25	
		顆粒莖膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
	子宮	検査動物数	-	-	-	-	-	20	6	9	10	25	
		内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	1	2	2	2	1	
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
	腫	検査動物数	-	-	-	-	-	20	2	6	6	25	
		扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
	皮膚	検査動物数	36	27	22	20	38	29	6	15	11	25	
		基底細胞上皮腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
		乳腺線維腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
		線維腫 (B)	1	2	0	2	1	0	0	0	0	0	
		角化棘細胞腫 (B)	4	5	2	2	1	1	0	0	0	0	
		皮脂腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		乳腺癌肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		線維肉腫 (M)	1	1	1	4	0	1	1	0	0	0	
		扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	胸膜	検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17	
		中皮腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
腹膜	検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17		
	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 ↓ 734 日 雌 370 ↓ 736 日 (死亡・切迫殺例)	脚	検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17
		神経線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	ジンパル腺	検査動物数	11	10	6	4	13	12	12	13	10	17
		腫瘍 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	原発部位不明	検査動物数	11	10	6	4	13	12	12	13	10	17
線維性組織球肉腫 (M)		0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	
リンパ肉腫 (M)		0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 日 734 日 雌 370 日 736 日 (死亡・切迫殺+最終屠殺例)	肝	検査動物数	50	52	47	48	50	49	50	51	52	51	
		肝細胞腺腫 (B)	2	4	2	0	1	1	0	0	0	1	
		中皮腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	胃	検査動物数	50	38	32	34	50	49	26	31	29	51	
		線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		平滑筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	唾液腺	検査動物数	50	37	30	31	50	49	25	28	29	51	
		神経線維肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	肺	検査動物数	50	52	47	48	50	49	50	51	52	51	
		腺腫 (B)	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	
	鼻	検査動物数	50	37	34	32	50	49	32	33	30	51	
		ポリープ (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	
	腎	検査動物数	50	52	47	48	50	49	50	51	52	51	
		腺腫 (B)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	膀胱	検査動物数	49	37	30	32	50	49	25	27	25	51	
		移行上皮腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	脾	検査動物数	50	40	35	35	50	49	27	32	33	51	
線維性組織球肉腫 (M)		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
胸腺	検査動物数	31	26	21	22	42	35	20	20	23	36		
	リンパ肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：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アグロカネショウ株式会社にある。

検査 時期	部位・所見		雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 日 734 雌 370 日 736 (死亡・ 切迫殺+ 最終屠殺例)	膵	検査動物数	49	33	32	31	50	48	26	30	50	51
		ラ島細胞腺腫 (B)	5	5	4	0	3	3	2	3	1	6
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	脳	検査動物数	50	41	33	34	50	49	34	39	39	51
		神経膠星状細胞腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	脊 髄	検査動物数	50	34	30	31	49	48	25	28	29	51
		神経膠星状細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	乳 腺	検査動物数	-	-	-	-	-	48	43	41	48	51
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	2	5	3	4	2
		線維腺腫 (B)	-	-	-	-	-	22	20	20	18	24
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	1	0	1	0	0
		腺癌 (M)*	-	-	-	-	-	4	6	12↑	17↑	15↑
癌肉腫 (M)*		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
精 巢	検査動物数	50	41	33	36	50	-	-	-	-	-	
	間質細胞腺腫 (B)	2	0	2	2	3	-	-	-	-	-	
前立腺	検査動物数	49	36	30	33	50	-	-	-	-	-	
	腺癌 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	
精 囊	検査動物数	50	38	30	34	50	-	-	-	-	-	
	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-	
卵 巢	検査動物数	-	-	-	-	-	49	33	34	31	51	
	顆粒膜莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0	
	セルトリ細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
	莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05

* 乳腺の腺癌及び癌肉腫はその合計値で統計学的に処理し、腺癌の欄に表示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 ? 734 日 雌 370 ? 736 日 (死亡・ 切迫殺+ 最終屠殺例)	腸間膜 リンパ節	検査動物数	47	36	31	33	49	49	24	28	28	49	
		血管腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
	骨髄	検査動物数	49	35	30	31	50	49	25	28	29	51	
		白血病 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		顆粒細胞性白血病 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	下垂体	検査動物数	50	42	35	36	50	48	45	46	49	51	
		腺腫 (B)	35	31	25	29	31	42	41	40	41	38	
		癌 (M)	0	0	0	1	0	2	4	2	3	5	
	甲状腺	検査動物数	50	38	30	35	50	47	26	28	30	51	
		C細胞腺腫 (B)	2	1	1	1	5	3	1	0	1	6	
		濾胞腺腫 (B)	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	
		濾胞嚢胞腺腫 (B)	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
		C細胞癌 (M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
		濾胞癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	
	上皮小体	検査動物数	47	37	25	33	41	40	21	25	26	39	
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
	副腎皮質	検査動物数	50	37	31	31	50	49	30	34	34	51	
		腺腫 (B)	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	
		癌 (M)	0	2	1	0	0	1	1	0	0	0	
	副腎髓質	検査動物数	49	37	32	30	49	49	30	34	33	51	
神経節細胞腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
褐色細胞腫 (B)		11	8	7	6	7	0	0	0	1	0		
褐色細胞腫 (M)		1	0	0	0	1	0	0	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：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アグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)					雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 369 ↓ 734 日	子宮	検査動物数	-	-	-	-	-	49	31	32	33	51					
		内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	2	2	3	3	1					
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0					
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0					
		内膜間質肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0					
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0					
雌 370 ↓ 736 日	膣	検査動物数	-	-	-	-	-	49	27	29	29	51					
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0					
		扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0					
(死亡・切迫殺+最終屠殺例)	皮膚	検査動物数	49	44	38	37	50	48	31	38	34	51					
		基底細胞上皮腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0					
		石灰化上皮腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0					
		乳腺線維腺腫 (B)	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0					
		線維腫 (B)	1	3	0	2	4	0	0	0	0	1					
		角化棘細胞腫 (B)	6	7	5	4	6	1	0	0	0	0					
		複合付属器腫瘍 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0					
		皮脂腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0					
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0					
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0					
		乳腺癌肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0					
		線維肉腫 (M)	1	1	1	4	0	1	1	0	0	0					
		扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0					
組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：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アグロカネショウ株式会社にある。

検査 時期	部位・所見		投与量 (ppm)		雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50		
雄 369 ↓	包皮腺	検査動物数	24	47	22	21	25	—	—	—	—	—		
		癌 (M)	1	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
734 日	胸膜	検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17		
		中皮腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
雌 370 ↓	腹膜	検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17		
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0		
736 日	脚	検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17		
		神経線維肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
(死亡・ 切迫殺+ 最終屠殺例)	ジンバル腺	検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17		
		腫瘍 (M)	0	0	1	0	3	0	0	0	0	1		
原発部位 不明		検査動物数	24	27	22	21	25	12	12	13	10	17		
		線維組織球肉腫 (M)	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0		
		組織球肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		リンパ肉腫 (M)	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：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アグロカネシヨウ株式会社にある。

検査 時期	部位・所見 投与量 (ppm)		雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
最 終 屠 殺 例	肝	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		肝細胞腺腫 (B)	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
		中皮腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	唾液腺	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		神経線維肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1
	鼻	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		ポリープ (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	腸間膜 リンパ節	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		血管腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	下垂体	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		腺腫 (B)	8	9	5	6	17	14	21	17	17	15
		癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4
	甲状腺	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		C細胞腺腫 (B)	2	0	0	0	4	2	1	0	1	3
		濾胞腺腫 (B)	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0
濾胞嚢胞腺腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
濾胞癌 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
最 終 屠 殺 例	副腎皮質	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26	
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
		癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	副腎髄質	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26	
		神経節細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		褐色細胞腫 (B)	6	2	1	0	4	0	0	0	0	0	
		褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	膵	検査動物数	13	17	16	17	12	19	25	23	23	26	
		島細胞腺腫 (B)	2	1	3	0	1	1	2	2	0	0	
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	乳腺	検査動物数	-	-	-	-	-	18	18	14	19	25	
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	3	0	1	2	
線維腺腫 (B)		-	-	-	-	-	9	9	9	8	8		
線維腫 (B)		-	-	-	-	-	0	0	1	0	0		
腺癌 (M)		-	-	-	-	-	2	4	4	10	9		
線維肉腫 (M)		-	-	-	-	-	0	0	1	0	2		
精巣	検査動物数	13	17	16	17	12	-	-	-	-	-		
	間質細胞腺腫 (B)	1	0	1	1	2	-	-	-	-	-		
精囊	検査動物数	13	17	16	17	12	-	-	-	-	-		
	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-		
卵巣	検査動物数	-	-	-	-	-	19	25	23	23	26		
	顆粒膜莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0		
	セルトリ細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0		
	莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
最 終 屠 殺 例	子宮	検査動物数		-	-	-	-	-	19	25	23	23	26
		内膜間質ポリープ (B)		-	-	-	-	-	1	0	1	1	0
		線維腫 (B)		-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		内膜間質肉腫 (M)		-	-	-	-	-	0	1	0	1	0
	膣	検査動物数		-	-	-	-	-	19	25	23	23	26
		線維腫 (B)		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		扁平上皮癌 (M)		-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	皮膚	検査動物数		13	17	16	17	12	19	25	23	23	26
		石灰化上皮腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		乳腺線維腺腫 (B)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		線維腫 (B)		0	1	0	0	3	0	0	0	0	1
		角化棘細胞腫 (B)		2	2	3	2	5	0	0	0	0	0
複合付属器腫瘍 (B)			0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
皮脂腺腫 (B)			0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
扁平上皮乳頭腫 (B)			0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	
基底細胞癌 (M)			0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
包皮腺	検査動物数		13	17	16	17	12	-	-	-	-	-	
	癌 (M)		1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	
ジンバル腺	検査動物数		13	17	16	17	12	0	0	0	0	0	
	腫瘍 (M)		0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	
原発部位不明	検査動物数		13	17	16	17	12	0	0	0	0	0	
	組織球肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	リンパ肉腫 (M)		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見	投与量 (ppm)	雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄0 734日 雌0 736日 (全動物)	肝	検査動物数	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62
		肝細胞腺腫 (B)	2	4	2	0	1	1	0	0	0	1
		中皮腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	胃	検査動物数	62	38	37	38	62	62	28	32	29	62
		線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	唾液腺	検査動物数	62	38	37	38	62	62	27	29	29	62
		神経繊維肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62
		腺腫 (B)	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
	鼻	検査動物数	62	37	39	38	62	61	35	37	32	62
		ポリープ (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	腎	検査動物数	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62
		腺腫 (B)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	膀胱	検査動物数	62	37	35	36	62	62	27	27	25	62
		移行上皮腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	脾	検査動物数	62	40	41	41	62	62	29	33	33	62
		線維性組織球肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
胸腺	検査動物数	43	26	26	26	54	48	20	21	23	45	
	リンパ肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
腹部リンパ節	検査動物数	2	1	5	4	2	0	0	0	0	0	
	リンパ肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
腸間膜リンパ節	検査動物数	59	36	36	37	61	62	26	29	28	60	
	血管腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
骨髄	検査動物数	61	35	35	35	62	62	27	29	29	62	
	白血病 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	顆粒細胞白血病 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
下垂体	検査動物数	62	42	40	40	62	61	53	49	53	62	
	腺腫 (B)	38	31	25	29	33	44	46	41	43	40	
	癌 (M)	0	0	0	1	0	2	4	2	3	5	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査 時期	部位・所見 投与量 (ppm)		雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 0 ↓ 734 日 雌 0 ↓ 736 日 (全 動 物)	甲状腺	検査動物数	62	38	35	39	62	49	28	28	30	62
		C細胞腺腫 (B)	2	1	1	1	5	4	1	0	1	6
		濾胞腺腫 (B)	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0
		濾胞嚢胞腺腫 (B)	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		C細胞癌 (M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
		濾胞癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
	上皮 小体	検査動物数	49	37	29	36	53	50	23	26	26	50
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	副腎 皮質	検査動物数	49	37	36	35	62	62	32	35	34	62
		腺腫 (B)	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1
		癌 (M)	0	2	1	0	0	1	1	0	0	0
	副腎 髄質	検査動物数	60	37	37	34	61	62	32	35	33	62
神経節細胞腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
褐色細胞腫 (B)		11	8	7	6	7	0	0	0	1	0	
褐色細胞腫 (M)		1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
膵	検査動物数	61	33	36	35	62	62	28	31	30	62	
	ラ島細胞腺腫 (B)	5	5	4	0	3	3	2	3	1	6	
	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
脳	検査動物数	62	41	38	38	62	62	37	40	40	62	
	神経膠星状細胞腫 (M)	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
脊 髄	検査動物数	61	34	35	35	61	62	27	29	29	61	
	神経膠星状細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査 時期	部位・所見 投与量 (ppm)		雄					雌				
			0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 0 ? 734 日	乳 腺	検査動物数	-	-	-	-	-	60	54	45	55	62
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	2	6	3	4	2
		線維腺腫 (B)	-	-	-	-	-	22	20	21	19	25
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	1	0	1	0	0
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	5	7	12 ↑	19 ↑	15 ↑
		癌肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		線維肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	2
		全乳腺腫瘍 (繊維腫・繊維肉腫を除(B+M) <)	-	-	-	-	-	27	32	30 ↑	32	35
		全乳腺腫瘍 (B+M)	-	-	-	-	-	28	32	32 ↑	32	37
雌 0 ? 736 日	精 巣	検査動物数	62	41	39	40	62	-	-	-	-	-
		間質細胞腺腫 (B)	2	0	2	2	3	-	-	-	-	-
	前立腺	検査動物数	61	36	35	37	62	-	-	-	-	-
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	精 囊	検査動物数	62	38	35	38	62	-	-	-	-	-
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-
(全 動 物)	卵 巢	検査動物数	-	-	-	-	-	62	35	36	31	62
		顆粒膜莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0
		セルトリ細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	子 宮	検査動物数	-	-	-	-	-	62	33	33	33	62
		内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	2	2	3	3	1
線維腫 (B)		-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
	腺癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
	内膜間質肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0	
	平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05、↑ ↓：p<0.01（申請者実施）

* 乳腺の腺癌及び癌肉腫はその合計値で統計学的に処理し、腺癌の欄に表示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 0 ? 734 日 雌 0 ? 736 日 (全 動 物)	腫	検査動物数	-	-	-	-	-	62	29	30	29	62	
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
		扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0	
	皮膚	検査動物数	61	45	44	43	62	62	37	41	37	62	
		基底細胞上皮腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
		石灰化上皮腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		乳腺線維腺腫 (B)	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	
		線維腫 (B)	1	3	1	2	4	0	0	0	0	1	
		角化棘細胞腫 (B)	7	7	5	4	7	1	0	0	0	0	
		複合付属器腫瘍 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		皮脂腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
		乳腺癌肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		線維肉腫 (M)	1	1	2	5	0	1	1	0	0	0	
		扁平上皮細胞癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	包皮膜	検査動物数	26	28	27	25	27	-	-	-	-	-	
		癌 (M)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	
	胸膜	検査動物数	26	28	27	25	27	13	12	14	10	18	
中皮腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
腹膜	検査動物数	26	28	27	25	27	13	12	14	10	18		
	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0		
脚	検査動物数	26	28	27	25	27	13	12	14	10	18		
	神経繊維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
	骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
シツパル腺	検査動物数	26	28	27	25	27	13	12	14	10	18		
	腫瘍 (M)	0	0	1	0	3	0	0	0	0	1		
原発部位不明	検査動物数	26	28	27	25	27	13	12	14	10	18		
	繊維性組織球肉腫 (M)	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0		
	組織球肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	リンパ肉腫 (M)	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、†：p<0.05（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 0 734 日 雌 0 736 日 (慢性毒性試験群を除く全動物)	乳 腺	検査動物数	-	-	-	-	-	51	44	35	45	52	
		腺 腫 (B)	-	-	-	-	-	2	5	3	4	2	
		線維腺腫 (B)	-	-	-	-	-	22	20	20	17	24	
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	1	0	1	0	0	
		腺 癌 (M)	-	-	-	-	-	5	6	12↑	17↑	15↑	
		癌肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
		線維肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	2	
		全乳腺腫瘍(繊維腫・繊維肉腫を除く(B+M))	-	-	-	-	-	26	31	29↑	30	34	
	全乳腺腫瘍 (B+M)	-	-	-	-	-	27	31	31↑	30	36		
	精 巢	検査動物数	62	41	39	40	62	-	-	-	-	-	
		間質細胞腺腫 (B)	2	0	2	2	3	-	-	-	-	-	
	前立腺	検査動物数	61	36	35	37	62	-	-	-	-	-	
		腺 腫 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	
	精 囊	検査動物数	62	38	35	38	62	-	-	-	-	-	
腺 癌 (M)		0	0	0	1	0	-	-	-	-	-		
卵 巢	検査動物数	-	-	-	-	-	62	35	36	31	62		
	顆粒膜莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0		
	セルトリ細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0		
	莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0		
子 宮	検査動物数	-	-	-	-	-	62	33	33	33	62		
	内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	2	2	3	3	1		
	線維腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0		
	腺 癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0		
	内膜間質肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0		
	平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0		

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	部位・所見		投与量 (ppm)	雄					雌				
				0	1	5	25	50	0	1	5	25	50
雄 0 ↓ 734 日 雌 0 ↓ 736 日 (慢性毒性試験群を除く全動物)	乳 腺	検査動物数		-	-	-	-	-	52	52	52	52	52
		腺 腫 (B)		-	-	-	-	-	2	5	3	4	2
		線維腺腫 (B)		-	-	-	-	-	22	20	20	17	24
		線維腫 (B)		-	-	-	-	-	1	0	1	0	0
		腺 癌 (M)		-	-	-	-	-	5	6	12	17 [↑]	15 [↑]
		癌肉腫 (M)		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		線維肉腫 (M)		-	-	-	-	-	0	0	1	0	2
		全乳腺腫瘍(繊維腫・繊維肉腫を除(B+M)く)		-	-	-	-	-	26	31	29	30	34
	全乳腺腫瘍 (B+M)		-	-	-	-	-	27	31	31	30	36	
	精 巢	検査動物数		62	41	39	40	62	-	-	-	-	-
		間質細胞腺腫 (B)		2	0	2	2	3	-	-	-	-	-
	前立腺	検査動物数		61	36	35	37	62	-	-	-	-	-
		腺 腫 (B)		1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	精 囊	検査動物数		62	38	35	38	62	-	-	-	-	-
		腺 癌 (M)		0	0	0	1	0	-	-	-	-	-
	卵 巢	検査動物数		-	-	-	-	-	62	35	36	31	62
		顆粒膜莢膜細胞腫 (B)		-	-	-	-	-	0	1	0	1	0
		セルトリ細胞腫 (B)		-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		莢膜細胞腫 (B)		-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	子 宮	検査動物数		-	-	-	-	-	62	33	33	33	62
内膜間質ポリープ (B)			-	-	-	-	-	2	2	3	3	1	
線維腫 (B)			-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
腺 癌 (M)			-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
内膜間質肉腫 (M)			-	-	-	-	-	0	1	0	1	0	
平滑筋肉腫 (M)			-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	

統計学的方法：Fisherの直接確率法、↑↓：p<0.05、↑ ↓：p<0.01（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

④ イヌを用いた 2 年間慢性毒性試験

(資料 No.T25)

試験機関： トンストール研究所
(英国)

報告書作成年： 1970 年

病理再検索： 癌研究所 (1978 年)
順天堂大学

検体の純度：

試験動物： ビーグル犬、投与群は 1 群雌雄各 4 頭、対照群は 1 群雌雄各 6 頭、開始時
4~6 ヶ月齢

試験期間： 2 年間 (報告書に詳細な試験期間の記載なし)

投与方法： 検体をカプセルに入れ、0.625 mg/kg、1.25 mg/kg 及び 5.0 mg/kg の用量
で毎日 1 回経口投与した。
対照群には、空カプセルを経口投与した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

一般状態及び生死を毎日観察した。

雌雄 5 mg/kg 群の動物に再発性の嘔吐がしばしばみられた。雄ではその頻度は投与期間とともに徐々に少なくなった。雌では 19 ヶ月以降終了時まで週 3 回程度の嘔吐が継続した。

体重変化； 投与開始後 24 週まで毎週 1 回、以後 4~5 週おきに生存動物の体重を測定した。

雌雄 5 mg/kg 群で体重増加の抑制がみられた。

血液学的検査；

投与前と投与後約 3 ヶ月おきに 1 群雌雄各 4 頭、対照群は 1 群雌雄各 6 頭より採血し、赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球分画を測定した。

次に 0、36、78、104 週の検査で対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

性 別	雄											
投与群(mg/kg)	0.625				1.25				5			
検査時期(週)	0	36	72	104	0	36	72	104	0	36	72	104
Hb		↑107										
Ht												
RBC		↑109										
WBC												

性 別	雌											
投与群(mg/kg)	0.625				1.25				5			
検査時期(週)	0	36	72	104	0	36	72	104	0	36	72	104
Hb										↓88		↓89
Ht										↓88		↓85
RBC												
WBC											↓80	↓55

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

散発的に変化がみられたが、投与量との相関性はなく、検体投与の影響とは考えられない。

血液生化学検査；

投与前と投与後約6週おきに1群雌雄各4頭、対照群は1群雌雄各6頭より採血し、GPT、ALP、尿素、総蛋白、Na、K及び蛋白分画を測定した。次表に0、36、78、104週の検査（蛋白分画は0、30、66、104週）で対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を示した。

性 別	雄											
投与群(mg/kg)	0.625				1.25				5.00			
検査時期(週)	0	36	72	104	0	36	72	104	0	36	72	104
総蛋白							↓95	↓95			↓82	↓94
ALP												
K									↑109			

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

性 別	雌											
	0.625				1.25				5.00			
投与群 (mg/kg)												
検査時期(週)	0	36	72	104	0	36	72	104	0	36	72	104
総蛋白										↓94		↓92
ALP		↑133	↑170	↑156								
K										↓87		

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

0.625mg/kg 投与群雌で ALP の有意な高値、また 5mg/kg 投与群雌雄でカリウムの有意な変化がみられたが、用量相関がなく検体投与の影響とは考えられなかった。

総蛋白に有意な低値がみられた。

申請者注)

1.25mg/kg 以上投与群雄および 5 mg/kg 投与群雌の総蛋白に有意な低値がみられたが、次表の血清蛋白分画でも用量相関のある変化がみられないことから、検体投与の影響ではないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

血清蛋白分画

性別	雄											
	0.625				1.25				5.00			
投与群(mg/kg)	0.625				1.25				5.00			
検査時期(週)	0	30	66	104	0	30	66	104	0	30	66	104
α1グロブリン	↑149			↑136						↑174		
α2グロブリン												
β1グロブリン		↓58					↓69					
β2グロブリン		↓77										

性別	雌											
	0.625				1.25				5.00			
投与群(mg/kg)	0.625				1.25				5.00			
検査時期(週)	0	30	66	104	0	30	66	104	0	30	66	104
α1グロブリン					↑184				↑196			
α2グロブリン												↓75
β1グロブリン	↑153				↑138							
β2グロブリン												

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

肝機能検査；

投与終了後、ブロムスルフタレイン肝機能検査を行った。
各群に有意差はなく、検体投与の影響はみられなかった。

臓器重量；試験終了時に1群雌雄各4頭、対照群は1群雌雄各6頭を病理解剖し、脳、心、肝、腎、副腎、甲状腺及び精巣の重量を測定した。

雌5mg/kg群の肝絶対重量が低下(t検定 p<0.05)したが、比重量に有意な変化は見られず、体重変動に伴った変化と思われた。
これ以外に有意な変化はみられなかった。

肉眼的病理検査；

試験終了時に投与群は1群雌雄各4頭、対照群は雌雄各6頭を病理解剖し、肉眼病理検査を行った。

回虫の寄生に伴う変化及び腎、肺の病変が各群に共通して認められた。又、各群の消化管中には線虫及び糸虫が認められ、これらは胃腸管の粘膜における巣状リンパ節肥大を伴っていた。しかし、いずれも用量相関はなく、検体投与の影響と考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

病理組織学的検査；

試験終了時に投与群は1群雌雄各4頭、対照群は雌雄各6頭を病理解剖し、中枢神経、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、生殖腺、胃、膵臓、リンパ節、前立腺、胸腺、上皮小体、肺、副腎、小腸、大腸、舌下腺、膀胱、子宮を常法に従い病理組織切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色をして鏡検した。5.0 mg/kg 投与群雌の1例に卵巣の顆粒細胞がみられたが、これは偶発的な病変と思われる。その他の病変にも検体投与の影響はみられなかった。

以上の結果から、本剤の2年間反復経口投与毒性試験における影響として、5 mg/kg 投与群雌雄で嘔吐、体重増加抑制等がみられたので、無毒性量は1.25 mg/kg/日であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

病理組織学的所見

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	0.625	1.25	5.0	0	0.625	1.25	5.0
試験終了時	脾	ヘモジデリン沈着	2	1	1	1	0	1	0	1
	胸腺	萎縮	1	1	2	3	4	3	3	3
	腸	腸間膜リンパ節 皮質肥大	4	0	2	2	3	3	2	3
	腎	髓質結晶沈着	1	1	2	2	2	0	1	0
	小腸	回虫	2	1	0	1	2	0	0	0
	胃	粘膜リンパ性 細胞浸潤	2	0	1	0	1	3	1	2
		リンパ性ろ胞	2	2	0	2	0	0	1	0
	卵巣	顆粒膜細胞腫瘍					0	0	0	1
	検査動物数			6	4	4	5	6	5	3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑤ マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 No.T26)

試験機関： シッティングボーン研究所
(英国)

報告書作成年： 1981年

検体の純度：

試験動物： CD系マウス、1群雌雄各50匹（ただし、対照群は雌雄各100匹）
開始時 約35日齢

試験期間： 2年間（1978年2月23日～1981年11月18日）

投与方法： 検体をアセトンに溶解して、0、10、25、250及び1000 ppmの濃度で飼料に混入し、24ヵ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1ヵ月間に1回調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

一般状態及び死亡率を毎日観察した。

250及び1000 ppm投与群の雌で健康状態の不良、皮膚のびらん及び脱毛の発現頻度が、対照群に比べて高かった。これらの症状は慢性的栄養不良に起因するものと考えられた。

試験終了時の各群における生存率を下表に示す。

投与量(ppm)	0	10	25	250	1000
雄	54%	46%	56%	54%	58%
雌	49%	48%	50%	38%	42%

250及び1000 ppm投与群の雌で、生存率がわずかに低かった。その原因は、皮膚の潰瘍の発生増加と慢性的栄養失調によるものであった。

体重変化； 投与開始から13週間は週1回目、その後は4週間に1回、全生存動物の体重を測定した。統計検定は共分散分析 ($p \leq 0.05$ 、 $p \leq 0.01$) により実施した。

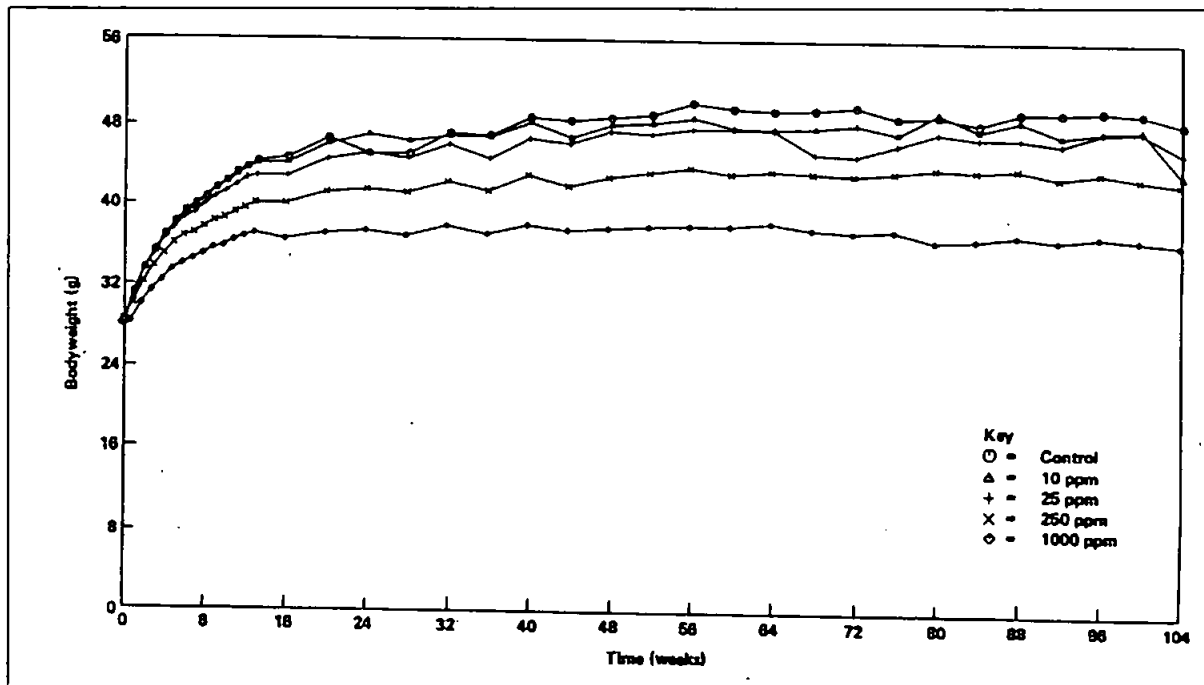
雄においては、10 ppm投与群での試験後半以降及び25 ppm投与群でのほとんどの検査時に有意な体重増加抑制がみられ、250 ppm以上投与群では全試験期間を通じて、有意な体重増加抑制 ($p \leq 0.01$) が認められた。

雌においては、10 ppm投与群の10週時以降及び25 ppm投与群のほとん

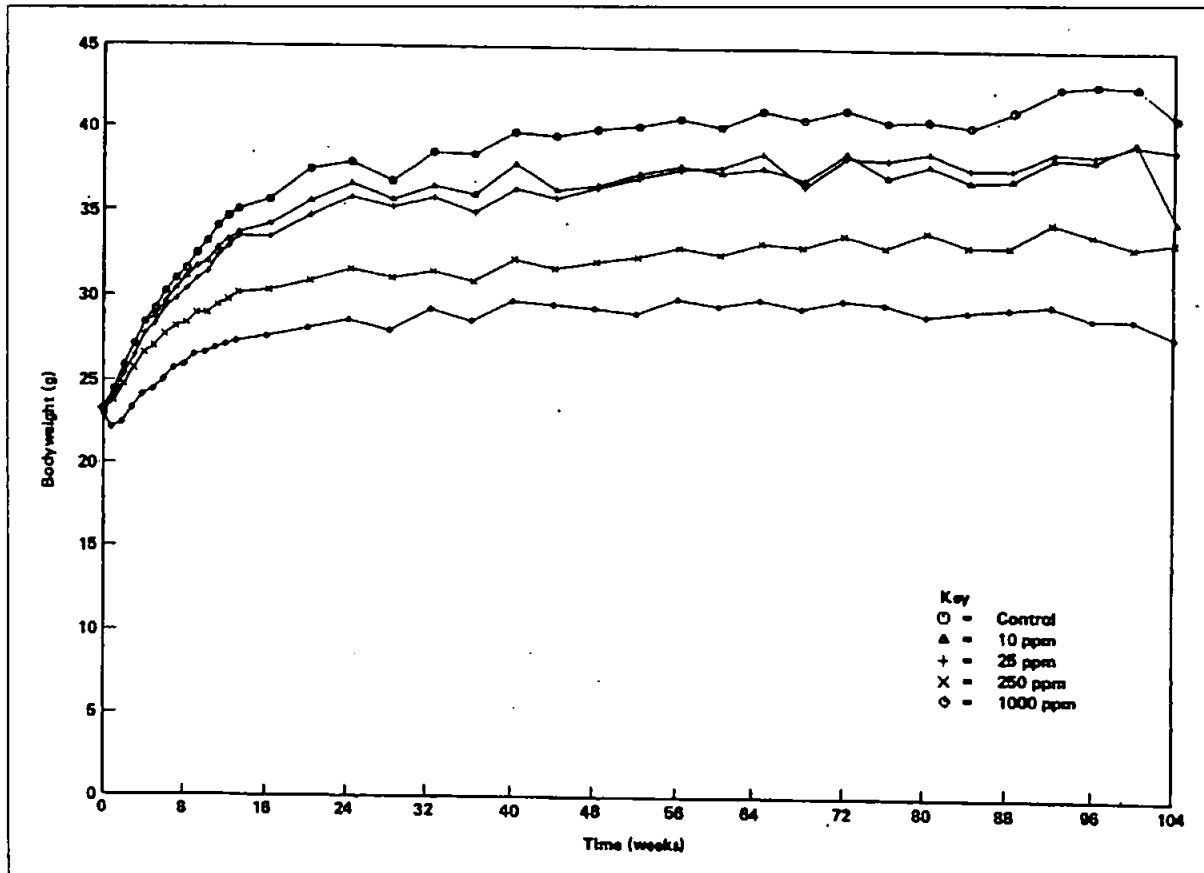
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

どの検査時に有意な体重増加抑制がみられ、250ppm 以上投与群では全試験期間を通じて、有意な体重増加抑制 ($p \leq 0.01$) が認められた。

雄の体重変化



雌の体重変化



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率；

投与開始から 13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

体重増加の抑制と同様に、雌雄とも全投与群で、薬量に相関した摂餌量の減少が認められた。

食餌効率は、250 及び 1000 ppm 投与群の雌雄とも試験期間を通じて減少した。

検体摂餌量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	25	250	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.98	2.28	24.09	114.35
	雌	1.18	2.67	29.90	146.71

※申請者の計算値

血液学的検査；

投与後、24 ヶ月時の生存動物を対象として、心臓穿刺により採血し、総白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球百分比及び網赤血球数を測定した。

検査動物数及び対照群と比較して、統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性 別	雄					雌				
	0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
投 与 量 (ppm)	0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
検査動物数	49	17	24	26	22	43	21	23	19	18
ヘモグロビン										↓ 94
MCH										↓ 96
MCHC										↓ 95
好中球分葉核比 ^{a)}										↑ 148
リンパ球比 ^{a)}										↓ 62
単球比 ^{a)}				↑ 168					↑ 188	
好酸球比 ^{a)}									↑ 3600	
好中球数 ^{a)}				↓ 74						
リンパ球数 ^{a)}					↓ 75					

統計学的方法 : t-検定又は Dunnett の検定、↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

a) : 対照群、250 及び 1000 ppm 投与群についてのみ実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

1000 ppm 投与群の雌で、ヘモグロビン、MCH 及び MCHC の統計学的有意な減少が認められた。これらの変化は慢性的栄養不良に起因するものと考えられた。

白血球百分比、好中球数及びリンパ球数にも統計学的有意な変化が認められたが、これらの変化は用量相関性がみられなかったので、検体投与による影響とは考えられなかった。

血液化学的検査；

投与後、104 週時の生存動物を対象として、心臓穿刺により採血し、総蛋白、尿素窒素、アルカリホスファターゼ、グルコース、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ及び蛋白質分画を測定した。

検査動物数及び対照群と比較して、統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性 別	雄					雌				
	0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
投 与 量 (ppm)	0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
検 査 動 物 数	55	22	29	27	27	49	23	24	19	20
総蛋白										↑ 112
グルコース										↓ 92
アルブミン										↓ 90
α ₁ -グロブリン					↑ 132					
β-グロブリン										↑ 119

統計学的方法： t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

1000 ppm 投与群の雄で蛋白分画に、雌で血糖、総蛋白及び蛋白分画に、統計学的有意な変化が認められた。雌で認められた低血糖は、全試験期間を通してみられた体重増加量の低下を伴った摂餌量の減少による慢性的栄養不良によるものと考えられた。

臓器重量； 試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち脳、心、肝、腎及び精巣の重量を測定した。また、比重量（対体重比）も算出した。

以下に対照群と比べて統計学的有意差を示した項目を表記する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

性 別		雄				雌			
投 与 量 (ppm)		10	25	250	1000	10	25	250	1000
最 終 体 重				↓ 91	↓ 76	↓ 91	↓ 93	↓ 81	↓ 68
脳	未補正重量				↓ 96			↓ 96	↓ 92
	補正重量								
	比重量			↑108	↑125			↑117	↑132
心	未補正重量		↓ 96	↓ 92	↓ 88				↓ 83
	補正重量			↓ 92	↓ 92				
	比重量				↑110				↑123
肝	未補正重量				↓ 80				↓ 81
	補正重量								
	比重量							↑ 110	↑118
腎	未補正重量	↓ 83	↓ 85	↓ 86	↓ 73			↓ 87	↓ 78
	補正重量		↓ 85	↓ 91	↓ 87				↓ 93
	比重量								↑111
精巢	未補正重量								
	補正重量								
	比重量				↑122				

統計学的方法：t-検定、↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

補正重量：最終体重で補正した臓器重量

各臓器で体重減少に伴った臓器重量の減少が認められた。これらの値を終了時の体重で補正すると、心及び腎を除き、統計学的有意差はみられなかった。有意差の見られた心及び腎においても対照群と比較した低下率が小さく、用量相関もみられないため、検体投与の影響とは考えられない。

250ppm 以上投与群雌雄で脳比重量の増加、1000ppm 投与群雌雄で心比重量の増加、1000ppm 投与群雄で精巢比重量の増加がみられたが、これは低体重に起因するもので、毒性学的意義はないと考えられる。

肉眼的病理検査；

試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、検査を行った。250及び1000ppm投与群の雌で体色の蒼白化及び皮膚潰瘍の発生頻度が対照群に比べて高かったが、その差は小さく検体投与の影響ではないと考えられる。

逆に25及び1000ppm投与群の雌雄では、肝及び肺の腫瘍、顆粒性または嚢胞性腎、精巢の肥大及び変色、子宮の部分的拡張の発生頻度が対照群に比べて低かった。これらの低下は、げっ歯類における飼料摂取量の低下によるカロリー摂取量の減少が、通常観察される自然発生的腫瘍の発生頻度の低下と関係があるとの報告もあり、検体投与に因るものではないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

病理組織学的検査；

上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、肝、胆嚢、腎、肺、心、胸腺、舌、唾液腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、卵巣、精巣、前立腺、精嚢、膀胱、乳腺、皮膚、下顎リンパ節、咽喉、気管、甲状腺、上皮小体、胸部大動脈、脾、副腎、脳、脊髄、下垂体、眼（水晶を含む）、涙腺、後膝関節及び大腿骨、鼻腔、坐骨神経、骨格筋及び肉眼的病変部について、病理標本を作製し、検鏡した。

主要な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

途中死亡動物では、250 及び 1000 ppm 投与群の雌で、肝実質の萎縮、腎細胞空胞化、皮膚の潰瘍の発生頻度が対照群と比べて高く、1000 ppm 投与群の雄では心筋炎、また雌では心筋線維症の発生頻度が高かった。

試験終了時の屠殺動物では、250 及び 1000 ppm 投与群の雌雄で腎皮質尿細管拡張、雄で肝細胞肥大、雌で腎細胞空胞化の発生頻度が、また 1000 ppm 投与群の雄で心筋線維症及び雌で心筋線維症及び肝実質萎縮の発生頻度が対照群と比べて高かった。

良性腫瘍の発生頻度を表 2 に、また悪性腫瘍の発生頻度を表 3 に示す。

腫瘍性病変としては、特に肺の腺腫（乳頭状腺腫を含む）及び腺癌、肝の細胞腺腫及び細胞癌が本系統においては高かった。ただし、検体投与に関連した発生率の上昇及び早期化を示すことはなかった。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表の通りであり、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。

性 別		雄					雌				
投 与 量 (ppm)		0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
検 査 動 物 数		100	50	50	50	50	100	50	50	49	50
腫 瘍 数	良 性	33	15	16	23	17	38	10	15	12	9
	悪 性	47	26	19	12	17	31	24	13	15	12
腫 瘍 総 数		80	41	35	35	34	69	34	28	27	21
腫 瘍 動 物 数		61	33	26	24	25	57	30	23	23	20

高用量群の雌雄で、担腫瘍動物数が少なかったが、これらの群の動物における慢性的栄養不良が原因であった。

以上の結果から、本剤の 2 年間混餌投与による発がん性試験における影響として、10 ppm（雄 0.98 mg/kg/日、雌 1.18 mg/kg/日）投与群以上に体重増加抑制がみられ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

たので、無毒性量は求められなかったが、本試験の目的であった発がん性試験から、本剤は催腫瘍性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 1. 非腫瘍性病変 (統計検定は未実施)

検査時期	性 別		雄					雌				
	投 与 量 (ppm)		0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
途 中 死 亡 動 物	肝	リンパ球浸潤	17	11	7	9	8	16	15	13	18	14
		実質萎縮	31	21	18	18	17	35	17	15	26	25
		中葉肥大	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0
		色素沈着肉芽腫	1	0	0	1	0	1	3	2	0	0
		脂肪沈着	11	5	8	1	1	1	1	1	0	0
	検 査 動 物 数		46	27	22	23	21	51	26	25	30	29
	腎	皮質尿細管限局性拡張	18	7	5	2	5	5	2	3	8	9
		皮質尿細管びまん性拡張	5	1	0	3	3	0	0	0	0	0
		皮質尿細管上皮細胞空胞化	4	1	2	4	2	3	0	0	2	5
		糸球体腎炎	3	3	1	4	0	8	5	6	0	1
	検 査 動 物 数		46	27	22	23	21	51	26	25	30	29
	心	心筋炎	3	1	3	1	9	0	0	0	0	0
		基底心筋線維症	6	3	4	3	3	1	3	1	3	11
		非基底心筋線維症	2	1	0	5	3	0	1	0	2	6
		好中球浸潤	4	2	1	1	0	0	0	0	0	1
マクロファージ		0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	
線維球増殖		0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	
検 査 動 物 数		46	27	22	23	21	51	26	25	30	28	
脾	赤血球生成	20	17	13	10	14	35	19	14	18	22	
	骨髄造血	13	6	5	5	3	24	9	11	13	13	
	うっ血	10	6	7	6	4	1	2	3	7	7	
検 査 動 物 数		45	27	22	23	21	51	26	25	30	29	
精巢	萎 縮	10	4	3	5	5	-	-	-	-	-	
	検 査 動 物 数		46	27	22	23	21	-	-	-	-	-
	精囊	精細管拡張	11	5	6	8	3	-	-	-	-	-
		被膜壊死	2	1	2	3	2	-	-	-	-	-
線維増殖		0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	
検 査 動 物 数		42	27	22	23	20	-	-	-	-	-	
卵巣	出血性囊胞	-	-	-	-	-	13	6	10	7	6	
	検 査 動 物 数		-	-	-	-	-	50	26	25	30	29
子宮	内膜増生	-	-	-	-	-	44	23	20	23	24	
	検 査 動 物 数		-	-	-	-	-	51	26	25	30	29
副腎	皮質内脂質欠如	9	8	8	6	6	1	3	2	7	8	
	検 査 動 物 数		45	28	21	21	20	49	25	25	30	29
脳	石灰化	9	5	4	5	4	4	4	4	1	0	
	検 査 動 物 数		46	27	22	23	21	39	19	18	24	27
皮膚	潰 瘍	2	0	0	2	1	3	0	0	5	6	
	検 査 動 物 数		43	26	22	21	21	50	24	23	30	28

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
最 終 屠 殺 動 物	肝	リンパ球浸潤	36	16	18	19	20	43	19	19	16	17
		実質萎縮	7	3	3	1	2	4	1	2	1	9
		中葉肥大	10	1	5	6	10	0	1	0	0	0
		色素沈着肉芽腫	7	1	1	3	0	19	7	10	0	1
		脂肪沈着	8	5	3	6	4	7	2	2	0	0
	検査動物数		54	23	28	27	29	49	24	25	19	21
	腎	皮質尿細管限局性拡張	26	12	15	10	11	22	5	4	2	4
		皮質尿細管びまん性拡張	5	1	2	7	12	0	2	2	7	15
		皮質尿細管上皮細胞空泡化	2	0	1	0	2	2	2	1	5	13
		糸球体腎炎	4	0	0	0	2	0	1	0	0	0
	検査動物数		54	23	28	27	29	49	24	25	19	21
	心	心筋炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		基底心筋線維症	14	7	7	3	12	13	3	2	8	10
		非基底心筋線維症	6	2	4	3	7	2	2	1	3	8
		好中球浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		マクロファージ	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維球増殖	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		54	23	28	27	29	49	24	25	19	21
	脾	赤血球生成	41	12	18	21	26	42	20	22	17	21
		骨髓造血	6	2	6	4	3	25	4	9	6	5
うっ血		23	8	6	6	8	20	9	3	1	1	
検査動物数		54	23	28	27	29	49	24	25	19	21	
精巣	萎縮	23	8	11	10	7	-	-	-	-	-	
	検査動物数		54	23	28	27	29	-	-	-	-	-
精囊	精細管拡張	23	11	10	9	4	-	-	-	-	-	
	被膜壊死	2	1	2	0	0	-	-	-	-	-	
	線維増殖	2	4	5	1	0	-	-	-	-	-	
検査動物数		54	23	28	27	29	-	-	-	-	-	
卵巣	出血嚢胞	-	-	-	-	-	4	2	4	5	4	
	検査動物数		-	-	-	-	-	47	24	25	19	21
子宮	内膜増生	-	-	-	-	-	47	24	25	19	21	
	検査動物数		-	-	-	-	-	47	24	25	19	21
副腎	皮質内脂質欠如	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	検査動物数		52	23	27	27	29	44	24	25	19	21
脳	石灰化	18	6	8	13	10	10	7	4	7	0	
	検査動物数		54	23	28	27	29	37	16	21	12	21
皮膚	潰瘍	3	0	0	1	0						
	検査動物数		51	23	27	26	28	46	24	24	19	21

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 2. 良性腫瘍 (統計検定は未実施)

検査時期	性 別		雄					雌					
	投 与 量 (ppm)		0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000	
0~52週			(腫瘍発生なし)										
	検査動物数		2	5	1	3	0	3	2	4	4	3	
53週	肺	腺腫				1							
	肝	細胞腺腫	1	2	2	2							
	卵巣	嚢胞腫						1					
	涙腺	腺腫						1					
	副腎	褐色細胞腫			1								
	甲状腺	濾胞状腺腫							1				
	腎	乳頭腫					1						
	脾	血管内皮腫						1					
	検査動物数		20	9	12	10	10	17	6	7	9	9	
79週	肺	腺腫	5	1			1	3		1	2	2	
	肝	細胞腺腫	4	1	1	1	1						
	卵巣	嚢胞腫							1				1
		顆粒膜細胞腫							1				
		血管内皮腫							3	1		1	1
	子宮	血管内皮腫						2	1				
	涙腺	腺腫	1									1	
	103週	下垂体	色素嫌性腺腫	1							1		1
腺腫							1					1	
精巣	間質細胞腫				1								
甲状腺	濾胞腺腫	1		1									
神経	神経線維腫							1					
	検査動物数		24	13	9	10	11	30	14	18	17	17	
最終屠殺	肺	腺腫	3	4	3	3	6	8	2	2	4		
	肝	細胞腺腫	12	4	4	6	3	3					
	卵巣	未分化胚細胞腫							5	1	2		
		嚢胞腫							1	1	2		
		顆粒膜細胞腫							2	1	2		
		複合腫瘍							1		1	1	
		黄体腫										1	
	子宮	血管内皮腫						1		2			
	涙腺	腺腫	4	2	3	4	2	1			2	1	
	下垂体	色素嫌性腺腫							2		2		1
		腺腫										1	
	唾液腺	嚢胞腫				1							
	盲腸	平滑筋腫							1				
	精巣	間質細胞腫			1		1						
		セルトリ細胞腫		1		1							
	精囊	腺腫			1								
	副腎	皮質腺腫			2	1	1						
		褐色細胞腫	1										
皮質線維腫										1			
	検査動物数		54	23	28	27	29	50	24	25	19	21	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 3. 悪性腫瘍 (統計検定は未実施)

検査時期	性 別		雄					雌				
	投 与 量 (ppm)		0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
0 ~ 52 週	肺	腺 癌		1								
		リンパ 細網系	リンパ肉腫						1			1
		細網肉腫		1								
	検 査 動 物 数		2	5	1	3	0	3	2	4	4	3
53 ~ 78 週	肺	腺 癌	3	1	2						1	
		リンパ 細網系	リンパ肉腫	1	1	1	1		2		1	2
		細網肉腫	2				1	2	1	1		
		白血病	1	2	1	1		1				
	肝	細胞癌	1		1							
		涙 腺	腺 癌						1			
		口 腔	扁平上皮癌						1			
検 査 動 物 数		20	9	12	10	10	17	6	7	9	9	
79 ~ 103 週	肺	腺 癌	4	2	2			5	2			2
		リンパ 細網系	リンパ肉腫	3			1	1	3	3	1	3
		細網肉腫		1	1	1		1	2	1	2	
		白血病	1			1	1	1	1		2	
		赤芽球肉腫				1						
	脾	血管肉腫		1	1			1				
	肝	細胞癌	4	2	2			1				
		血管肉腫	1									
	卵 巢	悪性顆粒膜細胞腫						1				
	子 宮	血管肉腫						1				1
		線維肉腫								2		
		腺 癌							1			
	子 宮 頸 管	線維肉腫						1	1			
		平滑筋肉腫						1				
	涙 腺	腺 癌	1						1			
	副 腎	皮 質 癌							1			
	皮 膚	退形成性癌		1								
	皮 下	血管肉腫	1		1				1			
		腺 癌						2				
	胃	腺 癌		1								
小 腸	腺 癌	2										
空 腸	腺 癌	1										
乳 腺	腺 癌							1				
筋 肉	横紋筋肉腫								1			
検 査 動 物 数		24	13	9	10	11	30	18	14	17	17	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投 与 量 (ppm)		0	10	25	250	1000	0	10	25	250	1000
最 終 屠 殺	肺	腺 腫	10	2	2	3	4	1	3	2	1	
	リンパ 細網系	リンパ肉腫	1				2	4	1	1	1	1
		細網肉腫				1	2		1	2	1	1
		赤芽球肉腫						1				
	脾	血管肉腫	1	3	1							
	リンパ節	血管肉腫					1					
	肝	細胞癌	6	4	3	2	3		1			
		血管肉腫		2						1		
	卵 巢	悪性顆粒細胞腫						1				
	子 宮	退形成性癌							1			
	涙 腺	腺 癌	1	1			1				1	
	皮 下	線維肉腫									1	
	乳 腺	腺 癌										1
	胃	腺 癌					1					
	精巣上体	線維肉腫			1							
	腎	癌	2									
検 査 動 物 数			54	23	28	27	29	50	24	25	19	21

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

11) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

① ラットを用いた 3 世代繁殖試験

(資料 No.T27)

試験機関：ハイン研究所

報告書作成年：1969 年

検体の純度：

供試動物：Long Evans 系ラット、1 群雄 10 匹、雌 20 匹、開始時 3 週齢

投与期間：P 世代；3 週齢から F₁b 児離乳時まで
F₁ 世代；離乳時から F₂b 児離乳時まで
F₂ 世代；離乳時から F₃b 児離乳時まで
(報告書に投与期間の詳細な記載なし)

投与方法：検体を 3、9、27 及び 81 ppm の濃度で粉末飼料中に混入し、自由摂取させた。検体を混入した飼料は、1 週間毎に調製した。
対照群には、無処理の粉末飼料を与えた。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次項以降の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；

全動物について、全検査時期に一般状態及び生死を毎日観察した。

体重；親動物の体重は、第 2 腹の児動物離乳時に測定した。

交配方法；交配は雌雄 1 対 1 で同居させ、2 週間行い、その間 1 匹の雌を同群の 2 匹の雄と同居させた。

繁殖性に関する指標；

分娩時に、各雌親動物について出産児数を調査した。また、児動物については、哺育 1、5 及び 21 日目に生存児数を調べ、哺育 21 日目には体重を測定した。

交配、妊娠、出産及び哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

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

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

$$\text{生存率 (\%)} = \frac{\text{哺育 5 日目の生存児数}}{\text{新生児数}} \times 100$$

$$\text{離乳率 (\%)} = \frac{\text{離乳時の生存児数}}{\text{哺育 5 日目に調整した児動物数}} \times 100$$

臓器重量； F₃b の児動物雌雄各 10 匹（ただし、3 及び 9 ppm 群では雌雄各 5 匹）について、脳、肝及び腎の重量を測定し、体重比を算出した。

肉眼的病理検査；

試験終了時の全親動物及び F₃b 児動物の臓器重量測定動物を対象として、肉眼的病理検査を行った。

病理組織学的検査；

F₃b 児動物の臓器重量測定動物を対象として、脳、心、肺、肝、脾、腎及び精巣について病理標本を作成し、検鏡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	生育(79日)		
	第1回交配(2週)	100日齢に達した時、雌雄1対1で交配(雄は1回交換)	
	妊娠 出産(F _{1a}) 哺育 離乳	出産5日目に各同腹児数を10匹に調整	出産後の観察 生存新生児数(出産後1、5、21日) 出産後21日目に同腹児体重測定、屠殺廃棄
	第2回交配(2週)	F _{1a} 離乳10日後、雌雄1対1で交配(雄は1回交換)	
F ₁	妊娠 出産(F _{1b}) 哺育 離乳	出産5日目に各同腹児数を10匹に調整 継代用の各群雄10匹、雌20匹を無作為に選抜(但し、小型児は除く)	出産後の観察 生存新生児数(出産後1、5、21日) 出産後21日目に同腹児体重測定、選抜した児動物について肉眼的病理検査 離乳後、P世代の体重を測定し、全例を屠殺して肉眼的病理検査を実施
	生育(79日)		
	第1回交配(2週)	100日齢に達した時、雌雄1対1で交配(雄は1回交換)	
	妊娠 出産(F _{2a}) 哺育 離乳	出産5日目に各同腹児数を10匹に調整	出産後の観察 生存新生児数(出産後1、5、21日) 出産後21日目に同腹児体重測定、屠殺廃棄
F ₂	第2回交配(2週)	F _{2a} 離乳10日後、雌雄1対1で交配(雄は1回交換)	
	妊娠 出産(F _{2b}) 哺育 離乳	出産5日目に各同腹児数を10匹に調整 継代用の各群雄10匹、雌20匹を無作為に選抜(但し、小型児は除く)	出産後の観察 生存新生児数(出産後1、5、21日) 出産後21日目に同腹児体重測定、選抜した児動物について肉眼的病理検査 離乳後、F _{1b} 世代の体重を測定し、全例を屠殺して肉眼的病理検査を実施
	生育(79日)		
	第1回交配(2週)	100日齢に達した時、雌雄1対1で交配(雄は1回交換)	
F ₃	妊娠 出産(F _{3a}) 哺育 離乳	出産5日目に各同腹児数を10匹に調整 離乳児全例屠殺	出産後の観察 生存新生児数(出産後1、5、21日) 出産後21日目に同腹児体重測定
	第2回交配(2週)	F _{3a} 離乳10日後、雌雄1対1で交配(雄は1回交換)	
	妊娠 出産(F _{3b}) 哺育 離乳	出産5日に各同腹児数を10匹に調整	出産後の観察 生存新生児数(出産後1、5、21日) 離乳後、個体別体重を測定後、剖検及び病理組織学的検査 離乳後、F _{2b} 世代の体重を測定し、全例を屠殺して肉眼的病理検査を実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

世 代		親 : P 児 : F ₁					親 : F ₁ b 児 : F ₂					親 : F ₂ b 児 : F ₃					
投与量 (ppm)		0	3	9	27	81	0	3	9	27	81	0	3	9	27	81	
検 査 動 物 数	雄	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	雌	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
親	一般症状	検体投与による症状は認められなかった。															
	死亡率 (%)	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
動 物	屠 殺 時 の 体 重 (g)	雄	506	515	523	526	479	510	513	501	492	442**	526	525	492	496	467*
		雌	339	348	368*	338	306**	341	348	348	341	306**	334	351	338	338	315
物	受 胎 率 (%)	a	90	100	100	100	95	100	100	95	65	100	90	100	95	100	100
		b	100	100	95	100	95	95	100	100	90	100	100	100	90	100	95
物	出 産 数	a	18	20	20	20	19	20	20	19	13	20	18	20	19	20	19
		b	20	20	18	20	19	18	20	20	18	20	19	20	18	20	19
物	出 産 率 (%)	a	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	95
		b	100	100	94.7	100	100	94.7	100	100	100	100	95	100	100	100	100

Dunnettの検定 * : 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アグロカネシヨウ株式会社にある。

世 代		親 : P 児 : F ₁					親 : F _{1b} 児 : F ₂					親 : F _{2b} 児 : F ₃					
投与量 (ppm)		0	3	9	27	81	0	3	9	27	81	0	3	9	27	81	
検 査 動 物 数	雄	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	雌	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
児 動 物	平 均 同 腹 児 数	a	10.2	10.0	10.4	9.0	9.8	9.8	10.0	10.5	10.5	9.0	8.9	11.1*	9.7	11.1*	10.0
		b	10.9	11.0	11.4	10.2	10.5	11.1	11.0	11.4	9.8	9.9	10.2	11.4	10.9	11.4	10.9
	5 日 目 生 存 率 (%)	雄	90.7	95.5	97.1**	96.1*	98.9**	96.9	97.5	96.5	97.8	87.8**	96.3	89.2*	93.5	89.2*	98.4
		雌	90.8	96.4*	97.6**	99.0	88.9	86.2	98.6**	89.4	94.9**	99.5**	86.3	90.0	95.9**	90.4	94.2**
	離 乳 率 (%)	a	97.4	97.1	95.0	96.3	95.5	88.1	80.4*	83.4	78.0*	84.5	89.0	83.3	84.9	86.5	94.2
		b	95.0	84.9**	80.5**	91.9	90.9	74.8	81.7	86.3**	91.8**	94.5**	82.7	66.3**	80.8	76.8	92.1**
	離 乳 児 体 重 (g)	a	39.2	40.0	38.9	38.4	36.3	38.2	41.0	39.0	36.3	39.5	39.3	36.4	38.2	37.2	35.0
		b	35.9	37.7	38.3	38.4	36.2	40.2	41.0	39.0	42.4	38.6	39.7	39.1	40.0	39.8	38.5
検 査 動 物 数	雄	10	5	5	10	10	10	5	5	10	10	10	5	5	10	10	
	雌	10	5	5	10	10	10	5	5	10	10	10	5	5	10	10	
児 動 物	脳 比 重 量	雄	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.49	3.30	3.67	3.47	3.66
		雌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.45	3.43	3.58	3.51	3.71*
	肝 比 重 量	雄	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.07	3.96	4.16	4.23	4.01
		雌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.23	4.17	4.28	4.30	4.01
	腎 比 重 量	雄	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.28	1.22	1.22	1.26	1.23
		雌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.31	1.30	1.27	1.28	1.19**

Dunnett の検定 * : 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アグロカネショウ株式会社にある。

81 ppm 群の P 世代雌、F₁ 世代雌雄及び F₂ 世代雄で対照群に比べ体重が有意に低かった。

受胎率及び出産率等の親動物の交配成績には、第 1 回及び第 2 回交配のいずれにおいても検体投与の影響は認められなかった。

27 ppm 投与群の F₁ 世代第 1 回交配時に、受胎率が 65%と低かったが、これは、いくつかのケージで雌雄をとり違えていたためである。

親動物の肉眼的病理検査では、9 ppm 投与群の P 世代雌 1 匹に肺の異常が認められた以外、顕著な病変は認められなかった。

児動物に関する成績では、検体投与によると思われる影響は認められなかった。

81 ppm 投与群では F_{3b} 児動物の脳及び腎比重量に有意な減少が認められたが、肉眼的病理検査では、異常はみられなかった。病理組織学的検査では、対照群を含む全群の雌雄に肺胞性肺気腫及び脾での髄外造血が認められたが、検体投与による影響とは考えられなかった。

以上の結果より、3 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、81 ppm 投与群において屠殺時の雌雄親動物の体重増加抑制、また児動物の雌 F₃ で脳比重量の増加と腎比重量の減少が認められた。繁殖については最高投与量の 81ppm でも影響がなかった。

したがって、無毒性量は親動物及び児動物に対して 27 ppm^{*}であり、繁殖性に対する影響は全く認められなかった。

*申請者注) 摂餌量等の情報不足により検体摂取量 (mg/kg/日) は算出できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

② ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No.T28)

試験機関：食品農医薬品安全性評価センター

報告書作成年：1981年

検体の純度：

試験動物：Slc:Wistar系ラット、開始時12週齢

雌149匹を交配し、132匹が受精し、126匹が妊娠したが、うち80匹を各群20匹ずつ配分して試験に用いた。

試験期間：妊娠期間20日間（1981年6月～7月）

投与方法：被験物質を0.5%CMC水溶液に懸濁し、金属性胃ゾンデを用いて、0.5 mg/kg、1.5 mg/kg及び4.5 mg/kgの投与レベルで妊娠6日から妊娠19日の間毎日1回、計14回、経口投与した。

対照群には0.5%CMC水溶液10 ml/kgを同様に投与した。

膈栓又は膈垢中の精子の存在をもって交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、2及び4～20日まで毎日体重を測定した。妊娠2及び4～20日では摂餌量も測定した。

妊娠20日目に開腹し、黄体数、着床数、生存及び死亡、吸収胎児数、胎盤重量を調べた。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。

各同腹児群の2/3の胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については、内臓異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結 果：

投 与 群 (mg/kg/日)		0	0.5	1.5	4.5	
1 群当りの妊娠動物数		20	20	20	20	
親 動 物	一 般 症 状	異常なし	同 左	同 左	同 左	
	死 亡 率 (%)	0	0	0	0	
	体 重 変 化 (g) (0-20日の体重増加量)	78	74	72	64***	
	摂 餌 量	異常なし	有意差なし	有意差なし	妊娠 7~9 日目まで有意な低下。 妊娠 14、16 及び 18 日目に有意な 低下。	
	交 配 率 (%)	91.9	83.8	83.8	94.7	
	受 胎 率 (%)	97.1	100	96.8	88.9	
	着 床 所 見	黄 体 数	12.5	12.1	12.6	12.1
		着 床 数	11.5	11.2	11.8	10.7
		着 床 率 (%)	91.6	92.9	93.6	88.4
		生存胎児数	11.0	10.6	10.8	10.0
死亡胎児数		初期	9	11	18	14
		後期	0	1	1	1
胎児死亡率 (%)		3.9	5.4	8.2	7.0	
胎 盤 重 量 (mg)	406	407	398	398		
児 動 物	性 比 (♂/♀)	0.98	0.94	0.81***	0.81***	
	体 重	雄	3.34	3.31	3.30	3.25
		雌	3.08	3.08	3.07	3.05
	外表異常 異常児数/検査児数	0/220	0/212	0/216	0/199	
	骨格異常 異常児数/検査児数	14/154	11/147	17/151	22/138	
	第 5 胸骨分節未化骨%	52.6	40.1*	45.0	53.6	
第 6 胸骨分節未化骨%	27.9	19.0	15.9*	54.3***		
内臓異常 異常児数/検査児数	11/66	16/65	22/65	19/61		

t-検定及び χ^2 -検定 * : p<0.05、*** : p<0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

母動物の 4.5 mg/kg/日投与群において、体重増加抑制と摂餌量の減少が認められた。

※摂餌量の減少は投与 2～4 日でみられ、5 日に回復した。

胎児動物の骨格検査において、第 6 胸骨分節未化骨が増加したが、これは母動物の体重増加抑制の影響によるものと思われる。

内臓異常としては、胸腺の頸部残留、右鎖骨下動脈起始異常、肝の奇形結節、停留精巣、左臍動脈が認められたが、これらの所見には各群間での有意差及び用量依存性が認められず、検体投与の影響ではないと考えられる。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児動物における無毒性量は 1.5mg/kg/日であった。また、最高投与量の 4.5mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

③ ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No.T29)

試験機関： トンストール研究所 (英国)

報告書作成年： 1982 年

検体の純度：

試験動物： ニュージーランド・ホワイト系妊娠ウサギ (7～11 ヲ月齡)

1 群対照群 22 匹、投与群 20～22 匹

投与期間： 妊娠 6～19 日

方法： 交配日を妊娠 0 日とした。投与量は 1.0、2.0 及び 4.0 mg/kg とし、1 匹の 1 日分の検体を 1 個のゼラチンカプセルに詰め、妊娠 6～18 日までの 13 日間、毎日経口投与した。

対照群には、ブランクのゼラチンカプセルを同期間与えた。

陽性対照の Thalidomide 150 mg/kg 群は、1 匹の 1 日分を 3 個のカプセルに詰め、妊娠 7～10 日までの 4 日間、毎日投与した。

試験項目：

母動物： 一般状態及び生死を毎日観察した。体重は妊娠 0、6、9、12、15、18、29 日に測定した。飼料摂取量は妊娠 0～6、6～12、12～18、18～24 日及び 24～29 日の間で記録した。

妊娠 29 日に剖検し、黄体数、着床数、生存及び死亡、吸収胎児数を検査した。

生存胎児： 体重を測定し、外表異常を観察した。

外表異常のみられた胎児は、異常の種類ごとに適切と思われる方法で観察した。

外表異常のみられない胎児については、各同腹群の 1/3 の胎児はブアン液で固定後、頭蓋の切片を作成して、異常の有無を観察した。胎児の残りの部分は、正中線を切開して、性別を確認後、内臓の異常を調べた。

各同腹群の 2/3 の胎児については、内臓異常を観察後骨格標本を作成し、骨格異常の有無を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結 果 :

投 与 群 (mg/kg/日)		0	1.0	2.0	4.0	陽性対照 Thalidomide 55	
1 群 当 り 動 物 数		22	22	22	22	22	
親 動 物	一 般 状 態	1例に明確な食欲欠乏、2例に糞量の減少がみられた。	被験物質の影響なし	数例には食欲欠乏、糞量の減少がみられた。 1例流産。 1例死亡。	数例に食欲欠乏、糞量の減少がみられた。 2例流産。	数例に食欲欠乏、糞量の減少がみられた。 2例流産。 1例が瀕死状態になったので、妊娠28日に試験より除外。	
	死 亡 率 (%)	0	0	4.5	0	0	
	体 重 (g)	0 日	4421	4482	4408	4420	4450
		6 日	4437	4525	4463	4449	4477
		9 日	4485	4464	4435 **	4410 **	4447
		12 日	4488	4469	4426 *	4403 **	4453
		15 日	4509	4521	4439	4384 **	4450
		18 日	4491	4518	4436	4339 **	4427
		29 日	4537	4536	4432	4344 *	4409
	摂 餌 量 (mg/ kg bw /日)	0-6 日	802	879	841	852	817
6-12 日		801	747	634 **	512 **	608 **	
12-18 日		649	668	519	309 **	609	
18-24 日		511	535	412	412	503	
24-29 日		405	374	297	377	380	
受 胎 率 (数)		90.9% (20)	95.5% (21)	100% (22)	90.9% (20)	100% (22)	
剖 検 所 見		食欲欠乏の母動物の胃内には皮毛が詰まっていた。	1つしか着床のみられなかった母動物に、原因と思われるような変化はなかった。他は異常なし。	腸管へのガス又は液体の充満、胃内容物が皮毛や糞塊だけであるものが数例みられた。流産又は死亡した母動物に特異的变化なし。	腸管へのガス又は液体の充満、胃内容物が皮毛や糞塊だけであるものが数例みられた。流産又は死亡胎児や吸収胎児しか認められなかった母動物に特異的变化なし。	腸管へのガス又は液体の充満、胃内容物が皮毛や糞塊だけであるものが数例みられた。流産又は死亡胎児や吸収胎児しか認められなかった母動物に特異的变化なし。	

* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$ (Dunnettの検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

投与群(mg/kg/日)		0	1.0	2.0	4.0	陽性対照 Thalidomide 55	
1 群当り動物数		22	22	22	22	22	
親 動物	着床所見	黄体数 (一腹当り)	11.0	11.0	11.5	11.8	11.7
		着床数 (一腹当り)	8.1	8.0	8.5	8.3	8.7
		生存胎児を得た母動物数	19	20	20	16	19
		生存胎児数 (一腹当り)	7.5	7.5	7.0	6.1	5.2**
		生存雄胎児数 (一腹当り)	3.6	3.8	3.5	2.8	3.0
		生存雌胎児数 (一腹当り)	3.8	3.7	3.5	3.4	2.2*
		吸収胚数 (一腹当り)	0.8	0.6	1.2	1.6	2.7*
		死亡胎児数 (一腹当り)	0.2	0.3	0.4	1.5*	1.1*
		着床前胚 死亡数 (一腹当り)	3.0	3.0	3.1	3.5	3.1
		着床後胚 死亡数 (一腹当り)	1.0	0.9	1.5	3.2**	3.8**

* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$ (Wilcoxon の検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	1.0	2.0	4.0	陽性対照 Thalidomide 55	
児	平均体重 (g)	42.5	42.6	40.5	41.3	40.0	
	外表異常	1/142 手根骨の屈曲が 1例みられた。	0/150 異常なし	2/139 皮下出血、手根 骨の屈曲が各 1 例みられた。	11/98 体重減少のみら れた 2 母動物か ら得た胎児に、 重複奇形(無頭 症と胸裂)が 1 例、半球状頭蓋 が 4 例、手根骨 の屈曲が 4 例み られた。 他に皮下出血 1 例。	45/98 頭蓋、顔面、手 及び足肢骨、尾 などに広範な異 常がみられた。	
	骨格異常 / 奇形						
動物	頭蓋 又は 舌骨	(A)	11/95	7/98	9/94	9/64	28/65
		(B)	13.4	6.5	8.6	12.5	43.4*
		(C)	21.1(4/19)	30.6(6/20)	20.0(4/20)	18.8(3/16)	63.2(12/19)
脊髄	(A)	3/95	1/98	7/94	1/64	39/63	
	(B)	3.1	0.8	7.0	2.1	60.4**	
	(C)	15.8(3/19)	5.0(1/20)	10.0(2/20)	6.3(1/16)	89.5(17/19)	
胸骨	(A)	43/95	29/98	43/93	23/64	39/64	
	(B)	47.6	28.0*	47.4	35.5	62.9	
	(C)	94.7(18/19)	70.0(14/98)	90.0(18/83)	62.5(10/10)	39.5(17/19)	
肋骨	(A)	1/95	1/98	0/93	0/64	2/64	
	(B)	1.3	1.0	0.0	0.0	5.3	
	(C)	5.3(1/19)	5.0(1/20)	0.0(0/20)	0.0(0/16)	10.5(2/19)	
内臓 異常	(D)	13/95	11/98	19/94	11/64	136/95	
	(E)	3/47	8/52	12/45	22/34	90/33	

* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$ (Wilcoxon の検定)

A : 異常胎児数 / 検査胎児数

B : 一腹内異常胎児数 / 一腹全胎児数 (平均、%) [原文の F%]

C : 異常胎児を含む腹数 / 全腹数 (%) [原文の F%]

D : 骨格標本を作成する前の剖検所見。異常胎児数(延べ数) / 検査胎児数

E : プアン液で固定した胎児における所見、異常胎児数(延べ数) / 検査胎児数

1 mg/kg 群では、母動物、胚及び胎児に被験物質の影響は認められなかった。

2 mg/kg 群では、妊娠期間中の母動物の体重増加抑制、飼料摂取量の減少、死亡 1 例、流産 1 例が認められたが、胚及び胎児に対する影響は認められなかった。

4 mg/kg 群では、妊娠期間中の飼料摂取量の減少、流産 2 例、子宮内胎児の全例が死亡 (又は吸収) した母動物 3 例が認められた。さらに吸収胚の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

増加、過剰肋骨の認められた胎児数の増加及び数例の未熟児、またブアン液固定後の胎児で、脳室拡張、腎盂拡張等の発現頻度の増加が認められたが、母動物に対する影響により二次的に発生した影響と思われ、検体による催奇形性作用は観察されなかった。

陽性対照の Thalidomide の 150 mg/kg 群では、流産 2 例、重度衰弱した母動物 1 例、投与期間中の飼料摂取量の減少が見られたが、母動物の体重増加に影響は見られなかった。

また、吸収胚の増加、一腹平均生存児数の減少、奇形の広範な発現等が観察された。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物おける無毒性量は 1 mg/kg/日、胎児動物に対しては 2mg/kg/日であった。また最高投与量の 4 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

④ ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T30)

試験機関： シェルディベロプメントカンパニー
(米国)

報告書作成年： 1981年

検体の純度：

試験動物： Fischer 344 系ラット (122 日齢)、1 群 20 匹

試験期間： 妊娠期間 20 日間 (報告書に試験期間の詳細な記載なし)

方 法： 検体を 0.2% METHOCHEL (メチルセルロース) 水溶液に溶解し、1 日当り 0、1、2.5、10 及び 25 mg/kg を妊娠 6~15 日までの 10 日間連続投与した。

陽性対照群には、ビタミン A を 1 日当り 128 mg/kg を妊娠 9~15 日までの 7 日間連続投与した。臍栓の存在の認められた日を妊娠 0 日とした。

試験項目：

親動物： 妊娠期間中、死亡、流産及び毒性症状を観察した。

体重は妊娠 0、6、12 及び 20 日目に行った。

妊娠 20 日目に帝王切開し、生存胎児、死亡胎児、吸収胚の位置と数及び黄体数を記録した。

胎 児： 個別に体重を測定し、性別を判定し、外表奇形と口蓋裂を検査した。約半数の胎児は内臓検査のためブアン液で固定した。残り約半数については Dowson の変法を用いて骨格検査を行うためにイソプロピルアルコールで固定した。奇形のあった胎児については、その奇形について最も適当と思われる方法で検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

結 果 :

投与群 (mg/kg/day)		溶媒対照 0	1	2.5	10	25	陽性対照 ビタミン A128	
1 群当りの動物数		20	20	20	20	20	27	
親 動 物	一 般 症 状				1 頭のみ顔死 の状態 ⁽¹⁾			
	死 亡 率 (%)	0/20 (0.0%)	0/20 (0.0%)	0/20 (0.0%)	2/20 ⁽²⁾ (10.0%)	0/20 (0.0%)	0/27 (0.0%)	
	平均 体重 (g)	妊娠 6 日	206	209	207	209	204	208
		12 日	222	220	219	216*	209*	204*
		15 日	229	229	228	227	222*	195*
		20 日	259	255	261	261	257	236*
	受 胎 率 (数)		20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	27/27 (100%)
	着 床 所 見	黄 体 数	12.0 ± 0.4	12.2 ± 0.4	11.8 ± 0.4	12.1 ± 0.4	12.2 ± 0.4	11.7 ± 0.3
		着 床 数	9.4 ± 0.7	9.4 ± 0.7	10.4 ± 0.7	10.4 ± 0.7	10.7 ± 0.7	10.2 ± 0.6
		生存胎児数 (率)	9.2 ± 0.2 (99.9%)	8.8 ± 0.2 (99.8%)	9.6 ± 0.2 (100.0%)	9.5 ± 0.2 (99.9%)	9.4 ± 0.2 (99.9%)	9.0 ± 0.2 (99.9%)
吸収胎児数 (率)		0.8 ± 0.2 (0.1%)	1.3 ± 0.2 (0.2%)	0.5 ± 0.2 (0.0%)	0.5 ± 0.2 (0.1%)	0.7 ± 0.2 (0.1%)	0.8 ± 0.2 (0.1%)	

注 空欄は異常なしを示す。

(1) 剖検の結果、異常所見は認められず、正常に妊娠していたが統計学的解析より除く。

(2) 顔死の 2 頭を弊死とみなした。

Dunnett の検定 * : p ≤ 0.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		溶媒対照 0	1	2.5	10	25	陽性対照 ビタミン A128
1 群当りの動物数		20	20	20	20	20	27
胎 児 動 物	体 重 (g)	3.10 ± 0.07	3.17 ± 0.08	3.15 ± 0.07	3.30 ± 0.07	3.17 ± 0.07	2.77 ± 0.06
	体 長 (mm)	34.30 ± 0.41	34.60 ± 0.41	34.30 ± 0.41	35.20 ± 0.41	34.00 ± 0.41	33.40 ± 0.35
	性 比 (雄%)	42 ± 5	40 ± 5	54 ± 5	39 ± 5	43 ± 5	48 ± 5
	検 査 動 物 数	172	962	198	195	200	247
	外表異常出現率	0.5%	0.0%	0.5%	0.0%	1.7%	96.2%*
	検 査 動 物 数	82	76	93	90	97	120
	内臓異常出現率						
	食 道 転 位	1.25%	0.00%	1.05%	0.93%	2.25%	13.27%*
	小 眼 球 症	1.25%	0.00%	0.00%	0.00%	0.83%	5.19%
	横隔膜ヘルニア	0.00%	5.00%	1.05%	2.78%	3.00%	0.74%
	眼 球 欠 失	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	3.67%	15.50%*
	肝 小 突 出	8.50%	1.32%	1.05%	4.54%	7.50%	0.00%
	脳 出 血	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.83%	0.00%
	率 丸 滯 留	2.92%	1.75%	1.05%	1.11%	2.25%	5.06%
	率 丸 位 置 異 常	3.50%	3.07%	2.81%	0.00%	1.25%	2.10%
	検 査 動 物 数	89	86	108	104	103	128
	骨格異常出現率						
後頭骨化骨遅延	2.50%	7.00%	4.10%	4.88%	3.73%	61.67%*	
腰 骨 突 起	1.00%	0.00%	0.83%	5.33%	29.94%*	26.99%*	
胸骨化骨遅延	0.00%	0.00%	2.50%	0.00%	0.00%	9.10%*	
腰骨化骨遅延	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	5.13%	
胸骨分節化骨遅延	10.05%	9.20%	9.35%	7.20%	7.63%	30.71%*	

* : $p \leq 0.05$ (Mann-Whitney U 検定、Wilcoxon 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アグロカネショウ株式会社にある。

親動物において、10 及び 25mg/kg 投与群において体重増加抑制が認められた。1 及び 2.5 mg/kg 投与群では、異常は認められなかった。
また、一般状態の異常は何もみられなかった。

児動物において、25 mg/kg 投与群で有意な骨格変異の増加みられたが、これらの変化は体重増加抑制により示される母動物への本検体投与の影響に因るものと考えられた。1、2.5、10 mg/kg 投与群においては、何ら異常はみられなかった。

陽性対照群は胎児体重の減少、同腹胎児あたりの死亡胎児数の増加、眼欠損、余剰肋骨及びその他の内臓、骨格異常の増加で示される明らかな胎児毒性と催奇形性を示した。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量は 2.5 mg/kg/日、胎児動物に対しては 10 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 25 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑤ ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T31)

試験機関：リサーチ トライアングル インスティテュート
(米国) (GLP)

報告書作成年：1984年

検体の純度：

試験動物：CD(SD)BR系ラット(8~10週齢)、1群30匹

試験期間：妊娠期間 20日間 (1983年2月9日~1983年4月1日)

投与方法：検体を1日当り0、1、3及び30 mg/kgを妊娠6~15日までの毎日連続強
制経口投与した。なお対照群には0.2% METHOCEL(メチルセルロース)
溶媒のみを投与した(5 ml/kg)
墮胎中の精子の存在をもって交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。

試験項目：

親動物；妊娠0、6、12、15及び20(屠殺直後)に体重を測定した。

一般状態の観察は、妊娠0~20日まで行なった。

妊娠20日に屠殺した母動物について体重、肝重量、子宮重量及び子宮内
着床状態(吸収胚、死亡胎児、生存胎児)を調べた。

胎児；生存胎児は子宮より摘出し、生存同腹児数、胎児体重、体長、性別及び外
表異常を検査した。また同数について内臓異常の有無について検査した。
半数について頭部及び骨格異常について検査した。

結果：次表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結 果：

投与群 (mg/kg/日)		溶媒対照 0.0	1.0	3.0	30.0	
1 群当りの動物数		30	30	30	30	
親動物	一般状態		立毛	立毛	立毛	
	死亡率 (%)	0/30 (0.0%)	0/30 (0.0%)	0/30 (0.0%)	0/30 (0.0%)	
	体重 (g)	妊娠 0 日	236.01	233.70	238.92	238.49
		6 日	263.10	258.95	266.01	263.59
		12 日	292.93	288.09	287.63	280.73
		15 日	310.64	306.51	314.07	301.69
		20 日	367.83	362.02	384.20	374.07
	体重増加量 (g)	妊娠 0-20 日	131.82	128.33	145.29	135.59
		妊娠 6-15 日	47.54	47.56	48.06	38.10*
	受胎率 (%)		30/30 (100.0%)	28/30 (93.3%)	27/30 (90.0%)	27/30 (90.0%)
着床所見	検査動物数	19	21	19	21	
	黄体数	15.00 ± 0.77	14.71 ± 0.49	15.33 ± 0.67	17.29 ± 1.11	
	着床数	11.95 ± 1.07	12.48 ± 0.72	14.26 ± 0.40	13.62 ± 0.42	
	生存胎児数	11.37 ± 1.04	11.95 ± 0.73	13.79 ± 0.41	13.24 ± 0.51	
	吸収胎児数 (%)	0.58 ± 0.19 (4.44 ± 1.56)	0.52 ± 0.21 (4.19 ± 1.57)	0.47 ± 0.19 (3.23 ± 1.31)	0.38 ± 0.23 (2.93 ± 1.80)	
胎児動物	体重 (g)	雄	4.008 ± 0.087	3.974 ± 0.066	3.998 ± 0.070	4.167 ± 0.077
		雌	3.924 ± 0.075	3.817 ± 0.067	3.788 ± 0.079	3.937 ± 0.093
雄比率 (%)		44.21 ± 4.81	48.16 ± 3.33	46.21 ± 3.25	49.66 ± 2.95	
外表異常		4/216 (0.46%) 耳の位置異常、小鼻	0/251 (0.00%)	1/262 (0.38%) 尾端糸状	0/278 (0.00%)	
内臓異常		4/216 (1.85%)	4/251 (1.59%)	4/262 (1.53%)	1/278 (0.36%)	
骨格異常		0/216 (0.00%)	2/251 (0.80%) 頭蓋癒合異常 2 例	1/262 (0.38%) 胸骨分節癒合 1 例	0/278 (0.00%)	
変異 (外表、内臓及び骨格すべてを含む)		37/216 (17.13%)	47/251 (18.73%)	38/262 (14.50%)	45/278 (16.19%)	
		椎体分裂 5 例	27 例	15 例	19 例	
		尿管拡張 16 例	12 例	14 例	14 例	

注 空欄は異常なしを示す。

* : p<0.05 (分散分析/ANCOVA)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

親動物の影響については、最高投与量の 30.0 mg/kg/日投与群において、有意な体重増加抑制 ($p < 0.05$) が認められたが、他に検体投与の影響と考えられる変化はなかった。胎児動物への影響については、検体投与と関連のある影響は何らみられなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量は 3 mg/kg/日、胎児動物には 30 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 30 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑥ ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T32)

試験機関：アーガスリサーチラボラトリーズ
(米国) (GLP)

報告書作成年：1985年

検体の純度：

試験動物：Fischer 344系ラット (75日齢)、1群70匹

試験期間：妊娠期間20日及び分娩後21日
(1984年10月3日～1984年12月8日)

投与方法：検体を1日当たり0、5、25及び75 mg/kgを妊娠6～15日まで毎日連続経口投与した。対照群には、0.25%メチルセルロース溶液のみを投与した。膈スミア中の精子または膈栓が確認された日を妊娠0日とした。

試験項目：

親動物：一般状態、体重及び摂餌量を測定した。

対照群、低、中、高用量群各々25、25、25、21匹について妊娠20日に剖検を行い、着床数、同腹児数、胎児生存状態の調査を行った。

妊娠20日に帝王切開しなかった妊娠母動物(対照群、低、中、高用量群各々31、31、37、20匹)は、自然分娩させた。

分娩後約21日に剖検し、肉眼的異常と着床痕数を検査した。

胎児：妊娠20日に帝王切開により得られた胎児全動物について、性、体重、体長及び外表異常の有無について検査を行った。各同腹児の1/2の胎児について軟組織か骨格のいずれかの異常の有無を検査した。

自然分娩させた新生児の生存状態、体重、眼の機能発達を観察した。分娩後21日に剖検を行い、肉眼的異常と変異を検査した。

結果：次表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

1. 帝王切開群の試験結果

投 与 群 (mg/kg)		溶媒対照 0	5	25	75	
1 群当りの動物数		70	70	70	70	
親 動 物	一 般 状 態			興奮に続く抑制流涎等	興奮に続く抑制流涎・流涙・脱毛	
	死 亡 率 (%)	0/70	0/70	0/70	13/70**	
	検 査 動 物 数	25	25	22	11	
	体重変化 (g)	妊 娠 0 - 20 日	+92.8±13.9 (56)	+83.5±14.3* (56)	+66.4±29.7** (62)	+26.8±24.8** (53)
		摂餌量 (g)	妊 娠 0 日	60.4±17.5 (56)	57.7±18.6 (56)	63.0±12.7 (62)
	6 日		73.6±8.5 (56)	52.6±8.9** (56)	31.4±13.6** (62)	8.2±9.0** (53)
	10 日		76.6±6.6 (56)	72.7±8.0** (56)	57.4±13.5** (62)	60.3±19.7** (43)
	15 日		77.1±7.1 (56)	75.9±8.8 (56)	73.8±12.3 (62)	75.3±24.8 (41)
	受 胎 率 (%)		56/70 (80.0%)	56/70 (80.0%)	62/70 (88.6%)	53/70 (75.7%)
	着床所見	黄 体 数	12.2 ± 1.8	12.7 ± 1.4	13.6 ± 1.8*	14.5 ± 2.8*
着 床 数		11.0 ± 2.6	11.9 ± 1.4	11.8 ± 2.8	11.1 ± 2.6	
生存胎児数		10.7 ± 2.8	11.6 ± 1.6	10.0 ± 4.6	4.1 ± 5.0**	
吸収胎児数		0.4 ± 0.6	0.3 ± 0.5	1.8 ± 3.8	7.0 ± 4.9**	
胎 児 動 物	体 重 (g)	雄	3.13 ± 0.13	3.15 ± 0.13	3.15 ± 0.22	2.39 ± 0.34**
		雌	2.91 ± 0.14	2.90 ± 0.15	2.95 ± 0.16	2.23 ± 0.31**
	体 長 (cm)		3.33 ± 0.1	3.32 ± 0.08	3.33 ± 0.09	3.04 ± 0.21**
	雄比率 (%)		56.4 ± 13.9	54.5 ± 12.0	50.5 ± 14.4	50.8 ± 22.2
	外表異常				(注 1)	(注 1)
	眼 部 陥 凹		0/267 (0/25)	0/290 (0/25)	0/250 (0/22)	6/86** (3/11**)
	外 脳 症		0/267 (0/25)	0/290 (0/25)	0/250 (0/22)	1/86** (1/11**)
	口 蓋 裂		0/267 (0/25)	0/290 (0/25)	0/250 (0/22)	4/86** (1/11**)
	口蓋裂、小舌を伴う小顎症		0/267 (0/25)	0/290 (0/25)	0/250 (0/22)	1/86** (1/11**)
	内臓異常					
小 眼 症		0/125 (0/25)	0/138 (0/25)	0/123 (0/22)	6/40** (3/10**)	
水 腎 症 (奇形)		0/125 (0/25)	0/138 (0/25)	1/123 (1/22)	1/40 (1/10)	
側脳室、第3脳室拡張 (変異)		2/125 (2/25)	1/138 (1/25)	0/123 (0/22)	13/40** (4/10**)	
口 蓋 裂		0/125 (0/25)	0/138 (0/25)	0/123 (0/22)	4/40** (1/10)	
口蓋裂、小舌を伴う小顎症		0/125 (0/25)	0/138 (0/25)	0/123 (0/22)	1/40** (1/10)	
骨格異常				(注 1)	(注 2)	
頭蓋奇形及び鼻骨短縮		0/142 (0/25)	0/152 (0/25)	0/127 (0/22)	1/45** (1/10)	
蝶形骨の穴		0/142 (0/25)	0/152 (0/25)	0/127 (0/22)	4/45** (3/10**)	
胸骨例の片側性骨化		0/142 (0/25)	0/152 (0/25)	2/127 (2/22)	6/45** (5/10**)	
胸骨核分離		1/142 (1/25)	0/152 (0/25)	0/127 (0/22)	3/45** (3/10**)	
胸骨不整骨化		0/142 (0/25)	0/152 (0/25)	0/127 (0/25)	2/45** (2/10**)	
胸骨骨化不全/未骨化		0/142 (0/25)	0/152 (0/25)	0/127 (0/22)	4/45** (4/10**)	
椎 体 異 常		0/142 (0/25)	0/152 (0/25)	0/127 (0/22)	1/45** (1/10)	

注 空欄は異常なしを示す。() 内は腹数を示す。 * : p ≤ 0.05、** : p ≤ 0.01 (Bartlett 検定)

体重変化及び摂餌量は全妊娠動物の平均値を表し、数値の下に示した () 内の数字は検査動物数を表す。

(注 1) 死亡胎児 1 匹を統計処理から除外した。

(注 2) 死亡胎児 1 匹及び非常に小さな胎児 (1.45g) 1 匹のみを有する母動物を統計処理から除外した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

2. 自然分娩群の試験結果

投 与 群 (mg/kg)		溶媒対照 0	5	25	75
1 群 当 り の 動 物 数		70	70	70	70
親 動 物	死 亡 率 (%)	0/70	0/70	0/70	13/70
	検 査 動 物 数	31	30	29	8
	一 般 状 態	検体の投与に起因すると考えられる一般状態の変化は哺育期間中は全く認められなかった。用量依存性はないが、軟便・水様便・脱毛・透明な直腸分泌物・血様流涙・赤色臍分泌物が認められた。			
	体 重 変 化 (g) (分娩後 1-21 日 の 平 均)	25.3±9.4 (30 匹 の 平 均)	30.6±8.5*	35.3±8.7**	56.2 ± 13.0** (5 匹 の 平 均)
	摂 餌 量 分 娩 1 日 目 (g/kg/day)	63.2 ± 16.8	75.6 ± 28.5	79.3 ± 16.1**	71.2 ± 15.0
	妊 娠 期 間 (日)	23.1 ± 0.3	23.1 ± 0.4	23.1 ± 0.3	23.5 ± 0.5*
	新 生 児 数	10.8 ± 3.0	10.4 ± 2.8	11.0 ± 2.4	8.5 ± 2.1*
胎 児 動 物	哺 育 21 日 目 生 存 率	10.5 ± 3.2	10.0 ± 2.8	10.6 ± 2.2	4.6 ± 2.1**
	哺 育 21 日 目 雄 比 率	54.2 ± 17.8	57.3 ± 20.1	47.8 ± 18.1	54.3 ± 22.3
	一 般 観 察 ^{a)} 血 様 流 涙 分 泌 物 で お お わ れ た 眼 眼 球 陥 凹 小 眼 症	0/31 1/31 1/31 0/31	3/30 0/30 0/30 0/30	6/25** 2/25 4/25 2/25	3/8** 2/8** 3/8** 1/8
	開 眼 及 び 縮 瞳 ^{b)} 無 眼 症 100% 開 眼 し た 日 齢 縮 瞳 反 応 (%)	1/316 (1/30) 18.1 ± 0.7 99.4 ± 2.2	0/299 (0/30) 18.2 ± 0.8 99.2 ± 2.6	0/308 (0/29) 18.5 ± 1.0 98.5 ± 5.1	1/23 (1/5) 19.2 ± 1.3 87.6 ± 21.6
	剖 検 所 見 ^{b)} 無 瞳 症 小 眼 症 横 隔 膜 ヘル ニ ア 肝 発 達 異 常	1/316 (1/30) 2/316 (2/30) 3/316 (3/30) 0/316 (0/30)	0/299 (0/30) 0/299* (0/30) 4/299 (3/30) 0/299 (0/30)	3/308 (3/29) 2/308 (2/29) 9/308 (6/29) 4/308* (4/29**)	6/23** (3/5**) 1/23** (1/5) 6/23** (4/5**) 3/23** (2/5**)

a) 分母は同腹数、分子は異常を有する児動物数

b) 分母は新生児数、分子は異常を有する児動物数

* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

親動物においては、全投与群で妊娠期間の有意な体重増加抑制、投与期間中の摂餌量の有意な低下、及び一般状態の変化（流涙、流涎、軟便）がみられた。さらに75mg/kg/日投与群では、より重度の変化（運動失調、つま先歩行、色素涙、消瘦、過呼吸、脱毛症、円背位、赤色の膈分泌物、眼瞼下垂症等）がみられ、死亡率も有意に増加した。

胎児動物においては、75mg/kg/日投与群で小眼症、無瞳症(自然分娩群)、肝臓及び横隔膜の有意な異常（自然分娩群）が確認され、また新生児数の有意な減少（自然分娩群）、21日間の哺育期間における生存率の有意な低下（自然分娩群）等の影響もみられた。しかし、これらの変化は親動物への影響によるものと考えられる。

25mg/kg/日投与群においても、有意な変化として血様流涙の異常がみられたが、用量相関がなく検体投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したとき、全投与群で妊娠期間の有意な体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められたことから、母動物への無毒性量は求められなかった。胎児動物では上記のとおり75mg/kg/日投与群において様々な影響がみられたことから無毒性量は25mg/kg/日であった。

また最高投与量の75mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

申請者注) 試験報告書においては、母動物への無毒性量は5mg/kg/日とされているが、全投与群において検体投与の影響がみられたことから、「無毒性量は求められなかった」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アグロカネショウ株式会社にある。

1 2) 変異原性試験

① 細菌を用いた変異原性試験

(資料 No.T33)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1977年

①-1) 細菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay 法)

検体の純度：

試験方法：枯草菌 *Batillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、代謝活性化及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体を DMSO に溶解し、2000 µg/disk を最高用量とした。

用量設定根拠：

試験結果：

薬物	処理濃度 µg/disk	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)	0	0	0	0
検体	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
陰性対照 Kanamycin	10	7	6	1
陽性対照 Mitomycin C	0.1	10	2	8

検体投与群では、両株に全く生育阻止を認めなかった。一方、陰性対照の Kanamycin では両株に同程度の生育阻止を認め、陽性対照の Mytomycin C では両株の間に著明な生育阻止の差を生じた。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

①-2) 細菌を用いた復帰変異試験

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性株である *Salmonella typhimurium*、TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100、トリプトファン要求性株である *Escherichia coli*、WP2 *hcr*⁻を用い、ラットの肝臓より調製した薬物代謝酵素系の存在下及び非存在下で復帰変異性試験を行った。

検体は DMSO に溶解した。

試験結果： 次頁に示した。

本検体では、代謝活性化を含め投与限界である 3000 µg/plate の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

薬物	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異 colony 数 / plate					
			base-change 型			frameshift 型		
			WP2 hcr ⁻	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
DMSO	0	-	19	8	187	7	11	27
			25	8	232	12	12	23
シアナジン	10	-	23	15	145	7	13	33
			31	9	-	13	11	24
	50	-	19	6	157	20	17	35
			24	14	156	25	16	28
	100	-	20	8	150	13	20	31
			19	6	160	9	28	25
500	-	17	10	94	11	14	28	
		20	13	130	13	19	33	
1000	-	26	7	160	6	29	28	
		31	11	179	6	22	30	
3000	-	24	11	142	9	14	22	
		30	12	146	10	23	25	
DMSO	0	+	14	8	131	6	14	14
			9	4	122	5	17	11
シアナジン	10	+	19	15	132	8	18	25
			17	11	118	5	21	21
	50	+	25	9	119	8	14	14
			21	4	151	4	14	22
	100	+	24	8	126	2	11	16
			25	11	124	5	18	26
500	+	22	10	154	8	14	19	
		28	9	147	6	15	22	
1000	+	20	4	119	1	21	19	
		20	7	136	3	13	19	
2-amino- anthracene (陽性対照)	10	-		4	187	14	13	56
				14	211	19	27	67
陽性対照		+		301	>5000	457	>5000	>5000
				197	>5000	382	>5000	>5000
陽性対照		-	1598 ^{a)}	643 ^{b)}	1534 ^{c)}	>10000 ^{d)}	ca.4000 ^{e)}	458 ^{f)}
			1322	898	1564	>10000	ca.4000	409

a) : 0.25 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

c) : 0.05 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

e) : 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-nitrofluorene

※AF-2 : furylfuramide

b) : 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ β -propiolactone

d) : 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-aminoacridine

f) : 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

② 細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T34)

試験機関：日本食品分析センター

報告書作成年：1979年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性株である *Salmonella typhimurium*、TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA1538、トリプトファン要求性株である *Escherichia coli*、WP2 *uvrA*⁻を用い、ラットの肝臓より調製した薬物代謝酵素系の存在下及び非存在下で復帰変異性試験を行った。
検体はジオキササンに溶解した。

試験結果：次頁に示した。

本検体では、代謝活性化を含め 5000 µg/plate の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

薬物	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異 colony 数/plate											
			base-change 型						frameshift 型					
			TA100		TA1535		WP2 _{uvrA}		TA98		TA1537		TA1538	
ジオキサン	0	-	163 152	158	19 21	20	31 34	33	32 31	32	12 16	14	30 35	33
シアナジン	10	-	155 140	148	20 14	17	14 33	24	36 46	41	13 15	14	36 45	41
	50	-	167 163	165	15 17	16	37 28	33	35 30	33	11 14	13	35 40	38
	100	-	148 138	143	21 16	19	36 18	27	35 42	39	22 23	23	37 32	35
	500	-	155 201	178	18 14	16	33 34	34	47 49	48	12 14	13	35 39	37
	1000	-	198 211	205	18 24	21	23 24	24	37 47	42	19 21	20	31 23	27
	5000	-	163 132	148	17 20	19	30 28	29	38 38	38	15 19	17	33 38	36
ジオキサン	0	+	146 162	158	23 26	25	24 16	20	27 36	32	12 15	14	23 32	28
シアナジン	10	+	135 133	134	22 19	21	21 27	24	33 38	36	14 16	15	29 35	32
	50	+	172 136	154	21 24	23	11 25	18	27 34	31	7 7	7	32 41	37
	100	+	128 121	125	16 25	21	29 17	23	32 32	32	9 14	12	29 32	31
	500	+	165 156	161	20 20	20	23 16	20	53 39	46	9 11	10	31 23	27
	1000	+	166 148	157	23 36	30	18 21	20	35 21	28	8 11	10	39 25	32
	5000	+	148 152	150	17 20	19	11 15	13	48 46	47	7 13	10	39 37	37
陽性 対照	S9 Mix -	名 称	MMS		ENNG		AF-2		2-NF		9-AA		2-NF	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	500		10		0.04		4.0		25		5.0	
		コロニー数/plate	796 821	809	1340 1398	1369	244 256	250	1960 2200	2080	56 61	59	1144 1302	1223
	S9 Mix +	名 称	2-AA		2-AA		2-AA		2-AA		2-AA		2-AA	
		濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1.0		10		40		1.0		2.0		1.0	
		コロニー数/plate	496 478	487	194 211	203	316 324	320	355 348	352	71 77	74	153 156	155

MMS : methyl methanesulfonate、ENNG : 1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine、

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitrofuran-2-yl)acrylamide、2-NF : 2-nitrofluorene、9-AA : 9-aminoacridine

2-AA : aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

③ 微生物及びマウスを用いた変異原性試験

(資料 No.T35)

試験機関： トンストール研究所
(英国)

報告書作成年： 1974年

③-1) 微生物を用いた復帰変異試験

検体の純度：

試験方法： ① *Saccharomyces cerevisiae* D4 (トリプトファン及びアデニン要求株)、
Serratia marcescens MY α 13 (ヒスチジン要求株) 及び *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1536、TA1537 (いずれもヒスチジン要求株) を用いた。※報告書に使用した溶媒の記載なし。

用量設定根拠：

試験結果： *S. cerevisiae* による *in vitro* 試験の結果を次頁に示した。シアナジンを最高 4 mg/ml で 4 または 24 時間暴露した場合、トリプトファン座位及びアデニン座位に転換頻度の増加はなく、菌に対する滅菌効果もみられなかった。

S. marcescens 及び *S. typhimurium* による *in vitro* 試験の結果では、転換頻度の増加はなく、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(NTG)では本検体より低濃度で突然変異を示した。

以上の結果、本検体における微生物を用いた復帰変異試験での変異原性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

実験 番号	投与物質名	濃 度	暴露時間 (時間)	転 換 頻 度			
				転換数/25×10 ⁵ 細胞数		転換数/10 ⁵ 生存菌数	
				アデニン座位	トリプトファン座位	アデニン座位	トリプトファン座位
I	シアナジン	200 µg/ml	0	33 ± 6	25 ± 4	13 ± 2	10 ± 1
			4	23 ± 3	16 ± 4	10 ± 2	7 ± 2
			24	26 ± 8	20 ± 3	9 ± 3	7 ± 1
	シアナジン	100 µg/ml	4	22 ± 3	22 ± 4	11 ± 2	11 ± 2
24			25 ± 6	24 ± 3	10 ± 2	9 ± 1	
NTG			10 µg/ml	4	860 ± 161	835 ± 115	352 ± 66
対 照 群	0	4	27 ± 3	18 ± 2	13 ± 1	8 ± 1	
		24	25 ± 1	16 ± 3	16 ± 1	10 ± 2	
		II*	シアナジン	200 µg/ml	0	—	13 ± 4
4	—	14 ± 5			—	5 ± 1	
24	—	21 ± 6			—	9 ± 2	
シアナジン	100 µg/ml	4	—	12 ± 5	—	5 ± 2	
		24	—	20 ± 2	—	7 ± 1	
		NTG	10 µg/ml	4	—	1440 ± 138	—
対 照 群	0	4	—	15 ± 4	—	6 ± 1	
		24	—	19 ± 5	—	7 ± 1	
		III*	シアナジン	4 mg/ml	0	—	22 ± 4
4	—	19 ± 5			—	8 ± 2	
24	—	17 ± 2			—	6 ± 1	
シアナジン	2 mg/ml	4	—	15 ± 5	—	7 ± 2	
		24	—	19 ± 1	—	8 ± 1	
		NTG	10 µg/ml	4	—	848 ± 126	—
対 照 群	0	4	—	11 ± 2	—	4 ± 1	
		24	—	18 ± 3	—	7 ± 1	

* 試験II及びIIIでは、自然発生的転換が多くみられたため、数値は示さなかった。
NTG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

実験 番号	投与物質名	濃 度	生 存 率 (%)	
			4 h	24 h
I、II	Control	0	88	97
	シアナジン	200 µg/ml	93	86
	シアナジン	100 µg/ml	90	100
	NTG	10 µg/ml	82	86
III	Control	0	84	94
	シアナジン	4 mg/ml	81	91
	シアナジン	2 mg/ml	78	88
	NTG	10 µg/ml	85	94

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

③-2) 宿主経路による復帰変異試験

検体の純度：

試験方法：雄マウスに本検体を強制経口投与した直後、*Saccharomyces cerevisiae* D4（トリプトファン及びアデニン要求株）の懸濁液を腹腔内に投与した。5時間後に腹腔内菌液を取出し、トリプトファン微量添加寒天培地及びアデニン微量添加寒天培地で培養した。※報告書に使用した溶媒の記載なし。

用量設定根拠：

試験結果：

実験 番号	投与物質名	投与量 (mg/kg)	例数	転換頻度			
				転換数/5×10 ⁶ 細胞数		転換数/10 ⁶ 生存菌数	
				アデニン座位	トリプトファン座位	アデニン座位	トリプトファン座位
I	シアナジン	160	2	40 ± 4	25 ± 5	9 ± 1	6 ± 1
	シアナジン	320	2	44 ± 6	26 ± 4	10 ± 1	6 ± 1
	EMS	400	2	53 ± 12	63 ± 7	12 ± 3	15 ± 2
	対照群	0	2	41 ± 9	27 ± 10	9 ± 2	6 ± 1
II	シアナジン	160	2	59 ± 12	61 ± 6	13 ± 3	13 ± 1
	シアナジン	320	2	58 ± 7	73 ± 7	13 ± 2	16 ± 3
	EMS	400	2	87 ± 12	115 ± 21	21 ± 3	28 ± 5
	対照群	0	2	48 ± 8	47 ± 9	11 ± 2	11 ± 2
III	シアナジン	160	2	105 ± 4	61 ± 7	27 ± 1	15 ± 1
	シアナジン	320	2	152 ± 14	76 ± 10	35 ± 6	17 ± 3
	EMS	400	2	171 ± 23	117 ± 14	42 ± 8	28 ± 5
	対照群	0	2	155 ± 27	74 ± 14	36 ± 6	17 ± 3
IV	シアナジン	160	2	20 ± 1	53 ± 12	4 ± 1	10 ± 2
	シアナジン	320	2	19 ± 2	64 ± 9	4 ± 1	13 ± 2
	EMS	400	2	39 ± 9	79 ± 20	8 ± 2	16 ± 4
	対照群	0	2	21 ± 3	50 ± 7	4 ± 1	10 ± 1

本検体による転換率の増加はなかったが、EMSでは転換率の増加が確認された。

以上の結果から、本検体における宿主経路による復帰変異試験での変異原性は陰性であると陰性される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

④ マウスを用いた優性致死試験

(資料 No.T36)

試験機関： トンストール研究所
(英国)

報告書作成年： 1974年

検体の純度：

試験動物： Carworth Farm No.1系マウス

生殖能力の確認された雄（10～12週齢）60匹、雌（8～10週齢）1440匹を使用した。雄は投与群12匹/群、対照群24匹/群とし、交配時には雄1匹に対し毎週雌3匹と同居させた。

試験期間： 交配期間が8週間

投与方法： 検体をDMSOに溶解させ、80 mg/10 ml/kg、160 mg/10 ml/kg及び320 mg/10 ml/kgに調製し、雄マウスに1回だけ強制経口投与した。対照群には、DMSOを10 ml/kg強制経口投与した。

試験方法： 雄マウスに本検体を経口投与し、3匹の無処置雌と毎週同居させ、8週間にわたり交配させた。雌は同居開始17日後に屠殺し、妊娠・非妊娠の別、妊娠の場合は早期吸収胚、後期吸収胚、生存胎仔数をしらべた。

試験結果： 次表に試験結果を示した。

妊娠率、早期死亡胎仔数、後期死亡胎仔数及び生存胎仔数に検体投与の影響はみられなかった。

以上の結果から、妊娠率に検体投与の影響はみられず、優性致死突然変異誘発性も検出されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検体投与後 交配時期(週)	妊 娠 率 (%)				着 床 数			
	対 照 (DMSO)	検 体			対 照 (DMSO)	検 体		
		80	160	320		80	160	320
1	84	72	79	81	12.3	12.9	12.5	12.7
2	64	75	79	61	12.4	11.8	12.5	11.8
3	52	47	55	47	12.4	13.0	12.8	13.0
4	62	61	58	31*	12.6	13.4	12.6	13.4
5	58	56	46	50	12.9	12.9	12.3	13.7
6	61	39*	55	61	13.0	11.7	12.0	12.0
7	54	50	55	56	12.0	12.2	11.3	12.3
8	64	36*	52	47	13.0	12.3	10.9*	12.9
平 均	62.4	54.5	59.8	54.3	12.6	12.5	12.2	12.6
交尾した雄の数/週	23	12	11	12	23	12	11	12
交尾した雌の数/週	69	36	33	36	69	36	33	36

統計学的方法： χ^2 -検定 *：p<0.05、 両側分散分析 #：p<0.05

検体投与後 交配時期(週)	早 期 死 亡 胎 仔 数							
	対 照 (DMSO)		検 体					
			80		160		320	
	a	b	a	b	a	b	a	b
1	1.05	0.93	1.19	1.24	1.03	0.88	1.02	0.86
2	1.05	0.93	0.93	0.69	1.17	1.19	0.80	0.46
3	1.08	0.99	0.94	0.70	0.91	0.64	1.13	1.09
4	1.10	1.03	1.06	0.94	1.01	0.84	0.93	0.67
5	0.97	0.76	1.02	0.86	0.76	0.39	0.90	0.63
6	1.15	1.15	1.04	0.90	0.95	0.72	1.09	1.01
7	0.99	0.80	1.01	0.84	0.96	0.74	0.93	0.68
8	1.19	1.24	1.23	1.33	1.14	1.12	1.06	0.94
交換後の全体の平均	1.07		1.05		1.01		0.98	
交尾した雄の数/週	23		12		11		12	
交尾した雌の数/週	69		36		33		36	

a = 変換後の平均

b = 無変換後の平均

変換には次式を用いた； $\sqrt{\text{早期死亡胎仔数} + 0.375}$

統計学的方法；

変換後、分散分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑤ マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験

(資料 No.T37)

試験機関： トンストール研究所
(英国)

報告書作成年： 1974年

検体の純度：

試験方法： Carworth Farm No.1系マウス雌雄各 32 匹 (8~10 週齢)
投与群及び対照群ともに 1 群雌雄各 4 匹

試験期間： 3 日間

投与方法： 検体を DMSO に溶解させ、50 mg/10 ml/kg 及び 100 mg/10 ml/kg に調製し、雄マウスに 1 日 1 回、2 日間強制経口投与した。対照群には、DMSO を 10 ml/kg、陽性対照群にはシクロホスファミド 50 mg/kg を強制経口投与した。

試験方法： 雌雄マウスに本検体を 2 日間経口投与した。
最終投与後 8 時間及び 24 時間に各群雌雄各 2 匹を屠殺し、大腿骨骨髄を取出し、染色体標本を作成して検索した。
尚、屠殺 90 分前に、全例のマウスに 0.04% コルセミド溶液を 10 mg/kg あて腹腔内へ投与した。

試験結果： 次頁に示した。
分裂遅延を考慮し、動物の半数は投与 8 時間後、半数は 24 時間後に屠殺し、マウスの骨髄細胞を検索したが、本検体投与群では、染色体異常はみられなかった。
一方、シクロホスファミド投与群では、骨髄細胞の染色体異常が高頻度に発現した。

以上の結果から、本検体は骨髄細胞に対し遺伝学的影響を与えないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

染色体異常試験結果

性	処理時間 (hours)	処理 (mg/kg)	動物数	検査細胞数	細胞数								倍数性細胞率 (%)	染色体異常細胞率 (%)	染色体分体型ギャップを有する細胞率 (%)	
					PP	CG	ICG	CB	ICB	AF	MCB	R				P
雄	8	溶媒対照	4	329	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0	0.3
		検体 50×2	4	400	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0	0
		検体 100×2	4	387	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0	0
		シロホスファイト 50×2	4	400	1	14	0	23	1	1	29	1	6	0.3	15.3*	3.5*
	24	溶媒対照	4	400	5	1	0	0	0	0	0	0	0	1.3	0	0.3
		検体 50×2	3	300	3	1	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0	0.3
		検体 100×2	4	400	6	1	0	1	0	0	0	0	0	1.5	0.3	0.3
		シロホスファイト 50×2	4	400	17	0	1	9	0	0	9	0	0	4.3*	4.5*	0.3
雌	8	溶媒対照	4	400	7	0	0	0	0	0	0	0	0	1.8	0	0
		検体 50×2	4	400	8	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	0	0
		検体 100×2	3	300	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1.7	0	0
		シロホスファイト 50×2	4	400	4	7	1	25	0	0	50	0	4	1.0	19.8*	2.0*
	24	溶媒対照	4	353	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0	0
		検体 50×2	4	382	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0.8	0.3	0
		検体 100×2	3	300	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1.3	0	0
		シロホスファイト 50×2	4	400	12	5	0	5	0	0	11	0	0	3.0*	4.0*	1.3*

PP : 倍数性、CG : 染色体分体型ギャップ、ICG : 姉妹染色体分体型ギャップ、CB : 染色体分体型切断、ICB : 姉妹染色体分体型切断、AF : 無動原体切片、R : 環、P : 細粉化、* : 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アグロカネショウ株式会社にある。

⑥ ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No.T38)

試験機関：米国デュポン社 ハスケル研究所
(米国) [GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体の純度：

試験方法：ヒト初代培養リンパ球を用い、ラット肝より調製した代謝活性化系 (S-9) の存在下及び非存在下で、*in vitro* における構造的染色体異常誘発性を検定した。

細胞毒性試験の結果、代謝活性化系の非存在下では 250 及び 350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で細胞周期の遅延及び有糸分裂指数の減少が認められたが、代謝活性化系の存在下では溶解限界の 350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でも細胞毒性が認められなかったので、染色体異常試験の最高濃度は代謝活性化系の有無にかかわらず 350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。

各濃度 100 個の分裂中期像について、ギャップ、切断、交換等の異常を検査した。なお、ギャップは真の染色体異常ではないので、染色体異常の評価から除外した。検体処理時間は 3 時間とした。

陽性対照として、代謝活性化系の存在下ではシクロホスファミド (CP) を用い、代謝活性化系の非存在下ではマイトマイシン C (MMC) を用いた。

試験結果：結果の概要は次頁に表示する。

溶媒対照と比較し、いずれの検体濃度でも染色体異常を有する細胞数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照の CP 及び MMC は、代謝活性化系の存在下または非存在下で染色体異常を有する細胞数の有意な増加を示した。

以上の結果から、検体におけるヒト初代培養リンパ球を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験で変異原性は陰性であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

代謝活性化有無	薬剤	濃度 (µg/ml)	献血者	試験	染色体異常数															異常を有する細胞数		分裂指数					
					ギャップ		染色体型異常						同位染色体型異常					その他									
							切断			交換			切断		交換			≥10	pu	pc	≥1		>1				
					tg	ig	tb	ib	f	tr	qr	int	af	dm	r	t	d	≥10	pu	pc	≥1		>1				
-	溶媒 対照 (DMSO)	1.0 %	男性	I	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	9.4			
				II	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10.4		
				平均	2	0	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	9.9	
		女性	I	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.0		
			II	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8.0		
			平均	1.5	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	7.0		
	検体	35	男性	I	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.4		
				II	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	8.2	
				平均	0.5	0	0.5	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	8.3	
			女性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6.0
				II	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6.2	
				平均	1	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6.1	
100		男性	I	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7.4		
			II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10.2		
			平均	0.5	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8.8		
		女性	I	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6.8		
			II	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10.8		
			平均	1.5	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	8.8		
250	男性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.2			
		II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	7.6				
		平均	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0.5	0	0	6.4				
	女性	I	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.8			
		II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.2			
		平均	1	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.0			
350	男性	I	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4.0				
		II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	5.0				
		平均	1	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0.5	0	1	0	0	4.5				
	女性	I	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.2			
		II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.4			
		平均	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.8			
陽性 対照	男性	I	5	2	7	4	0	2	2	0	5	1	0	0	1	0	0	0	0	17	5	9.8					
		II	2	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	4	0	12.2					
		平均	3.5	1	4	2	0	1	1	0	2.5	1.5	0	0	0.5	0	0.5	0	10.5	2.5	11.0						
	女性	I	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	5	0	7.8						

(注) tg : 染色体型ギャップ tr : 3放射状 r : 環 ≥10 : 10以上の異常
 ig : 同位染色体型ギャップ qr : 4放射状 t : 転座 (細胞当たりの異常数
 tb : 染色体型切断 int : 内部交換 d : 2動原体 を算出するに当たっ
 ib : 同位染色体型切断 af : 無動原体断片 pu : 細粉化染色体 て、異常数を10と
 f : 断片 dm : 二重微小断片 pc : 細粉化細胞 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アグロカネシヨウ株式会社にある。

代謝活性化有無	薬剤	濃度 (µg/ml)	献血者	試験	染色体異常数															異常を有する細胞数		分裂指数		
					ギャップ		染色体型異常						同位染色体型異常					その他						
							切断			交換			切断		交換									
					tg	ig	tb	ib	f	tr	qr	int	af	dm	r	t	d	≥10	pu	pc	≥1		>1	
+	溶媒対照 (DMSO)	1.0 %	男性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6.0	
				II	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.0
				平均	1.5	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	8.5	
		女性	I	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	5.4	
			II	1	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	7.6	
			平均	1.5	0	1.5	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	6.5	
	検体	35	男性	I	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	5.4	
				II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	9.2	
				平均	0.5	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	1	0	7.3		
			女性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	5.0	
				II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.4	
				平均	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0.5	0	5.2		
		100	男性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.4	
				II	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7.2	
				平均	1	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	6.8	
			女性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.6	
				II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.8	
				平均	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.7	
250	男性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.2			
		II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.8			
		平均	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.0			
	女性	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.6			
		II	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4.6			
		平均	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	4.6			
350	男性	I	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.8			
		II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	6.0			
		平均	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0.5	0.5	6.9			
	女性	I	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.8			
		II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.0			
		平均	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.9			
陽性対照	男性	I	14	0	17	0	0	6	2	1	5	0	0	0	0	0	1	0	16	8	10.0			
		II	10	0	5	2	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	10	1	8.4				
		平均	12	0	11	1	0	0.5	2	0.5	3	0	0	0	0	0	0.5	0	13	4.5	9.2			
		女性	II	12	1	17	0	0	2	0	0	12	0	0	1	0	0	0	20	7	5.2			

(注) tg : 染色体型ギャップ tr : 3放射状 r : 環 ≥10 : 10以上の異常
 ig : 同位染色体型ギャップ qr : 4放射状 t : 転座 (細胞当たりの異常数を算出するに当たって、異常数を10とした。)
 tb : 染色体型切断 int : 内部交換 d : 2動原体
 ib : 同位染色体型切断 af : 無動原体断片 pu : 細粉化染色体
 f : 断片 dm : 二重微小断片 pc : 細粉化細胞

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑦ ラット肝細胞における *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 No.T39)

試験機関: Microbiological Associates, Inc.
(米国) [GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体の純度:

供試動物: Sprague-Dawley 雄ラット (約 8~10 週齢)、1 群雄 5 匹、
試験開始時体重範囲 215~290g

試験方法: 検体を 1%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液に懸濁し、100、200
及び 400 mg/kg の用量で単回強制経口投与を行った。

陽性対照として、Dimethylnitrosamine (DMN) を 35 mg/kg の用量で単
回強制経口投与を行った。薬剤投与から肝細胞調製までの時間は、検体の
代謝活性、解毒、吸収及び分布による UDS 活性の遅れを考慮して、投与
2~4 時間及び 12~16 時間後の 2 回とした。

これら薬剤処理したラットから分離した肝細胞を用いて、³H-thymidine
の DNA への取込量を測定することによって、*in vivo* における不定期
DNA 合成誘発能を検定した。

用量設定根拠:

(1) 細胞液の調製、培養及び固定

各動物の肝を 0.5 mM EGTA 溶液及びコラゲナーゼ溶液 (80~100 units
Type I コラゲナーゼ/ml 培地) で灌流した後、肝細胞を単離した。カバー
グラスを入れた直径 35 mm のシャーレ各動物あたり 6 枚にこの細胞を 5×10^5 個播種し、Williams E 培地で $5 \pm 1\%$ CO₂ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ の条件下で 90~
180 分培養後、培地を交換し、4 時間培養して ³H-thymidine を取り込ま
せた。さらに、無標識の thymidine 0.25 mM 含有の培地で 17~20 時間培
養した後、細胞ののったカバーグラスをスライドガラス上にのせた。6 枚
のスライドのうちの 3 枚について固定、感光乳剤処理、露光、現像、定着、
ヘマトキシリン・エオシンで染色を行った。

(2) UDS の観察

核グレインの数及び核と同面積を有する 3 カ所の細胞質（核に隣接し、最も高いグレイン数をもつ）におけるグレイン数を計測した。

動物あたり 3 枚のスライドを作製し、1 スライドあたり 50 個の細胞を観察した（動物あたり 150 個の細胞を観察）。

求められた各値について、各動物及び各処理群ごとに平均値及び標準偏差を計算した。正味グレイン数（核グレイン数－細胞質グレイン数）について、以下の場合、陽性であると判断した。

- 1) 少なくとも 1 用量で溶媒対照より有意（溶媒対照に比べ平均正味グレイン数が 5 個以上増加した場合を有意な増加とする）に高く、用量相関性のある増加が認められた場合。
- 2) 用量相関性がなくても、少なくとも連続する 2 用量で平均正味核グレイン数に有意な増加が認められた場合。

(3) RDS の観察

複製 DNA 合成（RDS）は、核がグレインで完全に黒く見えることによって判断され、1 スライド当たり 300 個の核を観察して RDS 期（S 期）にある細胞出現頻度を求めた。求められた各値について、各動物及び各処理群ごとに平均値及び標準偏差を計算した。

試験結果： 表-1 及び 2 に示した。

1 回目の試験の 400 mg/kg 群（検体処理時間：2～4 時間）の 1 サンプルで、DMN を投与された動物の肝細胞が混入してしまった可能性があったので、追加試験を行った（表-2）。

いずれの用量及び処理時間においても、UDS において有意な増加、または用量に依存した増加傾向は認められなかった。一方、陽性対照である DMN 処理群の動物では、正味核グレイン数において有意な増加が認められた。

複製 DNA 合成期にある核の頻度は、1 回目の試験では溶媒対照群と比較して検体投与群で検体の毒性による減少が認められた。追加試験での 400 mg/kg 群ではわずかに増加しているが、これは生物学的変動によるものと考えられる。

以上の結果から、本検体は本試験条件下において、ラット肝細胞における *in vivo* 不
定期 DNA 合成を誘発しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表-1. シアナジン のラット肝細胞における *in vivo* UDS 試験成績

検体濃度 (mg/kg)	検体処 理時間 (hr)	観察 動物数	修復 細胞率 (%)	平均正味核グレイン数 ±S.D.		複製 NDA 合成期にある 核の頻度 (%)	
				/動物	/群	/動物	/群
溶媒対照 (1%CMC)	2~4	3	0	-1.5 ± 2.1	-1.6 ± 0.2	0.89	1.33
			0	-1.4 ± 2.0		1.56	
			0	-1.8 ± 1.7		1.56	
	12~16	3	1	-1.5 ± 2.1	-1.7 ± 0.2	1.78	1.85
			0	-1.9 ± 2.0		1.89	
			1	-1.7 ± 1.7		1.89	
100	2~4	3	1	-1.4 ± 2.1	-1.5 ± 0.2	0.78	0.89
			0	-1.8 ± 1.8		0.89	
			0	-1.4 ± 2.7		1.00	
	12~16	3	0	-1.0 ± 2.2	-1.3 ± 0.3	0.11	0.07
			0	-1.6 ± 1.8		0.11	
			1	-1.3 ± 2.4		0.00	
200	2~4	3	1	-1.6 ± 2.2	-1.3 ± 0.3	0.44	0.74
			1	-1.2 ± 2.8		0.56	
			1	-1.1 ± 2.1		1.22	
	12~16	3	0	-1.2 ± 2.2	-1.5 ± 0.3	0.33	0.22
			0	-1.6 ± 1.9		0.11	
			0	-1.7 ± 1.7		0.22	
400	2~4	3	1	-1.4 ± 2.1	-1.7 ± 0.4	0.78	0.81
			0	-1.9 ± 2.7		1.11	
			98	18.6 ± 7.3*		0.56	
	12~16	3	0	-1.8 ± 1.8	-1.4 ± 0.9	0.11	0.07
			1	-0.4 ± 2.0		0.11	
			0	-2.0 ± 1.9		0.00	
陽性対照 (DMN)	2~4	3	92	19.3 ± 8.5*	16.2 ± 2.8*	0.56	0.63
			91	14.1 ± 6.9*		0.78	
			77	15.1 ± 9.2*		0.56	
	12~16	3	97	20.4 ± 9.3*	18.8 ± 2.7*	1.22	1.07
			98	20.4 ± 6.9*		0.89	
			96	15.7 ± 7.3*		1.11	

* : 有意差あり (平均正味核グレイン数が溶媒対照と比べ5個以上多い)。

* : DMN を投与された動物の肝細胞が混入してしまった可能性があるため、平均値はこのデータを除外して算出した。

DMN : Dimethylnitrosamine

修復細胞 = 正味核グレイン数が5個以上の細胞。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表-2. シアナジン のラット肝細胞における *in vivo* UDS 試験成績-追加試験

検体濃度 (mg/kg)	検体処 理時間 (hr)	観察 動物数	修復 細胞率 (%)	平均正味核グレイン数 ±S.D.		複製 NDA 合成期にある 核の頻度 (%)	
				/動物	/群	/動物	/群
溶媒対照 (1%CMC)	2-4	3	1	-1.4 ± 2.1	-1.5 ± 0.1	1.22	1.30
			0	-1.6 ± 1.7		1.67	
			0	-1.5 ± 1.7		1.00	
400	2-4	3	0	-1.2 ± 1.2	-1.4 ± 0.2	2.22	2.11
			0	-1.5 ± 1.7		2.11	
			0	-1.6 ± 1.6		2.00	
陽性対照 (DMN)	2-4	3	74	12.3 ± 8.5*	13.3 ± 1.3*	0.78	1.04
			81	14.8 ± 8.0*		0.78	
			89	12.8 ± 6.5*		1.56	

* : 有意差あり (平均正味核グレイン数が溶媒対照と比べ 5 個以上多い)。

DMN : Dimethylnitrosamine

修復細胞 = 正味核グレイン数が 5 個以上の細胞。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑧ ラット精母細胞における *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 No.T40)

試験機関：DuPont Haskell Laboratory
(米国) [GLP 対応]

報告書作成年：1993年

検体の純度：

供試動物：Cr1:CD®Br ラット、1 群雄 5 匹、
試験開始時体重範囲 290.8~349.9 g (約 9 週齢)

試験方法：検体を 0.5%メチルセルロース溶液に溶解し、125、185、250 及び 500 mg/kg の用量で 5 日間の連続強制経口投与を行った。
陽性対照として、Methyl methanesulfonate (MMS) を 50 mg/kg、Cyclophosphamide (CP) を 100 mg/kg の用量で腹腔内投与した。
これら薬剤処理したラットから分離した精母細胞を用いて、[methyl-³H] thymidine の DNA への取込量を測定することによって、*in vivo* における不定期 DNA 合成誘発能を検定した。

用量設定根拠：

(1) 細胞液の調製及び培養

各動物の精巣を摘出した後、酵素的な消化を行い精母細胞を得た。この細胞 6×10^6 個を播種し、Williams E 培地で $5 \pm 1\%$ CO₂、 $33 \pm 1^\circ\text{C}$ の条件下で 22~24 時間培養し、[methyl-³H] thymidine を取り込ませた。

(2) 固定及びオートラジオグラフィ

トリパンブルー排除法により細胞生存数を調べた後、細胞をスライドガラス上に固定、感光乳剤処理、露光、現像、定着を行った。さらにヘマトキシリン液で染色を行い、封入した。

(3) UDS の観察

核グレインの数と面積及び細胞質グレインの数 (核に隣接し、核の 2 倍又

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

はそれ以上の面積を有する細胞質における最も高いグレイン数)を計測した。

動物あたり 3 枚のスライドを作製し、1 スライドあたり 25 個の細胞を観察した (動物あたり 75 個の細胞を観察)。

正味グレイン数 (核グレイン数-細胞質グレイン数) について Kruskal-Wallis test で統計学的解析を行った。検体処理群のグレインの数について 5% で有意差がみられた場合には、さらに Jonckheere-Terpstra 傾向検定法により、用量相関性について解析を行った。

結果については、以下の場合に陽性であると判断した。

- 1) 検体処理群の動物における細胞あたりの平均正味グレイン数が、溶媒対照群における細胞あたりの平均正味グレイン数と比較して、統計学的有意 ($p \leq 0.05$) に増加している場合。
- 2) 平均修復細胞率が 10% 以上である場合。

試験結果:

検体濃度 (mg/kg) ^a	培養時間 (hrs) ^b	動物数	平均正味核グレイン数 ± SEM ^c	修復細胞率 ± SEM
0 (DMSO)	2	5	7.3 ± 0.8	7.2 ± 3.1
	24	5	5.8 ± 0.6	6.1 ± 2.3
125	2	5	8.0 ± 1.1	8.8 ± 3.0
	24	5	5.4 ± 0.4	4.3 ± 1.1
185	2	3 ^c	7.2 ± 1.0	7.6 ± 3.6
	24	3	5.4 ± 0.4	2.7 ± 2.1
250	2	4 ^c	6.6 ± 1.0	5.7 ± 2.5
	24	4 ^c	5.6 ± 0.3	4.0 ± 1.0
500	2	4 ^{cd}	6.2 ± 1.1	7.0 ± 2.1
MMS 50 mg/kg ^e	2	3 ^f	29.2 ± 1.3*	85.8 ± 1.9
CP 100 mg/kg	2	5	20.6 ± 1.1*	53.3 ± 4.7

a: 連続 5 日間投与を行った。

b: 最終投与時からの時間。

c: 計画殺時に屠殺した動物。

d: 屠殺を 24 時間から 2 時間後に変更。

e: 試験開始後 5 日目に腹腔内単回投与。

f: 動物 2 匹を 185 mg/kg 群に移した。

*: 有意差あり ($p \leq 0.05$)。

MMS: Methyl methanesulfonate

CP: Cyclo-phosphamide

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

試験の結果、細胞単離以後の細胞生存率は、溶媒対照の 96.5～99.2%に対し、検体処理群においては 90.1～99.1%であり、ラット精母細胞に対する検体による毒性は認められなかった。

また、いずれの用量及び処理時間においても、UDS において統計学的に有意な増加、または用量に依存した増加傾向は認められなかった。一方、陽性対照である MMS 及び CP 処理群の動物では、正味核グレイン数において統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から、本検体は本試験条件下において、ラット精母細胞における不定期 DNA 合成を誘発しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑨ラット肝細胞初代培養における *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 No.T41)

試験機関：DuPont Haskell Laboratory
(米国) [EPA GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体の純度：

試験方法：Cr1:CD®Br 雄ラットから分離した肝細胞を用いて、*in vitro* における [methyl-³H]thymidine の DNA への取込量を測定することによって、不定期 DNA 合成誘発能を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、培地中での最終濃度 1、5、10、50、100、500、1000、1450 μM の用量で処理を行った。最高用量である 1450 μM は DMSO に対する溶解限界であるが、培地中では析出していなかった。

陽性対照としては、2-acetylaminofluorene (2-AAF) を培地中での最終濃度 0.1 及び 1 μM の用量で処理を行った。

(1) 細胞液の調製及び検体処理

各動物の肝臓を摘出し、Williams' E 培地で灌流した後、酵素的な消化を行い肝細胞初代培養液を得た。トリパンプルー排除法により細胞生存数を調べ、 1.4×10^5 個/cm² の細胞を播種し、Williams' E 培地で $5 \pm 1\%$ CO₂、 $37 \pm 1.5^\circ\text{C}$ の条件下で 1.5~2 時間培養し、1 用量あたり 4 プレートを調製した。この細胞を各濃度の検体で処理すると同時に [methyl-³H]thymidine を取り込ませるために 18 時間培養した。

(2) 固定及びオートラジオグラフィ

乳酸デヒドロゲナーゼ活性により細胞生存数を調べた後、細胞をスライドガラス上に固定、感光乳剤処理、露光、現像、定着を行った。さらにメチル・グリーンピロニン Y で染色を行った。

(3) UDS の観察

1 スライドあたり 25 個の細胞を観察し、核グレインの数と面積及び細胞質グレインの数 (核に隣接し、核の 2 倍又はそれ以上の面積を有する細胞質の一部における最も高いグレイン数) と面積を計測した。

求められた各値について、各処理群ごとに平均値及び標準偏差を計算した。正味グレインの数について、以下の場合、陽性であると判断した。

- 1) 2 回の試験で、検体のある濃度における正味グレインの数が、溶媒対照群における正味グレインの数より 5 個以上多く、この増加が少なくとも溶媒対照群における値の 3 倍の標準偏差以上であること。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

2)検体濃度と平均細胞質グレインの数との間に陰性の関連性がある時に、
検体濃度の増加と平均核グレインの数との間に陽性の関連性がある時。

試験結果： 結果を次表に示した。

実験 1 では 1 μM 以上、実験 2 では 5 μM 以上の用量で細胞毒性が認められた。実験 1 の 1450 μM の用量では強い細胞毒性が認められ観察不可能であったため、実験 2 ではこの用量は実施しなかった。

試験の結果、1 μM の用量から溶媒対照群の値より 5 個以上多い正味核グレイン数が認められた。実験 1 での 1000 μM 、実験 2 での 500 μM の用量での UDS の減少は、細胞毒性によるものであると考えられた。

以上の結果から、本検体は本試験条件下において、ラット初代培養肝細胞における不定期 DNA 合成を誘発するものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

表-1. 実験1の試験成績

(UDS in Rat hepatocytes)

薬 剤	培地中の 薬剤濃度 (μ M)	細胞生存率 (%)	平均 核グレン数	平均細胞質 グレン数	プレートあたり 平均正味 核グレン数 \pm SEM	用量あたり 平均正味 核グレン数 \pm SEM
陰性対照 (DMSO)	0	26	55.8 44.8	60.6 52.5	-4.8 \pm 2.4 -7.6 \pm 2.7	-6.2 \pm 1.4
Cyanazine	1	89	47.8 51.1	49.2 50.8	-1.5 \pm 3.2 0.3 \pm 4.9	-0.6 \pm 0.9
	5	104	52.5 27.4	39.6 23.9	2.9 \pm 3.3 3.6 \pm 1.7	3.2 \pm 0.3
	10	90	42.6 43.6	33.3 43.0	9.3 \pm 2.6 0.6 \pm 3.1	4.9 \pm 4.4
	50	111	29.7 27.1	18.7 19.2	11.0 \pm 2.4 7.9 \pm 1.4	9.4 \pm 1.6
	100	119	28.3 38.6	12.0 28.3	16.3 \pm 1.7 10.3 \pm 3.1	13.3 \pm 3.0
	500	190	31.7 36.5	20.5 16.6	11.1 \pm 2.1 19.9 \pm 3.1	15.5 \pm 4.4
	1000	182	20.3 19.9	17.0 15.6	3.3 \pm 1.8 4.3 \pm 1.8	3.8 \pm 0.5
	1450	59	細胞毒性が強く、観察可能な細胞は得られなかった。			
陽性対照 (2-AAF)	0.1	61	57.9 137.8	11.3 46.0	46.6 \pm 3.6 91.8 \pm 10.8	69.2 \pm 22.6
	1	35	109.7 106.4	50.5 64.4	59.2 \pm 7.7 42.0 \pm 6.9	50.6 \pm 8.6

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表-2. 実験2の試験成績

(UDS in Rat hepatocytes)

薬 剤	培地中の 薬剤濃度 (μ M)	細胞生存率 (%)	平均 核グレイン数	平均細胞質 グレイン数	プレートあたり 平均正味 核グレイン数 \pm SEM	用量あたり 平均正味 核グレイン数 \pm SEM
陰性対照 (DMSO)	0	88	29.6 21.1	31.9 27.4	-2.3 \pm 1.7 -6.3 \pm 1.9	-4.3 \pm 2.0
Cyanazine	1	90	37.0 46.5	26.9 36.0	10.1 \pm 2.6 10.5 \pm 2.7	10.3 \pm 0.2
	5	149	36.8 43.1	30.3 45.0	6.5 \pm 1.9 -1.8 \pm 2.6	2.4 \pm 4.2
	10	130	42.0 43.1	47.6 51.5	-5.5 \pm 3.2 -8.4 \pm 3.1	-7.0 \pm 1.4
	50	157	56.1 65.7	47.1 57.3	9.1 \pm 3.1 8.4 \pm 3.8	8.8 \pm 0.3
	100	157	42.0 47.7	32.5 32.9	9.5 \pm 3.0 14.8 \pm 2.7	12.2 \pm 2.7
	500	143	34.4 36.2	31.7 32.8	2.7 \pm 2.4 3.4 \pm 2.0	3.0 \pm 0.3
	1000	156	31.6 29.7	32.6 34.1	-1.1 \pm 2.6 -4.4 \pm 2.1	-2.7 \pm 1.6
陽性対照 (2-AAF)	0.1	68	137.5 103.8	24.9 47.5	112.6 \pm 8.3 56.3 \pm 5.2	84.4 \pm 28.2
	1	49	178.5 142.6	48.8 40.9	129.7 \pm 13.2 101.6 \pm 12.1	115.7 \pm 14.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑩ マウスリンパ細胞 L5178Y TK^{+/−}を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 No.T42)

試験機関： Westhollow Research Center
(米国) [EPA GLP 対応]

報告書作成年： 1986 年

試験方法： マウスリンパ細胞 (L5178Y TK^{+/−}) を用い、代謝活性化系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、哺乳動物の培養細胞における遺伝子突然変異誘発能を検討した。

検体は最終濃度 $5 \times 10^{-5} \sim 1.6 \text{ mg/ml}$ (析出が認められる溶解限界) の濃度範囲で処理した。陰性対照及び被験物質の溶媒として、ジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。陽性対照物質としては、代謝活性化非存在下では Ethylmethane sulfonate (EMS) 80 mg/ml、代謝活性化存在下では 20-methylcholanthrene (MCA) を 0.5、0.3 及び 0.1 mg/ml の 3 濃度で使用した。

試験は代謝活性化存在下及び非存在下ともに 2 回実施した。

細胞を検体で 4 時間処理した後、洗浄し、2 日間変異形質発現培養を行った。2 日後、細胞液中に 3×10^5 個/ml の細胞をもつ 4 用量以上の検体処理群、陰性及び陽性対照を含めた各処理群とも各 3 枚のプレートに細胞を播種した。変異誘発頻度を求めるために Trifluorothymidine (TFT) を含んだ選択培地、生存率を求めるために TFT を含まない通常の軟寒天培地のプレートを使用した。11 日間培養した後、各プレート上のコロニー数を計数し、生存率及び突然変異頻度を算出した。

結果については、以下の場合に陽性であると判定した。

- 1) 3 段階以上の用量において、突然変異コロニー数が用量依存的に増加した場合。
- 2) 少なくとも 1 用量で有意な増加 (突然変異頻度が溶媒対照値の 2 倍以上) が認められた場合。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

試験結果： 次ページ以降の表-1及び2に示した。

実験1では、コロニー形成用の軟寒天が十分に固まらなかったため、再試験を行った。

実験2では、代謝活性化非存在下及び存在下で、全用量群において平均相対細胞生存率の減少が認められた。また、最終濃度で 5×10^{-4} mg/ml以上の用量において溶媒対照値の2倍以上の突然変異頻度がみられ、用量に依存して増加していた。

実験3においても、平均相対細胞生存率の減少が認められ、最終濃度で 4.7×10^{-2} mg/ml以上の用量において溶媒対照値の2倍以上の突然変異頻度がみられ、用量に依存して増加していた。

2回の試験の結果、代謝活性化系の存在下及び非存在下において、マウスリンパ細胞 L5178Y TK^{+/+}に対して陽性の変異原性反応が観察された。その変異頻度は、代謝活性化系存在下及び非存在下で各々 $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-1}$ mg/ml、 $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-2}$ mg/mlの濃度範囲で、バックグラウンドの2~3倍に増加していた。

以上の結果から、本検体は本試験条件下において、代謝活性化系の有無にかかわらず、マウスのリンパ細胞に対して遺伝子突然変異を誘発すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表-1. 実験2における試験成績

検体濃度 (mg/ml)	S-9 Mix	平均相対細胞増殖率 ^a	突然変異頻度 ^b
溶媒対照 (DMSO)	-	100	28
5 × 10 ⁻⁵	-	91	38
5 × 10 ⁻⁴	-	90	56*
5 × 10 ⁻³	-	81	60*
5 × 10 ⁻²	-	70	67*
1.6 × 10 ⁻¹	-	56	71*
5 × 10 ⁻¹	-	32	97*
1.6 ^c	-	-	NC
EMS 8 × 10 ⁻¹	-	5	2178*
溶媒対照 (DMSO)	+	100**	41*
5 × 10 ⁻⁵	+	110	60
5 × 10 ⁻⁴	+	84	86*
5 × 10 ⁻³	+	83	83*
5 × 10 ⁻²	+	75	106*
1.6 × 10 ⁻¹	+	69	113*
5 × 10 ⁻¹	+	23	204*
1.6 ^c	+	-	NC
20-MC 10 ⁻³	+	78	151*
3 × 10 ⁻³	+	45	311*
5 × 10 ⁻³	+	19	525*

*: 有意差あり (溶媒対照値の2倍以上)。

** : 1プレートからの値。

$$a: \text{平均相対細胞増殖率} = \frac{(\text{播種時の平均相対生存率} \times \text{平均相対コロニー形成率})}{100}$$

$$b: \text{突然変異頻度} = \frac{(\text{選択培養液中で形成されたコロニー数の平均値})}{\text{平均相対コロニー形成率}}$$

c: 検体が不溶であったため、培養しなかった (NC)。

EMS: Ethylmethane sulfonate

20-MC: 20-methylcholanthrene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表-2. 実験3における試験成績

検体濃度 (mg/ml)	S-9 Mix	平均相対細胞増殖率 ^a	突然変異頻度 ^b
溶媒対照 (DMSO)	-	100	43
2.2 × 10 ⁻²	-	79	65
4.7 × 10 ⁻²	-	70	70
10 ⁻¹	-	59	73
2.2 × 10 ⁻¹	-	79	66
4.7 × 10 ⁻¹	-	26	167*
1.0 ^c	-	-	NC
EMS 8 × 10 ⁻¹	-	9	1259*
溶媒対照 (DMSO)	+	100**	46**
2.2 × 10 ⁻²	+	471	69
4.7 × 10 ⁻²	+	152	134*
10 ⁻¹	+	97	161*
2.2 × 10 ⁻¹	+	123	155*
1.0 ^c	+	-	NC
20-MC 10 ⁻³	+	186	174*
3 × 10 ⁻³	+	116	229*
5 × 10 ⁻³	+	57	345*

*: 有意差あり (溶媒対照値の2倍以上)。

** : 1プレートからの値。

$$a: \text{平均相対細胞増殖率} = \frac{(\text{播種時の平均相対生存率} \times \text{平均相対コロニー形成率})}{100}$$

$$b: \text{突然変異頻度} = \frac{(\text{選択培養液中で形成されたコロニー数の平均値})}{\text{平均相対コロニー形成率}}$$

c: 検体が不溶であったため、培養しなかった (NC)。

EMS: Ethylmethane sulfonate

20-MC: 20-methylcholanthrene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

13) 生体の機能に及ぼす影響

①シアナジンの血管平滑筋に対する薬理学的作用に関する予備的研究

(資料 No.T43)

試験機関： トンストール研究所

報告書作成年： 1970年

検体の純度：

方法：

- 1) 急性実験；ウレタン麻酔下の CFF 系雄ラット（体重 150～380 g）4 匹にシアナジン 100 mg/kg を胃内投与した。シアナジン投与後の血圧、心拍数及び心電図の変化を調べた。
また、シアナジン投与前後のアドレナリン、メビンホス、ニコチン及びピトシン注射による動脈血圧の変化を調べた。
- 2) 慢性実験；1 群 2 匹として 3 群のラットにシアナジンの 0、100 及び 800 ppm を含む飼料を 4 週間与えた。4 週間後にラットをウレタン麻酔し、アドレナリン及びメビンホス投与に対する血圧の変化を調べた。
- 3) 麻酔ネコの血圧及び後肢灌流；
体重 2.3 kg の雌ネコをクロラロースで麻酔し、シアナジン 100 mg/kg を胃内投与し、血管反応をみるためにアドレナリン（頰脈及び末梢血管収縮作用を有する）及びイソプレナリン（頰脈及び末梢血管拡張作用を有する）を投与し、血管反応を調べた。

結果：

- 1) 急性実験； シアナジン単独投与では、安静時の血圧は徐々に低下した。心拍数及び心電図には、変化は認められなかった。
シアナジンは、ピトシン及びアドレナリンの血圧上昇反応を抑制した。
- 2) 慢性実験； シアナジンを慢性的に投与した場合には、安静時血圧には影響を及ぼさなかったが、アドレナリンには拮抗して血圧を低下させた。
- 3) 麻酔ネコの血圧及び後肢灌流；
シアナジンは全身性においても灌流血管床においても、アドレナリンに対する反応を抑制した。イソプレナリンに対しても同様の反応抑制を示した。

結論： 以上①～③の実験より、シアナジンは血管平滑筋に対する非特異的な弛緩作用により血管拡張を生ずる。

②シアナジン原体の生体機能に及ぼす影響

(資料 No.T44)

試験機関：松本歯科大学 歯科薬理学教室

報告書作成年：1992年

検体の純度：

1) 中枢神経系に対する作用

脳波に対する作用

供試動物； 日本白色種ウサギの雄（体重 3.1～3.3 kg）を 3 匹用いた。

方 法； ペントバルビタールナトリウム麻酔下で、皮質脳波用電極を前頭部、頭頂部及び後頭部に植え込み、深部用の同心円電極を扁桃核、海馬及び中脳網様体に挿入した。人工呼吸下でガラミンを静注して不動化して脳波を記録した。検体はポリエチレングリコール（#400）に溶解もしくは懸濁して、100 mg/kg 及び 200 mg/kg を約 1 時間の間隔で累積的に腹腔内投与した。投与液量は 0.33～0.66 ml/kg とした。

結 果； いずれの投与後も皮質脳波、深部脳波とも異常は認められなかった。

2) 呼吸及び循環器系に対する作用

供試動物； 日本白色種ウサギの雄（体重 3.6～3.8 kg）を 3 匹使用した。

方 法； ウレタン麻酔下でウサギを背位に固定し、呼吸運動は気管カニューレを介して、血圧は頸動脈圧を動脈カニューレを介して測定した。心電図は肢誘導法で記録し、心拍数は心電図より瞬時心拍計を用いて測定した。

検体はジメチルスホキシドあるいはポリエチレングリコール（#400）に溶解もしくは懸濁して、溶媒がジメチルスホキシドの場合は 10 mg/kg、40 mg/kg 及び 50 mg/kg を約 30 分の間隔で耳静脈より累積投与した。溶媒がポリエチレングリコールの場合は 100 mg/kg 及び 200 mg/kg を約 1 時間の間隔で累積的に腹腔内投与した。投与液量は静脈内投与では 0.05～0.2 ml/kg、腹腔内投与では 0.26 ml/kg とした。

結 果； 10 mg/kg、40 mg/kg 及び 50 mg/kg を静脈内に累積投与した結果、40 mg/kg 以上の投与で血圧の低下が認められた。呼吸及び心拍数には変化は認められなかった。心電図に対しては 40 mg/kg の静脈内投与で S-T の低下、T 及び P の増高が認められたが、100 mg/kg 及び 200 mg/kg の腹腔内投与では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アグロカネショウ株式会社にある。

3) 自律神経系に対する作用

摘出回腸に対する作用

供試動物； ハートレー系モルモットの雄（体重 400 g）を 3 匹用いた。

方 法； マグヌス法を用いて、摘出回腸の収縮を等張性に記録した。検体は、ポリエチレングリコール（#400）に溶解もしくは懸濁して、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} g/ml の設定濃度で、いずれも 0.2 ml を Tyrode 液に添加した。また、検体の単独適用による作用のほかに検体を前処理した回腸のアセチルコリン（最終濃度 8×10^{-7} g/ml）あるいはヒスタミン（ 2×10^{-7} g/ml）による収縮に対する影響も調べた。

結 果； 検体の単独適用で、収縮作用は認められなかった。アセチルコリンあるいはヒスタミンによる収縮に対して、最終濃度が 10^{-5} g/ml 以上の適用で抑制が認められた。

4) 消化器に対する作用

小腸の炭末輸送能に対する作用

供試動物； ddY 系マウスの雄（体重 28.9～35.1 g）を 1 群 6 匹として 5 群計 30 匹を用いた。

方 法； 検体を皮下投与し、その 30 分後に炭末・アラビアゴムの各 10% 水懸濁液を経口投与した。さらに 30 分後にクロロホルムを吸入させて致死後、開腹して小腸を取り出し、胃の幽門部より炭末先端までの長さを測り小腸全体の長さに対する比率（炭末輸送率）を求めた。検体はポリエチレングリコール（#400）に溶解もしくは懸濁して、各群にそれぞれ 250 mg/kg、500 mg/kg、1000 mg/kg 及び 2000 mg/kg を投与した。対照群には溶媒を投与した。投与液量は 0.1 ml とした。

結 果； いずれの群も、小腸の炭末輸送率に変化は認められなかった。

5) 骨格筋に対する作用

前脛骨筋収縮に対する作用

供試動物； 日本白色種ウサギの雄（体重 3.4～3.5 kg）を 3 匹用いた。

方 法； ウレタン麻酔下で、右側の総非骨神経及び前脛骨筋を露出させ、それぞれ電気刺激して生ずる収縮を記録した。検体はジメチルスルホキシドに溶解もしくは懸濁し、25 mg/kg 及び 50 mg/kg を約 30 分の間隔で累積的に耳静脈より投与した。投与液量は 0.075～0.15 ml/kg とした。

結 果； いずれの投与後も前脛骨筋の収縮に対する影響は認められなかった。50 mg/kg 投与後、動物はまもなく死亡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

6) 血液に対する作用

溶血性に対する作用

供試動物； 日本白色種ウサギの雄（体重 3.5 kg）を用いた。

方 法； 血液を心採血し、これから赤血球の生理食塩水浮遊液を調製した。検体は、はじめ 1%CMC に懸濁して、最終濃度が 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} g/ml となるように生理食塩水で希釈したものを赤血球浮遊液に添加した。38°C で 2 時間インキュベーション後、遠心して上清の溶血度を肉眼的観察によって判定した。

結 果； いずれの濃度の添加でも、溶血作用は認められなかった。

以上の結果を総括して、今回行った試験では本検体の作用としてウサギの循環器系に対して血圧下降及び心電図の変化がみられ、さらにモルモット摘出回腸のアセチルコリンあるいはヒスタミンによる収縮の抑制が認められた。これらの作用は、いずれも致死量に近い高用量あるいは高濃度適用における変化であって、特定の部位に対する特異的とみられる薬理作用は、何も認められなかった。結果を総括して次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

シアナジンの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 脳波 (ウサギ)	ペントバルビタールナトリウム 麻酔下、 腹腔内累積投与 (ポリエチレングリコール)	100, 200 (約1時間間隔)	雄3匹	200	—	皮質脳波、深部脳波とも 異常は認められなかった。
呼吸・循環器系 呼吸、血圧、 心拍数 (ウサギ)	ウレタン麻酔下、 耳静脈内累積投与 (ジメチルスルホキシド)	10, 40, 50 (約30分間隔)	雄3匹	10	40	40 mg/kg 以上で血圧低下 が認められた。
心電図 (ウサギ)	ウレタン麻酔下、 耳静脈内投与 (ジメチルスルホキシド)	40		—	40	40 mg/kg で心電図に ST の低下、T 及び P の増高 が認められた。
	ウレタン麻酔下、 腹腔内累積投与 (ポリエチレングリコール)	100, 200 (約1時間間隔)	200	—	いずれの投与量でも心電図 に影響を及ぼさなかった。	
循環器系・自律神 経系 血圧、心拍数、 心電図 (ラット)	ウレタン麻酔下、 胃内投与	100	雄4匹	—	100	安静時の血圧が徐々に低下 した。心拍数、心電図に影 響を及ぼさなかった。 ピトシン、アドレナリンの 血圧上昇反応を抑制した。
	4週間混餌投与	0, 100, 800 ppm	雄2匹	800 ppm	—	安静時の血圧に影響を及ぼ さなかった。
血圧 (ネコ)	クロラロース麻酔下、 胃内投与	100	雌1匹	—	100	アドレナリン、イソプレナ リンの血圧反応を抑制し た。
自律神経系 摘出回腸 [マグヌス法] (モルモット)	(ポリエチレングリコール)	5×10^{-6} g/ml 10^{-5} g/ml 5×10^{-5} g/ml	—	5×10^{-6} g/ml	10^{-5} g/ml	10^{-5} g/ml 以上でアセチル コリンあるいはヒスタミン 収縮反応を抑制した。
消化器 小腸輸送能 (マウス)	皮下投与 (ポリエチレングリコール)	250, 500, 1000, 2000	雄6匹	2000	—	いずれの投与量でも、小腸 の炭末輸送能に影響を及ぼ さなかった。
骨格筋 前脛骨筋収縮 (ウサギ)	ウレタン麻酔下、 耳静脈内累積投与 (ジメチルスルホキシド)	25, 50 (約30分間隔)	雄3匹	50	—	いずれの投与量でも、前脛 骨筋収縮に影響を及ぼさな かった。
血液 溶血性 (ウサギ)	(1% CMC に懸濁)	10^{-6} g/ml 10^{-5} g/ml 10^{-4} g/ml 10^{-3} g/ml	—	10^{-3} g/ml	—	いずれの濃度の添加でも、 溶血作用は認められなかつ 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アグロカネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。