

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 90 日間反復経口投与毒性／反復経口投与神経毒性併合試験

(資料 No. T-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

検体純度：

供試動物：Crj；CD (SD) IGS 系ラット、約 5 週齢

投与開始時体重 雄 174.9～202.2g、雌 129.8～154.8g、1 群雌雄各 12 例

試験期間：90 日間 (13 週間投与：1999 年 7 月 28 日～1999 年 10 月 28 日)

投与方法：検体を 40、140 及び 480 ppm の濃度で粉末飼料に直接混入し、13 週間自由に摂取させた。対照群には検体を含まない粉末飼料を自由に摂取させた。飼料は毎週調製し、冷蔵保存し、毎日交換した。

投与量設定理由；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

一般状態及び死亡の有無を毎日 2 回観察した。また、毎週 1 回、Irwin の多次元観察法を参考にした症状観察を行うとともに、第 13 週には正向反射、視覚テスト、聴覚テスト、握力検査、自発運動量の機能検査を行った。

投与期間中に死亡例はみられなかった。

対照群を含む各試験群に死亡例はみられず、一般症状の変化もみられなかった。症状観察並びに機能検査でも、各試験群に検体投与の影響はみられなかった。

体重変化；

各動物の体重を検体投与開始前 1～13 週まで毎週 1 回測定した。

試験期間中の各群の平均体重 (g) を次表に示す。

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。

性別	雄				雌			
	投与量(ppm)	対照	40	140	480	対照	40	140
第0週	189	188	189	188	141	141	141	141
第4週	404	387	394	392	212	215	221	220
第8週	500	486	496	492	245	246	260	260
第13週	560	549	556	554	265	265	278	277

投与期間を通じて、いずれの投与群にも検体投与の影響はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率；

試験期間中、毎週1回、前日の給餌量から残量を差し引いた摂餌量を測定するとともに、摂餌量と体重変化量から食餌効率を算出した。

各群の平均摂餌量 (g/動物/day) を下表に示す。

性別	雄				雌			
	投与量(ppm)	対照	40	140	480	対照	40	140
第0週	25	23	24	23	19	17	19	16*
第4週	29	28	29	29	20	19	23	20
第8週	30	28	29	29	20	20	20	19
第12週	27	26	26	26	20	18	20	19

\* :  $p < 0.05$  (Dunnnettの多重検定)

480 ppm 投与群雌の投与初日の摂餌量が対照群より有意に低かったが、その後の摂餌量は対照群と同様であった。その他の試験群及び雄では検体投与の影響がみられなかった。

試験期間中の体重推移及び摂餌量から算出した食餌効率を下表に示す。

性別	雄				雌			
	投与量(ppm)	対照	40	140	480	対照	40	140
第0週	34.4	34.3	36.0	34.5	15.6	18.3	17.4	18.6
第4週	15.5	15.8	16.5	17.9	8.2	8.6	7.6	10.1
第8週	9.2	8.6	9.3	10.2	5.3	3.8	5.0	5.3
第12週	1.8	3.5	2.4	3.6	0.0	-1.1	-1.8	-1.3

各試験群の食餌効率は雌雄とも対照群と差がなかった。

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。

検体摂取量；

各群の飼料中検体濃度、摂取量及び体重から算出した検体摂取量 (mg/kg 体重/day) を下表に示す。

性別	雄			雌		
	40	140	480	40	140	480
第0週	4.9	18.0	59.6	4.9	19.3	55.6
第4週	2.9	10.2	35.4	3.6	14.4	43.1
第8週	2.3	8.1	28.1	3.3	11.1	34.7
第12週	1.9	6.8	22.6	2.7	9.8	32.0
平均	2.9	10.2	34.5	3.5	13.4	41.3

眼科学的検査；

投与開始前及び第13週に全例について、検眼鏡による前眼部及び水晶体の観察を行った後、散瞳剤を点眼して眼底カメラによる眼科学的検査を行った。検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査；

投与終了時に、前日より20時間絶食させ、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈から採血して以下の検査を行った。

白血球数、白血球型別百分率、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

対照群と比べて、統計学的有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。

性別	雄			雌		
	40	140	480	40	140	480
網状赤血球						171 †
リンパ球					93 ‡	
桿状好中球						371 †
分節好中球					173 †	202 †

†‡ : p < 0.05    †‡ : p < 0.01 (Dunnnett の多重検定)

140 ppm 投与群雌でリンパ球の減少及び分節好中球の増加、480 ppm 投与群雌で桿状及び分節好中球の増加並びにリンパ球の減少傾向が認められた。また、480 ppm 投与群雌では網状赤血球数の有意な増加もみられた。雄では各試験群に検体投与による変化が認められなかった。

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

血液生化学的検査；

投与終了時に、前日より 20 時間絶食させ、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈から採血し、血清及び血漿を用いて以下の検査を行った。

グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、コリンエステラーゼ (ChE)、ブドウ糖 (GLU)、総蛋白 (TP)、アルブミン (ALB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、蛋白分画、総コレステロール (T-cho)、中性脂肪 (TG)、リン脂質 (PL)、総ビリルビン (T-Bil)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CRE)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ (OCT)

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。

性 別	雄			雌		
	40	140	480	40	140	480
投与量 (ppm)	40	140	480	40	140	480
ChE						74 ↓
総コレステロール			158 ↑		126 ↑	134 ↑
リン脂質			141 ↑		125 ↑	132 ↑
中性脂肪					127 ↑	149 ↑
尿素窒素				121 ↑		121 ↑
総蛋白			111 ↑		107 ↑	109 ↑
アルブミン			114 ↑			106 ↑
カルシウム			104 ↑			
ナトリウム		99 ↓				
塩素			98 ↓		99 ↓	98 ↓

↑↓ : p<0.05    ↑↓ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

雄では 480 ppm 投与群でコレステロール、リン脂質、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの有意な増加及び塩素の有意な低下がみられた。雌では 140 ppm 以上の投与群でコレステロール、リン脂質、総蛋白及び中性脂肪の有意な増加並びに塩素の有意な低下がみられ、480 ppm 投与群ではアルブミンの増加並びにコリンエステラーゼ活性の有意な低下もみられた。

その他に、140 ppm 投与群雄でナトリウムの有意な低下、40 及び 480 ppm 投与群雌で尿素窒素の有意な増加がみられたが、軽度な変化であり、用量の増加に伴った変化ではないことから偶発的变化と考えられた。

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 カネシヨウ株式会社にある。

尿 検 査 ;

投与終了時に動物に 5 mL の局方注射用水を強制経口投与し、代謝ケージに 3 時間収容して新鮮尿を採取した。引き続き絶食下で 17 時間採尿を継続した。採尿期間中は水を自由摂取させた。得られた尿で以下の検査を行った。

新鮮尿 - 蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸、白血球、亜硝酸及び沈渣、色調

蓄積尿 - 尿量、比重、ナトリウム、カリウム、塩素

新鮮尿を用いた半定量試験結果を下表に示す（数値は例数を示す）。

性 別	投与量 (ppm)	雄				雌			
		対照	40	140	480	対照	40	140	480
潜 血	-	7	9	8	10	12	12	12	11
	±	3		2	2				1
	+	1	1	1					
	2+	1		1					
	3+		2						
ケトン体	-	6	5	2	4	12	12	12	12
	±	6	6	10	8				
	+		1						
ブドウ糖	-	12	12	12	12	12	12	12	12
	+								
蛋 白	-			1		12	12	11	10
	±	8	4	4	3			1	2
	+	3	5	5	7				
	2+	1	1	1	2				
	3+		2	1					
pH	6.5	1	1				1	1	
	7.0	2	4	2	4	3	2	3	1
	7.5	4	2	5	5	5	3	3	1
	8.0	4	2	4	2	4	5	3	9
	8.5	1	3	1	1		1	2	1
ウロビリ ノーゲン	0.1	12	12	12	12	12	12	12	12
	1.0								
ビリルビン	-	12	12	12	12	12	12	12	12
	+								
色 調	淡黄色	12	11	12	12	12	11	12	12
	黄 色		1						
	他						1		

いずれの投与群にも、検体投与に関連した変化は半定量試験、沈渣並びに電解質定量試験で認められなかった。

40 及び 140 ppm 投与群雄で蛋白が強陽性を示す動物がみられたが、480 ppm 投与群ではみられなかった。40 ppm 投与群雄で潜血が強陽性を示し、沈渣中に赤血球の検出された動物はあったが、140 ppm 以上の投与群では類似した変化はみられなかった。

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

#### 臓器重量；

すべての動物について、投与終了時に屠殺し、以下の臓器重量を測定するとともに、剖検時体重から比重量を算出した。

脳、胸腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣、精巣上体、卵巣及び子宮

対照群と比べて統計学的有意差の認められた臓器及び対照群に対する変動率(%)を下表に示す。

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		40	140	480	40	140	480
脳	絶対重量						
	比重量						94 ↓
肝	絶対重量			128 ↑	116 ↑	130 ↑	
	比重量		109 ↑	130 ↑	109 ↑	123 ↑	
腎	絶対重量			112 ↑	108 ↑	109 ↑	
	比重量			114 ↑			

↑↓ : p<0.05    ↑↓ : p<0.01 (Dunnnett の多重検定)

雄では 140 ppm 以上の投与群で肝比重量の増加がみられ、480 ppm 投与群では肝臓及び腎臓の絶対重量及び比重量の増加もみられた。

雌でも 140 ppm 以上の投与群で肝臓の絶対重量及び比重量の増加がみられ、腎臓絶対重量の増加もみられた。

480 ppm 投与群雌で脳比重量の低下がみられたが、偶発的変化であると考えられた。その他の臓器には重量の変化が認められなかった。

#### 肉眼的病理検査；

投与期間終了翌日、全例について麻酔後放血致死させ、体表、頭蓋内、胸腔内、腹腔内器官について、詳細な観察を行った。

140 ppm 投与群では肝臓の肥大が雄 3 例、雌 4 例に、腎臓の肥大が雌 2 例にみられ、480 ppm 投与群では肝臓の肥大が雌雄各 10 例、腎臓の肥大が雄 1 例、雌 2 例にみられた。

その他に腎臓の代償性肥大、精巣の萎縮あるいは軟弱、肝横隔膜結節、子宮腫脹等が観察されたが、いずれも検体投与とは関連しない変化であると考えられた。

#### 病理組織学的検査；

肉眼的病理検査を行った全動物について、以下の臓器組織をホルマリン固定後、ヘマトキシリン・エオシン染色標本を作製し、観察した。但し、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリン、精巣はブアン液で固定した。

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。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、胸腺、喉頭、気管、気管支、肺、唾液腺、心、肝、胆嚢、脾、膵、腎、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、精管、卵巣、卵管、子宮、膣、乳腺（雌のみ）、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、骨及び骨髄、脊髄、坐骨神経、骨格筋、皮膚、腸間膜リンパ節、頸部及び横隔膜リンパ節、大動脈、眼球（視神経を含む）、ハーダー腺及び肉眼的異常部位

観察された所見を別表に示す。

140 ppm 投与群では肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が雌雄各 4 例にみられ、480 ppm 投与群では全例にみられた。480 ppm 投与群では雄全例及び雌 8 例に腎尿細管好酸性小体／硝子滴変性が認められた。

単核細胞浸潤、石灰化等のその他の所見はいずれもラットではしばしば認められる所見であり、発現頻度と投与量に関連性がみられないことから、自然発生病変であると考えられた。

以上の結果から、140 ppm 以上の投与群で雌雄とも肝細胞肥大が、480 ppm 投与群では雌雄とも腎尿細管における好酸性小体増加／硝子滴変性がみられたが、40 ppm 投与群では雌雄とも毒性学的変化が認められなかった。したがって、本試験における無毒性量は雌雄とも 40 ppm（雄 2.85 mg/kg/日、雌 3.52 mg/kg/日）であると考えられた。

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

病理組織学的所見一覧 (1)

臓器組織	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	対照	40	140	480	対照	40	140	480
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大			4*	12**			4*	12**
	単核細胞浸潤	9	12	12	8	8	11	11	8
	微少肉芽	2	1		2	3	2		1
	限極性変性/肝細胞壊死					2	1		
	胆管増生	1	1	1	1			1	
	ヘルニア結節		1	1				1	
膵臓	ラ氏島細胞過形成	2	-	-	2		-	-	
	単核細胞浸潤	2	-	-	2	2	-	-	3
	被膜炎		-	-			-	-	1
胃	前胃化亢進		-	-			-	-	1
	前胃粘膜上皮過形成		-	-			-	-	1
	前胃漿膜肥厚		-	-			-	-	1
心臓	単核細胞浸潤	1	-	-	2		-	-	
	心筋線維化	2	-	-			-	-	
肺	動脈石灰化	4	5	4	2	2	3	5	2
	単核細胞浸潤	3	2	3	4	3	1		
	肺胞壁石灰化		1					1	1
	出血				1				
	泡沫細胞集簇	1	1	2	5			1	2
腎臓	好酸性小体増加/硝子滴変性	1		1	12**				8**
	尿細管好塩基性変性	9	11	10	11	2	5	3	4
	単核細胞浸潤	10	10	6	9	5	4	3	5
	石灰化	2	3	4	4	3	3	1	4
	水腎症		1						
	嚢胞様尿細管		1	1		2	1	1	
	蛋白円柱	3	4	5	6			1	
	線維化		2			1			
	集合管拡張				1				
	尿細管上皮過形成		2						
	腎盂上皮過形成			1					
被膜肥厚					1				
膀胱	単核細胞浸潤	2	-	-	3	1	-	-	

表中の分数は発現数/検査数を、“-”は未検査を示す。

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher 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。

病理組織学的所見一覧 (2)

臓器 組織	性 別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	対照	40	140	480	対照	40	140	480
脾 臓	所見								
	ヘモジデリン沈着		-	-	1		-	-	2
	髓外造血		-	-			-	-	2
	被膜炎症		-	-			-	-	1
	線維化		-	-			-	-	1
壊死		-	-			-	-	1	
胸 腺	上皮細管		-	-	2	3	-	-	4
	濾胞過形成		-	-	1		-	-	
下垂体	石灰化	1	-	-			-	-	
	中葉過形成		-	-	1		-	-	
	中葉好酸性結晶体		-	-			-	-	1
甲状腺	濾胞拡張	1	-	-	1		-	-	
	嚢嚢遺残	2	-	-		2	-	-	1
	単核細胞浸潤	1	-	-			-	-	
副 腎	石灰化	2	-	-			-	-	
	単核細胞浸潤		-	-	1		-	-	
精 巢	精細管萎縮		1/1	-			-	-	
精 管	単核細胞浸潤		-	-	1		-	-	
	過形成		-	-	1		-	-	
精巢上体	単核細胞浸潤	5	0/1	-	5		-	-	
	精母細胞層		1/1	-			-	-	
前立腺	単核細胞浸潤	7	-	-	6		-	-	
子 宮	粘膜扁平上皮化生		-	-		1	0/2	1/2	1
	内腔拡張		-	-			2/2	2/2	
骨格筋	単核細胞浸潤	1	-	-	1		-	-	
皮 膚	単核細胞浸潤	1	-	-			-	-	
眼 球	網膜異形成	1	-	-	1		-	-	
	角膜肥厚	2	-	-		1	-	-	
	結膜石灰化		-	-	1		-	-	
ハーダー腺	単核細胞浸潤	3	-	-	2	3	-	-	1
リンパ節	形質細胞浸潤		-	-			-	-	1
	類洞拡張		-	-			-	-	1
	皮膜肥厚		-	-			-	-	1

表中の分数は発現数/検査数を、“-”は未検査を示す。

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher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。

(7) 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。

(8) 1年間及び2年間反復経口投与慢性毒性及び発がん性

1) ビーグル犬を用いた52週間反復経口投与毒性試験(カプセル投与)

(資料No. T-14)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1995年

検体純度:

供試動物: ビーグル犬、投与開始時5~6ヵ月齢

体重 雄5~8 kg、雌4~8 kg、1群雌雄各5匹

観察期間: 52週間(1994年3月8日~1995年3月7~10日)

投与方法: 0、1、6及び36 mg/kg/日の投与量になるように、カプセル1個に検体を充填して、52週間にわたって1日1回強制経口投与した。検体を充填したカプセルは、1週間に1回調製した。

投与量設定根拠:

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率;

一般状態及び生死について、毎日観察した。詳細な臨床検査は、投与開始前並びに26及び52週に実施した。

投与期間中に死亡例は認められなかった。投与期間中にみられた様々な臨床徴候は、使用した動物では一般的に認められ、正常範囲と考えられるものであった。また、これらの徴候の発現頻度は低く、全ての試験群にみられた。

体重変化;

投与期間中に、全動物の体重を毎週少なくとも1回測定した。

36 mg/kg/日投与群雄の体重増加量は、最初の26週間は対照群より低く、結果として投与期間終了時点におけるこの群の平均体重は対照群よりも低くなり(14%)、統計学的に有意であった。しかし、同群雌の投与終了時点における平均体重は、対照群と比較して僅かに低いのみで(9%)、投与開始前に既に差があったことから考えて、この影響は不明確であった。他の群における変化は、対照群とほぼ同等であり、統計学的に有意な差はなかった。

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

摂餌量；

投与開始から 16 週までは個体別に毎日、20 週からは 4 週間隔で 1 週毎日測定した。

36 mg/kg/日投与群雄の最初の 26 週間の摂餌量が、統計学的に有意ではないが対照群よりもわずかに低かった。その他の群では、生物学的に意義のある摂餌量の変化はみられなかった。

飲水量；

摂餌量の測定日と同じ日に、個体別に測定した。

飲水量には、投与に関連した変化はみられなかった。

検眼鏡検査；

投与開始前及び投与の 52 週目に、全ての動物について検査した。

投与に関連した眼の病変はみられなかった。

血液学的検査；

投与開始前、投与第 26/27 及び 52/53 週の午前の投与前に、絶食した動物の頸静脈から採血し、以下の項目を測定した。

ヘモグロビン (Hb)、平均赤血球ヘモグロビン (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、血中血球容積 (PCV)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球容積 (MCV)、網状赤血球数、血小板数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、総白血球数、白血球百分率 (対照群及び高用量群のみ)

統計学的有意差がみられた項目を下表に示す。

検査項目	週	性別	投与量 (mg/kg/day)		
			1	6	36
ヘモグロビン	26	雄		↓ 92	↓ 90
		雌			
	52	雄		↓ 94	↓ 91
		雌			
血中血球容積	26	雄		↓ 92	↓ 89
		雌			
	52	雄		↓ 94	↓ 92
		雌			
赤血球数	26	雄		↓ 89	↓ 88
		雌			
	52	雄		↓ 92	↓ 91
		雌			

↑ ↓: < 0.05、↑ ↓: < 0.01 (student の t 検定、williams の検定)

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。

6 及び 36 mg/kg/日投与群雄では、ヘモグロビン濃度、血中血球容積及び赤血

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。

球数が対照群よりも低かった。この変化は用量相関的であり、投与期間中の採血時点にみられた。他のパラメーターにおける差は小さく、検体投与の影響を表しているとは考えられなかった。

血液生化学的検査；

血液学的検査と同時に採取した血液から得られた血清を用いて以下の項目について検査した。

ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩化物 (Cl)、カルシウム (Ca)、無機リン、グルコース、尿素、総コレステロール (CHOL)、トリグリセライド (TRIGS)、リン脂質 (P. LIP)、総ビリルビン、総タンパク質、アルブミン (ALB)、グロブリン、アルブミン/グロブリン比 (計算値)、クレアチニン、アルカリフォスファターゼ (A. P.)、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、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ、クレアチニンホスホキナーゼ

統計学的有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を次表に示す。

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。

検査項目	週	性別	投 与 量 (mg/kg/day)		
			1	6	36
カルシウム	26	雄			↓ 94
		雌			
総コレステロール	26	雄		↑ 150	↑ 219
		雌		↑ 146	↑ 197
	52	雄		↑ 154	↑ 208
		雌			↑ 174
トリグリセライド*	26	雄		↑ 145	↑ 561
		雌			↑ 251
	52	雄	↑ 134	↑ 144	↑ 484
		雌		↑ 129	↑ 263
リン脂質	26	雄		↑ 130	↑ 178
		雌		↑ 124	↑ 159
	52	雄	↑ 124	↑ 139	↑ 178
		雌			↑ 146
アルブミン	26	雄		↓ 92	↓ 86
		雌			
	52	雄		↓ 97	↓ 94
		雌			
アルカリフォスファターゼ*	26	雄		↑ 144	↑ 432
		雌			↑ 299
	52	雄		↑ 174	↑ 477
		雌			↑ 325

↑ ↓: < 0.01, ↑ ↓: < 0.05 (student の t 検定、williams の検定)

36 mg/kg/日投与群雄及び6 mg/kg/日投与群雄に、カルシウムの軽度の低下がみられた。

血清中コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質濃度が、6 及び 36 mg/kg/日投与群の 26 及び 52 週に上昇し、これらには用量相関性がみられた。

1 mg/kg/日投与群では、52 週雄のトリグリセライド及びリン脂質が統計学的に有意に増加した。アルブミン濃度の低下傾向が、6 及び 36 mg/kg/日投与群雄において全試験期間にわたってみられた。アルカリホスファターゼ活性が、26 及び 52 週に 6 mg/kg/日投与群雄及び 36 mg/kg/日投与群雌雄で上昇した。

#### 尿 検 査 ;

投与第 27 週に代謝ケージに收容し (16 時間)、飼料及び飲水を与えない状態で各動物から採尿し、以下の項目を測定した。

尿量、比重、外観、pH、タンパク質、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、還元物質、尿沈渣

投与群雌では尿量増加及び相応する比重の低下傾向がみられたが、用量相関

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。

性は乏しかった。36 mg/kg/日投与群雌雄の少数に還元物質がみられたが、経時的にその匹数は減少した。

尿の他のパラメーターにおける変化は、軽微で投与と関連しないものと考えられた。

剖 検；

投与期間終了時に動物を一夜絶食し、次いでペントバルビタールナトリウムの静脈注射により麻酔した後、放血して屠殺し剖検を行った。

外表、全ての開口部、頭蓋腔、脳及び脊髄の試料の外表、胸腔及び腹腔及び臓器、頸部組織及び器官、カーカス

剖検時に、投与と関連すると考えられる肉眼的所見はみられなかった。

臓器重量；

屠殺時に全ての動物の以下の臓器を秤量した。脂肪及び付属している組織を取除いて秤量した（対になっている臓器は合わせて秤量した）。臓器重量の比重量も計算した。

副腎、脳、腎、肝、卵巣、前立腺、脾、精巣、胸腺、甲状腺及び子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
検査時期 (週)	53	53	53	53	53	53
投与量 (mg/kg/日)	1	6	36	1	6	36
体 重	10080	9700	8820 ↓	8860	9620	8040
副 腎	絶対重量		1.143			
	比重量		0.0130 ↑			
精 巣	絶対重量	14.77	17.70			
	比重量	0.152 ↑	0.201 ↑			
卵 巣	絶対重量					0.676 ↓
	比重量					0.0085
前立腺	絶対重量		6.375 ↓			
	比重量		0.0731			
甲状腺	絶対重量		1.080 ↑	0.749 ↑	0.744 ↑	0.840 ↑
	比重量		0.0123 ↑	0.0085	0.0078	0.0106 ↑
腎	絶対重量		55.16 ↑			
	比重量		0.627 ↑			
肝	絶対重量	332.1 ↑	476.7 ↑	300.8	378.3 ↑	391.3 ↑
	比重量	3.42 ↑	5.37 ↑	3.41 ↑	3.92 ↑	4.86 ↑
脳	絶対重量		77.44			
	比重量		0.886 ↑			
子 宮	絶対重量					3.423 ↓
	比重量					0.0427 ↓
胸 腺	絶対重量			2.702	4.648	3.086 ↓
	比重量			0.0303 ↓	0.0484 ↓	0.0387 ↓

↑ ↓ : p<0.05    ↑ ↓ : p<0.01    (William 検定, Shirley 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 カネシヨウ株式会社にある。

6 及び 36 mg/kg/日投与群雌雄、1mg/kg/日投与群雌で肝絶対重量および比重量が増加しており、検体投与の影響と考えられる。

36 mg/kg/日投与群雌雄、1 及び 6 mg/kg/日投与群雌の甲状腺絶対重量または比重量の増加がみられたが、相当する病理組織学的所見はみられなかった。

36 mg 投与群雌における腎絶対重量及び比重量の増加がみられたが、相当する病理組織学的所見はみられなかった。

36mg 投与群雌で子宮及び卵巣の絶対重量又は比重量の低下がみられたが、これは成熟度の低い動物がいたためと考えられる。

36 mg/kg/日投与群雌で副腎、精巣及び脳比重量の増加がみられたが、低体重に因るものと考えられた。すべての投与群雌で胸腺比重量の低下がみられたが、加齢による退縮と関連するものと考えられた。

36 mg/kg/日投与群雌の前立腺絶対重量の低下がみられたが、偶発的なもので検体投与の影響ではないと考えられた。

#### 肉眼的病理及び病理組織学的検査；

別の固定法を用いた骨髄及び眼を除き、10%中性ホルマリン中に固定し、スライドはヘマトキシリン及びエオシン染色した。病理組織学的検査は、原則として全動物からの下記の組織について、実施した。

副腎、大動脈、骨（胸骨、骨髄を含む）、骨（肋骨）、骨髄塗抹、気管支（主気管支）、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼、胆嚢、心、回腸、空腸、腎、肝、肺、リンパ節（下顎及び腸間膜）、乳腺、鼻腔（2 部位）、食道、視神経、卵巣、脾、上皮小体、脳下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（下顎）、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄（腰部、胸部及び頸部）、脾、胃、精巣、胸腺（識別された場合）、甲状腺、気管、膀胱、子宮（子宮角及び子宮頸）、全ての肉眼的病変

以下に示すように検体投与と関連した所見が肝臓及び副腎にみられた。他の所見は、投与に関連したものではなく、または用量相関的ではないか、あるいはこの齢期のイヌにみられる通常の変化の範囲内にあるものと考えられた。

#### 肝 臓；

36 mg/kg/日投与群雌雄において、特に門脈周囲肝細胞に肥大がみられた。6 mg/kg/日投与群雄 1 匹にもこの変化がみられた。36mg/kg/日投与群雌雄各 1 匹では、より瀰漫性の肥大がみられ、この変化は 6 mg/kg/日投与群雄 1 匹にもみられた。36 mg/kg/日投与群雄 3 匹及び雌 2 匹では、ミエリン様小体の形成を伴っていた。

#### 副 腎；

36 mg/kg/日投与群雄 5 匹及び雌 3 匹において、皮質の空胞化がみられた。こ



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。

の症状は、他の群の動物にも時折みられた。この空胞化の様子は軽微から中等度であり、球状帯にもみられた。

以上の通り、36 mg/kg/日投与群雄において軽度の体重増加抑制及び摂餌量の低下、雌雄におけるアルカリホスファターゼ活性の増加、肝絶対重量増加及び肝細胞肥大がみられた。また、コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の増加もみられた。さらに、雌雄で副腎皮質空胞化がみられ、腎臓に対する影響も示唆された。

6 mg/kg/日投与群でも、上記の変化がみられたが、その程度は軽度であった。

1 mg/kg/日投与群では、雄におけるトリグリセライドの僅かな増加及び雌における尿量の増大、肝及び甲状腺絶対重量の増加がみられた。しかし、病理組織学的病変はみられず、臓器の機能低下を示す徴候もみられなかった。

したがって、本試験では1 mg/kg/日が無毒性量 (NOAEL) 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。

2) イヌを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 No. T-15)

試験機関：

報告書作成年：1969年

検体純度：

供試動物：ビーグル犬、8ヵ月齢、1群雌雄各4匹

投与期間：24ヵ月（104週）

投与方法：粉末飼料に0、20、50及び350 ppmの濃度で検体を混合し、給餌直前に水で湿らせ、堅いペースト状にし、開始より13週間までは1日2回、その後は1日に1回与えた。最後の8ヶ月間は粉末の検体混合飼料を自由に与えた。飼料は週1回調製した。水は自由に摂取させた。

観察・検査項目及び結果：

①一般状態及び死亡率；

一般状態では、検体投与による症状は認められなかった。試験期間中における死亡例は認められなかった。

②体重変化；

投与開始から16週間まで週1回、その後は2週に1回全動物の体重を測定した。

いずれの群においても、検体投与に伴う変化はなかった。

③摂餌量；

各群について2週に1回測定し、平均摂餌量を算出した。いずれの群においても、検体投与による影響はなかった。

④検体摂取量；

体重及び摂餌量と飼料中検体濃度から検体摂取量を求めた。

試験期間中の雌雄の平均検体摂取量 (mg/kg/day) は次の通りであった。

投与群 (ppm)	0	20	50	350
検体摂取量 (mg/kg/日)	0	0.4	1.3	9.0

※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。

⑤血液学的検査；

試験開始時、投与後 13、26、52、78 及び 102 週間に全ての動物をから採血し、次の項目について検査した。

赤血球沈降速度、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、白血球百分比

検体投与による影響は認められなかった。

⑥血液生化学的検査；

上記の血液学的検査と同一の検査時期及び全動物を対象として、次の項目について検査した。

尿素窒素、血糖値、血清アルカリホスファターゼ (SAP)、ピルビン酸トランスアミナーゼ (SGPT)、オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (SGOT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。

性別	雄									雌														
	0			20			50			350			0			20			50			350		
検査週																								
尿素窒素																								
血糖																								
SAP																								
SGPT																								
SGOT																								

↑ ↓ : p<0.05    ↑ ↓ : p<0.01    student の t 検定

50ppm 投与群雌で尿素窒素及び SGPT の低値が認められた。また、350ppm 投与群雄の血糖の高値及び雌の尿素窒素の低値が認められた。いずれの変化もその後の検査時には異常が認められなかったことから偶発的のものと考えられた。

350ppm 投与群の雌雄で SAP が有意な高値を示しており、検体投与の影響と考えられた。また、350ppm 投与群雄の SGPT に検査週によっては低値を示した。

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。

⑦尿検査；

上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として次の項目について検査した。

外観、比重、pH、グルコース、アルブミン、潜血、アセトン、沈渣、  
GOT

350ppm 投与群雌 3 例で第 78 週及び 102 週後に赤血球のやや増加する傾向がみられたが、他の投与群でも検査時期によって、1~2 例で同じ傾向がみられた。また、pH、アルブミン、GOT、白血球、上皮細胞などの増加、潜血のみられる例が調査時期によりあったが、検体投与による影響とはみられなかった。

⑧生化学的検査；

第 103 週にすべての動物を対象として、肝機能検査(BSP)、腎機能検査(PSP)を実施した。

各投与群とも対照群との差はなかった。

同一の検査時期、全動物を対象として、血清蛋白分画を測定した。

各投与群とも対照群との差はなかった。

屠殺し、臓器重量測定後、肝の Glucose-6-phosphatase (G6P) 及び Glucose-6-phosphatase dehydrogenase (G6PD) を測定した。

350 ppm 投与群で両酵素活性の増加がみられた。50 ppm 以下の投与群では、対照群との差はなかった。

⑨臓器重量；

試験終了時(第 104 週)に全生存動物を屠殺し、次の臓器の重量を測定し、体重比を算出した。

心、腎、肝、脾、肺、精巣、卵巣、下垂体、甲状腺、副腎、脳

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

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。

性別		雄			雌		
検査時期 (週)		104			104		
投与量 (ppm)		20	50	350	20	50	350
体重		13.3	15.2	14.2	12.5	12.9	14.2
心	絶対重量						
	比重量			↓88			
腎	絶対重量						
	比重量						
肝	絶対重量						↑167
	比重量			↑131			↑144
脾	絶対重量						
	比重量						
脳	絶対重量						
	比重量						
精巣	絶対重量						
	比重量						
卵巣	絶対重量						
	比重量						
下垂体	絶対重量	↓71.1					
	比重量						
甲状腺	絶対重量				↑138		▲203
	比重量						▲173
副腎	絶対重量						
	比重量						
肺	絶対重量						
	比重量						

student の t 検定 ▲▼ : p<0.01 ↑↓ : p<0.05 (申請者の計算値)

20ppm 投与群雄の下垂体絶対重量に低値、同群雌の甲状腺絶対重量に高値が認められたが、用量相関性はみられず検体投与との関連はなかった。

350 ppm 投与群雌の肝および甲状腺の絶対重量の有意な増加が認められ、比重量も同様に増加していることから、検体投与による影響と考えられる。また、350ppm 投与群雄に肝及び心比重量の有意な変化が認められた。

⑩肉眼的病理検査；

試験終了時、全生存動物を屠殺し、剖検した。

肉眼的所見は 1 例のみに認められるが、病変及び発生頻度が対照群と差がなかったので検体投与の影響とは考えられなかった。

⑪病理組織学的検査；

試験終了時、臓器重量測定後、次の組織について、標本作製し、鏡検した。

心、腎、肝、脾、肺、精巣、卵巣、下垂体、甲状腺、副腎、脳、脊髄、坐骨神経、唾液腺、骨格筋、胸部大動脈、皮膚、扁桃腺、腋窩リンパ節、表在性頸部リンパ節、腸間膜リンパ節、膀胱、食道、胃、十二指腸、小腸、回腸、盲腸、結腸、膵臓、気管、肛門、肛門周囲

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。

腺、眼、精巣上体、前立腺、子宮、胆のう、舌、骨髄（胸骨）、胸腺

350 ppm 投与群雄 1 例及び雌 2 例に多量のグリコーゲン蓄積をともなった肝小葉中心性肝細胞の肥大が、また雄 2 例及び雌 3 例に軽い炎症がみられた。なお壊死はみられなかった。

以上の結果から、本剤の 104 週間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、350 ppm 投与群で SAP が 12 週以降、また肝臓の G6P、G6PD が増加を示し、肝および甲状腺の絶対および比重量の増加および多量のグリコーゲン蓄積をともなった肝小葉中心性肝細胞の肥大と軽い炎症がみられたので、無毒性量は雌雄ともに 50 ppm (1.3 mg/kg/日) と判断される。

(昭和 52 年の安全性評価結果では最大無作用量は 20ppm (0.4mg/kg/日) と評価された。)

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。

病理組織学的所見 1

臓器	所見	雄				雌				
		0	20	50	350	0	20	50	350	
肝	泡状細胞質 (グリコーゲン蓄積)	軽度	4	3	2	1	2	3	3	1
		中等度		1	1	1	1	1		
		重度			1	1	1		1	1
		顕著				1				2
	炎症細胞浸潤、主に中心静脈周囲及びDrossel venen	軽微	2	4			1	2	3	
		軽度	2		4	2	2	2	1	1
		中等度				2				3
	肝細胞褐色非鉄色素沈着	軽度	1	1	2	1	1	1	1	
		中等度	2	3	1	2	1	2	2	3
		重度	1		1	1	2	1	1	1
	鉄陽性色素を含むクッパー細胞		2	1	1	1	3	3	2	2
	核内方形酸性物質	単発	1	1	3	1	2	3	2	2
		数個	1	1		1	1	1	1	1
		多数		1	1	2	1			
小壊死巣、網内系細胞集簇		1			3	2	3	2	1	
門脈周囲リンパ球・形質細胞浸潤		1	1	3	3	3	4	3	3	
限局性腹膜皮膜下出血、ヘモジリン沈着、線維化、胆管増生				1	1					
血栓						1				
腎	近位尿細管上皮黄褐色異型色素肉芽	中等度	4	3	2	2	3	4	2	1
		重度		1	2	2	1		2	3
	髄質上皮細胞好酸性化		2	3	2	2				
	内空が狭くなった腎炎様尿細管		1		2	1	1	1		2
	皮質または円形細胞浸潤		2			2		2	1	2
	間質性腎炎			1	1	1	1			
	腎盂炎	軽度	1		1			2	2	
		中等度	1	1		1				
	髄質尿細管蛋白円柱		1		1	3		1		1
	異常糸球体 (脂肪化、線維化、石灰化等)		4	1	1	3	4		1	3
	糸球体脂肪化							1	1	
	寄生虫肉芽						1		1	
	尿細管上皮核内物質 (肝細胞と類似物質)							1		
	髄質石灰沈着				1					1
尿細管変性扁平上皮集簇					1	1				
肺	胸膜下多発性結節、限局性胸膜炎		3	3	3	1	3	3	2	2
	寄生虫肉芽			1		1		1	2	
	限局性急性～亜急性肺炎					3	1		2	
	肺胞内針状骨組織、炎症反応なし		1							
	血管周囲・気管支周囲リンパ球カフ様集簇		1		3	1	1		1	2
	肺胞泡沫細胞				1		1			
限局性間質性肺炎					1		1			

※有意差検定は未実施

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。

病理組織学的所見 2

臓器	所見	雄				雌			
		0	20	50	350	0	20	50	350
心	心房筋線維限局性変性、ヘモジデリン沈着を伴う円形細胞発現	1					1	1	
	冠状動脈内膜細胞増生		1				1		
	血管炎、血管周囲炎、血栓による冠状動脈消失				1				
	冠状動脈過形成		1						
	左心房内膜限局性肥厚				1				
	寄生虫肉芽							1	
副腎	束状帯・球状帯細胞空胞化	軽度	1			1	2	3	2
		中等度	1	2		4		1	
		重度			1				
	寄生虫肉芽	1							
甲状腺	小胞数変動	2	2	4	3	3	2	3	3
下垂体	中葉コロイド嚢胞	1	1		1		1	1	2
	後葉コロイド嚢胞	1	1		1				3
舌	口内炎	2			2	1	1	3	2
食道	食道腺周囲リンパ球集簇				2	1			
胃	底部胃腔針状骨組織	1							
	限局性充血	1							
	底部潰瘍					1			
十二指腸	粘膜嚢胞化、上皮過形成	2	3	4	3	2	3	1	2
皮膚	限局性皮膚炎（軽度）	1	1			1			
	表皮肥厚							1	
眼瞼	結膜炎（軽度）	1							
下顎腺	リンパ球浸潤	1	1					1	
耳下腺	リンパ球・形質細胞浸潤、限局性壊死					1			
	導管周囲リンパ球浸潤						1	1	
膝窩リンパ節	リンパ腺炎				2				
頸部表層リンパ節	リンパ球浸潤	1							
胆嚢	粘膜下リンパ球浸潤	2	3	3	2	2	2	2	2
肛門嚢	限局性炎症	1	1	2	2	1	3		
肛門腺	腺細胞壊死・リンパ球浸潤	1	1		1				
精巣	精巣停留		1						
精巣上体	精子欠如		1						
	精細管上皮細胞黄緑色素沈着				1				
前立腺	リンパ球性前立腺炎	3	1	3	3				
	上皮過形成	1	1		1				
尿道	尿道炎		1		2				
膀胱	膀胱炎		1		1	1	1	1	1
	充血			1					1
	点状出血				1			1	
子宮	軽度内膜炎					1			
	内膜嚢胞					1	1	1	
	内膜増生					2	1	1	1

※有意差検定は未実施



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。

3) ラットを用いた慢性毒性試験

(資料 No. T-16)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1983 年

検体純度：

供試動物：Fischer F344 系ラット、開始時 5 週齢

体重 雄 82~102g、雌 74~92g、1 群雌雄各 70 匹

試験期間：110 週（1980 年 5 月 13 日~1982 年 6 月 22 日）

投与方法：

本試験では、検体を飼料に 0、50、400、3200 ppm の濃度で混合し、2 年間常に自由に経口摂取させた。なお、粉立ち防止のため、すべてオリーブ油を 2% w/w 添加した。飼料は週 1 回調製した。

試験項目及び結果：

①一般状態及び死亡率；

一般状態及び生死を毎日 2 回観察した。

3200 ppm 投与群雄でおよそ 73 週以後より、主に貧血、粗毛、やせなどの異常症状を示す動物数が増加し、併せて死亡率が増加し、102 週までに本投与群の全雄動物が死亡した。この最高投与量群雄以外の投与群では、死亡率及び症状は、対照群と特に顕著な差はなく、投与の影響はほとんどないと考えられた。

各群の第 78 週、104 週、110 週における死亡数は下表の通りであった（カッコ内は生命表解析改良法による死亡率%）。

群	雄			雌		
	78 週/60	104 週/50	110 週/50	78 週/60	104 週/50	110 週/50
対照群	3 (5.0)	11 (22.8)	17 (34.7)	3 (5.0)	13 (25.2)	17 (33.3)
50ppm	2 (3.1)	17 (33.4)	24 (47.5)	2 (3.3)	8 (17.1)	13 (27.0)
400ppm	3 (5.0)	11 (22.8)	18 (36.7)	4 (6.4)	13 (24.7)	16 (30.8)
3200ppm	17 (29.4)	50 (100)	50 (100)	0 (1.4)	12 (25.1)	22 (44.8)

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摂餌量；

毎週 1 回個体毎に測定した。

3200 ppm 投与群雌雄では第 1 週からほぼ全期間を通じて摂取量が低下した。

400 ppm 投与群雌では試験期間前半にわずかに摂取量が低下した。

50 ppm 投与群雌雄及び 400 ppm 投与群雄では対照群と顕著な差がなく正常であった。

③食餌効率；

26 週までは毎週、その後は隔週単位で計算した。

3200 ppm 投与群雌雄では、ほぼ全期間を通して食餌効率が低かったが、特に試験前半が顕著であった。

400 及び 50 ppm 投与群雌雄では対照群と顕著な差がなく正常であった。

④飲水量；

第 5、10、15 週に各々 1 週間、各群雌雄各 5 匹について測定した。

投与後 10 週に 3200 ppm 投与群雌雄で増加がみられた。また、第 15 週に 400 及び 3200 ppm 投与群雄で増加がみられた。以上を除いて各投与群雌雄の各時期における飲水量に顕著な変化はなかった。

⑤検体摂取量；

体重及び摂餌量から検体摂取量を算出した。

試験期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/day) は、次の通りであった。

投与群 (ppm)	50	400	3200
雄	3.18	29.0	241*
雌	3.16	26.3	248

\*98 週まで

⑥体重変化；

投与開始から 26 週間は週 1 回、その後は 2 週間に 1 回全動物の体重を測定した。

3200 ppm 投与群雌雄では投与後 1 週より有意な体重増加抑制が認められ、雄は投与後 102 週に全例死亡するまで、雌は投与終了時まで増加抑制がみられた。

400 ppm 投与群雄では投与後 72 週から、雌は投与後 6 週から、投与終了時まで軽度ながら体重増加抑制が認められた。

50 ppm 投与群雌雄では投与期間を通じて対照群との間に差がなく正常であった。

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。

⑦血液学的検査；

第 52、78、110 週に各投与群雌雄各 10 匹について腹部大動脈から採血し、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、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) を測定した。

第 110 週における 3200ppm 投与群雄については、全匹死亡のため検査は実施しなかった。

対照群に比し、統計学的に有意差のみられた項目は下記の通りであった。

性別	雄								
	50			400			3200		
投与群 (ppm)	52	78	110	52	78	110	52	78	110
ヘマトクリット値				↓98			↓93	↓87	—
ヘモグロビン量							↓94	↓91	—
赤血球数									—
白血球数							↑117		—
血小板数					↑149			↑157	—
MCV				↓99			↓95	↓92	—
MCH							↓96	↓96	—
MCHC			↑105			↑105		↑105	—

性別	雌								
	50			400			3200		
投与群 (ppm)	52	78	110	52	78	110	52	78	110
ヘマトクリット値	↓96						↓90	↓90	↓85
ヘモグロビン量	↓98			↓99			↓89	↓91	↓84
赤血球数	↓96								
白血球数								↑135	
血小板数									
MCV				↓98	↓97		↓88	↓88	
MCH				↓98			↓87	↓89	
MCHC					↑101		↓98	↑101	↓98

student の t 検定 ↑ ↓ : P<0.05    ↑↓ : P<0.01    ↑↓ : P<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。

3200 ppm 投与群雌雄でヘマトクリット値、ヘモグロビン量、MCV及びMCHの有意な低下が認められた。

400及び50 ppm 投与群においても有意な変化がみられたものの、どれも正常範囲として許容できるものであった。

⑧生化学的検査；

第 52、78、110 週に各投与群雌雄各 10 匹についてナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、血糖、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、総コレ

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。

ステロール、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ、GOT、GPT、乳酸脱水素酵素（LDH）を測定した。

第 110 週における 3200ppm 投与群雄については、全匹死亡のため検査は実施しなかった。

対照群に対し、統計学的に有意差のみられた項目は次の通りであった。

性別	雄									雌								
	50			400			3200			50			400			3200		
検査時期 (週)	52	78	110	52	78	110	52	78	110	52	78	110	52	78	110	52	78	110
ナトリウム	↑ 101								—									
カリウム	↑ 106	↑ 108		↑ 106			↑ 112	↑ 108	—				↓ 94					
カルシウム							↑ 111	—			↓ 90	↑ 111	↓ 81	↑ 114			↓ 91	
無機リン							↑ 113	↑ 152	—								↑ 124	
血糖							↓ 87	↓ 66	—									
尿素窒素	↓ 89					↑ 175	↑ 132	↑ 311	—								↑ 130	↑ 320
尿酸								↑ 135	—				↓ 77	↓ 67				
クレアチニン				↓ 90	↑ 142	↓ 87	↑ 124	—					↓ 88	↓ 92				
総コレステロール				↑ 142	↑ 169	↑ 191	↑ 277	—								↑ 268	↑ 257	↑ 183
総蛋白			↓ 93					—			↓ 91				↑ 112		↓ 89	
アルブミン							↓ 81	—									↓ 82	
総ビリルビン								—	↑ 120			↑ 127			↑ 137			
アルカリホスファターゼ	↓ 89			↓ 79			↓ 70	—										
GOT				↓ 75			↓ 49	—					↓ 74			↓ 71		
GPT							↓ 58	—									↑ 204	
LDH				↓ 69			↓ 49	—										

t 検定 ↑ ↓ : P < 0.05    ↑ ↓ : P < 0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。

400ppm 投与群雄および 3200ppm 投与群雌雄で、総コレステロールの増加が投与期間を通じてみられ、400 ppm 投与群雌では有意な差はみられなかったが、対照群よりほぼ常に大きい数値であり、用量依存的变化であった。ただし、50 ppm 群では有意な変化はなかった。

尿素窒素の増加が 3200ppm 投与群雌雄で認められた。3200 ppm 投与群雌の第 52 週時検査では変化はみられなかったが、第 78 週及び 110 週で増加すること、400 ppm 投与群雄でも 110 週には増加したことなどから、腎障害が進行性に現

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。

われるものと推定された。50 ppm 投与群では対照群との顕著な差はなかった。その他投与期間を通じて、ほぼ一定の傾向があったものとして 3200 ppm 投与群における無機リンの増加（雌雄）、血糖の減少（雄）、アルブミンの減少（雌雄、78 週以降）の傾向があった。これらはまず腎の障害、続いて軽度に肝の障害と関係があるものと推察された。

各検査時期とも上記以外に統計学的に有意差を認めた項目もあったが一定の傾向はなく、測定値も正常範囲内であった。

#### ⑨尿検査；

第 52、78、110 週に各群 10 匹の 24 時間尿につき、主として、マルチステップ試験紙により次の項目について検査した。

尿量、色調、濁度、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン、比重

尿量の増加と、これと相応する尿比重の低下が、3200 ppm 投与群雄において試験期間を通じて認められた。400 ppm 投与群雄でも第 110 週に同様の傾向がみられたが、3200 ppm 投与群雌では変化はなかった。その他、3200 ppm 投与群雌雄で糖の増加傾向が第 78 週以降に、雌で尿の色調の黄褐色化がみられた。50 ppm 投与群では対照群との顕著な差はなかった。

#### ⑩臓器重量；

第 52 及び 78 週に各群雌雄各 10 匹ずつ、第 110 週に生存しているすべての動物につき、解剖し肉眼的検査を行った後、肝臓、腎臓、精巣／卵巣、脳、心臓、肺、脾臓、甲状腺、副腎、胸腺、下垂体の重量を測定し、各比重量を求めた。

対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

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。

性 別		雄								
検査時期 (週)		52			78			110		
投与量 (ppm)		50	400	3200	50	400	3200	50	400	3200
体 重				↓78			↓68		↓89	—
脳	絶対重量						↓97			—
	比重量			↑128		↑109	↑143		↑112	—
心	絶対重量			↓85			↓78			—
	比重量			↑109			↑114			—
肺	絶対重量									—
	比重量						↑136			—
肝	絶対重量		↑117	↑134			↑148		↑124	—
	比重量		↑120	↑171		↑124	↑219		↑139	—
腎	絶対重量	↑112	↑112	↑122			↑116		↑114	—
	比重量		↑115	↑157			↑170		↑129	—
脾	絶対重量									—
	比重量			↑131					↑125	—
精巣/卵巣	絶対重量									—
	比重量						↑149			—
甲状腺	絶対重量									—
	比重量			↑140						—
副腎	絶対重量			↑133			↑122			—
	比重量			↑173			↑177			—
胸腺	絶対重量			↓44			↓34		↓61	—
	比重量						↓52		↓67	—
下垂体	絶対重量									—
	比重量			↑200						—

性 別		雌								
検査時期 (週)		52			78			110		
投与量 (ppm)		50	400	3200	50	400	3200	50	400	3200
体 重				↓77			↓73			↓64
脳	絶対重量						↓95			↓97
	比重量			↑124			↑130			↑151
心	絶対重量						↓86			↓83
	比重量			↑115			↑117			↑128
肺	絶対重量	↓93		↓89						↓84
	比重量			↑115			↑127			↑132
肝	絶対重量		↑117	↑165		↑116	↑175		↑111	↑150
	比重量		↑119	↑213		↑123	↑239		↑115	↑232
腎	絶対重量			↑125			↑116			
	比重量			↑160			↑158			↑170
脾	絶対重量			↓86						
	比重量						↑123			
精巣/卵巣	絶対重量			↓84						
	比重量						↑133			↑179
甲状腺	絶対重量									↓78
	比重量						↑133			
副腎	絶対重量			↓82			↓85			↓76
	比重量									
胸腺	絶対重量						↓58			↓58
	比重量									
下垂体	絶対重量			↑140						↓39
	比重量			↑160						

t検定 ↑ ↓ : P<0.05    ↑ ↓ : P<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表わす。

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。

3200 ppm 投与群では、各検査時期を通じて雌雄いずれも、肝臓、腎臓、またその他かなりの器官で、対照群より有意な高値であった。400 ppm 投与群雌雄では、いずれの時期でも、肝比重量が対照群より有意に増加していた。上記以外に統計的に有意差を認めた臓器もあったが、体重増加抑制によるものであった。

①肉眼的病理検査；

第 52、78 週に各群雌雄各 10 匹、途中死亡動物並びに 110 週に生存しているすべての動物につき、解剖し肉眼的検査を行った。

肝臓の腫大、び慢性黄色斑、腎臓の腫大、褐色～緑色の色変化、表面の細顆粒状変形の増加が 3200 ppm 投与群で 52 週より、400 ppm 投与群で 78 週以後に観察され、用量依存的であった。他の所見は、対照群でもみられており、検体投与の影響によるものとは考えられなかった。

②病理組織学的検査；

上記の肉眼的病理検査と同様に全動物について、脳、脊髄、下垂体、眼、唾液腺、甲状腺（上皮小体含む）、胸腺、心臓、肺、気管及び気管支、食道、胃、小腸、大腸、膵臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、卵巣、前立腺、子宮体及び頸管、膀胱、リンパ節、大腿骨、大腿筋、皮膚、坐骨神経、乳腺の組織病理検査を行った。なお、膵臓に好酸性細胞（オキシフィリックセル）の出現した動物につき、その部分を電子顕微鏡で調べた。

- 1) 肝臓の脂肪変性が、3200 ppm 投与群雄で目立った。同群雌でも増加したが、400 ppm 投与群以下では雌雄とも対照群との明白な差はなかった。
- 2) 腎臓に慢性腎症が、3200 及び 400 ppm 投与群雌雄でより多くみられたが、対照群にも多くみられており、この系統のラットの自然発生性腎変化が、増強、促進されているものと考えられた。
- 3) 膵臓に出現した好酸性細胞は対照群にはみられず、3200 ppm 投与群雌雄でより多くみられた。電子顕微鏡検査では、ミトコンドリアの密な増加等がみられ、いわゆる好酸性細胞であることが確認された。しかし、集簇巣の増加はなく、増殖の盛んな分裂像に乏しく、特に萎縮したランゲルハンス氏島の周辺に生じ、増殖的变化ではなく化生的な病変あるいは代謝異常によるものと考えられた。
- 4) 慢性腎症の随伴した変化として、以下のものが認められた。

上皮小体の肥大が、3200 ppm 投与群雌雄、400 ppm 投与群雄で多くみられた。骨異栄養症として大腿骨及び脊柱骨の萎縮が 3200 ppm 投与群雌雄に多くみられ、同投与群雄では線維化も多くみられた。

胃粘膜・腎実質・血管等の石灰沈着及び骨髄の血管拡張が、3200 ppm 投与群雄で多くみられた。

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。

- 5) 腎臓、肝臓を含め全体を通じどの病理変化も、50 ppm 投与群では、その程度、頻度において対照群と差はみられなかった。



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

※非腫瘍性病理組織学的所見の発生頻度

器官・病理組織所見	計画経路及び 切迫経路	雄				雌			
		0ppm	50ppm	400ppm	3200ppm	0ppm	50ppm	400ppm	3200ppm
肺	うっ血	3	7	8	17	3	2	4	2
	間質性肺炎	9			1	1			
	肉芽性炎	5	3	2		11	6	4	
	気管支肺炎	5	1			3			
	リンパ球集簇	2	5	2					
	肺胞上皮増生	2	1	1		2	4	2	1
	石灰沈着					1	3	2	5
	転移巣	0	2	5	4	3	1	8	6
心臓	心筋変性	40	20	21	13	14	15	22	11
	線維化	39	25	28	23	27	28	35	32
	心腔拡張	6	2	5	16	2	1	2	1
	石灰沈着		1	4	6				2
	小肉芽巣	2	2		2		1	1	1
胸腺	萎縮	63	65	63	70	66	63	65	67
筋肉	石灰沈着	2		1	2				1
腎臓	蛋白尿円柱	60	64	66	70	54	61	66	67
	色素沈着	43	47	58	66	50	60	60	65
	糸球体系蹄肥厚	33	40	51	57	24	27	39	55
	再生上皮	54	40	32	21	39	47	52	64
	線維化	6	24	43	39	1			
	慢性炎(リンパ球浸潤)	5	5	17	22				
	腎症(ネフロパチー)	42	46	62	70	23	23	34	66
	石灰沈着	6	8	9	38	66	62	65	59
転移巣		1	1	1		1		2	
副腎	色素沈着	22	12	14	15	65	65	65	66
	空胞変性	25	29	18	15	39	39	37	16
	血管拡張	10	14	17	9	39	21	17	5
	転移巣		1	1	2	1		1	1
肝臓/ 胆管	脂肪化(脂質の増加)	24	28	28	63	47	46	47	59
	小胆管増生	60	61	57	25	26	28	31	38
	線維増生	12	15	14	3		2		
	リンパ球集簇	6	7	6	7	4	3		
	色素沈着	6	3	1	8	11	16	11	47
	小肉芽巣	3	11	16	12	43	36	35	46
	肝細胞変性	1	3	1	1	3	3	14	25
	肝細胞壊死巣	2	4		7	1	5	3	9
	富脈斑	1		3	2		3	6	2
	奇形結節(横隔膜面結節)	3	2	1	2	11	10	5	5
	結節状肝細胞増殖(過形成)	1		2	6	2	2		5
転移巣	3	4	5	4	2	3	10	7	
脾臓	色素沈着	59	59	60	65	66	64	66	61
	赤血球系造血亢進	7	10	6	6	5		1	1
	顆粒球系造血亢進	3	4	5	3				
	萎縮	3	1		14	5	2	6	3
	リンパ濾胞肥大	2	1			4	5	7	6
	転移巣	2	4	3	3	3	4	6	9

※ 食品農医薬品安全性評価センター作成の時期別非腫瘍性病理組織学的所見をもとに申請者が集計した。

※ 有意差検定は未実施

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。

器官・病理組織所見	計画経路および 切迫経路	雄				雌			
		0ppm	50ppm	400ppm	3200ppm	0ppm	50ppm	400ppm	3200ppm
膵 臓	外分泌(腺房)細胞の萎縮	7	12	15	21	2	3	3	5
	小腺管増生	5	8	14	10	7	7	5	12
	色素沈着	11	13	6	2	1		1	
	小空胞の出現	3	2	2	1				
	ラ氏島好酸性細胞の出現		2		9		1	3	19
	ラ氏島過形成	4	1	6	2			1	
	転移巣		1		1			2	
中 枢 神 経 系	硝子滴出現(延髄上部)	21	25	22	16	32	43	43	39
	転移巣		1		2			1	
胃	後胃固有腺の腔拡張	13	22	25	20	14	14	18	28
	線維化	3	14	13	11	1	1	5	5
	前胃角化亢進		2	6	6	1	4	11	19
	石灰沈着		1	6	29		1		6
	潰瘍	2	2	4	2	1	2	6	6
	腺萎縮		1	3	16	1			
	粘膜下浮腫			1		1	3	3	7
	転移巣		2		2			1	
小 腸	潰瘍		2				1	3	2
	転移巣			1		1		2	
リンパ節	色素沈着	41	29	21	20	43	42	45	44
	小肉芽巣	27	36	41	26	1	2	2	2
	リンパ濾胞肥大	11	10	13	2				1
	萎縮		1	1	4				
	転移巣		2	1	3		1	1	2
眼	白内障	1	1	3	1	3	4	1	1
甲状腺	C細胞増生	12	16	18	5	19	31	33	20
	小濾胞増生	25	24	39	9	2	6	10	4
上皮小体	上皮小体肥大(過形成)	3	9	16	37		4	1	17
食 道	角化亢進	3	15	23	40				1
	腔の拡張	3	2			2			
	粘膜萎縮				3				
皮膚/皮下	皮膚萎縮	3	4	1	20				
	真皮の線維化			4	15			1	1
	角化亢進			1	8		1		
	転移巣				1	1		3	1
骨 髄	色素沈着	6			4	36	24	9	6
	骨髓造血亢進	12	5	7	11	9	2	3	3
	血管拡張	1	5	16	28				
	線維形成	1				2	3	4	12
	小肉芽巣	2	1			5	3	6	
	出血				8			1	
	転移巣	2	3	4	3			2	3
精 巣	精子形成低下	47	47	50	57				
	間質細胞の増生	12	13	16	29				
	萎縮	2	4	3	3				
	石灰沈着	2	2		1				
精 囊	萎縮	34	42	42	45				
卵 巣	色素沈着					52	52	52	50
	萎縮					11	6	3	5
	嚢胞					3	1	3	1
	転移巣					1	3	4	2

※ 食品農医薬品安全性評価センター作成の時期別非腫瘍性病理解剖学的所見をもとに申請者が集計した。

※ 有意差検定は未実施

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。

器官・病理組織所見	計画経路および 切迫経路	雄				雌			
		0ppm	50ppm	400ppm	3200ppm	0ppm	50ppm	400ppm	3200ppm
子宮	色素沈着					39	40	40	40
	嚢胞性内膜増殖症					9	12	7	7
	子宮水腫					5	3	2	1
	転移巣						2	2	
乳腺	乳腺増生	6	3	2	1	6	11	12	6
	萎縮			1	26				
下垂体	血管拡張	15	18	12	6	23	25	25	14
	色素沈着	13	11	5		38	26	25	14
	前葉細胞過形成	8	21	10	5	2	10	12	8
	嚢胞		1			11	4	3	1
前立腺	萎縮	22	28	35	47				
	血管炎	3		1					
骨	萎縮		2	5	38		1	2	15
	線維化		1	5	39				
血管	石灰沈着	1	3	6	30				2
	動脈硬化				2				
	血管硬化	1	4	4	23				
	慢性炎症	1	2	2	1				

※ 食品農薬品安全性評価センター作成の時期別非腫瘍性病理組織学的所見をもとに申請者が集計した。

※ 有意差検定は未実施

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。

非腫瘍性病理組織学的所見の時期別発生頻度

器官・病理組織所見		雄															
		0ppm				50ppm				400ppm				3200ppm			
		52	78	110	切・死	52	78	110	切・死	52	78	110	切・死	52	78	110	切・死
肺	うつ血				3				7				8				17
	間質性肺炎			7	2												1
	肉芽性炎			3	2			2	1			2					
	気管支肺炎				5			1									
	リンパ球集簇			2				4	1			2					
	肺胞上皮増生		1		1			1				1					
	石灰沈着																
	転移巣								2		1		4				4
心臓	心筋変性		5	24	11		7	10	3		2	12	7		1		12
	線維化			27	12			15	10		1	17	10		1		22
	心腔拡張				6				2			1	4				16
	石灰沈着								1			1	3				6
	小肉芽巣	1	1			1			1					1			1
胸腺	萎縮	10	8	27	18	10	10	22	23	9	9	26	19	9	8		53
筋肉	石灰沈着				2								1				2
腎臓	蛋白燐円柱	6	9	30	15	9	10	23	22	10	9	29	18	9	8		53
	色素沈着	5	7	22	9	10	8	15	14	9	7	27	15	9	8		49
	糸球体系蹄肥厚		5	5	23		4	17	19		6	29	16		8		49
	再生上皮	9	7	29	9	9	10	17	4	10	9	7	6	9	7		5
	線維化			5	1			11	13			28	15				39
	慢性炎(リンパ球浸潤)			4	1			4	1	1	4	8	4	7	7		8
	腎症(ネフロパシー)		5	24	13		8	20	18	5	9	29	19	9	8		53
	石灰沈着	3		1	2		3	3	2	3	1	2	3	8	4		26
	転移巣								1				1				1
副腎	色素沈着	3	7	6	6		10	2		1	9	3	1	2	8		5
	空胞変性	4	3	9	9	7	4	3	15	2	3	5	8	5	2		8
	血管拡張			8	2			9	5			11	6				9
	転移巣								1				1				2
肝臓/胆管	脂肪化(脂質の増加)		8	7	9	5	6	5	12	8	6	6	8	9	8		46
	小胆管増生	9	9	29	13	10	10	23	18	5	9	28	15	4	5		16
	線維増生			8	4			6	9			9	5				3
	リンパ球集簇			3	3			6	1			4	2		1		6
	色素沈着			3	3			2	1			1		2	2		4
	小肉芽巣	8	1	1	3	9	1	1		8	3	4	1	5	5		2
	肝細胞変性	1						1	2		1						1
	肝細胞壊死巣				2				4					5			2
	富脈斑			1								2	1				2
	奇形結節(横隔膜面結節)			1	2			1	1				1				2
	結節状肝細胞増殖(過形成)			1								1	1				6
転移巣				3				4			1	4				4	
脾臓	色素沈着	10	9	28	12	10	10	22	17	10	7	29	14	9	8		48
	赤血球系造血亢進			3	4			1	9		1	2	3				6
	顆粒球系造血亢進				3				4		1	2	2				3
	萎縮				3				1								14
	リンパ濾胞肥大			1	1				1								
転移巣				2				4				3				3	

※ 食品農医薬品安全性評価センター作成の時期別非腫瘍性病理組織学的所見をもとに申請者が集計した。

※ 有意差検定は未実施

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。

器官・病理組織所見	計画曝殺および切迫曝殺																
	0ppm				50ppm				400ppm				3200ppm				
	52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死	
脾臓	外分泌(腺房)細胞の萎縮			3	4	1	1	4	6		1	10	4		2	19	
	小腺管増生			2	3	1	3	2	2	2	2	7	3	2	1	7	
	色素沈着		1	8	2	1	3	5	4	2		3	1		1	1	
	小空胞の出現				3			1	1			2					1
	ラ氏島好酸性細胞の出現						1		1					1		8	
	ラ氏島過形成		1	3				1		1		2	3				2
	転移巣								1								1
中枢神経系	硝子滴出現(延髄上部)		2	14	5		4	12	9		3	13	6		2	14	
	転移巣								1							2	
胃	後胃固有腺の腔拡張		2	8	3		4	11	7		4	15	6		8	12	
	線維化			2	1			4	10			9	4			11	
	前胃角化充進								2			2	4			6	
	石灰沈着								1			1	5			29	
	潰瘍				2				2			2	2			2	
	腺萎縮								1				3			16	
	粘膜下浮腫												1				
	転移巣								2							2	
小腸	潰瘍								2								
	転移巣											1					
リンパ節	色素沈着	9	4	18	10	7	9	6	7	6	5	4	6	2	6	12	
	小肉芽巣		6	13	8		7	18	11		5	23	13		5	21	
	リンパ濾胞肥大			10	1			9	1			10	3		1	1	
	萎縮								1				1			4	
	転移巣								2		1					3	
眼	白内障	1							1	1			2			1	
甲状腺	C細胞増生			12			8	7	1		6	8	4		4	1	
	小濾胞増生		4	20	1		5	17	2		5	29	5		4	5	
上皮小体	上皮小体肥大(過形成)			2	1			5	4			11	5			37	
食道	角化充進				3			3	12			12	11			40	
	腔の拡張			1	2			1	1								
	粘膜萎縮															3	
皮膚/皮下	皮膚萎縮				3			1	3			1				20	
	真皮の線維化											1	3			15	
	角化充進												1			8	
	転移巣															1	
骨髄	色素沈着		4	1	1											4	
	骨髓造血充進			6	6			2	3		1	3	3			11	
	血管拡張				1			2	3			10	6			28	
	線維形成			1													
	小肉芽巣	1	1					1									
	転移巣				2				3				4			3	
精巣	精子形成低下		3	30	14	2	5	23	17		5	28	17		7	50	
	間質細胞の増生	1	4	2	5		5	1	7	9	4	1	2	8	3	18	
	萎縮				2	1		1	2				3	1		2	
	石灰沈着				2	2								1			
精囊	萎縮			25	9		2	22	18		1	25	16		5	40	
卵巣	色素沈着																
	萎縮																
	嚢胞																
	転移巣																

※ 有意差検定は未実施

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。

計画経路および 投与経路		雄															
		0ppm				50ppm				400ppm				3200ppm			
		52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死
子宮	色素沈着																
	嚢胞性内膜増殖症																
	子宮水腫																
	転移巣																
乳腺	乳腺増生			3	3			2	1			2					1
	萎縮												1				26
下垂体	血管拡張		1	10	4			7	11			8	4		1		5
	色素沈着		2	6	5			2	4	5		1	2	2			
	前葉細胞過形成			5	3			1	12	8			6	4			5
	嚢胞							1									
前立腺	萎縮			14	8			4	15	9		1	20	14		5	42
	血管炎			2	1						1						
骨	萎縮								2			1	4				38
	線維化								1			1	4				39
血管	石灰沈着				1			1	2			2	4		1		29
	動脈硬化														1		1
	血管硬化			1				1	3				4				23
	慢性炎症				1				2			1	1				1

※ 食品農医薬品安全性評価センター作成の時期別非腫瘍性病理解剖学的所見をもとに申請者が集計した。

※ 有意差検定は未実施

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。

器官・病理組織所見		雄															
		0ppm				50ppm				400ppm				3200ppm			
		52	78	110	致死	52	78	110	致死	52	78	110	致死	52	78	110	致死
肺	うっ血				3				2			1	3				2
	間質性肺炎			1													
	肉芽性炎		1	5	5			5	1			4					
	気管支肺炎				3												
	リンパ球集簇																
	肺胞上皮増生			2				4				2				1	
	石灰沈着			1				3				1	1			1	4
	転移巣				3				1			2	6			1	
心臓	心筋変性			8	6			14	1			15	7			6	5
	線維化			22	5			20	8			26	9			19	13
	心腔拡張				2				1				2				1
	石灰沈着																2
	小肉芽巣							1				1				1	
胸腺	萎縮	10	10	30	16	10	9	31	13	10	10	31	14	9	10	25	23
筋肉	石灰沈着																1
腎臓	蛋白様円柱	1	10	30	13	8	9	34	10	10	10	31	15	9	10	25	23
	色素沈着		10	29	11	7	9	34	10	9	10	31	10	8	10	25	22
	糸球体系蹄肥厚		1	20	3		4	20	3		7	27	5		10	25	20
	再生上皮	1	3	28	7	2	8	31	6	4	10	31	7	8	10	25	21
	線維化				1												
	慢性炎(リンパ球浸潤)																
	腎症(ネフロパチー)		1	17	5	2		17	4	7	2	22	3	9	10	25	22
	石灰沈着	10	10	30	16	10	8	33	11	10	10	30	15	9	9	22	19
	転移巣								1								2
副腎	色素沈着	9	10	30	16	10	9	32	14	10	10	30	15	9	10	25	22
	空胞変性			26	13			28	11		2	25	10			8	8
	血管拡張			27	12			17	4			13	4			3	2
	転移巣				1								1				1
	脂肪化(脂質の増加)		5	30	12	2	9	26	9	6	6	25	10	9	10	23	17
肝臓/胆管	小胆管増生		4	16	6	2	4	20	2	3	5	18	5	1	4	19	14
	線維増生								2								
	リンパ球集簇	1		3				2	1								
	色素沈着			6	5		1	10	5			4	7	2	7	21	17
	小肉芽巣	6	8	25	4	10	5	17	4	8	5	16	6	6	10	20	10
	肝細胞変性			2	1			2	1			8	6			12	13
	肝細胞壊死巣				1	4		1		1	1	1		7	2		
	富脈斑						1	2			1	5				1	1
	奇形結節(横隔膜面結節)	1	1	6	3	3	1	4	2	1	1	1	2			1	4
	結節状肝細胞増殖(過形成)		1	1				1	1							3	2
	転移巣				2			1	2			2	8			2	5
脾臓	色素沈着	10	10	29	17	10	9	33	12	10	10	31	15	9	10	25	17
	赤血球系造血亢進		1	3	1							1					1
	顆粒球系造血亢進																
	萎縮				5			1	1			2	4			2	1
	リンパ濾胞肥大			2	2			2	3			5	2			2	4
	転移巣				3			1	3			2	4			2	7

※ 食品農医薬品安全性評価センター作成の時期別非腫瘍性病理解剖学的所見をもとに申請者が集計した。

※ 有意差検定は未実施

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。

器官・病理組織所見		雌															
		0ppm				50ppm				400ppm				3200ppm			
		52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死
腺臓	外分泌(腺房)細胞の萎縮				2				3			2	1			2	3
	小腺管増生	3	1	2	1			4	3			3	2			7	5
	色素沈着			1								1					
	小空胞の出現																
	ラ氏島好酸性細胞の出現							1			1		2	3	5	6	5
	ラ氏島過形成											1					
	転移巣											1	1				
中枢神経系	硝子滴出現(延髄上部)		1	24	7		5	30	8		5	27	11		5	20	14
	転移巣												1				
胃	後胃固有腺の腔拡張			12	2			14			2	13	3		2	20	6
	線維化				1			1				4	1			2	3
	前胃角化亢進				1			4				3	8			10	9
	石灰沈着							1									6
	潰瘍				1				2			3	3	1		2	3
	腺萎縮				1												
	粘膜下浮腫			1				1	2			1	2			5	2
	転移巣											1					
小腸	潰瘍								1			1	2			1	1
	転移巣				1								2				
リンパ節	色素沈着		9	23	11	1	5	27	9	5	6	26	8	4	5	23	12
	小肉芽巣			1				1	1			1	1			2	
	リンパ濾胞肥大															1	
	萎縮																
	転移巣								1				1			1	1
眼	白内障		1	2		2		2			1					1	
甲状腺	C細胞増生		3	14	2		4	24	3		3	25	5		8	9	3
	小濾胞増生			2			3	3			3	7			2	2	
上皮小体	上皮小体肥大(過形成)							4				1			6	11	
食道	角化亢進																1
	腔の拡張				2												
	粘膜萎縮																
皮膚/皮下	皮膚萎縮																
	真皮の線維化												1				1
	角化亢進							1									
	転移巣				1							2	1			1	
骨髄	色素沈着	4	8	20	4	3		17	4	3		4	2		4	2	
	骨髄造血亢進			4	5			2				3					3
	血管拡張																
	線維形成				1	1			2	1				4		3	9
	小肉芽巣		1	4		1	1	1		2	2	2					
	出血												1				
	転移巣												2			2	1
精巣	精子形成低下																
	間質細胞の増生																
	萎縮																
	石灰沈着																
精囊	萎縮																
卵巣	色素沈着		9	29	14		9	32	11		10	29	13		10	24	16
	萎縮				8	3		5	1			2	1			3	2
	嚢胞				3		1				1	2			1		
	転移巣					1			3			1	3				2

※ 有意差検定は未実施



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。

計画経路および 切自経路		雌															
		0ppm				50ppm				400ppm				3200ppm			
		52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死	52	78	110	切死
子宮	色素沈着			28	11			31	9			29	11			23	17
	嚢胞性内膜増殖症		2	6	1			9	3			3	4			4	3
	子宮水腫	1		4		1	2				1	1			1		
	転移巣							2				1	1				
乳腺	乳腺増生		2	2	2		1	6	4		2	8	2		1	2	3
	萎縮																
下垂体	血管拡張			18	5	2	3	17	3		4	14	7		2	7	5
	色素沈着	1	3	22	12	2	3	17	4		4	14	7		3	5	6
	前葉細胞過形成			1	1		1	9			3	7	2		1	5	2
	嚢胞		1	6	4			2	2		1	2					1
前立腺	萎縮																
	血管炎																
骨	萎縮							1				2			5	10	
	線維化																
血管	石灰沈着																2
	動脈硬化																
	血管硬化																
	慢性炎症																

※ 食品農医薬品安全性評価センター作成の時期別非腫瘍性病理解剖学的所見をもとに申請者が集計した。

※ 有意差検定は未実施

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。

腫瘍性病理組織学的所見（110週における腫瘍発生数）は次表の通り。

良性腫瘍

性 別		雄				雌			
		対照	50	400	3200	対照	50	400	3200
腎臓	過誤腫	0	0	0	1	0	0	0	0
副腎	褐色細胞腫	6 (1)	6	6	0	1	1	0	0
肝/胆管	肝細胞腺腫	0 (1)	0	0	4	0	0	2	6
	平滑筋腫	2	0	0	0	0	0	0	0
膵臓	ラ氏島細胞腺腫	1	2	0	0	1	1	1	0
胃	乳頭腫	0	1	0	2	0	0	0	0
甲状腺	C細胞腺腫	1	5	3	0	5	2	1	2
	腺腫	4 (1)	1	0	2	0	0	1	1
皮膚/皮下	角化棘細胞腫	5	1	2	2	3	0	0	1
	線維腫	2	1	1	1	1	1	1	0
	乳頭腫	0	0	0	1	1	0	0	1
	平滑筋腫	1	0	0	0	1	0	0	0
	脂肪腫	0	0	1	0	0	0	0	0
精巣	間質細胞腫	38 (4)	33 (5)	43 (6)	35 (7)	-	-	-	-
乳腺	線維腫	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維腺腫	0	0	0	0	3	5	7	3
骨	骨腫	0	0	0	0	0	0	0	0
					(1)				
下垂体	腺腫	11 (1)	4	7 (1)	0 (1)	14	11 (1)	10	7 (1)
肺	腺腫	0	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0	0	1	0
卵巢	黄体腫	-	-	-	-	1	0	0	0
子宮	茸腫	-	-	-	-	2	3	0	0
	線維粘液腫	-	-	-	-	1	1	1	0
	平滑筋腫	-	-	-	-	0	1	0	0
						(1)			(1)

( )内の数字は52、78週における腫瘍発生数。

※有意差検定は未実施

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。

悪性腫瘍

性 別		雄				雌			
		対照	50	400	3200	対照	50	400	3200
腎臓	腺癌	0	0	0	2 (1)	0	0	0	1
肝臓/胆管	肝細胞癌	0	0	0	1	0	0	0	1 (1)
脾臓	悪性リンパ腫/白血病*	1	0	1 (1)	0	2	0	3	1
	血管肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0
中枢神経系	星細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0
小腸	未分化肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性リンパ腫	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ節	悪性リンパ腫/白血病*	2	1	2	0	3	1	3	6
皮膚/皮下	悪性線維組織球腫	0	0	1	0	0	2	1	0
	未分化肉腫	0	1	1	0	0	0	0	1
	基底細胞癌	0	0	0	0	1	2	0	0
精巣上体	中皮腫	1	1	2	1	-	-	-	-
乳腺	腺癌	0	0	1	0	2	1	0	0
	腺棘細胞腫	0	1	0	0	0	0	1	0
	癌肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0
前立腺	扁平上皮癌	1	0	0	0	-	-	-	-
骨	骨肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0
血液(脾)*	白血病*	0	3	2	2	1	1	1	5
胸腺	悪性リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	1
膵	扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	0	1
甲状腺	腺癌	0	0	0	0	0	0	0	1
骨髄	悪性リンパ腫/白血病*	0	0	0	0	0	2	3	0
子宮	線維肉腫	-	-	-	-	1 (1)	0	1	2
	腺癌	-	-	-	-	0	0	1	0
下垂体	腺癌	0	0	0	0	5	1	1	0
膣	未分化肉腫	-	-	-	-	0	0	0	1
膀胱	移行上皮癌	0	0	0	0	0	0	1	0

\*本文参照。

( )内の数字は 52、78 週における腫瘍発生数。

※有意差検定は未実施

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。

腫瘍性病変として、良性腫瘍では本系統の加齢的病変と報告されている精巣の間質細胞腫が対照群を含む全群に認められた。悪性腫瘍は、1、2例の少数の発生を示すものが多かった。いずれの腫瘍も全群にわたるもの、あるいは不規則に発生するものが多く、腫瘍発生数及び腫瘍を有する動物数の点においても最高投与群で対照群よりも多くはなかった。

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			
投与群 (ppm)		対照	50	400	3200	対照	50	400	3200
検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
腫瘍数	良性	80	60	72	58	35	27	25	23
	悪性	5	10	12	8	17	10	16	22
腫瘍総数		85	70	84	66	52	37	41	45
腫瘍動物数		52	48	54	48	36	29	29	32

ピトー検定により、対照群に比して統計学的に有意差のみられた腫瘍は下記の通りであった。

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		対照	50	400	3200	対照	50	400	3200
腎臓	腺癌	0	0	0	3*	0	0	0	1
精巣	間質細胞腫	42	38	49**	42**	—	—	—	—
肝臓/胆管	腺腫	1	0	0	4	0	0	2*	6*
〃	〃	—	—	—	—	0	0	2	8*
〃	肝細胞癌								
脾臓、小腸、胸腺、リンパ節、骨髄、血液	悪性リンパ腫	—	—	—	—	6	4	10*	12*

「—」は検定しなかった。\* :  $p \leq 0.05$  \*\* :  $p < 0.01$   
 表中の数字は 52、78、110 週における腫瘍発生数の合計。

ピトー検定により、投与群に腫瘍の発生を増加させることを示唆するものに精巣の間質細胞腫、雄の腎臓の腺癌、雌の肝細胞腺腫及びこれに肝細胞癌の発生数を加えた場合、雌の悪性リンパ腫の発生数（脾臓、小腸、胸腺、リンパ節、骨髄）に白血病の発生数を加えた場合であった。精巣の間質細胞腫は同増生とともに Fischer 344 系ラットでは高率に発生の認められている自然発生的病変であり、ホルモンその他の全身的影響を受けやすいことなどから検体の直接的な催腫瘍性によるものとは考えられない。また、その他の腫瘍の発生数も少なく、本検体 DBN の催腫瘍性を示唆する病変としては明確性に欠けていると考えられる。

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

⑬臓器蓄積性；

110 週連続経口摂取させた直後のラットの各群雌雄 3 匹ずつにつき、肝臓、腎臓、体脂肪からアセトニトリルとヘキサンで抽出し、ECD 付きガスクロマトグラフにより DBN の残留量を測定した。

性別	雄				雌			
	対照	50	400	3200	対照	50	400	3200
投与量 (ppm)								
肝臓	<0.005	<0.005	<0.005	—	0.005	<0.005	<0.005	0.029
腎臓	<0.004	<0.004	<0.004	—	0.004	<0.004	<0.004	<0.004
体脂肪	<0.005	<0.005	0.035	—	0.005	<0.005	0.031	0.065

単位：ppm —：全例途中死亡のため測定できず。

400 及び 3200ppm 投与群の体脂肪、3200ppm 投与群の肝臓でわずかに検出されたが、腎臓にはどの群でも検出されなかった。

これらの検出量数値はごく微量であり、DBN は臓器蓄積性はないものと考えられた。

⑭結 論；

検体 DBN の 3200ppm の高濃度及び 400、50 ppm を飼料に添加し（オリーブ油を 2% 添加）、Fischer F344 系ラットに 110 週間自由摂取させた結果、400ppm 以上の投与群で体重増加抑制、肝臓と腎臓の比重量の増加、慢性腎症の軽度の増加などが認められ、50ppm 群では雌雄とも投与に起因する異常、変化はみられなかった。

以上の結果から、本剤のラットを用いた慢性毒性試験における最大無作用量は 50ppm（雄；3.18mg/kg/日、雌；3.16 mg/kg/日）であると結論された。また、催腫瘍性及び臓器蓄積性はないものと考えられた。

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。

4) ハムスターを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 No. T-17)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体純度：

供試動物：ゴールデンハムスター、8 週齢、開始時平均体重 雄 105g、雌 106g  
1 群雌雄各 50 匹（対照群は雌雄各 100 匹）

試験期間：雄 88 週間（1988 年 2 月 3 日～1989 年 10 月 12 日）  
雌 80 週間（1988 年 2 月 4 日～1989 年 8 月 17 日）

試験方法：検体を 5、26、132 及び 675ppm の濃度になるように飼料中に混入し、雄は 88 週間、雌は 80 週間にわたって自由摂取させた。対照群には検体を含まない飼料を摂取させた。

[供試動物及び投与量設定理由]

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；

すべての動物について、一般状態及び死亡の有無を毎日 2 回観察した。さらに触診を毎週 1 回実施した。

88 週間の投与期間中、検体投与に起因すると考えられる症状は見られなかった。各群の死亡率を次表に示した。

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 カネシヨウ株式会社にある。

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		対照	5	26	132	675	対照	5	26	132	675
供試動物数		100	50	50	50	50	100	50	50	50	50
1~80週	死亡動物数	26	10	13	10	13	58	28	29	35	22
	(死亡率%)	(26)	(20)	(26)	(20)	(26)	(58)	(56)	(58)	(70)	(44)
1~88週	死亡動物数	50	20	26	18	21	—	—	—	—	—
	(死亡率%)	(50)	(40)	(52)	(36)	(42)	—	—	—	—	—

死亡率には、いずれの群にも検体投与の影響がみられなかった。

体重推移；

すべての動物の体重を投与開始 1 週間前、投与開始日及びその後は 1 週間毎に測定した。投与期間を通じて、675ppm 投与群雄の体重増加量は対照群より有意に低下していた。132ppm 投与群雌でも体重増加量の低下がみられたが、統計学的な有意差は認められなかった。その他の群には検体投与による変化が認められなかった。

摂餌量；

試験期間中は個体別の摂餌量を毎週測定した。検体投与群雄において、投与開始から 6 週間の平均摂餌量の有意な低下が認められたが、その後の投与終了まで対照群と差がみられなかった。675ppm 投与群雄の全投与期間における累積摂餌量は対照群と比べてわずかに低かった。675ppm 投与群の雌でも全投与期間の累積摂餌量及び 7 週から投与終了までの累積摂餌量の低下が認められたが、その他の群には変化が認められなかった。

飼料効率；

投与開始後 8 週間の飼料効率を体重増加量及び摂餌量から算出した。飼料効率には検体投与による影響が認められなかった。

検体摂取量；

摂餌量、体重及び飼料中検体濃度から算出した検体摂取量 (mg/kg/day) は次の通りであった。

投与量 (ppm)	5	26	132	675
雄	0.34	1.69	9.39	45.62
雌	0.35	1.78	9.20	48.86

血液学的検査；

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。

投与開始から 52、78 及び 89 週に全生存動物を対象として、塗抹標本を作成し、対照群及び 675ppm 投与群の雌雄について白血球型別百分率を測定した。検体投与に起因する白血球型別百分率の変化は認められなかった。

#### 臓器重量；

投与終了時剖検例について、脳、心、肝、腎、副腎、精巢の臓器重量を測定した。

675ppm 投与群雌の肝絶対重量のみに有意な増加が認められた。

他の投与群に有意な変化は認められなかった。

#### 肉眼的病理検査；

途中死亡動物、切迫屠殺動物及び投与終了時の全生存動物について剖検を実施した。675ppm 投与群の投与終了時に剖検した雌において、肝臓の微小陥没が認められ、同群の途中死亡した雄では、脂肪組織の減少が認められた。観察されたその他の所見は検体投与と関連しない変化であった。

#### 病理組織学的検査；

途中死亡動物、切迫屠殺動物及び投与終了時の全生存動物を対照として、以下の臓器を摘出し、10%の緩衝ホルマリン液中に保存した。

副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、大動脈、大脳、延髄、小脳、眼球、大腿骨（関節も含む）、胆嚢、ハーダー腺、頭部（鼻腔、副鼻腔、口腔、鼻咽喉、中耳、歯、涙腺、Zymbal 腺）、心臓、腎臓、咽頭、肝臓、肺（全葉及び主要気管支）、頸部及び腸間膜リンパ節、乳腺、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、精巢（精巢上体も含む）、胸腺（残存していた場合）、甲状腺（上皮小体を含む）、舌、気管、膀胱、子宮（子宮体及び子宮頸）、膣及びその他剖検にて異常のみられた組織

以下の条件に該当する組織の病理組織学的検査を行った。

- i) すべての途中死亡例及び切迫屠殺例の全組織
- ii) 最高用量群及び対照群における投与終了時剖検例の全組織
- iii) 中間用量群及び低用量群における投与終了時剖検例の肺、肝臓、腎臓及び肉眼的異常部位
- iv) 最高用量群において病理組織学的に変化のみられた組織は投与終了時に剖検した中間用量群及び低用量群の全動物についても実施



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。

<非腫瘍性病変>

認められた主な非腫瘍性病変は下表の通りである。

病変発現率 (%)						
臓器	性別	雌				
	投与量 (ppm)	対照	5	26	132	675
肝臓	肝小葉中心部肝細胞腫大	2	4	0	0	8
	肝小葉中心部肝細胞腫大及び消耗	1	2	2	2	12
副腎	皮質過形成	48	50	46	58	72

※有意差検定は未実施

675ppm 投与群雌の肝臓において、小葉中心部肝細胞の腫大及び消耗の発生率の増加が認められた。また、副腎においても、副腎皮質過形成が対照群と比べて高頻度にみられた。これらの所見の毒性学的意義は明らかではなかった。

<腫瘍性病変>

観察された腫瘍を一覧表に示すとともに、発現率を下表に示した。腫瘍の発現には、検体投与の影響は認められなかった。

腫瘍発現動物数											
性別	投与量 (ppm)	対照		5		26		132		675	
	動物の区分	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例
雄	検査対象動物数	51	49	20	30	26	24	20	30	22	28
	腫瘍発現動物数	21	21	10	8	11	12	4	6	7	13
	悪性腫瘍発現数	10	6	7	3	6	5	3	4	4	4
	良性腫瘍発現数	15	16	5	6	6	9	2	2	4	10
	複数の腫瘍発現数	4	8	4	2	2	3	2	0	1	2
	1つの腫瘍発現数	17	13	6	6	9	9	2	6	6	11
	複数の悪性腫瘍発現数	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1
	複数の良性腫瘍発現数	1	7	1	1	1	1	0	0	0	0
	転移腫瘍発現数	2	0	1	0	0	1	0	0	1	1
雌	検査対象動物数	58	42	28	22	32	18	36	14	24	26
	腫瘍発現動物数	17	14	7	6	12	2	17	4	10	13
	悪性腫瘍発現数	10	6	3	2	6	0	7	3	3	5
	良性腫瘍発現数	8	10	5	4	9	2	12	1	7	9
	複数の腫瘍発現数	1	4	4	0	4	1	4	0	1	4
	1つの腫瘍発現数	16	10	3	6	8	1	13	4	9	9
	複数の悪性腫瘍発現数	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	複数の良性腫瘍発現数	0	3	2	0	1	1	1	0	1	3
	転移腫瘍発現数	0	0	1	0	1	0	1	2	1	1

※1 有意差検定は未実施

※2 生存例は試験終了時の数

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

以上の結果、本剤を80週間(雌)または88週間(雄)飼料混入投与したところ、675ppm投与群雄で摂餌量低下に伴う体重増加抑制が、雌では肝細胞の腫大及び副腎皮質過形成が認められた。その他の投与群には検体投与による変化が認められなかったので、本試験における無作用量は132ppm(雄9.39mg/kg/day、雌9.20mg/kg/day)であると判断された。また、検体の発がん性はないものと考えられた。

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。

腫瘍性病変 (雄)											
臓器	投与量 (ppm)	対照		5		26		132		675	
	動物の区分	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例
	検査対照動物数	51	49	20	30	26	24	20	30	22	28
全身	検索動物数	4	1	3	0	4	0	1	1	3	1
	悪性リンパ腫(M)	3	1	2	0	2	0	0	1	2	0
	組織球肉腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	骨髄性白血病(M)	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0
肝臓	検索動物数	51	49	20	30	26	24	20	30	22	28
	血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
膵臓	検索動物数	50	49	20	1	26	0	20	0	22	28
	ラ氏細胞癌(M)	0	2	1	1	1	0	1	0	0	0
	ラ氏細胞腺腫	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
精巣	検索動物数	51	49	20	12	26	11	20	11	22	28
	血管腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	検索動物数	51	49	20	0	26	0	20	0	21	28
	濾胞細胞癌(M)	1	0	2	0	0	0	0	0	0	1
	濾胞腺腫	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
上皮小体	検索動物数	47	45	16	0	22	0	20	0	18	25
	腺腫	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
副腎	検索動物数	51	49	20	13	26	11	20	8	22	28
	皮質腺腫	4	9	2	3	3	3	2	0	1	4
	皮質紡細胞腺腫	5	4	1	0	1	2	0	2	2	3
	皮質癌(M)	4	3	1	2	1	5	1	3	1	3
	褐色細胞腫	3	1	1	3	1	2	0	0	0	0
	悪性褐色細胞腫(M)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
下垂体	検索動物数	46	49	20	0	26	0	20	0	22	28
	腺腫	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
胃	検索動物数	51	49	20	30	26	24	20	30	22	28
	筋胃乳頭腫	1	2	0	1	0	3	0	0	1	1
皮膚	検索動物数	51	49	20	1	26	1	20	5	22	28
	黒色腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
頭部	検索動物数	1	0	2	0	1	0	1	0	1	1
	ハーダー腺腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
腹腔腫瘍	検索動物数	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	ラ氏細胞癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

(M) : 悪性腫瘍

※有意差検定は未実施

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。

腫瘍性病変 (雌) ①											
臓器	投与量 (ppm)	対照		5		26		132		675	
	動物の区分	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例
	検査対照動物数	58	42	28	22	32	18	36	14	24	26
全身	検索動物数	4	2	0	0	4	0	2	0	0	1
	悪性リンパ腫(M)	3	2	0	0	2	0	1	0	0	1
	組織球肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	骨髄性白血病(M)	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
脾臓	検索動物数	58	42	28	1	32	0	36	0	24	26
	血管腫	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
肝臓	検索動物数	58	42	28	22	32	18	36	14	24	26
	血管腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
膵臓	検索動物数	58	42	28	1	32	0	35	1	24	26
	ラ氏細胞癌(M)	2	1	0	1	0	0	1	1	0	0
	ラ氏細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
腎臓	検索動物数	58	42	28	22	32	18	36	14	24	26
	粘液腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
卵巣	検索動物数	57	42	28	16	32	7	36	7	24	26
	卵胞膜細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	卵胞膜細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	顆粒細胞腫	1	2	0	1	1	0	2	0	0	0
	基底細胞腫	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	線維肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
子宮	検索動物数	58	42	28	3	32	4	36	1	23	25
	腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腺腫	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	平滑筋腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
子宮頸	検索動物数	58	42	28	3	31	1	36	3	22	25
	ポリープ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
膣	検索動物数	58	42	28	0	32	0	36	0	23	25
	平滑筋腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	検索動物数	58	42	28	0	31	1	36	0	24	26
	濾胞細胞癌(M)	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1
	濾胞細胞腺腫	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
	濾胞腺腫	1	1	0	0	0	0	1	0	1	3
上皮小体	検索動物数	51	37	25	0	26	1	34	0	23	23
	腺腫	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0
副腎	検索動物数	57	42	28	22	32	17	35	14	24	25
	皮質腺腫	4	4	3	1	1	0	5	0	3	2
	皮質紡錘細胞腺腫	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0
	皮質癌(M)	1	0	2	1	0	0	0	1	1	2
	褐色細胞腫	0	1	0	2	1	0	0	0	1	2
	悪性褐色細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
下垂体	検索動物数	57	42	28	0	30	0	35	0	24	26
	下垂体腺腫	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1

(M) : 悪性腫瘍

※有意差検定は未実施

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。

腫瘍性病変 (雌) ②											
臓器	投与量 (ppm)	対照		5		26		132		675	
	動物の区分	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例
	検査対照動物数	58	42	28	22	32	18	36	14	24	26
胃	検索動物数	58	42	28	22	32	18	36	14	24	26
	筋胃乳頭腫	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	腺胃腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
空腸	検索動物数	57	42	28	0	32	1	36	1	23	26
	腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
骨	検索動物数	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
	骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
頭部	検索動物数	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	粘液腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
後肢	検索動物数	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	軟骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脊髄	検索動物数	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
皮下腫瘤	検索動物数	8	3	8	0	7	1	5	0	3	0
	脂肪腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
胸腔	検索動物数	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	神経鞘腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他*	検索動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腸管腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

(M) : 悪性腫瘍

※有意差検定は未実施

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。

(7) 繁殖毒性及び催奇形性

1) ラットを用いた繁殖試験

(資料 No. T-18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体純度：

供試動物：Crl ; CD (SD) BR 系ラット、1 群雌雄各 30 匹、投与開始時 6 週齢  
体重範囲 雄 139.7~217.4g、雌 107.7~149.9g、

投与期間：

P 世代；

投与開始から交配、妊娠、分娩及び哺育を経て産児の離乳時までの約 16 週間

F<sub>1</sub> 世代；

離乳時から交配、妊娠、分娩及び哺乳を経て産児の離乳時までの約 16 週間  
(1987 年 7 月 30 日~1988 年 4 月 21 日)

投与方法：0、60、350 及び 2000ppm の濃度の検体を含有する飼料を自由摂取させた。  
検体混入飼料は毎週調製した。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次項の表にまとめた。

一般症状及び死亡率；

全動物について毎日 1 回以上死亡の有無及び一般症状を観察した。

交配及び妊娠の確認；

同群内の雌雄各 1 匹を最長 15 日間同居させた (F<sub>1</sub> の場合は兄妹交配にならないように同居させた)。

交配期間中は毎日膣スメアーを採取し、スメアー中の精子の存在によって交尾を確認した。妊娠の確認は触診及び出産をもって行った。精子の観察された日を妊娠 0 日とした。

繁殖性に関する指標；

交配、妊娠及び哺育期の観察に基づき、以下の指標を算出した。

交尾率 = (交尾動物数 / 交配動物数) × 100

妊娠率 = (妊娠動物数 / 交尾動物数) × 100

受胎率 = (妊娠雌動物数 / 交尾確認雌動物数) × 100

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

分 娩 率 = (分娩動物数 / 妊娠動物数) × 100

着床胚生存率 = (産 児 数 / 着 床 痕 数) × 100 (F<sub>1</sub>のみ)

生 存 産 児 率 = (生存産児数 / 総 産 児 数) × 100

産 児 生 存 率 (4 日) = (4 日における生存児数 / 生存産児数) × 100

産 児 生 存 率 (21 日) = (21 日における生存児数 / 14 日における生存児数) × 100

病理組織学的検査；

親動物全例から以下の臓器を摘出し、10%緩衝ホルマリン液中に保存した（精巣はブアン液中に保存した）。

精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、凝固腺、卵巣、子宮、子宮頸、膈、下垂体、異常部位

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)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(10週)		一般状態、生死、性周期を毎日観察 体重、摂餌量を週1回測定
	交配(2週)	雌雄1対1で交配 交尾は精子の存在で確認	交配状況の観察 交配終了時雄を病理組織学的検査、精子検査
	妊娠(3週)		妊娠0、6、12、15、20日に体重測定
	出産		出産状況の観察 新生児数、死産児数、外表異常、性別、及び同腹 生存児体重測定。
	哺育(3週)	出産後4日目各同腹児数を可能な限り雌雄同数になるように8匹に調製	母動物の出産後1、4、7、14、21日に体重測定 生後1、4、7、14、21日に生存児数、児体重測定 なお、途中死亡及び4日目屠殺の新生児について異常の検査
	離乳	継代用の各群雄25匹ずつ無作為に選抜	母動物の対照群と最高投与群について病理組織学的検査。また、継代用以外の児動物を屠殺し、肉眼的病理検査
F <sub>1</sub>	生育(10週)		性成熟の観察
	交配(2週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	妊娠(3週)		
	出産		( " )
	哺育(3週)	( " )	( " )
	離乳	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
F <sub>2</sub>	生育(10週)		離乳後に屠殺し、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。

試験結果：

世 代		親 (P) 児 (F <sub>1</sub> )				親 (F <sub>1</sub> ) 児 (F <sub>2</sub> )				
投与量 (ppm)		対照 (0)	60	350	2000	対照 (0)	60	350	2000	
親 動 物	動物数 雄	30	30	30	30	25	25	25	25	
	動物数 雌	30	30	30	30	25	25	25	25	
	死亡動物数	0	0	0	1(雄)	0	0	0	1(雄)	
	一般症状	—	影響なし	影響なし	影響なし	—	影響なし	影響なし	影響なし	
	体重推移※	雄	—	影響なし	影響なし	↓低下	—	影響なし	影響なし	↓低下
		雌	—	影響なし	影響なし	↓低下	—	影響なし	影響なし	↓低下
	摂餌量※	雄	—	影響なし	影響なし	↓低下	—	影響なし	影響なし	↓低下
		雌	—	影響なし	影響なし	↓低下	—	影響なし	影響なし	↓低下
	交尾動物数 (%)	30(100)	30(100)	29(96.7)	29(96.7)	25(100)	22(88.0)	24(96.0)	25(100)	
	受胎動物数 (%)	29(96.7)	28(93.3)	28(96.6)	29(100)	25(100)	20(90.9)	24(100)	25(100)	
	交尾期間(中央値)	2日	3日	3日	2日	2日	3日	2日	3日	
	分娩動物数 (%)	28(96.6)	28(100)	28(100)	29(100)	25(100)	20(100)	24(100)	25(100)	
	平均着床痕数	—	—	—	—	14.6	14.4	14.2	12.3	
	平均妊娠日数	22.6	22.5	22.4	22.6	21.5	21.6	21.7	21.7	
平均産児数※	12.0	13.7	13.8	11.2	13.7	12.9	12.8	11.0		
児 動 物	生存産児数(4日)	9.3(94)	10.2(80)	11.0(87)	8.9(86)	9.5(77)	9.5(81)	9.7(78)	9.5(94)	
	生存産児数(21日)	6.6(100)	6.9(100)	6.9(100)	6.0(100)	6.1(100)	6.1(100)	6.4(100)	7.1(100)	
	産児体重推移 ※	雄	—	影響なし	↓低下	↓低下	—	影響なし	影響なし	↓低下
雌		—	影響なし	影響なし	↓低下	—	影響なし	影響なし	↓低下	

※の付いた項目は統計処理を実施 t 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↑↓ : p<0.01, ↑↓ : p<0.001

一般症状では P 世代及び F<sub>1</sub> 世代のいずれの動物にも検体投与の影響は認められなかった。高用量群では有意な体重増加抑制が認められた。これは同群で摂餌量の低下が併せて認められたことから、飼料中の検体に対する忌避性が原因と考えられた。また、産児の有意な体重増加抑制も高用量群及び中用量群雌雄に認められた。

P 世代及び F<sub>1</sub> 世代のいずれにおいても、交尾率、妊娠率、妊娠期間、分娩率、産児数、産児生存率等に検体投与の影響が認められなかった。

各世代の親動物、間引児動物、離乳児及び死亡動物の剖検においても検体投与の影響が認められなかった。

以上の結果、2 世代にわたって本剤をラットに飼料混入投与した場合、2000ppm 投与群において忌避性に起因する体重増加抑制及び摂餌量の低下が P 世代及び F<sub>1</sub> 世代の親動物において認められ、同群では哺育期間中の児動物の体重増加抑制も認められた。また、哺育児の体重増加抑制は 350ppm 投与群雄でも認められた。

したがって、最大無作用量は親動物に対して 350ppm (雄 24.9 mg/kg/日、雌 29.9 mg/kg/

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。

日)、児動物に対しては 60ppm (雄 4.60mg/kg/日、雌 5.18mg/kg/日) であると考えられた。繁殖については、最高投与量の 2000ppm においても影響がなかった。

申請者注) 検体摂取量 (mg/kg/日) は申請者の計算値

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。

2) ラットにおける催奇形性試験

(資料 No. T-19)

試験機関：

報告書作成年：1984年

検体純度：

供試動物：Wister系妊娠ラット、13週齢、1群雌25匹

試験期間：器官形成期の10日間投与（1983年9月19日～1983年10月25日）

試験方法：検体を1%トラガントゴム溶液中に懸濁し、0、20、60及び180mg/kg/日の投与量で、妊娠6日から15日まで10日間、毎日1回食道内挿管法で投与した。なお対照群には検体を含まない1%トラガントゴム溶液を投与した。投与量はラットの慢性毒性試験（資料T-16）の400ppm（雄29.0 mg/kg/日、雌26.3 mg/kg/日）以上の群における体重増加抑制から180mg/kg/日を最高投与群とし公比3で3群とした。交配後膣垢をとり、精子の確認された日を妊娠0日とした。

試験項目：

親動物；

一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、16及び21日に体重を測定した。妊娠21日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。卵巣重量、子宮重量も測定した。飼料摂取量は妊娠0～6、6～16、及び16～21日間のものを調べた。

生存胎児；

性別、体重、体長及び外表異常の観察を行った。各同腹児群の1/2の胎児については骨格標本作製し、残りの胎児については軟組織の検査のためブアン液中に固定した。軟組織の検査は全群の胎児について実施した。骨格検査は対照群、60及び180 mg/kg/日投与群についてのみ実施した。

結果：次頁の表に示す。

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

投与群(mg/kg/day)		対照群	20	60	180		
1群当り動物数		25	25	25	25		
親動物	一般状態		挙動には異常は認められなかった。対照群と高用量群に局所的な脱毛がみられた。				
	死亡率		死亡は認められなかった。				
	体重変化 (g, 平均値)	妊娠 0～6日	24.0	23.4	23.3	25.0	
		" 6～16日	40.9	37.0	29.0**	26.0**	
		" 16～21日	59.9	60.6	59.6	66.2	
	妊娠数(率)		23(92)	23(92)	22(88)	21(8)	
	早産数		0	1	0	1	
	着床所見	検査親動物数		23	23	22	21
		黄体数		14.74	15.74	15.14	15.48
		着床数(率)		12.43(84)	12.74(81)	12.05(80)	13.14(85)
		着床前胚死亡率		13.819	16.827	19.358	13.513
		着床後胚死亡率		2.268	2.739	5.743	3.373
		検査親動物数		23	22	22	21
		生存胎児数(率)		12.13(97.6)	12.36(97.1)	11.27(93.6)	12.67(96.4)
死亡胎児数(率)		0.09(0.7)	0(0)	0(0)	0.05(0.4)		
早期吸収胚数(率)		0.02(1.7)	0.36(2.9)	0.77(6.4)	0.38(2.9)		
後期吸収胚数(率)		0(0)	0(0)	0(0)	0.05(0.4)		

Dunnet の検定 \* : p<0.05 \*\* : p<0.01 \*\*\* : 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。

投与群 (mg/kg/day)		対照群	20	60	180			
1 群当り動物数		25	25	25	25			
胎児動物	体重 (g)	5.02	4.93	4.99	4.87			
	体長 (cm)	4.1	4.0	4.1	4.1			
	性比 (雄/雌)	0.89	1.07	0.79	0.92			
	外表検査	検査胎児数	279	272	248	266		
		軽微な変化						
		皮下・点状出血	0	2	3	3		
		未成熟胎児	0	0	0	1		
	骨格検査	検査胎児数	134	—	114	129		
		軽微な異常を持つ胎児数	18	—	10	12		
		胸椎椎体分離	13	—	7	7		
		変異を持つ胎児数	25	—	24	37*		
		胸骨化骨不全	23	—	18	23		
		過剰肋骨 (片側)	1	—	4	4		
		" (両側)	1	—	1	6*		
		化骨度 (注)	化骨不全	前肢指骨	12.88	—	12.31	9.66
				後肢指骨	17.12	—	13.72	21.75**
				頸椎椎体	26.53	—	18.07**	22.82
	胸骨			10.94	—	8.75	18.49**	
	未化骨		前肢指骨	65.49	—	53.55***	72.74*	
			後肢指骨	56.59	—	53.95	60.11	
	頸椎椎体	37.99	—	29.33*	42.28			
	胸骨	0.59	—	0	7.03**			
外表及び内臓検査	検査胎児数	145	140	131	135			
	奇形を持つ胎児数	眼 1	0	0	(眼 1) 3 (網膜 1) (腸 1)			
	軽微な異常を持つ胎児数	14	27*	23	26*			
	腹腔内出血	2	9*	4	7			
	腸の出血	0	1	4*	2			
	四肢のねじれ	4	4	5	4			
	変異を持つ胎児数	14	24	27*	25*			
腎盂拡張 (片側)	7	11	18**	11				
" (両側)	1	1	1	2				
胎盤検査	検査胎児数	145	140	131	135			
	のう胞	16	10	18	13			

(注) 骨形成に関する数値の逆正弦変換値 Dunnet の検定 \*:p<0.05 \*\*:p<0.01 \*\*\*:p<0.001  
「—」 検査しなかった。

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。

母動物；

60 及び 180mg/kg/日投与群で投与期間中、体重増加抑制及び飼料摂取量の低下がみられた。

胎児動物；

骨格検査では、60 及び 180 mg/kg/日投与群で化骨形成上の変化として化骨欠損及び骨化不全に有意な差が認められたが、検体投与量依存傾向はみられず、また、胎児の発育抑制は認められなかったことから、検体投与と関係のない偶発的なものと考えられた。

180 mg/kg/日投与群で対照群に比べて骨格の変異の僅かな増加がみられたが、各投与群の数匹に偶発的にみられたもので、主として胸部肋骨の過剰骨形成に起因するものであった。

骨格変化、特に肋骨の過剰骨の発生率の増加の解釈については長い間議論の対象となっている。それは、通常、高用量投与によってもたらされる胚毒性の影響であるとされる (Wilson, 1973)。また、これらの存在は親動物が、その種に固有の発育過程上の不安定性に多くの刺激が与えられたことを表しているとされる (Green, 1962)。さらに Kimmel と Wilson (1973) は、これらの変化が、胎児のみへの影響である場合には、個々の機能あるいは健康上何等有意な影響を持たないと思われるので、異常として分類すべきでないとしている。

内臓検査では、対照群の 1 匹と 180 mg/kg/日投与群の 3 匹の胎児に眼及び腸の奇形が認められた。各投与群で内臓の軽微な異常及び変異がみられたが、偶発的に同腹児当たり数匹の胎児にみられたもので投与量との相関性は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した場合、母動物において 60 及び 180mg/kg/日投与群で体重増加抑制及び飼料摂取量の低下がみられた。胎児動物においては、検体投与に関連した影響はみられなかったことから、最大無作用量は、母動物では 20mg/kg/日、胎児動物では 180 mg/kg/日以上であると考えられる。また、最高投与量の 180mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性は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) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. T-20)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1989 年

検体純度:

供試動物: ニュージーランドホワイト系妊娠ウサギ  
体重 3.06~4.49kg、1群雌 18匹

試験期間: 器官形成期 13 日間  
(投与開始日 1988 年 4 月 11 日、試験終了日 1988 年 5 月 11 日)

試験方法: 検体を 1%トラガントゴムに懸濁し、15、45 及び 135 mg/kg/日の投与量で、2mL/kg の一定用量を妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 1%トラガントゴムのみを同様に投与した。妊娠動物は同系の雄と雌を交配させ、交尾日を妊娠 0 日とした。

試験項目:

母動物;

一般状態及び生死を毎日 2 回観察し、妊娠 0、7、13、19、23 及び 29 日に体重を測定し、また、妊娠 0 日から 29 日までの毎日、摂餌量を測定した。

妊娠 29 日に帝王切開し、妊娠の状態、子宮重量、黄体数、着床位置及び着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

全動物について剖検した。

15 及び 45 mg/kg/日投与群の母動物では、検体投与による用量依存的な症状発現は認められず、検体投与に起因すると考えられる流産も認められなかったが、135 mg/kg/日投与群において体重増加抑制及び摂餌量の有意な低下が認められた。また、135 mg/kg/日投与群の 2 匹の母動物において、着床後胚死亡が多かったが、対照群と比べて同群の黄体数、着床数、着床前胚死亡、着床後胚死亡、生存胎児数には統計学的に有意な変化が認められなかった。

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

生存胎児；

各群の全胎児について性別、体重及び外表異常の検査を行った後、内臓異常の検査を行い、骨格標本を作製して、骨格異常の有無を検査した。

胎児動物では、体重、性比等に、検体投与の影響は認められなかったが、135mg/kg 投与群の大異常（外表及び内臓奇形）において、異常を持つ胎児の発現率が有意に高かった。また、1つ以上の奇形を持つ同腹児の占める割合が対照群と比較して有意に高かった。これは、主に毒性の強く現われた3匹の母動物から得られた胎児に奇形が多く認められたためであり、母動物に対する毒性のためと考えられた。また、これらの同腹児では胎児体重の低下も認められた。

15及び45 mg/kg/日投与群の奇形胎児発現率には対照群と比べて有意差は認められなかった。

以上の結果、135mg/kg 投与群母動物に体重および摂餌量の有意な低下がみられ、母体毒性が認められた。また同投与群胎児動物においては、内臓異常が認められたことから、母動物および胎児動物における無毒性量は45 mg/kg/日であると考えられた。

報告書中では、催奇形性の有無について明確な記載がされていないが、最高投与量の135 mg/kg/日においては、胎児動物の内臓奇形が認められていることから、母体毒性を発現する135mg/kg/日以上では、催奇形性を発現するおそれがあると考えられる。



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

結 果：

投与群 (mg/kg/day)		0	15	45	135	
1 群当り動物数		18	18	18	18	
一般状態	粗毛	14	15	11	17	
	脱毛	8	10	5	9	
	体毛汚染	14	15	11	16	
	不摂食	5	9	5	11	
	下痢	2	4	4	5	
	攻撃	1	1			
	尿着色			1	2	
	発赤炎症	4	5	4	6	
	流涙	1	1		2	
	流鼻	3	1			
	さかむけ			1	1	
	やせ		3	1	8	
	呼吸速拍		1	1		
	体温低下				1	
	流産	1			2	
	死亡数(%) ※流産動物を含む		1(5.6)	2(11.1)	1(5.6)	3(16.7)
親動物	平均体重 (kg)	妊娠 0 日	3.63	3.61	3.76	3.68
		妊娠 7 日	3.78	3.77	3.91	3.84
		妊娠 13 日	3.83	3.84	3.97	↓3.70 <sup>a)</sup>
		妊娠 19 日	3.94	3.97	4.08	3.80
		妊娠 23 日	4.03	4.01	4.16	3.85
		妊娠 29 日	4.16	↓4.03 <sup>b)</sup>	4.23	4.00
平均摂餌量 (g/day)	0~7 日	201	204	212	212	
	7~13 日	175	184	184	↓115 <sup>b)</sup>	
	13~19 日	168	171	170	↓124 <sup>b)</sup>	
	19~23 日	148	141	158	132	
	23~29 日	127	92	118	122	
妊娠動物数(%)		17(94.4)	18(100)	17(94.4)	17(94.4)	
着床所見	検査動物数	16	16	16	14	
	平均黄体数	10.9	11.6	11.7	11.1	
	平均着床数*1 (%)	9.8(89.7)	10.3(88.7)	9.5(81.3)	10.0(89.7)	
	平均着床前胚死亡 (%)	1.1 (10.3)	1.31 (11.3)	2.2 (18.7)	1.1 (10.3)	
	平均着床後胚死亡 (%)	0.88 (9.0)	0.69 (6.7)	0.38 (3.9)	1.8 (17.9)	
	平均死亡胎児数*2 (%)	0.9 ( 9.2)	0.8 ( 7.8)	0.4 ( 4.2)	1.8(18.0)	
平均生存胎児数*3 (%)	8.9(90.8)	9.6(93.2)	9.1(95.8)	8.2(82.0)		

\*1 : 着床数/黄体数×100    \*2 : 死亡胎児数/着床数×100    \*3 : 生存胎児数/着床数×100

↑ ↓ : p<0.05    ▲ ▼ : p<0.001

a) Wilcoxon rank sum test

b) t-test

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

投与群 (mg/kg/day)		0	15	45	135
1 群当り動物数		18	18	18	18
平均体重 (g)	♂	44.8	41.6	43.1	38.7
	♀	42.9	40.7	42.1	38.9
性比 (♂/♀)		1.09 (74/68)	0.73 (65/89)	0.97 (72/74)	0.95 (56/59)
検査胎児数 (腹)		142 (16)	154 (16)	146 (16)	115 (14)
発現胎児数 (腹)		0 (0) [0.0%]	1 (1) [0.6%]	1 (1) [0.7%]	11 (6) ** [9.6%]
胎児動物 外表及び内臓検査	大異常 内臓	肺動脈狭窄			1 (1)
		胆嚢形態異常			1 (1)
		大動脈弓膨張		1 (1)	
		開眼症 (両側)			3 (2)
		開眼症 (片側)			1 (1)
		大動脈弓狭窄			1 (1)
		前肢指減形成			1 (1)
		口蓋裂			1 (1)
		頭部形態異常			1 (1)
		水頭症			1 (1)
発現胎児数 (腹)		5 (3) [3.5%]	14 (6) [9.1%]	2 (2) [1.4%]	12 (7) [10.4%]
小異常 内臓	眼出血	1 (1)	1 (1)		
	肺葉形成不全	2 (1)	12 (5)		8 (4)
	心房形成不全				1 (1)
	胆嚢形成不全	1 (1)	1 (1)	1 (1)	
	尿管拡張	1 (1)		1 (1)	
	胃ガス性拡張				2 (2)
	卵胞嚢胞				1 (1)
	後肢出血				3 (1)
発現胎児数 (腹)		46 (12) [32.4%]	47 (11) [30.5%]	70 (15) [47.9%]	39 (11) [33.9%]
変異 内臓	総頸動脈形態異常	46 (12)	47 (11)	70 (15)	39 (11)

Fisher's exact test, Pairwise の t 検定 ↑ ↓ : p<0.05 ◊ ◊ : p<0.01 ◆ ◆ : p<0.001

[ ]内の数値は検査胎児数に対する発現率を表す。

※1つ以上の奇形を持つ同腹児が占める割合が対照群に比べて有意に高い (p<0.01 Fisher's exact test)

胎児の大異常、小異常および変異の母体 (腹) あたりの発生割合について Wilcoxon 検定の Dunnett 型多重比較である Steel 検定を実施した。 (\* : p<0.05 \*\* : p<0.01 \*\*\* : 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。

投与群(mg/kg/day)		0	15	45	135	
胎児動物(続き)	骨格検査	検査胎児数(腹)	142 (16)	154 (16)	146 (16)	115 (14)
		大異常	1 (1) [0.7%]	0 (0) [0.0%]	0 (0) [0.0%]	24 (4) [20.9%]
		症例				19 (3)
		頭蓋骨間隙拡張				2 (1)
		頭蓋骨間隙拡張及び 頭部形態異常				1 (1)
		前頭部短縮				3 (2)
		胸骨癒合	1 (1)			
		過剰胸椎				
		小異常	33 (11) [23.2%]	45 (16) [29.2%]	36 (13) [24.7%]	15 (7) [13.0%]
		症例				
		頭頂間骨化骨不全	4 (3)	8 (5)	5 (2)	9 (4)
		二分頭頂間骨		1 (1)		
		頭頂間骨分裂		2 (2)		
		頭頂間骨亀裂				1 (1)
		鼻骨化骨不全	1 (1)		1 (1)	1 (1)
		鼻骨分裂	1 (1)	1 (1)	2 (2)	
		頭頂骨化骨不全			1 (1)	6 (3)
		頭頂骨分裂	1 (1)	3 (1)		1 (1)
		舌骨化骨不全				1 (1)
		頭骨化骨不全				1 (1)
縫合骨形成	4 (3)	5 (4)	4 (2)	7 (6)		
胸骨不相称	6 (4)	9 (6)	7 (5)	5 (5)		
胸骨分裂	11 (5)	6 (5)	1 (1)	1 (1)		
胸骨癒合(軽度)	1 (1)	5 (3)	6 (3)	5 (4)		
第1~4 胸骨化骨不全		1 (1)				
第6 胸骨形態異常				1 (1)		
第1 胸骨形態異常		2 (2)				
第4 胸骨過剰胸骨核		2 (1)				
第1 胸骨過剰胸骨核				1 (1)		
肋骨湾曲	2 (2)		2 (1)			
肋骨扁平化	2 (2)	2 (2)	1 (1)	1 (1)		
第4,5 肋骨間軟骨		1 (1)				
頸肋骨	5 (5)	4 (2)	11 (5)	1 (1)		
脊椎椎体未化骨/ 化骨不全		2 (2)		6 (3)		
恥骨未化骨				2 (2)		
恥骨化骨不全				4 (1)		
距骨未化骨				10 (3)		
距骨化骨不全				3 (3)		
踵骨化骨不全				3 (3)		
中手骨化骨不全			1 (1)	7 (1)		
中足骨化骨不全				1 (1)		

※Pairwise の t 検定及び Fisher' s exact test

[ ]内の数値は検査胎児数に対する発現率を表す。

胎児の大異常、小異常および変異の母体(腹)あたりの発生割合について Wilcoxon 検定の Dunnett 型多重比較である Steel 検定を実施した。 (\*: p<0.05 \*\*: p<0.01 \*\*\*: 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。

投与群 (mg/kg/日)			0	15	45	135	
胎児動物 (続き)	骨格検査 (続き)	変異 症例	発現胎児数 (腹)	128 (16) [90.1%]	141 (16) [91.6%]	130 (16) [89.0%]	106 (14) [92.2%]
			前頭骨分離	9 (6)	22 (10)	21 (10)	21 (7)
			前頭骨化骨不全	60 (14)	58 (14)	59 (16)	30 (13)
			第 5,6 胸骨未化骨	10 (5)	14 (8)	10 (5)	14 (6)
			第 5,6 胸骨化骨不全	42 (9)	37 (12)	29 (14)	24 (12)
			過剰肋骨	89 (16)	87 (14)	93 (16)	75 (14)
			両側性骨盤仙椎癒合	26 (8)	31 (8)	28 (11)	29 (9)
			片側性骨盤仙椎癒合	4 (4)	4 (3)	9 (8)	9 (7)
			前肢指骨未化骨	27 (11)	26 (9)	16 (5)	21 (8)
			後肢指骨未化骨			1 (1)	8 (2)
総大異常発現胎児数 (腹)			1 (1) [0.7%]	1 (1) [0.6%]	1 (1) [0.7%]	26 (6) [22.6%]	

※Pairwise の t 検定及び Fisher' s exact test

[ ]内の数値は検査胎児数に対する発現率を表す。

胎児の大異常、小異常および変異の母体 (腹) あたりの発生割合について Wilcoxon 検定の Dunnnett 型多重比較である Steel 検定を実施した。 (\* : p<0.05 \*\* : p<0.01 \*\*\* : 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。

(8) 変異原性

1) 遺伝子突然変異原性

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 No. T-21)

試験機関:

報告書作成年: 1981年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) 及びトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (WP2<sub>hcr</sub> 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で Amesらの方法で変異原性を検定した。  
 検体を溶解させるため、DMSOを用いた。50mg/mL までは溶解したが、100mg/mL 以上は懸濁状態で用いた。5000 $\mu$ g/plate を最高投与量とした。

結果:

薬物	濃度 ( $\mu$ g / プレート)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <sub>hcr</sub>	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)		-	145	17	11	42	10	18
			145	17	17	38	12	18
DBN	5	-	122	8	16	27	16	14
			147	9	17	25	18	9
	10	-	159	10	10	49	11	28
			152	9	11	35	8	19
	50	-	138	9	15	38	15	15
			128	9	16	25	11	17
	100	-	136	13	12	46	14	11
			122	15	19	25	10	12
	500	-	133	11	12	44	7	24
			130	14	10	39	6	25
	1000	-	94	6	8	42	7	16
			91	13	5	27	9	24
	5000	-	76	1	13	14	1	8
			99	3	7	13	5	8

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	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538	
溶媒対照 (DMSO)		+	146	9	13	23	12	28	
			133	10	15	30	8	29	
DBN	5	+	131	5	23	27	7	15	
			169	7	20	24	8	22	
	10	+	121	7	22	24	7	24	
			139	10	19	31	8	23	
	50	+	110	2	17	18	10	13	
			104	8	17	17	4	15	
	100	+	136	6	12	14	8	8	
			142	11	17	13	3	7	
	500	+	86	3	13	7	0	8	
			94	3	8	8	0	4	
	1000	+	10*	1*	14	6*	*	3*	
			22*	2*	5	3*	*	7*	
	5000	+	*	*	15	*	*	*	
			*	*	10	*	*	*	
陽 性 対 照	S9Mixを必要と しないもの	名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA	2-NF	
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.01	10	0.04	0.1	80	2	
		コロニー数	402	1416	327	422	>2000	348	
		/プレート	428	1612	339	406	>2000	360	
	S9Mix を必要 とする もの	S9Mix の有無	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
			$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.5	2	40	0.5	2	0.5
		+	コロニー数	567	277	384	112	138	115
			/プレート	568	229	376	107	136	116
		-	コロニー数	156	5	12	44	22	21
			/プレート	143	12	15	43	13	18

\*菌株の成育阻止を認める。

AF-2: [2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

ENNG: (N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)

9-AA: 9-aminoacridine

2-NF: 2-nitrofluorene

2-AA: 2-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。

検体は代謝活性化を含め最高投与量である 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、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、2-NF 及び 9-AA では S-9 の添加なしで、2-AA では S-9 の添加により復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は陰性であると判断される。