

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発がん性試験

(資料 T-12)

試験機関: Hazleton Laboratories America, Inc.

報告書作成年: 1984 年

検体の純度:

供試動物: SD系ラット、試験開始時 8 週齢、

体重; 雄平均 267.7g、雌平均 178.6g、

対照群 1 群 雌雄各 100 匹、投与群 1 群 雌雄各 50 匹

投与期間: 104 週間(1981 年 5 月 27 日～1983 年 5 月 25 日)

投与方法: 検体を 0、156、625、2500、10000ppm の濃度で飼料に混入し、104 週間にわたって随時  
摂食させた。検体を混入した飼料は週 1 回調製した。

投与量設定のため、検体(最初の 1 週間は純度 96.0%、2～13 週は純度 97.2%)を 0、160、  
400、2000、10000 及び 50000ppm の濃度で 13 週間の飼料混入予備投与試験を実施し、  
400ppm 投与群以上の雄、160ppm 投与群以上の雌で血液学的検査項目の有意な変化  
がみられ、また 400ppm 投与群以上の雌雄で脾臓重量の有意な増加がみられ、その結  
果を参考とした。

試験項目及び試験結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。動物の老齢化による症状が対照群  
を含む全群にみられたが、検体投与によるものとは考えられなかった。一部の動物で投  
与 40 週時に唾液腺涙腺炎(SDA)の症状がみられた。試験終了時の死亡率は対照群、  
156、625、2500、10000ppm 投与群の雄で各々 34、56、34、42、42%、また雌で 48、48、30、  
54、52%であり、検体投与による影響はなかった。

体重変化: 投与開始から終了時まで週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

26 週時における 2500ppm 投与群と 10000ppm 投与群の雌は対照群に比して有意に低  
かった。それ以外の検査時期、投与群では統計的に対照群と比して有意差はなく、検体  
投与による影響はみられなかった。但し、試験期間中全群または数群に体重の減少が  
みられたことがあったが、これらは検体の影響ではなく、自動給水系の事故、唾液腺涙  
腺炎、老齢化などの原因によるものであった。

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。

摂餌量及び食餌効率:全動物の摂餌量を週1回測定し、食餌効率も算出した。

各週の平均摂餌量、総摂餌量ともに投与群は対照群とほぼ同等で、検体投与による影響はみられなかった。

検体摂取量:1日当たりの平均検体摂取量を摂餌量及び投与濃度から算出した。

投与群	平均検体摂取量 (mg/kg)	
	雄	雌
156	7.00	9.22
625	27.68	37.98
2500	144.54	154.06
10000	463.77	635.31

血液学的検査:投与後52週時及び投与終了時に各群雌雄10匹ずつを対象として、眼窩洞から採血し、メトヘモグロビン量、スルホヘモグロビン量、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、MCV、MCH、MCHC、血小板数、白血球数、白血球百分比、網状赤血球数、ハイツ小体、骨髓球/赤血球比(終了時のみで、対照群雌雄各20匹、投与群雌雄各10匹)を測定した。

以下に対照群に比して統計学的有意差を示した項目および対照群に対する変動率(%)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。

投与群 (ppm)		156				625			
性別		雄		雌		雄		雌	
検査時期 (週)		52	104	52	104	52	104	52	104
外ヘモグロビン量	絶対値	778 ↑			181 ↑	543 ↑		199 ↑	216 ↑
	相対値	824 ↑							210 ↑
スルホヘモグロビン量	絶対値	1274 ↑				855 ↑		868 ↑	
	相対値	1332 ↑				951 ↑		934 ↑	
赤血球数						88 ↓			
ヘモグロビン量						88 ↓			
ヘマトクリット値									
網状赤血球数									
MCV									
MCH									
MCHC								95 ↓	
骨髓球/赤血球比					56 ↓				

投与群 (ppm)		2500				10000			
性別		雄		雌		雄		雌	
検査時期 (週)		52	104	52	104	52	104	52	104
外ヘモグロビン量	絶対値	928 ↑	233 ↑	263 ↑	284 ↑	957 ↑	277 ↑	293 ↑	297 ↑
	相対値	984 ↑	226 ↑	304 ↑	289 ↑	1037 ↑	221 ↑	347 ↑	306 ↑
スルホヘモグロビン量	絶対値	679 ↑			619 ↑	996 ↑			617 ↑
	相対値				620 ↑	1055 ↑			633 ↑
赤血球数				87 ↓		85 ↓		81 ↓	
ヘモグロビン量				88 ↓		92 ↓	119 ↑	87 ↓	
ヘマトクリット値						89 ↓	121 ↑	88 ↓	
網状赤血球数				310 ↑		233 ↑		500 ↑	256 ↑
MCV				106 ↑				110 ↑	110 ↑
MCH						108 ↑			
MCHC				95 ↓					
骨髓球/赤血球比			60 ↓						54 ↓

一元配置分散分析 (ANOVA)    ↑ ↓ : p < 0.05

※外ヘモグロビンとスルホヘモグロビンの値は Kruskal-Wallis の一元分散順位和分析を用いた。

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。

156ppm 投与群以上で、メトヘモグロビン量及びスルホヘモグロビン量の増加がみられ、検体投与によるものと考えられた。625ppm 投与群以上の 52 週時における赤血球数、ヘモグロビン量の減少及び 10000ppm 投与群の 52 週時におけるヘマトクリットの減少は、検体の赤血球におよぼす酸化的作用の結果として起こる赤血球の寿命の短縮によって生じるものと思われる。その他の検査項目については、投与群と対照群とでは有意差がみられなかった。

血清学的検査：試験期間中唾液腺涙腺炎(SDA)の感染が疑われたため、投与後 42 週時で瀕死の状態の 625ppm 投与群の雌 1 匹と 10000ppm 投与群の雄 1 匹及び投与後 44 週時対照群 10 匹について、センダイ・ウイルスと SDA ウイルスについて検索した結果、全例検出。*Mycoplasma pulmonis* は 4 例陽性、5 例陰性、3 例不定であった。

臓器重量：試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち、脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓及び精巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

以下に対照群と比して統計学的有意差を示した項目を表記する。

投与群 (ppm)		156		625		2500		10000	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
体重									84 ↓
肝臓	対体重比						128 ↑		127 ↑
脾臓	重量					130 ↑	155 ↑	148 ↑	162 ↑
	対体重比					132 ↑	161 ↑	154 ↑	179 ↑
心臓	対体重比								115 ↑

一元配置分散分析(ANOVA)     ↑ ↓ : p < 0.05

2500 及び 10000ppm 投与群雌雄では脾臓重量の増加がみられ、対体重比も同様に増加しており、検体投与によるものと考えられる。2500 及び 10000ppm 投与群雌では肝臓の対体重比の増加、また 10000ppm 投与群雌では心臓の対体重比の増加がみられたが、これらは動物の最終体重の減少に付随するものと思われ、検体投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査：途中死亡動物及び試験終了時の全動物を対象として、検査を行った。

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

終了時屠殺動物; 検体投与と関係あると考えられる変化として用量依存性の脾臓の肥大がみられた。

途中死亡例; 対照群及び投与群に、雌と比較して雄の肺に病変出現率の増加がみられたが、用量依存性はなく、検体投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査; 上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、脳、下垂体、脊髓(胸部、腰部)、眼、ハーダー腺、下顎腺、甲状腺、気管、胸腺、食道、心臓、脾臓、副腎、膵臓、肺、肝臓、腎臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、直腸、尿管、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮、骨(胸骨)、骨髓(大腿骨)、皮膚、骨格筋、視神経、坐骨神経、大動脈、(胸部)、頭部、腸間膜リンパ節及び肉眼的病変部について、病理標本を作製し、検鏡した。

1) 非腫瘍性病変

- a. 検体投与と関係があると思われる変化は次の表に示すように肝臓と脾臓における色素沈着マクロファージの増加であった。

終了時屠殺例での発生率(%)

投与群 (ppm)		0		156		625		
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	
脾臓	検査動物数	66	51	22	26	33	34	
	色素沈着マクロファージの増加	0	26	8	5	4	3	0
		1*	45	31	50	27	39	3
		2	23	39	41	42	33	35
		3	6	22	5	27	24	53
		4	0	0	0	0	0	9
	5	0	0	0	0	0	0	
肝臓	検査動物数	66	51	22	26	33	34	
	色素沈着マクロファージの増加	0	79	84	86	73	39	41
		1*	15	16	14	8	27	32
		2	6	0	0	15	27	24
		3	0	0	0	4	6	3
		4	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	

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

投与群 (ppm)		2500		10000		
性別		雄	雌	雄	雌	
脾臓	検査動物数	28	23	29	24	
	色素沈着マクロファージの増加	0	7	0	17	0
		1*	18	0	10	0
		2	25	43	31	25
		3	43	43	31	58
		4	7	13	10	17
		5	0	0	0	0
肝臓	検査動物数	28	23	29	24	
	色素沈着マクロファージの増加	0	18	9	14	13
		1*	11	26	14	21
		2	36	26	17	38
		3	32	35	48	25
		4	4	4	7	4
		5	0	0	0	0

\*: 変化の程度 統計処理は未実施

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。

途中死亡例での発生率(%)

投与群 (ppm)		0		156		625		
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	
脾臓	検査動物数	34	48	28	23	17	16	
	色素沈着マクロファージの増加	0	41	31	25	17	24	0
		1*	12	4	4	17	12	6
		2	35	33	29	17	12	25
		3	9	21	36	35	41	38
		4	3	10	7	13	12	19
	5	0	0	0	0	0	13	
肝臓	検査動物数	34	49	28	24	17	16	
	色素沈着マクロファージの増加	0	76	63	75	50	59	13
		1*	9	16	18	33	6	38
		2	15	20	4	17	29	44
		3	0	0	4	0	6	6
		4	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	

投与群 (ppm)		2500		10000		
性別		雄	雌	雄	雌	
脾臓	検査動物数	22	27	21	26	
	色素沈着マクロファージの増加	0	14	11	33	0
		1*	5	0	10	0
		2	32	44	14	12
		3	23	33	24	54
		4	27	4	14	19
5	0	7	5	15		
肝臓	検査動物数	22	27	21	26	
	色素沈着マクロファージの増加	0	18	30	43	15
		1*	18	4	0	12
		2	32	41	24	23
		3	23	19	24	31
		4	9	7	10	19
5	0	0	0	0		

\*: 変化の程度 統計処理は未実施

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ヨウ株式会社にある。

b. 肝臓: 雄に肝細胞の変性がみられ(特に 10000ppm 投与群)、これは検体投与による影響と考えられる。

c. 骨髄: 次の表に示すように雄では 625ppm 以上の投与群で赤血球系細胞の過形成、2500ppm 以上の投与群で骨髄の過形成、骨髄腔の拡張がみられ、雌では 625ppm 以上の投与群で赤血球系細胞の過形成がみられた。これは検体投与による影響と考えられる。

投与群 (ppm)		0		156		625	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌
終了時屠殺例	検査動物数	66	51	22	26	33	34
	骨髄過形成 (%)	15	2	9	4	6	3
	赤血球系細胞過形成 (%)	3	0	9	4	27	12
	骨髄腔拡張 (%)	0	0	0	0	3	0
途中死亡例	検査動物数	33	49	28	24	17	16
	骨髄過形成 (%)	18	6	11	8	12	0
	赤血球系細胞過形成 (%)	6	2	4	0	24	13
	骨髄腔拡張 (%)	0	0	0	0	0	0

投与群 (ppm)		2500		10000	
性別		雄	雌	雄	雌
終了時屠殺例	検査動物数	28	23	29	24
	骨髄過形成 (%)	82	4	97	0
	赤血球系細胞過形成 (%)	46	43	38	38
	骨髄腔拡張 (%)	71	0	83	0
途中死亡例	検査動物数	22	27	21	26
	骨髄過形成 (%)	32	7	38	4
	赤血球系細胞過形成 (%)	27	4	19	15
	骨髄腔拡張 (%)	36	0	38	0

※統計処理は未実施

d. その他の組織については検体投与によると考えられる影響はみられなかった。



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

2) 腫瘍性病変:各群における原発性腫瘍の発現頻度は次の通りで、検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

投与群(ppm)		0 (対照)				156				625					
性別		雄		雌		雄		雌		雄		雌			
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終		
検査動物数		34	66	49	51	28	22	24	26	17	33	16	34		
検査組織数		1226	2521	1814	2046	1018	902	893	1093	634	1314	604	1389		
良性腫瘍総数		17	69	37	76	20	27	22	28	7	35	13	46		
良 性 腫 瘍 発 現 数	下垂体	腺腫		1	17	17	33	7	10	13	9	3	11	6	18
	副腎	褐色細胞腫		1	9		3	1	4			2	2		
		皮質腺腫		1	2	2	1			1					
	甲状腺	濾胞状細胞腺腫		2	4	2		3	2	2	1		3	1	1
		C-細胞腺腫			4	1			1						1
	上皮小体	腺腫													
	心臓	血管腫			1										
	肝臓	腫瘍性結節		2	6		4	1			2		2	1	8
		多発性腫瘍性結節			3		1	1	2		4		4	1	2
	腎臓	移行性上皮腫													
		細管細胞腺腫			1										
		混合型腫瘍												1	
	十二指腸	平滑筋腫					1								
	膵臓	ラ島細胞腺腫		1	4		3	1	2	1		1	2		2
		線維腫					1								
	盲腸	腺腫様ポリープ					1								
		線維種													
	精巣/ 精巣 上体	片側性間質細胞腫		3	7	-	-	2	3	-	-		4	-	-
		両側性間質細胞腫			2	-	-	1		-	-		1	-	-
		中皮腫		1		-	-			-	-			-	-
	膀胱	移行上皮乳頭腫					1								1
	卵巢	乳頭状腺腫		-	-	1		-	-			-	-		
		細管細胞腺腫		-	-	1		-	-			-	-		
	子宮	内膜ポリープ		-	-		9	-	-		3	-	-		4
	眼	線維腫													
	皮膚	角化棘細胞腫		3	6	1		2	1		1	1	5		
		線維腫		1	2				1						
扁平上皮乳頭腫		1	1				1								
乳腺	線維腺腫				10	14			3	6			3	6	
	Custadenoma				1										
	多発性線維腺腫					3			1	2				2	
	線維腫													1	
組織塊	線維腫			1			1						1		
	脂肪腫														
	神経線維腫					1									
膈	線維血管性ポリープ		-	-			-	-	1		-	-			

-: 検査該当なし、空欄は発現なし

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。

投与群(ppm)		2500				10000				
性別		雄		雌		雄		雌		
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	
検査動物数		22	28	27	23	21	19	26	24	
検査組織数		792	1110	1009	975	770	1155	956	1025	
良性腫瘍総数		7	34	20	26	11	47	20	22	
良 性 腫 瘍 発 現 数	下垂体	腺腫	3	11	9	9	3	11	11	10
	副腎	褐色細胞腫		3			1	6	1	1
		皮質腺腫								
	甲状腺	濾胞状細胞腺腫		2		2		4		1
		C-細胞腺腫						1	1	1
	上皮小体	腺腫		1						
	心臓	血管腫								
	肝臓	腫瘍性結節		2	1	1		7	1	1
		多発性腫瘍性結節		1		2				
	腎臓	移行性上皮腫	1							
		細管細胞腺腫								
		混合型腫瘍								
	十二指腸	平滑筋腫								
	脾臓	ラ島細胞腺腫		1			1	2		
		線維腫								
	盲腸	腺腫様ポリープ								
		線維腫						1		
	精巣/ 精巣 上体	片側性間質細胞腫	2	3	-	-	2	2	-	-
		両側性間質細胞腫		1	-	-	1	3	-	-
		中皮腫			-	-			-	-
	膀胱	移行上皮乳頭腫		1						
	卵巢	乳頭状腺腫	-	-			-	-		
		細管細胞腺腫	-	-			-	-		
	子宮	内膜ポリープ	-	-	2	3	-	-	1	3
	眼	線維腫					1			
	皮膚	角化棘細胞腫	1	6	1		1	7		
線維腫							1			
扁平上皮乳頭腫			2			1	2			
乳腺	線維腺腫			6	5			5	5	
	Custadenoma									
	多発性線維腺腫			1	3					
	線維腫				1					
組織塊	線維腫									
	脂肪腫									
	神経線維腫									
腫	線維血管性ポリープ	-	-			-	-			

—:検査該当なし、空欄は発現なし

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。

投与群(ppm)		0 (対照)				156				625				
性別		雄		雌		雄		雌		雄		雌		
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	
検査動物数		34	66	49	51	28	22	24	26	17	33	16	34	
検査組織数		1226	2521	181 4	2045	1018	902	893	1093	1314	604	1389	792	
悪性腫瘍総数		30	33	38	40	19	6	19	29	9	10	17	26	
悪 性 腫 瘍 発 現 数	脳	混合型膠腫	1											
		多型膠腫			1									
		星細胞腫	1	1		1	3	1	1					1
		顆粒細胞腫										1		
	下垂体	癌	12	15	18	13	9	1	6	15	6	3	8	11
	副腎	褐色細胞腫		3		1			1	1				
		皮質癌								1				
	甲状腺	濾胞状細胞癌	1			1	1							
		C-細胞癌	1	3	3	11	1	2		1		2		5
	肺/ 気管支	肺胞/細気管支癌		1										
	脾臓	線維肉腫												
		神経線維肉腫												
	肝臓	肝細胞癌	2	3			1			2		2		
		多発性肝細胞癌		2										
	腎臓	脂肪肉腫	1											1
		細管細胞癌	1									1		
	胃	扁平上皮癌						1						
	膵臓	ラ島細胞癌				2				1			1	
	腸間膜リンパ節	血管肉腫		1										
		リンパ性リンパ腫												
	卵巣	細管細胞癌	-	-			-	-		1	-	-		
	子宮	内膜肉腫	-	-		1	-	-			-	-	1	
		腺癌	-	-			-	-			-	-		1
子宮 頸管	扁平上皮癌	-	-	2		-	-	2		-	-	1	1	
	平滑筋肉腫	-	-		1	-	-			-	-			
胸腺	胸腺腫		1											
皮膚	血管肉腫													
	ジンバル腺癌	1												
	線維肉腫										1			
	扁平上皮癌			1										
乳腺	皮脂扁平上皮癌												1	
	腺癌	1		6	8		1	7	5			3	2	
	線維肉腫			2					2			1		
	未分化肉腫													
病変部	肋骨中皮腫												1	

-:検査該当なし、空欄は発現なし

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 (ppm)			2500				10000				
性 別			雄		雌		雄		雌		
死亡及び最終屠殺			死 亡	最 終	死 亡	最 終	死 亡	最 終	死 亡	最 終	
検査動物数			22	28	27	23	21	29	26	24	
検査組織数			1110	792	1110	975	770	1155	956	1025	
悪性腫瘍総数			14	17	14	26	17	14	20	17	
悪 性 腫 瘍 発 現 数	脳	混合型膠腫									
		多型膠腫									
		星細胞腫		1		1					
		顆粒細胞腫		1					1		
	下垂体	癌	8	2	8	11	4	5	11	11	
	副腎	褐色細胞腫	1								1
		皮質癌									
	甲状腺	濾胞状細胞癌	1	2	1		1	1			
		C-細胞癌	1	3		4	1	4	1	3	
	肺/気管支	肺胞/細気管支癌									
	脾臓	線維肉腫						1			
		神経線維肉腫								1	
	肝臓	肝細胞癌		1		1		1			1
		多発性肝細胞癌									
	腎臓	脂肪肉腫									
		細管細胞癌	1				1				
	胃	扁平上皮癌									
	膵臓	ラウ細胞癌	1							1	
	腸間膜リンパ節	血管肉腫									
		リンパ性リンパ腫						1			
	卵巣	細管細胞癌	-	-			-	-			
	子宮	内膜肉腫	-	-			-	-			
		腺癌	-	-			-	-			
	子宮頸管	扁平上皮癌	-	-		2	-	-		3	
		平滑筋肉腫	-	-			-	-			
	胸腺	胸腺腫									
	皮膚	血管肉腫		1			1				
		ジンバル腺癌									
線維肉腫			2								
扁平上皮癌											
乳房	皮脂扁平上皮癌										
	腺癌		1	2	6			1	1		
	線維肉腫			1							
未分化肉腫	未分化肉腫				1						
	肋骨中皮腫					1					

-: 検査該当なし、空欄は発現なし

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 (ppm)			0 (対照)				156				625			
性別			雄		雌		雄		雌		雄		雌	
死亡及び最終屠殺			死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終
検査動物数			34	66	49	51	28	22	24	26	17	33	16	34
検査組織数			1226	2521	1814	2045	1018	902	893	1093	1314	604	1389	792
悪性腫瘍総数			30	33	38	40	19	6	19	29	9	10	17	26
悪性腫瘍発現数	組織塊	脂肪肉腫	1		1		1							1
		線維肉腫	1	2		1							1	
		不整型癌	1											
		癌性肉腫			1									
		血管肉腫					1							
		神経線維肉腫												
	リンパ網内系組織	単核球性白血病												
		線維球性リンパ腫	2				1				2			1
		線維性組織球腫	2		1		1		1					
		リンパ性リンパ腫												
	頭冠状縫合	扁平上皮癌			2						1			
	腸間膜	粘液線維肉腫												
		線維肉腫							1					
	骨、他	骨原性肉腫	1											
	鼻介骨	扁平上皮癌												
陰茎	骨原性肉腫		1	-	-			-	-			-	-	
包皮/陰核腺	皮脂扁平上皮癌													

-: 検査該当なし、空欄は発現なし

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。

投与群(ppm)		2500				10000				
性別		雄		雌		雄		雌		
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	
検査動物数		22	28	27	23	21	29	26	24	
検査組織数		1110	792	1110	975	770	1155	965	1025	
悪性腫瘍総数		14	17	14	26	17	14	20	17	
悪性腫瘍発現数	組織塊	脂肪肉腫	1				1			
		線維肉腫			1		1			
		不整型癌								
		癌性肉腫								
		血管肉腫								
		神経線維肉腫			1					
		粘液肉腫								
	リンパ網内系組織	単核球性白血病					1			
		線維球性リンパ腫					1			
		線維性組織球腫		1					1	
		リンパ性リンパ腫						1		
	頭冠状縫合	扁平上皮癌		1			1			
	腸間膜	粘液線維肉腫					1			
		線維肉腫								
骨、他	骨原性肉腫					1				
鼻介骨	扁平上皮癌		1							
陰茎	骨原性肉腫			-	-			-	-	
包皮/陰核腺	皮脂扁平上皮癌					1				

-:検査該当なし、空欄は発現なし

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。

以上の結果をまとめると次の通りであった。

156ppm 以上の投与群で、メトヘモグロビン量、スルホヘモグロビン量の増加、骨髓球/赤血球比の低下。625ppm 以上の投与群で、赤血球数、ヘモグロビン量の低下または増加、及び骨髓の変化。

2500ppm 以上の投与群で、網状赤血球数、MCV の増加、脾臓の臓器重量の増加。

10000ppm 投与群で、ヘマトクリット値の減少または増加、MCH の増加。

10000ppm 投与によっても雌雄とも腫瘍発生の増加はみられなかった。

以上の結果から、ジフルベンズロン原体のラットを用いた 104 週間飼料混入投与による発がん性試験において本剤には催腫瘍性はみられなかった。

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ヨウ株式会社にある。

④ マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験 (資料 T-13)

試験機関: Huntingdon Research Centre(英国)

報告書作成年: 1984 年

検体の純度:

供試動物: CFLP 系マウス、試験開始時 雄  $46 \pm 2$  日齢、雌  $47 \pm 2$  日齢、  
主群 対照群 1 群雌雄各 104 匹、投与群 1 群雌雄各 52 匹  
副群 対照群 1 群雌雄各 72 匹、投与群 1 群雌雄各 36 匹  
投与後 26、52 及び 72 週時に副群の対照群雌雄各 24 匹、投与各群雌雄各 12 匹を中間屠殺した。

投与期間: 91 週間

雄 1981 年 8 月 3 日～1983 年 5 月 5-19 日

雌 1981 年 8 月 4 日～1983 年 5 月 5-19 日

投与方法: 検体を 0、16、80、400、2000 及び 10000ppm の濃度で飼料に混入し、91 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週に 1 回 100000ppm のプレミックスを調製し、各濃度の飼料はプレミックスから毎週 1 回調製した。投与量設定のため、検体を 0、80、400、2000、10000、50000ppm の濃度で 14 週間の飼料混入予備投与試験を実施し、400ppm 投与群以上の雌雄で一般状態、血液学的検査、臓器重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査で有意な変化が認められ、その結果を参考とした。

試験項目及び試験結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。

10000ppm 群の全例、2000ppm 群雌の全例と雄の大部分、400ppm 投与群の大部分及び 80ppm 群雄の若干例に四肢の青～灰色及び眼の暗色化が観察され、投与によるものと考えられた。試験終了時の死亡率は対照群、16、80、400、2000 及び 10000ppm 投与群の雄で各々 64、56、63、69、60、56%、また雌で 76、69、79、69、85、81%であり、検体投与による影響はなかった。



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。

体重変化:投与前に2回、投与期間中は週1回すべての生存動物の体重を測定した。検体投与による影響はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率:全動物の摂餌量を週1回測定し、投与開始後13週間の食餌効率も算出した。摂餌量、食餌効率とも検体投与による影響はなかった。

検体摂取量:摂餌量及び投与濃度から算出した1日当たりの平均検体摂取量は、次の通りであった。

投与群 (ppm)	16	80	400	2000	10000
雄 (mg/kg/日)	1.24	6.40	32.16	163.29	835.55
雌 (mg/kg/日)	1.44	7.26	35.38	186.59	958.51

飲水量:投与後23、49及び75週の5日間について各ケージ毎に飲水量を測定した。23と49週における飲水量は全群影響はみられなかったが、75週では10000と2000ppm群の雄で対照群に比し多かった。

血液学的検査:投与後26、52及び78週時に副群の各投与群雌雄各12匹ずつ、副群の対照群雌雄各24匹ずつ、また投与91週時に主群の各投与群雌雄12匹ずつ、主群の対照群24匹ずつを対象として、眼窩洞より採血し、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、赤血球恒数(MCH、MCHC、MCV)、白血球数、白血球百分比、血小板数及びメトヘモグロビン量を測定した。また投与後52、78及び91週時には同様にして、スルホヘモグロビン量及びハイツ小体数を測定した。

次頁に対照群と比して、統計学的有意差を示した項目および対照群に対する変動率(%)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。

投与群(ppm)		16								80							
性別		雄				雌				雄				雌			
検査時期(週)		26	52	78	91	26	52	78	91	26	52	78	91	26	52	78	91
ヘマトクリット値																	
ヘモグロビン量																	
赤血球数																	
メトヘモグロビン量			147 ↑							139 ◯	270 ◯	208 ◯	131 ↑	140 ◯	251 ◯	140 ↑	186 ◯
スルホヘモグロビン量			226 ↑					219 ◯	469 ◯			574 ◯	342 ◯	340 ◯		667 ◯	454 ◯
MCH																	
MCHC																	
白血球数																	
好中球																	
リンパ球																	
血小板数																	
ハイツ	陽性例数																
小体	検査数																

投与群(ppm)		400							
性別		雄				雌			
検査時期(週)		26	52	78	91	26	52	78	91
ヘマトクリット値			94 ↓						
ヘモグロビン量									
赤血球数			88 ↓						
メトヘモグロビン量		183 ◯	570 ◯	355 ◯	218 ◯	209 ◯	544 ◯	270 ◯	358 ◯
スルホヘモグロビン量			1222 ◯	3342 ◯	1270 ◯		1510 ◯	2315 ◯	1458 ◯
MCH									107 ↑
MCHC									
白血球数									
好中球									
リンパ球									
血小板数		129 ◯	115 ◯		122 ◯	130 ◯	126 ◯	159 ◯	166 ◯
ハイツ	陽性例数		4	3	12		10	2	8
小体	検査数		10	9	12		11	6	8

Williams 検定 ↓ ↑ : p < 0.05、 ◯ ◯ : p < 0.01、ハイツ小体: 陽性例数

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。

投与群(ppm)		2000							
		雄				雌			
検査時期(週)		26	52	78	91	26	52	78	91
ヘマトクリット値			91 ↓				94 ↓		
ヘモグロビン量						108 ↑			
赤血球数			88 ↓		82 ↓		88 ↓		
メトヘモグロビン量		302 <sup>○</sup>	721 <sup>○</sup>	480 <sup>○</sup>	314 <sup>○</sup>	321 <sup>○</sup>	1124 <sup>○</sup>	387 <sup>○</sup>	566 <sup>○</sup>
スルホヘモグロビン量			1493 <sup>○</sup>	3125 <sup>○</sup>	3450 <sup>○</sup>		3014 <sup>○</sup>	2708 <sup>○</sup>	3283 <sup>○</sup>
MCH		107 ↑			109 ↑	111 <sup>○</sup>			108 <sup>○</sup>
MCHC		107 <sup>○</sup>		105 ↑					
白血球数						171 <sup>○</sup>	149 ↑		
好中球						180 ↑			
リンパ球						168 <sup>○</sup>	143 ↑		
血小板数		138 <sup>○</sup>	138 <sup>○</sup>	144 <sup>○</sup>	128 <sup>○</sup>	135 <sup>○</sup>	155 <sup>○</sup>	225 <sup>○</sup>	183 <sup>○</sup>
ハイツ	陽性例数		11	8	12		10	4	7
小体	検査数		11	9	12		11	4	7

Williams 検定 ↓ ↑ : p < 0.05、<sup>○</sup> : p < 0.01、ハイツ小体: 陽性例数

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。

投与群(ppm)		10000							
性 別		雄				雌			
検査時期(週)		26	52	78	91	26	52	78	91
ヘマトクリット値			94 ↓		↓		96 ↓	85 ◯	
ヘモグロビン量				↑		107 ↑			
赤血球数			92 ↓		86 ↓		88 ↓	80 ◯	89 ↓
メトヘモグロビン量		367 ◯	1119 ◯	702 ◯	435 ◯	362 ◯	1389 ◯	451 ◯	701 ◯
スルホヘモグロビン量			2341 ◯	5292 ◯	4060 ◯		3981 ◯	4400 ◯	3000 ◯
MCH		116 ◯		116 ↑	108 ↑	116 ◯	112 ◯	122 ◯	115 ◯
MCHC		111 ◯	104 ↑	110 ◯	109 ↑	115 ◯		113 ↑	111 ◯
白血球数		166 ◯	139 ↑			128 ◯	153 ↑		
好中球			154 ◯			164 ↑			
リンパ球		166 ◯				124 ◯	151 ↑		
血小板数		138 ◯	148 ◯	151 ◯	118 ↑	130 ◯	158 ◯	254 ◯	184 ◯
ハイツ	陽性例数		9	8	9		10	3	11
小体	検査数		10	8	10		11	3	11

Williams 検定 ↓ ↑ : p < 0.05、 ◯ : p < 0.01、ハイツ小体:陽性例数

メトヘモグロビン量、スルホヘモグロビン量については、主に 80ppm 以上の投与群雌雄で投与量と相関のある有意な増加が認められた。ヘマトクリット値、赤血球数、MCH、MCHC、白血球数については 2000ppm 以上の投与群で有意な増加または減少が認められた。血小板数、ハイツ小体については 400ppm 以上の投与群雌雄で有意な増加が認められた。16ppm 投与群では 52 週時と 78 週時にスルホヘモグロビン量の増加が認められたが、その他の時期及びその他の測定項目では投与による影響はみられなかった。

血液生化学検査;投与後、24、50 及び 76 週時に副群の各投与群雌雄 12 匹ずつ、副群の対照群雌雄各 24 匹ずつにつき、また 89 週時に主群の各投与群雌雄 12 匹ずつ、主群の対照群雌雄 24 匹ずつを対象として眼窩洞から採血し、グルコース、ALP、AST、ALT、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、A/G 比及びコレステロールを測定した。

下表に対照群と比して、統計学的有意差を示した群の項目および対照群に対する変動率(%)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。

投与群(ppm)	2000				10000							
性別	雄				雄				雌			
検査時期(週)	24	50	76	89	24	50	76	89	24	50	76	89
ALP	136 ↑			179 ↑	143 ◯		169 ◯	207 ◯				
GOT								183 ↑	(144 ↑)			
GPT				162 ↑	143 ↑	220 ◯		248 ◯	(186 ↑)			
コレステロール					140 ◯							

Williams 検定 ↓:p<0.05、 ◯:p<0.01、( )異常値 1 個体を含む

2000ppm 以上の投与群雄でALP及び有意な上昇が認められた以外の変化は、いずれも正常範囲内の変動と考えられる。

尿検査:投与後 25、51 と 77 週時に副群各投与群雌雄各 3 ケージ、副群対照群各 6 ケージにつき、90 週時に主群投与群雌雄各 3 ケージ、主群対照群雌雄各 6 ケージにつき一晩採尿し、尿量、pH、比重、蛋白、還元物質、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、ヘモグロビン量及び沈渣を検査した。

10000ppm 投与群において 25 週時に雄で比重の有意な減少、77 週時に雌で尿量の僅かな増加が認められた以外は検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量:副群は 26、52、78 週時の中間屠殺動物、主群は試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち脳、下垂体、心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓、甲状腺、胸腺、副腎、膵臓、精巣及び卵巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

以下に対照群と比して統計学的有意差を示した群の項目および対照群に対する変動率(%)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。

投与群 (ppm)		400							
性別		雄				雌			
検査時期(週)		26	52	78	91	26	52	78	91
肝臓	重量								
	対体重比								
脾臓	重量					147 <sup>o</sup>			
脳	対体重比								
心臓	重量								
	対体重比								
腎臓	対体重比								
胸腺	重量								
	対体重比								
甲状腺	重量								

Williams 検定 ↑ ↓ : p < 0.05、<sup>o</sup><sup>o</sup> : p < 0.01

投与群 (ppm)		2000							
性別		雄				雌			
検査時期(週)		26	52	78	91	26	52	78	91
肝臓	重量	116 <sup>o</sup>							
	対体重比	111 ↑			121 ↑			136 ↑	
脾臓	重量	169 <sup>o</sup>	153 <sup>o</sup>			193 <sup>o</sup>	167 <sup>o</sup>		
脳	対体重比								
心臓	重量							123 ↑	
	対体重比							124 <sup>o</sup>	
腎臓	対体重比							124 ↑	
胸腺	重量								
	対体重比								
甲状腺	重量								

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 (ppm)		10000							
性別		雄				雌			
検査時期(週)		26	52	78	91	26	52	78	91
肝臓	重量	115 <sup>○</sup>						149 <sup>○</sup>	
	対体重比	112 ↑	131 <sup>○</sup>		122 ↑	113 ↑		144 <sup>○</sup>	
脾臓	重量	223 <sup>○</sup>	227 <sup>○</sup>			273 <sup>○</sup>	233 <sup>○</sup>		
脳	対体重比								
心臓	重量							136 <sup>○</sup>	
	対体重比				115 ↑			134 <sup>○</sup>	
腎臓	対体重比							113 ↑	
胸腺	重量						71 ↓		
	対体重比						↓		
甲状腺	重量		74 ↓						

Williams 検定 ↑ ↓ : p < 0.05、<sup>○</sup> : p < 0.01

2000ppm 以上の投与群で肝臓重量、肝重量対体重比、脾臓重量の増加が各検査時期で見られ、検体投与によると考えられた。その他の変化は一時的なものであり、投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査: 副群は投与後 26、52 及び 78 週時の中間屠殺動物、主群は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、泌尿生殖器口、尾、各耳翼、眼及び外耳道を含むすべての表皮組織、乳腺、皮下組織、外鼻孔、口腔、舌、脳、下垂体、脳神経、局部リンパ節、乳腺、甲状腺、上皮小体、胸腺、リンパ節(胸腔)、心臓、肺、膀胱、胃、盲腸、食道、十二指腸、空腸、回腸、結腸、肝臓、腎臓、生殖腺、副腎、子宮、腹腔内リンパ節、付属生殖器官、新生物を示唆する病変の検査を行った。

観察された主要な病理組織学的所見及び発現数を下表に示す。

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

		屠殺週	臓器および観察された所見									
			雄					雌				
			肝臓		脾臓		皮膚	肝臓		脾臓		皮膚
			腫瘍	肥大	肥大	暗色化	暗色化	腫瘍	肥大	肥大	暗色化	暗色化
投与量 (ppm)	0	26	1/24	-	1/24	-	-	-	-	2/23	-	-
		52	2/20	-	3/20	-	-	-	-	2/18	-	-
		78	2/11	-	4/11	-	-	-	-	5/16	-	-
	16	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		52	1/10	-	2/10	-	-	-	1/8	3/8	-	-
		78	-	-	2/7	-	-	-	-	3/8	-	-
	80	26	-	-	-	-	-	-	-	1/11	1/11	-
		52	2/11	1/11	6/11	-	-	-	1/10	3/10	-	-
		78	-	1/5	2/5	-	-	2/5	-	4/5	-	-
	400	26	-	-	1/12	1/12	-	-	-	6/10	8/10	-
		52	1/10	1/10	4/10	-	6/10	-	-	7/11	-	1/11
		78	1/9	-	4/9	-	8/9	-	-	3/6	-	1/6
	2000	26	-	-	8/12	7/12	1/12	-	-	11/12	11/12	1/12
		52	2/11	1/11	10/11	1/11	9/11	-	3/11	8/11	-	9/11
		78	2/7	1/7	4/7	-	7/7	1/4	2/4	4/4	-	4/4
	10000	26	-	-	11/11	8/11	4/11	-	-	11/11	11/11	3/11
		52	1/10	5/10	10/10	3/10	10/10	-	4/11	11/11	3/11	11/11
		78	-	1/7	7/7	5/7	7/7	-	3/3	3/3	3/3	3/3

雌雄とも 10000ppm 投与群で、肝臓・脾臓の肥大の発現頻度が対照群に比して高かった。脾臓の暗色化が 10000ppm 投与群雌雄で高頻度にみられ、また 2000ppm 投与群雄においてもみられた。さらに、400、2000 及び 10000ppm 投与群雌雄で皮膚の暗色化の発現頻度が対照群に比して高かった。他の所見はいずれも自然発生的な変化であり、検体投与によるものとは考えられない。



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。

病理組織学的検査;副群の投与後 52 週時の中間屠殺動物、主群の試験終了時屠殺動物及び試験期間中の死亡動物を対象として、重量測定臓器を含む副腎、大動脈、脳、盲腸、子宮、子宮頸部、十二指腸、眼、大腿骨、胆嚢、膀胱、頭部、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節(頸部と腸間膜)、乳腺、結腸、食道、視神経、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、皮膚、脾臓、胸骨(骨髄)、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、尿管、結節、組織塊及び肉眼的異常組織及び血液塗抹標本について、病理標本を作製し、検鏡した。なお、視神経、骨格筋、皮膚、気管、結節、組織塊及びその他の組織については肉眼的に異常がなければ検鏡しなかった。

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ヨウ株式会社にある。

a-1. 腫瘍所見: 主群における腫瘍所見は次の通りであった。

投与群(ppm)		0 (対照)				16				80				
性別		雄		雌		雄		雌		雄		雌		
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	
検査動物数		67	37	79	25	29	23	36	16	33	19	41	11	
腫瘍動物数		50	23	54	15	23	18	28	6	24	14	32	6	
腫瘍総数		66	40	64	17	30	30	32	10	36	27	43	8	
良性腫瘍総数		18	18	12	9	9	13	8	5	8	11	7	3	
良 性 腫 瘍 発 現 数	肺	肺腺腫		2		1		1						
	肝臓	肝細胞腫瘍		3	4	1	1	4	1	2	3	1	1	
		血管腫		6	6	2	1	2	4	2	1	4	3	2
	リンパ節	血管腫		1						1				
	腎臓	腺腫												
	脾臓	ラウ細胞腺腫		1						1				
	精巣	間質細胞腺腫		1	2	-	-	3	-	-	1	1	-	-
		血管腫		-	-	1	1	-	-	1	-	-	-	1
	子宮	平滑筋腫		-	-									
		顆粒膜細胞腫		-	-	1	3	-	-	1	-	-	1	
	子宮頸部	線維種		-	-	1		-	-		-	-		
	甲状腺	濾胞状腺腫												
	副腎	褐色細胞腫		1		1								
		皮質腺腫		1		1		1				1		
	胃	扁平上皮乳頭腫		1		1				1		1		
	直腸	ポリープ状腺腫		1										
	骨格筋	血管腫				1				1				
	皮膚/ 皮下	皮下血管腫		1		1								
		皮下線維腫		1		1								
		皮膚線維種												
		扁平上皮乳頭腫										1		
		角化棘細胞腫		1										
	下垂体	腺腫				3		2		2		3		
	ハーダ腺	腺腫		1		1		1				1		
	腹膜腫瘍	脂肪腫												
	骨	骨腫												
脂肪組織	血管腫		1											

—: 検査該当なし、空欄は発現なし

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(ppm)		400				2000				10000			
性別		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終
検査動物数		36	16	36	16	31	21	45	7	36	16	42	10
腫瘍動物数		26	11	27	11	25	14	34	4	28	8	30	5
腫瘍総数		39	21	36	12	36	23	43	7	32	15	38	5
良性腫瘍総数		15	11	11	2	12	8	11	3	9	8	13	1
良 性 腫 瘍 発 現 数	肺	肺腺腫		1	2	1	1		1		2		2
	肝臓	肝細胞腫瘍		4	2	1		3		1	2	2	
		血管腫		5	2	1		4	4	2	2	2	4
	リンパ節	血管腫							1				
	腎臓	腺腫						1					
	膵臓	ラウ細胞腺腫								1			
	精巣	間質細胞腺腫		2	1	—	—	2	—	—	2	—	—
	子宮	血管腫		—	—			—	—		—	—	1
		平滑筋腫		—	—			—	—	1	—	—	1
	卵巢	顆粒膜細胞腫		—	—	2		—	—	2	—	—	3
	子宮頸部	線維種		—	—			—	—		—	—	
	甲状腺	濾胞状腺腫							1				
	副腎	褐色細胞腫					1				2	1	
		皮質腺腫		1			1						
	胃	扁平上皮乳頭腫				2		2	3				1
	直腸	ポリープ状腺腫											
	骨格筋	血管腫											
	皮膚/ 皮下	皮下血管腫		1	2								
		皮下線維腫		1	1								
		皮膚線維種										1	
		扁平上皮乳頭腫					1						1
		角化棘細胞腫											
	下垂体	腺腫				3			1				1
ハート腺	腺腫		1		1								
腹膜腫瘍	脂肪腫			1									
骨	骨腫			1									
脂肪組織	血管腫					1							

—:検査該当なし、空欄は発現なし

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。

投与群(ppm)		0 (対照)				16				80				
性別		雄		雌		雄		雌		雄		雌		
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	
検査動物数		67	37	79	25	29	23	36	16	33	19	41	11	
腫瘍動物数		50	23	54	15	23	18	28	6	24	14	32	6	
腫瘍総数		66	40	64	17	30	30	32	10	36	27	43	8	
悪性腫瘍総数		48	22	52	8	21	17	24	5	28	16	36	5	
悪性腫瘍発現数	リンパ網内系腫瘍	リンパ肉腫	29	3	33	3	6	3	12	1	12	3	18	3
		細網細胞肉腫	6	5	6	2	4	1	3	1	2	5	5	
		リンパ性白血病			3		2		3		1			
		肥満細胞白血病												
	肺	腺癌	7	7	5	3	3	9	5	2	7	4	5	
		肝細胞腫瘍	5	3			3	2			3	2		
	肝臓	血管肉腫									1		1	
		血管肉腫									1			
	リンパ節	血管肉腫												
	脾臓	血管肉腫											1	1
	腎臓	腺癌					1							
	膀胱	線維肉腫												
	精巣	精上皮腫			-	-			-	-			-	-
		線維肉腫			-	-			-	-			-	-
	前立腺	腺癌			-	-		1	-	-			-	-
		血管肉腫		1	-	-			-	-			-	-
	包皮腺	扁平上皮癌			-	-			-	-			-	-
		血管肉腫	-	-	2		-	-			-	-	1	
	子宮	子宮腺癌	-	-			-	-			-	-		
		神経鞘腫	-	-			-	-			-	-		
		血管肉腫	-	-			-	-			-	-		
	卵巣	顆粒膜細胞腫	-	-			-	-			-	-		
	子宮頸部	線維肉腫	-	-			-	-			-	-		
		皮質癌												
	副腎	間質腺癌					1							
	結腸	皮下血管肉腫												
皮下線維肉腫		2				1		1		2				
線維細胞性組織球腫		1												
毛嚢上皮腫						1								
扁平上皮癌												1		
基底扁平癌														
乳腺	乳腺癌			2				1				3		
	乳線維肉腫											1		
脳	髄膜腫									1				
ハーダ腺	腺癌	1											1	
脂肪組織	血管肉腫			1										

一:検査該当なし、空欄は発現なし

検体投与による質的及び量的な腫瘍の発生の影響はみられなかった。

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

投与群(ppm)		400				2000				10000				
性別		雄		雌		雄		雌		雄		雌		
死亡及び最終屠殺		死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	死亡	最終	
検査動物数		36	16	36	16	31	21	45	7	36	16	42	10	
腫瘍動物数		26	11	27	11	25	14	34	4	28	8	30	5	
腫瘍総数		39	21	36	12	36	23	43	7	32	15	38	5	
悪性腫瘍総数		24	10	25	10	24	15	32	4	23	7	25	4	
悪性腫瘍発現数	リンパ網内系腫瘍	リンパ肉腫	10	2	9	2	12	3	16		12	1	14	1
		細網細胞肉腫	1		6	2	3	1	7		6	1	1	
		リンパ性白血病			2				2				1	
		肥胖細胞白血病					1							
	肺	腺癌	6	2	4	5	1	6	4	3		2	4	3
		肝細胞腫瘍	4	5	1		6	3			4	1	2	
	肝臓	血管肉腫	1							1				
		血管肉腫												
	リンパ節	血管肉腫												
	脾臓	血管肉腫												
	腎臓	腺癌												
	膀胱	線維肉腫		1										
	精巣	精上皮腫			-	-			-	-		1	-	-
		線維肉腫	1		-	-			-	-			-	-
	前立腺	腺癌			-	-			-	-			-	-
		血管肉腫			-	-			-	-			-	-
	包皮腺	扁平上皮癌			-	-		1	-	-			-	-
		血管肉腫	-	-			-	-			-	-		
	子宮	子宮腺癌	-	-		1	-	-			-	-	1	
		神経鞘腫	-	-			-	-			-	-	1	
		顆粒膜細胞腫	-	-	1		-	-			-	-		
	子宮頸部	線維肉腫	-	-			-	-	1		-	-		
	副腎	皮質癌										1		
		間質腺癌												
	皮膚/皮下	皮下血管肉腫					1	1			1			
		皮下線維肉腫	1											
		線維細胞性組織球腫												
毛嚢上皮腫														
扁平上皮癌				1										
乳腺	基底扁平癌							1						
	乳腺癌											1		
乳腺	乳線維肉腫													
	髓膜腫			1										
ハーダ一腺	腺癌							1						
脂肪組織	血管肉腫													

一:検査該当なし、空欄は発現なし

検体投与による質的及び量的な腫瘍の発生の影響はみられなかった。

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

a-2. 腫瘍所見: 副群(投与後 52 週時中間屠殺)における腫瘍所見は次の通りであった。

投与群(ppm)		0 (対照)		16		80		400		2000		10000	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
検査動物数		20	18	10	8	11	10	10	11	11	11	10	11
腫瘍動物数		4	4	1		1		1		2	2	2	
腫瘍総数		4	4	1		1		1		2	2	3	
良性腫瘍総数		3	1					1		2	1	1	
良性腫瘍発現数	肺	肺腺腫		1	1								1
	肝臓	肝細胞腫瘍		1						1			
		血管腫		1					1	1			
	卵巣	顆粒膜細胞腫									1		
悪性腫瘍総数		1	3	1		1					1	2	
悪性腫瘍発現数	リンパ網内系腫瘍	リンパ肉腫			2								1
		細網細胞肉腫			1	1					1		
	肝臓	肝細胞腫瘍					1					1	
	皮下	線維肉腫		1									

—: 検査該当なし、空欄は発現なし

検体投与による質的及び量的な腫瘍の発生の影響はみられなかった。

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

b. 非腫瘍性所見: 検体投与による肝の病理組織学的に非腫瘍性の変化は次の通りであった。

性別	投与群 (ppm)	中間及び最終屠殺	検査動物数	肝臓					脾臓		
				肝細胞肥大	肝細胞空胞化	雄: 髓外造血 雌: 肝細胞脂肪沈着	小葉中心類洞の充血拡張	クッパー細胞の色素沈着	髓外造血	担鉄細胞	
雄	対照 (0)	副群	20	9	7				1		
		主群	104	36	22	4			27	5	
	16	副群	10	5	4						
		主群	51*	12	17	3			7	1	
	80	副群	11	7	3						
		主群	52	11	9			1	15	2	
	400	副群	10	4	5	2			4	5	
		主群	52	23	12	3	2	1	21	16	
	2000	副群	11	7	4				3	8	
		主群	52	35	18	12	8	3	19	32	
	10000	副群	10	9	7	1	3	1	3	9	
		主群	52	31	26	15	6	15	22	30	
	雌	対照 (0)	副群	18	1	12	5				
			主群	104	15	33	24	1	1	37	15
16		副群	8		4	2	1	1	1		
		主群	52	4	17	9			18	6	
80		副群	10	2	9	8					
		主群	52	5	17	7		1	19	13	
400		副群	11	2	7	7	1		2		
		主群	52	11	17	16			19	30	
2000		副群	11	4	6	9	1	3	3	8	
		主群	52	15	12	12		4	25	31	
10000		副群	11	5	9	9	1	1	7	10	
		主群	52	29	26	21	2	11	25	43	

副群: 中間屠殺・投与 58 週時に屠殺剖検動物、主群: 死亡例と最終屠殺動物、

空欄は発現なし、\*死亡マウス 1 例は検査せず。

※統計処理は未実施

400ppm 以上の投与群で肝細胞の肥大、空胞化、小葉中心類洞の充血又は拡張、髓外造血、クッパー細胞の色素沈着、脂肪沈着がみられ、80ppm 以上の投与群で脾臓の髓外造血、担鉄細胞の発生率の増加がみられた。この他の非腫瘍性所見はいずれの変化も自然発生的又は老齢化による変化であり、薬物投与に起因するものとは考えられない。腫瘍性病変としては、薬剤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、悪性及び良性腫瘍数は 130~134 頁の通りであり、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。

以上の結果から、ジフルベンズロン原体のマウスを用いた 91 週間飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験における影響として、主に 80ppm 以上の投与群におけるメトヘモグロビン量、スルホヘモグロビン量の増加、雌における脾臓の担鉄細胞症等の所見より、申請者として最大無作用量は 16ppm(雄 1.24mg/kg/日、雌 1.44mg/kg/日)であると判断する。最高投与量 10000ppm(雄 836mg/kg/日、雌 959mg/kg/日)においても催腫瘍性は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。

## 8) 繁殖性及び催奇形性

### ① ラットを用いた繁殖性試験

(資料 T-14)

試験機関: Huntingdon Research Centre(英国)

報告書作成年: 1975 年

検体の純度:

試験動物: CD 系ラット、1 群雌雄各 20 匹

投与期間: P 世代 ; 投与開始から F<sub>1</sub> 児離乳までの 204 日間、F<sub>1</sub> 世代 ; 離乳時から F<sub>2</sub> 児離乳時までの 124 日間、F<sub>2</sub> 世代 ; 離乳後から 124 日間

投与方法: 検体の 0、10、20、40、160ppm を含有した飼料を自由に摂食させた。検体を混入した飼料は週 1 回調製した。投与量設定のため、検体を 0、3.125、12.5、50 及び 200ppm の濃度で 13 週間飼料混入予備投与試験を実施し、200ppm 投与群の雌雄でヘモグロビン量と血液容積の有意な減少が認められ、その結果を参考とした。

試験項目及び試験結果: 概要を下表にまとめた。

一般状態及び死亡率: 全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認: 交配は雌の発情を膣垢で確かめ、雌雄 1 対 1 で同居させ、翌日膣栓及び精子により交尾を確認した。妊娠の確認は触診及び出産をもって行った。

繁殖性に関する指標: 交配、妊娠及び哺育時期の観察に基づき、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。

$$\begin{aligned} \text{交尾率} &= \frac{\text{交尾した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100 \\ \text{妊娠率} &= \frac{\text{出産した雌動物数}}{\text{交配した雌動物数}} \times 100 \\ \text{産児数} &= \frac{\text{児動物数}}{\text{出生同腹児数}} \times 100 \\ \text{産児数} &= \frac{\text{21日まで生存した同腹児中の児動物数}}{\text{21日目における同腹児数}} \times 100 \\ \text{死亡率} &= \frac{\text{出生児動物数} - \text{生存児動物数}}{\text{出生児動物数}} \times 100 \end{aligned}$$

肉眼的病理検査; P 世代離乳後全例、F<sub>1</sub>A 世代死亡児及び 24 日後全例、F<sub>1</sub>B 世代死亡児及び離乳後継代用以外の全例、F<sub>2</sub>A 世代死亡児及び離乳後継代用以外の全例、F<sub>3</sub>A 世代死亡児及び離乳時に全例を対象として、検査を行った。

被験物質摂取量:

投与量 (ppm)	世代	雄 (mg/kg/day)	雌 (mg/kg/day)
10	P	0.73	0.78
	F1	0.74	0.83
	F2	0.85	1.04
20	P	1.50	1.53
	F1	1.48	1.80
	F2	1.81	2.14
40	P	2.95	3.22
	F1	3.09	3.65
	F2	3.72	4.42
160	P	11.83	12.60
	F1	11.84	13.14
	F2	14.29	16.35

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(日数)	作業手順	試験項目
P	生育(60)	雌雄1対1で交配 交尾は膣垢で確認	一般状態、生死を毎日観察 体重、摂餌量を週1回測定 交配状況の観察
	交配(20)		
	妊娠(22)		
	出産		
	哺育(21)		妊娠0、7、14、20日目に体重測定 (F <sub>1</sub> A)出産状況の観察 死亡児は肉眼的病理検査、異常児は4日間観察 出生時、4日目に体重測定 24日間生残新生児を屠殺、肉眼的病理検査 (P) 出産後0、4、12、21日、以降週1回体重測定
	休息(18)		
	交配(20)		
	妊娠(22)		
	出産		(F <sub>1</sub> B)
	哺育(21)		死亡児は肉眼的病理検査、異常児は21日間観察 性別判定 出生後0、4、12、21日に体重測定 (P) 出産後0、4、12、21日に体重測定
F <sub>1</sub>	離乳	継代用の各群雌雄各20匹 ずつ無作為に選抜	(F <sub>1</sub> B)継代用以外の児動物及び親(P)を屠殺し肉眼的病理検査
	生育(60)	} (P世代に準ずる)	
	交配(21)		(P世代に準ずる)
	妊娠(22)		
	出産		(F <sub>2</sub> A) (P世代に準ずる)
哺育(21)	(P世代に準ずる)		
F <sub>2</sub>	離乳	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
	生育(60)		
	交配(21)		
	妊娠(22)		
	出産		(F <sub>3</sub> A)(F <sub>1</sub> B)世代に準ずる)
	哺育		
	離乳		屠殺し肉眼的病理検査

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> A、F <sub>1</sub> B					親:F <sub>1</sub> 、児:F <sub>2</sub> A				
投 与 量 (ppm)		0*	10	20	40	160	0	10	20	40	160
動 物 数	雄	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	雌	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
中 毒 症 状		検体投与による中毒症状はみられなかった									
死 亡 数	雄	2	0	2	2	0	0	0	1	1	0
	雌	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0
摂 餌 量 (g/ラット/週)	雄	169	171	176	169	170	187	186	195	189	196
	雌	120	125	123	123	126	140	137	153	147	144
体 重 増 加 量 (g) ①	雄	567	577	581	559	576	418	439	468	430	475
	雌	270	273	273	265	277	193	208	201	189	205
妊 娠 中 体 重 増 加 量 (g) ②	A	132	137	145	143	138	125	124	123	131	126
	B	125	139	120	134	150	—	—	—	—	—
出 産 後 体 重 増 加 量 (g) ③	A	—	—	—	—	—	1	-6	-2	-3	-8
	B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
交 尾 率 (%) (20日又は21日 以内)	A	35	50	30	35	25	90	70	85	95	90
	B	70	75	60	65	60	—	—	—	—	—
妊 娠 率 (%)	A	40	50	30	35	25	90	70	85	95	90
	B	75	79	63	68	60	—	—	—	—	—
妊 娠 期 間 (日)	A	22.1	22.2	22.4	22.2	22.0	22.7	22.3	22.1	22.1	21.9
	B	22.1	22.4	22.3	22.4	22.2	—	—	—	—	—
肉 眼 的 病 理 検 査		検体投与による肉眼的変化はなかった									

A: 第1回交配、B: 第2回交配、\*: 対照群、—: 検査該当なし

① F<sub>0</sub>は24週間、F<sub>1</sub>とF<sub>2</sub>は16週間の体重増加量

② (妊娠20日後体重)-(妊娠0日体重)

③ (出産21日後体重)-(出産0日体重)

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:F <sub>2</sub> 、児:F <sub>3</sub> A				
投 与 量 (ppm)		0*	10	20	40	160
動 物 数	雄	20	20	20	20	20
	雌	20	20	20	20	20
中 毒 症 状		検体投与による中毒症状はみ られなかった				
死 亡 数	雄	0	0	0	0	0
	雌	0	0	0	0	0
摂 餌 量 (g/ラット/週)	雄	176	178	183	183	186
	雌	162	153	153	158	154
体 重 増 加 量 (g) ①	雄	484	550	519	522	517
	雌	252	256	253	258	269
妊 娠 中 体 重 増 加 量 (g) ②	A	148	124	132	135	127
	B	—	—	—	—	—
出 産 後 体 重 増 加 量 (g) ③	A	-3	2	3	0	3
	B	—	—	—	—	—
交 尾 率 (%) (20日又は21日 以内)	A	60	75	65	60	85
	B	—	—	—	—	—
妊 娠 率 (%)	A	60	75	65	60	85
	B	—	—	—	—	—
妊 娠 期 間 (日)	A	21.8	22.4	22.4	22.3	22.0
	B	—	—	—	—	—
肉 眼 的 病 理 検 査		検体投与による肉眼的変化は なかった				

A: 第1回交配、B: 第2回交配、\*: 対照群、—: 検査該当なし

① F<sub>0</sub>は24週間、F<sub>1</sub>とF<sub>2</sub>は16週間の体重増加量

② (妊娠20日後体重)-(妊娠0日体重)

③ (出産21日後体重)-(出産0日体重)

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。

1. 親動物: 検体投与によると考えられる死亡及び症状はみられず、また、摂餌量も異常傾向はみられなかった。体重の変化も投与量に関する異常な傾向はなかった。交尾率、妊娠率、妊娠期間等全投与群ともに対照群とほぼ同等であった。肉眼的病理検査においても投与による変化はみられなかった。

世代		親:P 児:F <sub>1</sub> A, F <sub>1</sub> B					親:F <sub>1</sub> , 児:F <sub>2</sub> A							
投与量 (ppm)		0*	10	20	40	160	0	10	20	40	160			
出産時母動物数	A	8	10	6	7	5	18	14	17	19	18			
	B	15	15	12	13	12	—	—	—	—	—			
21日までの同腹児全死亡例数	A	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0			
	B	2	2	1	3	2	—	—	—	—	—			
児動物	同腹生存児数	出産時	A	11.0	12.4	10.8	13.3	10.5	12.7	11.6	12.6	13.1	12.2	
		B	11.0	14.2↑	9.7	13.9	13.0	—	—	—	—	—		
		4日	A	10.0	11.9	10.6	13.2	10.0	12.1	11.3	12.3	12.9	11.7	
		B	10.8	13.4	6.6	13.6	12.5	—	—	—	—	—		
		12日	A	—	—	—	—	—	11.9	11.1	12.1	12.5	11.6	
		B	8.5	10.6	7.8	12.4↑	10.0	—	—	—	—	—		
		21日	A	—	—	—	—	—	11.6	11.1	12.0	12.5	11.3	
		B	8.2	10.6	7.3	12.1↑	9.2	—	—	—	—	—		
		同腹死亡児率(%)	出産時	A	1.2	0	1.8	0	5.6	4.0	1.1	0.5	1.1	3.5
			B	6.2	0.5	8.1	3.6	4.3	—	—	—	—	—	
	4日		A	6.7	4.1	3.0	1.9	9.8	8.8	4.9	3.9	2.7	7.7	
	B		9.8	5.9	15.1	4.1	7.6	—	—	—	—	—		
	12日		A	—	—	—	—	—	10.2	5.8	5.4	5.5	8.2	
	B		28.3	23.9	21.7	14.0	24.5	—	—	—	—	—		
	4日以降は累積	21日	A	—	—	—	—	—	10.6	6.5	6.0	6.0	10.4	
		B	31.5	23.9	26.1	16.0	30.4	—	—	—	—	—		
		児体重(g)	出産時	A	6.7	6.8	7.1	6.9	6.5	6.7	6.7	6.6	6.7	6.5
			B	7.0	6.7	7.4	6.5	6.9	—	—	—	—	—	
			4日	A	11.7	10.9	10.6	11.2	10.7	10.5	11.3	10.3	10.5	10.6
			B	11.1	10.9	12.6	10.4	11.0	—	—	—	—	—	
12日	A		—	—	—	—	—	26.5	27.8	25.3	23.6↓	26.4		
B	27.3		26.9	31.4	24.2	28.4	—	—	—	—	—			
性比(雄/雌)	A	—	—	—	—	—	1.11	1.16	1.07	0.89	0.98			
	B	0.71	0.96	1.09	0.75	1.49	—	—	—	—	—			
肉眼的病理検査		検体投与による肉眼的変化はなかった												

A: 第1回交配、B: 第2回交配、—: 検査該当なし

Wilcoxonの検定法 ↑ ↓: 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。

世 代		親:F <sub>2</sub> 、児:F <sub>3</sub> A							
投 与 量 (ppm)		0*	10	20	40	160			
出産時母動物数	A	12	15	13	12	17			
	B	—	—	—	—	—			
21日までの同腹児 全死亡例数	A	0	1	0	1	1			
	B	—	—	—	—	—			
児 動 物	同 腹 生 存 児 数	出産時	A	13.3	10.7	10.6	13.5	11.1	
		B	—	—	—	—	—		
		4日	A	12.4	10.4	10.3	12.8	10.7	
		B	—	—	—	—	—		
		12日	A	11.3	10.0	9.6	11.5	8.8	
		B	—	—	—	—	—		
	同 腹 死 亡 児 率 (%)	出産時	A	2.4	2.7	4.6	1.9	0	
		B	—	—	—	—	—		
		4日	A	7.8	5.1	6.7	8.5	4.2↓	
		B	—	—	—	—	—		
		12日	A	14.9	8.1	11.9	17.1	19.0	
		B	—	—	—	—	—		
	4日以降 は累積	21日	A	15.4	10.2	11.9	17.1	19.0	
		B	—	—	—	—	—		
		児 体 重 (g)	出産時	A	6.6	6.9	6.7	6.3	6.9
			B	—	—	—	—	—	
			4日	A	10.7	11.7	10.6	10.7	10.7
			B	—	—	—	—	—	
12日	A		25.8	28.5	27.1	27.1	26.9		
B	—		—	—	—	—			
性 比 (雄/雌)	A	1.38	1.23	0.63	1.04	0.80			
	B	—	—	—	—	—			
肉眼的病理検査									

A: 第1回交配、B: 第2回交配、—: 検査該当なし

Wilcoxonの検定法 ↑ ↓: p<0.05

2. 児 動 物: 1腹当たり産児数は対照群とほぼ同等で異常はみられなかった。

平均児体重も全投与群ともにほぼ正常値内で検体投与による影響はみられなかった。

児動物の死亡率も正常値内で対照群とほぼ同等であった。

肉眼的病理検査、性比についても検体の影響はみられなかった。

以上の結果から、ラット3世代にわたってジフルベンズロン原体を飼料中に混入して投与した場合、160ppm投与群の親及び児動物に対して何ら影響がみられなかった。従って、申請者として最大無作用量は160ppm(10.1mg/kg)であると判断する。