

2) フロメトキン原体のマウスにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-8)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体純度 : %

供試動物 : 系 SPF マウス 、雌雄、投与開始時 5 週齢、
投与開始時体重 雄 ; 27.1~32.2 g、雌 ; 22.7~27.0 g、1 群雌雄各 10 匹

投与期間 : 91 日間 (雄 : ,
雌 :)

投与方法 : 検体を 0、50、125 及び 250 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間 (91 日間) にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に 1 回、投与期間中は 4 週に 1 回調製した。

用量設定根拠 ;

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死についての観察を毎日 1 回以上行い、触診を含む観察を毎週 1 回行なった。

いずれの用量群の雌雄においても、死亡動物はみられず、検体投与に関連した一般状態の異常も認められなかった。

体重変化 ; 投与開始時及び投与期間中毎週 1 回、全動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的に有意な差あるいは検体投与の影響が認められた検査時期を下表に示す。

投与週	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	125	250	50	125	250
1			↓84			↓89
2			↓85			93
3			↓87			94
4			↓88			95
5			↓88			92
6			↓91			94
7			↓91			92
8			↓88			↓89
9			↓89			↓88
10			↓90			↓89
11			↓89			↓85
12			↓88			↓86
13			↓90			↓87

Dunnett の多重比較検定 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの

250 ppm 群の雄の体重は投与期間を通じて有意に低い値で推移した。雌の体重も投与期間を通じて概ね低い値で推移し、投与 1 及び 8~13 週には統計学的有意差が認められた。125 ppm 群の雌雄の体重は、統計学的有意差はなかったものの投与期間を通じて対照群と比較して低く推移し、検体投与の影響が考えられた。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量（連続 3 日分）を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

投与週	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	125	250	50	125	250
1		↓80	↓61		↓79	↓58
2			↓70			↓59
3			↓75			↓75
4			↓75			↓80
5			↓83			↓71
6			↓77			
7			↓76			↓73
8			↓75		↓83	↓68
9			↓85			
10			↓75			↓69
11			↓79			↓71
12			↓79			↓77
13						↓67
総平均摂取量	102	93	76	100	90	71

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

250 ppm 群の雌雄の摂取量は、概ね投与期間を通じて有意に低い値で推移した。これらの減少は投与 1 ないし 2 週時に顕著であり、投与 1 週時には顕著な食餌効率の低下もみられた。125 ppm 群では、雌雄とも投与 1 週時の摂取量が有意に減少し、雌では投与 8 週時にも有意な減少がみられた。これらの変化は検体混合飼料に対する摂餌忌避を一因とする検体投与の影響と考えられた。50 ppm 群の雌雄の摂取量は、投与期間を通じておおむね対照群と同等であった。125 及び 50 ppm 群の雌雄の食餌効率に明らかな変化はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の総平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		50	125	250
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	7.10	16.7	29.9
	雌	7.66	18.5	30.5

血液学的検査；13 週間投与終了後、全動物を対象として、後大静脈より採血し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、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、赤血球容積分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板数、網赤血球数、白血球数、白血球のディファレンシャルカウント（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球）

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。

検査項目	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	125	250	50	125	250
血色素量						↓94
平均赤血球血色素濃度						↓96
赤血球血色素濃度分布幅			↓92			↓91
好酸球数			↓33			↓29

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの

250 ppm 群の雌で血色素量、平均赤血球血色素濃度及び赤血球血色素濃度分布幅の有意な低値が観察された。これらの変化は検体投与に関連した変化であると判断した。赤血球血色素濃度分布幅の有意な低値は同群の雄でも観察されたが、これらの動物では他の赤血球関連項目の変動を伴っていないことから、検体投与の毒性を示すものとは考えなかった。また、250 ppm 群の雌雄では好酸球数が有意な低値を示したが、これらの減少には臨床的意義が乏しく、毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査時で採取した血液の一部から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ、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、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン

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。

検査項目	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	125	250	50	125	250
アルカリホスファターゼ			↑184			
尿素窒素						↑126
総蛋白		↓95	↓89		↓93	↓88
アルブミン		↓94	↓92		↓94	↓92
グロブリン			↓85			↓81
血糖					↓89	
総コレステロール		↓69			↓74	
総ビリルビン			↓75			↓67
無機リン			↑136			↑129

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

250 ppm 群の雄でアルカリホスファターゼが有意な高値を示した。これらの変化は 28 日間反復経口投与毒性試験でも認められていることから¹⁾、検体投与の影響と考えられた。

250 ppm 群の雌雄では総蛋白、アルブミン及びグロブリンが有意な低値を示し、125 ppm 群の雌雄でも総蛋白及びアルブミンが有意な低値を示した。これらの変化は検体投与による摂餌量の低下及び体重増加抑制に起因すると考えられた。

250 ppm 群の雌雄では無機リンの有意な高値が観察され、雌では尿素窒素も有意な高値を示し、検体の腎臓に対する影響が示唆された。

250 ppm 群の雌雄では総ビリルビンの有意な低値が観察されたが、当該試験では重度の貧血は観察されていないことから、本変化は検体の毒性を示すものではないと考えられた。

125 ppm 群の雌雄では総コレステロールの有意な低値が、雌では血糖の有意な低値が観察されたが、用量との関連性が明らかではないことから、検体投与との関連性はないと判断した。

臓器重量；13 週間投与終了後に全動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、胸腺、肝臓 (胆のうを含む)、腎臓 (両側)、脾臓、副腎 (両側)、精巣 (両側)、精巣上体 (両側)、卵巣 (両側)、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。

臓器		性別及び投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		50	125	250	50	125	250
最終体重							
脳：	絶対重量						
心臓：	絶対重量						
肝臓：	体重比						
卵巣：	絶対重量 体重比						
子宮：	絶対重量 体重比						

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

250 ppm 群の雌雄で肝臓の体重比（相対重量）の有意な増加が認められた。肉眼的及び組織学的には肝臓に変化は認められなかったが、検体投与による影響と判断した。250 ppm 群の雌で卵巣及び子宮の絶対及び相対重量の有意な減少がみられ、病理組織学的検査では両臓器の萎縮が観察された。同様の変化はラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 毒-7）でも観察されていることから、検体投与の影響と判断した。

250 ppm 群の雌雄の脳及び雌の心臓の絶対重量が有意に減少したが、これらは低体重による二次的変化と考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了後に全動物を対象として検査した。

いずれの投与群の雌雄にも、対照群と比べ明らかな差の認められた所見はなかった。

病理組織学的検査；投与終了後に対照群及び 250 ppm 群の全動物を対象とし、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理組織標本を作製して鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経（片側）、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨及び骨髓（胸骨、片側大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精のう（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（角部及び頸部）、膈、眼球（網膜及び視神経を含む、両側）、ハーダー腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、膝

関節（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部の相当部）、肉眼的異常部位
さらに 50 及び 125 ppm 群の全動物について以下の組織について病理組織標本
を作製して鏡検した。

肝臓、腎臓、卵巣、子宮、肉眼的異常部位

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

臓器	性別	雄				雌			
		0	50	125	250	0	50	125	250
腎臓	所見\検査動物数								
	尿細管好塩基性化								
卵巣	所見\検査動物数								
	萎縮								
子宮角部	所見\検査動物数								
	萎縮								
子宮頸部	所見\検査動物数								
	萎縮								

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

250 ppm 群の雌雄で腎臓の尿細管好塩基性化の発生頻度が増加した。また、雌
では卵巣、子宮角部及び子宮頸部の萎縮の発生頻度が増加した。これらの増加
はいずれも統計学的に有意であったことから検体投与の影響と考えられた。

以上のように、本検体をマウスに 90 日間混餌反復投与したところ、検体投与の影響とし
て、250 ppm 群において雌雄で体重増加抑制及び摂餌量の減少、総蛋白、アルブミン及び
グロブリンの低値ならびに無機リンの高値が認められ、雄でアルカリホスファターゼの高
値、雌で血色素量、平均赤血球血色素濃度及び赤血球血色素濃度分布幅の低値、尿素窒素
の高値が認められた。さらに雌雄の肝臓の相対重量が増加し、雌では卵巣と子宮の絶対及
び相対重量が減少した。病理組織学的検査では、雌雄で腎臓の尿細管好塩基性化、雌の卵
巣、子宮角部及び子宮頸部の萎縮の発生頻度が増加した。125 ppm 群では、雌雄ともに体
重及び摂餌量の低値傾向ならびに総蛋白及びアルブミンの低値が認められた。したがって、
本試験条件下における検体の ICR 系マウスにおける無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 50 ppm
(雄 7.10 mg/kg/day、雌 7.66 mg/kg/day) と判断された。

参考文献

- 1) ANM-138 原体のマウスにおける 28 日間反復経口投与毒性試験

3) フロメトキン原体のイヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

供試動物：ビーグル犬、雌雄、投与開始時 6 カ月齢、投与開始時体重 雄；8.5～10.4 kg、
雌；7.9～9.8 kg、1 群雌雄各 4 匹

投与期間：91 または 92 日間 (雄、
雌)

投与方法：検体を 1.25、2.5 及び 5 mg/kg/day の投与量でゼラチンカプセルに封入し、1 日
1 回、毎日、91 または 92 日間にわたって強制経口投与した。対照群にはゼラチ
ンカプセルのみを投与した。カプセル調製は週 1 回以上実施した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

いずれの投与群でも死亡例はなかった。

検体投与に関連すると考えられる症状を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	1.25	2.5	5	0	1.25	2.5	5
投与量 (mg/kg/day)								
所見/検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
飼料嘔吐	1	2	4	4	1	3	4	4

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ∩∪、 $p \leq 0.01$

5 及び 2.5 mg/kg/day 群の雌雄全頭で飼料嘔吐が観察された。対照群では雌雄各
1 頭で 13 週間の投与期間のうち本所見が認められたのは 1～3 週であったのに

対し、5 mg/kg/day 群では雄 2 頭及び雌 3 頭、2.5 mg/kg/day では雄 2 頭及び雌 3 頭で 13 週間のうち 4 週以上に本所見が認められ、これらの投与群で本所見の発現週数の増加が示された。したがって、これらの投与群の飼料嘔吐は検体投与による影響と考えられた。

1.25 mg/kg/day 群では雄 2 頭及び雌 3 頭で飼料嘔吐が観察されたものの、その発現週数（13 週間のうち 1~3 週）は対照群とほぼ同等であったため、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前及び投与期間中に週 1 回、全動物を対象として、以下の項目を観察した。

ケージ内 [活動性、体位・姿勢、異常行動・常同行動、振戦、痙攣（間代性、強直性）]、ケージから取り出す時 [社交性（友好的、無関心、攻撃的）]、オープンフィールド [活動性（探索行動を含む）、体位・姿勢、異常行動・常同行動、振戦、痙攣、歩行状態（運動協調性を含む）、呼吸状態、皮膚・被毛の状態（脱毛など）、眼球の状態、眼瞼の状態（閉鎖の程度）、瞳孔の状態（散瞳、縮瞳）、流涙、流涎、分泌物（眼、耳孔、鼻孔、膣などからの分泌物）、眼球結膜・口腔粘膜の状態（貧血、充血）、異常発声、排便、排尿、鋭い音に対する反応、接触刺激に対する反応]、触診 [外皮（指間・趾間部の腫脹、爪の異常）、筋肉（発達、緊張度）]

いずれの投与群でも雌雄ともに検体投与に関連した異常はみられなかった。

体重変化；投与開始 7 日前、投与開始時及び投与期間中に週 1 回、全動物の体重を測定した。

5 mg/kg/day 群の雌 2 頭で投与期間を通じた体重増加量（2 頭とも 0.2 kg）が対照群（個体別値は 0.4~1.3 kg）よりも低値を示し、体重増加抑制が認められた。これらの動物では検体投与による飼料嘔吐が観察されており、体重増加抑制との関連が推察された。

5 mg/kg/day 群の雄ならびに 2.5 及び 1.25 mg/kg/day 群の雌雄の体重増加量は対照群との間に差がなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

5 mg/kg/day 群の雌 1 頭で摂餌量が投与期間を通じて低値傾向を示し、投与期間を通じて平均摂餌量（266 g/dog/day）が対照群（個体別値は 280~300 g/dog/day）よりも低値を示した。当該動物では本変化に関連して体重増加抑制が認められた。

5 mg/kg/day 群の雄ならびに 2.5 及び 1.25 mg/kg/day 群の雌雄の摂餌量は対照群との間に差がなかった。

血液学的検査；投与開始前ならびに投与 7 及び 13 週時に全動物を対象として、橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、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、赤血球容積分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板数、網赤血球数、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、白血球数、白血球のディファレンシャルカウント（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球）

さらに、投与終了後に全動物の胸骨から骨髓を採取し、骨髓有核細胞数を測定した。

いずれの投与群の雌雄でも対照群と比較して有意な変化を示した検査項目はなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で採取した血液の一部から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ、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、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

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。

検査項目	検査時期 (週)	性別及び投与量 (mg/kg/day)					
		雄			雌		
		1.25	2.5	5	1.25	2.5	5
カリウム	7				↑108		

Dunnett の多重比較検定： $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

1.25 mg/kg/day 群の雌でカリウムが投与 7 週時に有意な高値を示したが、用量との関連性はなく、投与に関連するとは考えられなかった。

尿検査；投与開始前ならびに投与 7 及び 13 週時に全動物を対象として、以下の項目を検査した。

比重、ウロビリノーゲン、蛋白質、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

いずれの投与群の雌雄でも検体投与に関連した異常はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与 13 週時に全動物を対象として検査した。

雌雄いずれの動物でも異常は認められなかった。

臓器重量；投与終了後に全動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、心臓、胸腺、肝臓（胆のうを含む）、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮
 対照群と比べ傾向の認められた項目を下表に示す。

検査項目		性別及び投与量 (mg/kg/day)					
		雄			雌		
		1.25	2.5	5	1.25	2.5	5
肝臓	絶対重量						
	体重比						

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの

5 mg/kg/day 群の雌で肝臓の絶対重量及び体重比が高い傾向にあった。同変化は本検体のイヌ 28 日間反復経口投与毒性試験¹においても 5 mg/kg/day 群の雄で認められていることから、検体投与の影響であると考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了後に全動物を対象として検査した。

検体投与群で認められた所見の発生頻度は対照群と差がなかった。

病理組織学的検査；投与終了後に全動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経（筋肉に近い部分）、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓（中央部及び尾部）、骨及び骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓（左心壁、右心壁及び弁膜部を含む心室中隔）、大動脈、咽頭、唾液腺（下顎腺及び耳下腺）、食道、胃（噴門部、胃底部及び幽門部）、肝臓（外側左葉、外側右葉及び肝門部）、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸（パイエル氏板を含む）、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺（主要気管支を含む右葉起始部、左後葉及び右後葉）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮（角部、体部及び頸管部）、膈、眼球（網膜及び視神経を含む）、涙腺、下腿三頭筋、皮膚（腰背部）、乳腺、肉眼的異常部位

検体投与群で認められた所見の発生頻度は対照群と差がなかった。

以上の結果から、本検体をカプセルに封入してイヌに 90 日間反復経口投与したところ、検体投与の影響として、5 及び 2.5 mg/kg/day 群の雌雄で飼料嘔吐が認められ、5 mg/kg/day 群の雌では体重増加抑制、摂餌量の減少及び肝臓重量の増加も認められた。したがって、本試験条件下における検体のイヌにおける無毒性量（NOAEL）は雌雄とも 1.25 mg/kg/day であると判断された。

参考文献

- 1) ANM-138 原体のイヌにおける 28 日間反復経口投与毒性試験

(7) 21日間反復経皮投与毒性試験

試験成績提出除外理由

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）の運用について（13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知）の「4. 試験成績の除外について」の（2）の⑩のイの規定に基づき、下記の理由により試験を省略した。

・急性経皮毒性試験の結果から、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験成績提出の除外に該当。

(8) 90日間反復吸入毒性試験

試験成績提出除外理由

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）の運用について（13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知）の「4. 試験成績の除外について」の（2）の⑩のイの規定に基づき、下記の理由により試験を省略した。

・急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験成績提出の除外に該当。

(9) 反復経口投与神経毒性試験

試験成績提出除外理由

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知）の運用について（13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知）の「4. 試験成績の除外について」の（2）の⑫のアの規定に基づき、下記の理由により試験を省略した。

90 日間反復経口投与毒性試験の結果から、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められず、かつ、既知神経毒性物質と化学構造に類似性がないため。

以下に 90 日間反復経口投与毒性試験の概要及び本農薬の反復経口投与神経毒性に対する考察を記す。

ラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験（毒性資料 毒-7）：

Fischer 系ラット雌雄各 10 匹に検体を 0、30、60、120 及び 240 ppm（それぞれ雄；1.80、3.61、7.05 及び 13.9 mg/kg 体重/day、雌；2.12、4.27、8.48 及び 14.8 mg/kg 体重/day）の濃度で 90 日間混餌投与し、一般症状の観察、行動、自発運動量、握力、感覚反応等の機能観察、眼科学的検査、脳重量及び脳・神経組織の病理組織学的検査を含む検査を実施した。この結果、何れの投与群においても投与による神経毒性を示す所見は認められなかった。

反復経口投与神経毒性試験に関する考察：

本農薬の 90 日間反復経口投与毒性試験の結果から、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められなかったため、本農薬の反復暴露により神経系に重篤な影響を及ぼす可能性は低いものと考えられた。

(10) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性試験

試験成績提出除外理由

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）の運用について（13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知）の「4. 試験成績の除外について」の（2）の⑬の規定に基づき、下記の理由により試験を省略した。

- ・急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要があると認められるため試験を省略する。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性試験

1) フロメトキン原体のラットにおける1年間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-10)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 : %

供試動物 : 系ラット、雌雄、投与開始時5週齢、
投与開始時体重 雄 ; 92~106 g、雌 ; 80~96 g、1群雌雄各 20 匹

投与期間 : 1年間 (52 週間) (雄、雌)

投与方法 : 検体を 0、15、30、90 及び 180 ppm の濃度で飼料に混入し、1年間にわたって随時
摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に 1 回、投与期間中は 2 週に 1 回調
製した。

用量設定根拠 :

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、触診を含む観察を週 1 回
行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた症状を下表に示す。

性別	雄					雌				
投与量 (ppm)	0	15	30	90	180	0	15	30	90	180
所見/検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
皮膚： 赤色物付着	0	1	0	1	0	6	↓0	↓1	↓1	4

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

90、30 及び 15 ppm 群の雌で皮膚の赤色物付着の発生頻度が有意に減少したが、用量との関連性がなく、投与に関連するとは考えられなかった。

30 ppm 群の雄 1 例が投与 28 週時に死亡したが、死因は大脳の自然発生性腫瘍（稀突起膠細胞腫）で、検体投与との関連はないと考えられた。

詳細な状態の観察；投与開始前及び投与期間中に週 1 回、全生存動物を対象として、以下の項目を観察した。

ケージ内 [興奮、鎮静、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）、ハンドリング [取り扱い難さ、筋緊張の変化（亢進、低下）、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化（散瞳、縮瞳）、流涎、流涙、分泌物（鼻孔、耳孔、臆などからの分泌物）、眼球突出、体温の変化（上昇、下降）、呼吸異常音、被毛の変化（外陰部湿潤）、皮膚及び可視粘膜の変化（充血）]、オープンフィールド [跳躍、旋回、痙攣、歩様異常（運動協調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など）、自発運動（亢進、低下）、身づくろい動作（頻度）、立ち上がり姿勢（頻度）、呼吸（促迫、緩徐）、発声、立毛、排尿（回数）、排便（回数）、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）]

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。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	15	30	90	180	0	15	30	90	180
2	所見/検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	排尿					↑					
	スコア 0	20	18	19	18	13	18	20	20	20	18
	スコア 1	0	2	1	2	7	2	0	0	0	2
	スコア 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	スコア 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	所見/検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	立ち上がり姿勢		↑								
	スコア 0	20	16	18	20	20	20	17	18	19	19
	スコア 1	0	4	2	0	0	0	3	2	1	1
	スコア 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	スコア 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	所見/検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	立ち上がり姿勢									↑	
	スコア 0	20	19	19	20	17	19	18	20	14	19
	スコア 1	0	1	1	0	3	1	2	0	6	1
	スコア 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	スコア 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	所見/検査動物数	20	20	19	20	20	20	20	20	20	20
	立ち上がり姿勢									↑	
	スコア 0	20	20	19	20	20	20	20	20	17	20
	スコア 1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
	スコア 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	スコア 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

排尿；スコア 0=なし、1=1~2回、2=3~4回、3=5回以上（観察期間中の回数）

立ち上がり姿勢；スコア 0=なし、1=時々、2=頻繁（観察期間中の約半分）、3=持続的（観察期間中のほとんどすべて）

統計学的に有意な変動が散見されたが、いずれも一過性の変化であるか、あるいは用量との関連性がなく、検体投与の影響とは考えられなかった。

機能検査；投与 49 週時に各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の項目を検査した。

自発運動量、握力（前肢、後肢）、感覚運動反応（位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応、空中立ち直り反射）

いずれの投与群の雌雄でも対照群と比較して有意に増減した項目はなかった。

体重変化；投与開始時、投与1週から13週までは週1回、投与16週から投与終了時までには4週に1回、全生存動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

投与週	性別及び投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	15	30	90	180	15	30	90	180
1				↓96				↓95
2				↓96				↓94
3				↓95				↓93
4				↓95				↓91
5				↓95				↓89
6				↓95				↓90
7				↓95				↓90
8				↓94				↓89
9				↓95				↓89
10				↓95				↓89
11				↓95				↓88
12				↓95				↓88
13				↓95				↓88
16				↓94			↓96	↓86
20				↓95				↓89
24				↓95				↓87
28				↓95				↓86
32				↓95				↓89
36				↓95				↓89
40				↓95				↓87
44				↓95			↓95	↓87
48				↓95			↓95	↓86
52				↓95			↓96	↓85

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↓↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

180 ppm 群の雌雄の体重は投与期間を通じて対照群に比べ有意に低い値で推移し、検体投与による明らかな体重増加抑制が観察された。90 ppm 群の雌でも投与期間

の後半に体重が有意に低値を示し、検体投与の影響が考えられた。

摂餌量及び食餌効率；投与1週から13週までは週1回、投与16週から投与終了時までには4週に1回、全生存動物の摂餌量（連続4日分）を測定し、投与開始から投与13週までの食餌効率も算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

投与週	性別及び投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	15	30	90	180	15	30	90	180
1				↓91				↓90
2				↓92				↓90
3				↓93				↓88
4				↓92				↓84
5				↓92				↓82
6				↓95				↓83
7				↓94				↓84
8				↓95				↓81
9					↑108			↓91
10								↓84
11				↓94				↓85
12				↓94	↑104			↓84
13				↓92	↑104			↓86
16				↓83				↓81
20								↓88
24				↓94				↓84
28				↓87				↓78
32				↓92		↓94		↓88
36								↓90
40								↓84
44				↓94				↓86
48				↓91				↓86
52				↓94				↓84
1~52 総平均	101	100	98	92	101	99	98	84

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの

180 ppm 群の雌雄の摂餌量はほぼ投与期間を通じて対照群に比べ有意に低い値で推移した。摂餌量及び体重の低下は 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 毒-7）の高用量（240 ppm）群においても観察されており、検体混合飼料に対する摂餌忌避を一因とする検体投与の影響と考えられた。

その他に認められた 30 及び 15 ppm 群の有意な変動は用量との関連性がなく、投与に関連するとは考えられなかった。

食餌効率については、いずれの投与群の雌雄でも対照群との間に差はなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		15	30	90	180
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.649	1.28	3.84	7.42
	雌	0.815	1.60	4.82	9.17

血液学的検査；14、26 及び 52 週間投与終了後に各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の項目を測定した。14 及び 26 週間投与終了後には頸静脈から、52 週間投与終了後には後大静脈から血液を採取した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、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、赤血球容積分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板数、網赤血球数、白血球数、白血球のディファレンシャルカウント [リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球]、

52 週間投与終了後にはプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間も測定した。さらに、52 週間投与終了後に血液学的検査対象動物の大腿骨から骨髓を採取し、骨髓有核細胞数を測定した。

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。

検査項目	検査 時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		15	30	90	180	15	30	90	180
ヘマトクリット値	52				↓97				↓96
血色素量	52				↓97				↓96
赤血球数	14							↓98	↓98
	26								↓97
	52								↓95
平均赤血球血色素量	26								↑101
赤血球血色素濃度分布幅	14		↑103						
網赤血球数	14								↑118
白血球数	52								↑117
リンパ球数	26			↑122					
	52								↑123
好中球数	14	↑125							
単球数	14							↓71	
好酸球数	52				↓67				
大型非染色球	14					↓63		↓50	↓75

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

180 ppm 群において雌雄のヘマトクリット値及び血色素量ならびに雌の赤血球数が有意に低値を示し、雌の平均赤血球血色素量、網赤血球数、白血球数及びリンパ球数が有意に高値を示した。これらの変化は高用量群でみられていることから、検体投与の影響と判断した。ただし、白血球数及びリンパ球数の有意な高値についてはこれらの変化と関連する病理組織学的所見は観察されていないことから、その毒性的意義は不明であった。また、同群の雄で好酸球数が有意に低値を示したが、好酸球数はもともと数の少ない細胞であることから、その減少に毒性的意義はないと判断した。90 ppm 群の雌でも赤血球数が一過性に有意に低値を示したが、前述の 180 ppm 群のように Ht や血色素量などの貧血関連項目に変化はなく、また、90 日間反復経口投与毒性試験（資料 毒-7）の 120 ppm 群においても赤血球数を含む貧血関連項目に変化が認められていないことから、偶発的变化と判断した。

<申請者注：雌の各群にみられた大型非染色球数(LUC)の有意な低値については、14 週のみの変化であり、投与量との対応も乏しいことから、検体投与との関連性はないと判断された。>

その他 90、30 及び 15ppm 群に有意な変動が認められたが、これらは用量との関連性がなく、検体投与に関連するとは考えられなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で採取した血液の一部から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ、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、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

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。

検査項目	検査 時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		15	30	90	180	15	30	90	180
アルカリホスファターゼ	26				↓87				
	52				↓83				
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	52								↓76
アラニンアミノトランスフェラーゼ	14				↓82				
	26								↓68
	52								↓62
γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ	14								↑200
尿素窒素	52	↓91							
総蛋白	14								↓93
	26								↓94
アルブミン	14								↓94
	26								↓95
グロブリン	14								↓90
	26								↓92
アルブミン/グロブリン比	52	↓92							
総コレステロール	14				↓81			↓81	↓70
	26				↓81		↓91	↓84	↓77
	52			↓86	↓83			↓83	↓71
トリグリセライド	14				↓62				
	26				↓64			↓60	↓58
	52	↓76			↓57				↓40
カルシウム	14								↓93
	26								↓96
	52				↓97				↓96

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

180 ppm 群の雌雄又は雌雄のどちらかでアルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及び/またはアラニンアミノトランスフェラーゼの有意な低値が散見され、同群の雌で γ -グルタミルトランスペプチダーゼの有意な高値がみられた。いずれも高用量群に認められた変化であることから、検体投与の影響と考えられ、後述する肝臓への影響との関連性が示唆された。しかし、一般にアルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼについてはその上昇において肝臓の障害を反映するとされていることから、これらの変化はいずれも毒性学的意義は乏しいと考えられた。

さらに、180 ppm 群の雌雄では総コレステロール及びトリグリセライドがほぼ投与期間を通して有意に低値を示した。また、同群の雌で総蛋白、アルブミン及びグロブリンの有意な低値がみられ、同群の雌雄でカルシウムの有意な低値がみられた。90 ppm 群でも雌雄の総コレステロール及び雌のトリグリセライドの有意な低値がみられた。180 及び 90 ppm 群におけるこれら血漿脂質、蛋白及び/またはカルシウムの変化は、検体投与による摂餌量の低下や体重増加抑制による栄養状態の悪化を反映したものであり^{1,2}、さらに、後述する肝臓への影響も関連する変化と考えられた。

30 ppm 群の雌でも総コレステロールの有意な低値が観察されたが、これらの動物の測定値 (71~88 mg/dL) は同研究所の背景値の範囲 (61~124 mg/dL) 内であり、この群では体重や肝臓への影響も認められず、この変化は検体投与の影響とは考えられなかった。

15 ppm 群の雌雄に認められた有意な変動は用量との関連性がなく、投与に関連するとは考えられなかった。

尿検査：投与 13、25 及び 51 週時に各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の項目を検査した。
尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、ウロビリノーゲン、尿色、尿量、尿沈渣

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。

定量的検査

検査項目	検査時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		15	30	90	180	15	30	90	180
尿比重	25								↑101
尿量	13								↓83
	51						↓70	↓80	↓79

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

準定量的検査

	検査 時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)									
		雄					雌				
		0	15	30	90	180	0	15	30	90	180
所見/検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
ビリルビン	25										↑
—							9	8	7	9	2
+							1	2	3	1	8
ビリルビン	51										↑
—							10	10	10	10	6
+											4
ケトン体	25										↑
—										1	
±							6	4	4	5	
+							4	6	6	4	10

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

180 ppm 群の雌で尿比重、ビリルビン及びケトン体が有意に上昇し、尿量の有意な低下が認められた。これらは高用量群に認められた変化であること、また尿比重、ビリルビン及びケトン体については同様の変化が 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 毒-7）の 240 ppm 群においても観察されていることから、検体投与の影響と判断した。尿比重及びケトン体の上昇と尿量の低下は、いずれも摂餌量の低下に起因した飲水量の低下や生体内の脂質の利用亢進によるものと考えられた。ビリルビンの上昇については、血液中の総ビリルビンに上昇がみられないことから、その毒性学的意義は不明であった。

90 及び 30 ppm 群の雌でも尿量の有意な低下が観察されたが、低下の程度は 90 ppm 群よりも 30 ppm 群で顕著であり、用量との関連性が明確でないこと、また、摂餌量の低下等、関連する変化も認められないことから、これらはいずれも偶発的な変化と考えられた。

眼科学的検査；投与開始前に全動物を対象として、投与 52 週時に対照群及び 180 ppm 群の全動物を対象として検査した。

検体投与に関連した異常は認められなかった。

臓器重量；投与終了後に各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮

対照群と比べ統計学的有意差または傾向の認められた項目を下表に示す。

検査項目	性別及び投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	15	30	90	180	15	30	90	180
最終体重								
脳	体重比							
下垂体	絶対重量							
	体重比							
心臓	絶対重量							
	体重比							
肝臓	絶対重量							
	体重比							
腎臓	絶対重量							
	体重比							
脾臓	絶対重量							
精巣	体重比							
卵巣	絶対重量							
	体重比							

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ♂♀、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

<> : 有意差はみられないが、参考値として記載した

180 ppm 群の雌で卵巣の絶対重量及び相対重量（体重比）が有意に低値を、下垂体の絶対重量及び体重比が有意に高値を示し、これらの臓器には、関連する病理組織学的所見（後述）が認められ、検体投与の影響が考えられた。肝臓については、関連する病理組織学的所見（後述）が雌雄ともに認められたことから、雌雄の体重比の高値には検体投与が直接的に影響している可能性も考えられた。180 ppm 群の雌雄で認められたその他の臓器重量の有意な変動は、いずれも検体投与による体重の低下に起因している可能性が示唆された^{1,3,5}。

90 ppm 群の雌で心臓の体重比が有意に上昇したが、これは同群の体重増加抑制に関連した変化と考えられた。

15 ppm 群雄に認められた腎臓体重比の有意な変動は用量との関連性がなく、投与に関連するとは考えられなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡動物及び投与終了後の全生存動物を対象として検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

性別	雄					雌				
投与量 (ppm)	0	15	30	90	180	0	15	30	90	180
所見/検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
下垂体： 点・斑										

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p < 0.05$ ↑↑、 $p < 0.01$

180 ppm 群の雌で下垂体の点あるいは斑の発生頻度が有意に増加した。この肉眼所見は病理組織学的に前葉のう胞または前葉細胞過形成に相当した。しかし、いずれも対照群にも認められ、発生頻度に投与の影響は認められない（前葉のう胞：対照群 3/20 例及び 180 ppm 群 6/20 例、前葉細胞過形成：対照群 5/20 例及び 180 ppm 群 4/20 例、いずれも Fisher の直接確率計算法で $p > 0.05$ ）ことから、下垂体の肉眼所見の増加は偶発的であり検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

病理組織学的検査；途中死亡動物ならびに対照群及び 180 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、凝固腺、卵巣、子宮（角部及び頸部）、膈、眼球（網膜及び視神経を含む）、ハーダ一腺、眼窩外涙腺、下腿三頭筋、膝関節、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）、肉眼的異常部位

90、30 及び 15 ppm 群では雌雄の肝臓及び肉眼的異常部位、雌の卵巣及び下垂体について病理標本作製し、鏡検した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

臓器	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	15	30	90	180	0	15	30	90	180
肝臓	所見/検査動物数										
	びまん性肝細胞脂肪化										
卵巣	所見/検査動物数										
	萎縮										
下垂体	所見/検査動物数										
	好塩基性細胞肥大										

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p < 0.05$ ↑↑、 $p < 0.01$

— : 検査せず

180 ppm 群の雌で卵巣の萎縮及び下垂体の好塩基性細胞肥大の発生頻度が有意に増加した。同様の所見は 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-7) においても観察されており、いずれも検体投与の影響と判断した。180 ppm 群の雌雄でびまん性肝細胞脂肪化の発生頻度が有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。

90、30 及び 15 ppm 群の雌雄では、いずれの病変においても対照群との間に発生頻度の差は認められなかった。

以上の結果から、本検体をラットに 1 年間(52 週間)混餌反復経口投与したところ、検体投与の影響として、180 ppm 群において雌雄ともに体重増加抑制及び摂餌量の低下が生じ、これらの変化に関連して雌雄で血漿蛋白及び/または脂質の低下、ならびに臓器重量の変動が認められるとともに、雌では尿検査項目の変化も認められた。また、雌雄で貧血及び肝臓への影響、雌で卵巣及び下垂体への影響も認められた。90 ppm 群においても雌雄で血漿脂質が低下し、雌で体重増加抑制及び臓器重量の変動が認められた。これらの結果から、本試験条件下における検体の F344 系ラットにおける無毒性量は、雌雄とも 30 ppm (雄 1.28 mg/kg/day、雌 1.60 mg/kg/day) であると判断された。

参考文献

- 1) Oishi, S., Oishi, H., and Hiraga, K. The effect of food restriction for 4 weeks on common toxicity parameters in male rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 47:15-22, 1979.
- 2) Hubert, M.F., Laroque, P., Gillet, J.P., and Keenan, K.P. The effects of diet, ad Libitum feeding, and moderate and severe dietary restriction on body weight, survival, clinical pathology parameters, and cause of death in control Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Sci.* 58:195-207, 2000.
- 3) Levin, S., Semler, D., and Ruben, Z. Effects of two weeks of feed restriction on some common toxicologic parameters in Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Pathol.* 21:1-14, 1993.
- 4) Moriyama, T., Tsujioka, S., Ohira, T., Nonaka, S., Ikeda, H., Sugiura, H., Tomohiro, M., Samura, K.,

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

and Nishikibe, M. Effects of reduced food intake on toxicity study parameters in rats. J. Toxicol. Sci. 33:537-547, 2008.

- 5) Feron, V.J., de Groot, A.P., Spanjers, M.T., and Til, H.P. An evaluation of the criterion "organ weight" under conditions of growth retardation. Food Cosmet. Toxicol. 11:85-94, 1973.

2) フロメトキン原体のイヌにおける1年間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-11)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: %

供試動物: 犬、雌雄、投与開始時5~6カ月齢、
投与開始時体重 雄; 8.4~10.3 kg、雌; 7.9~9.9 kg、1群雌雄各4匹

投与期間: 1年間 (52週間) (雄、
雌)

投与方法: 検体を1.25、2.5及び5 mg/kg/dayの投与量でゼラチンカプセルに封入し、1日1回、毎日、1年間にわたって強制経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを投与した。カプセル調製は週1回以上実施した。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

いずれの投与群でも死亡例はなかった。

検体投与に関連すると考えられる症状及び対照群と比べ傾向の認められた症状をとその発現個体数を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	1.25	2.5	5	0	1.25	2.5	5
投与量 (mg/kg/day)								
所見/検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
飼料嘔吐	2	3	3*	4*	4	3	4*	4*
軟便	2	1	1	3**	1	0	1	2
粘液便	1	2	3	4	2	2	3	1

Fisherの直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

*：10週以上の嘔吐発現を示す個体を含む

**：32週にわたり軟便発現を示す個体を含む

飼料嘔吐の発現週数が5 mg/kg/day 群の雄全頭（16～37週）及び雌2頭（8～10週）ならびに2.5 mg/kg/day 群の雄2頭（8～10週）及び雌3頭（10～16週）で対照群（個体別値は雄0～2週、雌1～3週）と比較し増加した。これらの群では、背景データの最大値である6週より明らかに高い10週以上の嘔吐発現を示す個体が認められた。飼料嘔吐は90日間反復経口投与毒性試験（資料 毒-9）においても5及び2.5 mg/kg/day 群の雌雄で認められていることから、これらの動物でみられた飼料嘔吐の発現週数の増加は検体投与の影響であると考えられた。1.25 mg/kg/day 群の雌雄各1頭（6～7週）でも飼料嘔吐の発現週数は対照群と比較し増加したが、これらの動物の飼料嘔吐の発現週数は背景データ（0～6週）の最大値とほぼ同等であり、検体投与に起因する変化とは考えなかった。5 mg/kg/day 群の雄1頭で32週にわたって軟便の発現がみられた。この変化は4頭中1頭でのみみられた変化だったが、その発現頻度は対照群（個体別値は0～1週）と比較し明らかに高かったことから、検体投与の影響であると考えられた。

また、5 mg/kg/day 群の雄全頭で粘液便が観察され、その発生個体数は対照群と比較し増加傾向を示した。しかし、それらの発生頻度あるいは発現週数に対照群と比較して明らかな差はなく、偶発的な変化であると判断した。

詳細な状態の観察；投与開始前及び投与期間中に週1回、全動物を対象として、以下の項目を観察した。

ケージ内〔自発運動、異常体位/姿勢（頭部、四肢、体躯などの状態）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）、振戦、痙攣（強直性・間代性痙攣）〕、ケージから取り出し時の社交性、オープンフィールド〔自発運動、異常体位/姿勢（頭部、四肢、体躯などの状態）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）、振戦、痙攣（強直性・間代性痙攣）、歩行異常（よろめき歩行、引きずり歩行、四肢の麻痺など）、呼吸状態、皮膚・被毛の変化（充血、貧血、脱毛など）、眼球（瞬膜脱出、眼球突出など）、眼瞼閉鎖、瞳孔径、流涎、流涙、分泌物（鼻、眼、耳、膣などからの分泌物）、眼球結膜の状態、口腔粘膜の状態、異常発声、排便、排尿、鋭い音に対する反応、接触刺激に対する反応〕、触診〔外

皮（指間/趾間部の腫脹、爪の異常など）、筋肉の変化]

いずれの投与群でも雌雄ともに検体投与に関連した異常はみられなかった。

体重変化；投与開始7日前、投与開始時及び投与1～13週時に週1回、16～52週時には4週間隔で全動物の体重を測定した。

5 mg/kg/day 群の雌2頭で投与期間を通じた体重増加量（0及び-1.2 kg）が対照群（個体別値は0.4～2.0 kg）に比較して低値を示し、検体投与に起因すると考えられる体重増加抑制が認められた。

5 mg/kg/day 群の雄、2.5及び1.25 mg/kg/day 群の雌雄の体重増加量は対照群との間に差がなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

5 mg/kg/day 群の雌1頭で摂餌量が投与期間を通じて低値を示し、投与期間を通じた平均摂餌量（173 g/dog/day）が対照群（個体別値は286～300 g/dog/day）よりも低値を示した。当該動物では体重増加抑制も認められ、本変化との関連が疑われた。体重増加抑制及び摂餌量の減少は90日間反復経口投与毒性試験（資料 毒-9）においても5 mg/kg/day 群の雌で認められていることから、検体投与の影響であると考えられた。

5 mg/kg/day 群の雄、2.5及び1.25 mg/kg/day 群の雌雄の摂餌量は対照群との間に差がなかった。

血液学的検査；投与開始前ならびに投与26及び52週時に全動物を対象として、橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、赤血球容積分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板数、網赤血球数、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、白血球数、白血球のディファレンシャルカウント（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球）

さらに、投与終了後に全動物の胸骨から骨髓を採取し、骨髓有核細胞数を測定した。

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。

検査項目	検査 時期 (週)	性別及び投与量 (mg/kg/day)					
		雄			雌		
		1.25	2.5	5	1.25	2.5	5
MCV	26					↑103	
	52					↑105	
大型非 染色球	BT						↑200
	26				↑300		↑300

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

BT：投与開始前

5 mg/kg/day 群の雌で大型非染色球数が投与 26 週に有意に高値を示したが、同項目は投与開始前から有意に高値を示しており、検体投与とは関連のない偶発性の変化であると考えられた。

5 mg/kg/day 群の雌 1 頭で骨髓有核細胞数 ($7.0 \times 10^5/\mu\text{L}$) の低値が観察された(対照群の個体別値は $13.8 \sim 21.4 \times 10^5/\mu\text{L}$)。当該動物の病理組織学的検査では、胸骨骨髓の造血低下が観察されたものの、各骨髓細胞の構成比には明らかな異常はみられず、血液学的検査結果にも明らかな異常は認められなかった。当該動物では体重増加抑制及び摂餌量の減少が観察されていたことから、骨髓細胞数の低下は検体の直接的な影響というよりむしろ、この個体の体重増加抑制と摂餌量の減少による二次的な変化である可能性が考えられた。

その他 2.5 及び 1.25 mg/kg/day 群の雌雄で認められた有意な変化は用量依存性がないことから、偶発的なものと判断した。

血液生化学的検査；血液学的検査で採取した血液の一部から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ、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、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

いずれの投与群でも雌雄ともに対照群と比較して有意に変化した項目はなかった。

尿検査；投与開始前ならびに投与 26 及び 52 週時に全動物を対象として、以下の項目を検査した。

比重、ウロビリノーゲン、蛋白質、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

いずれの投与群でも雌雄ともに対照群と比較して有意に変化した項目はなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与 52 週時に全動物を対象として検査した。

いずれの動物でも異常は認められなかった。

臓器重量；投与終了後に全動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、心臓、肝臓（胆のうを含む）、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮

5 mg/kg/day 群の雄 1 頭で肝臓の絶対重量及び体重比（それぞれ 357 g 及び 2.90%）が高値を示し（対照群の個体別値は 242～311 g 及び 2.10～2.22%）、検体投与の影響と考えられた（肉眼的病理検査にて詳述）。

5 mg/kg/day 群の雌、2.5 及び 1.25 mg/kg/day 群の雌雄では対照群と比較して有意に重量が増減した臓器はなかった。

肉眼的病理検査；投与終了後に全動物を対象として検査した。

5 mg/kg/day 群の雄 1 頭（前述の臓器重量測定で肝臓重量の高値を示した個体）で肝臓の腫大がみられた。肝臓の病理組織学的検査では同個体を含めたいずれの動物にも投与に関連した明らかな異常はみられなかったが、同様の変化が 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 毒-9）においても 5 mg/kg/day 群の雌で認められていることから、検体投与の影響であると考えられた。

5 mg/kg/day 群の雌ならびに 2.5 及び 1.25 mg/kg/day 群の雌雄では検体投与の影響と考えられる異常はなかった。

病理組織学的検査；投与終了後に全動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経（筋肉に近い部分）、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓（中央部及び尾部）、骨及び骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓（左室壁、右室壁及び弁膜部を含む心室中隔）、大動脈、咽頭、唾液腺（下顎腺及び耳下腺）、食道、胃（噴門部、胃底部及び幽門部）、肝臓（外側左葉、外側右葉及び肝門部）、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸（パイエル氏板を含む）、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺（主要気管支を含む右葉起始部、左後葉及び右後葉）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮（角部、体部及び頸管部）、腔、眼球（網膜及び視神経を含む）、涙腺、下腿三頭筋、皮膚（腰背部）、乳腺、肉眼的異常部位

血液学的検査で骨髓有核細胞数の低値を示した 5 mg/kg/day 群の雌 1 頭で胸骨骨髓の造血低下が観察された。当該動物では病理組織学的に骨髓細胞数の減少が認められたものの、各骨髓細胞の構成比には明らかな異常はみられなかったことから、前述の通り、本変化はこの個体にみられた体重増加抑制及び摂餌量の減少に関連した二次的な変化である可能性が考えられた。

5 mg/kg/day 群の雄、2.5 及び 1.25 mg/kg/day 群の雌雄では検体投与の影響と考えられる異常所見はなかった。

以上の結果から、本剤のイヌを用いたカプセル投与による 1 年間反復経口投与毒性試験における影響として、5 及び 2.5 mg/kg/day 群の雌雄で飼料嘔吐が認められ、5 mg/kg/day 群の雄で軟便及び肝臓に対する影響、5 mg/kg/day 群の雌で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。これらの結果から、本試験条件下における検体のイヌにおける無毒性量は、雌雄とも 1.25 mg/kg/day であると判断された。

3) フロメトキン原体のラットにおける発がん性試験 (資料 毒-12)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: %

供試動物: 系 SPF ラット、雌雄、投与開始時 5 週齢、
投与開始時体重 雄; 91~106 g、雌; 78~94 g、1 群雌雄各 50 匹

投与期間: 2 年間 (104 週間) (雄、雌)

投与方法: 検体を 0、30、90 および 180 ppm の濃度で飼料に混入し、2 年間 (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投与開始前に 1 回、投与開始から 1 年間は 2 週に 1 回、1 年間の投与終了後は 4 週に 1 回の頻度で調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日観察した。さらに、腫瘤の触診とともに以下の項目に関する観察を週 1 回行った。

ケージ内 [興奮、鎮静、異常姿勢 (腹臥、横臥など)、異常行動 (後ずさり、常同行動、自傷行動など)]、ハンドリング [取り扱い難さ (刺激に対する反応の変化を含む)、筋緊張の変化 (亢進、低下)、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化 (散瞳、縮瞳)、

流涎、流涙、分泌物（鼻孔、耳孔、膣などからの分泌物）、眼球突出、体温の変化（上昇、下降）、呼吸異常音、被毛の変化（外陰部湿潤）、皮膚および可視粘膜の変化（充血）、ケージ外〔跳躍、旋回、痙攣、歩様異常（運動協調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など）、自発運動（亢進、低下）、呼吸（促迫、緩徐）、発声、立毛、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）〕

対照群と比べ統計学的有意差の認められた症状を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	30	90	180	0	30	90	180
投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180
所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
外観：削瘦	1	3	1	0	5	3	↓0	5
行動：自発運動低下	6	8	4	3	11	7	↓3	↓2
呼吸：呼吸緩徐	6	6	4	3	10	7	↓3	↓2
皮膚：創傷	1	5	3	↑7	0	0	1	0
腫瘍	28	30	31	19	16	15	16	↓6
被毛：脱毛	10	12	9	8	8	15	11	↑27
陰囊：腫大	0	3	2	↑5	-	-	-	-
四肢：胼胝	10	10	13	↓0	0	0	1	0

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

一般状態の観察では、180 ppm 群の雄の皮膚の創傷および雌の被毛の脱毛の発生頻度が対照群に比較し有意に増加した。これらはいずれも高用量群で増加した所見であることから検体投与の影響と判断した。しかし、皮膚の病理組織学的検査において皮膚炎や毛のう周囲炎など関連する所見の発生頻度の増加はなく、毒性学的意義は低いと考えられた。同群の雄では、陰囊の腫大の発生頻度が有意に増加した。この症状は 1 例を除いて剖検時まで回復しており、対応する所見と考えられる精巣の間細胞腫や腹腔の悪性中皮腫の発生頻度にも検体投与の影響は観察されなかったことから、これらの症状の増加が明らかな検体投与の影響とは考えなかった。同じく 180 ppm 群では、雄の四肢の胼胝、雌の皮膚の腫瘍の発生頻度が有意に減少した。これらの減少は剖検時にも観察され、病理組織学的にそれぞれ皮膚（その他）の趾部肉芽腫の発生頻度の減少傾向（発生頻度：対照群 12/33 匹；180 ppm 群 0/12 匹）、乳腺の線維腺腫の有意な減少と一致した。これらの変化は、体重増加抑制による自然発生病変の減少によるものと推察された。自発運動低下および呼吸緩徐の発生頻度が 90 および 180 ppm 群の雌で有意に減少したが、異常所見の発生頻度の減少であるため、これらの変化に毒性学的意義はないと判断した。

投与終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	30	90	180
死亡率 (%)	雄	20	20	16	8
	雌	22	14	10	6

生命表解析： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

雌雄のいずれの投与群においても死亡率への影響は認められなかった。

体重変化：投与開始時、投与1週から13週までは週1回、投与16週から投与終了時（104週時）までは4週に1回全生存動物の体重を測定した。また、全動物について安楽殺前あるいは死亡発見時に最終体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期の変化を下表に示す。

投与週	性および投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	90	180	30	90	180
1週			↓96		↓98	↓95
2週			↓95			↓95
3週		↓98	↓94			↓95
4週			↓95		↓98	↓92
5週			↓94		↓97	↓90
6週			↓95		↓98	↓90
7週			↓94			↓90
8週			↓94		↓98	↓89
9週			↓95		↓97	↓88
10週			↓95			↓89
11週			↓95		↓97	↓89
12週			↓95		↓97	↓88
13週			↓95		↓98	↓89
16週			↓96		↓97	↓88
20週			↓96		↓97	↓88
24週			↓95		↓96	↓88
28週			↓95		↓97	↓88
32週			↓95		↓97	↓88

Dunnnettの多重比較法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

(続き)

投与週	性および投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	90	180	30	90	180
36 週			↓96		↓97	↓87
40 週			↓96			↓86
44 週			↓96		↓96	↓86
48 週			↓96		↓96	↓86
52 週			↓96		↓96	↓85
56 週			↓96			↓87
60 週			↓96			↓88
64 週			↓96			↓86
68 週			↓95			↓86
72 週			↓94			↓82
76 週			↓94			↓80
80 週			↓94			↓80
84 週			↓93			↓78
88 週			↓93			↓77
92 週			↓92			↓78
96 週			↓91			↓78
100 週			↓90			↓76
104 週			↓88			↓77

Dunnett の多重比較法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

体重は、180 ppm 群の雌雄において投与期間を通して対照群に比較して有意に低い値で推移し（雄では対照群の 88～96%、雌では対照群の 76～95%）、検体投与による明らかな体重増加抑制が観察された。これに関連して後述するように雌雄の摂餌量はほぼ全投与期間を通じて対照群に比較し有意に低く推移した。同様の変化は当検体のラットにおける 90 日間および 1 年間試験の高用量群においても観察されており、検体混合飼料に対する摂取忌避、すなわち検体投与の影響と考えられた。90 ppm 群雌の体重も投与前半に対照群に比較して有意に低く（対照群の 96～98%）、摂餌量は投与 6 および 44 週時に有意な低値を示した。これらについても 180 ppm 群同様、検体投与の影響と考えられたが、投与後半に対照群との差がみられなくなったことから、その影響は軽度と考えられた。その他、90 ppm 群の雄で投与 3 週時に体重が対照群と比較して有意に低かったが、これらの変化は一過性であることから検体投与の影響とは考えなかった。

摂餌量および食餌効率；投与 1 週から 13 週までは週 1 回、投与 16 週から投与終了時（104 週時）までは 4 週に 1 回、全生存動物の摂餌量（連続 4 日分）を測定し、投与開始から投与 13 週までの食餌効率も算出した。

摂餌量について、対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に

示す。

投与週	性および投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	90	180	30	90	180
1週	↓96	↓97	↓90			↓89
2週			↓92			↓89
3週			↓93			↓88
4週			↓94			↓86
5週			↓94			↓81
6週			↓94		↓96	↓83
7週			↓94			↓84
8週			↓96			↓83
9週			↓95			↓89
10週			↓94			↓88
11週			↓95			↓87
12週			↓95			↓86
13週			↓96			↓86
16週			↓96			↓84
20週			↓95			↓86
24週			↓93			↓83
28週			↓94			↓86
32週			↓95			↓87
36週			↓94			↓88
40週			↓96			↓82
44週			↓96		↓96	↓86
48週			↓94			↓86
52週			↓95			↓83
56週			↓95			↓86
60週				↑106		↓86
64週						↓86
68週			↓92			↓82
72週			↓93			↓78
76週			↓95			↓78
80週						↓86
84週			↓94			↓76
88週			↓91			↓83
92週			↓92			↓86
96週			↓86			↓84
100週			↓86			↓84
104週			↓83			↓87
総平均	100	99	94	100	98	83

Dunnett の多重比較法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

180 ppm 群の雌雄の摂餌量はほぼ全投与期間を通じて対照群に比較して有意に低い値で推移し、検体投与の影響と考えられた。90 ppm 群では、雌の摂餌量が投与 6 および 44 週時に対照群に比較し有意に低値を示した。この変化も、軽度ながら検体投与の影響と判断した。一方、30 および 90 ppm 群の雄で、投与 1 週時に摂餌量の有意な低値が、30 ppm 群の雌では投与 60 週時に摂餌量の有意な高値が認められたが、これらの変化は一過性であるか、または用量との関連性が明らかでない変化であることから、検体投与の影響とは考えなかった。

投与開始後 13 週間の総平均食餌効率を下表に示す。

検査 時期 (週)	性および投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	90	180	30	90	180
1~13	100	101	99	100	98	91

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの

食餌効率には、雌雄とも検体投与の影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の総平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		30	90	180
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.10	3.24	6.46
	雌	1.39	4.22	8.25

血液学的検査；104 週間投与終了後に全生存動物を対象として、後大静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

白血球数、白血球のディファレンシャルカウント [リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球]

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。

検査項目	性および投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	90	180	30	90	180
白血球数 (WBC) a			↓#87(89)			
白血球のディファレンシャルカウント						
好中球 (N) a			↓81(84)			
単球 (M) a			↓74(77)			
好酸球 (E) a			↓71(71)			

Dunnett の多重比較法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

a ; 雄を再検定、# ; 再検定で有意差なし、() 内の数値は再検定時の値

180 ppm 群の雄の白血球数、好中球、単球および好酸球が対照群に比較し有意に低値を示した。これらの検査値に自然発生病変が影響を及ぼしている可能性が考えられたため、関連病変を呈した 3 匹の雄を元の検査値から除外して統計検定を実施した。その結果、白血球数について有意差はみられなくなったが、好中球数、単球数および好酸球数には依然として有意差がみられた。同群では体重増加抑制が明らかであり、皮膚（その他）の皰部肉芽腫の発生頻度も減少していることから、栄養素の摂取不足のため、あるいは炎症性の背景病変の減少によって一部の白血球数が減少した可能性が考えられた。

臓器重量 ; 104 週間投与終了後に各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目および検体投与との関連性があると判断された項目を下表に示す。

検査項目		性および投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	90	180	30	90	180
体重							
脳	絶対重量 体重比						
心臓	絶対重量 体重比						
肝臓	絶対重量 体重比						
腎臓	絶対重量 体重比						
脾臓 a	絶対重量 体重比						
副腎 b	絶対重量 体重比						
精巣	絶対重量 体重比						
精巣 上体	絶対重量 体重比						
卵巣	絶対重量 体重比						
子宮 b	絶対重量 体重比						

Dunnett の多重比較法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

a ; 雌雄を再検定、b ; 雌を再検定、# ; 再検定で有意差なし、() 内の数値は再検定時の値

180 ppm 群の雄の肝臓の体重比（絶対重量）が有意に高値を示した。絶対重量に有意差はなかったが、肝臓では後述のように組織学的に検体投与の影響が観察されたこと、および同様の肝臓への影響は 1 年間試験においてもみられたことから、この肝臓の体重比の増加は、体重増加抑制に加え検体投与による肝臓への影響と考えられた。また、同群の雌において卵巣の絶対および体重比が高値を示した。これは、後述の肉眼的病理検査でみられた卵巣の腫瘍の増加や病理組織学的検査でみられた腫瘍性病変の増加に関連した変化と考えられた。また、子宮の体重比が有意な高値（子宮の自然発生病変の影響を除いて再検定した結果）を示し、この変化には体重増加抑制に加え、後述する子宮角の病理組織学

的变化との関連性も示唆された。そのほか、雌の副腎では、同様に自然発生病変の影響を除外して再検定しても体重比が有意に高かったが、絶対重量に有意差はみられず、組織学的に病理所見が認められないことから、体重増加抑制に伴う現象と考えられた。同様に同群の雄でみられた精巣上体の絶対重量および体重比の高値は、乏精子症の発生頻度が有意に減少したためであり、体重増加抑制による背景病変の減少によるものと推察された。

以上のほかに、180 ppm 群の雌雄で心臓、雌の腎臓の絶対重量が対照群に比較し有意な低値を、雌雄の脳、心臓および腎臓で体重比が有意に高値を示し、90 ppm 群の雄の腎臓で体重比が有意に高値を示したが、これらはいずれも体重増加抑制に関連した、あるいは対応する病理組織学的変化のない偶発的な変化と判断した。

肉眼的病理検査；途中死亡・切迫殺動物および投与終了後の全生存動物を対象として検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

転帰	性	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180
最終計画殺動物	所見\検査動物数								
	皮膚： 胼胝								
	腫瘍								
	精巣： 斑								
	卵巣： 腫瘍								
全動物	下垂体： のう胞								
	所見\検査動物数								
	全身外観： 削瘦								
	鼻周囲汚れ								
	皮膚： 胼胝								
	腫瘍								
	精巣： 斑								
卵巣： 腫瘍									
子宮： 腫瘍									
下垂体： のう胞									

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.01$ ↑↓、 $p \leq 0.05$

表中の数値は所見発生数

該当なし

180 ppm 群の雌において卵巣の腫瘍の発生頻度が有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。雄で増加した精巣の斑（病理組織学的に間細胞腫に相当）および雌の下垂体ののう胞（病理組織学的に前葉のう胞やうっ血に相当）について

は検体投与の影響を示唆するような病理組織学的所見の発生頻度の増加はなく、偶発的な変化と考えられた。その他に認められた有意な発生頻度の変化は、いずれも発生頻度の減少であり、毒性学的に意義のある変化ではなかった。

病理組織学的検査；途中死亡・切迫殺動物並びに対照群および180 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋および延髄）、脊髄（頸部、胸部および腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨および骨髄（胸骨および大腿骨）、リンパ節（頸部および腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺および舌下腺）、食道、胃（前胃および腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、凝固腺、卵巣、子宮（角部および頸部）、膈、眼球（網膜および視神経を含む）、ハーダー腺、眼窩外涙腺、下腿三頭筋、膝関節、皮膚（腰背部）、乳腺（腺腹部）、肉眼的異常部位

90 および30 ppm 群の最終計画殺動物では、雌雄の肝臓、雄の副腎および眼窩外涙腺、雌の卵巣、子宮（角部および頸部）、膈、下垂体および肉眼的異常部位について病理標本を作製し、鏡検した。

〔非腫瘍性病変〕

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

非腫瘍性病変では、180 ppm 群において卵巣の萎縮の発生頻度が計画殺動物、死亡・切迫殺動物および全検査動物において有意に増加し、下垂体の好塩基細胞肥大の発生頻度が雌の計画殺動物および全検査動物において有意に増加した。同様の所見はラットにおける90日間および1年間試験においても観察されており、いずれも検体投与の影響と判断した。さらに、卵巣において顆粒膜細胞過形成およびセルトリ細胞過形成の発生頻度が雌の計画殺動物および全検査動物において有意に増加した。これらの変化は、後述するように卵巣でみられた顆粒膜細胞腫、混合型性索間質腫瘍およびセルトリ細胞腫の前腫瘍性病変と考えられることから、検体投与との関連性が認められた。子宮角の腔拡張および内膜過形成、膈の粘膜上皮角化の発生頻度が雌の計画殺動物および全検査動物において有意に増加し、子宮角では腺筋症が計画殺動物の3匹に観察された。これらも高用量群で増加した変化であり、検体投与の影響と判断した。膈の粘膜上皮の粘液細胞化は対照群の雌において高頻度に観察され、加齢に伴う変化とされているが、180 ppm 群では粘膜上皮角化の増加に伴いその発生頻度が有意に減少した。肝臓では、びまん性肝細胞脂肪化の発生頻度がこの群の雌雄の計画殺動物および全検査動物において有意に増加した。肝臓におけるこの変化はラットの1年間試験においても高用量群の雌雄に観察されており、検体投与の影響と判断した。さらに肝臓でみられた好塩基性細胞型変異細胞巣（雄の全検査

動物)、眼窩外涙腺の腺上皮細胞萎縮(雄の計画殺動物および全検査動物)の発生頻度の有意な増加は、本試験高用量群の所見であることから検体投与の影響と判断した。

その他に認められた有意な発生頻度の変化は、用量依存性がないか、または発生頻度の減少であり、毒性学的に意義のあるものはなかった。

[腫瘍性病変]

認められたすべての腫瘍性病変を表 2 に示す。さらに、検体投与群で対照群と比較して統計学的に有意な差が認められた病変を下表に転帰別に示す。卵巣については有意差のない腫瘍性病変についても表示した。

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
最終計画殺動物	乳腺	所見\検査動物数									
		線維腺腫									
	卵巣	所見\検査動物数									
		顆粒膜細胞腫									
		セルトリ細胞腫									
		混合型性索間質腫瘍									
	子宮角	所見\検査動物数									
		内膜間質ポリープ									
	副腎	所見\検査動物数									
		褐色細胞腫									
全動物	乳腺	所見\検査動物数									
		線維腺腫									
	卵巣	所見\検査動物数									
		顆粒膜細胞腫									
		セルトリ細胞腫									
		混合型性索間質腫瘍									
	子宮角	所見\検査動物数									
		内膜間質ポリープ									
	副腎	所見\検査動物数									
		褐色細胞腫									

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、p≤0.01 ↑↓、p≤0.05
 表中の数値は所見発生数 -: 該当なし

180 ppm 群の卵巣において顆粒膜細胞腫および混合型性索間質腫瘍の発生頻度が雌の計画殺動物および全検査動物において有意に増加した。また、卵巣のセルトリ細胞腫が計画殺動物において 2 匹に観察された。混合型性索間質腫瘍は顆粒膜細胞、莢膜細胞、セルトリ細胞、ライディッヒ細胞などの性索間質細胞が混在して増殖したものであり、それぞれの細胞が主たる成分である場合は、各細胞名を付した診断名が用いられる。顆粒膜細胞腫、混合型性索間質腫瘍、セルトリ細胞腫の増加については、前腫瘍性病変と考えられる顆粒膜細胞過形成およびセルトリ細胞過形成の発生頻度の増加もみられることから、いずれも検体投与の影響と考えられた。180 ppm 群における悪性顆粒膜細胞腫の 1 匹の発生については背景値の範囲内であることから、偶発的変化と判断した。すなわち、検体投与に関連して発生した卵巣腫瘍はすべて良性腫瘍であった。その他、30 および 180 ppm 群の雄の副腎の褐色細胞腫の発生頻度が計画殺動物および全検査動物において有意に増加した。本変化については 30 および 180 ppm 群ともに全検査動物の発生率は 50 例中 7 例 (14%) であるが、過去 8 試験の本腫瘍の発生率は 2~16% であり、本試験における投与群の発生頻度は背景値の範囲内であったこと、本試験では対照群での発生が 0 例であり、背景値の範囲よりも低かった。以上のことから、本所見の投与群における統計学的な有意差は対照群の発生頻度が低いことによる偶発的変化と判断した。また、180 ppm 群の雌において乳腺腫瘍の発生頻度が有意に減少した。

以上の結果から、180 ppm 群では体重および摂餌量の明らかな低値がみられ、肝臓、卵巣、子宮角、膈、下垂体および眼窩外涙腺の病理組織学的変化が観察された。卵巣では良性腫瘍の発生頻度が増加した。90 ppm 群では、雌において 180 ppm 群と同様に体重への影響が観察された。30 ppm 群では雌雄とも投与の影響は観察されなかった。したがって、本試験条件下での検体の Fischer 系 (F344/DuCrIj) SPF ラット における無毒性量 (NOAEL) は、雄では 90 ppm (3.24 mg/kg/day)、雌では 30 ppm (1.39 mg/kg/day) と判断された。

また、180 ppm 群の雌で卵巣腫瘍の発生頻度の増加が観察されたことから、この用量における検体の催腫瘍性が疑われた。

表 1. 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
途中死亡・切迫殺動物	精巣	所見\検査動物数									
		精細管萎縮									
	卵巣	所見\検査動物数									
		萎縮									
		顆粒膜細胞過形成									
		セルトリ細胞過形成									
	甲状腺	所見\検査動物数									
		C細胞過形成									
	副腎	所見\検査動物数									
		限局性皮質細胞肥大									
最終計画殺動物	乳腺	所見\検査動物数									
		腔拡張									
		腺上皮細胞過形成									
	脾臓	所見\検査動物数									
		リンパ球過形成									
	骨 (胸骨)	所見\検査動物数									
		骨硬化									
	骨 (大腿骨)	所見\検査動物数									
		骨硬化									
	心臓	所見\検査動物数									
		心筋線維化									
	肝臓	所見\検査動物数									
		びまん性肝細胞脂肪化									
		限局性肝細胞壊死									
	精巣上体	所見\検査動物数									
		乏精子症									
卵巣	所見\検査動物数										
	萎縮										
	卵胞のう胞										
	顆粒膜細胞過形成										
	セルトリ細胞過形成										

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

∴ 該当なし

表 1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
最終計画殺動物	子宮角	所見\検査動物数									
		腔拡張									
		腺筋症									
		内膜過形成									
	膣	所見\検査動物数									
		粘膜上皮角化									
		粘膜上皮粘液細胞化									
	下垂体	所見\検査動物数									
		好塩基細胞肥大									
	眼窩外涙腺	所見\検査動物数									
腺上皮細胞萎縮											
全動物	乳腺	所見\検査動物数									
		腺上皮過形成									
	骨 (胸骨)	所見\検査動物数									
		骨硬化									
	骨 (大腿骨)	所見\検査動物数									
		骨硬化									
	肝臓	所見\検査動物数									
		びまん性肝細胞脂肪化									
		限局性肝細胞壊死									
		変異細胞巣 (好塩基性細胞)									
	卵巣	所見\検査動物数									
		萎縮									
		卵胞のう胞									
顆粒膜細胞過形成											
セルトリ細胞過形成											

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

- : 該当なし

表 1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
全 動 物	子宮角	所見\検査動物数									
		腔拡張									
		腺筋症									
		内膜過形成									
	膣	所見\検査動物数									
		粘膜上皮角化									
		粘膜上皮粘液細胞化									
	下垂体	所見\検査動物数									
		好塩基細胞肥大									
	眼窩外 涙腺	所見\検査動物数									
腺上皮細胞萎縮											

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

- : 該当なし

表 2. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
途中死亡・ 切迫殺動物	全身性腫瘍	所見\検査動物数									
		単核細胞性白血病 (M)									
	皮膚 (その他の部位) ^{SI}	所見\検査動物数									
		線維腫 (B)									
		扁平上皮癌 (M)									
		横紋筋肉腫 (M)									
	乳腺	所見\検査動物数									
		線維腺腫 (B)									
	骨髓 (大腿骨)	所見\検査動物数									
		組織球性肉腫 (M)									
	胸腺	所見\検査動物数									
		胸腺腫 (B)									
		組織球性肉腫 (M)									
		悪性胸腺腫 (M)									
	心臓	所見\検査動物数									
		神経鞘腫 (B)									
	顎下腺	所見\検査動物数									
		悪性筋上皮腫 (M)									
	肝臓	所見\検査動物数									
		肝細胞腺腫 (B)									
		血管腫 (B)									
	膵臓	所見\検査動物数									
		島細胞腺腫 (B)									
		導管腺癌 (M)									
		島細胞癌 (M)									
	腎臓	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		腎間葉性腫瘍 (M)									
精巣	所見\検査動物数										
	間細胞腫 (B)										
精巣上体	所見\検査動物数										
	悪性中皮腫 (M)										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

- : 該当なし

^{SI} : 腰背部以外の部位の皮膚

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
途中死亡・ 切迫殺動物	包皮腺	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
	卵巣	所見\検査動物数									
		顆粒膜細胞腫 (B)									
	子宮角	所見\検査動物数									
		子宮内膜間質ポリープ (B)									
		子宮内膜間質肉腫 (M)									
		悪性神経鞘腫 (M)									
	膺	所見\検査動物数									
		悪性神経鞘腫 (M)									
	陰核腺	所見\検査動物数									
		腺癌 (M)									
	下垂体	所見\検査動物数									
		前葉腺腫 (B)									
		前葉腺癌 (M)									
	甲状腺	所見\検査動物数									
		C細胞腺腫 (B)									
		C細胞腺癌 (M)									
	副腎	所見\検査動物数									
		褐色細胞腫 (B)									
		悪性褐色細胞腫 (M)									
	大脳	所見\検査動物数									
		星状膠細胞腫 (M)									
		悪性細網症 (M)									
	橋	所見\検査動物数									
		悪性細網症 (M)									
	延髄	所見\検査動物数									
		悪性細網症 (M)									
ジンバル腺	所見\検査動物数										
	腺癌 (M)										
腹腔	所見\検査動物数										
	悪性中皮腫 (M)										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

- : 該当なし

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180
合計	良性腫瘍数									
	悪性腫瘍数									
	腫瘍総数									
	担良性腫瘍動物数									
	担悪性腫瘍動物数									
	担腫瘍動物数									

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
最終計画殺動物	全身性腫瘍	所見\検査動物数									
		単核細胞性白血病 (M)									
	皮膚 (腰背部)	所見\検査動物数									
		線維腫 (B)									
		乳頭腫 (B)									
	皮膚 (その他の部位) ⁵¹	所見\検査動物数									
		線維腫 (B)									
		角化棘細胞腫 (B)									
		脂肪腫 (B)									
		乳頭腫 (B)									
		毛包上皮腫 (B)									
		扁平上皮癌 (M)									
		線維肉腫 (M)									
		骨肉腫 (M)									
		悪性神経鞘腫 (M)									
	乳腺	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		線維腺腫 (B)									
		腺癌 (M)									
	骨髄 (胸骨)	所見\検査動物数									
		組織球性肉腫 (M)									
	脾臓	所見\検査動物数									
		血管腫 (B)									
		組織球性肉腫 (M)									
	骨 (その他の部位) ⁵²	所見\検査動物数									
		骨肉腫 (M)									
	肺	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		腺癌 (M)									
	心臓	所見\検査動物数									
		神経鞘腫 (B)									
	舌	所見\検査動物数									
乳頭腫 (B)											

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、p≤0.05 ↑↑、p≤0.01

⁵¹ : 腰背部以外の部位の皮膚

⁵² : 胸骨および大腿骨以外の骨

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
最終 計画 殺 動物	前胃	所見\検査動物数									
		乳頭腫 (B)									
		扁平上皮癌 (M)									
	直腸	所見\検査動物数									
		平滑筋腫 (B)									
	肝臓	所見\検査動物数									
		肝細胞腺腫 (B)									
		血管腫 (B)									
		胆管癌 (M)									
	膵臓	所見\検査動物数									
		島細胞腺腫 (B)									
		島細胞癌 (M)									
	腎臓	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		腎間葉性腫瘍 (M)									
	精巣	所見\検査動物数									
		間細胞腫 (B)									
	精巣上 体	所見\検査動物数									
		悪性中皮腫 (M)									
	包皮腺	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
	卵巣	所見\検査動物数									
		黄体腫 (B)									
		顆粒膜細胞腫 (B)									
セルトリ細胞腫 (B)											
混合型性索間質腫瘍 (B)											
悪性顆粒膜細胞腫(M)											

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

- : 該当なし

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180
最終 計画 殺動物	子宮角	所見\検査動物数								
		腺腫 (B)								
		内膜間質ポリープ (B)								
		腺癌 (M)								
		内膜間質肉腫 (M)								
	子宮頸部	所見\検査動物数								
		平滑筋腫 (B)								
		内膜間質ポリープ (B)								
	膈	所見\検査動物数								
		内膜間質ポリープ (B)								
	陰核腺	所見\検査動物数								
		腺癌 (M)								
	下垂体	所見\検査動物数								
		前葉腺腫 (B)								
		前葉腺癌 (M)								
	甲状腺	所見\検査動物数								
		C細胞腺腫 (B)								
		C細胞腺癌 (M)								
		ろ胞細胞腺癌 (M)								
	副腎	所見\検査動物数								
		皮質腺腫 (B)								
		褐色細胞腫 (B)								
		悪性褐色細胞腫 (M)								
	大脳	所見\検査動物数								
		星状膠細胞腫 (M)								
	腹腔	所見\検査動物数								
		脂肪腫 (B)								
悪性中皮腫 (M)										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

- : 該当なし

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180
合計	良性腫瘍数									
	悪性腫瘍数									
	腫瘍総数									
	担良性腫瘍動物数									
	担悪性腫瘍動物数									
	担腫瘍動物数									

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
全検査動物	全身性腫瘍	所見\検査動物数									
		単核細胞性白血病 (M)									
	皮膚 (腰背部)	所見\検査動物数									
		線維腫 (B)									
		乳頭腫 (B)									
	皮膚 (その他の部位) ^{S1}	所見\検査動物数									
		線維腫 (B)									
		角化棘細胞腫 (B)									
		脂肪腫 (B)									
		乳頭腫 (B)									
		毛包上皮腫 (B)									
		扁平上皮癌 (M)									
		組織肉腫 (M)									
		骨肉腫 (M)									
		横紋筋肉腫 (M)									
		悪性神経鞘腫 (M)									
	乳腺	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		線維腺腫 (B)									
		腺癌 (M)									
	骨髓 (胸骨)	所見\検査動物数									
		組織球性肉腫 (M)									
	骨髓 (大腿骨)	所見\検査動物数									
		組織球性肉腫 (M)									
	脾臓	所見\検査動物数									
		血管腫 (B)									
		組織球性肉腫 (M)									
	胸腺	所見\検査動物数									
		胸腺腫 (B)									
		組織球性肉腫 (M)									
悪性胸腺腫 (M)											
骨 (その他の部位) ^{S2}	所見\検査動物数										
	骨肉腫 (M)										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

^{S1} : 腰背部以外の部位の皮膚

^{S2} : 胸骨および大腿骨以外の骨

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
全 検 査 動 物	肺	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		腺癌 (M)									
	心臓	所見\検査動物数									
		神経鞘腫 (B)									
	舌	所見\検査動物数									
		乳頭腫 (B)									
	顎下腺	所見\検査動物数									
		悪性筋上皮腫 (M)									
	前胃	所見\検査動物数									
		乳頭腫 (B)									
		扁平上皮癌 (M)									
	直腸	所見\検査動物数									
		平滑筋腫 (B)									
	肝臓	所見\検査動物数									
		肝細胞腺腫 (B)									
		血管腫 (B)									
		胆管癌 (M)									
	膵臓	所見\検査動物数									
		島細胞腺腫 (B)									
		導管腺癌 (M)									
		島細胞癌 (M)									
	腎臓	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		腎間葉性腫瘍 (M)									
	精巣	所見\検査動物数									
		間細胞腫 (B)									
	精巣上 体	所見\検査動物数									
悪性中皮腫 (M)											
包皮腺	所見\検査動物数										
	腺腫 (B)										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

∴ : 該当なし

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
全 検 査 動 物	卵巣	所見\検査動物数									
		黄体腫 (B)									
		顆粒膜細胞腫 (B)									
		セルトリ細胞腫 (B)									
		混合型性索間質腫瘍 (B)									
		悪性顆粒膜細胞腫 (M)									
	子宮角	所見\検査動物数									
		腺腫 (B)									
		内膜間質ポリープ (B)									
		腺癌 (M)									
		内膜間質肉腫 (M)									
		悪性神経鞘腫 (M)									
	子宮頸 部	所見\検査動物数									
		平滑筋腫 (B)									
		内膜間質ポリープ (B)									
	膣	所見\検査動物数									
		内膜間質ポリープ (B)									
		悪性神経鞘腫 (M)									
	陰核腺	所見\検査動物数									
		腺癌 (M)									
	下垂体	所見\検査動物数									
前葉腺腫 (B)											
前葉腺癌 (M)											

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

- : 該当なし

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30	90	180	0	30	90	180	
全 検 査 動 物	甲状腺	所見\検査動物数									
		C細胞腺腫 (B)									
		C細胞腺癌 (M)									
		ろ胞細胞腺癌 (M)									
	副腎	所見\検査動物数									
		皮質腺腫 (B)									
		褐色細胞腫 (B)									
		悪性褐色細胞腫 (M)									
	大脳	所見\検査動物数									
		星状膠細胞腫 (M)									
		悪性細網症 (M)									
	橋	所見\検査動物数									
		悪性細網症 (M)									
	延髄	所見\検査動物数									
		悪性細網症 (M)									
	ジンバ ル腺	所見\検査動物数									
		腺癌 (M)									
	腹腔	所見\検査動物数									
		脂肪腫 (B)									
		悪性中皮腫 (M)									
合 計	良性腫瘍数										
	悪性腫瘍数										
	腫瘍総数										
	担良性腫瘍動物数										
	担悪性腫瘍動物数										
	担腫瘍動物数										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

4) フロメトキン原体のマウスにおける発がん性試験 (資料 毒-13)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: %

供試動物: 系 SPF マウス、雌雄、投与開始時 5 週齢、
投与開始時体重; 雄 27.7~33.1 g、雌 22.0~26.6 g、1 群雌雄各 52 匹

投与期間: 18 カ月間 (雄、
雌)

投与方法: 検体を 0、30、90 及び 180 ppm の濃度で飼料に混入し、18 カ月間にわたって随時摂食させた。投与開始後の早い時期から、90 及び 180 ppm 群の雌雄に有意な低体重が継続的に観察され、低用量群である 30 ppm 群も試験後半には低体重となる可能性が考えられたため、低用量群の用量を雄で 45 週時以降、雌で 44 週時以降に 30 ppm から 15 ppm に変更した(以下、低用量を 30/15 ppm と記載)。検体を混入した飼料は投与開始前に 1 回、投与期間中は 4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、腫瘤の触診とともに以下の項目に関する観察を週1回行った。

ケージ内 [興奮、鎮静、異常姿勢 (腹臥、横臥など)、異常行動 (後ずさり、常同行動、自傷行動など)]、ハンドリング [取り扱い難さ (刺激に対する反応の変化を含む)、筋緊張の変化 (亢進、低下)、振戦、眼瞼閉鎖、流涎、流涙、分泌物 (鼻孔、耳孔、膣などからの分泌物)、眼球突出、体温の変化 (上昇、下降)、呼吸異常音、被毛の変化 (外陰部湿潤)、皮膚及び可視粘膜の変化 (充血)]、ケージ外 [跳躍、旋回、痙攣、歩様異常 (運動協調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など)、自発運動 (亢進、低下)、呼吸 (促迫、緩徐)、発声、立毛、異常姿勢 (腹臥、横臥など)、異常行動 (後ずさり、常同行動、自傷行動など)]

対照群と比べ統計学的有意差の認められた症状を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180
投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180
所見/検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
外観：削瘦	1	6	1	↑9	4	4	3	10
腹部膨満	4	7	9	10	9	↓1	5	6
皮膚：腐肉の形成	1	↑10	3	0	0	0	0	0
腫脹	6	3	1	↓0	3	3	1	1
蒼白化	6	3	1	↑20	5	↓0	3	9
被毛：脱毛	24	20	28	↑35	26	25	22	17
眼/眼瞼：退色	5	3	1	↑20	7	3	3	9

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

180 ppm 群の雄で削瘦の発生頻度が有意に増加した。180 ppm 群では明瞭な低体重が認められていることから、肉眼的にも削瘦が確認できる動物が増加したものと解釈できた。また、180 ppm 群の雄で皮膚の蒼白化、脱毛及び眼の退色の発生頻度も有意に増加した。本試験では貧血を検出するための血液学的検査を行わなかったが、90日間試験 (資料 毒-8) において、250 ppm 群の雌で貧血が観察されていること、本試験での78週間投与後の白血球数計測が血液性状の変化のために不可能であった動物が180 ppm 群に多かったこと、それらの動物について実施した血液塗抹標本の鏡検で貧血時に認められる赤血球の多染性と大小不同が観察されたことから、皮膚の蒼白化と眼の退色は貧血を示唆する所見であろうと推察された。一方、脱毛については、同所見に対応する組織学的変化が観察されなかったことより、投与に関連する変化ではあっても毒性学的意義は低いと考えられた。

その他に認められた有意な発生頻度の変化は、用量依存性がないか、または発

生頻度の減少であり、毒性学的に意義のあるものはなかった。

したがって、180 ppm 群の雌ならびに 90 及び 30/15 ppm 群の雌雄では毒性学的に意義のある症状は認められなかった。

投与終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	30/15	90	180
死亡率 (%)	雄	27	33	17	29
	雌	17	13	25	21

生命表解析： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ⚡↓、 $p \leq 0.01$

雌雄のいずれの投与群においても死亡率への影響は認められなかった。

体重変化；投与開始時、投与1週から13週までは週1回、投与16週から76週までは4週に1回及び投与終了時（78週時）に全生存動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期の変化を下表に示す。

検査 時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30/15	90	180	30/15	90	180
1			⚡94			
2			⚡96	↓97	↓97	⚡96
3			⚡96			
4			⚡96			
5			⚡95			
6			⚡95			⚡94
7			↓95			⚡94
8		↓96	⚡93		↓96	⚡92
9			⚡92		↓94	⚡90
10		↓95	⚡91			⚡90
11		↓95	⚡89		⚡92	⚡87
12	↓95	⚡94	⚡89		⚡92	⚡84
13		↓94	⚡89		⚡92	⚡85
16		⚡93	⚡88		⚡91	⚡82
20		⚡92	⚡86		⚡90	⚡79
24		↓93	⚡85		⚡90	⚡76
28		↓93	⚡85		⚡91	⚡75

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ⚡↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの

(続き)

検査 時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30/15	90	180	30/15	90	180
32		↓93	↓85		↓90	↓74
36		↓93	↓85		↓89	↓73
40		↓93	↓84		↓89	↓73
44			↓84		↓89	↓73
48			↓82		↓90	↓72
52			↓83		↓89	↓72
56			↓83		↓92	↓74
60			↓83		↓89	↓73
64			↓84		↓90	↓72
68			↓83		↓90	↓74
72			↓84		↓91	↓74
76			↓83		↓90	↓74
78			↓85		↓91	↓75

Dunnett の多重比較検定 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

180 ppm 群の雌雄でほぼ全投与期間を通じて有意かつ明瞭な低体重が認められ、90 ppm 群の雌雄でも多くの投与週に有意な低体重が認められた。これらの動物の低体重は主として検体の直接的作用に起因する変化であると考えられた。30/15 ppm 群においては、有意ではあるが軽度な低体重が単発的に認められたのみであり、投与による体重への影響はなかったと考えられた。

摂餌量及び食餌効率；投与 1 週から 13 週までは週 1 回、投与 16 週から 76 週までは 4 週に 1 回、全生存動物の摂餌量（連続 3 または 4 日分）を測定し、投与開始から投与 13 週までの食餌効率も算出した。

摂餌量について、対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

検査 時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30/15	90	180	30/15	90	180
1		↓94	↓75			↓81
2			↓88			↓93
3			↓96			↓86
4			↓94	↓96	↓93	↓87
5						↓89
6			↓88			↓81
7			↓88			↓84
8			↓86			↓83
9			↓90			↓88
10			↓84			↓85
11			↓87			↓80
12			↓88			↓79
13			↓92			↓85
16			↓88			↓76
20			↓89			↓86
24			↓89			↓84
28			↓89			↓82
32			↓89			↓78
36			↓91			↓85
40			↓91			↓80
44			↓89			↓83
48			↓90			↓83
52			↓88			↓84
56			↓92			↓81
60			↓92			↓83
64			↓88			↓82
68			↓90			↓84
72			↓87			↓86
76			↓83			↓80

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

180 ppm 群の雌雄の摂餌量は投与期間をほぼ通じて対照群に比べ有意な低値を示した。

その他に認められた摂餌量の有意な変化は軽微で、毒性学的意義のある投与に

関連した変化とは考えられなかった。

投与開始後 13 週間の総平均食餌効率を下表に示す。

検査 時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30/15	90	180	30/15	90	180
1~13	86	86	78	88	82	70

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

すべての投与群の雌雄で総平均食餌効率に低下傾向が認められた。

30/15 ppm 群の雌雄の食餌効率の低下傾向については、同群の体重及び摂餌量のいずれにも、検体投与に関連した明確な変化が認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

検体摂取量；投与期間中の総平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		30/15	90	180
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2.66	9.86	19.6
	雌	2.57	9.95	19.5

血液学的検査；78 週間投与終了後に全生存動物を対象として、後大静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

白血球数、白血球のディファレンシャルカウント [リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球]

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。

検査項目	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30/15	90	180	30/15	90	180
好中球数						↓54
単球数			↓67			
好酸球数						↓60

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ⚡↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

180 ppm 群の雄で単球数が有意に減少し、180 ppm 群の雌で好中球数及び好酸球数が有意に減少した。しかし、これらの変化は雌雄に共通して認められては

おらず、白血球数の変化を伴ってもいないことから、低体重に関連する非特異的な変化であると考えられた。

臓器重量；投与終了後に各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓（胆のうを含む）、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、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。

検査項目	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30/15	90	180	30/15	90	180
最終体重						
脳	体重比					
心臓	体重比					
腎臓	体重比					
副腎	絶対重量					
精巣上体	体重比					

Dunnett の多重比較検定： $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

180 ppm 群の雌雄でいくつかの臓器重量に有意な変化が認められたが、これらの臓器のいずれにも投与に起因すると考えられる組織学的変化が観察されず、それらの変動は低体重に伴って生じた変化と考えられた。

肉眼的病理検査；途中死亡・切迫殺動物及び投与終了後の全生存動物を対象として検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

転帰	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180
ke/fd	所見/検査動物数								
	全身/外観: 削瘦								
	腹部被毛の汚れ								
	外陰部被毛の汚れ								
	皮膚: 痂皮								
	脾臓: 退色								
	肝臓: 腫瘍								
	陰茎: 突出								
tk	所見/検査動物数								
	全身/外観: 触毛脱毛								
	外陰部被毛の汚れ								
	皮膚: 脱毛								
	精のう: 肥大								
	凝固腺: 肥大								
all	所見/検査動物数								
	全身/外観: 削瘦								
	触毛脱毛								
	皮膚: 脱毛								
	腫瘍								
	痂皮								
	脾臓: 退色								
	精のう: 肥大								
凝固腺: 肥大									

Fisher の直接確率計算法: $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.01$

転帰: tk, 78 週間投与終了後計画殺; ke/fd, 途中死亡・切迫殺; all, 全動物

180 ppm 群の雄で削瘦、触毛脱毛及び脾臓退色の発生頻度（途中死亡・切迫殺または最終計画殺動物及び全検査動物）が有意に増加した。削瘦の発生頻度の増加は一般状態観察においても認められている。触毛脱毛は主に動物間での争いによって生ずると考えられるところから、同所見の発生頻度の増加は偶発性と考えられた。一方、脾臓の退色については、対応する明瞭な組織学的変化は観察されなかったが、貧血に関連した所見の一つである可能性が考えられた。その他に認められた有意な発生頻度の変化は、用量依存性がないか、または発生頻度の減少であり、毒性学的に意義のあるものはなかった。

病理組織学的検査；途中死亡・切迫殺動物ならびに対照群及び180 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、凝固腺、卵巣、子宮（角部及び頸部）、膾、眼球（網膜及び視神経を含む）、ハーダー腺、眼窩外涙腺、下腿三頭筋、膝関節、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部の相当部）、肉眼的異常部位

90 及び 30/15 ppm 群の最終計画殺動物では、雄の肝臓ならびに雌雄の十二指腸、空腸、回腸及び肉眼的異常部位について病理標本を作製し、鏡検した。

〔非腫瘍性病変〕

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

180 ppm 群の雄で全検査動物の肝臓の変異肝細胞巣（好塩基細胞型）の発生頻度が有意に高かった。

その他、いくつかの非腫瘍性病変の発生頻度について、統計学的に有意な変化が認められたが、それらは発生頻度の減少であり、偶発性の変化であった。

〔腫瘍性病変〕

認められたすべての腫瘍性病変を表2に示す。

180 ppm 群において雄3例の十二指腸、同群別個体の雄2例の回腸に腺癌の発生が認められた。小腸全体での腺癌の発生頻度を合算して求めた結果を下表に示す。

転帰	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180
ke/fd	所見/検査動物数								
	小腸：腺癌								
tk	所見/検査動物数								
	小腸：腺癌								
all	所見/検査動物数								
	小腸：腺癌								

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

転帰: tk, 78 週間投与終了後計画殺; ke/fd, 途中死亡・切迫殺; all, 全動物。

各組織における腫瘍の発生頻度に有意差はなかったが、180 ppm 群の雄における小腸全体での腺癌をまとめると、その発生頻度は 5/52 (9.6%) となり、対照

群における発生頻度 0/52 (0.0%) を有意に上回っていた。また、その値は同研究所で過去に実施した 14 試験の対照動物に認められた背景値の範囲 0.0%~1.8% [全試験の総合発生頻度 0.1% (1/735)] を上回っており、同腫瘍は検体の投与によって誘発された可能性が考えられた。ただし、同群には化学物質によって悪性腫瘍が誘発された場合に発生が増加する前癌病変 (過形成) や良性腫瘍の増加は観察されなかった。

その他にもいくつかの腫瘍性病変の発生頻度が対照群と比較して統計学的に有意に変動したが、それは発生頻度の減少であるか、用量依存性がないものあるいは背景値の範囲内であり、毒性学的に意義のあるものはなかった。

以上の結果から、本検体のマウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験における毒性影響として、180 ppm 群の雌雄で摂餌量及び食餌効率の低下を伴う持続性の顕著な低体重が観察され、同群雄には削瘦、皮膚の蒼白化及び眼の退色、脱毛の発生頻度の有意な増加が認められた。加えて、180 ppm 群の雄では、肝臓の変異肝細胞巢 (好塩基細胞型) の発生頻度が有意に増加した。90 ppm 群の雌雄でも食餌効率の低下を伴う持続性の低体重が観察された。したがって、無毒性量は雌雄とも 30/15 ppm (雄 2.66 mg/kg/day、雌 2.57 mg/kg/day) であると判断された。

また、180 ppm 群の雄で小腸腺癌の発生頻度の増加が観察されたことから、この用量における検体の催腫瘍性が疑われた。

表 1、非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180	
途中死亡・切迫殺動物	腺胃	所見/検査動物数									
		粘膜上皮過形成									
	腎臓	所見/検査動物数									
		糸球体腎炎									
	膀胱	所見/検査動物数									
		腔拡張									
		粘膜上皮過形成									
	卵巣	所見/検査動物数									
のう胞											
最終計画殺動物	十二指腸	所見/検査動物数									
		粘膜上皮過形成									
	肝臓	所見/検査動物数									
		小葉中心性肝細胞脂肪化									
		限局性肝細胞壊死									
	精のう	所見/検査動物数									
		分泌液うっ滞									
	凝固腺	所見/検査動物数									
		分泌液うっ滞									
	子宮角部	所見/検査動物数									
		腺筋症									
	副腎	所見/検査動物数									
		皮髄境界部褐色色素沈着									
		限局性皮質細胞過形成									
	眼窩外涙腺	所見/検査動物数									
ハーダー腺化											

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ⚡↓、 $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず

表 1、非腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180
全 動 物	肝臓	所見／検査動物数								
		小葉中心性肝細胞脂肪化								
		単核細胞浸潤								
		限局性肝細胞壊死								
		変異肝細胞巣（好塩基細胞型）								
	精のう	所見／検査動物数								
		分泌液うっ滞								
	凝固腺	所見／検査動物数								
		分泌液うっ滞								
	子宮 角部	所見／検査動物数								
		腺筋症								
	副腎	所見／検査動物数								
		皮髄境界部褐色色素沈着								
		限局性皮質細胞過形成								

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

#：統計検定実施せず

表 2、腫瘍性病変

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180	
途中死亡・ 切迫殺動物	全身 性腫 瘍	所見／検査動物数									
		組織球性肉腫(M)									
		悪性リンパ腫(M)									
	皮膚 (その他) ^{S1}	所見／検査動物数									
		悪性線維性組織球腫(M)									
	乳腺	所見／検査動物数									
		腺癌(M)									
		癌肉腫(M)									
	脾臓	所見／検査動物数									
		血管肉腫(M)									
	骨 (その他) ^{S2}	所見／検査動物数									
		骨肉腫(M)									
	肺	所見／検査動物数									
		腺腫(B)									
		腺癌(M)									
	十二 指腸	所見／検査動物数									
		腺癌(M)									
	回腸	所見／検査動物数									
		腺癌(M)									
	肝臓	所見／検査動物数									
		肝細胞腺腫(B)									
		肝細胞癌(M)									
		血管肉腫(M)									
	子宮 角部	所見／検査動物数									
平滑筋腫(B)											
内膜間質ポリープ(B)											
血管肉腫(M)											
尾部	所見／検査動物数										
	角化棘細胞腫(B)										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、p≤0.05 ↑↑、p≤0.01

S1 : 腰背部以外の部位の皮膚

S2 : 胸骨及び大腿骨以外の骨

: 統計検定実施せず

表 2、腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180	
合計	良性腫瘍数										
	悪性腫瘍数										
	腫瘍総数										
	担良性腫瘍動物数										
	担悪性腫瘍動物数										
	担腫瘍動物数										

表 2、腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180	
最終 計画 殺動物	全身 性腫瘍	所見／検査動物数									
		悪性リンパ腫(M)									
	皮膚 (腰背部)	所見／検査動物数									
		脂肪肉腫(M)									
	皮膚 (その他) ^{§1}	所見／検査動物数									
		皮脂腺腫(B)									
		扁平上皮癌(M)									
		悪性線維性組織球腫(M)									
	乳腺	所見／検査動物数									
		腺癌(M)									
		腺扁平上皮癌(M)									
	脾臓	所見／検査動物数									
		血管肉腫(M)									
	骨 (その他) ^{§2}	所見／検査動物数									
		骨肉腫(M)									
	肺	所見／検査動物数									
		腺腫(B)									
		腺癌(M)									
	前胃	所見／検査動物数									
		乳頭腫(B)									
	十二指 腸	所見／検査動物数									
腺癌(M)											
空腸	所見／検査動物数										
	腺癌(M)										
回腸	所見／検査動物数										
	腺癌(M)										

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

^{§1}：腰背部以外の部位の皮膚

^{§2}：胸骨及び大腿骨以外の骨

#：統計検定実施せず

表 2、腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180	
最終 計画 殺 動物	肝臓	所見/検査動物数									
		肝細胞腺腫(B)									
		血管腫(B)									
		肝細胞癌(M)									
		血管肉腫(M)									
	胆のう	所見/検査動物数									
		乳頭腫(B)									
	腎臓	所見/検査動物数									
		腺腫(B)									
	精巣	所見/検査動物数									
		精巣網腺腫(B)									
	卵巣	所見/検査動物数									
		顆粒膜細胞腫(B)									
	子宮角部	所見/検査動物数									
		平滑筋腫(B)									
		内膜間質ポリープ(B)									
		血管肉腫(M)									
	子宮頸部	所見/検査動物数									
		平滑筋腫(B)									
	副腎	所見/検査動物数									
		皮質腺腫(B)									
	大脳	所見/検査動物数									
		脂肪腫(B)									
	ハーダ ー腺	所見/検査動物数									
		腺腫(B)									
	尾部	所見/検査動物数									
悪性神経鞘腫(M)											
合計	良性腫瘍数										
	悪性腫瘍数										
	腫瘍総数										
	担良性腫瘍動物数										
	担悪性腫瘍動物数										
	担腫瘍動物数										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず

表 2、腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180	
全動物	全身 性腫瘍	所見／検査動物数									
		組織球性肉腫(M)									
		悪性リンパ腫(M)									
	皮膚 (腰背部)	所見／検査動物数									
		脂肪肉腫(M)									
	皮膚 (その他) ^{S1}	所見／検査動物数									
		皮脂腺腫(B)									
		扁平上皮癌(M)									
		悪性線維性組織球腫(M)									
	乳腺	所見／検査動物数									
		腺癌(M)									
		腺扁平上皮癌(M)									
		癌肉腫(M)									
	脾臓	所見／検査動物数									
		血管肉腫(M)									
	骨 (その他) ^{S2}	所見／検査動物数									
		骨肉腫(M)									
	肺	所見／検査動物数									
		腺腫(B)									
		腺癌(M)									
	前胃	所見／検査動物数									
		乳頭腫(B)									
	十二 指腸	所見／検査動物数									
		腺癌(M)									
空腸	所見／検査動物数										
	腺癌(M)										
回腸	所見／検査動物数										
	腺癌(M)										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

^{S1} : 腰背部以外の部位の皮膚

^{S2} : 胸骨及び大腿骨以外の骨

: 統計検定実施せず

表 2、腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180	
全 動 物	肝臓	所見／検査動物数									
		肝細胞腺腫(B)									
		血管腫(B)									
		肝細胞癌(M)									
		血管肉腫(M)									
	胆のう	所見／検査動物数									
		乳頭腫(B)									
	腎臓	所見／検査動物数									
		腺腫(B)									
	精巣	所見／検査動物数									
		精巣網膜腫(B)									
	卵巣	所見／検査動物数									
		顆粒膜細胞腫(B)									
	子宮 角部	所見／検査動物数									
		平滑筋腫(B)									
		内膜間質ポリープ(B)									
		血管肉腫(M)									
	子宮 頸部	所見／検査動物数									
		平滑筋腫(B)									
	副腎	所見／検査動物数									
		皮質腺腫(B)									
	大脳	所見／検査動物数									
		脂肪腫(B)									
	ハーダ ー腺	所見／検査動物数									
		腺腫(B)									
	尾部	所見／検査動物数									
		角化棘細胞腫(B)									
		悪性神経鞘腫(M)									

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

#：統計検定実施せず

表 2、腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30/15	90	180	0	30/15	90	180
合計	良性腫瘍数									
	悪性腫瘍数									
	腫瘍総数									
	担良性腫瘍動物数									
	担悪性腫瘍動物数									
	担腫瘍動物数									

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) フロメトキン原体のラットにおける繁殖毒性試験 (資料 毒-14)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: %

供試動物: ラット、1群雌雄各24匹

投与開始時週齢: P世代 5週齢、F₁世代 4週齢

投与開始時体重: P世代 雄 112~126 g、雌 94~103 g

F₁世代 雄 32~84 g、雌 35~77 g

投与期間: P世代 雌雄; 育成開始から F₁ 児離乳後の剖検終了までの約 18 週間

F₁世代 雌雄; 離乳時から F₂ 児離乳後の剖検終了までの約 18 週間

投与方法: 検体を 0、25、50 及び 100 ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお、飼料に添加する際、所定量の検体を基礎飼料の一部と乳鉢内で混合し、次に所定の濃度になるよう基礎飼料を加え、混合機で攪拌した。検体を混入した飼料の保存は、安定性が保証されている期間 (冷暗所で 5 週間密閉保管後、室温で 14 日間開封放置) を超えないようにした。対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。検体を混入した飼料は試験期間中に 3~4 週間に 1 回の頻度で試験期間中に 9 回調製した。

投与量設定根拠:

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を表 1 にまとめた。

表 1. 試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成 (10 週間)	雌雄 1 対 1 で交配。交尾は陰栓又は陰垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)	体重、摂餌量を週 1 回測定 投与 8 週時から少なくとも 3 週間雌の発情周期を検査
	交配 (最長 2 週間)		交配状況の観察
	妊娠 (3 週間)		母動物の体重を妊娠 0、7、14、20 日に、摂餌量を週 1 回測定
	出産	出産状況の観察 (分娩完了確認日を哺育 0 日) 産児数、死産児数、外表異常及び性別検査	
	哺育 (3 週間)	哺育 4 日に各同腹児数を雄 4 匹、雌 4 匹に調整 (不可能な場合、雌雄計 8 匹)	母動物の体重を哺育 0、4、7、14、21 日に、摂餌量を週 1 回測定 哺育 0、4、7、14、21 日に生存児数観察、哺育児体重測定 途中死亡及び哺育 4 日に選抜されなかった児動物について剖検
F ₁	離乳	F ₁ 親動物用の各群雌雄各 24 匹を無作為に選抜	哺育児の離乳後、全親動物について剖検、臓器重量測定、雄の精子検査 対照群と高用量群の雌雄及び不妊が疑われる動物の生殖器官、下垂体及び副腎について病理組織学的検査、全群の雌の卵巣について病理組織学的検査 F ₁ 離乳児の剖検、各群の離乳児のうち、各腹雌雄各 1 匹について脳、脾臓、胸腺及び子宮重量を測定、対照群と高用量群の胸腺及び子宮について病理組織学的検査
	育成 (10 週間)	(P 世代に準ずるが兄妹交配を避けた)	P 世代に準ずるが、その他に発育指標として、陰開口及び包皮分離を観察
	交配 (最長 2 週間)		(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週間)		(P 世代に準ずる)
	出産	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	哺育 (3 週間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	離乳		F ₁ 親動物及び F ₂ 離乳児の観察・検査を P 世代に準じて実施 全群の F ₁ 雌親動物について、卵巣における原始卵胞数を測定

一般状態及び死亡率；試験期間中、親動物及び児動物の一般状態及び死亡の有無を1日2回（休日は1回）観察した。さらに体重測定日には個々の動物を手にとって詳細な検査を行った。死亡動物は、発見後速やかに剖検して所見を記録した。

体重；雄の体重は、投与開始日、育成期間中と繁殖期間中は週1回及び剖検日に測定した。雌の体重は、投与開始日、育成期間中は週1回、繁殖期間中は妊娠0、7、14、20日と哺育0、4、7、14、21日及び剖検日に測定した。児動物の体重を哺育0、4、7、14及び21日に測定した。

摂餌量；各ケージの1週間ごとの飼料消費量をそれらのケージの収容動物数と給与日数で除して、1匹当たりの1日の平均摂餌量（g/rat/day）として算出した。哺育期間中の雌については、哺育児の摂餌量を含めた1腹当たりの摂餌量として表した。交配期間中は、雌雄とも摂餌量の測定を行わなかった。

体重増加量；親動物について、雄は各測定体重と検体投与開始日体重の差として増加量を求めた。雌は、育成期間、妊娠期間及び哺育期間の各測定体重とそれぞれの期間開始日（投与開始日、妊娠0日及び哺育0日）の体重の差として、剖検日は検体投与開始日体重を基準として増加量を求めた。

検体摂取量；雌雄について、平均体重と平均摂餌量に基づき、育成期間中及び繁殖期間中の検体摂取量（mg/kg/day）について算出した。

交尾及び妊娠の確認；交配は雌の発情を膣垢で確かめ、F₁世代においては兄妹交配を避けて、同群の雄と1対1で最長2週間同居させ、膣栓又は膣垢中の精子の存在により交尾を確認した。交尾を確認した日を妊娠0日とした。妊娠は分娩及び子宮内の着床痕の存在によって確認した。

繁殖性に関する指標；育成、交配、妊娠及び分娩の各期間と剖検時の観察に基づき、次の指標を算出した。

親動物

性成熟 = 雄の包皮分離と雌の膣開口の日齢（F₁親動物について）

発情周期長 = 交配前の3週間発情周期を観察し、発情周期の平均日数を算出

雄の交尾率（%） = （交尾を認めた雄数/交配に用いた雄数） × 100

雌の交尾率（%） = （交尾を認めた雌数/交配に用いた雌数） × 100

交尾成立までの日数 = 雌雄を同居後、交尾が確認されるまでの日数

受胎率（%） = （妊娠雌数/交尾を認めた雌数） × 100

出産率（%） = （正常出産雌数/妊娠雌数） × 100

妊娠期間 = 交尾確認日（妊娠0日）から分娩完了日（哺育0日）までの日数

着床数 = 剖検時に肉眼的に数えた子宮内の着床痕数

精子検査 = 精巣上体尾部精子の運動性、数及び形態と精巣の精子頭部数
児動物

産児数 = 哺育0日における生存児と死亡児の合計

性比 = 総雄産児数/総産児数

哺育0日の生存率 (%) = (哺育0日の生存児数/産児数) × 100

哺育4日の生存率 (%) = (哺育4日の生存児数/哺育0日の生存児数) × 100

哺育7、14、21日の生存率 (%) = (哺育7、14、21日の生存児数/哺育4日に
選抜した児数) × 100

病理学的検査；

剖検；途中死亡動物、切迫屠殺動物、哺育児離乳後の全生存親動物について剖検を行
った。親動物は児動物の離乳後、発情後期又は発情間期の膣垢像を示した日に
剖検し、所見を記録した。死亡児動物、哺育4日に選抜されなかった新生児、
F1親動物に選抜されなかったF1離乳児及びすべてのF2離乳児についても全例
剖検し、所見を記録した。

臓器重量；親動物の脳、下垂体、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、子
宮（頸部と卵管を含む）、精巣、精巣上体、精囊（凝固腺を含む）及び前立腺
（腹側葉）の重量を測定した。児動物については、各群各腹の雌雄1匹ずつの
脳、脾臓、胸腺及び子宮の重量を測定した。

病理組織学的検査；対照群と高用量群の繁殖成績正常の雌雄親動物 10 組及び交尾不成
立、妊娠不成立の雌雄親動物の組について、卵巣、卵管、子宮（角部及び頸
部）、膣、精巣、精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺、下垂体及び副腎を病理組
織学的に検査した（P及びF1雌親動物の肝臓とF1雄の精囊については、対照
群と高用量群の全例）。P及びF1雌親動物の卵巣については、全群のすべての
動物について病理組織学的検査を実施し、全群のすべてのF1雌親動物におい
ては原始卵胞数も計測した。児動物については、対照群と高用量群の臓器重
量測定、F1及びF2雌雄離乳児の胸腺及び対照群と高用量群のF1雌離乳児の
子宮を病理組織学的に検査した。また、剖検時に肉眼的異常の認められた臓
器又は組織についても病理組織学的検査を行った。

結 果：概要を表 2-1～2-2（親動物）及び表 3（児動物）に示す。

親動物に対する影響

臨床症状及び死亡；試験期間中、死亡動物又は途中切迫殺動物はなかった。両世代の
いずれの投与群においても、検体投与に関連した変化は認められなかった。

体 重；100 ppm 投与群では、P 雌の体重が投与第 2 週以降、F₁ 雌雄の体重が試験期
間を通して対照群より有意に低かった。50 ppm 投与群では、F₁ 雌の投与第
10 週に対照群と比較して有意な低値がみられた。

体重増加量；100 ppm 投与群では、P 雌の体重増加量が育成期間中のすべての週で、繁殖期間中は妊娠 0-20 日、哺育 0-4、0-7 及び 0-14 日において対照群より有意に低かった。F₁ 世代では、100 ppm 投与群の雄の体重増加量は試験期間を通して対照群より有意に低く、雌の体重増加量は投与 0-1 週を除く育成期間中のすべての週で、繁殖期間中は妊娠 0-20 日、哺育 0-4、0-7 及び 0-14 日において対照群より有意に低かった。50 ppm 投与群では、F₁ 雌の投与 0-10 週における体重増加量が対照群より有意に低かった。

摂餌量；100 ppm 投与群では、P 雄の摂餌量が投与第 1 週に、P 雌の摂餌量が試験期間を通して対照群より有意に低かった。100 ppm 投与群の F₁ 世代では、雄の摂餌量は育成期間中、雌の摂餌量は試験期間を通して対照群より有意に低かった。

繁殖能に関する指標：

性成熟；F₁ 世代の動物の性成熟について、包皮分離又は膣開口を指標として調べたが、いずれの投与群の平均完了日齢にも対照群との間で統計学的に有意な差は認められなかった。包皮分離又は膣開口完了日の体重は、雌雄とも 100 ppm 投与群の値が対照群より有意に低かった。

発情周期；雌の平均発情周期長及び正常な周期性を示す動物の頻度（発情周期正常雌率）のいずれの指標にも、対照群と投与群との間で統計学的に有意な差は認められなかった。

交尾率；P 及び F₁ 世代の各投与群の雌雄の交尾率は、いずれも対照群とほぼ同じであった。同居開始から交尾までの日数（交尾所要日数）にも、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

受胎率；いずれの世代の雌の受胎率にも、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

出産率；いずれの世代の雌の出産率にも、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

妊娠期間；100 ppm 投与群の妊娠期間は、P 及び F₁ 世代のいずれにおいても対照群と比較して統計学的に有意に短かった。

着床数；100 ppm 投与群の着床数は、P 及び F₁ 世代のいずれにおいても対照群より有意に低かった。

精子検査；P 及び F₁ 世代の雄親動物における精巣精子頭数、精巣上部尾部の精子数、運動率及び正常形態率には、対照群と投与群との間で有意な差は認められなかった。

剖検所見；いずれの世代の動物においても、検体投与に関連した所見は認められなかった。

臓器重量；100 ppm 投与群では、P 及び F₁ 雌で肝臓重量の対体重比が対照群より有意に高く、また卵巣の絶対重量及び対体重比が対照群より有意に低く、検体投与に起因するものと考えられた。100 ppm 投与群の F₁ 雄では精囊重量の対体重比が対照群より有意に高く、50 ppm 投与群の F₁ 雄においても精囊重量の対体重比の有意な高値が認められた。病理組織学的検査では精囊（凝固腺を含む）に異常は認められなかったが、50 及び 100 ppm の両投与群に認められた変化であることから、検体投与の影響と考えられた。

そのほかに、100 ppm 投与群では、F₁ 雄の腎臓、精巣、精巣上部及び脾臓並びに P 及び F₁ 雌の脳、下垂体、副腎、腎臓、子宮及び脾臓の絶対重量の有意な低値が認められたが、対体重比の低値は認められず、脳重量の対体重比は対照群より有意に高かったことから、これらは低体重に起因した二次的な変化と考えられた。50 ppm 投与群の F₁ 雌で脾臓の絶対重量に有意差が認められたが、対体重比に差がみられないことから偶発的な変化と考えられた。

病理組織学的所見；100 ppm 投与群の P 及び F₁ 雌で卵胞の減少が、対照群より有意に高い頻度で観察された。F₁ 雌の原始卵胞数の測定では、100 ppm 投与群の卵胞数が対照群と比較して有意に低かった。

また、重量に変化がみられた P 及び F₁ 雌の肝臓並びに F₁ 雄の精囊と凝固腺について、対照群と 100 ppm 投与群のすべての動物を病理組織学的に検査したが、異常は認められなかった。

児動物に対する影響

臨床症状及び死亡；いずれの世代においても、検体投与に関連した変化は認められなかった。

産児数；100 ppm 投与群の産児数は、いずれの世代においても対照群より有意に低かった。

性比；25 及び 100 ppm 投与群の F₁ 児動物の性比に対照群との間で有意な差が認められたが、同世代の 50 ppm 投与群及び F₂ 世代のいずれの投与群にも同様な変化がみられないことから、検体投与に関連する変化ではないと考えられた。

生存率；各投与群の F₁ 哺育児の生存率には、いずれの時点においても対照群と比較し

て有意な差は認められなかった。F₂ 哺育児では、50 ppm 投与群で哺育 21 日の生存率が対照群より有意に低かったが、100 ppm 投与群の値に有意な変化がみられなかったことから偶発的な変動と考えられた。

体重；F₁ 哺育児では、100 ppm 投与群の雌雄で、哺育 4 日から 21 日における体重値が対照群より有意に低かった。F₂ 哺育児の体重値は、100 ppm 投与群の雄では哺育期間を通して、雌では哺育 4 日から 21 日において対照群より有意に低かった。50 ppm 投与群では、F₂ 哺育児の雄の哺育 0 日における体重値に有意な低値が認められた。

剖検所見；哺育 0～4 日に死亡した児動物、哺育 4 日に淘汰した児動物及び離乳児の剖検では、検体投与に関連した異常は認められなかった。

臓器重量；100 ppm 投与群では、F₁ 及び F₂ 離乳児の雌雄で胸腺の絶対重量及び対体重比が対照群と比較して有意に低かった。50 ppm 投与群においても、F₂ 離乳児の雌雄で胸腺の絶対重量及び対体重比の有意な低値が認められた。これらは検体投与の影響と考えられた。

このほかに、100 ppm 投与群では、F₁ 及び F₂ 離乳児で脳及び脾臓の絶対重量が対照群と比較して有意に低かった（F₁ 雌の脳絶対重量を除く）が、脳重量の対体重比はいずれも対照群より有意に高く、脾臓重量の対体重比には有意差がみられなかったことから、脳及び脾臓重量の低値は低体重に起因する変化と考えられた。また、F₁ 離乳児では子宮重量の対体重比に有意な高値が認められたが、F₂ 離乳児では同様の変化はみられなかったことから偶発的な変動と考えられた。50 ppm 投与群では F₁ 離乳児の雌で胸腺の絶対重量に有意な高値が認められたが、対体重比には有意な差はみられなかったことから偶発的な変動と考えられた。

病理組織学的所見；対照群と 100 ppm 投与群の雌雄の F₁ および F₂ 離乳児のうち、臓器重量の測定を実施したすべての動物の胸腺と F₁ 世代雌の子宮を病理組織学的に検査したが、異常は認められなかった。

本剤を 2 世代にわたって飼料中に混入して投与した場合、一般毒性学的影響として、親動物では 100 ppm 投与群の P 雌及び F₁ 雌雄で体重、体重増加量及び摂餌量の低値、P 及び F₁ 雌で肝臓重量の対体重比の高値と卵巣の絶対重量及び対体重比の低値並びに卵胞の減少、F₁ 雌で原始卵胞数の低値、F₁ 雄で精囊重量の対体重比の高値が認められ、50 ppm 投与群の F₁ 雌で体重及び体重増加量の低値、F₁ 雄で精囊重量の対体重比の高値が認められた。

児動物では、100 ppm 投与群の F₁ 及び F₂ 雌雄で体重の低値、胸腺の絶対重量及び対体重比の低値が認められ、50 ppm 投与群の F₂ 雌雄で胸腺重量の対体重比の低値が認められた。

繁殖能力に関しては、100 ppm 投与群の P 及び F₁ 世代で妊娠期間の短縮、着床数及び産児数の低値が認められた。100 ppm 投与群で認められた着床数及び産児数の有意な低下は、

雌親動物の卵巣における卵胞の減少を反映した変化であると考えられた。同群の F₁ 雌では原始卵胞数の有意な低下がみられ、F₁ 雌動物の胎生期における卵細胞の分裂が検体投与によって阻害された可能性も考えられが、この卵胞の減少は、胎生期に検体の暴露を受けていない P 雌においても F₁ 雌と同程度に観察されていること、及び F₁ 世代で着床数や産児数の低下が増悪する傾向が認められていないことから、本検体の卵胞に対する影響は胎生期の卵巣に対する発生毒性的なものではなく、すでに形成された原始卵胞に対する影響であると考えられた。

以上より、本試験における一般毒性に対する無毒性量は、親動物及び児動物で 25 ppm (P 雄： 1.50 mg/kg 体重/day、P 雌： 2.39 mg/kg 体重/day、F₁ 雄： 1.66 mg/kg 体重/day、F₁ 雌： 2.47 mg/kg 体重/day)、繁殖能力に対する無毒性量は 50 ppm (P 雄： 2.96 mg/kg 体重/day、P 雌： 4.72 mg/kg 体重/day、F₁ 雄： 3.33 mg/kg 体重/day、F₁ 雌： 4.99 mg/kg 体重/day) であると結論された。

表 2-1. 結果の概要－親動物

世 代		親動物：P、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂					
投与量 (ppm)		0	25	50	100	0	25	50	100		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24		
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24		
親動物	臨床症状		検体投与に関連した変化は認められなかった。								
	死亡数/ 切迫殺数	雄	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
		雌	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
	体重	雄								0-18 週↓↓	
		雌				2-10 週↓↓ 妊娠 0-20 日↓↓ 哺育 0-21 日↓↓ 終了時↓↓			10 週↓	0-10 週↓↓ 妊娠 0-20 日↓↓ 哺育 0-21 日↓↓ 終了時↓↓	
	体重 増加量	雄								0-18 週↓↓	
		雌				1-10 週↓↓ 妊娠 20 日↓↓ 哺育 4-14 日↓↓ 終了時↓↓			10 週↓	2-10 週↓↓ 妊娠 20 日↓↓ 哺育 4-14 日↓↓ 終了時↓↓	
	摂餌量	雄				1 週↓↓				1-7,10 週↓↓ 8,9 週↓	
		雌				1-10 週↓↓ 妊娠 0-7 日↓↓ 7-14 日↓↓ 14-20 日↓↓ 哺育 0-21 日↓↓				1 週↓ 2-10 週↓↓ 妊娠 0-20 日↓↓ 哺育 0-21 日↓↓	
	検体 摂取量 ^a	育成 期間	雄		1.69	3.38	6.67		1.94	3.93	8.14
			雌		2.00	3.97	7.67		2.20	4.45	8.84
		繁殖 期間	雄		1.18	2.26	4.71		1.20	2.33	5.00
			雌		3.02	5.98	10.51		2.91	5.87	10.59
		平均	雄		1.50	2.96	5.94		1.66	3.33	6.96
			雌		2.39	4.72	8.74		2.47	4.99	9.49
性 成熟	包皮 分離 完了	日齢					41.5	41.6	41.8	42.3	
		体重 (g)					183	178	180	161↓↓	
	膈 開口 完了	日齢					32.1	32.3	32.0	32.4	
		体重 (g)					103	105	103	90↓↓	
発情周期長 (日)		4.0	4.0	4.1	4.1	4.2	4.1	4.1	4.2		
発情周期正常 雌率 (%)		23/24 (95.8)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	22/24 (91.7)	22/24 (91.7)	23/24 (95.8)	21/24 (87.5)		

^a : mg/kg 体重/day

多重比較検定法/ Kruskal-Wallis 検定法 : ↓, p<0.05 ↓↓, p<0.01

表 2-2. 結果の概要—親動物 (続き)

世代		親動物 : P、児動物 : F ₁				親動物 : F ₁ 、児動物 : F ₂				
投与量 (ppm)		0	25	50	100	0	25	50	100	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
雄の交尾率 (%)		23/24 (95.8)	24/24 (100)	24/24 (100)	23/24 (95.8)	23/24 (95.8)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	
雌の交尾率 (%)		24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	
交尾所要日数 (日)		3.7	2.4	3.0	3.3	3.7	2.7	3.0	2.8	
受胎率 (%)		24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	23/24 (95.8)	
出産率 (%)		24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	23/23 (100)	
妊娠期間 (日)		22.3	22.0	22.2	22.0↓	22.3	22.1	22.1	21.9↓↓	
着床数		13.1	12.5	13.0	11.4↓↓	11.4	12.7	12.8	10.3↓↓	
精子検査	精巣精子頭数 (×10 ⁶ /g)	141	140	142	144	146	145	146	138	
	精巣上体精子数 (×10 ⁶ /g)	576	582	598	598	552	568	556	538	
	運動率 (%)	96.1	95.3	96.2	95.6	94.8	94.7	96.1	94.3	
	正常形態率 (%)	98.3	98.4	98.5	96.3	97.9	95.6	98.4	97.8	
剖検所見		検体投与に関連した所見は認められなかった。								
剖検日体重 (g)	雄	436	426	436	426	455	441	446	402↓↓	
	雌	256	256	251	229↓↓	272	268	265	226↓↓	
臓器重量 ^b	雄	脳	R							111↑↑
		腎臓	A							89.9↓↓
		精巣	A							85.5↓↓
		精巣上体	A							91.7↓↓
		精囊	R						109↑	115↑↑
		脾臓	A							87.5↓↓
	雌	脳	A			97.6↓				94.7↓↓
			R			109↑↑				114↑↑
		下垂体	A			85.8↓↓				84.5↓↓
		肝臓	R			111↑↑				110↑
		副腎	A			91.0↓				86.8↓↓
		腎臓	A			92.0↓↓				82.6↓↓
		卵巣	A			74.5↓↓				72.6↓↓
			R			82.7↓↓				87.3↓↓
子宮	A			90.7↓				89.5↓		
脾臓	A			87.6↓↓			90.5↓↓	87.0↓↓		
病理組織学的所見 (頻度)					卵巣減少 (19/23 ↑↑)				卵巣減少 (15/23 ↑↑)	
原始卵胞数						204	187	159	20↓↓	

^b: 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

A: 絶対重量、R: 対体重比

[多重比較検定法/Kruskal-Wallis 検定法 (体重、臓器重量、着床数、原始卵胞数)、Kruskal-Wallis 検定法 (妊娠期間)、Fisher 直接確率計算法 (病理所見)]: ↑↑、p<0.05 ↑↑↑、p<0.01

表 3. 結果の概要—児動物

世代		親動物：P、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂				
投与量 (ppm)		0	25	50	100	0	25	50	100	
検査腹数		24	24	24	24	24	24	24	23	
臨床症状		検体投与に関連した変化は認められなかった。								
産児数		12.2	11.6	12.1	10.8↓↓	10.7	12.2	12.2	9.6↓↓	
性比		0.543	0.470↓	0.517	0.465↓	0.512	0.519	0.481	0.434	
生存率 (%)	哺育0日	100	99.7	100	100	99.7	100	100	99.5	
	哺育4日	100	99.3	99.3	98.7	99.7	99.7	99.4	99.6	
	哺育7日	100	100	100	100	100	100	99.0	100	
	哺育14日	99.5	100	100	100	100	100	99.0	100	
	哺育21日	99.5	100	100	100	100	100	97.9↓	100	
体重 (g)	哺育0日	雄	5.9	5.8	5.8	5.6	6.2	6.0	5.8↓	5.8↓
		雌	5.6	5.5	5.5	5.3	5.8	5.7	5.6	5.5
	哺育4日	雄	10.1	10.3	10.0	9.1↓↓	10.8	10.7	10.1	9.7↓↓
		雌	9.6	9.9	9.5	8.8↓↓	10.5	10.3	9.8	9.3↓↓
	哺育7日	雄	16.4	16.9	16.3	13.7↓↓	17.0	17.4	16.8	14.2↓↓
		雌	15.7	16.3	15.6	13.3↓↓	16.8	16.7	16.2	13.8↓↓
	哺育14日	雄	34.4	34.9	33.5	26.0↓↓	34.8	35.4	34.7	26.4↓↓
		雌	32.9	34.0	32.5	25.4↓↓	34.4	34.3	33.6	25.9↓↓
	哺育21日	雄	55.3	55.3	54.1	42.2↓↓	55.9	57.1	56.0	43.3↓↓
		雌	52.6	53.2	51.9	40.9↓↓	54.3	54.4	53.3	42.2↓↓
	離乳児屠殺時体重 (g)	雄	80	80	80	65↓↓	81	82	81	67↓↓
		雌	74	75	72	62↓↓	76	77	73	62↓↓
臓器重量 ^b	雄	脳	A			96.8↓↓				96.0↓↓
			R			121↑↑				115↑↑
		脾臓	A			82.9↓↓				86.2↓↓
			R							
		胸腺	A			73.9↓↓			91.4↓	73.9↓↓
			R			91.5↓			91.2↓	88.3↓↓
	雌	脳	A							95.3↓↓
			R			118↑↑				118↑↑
		脾臓	A			89.4↓				80.8↓↓
			R							
		胸腺	A		89.4↓	73.0↓↓			87.1↓↓	74.1↓↓
			R			87.7↓↓			91.2↓	90.9↓
子宮	A									
	R				117↑↑					

^b: 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

A: 絶対重量、R: 対体重比

[多重比較検定/ Kruskal-Wallis 検定法 (体重、臓器重量、産児数)、Fisher 直接確率計算法 (性比)、Kruskal-Wallis 検定法 (児動物の生存率)]: ↓、p<0.05 ↑↑↑、p<0.01

2) フロメトキン原体のラットにおける催奇形性試験 (資料 毒-15)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 : %

供試動物 : ラット、
交配開始時 雌雄 13~14 週齢、1 群交尾成立雌 24 匹

投与期間 : 妊娠 6 日から妊娠 19 日までの 14 日間

投与方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 水溶液に懸濁し、0 (対照群)、2.5、5.0 及び 7.5 mg/kg/day の用量で、妊娠 6~19 日 (交尾確認日を妊娠 0 日とした) の 14 日間毎日 1 回、胃管を用いて経口投与した。対照群の動物には 1%CMC 水溶液を同様に投与した。投与容量は、投与日に最も近い妊娠日の体重に基づいて算出 (体重 1 kg 当たり 10 mL) した。

用量設定根拠 :

観察・検査項目 :

母動物 ; 臨床症状及び死亡の有無を、試験期間中 (妊娠 0~20 日) 毎日少なくとも 1 回 (投与期間中は投与前と投与後の 2 回) 観察した。体重を妊娠 0、6、9、12、15、18 及び 20 日に測定し、妊娠 20 日の体重値から妊娠子宮重量を減じた補正体重を算出した。また、妊娠 9、12、15、18 及び 20 日の体重値から妊娠 6 日の体重値を減じて体重増加量を求めた。摂餌量を妊娠 0~6 日、6~9 日、9~12 日、12~15 日、15~18 日及び 18~20 日の各期間について測定し、各個体の 1 日当りの摂餌量 (g/rat/day) を求めた。妊娠 20 日に帝王切開と肉眼による病理学的検査を行い、子宮を摘出して妊娠子宮重量を測定した。帝王切開時に黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胚・胎児数を記録した。

生存胎児；全生存胎児について性別を判定し、群ごとに性比を求めた。

胎児を安楽死させた後、体重と胎盤重量を測定して外表の奇形学的検査を行った。各腹より約半数の胎児を選抜して、内臓を奇形学的に検査した。胸部と腹部の軟組織については、Stuckhardt と Poppe の未固定内臓検査法に従って検査を実施した。頭部については、ブアン液で固定した後、Wilson 法に準じて粗大切片を作製して、眼球、脳及び舌を観察した。各腹の残りの約半数の胎児は、70%アルコールで固定後にアリザリン・レッド S とアルシアン・ブルーで染色し、骨格を奇形学的に検査した。

結果： 概要を表 I に示した。

母動物に対する影響

臨床症状及び死亡；臨床症状の観察では、いずれの投与群にも検体投与の影響は認められなかった。動物の死亡に関しては、7.5 mg/kg/day 投与群で、妊娠 9～19 日に 7 例、妊娠 20 日に 3 例の母動物が死亡した。これらの動物の剖検では、被毛の汚染と脱毛がそれぞれ 1 例観察されたのみで、死因を特定するような所見は認められなかった。対照群、2.5 及び 5.0 mg/kg/day 投与群の動物に死亡はみられなかった。

体重変化；7.5 mg/kg/day 投与群の妊娠 12 日以降の体重、妊娠 6 日以降の体重増加量及び妊娠 20 日の補正体重が、対照群と比較して統計学的に有意に低かった。2.5 及び 5.0 mg/kg/day 投与群では、体重、体重増加量及び補正体重のいずれにも対照群と比較して有意な差はみられなかった。

摂餌量；7.5 mg/kg/day 投与群の妊娠 6～9 日以降の摂餌量が、対照群と比較して統計学的に有意に低かった。2.5 及び 5.0 mg/kg/day 投与群の摂餌量には、対照群と比較して有意な差はみられなかった。

帝王切開時の剖検所見；いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

卵巣及び子宮の検査；帝王切開時の卵巣及び子宮の検査では、各投与群の妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率に、対照群の値と比較して有意な差はみられなかった。

胎児に対する影響

生存胎児数、胚・胎児死亡率；各投与群の生存胎児数、胚・胎児死亡率に、対照群の値と比較して有意な差はみられなかった。

性比；各投与群の性比には対照群との間で有意な差はみられなかった。

胎児体重及び胎盤重量；7.5 mg/kg/day 投与群で、雌雄の胎児体重及び胎盤重量が対照群と比較して有意に低かった。2.5 及び 5.0 mg/kg/day 投与群の胎児体重及び胎盤重量には対照群と比較して有意な差はみられなかった。

外表、内臓及び骨格の奇形学的検査；いずれの投与群においても、検体投与に関連すると考えられるような奇形及び変異の出現率の増加は認められなかった。

なお、本試験では、最高用量である 7.5 mg/kg/day 投与群において、母動物の死亡が多発し、生存胎児が得られた腹数が 14 と試験指針の基準をやや下回った。しかし、この用量では母動物の体重や摂餌量の有意な低下といった検体投与による毒性徴候が認められており、かつ、生存母動物からは、胎児の発生及び発育の評価に十分な数の生存胎児が得られている。したがって、本試験は試験指針に要求された母動物数を満たしていないものの、検体が母動物と胎児に与える影響を評価するには十分であると判断された。

以上の結果より、本検体をラットの妊娠 6～19 日に経口投与した場合、7.5 mg/kg/day 投与群において、母動物で死亡ならびに体重、体重増加量、補正体重及び摂餌量の低下が、胎児では体重及び胎盤重量の低下が認められた。したがって、本試験における無毒性量は母動物及び胎児に対して 5.0 mg/kg/day であると結論される。また、一部の母動物に死亡という重篤な毒性徴候がみられる 7.5 mg/kg/day の用量においても、生存した母動物の胎児には体重及び胎盤重量の有意な低値がみられるのみで、胎児の生存率ならびに奇形及び変異所見の出現頻度には検体投与の影響は認められなかったことから、本試験条件下において催奇形性は陰性であると結論された。

表1 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	2.5	5.0	7.5	
1群当りの動物数		24	24	24	24	
母動物	妊娠動物数	23	24	24	24	
	臨床症状	検体投与に関連した異常は認められない				
	死亡動物数	投与期間中	0	0	0	7 ↑
		投与終了後	0	0	0	3
	体重	—	影響なし	影響なし	妊娠12日↓ 妊娠15-20日↓	
	体重増加量	—	影響なし	影響なし	妊娠6-20日↓	
	摂餌量	—	影響なし	影響なし	妊娠6-20日↓	
	妊娠子宮重量 (g) ^a	64	64	61	56	
	補正体重 (g) ^a	254	258	254	220↓	
	剖検所見	検体投与に関連した異常は認められない				
着床所見	検査動物数	23	24	24	14	
	妊娠黄体数 ^a	13.3	13.7	13.3	13.9	
	着床数 ^a	12.5	12.3	12.1	13.1	
	着床前胚死亡率(%) ^a	5.3	9.4	8.9	6.1	
	胚・胎児死亡率(%) ^a	6.6	5.7	7.3	7.1	
	生存胎児数 ^a	11.7	11.7	11.2	12.1	
胎児	検査胎児数 (腹数)	269 (23)	281 (24)	269 (24)	170 (14)	
	性比 ^b	0.472	0.484	0.528	0.500	
	体重 (mg) ^a	雄	3619	3642	3641	3043↓
		雌	3469	3467	3441	2944↓
	胎盤重量 (mg) ^a	433	450	436	397↓	
	検査外表	検査胎児数 (腹数)	269 (23)	281 (24)	269 (24)	170 (14)
		奇形出現率(%) ^c	0	0	0	0
		変異出現率(%) ^c	0	0	0	0
	内臓検査	検査胎児数 (腹数)	128 (23)	135 (24)	128 (24)	81 (14)
		奇形出現率(%) ^c	0	0	0.83	0
		右大動脈弓	0	0	0.83	0
		変異出現率(%) ^c	17.85	17.62	13.55	10.52
		胸腺頸部残留	0.72	0	0.69	1.19
	左側臍動脈	17.12	17.62	12.86	9.33	
	骨格検査	検査胎児数 (腹数)	141 (23)	146 (24)	141 (24)	89 (14)
		奇形出現率(%) ^c	0.72	0	0.60	0
		尾椎椎体癒合	0.72	0	0	0
		頸椎椎体癒合 ^d	0	0	0.60	0
		変異出現率(%) ^c	61.93	64.93	54.43	53.46
胸骨分節配列異常		0.87	1.67	0	0	
仮肋の肋軟骨分岐		0	0.60	1.39	3.57	
頸肋		4.29	3.77	1.98	1.91	
仮肋の肋軟骨不連続		33.91	36.24	24.15	27.60	
過剰肋骨		42.86	47.04	44.57	34.13	
波状肋骨		0.72	0	0	0	
胸椎椎体ダンベル状骨化		0.72	1.19	0.69	4.00	
腰仙移行椎		4.76	2.48	3.86	2.62	
仙椎前椎骨数 27		5.38	2.22	5.87	4.25	
奇形胎児を有する腹の頻度 (%)	1/23 (4.3)	0/24 (0)	2/24 (8.3)	0/14 (0)		
変異胎児を有する腹の頻度 (%)	23/23 (100)	23/24 (95.8)	22/24 (91.7)	13/14 (92.9)		

^a 群平均値

^b 総生存雄胎児数/総生存胎児数

^c 同腹観察胎児内における出現率の群平均値 ^d 第7頸椎椎体の第1胸椎椎体への癒合と軟骨分離の合併
 [Fisherの直接確率計算法(母動物死亡率)、Dunnettの多重比較検定法(母動物の体重、体重増加量、摂餌量及び補正体重、胎児体重、胎盤重量)] : ↓、p≤0.05 ↓↓、p≤0.01

3) フロメトキン原体のウサギにおける催奇形性試験 (資料 毒-16)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 : %

供試動物 : ウサギ

人工受精時 雌 18~19 週齢 1 群対照群 24 匹、検体投与群 25 匹

投与期間 : 妊娠 6 日から妊娠 27 日までの 22 日間

投与方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 水溶液に懸濁し、0 (対照群)、0.8、1.2 及び 2 mg/kg/day の用量で、妊娠 6~27 日 (人工授精を行った日を妊娠 0 日とした) の 22 日間毎日 1 回胃管を用いて経口投与した。対照群の動物には 1%CMC 水溶液を同様に投与した。投与容量は体重 1 kg 当たり 5 mL とした。

用量設定根拠 :

観察・検査項目 :

母動物 ; 臨床症状及び死亡の有無を、試験期間中 (妊娠 0~28 日) 毎日少なくとも 1 回 (投与期間中は投与前と投与後の 2 回) 観察した。体重を妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日に測定し、妊娠 28 日の体重値から妊娠子宮重量を減じた補正体重を算出した。また、妊娠 9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日の体重値から妊娠 6 日の体重値を減じて体重増加量を求めた。摂餌量を妊娠 0~3 日、3~6 日、6~9 日、9~12 日、12~15 日、15~18 日、18~21 日、21~24 日、24~27 日及び 27~28 日の各期間について測定し、各個体の 1 日当りの摂餌量 (g/rabbit/day) を求めた。妊娠 28 日に帝王切開と肉眼による病理学的検査を行い、子宮を摘出して妊娠子宮重量を測定した。帝王切開時に黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胚・胎児数を記録した。

生存胎児；全生存胎児の体重と胎盤重量を測定した後、外表の奇形学的検査を行い、生殖腺を視察して性別を判定した。次に、胎児の胸部と腹部の軟組織を Stuckhardt と Poppe の未固定内臓検査法に従って検査した。

各腹で約半数の胎児は眼球を検査後、頭部に割を入れ、脳を観察した。残りの約半数の胎児の頭部は切断後、ブアン液で固定し、Wilson 法に準じて頭部の粗大切片を作製し、眼球、脳、鼻腔及び舌を観察した。

胎児の骨格部分は、70%インプロピルアルコールで固定した後アリザリン・レッド S で染色し、70%グリセリン水溶液に浸漬して透明骨格標本を作製し、骨格を奇形学的に検査した。

結果： 概要を表 1 に示した。

母動物に対する影響

臨床症状及び死亡；臨床症状の観察では、いずれの投与群にも検体投与の影響は認められなかった。動物の死亡に関しては、1.2 mg/kg 投与群で妊娠 26 日に 1 例、2 mg/kg 投与群で妊娠 27 日に 3 例及び妊娠 28 日に 1 例の母動物が死亡した。これらの動物の剖検では、気管内の泡沫液及び腹腔内の脂肪組織の硬化が観察されたが、死因を特定するような所見は認められなかった。対照群及び 0.8 mg/kg 投与群では、動物の死亡はみられなかった。

体重変化；2 mg/kg 投与群の体重増加量が試験期間を通じて対照群の値よりやや低く、妊娠 6～12 日の値には統計学的有意差が認められた。各投与群の体重及び補正体重には、対照群と比較して有意な差はみられなかった。

摂餌量；2 mg/kg 投与群の妊娠 6～9 日の摂餌量が、対照群と比較して統計学的に有意に低かった。0.8 及び 1.2 mg/kg 投与群の摂餌量には、対照群と比較して有意な差はみられなかった。

帝王切開時の剖検所見；いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

卵巣及び子宮の検査；帝王切開時の卵巣及び子宮の検査では、各投与群の妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率に、対照群の値と比較して有意な差はみられなかった。

胎児に対する影響

生存胎児数及び胚・胎児死亡率；各投与群の生存胎児数及び胚・胎児死亡率に、対照群の値と比較して有意な差はみられなかった。

性比；各投与群の性比には対照群との間で有意な差はみられなかった。

胎児体重及び胎盤重量；各投与群の胎児体重及び胎盤重量に対照群と比較して有意な差はみられなかった。

外表、内臓及び骨格の奇形学的検査；いずれの投与群においても、検体投与に関連すると考えられるような奇形及び変異の出現率の増加は認められなかった。

1.2 mg/kg 投与群では、骨格変異である過剰肋骨の出現率がやや高く、統計学的有意差がみられたが、背景データの範囲（過剰肋骨の出現率：5.44～45.73%、平均値：25.39%）を逸脱するものではなく、偶発的な変動と判断された。

以上の結果より、本検体をウサギの妊娠6～27日に経口投与した場合、1.2 mg/kg 以上の投与群において母動物の死亡が認められ、2 mg/kg 投与群では母動物の体重増加量及び摂餌量が低下したが、いずれの投与群においても生存した母動物の胎児には検体投与による影響は認められなかった。したがって、本試験における無毒性量は母動物に対して 0.8 mg/kg/day、胎児に対して 2 mg/kg/day であり、本試験条件下において催奇形性は陰性であると結論された。

表1 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)	0	0.8	1.2	2			
1群当りの動物数	24	25	25	25			
母動物	妊娠動物数	24	25	23	25		
	臨床症状	検体投与に関連した異常は認められない					
	死亡動物数	0	0	1	4		
	体重	—	影響なし	影響なし	影響なし		
	体重増加量	—	影響なし	影響なし	妊娠6~12日↓		
	摂餌量	—	影響なし	影響なし	妊娠6~9日↓		
	妊娠子宮重量 (g) ^a	452	448	457	404		
	補正体重 (g) ^a	3314	3315	3350	3281		
	剖検所見	検体投与に関連した異常は認められない					
	着床所見	検査動物数	24	25	22	21	
		全胚吸収腹数	1	1	2	1	
		妊娠黄体数 ^a	11.2	10.9	11.2	10.5	
		着床数 ^a	9.2	8.9	9.7	8.6	
		着床前胚死亡率 (%) ^a	16.2	18.1	13.9	17.6	
胚・胎児死亡率 (%) ^a		9.1	6.1	11.0	8.8		
生存胎児数 ^a		8.4	8.3	8.6	7.8		
胎児	検査胎児数 (腹数)	193 (23)	200 (24)	171 (20)	156 (20)		
	性比 ^b	0.451	0.455	0.497	0.487		
	体重 (g) ^a	雄	36.6	38.1	36.1	35.9	
		雌	37.0	37.2	35.5	35.7	
	胎盤重量 (mg) ^a	5144	5260	5332	4942		
	外表検査	検査胎児数 (腹数)	193 (23)	200 (24)	171 (20)	156 (20)	
		奇形出現率 (%) ^c	0	1.25	0	0.42	
		顔面裂	0	0.42	0	0	
		異常回転肢(後肢)	0	0.42	0	0	
		短趾(後肢)	0	0.42	0	0	
		屈曲尾	0	0	0	0.42	
		尾の異常な湾曲	0	0.83	0	0	
		変異出現率 (%) ^c	0	0	0	0	
	内臓検査	未固定頭部	検査胎児数 (腹数)	91 (23)	94 (24)	79 (20)	75 (20)
			奇形出現率 (%) ^c	0	2.08	0	0
			側脳室拡張	0	2.08	0	0
			変異出現率 (%) ^c	0	0	0	0
固定後頭部		検査胎児数 (腹数)	102 (23)	106 (24)	92 (20)	81 (20)	
		奇形出現率 (%) ^c	0.87	1.67	0	0	
		全前脳胞症	0	0.83	0	0	
		小脳嚢状拡張	0.87	0	0	0	
		水晶体低形成	0	0.83	0	0	
		鼻腔狭小	0	0.83	0	0	
変異出現率 (%) ^c	0	0	0	0			

^a 群平均値

^b 総生存雄胎児数/ 総生存胎児数

^c 同腹観察胎児内における出現率の群平均値

[Dunnet の多重比較検定法 (母動物の体重増加量、摂餌量)、Dunnet 型ノンパラメトリック多重比較検定法 (変異出現率)] : ↓、p ≤ 0.05 ↑U、p ≤ 0.01

表1 結果の概要 (続き)

投与群 (mg/kg/day)		0	0.8	1.2	2		
胎児	内臓検査	検査胎児数 (腹数)	193 (23)	200 (24)	171 (20)	156 (20)	
		奇形出現率 (%) ^c	1.97	1.77	0.56	1.25	
		食道背方鎖骨下動脈	0.62	0	0	0	
		肺動脈幹狭窄	0.43	0	0	0	
		心室中隔壁性部欠損	0.43	0	0	0	
		肺葉癒合	0	0.52	0	0	
		肺葉欠損	0.62	0	0	0	
		肺葉低形成	0.43	0.83	0.56	0	
		肝葉癒合	0	0.83	0	0	
		脾臓小型化	0	0.42	0	0	
		腸憩室	0	0	0	1.25	
		尿管狭窄	0.48	0	0	0	
		変異出現率 (%) ^c	4.93	1.85	3.84	0.50	
		胸腺頸部残留	4.44	1.85	3.84	0.50	
	腎盂拡張	0.48	0	0	0		
	骨格検査	頭部	検査胎児数 (腹数)	91 (23)	94 (24)	79 (20)	75 (20)
			奇形出現率 (%) ^c	0	2.08	0	0
			前頭骨癒合	0	2.08	0	0
			変異出現率 (%) ^c	0	0	0	0
		体幹	検査胎児数 (腹数)	193 (23)	200 (24)	171 (20)	156 (20)
			奇形出現率 (%) ^c	0.92	1.63	0	0.42
			胸骨分節癒合	0.92	0	0	0.42
			腰椎弓過剰	0	0.38	0	0
			尾椎癒合	0	0.83	0	0
			脛骨短小	0	0.42	0	0
			変異出現率 (%) ^c	20.84	30.89	41.18 ↑	35.10
			胸骨分節癒合異常	0.72	0.52	0	0
頸椎体片側骨化			0.43	0.98	0.63	0	
体幹	頸肋	1.42	0.83	1.79	0		
	ノブ状肋骨	0	0	0.45	0		
	過剰肋骨	16.52	29.13	37.26 ↑	34.27		
	胸椎体ダンベル状骨化	0.40	1.11	0	0		
	腰仙移行椎	1.97	1.26	2.59	3.76		
仙椎前椎骨数 25	0	0	0	0.83			
仙椎前椎骨数 27	2.76	4.52	5.42	3.90			
奇形胎児を有する腹の頻度 (%)		4/23 (17.4)	5/24 (20.8)	1/20 (5.0)	2/20 (10.0)		
変異胎児を有する腹の頻度 (%)		17/23 (73.9)	22/24 (91.7)	18/20 (90.0)	16/20 (80.0)		

^a 群平均値

^b 総生存雄胎児数/総生存胎児数

^c 同腹観察胎児内における出現率の群平均値

[Dunnetの多重比較検定法(母動物の体重増加量、摂餌量)、Dunnet型ノンパラメトリック多重比較検定法(変異出現率)]: ↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

(13) 変異原性試験

1) フロメトキン原体の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 毒-17)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。

検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に懸濁し、試験 I では 61.7~5000 µg/プレート、試験 II では 313~5000 µg/プレートの範囲のそれぞれ 5 濃度で試験を実施した。各濃度につき 3 枚のプレートで行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

試験 I では、代謝活性化系を用いない場合の 556 µg/プレート以上及び代謝活性化系を用いる場合の 1667 µg/プレート以上の用量で検体の析出が認められ、試験 II では代謝活性化系の有無にかかわらず 625 µg/プレート以上の用量で検体の析出が観察された。両試験において、生育阻害は認められなかった。

試験 I 及び試験 II において、検体はいずれの菌株においても、代謝活性化系の有無にかかわらず、最高用量 (5000 µg/プレート) でも溶媒対照群に比べて 2 倍以上の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、NaN₃、9-AA 及び 2-AA は、対応する検定菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

試験 I 結果

(表中の数値は 3 反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	-	-	124	6	19	15	6	
検体	61.7	-	107	5	17	14	7	
	185	-	115	4	23	17	6	
	556 [†]	-	122	7	19	15	5	
	1667 [†]	-	119	6	13	18	3	
	5000 [†]	-	104	5	15	13	4	
溶媒対照 (DMSO)	-	+	125	9	21	24	14	
検体	61.7	+	112	5	27	25	14	
	185	+	124	6	24	20	11	
	556	+	115	7	26	24	15	
	1667 [†]	+	127	9	24	27	15	
	5000 [†]	+	118	6	23	21	10	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	546		168		
		0.1	-				389	
	NaN ₃	0.5	-		520			
	9-AA	80	-				477	
	2-AA	0.5	+				228	
		1	+	672				
		2	+		145			88
		10	+			427		

† : 検体の析出が観察された。

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA : 2-アミノアントラセン

試験Ⅱ結果

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	119	8	33	18	5
検体	313	-	109	6	28	13	7
	625 [†]	-	113	7	29	14	5
	1250 [†]	-	111	11	34	12	6
	2500 [†]	-	114	8	25	14	4
	5000 [†]	-	106	6	32	13	4
溶媒対照 (DMSO)	-	+	119	7	32	21	12
検体	313	+	100	7	37	20	11
	625 [†]	+	116	9	30	19	14
	1250 [†]	+	117	9	37	23	11
	2500 [†]	+	110	10	32	16	10
	5000 [†]	+	110	6	37	17	8
陽性 対照	AF-2	0.01	-	533	/	162	/
		0.1	-	/	/	/	444
	NaN ₃	0.5	-	/	472	/	/
	9-AA	80	-	/	/	/	526
	2-AA	0.5	+	/	/	/	232
		1	+	702	/	/	/
		2	+	/	157	/	/
		10	+	/	/	323	/

† : 検体の析出が観察された。

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA : 2-アミノアントラセン

2) フロメトキン原体のチャイニーズハムスター培養細胞を用いた
in vitro 染色体異常試験

(資料 毒-18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来の CHL/IU 細胞株を用い、代謝活性化及び非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に懸濁・溶解し、1 濃度につき 2 枚のプレートに処理した。

観察はプレートあたり 100 個、用量あたり 200 個の分裂中期像について行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示した。

検体は、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C 及びベンツ[a]ピレンでは、染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性を有さないものと判断された。

表：染色体異常試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理時間 (h)	観察細胞数	S9 mix の有無	倍数体細胞数	染色体異常を有する細胞数								細胞増殖率 (%)	
						Gap	染色 分体型		染色体 型		断片化	その他	合計		
							g	切 断	交 換	切 断			交 換		+g
溶媒対照 (DMSO)	1%	6	200	-	2	1	0	0	0	0	0	0	1	0	100
検体	12.5	6	200	-	6	4	1	1	0	0	0	0	5	2	86
	25	6	200	-	2	3	1	0	1	0	0	0	5	2	72
	50	6	200	-	0	2	1	0	0	0	0	0	3	1	56
	100 [†]	6	200	-	2	1	3	1	0	0	0	0	5	4	43
陽性対照 (MMC)	0.1	6	200	-	0	11	30	40	1	0	0	0	67	61 ^{***}	104
溶媒対照 (DMSO)	1%	6	200	+	1	2	0	1	0	0	0	0	3	1	100
検体	12.5	6	200	+	4	0	0	1	1	0	0	0	2	2	88
	25	6	200	+	0	3	1	2	0	0	0	0	6	3	77
	50	6	200	+	1	2	0	1	0	1	0	0	4	2	47
	100 [†]	6	200	+	1	4	3	1	0	0	0	0	8	4	20
陽性対照 B[a]P	40	6	200	+	0	14	26	73	2	1	0	0	88	83 ^{***}	70
溶媒対照 (DMSO)	1%	24	200	-	1	4	1	1	0	0	0	0	6	2	100
検体	5	24	200	-	1	2	0	0	1	0	0	0	3	1	65
	10	24	200	-	0	1	1	0	0	0	0	0	2	1	65
	20	24	200	-	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	62
	40 [†]	24	200	-	1	2	1	2	0	0	0	0	4	3	52
	80 [†]	24	200	-	1	4	1	5	0	0	0	0	10	6	40
陽性対照 (MMC)	0.1	24	200	-	0	12	37	75	2	0	0	0	98	91 ^{***}	105
溶媒対照 (DMSO)	1%	48	200	-	0	1	0	0	0	1	0	0	2	1	100
検体	0.156	48	200	-	0	1	2	1	0	0	0	0	3	3	76
	0.313	48	200	-	0	3	2	1	0	0	0	0	5	3	58
	0.625	48	200	-	1	1	2	0	0	2	0	0	5	4	50
	1.25	48	200	-	1	0	1	1	0	0	0	0	2	2	46
	2.5	48	200	-	0	2	0	1	0	0	0	0	3	1	44
	5	48	200	-	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	39
陽性対照 (MMC)	0.05	48	200	-	1	3	30	73	6	0	0	0	94	92 ^{***}	106

[†]：検体の析出が観察された。

DMSO：ジメチルスルホキシド（溶媒対照） MMC：マイトマイシンC B[a]P：ベンツ[a]ピレン

g：ギャップ

+g：ギャップを含む、-g：ギャップを含まない

***： $p \leq 0.001$ (χ^2 検定)

3) フロメトキン原体のマウスを用いる小核試験

(資料 毒-19)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

試験動物： 系 SPF 雄マウス、投与時 7 週齢、
体重 32.3~41.1 g (平均 36.1 g)、1 群 5 匹

試験方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、12.5、25 及び 50 mg/kg の 3 用量で、強制的に 1 回経口投与した。なお、陰性対照群には 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液を経口投与し、陽性対照群にはマイトマイシン C を 1 回腹腔内投与した。

投与 24 時間後に溶媒対照群、検体各用量群及び陽性対照群の各 5 例の動物を、投与 48 時間後に溶媒対照群及び検体最高用量 (50 mg/kg) 群の各 5 例の動物を屠殺した。各動物から大腿骨の骨髄を採取してスライドグラス上に塗抹し、メタノールで固定後、3%ギムザ液で染色し、骨髄標本を作製した。

各標本について、動物あたり 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数して小核出現頻度を求めた。さらに赤血球を 1000 個観察し、多染性赤血球数と正染性赤血球数より多染性赤血球数の割合を求めた。

用量設定根拠；

結 果： 骨髄標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの動物にも死亡及び一般状態の異常は認められなかった。

検体投与群のいずれの用量、標本採取時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

表：観察結果

採取時間	薬物	投与量 mg/kg	観察 動物数	MNPCE/PCE (%)		PCE/(PCE+NCE) (%)	
				平均値±標準偏差	S ^{KC}	平均値±標準偏差	S ^{WC}
24	陰性対照 (0.5%CMC-Na)	0	5	0.20 ± 0.09	-	50.0 ± 10.9	-
	検体	12.5	5	0.20 ± 0.10	N.S.	60.4 ± 3.9	N.S.
		25	5	0.22 ± 0.13	N.S.	57.5 ± 6.5	N.S.
		50	5	0.13 ± 0.06	N.S.	54.3 ± 6.5	N.S.
	陽性対照 (マイトマイシン C)	0.5	5	2.06 ± 0.50	***	44.2 ± 6.3	N.S.
48	陰性対照 (0.5%CMC-Na)	0	5	0.25 ± 0.15	-	57.6 ± 6.3	-
	検体	50	5	0.20 ± 0.10	N.S.	47.8 ± 11.3	N.S.

MNPCE：小核を有する多染性赤血球数

PCE：多染性赤血球数

NCE：正染性赤血球数

CMC-Na：カルボキシメチルセルロース ナトリウム塩

S^{KC}：Kastenbaum-Bowman または chi-square test による統計解析

S^{WC}：Wilcoxon's sum of ranks test による統計解析

N.S.：溶媒対照と比較して有意差なし (p>0.05)

***：溶媒対照と比較して有意差あり (p≤0.001)

以上の結果より、本試験条件下において、検体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と結論された。