

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 発がん性

① マウスを用いた発がん性試験

(資料 T-17)

試験機関:

報告書作成年: 2004 年[GLP 対応]

検体の純度:

試験動物: ICR 系マウス、1 群雌雄各 52 匹、開始時 5 週齢

投与期間: 18 ヶ月

投与方法: 検体を 0、50、1000 及び 10000 ppm の濃度で粉末飼料に混入し、18 ヶ月(78 週)間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 5~8 週間に 1 回の頻度で調製した。

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。週一回腫瘤の触診と詳細な一般状態観察を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

対照群に比較して発生頻度に統計学的な有意差の認められた変化を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
投与量 (ppm)								
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
腹部膨満	3	7	5	6	8	3	5	↓2

Fisher の直接確率計算法。↓: P<0.05。

表中の数値は所見が認められた個体数。

腹部膨満の頻度が、雌の 10000 ppm 群で有意に減少したが、本所見の減少に特に毒性学的な意義はないと考えられた。

試験終了時の切迫屠殺例を含む死亡動物数及び死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	50	1000	10000
死亡率 (%)	雄	20/52 (38)	24/52 (46)	22/52 (42)	23/52 (44)
	雌	15/52 (29)	13/52 (25)	12/52 (23)	14/52 (27)

生命解析表を用いた検定を実施し、各投与群と対照群間に有意差なし。

対照群に比較して検体投与群で統計学的に有意な死亡率の変動は認められなかった。

体重変化： 投与開始から 13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

投与 52 週時に、雌の 10000 ppm 群の体重が対照群に比べ統計学的に有意に低かったが、持続性がないことから、特に検体の影響を示す変動とは考えられなかった。

摂餌量： 全動物の摂餌量を、投与開始から 13 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回の頻度で測定した。

対照群に比較して摂餌量に統計学的な有意差を認めた週を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
投与量 (ppm)								
対照群との間に統計学的有意差が認められた週							↑ 60	↑ 36

Dunnett の多重比較法。↑: P<0.05、↑↑: P<0.01。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

雌の 1000 ppm 以上の投与群で増加を認めた週が一度あったが、持続性はなく、検体投与に関連する変化とは考えられなかった。

検体摂取量： 投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		50	1000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.85	94	988
	雌	4.44	93	937

血液学的検査： 78 週投与後の最終屠殺動物について後大静脈から採血し、白血球数及び白血球のディファレンシャルカウントを血液検査装置により測定した。大型非染色球が  $0.1 \times 10^3/\mu$  以上の個体及び測定不能例では塗抹標本を鏡検して白血病細胞（悪性リンパ腫を含む）の出現の有無を観察した。

投与期間中の切迫屠殺例ではエーテル麻酔下に尾端から採血して血液塗抹標本を作製し、鏡検により白血球型別百分率（リンパ球：L、好中球：N、桿状核好中球：St、分葉核好中球：Seg、単球：M、好酸球：E、好塩基球：B、その他：UC）を計測するとともに、白血病細胞（悪性リンパ腫を含む）の出現の有無を観察した。

なお、投与 52 週時の生存全動物でも、尾端から採血して血液塗抹標本を作製したが、上記最終屠殺動物で検体に関連した変化を認めなかったことから、観察は行わなかった。

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。

性別	雄			雌		
検査時期(週)	78			78		
投与量 (ppm)	50	1000	10000	50	1000	10000
好酸球	129	86	↓57	100	100	120

Dunnett の多重比較法。↓:  $P < 0.05$ 。

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。

雄の 10000 ppm 群の好酸球が有意な低値を示した。好酸球は、もともと数の少ない細胞種であり、正常時にも変動の大きい項目である。しかし、同様の変化はラットの 1 年間反復経口投与毒性試験（資料 T-15）でも認められており、検体投与との関連は否定できなかったが、その毒性学的意義は不明であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

臓器重量： 投与 78 週終了時の全生存動物のうち、番号の若い順に 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、甲状腺、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を下表に示す。

#### 臓器重量測定結果

性別		雄			雌		
検査時期(週)		78			78		
投与量(ppm)		50	1000	10000	50	1000	10000
検査動物数		10	10 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	10	10	10 <sup>a</sup>
最終体重		91	98	96	106	99	98
甲状腺	重量	98	135	↑274	104	154	↑267
	対体重比	108	133	↑275	100	157	↑271
肝	重量	103	↑141	↑152	109	123	↑175
	重量 <sup>b</sup>	103	↑130	↑141	109	↑123 <sup>c</sup>	↑163
	対体重比	113	142	↑155	100	124	↑174
	対体重比 <sup>b</sup>	113	127	↑144	100	↑124 <sup>c</sup>	↑164
副腎	重量	132	126	↑132	96	89	93
	対体重比	156	133	↑144	91	91	95

Dunnett の多重比較法。↑: P<0.05、↑↑: P<0.01。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

a: 外れ値を除外した計算では各9例。

b: 腫瘍の形成により著しい高値を示した例を外れ値として除外した計算。

c: 除外例が無く、数値は除外前と変化ないが、10000 ppm 群での 1 例除外により個体の順位が変化し、有意となった。

雌雄ともに 1000 ppm 以上の投与群で肝臓及び甲状腺重量の増加あるいは増加傾向を認め、雄の 10000 ppm 群では副腎重量が増加した。これら変化は検体投与の影響と考えられた。

肉眼的病理検査：途中死亡例、切迫屠殺例及び試験終了時の全生存例について剖検を行った。

対照群と比べ、発生頻度に統計学的有意差の認められた所見を次頁の各表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別		雄											
検査時期		78週後最終屠殺				途中死亡・切迫屠殺				全動物			
投与量 (ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
臓器	検査動物数	32	28	30	29	20	24	22	23	52	52	52	52
	所見												
肝	暗調化	0	0	↑4	↑11	0	0	2	↑5	0	0	↑6	↑16
	腫瘍	7	↑14	10	↑14	7	6	4	4	14	20	14	18
甲状腺	腫大	0	0	↑5	↑19	0	0	0	↑9	0	0	↑5	↑28
皮膚	脱毛	0	↑4	↑4	1	1	1	3	3	1	5	↑7	4
肺	腫瘍	12	↓3	5	14	2	5	1	1	14	8	↓6	15
膀胱	尿うっ滞	2	↑7	4	3	13	13	14	17	15	20	18	20
脾	腫大	3	7	6	4	4	9	3	5	7	↑16	9	9

Fisher の直接確率計算法。↑↓: P<0.05、↑: P<0.01。

性別		雌											
検査時期		78週後最終屠殺				途中死亡・切迫屠殺				全動物			
投与量 (ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
臓器	検査動物数	37	39	40	38	15	13	12	14	52	52	52	52
	所見												
外観	脱毛(触毛)	2	3	3	↑8	3	2	2	1	5	5	5	9
肝	暗調化	0	0	0	1	0	0	1	↑4	0	0	1	↑5
甲状腺	腫大	0	0	↑9	↑28	0	0	1	↑5	0	0	↑10	↑33
子宮	腫瘍	6	↓0	3	4	0	2	2	1	6	2	5	5

Fisher の直接確率計算法。↑↓: P<0.05、↑: P<0.01。

雌雄ともに検体投与の影響が肝臓及び甲状腺に認められ、雌ではさらに皮膚にも影響が認められた。雄で肝臓の暗調化の発生頻度が 1000 ppm 以上の投与群の最終屠殺動物及び全動物、並びに 10000 ppm 群の死亡・切迫屠殺動物で増加した。雌における肝臓の暗調化の発生頻度は、10000 ppm 群の死亡・切迫屠殺動物と全動物で増加した。また、肝臓の腫瘍の発生頻度が、雄の 50 及び 10000 ppm 群における最終屠殺動物で増加したが、1000 ppm 群ではこの所見に変化がなかった。本所見の発生頻度は、全動物ではいずれの投与群も対照群と差がないことともあわせ、50 ppm 群の変化は検体投与に関連しない所見と考えられたが、10000 ppm 群での増加は後述の病理組織学的変化と対応することから検体投与の影響と考えられた。雌雄で甲状腺腫大が 1000 ppm 以上の投与群の最終屠殺動物及び全動物、並びに 10000 ppm 群の死亡・切迫屠殺動物で統計学的に有意に増加した。さらに、雌で触毛の脱毛が 10000 ppm 群の最終屠殺動物と全動物で有意に増加あるいは増加の傾向を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

これら以外にも対照群に比較して統計学的に有意な発生頻度の増減を示した所見が認められたが、いずれも、より高い用量の群では有意差がないことから、投与用量との関連がなく、検体投与に関連しない偶発的所見と考えられた。

病理組織学的検査：以下の組織を採取し、死亡・切迫屠殺動物と対照群及び 10000 ppm 群の最終生存動物では全組織、これ以外の群の最終生存動物では肝臓、腎臓、甲状腺（以上両性）、下垂体（雌のみ）及び肉眼的異常部位について病理組織標本作製し検鏡した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓（胸骨、大腿骨、頸部、胸部、腰部椎骨）、膝関節、リンパ節（頸部、腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下、舌下）、食道、胃（前胃、腺胃）、肝臓、胆嚢、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、ハーダー腺、気管、肺（気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、凝固腺、卵巣、子宮（角部、頸部）、腔、眼球（網膜及び視神経を含む）、骨格筋（下腿三頭筋）、皮膚（腰背部）、乳腺（雄は乳腺相当部位）、その他肉眼的異常部位

#### 〔非腫瘍性病変〕

対照群に比較して統計学的有意差が認められた非腫瘍性病変を表 1（次頁以降）に示す。

雌雄ともに検体投与の影響が肝臓及び甲状腺に認められた。肝臓では、雌雄ともに小葉中心性の肝細胞肥大、小葉中心性並びにびまん性の肝細胞脂肪化（小型脂肪滴）の頻度の増加が 1000 ppm 以上の群で散見された。一方、肝細胞脂肪化（大型脂肪滴）について、小葉中心性の発現が雄の 1000 ppm 以上の群で減少したが、びまん性あるいは小葉周辺性の発現が雌の 1000 ppm 以上の群では増加した。肝細胞小増殖巣（空胞細胞及び好塩基性細胞）の発現頻度が、雄の 10000 ppm 群の最終屠殺動物あるいは全動物で増加し、この変化が肉眼的病理検査における肝臓の腫瘍増加の原因と考えられた。甲状腺については、雌雄の 1000 ppm 以上の群で水腫様変性を伴う小胞上皮細胞肥大及び大型小胞増加、雌雄の 10000 ppm 群でコロイド変性、雌の 10000 ppm 群で小胞上皮細胞過形成の発現頻度が増加した。

申請者注： 試験では、肝臓（肝細胞）において老齢マウスで通常認められるような核の偏在を伴うほどの大型脂肪滴が対照群でみられたのに対し、検体投与群では著しく微細な小型の脂肪滴が核の偏在を伴わずに観察された例が多かったことから、試験施設では下記成書の記載を参考に前者を「肝細胞脂肪化（大型脂肪滴）」、後者を「肝細胞脂肪化（小型脂肪滴）」として評価した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

・毒性病理組織学. pp. 179-213. 日本毒性病理学会. 2000 年

・Handbook of Toxicologic Pathology (2nd edition)., pp. 187-225, Academic Press, San Diego, 2002

これら以外に、腎臓で対照群に比較して発生頻度が統計学的に有意な増減を示す所見が認められたが、いずれも、より用量の高い群で変動がないことから投与用量と関連しない偶発所見と考えられるか、あるいはその発現頻度の減少に毒性

表 1. 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000	
78 週後最終屠殺動物	肝臓	検査動物数	32	28	30	29	37	39	40	38	
		肝細胞脂肪化 (小型脂肪滴)	小葉中心性	4	2	↑12	↑14	3	1	↑12	↑14
			びまん性	0	2	↑7	3	1	3	↑8	↑15
		肝細胞脂肪化 (大型脂肪滴)	小葉中心性	11	9	↓3	↓0	0	0	1	0
			びまん性	1	0	1	3	3	5	↑14	↑12
			小葉周辺性	0	0	0	0	0	1	0	↑13
		肝細胞肥大	小葉中心性	0	0	↑9	↑17	0	0	3	4
		肝細胞小増殖巣(好塩基性細胞)	2	5	6	↑8	0	1	3	1	
		肝細胞小増殖巣(空胞細胞)	2	4	3	↑9	0	0	0	0	
	腎臓	検査動物数	32	28	30	29	37	39	40	38	
		糸球体腎炎	17	12	13	9	12	16	↑22	17	
	甲状腺	検査動物数	32	28	30	29	37	39	40	38	
		水腫様変性を伴う小胞上皮細胞肥大	0	0	↑7	↑20	0	0	↑7	↑14	
		大型小胞増加	0	0	↑14	↑23	5	3	↑24	↑32	
		コロイド変性	1	1	1	↑9	2	1	5	↑32	
		小胞上皮細胞過形成	0	0	0	1	0	0	0	↑6	

Fisher の直接確率計算法。↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000	
途中死亡及び切迫屠殺動物	肝臓	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14	
		肝細胞脂肪化(小型脂肪滴)	小葉中心性	3	1	6	4	0	0	2	↑ 4
		肝細胞脂肪化(大型脂肪滴)	小葉中心性	7	4	3	↓ 1	0	0	0	0
		肝細胞肥大	小葉中心性	0	0	2	↑11	0	0	2	3
	腎臓	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14	
		腎盂拡張	8	↓ 2	3	8	0	1	0	0	
	甲状腺	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14	
		水腫様変性を伴う小胞上皮細胞肥大	0	0	1	↑10	0	0	1	2	
		大型小胞増加	0	0	3	↑13	0	0	1	↑10	
	全動物	肝臓	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
肝細胞脂肪化(小型脂肪滴)			小葉中心性	7	3	↑18	↑18	3	1	↑14	↑18
			びまん性	0	2	↑ 8	3	1	3	↑ 9	↑17
肝細胞脂肪化(大型脂肪滴)			小葉中心性	18	13	↓ 6	↓ 1	0	0	1	0
			びまん性	1	0	1	4	3	5	↑15	↑12
			小葉周辺性	0	0	0	0	0	1	0	↑14
肝細胞肥大			小葉中心性	0	0	↑11	↑28	0	0	↑ 5	↑ 7
肝細胞小増殖巣(空胞細胞)		3	4	4	↑10	0	0	0	0		
腎		検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	
		皮質における嚢胞	12	6	9	↓ 4	7	6	4	4	
		糸球体腎炎	21	17	18	14	16	23	↑27	23	
甲状腺		検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	
		水腫様変性を伴う小胞上皮細胞肥大	0	0	↑ 8	↑30	0	0	↑ 8	↑16	
		大型小胞増加	0	0	↑17	↑36	5	3	↑25	↑42	
	コロイド変性	1	1	2	↑11	3	1	5	↑32		
	小胞細胞過形成	0	0	0	1	0	0	0	↑ 6		

Fisher の直接確率計算法。↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01。

〔腫瘍性病変〕

認められたすべての腫瘍性病変を表 2(次頁以降)に示す。

認められた腫瘍性病変はいずれも、試験に用いた系統のマウスに自然発生が認められるもので、対照群と投与群の間に発生頻度の有意な差は認められなかった。また、腫瘍発生が早期化する傾向も認められなかった。

表 2-1.腫瘍性病変



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
78 週 後 最 終 屠 殺	リンパ系 造血組織	所見 \ 検査動物数	32	28	30	29	37	39	40	38
		悪性リンパ腫(リンパ球性)(M)	1	2	2	1	2	2	5	5
		悪性リンパ腫(混合型)(M)	1	0	0	0	0	0	0	2
	皮膚	検査動物数	32	9a	6a	29	37	10a	8a	38
		乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	1	0
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		基底細胞癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		脂肪腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	1	0	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	2	0
	乳腺	検査動物数	32	0a	0a	29	37	4a	0a	38
		腺扁平上皮癌(M)	0	-	-	0	0	0	-	1
		腺癌(M)	0	-	-	0	0	4	-	0
	脾	検査動物数	32	7a	6a	29	37	9a	5a	38
		血管肉腫(M)	1	0	0	1	1	2	0	1
	肺	検査動物数	32	4a	6a	29	37	9a	8a	38
		腺腫(B)	14	3	3	10	7	4	4	7
		腺癌(M)	3	0	2	6	2	3	1	5
	舌	検査動物数	1a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
		扁平上皮癌(M)	1	-	-	-	-	-	-	-
	前胃	検査動物数	32	0a	0a	29	37	0a	2a	38
		乳頭腫(B)	0	-	-	2	0	-	0	1
	小腸	検査動物数	32	1a	0a	29	37	1a	0a	38
		腺腫(B)	0	0	-	0	0	1	-	0
		腺癌(M)	0	0	-	1	0	0	-	0
	肝	検査動物数	32	28	30	29	37	39	40	38
		肝細胞腺腫(B)	5	6	9	9	1	1	0	1
		肝細胞癌(M)	2	3	2	1	0	0	0	0
		肝芽細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
血管肉腫(M)		2	0	0	3	0	2	1	0	
腎	検査動物数	32	28	30	29	37	39	40	38	
	腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
膀胱	検査動物数	32	7	4	29	37	0a	0a	38	
	粘膜下間質細胞腫(B)	0	0	0	0	1	-	-	0	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。  
 (B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。 -: データなし(検査実施例 0 のため)。  
 a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-2.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
78 週 後 最 終 屠 殺	下垂体	検査動物数	32	0a	0a	29	37	39	40	38
		前葉腺腫(B)	0	-	-	0	1	2	2	3
	甲状腺	検査動物数	32	28	30	29	37	39	40	38
		小胞上皮細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	副腎	検査動物数	32	0a	2a	29	37	0a	0a	38
		皮質腺腫(B)	0	-	0	1	0	-	-	0
		被膜下細胞腺腫(B)	1	-	0	0	0	-	-	0
	ハ ー ダ ー 腺	検査動物数	32	0a	0a	29	37	0a	0a	38
		腺腫(B)	2	-	-	1	0	-	-	0
		腺癌(M)	0	-	-	0	0	-	-	1
	胸腔	検査動物数	0a	1a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
		血管肉腫(M)	-	1	-	-	-	-	-	-
	腹腔	検査動物数	1a	0a	0a	0a	0a	1a	3a	1a
		平滑筋肉腫(M)	0	-	-	-	-	0	1	0
		血管肉腫(M)	0	-	-	-	-	0	1	1
		組織球性肉腫(M)	1	-	-	-	-	0	0	0
	凝固腺	検査動物数	32	17a	14a	29				
		腺腫(B)	1	0	0	0				
	精巢 上体	検査動物数	32	2a	1a	29				
		組織球性肉腫(M)	1	0	0	0				
	卵巣	検査動物数					37	27a	24a	38
		腺腫(B)					1	0	0	0
		黄体腫(B)					1	0	0	1
		顆粒膜細胞腫(B)					1	0	0	0
		悪性顆粒膜細胞腫(M)					0	0	0	1
		血管肉腫(M)					0	1	0	0
	膣	検査動物数					37	0a	0a	38
		平滑筋腫(B)					1	-	-	0
		血管肉腫(M)					1	-	-	0
	子宮角	検査動物数					37	10a	10a	38
腺腫(B)		1					0	0	0	
平滑筋腫(B)		0					0	1	0	
平滑筋肉腫(M)		0					0	0	3	
子宮内膜間質ポリープ(B)		0					0	0	1	
血管腫(B)		0					0	0	1	
血管肉腫(M)		1					0	0	2	
子宮 頸部	検査動物数					37	1a	0a	38	
	平滑筋腫(B)					1	0	-	0	
	平滑筋肉腫(M)					2	0	-	0	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。 -: データなし(検査実施例 0 のため)。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-3.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
途中死亡及び切迫屠殺動物	全身性	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		悪性リンパ腫(リンパ球性)(M)	4	5	5	4	6	3	4	5
		悪性リンパ腫(混合型)(M)	0	1	0	0	0	1	0	0
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		線維腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		皮脂腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	1	0	1	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	1
	乳腺	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		腺癌(M)	0	0	0	0	3	1	1	0
	骨髄	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		血管肉腫(M)	1	0	0	0	1	2	1	0
	骨	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	肺	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		腺腫(B)	2	4	1	5	1	1	2	1
		腺癌(M)	2	3	1	1	1	1	1	2
	口腔	検査動物数	0a	0a	0a	1a	0a	0a	0a	0a
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	1	-	-	-	-
	舌	検査動物数	0a	0a	0a	0a	1a	0a	0a	0a
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	1	-	-	-
	腺胃	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		未分化肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	肝	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		肝細胞腺腫(B)	4	3	4	3	0	1	0	0
肝細胞腺癌(M)		1	3	0	1	1	0	0	0	
血管肉腫(M)		1	1	0	1	0	2	0	0	
膀胱	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14	
	移行上皮癌(M)	1	1	0	0	0	0	0	0	
副腎	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14	
	皮質腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。 -: データなし(検査実施例 0 のため)。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-4.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
途中死亡及び切迫屠殺動物	ハーパー腺	検査動物数	20	24	22	23	15	13	12	14
		腺腫(B)	1	3	0	1	0	0	0	0
	腹腔	検査動物数	2a	0a	0a	0a	1a	1a	0a	1a
		血管肉腫(M)	1	-	-	-	0	0	-	0
	精囊	検査動物数	20	24	22	23				
		腺癌(M)	1	0	0	0				
	凝固腺	検査動物数	20	24	22	23				
		腺腫(B)	1	0	0	0				
	卵巢	検査動物数					15	13	12	14
		莢膜細胞腫(B)					0	0	0	1
	子宮角	検査動物数					15	13	12	14
		血管腫(B)					0	0	1	0
血管肉腫(M)		1					1	1	1	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。 -: データなし(検査実施例 0 のため)。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

表 2-5.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
全動物	リンパ系造血組織	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		悪性リンパ腫(リンパ球性)(M)	5	7	7	5	8	5	9	10
		悪性リンパ腫(混合型)(M)	1	1	0	0	0	1	0	2
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	検査動物数	52	33b	28b	52	52	23b	20b	52
		乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	1	0
		線維腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		基底細胞癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		皮脂腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		脂肪腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	1	0	1	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	1	1	0	0	0
		悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	1	0	0	0	0	1
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	1	2	1

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

b: 最終屠殺動物の肉眼的異常例及び全ての死亡・切迫屠殺屠殺動物を検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-6.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
全動物	乳腺	検査動物数	52	24b	22b	52	52	17b	12b	52
		腺扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌(M)	0	0	0	0	3	5	1	0
	骨髓	検査動物数	52	24b	22b	52	52	13b	12b	52
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾	検査動物数	52	31b	28b	52	52	22b	17b	52
		血管肉腫(M)	2	0	0	1	2	4	1	1
	骨	検査動物数	52	25b	22b	52	52	13b	13b	52
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	肺	検査動物数	52	28b	28b	52	52	22b	20b	52
		腺腫(B)	16	7	4	15	8	5	6	8
		腺癌(M)	5	3	3	7	3	4	2	7
	口腔	検査動物数	0a	0a	0a	1a	0a	0a	0a	0a
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	1	-	-	-	-
	舌	検査動物数	1a	0a	0a	0a	1a	0a	0a	0a
		扁平上皮癌(M)	1	-	-	-	1	-	-	-
	前胃	検査動物数	52	24b	22b	52	52	13b	14b	52
		乳頭腫(B)	0	0	0	2	0	0	0	1
	腺胃	検査動物数	52	25b	23b	52	52	13b	15b	52
		未分化肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
小腸	検査動物数	52	25b	22b	52	52	14b	12b	52	
	腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
肝	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	
	肝細胞腺腫(B)	9	9	13	12	1	2	0	1	
	肝細胞癌(M)	3	6	2	2	1	0	0	0	
	肝芽細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	血管肉腫(M)	3	1	0	4	0	4	1	0	
腎	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	
	腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
膀胱	検査動物数	52	31b	26b	52	52	13b	12b	52	
	移行上皮癌(M)	1	1	0	0	0	0	0	0	
	粘膜下間質細胞腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。 -: データなし(検査実施例 0 のため)。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

b: 最終屠殺動物の肉眼的異常例及び全ての死亡・切迫屠殺屠殺動物を検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-7.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
全動物	下垂体	検査動物数	52	24b	22b	52	52	52	52	52
		前葉腺腫(B)	0	0	0	0	1	2	2	3
	甲状腺	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		小胞上皮細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	副腎	検査動物数	52	24b	24b	52	52	52	52	52
		皮質腺腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	0
		被膜下細胞腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	ハーダー腺	検査動物数	52	24b	22b	52	52	13b	12b	52
		腺腫(B)	3	3	0	2	0	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	胸腔	検査動物数	0a	1a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
		血管肉腫(M)	-	1	-	-	-	-	-	-
	腹腔	検査動物数	3a	0a	0a	0a	1a	2a	3a	2a
		平滑筋肉腫(M)	0	-	-	-	0	0	1	0
		血管肉腫(M)	1	-	-	-	0	0	1	1
		組織球性肉腫(M)	1	-	-	-	0	0	0	0
	精囊	検査動物数	52	41b	36b	52				
		腺癌(M)	1	0	0	0				
	凝固腺	検査動物数	52	41b	36b	52				
		腺腫(B)	2	0	0	0				
	精巣上体	検査動物数	52	26b	23b	52				
		組織球性肉腫(M)	1	0	0	0				
	卵巢	検査動物数					52	40b	36b	52
		腺腫(B)					1	0	0	0
		莢膜細胞腫(B)					0	0	0	1
		黄体腫(B)					1	0	0	1
顆粒膜細胞腫(B)		1					0	0	0	
悪性顆粒膜細胞腫(M)		0					0	0	1	
血管肉腫(M)		0					1	0	0	
膣	検査動物数					52	13b	12b	52	
	平滑筋腫(B)					1	0	0	0	
	血管肉腫(M)					1	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。 -: データなし(検査実施例 0 のため)。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

b: 最終屠殺動物の肉眼的異常例及び全ての死亡・切迫屠殺屠殺動物を検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-8.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	10000	0	50	1000	10000
全動物	子宮角	検査動物数					52	23b	22b	52
		腺腫(B)					1	0	0	0
		平滑筋腫(B)					0	0	1	0
		平滑筋肉腫(M)					0	0	0	3
		子宮内膜間質ポリープ(B)					0	0	0	1
		血管腫(B)					0	0	1	1
		血管肉腫(M)					2	1	1	3
	子宮頸部	検査動物数					52	14b	12b	52
		平滑筋腫(B)					1	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)					2	0	0	0
合計	検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	
	腫瘍数	良性	33	19	18	33	19	11	11	17
		悪性	26	21	14	22	25	28	20	35
	腫瘍総数		59	40	32	55	44	39	31	52
	担腫瘍動物数	良性	26	16	17	24	15	10	11	15
		悪性	20	19	12	20	19	23	18	29
担腫瘍動物数		37	30	25	38	30	27	26	38	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。合計に示したデータは検定対象外。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

b: 全ての途中死亡・切迫屠殺動物と、肉眼的異常のある最終屠殺動物のみ検査。

以上の結果から、検体を0、50、1000及び10000 ppmの用量でICR系マウスに78週間混餌経口投与した結果、いずれの用量群でも検体投与による腫瘍性病変の発生頻度増加及び早期化、あるいは稀な腫瘍の発生は認められず、検体のマウスにおける発がん性は陰性であると結論された。一般状態、体重、摂餌量にも検体投与の影響は認められなかったが、雌雄ともに1000 ppm以上の投与群では肝臓、10000 ppm投与群では甲状腺に検体に関連した病変及び臓器重量の変動が認められた。以上より、本試験における無毒性量は雌雄ともに50 ppm（雄4.85 mg/kg/日、雌4.44 mg/kg/日）であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② ラットを用いた発がん性試験

(資料T-18)

試験機関:

報告書作成年: 2004 年 [GLP 対応]

検体の純度:

試験動物: Fischer 系ラット、1 群雌雄各 50 匹、開始時 5 週齢

投与期間: 24 カ月

投与方法: 検体を 0、50、1000 及び 20000 ppm の濃度で粉末飼料に混入し、24 ヶ月 (104 週)間にわたって自由摂食させた。検体を混入した飼料は 3~4 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。また毎週1回、腫瘤の触診を含む詳細な観察も実施した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

一般状態について、対照群と比較して統計学的に有意に変動した項目を下表に示した。

性別	雄				雌			
	0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
投与量 (ppm)	0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
脱毛	1	3	2	0	11	12	↑22	↑28
眼球退色	2	2	↑10	6	9	7	7	6

Fisher の直接確率計算法。↑: P<0.05、↑↑: P<0.01。

表中の数値は所見の認められた個体数

全身各所における脱毛の頻度が、雌の 1000 ppm 以上の投与群で投与期間後半を中心に増加した。眼球退色の発生頻度が雄の 1000 ppm 群で増加したが、より用量の高い群では同変化は認められなかったことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。

試験終了時の切迫屠殺例を含む死亡動物数及び死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	50	1000	20000
死亡率 (%)	雄	10/50 (20)	5/50 (10)	17/50 (34) <sup>a</sup>	14/50 (28)
	雌	8/50 (16)	9/50 (18)	10/50 (20)	10/50 (20) <sup>a</sup>

生命解析表を用いた検定により、対照群と各投与群間に統計学的な有意差なし。

a: 104 週間投与終了後の計画殺期間中(105 週)に死亡した 1 例を含む。この死亡例は、病理検査(肉眼及び組織学的検査)では途中死亡例として扱った。

検体投与による統計学的に有意な死亡率の増加は認められなかった。

体重変化： 投与開始から 13 週までは毎週 1 回、その後は 4 週間に 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

対照群との間に統計学的な有意差がみられた体重の変化を下表に示す。

性別	雄			雌		
	50	1000	20000	50	1000	20000
対照群との間に統計学的有意差が認められた週	-	-	↑104	-	↑5	↑2-5、↓76-88、 ↓92-104

Dunnnett の多重比較法。↑↓: P<0.05、↓↓: P<0.01。-: 有意差を示す週なし。

雌の 20000 ppm 群において、投与後期に低下(対照群の 93~96%)が認められ、検体による影響と考えられた。同群では、投与初期には軽度な増加が認められた

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

が、後述の検体投与に関連した摂餌量増加に伴った軽度の変化であり毒性とは考えられなかった。他に、雄の 20000 ppm 群、雌の 1000 ppm 群でも統計学的に有意な増加が一度だけ認められたが、持続性がないため偶発的な変動と考えられた。

摂餌量： 全動物の摂餌量を、投与開始から 13 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回の頻度で測定した。

対照群に比較して統計学的な有意差の認められた変化を下表に示す。

性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	50	1000	20000	50	1000
対照群との間に統計学的有意差が認められた週	↓5	↓16 ↑104	↑ 20, 32-36, 44-48, 56, 88, 96 ↑ 9, 12, 24, 64-72, 92, 104	↑92	↑ 5, 8, 88 ↑ 6-7, 40, 100 ↓ 44	↑ 11, 56 ↑ 3-10, 12-13, 40, 60, 80, 88-92, 100-104

Dunnett の多重比較法。↑↓: P<0.05、↑: P<0.01。

雌雄の 20000 ppm 群では、投与期間中に増加が頻繁に認められ検体の影響と考えられたが、軽度であり、毒性とは考えなかった。他の投与群でも増減が認められたが、持続性がないこと、同時期に用量の高い群で同様の変化がないことから、偶発的な変動と考えられた。

検体摂取量： 投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		50	1000	20000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.70	33.9	705
	雌	2.15	43.7	912

血液学的検査： 104 週投与後の最終屠殺動物について後大静脈から採血し、白血球数、白血球のディファレンシャルカウントを血液検査装置により測定した。大型非染色球が  $0.1 \times 10^3/\mu$  以上の個体及び測定不能例では塗抹標本を鏡検して白血病細胞(悪性リンパ腫を含む、以下同様)の出現の有無を観察した。

投与期間中の切迫屠殺例ではエーテル麻酔下に尾端から採血して血液塗抹標本作製し、鏡検により白血球型別百分率(リンパ球:L、好中球:N、桿状核好中球:St、分葉核好中球:Seg、単球:M、好酸球:E、好塩基球:B、その他:UC)を計測するとともに、白血病細胞の出現の有無を観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

なお、52 及び 78 週投与後の生存全動物でも、エーテル麻醉下に尾端から採血して血液塗沫標本を作製したが、上記最終屠殺動物で検体に関連した変化を認めなかったことから、観察は行わなかった。

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した。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		50	1000	20000	50	1000	20000
検査時期(週)		104			104		
白血球数	検査全例	88	69	79	74	↓88	↓63
	外れ値除外 <sup>a</sup>	103	96	91	87	86	86
好中球数	検査全例	89	79	71	↓74	↓100 <sup>b</sup>	↓83
	外れ値除外 <sup>a</sup>	104	86	84	↓75	↓78	86
好酸球数	検査全例	90	↓70	↓60	100	167	67
	外れ値除外 <sup>a</sup>	90	↓70	↓60	120	100	80

Dunnett の多重比較法。 ↓: p<0.05、↓↓: p<0.01。

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

a: 白血球数が白血病又は炎症性病変のため異常な高値 ( $1.5 \times 10^4$  個/ $\mu$  以上) を示した個体を外れ値として除外した計算。

b: 平均値は対照群と同じであるが順位の検定により統計学的有意差あり。

雄の 1000 ppm 以上の群で好酸球数の低下が認められた。同様の所見はラットにおける1年間反復経口投与毒性試験(資料 T-15)でも認められており、検体の影響と考えられたが、もともと数の少ない細胞種であり、その軽度な低下の生物学的意義は不明であった。雌では、1000 ppm 以上の群で白血球数が、50 ppm 以上の群では好中球数が、それぞれ低下したが、異常値を除いた検定ではいずれの項目も最高用量である 20000 ppm 群で有意差が認められなかった。従って、用量との関連に欠ける変動であり、検体の影響とは考えられなかった。

#### 臓器重量 :

最終屠殺動物のうち、動物番号順に各群の雌雄各 10 例について、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、甲状腺、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を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別			雄			雌		
検査時期(週)			104			104		
投与量(ppm)			50	1000	20000	50	1000	20000
検査動物数 <sup>a</sup>			10	10	10	10	10	10
体重			107	108	105	100	94	92
甲状腺	重量	検査全例	62	30	42	89	95	↑123
		外れ値除外 <sup>b</sup>	110	110	↑133	111	119	↑153
	対体重比	検査全例	57	28	41	90	101	↑135
		外れ値除外 <sup>b</sup>	102	102	125	112	126	↑168
心臓	対体重比	検査全例	93	100	104	97	103	↑110
肝臓	重量	検査全例	101	↑120	↑145	95	↑117	↑134
	対体重比	検査全例	93	110	↑136	95	↑124	↑145
腎臓	重量	検査全例	101	105	107	100	106	↑111
	対体重比	検査全例	95	98	102	98	↑112	↑119
脾臓	重量	検査全例	45	53	78	60	↓68	↓52
		外れ値除外 <sup>b</sup>	112	131	128	87	84	88
副腎	対体重比	検査全例	93	100	100	95	110	↑119
精巣	重量	検査全例	116	118	↑148			
	対体重比	検査全例	109	109	↑140			
卵巢	重量	検査全例				113	108	↑421
		外れ値除外 <sup>b</sup>				113	108	125
	対体重比	検査全例				113	↑117	↑483
		外れ値除外 <sup>b</sup>				113	117	↑135

Dunnett の多重比較法。↓: P<0.05、↑: P<0.01。

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

a: 各群とも10例だが、後述の外れ値を除いた場合はこれより少ない。

b: 腫瘍等により著しく増加した臓器重量データを、外れ値として除外した場合の計算結果。  
肝臓、心臓、副腎でも外れ値を除外した計算を実施したが、除外前と大差はなかった。

検体の影響は、雌雄の肝臓と甲状腺、雌の腎臓、心臓、副腎、卵巢に認められた。雌雄の肝臓重量及び雌の腎臓重量はそれぞれ 1000 ppm 以上の群、雌雄の甲状腺重量は 20000 ppm 群で増加した。また、雌の心臓、副腎、卵巢重量が 20000 ppm 群で増加した。1000 ppm 群における卵巢重量は、腫瘍のために異常高値となった外れ値を除外した場合には有意差が認められないことから、検体の毒性とは考えなかった。雌の脾臓の重量低下が、1000 ppm 以上の群において見られたが、腫瘍のため異常な高値を示した例を外れ値として除外した場合には有意差がないことから、検体の影響ではないと考えられた。雄の 20000 ppm 群では精巣の重量が増加したが、次頁の表に示すとおり、その値は背景値の範囲内であり、今回の対照群の値が背景値の中でも低めであったことによる偶発的な変動と考えた。なお、供試した系統のラットでは精巣の間細胞腫瘍が高頻度に発生するため臓器重量に影響することがあるが、今回の試験では対照群及び

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

20000 ppm 群で測定対象となった全動物にその発生が認められ、同腫瘍の有無の影響は考えられなかった。また、病理組織学的検査の項で後述するとおり、20000 ppm 群では精細管萎縮の発生頻度が低下したが、上記測定対象動物では両群ともに約半数で本所見が見られ、同病変の存在も重量の評価に影響ないと考えられた。

試験実施施設における Fischer 系ラット精巣重量の背景値

試験	試験 A	試験 B	試験 C	試験 D	試験 E	試験 F	今回の試験		
							対照群	20000 ppm 群	
開始年	1991	1993	1996	1996	1996	1997	2001		
重量	平均 <sup>a</sup>	5918	4791	3467	3517	2637	3961	2589	4237
	SD	1037	1457	1512	1195	834	1653	606	669
対体重比	平均 <sup>b</sup>	1.34	1.00	0.81	0.81	0.61	0.91	0.70	0.98
	SD	0.33	0.32	0.36	0.25	0.20	0.41	0.15	0.13

a: 単位はmg。 b: 単位はg/100g体重。 SD: 標準偏差値

肉眼的病理検査：死亡・切迫屠殺動物及び最終屠殺動物の全てについて剖検を行った。

発生頻度に統計学的有意差の認められた肉眼的病理所見を次頁の表に示した。検体の影響は、雌雄の肝臓、雄の脾臓、及び雌の皮膚に最終屠殺動物と全動物を通じて認められた。

肝臓に関しては、小葉明瞭及び表面粗造が雄の 20000 ppm 群、暗調化及び腫大の発生頻度が雌の 1000 ppm 以上の群で増加し、後述の病理組織学的な変化との関連が考えられた。また、腫瘤及び斑／点が雄の 20000 ppm 群、斑／点が雌の 1000 ppm 以上の群において増加を示したが、病理組織学的検査でこれらに関連する所見の発生頻度に検体の影響は認められず、特定の病理組織学的変化を反映したものととは考えられないことから、偶発的な変動と考えられた。

脾臓に関しては、暗調化の発生頻度が雄の 20000 ppm 群で増加した。

皮膚では脱毛が雌の 1000 ppm 以上の投与群で増加し、後述の病理組織学的な変化との関連が考えられた。

また、雄 20000 ppm 群の死亡切迫屠殺動物で肺の斑／点が増加したが、病理組織学的検査でこれらに関連する所見の発生頻度に検体の影響は認められず、特定の病理組織学的変化を反映したものととは考えられないことから、偶発的な変動と考えられた。

他の項目にも統計学的な有意差が認められたが、いずれも供試したラット系統に自然発生が散見される所見であり特異なものではなかった。さらに、より用量の高い群では同様の変動がないことから、用量との関連性が考えられず偶発的で

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体の影響ではないと判断されるものであるか、あるいはその発生頻度の低下に対して毒性学的な意義はないと考えられるものであった。

性別		雄											
検査時期		104 週				死亡・切迫屠殺動物				全動物			
投与量 (ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
検査動物数		40	45	33	36	10	5	17	14	50	50	50	50
脾臓	暗調化	1	2	5	↑ 9	0	0	0	1	1	2	5	↑ 10
肝臓	小葉明瞭	0	0	3	↑ 21	0	0	1	3	0	0	4	↑ 24
	表面粗造	5	7	3	↑ 13	3	2	4	7	8	9	7	↑ 20
	腫瘤	0	1	0	↑ 7	0	2	0	0	0	3	0	↑ 7
	斑／点 (spot)	2	6	2	↑ 8	1	0	1	3	3	6	3	↑ 11
	肝横隔膜結節	6	4	4	2	2	1	0	0	8	5	4	↓ 2
精巣	萎縮／軟化	23	23	↑ 26	14	9	3	10	12	32	26	36	26
肺	斑／点 (spot)	5	5	6	1	0	0	1	↑ 5	5	5	3	6
下垂体	腫瘤	6	6	3	1	2	1	2	1	8	7	5	↓ 2

性別		雌											
検査時期		104 週				死亡・切迫屠殺動物				全動物			
投与量 (ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
検査動物数		42	41	40	40	8	9	10	10	50	50	50	50
皮膚	脱毛	9	12	↑ 18	↑ 20	2	0	4	↑ 8	11	12	↑ 22	↑ 28
脾臓	腫大	6	4	4	↓ 0	4	3	3	7	10	7	7	7
肝臓	暗調化	1	0	↑ 28	↑ 36	1	1	0	0	2	1	↑ 28	↑ 36
	斑／点 (spot)	3	3	↑ 12	↑ 15	0	0	1	1	3	3	↑ 13	↑ 16
	腫大	0	0	↑ 7	↑ 31	0	0	0	0	0	0	↑ 7	↑ 31
	表面粗造	6	5	2	1	2	1	0	2	8	6	↓ 2	3
下垂体	腫大	0	↑ 5	0	0	0	0	0	1	0	↑ 5	0	1
腎臓	暗調化	1	3	0	3	4	↓ 0	2	3	5	3	2	6

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

病理組織学的検査；以下の組織を採取し、死亡・切迫屠殺動物と 0 及び 20000 ppm 群の最終生存動物では全組織、これ以外の群の最終生存動物では肝臓、腎臓、甲状腺、胸骨骨髓、脊椎骨髓、脾臓、及び肉眼的異常部位について病理組織標本を作成し検鏡した。

脳(大脳、小脳、橋、延髄)、脊髓(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺及び上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓(胸骨、大腿骨、頸部・胸部・腰部椎骨)、膝関節、リンパ節(頸部、腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺、舌下腺)、食道、胃(前胃、腺胃)、肝臓、脾臓、十二指腸、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、ハーダー腺、気管、肺（気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、凝固腺、卵巣、子宮（角部及び頸部）、腔、眼球（網膜及び視神経を含む）、下腿三頭筋、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）及び肉眼的異常部位

#### 〔非腫瘍性病変〕

対照群に比較して発生頻度に統計学的有意差が認められた非腫瘍性病変を次頁の表 1 に示す。

検体投与の影響は肝臓、腎臓、甲状腺及び皮膚に認められた。

肝臓では、最終屠殺動物及び全動物を通じて、小葉周辺性の肝細胞脂肪化の発生頻度が雌雄ともに 1000 ppm 以上の群で、びまん性の肝細胞脂肪化と肝細胞肥大の頻度が雌の 1000 ppm 以上の群で、増加あるいは増加傾向を示した。

腎臓において、慢性腎症の発生頻度が、最終屠殺動物及び全動物を通じて雌雄の 1000 ppm 以上の投与群で増加した。甲状腺において、小胞上皮細胞肥大の頻度が、最終屠殺動物及び全動物を通じて雌の 1000 ppm 以上の群及び雄の 20000 ppm 群で増加した。皮膚における毛包炎の頻度が雌の 1000 ppm 以上の投与群で、最終屠殺動物、切迫屠殺及び死亡例、ならびに全動物を通じて増加あるいは増加傾向を示した。検体投与群の皮膚に認められた毛包炎は、対照群と同様でこの系統のラットに自然発生するものと形態学的に差はなく、検体に皮膚刺激性がない（資料 T-4）ことから、その発生機序は不明であった。以上の各所見は、いずれも検体の影響と考えられた。

これらのほかにも、対照群と投与群の間に発生頻度の有意な差を示した所見が散見されたが、それらは用量との関連が明らかでなく検体の影響とは考えられないか、もしくはその発生頻度の低下について毒性学的意義は考えられなかった。

#### 〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を表 2（次頁以降）に示す。

認められた腫瘍はいずれも試験に用いた系統のラットに自然発生するもので、対照群と各投与群の間で発生頻度に統計学的に有意な増加は認められず、発生が早期化する傾向も認められなかった。以下の腫瘍の発生頻度が対照群に比較し統計学的に有意に低下したが、その毒性学的意味は特に考えられなかった。

雄の全動物：20000 ppm 群における甲状腺 C 細胞癌

雌の 104 週後計画殺動物：20000 ppm 群における単核細胞性白血病、下垂体の前葉腺腫及び甲状腺の C 細胞腺腫

雌の全動物：20000 ppm 群における下垂体の前葉腺腫及び甲状腺の C 細胞腺腫

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 1. 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
104週最終屠殺	皮膚 (腰背部)	検査動物数	40	0 <sub>a</sub>	0 <sub>a</sub>	36	42	41	40	40
		毛包炎	3	-	-	2	10	9	17	↑19
	骨髓 (頸椎)	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		造血亢進	4	2	2	2	10	↓3	5	5
	肝臓	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		小葉周辺性肝細胞脂肪化	5	9	↑20	↑27	1	0	↑16	↑17
		びまん性肝細胞脂肪化	0	4	1	3	0	3	↑13	↑8
		びまん性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	↑21	↑30
		胆管過形成	35	↓30	↓19	27	6	1	4	4
		肝細胞小増殖巣(好酸性)	11	21	↑22	17	2	3	3	6
	腎臓	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		慢性腎症	29	35	↑31	↑36	8	9	↑28	↑27
	精巣	検査動物数	40	42 <sub>a</sub>	33 <sub>a</sub>	36				
		精細管萎縮	19	17	15	↓7				
	甲状腺	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑36	0	1	↑30	↑36
C細胞過形成		14	10	11	6	13	13	8	↓5	
FD/KE	皮膚 (腰背部)	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		毛包炎	0	0	0	0	0	0	↑5	2
全動物	皮膚 (腰背部)	検査動物数	50	5 <sub>b</sub>	17 <sub>b</sub>	50	50	50	50	50
		毛包炎	3	0	0	2	10	9	↑22	↑21
	骨髓 (胸骨)	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		造血亢進	10	↓3	13	15	16	11	10	13
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		小葉周辺性肝細胞脂肪化	7	9	↑21	↑27	1	1	↑17	↑18
		びまん性肝細胞脂肪化	1	4	4	6	2	3	↑16	↑10
		びまん性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	↑22	↑31
		肝細胞小増殖巣(好酸性)	13	21	↑23	20	2	3	3	6
		胆管過形成	39	↓30	↓25	34	7	↓1	5	5
		肝横隔膜結節	8	5	4	↓2	12	5	8	9
	腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		慢性腎症	33	35	↑42	↑46	9	10	↑30	↑29
	甲状腺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
小胞上皮細胞肥大		1	0	1	↑39	0	3	↑34	↑40	
C細胞過形成		15	10	15	↓6	13	15	9	↓5	

Fisherの直接確率計算法。↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01。

FD/KE : 死亡例及び切迫屠殺例。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

b: 死亡例及び切迫屠殺例のみ検査(統計学的検定せず)。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-1.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
104 週 最 終 屠 殺	全身	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		悪性リンパ腫(リンパ球性、M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		単核細胞性白血病(M)	4	3	1	1	5	3	2	↓0
	皮膚	検査動物数	40	21a	16a	36	42	41	40	40
		乳頭腫(B)	1	2	1	1	0	0	0	1
		角化棘細胞腫(B)	2	1	2	1	1	0	0	0
		毛嚢上皮腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	0
		基底細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		線維腫(B)	6	11	5	3	0	1	0	2
		線維肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	1	2	1	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		シュワン細胞腫(B)	1	1	0	0	0	0	0	0
		悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	0
	乳腺	検査動物数	40	0a	0a	36	42	17a	14a	40
		腺腫(B)	0	-	-	0	1	0	0	0
		腺癌(M)	0	-	-	1	0	1	0	0
		線維腺腫(B)	1	-	-	0	6	9	9	5
	胸腺	検査動物数	40	0a	0a	36	41	1a	1a	40
		組織なし	0	0	0	0	1	0	0	0
		胸腺腫(B)	0	-	-	0	0	1	0	0
	肺	検査動物数	40	7a	7a	36	42	2a	3a	40
		腺腫(B)	4	1	4	0	2	1	1	1
		腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	1	0
	口腔	検査動物数	2a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
		乳頭腫(B)	1	-	-	-	-	-	-	-
基底細胞腺腫(B)		1	-	-	-	-	-	-	-	
心臓	検査動物数	40	0a	0a	36	42	1a	0a	40	
	シュワン細胞腫(B)	0	-	-	0	1	1	-	0	

Fisher の直接確率計算法。↓: P<0.05。 (B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-2.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
104 週 最 終 屠 殺	前胃	検査動物数	40	1a	0a	36	42	0a	1a	40
		扁平上皮癌(M)	0	0	-	0	0	-	1	0
	肝臓	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		肝細胞腺腫(B)	1	1	1	3	0	0	1	0
		肝細胞癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	膵臓	検査動物数	40	0a	1a	36	42	0a	0a	40
		膵島細胞腺腫(B)	0	-	0	1	0	-	-	0
		膵島細胞腺癌(M)	1	-	1	0	0	-	-	0
	腎臓	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	膀胱	検査動物数	40	0a	0a	36	42	0a	2a	40
		移行上皮乳頭腫(B)	0	-	-	2	1	-	1	1
	下垂体	検査動物数	40	9a	6a	36	42	25a	14a	40
		前葉腺腫(B)	6	5	4	2	15	14	7	↓6
	甲状腺	検査動物数	40	45	33	36	42	41	40	40
		C細胞腺腫(B)	8	11	7	10	7	5	2	↓1
		C細胞腺癌(M)	4	3	0	0	3	3	1	1
		小胞上皮細胞腺腫(B)	0	0	0	2	1	0	0	0
		小胞上皮細胞腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	1	1
	副腎	検査動物数	40	1a	1a	36	42	1a	0a	40
		褐色細胞腫(B)	4	0	1	4	2	0	-	2
		悪性褐色細胞腫(M)	1	0	0	0	0	1	-	1
	ジンバル腺	検査動物数	0a	0a	0a	0a	1a	0a	0a	0a
		癌(M)	-	-	-	-	1	-	-	-
	腹腔	検査動物数	0a	1a	0a	2a	0a	1a	0a	0a
		悪性中皮腫(M)	-	1	-	1	-	0	-	-
		横紋筋肉腫(M)	-	0	-	0	-	1	-	-

Fisher の直接確率計算法。↓: P<0.05。 (B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-3.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌							
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000				
104 週 最 終 屠 殺	精巣	検査動物数	40	42 <sup>a</sup>	33 <sup>a</sup>	36								
		間細胞腫(B)	38	37	27	36								
	前立腺	検査動物数	40	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	36								
		腺腫(B)	1	-	-	0								
	包皮腺	検査動物数	0 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>								
		腺腫(B)	-	0	1	-								
		腺癌(M)	-	1	1	-								
	卵巣	検査動物数									42	5 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	40
		悪性顆粒膜細胞腫(M)									0	0	1	1
	子宮角	検査動物数									42	11 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup>	40
		腺癌(M)									1	0	0	1
		平滑筋腫(B)									0	1	0	0
		平滑筋肉腫(M)									1	0	0	0
		内膜間質ポリープ(B)									11	6	8	8
	子宮 頸部	検査動物数									42	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	40
		内膜間質ポリープ(B)									0	-	-	1
	膣	検査動物数									42	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	40
		膣ポリープ(B)									0	-	-	1
	陰核腺	検査動物数									0 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
		乳頭腫(B)									-	1	1	1

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-4.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
切迫屠殺及び途中死亡	全身	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		組織球性肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		単核細胞性白血病(M)	3	1	5	7	4	2	2	3
	皮膚	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		乳頭腫(B)	0	0	2	0	0	0	1	0
		線維腫(B)	2	1	2	3	0	0	0	1
		線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		横紋筋肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		線維腺腫(B)	0	0	2	0	2	1	3	3
	骨	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		骨腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	鼻腔	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		肝細胞腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		脾島細胞腺腫(B)	-	-	-	-	0	1	0	0
	腎臓	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-5.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
切迫屠殺及び途中死亡	膀胱	検査動物数	10	5	17	14	8	8	10	10
		組織なし	0	0	0	0	0	1	0	0
		移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		C細胞腺腫(B)	1	1	3	1	1	1	0	0
		C細胞線癌(M)	1	1	1	0	0	0	0	0
		小胞上皮細胞腺癌(M)	1	0	1	0	0	0	0	0
	下垂体	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		前葉腺腫(B)	2	1	4	1	1	1	1	1
	副腎	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		褐色細胞腫(B)	0	0	0	2	1	0	0	0
		悪性褐色細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	大脳	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		悪性膠腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		悪性細網症(M)	0	0	0	1	0	0	1	0
	脊髓	検査動物数	10	5	17	14	8	9	10	10
		悪性膠腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	ジンバル腺	検査動物数	1a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
		癌(M)	1	-	-	-	-	-	-	-
	腹腔	検査動物数	0a	1a	2a	1a	0a	2a	0a	0a
悪性中皮腫(M)		-	0	1	1	-	0	-	-	
骨肉腫(M)		-	0	0	0	-	1	-	-	
精巣	検査動物数	10	5	17	14					
	間細胞腫(B)	5	1	8	10					
包皮腺	検査動物数	0a	0a	2a	0a					
	腺腫(B)	-	-	2	-					

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-6.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
			0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
	投与群(ppm)									
切迫屠殺及び途中死亡	子宮角	検査動物数	/				8	8	10	10
		組織なし					0	1	0	0
		平滑筋肉腫(M)					0	0	1	1
		内膜間質ポリープ(B)					0	0	1	2
		悪性シュワン細胞腫(M)					1	1	1	0
	子宮頸部	検査動物数					8	8	10	10
		組織なし					0	1	0	0
		平滑筋肉腫(M)					0	1	0	1
		内膜間質ポリープ(B)					0	1	1	0
		悪性シュワン細胞腫(M)					1	0	1	1
	膣	検査動物数					8	9	10	10
		膣ポリープ(B)					1	1	0	0
	陰核腺	検査動物数					0a	1a	1a	0a
		乳頭腫(B)					-	1	0	-
腺腫(B)		-	0	1	-					
全動物	全身	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		組織球性肉腫(M)	0	1	0	0	1	0	0	0
		単核細胞性白血病	7	4	6	8	9	5	4	3
	皮膚	検査動物数	50	26b	33b	50	50	50	50	50
		乳頭腫(B)	1	2	3	1	0	0	1	1
		角化棘細胞腫(B)	2	1	2	1	1	0	0	0
		毛嚢上皮腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	0
		基底細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		線維腫(B)	8	12	7	6	0	1	0	3
		線維肉腫(M)	1	0	1	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	1	2	1	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	1	0	1	0	0
		横紋筋肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
シュワン細胞腫(B)	1	1	0	0	0	0	0	0		
悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	0		

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

b: 最終屠殺動物の肉眼的異常例及び全ての死亡・切迫屠殺屠殺動物を検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-7.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
全動物	乳腺	検査動物数	50	5b	17b	50	50	26b	24b	50
		腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	1	0	1	0	1
		線維腺腫(B)	1	0	2	0	8	10	12	18
	胸腺	検査動物数	50	5b	17b	49	49	10b	11b	49
		組織なし	0	0	0	1	1	0	0	1
		胸腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	骨	検査動物数	50	5b	17b	50	50	11b	10b	50
		骨腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	鼻腔	検査動物数	50	5b	17b	50	50	9b	10b	50
		腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	50	12b	24b	50	50	11b	13b	50
		腺腫(B)	4	1	5	0	2	1	1	1
		腺癌(M)	0	1	0	1	0	0	1	0
	口腔	検査動物数	2a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
		乳頭腫(B)	1	-	-	-	-	-	-	-
		基底細胞腺腫(B)	1	-	-	-	-	-	-	-
	心臓	検査動物数	50	5b	17b	50	50	10b	10b	50
		シュワン細胞腫(B)	0	0	0	0	1	1	0	0
	前胃	検査動物数	50	6b	17b	50	50	9b	11b	50
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫(B)	2	1	1	3	0	0	1	0
肝細胞癌(M)		0	0	0	1	0	0	0	0	
脾臓	検査動物数	50	5b	18b	50	50	9b	10b	50	
	脾島細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	1	0	0	
	脾島細胞腺癌(M)	1	0	1	0	0	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

b: 最終屠殺動物の肉眼的異常例及び全ての死亡・切迫屠殺屠殺動物を検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-8.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000
全動物	腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	1
		腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	膀胱	検査動物数	50	5b	17b	50	50	8b	12b	50
		組織なし	0	0	0	0	0	1	0	0
		移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	2	1	0	1	2
	下垂体	検査動物数	50	14b	23b	50	50	34b	24b	50
		前葉腺腫(B)	8	6	8	3	16	15	8	↓7
	甲状腺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		C細胞腺腫(B)	9	12	10	11	8	6	↓2	↓1
		C細胞腺癌(M)	5	4	1	↓0	3	3	1	1
		小胞上皮細胞腺腫(B)	0	0	0	2	1	0	0	0
		小胞上皮細胞腺癌(M)	1	0	1	0	1	0	1	1
	副腎	検査動物数	50	6b	18b	50	50	10b	10b	50
		褐色細胞腫(B)	4	0	1	6	3	0	0	2
		悪性褐色細胞腫(M)	1	0	1	0	0	1	0	1
	脳	検査動物数	50	5b	17b	50	50	9b	10b	50
		悪性膠腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		悪性細網症(M)	0	0	0	1	0	0	1	0
	脊髄	検査動物数	50	5b	17b	50	50	9b	10b	50
		悪性膠腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	ジンバル腺	検査動物数	1a	0a	0a	0a	1a	0a	0a	0a
		癌(M)	1	-	-	-	1	-	-	-
	腹腔	検査動物数	0a	2a	2a	3a	0a	3a	0a	0a
		悪性中皮腫(M)	-	1	1	2	-	0	-	-
		横紋筋肉腫(M)	-	0	0	0	-	1	-	-
		骨肉腫(M)	-	0	0	0	-	1	-	-

Fisher の直接確率計算法。↓: P<0.05。 (B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

b: 最終屠殺動物の肉眼的異常例及び全ての死亡・切迫屠殺屠殺動物を検査(統計学的検定せず)。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-9.腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌							
	投与群(ppm)		0	50	1000	20000	0	50	1000	20000				
全動物	精巣	検査動物数	50	47b	50b	50								
		間細胞腫(B)	43	38	35	46								
	前立腺	検査動物数	50	5b	17b	50								
		腺腫(B)	1	0	0	0								
	包皮腺	検査動物数	0a	1a	4a	0a								
		腺腫(B)	-	0	3	-								
		癌(M)	-	1	1	-								
	卵巢	検査動物数									50	13b	14b	50
		組織なし									0	1	0	0
		悪性顆粒膜細胞腫(M)									0	0	1	1
	子宮角	検査動物数									50	19b	24b	50
		組織なし									0	1	0	0
		腺癌(M)									1	0	0	1
		平滑筋腫(B)									0	1	0	0
		平滑筋肉腫(M)									1	0	1	1
		内膜間質ポリープ(B)									11	6	9	10
		悪性シュワン細胞腫(M)									1	1	1	0
	子宮頸部	検査動物数									50	8b	10b	50
		組織なし									0	1	0	0
		平滑筋肉腫(M)									0	1	0	1
内膜間質ポリープ(B)		0					1	1	1					
悪性シュワン細胞腫(M)		1					0	1	1					
膣	検査動物数					50	9b	10b	50					
	膣ポリープ(B)					1	1	0	1					
陰核腺	検査動物数					0a	3a	3a	2a					
	乳頭腫(B)					-	2	1	1					
	腺腫(B)					-	1	2	1					

Fisher の直接確率計算法にて検定し、いずれも有意差なし。(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍。

a: 肉眼的異常例のみを検査(統計学的検定せず)。

b: 最終屠殺動物の肉眼的異常例及び全ての死亡・切迫屠殺屠殺動物を検査(統計学的検定せず)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-10.腫瘍性病変.

検査時期	性別	雄				雌				
	投与群(ppm)	0	50	1000	20000	0	50	1000	20000	
合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	88	76	80	84	54	48	40	40
		悪性	18	15	14	16	20	16	14	12
	腫瘍総数	106	91	94	100	74	64	54	52	
	担腫瘍動物数	良性	48	45	44	47	31	32	31	32
		悪性	17	14	14	15	16	16	13	12
	担腫瘍動物数	50	47	47	50	40	36	37	37	

以上の結果から、検体を0、50、1000及び20000ppmの用量でFischer系ラットに24ヶ月(104週)間混餌経口投与した結果、いずれの用量群でも検体投与による腫瘍性病変の発生頻度増加及び早期化、あるいは稀な腫瘍の発生は認められず、検体のラットにおける発がん性は陰性であると結論された。

また1000あるいは20000ppmの用量で、一般状態(脱毛)、体重、血液学的検査において検体投与の影響が認められたほか、肝臓、腎臓、甲状腺等に検体に関連した病変及び臓器重量の変動が認められた。以上より、本試験における無毒性量は雌雄ともに50ppm(雄1.70mg/kg/日、雌2.15mg/kg/日)であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性

(資料 T-19)

試験機関:

報告書作成年: 2004 年[GLP 対応]

検体の純度:

試験動物: Wistar Hannover 系ラット、1 群雌雄各 24 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間: P 世代; 投与開始から F1 児離乳時まで。F1 世代; 離乳時から F2 児離乳時まで。P 及び F1 世代共に、雄で約 16 週間、雌では約 18 週間(交配に要する期間が長い場合は約 19 週間)。ただし、F1 世代親動物において交尾の証拠が得られなかった雄あるいは児の得られなかった雌雄の組については、妊娠確認試験終了まで。

投与方法: 検体を 0、20、50、2000 及び 20000 ppm の濃度含有する飼料を、自由に摂取させた。飼料は 2 から 4 週に 1 回調製した。

用量設定根拠:

交配、調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率: 投与期間中毎日、全動物の一般状態及び生死を観察した。体重測定時は動物を手に取り、詳細に観察した。雌親動物では、妊娠及び分娩状態も観察した。死亡動物は速やかに剖検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

世代	期間 (週)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成 (10週)		一般状態・死亡を毎日観察 体重・飼料を週1回測定 8週時より発情周期を検査
	交配 (2~3週)	雌雄1対1で交配。 交配は腔栓/腔垢中の精子で確認 (妊娠0日)	交配状況の観察(交尾率)
	妊娠 (3週) …出産…	.....	妊娠0、7、14、20日に体重、飼料を週1回測定  出産状況の観察(哺育0日) 新生児数、死産児数、外表異常、性別、受胎率、出産率、妊娠期間、同腹生存児体重測定
	哺育 (3週) …離乳…	出産後4日目、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)  出産後21日目	母動物の出産後0、7、14、21日に体重、飼料測定 哺育0、4、21日に生存児数、児体重測定 途中死亡及び4日目屠殺新生児の異常の検査 親動物の臓器重量測定及び病理学的検査(肉眼+組織)。雄親動物の精子検査。
F1	育成 (10週)	継代用動物として、原則各腹雌雄1匹に加え、各群の雌雄が24匹ずつとなるよう無作為に選抜	継代用以外の児動物を屠殺し、臓器重量測定及び病理学的検査(肉眼+組織)。  雄の包皮分離、雌の腔開口の観察
	交配 (2~3週)	(P世代に準ずる) 交配できない雄及び児の得られない雌雄の親動物を無処置動物と交配	(P世代に準ずる) 妊性の確認
	妊娠 (3週) …出産…	.....	(P世代に準ずる)  (P世代に準ずる)
	哺育 (3週) …離乳…	(P世代に準ずる)  …(F1世代に準ずる).....	(P世代に準ずる) F2児肛門生殖突起間距離の測定  (F1世代に準ずる) 離乳後に屠殺し、各腹雌雄1匹ずつを病理組織学的検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

体重 ; 投与期間中毎週、全親動物の体重を測定した。児動物の体重は、哺育 0 日(出産日)は雌雄別に 1 腹分まとめて、哺育 4、7、14 及び 21 日は個別別に測定し、腹ごとに各性の平均体重を求めた。また、雄では投与開始日、雌では投与開始日、妊娠 0 日及び哺育 0 日の体重値を基準に体重増加量を算出した。

申請者注:試験ガイドラインでは、妊娠 0、7、14、21 日の母動物の体重測定が求められている。

しかし、本試験に用いた試験動物は、正常状態において、妊娠 21 日に分娩を開始する例があるため、最終の体重測定を 20 日に実施した。

摂餌量 ; 交配期間中を除き、毎週摂餌量を測定した。

検体摂取量 ; 投与期間ごと及び全体を通じた平均検体摂取量(mg/kg/日)を算出した。

交配及び妊娠の確認 ; 交配は雌の発情を腔垢像の観察により確認し、雌雄 1 対 1 で同居させた。

翌朝腔栓及び精子の有無により交尾を確認し、妊娠 0 日とした。

妊娠の有無は、分娩又は肉眼的病理検査時における子宮の着床痕の有無を調べることにより確認した。

F1 世代で交尾不成立や不妊の理由により児の得られなかった動物については、無処置動物と交配して、受胎産物の有無あるいは出産の有無により妊性を確認した。

親動物の繁殖性に関する指標 ; 育成、交配、妊娠及び哺育の各期間と肉眼的病理検査時に以下の指標について調べた。

正常発情周期を示した雌の頻度 = 発情前期又は発情期を示した雌数 / 発情周期を観察した雌数

交尾率 = 交尾が認められた雄(雌)数 / 交配に用いた雄(雌)数

受胎率 = 妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数

出産率 = 出産雌数 / 妊娠雌数

妊娠期間(日): 交尾成立日(妊娠 0 日)から分娩完了日(哺育 0 日)迄の期間

着床数: 子宮内の着床痕の数

精子数・精子頭部数: 精巢上体尾及び精巢の 1g あたり並びに臓器あたりの数

精子の運動性: 自動性を示す精子の百分率

精子の形態: 精子 200 個当りの正常形態精子の百分率

産児数・児動物の性比 ; 哺育 0 日に各腹ごとの生存児と死亡児の合計値を算出し、群の平均値として示した。性比は総雄産児数 / 総産児数として示した。

児動物の生存率 ; 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 日の生存率(%) = (哺育 7 日の生存児数 / 哺育 4 日の生存児数) × 100

哺育 14 日の生存率(%) = (哺育 14 日の生存児数 / 哺育 4 日の生存児数) × 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

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

児動物の性成熟の観察 ; F1 児動物について、雄は包皮分離、雌は膣開口を指標に観察し、完了日齢及び当該日の体重を測定した。F2 児動物については、哺育 4 日の肛門生殖突起間距離(AGD)を測定し、AGD の相対値を次式により算出した。

$$\text{AGD の相対値} = \frac{\text{肛門生殖突起間距離(mm)}}{(\text{体重(g)} \times 1000)^{1/3}}$$

肉眼的病理検査 ; 全ての生存親動物について剖検し、肉眼的病理検査を実施した。哺育 4 日に選抜されなかった哺育児、F1 世代の親動物を選抜した残りの F1 離乳児、全ての F2 離乳児、及び死亡児についても本検査を実施した。

臓器重量 ; 全ての生存親動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。臓器重量の統計学的検定は、非妊娠例、妊性確認を実施した例、妊娠中死亡例、死産例及び出産後に全ての児動物が死亡・食殺となった例を除外して評価した。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、卵巣、子宮(頸部と卵管を含む)、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺とともに分泌物を含む)及び前立腺(腹側葉)

児動物については、離乳児のうち、各腹で雌雄それぞれ 1 匹(片方の性がない場合は、他方の性のみ 1 匹)を対象に以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、甲状腺、胸腺、脾臓、肝臓及び子宮

なお、本試験で用いた系統の動物では小胞上皮細胞内空胞局在(小胞上皮細胞水腫変性)を伴う甲状腺の重量増加が自然発生すると報告されていることから、病理組織学的検査で小胞上皮細胞水腫変性が見られた甲状腺の重量は平均値計算から除外した。

病理組織学的検査 ; 対照群及び 20000 ppm 群の親動物の以下の組織を対象に病理組織学的検査を実施した。

生殖器官(精巣、精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺、卵巣、卵管、子宮及び膣)、下垂体、副腎、肝臓、甲状腺、重量に変化の見られた臓器及び肉眼的異常部位

肝臓、甲状腺、卵巣及び 20000 ppm 群で検体投与に関連すると考えられる所見を認めた組織については、他投与群についても検査を行った。F1 雌の卵巣では、Pederson & Peters の分類に従って原始卵胞(Types 1-3b)の数も数えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

児動物については、臓器重量測定に供した離乳児の以下の組織を対象に病理組織学的検査を実施した。

甲状腺、胸腺、脾臓、肝臓及び子宮

F1 離乳児の胸腺については、TUNEL 法を用いた免疫染色を行い、皮質細胞の TUNEL 陽性細胞出現頻度 (TUNEL index、%) を求めた。

結果 : 概要を以下の各表に示した。

世代			P					F1					
投与量 (ppm)			0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000	
動物数	雄		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
一般状態	雄		検体投与に起因する異常所見なし										
	雌		検体投与に起因する異常所見なし										
死亡数	雄		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	雌		0	0	0	1 <sup>e</sup>	1 <sup>e</sup>	0	0	0	0	0	
体重 (g) <sup>a</sup>	雄	最終	434	418	432	437	449	434	433	424	450	449	
	雌	最終	264	265	269	280	272	262	266	273	↑285	274	
体重増加量 (g) <sup>a</sup>	雄	開始~16週	263	248	262	266	279	371	368	361	387	384	
	雌	開始~18週	138	139	143	154	145	202	204	212	↑224	215	
摂餌量 <sup>b</sup>	雄						↑13週 ↑14, 15週				↑14週	↑14週	
	雌					↑育成 3, 6週					↑妊娠 14-20日	↑妊娠 14-20日	
検体摂取量 <sup>c</sup> (mg/kg/日)	雄		—	1.30	3.30	131	1307	—	1.64	4.05	162	1636	
	雌		—	1.59	3.95	159	1577	—	1.84	4.59	176	1808	
肉眼的 病理検査 <sup>d</sup>	雄	検査動物数		24	24	24	24	24	24	24	24	24	
		甲状腺	腫大	1	2	3	2	↑15	1	1	0	2	↑13
			褐色化	0	0	0	0	↑12	0	0	0	1	↑11
		腎臓	腎盂拡張	1	2	2	1	2	8	↓2	4	3	4
	雌	検査動物数		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
		肝臓	腫大	0	0	0	↑8	↑16	0	0	0	↑6	↑13
			暗調化	0	0	0	↑20	↑19	0	1	0	↑16	↑21
		甲状腺	腫大	0	0	1	2	↑6	1	1	1	2	↑10
			褐色化	0	0	0	↑6	↑16	0	0	0	↑5	↑18

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 体重、体重増加量、摂餌量。

Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理所見。

↑↓: p<0.05, ↑: p<0.01。

a: 平均値。

b: 統計学的に有意な変動が認められた週を示す。空欄は、いずれの週も対照群との間に有意差なし。

c: 育成期間を通した全投与期間の平均値。

d: 死亡例を含む検査全動物数 24 匹の中で所見が見られた動物数。

e: 死亡は妊娠期間(分娩時)に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代		P					F1						
投与量 (ppm)		0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000		
雄	供試動物数	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
	検定対象外動物数	1 <sup>a</sup>	0	0	0	0	4 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>		
	検定対象動物数	23	24	24	24	24	20	23	22	20	19		
	最終体重 <sup>c</sup>	100	96	100	101	103	100	100	98	104	103		
	下垂体	重量	100	104	103	99	108	100	98	98	↓86	92	
		対体重比	100	108	104	98	104	100	99	100	↓82	↓88	
	肝臓	重量	100	95	102	108	↑125	100	98	96	104	↑115	
		対体重比	100	99	103	↑108	↑121	100	98	98	100	↑111	
	副腎	重量	100	97	102	101	↑114	100	96	99	95	101	
	甲状腺 <sup>d</sup>	重量	100	107	109	↑119	↑174	100	101	97	112	↑153	
		対体重比	100	111	109	119	↑171	100	102	100	109	↑148	
	親動物	雌	供試(出産)動物数 <sup>e</sup>	24	23	22	23	22	19	23	23	20	20
		検定対象外動物数	0	0	0	0	3 <sup>f</sup>	0	0	0	2 <sup>f</sup>	0	
		検定対象動物数	24	23	22	23	19	19	23	23	18	20	
最終体重 <sup>c</sup>		100	100	102	106	103	100	102	104	↑109	105		
脳		対体重比	100	100	99	95	98	100	99	97	↓93	95	
		下垂体	対体重比	100	100	93	↓89	98	100	105	97	↓83	↓85
肝臓		重量	100	101	99	↑144	↑153	100	115	113	↑147	↑163	
		対体重比	100	101	98	↑135	↑149	100	113	108	↑135	↑156	
副腎		重量	100	101	105	↑114	↑114	100	101	103	109	104	
		対体重比	100	101	103	108	↑111	100	99	99	101	99	
腎臓		重量	100	103	103	↑116	↑119	100	108	104	↑119	↑113	
		対体重比	100	102	101	↑109	↑115	100	106	100	↑109	↑108	
子宮		重量	100	106	115	↑122	↑126	100	118	106	119	↑125	
		対体重比	100	105	113	↑116	↑122	100	117	103	110	119	
卵巣	重量	100	109	↑115	↑119	↑124	100	104	106	↑121	111		
	対体重比	100	109	113	113	↑121	100	103	103	112	107		
脾臓	重量	100	100	93	93	91	100	108	98	↓88	↓84		
	対体重比	100	99	91	↓88	↓88	100	106	94	↓81	↓81		
甲状腺 <sup>d</sup>	重量	100	104	105	↑142	↑184	100	113	104	↑136	↑173		
	対体重比	100	104	103	↑134	↑180	100	112	100	125	↑164		

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法)。↑↓:  $p < 0.05$ 、↑↓:  $p < 0.01$ 。

a: 巨大な腎腫瘍による二次的影響が顕著にみられたため除外。

b: 妊性確認のため屠殺時期が異なるため除外。

c: 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。

d: 病理組織学的検査で水腫様変性を認めた場合、その甲状腺重量は統計検定の対象外とした。

e: 次々頁記載の出産した雌動物数。

f: 出産後の死亡・食殺により生存児がないため除外。

(続き)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

世代		P					F1							
投与量 (ppm)		0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000			
親動物	雄	対象動物数	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
		肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	0	4	0	0	0	0	↑7	
			肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	↑8	
			褐色色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	↑16	↑23	
		甲状腺	小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑14	↑21	0	0	0	↑22	↑22	
				対象動物数	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
		雌	肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	↑10	↑12	0	0	0	↑12	↑13
				肝細胞肥大	0	0	0	↑8	↑16	0	0	0	↑5	↑15
				褐色色素沈着	0	0	0	↑6	↑18	0	0	0	↑17	↑24
				胆管増生	0	0	0	0	↑8	0	0	0	1	↑11
	多核肝細胞増加			0	0	0	0	↑5	0	0	0	0	0	
	甲状腺		小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑22	↑21	0	0	0	↑23	↑20	
	卵巢		間質細胞空胞化	0	0	0	4	↑6	0	0	0	0	3	
	卵巢の原始卵胞数(個) <sup>a</sup>		-	-	-	-	-	384	-	-	-	-	440	
	対象動物数		24	24	24	24	24	24	1	1	6	24		
	副腎		皮質細胞肥大	0	0	0	0	↑16	0	0	0	0	0	
	腎	対象動物数	24	24	24	24	24	24	3	3	6	24		
		好塩基性尿細管	2	2	2	↑10	↑11	3	0	0	1	2		
			尿円柱	1	1	2	↑9	↑9	2	0	0	1	3	

Fisher の直接確率計算法: 病理組織学的所見、*t* 検定: 原始卵胞数。

↑:  $p < 0.05$ 、↑↑:  $p < 0.01$ 。-: 測定せず。

a: 死亡例を含む検査全動物(各群 24 匹)の中で所見がみられた動物数。

b: 各群の平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

(続き)

世代			P					F1					
投与量 (ppm)			0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000	
動物数			雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
			雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
親動物	繁殖能力	雄	交尾数	24/24	24/24	24/24	23/24	24/24	24/24	24/24	23/24	24/24	23/24
			精子数 <sup>a</sup>	精巢 ×10 <sup>6b</sup>	215	205	217	218	217	239	239	226	223
		精巢 ×10 <sup>6/g<sup>c</sup></sup>		131	122	128	129	127	146	145	137	137	137
		精巢上体 ×10 <sup>6b</sup>		155	171	183	171	191	146	162	150	151	162
		精巢上体 ×10 <sup>6/g<sup>c</sup></sup>		632	683	704	662	704	648	693	701	668	709
		精子運動率(%) <sup>a</sup>	72.8	75.2	74.0	72.6	74.4	76.7	75.8	80.0	76.6	78.6	
		正常形態精子(%) <sup>a</sup>	97.4	98.3	97.7	98.2	98.3	98.5	97.9	98.4	98.7	98.9	
		雌	正常発情周期	24/24	23/24	23/24	23/24	24/24	23/24	24/24	23/24	23/24	24/24
			発情周期長(日) <sup>a</sup>	4.1	4.0	4.0	4.0	4.0	4.2	4.1	4.1	4.1	↓4.0
			交尾率	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24
			受胎率	24/24	23/24	23/24	24/24	23/24	20/24	23/24	23/24	20/24	20/24
			出産率	24/24	23/23	22/23	23/24	22/23	19/20	23/23	23/23	20/20	20/20
			妊娠期間(日) <sup>a</sup>	22.3	22.1	22.1	22.3	22.5	22.2	22.2	22.1	22.3	22.2
			着床数 <sup>a</sup>	13.8	13.9	12.3	13.5	14.0	11.3	12.0	12.3	12.6	12.6

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 体重、体重増加量、摂餌量、精子数、着床数。

Fisher の直接確率計算法: 正常発情周期、交尾率、受胎率、出産率。

Mann-Whitney U 検定法: 精子運動率、正常形態精子、発情周期長、妊娠期間。

↓: p<0.05。

a: 平均値。

b: 精巢あるいは精巢上体尾当りの精子数の平均値。

c: 精巢あるいは精巢上体尾 1g 当りの精子数の平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代		F1					F2						
投与量 (ppm)		0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000		
児 動 物	一般状態 (15-21日)	対象動物数	190	181	175	180	143	141	174	177	130	157	
		眼球腫大	0	0	0	16	3	0	0	0	4	5	
	1腹あたりの産児数 <sup>a</sup>		12.9	13.0	12.0	12.3	12.1	10.7	11.2	11.4	11.4	11.3	
	性比(雄/産児数)		0.484	0.482	0.445	0.486	0.461	0.443	0.416	0.510	0.480	0.473	
	生存率 (%)	哺育0日	99.7	99.0	100.0	99.7	90.0	96.3	99.7	99.7	98.2	98.8	
		哺育4日	98.9	100.0	98.2	99.7	84.3	99.1	99.6	99.7	88.0	98.6	
		哺育7日	99.5	99.5	100.0	99.5	99.3	100.0	100.0	99.3	100.0	100.0	
		哺育14日	99.5	98.4	99.4	97.8	98.0	100.0	100.0	99.3	99.3	100.0	
		哺育21日 <sup>b</sup>	99.5	98.4	99.4	97.8	98.0	100.0	100.0	99.3	98.6	100.0	
	体重 (g) <sup>a</sup>	雄	哺育0日	5.8	5.7	5.9	↑6.3	6.1	6.2	6.3	6.3	6.3	6.4
			哺育4日	10.3	10.4	10.7	11.2	11.3	11.1	11.7	11.3	11.8	12.1
			哺育7日	17.0	17.3	17.4	17.8	17.7	18.1	18.8	18.3	18.5	18.9
			哺育14日	36.1	36.4	35.7	36.0	34.7	36.8	36.9	36.9	36.9	36.9
			哺育21日	56.6	57.2	56.1	55.5	↓51.4	57.5	57.9	57.1	56.7	↓52.9
		雌	哺育0日	5.4	5.4	5.6	↑6.0	5.7	6.0	6.0	5.9	6.1	6.0
			哺育4日	9.9	10.1	10.5	10.9	10.8	11.0	11.3	11.0	11.5	11.6
			哺育7日	16.4	16.9	17.0	17.4	17.1	17.9	18.2	17.6	17.8	18.2
			哺育14日	34.9	35.5	34.9	35.2	34.1	36.4	35.9	36.0	35.6	35.9
			哺育21日	54.3	55.1	54.2	53.5	↓50.2	55.8	55.6	55.0	54.8	↓51.4
	性成熟	包皮分離 <sup>c</sup>	包皮分離日 <sup>d</sup>	41.3	41.5	↑42.5	↑43.0	↑43.7	/				
同体重(g) <sup>e</sup>			176.2	175.0	178.3	↑188.9	↑185.5						
膺開口 <sup>c</sup>		膺開口日 <sup>d</sup>	31.8	31.4	31.5	31.8	32.2						
		同体重(g) <sup>e</sup>	102.1	97.2	97.0	100.2	101.0						
AGD <sup>a</sup>	雄	絶対値	/					4.91	5.17	5.08	5.23	5.29	
		相対値 <sup>c</sup>						0.221	0.229	0.228	0.231	0.232	
	雌	絶対値						2.38	2.45	2.40	2.48	2.48	
		相対値 <sup>c</sup>						0.108	0.110	0.109	0.111	0.111	
肉眼的 病理検査	哺育 4日 <sup>d</sup>	対象動物数	114	112	82	98	71	56	81	83	61	63	
		所見	検体投与に起因する異常所見なし					検体投与に起因する異常所見なし					
	哺育 21日 <sup>e</sup>	対象動物数	142	133	127	132	95	141	174	177	129	157	
		肝臓/暗調化	0	0	0	↑34	↑32	0	0	0	↑34	↑77	
		眼球/腫大	0	0	0	17	3	0	0	0	4	6	

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 産児数、体重、AGD。

Fisher の直接確率計算法: 性比。

Mann-Whitney の U 検定: 一般状態、生存率、性成熟日齢、肉眼的病理検査。

↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01。

a: 平均値。 b: 離乳率。 c: 相対値=絶対値/(体重)<sup>1/3</sup>。

d: 哺育4日までの死亡動物を含む。 e: 哺育5日以後の死亡動物を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代		F1					F2							
投与量 (ppm)		0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000			
児動物	雄	対応する親の出産(腹)数	24	23	22	23	22	20	23	23	20	20		
		該当する性の児がない腹数	0	0	1	0	4 <sup>b</sup>	3 <sup>c</sup>	0	0	3 <sup>d</sup>	0		
		検査動物(腹)数	24	23	21	23	18	17	23	23	17	20		
		最終体重(g)	100	103	101	99	↓90	100	100	98	100	93		
		臓器重量。	脳	対体重比	100	99	100	102	↑110	100	101	103	99	↑107
			甲状腺	対体重比	100	98	104	103	↑124	100	108	111	109	120
			胸腺	重量	100	1000	97	↓86	↓80	100	108	97	90	↓84
				対体重比	100	98	97	↓88	90	100	108	98	89	90
			脾臓	重量	100	101	95	↓80	↓69	100	101	91	87	↓73
	対体重比			100	99	94	↓82	↓77	100	100	92	↓86	↓78	
	肝臓		重量	100	106	102	↑114	↑119	100	99	99	↑115	↑122	
			対体重比	100	104	102	↑117	↑133	100	99	100	↑114	↑131	
	雌	対応する親の出産(腹)数	24	23	22	23	22	20	23	23	20	20		
		該当する性の児がない腹数	0	0	0	0	4 <sup>b</sup>	1 <sup>c</sup>	0	1	2 <sup>d</sup>	0		
		検査動物(腹)数	24	23	22	23	18	19	23	22	18	20		
		最終体重(g)	100	101	100	99	↓89	100	100	99	97	↓92		
		臓器重量。	脳	対体重比	100	99	102	102	↑111	100	101	102	102	↑108
			胸腺	重量	100	105	98	89	↓82	100	104	89	↓83	↓79
対体重比				100	102	98	↓90	93	100	103	91	↓85	↓85	
脾臓			重量	100	105	95	↓85	↓71	100	100	90	↓83	↓75	
			対体重比	100	103	94	↓86	↓80	100	99	90	↓85	↓81	
肝臓	重量		100	105	102	↑121	↑123	100	102	100	↑119	↑128		
	対体重比		100	103	102	↑122	↑138	100	101	101	↑121	↑138		
子宮	重量		100	108	107	↑137	109	100	106	105	119	107		
	対体重比	100	106	106	↑139	↑123	100	106	107	↑122	116			

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法)。↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01。

a: 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。

b: 全ての児が死亡あるいは母動物に食殺された 3 例を含む。

c: 死産の 1 例を含む。

d: 全ての児が死亡あるいは母動物に食殺された 2 例を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代		F1					F2						
投与量 (ppm)		0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000		
児動物	雄	対象動物数	24	23	21	23	18	17	23	23	17	20	
		肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	↑12	↑13	0	0	0	↑11	↑14
			肝細胞肥大	0	0	0	↑9	↑18	0	0	0	↑9	↑20
			褐色色素沈着	0	0	0	↑16	↑18	0	0	0	↑16	↑20
			胆管増生	0	0	0	3	↑14	0	0	0	4	↑15
		甲状腺	小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑8	↑18	0	0	0	↑8	↑20
		対象動物数	24	23	22	23	18	19	23	22	18	20	
	雌	肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	↑10	↑12	0	0	0	↑8	↑13
			肝細胞肥大	0	0	0	↑9	↑17	0	0	0	↑10	↑20
			褐色色素沈着	0	0	0	↑18	↑18	0	0	0	↑14	↑20
			胆管増生	0	0	0	↑4	↑17	0	0	0	↑7	↑19
		甲状腺	小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑11	↑18	0	0	0	↑9	↑18
		胸腺 TUNEL index (%) <sup>b</sup>	雄	0.32	-	-	-	0.25					
			雌	0.25	-	-	-	0.28					

Fisher の直接確率計算法: 病理組織学的検査、Mann-Whitney の U 検定: 胸腺 TUNEL index。

↑: p<0.05、↑↑: p<0.01。-: 検査せず。

a: 検査全動物数の中で所見が見られた動物。

b: 平均値。

### 親動物

一般状態及び死亡率 ; P 及び F1 両世代の雌雄親動物ともに、検体投与に関係する症状はみられなかった。P 世代 2000 ppm 及び 20000 ppm 群の雌各 1 匹が妊娠 22 日あるいは 23 日の分娩時に臨床症状を呈することなく死亡し、F1 世代で妊性確認に供した動物のうち、20000 ppm 群の 2 例の雌も分娩時に死亡した。追加実施した一世代繁殖試験(資料 T-20)において、分娩時死亡は 20000 ppm 群のみで認められたことから、本用量における死亡は検体投与に関連すると考えられたが、2000 ppm 群での死亡は本試験のみで認められ、偶発的なものである可能性が高いと考えられた。

体重変化 ; P 及び F1 世代の雄の体重は、各投与群とも投与期間を通じて対照群とほぼ同じであった。P 世代の雌でも、体重には各投与群と対照群との間で差を認めなかったが、F1 世代の雌では、2000 ppm 群の体重及び体重増加量に散発的な高値がみられた。一方、F1 世代の雌の 20000 ppm 群では、育成期間中の第 7 週に一時的に高値を示したのみであった。

摂餌量 ; P 及び F1 世代の雄の摂餌量は、各投与群とも投与期間を通じて対照群とほぼ同じか、むしろ上回る傾向を示し、2000 ppm 及び 20000 ppm 群では、投与 13 週

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

から 15 週の期間に高値を認めた。雌においても、散発的な高値を 2000 ppm 及び 20000 ppm 群に認めた。

**肉眼的病理検査** ; 肝臓の腫大と暗調化の発生頻度が P 及び F1 世代雌動物の 2000 ppm 以上の群で増加した。また、甲状腺の腫大と褐色化の増加が雌雄の P 及び F1 世代の 20000 ppm 群で認められ、褐色化については雌の P 及び F1 世代の 2000 ppm 群でも増加した。雄 F1 世代の 20 ppm 群で腎臓の腎盂拡張の発生頻度低下が認められたが、より高い用量群に同様の変化はみられず、偶発的な変動と考えられた。

**臓器重量** ; 2000 ppm 以上、あるいは 20000 ppm 群で対照群に比べ統計学的に有意な変動が認められた。雌雄における肝臓、甲状腺及び副腎重量の増加ならびに雌における腎臓及び子宮重量の増加は検体投与の影響と考えられた。卵巢の重量増加も認められたが、2000 ppm 以上の群の変化を検体投与の影響と考えた。P 世代 50 ppm 群でも卵巢重量が増加したが、対体重比に変化がなく病理組織学的検査においてもこの群に影響が認められなかったこと(後述)、F1 世代においては再現されていないこと、さらには雌親動物の繁殖成績に異常を認めなかったことより、偶発的な変動であった可能性が高く、仮に検体投与の影響であったとしても、悪影響ではないと判断された。

雌の 2000 ppm 以上の群で脾臓が、F1 世代雌雄の 2000 ppm 以上の群で下垂体重量が、それぞれ減少し検体投与の影響と考えられた。P 世代雌の 2000 ppm 群でも下垂体の対体重比の減少がみられたが、より高用量の 20000 ppm 群で影響がなかったことから、検体投与との関連は考えられなかった。また、F1 世代雌の 2000 ppm 群でみられた脳の対体重比の減少は、重量で対照群と差がなかったため、同群の臓器重量測定時の平均体重が高値を示したことに伴う変動と考えられ、検体の影響ではないと判断した。

**病理組織学的検査** ; 雌雄の 2000 ppm 以上あるいは 20000 ppm 群で肝臓及び甲状腺に病変を認めた。肝臓においては、肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び門脈域の褐色色素沈着に加え、雌のみの所見であるが、胆管増生及び多核肝細胞増加の所見の発生頻度上昇も認められた。甲状腺においては、小胞上皮細胞肥大の頻度増加を認めた。他に P 世代雌の 2000 ppm 以上の群で腎尿管好塩基性化及び尿円柱の増加が、20000 ppm 群で副腎のびまん性皮質細胞肥大及び卵巢間質細胞の空胞化が認められた。他の臓器では、検体に関連する所見はみられず、F1 雌の卵巢で計測した原始卵胞数は、対照群と 20000 ppm 群との間に差はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

また、出産時死亡した 20000 ppm 群の 1 例では、重度の肝細胞脂肪化及び塊状肝細胞壊死が認められたことから、肝臓障害が死亡に至らせる要因の一つであったと考えられた。

#### 親動物の繁殖能力

- 発情周期 ; 連続して発情休止期像を呈し、発情期の陰垢像が観察されない雌が、P 及び F1 世代ともに対照群を含むいくつかの群で 1 例ずつ散見されたが、検体の影響は認められなかった。平均発情周期長は、20000 ppm 群の F1 世代の雌で低値であったが、各個体の発情周期長は正常な周期長と考えられる 4 又は 5 日であり、特に短縮したと考えられる個体がないことから、生物学的に意味のない偶発的変動と考えられた。
- 交尾率 ; P 及び F1 世代ともに、交尾率及び同居開始から交尾までの日数は検体投与群と対照群との間に有意差はなかった。
- 受胎率 ; P 及び F1 世代ともに、検体投与群と対照群との間に有意差は認められなかったが、F1 世代の対照群、2000 ppm 以上の群でやや低値を示した。児が得られなかったか交配できなかった合計 16 匹の F1 世代雄を無処置雌と交配した結果、対照群、20 及び 2000 ppm 群の各 1 匹ずつを除く 13 匹の F1 世代雄に妊性が確認された。無処置雄と交配した合計 14 匹の F1 世代雌は、すべて交尾と妊娠が成立した。以上から受胎率の低値は検体投与とは関係ない変動と考えられた。
- 出産率 ; P 世代雌の出産率は、対照群と 20 ppm 群はともに 100%であった。50 ppm 群の雌 1 匹に出産が認められなかったが、剖検時の子宮内には着床痕が確認された。2000 ppm 以上の群では分娩時死亡が各 1 例認められたが、出産率は対照群との間に有意差を認めなかった。F1 世代の雌の出産率は、いずれの投与群においても 100%であった。
- 妊娠期間 ; P 及び F1 世代ともに妊娠期間は、検体投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。
- 着床数 ; 各投与群の P 及び F1 世代の雌における平均着床数は、いずれも対照群の値とほぼ同じであった。
- 精巢の精子頭部数及び精巢上体の精子数、運動性ならびに形態 ; P 及び F1 世代の精巢精子頭部数、精巢上体の精子数、運動率及び正常形態精子出現率は、いずれの群でも対照群と差はなかった。F1 世代の精巢当たりの精子頭部数は、20000 ppm 群で対照群に比較して有意な低値を示した。その低下は、精巢 1 g 当たりの精子頭部数で換算した場合には対照群との間の統計学的に有意な差はなくなる程度で、繁殖成績、生殖器官の病理組織学的検査結果、さらには F2 哺育児における肛

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

門生殖突起間距離に検体投与に関連する変化もみられなかったが、検体投与との関連は否定できないと考えられた。

## 児動物

- 一般状態 ; 対照群を含む各群でいくつかの所見がみられたが、これらのうち 2000 ppm 以上の群の F1 及び F2 哺育児 3~16 匹に認められた眼球腫大は、検体投与との関連が考えられた。
- 産児数 ; 各群の 1 腹あたりの平均産児数に有意な差は認められなかった。
- 性比 ; 各群の性比に差は認められなかった。
- 生存率(含離乳率) ; 各群における哺育児の生存率に差は認められなかった。
- 体重 ; 20000 ppm 群では、哺育 21 日の体重が F1 及び F2 いずれの世代の雌雄においても有意な低値を示し、検体投与の影響と考えられた。哺育 0 日に、雌雄 2000 ppm 群の F1 世代で増加がみられたが、20000 ppm では F1 及び F2 世代の雌雄のいずれも対照群との間に有意な差がなく、影響とは考えられなかった。
- 性成熟 ; F1 雄動物の包皮分離完了日齢は、20 ppm 群と対照群の間に差はなかったが、50 ppm 以上の各群で有意差が認められ、2000 ppm 以上の各群では包皮分離時の平均体重も有意な高値であった。しかし、50 及び 2000 ppm 群の平均完了日齢(42.5 及び 43.0 日)は試験施設における同系統ラットの背景値(40.9-43.4 日)の範囲内にあり、第一種の過誤を犯す危険性が少ない多重比較検定で解析した場合、平均完了日齢の有意な遅延は 2000 ppm 以上で認められ、50 ppm 群に有意差はなかった。また、F2 世代児動物で測定した肛門生殖突起間距離(AGD)はいずれの用量、性でも影響は認められなかったこと、他の繁殖能力に関するパラメータ及び病理組織学的検査において、20000 ppm 群では精巢精子頭部数の低下が認められたが、2000 ppm 以下の群では検体に関連する変化はなかったこと、さらには、追加実施した一世代繁殖毒性試験(資料 T-20)において 200 ppm でも包皮分離完了日齢に変動がみられなかったことを総合して、50 ppm 群での有意な変動は偶発的であり、2000 ppm 群での変動も検体との関連が考えられるものの毒性学的意義は低いと考えられた。
- F1 世代の雌親動物の性成熟(陰開口)には、影響はみられなかった。
- 肛門生殖突起間距離 ; F2 世代の児動物の哺育 4 日における肛門生殖突起間距離は、絶対値及び相対値ともに差は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

肉眼的病理検査 ; 哺育4日に淘汰した哺育児では、いずれの群でも検体に関連する異常は認められなかった。離乳したF1及びF2世代の児動物では、2000 ppm以上の群で肝臓の暗調化が高頻度で観察され、また、眼球の腫大が3~17匹で認められた。

臓器重量 ; 各種臓器重量が2000 ppm以上の群、あるいは20000 ppm群で対照群に比べて統計学的に有意な変動を示した。F1及びF2世代の雌雄ともに認められた肝臓の重量増加及び脾臓ならびに胸腺の重量減少、さらに雄のF1の甲状腺及び雌の子宮でみられた対体重比も含む重量の増加は、検体投与の影響と考えられた。一方、脳の対体重比の増加が20000 ppm群の雌雄ともにF1及びF2世代を通じて認められたが、重量には変化がないことから、低体重による、みかけ上の変動と考えられた。

病理組織学的検査 ; 2000 ppm以上の群で、肝臓の肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、褐色色素沈着、胆管増生及び甲状腺の小胞上皮細胞肥大が認められた。また、F1及びF2世代の2000 ppm以上の群で剖検時に腫大が認められた離乳児の眼球では、ほぼ全例に虹彩癒着が認められ、眼房水の流出障害が眼球腫大に至ったと考えられた。またこれら眼球では出血、角膜上皮基底細胞の水腫様変性、角膜上皮細胞の空胞化、角膜炎、虹彩炎及び白内障も観察された。

F1離乳児の胸腺において計測したTUNEL indexには、対照群と20000 ppm群との間で差は認められなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は、親動物に対する一般毒性的影響に関しては50 ppm(雄P:3.30 - F1:4.05 mg/kg/日、雌P:3.95 - F1:4.59 mg/kg/日)、親動物の繁殖能力に対しては2000 ppm(P:131 - 159mg/kg/日、F1:162 - 176 mg/kg/日)であると考えられた。また、F1及びF2児動物に対する無毒性量は50 ppmであると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 繁殖毒性(追加一世代試験)

① 追加一世代試験

(資料 T-20)

試験機関:

報告書作成年: 2004 年[GLP 対応]

検体の純度 :

試験動物 : Wistar Hannover 系ラット、1 群雌雄各 24 匹、投与開始時 5 週齢

試験期間 : P 世代の雄親動物は約 16 週間、雌親動物は約 18 週間(交配に要する期間が長い場合は約 19 週間)。F1 世代親動物は、離乳後剖検終了までの雄約 10 週間雌約 5 週間。

目的 : 2 世代にわたる繁殖毒性試験(資料 T-19)において、50 ppm以上の用量群の雄 F1 児動物の性成熟(包皮分離完了日)が、対照群に比較して統計学的に有意に遅延した。一方、背景値との比較及び第一種の過誤の危険性が少ない多重比較法による検定結果から、50 ppm群に見られた統計学的有意差は偶発的である可能性が考えられた。本試験では、上記性成熟の指標に関する検体の無作用濃度を確認するとともに、既実施試験で見られた各種変動の再現性を検討し、検体の影響を的確に把握することを目的とした。

投与方法 : 検体を 0、50、200、2000 及び 20000 ppm の濃度含有する飼料を、自由に摂取させた。飼料は 2-4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠 :

交配、調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡 : 投与期間中毎日、全動物の一般状態及び生死を観察した。体重測定時は動物を手に取り、詳細に観察した。雌親動物では、妊娠及び分娩状態も観察した。死亡動物は速やかに剖検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

世代	期間(週)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成 (10週)	雌雄1対1で交配。 交配は腔栓/腔垢中の精子で確認 (妊娠0日)	一般状態・死亡を毎日観察 体重・飼料を週1回測定 (体重増加量、摂餌量、検体摂取量) 8週時より発情周期を検査 交配状況の観察(交尾率)
	交配 (2~3週)		
	妊娠 (3週) …出産…		妊娠0、7、14、20日に体重、飼料を週1回測定 出産状況の観察(哺育0日) 新生児数、死産児数、外表異常、性別、受胎率、出産率、妊娠期間、同腹生存児体重測定
	哺育 (3週)		F1児肛門生殖突起間距離の測定 母動物の出産後0、7、14、21日に体重及び飼料測定 哺育0、4、14、21日に生存児数、児体重測定、途中死亡及び4日目屠殺新生児についての肉眼的異常の検査
…… F1	…離乳……	出産後21日目	親動物の臓器重量測定及び病理検査(肉眼+組織)
	育成 (雄:約10週) (雌:約5週)	原則各腹雌雄1匹に加え、各群の雌雄が24匹ずつとなるよう無作為に選抜	選抜しなかった児動物の屠殺、臓器重量測定及び病理検査(肉眼+組織) 雄の包皮分離、雌の膣開口の観察 選抜動物の屠殺、臓器重量測定及び肉眼的病理検査

体重 ; 投与期間中毎週、全親動物の体重を測定した。児動物の体重は、哺育0日(出産日)は雌雄別に1腹分まとめて、哺育4、7、14及び21日は個体別に測定し、腹ごとに各性の平均体重を求めた。また、雄では投与開始日、雌では投与開始日、妊娠0日及び哺育0日の体重値を基準に体重増加量を算出した。

申請者注:試験ガイドラインでは、妊娠0、7、14、21日の母動物の体重測定が求められている。しかし、本試験に用いた試験動物は、正常状態において、妊娠21日に分娩を開始する例があるため、最終の体重測定を20日に実施した。

摂餌量 ; 交配期間中を除き、毎週摂餌量を測定した。

検体摂取量 ; 投与期間ごと及び全投与期間を通じた平均の検体摂取量(mg/kg/日)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日本農業株式会社にある。  
交配及び妊娠の確認 ; 交配は雌の発情を腔垢像の観察により確かめ、雌雄 1 対 1 で同居させた。

翌朝腔栓及び精子の有無により交尾を確認し、妊娠 0 日とした。

妊娠の有無は、分娩又は肉眼的病理検査時における子宮の着床痕の有無を調べることにより確認した。

親動物の繁殖性に関する指標 ; 育成、交配、妊娠及び哺育の各期間と肉眼的病理検査時に以下の指標について調べた。

正常発情周期を示した雌の頻度 = 発情前期又は発情期を示した雌数 / 発情周期を観察した雌数

交尾率 = 交尾が認められた雄(雌)数 / 交配に用いた雄(雌)数

受胎率 = 妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数

出産率 = 正常出産雌数 / 妊娠雌数

妊娠期間(日) : 交尾成立日(妊娠 0 日)から分娩完了日(哺育 0 日)迄の期間

着床数 : 子宮内の着床痕の数

産児数・児動物の性比 ; 哺育 0 日に各腹ごとの生存児と死亡児の合計値を算出し、群の平均値として示した。性比は総雄産児数 / 総産児数として示した。

児動物の生存率 ; 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 日の生存率(%) = (哺育 7 日の生存児数 / 哺育 4 日の生存児数) × 100

哺育 14 日の生存率(%) = (哺育 14 日の生存児数 / 哺育 4 日の生存児数) × 100

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

児動物の性成熟の観察 ; F1 児動物について、哺育 4 日の肛門生殖突起間距離 (AGD) を測定し、AGD の相対値を次式により算出するとともに、雄は包皮分離、雌は腔開口を指標に観察し、完了日齢及び当該日の体重を測定した。

$$*: \text{AGD の相対値} = \frac{\text{肛門生殖突起間距離 (mm)}}{(\text{体重 (g)} \times 1000)^{1/3}}$$

肉眼的病理検査 ; 全ての生存親動物について剖検し、肉眼的病理検査を実施した。哺育 4 日に選抜されなかった哺育児、F1 世代の親動物を選抜した残りの F1 離乳児及び死亡児についても本検査を実施した。

臓器重量 ; 全ての生存親動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。臓器重量の統計学的検定は、非妊娠例、妊娠中死亡例及び出産後に全ての児動物が死亡・食殺となった例を除外して評価した。

脳、下垂体、甲状腺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、卵巣、子宮(頸部と卵管を含む)、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺とともに分泌物を含む)及び前立腺

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

児動物については、離乳児のうち、各腹で雌雄それぞれ1匹(片方の性がない場合は、他方の性のみ1匹)を対象に以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、甲状腺、胸腺、脾臓、肝臓及び子宮

結果：概要を以下の各表に示した。

世代		P					F1						
投与量 (ppm)		0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
一般状態 <sup>a</sup> (眼球腫大)	雄	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1		
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1		
死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	雌	0	0	0	0	2 <sup>f</sup>	0	0	0	0	0		
体重(g) <sup>b</sup>	雄	最終	424	421	417	421	431	366	370	364	376	378	
	雌	最終	265	265	269	273	275	166	168	167	168	172	
体重 増加量(g) <sup>b</sup>	雄	試験期間	267	264	260	264	274	302	306	298	312	314	
	雌	試験期間	138	138	143	146	148	106	107	104	108	112	
摂餌量 <sup>c</sup>	雄												
	雌							育成 ↑1週 ↑2週	育成 ↑1週 ↑2週		育成 1-2週 ↑		
検体摂取量 <sup>d</sup> (mg/kg/日)	雄		3.25	12.9	127	1287		4.05	15.9	160	1608		
	雌		3.84	15.0	149	1490		5.28	21.0	206	2088		
親動物	動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
		雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
	肉眼的 病理検査 <sup>a</sup>	雄	肝臓	腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	
				暗調化	0	0	0	0	0	0	0	0	↑17
	甲状腺	腫大	2	2	5	1	↑8	2	4	0	0		
		褐色化	0	0	0	0	↑21	0	0	0	1	↑18	
	動物数 <sup>e</sup>	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
		雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
	肉眼的 病理検査 <sup>a</sup>	雄	肝臓	腫大	0	0	0	↑11	↑20	0	0	0	↑24
				暗調化	0	0	↑8	↑22	↑22	0	0	0	↑22
甲状腺	腫大	1	3	0	2	0	1	1	1	0	0		
	褐色化	0	0	0	↑20	↑22	0	0	0	0	0		

↑: p<0.05、↑↑: p<0.01。

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 体重、体重増加量、摂餌量。

Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理検査。

a: 所見がみられた動物数。

b: 平均値。

c: 対照群に対して有意差が認められた週を示す。空欄は、いずれの週も対照群との間に有意差なし。

d: 育成期間を通じた平均値。

e: 検査対象は死亡例及び出産しなかった例も含む全動物。

f: 死亡は妊娠期間(分娩時)に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代		P					F1						
		投与量 (ppm)					投与量 (ppm)						
		0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000		
親動物	雄	対象動物数 <sup>b</sup>	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
		肝臓	重量	100	99	101	103	↑113	100	101	101	107	↑116
			対体重比	100	100	103	104	↑111	100	100	101	104	↑113
		甲状腺	重量	100	102	120	91	118	100	107	↓82	89	106
			対体重比	100	104	122	93	116	100	105	↓83	87	102
		下垂体	重量	100	97	98	99	101	100	98	94	↓91	↓89
			対体重比	100	97	99	99	99	100	97	93	↓89	↓87
		精巣	対体重比	100	104	101	104	105	100	96	98	95	↓93
		精囊	対体重比	100	108	106	109	110	100	99	97	↓90	↓90
	脾臓	対体重比	100	103	105	98	100	100	98	96	↓89	94	
	雌	対象動物数 <sup>c</sup>	23	23 <sup>d</sup>	22	24	21	24	24	24	24	24	
		肝臓	重量	100	100	107	↑140	↑153	100	101	104	↑126	↑149
			対体重比	100	100	105	↑136	↑148	100	100	103	↑124	↑143
		甲状腺	重量	100	106	89	128	↑121	100	117	112	112	124
			対体重比	100	106	88	125	↑117	100	116	112	111	↑119
		下垂体	重量	100	105	104	99	99	100	94	92	↓77	↓81
			対体重比	100	105	102	95	95	100	93	↓92	↓76	↓78
		腎臓	重量	100	99	106	↑112	↑110	100	105	↑109	↑110	↑116
対体重比			100	99	104	↑109	106	100	104	↑109	↑109	↑112	
子宮	重量	100	102	103	↑116	↑121	100	109	113	106	111		
	対体重比	100	102	102	113	↑117	100	108	113	104	107		
卵巣	重量	100	105	↑114	↑115	↑116	100	↑114	108	↑120	↑121		
	対体重比	100	105	113	111	112	100	↑112	108	↑119	↑116		
脾臓	対体重比	100	101	93	90	92	100	101	98	↓90	99		

多重比較法 (Dunnnett 又は Scheffé 法)。

↑↓:  $p < 0.05$ , ↑↓↓:  $p < 0.01$ 。

a: 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。

b: 臓器重量の統計検定対象は、全ての雄親動物。

c: 臓器重量の統計検定対象は、妊娠し正常出産した P 世代雌全例及び F1 雌全例。

d: 出産後の死亡・食殺により生存児なしとなった 1 例を除外したため、出産数より 1 例少ない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代		P					F1					
投与量 (ppm)		0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000	
動物数		雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
		雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	雄	交尾数	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24					
		精子数	計測せず									
	雌	正常発情周期	23/24	22/24	23/24	22/24	24/24					
		発情周期長(日) <sup>a</sup>	4.2	4.0	4.1	4.1	4.2					
		交尾率	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24					
		受胎率	23/24	24/24	22/24	24/24	23/24					
		出産率	23/23	24/24	22/22	24/24	21 <sup>b</sup> /23					
		妊娠期間(日) <sup>a</sup>	22.3	22.4	22.3	22.3	22.5					
		着床数 <sup>a</sup>	12.9	12.5	13.5	14.3	14.0					

Fisher の直接確率計算法: 正常発情周期、交尾率、受胎率、出産率。

Mann-Whitney U 検定法: 発情周期長、妊娠期間。

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 着床数。

a: 平均値。

b: 分娩時死亡例が認められたため、受胎数より2例少ない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代		F1					F2						
投与量 (ppm)		0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000		
児 動 物	一般状態 (15-21日)	対象動物数	182	174	173	191	154						
		眼球腫大	0	0	0	7	↑ 24						
	産児数 <sup>a</sup>		12.3	11.6	12.5	13.2	12.2						
	性比(雄/産児数)		0.477	0.455	0.473	0.491	0.455						
	生存率 (%)	哺育0日	100	97.2	98.3	98.2	95.0						
		哺育4日	100	95.8	98.0	98.8	95.8						
		哺育7日	100	99.5	100.0	99.5	99.4						
		哺育14日	100	98.9	99.4	99.5	96.4						
		哺育21日 <sup>b</sup>	100	98.9	99.4	99.5	96.4						
	体重 (g) <sup>a</sup>	雄	哺育0日	6.0	6.0	6.0	6.2	6.3					
			哺育4日	11.0	10.8	11.2	11.0	11.5					
			哺育7日	18.1	17.9	18.2	17.5	18.0					
			哺育14日	36.8	37.2	37.1	35.2	35.9					
			哺育21日	57.8	58.7	58.4	54.3	↓ 52.7					
		雌	哺育0日	5.7	5.8	5.8	5.9	6.0					
			哺育4日	10.5	10.5	10.9	10.7	11.3					
			哺育7日	17.4	17.1	17.8	17.1	17.6					
			哺育14日	35.8	35.3	36.4	34.3	35.1					
			哺育21日	55.4	55.3	55.9	51.9	↓ 50.5					
	肛門生殖 突起間 距離 (AGD) <sup>a</sup>	雄	絶対値	5.02	5.14	5.20	↑ 5.23	↑ 5.31					
相対値 <sup>c</sup>			0.228	0.234	0.234	↑ 0.238	↑ 0.237						
雌		絶対値	2.47	2.50	2.55	2.55	2.57						
		相対値 <sup>c</sup>	0.114	0.115	0.116	0.118	0.116						
性成熟 <sup>a</sup>	雄	包皮分離日	41.0	40.9	41.1	↑ 42.2	↑ 43.1						
		同体重(g)	175.8	175.8	173.5	183.0	↑ 189.4						
	雌	膣開口日	30.4	30.4	30.2	31.3	↑ 32.3						
		同体重(g)	92.8	94.0	93.2	98.2	↑ 103.7						
肉眼的 病理 検査 <sup>d</sup>	対象動物数		134	126	125	142	105						
	眼球腫大		0	0	0	9	↑ 26						
	肝臓暗調化		0	0	0	↑ 37	↑ 40						
	腎盂拡張		4	↑ 21	↑ 25	13	14						

↑: p<0.05、↑↓: p<0.01。

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 産児数、体重。 Fisher の直接確率計算法: 性比。

Mann-Whitney の U 検定: 一般状態、生存率、性成熟日齢、肉眼的病理検査。

a: 平均値。 b: 離乳率。 c: 相対値=絶対値/(体重)<sup>1/3</sup>。 d: 該当個体数。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

(続き)

世代		F1					F2						
投与量 (ppm)		0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000		
児動物	雄	動物数	23	21 <sup>bc</sup>	21 <sup>b</sup>	23 <sup>b</sup>	21						
		体重 <sup>a</sup>	100	102	102	95	↓ 91						
		脳	対体重比	100	99	93	105						↑107
		肝臓	重量	100	104	104	↑116						↑125
			対体重比	100	101	102	↑122						↑137
		甲状腺	重量	100	86	89	↓ 80						↓ 81
		胸腺	重量	100	101	95	91						↓ 82
		脾臓	重量	100	99	98	↓ 83						↓ 73
			対体重比	100	97	95	↓ 87						↓ 79
		雌	動物数	23	23 <sup>c</sup>	21 <sup>b</sup>	24						19 <sup>b</sup>
	体重 <sup>a</sup>		100	100	101	93	↓ 89						
	脳		対体重比	100	101	98	↑108						↑110
	肝臓		重量	100	99	105	↑115						↑122
			対体重比	100	99	104	↑124						↑137
	甲状腺		重量	100	91	93	87						↓ 82
	胸腺		重量	100	94	90	↓ 84						↓ 77
			対体重比	100	95	90	↓ 89						↓ 86
	脾臓		重量	100	98	101	↓ 82						↓ 79
			対体重比	100	98	100	↓ 87						↓ 88

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法): 臓器重量、Fisher の直接確率計算法: 病理組織学的検査。

↑↓:  $p < 0.05$ , ↑↓:  $p < 0.01$ 。

a: 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。

b: 該当する性の児がない腹があるため、検査動物数は出産した腹数より少ない。

c: 出産後に全児が死亡・食殺された 1 腹についてデータなし。

## 親動物

- 一般状態及び死亡； P世代の雌雄親動物ともに検体投与に関係する症状は見られなかったが、後述のF1児動物で眼球腫大が認められたことに関連して、F1世代では同所見が雄の20000 ppm群及び雌の2000 ppm以上の各群で各1例ずつ認められた。P世代の20000 ppm群では、分娩時に2例の死亡が認められた。
- 体重変化； P及びF1世代における雄の各投与群では、投与期間を通じて検体による影響は認められなかった。雌では、2000 ppm以上の各群で一時的に体重増加量が対照群に比較して統計学的に有意な増加を示したが、低下は認められず、体重にも変化は認められなかった。
- 摂餌量； P及びF1世代の雄並びにP世代の雌では、投与期間を通じて検体による影響は認められなかった。雌のF1世代で、育成第1及び2週に対照群に比較して統計学的に有意な増加を示す投与群がみられたが、一時的なものであった。
- 肉眼的病理所見； 検体投与に関連した影響は、雄では20000 ppm群に認められ、肝臓の暗調化の発生頻度がF1世代で、甲状腺の腫大がP世代で、甲状腺の褐色化が両世代で、それぞれ有意に増加した。一方、雌では検体投与に関連した影響は200 ppm以上の投与群に認められ、肝臓の腫大あるいは暗調化の頻度がP及びF1世代を通じて増加し、甲状腺の褐色化がP世代で認められた。
- 臓器重量； 雄においては、P及びF1世代の20000 ppm群で肝臓重量が増加し、F1世代では2000 ppm以上の群で下垂体重量の低下、2000 ppm群で脾臓の重量あるいは対体重比が低下し、検体投与の影響と考えられた。F1世代の200 ppm群で甲状腺重量低下が認められたが、2000 ppm以上の群では有意な変動はなかった。また、精巣あるいは精嚢の対体重比の低下がF1世代の2000 ppm以上の群でみられたが、先の試験(資料 T-19)では認められず、試験間で一致しないことから、偶発的な可能性が高いと考えられた。
- 雌のP及びF1世代において、200 ppm以上の群で腎臓、2000 ppm以上の群で肝臓及び卵巣、20000 ppm群では甲状腺の重量が増加し、検体投与の影響と考えられた。F1世代の50 ppm群でも卵巣の重量に有意な増加が認められたが、より高用量である200 ppmでは変動が見られなかったことから、検体に関連しない偶発的な所見である可能性が考えられた。仮に検体の影響としても、先の試験でこの群では卵巣の重量及び病理組織学的検査をはじめ繁殖成績にも検体の影響は認められていないことから、悪影響ではないと考えられた。他に、雌のP世代で2000 ppm以上の群における子宮重量増加、F1世代では200 ppm以上の群で下垂体重量低下、2000 ppmの群では脾臓の対体重比の低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

#### 親動物の繁殖能力

- 発情周期 ; 連続して発情休止期像を呈し、発情期の膣垢像が観察されない雌が、対照群を含むいくつかの群で散見されたが、対照群と投与群間で差はなく、平均発情周期長にも検体の影響は認められなかった。
- 交尾率 ; 交尾率及び同居開始から交尾までの日数に対照群との差はなかった。
- 受胎率 ; 対照群と投与群間で差はみられなかった。
- 出産率 ; P 世代雌の出産率は、対照群と 2000 ppm までの各投与群はともに 100%であった。20000 ppm 群では分娩時に雌 2 匹が死亡し、生存児を出産しなかったために 91% (21/23)であったが、対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。
- 妊娠期間 ; 対照群と投与群間で差はみられなかった。
- 着床数 ; 対照群と投与群間で差はみられなかった。

#### 児動物

- 一般状態 ; F1 児動物の哺育 15-21 日に、2000 ppm 以上の群の哺育児で眼球腫大が認められ、20000 ppm 群における発生頻度は対照群に対して有意な高値であった。この所見は検体投与との関連が考えられた。
- 産児数 ; 平均産児数に、検体投与群と対照群の間で有意な差を認めなかった。
- 性比 ; 性比に、検体投与群と対照群の間で有意な差を認めなかった。
- 生存率 ; 生存率に、検体投与群と対照群の間で有意な差を認めなかった。
- 体重 ; 雌雄ともに 20000 ppm 群の哺育 21 日の平均体重が対照群に比べ有意な低値を示した。
- 肛門生殖突起間距離 ; F1 児動物の哺育 4 日における肛門生殖突起間距離は、雄の 2000 ppm 以上の投与群で絶対値及び相対値ともに対照群に比べ有意に増加したが、雌では絶対値及び相対値のいずれにも有意な差は認められなかった。
- 性成熟 ; F1 雄児動物の包皮分離完了日齢は、2000 ppm 以上の各投与群で対照群に比較して有意な遅延が認められ、20000 ppm 群では包皮分離時の平均体重も有意な高値を示した。しかし、同世代雄児動物で測定した肛門生殖突起間距離 (AGD) の短縮がなく、むしろこれらの群では大きい値を示しており、少なくとも検体が抗アンドロゲン作用によって性成熟を遅延させているのではないと考えられた。
- F1 世代の雌親動物の性成熟(膣開口)は、20000 ppm 群でのみ有意な遅延が認められた。先の二世帯繁殖毒性試験ではこの項目に検体の影響は認められていないことから、偶発的な変動の可能性が考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

肉眼的病理検査 ; 哺育 4 日に淘汰した哺育児では、いずれの投与群でも検体投与に関連する異常を認めなかった。離乳児では一般状態の所見と同様に眼球の腫大が認められ、20000 ppm 群における発生頻度は対照群に対して有意な高値であった。また、2000 ppm 以上の群で肝臓の暗調化の頻度が増加した。これらの所見は検体投与との関連が考えられた。一方、腎盂拡張が 50 及び 200 ppm 群で有意な増加を示したが、より高用量である 2000 ppm 以上の群では明らかな増加が認められないことから、偶発的な変動と考えられた。

臓器重量 ; 検体の影響は 2000 ppm 以上の群で認められた。雌雄ともに肝臓の重量が増加し、甲状腺、脾臓及び胸腺の重量が減少した。雄の 20000 ppm 群及び雌の 2000 ppm 以上の群における脳の対体重比の増加は、体重低下に伴った二次的変動と考えられた。

以上の結果から、本試験における無毒性量は、親動物に対する一般毒性的影響に関しては 50 ppm (雄 P:3.25 - F1:4.05 mg/kg/日、雌 P:3.84 - F1:5.28 mg/kg/日)と考えられた。親動物の繁殖能力に対しては、今回の試験での検査項目には 20000 ppm でも影響は認められなかったが、先の二世世代繁殖毒性試験 (資料 T-19)の結果を参考に、無毒性量は 2000 ppm (雄 P: 127 mg/kg/日、雌 P:149 mg/kg/日)であると考えられた。また、F1 児動物に対する無毒性量は 200 ppm であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

② 追加一世代試験における児動物の眼球の病理組織学的検査 (資料 T-20-1)

試験機関:

報告書作成年: 2005 年[GLP 対応]

目的 : 二世世代繁殖毒性試験(資料 T-19)および追加実施した一世代繁殖毒性試験(資料 T-20)において、F1 児動物に眼球腫大を認めた。その詳細を検討するため、異常所見のある眼球について病理組織学的検査を行うとともに、その前駆病変の有無を検索するために肉眼的異常を認めなかった眼球についても検査した。

検査項目 :

病理組織学的検査 ; 検査対象動物は、一世代繁殖毒性試験(資料 T-20)の F1 児動物とした。離乳時の剖検で、眼球に肉眼的異常を示す個体の両側の眼球(片側のみ異常を示す場合は異常を示さない側も含む)を採取・固定保存した。眼球に肉眼的異常を示す児がない腹については、原則として雌雄 1 例ずつ(両性の児がない腹では片性のみ)の児動物より正常な眼球(両側)を採取・固定した。これら眼球について、病理組織学的検査を実施した。

眼球は左右両方を検査したが、結果の集計は個体を単位として行った。

結果 : 一世代繁殖毒性試験で有意差が認められた、児動物の離乳時における眼球の肉眼的病理所見を、抄録より抜粋して次表に再掲した。

(抄録 T-20 より再掲データ)

世代			F1				
投与量 (ppm)			0	50	200	2000	20000
児動物	肉眼的病理検査 <sup>a</sup>	対象動物数 <sup>a</sup>	134	126	125	142	105
		眼球腫大 <sup>a</sup>	0	0	0	9	↑ 26

Mann-Whitney の U 検定: 肉眼的病理検査。↑:  $p < 0.01$ 。

a: 該当個体数。

病理組織学的検査 ; 次頁以下に F1 児動物の病理組織学的検査結果を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

		世代		F1				
		投与量 (ppm)		0	50	200	2000	20000
眼球の病理組織学的検査	肉眼的に眼球の異常所見を示した離乳児	雄	検査例数	0	0	0	8	15 <sup>#</sup>
			虹彩癒着	-	-	-	7	15
			出血	-	-	-	7	15
			角膜炎	-	-	-	6	11
			虹彩炎	-	-	-	4	7
			白内障	-	-	-	3	9
			角膜上皮基底細胞の水腫様変性	-	-	-	6	13
		角膜上皮細胞の空胞化	-	-	-	1	1	
		雌	検査例数	0	0	0	1	13 <sup>#</sup>
			虹彩癒着	-	-	-	1	12
			出血	-	-	-	1	13
			角膜炎	-	-	-	0	8
			虹彩炎	-	-	-	1	7
			白内障	-	-	-	1	10
角膜上皮基底細胞の水腫様変性	-		-	-	0	6		
角膜上皮細胞の空胞化	-	-	-	0	1			

表中の数値は該当する離乳児例数を表す(眼は左右両方を検査したが、結果の集計は個体を単位として行った)。- は該当なし。

#: 眼球白濁のみを示した雌雄各1例を含むため、これら雌雄の合計数は前頁掲載の表中の肉眼的病理検査における眼球腫大例数よりも2例多い。

対照群では眼球の異常所見を有する離乳児がないため、統計学的検定は実施せず。

2000 および 20000 ppm 群で眼球に肉眼的異常を示した離乳児では、眼球に虹彩癒着、出血、角膜炎、虹彩炎、白内障、角膜上皮基底細胞の水腫様変性および角膜上皮空胞化が認められた。異常を示した多くの眼球では、虹彩癒着、出血、角膜炎、虹彩炎および白内障を伴っていた。これらの形態学的変化は、二世世代繁殖毒性試験で認められた変化と同じであった。ラットの児動物では、生後も眼球は成長を続けることから、虹彩癒着による眼房水の排泄障害による眼圧増加が、眼球腫大の原因となった可能性が考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

世代			F1					
投与量 (ppm)			0	50	200	2000	20000	
眼球の病理組織学的検査	肉眼的に眼球の異常所見がない離乳児	雄	検査例数	23	0	21	22	14
			虹彩癒着	2	-	1	3	0
			角膜上皮基底細胞の水腫様変性	5	-	5	7	2
		雌	検査例数	23	0	21	23	16
			虹彩癒着	2	-	2	3	3
			出血	2	-	0	1	1
			角膜炎	0	-	0	0	1
			角膜上皮基底細胞の水腫様変性	3	-	2	7	5

表中の数値は該当する離乳児例数を表す。50ppm群は検査せず。- : 該当なし。  
Fisher 直接確率法により各所見とも対照群との有意差なし。

肉眼的異常のない離乳児の眼球に関しては、0、200、2000 および 20000 ppm の各群、それぞれ雌雄とも検査例の約 10-30%の離乳児において、虹彩癒着、出血、角膜炎および角膜上皮基底細胞の水腫様変性がみられた。しかしその発生頻度に関し、対照群と検体投与群間で統計学的に有意な差はみられず、検体の投与に関連した影響はないことが示唆された。これら動物で認められた所見の程度は、特に虹彩癒着および出血に関しては、肉眼的異常のある眼球でみられた変化に比較して明らかに軽度であった。

50ppm群では肉眼的に眼球の腫大例がなかったこと、さらに 200 ppm以上の各群において肉眼的な異常のない眼球では検体投与と関連付けられる組織学的変化が特に認められなかったことから、50 ppm 群の眼球に関して病理組織学的検査は行わなかった。

以上の結果から、眼球腫大を生じた例では、虹彩癒着、出血、角膜炎、虹彩炎、白内障、角膜上皮基底細胞の水腫様変性および角膜上皮空胞化という種々の組織学的変化があり、虹彩癒着による眼房水の排泄障害による眼圧増加が眼球腫大の原因である可能性が考えられた。肉眼的異常のない離乳児の眼球では検体の投与に関連した影響はみられず、本試験における眼球への影響に関する無毒性量は、200 ppm であると考えられた。

申請者注：ほとんどの例で眼球腫大は片側性であり、上述の各種眼球病変の多くは、腫大した側の眼球のみに認められた。肉眼的に正常な眼球では角膜上皮基底細胞の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

水腫様変性が時に認められる程度であった。両側の眼球が腫大した例は 20000 ppm 群で雌雄各1例あり、これらでの例では腫大した眼球の全てにおいて虹彩癒着が認められ、上記病変のいくつかも認められていた。肉眼的に眼球白濁だけが認められていた 20000 ppm 群の雌雄各1例では、ともに出血、白内障および角膜上皮基底細胞の水腫様変性が認められ、1例には虹彩癒着も認められた。眼球白濁だけを示したこの2例を除いても、上記の考察は変わらないと考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) 催奇形性

① ラットにおける催奇形性試験

(資料T-21)

試験機関:

報告書作成年: 2003 年[GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : Wistar Hannover 系妊娠雌ラット(13 週齢)、1 群 24 匹

投与期間 : 妊娠期間 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)水溶液に懸濁させ、0、10、100 及び 1000 mg/kg の投与量で妊娠 6 日目から 19 日目(交尾が認められた日を妊娠 0 日とした)までの 14 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には、1%CMC 水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠 :

観察・検査項目 :

親動物 : 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、20 日目に体重を測定した。妊娠 9 日以降の体重から妊娠 6 日の体重を減じて、体重増加量を求めた。また、妊娠期間中の摂餌量を測定した。

妊娠 20 日目に帝王切開し、妊娠子宮重量を測定すると共に、黄体数、着床数、生存及び死亡胚・胎児数を検査した。また、剖検を実施し、肝臓重量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

生存胎児： 全生存胎児につき性別、体重、胎盤重量及び外表の観察を行った。各同腹児群の胎児に番号を付した後、奇数番号の胎児については骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。偶数番号の胎児については内臓異常の有無を検査した。

結果： 概要を次頁の表に示した。

親動物、100及び1000 mg/kg 群の肝臓重量及び対体重比が、対照群と比べ統計学的に有意に増加した。体重増加量、摂餌量に検体投与の影響は認められず、死亡を含む一般状態及び剖検所見にも検体投与に起因する異常は観察されなかった。妊娠20日の帝王切開時の検査では、妊娠子宮重量、黄体数及び着床数いずれにおいても検体投与の影響を認めなかった。

検体の胎児に対する影響に関しても、各投与群の着床前胚死亡率、生存胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比、体重及び胎盤重量の各指標に、対照群との間で有意な差は観察されなかった。

外表、内臓及び骨格の奇形学的検査において、検体投与に起因すると考えられる奇形や変異は認められなかった。骨格の検査において、10 mg/kg 群で過剰肋骨の発生頻度が対照群に比べ有意に増加した。しかし、本用量群のみでの増加であり、より用量の高い群では変化がなく、また各投与群におけるこの所見のみられた胎児を持つ腹の頻度はいずれも対照群の値とほぼ同じであった。したがって、用量設定試験の高用量群と今回の試験の低用量群でみられた見かけ上の出現率の差は、この系統のラットで比較的高頻度に自然発生する過剰肋骨が偶然ある群に偏って出現したために引き起こされたものであり、検体投与により過剰肋骨が誘発されるものではないと判断された。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児における無毒性量は、それぞれ10 mg/kg/日及び1000 mg/kg/日であった。また、最高用量の1000 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投与量(mg/kg/日)		0	10	100	1000			
1群当たり動物数		24	24	24	24			
親動物	一般状態	検体投与に起因する異常所見なし						
	死亡数(率、%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)			
	交配数(率、%)	24(100)	24(100)	24(100)	24(100)			
	妊娠数(率、%)	23(95.8)	24(100)	24(100)	24(100)			
	生存胎児の得られた雌数	23	24	24	24			
	体重増加量	検体投与による影響なし						
	摂餌量(g/day)	検体投与による影響なし						
	剖検所見	検体投与に起因する異常所見なし						
	肝臓重量(mg)	12998	13589	↑ 14043	↑ 15087			
	肝対体重比	4.92	5.04	↑ 5.29	↑ 5.64			
	妊娠子宮重量(g)	64	63	66	67			
	着床所見	黄体数	14.4	14.5	14.7	14.4		
		着床数	13.3	12.4	13.3	13.0		
		着床前胚死亡率(%)	8.0	14.5	9.6	9.7		
生存胎児数		12.0	11.8	12.4	12.3			
胚・胎児死亡数		1.2	0.6	0.8	0.8			
	胚・胎児死亡率(%)	8.9	4.9	6.1	6.7			
胎児	胎児体重(mg)	雄	3544	3455	3559	3528		
		雌	3376	3339	3336	3445		
	胎盤重量(mg/kg)		416	421	408	429		
	性比(雄数/雌数)		133/144	139/144	143/155	151/144		
	奇形学的検査	検査腹数		23	24	24	24	
		奇形胎児の認められた母動物数(%)		0(0)	2(8.3)	1(4.2)	1(4.2)	
		変異胎児の認められた母動物数(%)		22(95.7)	24(100)	24(100)	24(100)	
	外表所見	奇形	検査胎児数		277	283	298	295
			奇形胎児数(%)		0(0)	4(1.4)	1(0.3)	2(0.7)
			口蓋裂		0	0	0	2
			小下顎		0	0	0	1
			軸前性多指		0	3	0	0
			欠手		0	0	0	1
			欠指		0	0	0	2
臍帯ヘルニア			0	1	1	0		
鎖肛			0	0	0	1		
短尾			0	0	0	2		
水腫		0	0	0	1			

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法): 親動物の体重増加量、摂餌量、肝臓重量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量。

χ<sup>2</sup>検定法又は Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理検査、奇形及び変異のみられた胎児を持つ親動物の頻度、奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度及び生存胎児の性比。

Mann-Whitney の U 検定法: 着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率。

↑: P<0.05、↑↑: P<0.01。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投与量(mg/kg/日)		0	10	100	1000		
1群当たり動物数		24	24	24	24		
胎児	内臓所見	奇形	検査胎児数	134	137	145	140
			奇形胎児数(%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.7)
			口蓋裂	0	0	0	1
			心室中隔欠損	0	0	0	1
			停留精巣	0	0	0	1
		変異	変異胎児数(%)	23(17.2)	33(24.1)	30(20.7)	29(20.7)
			胸腺頸部残留	1	2	4	1
			食道背方右鎖骨下動脈	0	0	0	1
			左側臍動脈	22	32	26	28
			腎盂拡張	0	1	1	0
	骨格所見	奇形	検査胎児数	143	146	153	155
			奇形胎児数(%)	0(0)	2(1.4)	0(0)	1(0.6)
			胸椎弓過剰骨化	0	0	0	1
			肋骨癒合	0	0	0	1
			軸前性多指	0	2	0	0
			尺骨欠損	0	0	0	1
			指関節先端欠損	0	0	0	1
			仙骨欠損	0	0	0	1
		変異	変異胎児数(%)	64(44.8)	74(50.7)	63(41.2)	78(50.3)
			頸肋	10	↓ 2	↓ 3	5
胸骨分節配列異常	3	1	2	6			
胸骨肋骨間関節の尾方偏位	0	0	0	3			
波状肋骨(骨化)	3	2	0	0			
波状肋骨(軟骨)	0	1	0	1			
過剰肋骨	51	↑ 68	59	68			
胸椎ダンベル状骨化	2	0	0	0			
腰仙移行椎	4	1	0	5			
仙椎前椎骨 27	1	0	4	0			

χ検定法又は Fisher の直接確率計算法: 奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度。

↑↓: 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日本農薬株式会社にある。

② ウサギにおける催奇形性試験

(資料T-22)

試験機関:

報告書作成年: 2002 年[GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : 日本白色種妊娠雌ウサギ、18 週齢、1 群各 25 匹

投与期間 : 妊娠期間; 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)水溶液に懸濁させ、0、20、100 及び 1000 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 27 日(人工授精を行った日を妊娠 0 日とした)までの 22 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には、1%CMC水溶液のみを同様に投与した。

投与量設定根拠 :

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日に体重を測定した。妊娠 9 日以降の体重から妊娠 6 日の体重値を減じて体重増加量を求めた。また、妊娠期間中の摂餌量を求めた。妊娠 28 日に帝王切開し、妊娠子宮重量を測定すると共に黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胚・胎児数を調べた。黄体数と着床数から着床前胚死亡率を、着床数及び死亡胚・胎児数から胚・胎児死亡率を、また妊娠 28 日の体重から妊娠子宮重量を減じ補正体重を求めた。帝王切開終了後には親動物の肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

生存胎児 ; ;全ての胎児について個体識別を行った後、体重と胎盤の重量を測定し、性別と外表、骨格及び内臓観察を行った。頭部内臓観察は未固定及び固定組織について実施した。

結果 : 概要を次頁表に示した。

親動物の死亡は、検体投与群及び対照群いずれにおいてもみられなかった。体重及び妊娠中の体重増加量につき、対照群と検体投与群との間で、統計学的な有意差は認められなかったが、1000 mg/kg 群においては、妊娠末期(妊娠 27-28 日)の摂餌量が有意に低下し、一般状態の観察で軟便がみられた。これらの変化は検体投与の影響と考えられた。妊娠 28 日の帝王切開時の検査では、妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率いずれにおいても検体投与の影響を認めなかった。

胎児に関して、生存胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比、胎児体重及び胎盤重量はいずれも対照群と各投与群との間で差は認められなかった。

奇形学的検査の結果、各投与群の外表及び内臓に奇形を認めた胎児数は対照群との間に有意な差はなかった。骨格奇形を有する胎児数は 100 mg/kg 群で統計学的に有意に増加した。骨格奇形別の出現頻度は胸骨分節癒合が2例、その他はいずれも最小例数であり、統計学的な有意差を対照群との間に認めなかった。また、胸骨分節癒合出現頻度は対照群の背景データ(16 試験中 10 試験の対照群において 1~3 匹)の範囲内であった。高用量の 1000 mg/kg 群では有意な増加を認めなかったこととも合わせ、100 mg/kg 群でみられた上記の統計学的有意差は偶発的であると考えられた。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児に対する無毒性量は 100 mg/kg/日、及び 1000 mg/kg/日であった。また、最高用量の 1000 mg/kg/日でも胎児動物に対し催奇形性及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投与量(mg/kg/日)		0	20	100	1000		
1群当たり動物数		25	25	25	25		
親動物	一般状態						
	軟便	0	1	0	↑7		
	死亡数(%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)		
	妊娠数(%)	25(100)	25(100)	24(96)	24(96)		
	流産数(%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)		
	肉眼的に着床が認められた雌数	25	25	24	24		
	生存胎児の得られた雌数	22	24	23	24		
	体重増加量(g)(妊娠6-28日)	223	203	231	173		
	摂餌量(g/day)(妊娠27-28日)	117	109	111	↓76		
	肉眼的病理所見	検体投与による影響なし					
	検査腹数	22	24	24	24		
	妊娠子宮重量(g)	390	393	396	427		
	補正体重(g)	3724	3657	3686	3624		
	着床所見	黄体数	10.8	10.5	10.8	10.3	
		着床数	7.8	7.5	7.8	8.2	
		着床前胚死亡率(%)	28.0	28.2	26.1	19.9	
		生存胎児数	7.2	6.8	7.1	7.5	
胚・胎児死亡数		0.6	0.7	0.7	0.8		
胚・胎児死亡率(%)		8.8	10.0	11.5	8.6		
胎児	胎児体重(g)	雄	37.8	40.3	38.6	38.8	
		雌	38.1	39.3	38.0	38.4	
	胎盤重量(mg)	5333	5577	5196	5583		
	性比(雄数/雌数)	74/84	81/82	82/88	90/89		
	奇形学的検査	検査腹数	22	24	23	24	
		奇形胎児の認められた親動物数(%)	2(9.1)	4(16.7)	5(21.7)	7(29.2)	
		変異胎児の認められた親動物数(%)	19(86.4)	23(95.8)	20(87.0)	21(87.5)	
	外表所見	奇形	検査胎児数	158	163	170	179
			奇形胎児数(%)	0(0)	1(0.6)	0(0)	1(0.6)
			局所性浮腫(%)	0(0)	1(0.6)	0(0)	1(0.6)
	内臓所見	奇形	検査胎児数(固定頭部)	85	88	91	95
			奇形胎児数(%)	0(0)	1(1.1)	0(0)	0(0)
			小脳小型化	0	1	0	0
			検査胎児数(新鮮頭部)	73	75	79	84
奇形胎児数(%)			0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 親動物の体重増加量、摂餌量、肝臓重量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量

χ<sup>2</sup>検定法又は Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理検査、奇形及び変異のみられた胎児を持つ親動物の頻度、奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度及び生存胎児の性比

Mann-Whitney の U 検定法: 着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率

↓: P<0.05, ↑: P<0.01。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

		投与量(mg/kg/日)	0	20	100	1000			
胎児	内臓所見	奇形	検査胎児数	158	163	170	179		
			奇形胎児数(%)	2(1.3)	2(1.8)	1(0.6)	4(2.2)		
			心室中隔膜性部欠損	0	1	0	0		
			大動脈弓狭窄	0	1	0	0		
			左側総頸動脈狭窄	2	0	1	1		
			食道背方鎖骨下動脈	0	1	0	0		
			脾臓小型化	0	0	0	1		
			精巣位置異常	0	1	0	1		
			甲状腺大型化	0	0	0	1		
		変異	検査胎児数	158	163	170	179		
			変異胎児数(%)	15(9.5)	17(10.4)	20(11.8)	16(8.9)		
			左総頸動脈の起始異常	12	13	15	13		
			胸腺頸部残留	3	3	5	3		
			大動脈弓から分岐する過剰動脈	0	1	0	0		
			骨格所見	奇形	検査胎児数	158	163	170	179
					奇形胎児数(%)	0(0)	1(0.6)	↑5(2.9)	3(1.7)
					胸骨分節癒合	0	1	2	2
					肋骨欠損	0	0	0	1
	肋骨分岐	0			0	1	0		
	肋骨癒合	0			0	1	0		
	肋骨短小	0			0	0	1		
	胸椎弓小型	0			0	1	0		
	胸椎体癒合	0			0	1	0		
	胸椎体形態異常	0		0	1	0			
	腰椎弓欠損	0		0	1	0			
	腰椎体欠損	0		0	1	0			
	変異	変異胎児数(%)		60(38.0)	74(45.4)	67(39.4)	57(31.8)		
胸骨分節分配異常		0		0	0	1			
頸肋		0		1	4	0			
過剰肋骨		55		73	60	51			
頸椎体二分骨化		0		0	2	0			
仙椎前椎骨 25		0		0	2	1			
仙椎前椎骨 27		14		23	12	16			
腰仙移行椎		5	3	3	3				

χ検定法又は Fisher の直接確率計算法：奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度。

↑: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日本農薬株式会社にある。

(13) 変異原性

1) 復帰突然変異性

① 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料T-23)

試験機関 :

報告書作成年: 2003 年[GLP 対応]

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) 及び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って変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、用量設定試験では 1.22~5000 µg/プレート の範囲の 7 用量で、本試験の代謝活性化系の非存在下では 3.86~313 µg/プレート、代謝活性化系の存在下では 61.7~5000 µg/プレート の範囲の各 5 用量で実施した。試験は 3 連制とした。

用量設定根拠 :

結果 : 結果を次々頁以降の各表に示した。用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、検体は代謝活性化系の有無に関わらず、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(AF-2)、2-ニトロフルオレン(2-NF)、アジ化ナトリ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ウム( $\text{NaN}_3$ )、9-アミノアクリジン(9-AA)及び 2-アミノアントラセン(2-AA)は全ての検定菌株の復帰変異コロニー数を明らかに増加させた。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

用量設定試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 <sub>uvrA</sub>	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	25	119	12	15	4
検体	1.22	-	24	126	10	15	4
	4.88	-	23	138	9	16	6
	19.5	-	26	116	7	14	7
	78.1	-	29	135	10	15	3
	313	-	21 <sup>c</sup>	111 <sup>c</sup>	9 <sup>c</sup>	16 <sup>c</sup>	6 <sup>c</sup>
	1250	-	26 <sup>c</sup>	131 <sup>c</sup>	*	*	*
	5000	-	*	*	*	*	*
対照 (DMSO)		+	25	126	11	21	9
検体	1.22	+	30	114	9	19	8
	4.88	+	23	131	7	18	5
	19.5	+	27	124	9	26	10
	78.1	+	33	116	10	26	9
	313	+	29	117	13	22	6
	1250	+	29 <sup>c</sup>	131 <sup>c</sup>	8 <sup>c</sup>	25 <sup>c</sup>	9 <sup>c</sup>
	5000	+	23 <sup>c#</sup>	125 <sup>c#</sup>	6 <sup>c#</sup>	22 <sup>c#</sup>	5 <sup>c#</sup>
陽性 対照	AF-2	0.01	-	500			
	AF-2	0.02	-	411			
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-		281		
	2-NF	1	-			173	
	9-AA	80	-				640
	2-AA	0.5	+			211	
	2-AA	1	+	902			
	2-AA	2	+		460		539
	2-AA	10	+	754			

\* : 結晶析出のためコロニー数の測定不能。

<sup>c</sup> : 結晶析出。

# : 結晶析出のため生育阻害の観察不能。

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

2-NF: 2-ニトロフルオレン

NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

AF-2、9-AA 及び 2-AA は DMSO に、NaN<sub>3</sub> は蒸留水に溶解して使用。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 <sub>uvrA</sub>	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	20	132	10	16	4
検体	3.86	-	16	126	13	22	5
	11.6	-	20	129	8	18	4
	34.7	-	19	132	8	20	4
	104	-	18 <sup>c</sup>	140 <sup>c</sup>	8 <sup>c</sup>	21 <sup>c</sup>	4 <sup>c</sup>
	313	-	20 <sup>c</sup>	123 <sup>c</sup>	6 <sup>c</sup>	15 <sup>c</sup>	5 <sup>c</sup>
対照 (DMSO)		+	19	120	10	36	8
検体	61.7	+	18	126	6	30	7
	185	+	13	121	9	29	5
	556	+	18 <sup>c</sup>	124 <sup>c</sup>	10 <sup>c</sup>	30 <sup>c</sup>	8 <sup>c</sup>
	1670	+	20 <sup>c#</sup>	143 <sup>c#</sup>	13 <sup>c#</sup>	31 <sup>c#</sup>	5 <sup>c#</sup>
	5000	+	17 <sup>c#</sup>	129 <sup>c#</sup>	9 <sup>c#</sup>	24 <sup>c#</sup>	8 <sup>c#</sup>
陽性 対照	AF-2	0.01	-	512			
	AF-2	0.02	-	390			
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-		313		
	2-NF	1	-			190	
	9-AA	80	-				544
	2-AA	0.5	+			241	
	2-AA	1	+	920			
	2-AA	2	+		485		497
2-AA	10	+	730				

# : 結晶析出のため生育阻害の観察不能。

<sup>c</sup> : 結晶析出

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

2-NF: 2-ニトロフルオレン

NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

AF-2、9-AA 及び 2-AA は DMSO に、NaN<sub>3</sub> は蒸留水に溶解して使用。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 前進突然変異性

① V79 細胞を用いる HPRT 試験

(資料T-33)

試験機関:

報告書作成年: 2003 年[GLP 対応]

検体の純度 :

試験方法 :

チャイニーズハムスター肺由来細胞株 V79 細胞を用い、ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT) 遺伝子座位における点突然変異(前進突然変異)の誘発性の有無を、代謝活性化系の存在下及び非存在下で検定した。検体は、DMSO に溶解して用いた。

細胞毒性試験においては、フラスコに  $4 \times 10^6$  細胞を播種し、各濃度の検体で細胞を 5 時間暴露させた後、プレートに 200 ケの細胞を再播種し、6~8 日間培養し出現したコロニーを計数した。

突然変異試験では、フラスコに  $4 \times 10^6$  細胞を播種し、溶媒又は検体(7.5~240  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 6 濃度)で細胞を 5 時間暴露させた後、プレートに  $3 \times 10^5$  細胞を再播種し、ヒポキサンチンを含まず、突然変異体選択のための 6-チオグアニン(6-TG)を含む培養液で更に培養を続けた後、出現したコロニーを計数した。非代謝活性化法及び代謝活性化法を用い、それぞれ 2 連制で 2 回試験した。

各処理群の突然変異頻度は、重み付けを取り入れた分散分析を実施した後、Dunnett 検定を用いて溶媒対照群との比較を行った。

用量設定根拠 :

結果 :

結果を表 1 から表 4 に示した。

検体処理群では、代謝活性化系の非存在下及び存在下のいずれにおいても溶媒対照群を超えるような生物学的に有意な突然変異頻度の増加は認められなかった。一方、陽性対照物質であるエチルメタンサルホネート(EMS)及びジメチルベンゾアントラセン(DMBA)は、明確な変異原性を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1. HPRT 前進突然変異試験の結果<代謝活性化系の非存在下>

		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	生存率 (溶媒対照に対 する比 [%])	細胞数増加 (溶媒対照に対 する比 [%])	絶対播種効率 (%)	突然変異頻度 ( $\times 10^{-6}$ )
実験 1	陰性対照	0	89.2	97.2	98.9	0.9
	溶媒対照 (DMSO)	0	100.0	100.0	84.8	1.3
	検体	7.5	107.4	74.2	69.4	1.2
		15	94.1	40.2	59.8	1.4
		30	72.6	68.5	78.5	0.6
		60	95.3	10.7	110.3	1.3
		120	111.9	15.7	109.5	1.1
	240 I	154.5	3.7\$	136.8	0.4	
陽性対照 (EMS)	900	9.2	41.9	47.5	617.2	
実験 2	陰性対照	0	120.3	112.7	85.2	0.9
	溶媒対照 (DMSO)	0	100.0	100.0	82.4	0.5
	検体	7.5	109.2	87.1	98.5	1.2
		15	111.3	92.9	99.4	1.8
		30	73.9	120.8	91.3	1.2
		60	97.7	130.1	95.0	1.2
		120	90.7	134.1	56.2	2.0
	240 I	113.3	50.9	124.8	1.7	
陽性対照 (EMS)	900	48.7	73.9	74.3	626.8	

表中の数値は2プレートの平均値(申請者算定)

I: 被験物質の析出, \$: 1 プレートの値

コロニー形成率測定(200 細胞/プレート)、突然変異測定( $3 \times 10^5$  細胞/プレート)

絶対播種効率(%) = [プレート当りの平均コロニー数] / [200] X 100

突然変異頻度 = [総変異コロニー数] / [(評価プレート数) X ( $3 \times 10^5$ ) X (絶対播種効率)] X 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2. HPRT 前進突然変異試験の結果<代謝活性化系の存在下>

		濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	生存率 (溶媒対照に對する比 [%])	細胞数増加 (溶媒対照に對する比 [%])	絶対播種効率 (%)	突然変異頻度 ( $\times 10^{-6}$ )
実験 1	陰性対照	0	96.5	112.3	82.5	1.1
	溶媒対照 (DMSO)	0	100.0	100.0	56.8	1.5
	検体	7.5	170.0	29.0	67.7	1.1
		15	148.8	29.0	66.9	1.0
		30	179.6	56.7	76.4	2.7
		60	180.0	44.5	57.2	5.1
		120	178.2	20.7	46.7	6.0
	240 I	209.0	4.7\$	64.3\$	1.3\$	
陽性対照 (DMBA)	20	103.9	31.7	46.9	58.3	
実験 2	陰性対照	0	79.9	132.5	64.8	0.7
	溶媒対照 (DMSO)	0	100.0	100.0	76.1	0.8
	検体	20	96.9	48.2	61.9	1.1
		40	95.5	43.2	41.0	2.6
		80	93.2	49.1	71.3	1.2
		120	87.5	31.1	44.1	1.3
		160 I	108.0	39.4	61.2	0.7
		200 I	200.9	9.7	41.0	3.2
	240 I	239.1	3.1\$	90.3	2.8	
陽性対照 (DMBA)	20	65.8	20.9	51.2	214.8	

表中の数値は2プレートの平均値(申請者算定)

I: 被験物質の析出、\$: 1プレートの値

コロニー形成率測定(200細胞/プレート)、突然変異測定( $3 \times 10^5$ 細胞/プレート)

絶対播種効率(%) = [プレート当りの平均コロニー数] / [200]  $\times$  100

突然変異頻度 = [総変異コロニー数] / [(評価プレート数)  $\times$  ( $3 \times 10^5$ )  $\times$  (絶対播種効率)]  $\times$  100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

### 3) 染色体異常誘発性

① ハムスターの CHL 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験 (資料T-24)

試験機関 :

報告書作成年: 2004 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター由来の継代培養した CHL 細胞を用い、染色体異常誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して用いた。検体の処理時間は、6、20 及び 40 時間とし、6 時間処理では代謝活性化及び非代謝活性化の両条件下で、20 及び 40 時間処理では非代謝活性化条件下で検討した。また、各条件において、陽性対照及び溶媒対照群を設けた。

各濃度あたり 2 枚のプレートを作製し、1 プレートあたり 100 個、各濃度あたり計 200 個の分裂中期像について観察を行った。

用量設定根拠 :

結果 : 結果を次頁の表に示した。検体の処理時間、代謝活性化の有無に関らず、全ての処理群で染色体の構造異常及び数的異常を示す分裂中期細胞の出現頻度の増加を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミドモノハイドレート及びマイトマイシン C 処理では、染色体構造異常を示す分裂中期細胞の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において、染色体の構造異常及び数的異常誘発性を有しないと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6 時間処理での *in vitro* 染色体異常試験結果

薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理 時間 (時間)	観察 細胞 数 (個)	S9 mix の 有無	各染色体異常出現数(個)						異常細胞の 出現頻度(%)		判定	倍数性 細胞の 出現 頻度 (%)	判定
					Gap	染色体分体型		染色体型		そ の 他	Gap 含む	Gap 含まず			
						切断	交換	切断	交換						
溶媒対照 (DMSO)	-	6	200	+	0	5	1	1	0	0	3.5	3.5	/	2.0	/
検 体	550°	6	200	+	0	8	2	0	0	0	4.5	4.5	-	0.5	-
	1100°				0	5	2	0	0	0	3.0	3.0	-	2.0	-
	2200°				0	5	1	0	0	0	3.0	3.0	-	1.0	-
陽性対照 (CP)	10	6	200	+	0	16	17	0	2	0	16.5	16.5***	+	2.0	-
溶媒対照 (DMSO)	-	6	200	-	0	5	0	0	0	0	2.0	2.0	/	2.0	/
検 体	550°	6	200	-	0	4	0	0	0	0	2.0	2.0	-	1.5	-
	1100°				0	2	1	0	1	0	2.0	2.0	-	2.5	-
	2200°				0	3	0	1	0	0	2.0	2.0	-	2.0	-
陽性対照 (MMC)	0.10	6	200	-	0	33	32	0	5	1	23.0	23.0***	+	1.5	-

Fisher の直接確率計算法。\*\*\*:  $p < 0.001$ 。

判定は、-: 陰性、+: 陽性。 °: 結晶析出。

注) DMSO: ジメチルスルホキシド

CP: シクロホスファミドモノハイドレート

MMC: マイトマイシン C

20 時間及び 40 時間処理での *in vitro* 染色体異常試験結果

薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理 時間 (時間)	観察 細胞 数 (個)	S9 Mix の 有無	各染色体異常出現数(個)						異常細胞の 出現頻度(%)		判定	倍数性 細胞の 出現 頻度 (%)	判定
					Gap	染色体分体型		染色体型		そ の 他	Gap 含む	Gap 含まず			
						切断	交換	切断	交換						
溶媒対照 (DMSO)	-	20	200	-	2	6	1	0	0	0	4.5	3.5	/	0.5	/
検 体	300°	20	200	-	1	3	0	3	0	0	3.0	2.5	-	1.0	-
	600°				0	4	0	0	1	0	2.5	2.5	-	1.0	-
	1200°				3	5	0	0	1	0	4.5	3.0	-	2.0	-
陽性対照 (MMC)	0.07	20	200	-	2	19	27	5	2	0	20.0	19.5***	+	1.0	-
溶媒対照 (DMSO)	-	40	200	-	1	4	0	1	1	0	3.5	3.0	/	1.0	/
検 体	125°	40	200	-	0	6	1	1	0	0	4.0	4.0	-	1.0	-
	250°				0	3	1	3	0	0	3.0	3.0	-	0.0	-
	500°				1	3	1	0	1	0	3.0	2.5	-	2.5	-
陽性対照 (MMC)	0.07	40	200	-	1	34	48	3	4	2	26.5	26.0***	+	0.5	-

Fisher の直接確率計算法。\*\*\*:  $p < 0.001$ 。

判定は、-: 陰性、+: 陽性。 °: 結晶析出。

注) DMSO: ジメチルスルホキシド

MMC: マイトマイシン C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

#### 4) 小核誘発性

##### ① マウスを用いた小核試験

(資料T-25)

試験機関 :

報告書作成年: 2003 年[GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : ICR 系マウス(8 週齢、体重; 雄 32.8~38.0g、雌 28.7~31.7g)、1 群雌雄各 5 匹

試験方法 : 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、500、1000 及び 2000 mg/kg の投与量で、強制的に単回経口投与した。なお、陰性対照群には 1%CMC を同様に投与し、陽性対照群には生理的食塩水に溶解したマイトマイシン C(MMC)を 3 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した。

検体投与群及び陰性対照では、投与 24 及び 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ染色液で染色し、骨髓標本作製した。陽性対照群では投与 24 時間後に屠殺し、上記と同様に骨髓標本作製した。

各個体の標本について細胞毒性を調べるために 200 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する幼若赤血球の割合を算出した後、引き続き計 2000 個の幼若赤血球を観察して小核を有する幼若赤血球数を計測した。

投与 24 及び 48 時間後に動物の生死及び一般状態を観察した。

用量設定根拠 :

結果 : 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

全投与群において、死亡はなく、検体の一般状態への影響も認められなかった。雌雄いずれの標本採取時間においても、溶媒対照群と比較して検体投与群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度に、統計学的に有意な増加は認められなかった。また、幼若赤血球の全赤血球に対する割合の変化は認められなかった。一方、陽性対照である MMC 投与群では、小核を有する幼若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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

雄マウスを用いた小核試験結果

採取時間 (時間)	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNIE (%) (平均値±SD)	IE/(IE+ME) (%) (平均値±SD)
24	陰性対照 (1% CMC)	-	5	0.11 ± 0.02	50.7 ± 6.6
	検体	500	5	0.09 ± 0.02	54.7 ± 4.2
		1000	5	0.11 ± 0.07	53.1 ± 4.0
		2000	5	0.10 ± 0.05	49.8 ± 7.3
	陽性対照 (マイトインシ C)	3	5	2.41 ± 1.14 #	41.2 ± 10.4
48	陰性対照 (1% CMC)	-	5	0.06 ± 0.04	44.2 ± 6.7
	検体	500	5	0.08 ± 0.08	49.1 ± 5.0
		1000	5	0.05 ± 0.06	46.3 ± 4.8
		2000	5	0.05 ± 0.07	48.4 ± 7.9

MNIE は Kastenbaum & Bowman の検定方法。 #: 明らかな上昇。

IE/(IE+ME) は Wilcoxon の順位和検定。

IE: 幼若赤血球数、ME: 成熟赤血球数。

MNIE: 幼若赤血球 2000 個のうち小核を有する幼若赤血球の割合。

雌マウスを用いた小核試験結果

採取時間 (時間)	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNIE (%) (平均値±SD)	IE/(IE+ME) (%) (平均値±SD)
24	陰性対照 (1%CMC)	-	5	0.09 ± 0.07	50.5 ± 2.3
	検体	500	5	0.09 ± 0.04	50.2 ± 2.8
		1000	5	0.04 ± 0.02	50.0 ± 6.2
		2000	5	0.09 ± 0.07	52.8 ± 4.2
陽性対照 (マイトインシ C)	3	5	2.50 ± 0.59 #	43.4 ± 5.3	
48	陰性対照 (1%CMC)	-	5	0.05 ± 0.05	49.8 ± 3.7
	検体	500	5	0.07 ± 0.04	49.2 ± 1.4
		1000	5	0.03 ± 0.03	50.9 ± 4.9
		2000	5	0.09 ± 0.02	48.8 ± 3.2

MNIE は Kastenbaum & Bowman の検定方法。 #: 明らかな上昇。

IE/(IE+ME) は Wilcoxon の順位和検定。

IE: 幼若赤血球数、ME: 成熟赤血球数。

MNIE: 幼若赤血球 2000 個のうち小核を有する幼若赤血球の割合。

以上の結果から、本試験条件下において、検体はマウス骨髄幼若赤血球に対し、小核赤血球を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② マウスを用いる小核試験

(資料T-34)

試験機関 :

報告書作成年 : 2005 年[GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : NMRI 系雄マウス(6~12 週齢、体重: 37~44g)、1 群各 5 匹。

試験方法 : 検体を 0.5%クレモフォル水溶液に懸濁し、1000、2000 及び 4000 mg/kg の投与量で、腹腔内に 1 日 1 回、24 時間間隔で 2 回連続投与した。なお、陰性対照群には 0.5%クレモフォル水溶液を同様に投与し、陽性対照群には生理食塩液に溶解したシクロフォスファミド(CP)を 20 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した。最終投与後 24 時間に各動物から大腿骨の骨髓を採取し、血清で細胞を単離させた後、スライドグラスに塗抹した。スライドは、自動染色装置で染色し、メタノールで脱色した後、水洗・乾燥させた。各スライドを封入して観察に供した。動物 1 匹当たり 2000 個の多染性赤血球(PCE)について、小核の出現を観察した。また、骨髓の増殖抑制を確認する為に 2000 個の PCE 観察時にみられた正染性赤血球(NCE)の数も記録した。小核の出現頻度は、ノンパラメトリックの Wilcoxon 順位和検定法を用いて検定した。

用量設定根拠 :

結果 : 骨髓標本の観察結果を次頁に示した。全投与群において粗毛、体重減少、横臥位等の一般状態の変化が観察されたが、死亡例はみられなかった。いずれの検体投与群とも、陰性対照群と比較して小核を有する PCE および NCE の出現頻度に、統計学的に有意な増加は認められなかった。また、PCE の NCE に対する割合は、2000 及び 4000 mg/kg 群において有意な増加がみられた。一方、陽性対照である CP 投与群では、小核を有する PCE の出現頻度に、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果より、当該試験条件下において、検体はマウス骨髓細胞に対して小核誘発性を示さず、*in vivo* 染色体異常誘発性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

マウスを用いた小核試験結果

試験群	投与量 (mg/kg)	観察 動物 数	観察 PCE 総数	NCE 数/ 2000 PCE (平均値±標準偏差)	MNNCE/ 2000 NCE (平均値±標準偏差)	MNPCE/ 2000 PCE (平均値±標準偏差)
陰性対照	0	5	10000	2106 ± 1555	3.7 ± 3.4	2.6 ± 0.9
検体	1000	5	10000	2555 ± 529	3.2 ± 1.3	2.8 ± 1.5
	2000	5	10000	3609 ± 1308	5.8 ± 2.9	5.2 ± 3.0
	4000	5	10000	3374 ± 1251	3.8 ± 1.2	5.4 ± 4.8
陽性対照 CP	20	5	10000	1896 ± 692	5.7 ± 2.8	17.0* ± 4.6

\*p < 0.01 (Wilcoxon 順位和検定)

PCE: 多染性赤血球、NCE: 正染性赤血球、

MNNCE: 小核を有する正染性赤血球、MNPCE: 小核を有する多染性赤血球

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(14) 生体機能影響

1) フルベンジアミドにおける薬理試験

(資料T-26)

試験機関:

報告書作成年: 2002 年[GLP 対応]

検体の純度:

マウス及びラットの中樞神経系に対する作用

マウスにおける一般状態

- 供試動物 : ICR 系マウス、5 週齢、体重 雄 21.7~24.3g、雌 19.0~21.3g、1 群雌雄各 3 匹
- 投与方法 : 一晚絶食させたマウスに 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁した検体を 0、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で経口投与し、投与前ならびに投与後 1、2、4、8 及び 24 時間に Irwin の多次元観察法に準じて一般状態を観察した。給餌は投与後 8 時間に再開した。
- 結果 : 検体投与群にみられた一般状態は雌雄ともに対照群と同様であり、検体の影響は認められなかった。

ラットにおける一般状態

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、5 週齢、体重 115~132g、1 群 5 匹
- 投与方法 : 一晚絶食させたラットに 0.5%CMC 水溶液に懸濁した検体を 0、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で経口投与し、投与前ならびに投与後 1、2、4、8 及び 24 時間に機能観察総合評価法(FOB)に準じて一般状態を観察した。給餌は投与後 8 時間に再開した。
- 結果 : 検体投与群にみられた一般状態は対照群と同様であり、検体の影響は認められなかった。

マウスにおける睡眠延長作用

- 供試動物 : ICR 系雄マウス、5 週齢、体重 24.9~27.3g、1 群 8 匹
- 投与方法 : 一晚絶食させたマウスに 0.5%CMC 水溶液に懸濁した検体を 0、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で経口投与した。その1時間後にヘキソバルピタールを 80 mg/kg の用量で腹腔内投与し、睡眠時間としてヘキソバルピタール投与に伴う正方向反射の消失から回復までの時間を測定した。
- 結果 : 検体投与群のヘキソバルピタールによる睡眠時間は対照群と同等であり、検体の影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

#### ラットの循環器系に対する作用

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、7 週齢、体重 197~245g、1 群 5 匹
- 投与方法 : 一晚絶食させたラットに 0.5%CMC 水溶液に懸濁した検体を 0、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で経口投与し、投与前ならびに投与後 0.5、1、2 及び 3 時間に無麻酔下で収縮期血圧及び心拍数を測定した。
- 結果 : 検体投与群にみられた収縮期血圧及び心拍数は対照群と同等であり、検体の影響は認められなかった。

#### マウスの消化器系に対する作用

- 供試動物 : ICR 系雄マウス、5 週齢、体重 25.0~31.2g、1 群 8 匹
- 投与方法 : 一晚絶食させたマウスに 0.5%CMC 水溶液に懸濁した検体を 0、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で経口投与した。その 1 時間後に炭末懸濁液を経口投与し、30 分後に屠殺して炭末の小腸内移行率(全小腸の長さに対する胃幽門部から炭末移行先端までの長さの百分率)を測定した。
- 結果 : 2000 mg/kg 群の炭末移行率が対照群と比較して有意に低下した。

投与量(mg/kg)	移行率(%)
0	57
200	53
600	56
2000	↓ 41

Dunntt の多重比較法。↓:P<0.01。

#### ラットの腎機能に対する作用

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、5 週齢、体重 107~118g、1 群 5 匹
- 投与方法 : 一晚絶食させたラットに 0.5%CMC 水溶液に懸濁した検体を 0、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で経口投与した。直後に生理食塩液 2.5 ml/100g を経口負荷した。その後 6 時間までの尿を採取して尿量を測定するとともに、尿中ナトリウム、カリウム及び塩素を測定した。なお、実験中は絶食及び絶水とした。
- 結果 : 検体投与群の尿量及び尿中電解質排泄量は対照群と同等であり、検体の影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

#### ラットの血液系に対する作用

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、5 週齢、体重 100~130g、1 群 5 匹
- 投与方法 : 一晚絶食させたラットに 0.5%CMC 水溶液に懸濁した検体を 0、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で経口投与し、投与1時間後にペントバルビタール麻酔下で後大静脈より採血した。得られた血液について以下の項目の測定を行った。  
赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、血小板数、白血球数、白血球のディファレンシャルカウント、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  
また、採取した血液の一部から得た血漿中のヘモグロビン濃度を測定し、溶血度を評価した。
- 結果 : 検体投与群の血液学的検査項目値はいずれも対照群と同等であり、検体の影響は認められなかった。対照群も含めた全群で、血漿中にヘモグロビンは検出されず、溶血は認められなかった。

以上の結果より、検体は消化器系に対して抑制作用を示唆したが、その発現用量は 2000 mg/kg と極めて高いものであった。中枢神経系、循環器系、腎機能及び血液系への作用を検討した結果、いずれにおいても、検体投与の影響を認めなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

「マウス及びラットにおける生体機能への影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢 神経 系 枢	一般状態 [Irwin 法] (雌雄マウス)	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	3	>2000	2000	検体の影響なし
	一般状態 [機能観察総合 評価法] (雄ラット)	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	5	>2000	2000	検体の影響なし
	ヘキソバルビタ ール睡眠 (雄マウス)	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	8	>2000	2000	検体の影響なし
循環 器 系	血圧、心拍数 (雄ラット)	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	5	>2000	2000	検体の影響なし
消化 器	小腸炭末輸送 能 (雄マウス)	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	8	2000	600	2000mg/kg の投与群で炭 末輸送能の抑制が認めら れた。
腎 機 能	尿量、尿中電解 質排泄量 (雄ラット)	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	5	>2000	2000	検体の影響なし
血 液 系	赤血球、白血 球、血小板、凝 固能	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	5	>2000	2000	検体の影響なし
	溶血性	経口 (0.5%CMC 水溶液)	0、200、600、 2000	5	>2000	2000	検体の影響なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(15) その他

- 1) 雌性 F-344 ラットの甲状腺関連ホルモン濃度および肝薬物代謝酵素に対する影響

(資料 T-26-1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

以上の結果、検体投与により UDP-GT 活性の誘導が認められたことは、T4 代謝の亢進による血中甲状腺ホルモンの代謝亢進を示唆するが、同酵素の誘導剤で認められるべき血清 T4 および T3 濃度の減少を伴わずに TSH 濃度が増加していたことから、甲状腺への影響は肝の酵素誘導によるフィードバックメ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
カニズムだけでは十分に説明できないと考えられた。T3 および T4 がともに増加し、TSH はそれらに遅れて増加していたことから、何らかの形で甲状腺が刺激された可能性も推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

- 2) *in vitro* におけるヨードサイロニン脱ヨード酵素 type 1 に対する影響 (資料 T-26-2)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果より、検体が肝臓の 5' 脱ヨード酵素 type 1 の阻害を通じ甲状腺ホルモンの恒常性維持に影響を及ぼすことはないことが示唆される。

ヨードベンゼン誘導体、例えばイオパノ酸およびエリスロシンなどは、type 1 の 5'脱ヨード酵素とともに type 2 酵素に対しても阻害作用がある。従って、今回の結果から、検体が 5' 脱ヨード酵素 type 2 に対しても阻害作用を示さないと推測される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) フルベンジアミドのラットを用いた発達神経毒性試験

(資料 T-31)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上、フルベンジアミド原体のラットを用いた発達神経毒性試験において、母動物では 1200 ppm 以上で肝臓重量の高値及び肝細胞肥大が認められた。児動物では、1200 ppm 以上で眼への影響、離乳前の体重増加抑制、及び包皮分離発現日の遅延が認められた。12000 ppm 群ではさらに、離乳後の雌雄における体重低値及び陰開口発現日の遅延がみられた。従って、本試験における無毒性量は、母動物及び児動物ともに 120 ppm (9.9 mg/kg/日)と判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) フルベンジアミドのマウスを用いた周産期混餌投与による眼毒性試験

(資料 T-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日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、CD-1系マウスにフルベンジアミドを限界用量の1000 mg/kg/日を周産期に混餌投与にした場合、児の眼発達に対するフルベンジアミドの影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- 5) ラットを用いた飼料混入投与による 28 日間飼料混入投与による免疫毒性試験 (資料T-36)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上、フルベンジアミド原体のラットを用いた 28 日間飼料混入投与による免疫毒性試験における影響として、400ppm 以上の群の雌で摂餌量の低下、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下、GOT の低下、肝臓重量の増加が認められた。4000ppm 群では雄で GOT 低下、肝臓重量の増加、腎臓の退色がみられ、雌では赤血球数の低下、甲状腺重量の増加、血清 IgA の低下が、雌雄では GPT の低下、CD45<sup>total</sup> 及び CD45<sup>high</sup> 陽性脾臓細胞数の低下と CD45<sup>low</sup> 陽性脾臓細胞数の増加が認められた。したがって、一般毒性学的な無毒性量は、雄 400 ppm (33.60 mg/kg/日)、雌 40 ppm (4.00 mg/kg/日)であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- 6) ラット乳児の眼球異常を惹起するフルベンジアミド暴露時期の特定 (資料 T-37)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、Wistar Hannover 系ラット兎動物でみられた眼球異常は、妊娠期間の投与では発生せず、出生後の経乳汁暴露により発生すると推察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7) ラットの生後眼球発達における病理組織学的変化に対するフルベンジアミドの影響 (資料 T-38)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、Wistar Hannover 系ラット児動物への検体の経乳汁暴露により、まず自然発生性の眼房内出血の持続、悪化が起こり、赤血球のフォンタナ腔への沈着および虹彩角膜癒着が生ずる。その結果、眼房水の排出が障害されて眼圧が上昇し、眼球腫大が検体作用による二次的影響として発症すると推察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- 8) ラット母動物へのフルベンジアミド授乳期投与により惹起された乳児の眼球異常と血液凝固阻害との  
関連性 (資料 T-39)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、Wistar Hannover 系ラット児動物への検体の経乳汁暴露により、まずビタミンK 依存性の血液凝固阻害が起こることにより、自然発生性の眼房内出血が持続、悪化する。その結果、眼房水の排出が障害されて眼圧が上昇し、眼球腫大が検体作用による二次的影響として発症すると推察された。