

VIII 毒性

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD ₅₀ 値 (mg/kg) または無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
1 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♀ 3	経口	♀ : 300, 2000 (mg/kg)	♀ : 300~2000	(2009年)	毒-7
2 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各 5	経皮	♂♀ : 2000 (mg/kg)	♂♀ : >2000	(2009年)	毒-8
3 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各 5	吸入 (4時間)	ミスト ♂♀ : 0(溶媒), 4671 (mg/m ³)	LC ₅₀ ♂♀ : >4671 (mg/m ³)	(2010年)	毒-9
4 GLP	皮膚刺激性 (3日間観察)	ウサギ	♀ 3	背部に貼付	500mg	刺激性なし	(2009年)	毒-11
5 GLP	眼刺激性 (3日間観察)	ウサギ	♀ 3	片側眼に強制投与	100mg/眼	刺激性なし	(2009年)	毒-12
6 GLP	皮膚感作性 LLNA	マウス	♀ 4	経皮	0(溶媒)、10、25、50%	皮膚感作性なし	(2012年)	毒-14
7 GLP	急性神経毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各 12	経口	♂♀ : 初回 : 0(溶媒), 50, 200, 800 追加 : 0(溶媒), 20, 35	♂ : 50 ♀ : 35	(2011年)	毒-16
8 除外	急性遅発性神経毒性	遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外						毒-26
9 GLP	90日間反復経口投与毒性 (13+4週間)	ラット	主群 ♂♀各 10 回復群 ♂♀各 10	飼料混入	0, 100, 500, 2500 ppm ♂ : 0, 6.0, 30.2, 156 ♀ : 0, 7.6, 38.3, 186	♂♀ : 500ppm ♂ : 30.2 ♀ : 38.3	(2009年)	毒-27
10 GLP	90日間反復経口投与毒性 (13週間)	マウス	♂♀各 10	飼料混入	0, 100, 500, 2500ppm ♂ : 0, 15.6, 80.6, 407 ♀ : 0, 18.8, 98.1, 473	♂♀ : 500ppm ♂ : 80.6 ♀ : 98.1	(2009年)	毒-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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD ₅₀ 値 (mg/kg) または無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁	
11 GLP	90日間反復経口投与毒性 (13週間)	イヌ	♂♀各4	飼料混入	0, 400, 1200, 3600/2400 ppm ♂: 0, 12, 33, 102/85 ♀: 0, 12, 41, 107/78	♂♀: 400ppm ♂: 12 ♀: 12	(2010年)	毒-46	
12 除外	21日間反復経皮投与毒性 (3週間)	急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められることから試験除外							毒-55
13 除外	90日間反復吸入毒性	急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外							毒-56
14 GLP	90日間反復経口投与神経毒性 (13週間)	ラット	♂♀各12	飼料混入	0, 100, 500, 2500 ppm ♂: 0, 5.7, 29.4, 143 ♀: 0, 6.9, 34.8, 173	♂♀: 500ppm ♂: 29.4 ♀: 34.8	(2011年)	毒-57	
15 除外	28日間反復投与遅発性神経毒性	遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関などからみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外。							毒-62
16 GLP	1年間反復経口投与毒性 (1年)	イヌ	♂♀各4	飼料混入	0, 150, 300, 1000 ppm ♂: 0, 4.6, 7.8, 28.1 ♀: 0, 4.1, 7.8, 28.2	♂: 300ppm ♀: 300ppm ♂: 7.8 ♀: 7.8	(2012年)	毒-63	
17 GLP	1年間反復経口投与毒性・発がん性併合 (2年)	ラット	発がん性群 ♂♀各60 中間屠殺群 ♂♀各10	飼料混入	0, 80, 400, 2000 ppm ♂: 0, 3.16, 15.8, 80.8 ♀: 0, 4.48, 22.5, 120	♂: 400ppm ♀: 400ppm ♂: 15.8 ♀: 22.5 発がん性なし	(2012年)	毒-70	
18 GLP	発がん性 (18ヵ月)	マウス	発がん性群 ♂♀各50 中間屠殺群 ♂♀各10	飼料混入	0, 70, 300, 1500 ppm ♂: 0, 10.0, 43, 224 ♀: 0, 12.2, 53, 263	♂: 300ppm ♀: 300ppm ♂: 43 ♀: 53 発がん性なし	(2012年)	毒-112	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD ₅₀ 値(mg/kg) または無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
19 GLP	繁殖毒性 (2世代)	ラット	♂♀各30	飼料混入	0, 100, 500, 1800 ppm P世代 ♂: 0, 6.6, 32.5, 117.4 ♀: 0, 7.7, 38.7, 137.0 F1世代 ♂: 0, 6.4, 32.0, 122.1 ♀: 0, 7.8, 39.6, 143.4	親動物: ♂♀: 500ppm ♂: 32.0 ♀: 38.7 児動物: 500ppm 34.3 繁殖性: ♂♀: 500ppm	(2011年)	毒 - 132
20 GLP	催奇形性	ラット	♀23	強制経口 (妊娠6~20日)	0, 15, 50, 150	母動物: 15 胎児: 50 催奇形性なし	(2010年)	毒 - 145
21 GLP	催奇形性 (補足試験)	ラット	♀23	強制経口 (妊娠6~20日)	0, 20, 30	母動物: 30	(2012年)	毒 - 151
22 GLP	催奇形性	ウサギ	♀23	強制経口 (妊娠6~28日)	0, 7.5, 15, 40	母動物: 15 胎児: 40 催奇形性なし	(2012年)	毒 - 153
23 GLP	Ames 試験 復帰変異	サルモネラ菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA102		<i>in vitro</i> プレート法及びプレインキュベーション法	S-9 Mix 無添加 添加 0, 16, 50, 158, 500, 1581, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(2009年)	毒 - 159
24 GLP	Ames 試験 復帰変異	サルモネラ菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA102		<i>in vitro</i> プレート法及びプレインキュベーション法	S-9 Mix 無添加 添加 0, 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(2011年)	毒 - 162
25 GLP	染色体異常	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	—	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加: [4h 処理] 0, 500, 1000, 2500 µg/mL [18h 処理] 0, 200, 400, 800 µg/mL S-9 Mix 添加: [4h 処理] 0, 500, 1000, 3000 µg/mL	染色体異常 誘発性なし	(2009年)	毒 - 165
26 GLP	変異原性 前進突然変異	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	—	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加 添加 0, 46, 92, 184, 368, 736, 1472, 2944 µg/mL	変異原性なし	(2009年)	毒 - 170

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD ₅₀ 値 (mg/kg) または無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
27 GLP	小核	マウス	♂5	腹腔内 2回投与 (24時間 間隔)	0, 10, 20, 40 mg/kg	染色体異常 誘発性なし	(2009年)	毒 - 174
28 GLP	小核	マウス	♀7	腹腔内 2回投与 (24時間 間隔)	0, 12.5, 25, 50 mg/kg	染色体異常 誘発性なし	(2011年)	毒 - 176
29 GLP	生体機能への影響試験 呼吸・循環器系 呼吸数 腎機能 尿量, 尿中電解質, 尿浸透圧	ラット	♀5	経口	0, 30, 150, 800 mg/kg	無作用量 ♀150	(2012年)	毒 - 178
			♀5	経口		無作用量 ♀150		
			♀5	経口		無作用量 ♀30		
30 GLP	免疫毒性	ラット	♀10	混餌	0, 125, 600, 3000 ppm ♀ : 0, 10, 50, 230	♀ : 600ppm ♀ : 50 免疫毒性なし	(2011年)	毒 - 181
31 GLP	発達神経毒性	ラット	♂♀30	混餌	0, 120, 500, 1200 P世代 ♀ : 0, 10.3, 42.4, 101.7	親動物 : ♀ : 500ppm ♀ : 42.4 児動物 : 500ppm	(2012年)	毒 - 184

2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD ₅₀ 値 (mg/kg) または無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
代-1 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♀ 3	経口	♀ : 300, 2000 mg/kg	♀ : 300~2000	(2010年)	毒 - 194
代-2 GLP	90日間反復経口投与毒性 (13週間)	ラット	♂♀各 10	飼料混入	0, 200, 1000, 6000 ppm ♂ : 0, 12.7, 66.2, 380 ♀ : 0, 15.6, 78.7, 472	♂♀ : 200ppm ♂ : 12.7 ♀ : 15.6	(2012年)	毒 - 195
代-3 GLP	Ames 試験 復帰変異	サトウシロ菌 ; TA100, TA98, TA102 TA1535, TA1537		<i>in vitro</i> プレート法 及びプレート インキュベーション 法	S-9Mix 無添加 添加 0, 3, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(2010年)	毒 - 205

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD ₅₀ 値 (mg/kg) 又は無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
代-4 GLP	染色体異常	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	—	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加 添加: [4h 処理], [18h 処理] 0, 240, 480, 960 µg/mL	染色体異常 誘発性なし	(2010 年)	毒 - 208
代-5 GLP	変異原性 前進突然変異	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	—	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加 添加 0, 30, 60, 120, 240, 480, 960 µg/mL	変異原性なし	(2010 年)	毒 - 211
代-6 GLP	急性毒性 (14 日間観察)	ラット	♀ 3	経口	♀ : 300, 2000 (mg/kg)	♀ : >2000	(2011 年)	毒 - 215
代-7 GLP	28 日間反復 経口投与毒性 (4 週間)	ラット	♂♀各 10	飼料混入	0, 200, 800, 3000 ppm ♂ : 0, 17, 67, 244 ♀ : 0, 19, 76, 273	♂ : 3000 ppm ♀ : 3000 ppm ♂ : 244 ♀ : 273	(2012 年)	毒 - 216
代-8 GLP	Ames 試験 復帰変異	サルモネラ菌; TA100, TA98, TA102 TA1535, TA1537		<i>in vitro</i> プレート法 及びプレートインキュベーション法	S-9 Mix 無添加 添加 0, 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000µg/プレート	変異原性なし	(2011 年)	毒 - 224
代-9 GLP	染色体異常	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	—	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加 添加(下線) : [4h 処理] 0, 6.4, 12.8, 25.6, 51.1, 102.3, 204.5, 409, 818, 1636 µg/mL	染色体異常 誘発性あり	(2011 年)	毒 - 227
代-10 GLP	変異原性 前進突然変異	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	—	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加 添加 0, 51.3, 102.5, 205, 410, 820, 1640 µg/mL	変異原性なし	(2011 年)	毒 - 230
代-11 GLP	小核	マウス	♂ 7	腹腔内 2 回投与 (24 時間 間隔)	0, 125, 250, 500 mg/kg	染色体異常 誘発性なし	(2011 年)	毒 - 234
代-12 GLP	不定期 DNA 合成	ラット	♂ 7	経口	0, 1000, 2000 mg/kg	UDS 誘発能 なし	(2011 年)	毒 - 236

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD50 値 (mg/kg) 又は 無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
代-13 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♀ 3	経口	2000 mg/kg	♀ : > 2000	(2012年)	毒 - 239
代-14 GLP	Ames 試験 復帰変異	サルモネラ菌; TA100, TA98, TA102 TA1535, TA1537		<i>in vitro</i> プレート法 及びプレート インキュベーション 法	S-9 Mix 無添加, 添加 0, 3, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性有り	(2012年)	毒 - 240
代-15 GLP	小核試験 コメット試験	ラット	♂ 7	経口	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	染色体異常誘 発性なし DNA 損傷の誘 発性なし	(2013年)	毒 - 245

3. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	LD ₅₀ 値 (mg/kg) ま たは無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
製剤 -1 GLP	急性毒性 (4%粒剤) (14日間観察)	ラット	♀ 3	経口	♀ : 2000 (mg/kg)	♀ : >2000	(2012年)	毒 - 249
製剤 -2 GLP	急性毒性 (4%粒剤) (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀ : 2000 (mg/kg)	♂♀ : >2000	(2012年)	毒 - 250
製剤 -3 GLP	皮膚刺激性 (4%粒剤) (3日間観察)	ウサギ	♂3	背部に 貼付	0.5 g	刺激性なし	(2012年)	毒 - 251
製剤 -4 GLP	眼刺激性 (4%粒剤) (3日間観察)	ウサギ	♂3	片側眼に 強制投与	0.1 g/眼	極軽度の刺激性	(2012年)	毒 - 252
製剤 -5 GLP	皮膚感作性 Buhler 法 (4%粒剤) (5週間)	モルモット	投与群 : ♂20 対照群 : ♂10	貼付	感作 100% 惹起 100%	皮膚感作性なし	(2012年)	毒 - 255

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 原体

(1) 急性毒性

1) 急性経口毒性試験

ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 No. 原体-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体純度：

供試動物：ウィスター (HsdCpb:Wu)系ラット、8~12 週齢、
体重 163~190g、1 群雌 3 匹

観察期間：14 日間

試験方法：OECD ガイドライン No. 423 (毒性等級法)

投与方法：検体をクレモホア EL を含む (2%) 水道水で調製し、10ml/kg の投与容量で経口投与
した。投与前に約 16~24 時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重測定は、投与日、投与 8 日およ
び 15 日に行った。全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300、2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) *	300~2000
死亡開始および 終了時間	投与 2 時間後開始 投与 3 時間後終了
症状発現および 消失時間	投与 20 分に発現 投与 4 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

*：12 農産第 8147 号に従って申請者が記載した。報告書では
OECD ガイドライン 423 による LD₅₀ cut-off 値 雌 2000mg/kg を記載。
投与当日を投与 1 日とする。

中毒症状として運動量の減少、振戦、立毛、努力性呼吸および間代性痙攣等が認められた。

2000mg/kg 群の死亡数は 1 回目が 1/3 匹、2 回目が 3/3 匹であった。

2000mg/kg 群の生存動物および 300mg/kg 群の全動物に順調な体重増加が認められた。

剖検では 2000mg/kg 群の生存動物および 300mg/kg 群の全動物に検体に起因する所見は認め
られなかった。2000mg/kg 群の死亡動物では肝臓の暗色化および肺の出血が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2) 急性経皮毒性試験

ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No. 原体-2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

検体純度:

供試動物: ウィスター (HsdCpb:Wu)系ラット、9~13 週齢、

体重 雄: 277~291g、雌: 211~225g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体をガーゼパッドに塗布し、投与前日に剃毛した背部皮膚に 24 時間塗布した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重測定は、投与日、投与 8 日
および 15 日に行った。全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始および 終了時間	死亡は認められなかった。
症状発現および 消失時間	症状は認められなかった。
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

一般状態の変化は認められなかった。死亡は認められなかった。

順調な体重の増加が認められた。

剖検において、検体に起因する所見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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3) 急性吸入毒性試験

ラットを用いた急性吸入毒性試験

(資料 No. 原体-3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

検体純度:

供試動物: SPF bred ウィスター[Hsd Cpb:WU(SPF)]系ラット、約 2~3 ヶ月齢、

体重 雄 160~183g、雌 167~184g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

暴露方法: 検体を PEG400 に溶解し(50%)、発生装置を用い、エアロゾル化し、流動式吸入装置によりラットの鼻部に 4 時間曝露した。曝露空気をガラスファイバーフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実測濃度を求め、さらに HPLC 法でも分析した。

曝露条件:

	1群	2群
目標濃度 (mg/m ³)	0	5000
濃度 (重量分析値) (mg/m ³)	-	5434
分析値 (mg/m ³)	-	4671
給気流量 (L/分)	15	15
排気流量 (L/分)	13	13
粒子径分布 ^{a)}		
>9.0 (μm)		1.11
5.8		3.63
4.7		3.18
3.3		13.61
2.1	-	24.11
1.1		37.65
0.7		13.24
0.4		2.96
<0.4		0.52
空気力学的質量中位径 (μm)	1.87	2.04
幾何標準偏差 (GSD)	2.09	1.86
呼吸可能な粒子の割合 (<3μm)%	74	73.3
チャンパー容積 (L)	3.8	
曝露条件	ダスト4時間鼻部曝露	

a) ANDERSEN cascade impactor により 2 回測定し、平均値を申請者が計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

観察・検査項目：暴露中および暴露後 14 日間、中毒症状および生死を詳細に観察した。

体重は暴露前、1 日、3 日、7 日および 14 日に測定した。暴露終了時には Irwin 法に準じて反射についても検査した。暴露終了後 30 分以内に直腸温を測定した。

観察終了時の全生存動物をペントバルビタールナトリウムで麻酔後屠殺し剖検した。

結 果：

投与方法	吸入 (ダスト)
曝露濃度 (実測濃度 ; mg/m ³)	0, 4671
LC ₅₀ (mg/m ³)	雄 : >4671 雌 : >4671
死亡開始時間及び 終了時間	雄 : - 雌 : -
症状発現時間及び 消失時間	雄 : 0 日 ~ 3 日 雌 : 0 日 ~ 3 日
死亡例の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³)	雄 : 4671 雌 : 4671

死亡例は認められなかった。

症状として、雌雄共に立毛、呼吸数増加、努力性呼吸、不規則呼吸、喘鳴、運動性低下あるいは増加、振戦、体温低下等が認められたが、暴露後 2 日には全動物が回復した。反射への影響は認められなかった。直腸温は雌雄ともに統計学的に有意に低下した (雄 : 37.9°C → 33.6°C、雌 : 38.2°C → 33.4°C、 $p < 0.01$, Games and Howell modification of Tukey-Kramers HSD test)。

体重では、雌に統計学的に有意でないものの一過性の体重低下がみられた。

剖検では、全動物に検体に起因する変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 原体-4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

検体純度:

供試動物: 白色ウサギ (Cr1:KBL (NZW)BR)、若齢成獣、1 群雌 3 匹、試験開始時体重 2.8~3.5kg

観察期間: 3 日間

投与方法: 投与 1 日前に動物の背部を刈毛した。投与部位には、粉碎し水で湿らせた検体 500mg を非アレルギー性パッチにのせ貼布 (2.5cm×2.5cm) した。適用部位を非刺激性テープでゆるく固定し、4 時間暴露した。周囲の処理しない皮膚を対照とした。

観察項目: 暴露終了後 1 時間、24 時間、48 時間、72 時間に塗布部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、評価した。

体重測定は、検体投与直前に行った。

結果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高評点*	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
2	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
3	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
合計	紅斑/痂皮形成	12	0	0	0	0
	浮腫形成	12	0	0	0	0
平均	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0

*: 判定基準の最高点

投与後 1 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間の観察において、検体に起因する所見は認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2) 眼刺激性

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. 原体-5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

検体純度:

供試動物: 白色ウサギ (Cr1:KBL(NZW)BR)、若齢成獣、1 群雌 3 匹、試験開始時体重 3.2~3.5kg

観察期間: 3 日間

投与方法: 粉碎した検体 100mg を一方の眼の結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間、眼瞼を緩やかに合わせ保持した。もう一方の眼は未処理の対照眼とした。

観察項目: 検体投与後 1 時間、24 時間、48 時間および 72 時間に、角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize の判定基準に従って採点した。刺激性の評価は EEC Directive No. 440/2008 に基づいた。体重測定は、検体投与直前に行った。

刺激性の評価基準

	平均スコア (24-72時間)	評価
角膜混濁	<2 = -, ≥ 2 <3 = +, ≥ 3 = ++	- : 刺激性なし
虹彩	<1 = -, ≥ 1 <2 = +, = 2 = ++	+ : 刺激性
結膜発赤	<2.5 = -, ≥ 2.5 = +	++ : 重大な刺激性
結膜浮腫	<2 = -, ≥ 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物 番号	項 目	最高評点	適 用 後 時 間				平均 スコア (24-72h)	評価	
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間			
1	角膜	程度	4	0	0	0	0.0	-	
		面積	4	0	0	0			
	虹彩		2	0	0	0	0.0	-	
	結膜	発赤	3	2	2	0	0	0.7	-
		浮腫	4	0	1	0	0	0.3	-
2	角膜	程度	4	0	0	0	0.0	-	
		面積	4	0	0	0			
	虹彩		2	0	0	0	0.0	-	
	結膜	発赤	3	2	1	0	0	0.3	-
		浮腫	4	0	0	0	0	0.0	-
3	角膜	程度	4	0	0	0	0.0	-	
		面積	4	0	0	0			
	虹彩		2	0	0	0	0.0	-	
	結膜	発赤	3	2	1	0	0	0.3	-
		浮腫	4	1	0	0	0	0.0	-

投与1時間後に全動物の結膜に評点2の発赤、1匹の結膜に評点1の浮腫、24時間後では全動物の結膜に評点1または2の発赤、1匹の結膜に評点1の浮腫が認められたが、いずれも48時間後には消失した。

また、中毒症状は認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対して刺激性がないものと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3)皮膚感作性

マウスを用いた局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA) (資料 No. 原体-6)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2012 年

検体純度:

供試動物: CBA/J Rj 系マウス、1 群雌 4 匹、体重: 21.1~23.9 g、投与開始時 12 週齢

投与期間: 3 日間

試験方法: [LLNA 法]

検体を 10、25 および 50%の濃度で DMF に溶解し、各群 4 匹の雌マウスの両耳介外表面に左右各 25 μ L ずつ 3 日間(試験 1~3 日目)毎日 1 回処理した。溶媒のみあるいは 25% α -ヘキシル桂皮アルデヒド(HCA)をそれぞれ別の群に処理し、陰性対照および陽性対照群とした。処理部位皮膚の局所刺激反応の有無、動物の生死、一般状態について毎日観察し、体重は 1 日目と 6 日目に測定した。

試験 6 日目に、20 μ Ci の[メチル- 3 H]-チミジンを含むリン酸緩衝液 250 μ L を各動物の尾部より静注し、5 時間後にマウスを屠殺し、両耳介リンパ節を採取した。各動物に耳介リンパ節の DPM を測定し、以下の式より各試験群の刺激指数(SI)を求めた。

$$SI = \frac{\text{各試験群の DPN}}{\text{陰性対照群 DPN}}$$

各群の DPN 値の算出

$$DPN = \frac{\text{DPM} - \text{5\%トリクロロ酢酸溶液の DPM}}{\text{リンパ節数}}$$

投与群で処理部位に刺激反応が認められず、SI が 3 以上かつ用量相関性が認められた場合に感作性ありとした。

結果:

死亡および臨床症状: いずれの群においても試験期間中動物の死亡および一般状態の変化は認められなかった。皮膚反応もいずれの群においても認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

リンパ節の外観に検体投与群と陰性対照群で差はみられなかったが、陽性対照群のリンパ節は他群に比べ大きかった。

体重： 陰性対照群にくらべ投与の影響は認められなかった。また陽性対照群の動物にも体重に差は認められなかった。

増殖評価：各群の増殖活性（DPM/リンパ節）および刺激指数は下表の通りであった。

群名	測定値 DPM/群	補正 DPM/群	リンパ節の 数	DPN	刺激指数 SI
背景 (5(w/v)%TCA)	40		-		
陰性対照 DMF	1588	1548	8	193.5	1.0
検体 50% (w/v)	2457	2417	8	302.1	1.6
検体 25% (w/v)	3935	3895	8	486.9	2.5
検体 10% (w/v)	3589	3549	8	443.6	2.3
陽性対照 HCA	26178	26138	10	2613.8	13.5

検体の刺激指数は投与濃度 50 (w/v) %、25 (w/v) %および10% (w/v) でそれぞれ 1.6、2.5 および 2.3 であり、いずれも 3 未満であった。

一方、陽性対照の HCA では SI>3 であり、感作性を示した。

以上の結果、本試験において検体は非感作性物質と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(4)急性神経毒性

ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 No. 原体-7)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度:

供試動物: ウィスター (RJ:WI)系ラット、7~8 週齢、一群雌雄各 12 匹

体重 (群平均) 初回試験 雄 298~302g、雌 214~216g

追加試験 雌 196~197g

観察期間: 14 日間

投与方法: 初回試験では 0 (溶媒)、50、200 および 800mg/kg、追加試験では 0 (溶媒)、20 および 35mg/kg の用量で強制的に単回経口投与した。投与液は、0.5%メチルセルロース 400 水溶性懸濁液に懸濁し調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目:

死亡率および一般状態; 生死を 1 日 2 回、一般状態を 1 日 1 回観察した。

800mg/kg 雌において、投与後ピーク影響時に実施した神経行動学的試験中に 1 匹死亡し、また、5 日目にも 1 匹死亡した。雄では投与に関連した死亡はいずれの用量でも認められなかった。

生存例については、投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

体重変化; 試験 1 日目の投与開始前、その後は FOB の一環として週 1 回測定した。さらに計画

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

屠殺の前にも測定した。追加試験では試験1日の投与開始前に測定した。

800mg/kg 群雌雄において、投与7日後の体重増加量が対照群と比較して統計学的に有意に低下したが（雄：-40%, p<0.01、雌：-46%, p<0.05、Dunnettの検定）、平均体重では差は認められなかった。200 および 50mg/kg 群では雌雄いずれにおいても対照群と同等であった。

神経行動学的検査

機能観察総合検査および運動量試験；初回試験では投与開始前、投与後約2時間（表では1日とした）、7日および14日目に全生存動物を対象として1匹ずつ行った。追加試験では投与開始前および投与後約2時間に同様に実施した。

機能観察総合検査では以下の項目について検査した。

ホームケージ：姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動、異常発声、その他異常行動

ハンドリング：取り出し易さ、取り扱い時の反応、筋緊張、眼瞼、流涙、流涎、鼻汁、汚れ、脱毛、痩せ、他の症状（触れた時の体温）。

オープンフィールド：立毛、呼吸、覚醒、歩行異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常発声、立ち上がり回数、排便および排尿の回数。

反射および生理学的観察/測定：瞳孔サイズ、瞳孔反射、正向反射、角膜反射、屈筋反射、聴覚驚愕反応、尾挟縮反応、握力、着地開脚幅、体重、直腸温。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を下表に示す。

表1 機能観察総合検査

性別	雄															
	0				50				200				800			
投与量(mg/kg)	0				50				200				800			
検査動物数	12				12				12				12			
検査時期(日)	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14
ホームケージ																
立毛	0	4	0	0	0	3	0	0	0	7	0	0	0	9*	0	0
ハンドリング																
筋緊張																
正常	12	11	12	12	12	12	12	12	11	9	12	12	9	7	12	12
亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0
低下	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	5	0	0
被毛の汚れ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
冷感	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	10**	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別	雄															
投与量 (mg/kg)	0				50				200				800			
検査動物数	12				12				12				12			
検査時期(日)	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14
オープンフィールド																
立毛	0	4	1	0	0	8	0	0	0	12 ^{***}	0	0	0	12 ^{***}	1	0
呼吸																
正常	12	11	12	12	12	12	12	12	12	3	12	12	12	0	12	12
多	0	1	0	0	0	0	0	0	0	9 ^{**}	0	0	0	12 ^{***}	0	0
覚醒																
不動	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
低下	0	1	4	6	1	1	2	6	0	6 [*]	5	6	0	11 ^{***}	0	4
正常	12	11	8	6	11	11	10	6	12	6	6	6	11	1	12	8
やや亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
不随意運動																
無(正常)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	11	12	12	1	12	12
振戦	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4 [*]	0	0	0	8 ^{***}	0	0
身震い	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
ミオクローヌス	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	5 [*]	0	0
咀嚼	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5 [*]	0	0
唇を繰り返しなめる	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0
歩行異常																
無(正常)	12	12	12	9	12	12	12	10	12	6	12	10	12	3	12	10
協調運動失調	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	7 ^{**}	0	0
つま先歩行	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
歩行せず	0	0	0	3	0	0	0	2	0	3	0	2	0	2	0	2
姿勢																
正常	12	9	11	12	12	10	12	12	12	4	12	12	11	1	12	12
やや腹臥位	0	2	1	0	0	2	0	0	0	4	0	0	1	9 ^{**}	0	0
腹臥位	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	2	0	0
円背位	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
立ち上がり回数	9.6	7.2	5.7	3.2	8.5	7.8	6.0	5.1	10.4	4.3	5.0	4.7	10.1	2.7 ^{**}	8.8	5.7
感覚反応																
瞳孔、右																
正常	9	11	11	9	6	11	11	10	8	6	9	10	10	5	11	10
散瞳	0	0	0	1	0	1	0	0	0	4 [*]	0	0	0	6 ^{**}	0	0
縮瞳	3	1	1	2	6	0	1	2	4	2	3	2	2	1	1	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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別	雄															
	0				50				200				800			
検査動物数	12				12				12				12			
検査時期(日)	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14
瞳孔、左																
正常	9	11	11	9	6	11	11	10	8	6	9	10	10	5	11	10
散瞳	0	0	0	1	0	1	0	0	1	4*	1	0	0	6**	0	0
縮瞳	3	1	1	2	6	0	1	2	3	2	2	2	2	1	1	2
正向反射協調失調・遅延	0	0	4	1	1	0	0	2	3	4*	1	1	0	6*	2	5
屈筋反射、右肢																
正常	12	12	11	12	12	11	12	12	11	11	12	12	12	7	11	12
亢進	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	4*	1	0
中程度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
屈筋反射、左肢																
正常	12	11	11	12	12	11	12	12	12	9	12	12	12	5	11	12
亢進	0	0	1	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	4*	0	0
中程度	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0
反応なし	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
尾部挟縮反応																
正常	9	11	9	9	10	8	11	10	10	10	11	8	11	8	11	10
減弱	0	0	2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0
亢進	3	1	1	2	2	4	1	1	1	1	1	4	1	2	1	2
直腸温	36.9	36.8	37.1	37.3	37.2	36.9	37.2	37.2	37.0	36.3	37.3	37.4	37.0	35.3	37.2	37.2

*: P<0.05 ** : P<0.01 *** : P<0.001 (Fisher 検定、申請者が実施)

+: P<0.05 (Dunn's Rank Sum test)

#: P<0.01 (Dunnett 多重検定、申請者が実施)

性別	雌															
	0				50				200				800			
検査動物数	12				12				12				12/10			
検査時期(日)	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14
ホームケージ																
立毛	0	2	0	0	0	6	0	0	0	3	0	0	0	8*	0	0
ハンドリング																
筋緊張																
正常	12	12	12	12	12	11	12	12	12	11	12	12	12	4	10	10
亢進	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
低下	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	8***	0	0
被毛の汚れ	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0
冷感	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9***	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別	雌															
	0				50				200				800			
検査動物数	12				12				12				12/10			
検査時期(日)	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14
オープンフィールド																
立毛	0	4	12	12	0	7	12	12	0	11**	12	12	0	12***	10	10
呼吸																
正常	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	12	12	12	0	10	10
多	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6**	0	0	0	12***	0	0
覚醒																
不動	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
低下	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	8***	0	0
正常	12	11	12	10	12	10	11	12	11	6	11	6	12	2	9	8
やや亢進	0	1	0	1	0	2	0	0	1	5	1	5	0	0	1	2
亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
不随意運動																
無(正常)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	12	12	12	2	10	10
振戦	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4*	0	0	0	10***	0	0
身震い		0				0				1				0		
ミオクローヌス	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7**	0	0
咀嚼	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4*	0	0
痙攣	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
唇を繰り返しなめる	0	0	0	1	0	1	0	1	0	3	0	1	0	8***	0	1
歩行異常																
無(正常)	12	11	12	12	12	11	12	12	12	2	11	12	12	2	10	10
協調運動失調	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5*	0	0	0	5*	0	0
つま先歩行	0	1	0	0	0	1	0	0	0	5	1	0	0	4	0	0
歩行せず	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
姿勢																
正常	12	12	12	12	12	12	12	12	12	9	12	12	12	1	10	10
やや腹臥位	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0
腹臥位	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
円背位	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	6**	0	0
立ち上がり回数	12.3	12.3	11.1	11.3	13.0	10.7	9.4	11.4	13.1	9.9	12.0	14.3	12.0	2.8**	12.9	11.6

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別	雌															
	0				50				200				800			
投与量(mg/kg)	0				50				200				800			
検査動物数	12				12				12				12/10			
検査時期(日)	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14
感覚反応																
瞳孔、右																
正常	11	9	9	10	11	6	10	11	10	5	8	6	8	1	8	5
散瞳	0	1	0	0	0	6*	0	0	0	7*	0	0	0	10***	0	0
縮瞳	1	2	3	2	1	0	2	1	2	0	4	6	4	1	2	5
瞳孔、左																
正常	11	9	9	10	11	6	10	1	10	5	8	6	8	1	8	5
散瞳	0	1	0	0	0	6*	0	0	0	7*	0	0	0	10***	0	0
縮瞳	1	2	3	2	1	0	2	1	2	0	4	6	4	1	2	5
正向反射協調失調・遅延	1	0	12	1	3	1	12	0	0	2	12	0	0	5	10	0
屈筋反射、右肢																
正常	12	11	12	10	11	12	11	12	12	9	12	12	12	3	10	10
亢進	0	1	0	2	0	0	1	0	0	2	0	0	0	2	0	0
中程度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	5	0	0
反応なし	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
屈筋反射、左肢																
正常	12	11	12	12	11	9	12	11	12	9	12	12	12	4	10	10
亢進	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0
中程度	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0	5	0	0
反応なし	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
尾部挟締反応																
正常	12	9	12	10	11	10	12	12	10	8	11	11	11	3	10	10
減弱	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	6*	0	0
亢進	0	3	0	2	0	0	0	0	2	4	1	1	1	2	0	0
実施せず	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
直腸温	37.4	37.5	37.9	38.1	37.3	37.2	37.6	37.8*	37.4	37.2	38.0	38.1	37.2	35.0	37.9	38.1

*: P<0.05 ** : P<0.01 *** : P<0.001 (Fisher 検定、申請者が実施)

+ : P<0.05 (Dunn's Rank Sum test)

: P<0.05 (Dunnett's test) ** : P<0.01 (Dunnett 多重検定、申請者が実施)

800mg/kg 群雌の検査動物数は試験開始前と1日目が12匹、試験7日と14日が10匹。

雌を対象とした追加試験においては対照群と比較して統計学的有意差が認められなかったが、50mg/kg群で影響が認められた検査項目の結果を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別	雌											
	0				20				35			
投与量(mg/kg)	0				20				35			
検査動物数	12				12				12			
検査時期(日)	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14	Pre	1	7	14
ホームケージ												
立毛	0	1	-	-	0	1	-	-	0	2	-	-
オープンフィールド												
立毛	0	1	-	-	0	1	-	-	0	1	-	-
感覚反応												
瞳孔、右												
正常	11	11	-	-	12	12	-	-	12	11	-	-
散瞳	0	0	-	-	0	0	-	-	0	1	-	-
縮瞳	1	1	-	-	0	0	-	-	0	0	-	-
瞳孔、左												
正常	12	11	-	-	12	12	-	-	12	11	-	-
散瞳	0	0	-	-	0	0	-	-	0	1	-	-
縮瞳	0	1	-	-	0	0	-	-	0	0	-	-

(Fisher 検定、申請者が実施)

- : 検査実施せず。

投与1日目(投与2時間後)では以下の影響が認められ、投与による影響と考えられた。800mg/kg 群雌雄において、立毛、筋緊張の低下、多呼吸、覚醒の低下、振戦、ミオクローヌス反射、咀嚼、唇を繰り返しなめる(雌)、協調運動失調性歩行、腹臥位または円背位(雌)、平均立ち上がり回数の減少、散瞳、正向反射の協調失調ないし遅延、屈筋反射の異常、尾狭縮反応の異常(雌)、冷感および直腸温の低下が認められた。200mg/kg 群では、立毛、多呼吸、振戦、協調運動失調性歩行(雌)、散瞳、覚醒の低下および正向反射の協調失調(雄)が認められた。50mg/kg 群では散瞳(雌)、立毛(有意差なし)が認められた。追加試験の35および20mg/kg 群では投与に関連する変化は認められなかった。

投与7日目では、いずれの用量群においても対照群と比較して統計学的な有意差は認められなかった。

[申請者追記]投与

これ以外にいずれの用量群においても対照群と比較して統計学的な有意差は認められなかった。

[申請者追記]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

運動量；

運動量は、個体別に自動フォトセル装置を用い、60分間のセッション及び各々10分間のインターバルで評価した。

表2 運動量 (60分間)

性別	雄			
用量	投与前	投与1日	投与7日	投与14日
0mg/kg	172±87	194±47	201±102	209±106
50mg/kg	171±69	254±118	281±93	295±133
200mg/kg	234±86	163±92	239±115	316±149
800mg/kg	189±146	97*±29	239±98	211±102
性別	雌			
用量	投与前	投与1日	投与7日	投与14日
0mg/kg	291±176	293±156	360±158	398±176
200mg/kg	329±170	272±154	297±95	324±141
500mg/kg	300±126	199±125	365±198	397±181
2000mg/kg	265±154	115*±72	381±172	387±160

*: P<0.01 (Dunn's Rank Sum test)

*: P<0.01 (Dunnett's test)

表3 運動量 (最初の10分間)

性別	雄			
用量	投与前	投与1日	投与7日	投与14日
0mg/kg	105±46	107±37	97±41	101±33
50mg/kg	108±33	120±37	116±35	121±35
200mg/kg	139±39	64*±92	135±47	123±30
800mg/kg	99±37	31*±17	111±22	102±41
性別	雌			
用量	投与前	投与1日	投与7日	投与14日
0mg/kg	125±43	136±31	151±48	143±34
50mg/kg	122±36	111±28	127±32	130±24
200mg/kg	130±42	72*±29	132±36	135±34
800mg/kg	127±29	37*±23	123±38	134±36

*: P<0.01 (Dunn's Rank Sum test)

*: P<0.01 (Dunnett's test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

60 分間セッションの測定値では、初回試験の投与 1 日の運動量において、800mg/kg 群雌雄で有意な低下が認められた。この影響は対照群に慣れが生じる前の運動量が最も高かった時期である最初の 10 分間に最も顕著に認められた。200mg/kg 群では最初の 10 分間では統計学的に有意な減少が認められたが、60 分間セッションの試験期間全体では影響は認められなかった。50mg/kg 群では雌雄ともに投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；神経病理学的検査に使用する各群 6 匹の動物について灌流固定後、外表、神経組織および骨格筋を肉眼的に検査した。各群の灌流しなかった残りの動物についても、深麻酔後、放血致死させ、開口部、体腔および外表を肉眼的に検査した。いずれの投与群にも、対照群との間に差は認められず、したがって、投与に関連した影響は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に各群雌雄各 6 匹を対象に、ヘパリンナトリウム (60mg/kg) を腹腔内注射しイソフルラン吸入で深麻酔した後、リン酸緩衝液で灌流後、1%グルタルアルデヒドと 4%ホルムアルデヒドのリン酸緩衝液からなる固定液を用いて灌流固定した。以下の組織を灌流と同じ固定液で後固定した。

脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、頸膨大および腰膨大からの後根神経節および脊髄神経根、両眼、視神経、末梢神経（坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経）、ガッセル神経節、腓腹筋、神経組織や骨格筋における肉眼的異常部位。

灌流した動物の脳は後固定後重量を測定した。

高用量群および対照群について、病理標本を作製し、検鏡した。

以下の組織はパラフィン包埋し、H.E 染色法で染色した。

脳の冠状 8 部位（嗅球、大脳皮質、尾状核被殻、海馬、視床、視床下部、中脳、小脳、橋および延髄）、脊髄の 3 部位（頸部、胸部および腰部）および腓腹筋の横断および縦断、眼の横断、視神経の縦断。

以下の組織はグリコールメタアクリレートに包埋し、Lee 法で染色した。

頸膨大および腰膨大からの後根神経節（後根および前根線維を含む）およびガッセル神経節の縦断、末梢神経（頸骨神経、腓腹神経および坐骨神経）の縦断面と横断。

病理組織学的検査の結果、検体に関連した所見は 800mg/kg 群雌雄ともに認められな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

かった。

以上の結果から、800mg/kg雌雄に体重増加の抑制、死亡(雌)、機能観察総合検査では立毛、筋緊張の低下、多呼吸、覚醒の低下、振戦、ミオクローヌス反射、咀嚼、唇を繰り返しなめる(雌)、協調運動失調性歩行、腹臥位、円背位(雌)、立ち上がり回数の減少、散瞳、正向反射の協調失調ないし遅延、屈筋反射の異常、尾挟縮反応の異常(雌)、冷感および直腸温低下、運動量の低下が認められた。200mg/kg群では立毛、多呼吸、振戦、歩行異常(雌)、散瞳、覚醒の低下および正向反射の協調失調ないし遅延(雄)、運動量の低下が認められた。50mg/kg群では立毛および散瞳(雌)が認められたことから、無毒性量は雌雄とも35mg/kgであると判断される。本検体による肉眼的病変および病理組織学的所見は最高用量の800mg/kgでも雌雄ともに認められなかった。

[申請者追記]

[申請者追記]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

(資料 No. 原体-8)

13 生産第 3986 号「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知) の運用についての「4. 試験成績の除外について」

(2) ⑧のイの規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・有効成分がリン酸エステル系で、かつコリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(6)90日間反復経口投与毒性

1)ラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 原体-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009年

検体純度：

試験動物：ウィスター (Rj:WI)系ラット、

主群；1群雌雄各10匹

回復群[90日間投与後28日間の回復期間](0, 2500ppm)；1群雌雄各10匹

試験開始時：雄 約6～7週齢(体重206～235g)

雌 約6～7週齢(体重158～187g)

投与期間：90日間(2008年2月22日投与開始～2008年5月26～28日主群最終屠殺

6月24～25日回復群最終屠殺)

投与方法：検体を0、100、500及び2500ppmの用量で飼料中に混合し90日間投与した。

その後0及び2500ppm群については認められた毒性の回復性を確認するため、検体を混入していない調製飼料を28日間投与した。

投与用量設定の根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；生死を少なくとも1日2回(週末と休日は1回)、一般状態の変化を1日1回観察した。個々の動物の詳細な観察を毎週1回実施した。

死亡例は認められなかった。また、投与に関連した一般状態の変化はいずれの投与群においても認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

神経学的検査；12～13週目に主群の全生存動物を対象にして以下の神経学的検査を実施した。

自発運動量：個々の動物について自動フォトセル記録装置を用いて15分間隔で90分間記録した。

いずれの用量においても雌雄ともに投与に関連する運動量の変化は認められなかった。さらに投与群における自発運動量の経時的パターンは対照群と同様であった。

オープンフィールドでの観察；個々の動物について、歩行、姿勢、間代性または強直性運動、常同行動（過度の身繕い、反復旋回など）、異常行動（自傷行動、後ずさりなど）およびその他の神経学的変化を記録した。

いずれの用量においても雌雄ともに投与に関連する行動の変化は認められなかった。

感覚反応；瞳孔反射、正向反射、角膜反射、屈筋反射、聴覚性驚愕反応、尾挟締反応を記録した。

いずれの用量においても雌雄ともに投与に関連する感覚反応の変化は認められなかった。

握力；握力計を用いて個々の動物の前肢および後肢の握力をそれぞれ3回測定した。

いずれの用量においても雌雄ともに投与に関連する握力の変化は認められなかった。

体重（図1a, 図1b, 図1c）；投与開始前、投与期間および回復期間中は毎週1回、剖検前に測定した。

試験期間を通して2500ppm群雌雄ともに対照群と比較して統計学的に有意な低下（ $p \leq 0.05$ または $p \leq 0.01$ 、Dunnett's または Dunn's Rank Sum 検定）が認められた。体重増加量の統計学的に有意な減少は雌では最初の週（ $p \leq 0.01$ 、Dunnett's 検定）に認められたのみであったが、雄では試験57日（ $p \leq 0.05$ 、Dunnett's 検定）にも認められ、投与終了時の総体重増加量は雄では対照群より12%（ $p \leq 0.05$ 、Dunnett's 検定）、雌で15%（ $p \leq 0.01$ 、Dunnett's 検定）減少した。500ppm群では雌において統計学的に有意な体重増加量の減少が最初の週（ $p \leq 0.05$ 、Dunnett's 検定）と最後の週（ $p \leq 0.05$ 、Dunnett's 検定）に認められ、投与終了時の総体重増加量は対照群より12%減少（ $p \leq 0.05$ 、Dunnett's 検定）した。500ppm群におけるこの体重への影響は評価した他の項目に影響が認められなかったことから有害な影響とはみなさなかった。

500ppm群雄および100ppm群雌雄では投与による変化は認められなかった。

また、回復期間中は雌雄ともに対照群と比較して統計学的な有意差がないものの低下したままであったが、回復傾向にあった。

図1a 体重(主群) 雄

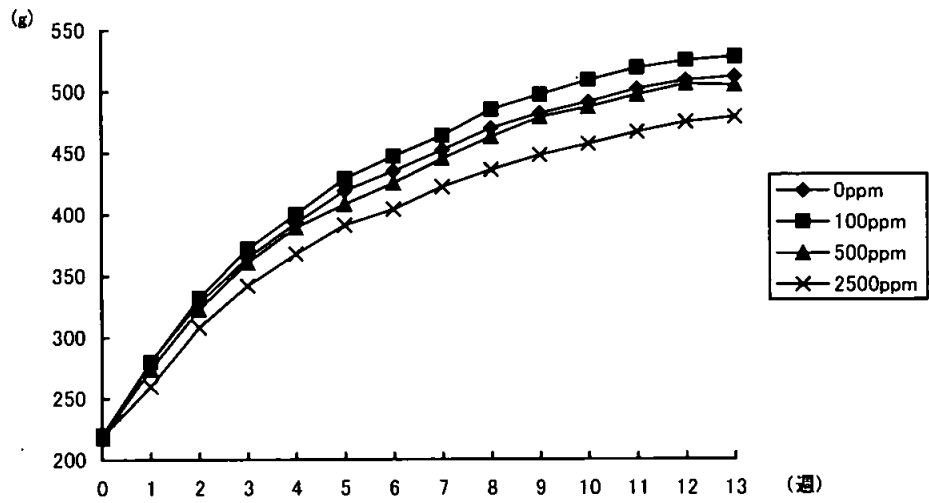


図1b 体重(主群) 雌

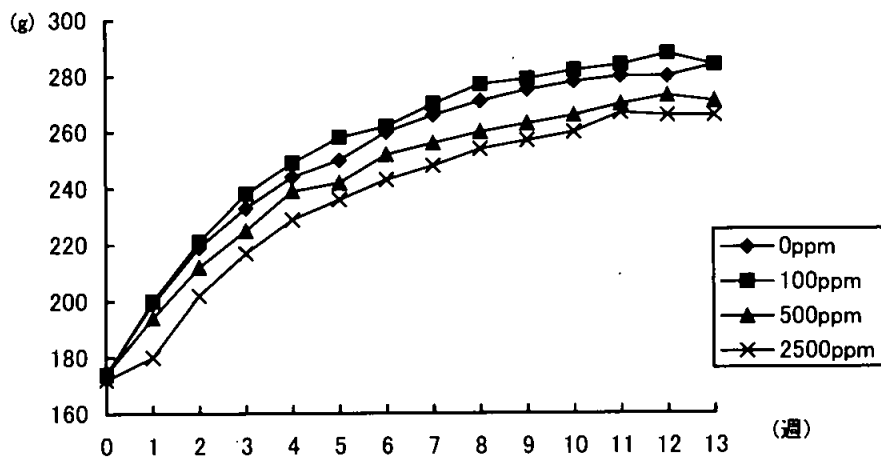
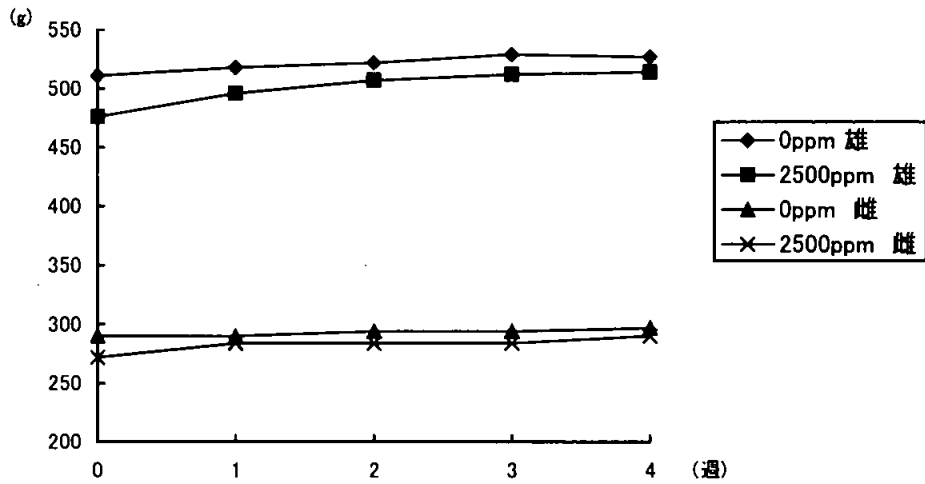


図 1c 体重(回復群)



摂餌量；投与期間の最初の6週間は週に2回、その後の投与期間と回復期間中は週に1回測定した。

2500ppm群雌雄において、対照群と比較して統計学的に有意な摂餌量の低下が数回認められた。500および100ppm群、ならびに回復群では雌雄いずれも投与による摂餌量の変化は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

表 1 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		100	500	2500
検体摂取量	雄	6.0	30.2	156
	雌	7.6	38.3	186

検体濃度分析；試験13週目に各群雌雄各5匹（絶食しない）を対象として、舌下静脈から採血し、検体濃度を測定した。

表 2 血漿中の検体濃度 (mg/L)

投与量 (ppm)		0	100	500	2500
検体濃度	雄	<LLOQ	1.45	7.07	22.3
	雌	<LLOQ	1.83	10.0	39.0

LLOQ：定量限界 0.025 mg/L 未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検体濃度は投与量に関連して増加した。雄より雌のほうがやや高かった。

血液学的検査；計画屠殺日、試験 95、96 または 97 日（主群）、回復 30 または 31 日（回復群）に全生存動物を対象として、麻酔下で、一晚絶食させた動物の眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目について測定又は算定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、プロトロンビン時間、白血球分画、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積、網状赤血球数。

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。

表 3 血液学的検査

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	500	2500	100	500	2500
血小板						↑ 115
好中球数					↓ 71	

↑ ↓ : $p < 0.05$ (Anova + Dunnett's test)

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。

2500 ppm 群雌で血小板数の増加が認められた。500 ppm 群雌で認められた好中球数の低下は用量関連性がないことから偶発的なもので投与による影響とは考えられなかった。雄の 2500 および 500 ppm 群、雌雄の 100 ppm 群ならびに雌雄の回復群では投与による変化は認められなかった。したがって、雌の 2500 ppm 群で認められた血小板数の増加は可逆的なものであると考えられた。

血液生化学検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。血漿および血清の外観に有意な変化があれば記載した。

酵素/アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ。
電解質/塩素(Cl)、カルシウム(Ca)、無機リン(Phos)、カリウム(K)、ナトリウム。
その他/アルブミン(Alb)、総ビリルビン(T. Bil)、総コレステロール(T. Chol)、クレアチニン(Crea)、総蛋白(TP)、トリグリセリド(TG)、尿素、グルコース(Glu)。

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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 4 血液生化学的検査

性別	雄				雌			
	主群			回復群	主群			回復群
	100	500	2500	2500	100	500	2500	2500
K							↑ 109	
Cl							↓ 98	
Ca							↑ 104	↓ 98
Phos							↑ 113	↑ 112
T. Bil			↓ 62				↓ 55	↓ 75
Glu			↓ 79				↓ 78	
T. Chol			128				↑ 146	
TG			135				166	
Crea								↓ 93
TP								↓ 96
Alb								↓ 95

↑ ↓ : p<0.05 (主群 : Anova + Dunnett's test または Kruskal-Wallis + Dunn's Rank Sum, 回復群 : F-test + T-test)

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。

2500 ppm 群雌雄において、総ビリルビンおよびグルコースが統計学的に有意に減少し、総コレステロールおよびトリグリセリド (有意差なし) がわずかに増加した。この他に認められた統計学的な有意差は変動幅が小さいことから投与による変化とは考えられなかった。500 および 100 ppm 群の雌雄では対照群と比較して統計学的な有意差は認められなかった。

回復群では、2500 ppm 群雌の総ビリルビンが依然として対照群より統計学的に有意に低下していた。この他認められた有意差は、投与期間中には変化が認められなかったこと (Crea, T. Pro, Alb)、変化に一貫性が認められないこと (Ca)、または投与期間中の対照群とほぼ同じ値 (Phos) であったことから、投与に関連のある変化とはみなさなかった。なお、主群で認められたグルコースの減少、コレステロールおよびトリグリセリドの増加は回復群で認められなかったことから、これらの変化は可逆的なものと考えられた。

[申請者追記]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

尿検査；試験 90 または 91 日（主群）、回復 26 日（回復群）に全生存動物を対象として、一晚採尿し、以下の項目を検査した。

外観、血液/赤血球、ビリルビン、グルコース、ケトン体、pH、蛋白、沈渣、ウロビリノーゲン、比重/浸透圧/屈折率、尿量。

主群および回復群のいずれにおいても対照群と比較して有意差は認められなかった。

眼科学的検査；全群の全動物を対象に、投与開始前(週 0)、投与終了時(13 週)に実施した。

投与による眼に対する影響は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に主群の全動物を、また回復期間終了時に回復群の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、心臓、脾臓、胸腺、精巣上体、前立腺、腎臓、卵巣、精巣、子宮、副腎、甲状腺、脳、脳下垂体。

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。

表 5 臓器重量

性別		雄				雌			
検査時期		主群			回復群	主群			回復群
投与量 (ppm)		100	500	2500	2500	100	500	2500	2500
最終体重								↓ 94	
肝臓	実重量								
	対体重比			↑ 116				↑ 115	
	対脳重比								
甲状腺	実重量								
	対体重比		↑ 120	↑ 126					
	対脳重比								
心臓	実重量							↓ 90	
	対体重比								
	対脳重比								
腎臓	実重量							↓ 91	
	対体重比								
	脳重比								
下垂体	実重量				↓ 89				↓ 83
	対体重比								
	脳重比				↓ 90				
脳	実重量								↓ 89
	対体重比								
	脳重比								
卵巣	実重量								↑ 118
	対体重比								↑ 121
	脳重比								↑ 123

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (主群 : Anova + Dunnett's test、回復群 : F-test + T-test)
 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。

2500ppm 群雌雄の肝の対体重比、同群雄の甲状腺の対体重比が増加した。実重量では統計学的な有意差が認められなかったが、病理組織学的所見を伴っていることから、投与による変化と考えられた。これらの変化は回復群では認められなかったことから、可逆的なものと考えられた。500 ppm 群雄の甲状腺の対体重比の増加は対応する病理組織学的変化が認められなかったため、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。その他散見された有意差は偶発的なもので、投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

肉眼的病理検査；投与終了時に主群の全動物を、また回復期間終了時に回復群の全動物を、深
麻酔（イソフルラン吸入）下で放血致死させ、外表、全開口部、主要臓器・組織およ
び体腔の肉眼的病理検査を実施した。

2500 ppm 群雄 4 匹、雌 1 匹に肝肥大、同群雄 1 匹の甲状腺に暗色化が認められた。

この他の主群および回復群ともに特記すべき臓器の変化は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物から以下の臓器を採取して、10%緩衝ホルマリン液中に固定した。

眼、視神経、ハーダー腺、精巣上体および精巣は Davidson 液に固定した。

消化器系 盲腸、結腸、十二指腸、食道、回腸、空腸、肝臓、膵臓、直腸、唾液腺、胃、
舌。

呼吸器系 喉頭*、鼻腔*、咽頭*、肺、気管。

心臓血管/血液系 大動脈、骨髄/胸骨、心臓、顎下リンパ節、腸管膜リンパ節、脾臓、
胸腺。

泌尿生殖器系 子宮頸部、精巣上体、腎臓、乳腺、卵巣、前立腺、精囊、精巣、膀胱、
子宮、膣。

腺 副腎、外涙腺*、上皮小体、甲状腺、ハーダー腺。

神経系 脳、視神経、坐骨神経、脳下垂体、脊髄、眼。

その他 胸骨、関節面（大腿骨/頸骨）、骨格筋、皮膚、肉眼的病変部および腫瘤。

主群；

対照群および 2500 ppm 群については、全動物の上記臓器をパラフィン包埋した後、切片を作
成し、ヘマトキシリンおよびエオジン(H&E)で染色し、検鏡した。中間用量の全動物について、
肝臓、腎臓、肺、甲状腺および肉眼的病変部から病理標本を作製し、検鏡した。* 印の臓器に
ついては保存をしたが、病理標本は作製しなかった。また、大腿骨骨髄塗抹標本を作製したが
検査はしなかった。

回復群；

全群の全動物について、肝臓、腎臓、肺、甲状腺および肉眼的病変部のみを主群と同様の処理
をした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

主要な病理組織学的所見は表に示した。

表 6 主要な病理組織学的所見

性別		雄						
群		主群				回復群		
投与群 (ppm)		0	100	500	2500	0	2500	
臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大 軽微	0	0	0	6	0	0	
		軽度	0	0	0	4	0	0
		合計	0	0	0	10***	0	0
甲状腺	びまん性濾胞細胞肥大	軽微	0	0	0	3	0	0
		合計	0	0	0	3	0	0

性別		雌						
群		主群				回復群		
投与群 (ppm)		0	100	500	2500	0	2500	
臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大 軽微	0	0	0	3	0	0	
		軽度	0	0	0	0	0	0
		合計	0	0	0	3	0	0
甲状腺	びまん性濾胞細胞肥大	軽微	0	0	0	0	0	0
		合計	0	0	0	0	0	0

*** : $p < 0.001$ (Fisher 検定) 申請者が実施した。

2500 ppm 群雌雄の肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。また、雄では甲状腺に軽微な濾胞細胞肥大が認められた。回復群ではいずれの所見も認められなかったことから、これらの所見は可逆的なものと考えられた。

[申請者追記]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

以上の結果、本試験における検体の影響として、2500ppm 群雌雄では体重増加抑制、摂餌量の減少、総コレステロールおよびトリグリセリドの増加、肝臓の対体重比の増加および肝肥大がみられ、病理組織学的検査では肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。雄のみでは甲状腺において、対体重比重量が増加し、病理組織学的検査では濾胞細胞肥大が認められた。雌のみでは血小板の増加が認められた。

したがって、本試験における無毒性量は、雌雄とも 500ppm (雄 30.2mg/kg 体重/日, 雌 38.3mg/kg 体重/日) であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2) マウスを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 原体-10)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

検体純度:

試験動物: C57BL/6J 系マウス、

1 群雌雄各 10 匹

試験開始時: 雄 6 週齢 (体重 18.9~21.9g)

雌 6 週齢 (体重 12.9~17.9g)

投与期間: 90 日間(2008 年 3 月 17 日~2008 年 6 月 18 日)

投与方法: 検体を 0、100、500 及び 2500ppm の用量で飼料中に混合し 90 日間投与した。

投与用量設定の根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般症状及び死亡率; 生死を少なくとも 1 日 2 回 (週末と休日は 1 回)、一般状態の変化を 1 日 1 回観察した。個々の動物の詳細な観察を毎週 1 回実施した。

投与に関連する死亡および一般状態の変化は認められなかった。500 ppm 群雌 1 匹を途中屠殺したが、剖検で食道の拡張と裂傷、胸腔内に餌の内容物、副腎の肥大、肝臓の暗色化などが認められたことから、食道嵌入が起こりその後裂傷と広範囲に局所的炎症がおこって死亡したと考えられ、偶発的なものと考えられた。

体重(図 1 a, 図 1 b); 投与開始時、投与期間中は毎週 1 回、剖検前に測定した。

試験期間を通して 2500 ppm 群雌雄ともに対照群と比較して統計学的に有意な低下 ($p \leq 0.05$ または $p \leq 0.01$ 、Dunnett's または Dunn's Rank Sum 検定) が認められた。対照

群と比較して統計学的に有意な体重増加量の減少は雄では1~22日まで、雌では試験1~8日に認められた。投与終了時の総体重増加量は雄では対照群より43% ($p \leq 0.01$, Dunnett's 検定)、雌で7%減少した。

500ppm ($p \leq 0.01$, Dunnett's 検定) および 100ppm 群 ($p \leq 0.05$, Dunnett's 検定) では雄において対照群と比較して統計学的に有意な体重増加量の減少が1~8日に認められた。[申請者追記] しかしながら、平均体重は、8日の測定時も含め全期間で対照群と比較して統計学的に有意な低下を示さなかった。したがって、両群で認められた8日の有意な体重増加量の減少はわずかであり、有害な影響と考えなかった。

雌の500ppm および 100ppm 群では投与による変化は認められなかった。

図1a 体重 雄

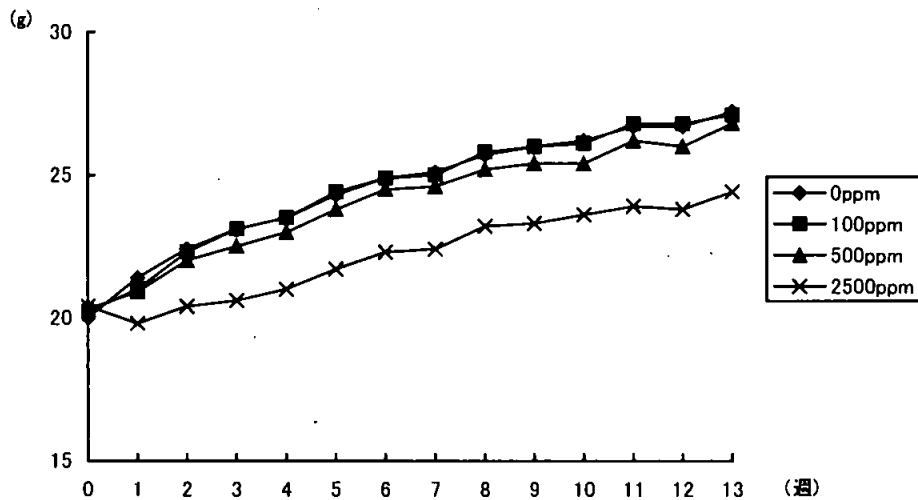
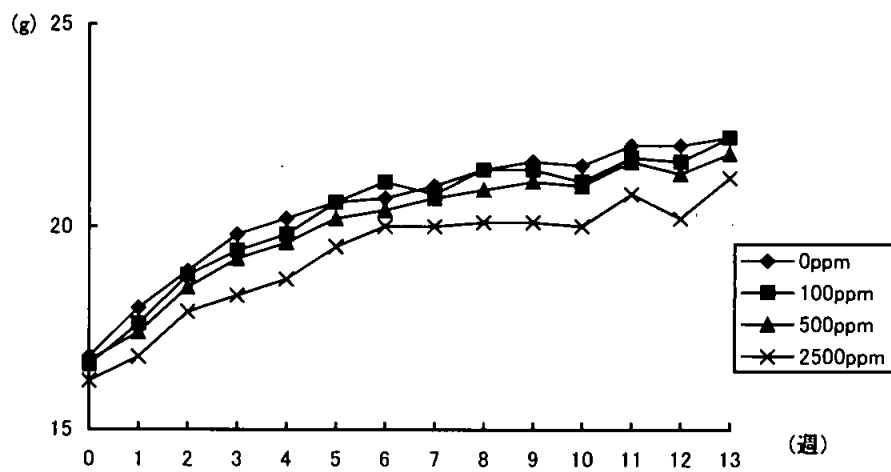


図1b 体重 雌



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

摂餌量；投与期間中、週に1回測定した。

2500 ppm 群において、雌では対照群と比較して統計学的に有意な摂餌量の低下が1～22日に認められたが、雄では認められなかった。500 および 100ppm 群雌雄では投与による摂餌量の変化は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

表 1 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		100	500	2500
検体摂取量	雄	15.6	80.6	407
	雌	18.8	98.1	473

検体濃度分析；試験 12 週目に各群雌雄各 5 匹（絶食しない）を対象として、眼窩後静脈叢から採血し、検体濃度を測定した。

表 2 血漿中の検体濃度 (mg/L)

投与量 (ppm)		0	100	500	2500
検体濃度	雄	<LLOQ	1.94	10.8	42.8
	雌	<LLOQ	1.23	8.72	34.0

LLOQ：定量限界 0.025 mg/L 未満

検体濃度は投与量に関連して増加した。雌より雄のほうがやや高かった。

血液生化学的検査；計画屠殺日（試験 93、94 または 95 日）に全群の全生存動物を対象として、麻酔下で、一晚絶食させた動物の眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目について測定した。血漿の外観に有意な変化があれば記載した。

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

その他/アルブミン (Alb)、総ビリルビン、総コレステロール (T. Chol)、クレアチニン、総蛋白 (TP)、尿素 (Ure)。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3 血液生化学的検査

性別	雄			雌		
	100	500	2500	100	500	2500
投与量 (ppm)						
ALT						↑ 206
AST						136
ALP			↑ 138			
Ure			↑ 151			↑ 119
TP			↓ 95			↓ 95
Alb						↓ 92
T. Chol			↓ 70			↓ 76

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Anova + Dunnett's test)

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。

2500ppm 群雌でアラニンアミノトランスフェラーゼおよびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (統計学的有意差なし) の増加、雄でアルカリホスファターゼの増加、雌雄に尿素の増加、コレステロールおよび総蛋白の減少が認められ、加えて雌のみにアルブミンのわずかな減少が認められた。500ppm および 100ppm 群では雌雄いずれにおいても対照群と比較して統計学的な有意差は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、心臓、脾臓、胸腺、腎臓、精巣、子宮、副腎、脳。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

表 4 臓器重量

性別	雄			雌		
	100	500	2500	100	500	2500
投与量 (ppm)						
最終体重			↓ 89			96
肝臓	実重量					↑ 112
	対体重比		↑ 120			↑ 118
	対脳重比					↑ 113
腎臓	実重量		↓ 89			
	対体重比					
	対脳重比		↓ 89			

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Anova + Dunnett's test)

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(続き)

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	500	2500	100	500	2500
最終体重				↓89			96
胸腺	実重量						
	対体重比			↑120			
	対脳重比						
脳	実重量						
	対体重比			↑112			
	対脳重比						

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Anova + Dunnett's test)

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。

2500 ppm 群雌では肝の実重量および比重量ともに対照群と比較して増加した。雄でも対体重比の増加が認められたが、実重量に有意差が認められないことから最終体重の低下によるものと考えられた。また、雄では腎臓の実重量および対脳比の減少が認められた。この他の変化は偶発的なもので投与による影響とは考えられなかった。500ppm および 100ppm 群では雌雄いずれにおいても対照群と比較して統計学的な有意差は認められなかった。

[申請者追記]

肉眼的病理検査；投与終了時に全群の全生存動物を深麻酔（イソフルラン吸入）下で放血致死させ、臓器・組織および体腔について肉眼的病理検査を実施した。

2500ppm 群雌 4 匹の肝臓に退色化が認められた。

この他、特記すべき臓器の変化は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物から以下の臓器を採取して、10%緩衝ホルマリン液中に固定した。

眼、視神経、ハーダー腺、精巣上体および精巣は Davidson 液に固定した。

消化器系 盲腸、結腸、十二指腸、食道、回腸、空腸、肝臓、胆嚢、膵臓、直腸、唾液腺、胃、舌。

呼吸器系 喉頭*、鼻腔*、咽頭*、肺、気管。

心臓血管/血液系 大動脈、骨髄/胸骨、心臓、顎下リンパ節、腸管膜リンパ節、脾臓、胸腺。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

泌尿生殖器系 子宮頸部、精巣上部、腎臓、乳腺、卵巣、前立腺、精嚢、精巣、膀胱、子宮、膣。

腺 副腎、外涙腺*、上皮小体、甲状腺、ハーダー腺。

神経系 脳、視神経、坐骨神経、脳下垂体、脊髄（頸部、胸部、腰部）、眼。

その他 胸骨、関節面（大腿骨/頸骨）、骨格筋、皮膚、肉眼的病変部および腫瘤。

全動物の上記臓器をパラフィン包埋した後、対照群および2500ppm群については切片を作成し、ヘマトキシリン及びエオジン(H&E)で染色し、検鏡した。中間用量については全動物から、肝臓、腎臓、肺、甲状腺および肉眼的病変部から病理標本を作製し、検鏡した。* 印の臓器については保存をしたが、病理標本は作製しなかった。また、大腿骨骨髓塗抹標本を作製したが検査はしなかった。

主要な病理組織学的所見は表に示した。

表5 主要な病理組織学的所見

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	100	500	2500	0	100	500	2500	
臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
肝臓	びまん性肝細胞空胞化	軽微	6	3	8	0	7	7	6	2
		軽度	4	7	2	6	3	3	3	3
		中等度	0	0	0	4	0	0	0	5
		合計	10	10	10	10	10	10	9	10
腎臓	皮質上皮空胞化	軽微	7	4	5	0	0	0	0	0
		軽度	3	2	3	0	0	0	0	0
		中等度	0	2	0	0	0	0	0	0
		合計	10	8	8	0**	0	0	0	0

** : p<0.01 (Fisher 検定) 申請者が実施した。

2500ppm群雌雄の肝臓ではびまん性肝細胞空胞化の症状の程度がわずかに上昇した。また、雄では腎臓の皮質上皮空胞化の消失が認められた。この他の投与群では雌雄いずれにおいても投与に関連した変化は認められなかった。

[申請者追記]

以上の結果、本試験における検体の影響として、2500ppm群雌雄では体重増加抑制、総コレステ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ロールおよび総蛋白の減少、尿素の増加、肝臓の肝細胞空胞化の程度の上昇が見られた。また、雄のみにアルカリホスファターゼ活性の上昇、雌のみでは摂餌量の減少、アラニンアミノトランスフェラーゼおよびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの増加、アルブミンの減少、肝臓の重量増加が認められた。

したがって、本試験においては雄の無毒性量 (NOAEL) は雌雄ともに 500ppm (雄 : 80.6mg/kg 体重/日、雌 : 98.1mg/kg 体重/日) であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3) イヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 原体-11)

試験機関:

報告書作成年: 2010 年

検体純度:

試験動物: ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、投与開始時 雄: 7~8 ヶ月齢 雌: 8 ヶ月齢

体重 雄: 7.9~9.8kg、雌: 6.0~7.7kg

投与期間: 90 日間 (2009 年 4 月 14 日投与開始~2009 年 7 月 15 日最終屠殺)

投与方法: 検体を 0、400、1200 及び 3600 (9 週以降 2400ppm に変更した。以下 3600ppm と表記した。) ppm の用量で飼料中に混合し 90 日間投与した。

投与用量設定の根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般症状及び死亡率; 一般状態の変化を 1 日 2 回 (週末と休日は 1 回) 観察した。個々の動物の詳細な観察を毎週 1 回実施した。

死亡動物は認められなかった。3600ppm 群において、雄 1 匹で試験 44、53 および 54 日に、雌 1 匹で試験 44 日に、不安定で後肢が硬直し腰部が下がった状態が認められた。

[申請者追記] 不安定とは 4 本の足で立つと不安定な状態で正常な状態で立っていることが難しい状態のことを示す。

体重: 週に 1 回および剖検前に体重を測定した。3600 ppm 群雌雄において、投与に関連する体重減少が認められたので、試験 9 週から 2400 ppm に濃度を下げた。雌雄いずれも体重増加に回復傾向が認められたが、投与終了時においても対照群との差は依然として著明で雌では初体重とほぼ同等、雄では初体重にまで回復しなかった (0~84 日の体重増加量雌雄ともに $p \leq 0.05$)。1200ppm 群雄においても体重増加抑制が認められた ($p \leq 0.05$)。

図1a 体重 雄

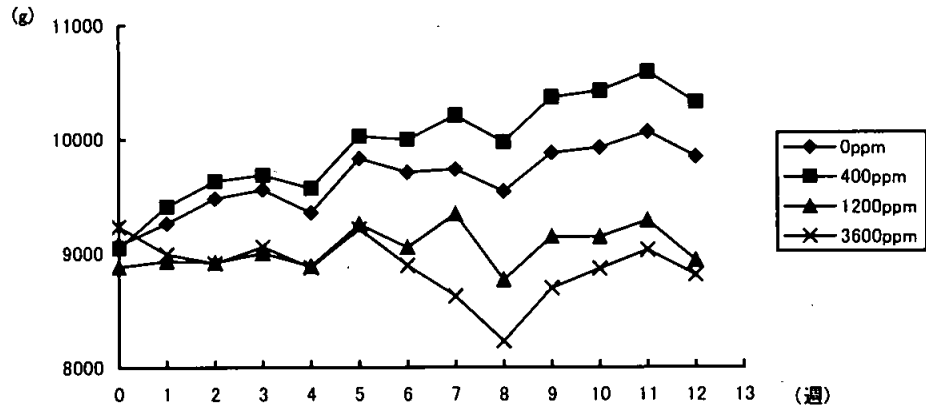
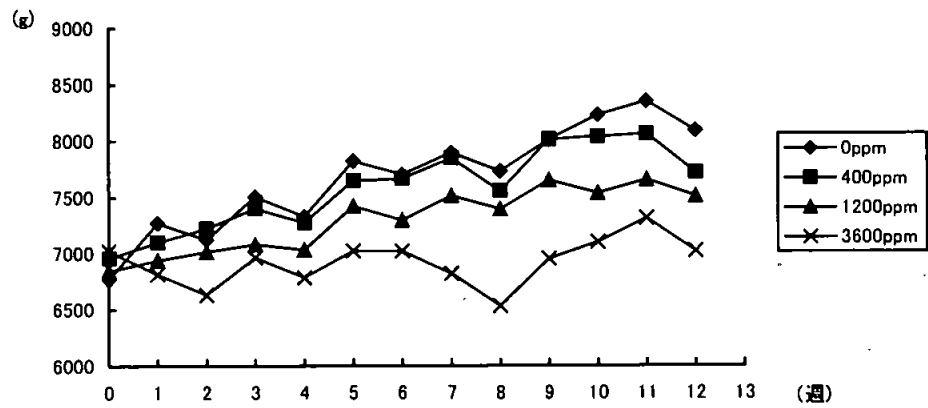


図1b 体重 雌



摂餌量：摂餌量は毎日測定した。

3600 ppm 群雌雄および 1200ppm 群雌に最初の 7 日～10 日間対照群と比較して統計学的に有意な摂餌量の減少がみられた。3600ppm 群雌ではその後も有意な減少が時折認められた[申請者追記]。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次頁の通りであった。

表 1 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		400	1200	3600/2400
検体摂取量	雄	12	33	102/85
	雌	12	41	107/78

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液学的検査；投与開始前、投与5、9及び13週に一晚絶食させた動物の血液を頸静脈から採血し、以下の項目について測定を行った。

赤血球数(RBC)、ヘマトクリット(Ht)、ヘモグロビン(Hb)、白血球数および白血球分画、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球色素濃度、血小板数、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間、網状赤血球数(Retic)、赤血球形態、赤血球サイズ分布幅(RDW)および色素濃度分布幅(HDW)。

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。

表2 血液学的検査

性別		雄								
		400			1200			3600		
投与量(ppm)										
検査時期(週)		5	9	13	5	9	13	5	9	13
RBC								95	91	95
Hb								↓91	↓87	
Ht								↓90	↓86	↓91
MCV					↓96			↓95	↓95	↓95
RDW										↑106
HDW		↑108			↑110		↑109	↑117		↑113
白血球分画	Baso %		↑220	↑183						
	Baso x10 ³ /mm ³		↑250							
	Lymph %									↓75
	LUC %			↑180						

Baso:好塩基球、Lymph:リンパ球、LUC:大型非染色細胞

↑↓: p<0.05 (Anova+Student's t-test)

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別		雌								
投与量 (ppm)		400			1200			3600		
検査時期(週)		5	9	13	5	9	13	5	9	13
RBC						↓ 93			↓ 84	
Hb									↓ 79	
Ht									↓ 71	
MCH									↓ 95	
PT		↓ 90	↓ 88	↓ 91				↓ 88	↓ 88	↓ 90
RDW		↑ 108	↑ 108						↓ 93	
HDW		↑ 110		↑ 107	↑ 108			↑ 112		↑ 116
Retic%			↑ 180							
白血球 分画	Mono x10 ³ /mm ³	↑ 129						↑ 160	↑ 158	
	Lymph x10 ³ /mm ³			↓ 86		↓ 78	↓ 76		↓ 79	

Mono: 単球、Lymph: リンパ球

↑ ↓ : p<0.05 (Anova+Student's t-test)

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。

3600ppm 群雌雄の RBC、Hb、Ht、MCV ないし MCH に減少が認められ投与に関連する変化と考えられた。1200ppm 群雌の 9 週目の RBC の統計学的に有意な減少は同時に Hb および Ht に有意な減少が認められなかったため投与による変化とは考えられなかった。

その他散見された有意差は、用量関連性がなく偶発的なもので投与による変化とは考えられなかった。

血液生化学的検査;血液学的検査と同時期に採血した血液を用いて以下の項目について測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、γ-グルタミルトランスぺプチターゼ (GGT)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、乳酸脱水素酵素、総蛋白質 (TP)、アルブミン、総ビリルビン、尿素窒素、総コレステロール (T. Chol)、クレアチニン (Crea)、グロブリン (Glob)、グルコース (Glu)、トリグリセリド (TG)、尿酸、リン、カルシウム (Ca)、ナトリウム (Na)、カリウム、塩素、アルブミン/グロブリン比 (A : G)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

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。

表 3 血液生化学的検査

性別	雄								
	400			1200			3600		
投与量 (ppm)									
検査時期 (週)	5	9	13	5	9	13	5	9	13
Crea								↓ 80	
CPK					1171	119		1217	93
AST					634	109		700	123
ALT					737	139		1037	155
Glob		↓ 88							

性別	雌								
	400			1200			3600		
投与量 (ppm)									
検査時期 (週)	5	9	13	5	9	13	5	9	13
TP		↑ 105						↑ 111	
T. Chol							↑ 148		
TG	↑ 158								
Glu								↑ 124	
Crea								↓ 78	
CPK		↓ 62			545	67		↑ 1715	105
AST	↓ 80	↓ 74			↑ 310	83		↑ 881	88
ALT					↑ 539	128		↑ 1971	124
GGT									↓ 50
Ca								↑ 106	
Na									↓ 98
Glob								↑ 127	
A : G								↓ 80	

↑ ↓ : p<0.05 (Anova+Student's test)

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。

3600 ppm 群および 1200 ppm 群雌雄において、9 週目にクレアチンホスホキナーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼおよびアラニンアミノトランスフェラーゼの投与に関連した増加が認められた。これら酵素の増加と一般状態の変化との間に関連性は認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

られなかった。なお、いずれの酵素も 13 週目では対照群と同等であった。

3600 ppm 群で認められた上記以外の変化は、投与前の数値と同等である（雄：Crea、雌：Glu、Crea、Na、GGT）あるいは経時的な一貫性がなく関連する項目に変化がみられない（雌：TP、T.Chol、Ca、Glob、A:G）ことから、投与に関連するものではないと考えられた。

400 ppm 群で認められた変化は用量関連性がないことから偶発的なものと考えられた。

尿検査；投与開始前、投与 5、9 および 13 週に採尿し、以下の項目について測定を行った。

ビリルビン、グルコース、ケトン(Ket)、白血球、尿沈査、潜血(Bld)、蛋白質(Pro)、外観、尿量、比重(Sp. Gr)、pH、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩。

表 4 尿検査

性別	雌								
	400			1200			3600		
投与量(ppm)									
検査時期(週)	5	9	13	5	9	13	5	9	13
Pro*								↓ 0/23	
Ket*								↓ 0/5	
Bld*			↓ 0/1.8			↓ 0/1.8			↓ 0/1.8
Sp. Gr.								↓ 97	

↑ ↓ : p<0.05 (Anova+Student' s test)

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。

*: 投与群検査値/対照群検査値 (対照群を 100 として表せなかったため)。

雄ではいずれの投与群においても対照群と比較して統計学的な有意差は認められなかった。雌において散見された有意差は用量関連性および経時的な一貫性がないことから、投与に関連した変化と考えられなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び試験終了直前に全動物を対象に実施した。

投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量；以下の臓器重量を測定した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓 (胆嚢含む)、肺、卵巣、前立腺、下垂体、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺 (上皮小体含む)、子宮。

表 5 臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		400	1200	3600	400	1200	3600
最終体重				90			86
肝臓	実重量			↑ 114			111
	対体重比			↑ 128			↑ 124
腎臓	実重量						
	対体重比		↑ 118	↑ 131			116
肺	実重量						
	対体重比	↓ 91	↑ 112				
前立腺	実重量			↑ 167			
	対体重比		↑ 155	↑ 188			

↑ ↓ : p<0.05 (Student' s test)

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。

3600 ppm 群雌雄において肝臓の重量増加が認められ、投与による変化と考えられた。また、3600 ppm 群雌雄および 1200 ppm 群雄の腎臓に投与関連性の比重量増加が認められた。3600 および 1200 ppm 群雄にみられた統計学的に有意な前立腺の重量増加は、この時期の供試動物の成熟度による前立腺重量の変動が考えられるため、投与に関連するものではないと考えられた。1200 および 400 ppm 群雄の肺の比重量増加は用量関連性がないことから投与による変化とは考えられなかった。

[申請者追記]3600 ppm 群雌雄および 1200 ppm 群雄で認められた腎臓の比重量増加は、いずれの群においても病理組織学的所見が認められないことから投与による変化とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時、全動物に Fatal-Plus® (Vortech Pharmaceuticals, Dearborn, Michigan) を静脈に注射して動物を安楽死させ、剖検した。

投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物から以下の臓器を採取して、10%緩衝ホルマリン液中に固定した。

眼および視神経は Davidson 液に保存し、精巣および卵巣は Bouin 固定液に保存した。

消化器系 盲腸、結腸、十二指腸、食道、胆嚢、回腸、空腸、肝臓、脾臓、直腸、唾液腺、胃。

呼吸器系 喉頭、鼻腔、肺、気管。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

心臓血管/血液系 大動脈、骨髄、心臓、咽頭後リンパ節、腸管膜リンパ節、脾臓、
胸腺。

泌尿生殖器系 子宮頸部、精巣上体、卵管、腎臓、乳腺、卵巣、前立腺、精巣、尿管、膀
胱、子宮、膾。

腺 副腎、上皮小体、甲状腺。

神経系 脳（小脳、大脳-中脳、髄/橋）、視神経、坐骨神経、脳下垂体、脊髄（頸部、胸
部、腰部）、眼。

その他 肋骨/肋軟骨接合部、胸骨、筋肉、皮膚、肉眼的病変部。

対照群および 3600 ppm 群は全動物の上記臓器をパラフィン包埋した後、切片を作成し、ヘマトキシリン及びエオジン(H&E)で染色し、検鏡した。400 および 1200 ppm 群は肝臓および筋肉について病理組織学的検査を行った。

認められた主な病変を下表に示す。

表 6 主な病理所見

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	400	1200	3600	0	400	1200	3600	
臓器	所見/動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
肝臓	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
	褐色色素沈着/クッパー細胞	0	0	0	0	0	0	0	2	
	間質淡核細胞浸潤	2	2	1	2	3	2	0	3	
	肝細胞グリコーゲン蓄積	4	3	4	3	3	3	4	3	
骨格筋	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
	限局性筋線維萎縮/変性		0	0	2	2	0	0	4*	4*
		軽微	0	0	2	1	0	0	3	4
		軽度	0	0	0	1	0	0	1	0
腎臓	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
	乳頭鉍質沈着	4	4	4	3	4	4	4	4	
	皮質鉍質沈着	0	0	0	0	1	0	0	1	
心臓	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4	
	間質単核細胞浸潤	0			0	0			1	
前立腺	検査動物数	4	0	0	4					
	未成熟	1			0					

* : $p < 0.05$ (Fisher 検定) 申請者が実施

空欄 : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3600 および 1200ppm 群雌雄において骨格筋の筋線維の萎縮/変性が認められた。肝臓では 3600ppm 群雌のクッパー細胞に軽微な褐色色素沈着が認められた。

以上の結果、3600 ppm 群雌雄において一般状態の変化、体重および摂餌量の減少、赤血球、ヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少、クレアチンホスホキナーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼおよびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの増加、肝重量の増加、病理組織学的所見として骨格筋萎縮/変性、肝臓クッパー細胞の褐色色素沈着（雌）が認められた。1200ppm 群雌雄において、体重増加抑制（雄）および摂餌量減少（雄）、クレアチンホスホキナーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼおよびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの増加、病理組織学的所見として骨格筋萎縮/変性が認められた。これらの所見に基づいて、本試験における無毒性量は、400ppm（雌雄 12mg/kg 体重/日）であると判断した。

[申請者追記]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(7)21 日間反復経皮投与毒性

ラットを用いた 4 週間（週 5 日投与）反復経皮投与毒性試験 （資料 No. 原体-12）

本薬についての 21 日間反復経皮投与毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ㊦イの規定にもとづき下記の理由により試験を省略した。

・急性経皮毒性試験の結果から他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い経皮毒性が認められない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(8) 90 日間反復吸入毒性

(資料 No. 原体-13)

13 生産第 3986 号「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知) の運用についての 4. 試験成績の除外について」(2)

⑪のイの規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・ 急性吸入毒性試験の結果から他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い吸入毒性が認められない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 No. 原体-14)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度:

試験動物: ウィスター (Rj:WI)系ラット、

1 群雌雄各 12 匹

試験開始時: 雄 約 7~8 週齢 (群平均体重 294~297g)

雌 約 7~8 週齢 (群平均体重 205~211g)

投与期間: 90 日間 (2009 年 11 月 23 日投与開始~2009 年 2 月 23~26 日最終屠殺)

投与方法: 検体を 0、100、500 及び 2500ppm の用量で飼料中に混合し 90 日間投与した。

投与用量設定の根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般症状及び死亡率; 生死を少なくとも 1 日 2 回 (週末と休日は 1 回)、一般状態の変化を 1 日 1 回観察した。個々の動物の詳細な観察を毎週 1 回実施した。

死亡例は認められなかった。また、投与に関連した一般状態の変化はいずれの投与群においても認められなかった。

体重(図 1 a, 図 1 b); 投与開始前、投与期間中は毎週 1 回および剖検前に測定した。

試験期間を通して 2500ppm 群雌雄ともに対照群と比較して統計学的に有意な低下 (雄: -7~-10%、 $p \leq 0.05$ 、雌: -5~-9%、 $p \leq 0.05$ または $p \leq 0.01$ 、Dunnett's 検定) が認められた。体重増加量は、対照群と比較して、1 週目に雌では増加がみられず ($p \leq 0.01$ 、Dunnett's 検定)、雄では対照群の約 50% ($p \leq 0.01$ 、Dunnett's 検定)であった。その後も対照群を統計学的に有意に下回り、投与終了時の総体重増加量は雄では対照

群より 15%、雌で 21% ($p \leq 0.01$ 、Dunnett's 検定)減少した。

500 および 100ppm 群雌雄では投与による変化は認められなかった。

図 1 a 体重 雄

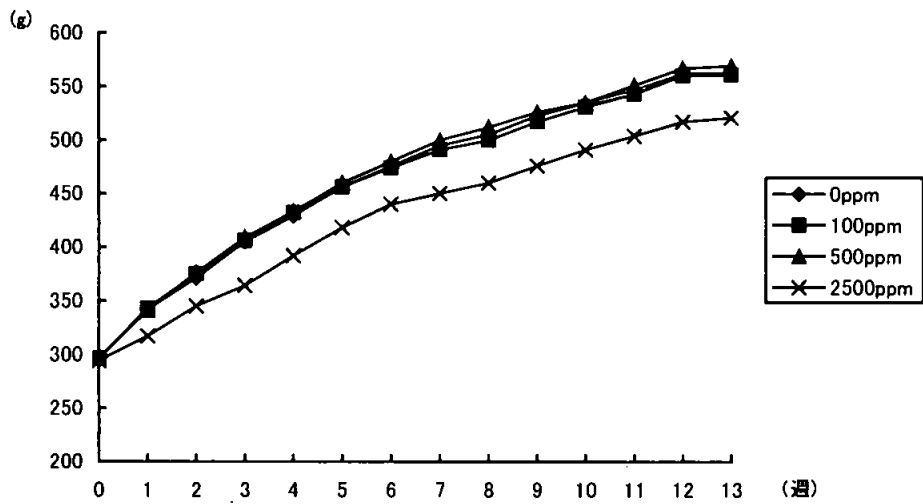
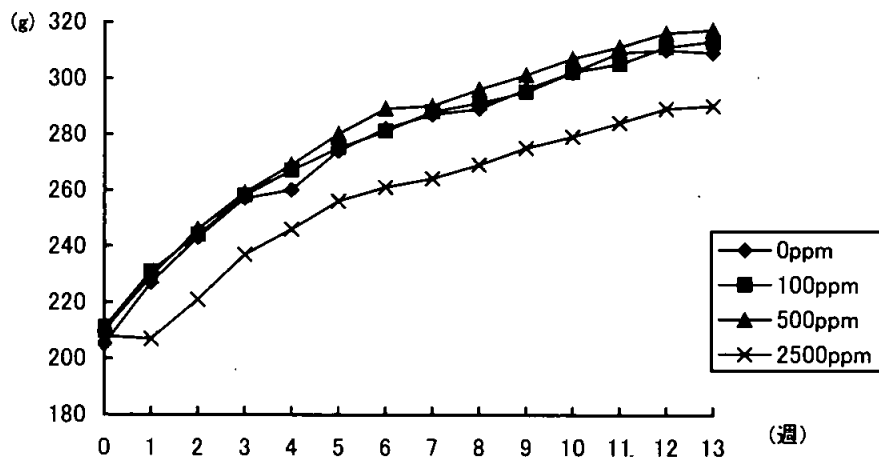


図 1 b 体重 雌



摂餌量；毎週個体毎に摂餌量を測定した。

2500ppm 群雌雄において、対照群と比較して統計学的に有意な摂餌量の低下が認められた。500 および 100ppm 群では雌雄いずれも投与による摂餌量の変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

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。

表1 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量(ppm)		100	500	2500
検体摂取量	雄	5.7	29.4	143
	雌	6.9	34.8	173

神経行動学的検査；試験開始前、試験2、4、8および13または14週目に全生存動物を対象にして一匹ずつ以下の神経学的検査を実施した。

機能観察総合検査；

ホームケージ：姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動、異常発声、その他異常行動

ハンドリング：取り出し易さ、取り扱い時の反応、筋緊張、眼瞼、流涙、流涎、鼻汁、汚れ、脱毛、痩せ、触れた時の体温。

オープンフィールド：立毛、呼吸、覚醒、歩行異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常発声、立ち上がり回数、排便、排尿。

反射および生理学的観察/測定：瞳孔サイズ、瞳孔反射、正向反射、角膜反射、屈筋反射、聴覚驚愕反応、尾挟縮反応、握力、着地開脚幅、体重、体温。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を下表に示す。

表2 機能総合観察検査

性別	雄														
投与量(ppm)	100					500					2500				
検査動物数	12					12					12				
検査時期(週)	Pre	2	4	8	14	Pre	2	4	8	14	Pre	2	4	8	14
体重															90*
前肢握力			116					116							
体温				99*											99*

性別	雌														
投与量(ppm)	100					500					2500				
検査動物数	12					12					12				
検査時期(週)	Pre	2	4	8	14	Pre	2	4	8	14	Pre	2	4	8	14
体重													91*		

*: P<0.05 (Dunnett's 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

2500ppm群雌雄で対照群と比較して体重の低下が認められた。

500および100ppm群雄で認められた前肢握力の増加、2500および100ppm群で認められた体温の低下は、用量関連性がみられず、また、他の時点では観察されなかったため、偶発

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

的なもので投与に関連のない変化と考えられた。

この他の項目では、いずれの時点においても、また、いずれの投与群においても雌雄ともに投与に関連する行動の変化は認められなかった。

運動量；

運動量は、個体別に自動フォトセル装置を用い、60分間のセッションおよび各々10分間のインターバルで評価した。

いずれの用量においても雌雄ともに投与に関連する運動量の変化は認められなかった。さらに投与群における自発運動量の経時的パターンは対照群と同様であった。

眼科学的検査；全群の全動物を対象に、馴化期間中および投与終了時(13週)に実施した。

投与による眼に対する影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；神経病理学的検査に使用する雌雄各6匹の動物について灌流固定後、外表検査と神経病理学的検査をした。有意な肉眼的所見を記録し、神経組織および骨格筋の肉眼的病変部がある場合のみ採取した。灌流しなかった残りの動物は、深麻酔後、放血致死させ、開口部、体腔および体表を肉眼的に検査した。

2500ppm群雌の4/6匹に肝臓の肥大が認められた。2500ppm群雄、500および100ppm群では雌雄いずれも投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に各群雌雄各6匹を対象に、ヘパリンナトリウム(60mg/kg)を腹腔内注射しイソフルラン吸入で深麻酔した後、リン酸緩衝液で灌流後、1%グルタルアルデヒドと4%ホルムアルデヒドのリン酸緩衝液からなる固定液を用いて灌流固定した。以下の組織を灌流と同じ固定液で後固定した。

脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、頸膨大および腰膨大からの後根神経節および脊髄神経根、両眼、視神経、末梢神経(坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経)、ガッセル神経節、腓腹筋、神経組織や骨格筋における肉眼的異常部位。

灌流した動物の脳は後固定後重量を測定した。

高用量群および対照群について、病理標本を作製し、検鏡した。

以下の組織はパラフィン包埋し、H.E染色法で染色した。

脳の冠状8部位(嗅球、大脳皮質、尾状核被殻、海馬、視床、視床下部、中脳、小脳、橋および延髄)、脊髄の3部位(頸部、胸部および腰部)および腓

腹筋の横断および縦断、眼の横断、視神経の縦断。

以下の組織はグリコールメタアクリレートに包埋し、Lee 法で染色した。

頸膨大および腰膨大からの後根神経節（後根および前根線維を含む）およびガッセル神経節の縦断、末梢神経（頸骨神経、腓腹神経および坐骨神経）の縦断面と横断。

表 3. 最終体重および脳重量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	500	2500	100	500	2500
検査動物数		6	6	6	6	6	6
最終体重							93
脳	実重量						
	対体重比						↑ 113

↑ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett' s)

脳の実重量は対照群と比較していずれの用量群においても統計学的有意差は認められなかった。最終体重に対する比重量が 2500ppm 群雌において統計学的に有意に増加したが、最終体重が低値であったことによるもので投与に直接関連した変化ではないと考えられた。

病理組織学的検査の結果、投与に関連した所見は雌雄ともに認められなかった。

以上の結果、本試験における検体の影響として、2500ppm 群雌雄に体重増加抑制および摂餌量の減少、雌に肝臓の肥大が認められた。

神経毒性を示す神経行動学的あるいは病理組織学的な所見が認められなかったことから、神経毒性に対する無毒性量 (NOAEL) は、2500ppm (雄 : 143mg/kg/日、雌 : 173mg/kg/日) であると判断した。

[申請者追記]本試験における総合的な無毒性量は、雌雄とも 500ppm (雄 29.4mg/kg 体重/日、雌 34.8mg/kg 体重/日) であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性

(資料 No. 原体-15)

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

- ・ 有効成分がリン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(11) 1年間反復経口投与毒性および発がん性試験

1) イヌを用いた1年間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 原体-16)

試験機関:

報告書作成年: 2012年

検体純度:

試験動物: ビーグル犬、1群雌雄各4匹、受領時: 5~6ヶ月齢(順化期間: 少なくとも6日)

体重 雄: 6.3~7.7kg、雌: 6.2~8.1kg (投与開始時)

投与期間: 1年間(2010年1月26日投与開始、2011年1月26~28日剖検)

投与方法: 検体を0、150、300及び1000ppmの用量で飼料中に混合し1年間投与した。

投与用量設定の根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般症状及び死亡率; 一般状態の変化を1日2回(週末と休日は1回)観察した。個々の動物の詳細な観察を毎週1回実施した。

死亡動物は認められなかった。

投与に起因する一般状態の変化は認められなかった。

体重: 週に1回および剖検前に体重を測定した。

いずれの投与群においても体重に統計学的に有意な変化は認められなかった。

体重増加量は1000ppm群雌では試験期間を通じて対照群と比較すると低下した。試験終了時には対照群より体重が9%低下した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 1a 体重 雄

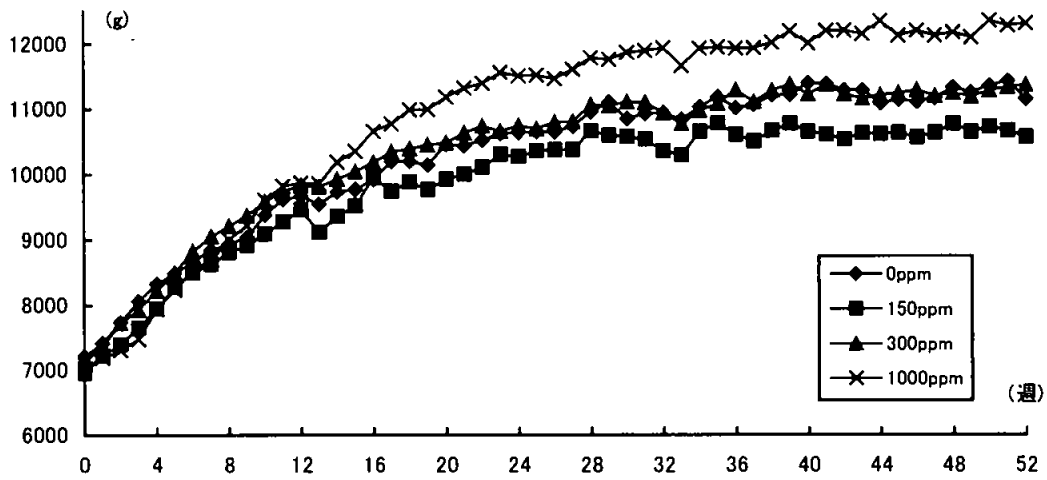
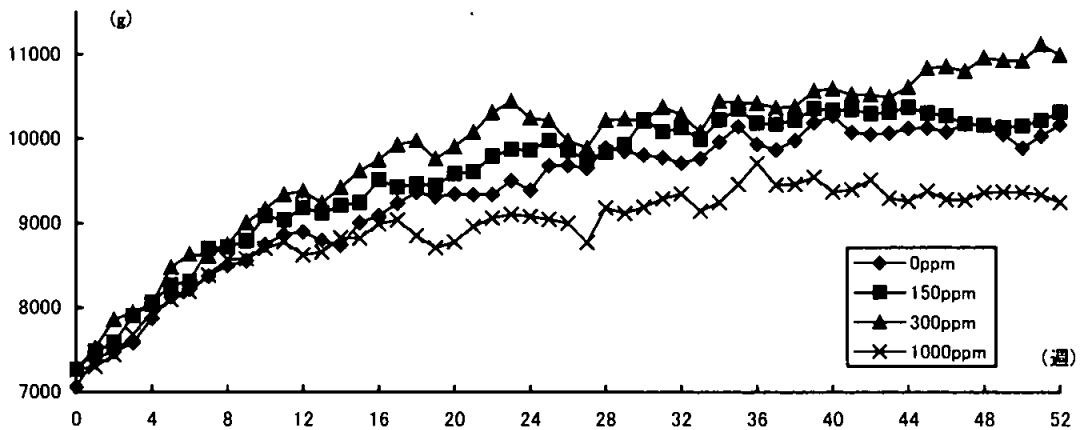


図 1b 体重 雌



摂餌量：摂餌量は毎日測定した。

いずれの投与群においても、投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次頁の通りであった。

表 1 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		150	300	1000
検体摂取量	雄	4.6	7.8	28.1
	雌	4.1	7.8	28.2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液学的検査；投与開始前、投与3、6、9および12ヶ月に一晚絶食させた動物の血液を頸静脈から採血し、以下の項目について測定を行った。

赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、白血球数および白血球分画、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、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、網状赤血球数、赤血球形態、赤血球サイズ分布幅および血色素濃度分布幅。

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。

表2 血液学的検査

性別	雄											
	150				300				1000			
投与量 (ppm)	150				300				1000			
検査時期(月)	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
白血球分画 単球 %											↑	
											153	

性別	雌											
	150				300				1000			
投与量 (ppm)	150				300				1000			
検査時期(月)	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
白血球分画 好塩基球 %										↑		
										175		
大型非染色細胞 %						↓60						
リンパ球 $\times 10^3/\text{mm}^3$			↓77									

↑ ↓ : $p < 0.05$ (Anova+Student's t-test)

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。

いずれの投与群においても投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査と同時期に採血した血液を用いて以下の項目について測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチターゼ、クレアチンホスホキナーゼ、乳酸脱水素酵素、総蛋白質、アルブミン、総ビリルビン、尿素窒素 (BUN)、総コレステロール、クレアチニン (Crea)、グロブリン、グルコース、トリグリセリド (TG)、尿酸、リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム (K)、塩素、アルブミン/グロブリン比。

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3 血液生化学的検査

性別	雄											
	150				300				1000			
投与量 (ppm)	150				300				1000			
検査時期 (月)	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
BUN		↑150										
ALT												↑128

性別	雌											
	150				300				1000			
投与量 (ppm)	150				300				1000			
検査時期 (月)	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
K							↓94				↓96	
Crea			↑111									
TG								↑155				

↑ ↓ : p<0.05 (Anova+Student' s test)

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を。

いずれの投与群においても投与による変化は認められなかった。

尿検査 ; 投与開始前、投与 3、6、9 および 12 ヶ月に採尿し、以下の項目について測定を行った。

ビリルビン、グルコース、ケトン、白血球、尿沈査、潜血、蛋白質、外観、尿量、比重、pH、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩。

表 4 尿検査

性別	雌											
	150				300				1000			
投与量 (ppm)	150				300				1000			
検査時期 (月)	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
蛋白質					↓29				↓10			
ケトン* (mg/dL)									↓0/4			
比重		↑102										

↑ ↓ : p<0.05 (Anova+Student' s test)

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を。

* : 投与群検査値/対照群検査値 (対照群を 100 として表せなかったため)。

いずれの投与群においても投与による変化は認められなかった。

検体濃度分析 ; 試験 140 日目に全動物を一晩絶食させ、翌朝、採血予定の対照群および 300ppm

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

群の雌雄各 1 匹に飼料を与えた。1 時間後に飼料を回収し、対照群は飼料回収 1 および 8 時間後、300ppm 群は飼料回収 1、3 および 8 時間後に採血し、検体濃度を分析した。

表 5 血漿中の濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

投与量 (ppm)	投餌量/1 時間 (g)	1 時間	3 時間	8 時間	
0	雄	18	ND	-	ND
	雌	70	ND	-	ND
300	雄	75	2.57	3.00	1.63
	雌	94	1.70	2.26	1.11

ND : 検出されず

検体の血漿中濃度は低く、投与開始 3 時間後にピークに達した。対照群では検体は検出されなかった。

眼科学的検査 ; 投与開始前及び試験終了直前に全動物を対象に実施した。

投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量 ; 以下の臓器重量を測定した。

副腎、脳、精巣上部、心臓、腎臓、肝臓 (胆嚢含む)、肺、卵巣、前立腺、下垂体、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺 (上皮小体含む)、子宮。

表 6 臓器重量

性別	雄			雌		
	150	300	1000	150	300	1000
投与量 (ppm)						
最終体重						91
脳	実重量	↑114		↑110		
	対体重比				↓92	↑112

↑ ↓ : $p < 0.05$ (Student' s test)

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。

いずれの投与群においても実重量および対体重比ともに投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 投与終了時、全動物に Fatal-Plus® を静脈に注射して動物を安楽死させ、剖検した。

いずれの投与群においても投与による変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

病理組織学的検査;全動物から以下の臓器を採取して、10%緩衝ホルマリン液中に固定した。

眼および視神経は Davidson 液に保存し、精巣および卵巣は Bouin 固定液に保存した。

消化器系 盲腸、結腸、十二指腸、食道、胆嚢、回腸、空腸、肝臓、膵臓、直腸、唾液腺、胃。

呼吸器系 喉頭、鼻咽頭、肺、気管。

心臓血管/血液系 大動脈、骨髄、心臓、咽頭後リンパ節、腸管膜リンパ節、脾臓、胸腺。

泌尿生殖器系 子宮頸部、精巣上部、卵管、腎臓、乳腺、卵巣、前立腺、精巣、尿管、膀胱、子宮、膣。

腺 副腎、上皮小体、甲状腺。

神経系 脳(小脳、大脳-中脳、髄/橋)、視神経、坐骨神経、脳下垂体、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼。

その他 肋骨/肋軟骨接合部、胸骨、筋肉、皮膚、肉眼的病変部。

対照群および 1000ppm 群は全動物の上記臓器をパラフィン包埋した後、切片を作成し、ヘマトキシリン及びエオジン(H&E)で染色し、検鏡した。1000ppm 群で所見が認められた腓腹筋および大腿二頭筋については 300 および 150ppm 群においても病理組織学的検査を行った。

認められた主な病変を次表に示す。

表 7 主な病理所見

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	150	300	1000	0	150	300	1000	
臓器	所見/動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
筋肉; 大腿二頭筋	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
	筋線維変性		0	0	0	3	0	0	0	3
		軽微	0	0	0	2	0	0	0	3
		軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
筋肉; 腓腹筋	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
	筋線維変性		0	0	0	2	0	0	0	2
		軽微	0	0	0	1	0	0	0	2
		軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
副腎	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4	
	空胞化	2			1				1	
肝臓	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4	
	浸潤	0			1	0			0	
	単細胞壊死	0			0	0			1	
前立腺	検査動物数	4	0	0	4					
	浸潤	0			1					

(Fisher 検定) 申請者が実施

空欄：検査せず

1000ppm 群雌雄において大腿二頭筋および腓腹筋の筋線維に変性が認められた。これらには次の変化が1つ以上認められた：萎縮、壊死、炎症細胞。

300 および 150ppm 群においては対照群と同様であった。

以上の結果、1000ppm 群の雌において体重増加抑制、雌雄において骨格筋の変性が認められた。これらの所見に基づいて、本試験における無毒性量は、300ppm (雌雄：7.8 mg/kg 体重/日) であると判断した。

[申請者追記]