

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モンサント株式会社にある。

(3) 亜急性毒性

1) 犬を用いたカプセル投与による1カ月間反復経口投与毒性試験 (資料No. 参考-2)

試験機関 :

報告書作成年 : 1991年 [GLP 対応]

検体純度 : 94.38% (アミノメチルホスホン酸)

供試動物 : ビーグル犬、1群雌雄各2匹、試験開始時約6カ月齢 (体重 ; 雄 7.3~9.8kg、雌 5.9~8.4kg)

投与期間 : 30日間 (1990年4月4日~1990年5月3日)

投与方法 : 検体の原末をゼラチンカプセルに充填し、0、10、30、100、300又は1,000mg/kg/日の用量で経口投与した。

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1日2回観察した。毒性症状の詳細な観察を週1回行った。

投与期間中に死亡は認められなかった。1,000mg/kg/日投与群の雄2匹及び雌1匹に下痢が計18回、同群雄1匹及び雌2匹に嘔吐が計4回観察された。

体重変化 ; 無作為化を行う前及びその後は週1回すべての動物の体重を測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量 ; 全動物の摂餌量を週1回測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査 ; 試験終了時に全動物を対象として外頸静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

総赤血球数 (RBC)、総白血球数 (WBC)、血小板数 (PLT)、ヘマトクリット値 (HCT)、ヘモグロビン量 (HGB)、赤血球指数 [平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) 及び平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)]、白血球分画 [好中球 (NEU)、リンパ球 (LYM)、単球 (MON)、好酸球 (EOS)、好塩基球 (BAS)、桿状球 (BAN)]、網状赤血球数 (RET)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

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日本モンサント株式会社にある。

性別	雄					雌				
	投与量 (mg/kg/日)		100	300	1,000	10	30	100	300	1,000
単球									314 ↑	
桿状球			248 ↑		410 ↑↑		424 ↑↑			
総赤血球数					82 ↓					79 ↓
網状赤血球数					276				37	571 ↑↑
ヘモグロビン量					87				87 ↓	77 ↓↓
ヘマトクリット値					86				87 ↓	78 ↓↓
MCHC				102 ↑↑	101 ↑					
APTT						93 ↓	90 ↓↓	93 ↓	92 ↓	88 ↓↓

Dunnett 法 ↑ ↓ : $p \leq 0.05$, ↑↑ ↓↓ : $p \leq 0.01$

APTT : Dunnett の多重比較検定 (両側検定) ↑ ↓ : 有意水準 0.95, ↑↑ ↓↓ : 有意水準 0.99
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。

1,000mg/kg/日投与群雌雄に赤血球数の減少、雌で網状赤血球数の増加、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少、300mg/kg/日投与群雌に網状赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少が認められた。

全投与群雌の APTT 値が統計的に有意に減少したが、その程度はわずかであり、毒性的に有意ではないと考えられた。

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。

アルブミン、総タンパク、尿素窒素、総ビリルビン、直接ビリルビン、血糖、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、クレアチニン、コレステロール、カルシウム、リン (無機リン)、塩化物、ナトリウム、カリウム、グロブリン (総タンパク値からアルブミン値を差し引いて算出)

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				
	投与量 (mg/kg/日)		100	300	1,000	10	30	100	300	1,000
グロブリン							136 ↑			

Dunnett 法 ↑ ↓ : $p \leq 0.05$

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。

これらのデータにおいて検体投与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モンサント株式会社にある。

臓器重量；試験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。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣、甲状腺

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄					雌				
	10	30	100	300	1,000	10	30	100	300	1,000
投与量 (mg/kg/日)										
脳重量	84↓			84↓	87↓					

Dunnett法 ↑↓ : $p \leq 0.05$

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を。

10、300、1,000mg/kg/日投与群雄に脳重量のわずかな減少が認められたが、用量依存性はなく対応する病理組織学的所見も認められないため、検体の投与とは関連しないと考えられた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与に関連すると考えられる変化は観察されなかった。

以上の結果から、本剤のイヌに対する30日間反復経口投与毒性試験における影響が、血液学的変化として1,000mg/kg/日投与群雌雄に赤血球数の減少、網状赤血球数の増加、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少、300mg/kg/日投与群雌に網状赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少が認められた。これらの変化は軽度から中程度の貧血を示唆するものであったが、原因は特定しなかった。その他に毒性学的な所見は観察されなかったことから、無毒性量(NOEL)は雄で300mg/kg/日、雌で100mg/kg/日と考えられた。

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モンサント株式会社にある。

2) 犬を用いたカプセル投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料No. 参考-3)

試験機関 :

報告書作成年 : 1991 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 87.8% (アミノメチルホスホン酸)

供試動物 : 異系交配ビーグル犬、1 群雌雄各 5 匹、開始時約 6 カ月齢 (群分け時の体重 ; 雄 8, 123 ~ 11, 929g、雌 6, 753 ~ 10, 788g)

投与期間 : 91 又は 92 日間 (1990 年 9 月 5 日 ~ 1990 年 12 月 5 日)

投与方法 : 検体の原末をゼラチンカプセルに充填し、0、10、30、100 又は 300mg/kg/日の用量 (純度換算せず) で摂食 1~2 時間後に経口投与した。対照群の動物には空のゼラチンカプセルを投与した。カプセルは毎週の投与に必要な数を秤量、保存した。

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、瀕死状態を毎日午前、午後の 2 回観察した。また、すべての動物について毎日投与前及び投与 1 時間後の毒性徴候を記録した。

一般状態及び死亡(続き)
投与前観察
雄

投与群(mg/kg/日)	0	10	30	100	300
正常 異常なし	5 / 5	4 / 4	3 / 3	4 / 4	2 / 2
生死 計画殺時まで生存	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
眼/耳/鼻					
右眼流涙	1 / 1	8 / 3	10 / 4	27 / 2	10 / 4
左眼流涙	1 / 1	8 / 3	11 / 3	23 / 3	6 / 3
右耳痂皮	44 / 5	50 / 3	45 / 4	41 / 3	95 / 5
左耳痂皮	30 / 5	36 / 3	57 / 5	48 / 4	82 / 5
鼻周囲痂皮	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	6 / 1
右眼赤色化	0 / 0	0 / 0	1 / 1	5 / 1	0 / 0
鼻側部皮膚潰瘍	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1
両耳発赤腫脹	11 / 3	27 / 4	35 / 3	21 / 4	59 / 4
右眼膿状分泌物	0 / 0	1 / 1	0 / 0	0 / 0	0 / 0
両耳発赤	31 / 4	36 / 5	35 / 5	31 / 4	77 / 5
右眼湿性緑色物質	0 / 0	0 / 0	0 / 0	2 / 1	0 / 0
排泄物					
軟便	32 / 5	77 / 5	61 / 5	82 / 5	60 / 5
下痢	6 / 3	30 / 5	10 / 4	18 / 5	11 / 2
粘液便	2 / 1	11 / 2	4 / 3	0 / 0	6 / 3
排尿減少	1 / 1	0 / 0	3 / 3	0 / 0	3 / 3
排便減少	1 / 1	0 / 0	1 / 1	0 / 0	0 / 0
湿性赤色物質を含む下痢	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0
口腔/歯					
口腔内乳頭腫	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0
餌の嘔吐	0 / 0	1 / 1	6 / 4	2 / 2	0 / 0
流涎	51 / 3	7 / 2	10 / 2	101 / 4	16 / 4
白色泡状嘔吐	1 / 1	0 / 0	2 / 2	2 / 1	1 / 1
黄色泡状嘔吐	0 / 0	1 / 1	0 / 0	0 / 0	1 / 1

一般状態及び死亡(続き)
投与前観察
雌

投与群(mg/kg/日)	0	10	30	100	300
正常 異常なし	3 / 3	5 / 5	1 / 1	3 / 3	2 / 2
生死 計画殺時まで生存	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
行動/中枢神経系 振戦	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0
外観 後頭部脱毛 後頭部痂皮 月経	0 / 0 0 / 0 0 / 0	0 / 0 0 / 0 0 / 0	0 / 0 0 / 0 0 / 0	9 / 1 7 / 1 0 / 0	0 / 0 0 / 0 1 / 1
眼/耳/鼻 右眼流涙 左眼流涙 右耳痂皮 左耳痂皮 左眼膿状分泌物 左眼赤色化 右眼赤色化 右眼膿状分泌物 右眼周囲乾性緑色物質 左眼周囲乾性緑色物質 左眼湿性緑色物質 両耳発赤腫脹 左眼透明分泌物 左眼ハーダー腺肥大(中等度) 両耳発赤	10 / 2 22 / 3 50 / 5 34 / 4 0 / 0 4 / 2 9 / 3 0 / 0 1 / 1 0 / 0 0 / 0 0 / 0 17 / 3 0 / 0 33 / 1 88 / 5	8 / 3 13 / 5 21 / 3 34 / 4 0 / 0 5 / 2 2 / 1 0 / 0 0 / 0 0 / 0 3 / 1 3 / 1 11 / 4 0 / 0 0 / 0 98 / 5	11 / 4 16 / 4 45 / 4 48 / 4 4 / 1 19 / 3 20 / 3 3 / 1 1 / 1 3 / 1 3 / 1 77 / 4 5 / 1 0 / 0 66 / 5	3 / 3 5 / 2 16 / 2 32 / 3 0 / 0 1 / 1 4 / 2 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0 42 / 3 0 / 0 0 / 0 29 / 4	16 / 3 13 / 4 29 / 3 9 / 3 0 / 0 6 / 1 7 / 1 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0 6 / 2 0 / 0 0 / 0 40 / 4
排泄物 軟便 下痢 粘液便 排尿減少 排便減少 赤色物質を含む軟便 血液を含む粘液便 湿性赤色物質を含む下痢	74 / 5 11 / 4 2 / 2 1 / 1 1 / 1 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0	48 / 5 14 / 4 0 / 0 1 / 1 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0	40 / 5 5 / 3 1 / 1 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0 1 / 1	26 / 4 5 / 1 2 / 1 1 / 1 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0 0 / 0	74 / 5 16 / 2 8 / 4 4 / 1 3 / 3 3 / 2 3 / 2 4 / 2
口腔/歯 口腔内乳頭腫 餌を含む嘔吐 流涎 白色泡状嘔吐 黄色泡状嘔吐	0 / 0 2 / 2 0 / 0 1 / 1 0 / 0	0 / 0 3 / 2 1 / 1 1 / 1 0 / 0	0 / 0 1 / 1 4 / 2 1 / 1 2 / 1	0 / 0 1 / 1 8 / 3 4 / 2 1 / 1	20 / 1 1 / 1 1 / 1 0 / 0 3 / 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モンサント株式会社にある。

一般状態及び死亡
投与1時間後
雄

投与群 (mg/kg/日)	0	10	30	100	300
眼/耳/鼻					
右眼流涙	0 / 0	0 / 0	1 / 1	13 / 2	0 / 0
左眼流涙	0 / 0	0 / 0	5 / 2	12 / 1	0 / 0
右耳痂皮	0 / 0	1 / 1	0 / 0	2 / 2	0 / 0
左耳痂皮	0 / 0	1 / 1	0 / 0	2 / 2	1 / 1
右眼赤色化	0 / 0	0 / 0	2 / 2	0 / 0	0 / 0
鼻側部皮膚潰瘍	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1
右眼湿性緑色物質	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0
排泄物					
軟便	12 / 3	30 / 5	17 / 4	17 / 4	18 / 5
下痢	5 / 2	8 / 3	6 / 3	5 / 2	6 / 2
粘液便	0 / 0	6 / 1	2 / 2	4 / 2	2 / 2
排尿減少	1 / 1	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
湿性赤色物質を含む下痢	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0	0 / 0
口腔/歯					
餌の嘔吐	0 / 0	2 / 1	1 / 1	3 / 2	1 / 1
流涎	10 / 3	1 / 1	7 / 3	33 / 3	4 / 2
白色泡状嘔吐	0 / 0	1 / 1	1 / 1	4 / 2	2 / 2
被験物質を含んでいる可能性のある嘔吐	0 / 0	0 / 0	1 / 1	1 / 1	0 / 0

一般状態及び死亡(続き)

投与1時間後

雌

投与群(mg/kg/日)	0	10	30	100	300
眼/耳/鼻					
右眼流涙	1 / 1	0 / 0	0 / 0	3 / 3	2 / 1
左眼流涙	1 / 1	0 / 0	2 / 1	3 / 2	1 / 1
右耳痂皮	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0
左耳痂皮	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0
左眼赤色化	0 / 0	0 / 0	1 / 1	1 / 1	1 / 1
右眼赤色化	1 / 1	0 / 0	2 / 1	0 / 0	2 / 1
右眼膿状分泌物	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0	0 / 0
右眼周囲乾性緑色物質	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0	0 / 0
左眼湿性緑色物質	0 / 0	0 / 0	2 / 1	0 / 0	0 / 0
左眼透明分泌物	0 / 0	0 / 0	1 / 1	0 / 0	0 / 0
排泄物					
軟便	15 / 4	21 / 5	10 / 4	7 / 3	33 / 5
下痢	5 / 3	7 / 3	1 / 1	3 / 1	6 / 3
粘液便	1 / 1	6 / 4	8 / 4	4 / 1	7 / 4
排便減少	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1
赤色物質を含む軟便	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1
血液を含む粘液便	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 1
口腔/歯					
餌を含む嘔吐	3 / 1	7 / 4	1 / 1	0 / 0	4 / 3
流涎	0 / 0	0 / 0	0 / 0	11 / 2	0 / 0
白色泡状嘔吐	0 / 0	1 / 1	2 / 2	0 / 0	0 / 0
黄色泡状嘔吐	0 / 0	0 / 0	0 / 0	3 / 2	0 / 0
カプセルの一部を含む嘔吐	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	1 / 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モンサント株式会社にある。

すべての動物は計画屠殺まで生存した。

毎日の投与前検査時に全投与群の雌雄に、流涙、耳の痂皮、発赤及び/あるいは腫脹、軟便、下痢、流涎及び嘔吐が認められたが、対照群にも同様の頻度で発生し、用量依存性はなかった。

毎日の観察において 300mg/kg/日投与群雄の耳の痂皮、発赤及び/あるいは腫脹の発症率が他の群より高値であったが、300mg/kg/日投与群雌の耳の痂皮、発赤及び/あるいは腫脹の発症率は対照群雌よりも低く、対照群雌における耳の発赤は 300mg/kg/日投与群雄と同程度であった。軟便の頻度は群間で異なるが用量依存性がないことから、投与に関連したものではないと考えられた。試験に使用したすべてのイヌの耳に痂皮、発赤及び/あるいは腫脹及び排泄物に関連した所見が認められ、その程度に関する個別変動は無視できなかつたが、いずれの試験群にも投与に関連した明瞭な反応は認められなかつた。認められたその他の所見は対照群にも同様の頻度又はまれに 1 匹のみに観察され、投与に関連した影響ではないと考えられた。投与約 1 時間後の観察では、その他の有意な所見は認められなかつた。

体重変化;試験期間中の- 1 週~13 週まで毎週 1 回及び試験終了日にすべての動物の体重を測定し、同間隔の体重変化を計算した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた時期を下表に示す。

性別	雄				雌			
	10	30	100	300	10	30	100	300
投与量 (mg/kg/日)								
平均体重増加量 8~9 週								529 ↑

Dunnett 検定 ↓ ↑ : 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。

300mg/kg/日投与群雌の 8~9 週の平均体重増加量に有意な増加が見られたが、他のいずれの投与群の平均体重又は体重変化にも投与による影響は認められなかつた。

摂餌量;全動物の個別摂餌量を毎日記録し、体重測定と同間隔で週平均摂餌量を記録した。摂餌量は g/動物/日又は g/kg/日として算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた時期を下表に示す。

性別	雄				雌			
	10	30	100	300	10	30	100	300
投与量 (mg/kg/日)								
8~9 週 g/kg/日								127 ↑

Dunnett 検定 ↓ ↑ : 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。

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モンサント株式会社にある。

300mg/kg/日投与群雌の8~9週の摂餌量(g/kg/日)が対照群と比較して有意に高値を示したが、いずれの投与群にも投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；試験開始前、5及び12週の給餌前及び被験物質投与前に全動物を対象として頸静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

総白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、白血球分画(%及び絶対数)[分節好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、非分節好中球]、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	投与量 (mg/kg/日)	10		30		100		300	
	検査時期(週)	5	12	5	12	5	12	5	12
雄	MCHC	97↓↓							
	MCH						96↓		
	赤血球数				90↓				
	ヘモグロビン				89↓↓		92↓		
	ヘマトクリット				89↓↓				
雌	MCV	96↓	97↓						

Dunnett 検定 ↓↑: 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。

5週の検査では、10mg/kg/日投与群雄の平均MCHC値が対照群と比較して有意に減少した。同様の減少は、より高用量の雄又はいずれの群の雌にも認められなかった。10mg/kg/日投与群雌の平均MCV値が対照群と比較して有意に減少した。しかし、同様の減少は、より高用量の雌又はいずれの群の雄にも認められなかったため、検体投与による影響とは考えられない。

12週の検査では、30mg/kg/日投与群雄の平均赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値、100mg/kg/日投与群雄の平均ヘモグロビン及びMCH値、10mg/kg/日投与群雌の平均MCV値が対照群と比較して有意に減少した。同様の所見が300mg/kg/日投与群雌雄に認められなかったため、検体投与による影響とは考えられない。

血液生化学検査；血液学検査で使用した血液から採取した血清を用い、以下の項目の測定を行った。

糖、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、塩化物、カルシウム、グロブリン、A/G比、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ、血清アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、総コレステロール、総タンパク、リン、アルブミン、γ-グルタミルトランスフェラーゼ

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モンサント株式会社にある。

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。

性別	投与量 (mg/kg/日)	10		30		100		300	
		5	12	5	12	5	12	5	12
雄	糖				111 ↑		111 ↑		

Dunnett 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。

12 週の検査において 30 及び 100mg/kg/日投与群雄の平均血糖値が対照群と比較して有意に高値であった。しかし、30 及び 100mg/kg/日投与群雄の 12 週の値は 101mg/dL であり、5 週の対照群の平均値も 101mg/dL であることから、対照群の 12 週の値が 5 週よりわずかに低値 (91mg/dL) であったため、投与に関連したものではなかった。

いずれの投与群にも投与に関連した影響は認められなかった。

尿検査；試験開始前、5 及び 12 週の給餌前及び被験物質投与前に、全動物からカテーテルを用いて採取し、以下の項目の測定を行った。

尿量、色調、外観、比重、pH、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩、白血球、沈渣の鏡検

実験室の事故又は血液混入により 300mg/kg/日投与群雄 2 匹（それぞれ 5 週及び 12 週）及び 10mg/kg/日投与群雌 1 匹（5 週）の検体の値は平均値の評価に含めていないが、検体投与に関連のある変化は認められなかった。

眼科学的検査；試験開始前及び 12 週に全動物を対象として検査した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量；試験終了時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。

副腎、脳、腎臓、肝臓、卵巣、精巣及び精巣上体、上皮小体を含む甲状腺

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。

性別	投与量 (mg/kg/日)	雄				雌			
		10	30	100	300	10	30	100	300
肝臓	重量							78 ↓	
	対体重比							84 ↓↓	

Dunnett 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。

100mg/kg/日投与群雌肝臓に平均絶対及び相対重量の有意な減少が認められた。肝重量の減少は 300mg/kg/日投与群雌では認められなかったことから、検体投与による

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モンサント株式会社にある。

影響とは考えられない。

肉眼的病理検査；試験終了時の全動物について剖検を行った。

検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

副腎 (2)、大動脈、骨及び骨髄 (胸骨)、骨髄塗抹、脳 (前、中、後)、眼及び視神経 (2)、大腿骨 (関節を含む)、胆嚢、消化管 (食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、心臓、腎臓 (2)、肝臓 (2葉)、肺 (気管支を含む (2))、リンパ腺 (腸間膜及び上部咽頭)、卵巣及び卵巣間膜 (2)、膵臓、末梢神経 (坐骨神経)、下垂体、前立腺、唾液腺 (顎下腺 (2))、骨格筋 (内側広筋)、皮膚及び乳腺、脊髄 (胸部中央、頸部及び腰部)、脾臓、精巣及び精巣上体 (2)、胸腺、甲状腺 (上皮上体を含む両葉 (2))、気管、膀胱、子宮及び膣、肉眼的病変部認められた主要な病理組織学的所見を表に示す。

性別		雄					雌				
投与量 (mg/kg/日)		0	10	30	100	300	0	10	30	100	300
臓器	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	所見										
盲腸	回盲接合部発赤	1	2	1	2	2	1	4	1	0	2
肝	非化膿性炎症	2	0	3	1	1	2	2	2	1	2
下垂体	末端部嚢胞	2	2	2	0	1	0	2	3	1	2

観察された病変は対照群及び投与群に同程度、又は1例のみに認められるもので、検体投与に起因するものとは考えられない。

以上の結果から、本剤のイヌに対する90日間反復経口投与毒性試験における影響は、いずれの投与群にも認められなかった。

よって、イヌに91日又は92日間連続投与した場合の無影響量 (NOEL) は雌雄共 300mg/kg/日であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

3) ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料No. 参考-4)

試験機関 :

報告書作成年 : 1979 年

検体の純度 : 99.96% (アミノメチルホスホン酸)

供試動物 : Charles River CD[®] 離乳ラット、1 群雌雄各 20 匹、
開始時 4 週齢、体重 ; 雄 : 70~93g、雌 : 67~90g

投与期間 : 91 又は 92 日間 (1978 年 6 月 27 日~1978 年 9 月 26 日)

投与方法 : 試験中定期的に調製した検体-飼料混合物 (プレミックス) に粉末飼料を加え、0、400、1,200 及び 4,800mg/kg/日の投与量になるように調製し、91 又は 92 日間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠 ; 予備試験 (IRD-77-309) では、最大許容用量は 4,000mg/kg/日であったことから、最高用量を 4,800mg/kg/日に設定した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 毒性症状と死亡を 1 日 2 回観察した。

4,800mg/kg/日投与群雄 1 匹及び雌 5 匹が 45 日目の採血後に死亡した。同様に、対照群雌 1 匹と 1,200mg/kg/日投与群雌 2 匹が 88 日目の採血後に死亡した。さらに、対照群雄 1 匹を、軟便、腹部膨満及び瀕死状態により 12 週目に屠殺したが、いずれも投与によるものとは考えられなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		0	400	1,200	4,800
死亡率 (%)	雄	5	0	0	5
	雌	5	0	10	25

体重変化 ; すべての生存動物の体重を週 1 回測定した。

13 週の 4,800mg/kg/日投与群雌雄及び 1,200mg/kg/日投与群雄が、対照群と比較し統計学的に有意な低値を示した以外、検体投与に伴う変化はなかった。

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モンサント株式会社にある。

全生存動物の平均値が、対照群と比べ統計学的有意差の認められた時期を下表に示す。

性別	雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)	400	1,200	4,800	400	1,200	4,800
13週		93↓	73↓↓			89↓↓

Dunnett 検定 ↓ : 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。

摂餌量；全動物の摂餌量を週 1 回測定した。

4,800mg/kg/日投与群雄に対照群と比較して摂餌量の減少が認められたが、統計学的に有意ではなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (mg/kg/日)		400	1,200	4,800
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	406	1,230	4,989
	雌	388	1,161	4,625

血液学的検査；雌雄各 10 匹を選択し、45 及び 88 日目に絶食させた動物の眼窩から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数（総数及び鑑別数）、血小板数及び網状赤血球数

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モンサント株式会社にある。

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。

性別	投与量 (mg/kg/日)	対照群		400		1,200		4,800		
	検査時期 (日)	45	88	45	88	45	88	45	88	
雄	赤血球数 10 ⁶ /cmm	%* ¹	100	100	109 ↑		109 ↑↑			
		平均値	6.60	7.54	7.19	7.56	7.18	7.69	6.64	7.77
		期待値* ²	6.00~8.30							
	ヘモグロビン濃度 g/dL	%* ¹	100	100					106 ↑↑	
		平均値	15.8	16.1	15.9	15.7	16.2	16.1	16.8	17.2
		期待値* ²	12.0~18.3							
	ヘマトクリット値 %	%* ¹	100	100						104 ↑
		平均値	48	49	48	49	48	49	49	51
		期待値* ²	40~55							
	血小板数 10 ³ /cmm	%* ¹	100	100	68 ↓↓	73 ↓↓	130 ↑↑			85 ↓↓
		平均値	202	165	138	120	263	150	212	141
		期待値* ²	120~350							
雌	赤血球数 10 ⁶ /cmm	%* ¹	100	100	106 ↑					
		平均値	6.67	7.23	7.10	7.19	6.97	7.25	6.58	7.46
		期待値* ²	6.00~8.30							
	血小板数 10 ³ /cmm	%* ¹	100	100			166 ↑↑	90 ↓	132 ↑↑	
		平均値	146	148	148	150	243	133	192	154
		期待値* ²	120~350							
	白血球数 10 ³ /cmm	%* ¹	100	100				150 ↑↑		129 ↑
		平均値	10.86	8.51	11.36	9.89	8.84	12.73	9.18	10.99
		期待値* ²	5.00~16.00							

Dunnett 検定 ↓ ↑ : p<0.05、↓↓ ↑↑ : p<0.01

*¹ 対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

*² 試験施設での同系統で一般的に認められる範囲

いくつかの項目に対照群と比較して統計学的な有意差が認められたが、試験施設における同系統で一般的に認められる範囲内（期待値）であり、生物学的に有意なものではなく、検体投与による影響とは考えられない。

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。

血糖、尿素窒素、総コレステロール、総タンパク、アルブミン、グロブリン（計算値）、直接及び総ビリルビン、血清アルカリホスファターゼ活性（SAP）、血清乳酸脱水素酵素活性（LDH）、血清グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ活性（SGOT）、血清グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ活性（SGPT）

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モンサント株式会社にある。

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。

性別	投与量 (mg/kg/日)	対照群		400		1,200		4,800		
	検査時期 (日)	45	88	45	88	45	88	45	88	
雄	血糖 mg/dL	%*1	100	100	112 ↑		108 ↑			73 ↓↓
		平均値	99	113	111	121	107	118	104	82
		期待値*2	≤180							
	総コレステロール mg/dL	%*1	100	100					118 ↑↑	142 ↑↑
		平均値	68	67	68	64	67	62	80	95
		期待値*2	≤150							
	直接ビリルビン mg/dL	%*1	100	100		67 ↓				
		平均値	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3
		期待値*2	≤0.04							
	総ビリルビン mg/dL	%*1	100	100		100 ↓	120 ↑↑			133 ↑
		平均値	0.5	0.3	0.5	0.3	0.6	0.3	0.5	0.4
		期待値*2	≤0.8							
	SGOT IU/dL	%*1	100	100	73 ↓↓	66 ↓↓		76 ↓		124 ↑
		平均値	197	225	144	149	211	172	235	279
		期待値*2	≤250							
	SGPT Sigma units/mL	%*1	100	100				70 ↓		
		平均値	25	23	24	17	23	16	21	18
		期待値*2	≤40							
	LDH B-B units/mL	%*1	100	100	96	84	103	129 ↑	148 ↑↑	245 ↑↑
		平均値	1,847	1,893	1,799	1,584	1,901	2,442	2,738	4,637
		基準値*3	1,645							
		期待値*2	≤3,000							

Dunnett 検定 ↓ ↑ : p<0.05、↑↑ ↓↓ : p<0.01

*1 対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

*2 試験施設での同系統で一般的に認められる範囲

*3 別の離乳ラット雌雄各 10 匹を屠殺して求めた値

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モンサント株式会社にある。

性別	投与量 (mg/kg/日)		対照群		400		1,200		4,800	
	検査時期(日)		45	88	45	88	45	88	45	88
雌	血糖 mg/dL	%*	100	100	114↑		114↑↑			81↓
		平均値	108	120	123	128	123	120	98	97
		期待値**	≤180							
	アルブミン g/dL	%* ¹	100	100	108↑			105↑↑	108↑	105↑↑
		平均値	3.8	3.7	4.1	3.6	4.0	3.9	4.1	3.9
		期待値* ²	≤5.5							
	直接ビリルビン mg/dL	%* ¹	100	100	67↓↓		67↓		67↓	150↑↑
		平均値	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3
		期待値* ²	≤0.04							
	総ビリルビン mg/dL	%* ¹	100	100						133↑↑
		平均値	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.6	0.4
		期待値* ²	≤0.8							
	SAP IU/L	%* ¹	100	100					118↑	
		平均値	141	82	158	90	137	77	167	94
		期待値* ²	≤200							
	SGOT IU/dL	%* ¹	100	100	45↓↓		58↓↓		81↓↓	155↑↑
		平均値	350	175	156	152	203	164	284	271
		期待値* ²	≤250							
SGPT Sigma units/mL	%* ¹	100	100		94↓					
	平均値	22	16	22	15	20	14	20	17	
	期待値* ²	≤40								
LDH B-B units/mL	%* ¹	100	100	102	145↑↑	86	138↑↑	128	271↑↑	
	平均値	1,897	1,427	1,926	2,075	1,622	1,971	2,437	3,866	
	基準値* ³	1,361								
	期待値* ²	≤3,000								

Dunnett 検定 ↓↑ : p<0.05、↑↑↓↓ : p<0.01

*¹ 対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

*² 試験施設での同系統で一般的に認められる範囲

*³ 別の離乳ラット雌雄各 10 匹を屠殺して求めた値

乳酸脱水素酵素活性の対照群と投与群の 45 及び 88 日目の平均値は基準値よりも高く、4,800mg/kg/日投与群の活性値がかなり高値であった。

雄では、4,800mg/kg/日投与群の 45 及び 88 日目及び 1,200mg/kg/日投与群の 88 日目の活性値が、同系統のラットで通常認められる値より高値であり、これらの有意差は投与に関連したものかもしれない。他の群の値は期待値 (≤3,000 B-B units/mL) の範囲内であった。

雌では、対照群の 88 日目の値が 45 日目より 25%減少したため結果が複雑であり、88 日目の対照群、400 及び 1,200mg/kg/日投与群の値が正常であったため、生物学的な有意性に疑問が生じる。4,800mg/kg/日投与群の 88 日目の値は明らかに高値であり、対照群値が低下したことから誇張されているが、投与に関連したものと考えられる。

その他、いくつかの項目に対照群と比較して統計学的な有意差が認められたが、SGOT 以外は試験施設における同系統で一般的に認められる正常範囲 (期待値) 内であり、生物学的に有意なものではなく、検体投与による影響とは考えられない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

SGOT 値は雌雄の高用量で増加し、やや期待値を上回ったが、用量依存性はなく、肝臓の病理組織学的所見も認められないため、検体の投与に関連したものとは考えなかった。

尿検査；血液採取時の絶食中に尿を採取し、以下の項目を検査した。

色調、外観、尿量、比重、pH、糖、タンパク、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	投与量 (mg/kg/日)	400		1,200		4,800	
	検査時期(日)	45	88	45	88	45	88
雄	尿量					53 ↓	
	pH						84 ↓↓
	比重				102 ↑	102 ↑↑	
雌	pH					90 ↓↓	91 ↓

Dunnett 検定 ↓ ↑ : 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。

尿量の低下とそれに伴う比重の増加は、雄の 45 日に限られ、対応する病理所見は認められなかったため、検体の投与に関連しないと考えられた。高用量群の雌雄で認められた pH の低下は、投与に関連した可能性はあるが、単に酸性物質の投与に伴うもので、毒性的な意味のある変化とは考えられなかった。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓器重量；試験終了時に屠殺した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、腎臓、精巣、心臓、脳、卵巣

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モンサント株式会社にある。

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。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		400	1,200	4,800	400	1,200	4,800
肝臓	重量	89 ↓	85 ↓↓	66 ↓↓			82 ↓↓
	対体重比			92 ↓			
腎臓	重量		90 ↓	77 ↓↓			89 ↓↓
	対体重比			107 ↑			
精巣	重量			93 ↓↓			
	対体重比			129 ↑↑			
卵巢	重量				78 ↓↓		
	対体重比				79 ↓↓	88 ↓	
心臓	重量			74 ↓↓			84 ↓↓
	対体重比						
脳	重量			94 ↓↓		104 ↑	
	対体重比			133 ↑↑			112 ↑↑

Dunnett 検定 ↓ ↑ : 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。

重量に有意差の認められた臓器に検体に関連した形態学的な実質組織の変化はなく、統計学的変動の生物学的な意義は明らかにできなかったが、用量依存性又は肉眼的変化が見られなかったことから投与による影響とは考えられない。

肝臓重量は雄の全投与群と雌の高用量群で減少したが、肝重量の低下は一般に毒性を意味せず、対体重比があまり変化していないことから、体重低下の影響と考えられ、また、対応する肉眼的組織学的病理所見は認められないため、検体の投与との関連はないと考えられた。

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺、試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び 4,800mg/kg/日投与群の全動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、検鏡した。

脳 (3カ所)、脾臓、大腸 (結腸、盲腸)、脊髄、リンパ節 (腸間膜)、末梢神経 (坐骨)、胸腺、膵臓、眼 (視神経)、胸骨 (骨髄)、肝臓 (2カ所)、下垂体、唾液腺 (顎下腺)、腎臓、甲状腺 (上皮小体)、膀胱、副腎、食道、精巣/卵巢、気管、胃 (3カ所)、前立腺/子宮、肺/気管支、小腸 (十二指腸、空腸、回腸)、骨格筋、心臓、肉眼的異常部位

400 及び 1,200mg/kg/日投与群の全動物を対象として、以下の組織について病理標本作製した。

腎臓、肝臓、心臓、膀胱、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

認められた主要な病理組織学的所見を下表に示す。

性 別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/日)		0	400	1,200	4,800	0	400	1,200	4,800
臓器	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
	所見								
肺/気管支	限局性肺胞内出血	14	8	2	6	10	2	2	1
胸腺	限局性新鮮出血	14	1	3	14	12	6	3	9
膀胱	粘膜上皮過形成	0	0	2	15	0	0	3	13
腎臓	腎盂上皮過形成	0	-	-	2	0	-	-	1

検体投与と関連すると考えられる所見は、1,200及び4,800mg/kg/日投与群の尿路系に限定されていた。膀胱上皮の過形成が1,200mg/kg/日以上投与群で認められ、1,200mg/kg/日投与群では非常に軽度であった。4,800mg/kg/日投与群数匹に検体投与と関連したと考えられる非常に軽度から軽度の腎盂上皮の過形成が認められた。

対照群及び4,800mg/kg/日投与群の多くに見られた肺及び胸腺の新鮮出血は二酸化炭素を用いた窒息死による死戦期のものであると考えられた。

その他の所見はラットに一般的に見られる所見で検体投与に起因するものではなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験における影響として、1,200mg/kg/日以上投与群雌雄に体重の減少、血液化学的変化及び病理組織学的変化が認められた。

よって、本剤の最大無影響量は雌雄共400mg/kg/日(雄406mg/kg/日、雌388mg/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モンサント株式会社にある。

(4) 繁殖毒性及び催奇形性

ラットにおける催奇形性試験

(資料No. 参考-5)

試験機関 :

報告書作成年 : 1991年 [GLP 対応]

検体の純度 : 94.38% (アミノメチルホスホン酸)

供試動物 : SD系妊娠 Cr1:CD-BR ラット

(交配時約 12 週齢 ; 妊娠 0 日の体重 213~261g)、1 群 25 匹

投与期間 : 妊娠 6~15 日の 10 日間 (1990年 8 月 13 日~1990年 8 月 26 日)

投与方法 : 検体をマゾーラ・コーンオイルに懸濁し、150、400 及び 1,000mg/kg/日の用量で妊娠 6~15 日の 10 日間、最新の体重に基づき 10mL/kg 体重の一定容量で 1 日 1 回胃管カニューレを用いて強制経口投与した。なお、対照群にはマゾーラ・コーンオイル 10mL/kg 体重を同様に投与した。

交尾の形跡を確認した日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠 ; 同試験機関で SD系 Cr1:CD-BR系妊娠ラットを用い、検体をマゾーラ・コーンオイルに懸濁し、125、250、500、750 及び 1,000mg/kg/日の用量で妊娠 6~15 日の 10 日間強制経口投与した予備試験 (試験番号 : WIL-50146) の結果、いずれの投与量にも母動物の平均体重、体重変化、妊娠子宮重量及び正味体重変化に悪影響はみられず、臓器重量に投与に関連した差は観察されなかった。胎児に外表奇形又は発生変異がいずれの用量にも認められなかったことから、本試験の投与量として 150、400 及び 1,000mg/kg/日を選択した。

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日 2 回観察し、妊娠 0、6、9、12、16 及び 20 日に体重及び摂餌量を測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、黄体数、妊娠子宮重量、胎児数及び位置、早期及び後期吸収胚、着床部位数を記録した。内臓の肉眼的病理検査を行い、肝臓、腎臓及び脾臓重量を測定してすべての所見を記録した。

生存胎児 ; すべての生存胎児の体重測定、性別確認及び外表、内臓及び骨格の奇形及び発生変異の観察を行った。各母動物の胎児約 1/2 の頭部を軟組織検査のためにブアン固定液に保存し、残り 1/2 の頭部は正中断切片による検査を行った。すべての胎児の内臓を摘出し、イソプロピルアルコールで固定後、水酸化カリウム溶液で浸軟し、アリザリンレッド S 染色を行って骨格検査を行った。

結果 : 概要を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

結果の概要

投与群 (mg/kg/日)		0	150	400	1,000		
一群当たり動物数		25	25	25	25		
死亡数		0	0	0	0		
妊娠数		24	24	24	24		
一般状態	粘液様便	0	1	7**	18***		
	軟便	15	19	22*	23**		
	脱毛	3	3	9*	12**		
体重変化 (g)	投与前	妊娠 0-6 日 [#]	35 ± 7.9	33 ± 7.3	36 ± 7.4	34 ± 8.5	
	投与期間中	妊娠 6-9 日 [#]	2 ± 5.2	5 ± 5.0	4 ± 6.5	4 ± 7.0	
		妊娠 9-12 日 [#]	13 ± 6.6	14 ± 4.0	15 ± 4.9	13 ± 6.5	
		妊娠 12-16 日 [#]	33 ± 7.1	30 ± 7.3	32 ± 7.4	26 ± 11.0**	
		妊娠 6-16 日 [#]	48 ± 8.1	49 ± 6.6	51 ± 11.0	43 ± 10.0	
	投与後	妊娠 16-20 日	64 ± 6.6	64 ± 8.0	60 ± 10.3	59 ± 17.1	
	正味体重 [#]		300.5 ± 17.39	301.3 ± 17.08	304.1 ± 15.79	298.1 ± 13.48	
正味体重増加量 [#]		68.6 ± 11.68	68.1 ± 11.58	69.7 ± 5.16	63.2 ± 11.17		
親動物摂取量	投与前	妊娠 0-6 日 [#]	g/動物/日	21 ± 2.0	21 ± 1.9	21 ± 1.6	21 ± 2.1
			g/kg/日	82 ± 6.5	83 ± 6.5	85 ± 6.3	82 ± 7.5
	投与期間中	妊娠 6-9 日 [#]	g/動物/日	14 ± 2.7	15 ± 2.2	14 ± 3.5	12 ± 2.9
			g/kg/日	52 ± 8.5	54 ± 7.3	52 ± 12.2	44 ± 10.0*
		妊娠 9-12 日 [#]	g/動物/日	15 ± 2.2	15 ± 2.3	17 ± 2.3	17 ± 3.9*
			g/kg/日	56 ± 7.1	56 ± 7.4	60 ± 6.7	62 ± 13.1*
		妊娠 12-16 日 [#]	g/動物/日	18 ± 2.1	18 ± 2.1	20 ± 2.8*	18 ± 2.6
			g/kg/日	61 ± 6.0	60 ± 5.5	66 ± 7.6*	60 ± 8.5
		妊娠 16-20 日 [#]	g/動物/日	28 ± 2.2	28 ± 2.2	28 ± 3.2	27 ± 3.9
			g/kg/日	80 ± 4.6	80 ± 4.6	81 ± 5.8	81 ± 10.3
	妊娠 6-16 日 [#]	g/動物/日	16 ± 1.9	16 ± 1.8	17 ± 2.1*	16 ± 2.0	
		g/kg/日	56 ± 5.2	57 ± 5.0	60 ± 6.0*	56 ± 6.3	
	試験期間中	妊娠 0-20 日 [#]	g/動物/日	20 ± 1.7	20 ± 1.8	21 ± 1.8*	20 ± 1.6
			g/kg/日	68 ± 3.9	68 ± 4.4	71 ± 4.4*	68 ± 4.4
肉眼的病理検査		検体投与関連の所見はなかった。					
腎重量 (g) [#]		1.94 ± 0.161	1.99 ± 0.151	2.00 ± 0.174	2.02 ± 0.154		
肝重量 (g) [#]		15.45 ± 1.319	15.39 ± 1.295	15.68 ± 1.646	14.89 ± 1.577		
脾臓重量 (g) [#]		0.67 ± 0.116	0.60 ± 0.097	0.64 ± 0.096	0.61 ± 0.097		
妊娠子宮重量 (g) [#]		78.5 ± 7.53	77.7 ± 9.12	76.9 ± 14.36	75.7 ± 7.11		

統計学的解析法

—Dunnett 法を用いる片側検定 ANOVA

*: p<0.05, **: p<0.01

—#: 値は平均値±SD

検定の対象とした項目

母動物の体重及び体重変化、
母動物の正味体重変化及び妊娠子宮重量、
母動物の摂取量、臓器重量

申請者注) 原報告書では一般状態(粘液様便、軟便、脱毛)の有意差検定を行っていないため、日本モンサント株が Fisher の直接確率法を用いて実施した。

—Fisher の直接確率法

一般状態(粘液様便、軟便、脱毛)

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	150	400	1,000
一群当たり動物数		25	25	25	25
親動物	検査親動物数	24	24	24	24
	黄体数 [#]	16.1 ± 1.45	17.0 ± 2.51	16.4 ± 1.61	16.5 ± 2.00
	着床数 [#]	15.0 ± 1.33	15.3 ± 1.29	15.0 ± 2.40	15.1 ± 1.15
	生存胎児率 (%) [#]	95.6 ± 7.15	94.7 ± 5.74	96.1 ± 5.77	96.2 ± 5.55
	死亡胎児率 (%) [#]	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00
	早期吸収胚率 (%) [#]	4.2 ± 6.91	5.3 ± 5.74	3.6 ± 5.78	3.8 ± 5.55
	後期吸収胚率 (%) [#]	0.3 ± 1.36	0.0 ± 0.00	0.3 ± 1.46	0.0 ± 0.00
	総期吸収胚率 (%) [#]	4.4 ± 7.15	5.3 ± 5.74	3.9 ± 5.77	3.8 ± 5.55
	着床前胚損失率 (%) [#]	6.4 ± 7.04	9.0 ± 9.21	8.1 ± 13.76	7.9 ± 7.75
着床後胚損失率 (%) [#]	4.4 ± 7.15	5.3 ± 5.74	3.9 ± 5.77	3.8 ± 5.55	
胎児数		345	347	346	349
体重	雄 (g) [#]	3.6 ± 0.25	3.6 ± 0.21	3.5 ± 0.20	3.4 ± 0.32*
	雌 (g) [#]	3.4 ± 0.22	3.4 ± 0.19	3.3 ± 0.21	3.3 ± 0.28*
	雄雌合計 (g) [#]	3.5 ± 0.25	3.5 ± 0.18	3.4 ± 0.19	3.3 ± 0.31*
性比 (雄%) [#]		47.2 ± 11.83	52.2 ± 14.03	52.1 ± 14.15	51.4 ± 13.84
胎動物	検査胎児数	345	347	346	349
	奇形胎児数 (母体数)	2 (2)	4 (4)	0 (0)	2 (2)
	外表/内臓異常				
	外表奇形胎児数 (母体数)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	2 (2)
	軟組織奇形胎児数 (母体数)	1 (1)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	二卵性内容物	0	1	0	0
	胸骨分裂	0	0	0	1
	頸部及び胸部浮腫	0	0	0	1
	小眼球症 (片側性)	1	0	0	0
	大動脈弓中断	0	1	0	0
	逆位	0	1	0	0
	水頭症	1	0	0	0
	変異胎児数 (母体数)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	虹彩周辺の環状出血	0	0	1	0
尿管拡張	1	1	0	0	
胎動物	骨格異常				
	奇形胎児数 (母体数)	0 (0)	3 (3)	0 (0)	0 (0)
	橈骨湾曲	0	1	0	0
	第3肋骨半球状肥大	0	1	0	0
	脊椎骨異常	0	2 (2)	0	0
	変異胎児数 (母体数)				
	主要所見				
	第5、6胸骨未分化	26 (9)	25 (10)	33 (14)	25 (10)
第13肋骨化骨不全	2 (2)	6 (5)	10 (4)	9 (3)	
第14肋骨遺残	7 (6)	7 (3)	3 (2)	8 (5)	
第7頸肋骨化骨不全	6 (5)	7 (7)	4 (3)	1 (1)	

統計学的解析法

- Yates の修正を行ったカイ 2 乗検定
- Fisher の確立計算法
- Mann-Whitney の U 検定
- Dunnett 法を用いる片側検定 ANOVA
- *: p<0.05, **: p<0.01
- Kruskal-Wallis 検定
- #: 値は平均値±SD

検定の対象とした項目

- 胎仔の性比
- 奇形及び変異
- 早期及び後期吸収胚、死亡胎仔、着床後の損失
- 黄体数、総着床数、生存胎仔数、胎仔重量
- 子宮データの母体比率

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モンサント株式会社にある。

親動物；死亡はみられなかった。検体投与に関連すると思われる所見は、400及び1,000mg/kg/日投与群の粘液様便、脱毛（主に前後肢及び腹部側面）及び軟便であった。対照群にも排泄物に関する所見が発現したが、400及び1,000mg/kg/日投与群の発現率がわずかに増加し、投与に関連があるように見られた。その他の所見はまれで、対照群にも同様に発現した。投与1時間後には所見は何も観察されなかった。

1,000mg/kg/日投与群の平均体重増加量が、妊娠3～12日は対照群と同様であったが、妊娠12～16日には対照群と比較してわずかに統計学的に有意に減少した。投与期間中（妊娠6～16日）、及び投与期間後（妊娠16～20日）の体重増加は対照群と同様であった。その他の期間では、妊娠子宮重量、正味体重及び正味体重増加量を含め悪影響は見られなかった。

1,000mg/kg/日投与群の摂餌量が、投与最初の3日間は対照群と比較してわずかに減少、妊娠9～12日にはわずかに増加し、統計学的に有意であった。その他の期間の摂餌量は対照群と同様であった。その他400mg/kg/日投与群の妊娠12～16、6～16及び0～20日にわずかに有意な増加が見られた。これらの変化は、用量依存性がないため、検体の投与と関連しないと考えられる。

剖検では検体投与に関連した所見は観察されず、肝臓、腎臓及び脾臓の臓器重量にも悪影響はなかった。

平均黄体数、着床数、着床後の損失及び平均生存胎児数に検体投与の影響はなかった。

胎児動物；1,000mg/kg/日投与群の平均胎児体重が対照群と比較してわずかに減少し、統計学的に有意であった。この減少は2つの同腹児群の低値による影響であり、わずかだが検体投与に関連したものと考えられた。他の群の平均胎児体重は対照群と同程度であった。性比に検体投与の影響はなかった。

奇形が対照群、150及び1,000mg/kg/日投与群にそれぞれ2、4、2例認められ、外表奇形が対照群、150及び1,000mg/kg/日投与群にそれぞれ1、1、2例、軟組織奇形が対照群、150mg/kg/日投与群にそれぞれ1、2例、骨格奇形が150mg/kg/日投与群のみに3例認められた。いずれの奇形も自然発生的なものと思われた。

いずれの投与群にも外表の発生変異は観察されなかった。対照群（尿管膨張）及び400mg/kg/日群（虹彩周囲の環状出血）各1匹に軟組織変異が観察された。対照群、投与群でいくつかの骨格変異が観察されたが、頻度は対照群と同程度であった。

以上の結果より、本検体を妊娠6～15日に投与したとき、1,000mg/kg/日投与でわずかな体重増加量及び摂餌量の減少、臨床所見として粘液様便、脱毛及び軟便が観察され、平均胎児体重もわずかに減少した。400mg/kg/日でも同様の臨床所見が観察されたため、母動物及び胎児に対する無毒性量は150mg/kg/日であると考えられた。また、最高投与量の1,000mg/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モンサント株式会社にある。

(5) 変異原性

1) 遺伝子突然変異性原性

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 No. 7-2)

試験機関 :

報告書作成年 : 1980 年

検体の純度 : 99% (アミノメチルホスホン酸)

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA100、TA1537、TA1538、TA98) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2hcr 株) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

設定用量; 慣行により 5,000 μ g/プレート を最高濃度として用いた。0、10、100、500、1,000 及び 5,000 μ g/プレートの濃度において各反復を設定した。検体の毒性 (抗菌性) を確認する予備試験は実施しなかった。

結 果: 結果を表 1 に示した。

検体は、S-9 Mix の有無にかかわらず、最高用量である 5,000 μ g/プレートの濃度においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加はさせなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、 β -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。また、2-アミノアントラセンは、S-9 Mix 存在下において、明らかな復帰変異を誘発した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

表1 結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix	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			
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (H_2O)		-	13	6	96	5	11	29	
			10	8	98	6	6	31	
検体	10	-	18	4	120	8	7	16	
			18	6	124	7	3	30	
	50	-	11	4	129	1	7	27	
			14	2	141	1	9	30	
	100	-	20	8	108	6	4	21	
			9	3	137	7	4	17	
	500	-	22	11	106	5	7	16	
			14	4	124	4	9	30	
	1000	-	20	6	84	4	7	24	
			14	2	138	8	6	26	
	5000	-	12	15	107	4	8	23	
			13	6	81	8	5	31	
	対照 (H_2O)		+	12	4	102	10	10	16
				6	5	107	4	13	22
検体	10	+	11	7	102	2	6	13	
			11	9	105	9	14	19	
	50	+	12	5	91	2	10	20	
			8	2	91	5	4	12	
	100	+	16	7	81	14	7	19	
			10	5	83	1	7	19	
	500	+	10	5	79	3	5	21	
			21	4	103	7	13	16	
	1000	+	11	3	97	9	9	14	
			21	5	96	5	9	16	
	5000	+	17	2	83	4	6	12	
			11	4	99	4	7	17	
	2-アミノ アントラセン	10	-	9	10	117	22	8	38
				12	4	111	18	15	41
10		+	52	164	>3,000	128	>3,000	>3,000	
			50	232	>3,000	204	>3,000	>3,000	
陽性対照		-	1,304a	694b	588c	>10,000d	>3,000e	212f	
			1,476	684	648	>10,000	>3,000	223	

a) 0.25 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

c) 0.05 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

e) 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-ニトロフルオレン

b) 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ β -プロピオラクトン

d) 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-アミノアクリジン

f) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-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モンサント株式会社にある。

2) 染色体異常誘発性

マウスを用いた小核試験

(資料No. 参考-6)

試験機関 :

報告書作成年 : 1993年 [GLP 対応]

検体の純度 : 94.38% (アミノメチルホスホン酸)

供試動物 : CD-1系マウス (7~10週齢、体重 雄 28~39g、雌 22~33g)

1群雌雄各5匹

試験方法 : 検体をコーンオイルに懸濁し、0、100、500及び1,000mg/kgの用量で単回腹腔内投与した。なお、陰性対照群にコーンオイル、陽性対照群にシクロホスファミドを同様に投与した。

対照群及び検体投与群は、投与24、48及び72時間後、陽性対照群は24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に塗抹、一夜風乾後Wright-Giemsa染色を行って骨髓標本を作製した。

各標本について、細胞毒性を調べるために1個体あたり1,000個の赤血球を観察し、多染性赤血球数及び正染性赤血球数を計数後引き続き1,000個の多染性赤血球を観察し、その中に含まれる小核を有する多染性赤血球数を計数した。

用量設定根拠 ; 予備試験の結果、雌雄の死亡動物数を合計して求めた成績に基づき求めたLD₅₀値は1,357.7mg/kgであった。高用量にはLD₅₀値の約74%であり毒性の発現が観察され、投与72時間後に生存することが保証された1,000mg/kgを設定し、その1/2及び1/10である500及び100mg/kgを低用量に設定した。

結 果 : 骨髓標本の観察結果を表に示した。

投与後48時間に屠殺した500及び1,000mg/kg群雄及び投与後24及び72時間に屠殺した500mg/kg群雌の平均体重変化が統計学的に有意に減少した。投与後48時間に屠殺した雄の平均体重変化には用量相関性が認められた。500及び1,000mg/kg群雄の平均体重の減少(同時陰性対照群の3~4倍)に統計学的な有意差が認められた。500及び1,000mg/kg群の雌雄に臨床症状として活動性低下が認められ、雌より雄でより顕著であった。その他の死亡や臨床症状は観察されなかった。投与群及び対照群では、平均多染性赤血球と全赤血球の比に統計学的に有意な減少は認められなかった。

投与後72時間に屠殺した100mg/kg群雌で小核を有する多染性赤血球の出現頻度が統計学的に有意に増加した。この増加は試験施設の背景溶媒対照データ(0~7.4)の範囲内であり、その他の投与群に小核を有する多染性赤血球の出現頻度の統計学的に有意な増加は認められなかったことから、投与に関連したものとは考えられない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (/kg 体重)	性	観察動物数	MNPCE (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) (平均値±SD)	
24	陰性対照 (コーンオイル)	10mL	雄	5	0.2±0.4	0.40±0.05	
			雌	5	1.0±1.4	0.40±0.10	
	検体	100mg	雄	5	0.2±0.4	0.42±0.07	
			雌	5	0.8±0.8	0.48±0.06	
		500mg	雄	5	0.1±0.3	0.43±0.05	
			雌	5	2.0±2.9	0.38±0.12	
		1,000mg	雄	5	0.8±1.3	0.42±0.09	
			雌	5	0.8±0.8	0.41±0.06	
	陽性対照 (シクロホスファミド)	40mg	雄	5	18.3±10.9**	0.43±0.06	
			雌	5	12.0±12.3*	0.48±0.05	
48	陰性対照 (コーンオイル)	10mL	雄	5	0.6±1.3	0.48±0.05	
			雌	5	0.4±0.9	0.50±0.07	
	検体	100mg	雄	5	0.0±0.0	0.44±0.07	
			雌	5	0.2±0.4	0.42±0.08	
		500mg	雄	5	0.6±0.9	0.54±0.09	
			雌	5	0.2±0.4	0.49±0.02	
	1,000mg	雄	5	0.2±0.4	0.46±0.07		
		雌	5	0.0±0.0	0.45±0.08		
	72	陰性対照 (コーンオイル)	10mL	雄	5	0.2±0.4	0.56±0.02
				雌	5	0.0±0.0	0.52±0.04
検体		100mg	雄	5	0.0±0.0	0.51±0.02	
			雌	5	1.6±1.1*	0.63±0.09	
		500mg	雄	5	0.0±0.0	0.50±0.07	
			雌	5	0.8±0.8	0.62±0.04	
1,000mg		雄	5	0.0±0.0	0.51±0.03		
		雌	5	0.4±0.9	0.58±0.06		

Dunnett 検定 (片側) *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, 値は平均値

PCE: 多染性赤血球数, NCE: 正染性赤血球数

MNPCE: 多染性赤血球数 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数

以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

3) DNA 損傷誘発性

① 細菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay)

(資料 No. 7-2)

試験機関 :

報告書作成年 : 1980 年

検体の純度 : 99% (アミノメチルホスホン酸)

試験方法 : 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い
賀田らの Rec-assay 法で DNA の損傷の誘発性を検定した。

用量設定根拠 ; 慣行により 2,000 μ g/ディスクを最高濃度として実施した。

結 果 :

薬 物	濃 度 (μ g/ディスク)	阻止帯の径(mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照(H ₂ O)		0	0	0
検 体	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1,000	0	0	0
	2,000	0	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	6	5	1
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	9.5	2	7.5

検体投与群では代謝活性化を含め、最高濃度である 2,000 μ g/ディスクにおいても
両株に生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照のマイトマイシン C 存在下では、
両株の間に著明な生育阻止の差が生じた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

② ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (資料No. 参考-7)

試験機関 :

報告書作成年 : 1991 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 94.38% (アミノメチルホスホン酸)

供試動物 : Fischer 344 系雄ラット 2 匹 (15~19 週齢、体重 315、346g)

試験方法 : 雄ラットの肝臓をコラゲナーゼ溶液で灌流し、肝小葉を摘出して肝細胞を分離して初期培養細胞を調製した。カバーガラスを入れた培養皿にグルタミン、ゲンタマイシン硫酸塩及び 10% ウシ胎児血清を添加した Williams' Medium E を入れ、細胞を接種して約 1.5~2 時間培養後、培養基を洗浄してカバーガラスに付かない非生存細胞を除去した。培養細胞に、第 1 回試験では 0、5、10、50、100、500、1,000、2,500 及び 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、第 2 回試験では第 1 回試験を確認するため 0、5、10、50、100、250、500、1,000、2,500、3,800 及び 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度の検体と 10 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ の ^3H -チミジンに同時に暴露し、約 19 時間培養した。試験群、陽性対照群及び無処理対照培地群の各群それぞれ培養基 3 本を使用した。培養後、細胞を培養培地で洗浄し、1% クエン酸ナトリウム液で膨潤して氷酢酸/エタノール溶液で固定後、脱イオン水で洗浄した。カバーガラスをスライドの上に封入し、感光乳剤に -20°C で 7 日間浸して露出した。細胞を 1% メチルグリーン・ピロニン・Y 液で染色後、カバーガラスを乾燥して評価した。染色標本の UDS 採点前に、細胞毒性の有無についてスライドを調べた。染色標本は、1 濃度当たり 3 枚のスライド、90 個の細胞を採点した。各試験の各濃度につき、核当たりの銀粒子数の平均値及び細胞修復率を求めた。

陽性対照として 2-アセチルアミノフルオレンを用いた。結果の評価は、すべての用量群の核当たりの平均銀粒子数が 5 を超える場合を陽性、すべての用量群の核当たりの平均銀粒子数が 0 未満及び細胞修復率が 10% 未満の場合を陰性とした。

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モンサント株式会社にある。

結 果：結果を次表に示した。

(n=3 の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	第1回試験			第2回試験		
		銀粒子数/核 (平均 \pm SE)	中央値	細胞 修復率 (%)	銀粒子数/核 (平均 \pm SE)	中央値	細胞 修復率 (%)
培地対照 (DMSO)	—	-15.3 \pm 0.7	-14.9	3	-12.6 \pm 0.5	-13.5	2
検体	5	-17.3 \pm 1.4	-17.6	0	-11.1 \pm 0.9	-10.8	1
	10	-14.1 \pm 2.5	-16.2	6	-12.7 \pm 2.2	-12.8	2
	50	-13.9 \pm 3.1	-12.2	1	-13.0 \pm 1.9	-12.2	1
	100	-17.8 \pm 3.1	-17.6	2	-12.3 \pm 1.5	-12.2	1
	250	NT	—	—	-11.5 \pm 1.3	-12.2	2
	500	-18.6 \pm 2.7	-18.9	0	-11.8 \pm 1.1	-12.2	2
	1,000	-13.1 \pm 2.2	-13.5	0	-11.6 \pm 1.2	-11.5	2
	2,500	-12.9 \pm 1.8	-12.2	1	-8.8 \pm 1.5	-8.8	1
	3,800	NT	—	—	Toxic	—	—
	5,000	Toxic	—	—	Toxic	—	—
陽性対照 (2-AAF)	3	9.4 \pm 3.7	10.8	63	19.7 \pm 3.0	20.3	85

NT： 検査せず

Toxic： 細胞毒性が認められ判定不能

2-AAF： 2-アセチルアミノフルオレン

第1回、第2回試験とも5,000 $\mu\text{g/mL}$ まで試験を行い、第1回試験の5,000 $\mu\text{g/mL}$ 、第2回試験の3,800及び5,000 $\mu\text{g/mL}$ で細胞毒性が認められた。第1回の5、10、50、100、500、1,000及び2,500 $\mu\text{g/mL}$ 、第2回試験の5、10、50、100、250、500、1,000及び2,500 $\mu\text{g/mL}$ では、いずれも陰性反応であった。

一方、陽性対照では核当たりの銀粒子数及び細胞修復率が増加し、強い陽性反応を示した。

以上の結果から本試験条件下において、検体は肝細胞に不定期DNA合成を誘発せず、DNA修復性は陰性であると判断された。

3. 製剤

3.1 グリホサートイソプロピルアミン塩 41%液剤

(1) 急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 1-B-1)

試験機関 :

報告書作成年 : 1998 年 [GLP 対応]

検体の純度 : イソプロピルアミン塩 41.0%液剤 (グリホサート酸として 30.4%)

[組成]	グリホサートイソプロピルアミン塩	41%
	水、界面活性剤等	59%

供試動物 : SD 系ラット、7 週齢、体重 ; 雄 200~209g、雌 150~161g

1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間観察

投与方法 : 検体を原液のまま、単回強制経口投与した。動物は投与前一夜 (約 16 時間) 絶食した。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死の確認を投与日は頻繁に、それ以降は 1 日 1 回、14 日間観察した。体重は投与開始前、投与後 1、2、3、7、10 及び 14 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	0、5、000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5、000	
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間及び消失時間	症状発現例なし	投与後1日から発現 投与後2日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5、000	

死亡は認められなかった。臨床症状として、雌2匹で下痢及び肛門周囲の汚れが投与1日に認められた。雄で投与後1日に、雌で投与後1及び3日に対照群に対して有意な体重の低値が認められたが、総体重増加量については雌雄とも有意差は認められなかった。

肉眼的病理検査において、主要な組織器官に特記すべき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日本モンサント株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 1-B-2)

試験機関 :

報告書作成年 : 1998年 [GLP 対応]

検体の純度 : イソプロピルアミン塩 41.0%液剤 (グリホサート酸として 30.4%)

[組成] グリホサートイソプロピルアミン塩 41%
水、界面活性剤等 59%

供試動物 : ICR系 SPF マウス (Crj: CD-1)、7週齢、体重 ; 雄 28.3~30.6g 雌 20.1~24.3g
1群雌雄各5匹、

観察期間 : 14日間観察

投与方法 : 検体を原液のまま、単回強制経口投与した。動物は投与前一夜 (約16時間) 絶食した。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死の確認を投与日は頻繁に、それ以降は1日1回、14日間観察した。体重は投与開始前、投与後1、2、3、7、10及び14日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、5,000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5,000	
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間及び消失時間	投与後6時間から発現 投与後1日に消失	症状発現例なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5,000	

死亡は認められなかった。臨床症状として、雄1匹で下痢が投与後6時間に認められた。投与後1日に、軽微な体重の低値傾向が認められたが、それ以降については試験期間を通じて雌雄とも対照群と同様に増加した。

肉眼的病理検査において、主要な組織器官に特記すべき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日本モンサント株式会社にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 1-B-3)

試験機関 :

報告書作成年 : 1998 年 [GLP 対応]

検体の純度 : イソプロピルアミン塩 41.0%液剤 (グリホサート酸として 30.4%)

[組成] グリホサートイソプロピルアミン塩 41%
水、界面活性剤等 59%

供試動物 : SD 系ラット、7 週齢、体重 ; 雄 220~238g、雌 170~182g

1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間観察

投与方法 : 検体を原液のまま、ガーゼ (4×5cm) にのせ、刈毛した動物の背中の皮膚に貼付しさらにポリエチレンフィルム及びサージカルテープで固定した。塗布 24 時間後、被覆物を取り除き、皮膚に残った検体を、水で湿らせたガーゼで拭き取った。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死の確認を投与日は頻繁に、それ以降は 1 日 1 回、14 日間観察した。体重は投与開始前、投与後 1、2、3、7、10 及び 14 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経 皮
性 別	雌雄
投与量 (mg/kg)	0、2,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 2,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	症状発現例なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2,000

死亡は認められなかった。観察期間中、臨床症状は認められなかった。雌雄とも投与後 1 日に体重の減少あるいは体重増加抑制が認められた。しかしその後は対照群と同様に増加した。

肉眼的病理検査において、主要な組織器官に特記すべき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日本モンサント株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 2-B-2)

試験機関 :

報告書作成年 : 2000 年

検体の純度 : イソプロピルアミン塩 41.0%液剤 (グリホサート酸として 30.4%)

[組成] グリホサートイソプロピルアミン塩 41%
水、界面活性剤等 59%

供試動物 : 日本白色種ウサギ、14 週齢、体重 2.30~3.00kg、1 群雌 6 匹

観察期間 : 3 日間観察

投与方法 : 検体 0.5mL を原液のまま、2.5×2.5cm のリント布に塗布し、剪毛した背部左側皮膚に 4 時間閉塞貼付した。貼付終了後に被覆物を除去し、適用部位を水で湿らせた脱脂綿で清拭した。背部右側は無処理対照皮膚とした。

観察項目 : リント布除去後 1、24、48 及び 72 時間に、投与部位の刺激性変化を観察し、Draize の基準に従って採点した。得られた評点から皮膚一次刺激指数 (Primary Irritation Index, P. I. I.) を算出し、刺激性強度を分類した。また、一般状態も観察し、体重を測定した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

動物 番号	観察項目	最高 評点*	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1101	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1104	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1105	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1106	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合 計			0	0	0	0
P. I. I.			0			

* 判定基準の最高評点

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モンサント株式会社にある。

刺激性変化は認められず、分類は、無刺激物であった。

一般状態及び体重に検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、グリホサートイソプロピルアミン塩 41%液剤はウサギの皮膚に対して刺激性がないと判断された。

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モンサント株式会社にある。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. 2-B-1)

試験機関 :

報告書作成年 : 2000 年 [GLP 対応]

検体の純度 : イソプロピルアミン塩 41.0%液剤 (グリホサート酸として 30.4%)

[組成]	グリホサートイソプロピルアミン塩	41%
	水、界面活性剤等	59%

供試動物 : 日本白色種ウサギ、14 週齢、体重 2.46~2.67kg、非洗眼群雌 6 匹、洗眼群雌 3 匹

観察期間 : 10 日間観察

投与方法 : 検体を原液のまま 0.1mL を左眼に投与し、3 匹は 2~3 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。右眼は無処理対照眼とした。

観察項目 : 投与後 1、24、48 及び 72 時間、4 から 11 日までは毎日、刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。刺激性強度は、Kay & Calandra の方法に従って分類した。また、一般状態も観察し、体重を測定した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社にある。

群	動物 番号	観察項目		最高 評点	適用後時間											
					1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日	10 日	
非洗 眼群	1101	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			分泌物*	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1102	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
			浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			分泌物*	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1103	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
			面積	4	2	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
		虹彩		2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	0	
			浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			分泌物*	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	1104	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
			面積	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
			浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			分泌物*	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	1105	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
			面積	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	
浮腫			4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
分泌物*			3	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
1106	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0		
		面積	4	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0		
	虹彩		2	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0		
		浮腫	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		分泌物*	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
合計**		660	83	112	67	57	25	23	11	6	6	6	0			
平均		110	13.8	18.7	11.2	9.5	4.2	3.8	1.8	1.0	1.0	1.0	0.0			

*: 農林水産省の指針では要求されていない

** : Draize 法による評価点 (最高 110 点)

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モンサント株式会社にある。

群	観察項目		最高 評点	適用後時間										
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日	10 日
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0.7	1.0	0.7	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4	0.7	1.0	0.7	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	1.0	1.7	1.0	1.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		浮腫	4	1.3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物*	3	1.7	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計**		110	11.3	9.7	6.0	3.7	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*：農林水産省の指針では要求されていない

**：Draize 法による評価点（最高 110 点）

洗眼群の適用後時間毎の数値は、申請者が個別採点表より算出した。

非洗眼群は、投与後 1 時間から角膜、虹彩及び結膜に刺激性変化が認められ、投与後 24 時間での刺激性変化が最も強かった。投与後 48 時間以降刺激性変化は緩やかに回復し、投与後 10 日までに全ての刺激性変化が消失した。各観察時期の平均値の最大値は 18.7 であり、刺激性強度の暫定的評価は「軽度の刺激性あり」に分類されたが、適用 96 時間後の平均値が 4.2 であったことから、最終評価では一段階上昇し「中等度の刺激性あり」と判定された。

洗眼群は、投与後 1 時間から角膜及び結膜に刺激性変化が認められ、投与後 1 時間での刺激性変化が最も強かった。投与後 24 時間からは刺激性変化は減少し、投与後 5 日までに全ての刺激性変化が消失した。各観察時期の平均値の最大値は 11.3 であり、刺激性強度の暫定的評価は「極く軽度の刺激性あり」に分類されたが、適用 96 時間後の平均値が 1.3 であったことから、最終評価では一段階上昇し「軽度の刺激性あり」と判定された。

一般状態及び体重に検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、グリホサートイソプロピルアミン塩 41%液剤はウサギの眼粘膜に対して、中等度の刺激性があるものと判断された。また、洗眼による刺激性の軽減が認められた。

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モンサント株式会社にある。

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 3-B-1)

試験機関 :

報告書作成年 : 2000 年

検体の純度 : イソプロピルアミン塩 41.0%液剤 (グリホサート酸として 30.4%)

[組成]	グリホサートイソプロピルアミン塩	41%
	水、界面活性剤等	59%

供試動物 : ハートレー系モルモット、7 週齢、体重 370~434g、1 群雌 20 匹

観察期間 : 感作開始日から惹起終了後 48 時間までの 30 日間。

試験操作 : [Buehler 法]

投与量設定根拠 ; 予備試験の結果をもとに感作及び惹起時の検体処理濃度を決定した。

4 匹の動物を用い、10、25、50%検体を 0.2mL、6 時間閉塞貼付し、24 及び 48 時間後に皮膚反応を観察した。その結果、いずれの濃度でも刺激性反応は認められなかった。従って、本試験での感作及び惹起濃度とも 100%濃度を設定した。

感 作 ; 刈毛・剃毛した左側胴部に、100%検体 0.2mL をパッチ (直径 2.5cm) に塗布し、6 時間閉塞貼付した。同様の処理を 7 日間隔で合計 3 回行った。検体非感作群には注射用水を同様に処理した。

惹 起 ; 最終感作 14 日後に、刈毛・剃毛した右側胴部に、感作時と同様に 100%検体 0.2mL をパッチ (直径 2.5cm) に塗布し、6 時間閉塞貼付した。

観察項目 : 惹起開始 24 及び 48 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。全試験期間を通じ全動物の死亡の有無及び一般状態を毎日観察した。体重は感作開始日 (0 日)、最終感作日 (14 日)、惹起日 (28 日) 及び惹起 2 日後 (30 日) に測定した。

各観察時に下記に示した基準に従い判定点した。感作群と非感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

紅斑及び痂皮形成	
紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし重度紅斑	3
高度紅斑 (beet redness) からわずかな痂皮形成 (深部損傷) まで	4
浮腫の形成	
浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫 (かろうじて識別できる)	1
軽度浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫 (約 1mm の膨隆)	3
高度浮腫 (約 1mm の膨隆と暴露範囲を超えた広がり)	4

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モンサント株式会社にある。

結果：各観察時間における結果を下表に示す。

群	感作	惹起	動物数	観察時間 (時間)	感作反応動物数				平均 評点	陽性 反応 動物数	感作率 (%)
					皮膚反応評点						
					0	1	2	3			
検体 感作群	100%	100%	20	24	20	0	0	0	0	0	0
	検体	検体		48	20	0	0	0	0	0	0
検体 非感作群	注射	100%	20	24	20	0	0	0	0	0	0
	用水	検体		48	20	0	0	0	0	0	0

検体感作群及び検体非感作群で皮膚反応は認められなかった。

一般状態及び体重に検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、グリホサートイソプロピルアミン塩 41%液剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。