

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

マウスを用いた混餌投与による90日間反復経口投与毒性試験

(資料No.17)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1996年

検体純度：

供試動物： Crj:CD-1(ICR)系マウス、1群雌雄各10匹(投与開始時6週齢)
体重範囲；雄 26.0~30.4g、雌 21.3~25.7g

投与期間： 13週間(1995年9月12日~1995年12月14日)

投与方法： 検体を0、2000、10000及び50000ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は試験開始前及び投与開始8週後に調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間中に死亡例は発生しなかった。

50000ppm群雌雄動物において投与開始2~3日後から投与期間を通じてほぼ全動物に軟便が認められ、雄2匹には肛門周囲のびらん、4匹に一過性の血便が認められた。その他の群では検体投与に関連した変化は観察されなかった。

体重変化； 投与期間中週1回、全生存動物の体重を測定した。

50000ppm群雄動物は対照群の動物と比較して7.5~10.0%体重増加が抑制され、投与開始後1~4週時、6及び13週時に統計学的有意差(Dunnettの一对比較検定)が認められた。

同群雌動物及び他の投与群動物には有意差を伴う変化はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率；投与期間中週1回、全生存動物の1日間摂餌量を測定し、食餌効率を算出した。

対照群と比較して50000ppm及び10000ppm群に統計学的有意差(Dunnett

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

の対比較検定)を伴った減少が認められた。それらは、50000ppm群雄動物で投与開始1週後及び6週後にそれぞれ20.7%、16.6%、同群雌動物は1~3及び5~13週後に16.4~31.9%、又、10000ppm群雌動物は投与開始1、3、7、8及び10~13週後に15.1~25.4%の減少であった。食餌効率については、50000ppm群雄動物で投与開始1週後に有意差を伴った減少が認められた以外に明らかな差はみられなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は、以下のとおりであった。

投与量(ppm)		2000	10000	50000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	311.24	1626.09	7988.94
	雌	422.56	1955.68	9339.02

血液学的検査； 投与13週後に全生存動物の尾静脈から血液を採取し、以下の項目について測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、総白血球数、白血球型別百分率

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

50000ppm群雄動物における赤血球数の減少以外には有意差を伴った変化はみられなかった。

臓器重量； 投与終了時に全生存動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓(左右)、副腎(左右)、精巣(左右)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

対照群と比較し、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

50000ppm群雌動物の肝臓重量対体重比、10000及び50000ppm群雌動物の腎臓重量及び対体重比に有意差を伴った減少が認められた。2000ppm群雌動物の左側副腎重量にも有意差を伴った減少が認められたが、一側性の変化であり、対体重比には有意差がなく、高用量群では変化がみられなかったことから、偶発的変化と考えられた。

肉眼的病理検査； 投与終了時の全動物について検査した。

検体投与に関連した変化として、50000ppm群の雄全例及び雌9例に盲腸の拡大が観察された。雄2例には結腸の拡大もみられた。これらの所見以外に、10000ppm群雄1例に腎臓及び副腎の肥大、2000ppm群雄1例に精巣片側の欠如及び精巣上体の萎縮、2000ppm群雌1例に眼球混濁が認められたが、50000ppm群動物にはこれらの病変は認められず、偶発的な所見と考えられた。

病理組織学的検査； 対照群及び高用量群の全動物の以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳、肝臓、心臓、肺(気管支を含む)、腎臓、脾臓、膵臓、精巣、卵巣、胃、脊髄(腰部)、坐骨神経、ハーダー腺、眼窩外涙腺、盲腸、肉眼的病変部

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

認められた主要な病変を下表に示す。

検体投与に起因したと考えられる病変は観察されなかった。対照群及び50000ppm群雄動物の腎臓間質に単核細胞浸潤、尿細管の好塩基性変化が認められたが、軽微な変化であり、これらの所見には対照群と比較して発生頻度、程度及び特徴に差が認められず、しばしば観察される自然発生的な病変であることから、偶発的な所見と考えられた。

以上の結果から、本剤の13週間混餌投与による90日間反復投与毒性試験における影響として、50000ppm群雌雄動物に軟便、体重増加の抑制、摂餌量の減少、10000ppm群雌動物に摂餌量の減少が認められたので、無毒性量は雄10000ppm(1626mg/kg/day)、雌2000ppm(423mg/kg/day)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TAC普及会にある。

イヌを用いた強制投与による90日間反復経口毒性試験

(資料No.18)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1996年

検体純度：

供試動物： ビーグル、1群雌雄各4匹、投与開始時6ヶ月齢
体重範囲；雄 7.4~10.4kg、雌 7.0~8.6kg

投与期間： 13週間(1995年10月31日~1996年1月29日)

投与方法： 検体をカプセルに封入し、0、30、100及び300mg/kgの用量で13週間にわたり
強制経口投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。投与期間中、死亡例は発生しな
かった。

300mg/kg群の雌雄全動物に軟便が継続的又は断続的に認められた。なお、
100mg/kg群雄1例に軟便、同群雌1例に嘔吐及び軟便が観察されたが、い
ずれも1回のみが発現であることから毒性影響とは考えられなかった。

体重変化； 投与期間中週1回測定した。
300mg/kg群雌雄動物に体重増加の抑制が認められた。

摂餌量； 毎日1回300gを給餌し、翌朝残量を記録した。
特記すべき変化はなかった。

血液学的検査； 投与開始前、投与開始5週後及び13週後に全動物について、橈側皮静脈か
ら血液を採取し、以下の項目を検査した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、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(MCHC)、白血球数、白
血球型別百分率、血小板数

対照群と比較して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TAC普及会にある。

表.血液学的検査において統計学的有意差の認められた項目

有意差が認められた変化はいずれも偶発的で検体投与に関連しないと考えられた。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目について測定した。

GOT、GPT、総蛋白、アルカリホスファターゼ(ALP)、グルコース、アルブミン、A/G比、コレステロール、トリグリセリド、リン脂質、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、カルシウム、無機リン
投与開始後の試料について、対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与開始13週後に300mg/kg群雌動物のGOT増加に有意差が認められた。これ以外の変化は偶発的で検体投与に関連しないと考えられた。

尿検査； 投与開始前及び投与開始13週後に採取した尿について、以下の項目を測定した。

尿量、色調、比重、pH、蛋白、グルコース、ウロビリノーゲン、ビリルビン、ケトン体、潜血、沈渣

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

投与開始後の試料において、対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

300mg/kg群雌動物の尿比重が有意差を伴って増加したが、この群では投与開始前から比重の増加傾向がみられ、投与前の値と比較して差がなく、検体投与の影響によるものかどうかは不明であった。

眼科学的検査； 投与前及び投与開始13週後の全動物について散瞳剤を用いて検査した。特記すべき異常は観察されなかった。

臓器重量； 投与終了時に全動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓(左右)、脾臓、副腎(左右)、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、精巣(左右)、前立腺、子宮、卵巣(左右)

対照群と比較し、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

30及び300mg/kg群雌動物の下垂体重量が減少し、30mg/kg群雄動物の下垂体重量対体重比が増加したが、いずれも同試験機関の背景対照値(下垂体重量雌：42.67~83.07mg、下垂体重量対体重比雄：0.35~0.95)の範囲内にあり、検体投与に関連しない変化と考えられた。

肉眼的病理検査； 投与終了時の全動物について剖検した。

検体投与に関連した病変と考えられる所見は観察されなかった。300mg/kg群及び30mg/kg群動物に小型の前立腺が観察されたが、これは、病理組織学的検査において腺組織の未成熟によるものであり、検体投与に関連しない所見と考えられた。

病理組織学的検査； 対照群及び高用量群全動物から以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、胸腺、気管、唾液腺、胆嚢、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、膣、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、乳腺、膀胱、大腿骨及び胸骨(骨髄を含む)、脊髄、坐骨神経、骨格筋(大腿)、皮膚、腸間膜リンパ節、大動脈、眼球(視神経を含む)、涙腺

認められた主要な病変を次表に示す。

300mg/kg群雌雄動物の回腸粘膜固有層に観察された軽度な水腫及び結腸粘膜にみられた軽度な単核細胞浸潤の発現頻度は他の群より高く、検体投与に関連した所見と考えられた。他の所見はいずれも対照群と比較して発現頻度及び特徴に差がなく、自然発生的な病変としてしばしば認められることから、偶発的な変化と判断された。

表. 主な病理組織学的検査所見及び発生頻度

項目	発生頻度	300mg/kg群				対照群			
		雄	雌	合計	平均	雄	雌	合計	平均

以上の結果から、本剤の強制経口投与による90日間反復経口投与毒性試験における影響として、300mg/kg群雌雄動物に軟便、体重増加の抑制、回腸粘膜固有層に水腫及び結腸粘膜に単核細胞浸潤又、300mg/kg群雌雄動物にGOT値の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも100mg/kg/day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TAC普及会にある。

(6) 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与神経毒性試験 (資料No.21-2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2005年

検体純度:

供試動物: Fischer系F344/DuCrjラット、1群雌雄各10匹、開始時6週齢
体重: 雄108~131g、雌72~102g

投与期間: 90日間(雄2003年11月25日~2004年2月23日、雌2003年12月2日~
2004年3月1日)

投与方法: 検体を0、2000、10000及び50000ppmの濃度で飼料に混入し、90日間にわたり随
時摂食させた。検体を混入した飼料は2週間に1~2回調製した。

用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

死亡率; 生死を毎日観察した。死亡例は発生しなかった。

一般状態; 一般状態を毎日観察した。

投与終了時の観察所見を下表に示す。

投与期間中、50000ppm群雌雄全例に、検体投与に関連した下痢が発生し、これによる肛門の汚れ及び周囲にびらんが観察された。10000ppmの雄1例には投与期間中の数日間、眼球突出が観察されたが投与終了時には消失した。

体重変化; 投与開始前、投与期間中毎週1回及び剖検日に全動物について体重測を測定した。対照群と比較して、50000ppm群の雄動物は全測定時点、雌動物は試験10、12及び13週を除く全ての測定時に統計学的有意差を伴った減少がみられた。

投与終了時の平均体重は、対照群に対して雄は86.2%、雌は95.8%であった。10000ppm群及び2000ppm群雌雄動物の平均体重は対照群と比較して有意差がなか

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

った。

摂餌量；投与開始前及び投与期間中毎週1回、全動物について2日間摂餌量を測定した。

対照群と比較して50000ppm群雌雄動物の平均摂餌量は投与開始1週に減少し、又、雌動物では5及び7週に増加した。これらの変化には統計学的有意差が認められた。10000ppm群及び2000ppm群雌雄動物の平均摂餌量は対照群と比較して有意差がなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量(ppm)		2000	10000	50000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	147	734	4087
	雌	172	858	5005

詳細な状態の観察；投与開始前、投与開始2週、4週、9週及び13週に全動物について以下の項目の検査を実施した。

ホームケージ(自発運動量、円背位姿勢、腹這姿勢、刺激性反応)

取扱い時(攻撃性、皮膚の色、チアノーゼ、眼球突出、眼脂、口腔粘膜の状態、流涙、瞳孔径、流涎、喘ぎ呼吸、便の状態)

オープンフィールド(立毛、眼瞼下垂、振戦、痙攣、筋収縮、歩行失調、引きずり歩行、異常歩行、呼吸数、探索行動、身づくろい、首振り、旋回、自咬、後ずさり、異常発声、その他)

対照群と比較して差が認められた項目を下表に示す。

50000ppm群雌雄動物に下痢及び立毛が観察された。

表. 詳細な状態の観察において対照群と比較して差が認められた項目及び10匹の評点平均値

機能検査；投与開始前、投与開始2週、4週、9週及び13週に、全動物について下記項目の検査を実施した。

感覚運動反応(視覚反応、接触反応、音反応、痛覚反応、空中正向反射)、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

着地時後肢開脚幅、体温、握力、自発運動量

各投与群雌雄動物の感覚運動反応の評点、着地時後肢開脚幅、体温、握力及び自発運動量の測定値は、対照群と比較して差がなかった。

眼科学的検査；投与前に全動物について検査し、投与終了時に対照群及び 50000ppm 群の動物を検査した。

投与終了時の検査では対照群及び 50000ppm 群雌雄に異常は観察されなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時に全動物について検査した。

50000ppm 群の雌雄全例に盲腸の拡張、雄 3 例及び雌 5 例に肛門周囲のびらんが観察された。

病理組織学的検査；投与終了時に各群雄 8 例及び雌 10 例にペントバルビタール麻酔下で、[2.5%グルタール/2%パラホルムアルデヒド/リン酸緩衝液(pH7.3)]固定液を用いて灌流固定した後、脳、脊髓(頸部及び腰部)、坐骨神経、脛骨神経及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、腓腹筋、左右眼球(視神経を含む)を採取し、10%中性ホルマリン水溶液中に保存した。対照群及び 50000ppm 群雌雄 5~7 例について以下の組織の病理標本を作製し、検鏡した。

前脳及び海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経及び網膜を含む眼球、脊髓の頸膨大及び腰膨大、脊髓神経節、神経線維の前根及び後根近位の坐骨神経、近位の脛骨神経(膝部)及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、腓腹筋

対照群及び 50000ppm 群雌雄動物の検査組織に異常所見はみられなかった。

以上の結果から、ラットに本剤を 90 日間飼料混入投与した神経毒性試験における影響として、50000ppm 群雌雄動物に下痢、肛門周囲の汚れ及びびらん、立毛、体重増加量の減少が認められたが、詳細な状態の観察において神経症状は観察されず、又、機能検査、眼科学的検査、肉眼的病理検査、脳及び神経関連組織の病理学的検査において異常がみられなかったことから、神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 50000ppm(雄 4087 mg/kg/day、雌 5005 mg/kg/day)であると判断される。

申請者注：

食品安全委員会(2016年7月)においては、「本試験において、50000ppm 投与群の雌雄動物で下痢等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 10000ppm(雄 734mg/kg/day、雌 858mg/kg/day)であると考えられた。亜急性神経毒性は認められなかった。」と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

(7) 1 年間反復投与経口毒性及び発がん性試験

ラットを用いた飼料混入投与による 2 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 No.19)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1999 年

検体純度：

供試動物： Fischer(F-344/DuCrj)系ラット、投与開始時 6 週齢
2 年間反復投与毒性及び発がん性群： 1 群雌雄各 50 匹
衛星群： 1 群雌雄各 14 匹
体重：雄 102.8~125.6g、雌 84.3~102.2g

投与期間： 2 年間反復投与毒性及び発がん性群： 104 週間
(1996 年 1 月 30 日~1998 年 1 月 27 日)
衛星群： 78 週間
(1996 年 1 月 30 日~1997 年 7 月 30 日)

投与方法： 検体を 0、500、4000 及び 32000ppm の濃度で飼料に混入し、104 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 3 ヶ月間に 1 回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察し、投与開始後 26 週以降は、体表面の腫瘍を検出する目的で毎週 1 回触診検査した。

投与開始直後から下痢又は軟便が 32000ppm 群の雌雄全動物に継続的に認められ、検体投与の影響と考えられた。その他に検体投与に関連した変化はみられなかった。

投与期間終了時の死亡率を下表に示す。

対照群と比較して、いずれの投与群においても雌雄動物の死亡率に統計

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

学的有意差はなかった(Fisher の正確検定)。

体重変化； 投与開始から 13 週間は週 1 回、以後、4 週間に 1 回全ての生存動物の体重を測定した。

32000ppm 群雄動物は投与開始直後から投与終了時まで、同群の雌動物は投与開始 2 週以降投与終了時まで、4000ppm 群では雄動物の投与開始後 84~88 週に、対照群と比較して有意差を伴う体重増加量の抑制が認められた。投与終了時の各群平均体重(g)を下表に示す。

摂餌量及び食餌効率；投与開始後 13 週間は週 1 回、以後、4 週間に 1 回、ケージ(2 匹収容)あたりの摂餌量を測定し、投与開始後 13 週間の食餌効率を算出した。

各投与群の摂餌量に有意差を伴う増減が散発的にみられたが、いずれも一過性の軽度な変化(最大 9.0%)で、正常範囲内の変動と考えられた。

食餌効率について、32000ppm 群雄動物は投与開始後 13 週間までのいくつかの時点で有意差を伴って減少した。同群雌動物においても第 4 週に有意差を伴う減少がみられたが、これについては一過性の軽度な変化であり、正常範囲内の変動と考えられた。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は、下表のとおりであった。

投与量(ppm)		500	4000	32000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	25.0	201	1750
	雌	29.7	239	2000

尿検査； 投与開始 26、52 及び 78 週後に衛星群の各群雌雄各 10 匹、104 週後には最終計画屠殺の各群雌雄各 10 匹について日局注射用水 5mL を強制経口投与後、3 時間の尿を採取して新鮮尿試料とし、以後、絶食、給水下で約 17 時間の蓄尿を採取して以下の項目を検査した。

新鮮尿：潜血、ケトン体、グルコース、蛋白、色調、沈渣

蓄尿：尿量、比重

投与終了の 104 週検査時に、32000ppm 群雌動物 3 例に蛋白の強陽性が見られ、又、対照群と比較して有意差を伴う尿量の増加が認められた。これらの変化は後述する腎臓の組織学的変化と関連があると考えられた。32000ppm 群雄動物及び他の投与群雌雄動物にはいずれも特記すべき変化は認められなかった。

血液学的検査； 可能な限り尿検査に用いた動物各群雌雄各 10 匹について、絶食後に頸静脈から採血し、以下の項目を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、血小板数、白血球数、白血球型別百分率

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

32000ppm 群雌雄動物において 26、52 及び 78 週に赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量が減少した。さらに、同群雄動物には 52 週に血小板数及び白血球数の増加、78 週に血小板数の増加が認められた。4000ppm 群では雌動物において 26 週に赤血球数の減少、雄動物では 52 週に赤血球数及びヘマトクリット値が減少した。

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、以下の項目について測定した。

GOT、GPT、アルカリホスファターゼ(ALP)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ -GTP)、グルコース、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

32000ppm 群では雌雄動物ともアルブミン値が減少し、同群雄動物では 52 週に γ -GTP、ALP 及び総ビリルビンが増加した。その他に統計学的有意差が認められた変化は、継続しない変化あるいは投与量に関連しないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

眼科学的検査； 投与開始前に全群の動物を、104 週時には対照群及び 32000ppm 群各 12 匹について検査した。

検体投与に関連したと考えられる異常はみられなかった。

臓器重量； 投与後 79 週時及び投与終了時(105~106 週)に各群雌雄各 10 匹について以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

32000ppm 群雌雄動物に腎臓重量対体重比の増加が認められた。この変化は腎臓の組織学的変化に関連した変化であると考えられた。統計学的有意差がみられた脳、肝臓及び副腎の変化は、対応する病理組織学的検査で異常が認められなかったことから、毒性影響ではなく、体重増加の抑制に伴う変化と考えられた。

肉眼的病理検査； 途中死亡、切迫屠殺、中間屠殺動物及び試験終了時の全生存動物について剖検を実施した。

32000ppm 群では、79 週に計画屠殺した雌雄動物において、大腸に内腔拡張の所見動物数が増加し、検体投与の影響と考えられた。この所見について、検査時期別の発現頻度を次頁の表に示す。

32000ppm 群及び 500ppm 群雌動物の胸腺退縮及び 4000ppm 群雌動物の卵巣萎縮に有意差を伴う増加が認められたが、病理組織学的検査において関連した変化が認められず、投与量との関連性もみられず、これら病変所見の頻度は自然発生の範囲内であり、検体投与の影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表. 肉眼的病理検査における大腸の内腔拡張所見発現頻度

大腸における病変以外に発現頻度の増加に統計学的有意差がみられた所見を下表に示す。

病理組織学的検査；全群の途中死亡、切迫屠殺、中間屠殺動物、試験終了時の対照群及び 32000ppm 群全生存動物について以下の組織の病理標本を作製し、検鏡した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、肺、気管、気管支、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、胸腺、唾液腺(顎下腺、舌下腺)、膀胱、骨及び骨髓(胸骨、大腿骨)、骨格筋(大腿)、大動脈、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、精巢、精巢上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膈、乳腺、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、眼球(視神経を含む)、皮膚、ハーダー腺、眼窩外涙腺、肉眼的病変部

500ppm 群及び 4000ppm 群の計画屠殺動物については、肺、肝臓、腎臓及び肉眼的病変部を検査した。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 1 に示す。検体投与に起因すると考

えられた病変として、32000ppm 群雌動物及び4000ppm 群雌動物の腎臓に糸球体硬化及び32000ppm 群雌雄動物尿管上皮の好酸性顆粒/硝子滴が観察され、これらの発現頻度に統計学的有意差が認められた。79週に屠殺した32000ppm 群雌雄動物において肝臓に単核細胞浸潤が観察され、発現頻度に有意差がみられたが、最終屠殺動物及び全動物の比較ではこの病変所見の発現頻度が対照群より減少しており、検体投与の影響ではないと考えられた。これらの他、32000ppm 群雌雄動物にみられたいくつかの病変には統計学的有意差を伴う発現頻度の減少がみられた。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。

いずれの投与群雌雄動物においても、対照群と比較して腫瘍性病変の発現頻度に有意差を伴う増加はみられなかった。対照群を含む全群の雌雄動物に比較的高い頻度で認められた腫瘍性病変は、膵臓の島細胞腺腫、肺の気管支/肺胞腺腫、脾臓の単核細胞性白血病、下垂体の腺腫、甲状腺のC細胞腺腫、副腎の褐色細胞腫、精巢の間細胞腫、子宮内膜間質ポリープ、乳腺の線維腺腫、皮下組織の線維腫等であった。腫瘍発生の早期化傾向もみられず、担腫瘍動物数も増加しなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する104週間飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験における影響として、32000ppm 群雌雄動物に下痢、軟便、体重増加の抑制、赤血球、ヘマトクリット、ヘモグロビンの減少、血小板及び白血球の増加(雄)、尿検査において蛋白の陽性反応及び尿量の増加(雌)、肉眼的病理検査における大腸内腔拡張、病理組織学的検査では32000ppm 群雌動物及び4000ppm 群雌動物に糸状体硬化、又、32000ppm 群雌雄動物に尿管上皮の好酸性顆粒/硝子滴の発現頻度の増加、4000ppm 群の雄動物に体重増加の抑制及びヘマトクリット値の減少、同群雌雄動物に赤血球数の減少及び雌動物に糸球体硬化の発現頻度の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも500ppm(雄25.0 mg/kg/day、雌29.7mg/kg/day)であると判断される。

又、催腫瘍性はないものと判断される。

申請者注：

「ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験」において、無毒性量は500ppmと既に報告したが、4000ppm群に認められた各変化が以下の理由で毒性変化に相当しないと考えられる。

- ① 影響：体重について、雄の投与84~88週の有意な体重増加の抑制が認められた。
考察：摂取量と食餌効率はいずれの検査時期でも正常範囲にあり、加えて、84~88週以前及び以降での体重増加には有意な変動はなく、一過性である。
- ② 影響：血液学検査で、雌の26週時に、赤血球数の有意な減少、雄の52週時に赤血球数及びヘマトクリット値の有意な減少が認められた。
考察：これら雌の赤血球数及び雄の赤血球数及びヘマトクリット値の変動は、それ以前又はそれ以後の検査では認められず、一過性である。
- ③ 影響：病理組織学的検査で、4000ppm群と32000ppm群の雌の最終屠殺(105~106週)で、腎糸球体の硬化が有意に発現した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

考察：病理ワーキンググループ（PWG）によるピアレビュー（資料No.19-2）の結果、被験物質の投与に起因する糸球体硬化症の発生はないことが確認された。腎臓切片上で腎臓毒性の組織学的証拠は観察されず、雌雄ラットにおいて高頻度で観察された所見は慢性進行性腎症のみであり、その発生率及び重症度は対照群及び投与群において統計学的有意差はなく、同等であった。

なお、4000ppm群では、生化学的検査所見、尿検査所見、腎臓重量に影響がないことから、毒性学的影響はないと判断し、32000ppm群では、尿検査で蛋白陽性、尿量が有意に増加、腎臓重量に増加がみられたことから、影響ありと判断した。

以上の事柄を勘案して本試験の無毒性量は雌雄とも4000ppm(雄 201mg/kg/day、雌 239mg/kg/day)となると解釈する。

*病理ワーキンググループ(PWG)によるピアレビュー：日本、ニュージーランド及び米国出身の国際的に認知されたラットの腎臓病理の専門家で構成され、
で実施(2013年、資料No.19-2)。

申請者注(追記)：

食品安全委員会(2016年7月)においては、「本試験において、32000ppm投与群の雌雄で赤血球数減少等が認められたので、無毒性量は雌雄とも4000ppm(雄：201mg/kg/day、雌：239mg/kg/day)であると考えられた。発がん性は認められなかった。」と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表 1.[非腫瘍性病変]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表 2.[腫瘍性病変](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 TAC 普及会にある。

表 2.[腫瘍性病変](2)

5										

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表 2.[腫瘍性病変](3)

}									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表 2.[腫瘍性病変](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 TAC 普及会にある。

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

表 2.[腫瘍性病変](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 TAC 普及会にある。

表 2.[腫瘍性病変](7)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

(7-2) 1年間反復投与経口毒性及び発がん性試験

ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験における腎臓の病理組織学的変化の病理ワーキンググループレビュー

(資料 No.19-2)

検査機関：

報告書作成年： 2013年

方法：

「AK-01 原体のラットにおける混餌経口投与による慢性毒性/発がん性併合試験 (資料 No.19)」 (, 1999、以下「本試験」) で病理組織検査された全雌雄ラットの腎臓組織スライド標本を において再検査した (以下、再検査を行った の病理学者を「再検査病理学者」)。本試験におけるスライド標本は、主試験群のすべてと 78 週中間屠殺群の数が褪色しておりピアレビューに適さなかったため、これらのスライド標本のカバーガラスを外して脱染色後、H&E で再染色し、全例について再検査を行った。再検査にあたっては、現在、国際毒性病理用語・診断基準統一化推進委員会 (INHAND) により推奨されている診断基準及び命名を適用した。

この再検査結果は、病理ワーキンググループ^(注2) (PWG) において検証され、病理診断が最終化された。PWG は、雌雄ラットの選択された腎臓標本を検査し、本試験における 病理所見報告者 (以下、「病理学責任者」) により報告された自然発生性及び投与に関連する可能性のある腎臓の病変の特徴を明らかにすることを目的として設置された。その目的を達成するにあたり、ラット及びマウスに関して INHAND により推奨されている診断基準及び命名を適用した^(注3)。腎臓標本の再検査に続き、腎臓所見のヒトの健康への関連性も検討した。PWG の実施においては、レビューの過程の適切な記録はすべて保存され、GLP に準拠して行われた。

PWG は、78 週中間屠殺群のすべての雌雄ラットの腎臓組織標本、及び病理学責任者により報告された投与に関連した腎臓の病変の大部分は雌ラットに認められたため最終屠殺群の雌ラットの全腎臓組織標本を再検査した。また、再検査病理学者による観察結果を確認するため最終屠殺群の雄ラット 50 匹中最初の 10 匹の腎臓組織標本を再検査した。PWG による検査結果が再検査病理学者による診断と全般的に一致していたため、各投与群の残りの雄ラットについては PWG による検査は実施しなかった。さらに、PWG は、本試験の全投与群の雄ラットにおいて病理学責任者により報告された糸球体硬化症診断すべてを再検査した。これらの検査は、投与群または診断歴の予備知識を持たずに、コード化して実施された。

PWG レビューにおいては、各腎臓組織標本に関して慢性進行性腎症 (CPN)、好塩基性尿細管、硝子円柱、好酸性顆粒/硝子滴及び糸球体硬化症の有無を検討した。

CPN の重症度のスコアの決定は、CPN の個別の所見を記録してスコア付けを行うのではなく、腎臓切片中における CPN を構成する所見全体の存在に基づいて行われた。軽微 (グレード 1) は、限局性から多発性の症状で腎臓の組織切片の約 15% 程度まで進行したものとし、軽度 (グレード 2) は 16~40%、中等度 (グレード 3) は 41~75%、重度 (グレード 4) は腎臓組織の 76% 以上に及ぶものをさす。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

(注 1)

(注 2) 病理ワーキンググループ (PWG) :

慢性毒性/発がん性試験における腎毒性に関する専門知識を有する独立した顧問獣医病理学者及び病理医からなり、

PWG パネルメンバー :

、 DACVP
、 DACVP
、 DACVP
FRC Path、 FRCVS、 FAToxSci
、 DJSTP/JSOT
、 DACVP
、 DACVP

オブザーバー:

、 PhD、 DABT

(注 3) 国際毒性病理用語・診断基準統一化推進委員会 (INHAND)

スライド標本の PWG レビューにおいて、腎臓所見の診断に使用された診断基準及び用語は、欧州、米国及びアジア (日本、韓国及びインド) の毒性病理学会により支持されている世界的な取り組みである国際毒性病理用語・診断基準統一化推進委員会 (INHAND) の一部として推奨されたものである。これらの基準は、ウェブサイト www.goreni.com から入手可能であり、Toxicologic Pathology (Frazier, et al., 2012) に公表されている。

結果 :

78 週中間屠殺群の雌雄ラットに関して、PWG により評価された腎臓のレビュー結果を病理学責任者により報告された診断と対比して、雌に関しては表 1 に、雄に関しては表 2 に示した。また、2 年間最終屠殺群の雌ラットに関して、同様に表 3 に示した。Fisher の正確確率検定を行い 5% 水準で有意差がある場合、* を付記した (申請者)。

なお、PWG による所見の最終化はされていないが、の再検査病理学者による 2 年間最終屠殺群の雄ラットのレビュー結果を PWG レビュー結果と同様に整理し、表 4 に示した (申請者)。

PWG レビューの結果からは、全動物において高頻度で観察された症状は慢性進行性腎症 (CPN) のみであり、中間屠殺群以外の途中死亡例を含めた全動物について対照群との統計学的有意差は認められなかった。他の症状としては硝子円柱が低頻度で観察されたのみであったが、対照群と比較して有意差はなかった。

最終屠殺群において、4000 及び 32000ppm の用量で雌に糸球体硬化症の増加が観察されたという病理学責任者の結論、及び 78 週中間屠殺群の雌と最終屠殺群の雌雄において 32000ppm の用量で腎臓尿細管上皮の好酸性顆粒/硝子滴が増加したという病理学責任者の結論も PWG では確認されなかった。雌雄ラットにおいて高頻度で観察された所見は、CPN のみであり、その発生率及び重症度は対照群及び投与群において有意差はなく同等であった。

これらの変化は、すべて実験用ラットの腎臓に高頻度で観察され、自然発生性で加齢に関連した CPN を構成する様々な病変に相当するものであり、INHAND による推奨に従い、PWG は CPN のこれらの特徴を別々には診断しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

すべての雌ラットのスライド標本の PWG レビューにおいて、糸球体硬化症、硝子円柱、好酸性顆粒/硝子滴及び好塩基性尿細管の所見の大部分は CPN の構成要素であると考えられ、個別の所見としては記録されなかった。病理学責任者は「慢性腎症」という用語を使用していたが、現在、推奨されている診断用語は CPN である。ラットにおける CPN の症状には様々なものが複雑に含まれており、同じ重症度の病変の中でも個々の動物による変動が大きい。CPN に含まれる各種の構成要素としての病変を別々の病変として診断することは、現在の毒性病理学の慣例と一貫性を持たないと考えられる。さらに、CPN の個別の構成要素の診断名を与えることによって、特にすべての動物において各構成要素が一貫して記録されなくなるため、病変の発生率表の解釈が複雑になる。これに加え最近、欧州食品安全庁 (EFSA) が発表した文書では CPN の個別の構成要素は別々に診断されるべきではないと記されている (EFSA document EN-413, 2013)。

雄ラットの選択された腎臓スライド標本の PWG レビューにおいて、雌ラットにおいて見られたのと同様な用語の相違が PWG により報告された。雌ラットの場合と同様に、糸球体硬化症、硝子円柱、好酸性顆粒/硝子滴及び好塩基性尿細管の所見は CPN の構成要素であると考えられ、個別の所見としては記録されなかった。PWG は、各症例において腎臓に存在するすべての変化は CPN の構成要素と考えた。

申請者注：

なお、PWG のレビューでは、低頻度であるが CPN の構成要素である硝子円柱を個別所見として取り上げているが、これについての申請者からの問い合わせに対し「硝子様 (好酸性、均一性、タンパク様物質) 円柱だけが存在する場合に個別所見として取り上げる。この場合、CPN に関連した他の所見は観察されていない。基底膜の肥厚を伴う尿細管の再生(好塩基性尿細管)および単核球浸潤が硝子円柱とともに観察される場合は、CPN を示す所見として取り上げる。」との回答を検査機関 () より得ている。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表 1. 雌ラットの選択された腎臓所見に関する、病理学責任者 (SP) 診断と病理ワーキンググループ (PWG) 診断の比較 (78 週中間屠殺)

表 2. 雄ラットの選択された腎臓所見に関する、病理学責任者 (SP) 診断と病理ワーキンググループ (PWG) 診断の比較 (78 週中間屠殺)

表 3. 雌ラットの選択された腎臓所見に関する、病理学責任者 (SP) 診断と病理ワーキンググループ (PWG) 診断の比較 (2 年間最終屠殺)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

考察：

加齢に関連した自然発生性の慢性進行性腎症（CPN）は、実験用ラットにおいてはよく知られた所見である。雄ラットは雌ラットよりも CPN の発生率が高いと思われるが、本試験においても同様の傾向が見られる。ラットにおける CPN の原因に関してはほとんど知見がない。しかし、様々な要因、主として食餌に関連した要因が、この自然発生性の疾患の発生率及び重症度に影響を与えることが示されている。特に、食餌中のタンパク質含有量を変化させることにより、疾患を改善することが可能である（Rao et al., 1993）。一方、カロリー摂取量を制限することが、すべての食餌療法の中では最も強力である（Keenan et al., 2000）。また CPN は、免疫介在性の疾患ではないと考えられている（Gray, 1977; Barthold, 1998）。

CPN の顕微鏡下での形態は詳しく研究されており、CPN の形態学的特徴を詳しく記述した数編の主要論文が発表されている。CPN の初期の構成要素には基底膜の目立った肥厚化をとまう好塩基性尿細管（核の密集をとまう再生の証拠）が含まれる。変動する数の硝子円柱と単核球細胞浸潤も CPN 病巣の初期に観察される。病変が進行するにつれ、CPN の他の構成要素として知られる糸球体硬化症、糸球体及び尿細管の委縮、ボウマン嚢及び尿細管の拡張、線維化、好酸性タンパクの再吸収滴の存在が認識される。CPN の個別の構成要素となる病変はすべて CPN の重症度が増すにつれ顕著になる（Gray, 1977; Barthold, 1998; Hard and Khan, 2004; Owen and Heywood, 1986; Short and Goldstein, 1992）。

糸球体硬化症と好酸性タンパク再吸収滴は、CPN の構成要素として通常よくみられる病変である。対照的に糸球体硬化症そのものがラットにおいて化学物質によって誘発されることは一般的ではない（Frazier, et al., 2012）。H&E 染色によって糸球体硬化症は糸球体毛細血管の縮小、糸球体毛細血管内の好酸性物質の沈着（線維化）の増加あるいは進行性の糸球体萎縮あるいは糸球体肥大とボウマン嚢の拡張として同定することができる。高度に進行した場合には糸球体毛細血管が硬化しボウマン嚢に接着するかもしれない。ラット腎臓の近位尿細管における正常な自然発生的な背景所見あるいは CPN 病巣内には、小さな好酸性タンパク滴が認められることがある。CPN の場合には、CPN に関連したタンパク尿と尿細管による正常なタンパクの再吸収バランスが障害を受けた結果として、特にアルブミンの欠失の結果さまざまな大きさのタンパク滴が観察される（Uwagawa, et al., 1990）。CPN はヒトにおいて対応する疾病がなく、このためラットにおける化学物質による CPN の悪化は、ヒトの健康影響評価には関係がないと思われる（Hard and Khan, 2004; Hard et al., 2009）。

雌雄ラットの腎臓において、高頻度で観察された所見は CPN のみであった。他の所見は頻度が低く、発生率及び重症度が雌雄いずれにおいても投与群と対照群において同等であり、試験結果の解釈に影響を与えるものではなかった。使用された広い範囲の用量において（500ppm～32000ppm）、CPN の発生率及び重症度のいずれにおいても用量依存性はなかった。検査したすべての腎臓組織標本において腎毒性の組織学的証拠は示されなかった。PWG による腎臓所見に基づく本試験の無影響量は、32000ppm 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 TAC 普及会にある。

結論：

グリホサートの「ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験」の雌雄ラット腎臓のPWGレビューにより、糸球体硬化症の発生及び尿細管上皮の好酸性顆粒/硝子滴の存在が被験物質の投与と関連しているとした病理学責任者の報告した結論は確認できなかった。

PWGでは、検査した腎臓組織標本において腎臓毒性の組織学的証拠は観察されなかった。雌雄ラットにおいて高頻度で観察された所見は慢性進行性腎症のみであり、その発生率及び重症度は対照群及び投与群において統計学的有意差はなく同等であった。PWGによる腎臓所見に基づく本試験における無影響量は、32000ppm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 TAC 普及会にある。

参考：再検査病理学者による診断結果（注：所見は、PWG により最終化されていない）

表 4. 雄ラットの選択された腎臓所見に関する、病理学責任者（SP）診断と再検査病理学者（OA）診断の比較（2 年間最終屠殺）（レビュー報告書付録 F の付録 C に基づき申請者作成）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

REFERENCES :

Barthold, SW. (1998). Chronic progressive nephropathy. In: Monographs on Pathology of Laboratory Animals. Urinary System. (Jones TC, Hard, GC, and Mohr, U, eds) pp 228-233, Springer-Verlag, Berlin.

Environmental Protection Agency (7508W) (September 1993). R.E.D. FACTS Glyphosate EPA-738-F-93-011.

European Commission. (2002). Report for the Active Substance Glyphosate, Directive 6511/VI/99, January 21.

http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/ph_ps/pro/eva/existing/list1_en.pdf

European Food Safety Authority EXTERNAL SCIENTIFIC REPORT, Investigation of the state of the art on identification of appropriate reference points for the derivation of health-based guidance values (ADI, AOEL and AAOEL) for pesticides and on the derivation of uncertainty factors to be used in human risk assessment. Chemicals Regulation Directorate, Health & Safety Executive, UK. Supporting Publications Document EN-413. (2013).

Frazier K, Seely J, Hard G, Betton G, Burnett R, Nakatsuji S, Nishikawa A, Durchfeld-Meyer B, Bube A. (2012). Proliferative and Non-proliferative Lesions of the Rat and Mouse Urinary System. *Toxicol Pathol.* 40: 14S – 86S.

Gray, JE. (1977). Chronic progressive nephrosis in the albino rat. *Crit Rev Toxicol* 5:115-144.

Hard GC and Khan KN (2004). A contemporary overview of chronic progressive nephropathy in the laboratory rat, and its significance for human risk assessment. *Toxicol. Pathol.* 32: 171-180.

Hard GC, Johnson KL and Cohen SM (2009). A comparison of rat chronic progressive nephropathy with human renal disease – implications for human risk assessment. *Crit Rev in Toxicol.* 39(4): 332-346.

Keenan, KP, Coleman, JB, McCoy, CL, Hoe, C-M, Soper, KA, and Laroque, P. (2000). Chronic nephropathy in ad libitum overfed Sprague- Dawley rats and its early attenuation by increasing degrees of dietary (caloric) restriction to control growth. *Toxicologic Pathology.* 28:788–98.

. (1999). Study Report (English Version) A Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Study of AK-01 Bulk Substance By Dietary Administration In Rats. Project No. H-95053.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

Owen, RA and Heywood, R. (1986). Age-related variations in renal structure and function in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 14:158-167.

Rao, GN., Edmondson, J., and Elwell, MR. (1993). Influence of dietary protein concentration on severity of nephropathy in Fischer-344 (F-344/N) rats. *Toxicologic Pathology*. 21:353-361.

Short, BG and Goldstein, RS. (1992). Nonneoplastic lesions in the kidney. In: *Pathobiology of the Aging Rat*. (Mohr, U, Dungworth, DL, and Capen, CC, eds) pp:211-225. ILSI Press, Washington, DC.

Smith EA and Oehme FW (1992). The biological activity of glyphosate to plants and animals: a literature review. *Vet Hum Toxicol.*;34(6):531-43.

Uwagawa, S, Saito, K, Nakayama, A, Umihara, M, and Okuno, Y. (1990). Comparison of hyaline droplets in rats with chronic progressive nephropathy and chemically-induced alpha 2u-globulin nephropathy. *J Toxicol Pathol* 5:195-203.

Williams GM, Kroes R and Munro IC. (2000). Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 31, 117-165.

WHO/FAO. (2004a). *Pesticide Residues in Food, 2004, Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues (JMPR)*, Rome, Italy, 20-29 Sep 2004. FAO Plant Production and Protection Paper 178. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
<http://whqlibdoc.who.int/publications/2005/9251052425.pdf>

WHO/FAO. (2004b). *Pesticide Residues in Food, 2004, Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues (JMPR) - Part II Toxicological Evaluations*, Rome, Italy, 20-29 Sep 2004. FAO Plant Production and Protection Paper 178. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
<http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241665203.pdf>

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 No.20)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1999 年

検体純度：

供試動物： Crj:CD-1(ICR)系マウス、1 群雌雄各 50 匹、投与開始時 6 週齢
体重：雄 27.4~35.6g、雌 21.7~28.0g

投与期間： 78 週間(1996 年 3 月 7 日~1997 年 8 月 30 日)

投与方法： 検体を 0、500、5000 及び 50000ppm の濃度で飼料に混入し、78 週間にわたって随時摂取させた。検体混入飼料は 3 ヶ月に 1 回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。投与開始 26 週後以降、体表面の腫瘍を触診により検査した。

投与開始直後から投与終了時まで 50000ppm 群雌雄動物全例に軟便が観察された。50000ppm 群雄 9 例及び雌 8 例には投与 10 週以降に脱肛が認められた。これらの変化は、検体投与による影響と考えられた。

投与終了時の死亡率を下表に示す。

50000ppm 群雄動物の死亡率増加に統計学的有意差が認められた。

体重変化； 投与開始から 13 週間は週 1 回、以後 4 週間に 1 回全ての生存動物の体重を測定した。

対照群と比較して、50000ppm 群雄動物は投与開始直後から投与終了時まで、雌動物は投与 24 週以降、有意差を伴った体重増加の抑制が認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

られた。

投与終了時の群平均体重(g)を下表に示す。

摂餌量及び食餌効率；投与開始から13週間は週1回、以後は4週間に1回個体別に摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

投与期間中いくつかの測定時点で、50000ppm群雌雄動物の摂餌量は対照群と比較して有意差を伴って減少し、検体投与の影響と考えられた。その他の投与群雌雄動物においても有意差を伴う増減が散発的にみられたが、いずれも一過性の軽度な変化であり、体重の増減に影響がなく、偶発的な変動と考えられた。

試験前半に50000ppm群雄動物の食餌効率が減少した。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量(ppm)		500	5000	50000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	67.6	685	7470
	雌	93.2	909	8690

血液学的検査；投与終了時の剖検に際して、全ての生存動物及び可能な限り、切迫屠殺動物についてエーテル麻酔下で腹大静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。白血球型別百分率の測定は投与後52週時にも実施し、尾静脈から採血した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、血小板数、白血球数、白血球型別百分率

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与52週時の検査で、50000ppm群雄動物に単球の減少、同群雌動物にリンパ球の増加が認められたが、いずれも軽度な変化であり、最終屠殺時には有意差を伴う変化がみられなかったことから、偶発的と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

臓器重量； 投与終了時の生存動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

50000ppm 群雌動物の腎重量対体重比が増加し、この変化は検体投与の影響と考えられたが、腎臓の病理組織学的検査において関連する病変所見はみられなかった。その他に、脳、肝臓、副腎及び精巣に有意差を伴った変化が認められたが、いずれも体重の軽度な減少による変動で、検体投与の影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査； 途中死亡、切迫屠殺及び投与終了時の全生存動物について剖検した。

検体投与に関連する所見及び対照群と比べて統計学的有意差を伴って発現頻度が増加した所見を次頁の表に示す。

50000ppm 群雌雄動物多数例の大腸に内腔拡張が観察され、又、雌雄各 5 例に脱肛が観察され、これらの所見は検体投与の影響によるものと考えられた。

50000ppm 群雄動物において肝臓の変色及び腫瘤、肺の腫瘤及び精嚢肥大の発現頻度が有意差を伴って減少したが、これらはいずれも毒性変化とは考えられなかった。500ppm 群雌動物の子宮に粘膜肥厚が観察されたが、性周期によるもので、検体投与の影響ではないと考えられた。5000ppm 群及び 500ppm 群雌動物では脾臓肥大の発現頻度が有意差を伴って増加したが、50000ppm 群の頻度は対照群と同等で、検体投与の影響とは考えられなかった。これら以外にも、対照群と比較して有意差を伴った発現頻度の減少が散見されたがいずれも投与量との関連性はみ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

られず、検体投与の影響ではないと考えられた。

主な肉眼的病理検査所見

病理組織学的検査；対照群及び 50000ppm 群の全動物、500ppm 群及び 5000ppm 群は途中死亡及び切迫屠殺動物について、以下の組織の病理標本作製し、検鏡した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣、下垂体、甲状腺(可能な限り上皮小体を含む)、胸腺、唾液腺(顎下腺、舌下腺)、心臓、肺、気管、気管支、胆嚢、脾臓、膵臓、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、骨及び骨髄(胸骨、大腿骨)、骨格筋(大腿)、胸部大動脈、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膈、乳腺(雌)、皮膚、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、眼球(視神経を含む)、ハーダー腺、眼窩外涙腺、肉眼的病変部

500ppm 群及び 5000ppm 群の投与終了時生存動物については肺、肝、腎及び肉眼的病変部位の病理標本作製し、検鏡した。

[非腫瘍性病変]

検体投与に起因すると考えられた病変所見を表 1 に示す。それらは 50000ppm 群雄動物の腎臓に観察された尿細管上皮細胞の肥大、尿細管の拡張及び変性/壊死、好塩基性尿細管及び同群雌雄動物の直腸に観察

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

された脱肛に関連した直腸のびらん及び腺腔拡張であった。各群の病変頻度に、有意差を伴ったの増加はみられなかった。有意差を伴って発現頻度が減少した所見は、50000ppm 群雄動物にみられた肝細胞の空胞化、顎下腺の単核細胞浸潤、脳組織の石灰化、精囊における腺の拡張、副腎皮膜下細胞過形成、50000ppm 群雌動物副腎の褐色色素変性及び皮膜下細胞過形成であった。これら所見の頻度が減少したことには毒性的な意義はないと考えられた。

[腫瘍性病変]

認められた腫瘍性病変を表 2 に示す。

いずれの投与群雌雄動物においても、対照群と比較して腫瘍性病変の発現頻度に有意な増加は認められなかった。50000ppm 群雄動物に腎臓の尿細管に由来する腺腫が 50 匹中 3 例、細胞がんが 1 例に認められた。腎臓における非腫瘍性病変の増加と合わせて考察すると催腫瘍性が疑われるが、対照群と比較して腎臓腫瘍の発現頻度に統計学的有意差は認められず、催腫瘍性は不明であった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する 78 週間飼料混入投与による発がん性試験における影響として、50000ppm 群の雌雄で軟便、体重増加の抑制、摂餌量の減少、直腸及び腎の非腫瘍性病変の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 5000ppm(雄 685mg/kg/day、雌 909mg/kg/day)であると判断される。

申請者注：

催腫瘍性について試験実施機関は、高投与量群雄動物 4 例の腎臓に腫瘍が認められたことから明確な結論を導き出すことができないと報告しているが、対照群と比較して、腎臓腫瘍の発現頻度に有意差はなく、全ての雌動物腎臓には腫瘍がみられなかったことから、催腫瘍性はないものと判断する。

申請者注（追記-1）：

本試験において観察された雄の腎臓腫瘍について、雄の全動物について再薄切を行い再検査*した。その結果、各群 50 匹中、50000ppm 群では腎細胞腺腫が 1 例及び腎細胞がんが 1 例、5000ppm 群では腎細胞腺腫が 1 例、並びに、500ppm 群で新たに腎細胞腺腫が 1 例観察された。再検査での腎臓腫瘍の発現頻度は、対照群と比較して統計学的有意差はなく、文献値（0.13～0.53%）並びに参考データのマウスの発がん性試験結果（0～1.8%）とほぼ同程度であった。この再検査結果と本試験において対照群と比較して腎臓腫瘍の発現頻度に統計学的有意差はなく全ての雌動物腎臓には腫瘍がみられなかったことから、被験物質の催腫瘍性はないものと判断する。

*：実施機関：

、実施年：2011 年

申請者注（追記-2）：

食品安全委員会（2016 年 7 月）においては、「本試験において、50000ppm 投与群の雌雄で軟便等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 5000ppm（雄：685mg/kg/day、雌：909mg/kg/day）であると考えられた。発がん性は認められなかった。」と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表 1. 腎及び直腸における主要な非腫瘍性病変

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表 2.腫瘍性病変(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 TAC 普及会にある。

表 2. 腫瘍性病変(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 TAC 普及会にある。

表 2. 腫瘍性病変(3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

表 2. 腫瘍性病変(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 TAC 普及会にある。

イヌを用いた強制経口投与による 1 年間反復経口投与毒性試験

(資料 No.21)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1998 年

検体純度：

供試動物： ビーグル犬 1 群雌雄各 4 匹 投与開始時 6 ヶ月齢
体重：雄 8.0~10.0kg、雌 7.2~8.8kg

投与期間： 1 年間(1996 年 7 月 10 日~1997 年 7 月 11 日)

投与方法： 検体をカプセルに入れ、0、30、100 及び 300mg/kg の用量で 1 年間強制経口投与した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間中、死亡例は発生しなかった。

300mg/kg 群雌雄全例に軟便、下痢、粘液便、水様性下痢が頻繁に認められ、稀に血便、嘔吐及び検体による便の着色が観察された。100mg/kg 群雌雄全例においても軟便、下痢、血便、粘液便又は水様性下痢が認められたが、症状の発現開始時期は 300mg/kg 群より遅く、頻度も 300mg/kg 群より低かった。30mg/kg 群雌雄各 2 例及び対照群雌雄各 1 例にも軟便あるいは嘔吐が 1 回~数回観察された。

体重変化； 投与期間中、週 1 回、全動物の体重を測定した。

各投与群の雌及び 300mg/kg 群の雄で体重増加の抑制又は減少がみられたが、長期試験では一般に体重推移に個体差が大きく、本試験でも雄の対照群で同様な傾向が認められたこと、いずれも各群で 1~2 例に認められた変化であり、摂餌量あるいは症状の発現との間にも関連はなく、その後回復の傾向が認められたことから、検体投与による影響ではなく、偶発的な変化であると考えられた。

摂餌量； 投与期間中週 1 回、全動物の摂餌量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

いずれの群でも、投与期間中特記すべき変化は認められなかった。

検体摂取量； 各群雌雄動物に0、30、100あるいは300mg/kgを毎日強制的に経口投与した。

血液学的検査； 試験開始前、投与開始後13、26及び52週に全動物について、橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を検査した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、白血球数、白血球型別百分率

対照群と比較し統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

300及び100mg/kg群雄動物において投与開始13週後及び52週後のヘモグロビン濃度が対照群と比較して増加し、有意差がみられた。これらの濃度は試験実施機関の背景対照データ(13週は17.23±2.84、52週は18.94±3.24g/dl)の範囲内にあり、対照群の低値による偶発的な変化と考えられた。300mg/kg群雌動物では投与開始13週後に血小板数が増加したが、単発的な変化であり、以後の検査時期には有意差を伴った変化はみられなかった。100mg/kg群雌動物におけるMCHCの軽度な増加には投与量との関連性がみられなかった。したがって、これらの変化は検体投与の影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目を測定した。

GOT、GPT、アルカリホスファターゼ(ALP)、グルコース、総蛋白、アルブミン、A/G比、総コレステロール、トリグリセリド、リン脂質、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、尿酸、カルシウム、無機リン
対照群と比較し、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 TAC 普及会にある。

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。

投与開始 26 週後の検査で、300mg/kg 群雌動物のクレアチニン及び総蛋白が減少したが、いずれも試験実施機関の背景対照データ(クレアチニン 0.539 ± 0.144 mg/dl、総蛋白 5.858 ± 0.626 mg/dl)範囲内にあり、軽度の変化であった。100mg/kg 群雄動物において投与開始 26 週後の尿酸値が増加したが、変化は軽微であり、投与量との関連性がみられず、したがって、これらの変化は検体投与に関連しないと考えられた。

尿検査； 血液学的検査と同時期に採取した尿について、以下の項目を測定した。

尿量、外観、比重、pH、グルコース、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン、ケトン体、潜血、沈渣

対照群と比較し統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与終了時の 52 週に、100 及び 30mg/kg 群雌動物の尿比重が増加し、有意差が認められた。これらの測定値(30mg/kg 群 1.0505、100mg/kg 群 1.0508)は同試験機関の背景データの範囲(1.0446 ± 0.0318)内にあることから投与の影響とは考えられなかった。又、投与群動物に潜血及び蛋白の陽性反応がみられたが、これらの頻度及び程度には対照群との差はなく、検体投与による影響とは考えられなかった。

眼科学的検査； 投与開始前、投与開始 26 週後及び 52 週後に全動物について検査した。

対照群を含む全群の全動物に特記すべき異常は認められなかった。

臓器重量； 試験終了時の全動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

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

対照群と比較し統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

30mg/kg 群雌動物の下垂体重量対体重比が増加したが、その他の投与群には有意差を伴った増加はみられず、検体投与の影響による変化ではな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

いと考えられた。

肉眼的病理検査； 投与終了時の全動物について剖検した。

300mg/kg 群雄 1 例に精巣の小型化、同群雌 1 例に脾臓の灰白色斑、100mg/kg 群雄 1 例に盲腸の重積、暗赤色斑、胸腺の退縮及び下垂体にのう胞が観察された。これらの所見は無処置の動物においてもしばしば観察されることがあり、又、投与量との関連性が窺われないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査； 投与終了時に全動物について下記の組織の病理標本を作製し、検鏡した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、気管、肺、唾液腺、胆嚢、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巢、子宮、膈、乳腺(雌のみ)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、胸骨、大腿骨(骨髄を含む)、脊髄、坐骨神経、骨格筋、皮膚、腸間膜リンパ節、大動脈、眼球(視神経を含む)、涙腺

認められた全ての病変を下表に示す。

検査項目	観察結果	観察結果の分類							
		陽性	陰性	不明	その他	陽性	陰性	不明	その他
脳									
心臓									
肝臓									
腎臓									
脾臓									
膵臓									
下垂体									
甲状腺									
胸腺									
気管									
肺									
唾液腺									
胆嚢									
副腎									
精巣									
精巣上体									
前立腺									
卵巢									
子宮									
膈									
乳腺									
食道									
胃									
十二指腸									
空腸									
回腸									
盲腸									
結腸									
直腸									
膀胱									
胸骨									
大腿骨									
脊髄									
坐骨神経									
骨格筋									
皮膚									
腸間膜リンパ節									
大動脈									
眼球									
涙腺									

各投与群のいずれの組織にも検体投与に関連した病変は認められなかった。しかし、100mg/kg 群雄 1 例の盲腸に腸重積による潰瘍が認められ、この動物に下痢及び軟便が認められたことから、消化管蠕動の異常に関

係している可能性があった。

肉眼的検査で精巣の小型化が認められ、臓器重量で精巣の絶対及び相対重量の低値が認められた 300mg/kg 群雄 1 例の片側精巣に精細管の萎縮が認められたが、反対側の病変はごく軽度であり、同群のその他の個体にはこのような変化が観察されなかったことから、偶発的な変化と考えられた。300mg/kg 群雌 1 例には肉眼的検査で脾臓に灰白色斑が認められたが、組織学的には Gandy-Gamna 結節が認められたに過ぎず、その他に特記すべき変化が認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。これらの他、対照群を含む全群で顎下腺、舌下腺及び耳下腺に単核細胞浸潤、腎乳頭部に石灰沈着、下垂体前葉に嚢胞、胸腺萎縮等が比較的高頻度で認められたが、病変の程度及び頻度から、自然発生したものと考えられた。

以上の結果から、本剤の 52 週間強制経口投与による 1 年間反復経口投与毒性試験における影響として、300mg/kg 群及び 100mg/kg 群の雌雄動物に便の異常が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 30mg/kg/day であると判断される。

申請者注：

「イヌを用いた強制経口投与による 1 年間反復経口投与毒性試験」において、300mg/kg 群と 100mg/kg の雌雄では試験期間中、便の異常(軟便、下痢、粘液便)が比較的高頻度に認められた。その他の投与群の検査(体重、摂餌量、尿、血液学的検査、血液生化学、眼科、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査)では、検体投与に起因する変化は認められなかった。上記試験ではこの便の異常を毒性所見と判断し、無毒性量を 30mg/kg/day と判断した。

一方、グリホサートに関する FAO/WHO 会議で公表された 12 ヶ月間投与毒性試験でも同様の便の異常は認められているが、無毒性量を 300mg/kg/day 以上又は 500mg/kg/day と報告している。その理由は、確かに検体投与による便の異常は生じるが、それに付随するさらなる負の変化、例えば、体重の増加抑制、摂餌量の減少、病理学的異常などが全く認められないことにある。つまり、便の異常は被験物質投与に起因する変化ではあるが、毒性変化ではないという解釈である。本試験においても上記と同様の解釈が成立し、無毒性量は雌雄とも 300mg/kg/day と考えられる。

申請者注(追記)：

食品安全委員会(2016年7月)においては、「本試験において、300mg/kg/day 投与群の雌雄で下痢、血便等の便の異常が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100mg/kg/day であると考えられた。」と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

(8) 繁殖毒性及び催奇形性

ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No.22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1997 年

検体純度：

供試動物： Crj:CD(SD)系ラット、1 群雌雄各 30 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間： P 世代；投与開始から F₁ 児離乳後親動物屠殺時までの約 15 週間
F₁ 世代；離乳時から F₂ 児離乳後親動物屠殺時までの約 19 週間
(1996 年 8 月 5 日~1997 年 3 月 24 日)

投与方法： 検体

試験方法、観察及び検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

体重、摂餌量及び検体摂取量；体重及び摂餌量を毎週 1 回測定し、摂餌量から平均検体摂取量を算出した。

交配及び妊娠の確認；3 週間を限度として、同一群雌雄動物の[1:1]同居により交配させた。同居期間中毎日膈垢を採取し、精子の有無及び性周期を検査した。精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、出産及び哺育期間中の観察に基づき、以下の指標を算出した。

交尾率(%)	= [交尾した動物数 / 交配に用いた雄動物数] × 100
授精率(%) 雄	= [妊娠させた雄動物数 / 交尾雄動物数] × 100
妊娠率(%) 雌	= [妊娠した雌動物数 / 交尾雌動物数] × 100
出産率(%)	= [生存児を出産した雌動物数 / 妊娠動物数] × 100
出生率(%)	= [生存児数 / 着床数] × 100
性比(%)	= [生存雄児動物数 / 生存雌雄児動物数] × 100
生存産児率(%)	= [出産時生存児数 / 総出産児数] × 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

$$4 \text{ 日目生存率}(\%) = [\text{生後 4 日の生存児数(調整前)} / \text{出産時生存児数}] \times 100$$

$$\text{離乳時生存率}(\%) = [\text{生後 21 日の生存児数} / \text{生後 4 日の生存児数 (調整後)}] \times 100$$

表. 試験方法の概要

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	生育(8週)		一般状態、生死を毎日観察 体重及び摂餌量を週1回測定
	交配(3週)	雌雄1対1で交配。交配は膈垢中の精子の存在で確認(妊娠0日)	交配状況の観察。雄の体重を週1回測定 交配期間終了後、雄の肉眼的、病理組織学的検査
	妊娠(3週)		妊娠0、7、14及び21日に体重測定、 妊娠7、14及び20日摂餌量を測定
	出産 -----	-----	出産状況の観察 総出産児数、生存産児数、死産児数、性別、外表異常、行動の異常及び同腹生存児体重の測定
F ₁	哺育(3週)	出産後4日に各同腹児数を雌雄各4匹に調整(不可能な場合、雌雄合計8匹)	母動物の出産後0(体重のみ)、4(体重のみ)、7、14及び21日に体重及び摂餌量測定 生存児数及び児動物の一般状態を観察し産後4、7、14及び21日に生存児の体重測定 全雌親動物及びF ₁ 世代親用以外の児動物を屠殺し、肉眼的病理検査。 対照群及び高用量群の雌親動物を病理組織学的検査

	離乳 -----	継代用の各群雌雄各30匹を無作為に選抜	
	生育(8週)		(P世代に準ずる)
F ₂	交配(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準じる)
	妊娠(3週)		(P世代に準ずる)
	出産 -----		(P世代に準じる)
	哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代及びF ₁ 世代に準じる)
F ₂	離乳 -----	(F ₁ 世代に準ずる)	全親動物及び児動物を屠殺。 (P世代及びF ₁ 世代に準じる) 離乳後、屠殺して肉眼的病理検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

分娩日に、各腹について出産児数、生存産児数、死産児数及び性別を検査し、各児動物の外表異常の有無及び行動を観察し、同腹生存児体重を測定した。生存児数及び一般状態を観察し、児動物体重は出生後 4(調整前及び調整後)、7、14 及び 21 日に測定した。哺育 4 日目に、同腹児数を 8 匹に調整し(可能な限り、雌雄各 4 匹を無作為に選抜)した。

肉眼的病理検査；雄親動物は雌動物の分娩確認後又は再交配後、雌親動物は児動物離乳後、さらに、死亡児動物、生後 4 日に屠殺した児動物、F₂ 親動物に選抜されなかった F₁ 離乳児動物及び F₂ 世代離乳児動物をエーテル麻酔下で放血屠殺して肉眼的病理検査を実施した。

病理組織学的検査；対照群及び高用量群の P 世代及び F₁ 世代親動物について、以下の臓器の病理標本を作製し、検鏡した。

下垂体、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、膣、子宮、卵巣、肉眼的病変部位

結果： 概要を次頁の表に示す。

一般状態及び死亡率；40000ppm 群 P 世代雌親動物 1 例が児動物の哺育期間中に死亡した。

40000ppm 群 P 世代及び F₁ 世代雌雄親動物に下痢及び軟便が認められた。

各投与群 F₁ 世代及び F₂ 世代児動物の一般状態及び生存率に検体投与の影響はみられなかった。

体重変化； 40000ppm 群 P 世代及び F₁ 世代雌雄親動物の体重は、投与開始 1 週間後から投与終了時まで、対照群と比較して有意差を伴って低下した。

児動物については、40000ppm 群 F₁ 世代は生後 7 日目から、F₂ 世代は離乳時に、対照群と比較して体重増加が抑制され、有意差が認められた。

摂餌量； 交配前期間には統計学的有意差を伴った変化として、P 世代では 40000 ppm 群雄の第 1 週、全投与群雄の第 2 週及び 40000ppm 群雌の第 4 週における減少及び 40000ppm 群雄の第 1 週における増加、F₁ 世代では 40000ppm 群雄の第 1、2、4 週及び 40000ppm 群雌の第 1、4 週における減少、400ppm 群第 4、6 週における増加がみられた。これらは、いずれも対照群との差はわずかであり、検体投与に関連しない一過性の変化と考えられた。

繁殖性に関する指標；40000ppm 群 P 世代の妊娠期間が対照群と比べて短縮し(対照群 22.9±0.3 日に対して 40000ppm 群では 22.5 日±0.5)、有意差が認められた。しかし、対照群との差はわずかであり、F₁ 世代の対照群(22.6±0.5)とほぼ同様であったことから、偶発的な差と考えられた。その他の繁殖性に関する指標には投与の影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

肉眼的病理検査； 40000ppm 群 P 世代雄動物及び F₁ 世代雌雄動物に大腸の内腔拡張が観察され、P 世代及び F₁ 世代雌動物にはさらに小腸にも内腔拡張が認められた。

病理組織学的検査； 40000ppm 群 P 世代雌動物及び F₁ 世代雌雄動物の盲腸粘膜に肥厚が高頻度で認められ、F₁ 世代雌動物の数例には盲腸粘膜下に浮腫が観察された。

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、40000ppm 投与群で親動物に下痢、体重増加の抑制、肉眼的病理検査で大腸の内腔拡張及び病理組織学的検査では盲腸の粘膜に肥厚が観察され、又、児動物に体重増加の抑制が認められた。繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。

したがって、無毒性量は親動物及び児動物に対して 4000ppm(P：雄 359.61mg/kg/day、雌 373.51mg/kg/day、F₁：雄 480.03mg/kg/day、雌 465.37mg/kg/day)と判断される。繁殖については最高投与量の 40000ppm でも影響がなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表. 結果の概要

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

表. 結果の概要(前頁より続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

ラットにおける催奇形性試験

(資料No.23)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1992年

検体純度：

供試動物： SD系妊娠ラット(12~13週齢)、1群20匹

投与期間： 妊娠6日から15日までの10日間(1991年8月26日~1992年3月31日)

投与方法： 検体をアラビアゴム5%水溶液に懸濁し、0、250、500及び1000mg/kgの用量で妊娠6日から妊娠15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した。対照群にはアラビアゴム5%水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15及び19日目に摂餌量及び飲水量を測定し、妊娠0、6、9、12、15及び20日に体重を測定した。

妊娠20日に帝王切開し、黄体数、着床数、早期死亡胎児(着床痕及び胎盤遺残)数、後期死亡胎児(浸軟胎児及び死亡胎児)数及び生存胎児数を検査した。胸腹部の主要臓器について肉眼的病理検査を実施し、肝臓、腎臓及び脾臓重量を測定した。

生存胎児； 性別、体重及び外表異常の有無を観察した。

各同腹児群胎児約半数について骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

結果： 概要を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

結果の概要

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

各検体投与群の親動物に死亡例はなかった。一般状態に異常は観察されず、対照群動物と比較して体重、摂餌量及び臓器重量に統計学的有意差を伴った変化はみられなかった。又、肉眼的病理検査で異常は観察されなかった。中用量の500mg/kg群における早期死亡胎児の割合が増加して有意差がみられ、生存胎児数が対照群と比較してわずかに少なかったが、投与量との関連性はみられなかった。

生存胎児の体重について、各投与群にわずかな低下がみられたが、統計学的有意差はなく、投与量との関連性はみられなかった。

胎児の外表検査において1000mg/kg群1例に観察された下顎短小は自然発生の所見と考えられた。内臓検査で500mg/kg群2例及び1000mg/kg群7例に胸腺の頸部残留が認められたが、発現頻度に有意差はみられなかった。骨格検査では投与群胎児1~2例に異常が観察されたが、いずれも自然発生による所見で、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに経口投与したときの母動物及び胎児動物における無毒性量は1000mg/kg/dayであった。又、最高投与量の1000mg/kg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TAC普及会にある。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料No.24)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1992年

検体純度：

供試動物： 日本白色種(Kb1:JW)妊娠ウサギ、体重：3.01~3.63kg、1群17匹

投与期間： 妊娠6日から妊娠18日までの13日間(1991年8月26日~1992年3月31日)

投与方法： 検体をアラビアゴム5%水溶液に懸濁し、0、87.5、175及び350mg/kgの投与量で妊娠6日から妊娠18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。対照群にはアラビアゴム5%水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、12、18、24及び28日に体重を測定し、妊娠0、6、12、18、23及び27日目に摂餌量及び飲水量を測定した。

妊娠28日に帝王切開し、黄体数、着床数、早期死亡胎児(着床痕及び胎盤遺残)数、後期死亡胎児(浸軟胎児及び死亡胎児)数及び生存胎児数を検査した。胸腹部の主要臓器について肉眼的病理検査を実施し、肝臓、腎臓及び脾臓重量を測定した。

生存胎児； 性別、体重及び外表異常を観察した。各群親動物13~15匹の胎児について内臓異常の有無を検査した後、骨格標本を作製して、骨格異常の有無を検査した。さらに、各群親動物2匹ずつの胎児をWilson法に準じた方法により、内臓異常について検査した。

結果： 概要を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

結果：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

全ての親動物が帝王切開時まで生存し、一般状態の異常は観察されなかった。各投与群動物の体重増加量、摂餌量及び飲水量について、対照群動物と比較して統計学的有意差を伴った変化はみられなかった。350mg/kg群2例及び175mg/kgの1例は妊娠しなかった。親動物の生殖に関する指標及び臓器重量に有意差を伴った変化はみられず、肉眼的病理検査においても異常所見は観察されなかった。

胎児の検査では350mg/kg群の1例に脳ヘルニア及び眼瞼開存が観察され、その他の1例に側脳室萎縮が認められたが、これらは自然発生によるものと考えられた。

各投与群動物の骨格検査において奇形、変異あるいは化骨遅延が認められた胎児数には、対照群動物と比較して統計学的有意差を伴った差異はなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに経口投与したときの母動物及び胎児動物における無毒性量は350mg/kg/dayであった。又、最高投与量の350mg/kg/day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TAC普及会にある。

(9) 変異原性

遺伝子突然変異原性

細菌を用いる復帰変異試験

(資料No.25)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1991年

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537株及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)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。

検体は蒸留水に溶解し、濃度範囲313~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の5濃度で実施した。試験は2連制とした。陽性対照物質はいずれもDMSOに溶解して使用した。

用量設定根拠；検体を蒸留水に溶解し、50~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度範囲で実施した試験の結果、代謝活性化系の有無にかかわらず、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ においても検体の析出及び各検定菌株の生育阻害がみられなかった。これにより、本試験の最高濃度を5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ とした。

試験結果：結果を次頁に示す。

検体は、代謝活性化系の有無にかかわらず、最高用量(5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$)においても全ての供試菌株に復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたN-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(ENNG)、2-nitrofluorene(2-NF)、9-aminoacridine hydrochloride(ACR)及び2-aminoanthracene (2-AA)は全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。

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さ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TAC普及会にある。

用量設定試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

本試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

チャイニーズハムスターの肺細胞を用いた*in vitro*染色体異常試験

(資料No.27)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1992年

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した線維芽細胞を用い、代謝活性化及び非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。検体は0.1Mリン酸塩緩衝液に溶解して用いた。

1濃度あたり100×2個の分裂中期像について観察した。試験は、代謝活性化の非存在下で1回、存在下では2回実施した。

用量設定根拠：

染色体異常誘発性について以下の判定基準を用いた。

ギャップを含む異常細胞の平均出現率	判定
5%未満	陰性(-)
5%以上10%未満	疑陽性(±)
10%以上20%未満	陽性(+)
20%以上50%未満	陽性(++)
50%以上	陽性(+++)

試験結果：結果を次表に示す。

検体は代謝活性化の非存在下では、全ての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

代謝活性化の存在下では、2回の試験のいずれにおいても、0.6mg/mL及び1.2mg/mL処理群で、ギャップを含む染色体異常細胞数の出現率が5.5~7.0%となり、疑陽性と判断された。一方、陽性対照として用いたMitomycin C及びBenzo(a) pyreneは、それぞれ代謝活性下非存在下及び存在下で顕著な染色体異常細胞数の増加を示した。

以上の結果より、検体はチャイニーズハムスター線維芽細胞を用いた*in vitro*染色体異常試験において、代謝活性化の存在下では疑陽性と判断される。

申請者注：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

食品安全委員会（2016年7月）においては、「代謝活性化系存在下でのみ疑陽性の結果が得られたが、同じ指標となる*in vivo*の小核試験において、ガイドラインに定められた最高用量まで試験が実施されており、結果は陰性であったことから、生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。」と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

遺伝子突然変異原性細菌を用いるDNA修復試験

(資料No.28)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 1992年

検体純度：

試験方法：枯草菌*Bacillus subtilis*の組換え修復機構保持株(H-17)及び欠損株(M-45)を用いて、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下及び非存在下で、DNA損傷の誘発性を検定した。

検体は蒸留水に溶解し、検体濃度12mg/mL、240 μ g/diskを最高用量とする15 μ g/diskまでの合計5用量で試験した。陽性対照物質はDMSOに溶解した。

用量設定根拠；

試験結果：結果を次表に示す。

検体処理群では、全ての濃度において、代謝活性化の存在下及び非存在下で、M-14株及びH-17株の生育に差異はみられなかった。

一方、陽性対照の2-aminoanthracene及びMitomycin Cでは、H-17株と比較してM-14株の生育阻止帯が明らかに増加した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含む本試験の条件下で、DNA損傷誘発性を有さ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TAC普及会にある。

DNA修復試験の結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は TAC 普及会にある。

マウスを用いた *in vivo* 小核試験

(資料 No.25-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 2006 年

検体純度：

供試動物： Cj:CD-1(ICR)系マウス、開始時 8 週齢、体重；雄 28.1~34.4g
1 群検体投与群は雄各 6 匹、対照群は雄各 5 匹

試験方法： 検体を 5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、500、1000 及び 2000mg/kg の投与量で、24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。溶媒対照群には 5%アラビアゴム水溶液 10mL/kg、陽性対照群にはマイトマイシン C を 4mg/kg の用量で単回投与した。予備試験の結果に基づいて最終投与 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上に塗抹してメタノールで 5 分間固定後、ギムザ液で染色し、骨髓標本を作製した。

各骨髓標本について、細胞毒性を調べるために 1000 個、1 動物について 2000 個の赤血球を観察し、多染性赤血球(PCE)における小核の有無を検査した。又、各骨髓標本について全赤血球[500×2]個を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

小核を有する多染性赤血球数の出現頻度が溶媒対照群と比較して有意差を伴って増加し、且つ、用量に関連した増加が認められた場合、陽性と判定した。

用量設定根拠；

結果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

全群に死亡例は発生せず、各群動物の一般状態に異常はみられなかった。

検体投与群の多染性赤血球における小核の出現頻度(MNPCE)は 500、1000 及び 2000mg/kg でそれぞれ 0.19、0.18 及び 0.17%、又、全赤血球に対する多染性赤血球の割合は 49.4、48.4 及び 47.7%で、いずれについても溶媒対照群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

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

観察結果

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TAC普及会にある。

(10) 生体機能影響

生体機能への影響に関する試験
グリホサートにおける薬理試験

(資料No.29)

試験機関：

報告書作成年： 1992年

検体の純度：

マウス及びウサギの中樞神経系に対する作用

マウスにおける一般状態

供試動物：ICR系マウス、体重：24~28g、1群雌雄各3匹

投与方法：検体を生理食塩液に溶解後、3N-NaOHでpH6.0に調整し、0、10、50及び100mg/kgを腹腔内投与してIrwinの多元観察法に従って一般状態を観察した。

結果：各投与群雌雄動物の行動及び神経症状について、10~100mg/kg投与で変化はみられなかった。

ウサギの脳波に対する作用

供試動物：白色種ウサギ、体重：2.7~3.3kg、1群雄6匹

投与方法：麻酔下のウサギに、人工呼吸及び呼気ガスモニターを実施するため器官カニューレを挿管した。人工呼吸下で直腸体温を $38.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に保ち、頭部を固定した後、脳を手術し、皮質脳波導出用双極銀ボール電極及び深部脳波記録の目的で導出用同心円電極を刺入した。検体を生理食塩液に溶解し、pHを6.8に調整後、0、10、50及び100mg/kgを腹腔内投与し、脳波を連続的に測定した。

結果：脳波に対する作用として、100mg/kg投与群動物の皮質脳は、デルタ波の出現が徐々に減少し、シータ波及びベータ波が増加した。扁桃体脳波においては不規則な波形から、やや単調なシータ波への移行、海馬脳波ではシータ波を基調とする大振幅の不規則波から大振幅シータリズムへの移行が認められた。10及び50mg/kg群動物にも類似した傾向がみられたが、用量との関連性は明らかでなく、最少作用量は100mg/kgと判断された。

ウサギの体温に対する作用

供試動物：白色種ウサギ、体重：2.8~3.1kg、1群雄3匹

投与方法：検体を0.5%アラビアゴム溶液に懸濁し、10、50及び100mg/kgを経口投与した。投与直前、投与後1時間、2時間及び3時間に日本薬局方発熱性物質試験法に従って直腸温を測定した。

結果：100mg/kgまでの投与による体温への影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

催眠増強作用

供試動物：ddY系マウス、体重：25~30g、1群雄10匹

投与方法：検体を生理食塩液に溶解し、pHを6.0に調整後、10、50及び100mg/kgの用量で皮下投与した。検体投与60分後にヘキソバルビタールナトリウム80mg/kgを腹腔内投与し、正向反射の消失持続時間を測定した。

結果：10~100mg/kg投与ではヘキソバルビタール睡眠時間への影響はみられなかった。

イヌの呼吸器系及び循環器系に対する作用

呼吸、血圧及び心拍数に対する作用

供試動物：雑種成犬、体重：8~13kg、雌雄合計7匹

投与方法：検体を生理食塩液に溶解し、この溶液をpH 6.0に調整した。麻酔処置により横臥状態となった供試動物の腹腔内に、検体1、2、4及び8mg/kgを70分間隔で漸増投与し、呼吸数、血圧及び心拍数を測定した。

結果：呼吸数はいずれの投与量においても影響がみられなかった。血圧は1mg/kg以上の投与により低下したが、投与後130分経過後に回復した。心拍数にも減少が認められた。

心電図に対する作用

供試動物：雑種成犬、体重：8~13kg、雄雌合計7匹

投与方法：検体を生理食塩液に溶解し、pH 6.0に調整後、麻酔処置して横臥状態の供試動物の腹腔内に、検体1、2、4及び8mg/kgを70分間隔で漸増投与し、心電図を記録した。

結果：RR間に軽度の延長傾向が認められ、最少作用量は8mg/kgと判断された。これ以外は、心電図に特記すべき変化はみられなかった。

ウサギ、モルモット及びラットの自律神経系に対する作用

瞳孔径に対する作用

供試動物：白色種ウサギ、体重：2.8~3.1kg、1群雄3匹

投与方法：検体をCMCの0.5%水溶液に懸濁し、0、10、50及び100mg/kgを経口投与した。投与直前、投与後5分、15分、30分及び60分に左右の瞳孔径を各2回測定し、平均値を分散分析(Dunnett)した。

結果：10~100mg/kg投与では対照群と比較して統計学的有意差はなく、瞳孔径に対する影響はみられなかった。

子宮運動に対する作用

供試動物：白色種経産ウサギ、体重：3.1~4.0kg、5匹

投与方法：麻酔処置したウサギを背位に固定して子宮を露出し、一侧の子宮角の先端より生理食塩液を満たした小型バルーンを子宮体部に挿入し、低圧測定用トランデューサ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

一を介して、子宮の自発運動を子宮内圧の変化として記録した。検体を生理食塩液に溶解し、pHを6.0に調整後、0、1、10、50及び100mg/kgを腹腔内に投与した。

結果： 10mg/kg以上の投与により自然律動の振幅が増大した。1mg/kgでは変化がみられなかった。

摘出平滑筋に対する作用

モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物：モルモット雄、体重：300~500g

投与方法：最終濃度が 10^{-6} ~ 10^{-4} g/mLとなるように検体を添加したタイロード液を調製してマグヌス管に入れた。一夜絶食させたモルモットから回腸を摘出して小片をマグヌス管内に懸垂し、等尺性ヘーベルを介してキモグラフィオンの煤煙紙上に収縮を記録した。

検体の単独作用の他、アセチルコリン 10^{-7} g/mL及びヒスタミン 10^{-7} g/mLによる収縮に対する検体の影響についても検討した。

結果： 検体は 10^{-6} ~ 10^{-4} g/mLの濃度で、モルモット摘出回腸の自然収縮あるいはアセチルコリン又はヒスタミンによる収縮に影響を及ぼさなかった。

モルモットの摘出輸精管に対する作用

供試動物：モルモット雄、体重：300~400g

投与方法：最終濃度が 10^{-6} ~ 10^{-4} g/mLとなるように検体を添加したタイロード液を調製してマグヌス管に入れた。モルモットの輸精管を摘出し、マグヌス管内に小片を懸垂し、等尺性ヘーベルを介してキモグラフィオンの煤煙紙上に収縮を記録した。検体単独作用の他、ノルエピネフィリン 10^{-6} g/mLによる収縮に対する検体の影響についても検討した。

結果： 検体は、 10^{-6} ~ 10^{-4} g/mLの濃度で、モルモットから摘出した輸精管の自然収縮及びノルエピネフィリンによる収縮に対して影響を及ぼさなかった。

ラット小腸輸送能に対する作用

供試動物：ウイスター系ラット、体重：270~290g、1群雄10匹

投与方法：検体を0、10、50及び100mg/kgの投与量で一夜絶食させたラットに皮下投与した。投与30分後に炭末・アラビアゴム懸濁液を胃内に注入し、30分後にクロロホルムで致死させ、小腸を摘出して胃の幽門部から炭末先端までの長さを測定し、小腸全体の長さに対する割合を算出した。

結果： 検体100mg/kgまでの皮下投与でラットの腸輸送能に対する影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

ウサギの骨格筋に及ぼす作用

ウサギの前脛骨筋収縮に及ぼす作用

供試動物：白色種ウサギ、体重：2.5~3.5kg、雄3匹

投与方法：麻酔処置したウサギを背位に固定し、大腿部の坐骨神経と同側の前脛骨筋を露出させ、腓骨神経の電気刺激による前脛骨筋の収縮を測定した。検体を0.5%のCMC水溶液に懸濁し、10、50及び100mg/kgを腹腔内に漸増投与した。

結果： 検体100mg/kgまでの腹腔内投与は、間接刺激及び直接刺激による前脛骨筋の収縮に影響を及ぼさなかった。

ウサギの血液に対する作用

血液凝固に対する作用

供試動物：白色種ウサギ、体重：2.5~3.5kg、1群雄5匹

投与方法：検体を生理食塩液に溶解し、pHを6.0に調整後、濃度 10^{-5} 、 10^{-4} 及び 10^{-3} g/mLの溶液0.1mLを各試験管に分注した。心臓から採取した血液を、各試験管に1mLずつ分注し、Lee-White法変法に従って凝固時間を測定した。

結果： 検体 10^{-5} ~ 10^{-3} g/mLの添加は、血液凝固時間に影響を及ぼさなかった

溶血性に対する作用

供試動物：白色種ウサギ雄、体重：2.5kg

投与方法：ヘパリン処理した注射筒で心臓から血液を採取し、遠心分離して赤血球を生理食塩液に浮遊させた。検体を生理食塩液に溶解し、pHを6.0に調整後、濃度を 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 、 5×10^{-4} 及び 10^{-3} g/mLとした。検体溶液10mLに赤血球浮遊溶液0.5mLを加え、38°Cで2時間インキュベーションした後、以下の基準により肉眼で上清の溶血度を判定した。

+++	: 強度の溶血
++	: 中等度の溶血
+	: 軽度の溶血
±	: 軽微な溶血
-	: 溶血せず

結果： 検体 10^{-5} ~ 10^{-3} g/mLの添加では溶血作用がみられなかった。

ラットの腎機能に対する作用

供試動物：SD/JcL系ラット、体重：260~280g、1群雄5匹

投与方法：供試ラットを一夜絶食させ、さらに試験開始3時間前に絶水させた。検体投与直前に生理食塩液(2mL/100g)を経口投与した。検体を0、10、50及び100mg/kgの用量で腹腔内投与後、採尿ケージで4時間尿を採取し、pH、蛋白、糖、潜血、ケトン体、ピ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

リルビン、ウロビリノーゲン、ナトリウム、カリウム、塩素、尿量及び浸透圧を測定した。

結果： 結果の概要を下表に示す。10mg/kg投与群動物の尿量が増加し、50mg/kg及び100mg/kg投与群ではケトン体が陽性となり、100mg/kg投与群で潜血の陽性反応が認められた。

以上の結果より、本剤は麻酔動物の生体機能に対して、急性脳波試験においてシータ波及びベータ波の増加が認められたが投与量との関連性はなく、検体の明らかな影響とは考えられなかった。循環器系に対する試験では1mg/kg以上の投与量で軽度の血圧低下及び心拍数の低下が認められ、自律神経系に対する試験では10mg/kg以上の腹腔内投与により子宮自然律動の振幅が増大した。無麻酔動物の腎機能に対する試験では、50及び100mg/kgの腹腔内投与でケトン体が陽性を示し、100mg/kgの投与で潜血陽性が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はTAC普及会にある。

グリホサートの「生体機能への影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
一般状態	マウス	腹腔内 (生理食塩液)	0,10,50,100	雌雄 各3匹	-	100	影響なし	
脳波	ウサギ (麻酔下)	腹腔内投与 (生理食塩液)	0,10,50,100	雄6匹	100	50	δ波が減少し、θ波 及びβ波が増大	
体温	ウサギ	経口投与 (0.5%アラビノコーム 溶液)	0,10,50,100	雄3匹	-	100	影響なし	
催眠	マウス	腹腔内投与 (生理食塩液)	0, 10, 50, 100	雄10匹	-	100	影響なし	
呼吸 ・ 循環器系	呼吸 血圧 心拍数 心電図	イヌ (麻酔下)	腹腔内投与 (生理食塩液)	0, 1, 2, 4, 8 漸増投与	雌雄 混合7匹	-	8	影響なし
						1	-	低下
						1	-	軽度の減少
						8	-	RR間に軽度の 延長傾向
瞳孔	ウサギ	経口投与 (0.5%CMC)	0,10,50,100	雄3匹	-	100	影響なし	
子宮運動	ウサギ (麻酔下)	腹腔内投与 (生理食塩液)	0,1,10, 50, 100	雌5匹	10	1	律動の 軽度の増大	
摘出回腸 収縮	モルモット	in vitro (タイロト液)	10^{-6} ~ 10^{-4} g/mL	-	-	10^{-4} g/mL	影響なし	
摘出 輸精管収縮	モルモット	in vitro (タイロト液)	10^{-6} 10^{-4} g/mL	-	-	10^{-4} g/mL	影響なし	
小腸輸送能	ラット	皮下投与 (生理食塩液)	0,10,50,100	雄10匹	-	100	影響なし	
前脛骨筋 収縮	ウサギ	腹腔内投与 (0.5%CMC)	0,10,50,100 漸増	雄3匹	-	100	影響なし	
溶血性	ウサギ	in vitro (生理食塩液)	10^{-5} ~ 10^{-3} g/mL	-	-	10^{-3} g/mL	影響なし	
血液凝固	ウサギ	in vitro (生理食塩液)	10^{-5} ~ 10^{-3} g/mL	-	-	10^{-3} g/mL	影響なし	
腎機能	ラット	腹腔内投与 (生理食塩液)	0,10,50,100	雄5匹	10	-	尿量増大(10mg/kg) 潜血(100mg/kg) ケトン体陽性 (≥50mg/kg)	