

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

② ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験 (資料 T15)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

被験物質: イミシアホス原体

供試動物: Crj: WI (Glx/BRL/Han) IGS[SPF]系ラット、投与開始時5週齢、1群雄雌各20匹(第26週及び第52週の投与終了時のそれぞれ雌雄各10匹を屠殺)、体重; 雄122~160 g、雌107~126 g

投与期間: 52週間(2002年9月5日~2003年9月4日)

投与方法: 被験物質を0、1及び2 ppmの濃度で飼料に混入し、52週間にわたって随時摂取させた。被験物質混入飼料は毎週1回調製し、週2回給餌した。

用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態の観察及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

1 ppm 投与群雌1例が、第19週に死亡した。

その他の試験群には、死亡は認められなかった。

被験物質投与に関連する症状は、観察されなかった。

腰部の外傷及び脱毛が数例観察されたが、被験物質投与によるものとは考えられなかった。

体重変化; 投与開始から投与16週まで毎週1回、その後は投与終了まで4週に1回、全ての生存動物の体重を測定した。

被験物質投与に関連する体重の変化は、いずれの投与群にも認められなかった。

摂餌量及び食餌効率; 全動物の摂餌量を毎週2回測定し、週間摂餌量(g/week)及び食餌効率(%)を算出した。

各投与群雄雌における総摂餌量及び13週間の平均食餌効率は対照群と同等で、被験物質投与の影響は認められなかった。

被験物質摂取量; 摂餌量、体重及び飼料中被験物質濃度から算出した投与期間中の平均被験物質

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

摂取量 (mg/kg/day) は、以下の通りであった。

性別	雄	雌
1 ppm	0.06	0.07
2 ppm	0.12	0.15

血液学的検査；投与後 26 及び 52 週時に各群 10 匹ずつを対象として、腹大動脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット、ヘモグロビン量、赤血球数、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)、血小板数、白血球数、白血球百分率、網赤血球率、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 (APTT)、フィブリノーゲン量

対照群と比較して、有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。

検査 時期	性別	雄		雌	
	投与量 (ppm)	1	2	1	2
第 26 週	MCHC		↓ 98		
	白血球数	↓ 78			
	P T		↓ 96		
	APTT			↓ 87	↓ 91
第 52 週	好中球比率		↑ 139		
	リンパ球比率	↓ 89	↓ 84		
	好酸球比率	↑ 200			

↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01 (Dunnnett の多重検定)

被験物質投与と関連する変化は、認められなかった。

2 ppm 投与群雄でみられた MCHC の低下、リンパ球比率の低下、好中球比率の増加、PT の短縮は軽微であり、雌ではみられず、2 年間反復投与試験でもみられなかった変化であったので、被験物質投与とは関連しない変化であると考えられた。また、雌でみられた APTT の短縮は、用量相関性のない変化であった。

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て、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、A/G 比、血糖、中性脂肪、リン脂質、総コレステロール、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ、カルシウム、無機リン、ナトリウム、

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

カリウム、塩素

対照群と比較して有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄		雌	
		1	2	1	2
第 26 週	リン脂質			♯ 85	
	血糖				↓ 87
	尿素窒素		↓ 88		
	クレアチニン		↓ 86	♯ 114	♯ 114
	総ビリルビン	↓ 80		♯ 70	↓ 70
	総蛋白				↓ 96
	塩素				♯ 102
第 52 週	リン脂質				↓ 81
	総蛋白				↓ 97
	総コレステロール				↓ 78
	カリウム	↓ 92			
	カルシウム		♯ 96		
	無機リン	↓ 82			♯ 131

↑↓ : p<0.05, ♯♯ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

被験物質投与に関連する変化は認められなかった。いずれも軽微な変化であり、用量相関性や 2 年間反復投与試験結果を考慮して、毒性学的に意義のない変化であると考えられた。

コリンエステラーゼ活性検査；投与後 26 及び 52 週時の生存動物の全例を対象として、腹大動脈から血液を採取し、血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ (ChE) 活性を測定した。また、剖検時に脳を採取し、脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

各投与群のコリンエステラーゼ活性の対照群に対する比率 (%) を下表に示す。なお、統計学的解析結果に係わらず、脳及び赤血球について、対照群の平均値から 20% 以上変動した場合を被験物質の影響と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄		雌	
		1	2	1	2
第 26 週	血漿	97	92	94	↓ 80
	赤血球	↑ 115	91	109	104
	脳	↑ 109	♁ 113	↑ 105	↓ 95
第 52 週	血漿	101	98	101	♁ 78
	赤血球	98	93	113	100
	脳	108	↑ 108	105	103

↑↓ : p<0.05, ♁♁ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

第 26 週及び 52 週において、1 及び 2 ppm 投与群雄雌の赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性は、対照群の 80% を下回ることにはなかった。第 26 週の 1 ppm 投与群雌雄及び 2 ppm 投与群雄、並びに第 52 週の 1 及び 2 ppm 投与群雌雄の脳コリンエステラーゼ活性値はむしろ対照群より高かったが、軽微な変化であった。血漿コリンエステラーゼ活性は、2 ppm 投与群雌で対照群の 78~80% であったが、血漿コリンエステラーゼ活性には毒性学的意義がないと考えられている。その他の投与群雄雌の血漿コリンエステラーゼ活性は、いずれも対照群の 80% 以上であった。

眼科学検査；投与開始前及び投与終了時には、対照群及び全投与群の生存動物の両眼についてスリットランプ及び検眼鏡を用いて行った。

被験物質投与と関連する変化は認められなかった。

臓器重量；投与後 26 及び 52 週の剖検時に以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、副腎

対照群と比較して有意差の認められた臓器及び対照群に対する変動率(%)を下表に示す。

検査時期	性別		雄		雌	
	投与量 (ppm)		1	2	1	2
第 52 週	脳	絶対重量				↓ 95
	肝臓	相対重量				↓ 90

↑↓ : p<0.05, ♁♁ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

第 52 週計画屠殺動物において、2 ppm 投与群雌の脳絶対重量及び肝臓の対体重比の低下がみられたが、軽微な変化であり、被験物質投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理学検査；途中死亡動物及び第 26 週並びに第 52 週計画屠殺動物について、剖検を行った。

対照群と比較して、被験物質投与群では有意に増加した病変はみられず、被験物質投与に起因する病変も観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

病理組織学検査；慢性毒性・発癌性併合試験（資料 T14）では、最低用量の 3 ppm 投与群でも被験物質投与の病理組織に対する影響が認められなかったため、当該試験では、病理組織学的検査は計画されなかった。但し、第 52 週投与終了時の剖検で、1 ppm 投与群雌 1 例及び 2 ppm 投与群雌 3 例に下垂体結節が認められたため、病理組織標本作製し、鏡検した。3 例には下垂体前葉腺腫、他の 1 例には下垂体前葉過形成が認められた。この傾向は慢性毒性・発癌性併合試験（資料 T14）では認められていないことから、自然発生的な病変と考えられた。

以上の結果から、本剤をラットに 52 週間反復経口投与した場合、2 ppm 投与群でも体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理学的検査では影響がみられず、コリンエステラーゼ活性にも毒性学的に意味のある影響が認められなかったため、本試験における無毒性量は、雄雌とも 2 ppm（雄：0.12 mg/kg/day，雌：0.15 mg/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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

③ マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 T16)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：Crj: CD-1(ICR)[SPF]系マウス、開始時 5 週齢、1 群雄雌各 50 匹、

体重；雄 21.2～29.8 g、雌 21.1～25.9 g

投与期間：78 週（2001 年 7 月 31 日～2003 年 1 月 28 日）

投与方法：被験物質を 0、3、10、30 及び 100 ppm の濃度で飼料に混入し、78 週間にわたって随時
摂食させた。被験物質混入飼料は毎週 1 回調製し、週 2 回給餌した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態の観察及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

78 週間の投与終了時の各群の死亡率（%）を下表に示す。

投与量 (ppm)	0	3	10	30	100
雄	36	30	32	30	22
雌	20	18	12	28	26

死亡率には、被験物質投与の影響は認められなかった。

投与期間中、削瘦、立毛、生殖器付近の被毛の汚れ、耳介等の蒼白、自発運動低下、耳部の外傷、体温低下、頸部の外傷、泌尿生殖器の出血などの症状が、対照群を含む全群にみられたが、いずれも加齢とともによく観察される自然発生性の変化であり、被験物質投与の影響は認められなかった。

体重変化；体重は、投与開始から投与 14 週まで毎週 1 回、その後は投与終了まで 4 週に 1 回測定した。

各群の平均体重推移 (g) を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

性別	雄					雌				
	0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
投与量 (ppm)	0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
第0週	27.1	27.3	27.2	27.2	27.2	23.5	23.4	23.5	23.5	23.5
第7週	39.4	39.4	39.4	28.7	♯35.1	30.6	30.3	30.4	30.3	29.1♯
第13週	43.1	43.3	43.3	42.7	♯38.4	32.8	32.3	33.1	33.7	31.9
第26週	46.1	46.6	47.2	45.7	♯42.1	36.5	36.4	37.4	38.4	35.2
第54週	49.3	49.5	48.0	47.5	♯45.0	40.4	39.8	41.1	42.9	40.4
第78週	46.8	48.9	45.6	♯42.5	43.5	42.0	41.8	42.3	42.8	40.9
体重増加量 (0~78週)	19.5	21.7	18.2	♯15.3	16.4	18.6	18.2	18.7	19.4	17.2

♯ : p<0.05, ♯♯ : p<0.01 (Dunnettの多重検定またはSteelの検定)

対照群と比較して、100 ppm 群雄雌では投与1から7週まで、雄では引続き54週までの体重が対照群より有意に低く、被験物質投与の影響と考えられた。

その他の投与群では、被験物質投与の影響はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を毎週2回測定し、週間摂餌量及び食餌効率を算出した。

各群の平均摂餌量 (g/week) を下表に示す。

性別	雄					雌				
	0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
投与量 (ppm)	0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
第1週	35.2	34.7	35.5	35.6	♯28.5	32.0	32.2	31.7	33.2	♯24.4
第7週	36.7	35.2	35.5	♯34.1	♯33.8	36.7	35.1	34.8	36.3	♯34.0
第13週	37.6	36.0	36.6	♯34.8	♯33.1	36.2	34.9	35.0	36.3	♯31.7
第26週	35.8	35.2	35.0	34.7	♯33.2	37.4	35.9	35.7	♯34.8	♯33.0
第52週	35.9	36.3	35.8	34.8	♯33.4	35.7	36.0	36.0	35.9	♯31.8
第78週	35.1	35.6	34.9	33.6	33.3	39.1	37.4	♯34.1	♯35.8	♯32.8
第1~78週 総摂餌量 (g/rat)	2789	2731	2749	2663	♯2571	2890	2775	2770	2768	♯2518

♯ : p<0.05, ♯♯ : p<0.01 (Dunnettの多重検定またはSteelの検定)

対照群と比較して100 ppm 投与群の雄雌では投与期間中の総摂餌量が有意に低かった。その他の投与群には、被験物質投与の影響はみられなかった。

100 ppm 投与群雄の投与開始から13週間の平均食餌効率は対照群より低かった。その他の投与群の食餌効率は、対照群と同等であった。

被験物質摂取量；投与期間中の摂餌量、体重及び飼料中被験物質濃度から算出した平均被験物質摂取量 (mg/kg/day) は、以下の通りであった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

投与量 (ppm)	雄	雌
3	0.36	0.45
10	1.21	1.48
30	3.62	4.48
100	12.27	14.16

血液学的検査；投与終了時の全生存動物を対象として、腹大動脈から血液を採取して、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、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)、血小板数、白血球数、白血球百分率、網赤血球率

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。

性 別	雄				雌			
	3	10	30	100	3	10	30	100
ヘマトクリット						↓ 95		
MCV								↓ 96
MCHC							↑ 103	↑ 104
白血球数							↑ 150	↑ 175
好中球比率		↑ 126						
好酸球比率			↓ 50					

↑↓ : p<0.05, ↑↑ ↓↓ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

30 及び 100 ppm 投与群雌では、白血球数及び MCHC の有意な増加、100 ppm 投与群雌で MCV の有意な低下がみられた。

その他の変化は、いずれも軽微な変化あるいは用量相関性のない変化であった。

コリンエステラーゼ活性；投与終了時に計画屠殺した対照群及び被験物質投与群雄雌各 15 匹を対象として、腹大動脈から血液を採取し、血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性を測定した。また、解剖時に脳（左半球）を採取し、コリンエステラーゼ活性測定に供した。

各投与群のコリンエステラーゼ活性の対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。なお、統計学的解析結果に係わらず、脳及び赤血球について、対照群の平均値から 20% 以上変動した場合を被験物質の影響と判断した。

性 別	雄				雌			
	3	10	30	100	3	10	30	100
血 漿	74	↓ 37	↓ 30	↓ 34	↓ 42	↓ 20	↓ 22	↓ 15
赤血球	↓ 74	↓ 48	↓ 25	↓ 10	94	↓ 61	↓ 40	↓ 11
脳	96	85	↓ 37	↓ 29	↓ 95	↓ 67	↓ 41	↓ 26

↑↓ : p<0.05, ↑↑ ↓↓ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

赤血球コリンエステラーゼ活性は、雌の 3 ppm 投与群を除く全ての投与群で統計学的に有意な低下がみられ、いずれも活性値は対照群の 80%以下であった。脳コリンエステラーゼ活性は、雄の 30 ppm 投与群以上及び雌の 3 ppm 投与群以上で統計学的に有意な低下がみられたが、対照群の 80%を下回ったのは、雄の 30 ppm 以上及び雌の 10 ppm 以上の投与群であった。

臓器重量；投与期間終了時の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。

心臓、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、精巣上体、子宮および副腎

対照群と比較して、有意差の認められた項目及び対照群に対する変動率 (%) を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		3	10	30	100	3	10	30	100
脳	絶対重量		↑ 104		↑ 104				
	対体重比			↑ 113	↑ 112				
心臓	絶対重量				↓ 95				↓ 89
	対体重比								↓ 95
肝臓	絶対重量				↓ 84				↓ 86
	対体重比	↓ 91							
腎臓	絶対重量			↓ 91					
脾臓	絶対重量								↓ 61
副腎	絶対重量				↑ 125				↑ 130
	対体重比				↑ 156				↑ 140

↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

100 ppm 投与群雄雌では、副腎重量 (絶対重量及び対体重比) の増加がみられた。また、同群雄では、脳重量 (絶対重量及び対体重比) の増加もみられた。同群雌では、心臓重量 (絶対重量及び対体重比) 及び脾臓重量 (絶対重量) の低下がみられた。その他の変化は、用量相関性や病理組織学的所見から被験物質投与の影響ではないと考えられた。

肉眼的病理学検査；途中死亡及び切迫屠殺動物、並びに投与期間終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。

対照群と比較して、被験物質投与群で発現頻度に統計学的有意差を伴う所見はみられず、被験物質投与による特異的所見もみられなかった。

病理組織学検査；途中死亡及び切迫屠殺動物、並びに投与期間終了時に剖検に供した対照群及び高用量群の生存動物について、以下の組織の病理組織学的検査を行った。

皮膚、乳腺 (雌)、リンパ節 (腸間膜及び下顎)、下顎腺、胸骨、大腿骨、骨髓 (胸

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

骨及び大腿骨), 胸腺, 気管, 肺 (気管支を含む), 心臓, 甲状腺, 上皮小体, 咽頭, 喉頭, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 肝臓, 胆嚢, 膵臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 膀胱, 精嚢, 凝固腺, 前立腺, 精巣, 精巣上体, 卵巣, 子宮, 陰, 脳, 眼球 (視神経を含む), 下垂体, 脊髄 (頸髄, 胸髄, 腰髄), ハーダー腺, 鼻腔, 骨格筋, 坐骨神経, 大動脈, 肉眼的異常部位

〔非腫瘍性病変〕

観察された主な非腫瘍性病変を別表 1 に示す。

被験物質投与の影響として、副腎の皮質肥大、鉍質沈着が 100 ppm 投与群雄雌に観察された。

その他の所見は、通常加齢マウスで認められるもので、被験物質投与の影響ではないと考えられた。

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を別表 2 に示す。

被験物質投与群に特異的な腫瘍発現は認められず、腫瘍発現率の変化や発現時期の早期化等も認められなかった。

観察された腫瘍性病変は、いずれも自然発生的な病変であり、被験物質投与とは関連しないと考えられた。

以上の結果から、本剤を Crj: CD-1(ICR)系マウスに 78 週間混餌投与したところ、100 ppm 投与群雄雌で体重増加抑制、白血球数の増加等がみられ、30 ppm 投与群雌でも白血球数の増加が認められたので、本試験における無毒性量は雄で 30 ppm (3.62 mg/kg/day)、雌で 10 ppm (1.48 mg/kg/day) であると考えられた。コリンエステラーゼ活性阻害に対する無毒性量は、雄は 3 ppm 以下 (0.36 mg/kg/day 以下)、雌では 3 ppm (0.45 mg/kg/day) 以下であると判断された。また、催腫瘍性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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

【別表 1】非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
死亡・ 切迫屠殺動物	臓器	所見/検査動物数	18	15	16	15	11	10	9	6	14	13
	脾臓	髓外造血亢進	6	6	7	12 ⁰	4	6	5	3	10	7
		色素沈着増加	1	1	6 [†]	4	4	5	2	2	3	3
	胃	腺胃潰瘍	1	1	1	6 [†]		1	1	1	1	3
		腺胃粘膜過形成	5	2	4	0 [↓]	1	2	2	1	3	
	肝臓	髓外造血	7	7	8	6	0 [↓]	3	6	3	7	7
	下顎腺	好酸性顆粒減少	1					5	0 [↓]	0	0 ⁰	4
	腎臓	尿細管拡張	5	5	5	2	8 [†]	5	2	3	5	1 [↓]
		鉍質沈着		2	4 [†]	1						2
		メザンギウム増殖 (糸球体)	2	5	3	7 [†]	3	5	2	1	5	1 [↓]
	子宮	多発性動脈炎	-	-	-	-	-	5	1	1	1 [↓]	0 ⁰
		嚢胞状内膜過形成	-	-	-	-	-	10	5 [↓]	2 ⁰	10	6 ⁰
	副腎	泡沫細胞集簇	16	12	13	11	10	9	7	6	12	13
		鉍質沈着	2			3		1			1	5
皮質肥大						1				2	4	
紡錘細胞過形成		2	3	1	2	2	6	6	3	8	6	
臓器	所見/検査動物数	32	30	30	30	39	40	30	30	30	37	
凝固腺	拡張	10	-	-	-	3 [↓]	-	-	-	-	-	
肝臓	リンパ球浸潤	6	-	-	-	11	16	-	-	-	23 [†]	
副腎	泡沫細胞集簇	27	-	-	-	39 [†]	37	-	-	-	37	
	鉍質沈着	0	-	-	-	14 ⁰	6	-	-	-	21 ⁰	
	巣状皮質肥大	6	-	-	-	1 [↓]	0	-	-	-	0	
	皮質肥大	0	-	-	-	24 ⁰	17	-	-	-	33 ⁰	
脳	紡錘細胞過形成	3	-	-	-	10	36	-	-	-	23 ⁰	
	鉍質沈着	18	-	-	-	9 ⁰	15	-	-	-	2 ⁰	
眼球	水晶体変性	9	-	-	-	14	27	-	-	-	14 ⁰	
ハーダー腺	腺腔拡張	19	-	-	-	13 [↓]	32	-	-	-	13 ⁰	
臓器	所見/検査動物数	50	45	46	45	50	50	49	46	44	50	
副腎	泡沫細胞集簇	43	12	13	11	49	46	7	6	12	5 ⁰	
	鉍質沈着	2			3	14	7			1	26	
	皮質肥大					25	17			2	37	
	紡錘細胞過形成	5	3	1	2	12	42	6	3	8	29	
心臓	線維化	21	4	8	8	16	22	1	3	5	17	
脾臓	髓外造血亢進	29	6	7	12	31	38	5	3	10	38	
胸腺	萎縮	34	10	13	9	38	27	1	3	4	31	
肺	マクロファージ集簇	8	3		4	14	8		2	3	10	
	リンパ球浸潤	5				5	7				10	
鼻腔	呼吸上皮増生	27	1	4	4	19	17	2	1	2	18	
胃	腺腔拡張	12	1	3		7	8			1	4	
肝臓	マクロファージ集簇	22	4	4	6	24	27	3	1	1	23	
	小肉芽	18	1	1	1	21	23				20	
	変異肝細胞巣	12	2	1	2	6		2			1	
腎臓	好塩基性尿細管	43	6	7	9	45	29	2	1	6	25	
	硝子円柱	45	12	13	10	45	35	4	4	11	24	
	メザンギウム増殖	11	5	3	7	12	12	2	1	5	6	
精巣	精細管萎縮	16	6	4	4	14	-	-	-	-	-	
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	-	36	4	4	9	27	
子宮	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	-	44	5	2	10	37	

†: p<0.05, 0⁰: p<0.01 (Dunnettの多重検定)、発現数0は省略、-: 検査実施例なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

〔別表 2〕腫瘍性病変

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
死亡・切迫屠殺動物	臓器	所見/検査動物数	18	15	16	15	11	10	9	16	14	13
	心臓	血管肉腫 (M)	1									
	脾臓	血管肉腫 (M)	1									1
		悪性リンパ腫 (M)	1									
	リンパ節	組織球性肉腫 (M)								1		1
		悪性リンパ腫 (M)	3	3	3	2	2	3	4	1	4	2
	胸腺	悪性肥満細胞腫 (M)									1	
	肺	悪性リンパ腫 (M)	1	1	1	1		1				
		肺胞/細気管支上皮腺腫 (B)	1	3			1				1	1
	肺	肺胞/細気管支上皮癌 (M)		1	1	1						1
		組織球性肉腫 (M)								1		
	空腸	組織球性肉腫 (M)								1		
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	2	3								
		肝細胞癌 (M)	1	3	3	3	1				1	
		血管肉腫 (M)			2	2						1
		組織球性肉腫 (M)								1	1	
	腹膜	肉腫, NOS (M)	-	-			-	-	-	-	1	-
	乳腺	腺癌 (M)	-	-	-	-	-				1	
	卵巣	悪性顆粒細胞腫 (M)	-	-	-	-	-		1			
	子宮	子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-				1	
		血管腫 (B)	-	-	-	-	-					1
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	1	2		1	
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-				1	
	下垂体	組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-			1	1	1
	下垂体	中間葉腺腫 (B)						1				
	膵島	腺腫 (皮質) (B)	1									
	ハダ腺	皮質腺腫 (B)		1	1							
皮下組織	扁平上皮癌 (M)				1	-		1				
	血管肉腫 (M)		1			-					1	
	組織球性肉腫 (M)	1				-						
尾	骨肉腫 (M)		1	-	-		-	-	-	-	-	
肋骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
第78週	臓器	所見/検査動物数	32	0	0	0	39	40	0	0	0	37
	脾臓	血管腫 (B)	1	-	-	-						
		悪性リンパ腫 (M)		-	-	-		1	-	-	-	
	リンパ節	血管腫 (B)		-	-	-		1	-	-	-	
		悪性リンパ腫 (M)	1	-	-	-	3	1	-	-	-	1
		組織球性肉腫 (M)		-	-	-		1	-	-	-	
	肺	肺胞/細気管支上皮腺腫 (B)	5	-	-	-	10	10	-	-	-	34
		肺胞/細気管支上皮癌 (M)	2	-	-	-	1	2	-	-	-	2
	胃	腺腫 (B)	4	-	-	-	04					
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	6	-	-	-	7					1
		血管腫 (B)		-	-	-	1					
		肝細胞癌 (M)	2	-	-	-	2					1
		肉腫, NOS (M)		-	-	-	1					
	腎臓	腎細胞腺腫 (B)		-	-	-	1					
	膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	1	-	-	-						
	乳腺	腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	
	卵巣	腺腫 (B)	-	-	-	-	-					1
		血管腫 (B)	-	-	-	-	-					1
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

〔別表 2〕 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
第 78 週	臓器	所見/検査動物数	32	0	0	0	39	40	0	0	0	37
	子宮	子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	5	-	-	-	3
		血管腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	2	-	-	-	3
		リンパ管腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		血管肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
	組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2	
	下垂体	前葉腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	副腎	皮質腺腫 (B)	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
	脳	星状膠細胞腫 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
ハーゲ腺	腺腫 (B)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
全 動 物	臓器	所見/検査動物数	50	15	16	15	50	50	9	6	14	50
	心臓	血管肉腫 (M)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		血管腫 (B)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	脾臓	血管肉腫 (M)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
		組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
		悪性リンパ腫 (M)	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	リンパ節	血管腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		悪性リンパ腫 (M)	4	3	3	2	5	4	4	1	4	3
	悪性肥満細胞腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	胸腺	悪性リンパ腫 (M)	1	1	1	1	-	1	-	-	-	-
	肺	肺胞/細気管支上皮腺腫 (B)	6	3	0	0	11	10	0	0	1	4
		肺胞/細気管支上皮癌 (M)	2	1	1	1	1	2	-	-	-	3
	胃	腺腫 (B)	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	空腸	組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	8	3	0	0	7	-	-	-	-	1
		血管腫 (B)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
		肝細胞癌 (M)	3	3	3	3	3	-	-	-	1	1
		血管肉腫 (M)	-	-	2	2	-	-	-	-	-	1
		組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-
	肉腫, NOS (M)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	
	腹膜	肉腫, NOS (M)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
	腎臓	腎細胞腺腫 (B)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	乳腺	腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	卵巣	血管腫 (B)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
		腺癌 (M)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
		悪性顆粒細胞腫 (M)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
		子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	5	0	0	1	3
	子宮	血管腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
平滑筋腫 (B)		-	-	-	-	-	3	2	-	1	3	
リンパ管腫 (B)		-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
血管肉腫 (M)		-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	
組織球性肉腫 (M)		-	-	-	-	-	1	-	1	1	3	
平滑筋肉腫 (M)		-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
下垂体	前葉腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
	中間葉腺腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

〔別表 2〕腫瘍性病変（続き）

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与群 (ppm)		0	3	10	30	100	0	3	10	30	100
全 動 物	臓器	所見/検査動物数	50	15	16	15	50	50	9	6	14	50
	副腎	皮質腺腫 (B)		1			1	1				1
	脾臓	腺腫 (B)	1									
	脳	星状膠細胞腫 (M)						1				
	ハダ腺	腺腫 (B)	1	1	1							1
	皮下組織	扁平上皮癌 (M)				1	-		1			
		血管肉腫 (M)		1			-					1
		組織球性肉腫 (M)	1				-					
	尾	骨肉腫 (M)		1	-	-	-	-	-	-	-	-
肋骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
合 計	検査動物数		50	15	16	15	50	50	9	6	14	50
	腫瘍数	良性	22	8	1	0	21	24	2	0	3	17
		悪性	14	10	10	10	10	14	6	5	12	15
	腫瘍総数		36	18	11	10	31	38	8	5	15	32
	担腫瘍動物数	良性	20	7	1	0	15	22	2	0	3	16
		悪性	13	9	8	9	10	13	6	4	10	16
担腫瘍動物数		30	11	9	9	22	31	7	4	11	25	

M: 悪性、B: 良性、↑: p<0.05、↑↑: p<0.01 (Fisher の確率検定法)、発現数 0 は省略、-: 検査実施例なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

④ マウスを用いた飼料混入投与による 78 週間反復経口投与毒性試験（追加試験）（資料 T17）

試験機関：

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2005 年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：Crj: CD-1 (ICR)[SPF]系マウス、開始時 5 週齢、1 群雄雌各 20 匹、
体重；雄 28.2～34.1 g、雌 22.5～27.2 g

投与期間：78 週間（2003 年 4 月 18 日～2004 年 10 月 18 日）

投与方法：被験物質を 0、0.1、0.25、0.5 及び 1.0 ppm 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。被験物質混入飼料は毎週 1 回調製し、週 2 回給餌した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態の観察及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

各群の投与終了時における死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)	0	0.1	0.25	0.5	1.0
雄	30	20	30	15	30
雌	20	15	15	15	35

死亡率には、被験物質投与の影響は認められなかった。

腹腔内腫瘍、潰瘍／生殖器付近、体温低下、蒼白／耳介等が対照群を含む各投与群にみられたが、いずれも自然発生的な変化であり、被験物質投与によるものとは考えられなかった。

体重変化；投与開始から投与 14 週まで毎週 1 回、その後は投与終了まで 4 週に 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

投与期間を通して、各投与群雄雌に被験物質投与と関連する体重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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を毎週 2 回測定し、週間摂餌量 (g/week) 及び食餌効率を算出した。

各投与群の 78 週間の総摂餌量及び 14 週間の平均食餌効率には、被験物質投与と関連する変化は認められなかった。

被験物質摂取量；摂餌量、体重及び飼料中被験物質濃度から算出した投与期間中の平均被験物質摂取量 (mg/kg/day) は、以下の通りであった。

	雄	雌
0.1 ppm	0.01	0.02
0.25 ppm	0.03	0.04
0.5 ppm	0.06	0.08
1.0 ppm	0.12	0.17

血液学的検査；本剤の 78 週間反復経口投与による発癌性試験 (資料 T16) では、最低用量群 (3 ppm) において被験物質投与と関連する変化が認められなかったため、本試験では、血液学的検査を実施しなかった。

コリンエステラーゼ活性検査；投与終了後に各群の生存動物の全例を対象として、腹大動脈から血液を採取し、血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。また、剖検時に脳を採取し、脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

各投与群のコリンエステラーゼ活性値の対照群に対する比率 (%) を下表に示す。なお、統計学的解析結果に係わらず、脳及び赤血球について、対照群の平均値から 20% 以上変動した場合を被験物質の影響と判断した。

性別	雄				雌			
	0.1	0.25	0.5	1	0.1	0.25	0.5	1
投与量 (ppm)								
血漿	85	82	90	86	98	109	108	98
赤血球	↑ 122	↑ 129	103	111	↓ 74	88	↓ 81	↓ 78
脳	102	96	93	↓ 94	↑ 108	106	100	98

↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01 (Dunnnett の多重検定)

雄の赤血球コリンエステラーゼ活性はいずれの投与群にも低下がみられなかった。雌では 0.25 及び 0.5ppm 投与群を除いて対照群より 20% 以上の低下がみられた。しかし、用量相関性は認められず、マウスを用いた発癌性試験 (資料 T16) では 3ppm 投与群雌で赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められなかったため、当該試験で認められた雌における赤血球コリンエステラーゼ活性の変化は被験物質投与は関連しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

脳コリンエステラーゼ活性は、1 ppm 投与群雄で統計学的に有意な低下がみられたが、対照群の 94%であり、毒性学的に意義のある変化ではないと考えられた。その他の投与群には、統計学的に有意な変化は認められなかった。

臓器重量；本剤の 78 週間反復経口投与による発癌性試験（資料 T16）では、最低用量群（3 ppm）において被験物質投与と関連する変化が認められなかったので、本試験では、臓器重量の測定を実施しなかった。

肉眼的病理学検査；途中死亡、切迫屠殺動物及び投与終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。
被験物質投与と関連する所見は、認められなかった。

病理組織学的検査；本剤の 78 週間反復経口投与による発癌性試験（資料 T16）では、最低用量群（3 ppm）において被験物質投与と関連する変化が認められなかったので、本試験では、病理組織学的検査を実施しなかった。

以上の結果から、本剤をマウスに 78 週間混餌投与したところ、いずれの検査項目にも変化が認められなかったことから、本剤の無毒性量は、雄雌とも 1.0 ppm（雄：0.12 mg/kg/day，雌：0.17 mg/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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

⑤ ビーグル犬を用いた経口投与による 1 年間反復投与毒性試験

(資料 T18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：ビーグル犬、開始時 6 ヶ月齢、1 群雄雌各 4 匹、体重；雄 6.8～9.0 kg、雌 6.2～8.7 kg

投与期間：1 年間 (52 週間) (2003 年 12 月 17 日～2004 年 12 月 17 日)

投与方法：被験物質を 1 w/v%メチルセルロースに懸濁し、0、0.05、0.2、1 及び 5 mg/kg/day の用量で、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。各個体の最新の体重を基に体重 1 kg 当たり 5 mL の投与容量で、1 日 1 回投与液を投与した。被験物質投与液は毎日調製した。対照群には、溶媒を同様に投与した。

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。

対照群及び投与群とも、全動物が試験終了まで生存した。被験物質投与に関連した一般状態の変化として、5 mg/kg 群の雄雌で軟便の発生頻度の増加がみられた。

申請者注 5mg/kg 群雌雄で投与 1 週から 4/4 匹に軟便がみられ、その後投与終了まで継続した。報告書には投与何日目からみられたか記載は無い。

体重変化；投与開始から毎週 1 回全動物の体重を測定した。被験物質投与の体重に対する影響は、いずれの投与群にも認められなかった。

摂餌量；全動物に毎日 250 g の固形飼料を給餌し、給餌後約 24 時間の残餌量から算出した。被験物質投与に関連する摂餌量の変化は、いずれの投与群にも認められなかった。投与 30 週以降、被験物質投与群雌では、用量相関性の伴わない有意な摂餌量の増加がみられたが、対照群の摂餌量が低かったため、被験物質投与とは関連しないと考えられた。

血液学的検査；投与開始前、投与開始後 13、26 及び 52 週に実施した。約 16 時間絶食したイヌの機側皮静脈より採血し、以下の項目の測定を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、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)、血小板数、白血球数、白血球百分率、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、大型非染色球数、網赤血球率、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 (APTT)、フィブリノーゲン量

対照群と比べて、統計学的な有意差のみられた項目及び対照群に対する変動率 (%) を以下に示す。

検査 時期	性別	雄				雌			
		投与量 (mg/kg)	0.05	0.2	1	5	0.05	0.2	1
第 13 週	ヘマトクリット			↓ 83	↓ 83			↓ 85	⊙ 82
	ヘモグロビン			⊙ 81	⊙ 81			⊙ 85	⊙ 81
	赤血球数		↓ 87	⊙ 82	⊙ 83			⊙ 81	⊙ 79
	MCHC			↓ 98	⊙ 97				
	好酸球比率				↑ 223				↑ 227
	好塩基球比率		↓ 60	↓ 60					
	好酸球数			↑ 220	⊙ 284				↑ 249
第 26 週	ヘマトクリット			⊙ 81	↓ 86	↓ 85	⊙ 81	↓ 87	
	ヘモグロビン			⊙ 80	↓ 84	↓ 85	⊙ 81	↓ 86	
	赤血球数			⊙ 80	↓ 85	↓ 85	⊙ 77	↓ 85	
	MCHC			↓ 98					
	好酸球比率			↑ 256	⊙ 331				↑ 338
	好酸球数			↑ 300	⊙ 454				↑ 336
	血小板数								↑ 134
	P T				↑ 108				
	APTT				↑ 114				
	フィブリノーゲン						↑ 135		
第 52 週	ヘマトクリット					⊙ 84	⊙ 82	⊙ 79	
	ヘモグロビン					⊙ 83	⊙ 81	⊙ 78	
	赤血球数					⊙ 82	⊙ 77	⊙ 77	
	MCHC			↓ 98	↓ 97				
	好酸球比率			↑ 213	⊙ 308				↑ 484
	好塩基球比率			↓ 50					
	好酸球数			⊙ 248	⊙ 387				⊙ 486
	APTT				⊙ 121				

↑↓: p<0.05, ⊙⊙: p<0.01 (Dunnnettの多重検定)

第13週の検査では、対照群と比較して、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の統計学的に有意な低下が1及び5 mg/kg 群の雄雌、赤血球数の統計学的に有意な低下が0.2、1及び5 mg/kg 群の雄と1及び5 mg/kg 群の雌、好酸球比率及び好酸球数の統計学的に有意な増加が5 mg/kg 群の雄雌に認められた。好酸球数の統計学的に有意な増加は、1 mg/kg 群の雄にも認められた。その他には、対照群と比較してMCHCの統計学的に有意な低下が1及び5 mg/kg 群の雄、また、好塩基球比率の統計学的に有意な低下が0.2及び1 mg/kg 群の雄に認められたが、いずれもその程度は軽微であった。

第26週の検査では、対照群と比較してヘマトクリット値、ヘモグロビン量及び赤血球数

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

の統計学的に有意な低下が 1 及び 5 mg/kg 群の雄と 0.2、1 及び 5 mg/kg 群の雌、好酸球比率及び好酸球数の統計学的に有意な増加が 1 及び 5 mg/kg 群の雄と 5 mg/kg 群の雌に認められた。その他には、対照群と比較して MCHC の統計学的に有意な低下が 1 mg/kg 群の雄に認められたが、用量相関性のない変化であった。血小板数の統計学的に有意な増加が 5 mg/kg 群の雌に認められたが、その程度は軽微であった。

対照群と比較してプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の統計学的に有意な延長が 5 mg/kg 群の雄に認められたが、いずれもその程度は軽微であった。フィブリノーゲン量の統計学的に有意な増加が 0.2 mg/kg 群の雌に認められたが、5 mg/kg 群には認められない変化であった。

第 52 週の検査では、対照群と比較してヘマトクリット値、ヘモグロビン量及び赤血球数の統計学的に有意な低下が 0.2、1 及び 5 mg/kg 群の雌、好酸球比率及び好酸球数の統計学的に有意な増加が 1 及び 5 mg/kg 群の雄と 5 mg/kg 群の雌に認められた。その他には、対照群と比較して MCHC の統計学的に有意な低下が 1 及び 5 mg/kg 群の雄に認められたが、その程度は軽微であった。

対照群と比較して活性化部分トロンボプラスチン時間の統計学的に有意な延長が 5 mg/kg 群の雄に認められたが、その程度は軽微であった。

血液生化学的検査；投与開始前、投与開始後 26 及び 52 週に実施した。約 16 時間絶食したイヌの桡側皮静脈より採取し、以下の項目の測定を実施した。

総蛋白、アルブミン、A/G、血糖、中性脂肪、リン脂質、総コレステロール、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (rGTP)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比べて、統計学的な有意差のみられた項目及び対照群に対する変動率 (%) を以下に示す。

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (mg/kg)	0.05	0.2	1	5	0.05	0.2	1
第 26 週	アルブミン				↓ 90				
	総ビリルビン				↑ 260				

↑↓: p<0.05、↑↓↓: p<0.01 (Dunnett の多重検定)

第 26 週の検査では、対照群と比較してアルブミンの統計学的に有意な減少が 5 mg/kg 群の雄に認められたが、その程度は軽微であった。

第 52 週の検査では、対照群と比較して総ビリルビンの統計学的に有意な増加が 5 mg/kg 群の雄に認められ、アルブミンの統計学的に有意な減少が 5 mg/kg 群の雌に認められたが、いずれもその程度は軽微であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

尿検査；投与開始前、投与開始後 26 及び 52 週に尿を採取し、下記の項目について測定した。

pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ビリルビン、ウロビリノーゲン、尿沈渣、尿量、色調、尿浸透圧

尿検査では、いずれの投与群にも被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性検査；血漿コリンエステラーゼ及び赤血球コリンエステラーゼについては、投与開始前、投与開始後 26 及び 52 週に測定した。血液は、約 16 時間絶食したイヌの桡側皮静脈より採取した。脳コリンエステラーゼについては、解剖時に脳（小脳左半分）を採取して重量を測定後、測定に供した。いずれもアセチルチオコリンを基質とした DTNB 法で測定した。

対照群と比べて、統計学的な有意差のみられた項目及び対照群に対する変動率（%）を以下に示す。なお、統計学的解析結果に係わらず、脳及び赤血球について、対照群の平均値から 20%以上変動した場合を被験物質の影響と判断した。

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (mg/kg)	0.05	0.2	1	5	0.05	0.2	1
第 1 週	血漿	111	106	104	97	103	96	106	99
	赤血球	86	77	90	96	83	98	84	82
第 26 週	血漿	118	114	♯ 136	114	110	101	114	114
	赤血球	89	79	80	♯ 34	86	104	65	♯ 23
第 52 週	血漿	119	118	♯ 142	♯ 132	104	99	110	114
	赤血球	83	80	86	♯ 46	91	114	71	♯ 28
	脳	94	88	83	95	105	99	96	100

♯ : p<0.05, ♯♯ : p<0.01 (Dunnett の多重検定)

第 26 週及び 52 週の検査では、対照群と比較して 5 mg/kg 群の雄雌に赤血球コリンエステラーゼ活性の統計学的に有意な低下が認められた。しかし、投与終了時の脳コリンエステラーゼ活性には 20%を超える低下がいずれの投与群にも認められなかった。

眼科学検査；投与開始前及び投与開始後 52 週に全動物の両眼について、検眼鏡及び眼底カメラを用いて実施した。被験物質投与に関連する変化は、認められなかった。

臓器重量；52 週間投与終了後に屠殺した全動物を剖検し、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比を算出した。

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

対照群と比べて、統計学的な有意差のみられた項目及び対照群に対する変動率（%）

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

を以下に示す。

性 別		雄				雌			
臓 器	投与群 (mg/kg)	0.05	0.2	1	5	0.05	0.2	1	5
脾 臓	絶対重量				↑ 158				
	対体重比				↑ 149				↑ 147
腎 臓(左)	絶対重量							↑ 120	
下顎腺(右)	絶対重量					↑ 121			
下顎腺(左)	絶対重量					↑ 120			
精 巣(右)	対体重比		↓ 66						
精 巣(左)	対体重比		↓ 70	↓ 72					

↑↓: p<0.05, ↑↑: p<0.01 (Dunnnettの多重検定)

対照群と比較して、5 mg/kg 群の雄雌に脾臓の対体重比重量の統計学的に有意な上昇が認められ、雄では絶対重量の統計学的に有意な上昇も認められた。

その他には、対照群と比較して1 mg/kg 群の雌における左腎臓の絶対重量、0.05 mg/kg 群の雌における左右下顎腺の絶対重量の統計学的に有意な上昇が、0.2 mg/kg 群の雄において左右精巣の対体重比重量の統計学的に有意な低下が認められたが、いずれも5 mg/kg 群には認められない変化であった。1 mg/kg 群でも、左精巣の対体重比重量の低下が認められたが、片側のみの変化であった。

肉眼的病理検査；投与終了時に全生存動物について、解剖して、肉眼的病理検査を行った。

観察された所見を別表1に示す。

被験物質投与に関連する所見は、いずれの投与群にも認められなかった。観察された所見はいずれも自然発生的な変化であり、被験物質投与に起因するものとは考えられなかった。

病理組織学検査；投与終了時の剖検に際し、全動物から以下の臓器・組織を摘出し、通常の方法でパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した後に鏡検した。(病理組織標本は組織科学研究所で作製した。)

脳、下垂体、眼球、視神経、下顎腺、耳下腺、頸部リンパ節、甲状腺、上皮小体、舌、心臓、胸腺、肺(気管支を含む)、気管、食道、大動脈、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、膵臓、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、膀胱、前立腺、卵巣、子宮、脛、骨格筋、脊髄、大腿骨、胸骨、骨髄(大腿骨及び胸骨)、坐骨神経、皮膚、乳腺(雌)及び肉眼的異常部位

観察された所見を別表2に示す。

被験物質投与に関連すると考えられる変化が、骨髄、脾臓、肝臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸及び直腸に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

0.2 mg/kg 以上の投与群では、骨髄における造血亢進及び脾臓における髄外造血がみられ、脾臓及び肝臓（クッパー細胞）における色素沈着もみられた。

主に 1 mg/kg 以上の投与群において、胃から直腸粘膜固有層における好酸球の増加や杯細胞の減少がみられ、0.2 mg/kg 以上の投与群の盲腸から直腸に形質細胞増生もみられた。その他には、被験物質投与と関連する所見は、認められなかった。

以上の結果から、イミシアホス原体のイヌに対する 1 年間反復経口投与毒性試験における影響として、一般状態における軟便及び赤血球コリンエステラーゼ活性の低下、脾臓重量の増加等が 5 mg/kg 投与群に認められ、血液学検査における軽度な貧血、骨髄における造血亢進、脾臓における髄外造血、盲腸等における形質細胞増生等が 0.2 mg/kg 以上の投与群に認められたので、本試験における無毒性量は、雄雌とも 0.05 mg/kg 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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

〔別表1〕肉眼的病理所見

性 別		雄					雌				
投 与 量 (mg/kg)		0	0.05	0.2	1	5	0	0.05	0.2	1	5
臓 器	所見/動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
脾 臓	瘢 痕				1						
	白色斑点	1	1		1	1			2	2	
肺	褐色斑点								1	1	
	白色斑点		2			1	1	1			
小 腸	黒色斑点		1		1						
	赤色斑点							1			
	白色斑点	1									
肝 臓	表面粗糙						1				
胆 嚢	胆汁沈渣	3	2		2	2	1	1	2	1	
腎 臓	腎盂拡張									1	
尿 管	肥 厚									1	
膀胱	赤色斑点	1								1	
精巣上体	萎 縮				1		-	-	-	-	
卵 巢	囊 胞	-	-	-	-	-	1		2		
卵 管	囊 胞	-	-	-	-	-			1		
下垂体	囊 胞			1	1		1			1	
	灰色斑点			1							
甲状腺	萎 縮				1						
	囊 胞									1	
	結 節			1				1			
脳	脳室拡張				1	1					

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

〔別表 2〕 病理組織学的検査所見（強調文字は被験物質の影響を示す。）

臓器	性 別	雄					雌				
		投 与 量 (mg/kg)	0	0.05	0.2	1	5	0	0.05	0.2	1
臓器	所見/動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
心 臓	単核細胞浸潤	1				1					
骨 髄	造血亢進			3	3	4			2	4	2
脾 臓	色素沈着 (軽度)	4	4	2	2	1	4	4	3	3	2
	色素沈着 (中等度)			2	2	3			1	1	2
	被膜肥厚		1			1			1	1	
	髓外造血 (軽度)	4	4	3	2	2	4	4	4	3	3
	髓外造血 (中等度)			1	2	2				1	1
	鉄線維性結節				1	2					
胸 腺	萎 縮	1	1	1	1	2		1			1
	ケルスタイナー氏管/囊胞	3	2	2	2	3	2	2	1	2	2
肺	リンパ管拡張					1		1		2	
	泡沫細胞集簇	2	3		1	1			1		2
	動脈炎			1							
	異物反応	1	1								
	小肉芽	1		2	1		2	3	1	4	2
	肺 炎					1			1		
	被膜肥厚		1								
	結節性増生		1					1			
骨化生			2								
舌	リンパ球浸潤	2	1		1						
食 道	リンパ球浸潤		1								
胃	糜 爛										2
	動脈炎	1									
	好酸球増加					1					2
膵 外分泌部	リンパ球浸潤		1								
	腺ラ氏島細胞増殖		1		1		1				
	線維化	1									
	腺管増生	1									
十二指腸	乳頭拡張	1	1		2						
	陰窩拡張	1	2	2	1		1		1	1	1
	腺腔拡張				1				1		
	異所性腺組織				1						
	好酸球増加										1
	十二指腸腺再生								1		
空 腸	陰窩拡張					1					
	好酸球増加										2
回 腸	炎 症						1				
	好酸球増加			1	1	2			1	3	4
盲 腸	杯細胞減少								1		
	好酸球増加					1			1		3
	形質細胞増生										2
結 腸	上皮剥離								1		1
	鉍質沈着						1				
	杯細胞減少								1		1
	好酸球増加					1			1		2
	形質細胞増生										1

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

性 別		雄					雌				
投 与 量 (mg/kg)		0	0.05	0.2	1	5	0	0.05	0.2	1	5
臓 器		所見/動物数									
直 腸	出 血									1	
	上皮剥離				1	1				1	1
	上皮再生									1	1
	杯細胞減少					2				1	2
	好酸球増加				2	3				4	2
	形質細胞増生				1	3			2	3	4
肝 臓	クッパー細胞色素沈着			2	2	2			1	3	2
	包膜炎			1							
	リンパ球浸潤								1	1	1
	小肉芽	1	2	3	3	2	2	3	2	3	4
	門脈域線維化						1				
胆 嚢	リンパ球浸潤	1	3	1		2	1	2	1	1	3
下顎腺	リンパ球浸潤		3	2	1	1	3	3	3		2
耳下腺	腺房萎縮	1	1	1	1	1					1
	鉍質沈着	1				1					
	リンパ球浸潤	2	2	1	3	2	3	2	3	2	3
腎 臓	尿細管好塩基化	1	1	2	1			1	2		1
	硝子円柱	1		1				1	1		
	囊 胞			1							
	色素沈着	1	1	2	1	3		1		1	
	管腔拡張	1					1				2
	鉍質沈着	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4
	リンパ球浸潤	2	1		1	1	2		1		
	腎盂腎炎									1	
尿 管	炎 症									1	
膀 胱	出 血	1									
	炎 症									1	
乳 腺 (雌)	管腔拡張	-	-	-	-	-		1			
精 巢	精細管萎縮	1			3	2	-	-	-	-	-
	鉍質沈着			1			-	-	-	-	-
精巢上体	鉍質沈着	1	0				-	-	-	-	-
	リンパ球浸潤		2	1	2	1	-	-	-	-	-
前立腺	リンパ球浸潤		1	1			-	-	-	-	
卵 巢	黄体囊胞	-	-	-	-	-	1				
	濾胞性囊胞	-	-	-	-	-			1		
卵 管	囊 胞	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
子 宮	腺腔拡張	-	-	-	-	-			1		
下垂体	囊 胞		1	3	1		1	1		2	1
甲 状 腺	C細胞複合体		2	2	2	1	1	2	1	1	1
	濾胞拡張								1		
	甲状腺炎		1				1	1			
	ケルスタイナー氏管/囊胞							2			
	嚢後体遺残			1							
上皮小体	ケルスタイナー氏管/囊胞		1	1		1		1	2		
副 腎	皮質空胞化						1		2		1
脳	リンパ球浸潤		1								
	グリア細胞増生						1				
脊 髄	鉍質沈着	3	2	3	3	2	2	4	4	4	2
皮 膚	リンパ球浸潤					1					
筋 肉	鉍質沈着					1					

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(8) 繁殖毒性及び催奇形性

① ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 T19)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：CrI:WI(Glx/BRL/Han)BR 系ラット、投与開始時 9～11 週齢、1 群雄雌各 24 匹、
体重；雄 259.2～314.1 g、雌 177.0～216.0 g

投与期間：P 世代；交配前 10 週間、妊娠期間及び哺育期間、計 19 週間

F₁ 世代；離乳後交配まで 10 週間、妊娠期間及び哺育期間、計 18 週間

(2001 年 4 月 10 日～2001 年 12 月 21 日)

投与方法：被験物質を 0、3、18 及び 100 ppm の濃度で飼料混入し、動物に自由摂取させた。飼料
は毎週調製し、7 分割して初日分以外は冷凍保存し、毎日飼料を交換した。

用量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：試験方法概要を表 1 に要約する。

一般状態及び死亡率；全動物について試験期間中一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；同群の雄雌を 1：1 で同居させ、翌朝、膣栓及びスメア中の精子により交
尾を確認した。交尾の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、妊娠及び分娩データから次の指標を算出した。

$$\text{交尾指数} = \frac{\text{交尾が確認された雌動物数}}{\text{交尾までに要した発情周期数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{受精率} = \frac{\text{妊娠雌動物数}}{\text{交配雌動物数}} \times 100$$

交尾前期間（日数）中央値＝群の半数の雌の交尾が確認される迄の期間（日数）

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{受胎雌動物数}} \times 100$$

$$\text{着床後胎児生存率} = \frac{\text{産児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

$$\text{生存児出産率} = \frac{\text{分娩第1日の生存児数}}{\text{産児数}} \times 100$$

$$\text{生存率1} = \frac{\text{分娩第4日の調整前の生存児数}}{\text{分娩第1日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{生存率2} = \frac{\text{分娩第7日の生存児数}}{\text{分娩第4日の調整後生存児数}} \times 100$$

$$\text{生存率3} = \frac{\text{分娩第14日の生存児数}}{\text{分娩第7日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{生存率4} = \frac{\text{分娩第21日の生存児数}}{\text{分娩第14日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{分娩第1日の雄産児\%} = \frac{\text{分娩第1日の雄生存児数}}{\text{分娩第1日に性別検査をした生存児数}} \times 100$$

病理学的検査；P世代及びF₁世代親動物について、剖検時に肉眼的病理検査を実施するとともに以下の臓器を採取し、対照群及び高用量群について、病理組織学的検査を行った。

副腎*、前立腺*、脳*、精囊*、凝固線、精巣上体*、腎臓*、脾臓*、肝臓*、精巣*、卵巣*、下垂体*、子宮*、膈、異常部位（*は、重量測定臓器）

P及びF₁世代で交配に使用した雄については、剖検時に精巣上体から精子を採取し、精子の活動性の検査を行うとともに、形態異常精子の割合を求めた。

P及びF₁世代母動物は、剖検時に子宮を10%硫酸アンモニウム溶液に浸漬して着床痕数を計数した。

F₁母動物から各群10例を選抜し、卵巣の連続切片を作成して、濾胞数を計数した。

F₁動物で離乳時に継代用に選抜されなかった動物及びF₂動物は離乳時に剖検し、肉眼的病理検査を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

機能検査； F_1 及び F_2 産児全例について、以下の機能検査を行った。

平板上正向反射（生後 1 日）、空中正向反射（生後 17 日）、握力検査（生後 21 日）、
瞳孔反射（生後 21 日）、聴覚反応（生後 21 日）、視覚置直反応（生後 21 日）

学習能力；生育 6 週及び 7 週に F_1 継代用動物について、水迷路を用いた学習能力試験及び記憶
能力試験を実施した。

自発運動検査；生育 5 週に F_1 継代用動物について、自動フォトセル活動量測定装置を用いて 30
分間の自発運動量を測定した。

形態発達； F_1 継代用動物について、雄の包皮開裂及び雌の膣開口日齢を個体別に記録した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

表 1: 試験方法概要

世代	期間 (週)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (10 週)	雄雌 1:1 で交配、交尾は陰栓及びスメア中の精子で確認、交尾確認日を妊娠 0 日とした	体重を毎週測定 飼料は毎日測定&交換 交配前 3 週間発情周期を検査
	交配 (1 週)		交配状況の観察 交配後、雄は元のケージでさらに飼育を続け、その間、体重を毎週測定
	妊娠 (3 週)		妊娠期間中、体重を 0 日、7 日、14 日及び 20 日に測定、飼料は毎日測定&交換
	出産		出産状況の観察
	哺育 (3 週)	出産後 4 日に同腹児を雄雌各 4 匹に調整(不可能な場合は雄雌計 8 匹)	産児数、生存産児数、外表異常、性別観察、平板上正向反射検査 母動物の体重は出産後 1、4、7、14 及び 21 日に測定、飼料は毎日測定&交換 産児は生後 1、4、7、14 及び 21 日に生存数の確認及び体重測定、17 日に空中正向反射検査、21 日には聴覚反応、握力、瞳孔反射等の機能検査実施
F ₁	離乳	継代用に無作為に雄雌各 24 匹を各群から選抜	P 世代雄雌を屠殺剖検、臓器重量測定、着床痕数確認、対照群及び高用量群は病理組織検査、雄は精子検査実施。 継代用に選抜されなかった産児の剖検
	生育 (10 週)		形態発達検査 (包皮開裂、腔開口) 自発運動量検査 (5 週) 及び学習能力検査 (6/7 週)。体重及び摂餌量測定 (P 世代に準ずる)
	交配 (1 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
哺育 (3 週)			
離乳	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

試験結果：概要を表 2 及び表 3 に示す。

一般状態及び死亡率；P 世代では、雄雌とも試験期間中に死亡はみられず、被験物質投与に関連した症状発現もみられなかった。

F₁ 世代親動物では、高用量群雌 1 例が分娩中に死亡した。また、F₁ 世代の高用量群雌 1 例が育成 3 週に事故により死亡した。被験物質投与に関連する症状の発現は、認められなかった。

体重；P 世代雄の体重推移には、被験物質投与の影響はみられなかった。P 世代雌でも、生育期間及び妊娠期間中の体重推移に被験物質投与の影響はみられなかった。しかし、高用量群雌において、哺育期間初期（分娩後 7 日まで）の体重増加量が対照群より有意に低かった。その後の体重増加量は、対照群と同等であった。

F₁ 世代では、離乳後の生育開始時の高用量群雄の体重が有意に低く、交配期間終了後、剖検前の 4 週間の体重増加量も低かった。雌では、生育期間及び妊娠期間中の体重は各群とも対照群と同等であったが、哺育期間初期及び中期の高用量群の体重増加量は、対照群より有意に低かった。

摂餌量；P 世代雄では、中用量群及び高用量群で軽度な増加がみられた。P 世代雌でも、高用量群で生育期間及び妊娠期間中に摂餌量の増加がみられた。高用量群雌の哺育期間中の摂餌量は、対照群より有意に低かった。

F₁ 世代雄雌の生育第 1 週の摂餌量は対照群よりわずかに低かったが、その後は対照群と同等かあるいはわずかに高かった。雌の妊娠期間中の摂餌量は P 世代と同様わずかに高く、哺育期間中は逆に対照群より低かった。

被験物質摂取量；P 世代及び F₁ 世代の摂餌量及び飼料中被験物質濃度から算出した被験物質摂取量 (mg/kg/day) は、以下の通りであった。

世代		P 世代			F ₁ 世代		
投与量 (ppm)		3	18	100	3	18	100
雌	雄	0.2	1.2	6.7	0.3	1.7	10.3
	生育期間	0.2	1.4	8.4	0.3	1.8	11.1
	妊娠期間	0.2	1.4	9.0	0.2	1.4	9.2
	哺育期間*	0.4	2.5	14.0	0.5	2.8	14.5
	平均	0.3	1.8	10.5	0.3	1.9	11.4

*：哺育 14 日までの計算値

性周期及び交配；P 世代、F₁ 世代とも、交配前の性周期は正常で、被験物質投与の影響はみられなかった。また、交尾は交配開始から 2.5～3 日 (P 世代) または 2～3.5 日 (F₁) にみられ、交尾率、受精率、受胎率、妊娠期間等の繁殖関連指数にも、被験物質投与の影響はみられなかった。

精子検査；P 世代及び F₁ 世代雄の精子数及び活性に被験物質投与の影響はみられず、F₁ 世代高

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

用量群の奇形精子発現率は、むしろ対照群より低かった。

臓器重量；P 世代では、高用量群雄の肝臓重量及び高用量群雌の脳重量が対照群より有意に大きかったが、対照群との差は小さく、片性のみの変動であり、病理組織学的に変化がみられないことから、これらの毒性学的意義は不明であった。

F₁ 世代では、高用量群雄における精巣重量増加及び同群雌における肝臓重量低下が認められた。

病理学的検査；P 世代及び F₁ 世代とも、被験物質投与に関連する肉眼的及び病理組織学的変化は、いずれの投与群にも認められなかった。

また、F₁ 雌において実施した卵巣内濾胞数検査では、原始濾胞数、一次及び二次濾胞数に被験物質投与に関連する変動はみられなかった。

分娩及び産児データ；P 世代の着床数、性比、分娩 1 日の生存児数には、被験物質投与の影響はみられなかった。高用量群の離乳までの産児生存数は、対照群より低かった。同群における産児の死亡は、7 日から 14 日が最も多かった。これは、雌 6 例における全産児死亡があったためであった。中用量群でも産児死亡がみられたが、対照群と比べて有意差はなかった。

高用量群の産児体重は、7 日以降対照群より有意に小さかった。

F₁ 世代でも、着床数、性比、分娩 1 日の生存児数には被験物質投与の影響はみられなかった。高用量群の離乳までの産児生存数は、対照群より低かった。これは雌 9 例における全産児死亡があったためであった。

産児の体重；P 世代及び F₁ 世代産児の生後の体重は、高用量群で 7 日以降有意に低かった。

機能検査；P 世代高用量群産児において、離乳時に瞳孔反射の低下がみられたが、統計学的有意差はなかった。その他の検査項目には、変化がみられなかった。F₁ 世代産児では、瞳孔反射を含めていずれの項目にも変化がみられなかった。

産児の離乳時剖検；離乳時剖検では、いずれの群にも被験物質投与に関連する肉眼的病理所見は認められなかった。

P 世代産児の胸腺重量低下が高用量群、F₁ 世代産児の脳重量低下が高用量群にみられた。

継代選抜動物における形態発達；F₁ 世代継代用に選抜した雄雌ラットにおける包皮開裂及び膈開口日齢には、被験物質投与の影響はみられなかった。

継代選抜動物における学習能力検査；F₁ 世代継代用に選抜した雄雌ラットにおける水迷路を用いた学習能力及び記憶能力検査では、いずれの投与群にも、被験物質投与の影響がみられなかった。

継代選抜動物における自発運動量検査；F₁ 世代継代用に選抜した雄雌ラットにおける自動フォ

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

トセル活動量測定装置を用いた自発運動量測定では、高用量群雄雌において 30 分間の総運動量の低下がみられた。しかし、2 分毎に記録した運動量の対照群との差は小さく、対照群における計測値も背景値（雄 245～355、雌 374～378）より高かったことから、本試験でみられた自発運動量の低下は、被験物質投与と関連する変化ではないと考えられる。

以上の結果から、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、100 ppm 投与群では、哺育期間中の雌における体重増加量及び摂餌量の低下、産児生存率の低下、産児体重の哺育期間中における増加量低下等がみられたため、本試験における親動物及び児動物に対する無毒性量は、18 ppm（P 世代：雄 1.2 mg/kg/day、雌 1.4～2.5 mg/kg/day、F₁ 世代：雄 1.7 mg/kg/day、雌 1.4～2.8 mg/kg/day）であると判断される。また、繁殖については、最高用量の 100 ppm でも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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 2-1: P 世代及び F₁ 世代親動物の結果概要 (続き)

世代		親: P				親: F ₁				
投与量 (ppm)		0	3	18	100	0	3	18	100	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
一般状態		被験物質投与と関連する症状発現なし				被験物質投与と関連する症状発現なし				
死亡数 (雄/雌)		0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	
体重	雄	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	第 0 週 ↓	
	雌	育成	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
		妊娠	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
体重増加量	雄	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	第 10-14 週 ↑	有意差なし	第 14-18 週 ↓	
	雌	育成	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
		妊娠	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
摂餌量	雄	妊娠	—	有意差なし	有意差なし	第 1-4 日 ↓ 第 4-7 日 ↓	—	有意差なし	有意差なし	
		哺乳	—	有意差なし	有意差なし	第 1-4 日 ↓ 第 4-7 日 ↓	—	有意差なし	有意差なし	
	雌	妊娠	—	有意差なし	有意差なし	第 1-5 週 ↑ 第 6-10 週 ↑	—	有意差なし	有意差なし	
		哺乳	—	有意差なし	有意差なし	第 1-5 週 ↑ 第 1-10 週 ↑ 第 6-10 週 0	—	有意差なし	有意差なし	
被験物質 摂取量 (mg/kg/day)	雄	妊娠	—	有意差なし	有意差なし	第 0-3 日 0 第 10-14 日 0 第 17-20 日 0	—	有意差なし	有意差なし	
		哺乳	—	有意差なし	有意差なし	第 7-10 日 ↓ 第 14-17 日 ↓ 第 17-19 日 ↓ 第 19-21 日 0	—	有意差なし	有意差なし	
	雌	妊娠	—	有意差なし	有意差なし	第 7-10 日 ↓ 第 14-17 日 ↓ 第 17-19 日 ↓ 第 19-21 日 0	—	有意差なし	有意差なし	
		哺乳	—	有意差なし	有意差なし	第 7-10 日 ↓ 第 14-17 日 ↓ 第 17-19 日 ↓ 第 19-21 日 0	—	有意差なし	有意差なし	
形態発達	包皮開裂日齢	ND	ND	ND	ND	46	45	45	46	
	遠隔口日齢	ND	ND	ND	ND	36	37	36	36	
学習能力	雄	ND	ND	ND	ND	—	ND	ND	影響なし	
	雌	ND	ND	ND	ND	—	ND	ND	影響なし	
自発運動量	雄	ND	ND	ND	ND	459	ND	ND	358 0	
	雌	ND	ND	ND	ND	386	ND	ND	347	
臓器重量 (有意差の みられた 臓器のみ) ¹⁾	肝臓	雄	12.551 (12.272)	12.737 (12.814)	12.651 (12.981)	13.113 ↑ (12.988)	有意差なし			
		雌	有意差なし				11.755 4.512	10.977 4.171	11.549 4.316	10.128 ↓ 3.927 0
	下垂体	雄	有意差なし				0.011 (0.012)	0.009 ↓ (0.009)	0.010 (0.010)	0.010 (0.010)
		雌	有意差なし				1.571 (1.574)	1.616 (1.626)	1.640 (1.638)	1.722 ↑ (1.710)
	脳	雌	1.868 (1.865)	1.864 (1.864)	1.873 (1.872)	1.922 ↑ (1.925)	有意差なし			
肉眼的病理所見	雄雌	被験物質投与と関連する所見なし				被験物質投与と関連する所見なし				
病理組織学的所見	雄雌	被験物質投与と関連する所見なし				被験物質投与と関連する所見なし				

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

表 2-2 : P 世代及び F₁ 世代親動物の結果概要

世 代		親 : P				親 : F ₁					
投与量 (ppm)		0	3	18	100	0	3	18	100		
親動物	繁殖成績	交配数	雄	24	24	24	24	24	24	23	
			雌	24	24	24	24	24	24	24	23
		交尾成立番数	24	24	24	24	24	24	24	23	
		交配期間 中央値 (日)	2.5	3	2.5	3	3.5	2.5	2.5	2	
		妊娠率 (%) [ⓐ]	20 (83.3)	23 (95.8)	22 (91.7)	23 (95.8)	24 (100)	21 (87.5)	22 (91.7)	22 (95.7)	
		受精率 (%)	雄	83.3	95.8	91.7	95.8	100	87.5	91.7	95.7
			雌	83.3	95.8	91.7	95.8	100	87.5	91.7	95.7
		受胎率 (%)	雄	83.3	95.8	91.7	95.8	100	87.5	91.7	95.7
			雌	83.3	95.8	91.7	95.8	100	87.5	91.7	95.7
		生存産児分岐雌数 [ⓑ]	20 (19)	23 (22)	22 (21)	23 (17)	24 (21)	20 (16)	22 (19)	21 (12)	
	平均妊娠期間(日) [ⓐ]	22.2 (22.2)	22.2 (22.2)	22.3 (22.3)	22.3 (22.3)	21.2 (21.1)	21.1 (21.1)	21.2 (21.1)	21.3 (21.1)		
	平均着床床数 [ⓐ]	11.7 (11.7)	11.9 (11.9)	11.0 (11.0)	11.6 (11.6)	11.3 (11.3)	11.1 (10.7)	11.5 (11.3)	10.6 (9.4)		
精子検査	検査雄数	24	24	24	24	24	24	24			
	精子数(10 ⁶ /ml)	26.7	25.8	22.8	26.2	18.9	18.2	19.9	20.9		
	活動精子率	90	91	91	90	88	81	84	86		
	平均移動速度 (μm/s)	165.6	168.5	162.0	166.6	156.8	155.6	152.1	157.2		
	平均直線 移動速度 (μm/s)	116.4	117.7	113.3	116.7	111.3	110.8	107.4	112.1		
	平均曲線 移動速度 (μm/s)	289.2	297.1	286.5	292.5	287.7	284.7	272.5	297.7		
	平均直線移動率 (%、直線/曲線)	68	68	68	68	70	70	69	70		
	異常精子発現率	0.4	ND	ND	0.8	2.6	ND	ND	1.0		
卵巣検査	原始濾胞数	ND	ND	ND	ND	14.1	ND	ND	13.1		
	一次濾胞数	ND	ND	ND	ND	3.3	ND	ND	3.2		
	二次濾胞数	ND	ND	ND	ND	0.0	ND	ND	0.1		

†† : p<0.05, † : p<0.01, ††† : p<0.001 (Dunnett の検定、Wilcoxon の検定または Fisher の検定)
 ND : 検査未実施、[ⓐ] : (哺育 14 日まで)、[ⓑ] : 上段は湿重量、下段は体重比重量、但し () は調整重量
[ⓐ] : () は全同腹死死亡個体を除いた計算値

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表3：P世代及びF₁世代児動物の結果概要

世 代		親：P 児：F ₁				親：F ₁ 児：F ₂						
投 与 量 (ppm)		0	3	18	100	0	3	18	100			
生存産児分娩雌数 ^{a)}		20 (19)	23 (22)	22 (21)	23 (17)	24 (21)	20 (16)	22 (19)	21 (12)			
産児数 ^{a)}		11.1 (11.1)	10.8 (10.9)	10.4 (10.2)	10.5 (10.1)	10.3 (10.5)	10.5 (10.1)	11.0 (10.7)	9.7 (8.7)			
生存産児数 ^{a)}	第1日	10.4 (10.9)	10.3 (10.8)	10.3 (10.1)	10.0 (10.1)	9.8 (10.1)	10.2 (9.8)	9.6 (10.4)	8.7 (8.5)			
性 比 (第1日) ^{a)}	雄%	49.1 (49.1)	50.2 (50.2)	49.0 (48.0)	53.1 (47.5)	49.9 (51.0)	54.6 (57.1)	44.4 (44.9)	49.0 (42.6)			
生存産児数 ^{a)}	第4日 (開引前)	10.3 (10.8)	10.2 (10.7)	10.2 (10.0)	8.6 (9.7)	8.7 (9.9)	7.5 (9.3)	8.4 (9.7)	6.0 (8.4)			
	第4日 (開引後)	7.6 (8.0)	7.3 (7.7)	7.6 (7.6)	6.7 (7.6)	6.8 (7.7)	6.1 (7.6)	6.5 (7.5)	5.6 (7.8)			
	第7日	7.6 (7.9)	7.3 (7.6)	7.6 (7.6)	6.2 (7.4)	6.7 (7.7)	6.0 (7.5)	6.5 (7.5)	5.2 (7.7)			
	第14日	7.4 (7.7)	6.8 (7.1)	6.6 (6.9)	3.7 (5.1)	6.5 (7.5)	5.9 (7.4)	6.3 (7.3)	3.2 (5.6)			
	第21日	7.4 (7.7)	6.8 (7.1)	6.5 (6.8)	3.5 (4.8)	6.5 (7.5)	5.9 (7.4)	6.2 (7.2)	3.2 (5.6)			
着床胚生存率 ^{a)}		94.3 (94.0)	90.8 (91.7)	93.9 (93.6)	91.3 (89.9)	90.3 (91.9)	94.5 (94.0)	95.2 (95.2)	92.0 (92.5)			
生存産児出生率 ^{a)}		94.2 (99.2)	94.6 (98.9)	99.3 (99.3)	94.6 (100)	95.2 (96.9)	97.2 (97.0)	89.1 (97.1)	90.6 (98.0)			
産児生存率 ¹⁾ ^{b)}		99.1 (99.1)	99.3 (99.3)	98.8 (98.8)	82.9 (96.1)	85.6 (97.8)	77.0 (96.2)	81.5 (94.4)	72.9 (99.2)			
産児生存率 ²⁾ ^{b)}		99.3 (99.3)	99.4 (99.4)	100 (100)	93.0 (96.2)	99.4 (99.4)	98.4 (98.4)	99.3 (99.3)	90.6 (99.0)			
産児生存率 ³⁾ ^{b)}		97.3 (97.3)	93.2 (93.2)	88.1 (91.7)	57.9 [◆] (68.1 [◆])	97.0 (97.0)	98.4 (98.4)	98.0 (98.0)	56.3 [◆] (73.8 [◆])			
産児生存率 ⁴⁾ ^{b)}		100 (100)	100 (100)	94.0 (98.5)	93.8 [↓] (93.8 [↓])	100 (100)	100 (100)	99.3 (99.3)	92.3 (100)			
児 動 物	産 児 体 重	第1日	雄	5.8	5.9	6.2	5.8	5.3	5.5	5.4	5.7	
			雌	5.5	5.6	6.0	5.7	5.0	5.2	5.0	5.5	
		第4日	雄	8.5	8.8	9.3	8.1	7.8	7.7	7.6	8.0	
			雌	8.3	8.3	9.0	8.1	7.5	7.6	7.1	7.8	
		第7日	雄	13.8	14.2	14.8	11.7 [↓]	12.3	12.1	12.1	11.0	
			雌	13.5	13.6	14.3	11.9 [↓]	12.1	12.0	11.6	10.8 [↓]	
		第14日	雄	29.4	30.1	30.8	24.3 [◆]	26.7	27.4	26.1	21.9 [◆]	
			雌	28.7	29	29.9	24.7 [◆]	26.5	27.1	25.7	22.2 [↓]	
		第21日	雄	45.8	47.2	49.1 [↑]	41.9 [↓]	42.3	44.0	42.8	36.7 [↓]	
			雌	44.1	45.1	48.0 [↑]	42.5	41.5	42.7 [↑]	41.3	35.3 [↓]	
		機 能 検 査	平板上正向反射 (第1日)	雄	1.7	1.6	1.4	1.5	1.5	1.6	1.6	1.6
				雌	1.5	1.1	1.2	1.3	1.4	1.4	1.3	1.4
空中正向反射 (第17日)	雄		2	2	2	1.9	2	1.9	2	1.8		
	雌		2	2	2	1.9	2	2	1.9	2		
聴覚反応 (第21日)	雄		2	2	2	2	2	2	2	2		
	雌		2	2	2	2	2	2	2	2		
瞳孔反射 (第21日)	雄		0.4	0.5	0.3	0.1	1.5	1.5	1.6	1.3		
	雌		0.6	0.8	0.6	0.3	1.7	1.9	1.7	1.3		
視覚性運動反応 (第21日)	雄		1.8	1.7	1.9	1.6	1.9	2	2	2		
	雌		1.9	2	1.8	1.9	2	2	2	2		
握 力 (第21日)	雄	1.9	1.9	1.9	1.8	1.9	1.9	2	1.7			
	雌	1.9	1.9	2	1.8	1.9	2	1.9	1.9			
剖検時体重 (g)		雄	51.0	51.1	52.4	44.4	45.8	47.6	47.1	40.2 [↓]		
		雌	48.1	48.7	50.9 [↑]	45.3	44.8	46.2	44.9	38.9 [↓]		
臓 器 重 量 ^{c)}	胸腺重量 (g)	雄	0.225 (0.226)	0.225 (0.226)	0.222 (0.227)	0.173 [◆] (0.158)	有意差なし					
		雌	0.4449	0.4437	0.4326	0.3544	1.406 (1.409)	1.405 (1.425)	1.395 (1.409)	1.342 [↓] (1.290)		
		雄	有意差なし				3.0899	3.0099	3.0082	3.303		
肉眼的病理検査		被験物質投与と関連する所見なし				被験物質投与と関連する所見なし						

↑: p<0.05, ↓: p<0.01, ◆: p<0.001 (Dunnettの検定、Wilcoxonの検定またはFisherの検定)

ND: 検査未実施、^{a)}: () は全同腹児死亡個体を除いた計算値、^{b)}: 生存率1は生後1日に対する4日の生存率、生存率2は生後4日に対する7日の生存率、生存率3は生後7日に対する14日の生存率、生存率4は生後14日に対する21日の生存率、^{c)}上段は湿重量、中段は調整重量、下段は体重比重量

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

② ラットにおける催奇形性試験

(資料 T20)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

被験物質: イミシアホス原体

供試動物: CrI:WI (Glx/BRL/Han) BR 系雌ラット (8~10 週齢)、1 群交配雌 24 匹
体重; 159.2.~248.6 g

試験期間: 22 日間 (2000 年 6 月 2 日~6 月 23 日)

投与期間: 妊娠 6 日~19 日 (14 日間)

投与方法: 交配は、同系の雄を用いてチャールスリバー社で実施した。雄雌を一晩同居させ、翌朝、膣栓もしくは膣垢中の精子の有無により交尾を確認した。交尾が確認された日を妊娠 0 日とし、交尾が確認された雌のみを妊娠 3 日までに試験施設に搬入した。被験物質は 50°C の恒温槽で融解した後、1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、1、2.5 及び 10 mg/kg/day の用量を妊娠 6~19 日までの 14 日間毎日 1 回強制経口投与した。

用量設定根拠;

観察・検査項目:

親動物: 一般状態は毎日、生死は 1 日 2 回観察した。体重は妊娠 4、6、7、8、9、12、15、17、19 及び 20 日に測定し、摂餌量は妊娠 4~6、6~7、7~8、8~9、9~12、12~15、15~17、17~19 及び 19~20 日について測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行うとともに卵巣と子宮を摘出し、妊娠の状態、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児、早・後期吸収胚について観察した。非妊娠の雌については、着床痕の有無を観察した。妊娠子宮重量は、最終体重の補正に使用した。

生存胎児: 生存胎児重量及び胎盤重量を測定し、性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹児の約 1/2 の胎児の内臓を検査し、除去した後に骨格標本を作製し、骨格検査に供した。残りの胎児はブアン液中で固定し、内臓観察に供した。

試験結果: 概要を表 1 に示した。

親動物: 試験期間中に死亡した動物はなく、流産もみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

一般症状観察において、全群に被毛の汚れ及び粗毛、2.5 mg/kg 群に耳の損傷及び蒼白、1 mg/kg 及び 10 mg/kg 群に被毛の汚れ、耳介損傷、脱毛等が認められたが、いずれも 1～2 例の変化であり、偶発的な変化と考えられた。

母動物の妊娠期間中の体重推移には、被験物質投与の影響はみられなかった。

摂餌量では、1 mg/kg 群において妊娠 15～17 日に有意な増加が認められたが、その他の群では認められず、一過性でもあるので、偶発的な変化と考えられた。

剖検所見では、試験群全群の腎に腎盂拡張及び液体内容物が認められ、1 mg/kg 群に胎盤の大型化及び小型化、2.5 mg/kg 群に耳の損傷、10 mg/kg 群に胎盤の大型化が認められたが、いずれも 1～2 例の変化であり、被験物質の影響ではないと考えられた。

着床数、黄体数、死亡吸収胚数、生存胎児数といった妊娠状態には、被験物質投与の影響が認められなかった。

胎児動物；胎児体重、性比、胎盤重量には、被験物質投与の影響がみられず、奇形及び変異発現率、並びに化骨進行度にも、被験物質投与と関連する変化は認められなかった。

10 mg/kg 群において、2 例の未熟児に奇形が認められた。1 例は、大動脈弓切断、動脈管欠損、右側下行大動脈及び右側肺動脈幹がみられた。他の 1 例では、胸部肋骨の間に過剰肋骨、過剰胸椎椎弓及び胸椎椎体癒合がみられた。これらは、発現数が少なく、胎児の発育遅延と関連するもので、被験物質投与とは関連しないと考えられた。

2.5 mg/kg 群において、2 例の胎児に眼の奇形（小水晶体、網膜異形成あるいは網膜障害）が認められたが、高用量群において認められなかったため、被験物質投与の影響ではないと考えられた。また、1 例の胎児に水腎症が認められたが、これは同系ラットにおいてみられる変化であり、被験物質の影響によるものではないと考えられた。

1 mg/kg 群において、1 例の未熟児に全身性浮腫及び心肥大が認められたが、胎児の小型化に関連すると考えられた。また、1 例の胎児に著しいレンズ核の障害が認められたが、これは、同系ラットにおいてみられる変化であり、被験物質の影響によるものではないと考えられた。

その他の検査項目には、被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、イミシアホスを妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児動物における無影響量は 10 mg/kg/day であった。また、最高投与量の 10 mg/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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 1 : ラットを用いた催奇形性試験結果の概要

投与量 (mg/kg/day)		0	1	2.5	10	
1群交配動物数		24	24	24	24	
親動物	死亡雌数	0	0	0	0	
	妊娠雌数	20	22	19	20	
	全胚・胎児死亡雌数	1	0	2	0	
	生存胎児のみられた雌数	19	22	17	20	
	一般状態	被毛の汚れ6例、粗毛9例	被毛の汚れ2例、傷/損傷2例、粗毛12例	耳の損傷1例、蒼白1例、被毛の汚れ5例、粗毛7例	被毛の汚れ5例、傷/傷害2例、粗毛16例、脱毛1例	
	体重推移 (g)	妊娠 4日	193.2	192.5	191.4	191.3
		妊娠 6日	201.9	199.9	197.9	198.8
		妊娠 9日	212	213.2	209.9	209.7
		妊娠 15日	242.3	245.9	241.2	237.6
		妊娠 20日	286.7	291.2	289.9	282.8
		妊娠 20日補正体重	236.2	239	237.4	234.3
	摂餌量 (g/day)	妊娠 4~6日	19.4	20.3	20	20
		妊娠 6~7日	19.9	19.9	19.7	20
		妊娠 9~12日	21.3	24.1	21.6	21.8
		妊娠 15~17日	22.7	24.9†	24.5	24.4
妊娠 19~20日		20.5	21	21.8	22	
肉眼的病理検査所見	腎内透明液体&腎盂拡張1例	腎内透明液体&腎盂拡張2例、胎盤大型1例、胎盤小型1例	腎内透明液体&腎盂拡張1例、耳介損傷1例	腎内透明液体&腎盂拡張1例、胎盤大型1例		
着床所見	黄体数	11.6	11.2	11.4	11.2	
	着床数	9.7	9.8	10.2	9.4	
	生存胎仔数	9.2	9.1	9.5	8.8	
	早期子宮内死亡数	0.5	0.6	0.7	0.6	
	後期子宮内死亡数	0.1	0.05	0.0	0.1	
	胎仔死亡数	0.0	0.0	0.0	0.0	
	着床前胚死亡数 (%)	11 (16.0)	15 (13.5)	10 (10.2)	13 (16.5)	
着床後胚死亡数 (%)	7 (5.8)	11 (7.1)	7 (6.4)	7 (6.9)		
体重 (g)	雄	3.72	3.85	3.72	3.65	
	雌	3.52	3.62	3.51	3.41	
性比(雄/生存胎仔数) (%)		53.8	52.0	47.8	54.8	
外表異常及び内臓異常	検査胎仔数	174	201	161	175	
	奇形胎仔数 (%)	0 (0.0)	2 (0.9)	3 (1.6)	1 (0.5)	
	背景対照の奇形発現数 (%)	165/17188 (1.0)				
	変異胎仔数 (%)	11 (5.7)	8 (3.8)	12 (7.0)	8 (4.3)	
	背景対照の変異発現数 (%)	3150/17188 (18.3)				
骨格異常	検査胎仔数	86	99	78	87	
	奇形胎仔数 (%)	1 (0.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	
	背景対照の奇形発現数 (%)	36/8714 (0.4)				
	変異胎仔数 (%)	83 (95.3)	93 (94.1)	74 (94.4)	80 (93.2)	
背景対照の変異発現数 (%)	7258/8714 (83.3)					
骨格奇形	頰骨弓奇形	1	0	0	0	
	肋骨間の過剰肋骨	0	0	0	1	
	過剰頸椎弓	0	0	0	1	
	胸椎椎体癒合	0	0	0	1	
	過剰胸椎椎弓	0	0	0	1	

† : p<0.05 (Dunnett の多重検定) 、

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表1：ラットを用いた催奇形性試験結果の概要（続き）

投与量 (mg/kg/day)		0	1	2.5	10	
検査胎児数 (同腹児数)		86 (19)	99 (21)	78 (17)	87 (20)	
骨格奇形	頰骨弓奇形				1 (1)	
	肋骨間過剰肋骨				1 (1)	
	頸椎過剰椎弓				1 (1)	
	胸椎椎体癒合				1 (1)	
	胸椎過剰椎弓				1 (1)	
主な骨格変異	鼻骨化骨不全	9 (7)	5 (5)	4 (3)	2 (2)	
	前頭骨化骨不全	19 (11)	17 (11)	7 (4)	4 (4)	
	頭頂骨癒合不全	61 (18)	53 (18)	36 (15)	31 (13)	
	頭頂間骨化骨不全	49 (17)	48 (17)	28 (12)	18 (11)	
	後頭骨化骨不全	37 (15)	21 (13)	8 (5)	10 (9)	
	頰骨化骨不全	16 (8)	7 (6)	3 (1)	1 (1)	
	舌骨未骨化	4 (4)	3 (3)	2 (2)	1 (1)	
	側頭鱗骨化骨不全	13 (5)	6 (5)	2 (1)	3 (3)	
	第5-6胸骨分節未骨化	2 (2)	5 (5)	3 (3)	4 (4)	
	第5-6胸骨分節化骨不全	21 (11)	20 (12)	11 (8)	9 (7)	
	剣状突起分岐	13 (10)	17 (10)	23 (11)	16 (10)	
	過剰腰肋骨	35 (15)	57 (19)	48 (15)	47 (19)	
	屈曲肋骨	23 (10)	15 (10)	7 (4)	7 (6)	
	肋軟骨分岐	9 (5)	9 (7)	3 (3)	8 (8)	
	胸椎椎体/化骨不全	5 (4)	4 (4)	5 (3)	3 (2)	
	腰椎弓化骨不全	3 (3)	2 (2)			
	仙椎弓化骨不全	7 (7)	6 (4)	1 (1)		
	中手骨化骨不全	14 (8)	20 (13)	11 (8)	13 (9)	
	中手骨未骨化	40 (40)	19 (11)	22 (10)	29 (16)	
	胎仔動物	外表及び内臓奇形	網膜形成不全			1 (1)
小水晶体#					1 (1)	
レンズ核障害				1 (1)		
網膜障害					1 (1)	
全身浮腫				1 (1)		
内臓奇形		心肥大		1 (1)		
		大動脈弓切斷				1 (1)
		動脈管欠損				1 (1)
		右側下行大動脈				1 (1)
		右側肺動脈幹				1 (1)
水腎症			1 (1)			
検査胎児数 (同腹児数)		174 (19)	201 (22)	161 (17)	175 (20)	
胎仔動物	外表及び内臓変異	側脳室拡張#		1 (1)	1 (1)	
		ドーム型頭部				1 (1)
		頭部皮下出血		1 (1)	2 (2)	
		硬膜下出血#	1 (1)			1 (1)
		頭部皮内瀰漫性出血	1 (1)			
		頭蓋下出血		1 (1)		
		嗅脳室拡張			1 (1)	
		網膜褶曲#			1 (1)	1 (1)
		顎/口の皮下出血		1 (1)		
		耳皮下出血		1 (1)		
		背部脂肪褥瘡領域皮下出血		1 (1)		
		体幹皮下出血	1 (1)	1 (1)	5 (5)	
		肢皮下出血				3 (2)
		大動脈弓拡張		1 (1)		
		胸腺肥大	1 (1)			
		甲状腺色素異常	1 (1)			
		暗色肺				1 (1)
		胃のガス充満	1 (1)			
		肝小葉斑状表面		1 (1)		
		尿管拡張		1 (1)	1 (1)	
腎盂拡張 (両側)	1 (1)		1 (1)	1 (1)		
腎盂拡張 (片側)	4 (1)	1 (1)	2 (2)			

: プアン固定胎児の観察所見、() : 同腹児数

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

③ウサギにおける催奇形性試験

(資料 T21)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：Ctl.NZW/Kbl BR 系ウサギ (4~5 ヵ月齢)、1 群交配雌 24 匹、体重：3.01~4.00 kg

投与期間：妊娠 7 日から 28 日の 22 日間投与 (2000 年 7 月 10 日~7 月 31 日)

投与方法：被験物質を 1% w/v メチルセルロース溶液に溶解し、1、2.5 及び 5 mg/kg の用量を妊娠 7 日から 28 日までの 22 日間、毎日 1 回経口投与した (交尾が確認された日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群には 1% w/v メチルセルロース溶液を同様に投与した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物：一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 4、7、8、9、12、15、19、24、28 及び 29 日に体重を測定した。妊娠 29 日に帝王切開し、妊娠状態、妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床位置 (生存胎児、早期子宮内死亡、後期子宮内死亡及び死亡胎児に分類) を検査した。

生存胎児：性別、体重及び外表異常の観察を行った。すべての胎児を解剖して内臓異常の検査をし、骨格標本作製して骨格異常の有無を検査した。

試験結果：概要を表 1 に示した。

親動物：試験期間中に死亡または切迫屠殺された動物が、対照群及び中用量群各 1 例と高用量群に 6 例認められた。全ての剖検では、誤投与が原因であることが確認された。また、流産が低用量群 2 例及び中用量群 3 例に認められ、これらについても屠殺した。被験物質投与と関連する症状は、いずれの投与群にも認められなかった。

対照群と比べて、いずれの投与群にも有意な平均体重の差は認められなかった。高用量群では、一過性の体重増加量の有意な変化が認められたが、対照群との差は軽微であつ

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

た。

対照群と比べて、いずれの投与群にも摂餌量の有意な変化は認められなかった。誤投与動物あるいは流産の認められた動物では、消化管等に種々の肉眼的変化が認められたが、妊娠 29 日に帝王切開した動物では、被験物質投与と関連する肉眼的病理所見は、いずれの投与群にも認められなかった。

妊娠 29 日の剖検では、低用量群 2 例及び中用量群 1 例に生存胎児が認められなかった。生存胎児のみられた雌、対照群 20 例、低用量群 19 例、中用量群 18 例及び高用量群 15 例における黄体数、着床数、死亡吸収胚数、死亡胎児数、生存胎児数には、被験物質投与の影響は認められなかった。

胎児動物；胎児の性比及び体重には、被験物質投与の影響は認められなかった。外表、内臓及び骨格奇形を有する胎児が対照群を含むすべての群にみられたが、その発現率には差がみられず、特異的な奇形発現もみられなかった。奇形の発生率の最も低かったのは、高用量群であった。高用量群にみられた奇形のうち、鼻中隔形成不全は対照群にみられなかったが、1 例のみの発現であり、被験物質投与とは関係ないと判断された。変異発現数及びその分布には、被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、妊娠ウサギにイミシアホスを投与した場合、5 mg/kg/day 投与群で消化管に明らかな影響がみられ、2.5 mg/kg/day 投与群でも同様な影響が認められたので、本剤の母動物に対する無毒性量は 1 mg/kg/day であった。また、最高投与量の 5 mg/kg でも、胎児動物の発育に影響はみられず、催奇形性もないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 1: ウサギを用いた催奇形性試験結果の概要

投与量 (mg/kg/day)		0	1	2.5	5		
1群交配動物数		24	24	24	24		
死亡動物数		1	0	1	6		
非妊娠動物数		3	1	1	3		
流産動物数		0	2	3	0		
全胎児死亡吸収動物数		0	2	1	0		
帝王切開動物数		20	19	18	15		
親動物	一般状態		異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	
	体重推移 (kg)	妊娠 4 日	3.32	3.54	3.46	3.42	
		妊娠 7 日	3.41	3.57	3.48	3.46	
		妊娠 15 日	3.39	3.55	3.43	3.51	
		妊娠 29 日	3.67	3.77	3.66	3.60	
		妊娠 29 日補正体重	3.17	3.29	3.20	3.14	
	体重増加量 (kg)	妊娠 4~7 日	0.09	0.03	0.02	0.04	
		妊娠 9~12 日	-0.03	-0.05	-0.03	0.05†	
		妊娠 15~19 日	0.04	0.04	0.04	0.01	
		妊娠 19~24 日	0.12	0.11	0.13	0.11	
		妊娠 24~28 日	0.08	0.06	0.03	0.01	
	摂餌量 (g/day)	妊娠 4~7 日	149	158	152	154	
		妊娠 9~12 日	93	88	94	125	
		妊娠 15~19 日	88	93	94	98	
		妊娠 19~24 日	144	146	151	145	
		妊娠 24~28 日	113	129	110	121	
	胎児動物	主な肉眼的病理検査所見		異常なし	異常なし	消化管異常 2 例 心臓・肝臓褪色 1 例 腎臓褪色 1 例	消化管異常 4 例 肺の暗色化 3 例 肝臓・腎臓褪色 1 例
		着床所見	黄体数	12.1	12.2	11.7	11.9
			着床数	10.9	10.4	10.1	9.8
			着床前胚死亡率	10.3	14.4	16.0	17.5
早期死亡吸収胚数			0.9	0.9	0.6	0.6	
後期死亡胚数			0.7	0.6	0.3	0.5	
死亡胎児数			0.1	0.0	0.0	0.0	
着床胚死亡率			14.1	15.6	7.9	10.8	
体重 (g)		雄	35.8	38.0	36.9	37.3	
		雌	36.3	36.9	34.0	36.5	
性比 (雄%)		50.4	49.9	53.3	51.4		
外表及び内臓異常		奇形胎児数 (%)	6 (3.5)	12 (8.1)	7 (3.9)	2 (1.3)	
		変異胎児数 (%)	44 (24.6)	60 (36.9)	50 (31.2)	44 (32.1)	
		背景対照奇形発現数 (率)	328/10649 (3.1)				
		背景対照変異発現数 (率)	2832/10649 (26.6)				
骨格異常		奇形胎児数 (%)	12 (6.2)	12 (7.1)	7 (3.7)	2 (2.0)	
		変異胎児数 (%)	174 (93.6)	158 (94.6)	158 (93.6)	122 (93.4)	
		背景対照奇形発現数 (率)	332/10649 (3.1)				
		背景対照変異発現数 (率)	9894/10649 (92.9)				
奇形胎児数 (%)		15 (8.1)	21 (12.6)	13 (7.9)	4 (3.1)		

† : p<0.05, ◆ : p<0.001 (Dunnett の多重検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表1：ウサギを用いた催奇形性試験結果の概要（続き）

投与量 (mg/kg/day)		0	1	2.5	5	
検査胎児数		186 (20)	167 (19)	165 (18)	131 (15)	
外表・内臓検査	主な奇形	鼻中隔形成不全			1 (1)	
		関節拘縮症	1 (1)	3 (1)	1 (1)	
	主な変異	頭部皮内彌慢性出血				1 (1)
		水晶体損傷（軽度）	2 (2)	2 (1)	5 (3)	1 (1)
		眼球突出（軽度）		1 (1)	1 (1)	1 (1)
		眼出血（軽度）				1 (1)
		舌突出				2 (1)
		総頸動脈異常	8 (4)	10 (4)	3 (3)	10 (6)
		肺中葉低形成	6 (5)	4 (4)	8 (6)	7 (5)
		胸腺腫大	4 (3)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
		胸腺に被膜付組織塊				1 (1)
		気体による胃拡張		4 (2)	4 (2)	2 (2)
		胆嚢内容物褪色	14 (9)	29 (14)	21 (11)	19 (5)
		副腎位置異常	1 (1)			2 (2)
胆嚢血腫		1 (1)	1 (1)		4 (4)	
胎児動物	主な奇形	胸部肋骨間過剰肋骨	1 (1)	2 (2)	1 (1)	2 (2)
		肋骨分岐	3 (2)		1 (1)	1 (1)
		肋骨癒合		1 (1)		1 (1)
		胸椎椎体癒合	3 (3)	2 (2)		2 (2)
	主な変異	胸椎過剰半椎体	1 (1)		2 (2)	2 (2)
		舌骨化骨不全	8 (6)	7 (4)	9 (7)	1 (1)
		鼻骨分裂	1 (1)	2 (2)	3 (3)	1 (1)
		泉門	5 (2)	7 (5)	2 (1)	2 (2)
		舌骨変形		1 (1)		2 (2)
		過剰胸骨核				1 (1)
		胸骨癒合	8 (4)	8 (6)	6 (3)	1 (1)
		第1～4 胸骨化骨不全	7 (6)	7 (5)	5 (4)	2 (2)
		第5～6 胸骨未化骨	28 (8)	14 (8)	13 (6)	15 (6)
		第5～6 胸骨化骨不全	17 (11)	19 (10)	12 (7)	8 (7)
		第5～6 胸骨分裂	2 (2)	2 (2)	2 (2)	1 (1)
		胸骨変形	5 (5)	4 (4)	1 (1)	1 (1)
		過剰肋骨（胸椎・腰椎間）	132 (20)	137 (19)	138 (18)	106 (15)
		棍棒状肋骨				1 (1)
		結節状肋骨			1 (1)	1 (1)
		齒突起化骨不全		2 (2)	3 (2)	2 (2)
		胸椎椎弓変形		4 (3)	4 (3)	1 (1)
		胸椎椎体化骨不全	12 (10)	17 (9)	14 (7)	4 (2)
		尾椎変形	2 (2)	4 (4)	4 (4)	1 (1)
		胸椎椎体変形	1 (1)	3 (3)	3 (2)	1 (1)
		胸椎椎体変形（軽度）	2 (2)	3 (2)	4 (3)	1 (1)
		前肢節骨化骨不全	22 (9)	38 (12)	41 (13)	31 (9)
		前肢節骨未化骨	27 (9)	24 (9)	23 (10)	14 (6)
中手骨化骨不全	17 (6)	14 (7)	10 (8)	1 (1)		
中手骨未化骨	17 (7)	7 (5)	6 (4)	3 (3)		
後肢節骨化骨不全	9 (6)	5 (3)	9 (5)	2 (2)		

(): 同腹児数

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(9) 変異原性

① 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

被験物質：イミシアホス原体

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用いて、ラット肝臓から調製した代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性について検討した。被験物質は DMSO に溶解し、1.6~5000 µg/plate (第 1 回試験) または 156.25~5000 µg/plate (第 2 回試験) の濃度で試験を行った。試験は 2 回反復し、各濃度について plate 3 枚を使用した。

用量設定根拠：

試験結果：第 1 回及び第 2 回試験における平均復帰変異コロニー数を以下に示す。

代謝活性化系の有無に係わらず、第 1 回及び第 2 回の試験では、被験物質による復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。TA98 株を用いた第 1 回試験において、代謝活性化系の存在下における最高試験濃度 5000 µg/plate で有意な復帰変異コロニー数の増加がみられたが、増加の程度は小さく、第 2 回の試験では、同様な変化は認められなかった。

一方、今回使用した陽性対照物質処理プレートでは、いずれも著しい復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、イミシアホスは、代謝活性化系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および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

表 1: 第 1 回試験における復帰変異コロニー数

処理薬物	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			フレームシフト型		塩基置換型			
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		22	3	87	12	12	
イミシアホス	1.6	-	18	4	102	13	10	
	8		22	3	95	15	12	
	40		16	6	100	8	11	
	200		16	6	97	12	11	
	1000		18	4	88	15	11	
	5000		21	6	85	10	11	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		17	4	110	17	18	
イミシアホス	1.6	+	16	3	118	16	16	
	8		17	4	103	13	17	
	40		17	5	107	13	15	
	200		16	4	109	13	13	
	1000		14	5	100	12	18	
	5000		36†	4	105	10	17	
陽性 対照	2-Nitrofluorene	5	-	206♣				
	Sodium azide	2			560♣	418♣		
	9-Aminoacridine	50	+		231♣			
	4-Nitroquinoline 1-oxide	2					832♣	
	Benzo[a]pyrene	10		79♣				
	2-Aminoanthracene	5			107♣	1791♣	182♣	
10						150♣		

† : $p < 0.05$, ♣ : $p < 0.001$ (Dunnett の t 検定)

表 2: 第 2 回試験における復帰変異コロニー数

処理薬物	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			フレームシフト型		塩基置換型			
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		18	5	90	19	13	
イミシアホス	156.25	-	27	3	100	13	10	
	312.5		24	3	104	18	15	
	625		22	5	97	12	15	
	1250		20	4	102	16	14	
	2500		18	4	99	12	10	
	5000		20	3	105	13	11	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		21	5	129	17	18	
イミシアホス	156.25	+	24	5	118	17	18	
	312.5		22	4	111	21	20	
	625		26	6	119	17	16	
	1250		21	4	123	22	17	
	2500		23	5	110	19	17	
	5000		25	6	105	17	12	
陽性 対照	2-Nitrofluorene	5	-	275♣				
	Sodium azide	2			509♣	509♣		
	9-Aminoacridine	50	+		330♣			
	4-Nitroquinoline 1-oxide	2					1362♣	
	Benzo[a]pyrene	10		134♣				
	2-Aminoanthracene	5			60♣	1590♣	144♣	
10						50♣		

♣ : $p < 0.001$ (Dunnett の t 検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

② 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

被験物質：イミシアホス原体

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用いて、ラット肝臓から調製した代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性について検討した。被験物質は DMSO に溶解し、1.6~5000 µg/plate (第 1 回試験) または 156.25~5000 µg/plate (第 2 回試験) の濃度で試験を行った。試験は 2 回反復し、各濃度について plate 3 枚を使用した。

用量設定根拠：

試験結果：第 1 回及び第 2 回試験における平均復帰変異コロニー数を以下に示す。

代謝活性化系の有無に係わらず、第 1 回及び第 2 回の試験では、被験物質による復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。大腸菌株 WP2uvrA において、代謝活性化系の非存在下で一部に有意な復帰変異コロニー数の増加がみられたが、軽微な変化で、用量相関性に乏しい変化であった。

一方、今回使用した陽性対照物質処理プレートでは、いずれも著しい復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、イミシアホスは、代謝活性化系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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 1: 第 1 回試験における復帰変異コロニー数

処理薬物	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			フレームシフト型		塩基置換型			
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		34	16	109	19	9	
イミシアホス	1.6	-	28	21	105	22	12	
	8		37	17	102	14	18†	
	40		39	19	84	18	12	
	200		34	17	90	18	9	
	1000		33	13	118	18	13	
	5000		34	16	113	16	10	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		33	18	104	16	13	
イミシアホス	1.6	+	40	19	99	19	19	
	8		38	15	106	23	20	
	40		38	17	96	20	18	
	200		30	17	114	23	20	
	1000		34	21	101	20	18	
	5000		32	13	109	25	18	
陽性 対照	2-Nitrofluorene	5	-	738♣				
	Sodium azide	2			746♣	653♣		
	9-Aminoacridine	50			91♣			
	4-Nitroquinoline 1-oxide	2	+					1251♣
	Benzo[a]pyrene	10		248♣				
	2-Aminoanthracene	5			208♣	2477♣	186♣	
		10						138♣

†: $p < 0.05$, ♣: $p < 0.001$ (Dunnnett の t 検定)

表 2: 第 2 回試験における復帰変異コロニー数

処理薬物	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			フレームシフト型		塩基置換型			
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2uvrA	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		25	18	97	23	11	
イミシアホス	156.25	-	34	17	79	18	14	
	312.5		35	16	96	20	11	
	625		23	17	96	18	10	
	1250		25	18	91	20	17†	
	2500		25	20	103	26	15	
	5000		34	18	93	20	14	
溶媒 (DMSO)	(100 μl)		51	23	107	23	21	
イミシアホス	156.25	+	36	27	111	25	21	
	312.5		36	28	113	18	18	
	625		36	25	116	22	18	
	1250		40	25	113	24	17	
	2500		38	20	116	15	17	
	5000		47	20	112	16	14	
陽性 対照	2-Nitrofluorene	5	-	762♣				
	Sodium azide	2			727♣	663♣		
	9-Aminoacridine	50			136♣			
	4-Nitroquinoline 1-oxide	2	+					966♣
	Benzo[a]pyrene	10		336♣				
	2-Aminoanthracene	5			218♣	1511♣	68♣	
		10						49♣

†: $p < 0.05$, ♣: $p < 0.001$ (Dunnnett の t 検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

③チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL) を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 T24)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

被験物質: イミシアホス原体

試験方法: 薬物代謝活性化系 S-9 の非存在下及び存在下において継代培養した CHL 培養細胞に被験物質を 3 時間処理し、被験物質を含まない培養液に細胞を移して、さらに 17 時間培養後、単層培養細胞を取り出し、細胞数を計測した。培養終了前 2 時間にコルヒチン処理を行った上で、被験物質処理開始から 20 時間後に細胞を回収し、洗浄及び低張処理後、スライド標本を作成、ギムザ染色した上で、概ね 50% の細胞増殖抑制のみられた処理区を含む 3 濃度について、顕微鏡下で分裂中期細胞 200 個を観察し、構造異常及び数的異常について記録した。被験物質は滅菌した DMSO に溶解し、遮光して、調製した日に試験に使用した。

細胞濃度を 6×10^5 /容器とし、75cm² の培養皿に培養液 9.4 ml (被験物質溶液等を加えた総液量 10ml) を入れ、37°C、5%CO₂ 下で培養した。

陽性対照物質は、S-9 非存在下では Methylmethane sulphonate (MMS)、S-9 存在下では Cyclophosphamide (CPA) を使用した。

用量設定根拠:

試験結果: 各培養液中細胞数を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 2：被験物質を 3 時間処理後、17 時間培養した CHL 細胞の細胞数

被験物質 処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	細胞数($\times 10^6$)					
	S-9 非存在下			S-9 存在下		
	反 復		細胞数 減少率(%)	反 復		細胞数 減少率(%)
	A'	B'		A'	B'	
溶媒対照 (4連)	1.77	1.91	-	3.93	4.80	-
	2.09	2.13		2.92	3.33	
112.6	2.15	1.78	1	4.76	3.50	0
140.7	1.90	2.11	0	4.19	3.65	0
175.9	1.86	1.48	16	4.33	4.09	0
219.9	1.63	1.65	17	2.34	3.85	17
274.9	1.48	1.48	25	3.73	4.23	0
343.6	1.18	1.32	37	4.13	4.31	0
429.5	1.28	1.49	30	3.29	3.48	10
536.9	1.25	1.14	40	3.20	2.89	19
671.1	1.40	1.39	29	2.73	2.74	27
838.9	1.12	1.40	36	2.42	2.05	40
1049	0.94	0.94	52	3.26	4.00	3
1311	0.48	0.59	73	4.03	4.43	0
1638	0.27	0.55	79	2.20	3.22	28
2048	0.02	0.07	98	1.86	2.08	47
2560 ^P	0.02	0.02	99	1.20	1.10	69
3200 ^P	0.01	0.02	99	0.60	0.49	86
4000 ^P	0.00	0.01	100	0.20	0.26	94
5000 ^P	0.00	0.13	97	0.03	0.03	99

*：溶媒対照群は 4 連、被験物質処理群は 2 連で実施した。"：被験物質処理開始時に沈殿が認められた。

S-9 非存在下では、1049 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の処理濃度で 50%以上の細胞増殖抑制がみられ、S-9 存在下では、2048 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 47%の増殖抑制が、2560 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で 69%以上の増殖抑制が認められた。従って、S-9 非存在下では、219.9、671.1 及び 1049 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理細胞について、S-9 存在下では 838.9、1638 及び 2048 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理細胞について、染色体の分裂中期像観察を行った。

中期細胞分裂像における染色体の構造的異常及び数的異常観察結果を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 3 : 染色体の構造異常に認められた細胞数

処 理 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S-9	観 察 細胞数	ギャップ	染色体		染色分体		その他	総異常細胞数*	
				欠損	交換	欠損	交換		+ギャップ	-ギャップ
溶 媒	-	200	1	2	0	3	1	0	7 (6)	6 (5)
219.9		200	1	1	0	2	0	0	4 (4)	3 (3)
671.1		200	1	2	2	4	0	0	9 (7)	8 (6)
1049		200	1	0	1	5	2	0	9 (9)	8 (8)
MMS 50.0		200	1	2	2	50	91	1	147 (88)♣	146 (87)♣
背景正常値										2.78 (0~10)
溶 媒	+	200	1	0	0	0	0	1	2 (2)	1 (1)
838.9		200	0	0	0	0	0	0	0 (0)	0 (0)
1638		200	0	4	0	1	5	0	10 (5)	10 (5)
2048		200	3	5	0	34	42	7	91 (49)♣	88 (49)♣
CPA 6.25		200	7	6	3	18	26	0	60 (45)♣	53 (42)♣
背景正常値										2.89 (0~9)

* : 1細胞に2つの異常が認められた場合、異常は2と計数した。

() : 括弧内の数値は異常が認められた細胞数。

♣ : $p < 0.001$ (χ^2 検定)

背景正常値は細胞 100 個当り平均発現率と正常範囲

表 4 : 染色体の数的異常の認められた細胞数

処 理 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S-9	測定細胞数	高倍数体	核内倍加	倍数体	総異常細胞数	異常細胞発現率 (%)
溶 媒	-	207	2	0	5	7	3.4
219.9		206	1	0	5	6	2.9
671.1		204	1	0	3	4	2.0
1049		204	1	0	3	4	2.0
MMS 50.0		207	2	0	5	7	3.4
背景正常値							
溶 媒	+	202	0	0	2	2	1.0
838.9		204	0	1	3	4	2.0
1638		207	0	0	7	7	3.4
2048		204	1	0	3	4	2.0
CPA 6.25		204	1	0	3	4	2.0
背景正常値							

背景正常値は細胞 100 個当り平均発現率と正常範囲

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

構造異常; S-9 非存在下で被験物質を処理したすべての濃度について、異常が認められた細胞の頻度は、溶媒対照群と同様であった。

S-9 存在下で被験物質を処理した最高濃度群 (2048 µg/mL) における異常細胞発現頻度は、対照群より有意に高く、背景正常値より高かった。

MMS (-S-9) あるいは CPA (+S-9) を処理した陽性対照培養細胞では、有意な染色体構造異常細胞の増加が認められた。

数的異常; 数的異常発現細胞数は S-9 の有無に係わらず、いずれの被験物質処理濃度においても、溶媒対照と差はなく、背景正常値範囲内であった。2 反復した試験の 1 反復において、数的異常細胞発現数が背景正常値を逸脱する例はあったが、一方のデータが背景対照データの範囲にあったことから、生物学的意義はないと考えられた。

MMS (-S-9) あるいは CPA (+S-9) を処理した陽性対照培養細胞では、染色体数異常細胞数に有意な変化はみられなかった。

以上の結果から、被験物質は培養 CHL 細胞において薬物代謝活性化系の非存在下では、染色体異常を誘発しないが、薬物代謝活性化系の存在下では、染色体異常誘発性があるものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

④ ラットの骨髄を用いた小核試験

(資料 T25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：Crl:HanWist (Glx:BRL) BR系ラット、約7週齢、体重；183～226 g、1群雄8匹

試験方法：溶媒（5%DMSO水溶液）に溶解させた7.5及び30 mg/kgの被験物質を1群8匹の雄ラットに24時間間隔で2回静脈内投与した。2回目の静脈内投与の24時間後、動物を屠殺し、大腿骨から骨髄を採取して、塗抹標本作製し、アクリジンオレンジで染色し、各動物について、細胞毒性を検討するために多染性赤血球/正染性赤血球比（PCE/NCE）求めるとともに、小核を有する多染性赤血球の比率を求めた。対照群には溶媒のみを同様に投与し、陽性対照群には Cyclophosphamide (CPA) を生理食塩液に溶解し、40 mg/kg を1回静脈内投与した。対照群は2回目の投与後24時間、陽性対照群は1回目の投与後24時間に屠殺し、骨髄塗抹標本作製した。

用量設定根拠：

試験結果：各群における多染性赤血球/正染性赤血球比（PCE/NCE）及び小核を有する多染性赤血球比率を下表に示す。

試験群	投与量 (mg/kg) ×投与回数	屠殺時間 (最終投与後)	PCE/NCE 比	小核 PCE (/1000)
溶媒対照	0×2回	24	1.91	0.56
イミシアホス	7.5×2回	24	1.57	0.38
	15×2回	24	1.44	0.19
	30×2回	24	1.43	0.63
CPA ^{a)}	40×1回	24	0.48	3.69 [◆]
背景溶媒対照 ^{b)}			1.46	0.3 (0.1~0.7)

^{a)}：Cyclophosphamide、^{b)}：過去に実施した雄160匹の平均、◆：p<0.001 (χ^2 検定)

被験物質投与群では、いずれの用量においても PCE/NCE 比の変動並びに小核 PCE 発現率の変動が認められなかった。

一方、CPA を投与した陽性対照群では、PCE/NCE 比の軽度の低下と小核 PCE 発現率の著しい増加が認められた。

以上の結果から、本試験の条件下においてイミシアホス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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

⑤ ラットの肝臓を用いた小核試験

(資料 T26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：Crl:WIBR 系（ウイスター系）ラット、6～11 週齢、体重 185～229 g、1 群雄 7 匹

試験方法：1%メチルセルロース溶液に懸濁させた 2.5 及び 5 mg/kg の被験物質を 1 群 7 匹の雄ラットに単回経口投与し、その 24 時間後に麻酔下で肝臓の一部を切除した。肝部分切除の 24 時間後に再び被験物質を単回経口投与し、最初の投与から 72 時間または 96 時間後に各群最大 5 匹について、麻酔下で環流して血液を除いた後、肝を摘出し、肝細胞浮遊液を調製し、その浮遊液をスライドガラスに塗抹して、Schiff 試薬及び Fast green による染色を行った。1 動物について 2000 個の肝細胞を観察し、細胞 1000 個当りの小核を有する肝細胞数を求めて対照群と比較した。さらに、供試動物における細胞毒性の有無を検討するため、分裂指数について評価した。

溶媒対照群には、メチルセルロース 1%溶液を被験物質投与群と同様に投与し、陽性対照物質には、ジメチルニトロソアミン水溶液 (DMN、10 mg/kg) を肝部分切除の 24 時間前に経口投与した。

試験群と動物数、肝細胞採取時期は以下の通りである。

試験群	投与量 (mg/kg)	動物数				
		第 1 回投与	肝部分切除	第 2 回投与	肝細胞採取	
		0 時間	24 時間	48 時間 ^{b)}	72 時間	96 時間
溶媒対照群	0	14	14	12	5	5
被験物質投与群	2.5	14	13 ^{a)}	10	4	5
	5	14	14	13	5	5
陽性対照群	10	10	10	—	2	3

^{a)}：肝と横隔膜の癒着がみられた 1 例を手術対象から除外

^{b)}：肝部分切除手術による死亡がみられた為、例数減少

用量設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

試験結果：各群における小核肝細胞発現頻度及び分裂指数を下表に示す。

肝細胞採取時期 ^{a)}	試験群(投与物質)	投与量(mg/kg)	検査動物数(検査細胞数)	小核発現率(/1000)	分裂指数(%)
72 時間	溶媒対照(1%MC)	0	5(10000)	1.20	0.14
	イミシアホス	2.5	4(8000)	1.00	0.375
		5.0	5(10000)	1.10	0.19
	陽性対照(DMN)	10	2(4000)	17.75 [◆]	0.475
	背景対照データ ^{b)}	—	—	0.95(0~2.2)	—
96 時間	溶媒対照(1%MC)	0	5(10000)	1.10	0.32
	イミシアホス	2.5	5(10000)	1.40	0.15
		5.0	5(10000)	1.80	0.22
	陽性対照(DMN)	10	3(6000)	11.00 [◆]	0.183
	背景対照データ ^{b)}	—	—	1.91(0~3.8)	—

^{a)}：第1回投与後の時間

^{b)}：過去に実施した10試験の溶媒対照群53匹(72時間)及び70匹(96時間)の平均値

[◆]： $p < 0.001$ (χ^2 検定)

被験物質投与群では、2.5及び5.0 mg/kg 投与群とも72時間あるいは96時間の小核肝細胞発現数は、背景対照データの範囲内であり、溶媒対照群と比較して、統計学的有意差を伴う変化はみられなかった。また、同群の分裂指数も溶媒対照群と同等であり、被験物質の肝細胞に対する影響はなかったと考えられる。

一方、DMNを単回経口投与した陽性対照群では、著しい小核肝細胞発現率の増加が認められた。

以上の結果から、本試験の条件下におけるイミシアホスの肝細胞の小核形成に関する変異原性は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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(10) 生体機能に及ぼす影響に関する試験

① 一般薬理試験

(資料 T27)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

被験物質: イミシアホス原体

(ア) ラットまたはマウスの中樞神経系に対する作用

i) ラットにおける一般状態

供試動物: Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGS 系ラット、約 7 週齢、1 群雄 5 匹、体重; 152~169 g

試験方法: ラットに 1%メチルセルロース (MC) に懸濁した被験物質を経口投与した。投与量は 0、12、40 及び 120 mg/kg とした。Irwin の多次元観察法を参考にして、動物の症状を投与直前、投与後 15 分、30 分、1 時間、2 時間、3 時間、6 時間、24 時間に観察し、以降、正常状態に回復するまで 24 時間間隔で観察した。

試験結果: 120 mg/kg 投与群では、投与後 15 分から流涎が発現、30 分以降には腹臥位及び振戦、1 時間には歩行異常、2 時間以降には眼球突出、流涙、体温低下、四肢硬直、3 時間には歩行失調が観察された。これらの症状の大部分は 6 時間後も認められ、24 時間後には複数例で継続して腹臥位、歩行異常、歩行失調、眼球突出及び振戦の他、被毛の汚れも観察された。これらの症状は経時的に消失し、被験物質投与後 96 時間には消失した。また、投与後 1~3 時間には、眼瞼反射消失及び耳介反射の消失が一部の動物に認められ、縮瞳も投与後 24 時間及び 48 時間に認められた。40 mg/kg 投与群では、被験物質投与後 2~3 時間に歩行失調及び振戦が数例観察された。12 mg/kg 投与群では、被験物質投与による変化は認められなかった。

ii) マウスにおける自発運動量に対する作用

供試動物: Crj:CD-1(ICR)系マウス、約 5 週齢、1 群雄 5 匹、体重; 23.8~28.3 g

試験方法: マウスに 1%MC に懸濁した被験物質を経口投与した。投与量は 0、10、30 及び 100 mg/kg とした。10 mg/kg 投与群でも影響がみられたため、1、3 及び 10 mg/kg 投与群を追加した。被験物質投与前の 30 分間から投与後 6 時間まで連続して自発運動量を自発運動量測定装置で測定し、30 分間隔でデータを集計した。陽性対照群には、クロルプロマジン (CPZ) を 10 mg/kg 投与した。

試験結果: 各群において計測された 30 分間の平均運動量計数値及び対照群に対する比率 (%) を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

試験の区分	第 1 回					第 2 回			
	イミシアホス				CPZ	イミシアホス			
投与物質									
投与量 (mg/kg)	0	10	30	100	10	0	1	3	10
動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	5
-30 ~ 0分	5941.0 (-)	4469.2 (126)	7505.8 (126)	7766.6 (131)	6316.2 (106)	8571.2 (-)	8879.4 (104)	8626.4 (101)	8760.4 (102)
0 ~ 30分	4178.6 (-)	3326.8 (80)	3654.0 (87)	5192.6 (124)	1807.6 (43)	3192.2 (-)	4200.0 (132)	2756.4 (55)	2933.0 (92)
30 ~ 60分	3782.0 (-)	146.0 (4)	1334.6 (35)	185.6 (5)	24.2 (1)	1191.2 (-)	1869.0 (157)	120.6 (10)	1201.2 (101)
60 ~ 90分	3421.4 (-)	838.2 (24)	1174.0 (34)	42.0 (1)	6.2 (0)	745.0 (-)	1950.2 (262)	647.8 (87)	2124.6 (285)
90 ~ 120分	1962.0 (-)	551.4 (28)	165.8 (8)	41.4 (2)	23.0 (1)	395.0 (-)	2224.4 (563)	478.2 (121)	1535.4 (389)
120 ~ 150分	1629.0 (-)	88.8 (5)	118.4 (7)	19.8 (1)	0.6 (0)	884.0 (-)	1163.6 (132)	167.6 (19)	1194.2 (135)
150 ~ 180分	368.4 (-)	62.8 (17)	208.4 (57)	6.0 (2)	35.0 (10)	1547.8 (-)	39.2 (3)	13.0 (1)	1168.8 (76)
180 ~ 210分	698.6 (-)	790.0 (113)	1089.6 (156)	8.4 (1)	20.8 (3)	469.6 (-)	2877.0 (612)	203.8 (43)	20.2 (4)
210 ~ 240分	312.6 (-)	3711.8 (1186)	341.0 (109)	16.0 (5)	32.2 (10)	736.8 (-)	1419.4 (193)	377.2 (51)	577.8 (78)
240 ~ 270分	1695.8 (-)	2227.0 (131)	41.2 (2)	11.4 (1)	23.0 (1)	225.6 (-)	2332.8 (988)	467.2 (207)	407.6 (181)
270 ~ 300分	3578.4 (-)	1909.8 (53)	1320.4 (37)	11.4 (0)	28.2 (1)	582.8 (-)	1516.0 (260)	1471.8 (252)	1671.4 (287)
300 ~ 330分	2733.6 (-)	2982.4 (109)	1267.4 (46)	15.6 (1)	39.4 (1)	226.2 (-)	3203.4 (1417)	302.8 (134)	2423.8 (1073)
330 ~ 360分	1490.0 (-)	1462.4 (98)	1452.6 (98)	13.6 (1)	36.6 (2)	1277.2 (-)	2837.0 (222)	396.6 (31)	2923.0 (229)

上段は計数値、下段は対照群に対する比率 (%), †↓ : p<0.05, †↓ : p<0.01 (多重検定法)

100 mg/kg 投与群では、投与後 30 分以降に著しい自発運動量の低下がみられ、10 及び 30 mg/kg 投与群でも、投与後 150~180 分までの自発運動量は対照群より低かった。追加して実施した低用量試験群では、通常みられる変動範囲を超えた明らかな被験物質投与の影響は認められなかった。

一方、CPZ を投与した陽性対照群では、投与後 30 分以降明らかな自発運動量の低下傾向が認められた。

iii) マウスにおける痙攣誘発作用

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)系マウス、約 5 週齢、1 群雄 5 匹、体重 ; 29.0~31.0g

試験方法 : マウスに 1%MC に懸濁した被験物質を経口投与した。投与量は 0、10、30 及び 100 mg/kg とした。被験物質投与後 60 分に両耳介に小型動物用電撃刺激装置で 10 mA の電流を 0.8 秒間通電し、その後の痙攣及び死亡の有無について観察した。陽性対照群には、カフェイン 150 mg/kg を投与した。

試験結果 : 各群における痙攣発現数及び死亡数を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

投与物質	投与量 (mg/kg)	動物数	強直性屈曲 痙攣	強直性伸展 痙攣	間代性 痙攣	死 亡
イミシアホス	0	5	3	2	5	1
	10	5	4	3	5	2
	30	5	1	0	4	0
	100	5	0	0	5	0
Caffeine	150	5	3	5	5	4

痙攣発現数及び死亡率には、対照群と被験物質投与群に有意差が認められなかったが、30及び100 mg/kg 投与群では、強直性痙攣の発現がほとんど認められず、死亡もなかった。

一方、陽性対照群においては、痙攣発現数及び死亡数が多かった。

iv) ラットの体温に及ぼす作用

供試動物：Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGS 系ラット、約7週齢、1群雄5匹、体重；158～183 g

試験方法：ラットに1%MCに懸濁した被験物質を経口投与した。投与量は0、12、40及び120 mg/kgとした。被験物質投与前、投与後0.5時間、1時間、2時間、3時間、6時間及び24時間にデジタル温度計で直腸体温を測定し、以降、正常に回復するまで24時間間隔で測定した。陽性対照群には、クロルプロマジン (CPZ) を10 mg/kg 投与した。

試験結果：被験物質投与前 (0時間) 及び投与後の平均体温の推移を下表に示す。

投与物質	投与量 (mg/kg)	動物数	投与後時間								
			0	0.5	1	2	3	6	24	48	72
イミシアホス	0	5	38.0	37.9	38.0	37.3	36.9	37.5	37.4	37.2	37.8
	12	5	38.1	38.0	37.8	37.2	36.9	37.6	37.3	37.2	37.7
	40	5	37.7	37.6	37.0 ↓	35.5 ◊	35.0 ◊	36.5 ↓	38.2 ↑	37.3	37.8
	120	5	37.9	37.3	35.3 ◊	33.7 ◊	32.7 ◊	31.4 ◊	34.4	36.4	37.7
CPZ	10	5	38.0	37.1 ◊	36.6 ◊	36.1	36.1 ↓	37.1 ↓	37.3	37.2	37.8

↑↓ : p<0.05, ◊◊ : p<0.01 (多重検定法)

対照群における平均体温は36.9～38.0℃であった。被験物質40及び120 mg/kg 投与群では、投与後1時間～6時間まで有意な体温の低下が認められた。40 mg/kg 投与群における最低体温は35.0℃ (投与後3時間)、120 mg/kg 投与群の最低体温は31.4℃ (投与後6時間) であった。投与後24時間の体温は120 mg/kg 投与群ではまだ対照群より低かったが、40 mg/kg 投与群ではむしろ対照群より高かった。120 mg/kg 投与群の平均体温は、72時間後に正常に回復した。なお、120 mg/kg 投与群では、被験物質投与後2時間の体温測定後に2例の死亡が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

12 mg/kg 投与群では、体温の変化は認められなかった。

一方、陽性対照群では、投与後 0.5 時間から 6 時間まで有意な低下がみられた。

(イ) イヌの呼吸・循環器系に対する作用

供試動物：ビーグル犬、約 12～13 月齢、1 群雄 3 匹、体重；10.3～13.8 kg

試験方法：麻酔したイヌの大腿動脈にトランスデューサーを挿入し、その信号を生体電気増幅器及びタコメーターに接続して血圧及び心拍数を計測した。呼吸ピックアップの信号を直流増幅器に導き、呼吸数を測定した。心電図は、第Ⅱ誘導波形を心電計で記録した。動物が麻酔から覚醒し、各パラメーターが安定した段階で 0、12.5、25 及び 50 mg/kg の 1%MC に懸濁した被験物質を経口投与し、投与前、投与後 15 分、30 分、1 時間、2 時間、3 時間、6 時間及び 24 時間に呼吸数、血圧、心拍数及び心電図を記録した。なお、対照群の動物については、データを収集後 1 週間以上経過してから中用量群に使用し、低用量群については、同じく高用量群に使用した。

試験結果：被験物質投与前(0 時間)及び投与後の呼吸数、血圧及び心拍数の推移を下表に示す。

投与量 (mg/kg)		0	12.5	25	50
動物数		3	3	3	3
呼吸数 (/分)	0 時間	22	29	23	20
	0.25 時間	22	24	24	18
	0.5 時間	21	43	23	21
	1 時間	20	34	21	23
	2 時間	26	40	17	21
	3 時間	21	35	28	21
	6 時間	17	24	17	21
	24 時間	22	37	23	18
平均血圧 (mmHg)	0 時間	120	124	120	150↑
	0.25 時間	114	136	127	151
	0.5 時間	114	141	120	156↑
	1 時間	121	136	116	162
	2 時間	125	134	117	158
	3 時間	119	135	121	138
	6 時間	121	125	122	95
	24 時間	111	114	118	100
心拍数 (/分)	0 時間	118	103	116	116
	0.25 時間	107	105	128	102
	0.5 時間	99	112	106	118
	1 時間	107	111	95	105
	2 時間	94	91	92	110
	3 時間	99	86	97	88
	6 時間	75	96	79	97
	24 時間	109	117	123	120

↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01 (多重検定法)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ、カネシヨウ株式会社にある。

対照群と比較して、被験物質投与後の呼吸数の変化は、いずれの投与群にも認められなかった。50 mg/kg 投与群では、6 時間及び 24 時間の平均血圧に低下が認められたが、その他の群では、明らかな被験物質投与による平均血圧の変化は認められなかった。心拍数に対する被験物質投与の影響はみられなかった。

第Ⅱ誘導で得られた心電図の主要パラメーターの平均値を下表に示す。

投与量 (mg/kg)		0	12.5	25	50
動物数		3	3	3	3
PR 間隔 (msec)	0 時間	110	102	102	103
	0.25 時間	113	106	106	98
	0.5 時間	115	102	104	98
	1 時間	108	110	114	106
	2 時間	107	108	113	103
	3 時間	108	102	115	108
	6 時間	114	103	114	95
	24 時間	108	97	109	94
RQS 間隔 (msec)	0 時間	51	46	51	46
	0.25 時間	53	45	50	44
	0.5 時間	54	52	48	45
	1 時間	50	48	48	42
	2 時間	50	49	48	43
	3 時間	50	49	48	43
	6 時間	49	46	49	50
	24 時間	50	46	52	45
QT 間隔 (msec)	0 時間	205	215	198	202
	0.25 時間	214	202	197	201
	0.5 時間	212	213	204	207
	1 時間	208	216	214	209
	2 時間	220	222	218	213
	3 時間	216	212	210	224
	6 時間	227	211	218	230
	24 時間	208	197	199	208
補正 QT 間隔 (msec)	0 時間	273	273	273	262
	0.25 時間	264	264	264	271
	0.5 時間	264	294†	281	272
	1 時間	262	266	267	261
	2 時間	268	265	254	272
	3 時間	263	268	250	245
	6 時間	251	264	256	290
	24 時間	264	262	256	290

†↓ : p<0.05、†↓ : p<0.01 (多重検定法)

測定したパラメーターについては、いずれの投与群にも被験物質投与による変化が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

(ウ) ラットの腎機能に対する作用

供試動物：Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGS系ラット、約7週齢、1群雄5匹、体重；163～225g

試験方法：ラットに予め体重100g当り2.5mlの生理食塩液を経口投与し、その後、1%MCに懸濁した被験物質を経口投与した。この動物を個別に代謝ケージに収容し、無給餌、無給水条件で17時間尿を採取した。得られた尿については、以下の項目について測定した。陽性対照群には、同様にフロセמיד50mg/kgを10ml/100g体重の割合で投与した。

尿量、浸透圧、ナトリウム、カリウム、塩素

試験結果：各群の尿量、浸透圧、電解質（ナトリウム、カリウム、塩素）排泄量を下表に示す。

投与物質	イミシアホス				Furosemide
	0	12	40	120	
投与量 (mg/kg)	0	12	40	120	20
動物数	5	5	5	5	5
尿量 (ml)	9.8	9.8	15.8†	10.3	15.1 †
浸透圧 (mOsm/kg)	656	667	587	883 †	539 †
ナトリウム (mmol/volume)	0.87	0.85	1.67 †	1.32 †	1.25 †
カリウム (mmol/volume)	0.90	0.87	0.87	0.76	1.10 †
塩素 (mmol/volume)	0.92	0.94	1.54 †	1.38 †	1.56 †

† : p<0.05, †† : p<0.01 (多重検定法)

40 mg/kg 投与群では、尿量、ナトリウム及び塩素排泄量の増加が認められ、120 mg/kg 投与群では、浸透圧の増加、ナトリウム及び塩素排泄量の増加が認められた。12 mg/kg 投与群では、被験物質投与による変化は認められなかった。なお、120 mg/kg 投与群では、2例が採尿期間中に死亡した。一方、陽性対照群では、いずれの項目にも有意な増加が認められた。

(エ) ラットの骨格筋に対する作用

供試動物：Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGS系ラット、約7週齢、1群雄5匹、体重；167～182g

試験方法：1%MCに懸濁した被験物質をラットに投与し、投与前、投与後30分、1時間、2時間、3時間、6時間及び24時間に各ラットの前肢及び後肢握力をデジタルプッシュプルゲージを用いて測定した。投与量は0、12、40及び120mg/kgとした。陽性対照群には、ジアゼパム10mg/kgを投与した。

試験結果：各群の平均握力を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

投与物質		イミシアホス				Diazepam
投与量 (mg/kg)		0	12	40	120	10
動物数		5	5	5	5	5
前肢 握力 (g)	0時間	352	367	357	362	394
	0.5時間	339	272	348	325	212 \downarrow
	1時間	386	331	377	499	195 \downarrow
	2時間	311	308	494 \uparrow	334	189
	3時間	347	289	468	386	206
	6時間	342	318	363	350	254
	24時間	370	355	335	431	319
後肢 握力 (g)	0時間	264	246	248	255	214
	0.5時間	274	260	280	232	212 \downarrow
	1時間	218	273	264	261	174 \downarrow
	2時間	257	266	273	270	216
	3時間	284	285	319	281	265
	6時間	283	330	321	235	298
	24時間	335	398	329	275	355

\uparrow ↓ : $p < 0.05$, $\uparrow\downarrow$: $p < 0.01$ (多重検定法)

40 mg/kg 投与群の投与後 2 時間の前肢握力が対照群より強かったが、その他の測定時間には変化が見られず、後肢握力については、いずれの投与群にも被験物質投与による変化がみられなかった。

一方、陽性対照群では、投与後 0.5 時間及び 1 時間に有意な握力の低下が前肢、後肢とも認められた。

(オ) ラットの血液凝固に対する作用

供試動物 : Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGS 系ラット、約 7 週齢、1 群雄 5 匹、体重 ; 135~160 g

試験方法 : 1%MC に懸濁した被験物質をラットに投与し、60 分後にエーテル麻酔下で腹大動脈より採血し、以下の項目について検査した。投与量は 0、12、40 及び 120 mg/kg とし、陽性対照群にはワーファリン-K を 20 mg/kg 投与し、採血及び検査は投与後 6 時間に実施した。

全血凝固時間 (WBCT)、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 (APTT)、フィブリノーゲン量

試験結果 : 各群の平均値を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

投与物質	イミシアホス				Warfarin-K
	0	12	40	120	
投与量(mg/kg)	0	12	40	120	20
WBCT (sec)	208.8	202.0	218.2	212.6	247.6
PT (sec)	18.02	18.98	18.12	19.24	28.88†
APTT (sec)	22.36	22.74	20.66	22.88	25.26
Fibrinogen (mg/dl)	267.2	274.8	298.8	274.2	284.6

†↓ : p<0.05, †† : p<0.01 (多重検定法)

被験物質投与群ではいずれのパラメーターにも有意な変化は認められなかった。一方、陽性対照群では WBCT、PT、APTT の延長が認められ、PT は対照群と比べて統計学的に有意であった。

(カ) マウスの消化器系に対する作用

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)系マウス、約 5 週齢、1 群雄 5 匹、体重 ; 28.0~31.7 g

試験方法 : マウスに 1%MC に懸濁した被験物質を経口投与した。投与量は 0、10、30 及び 100 mg/kg とした。その 1 時間後に活性炭懸濁液 (炭末 2.5%+10%アラビアゴム) 0.1 ml を経口投与した。30 分後、マウスを屠殺し、速やかに消化管を摘出して活性炭移送距離を測定して、全長に対する移行率を算出した。陽性対照群には、アトロピン 100 mg/kg を投与した。

試験結果 : 各群における炭末移行率 (%) を下表に示す。

試験化合物	イミシアホス				Atropine
	0	10	30	100	
投与量 (mg/kg)	0	10	30	100	100
移行率 (%)	64.6	57.5	69.2	84.0†	37.9†

†↓ : p<0.05, †† : p<0.01 (多重検定法)

被験物質 100 mg/kg 投与群では、対照群と比べて有意に移行率が高かったが、その他の投与群の移行率は、対照群と同等であった。

一方、陽性対照群では、明らかな移行率の低下が認められた。

以上の結果から、イミシアホス原体はマウスやラットの中樞神経系、腎機能、イヌの血圧、マウスの消化管運動に対して影響を及ぼすことが示唆されたが、いずれも本剤の抗 ChE 作用に関連した変化であると考えられる。骨格筋及び血液凝固には、影響はみられなかった。ラットに対する影響は、投与後 72 時間程度で回復することが確認された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

〔生体機能影響試験総括表〕

試験の種類・期間	供動物	1群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中 枢 神 経 系	一般状態 (Irwin 法)	ラット	雄 5	0 12 40 120	40	12	40 及び 120mg/kg 投与群では投与直後に流涎が発現、その後振戦、腹臥位、体温低下、歩行異常、眼球突出等が発現、投与後 96 時間以内に症状が消失した。
	自発運動量	マウス	雄 5	0 1 3 10 30 100	10	3	100mg/kg 投与群では投与後 30 分から著しい自発運動量の低下がみられ、10 及び 30mg/kg 投与群でも投与後 180 分まで自発運動量の低下がみられた。追加試験では 10mg/kg 以下の用量で自発運動量に対する影響はみられなかった。
	痙攣誘発 (電撃痙攣)	マウス	雄 5	0 10 30 100	30	10	電撃刺激に対する痙攣発現数及び死亡発現数には被験物質投与の影響がみられなかった。30 及び 100mg/kg 投与群の強直性痙攣発現数は対照群より低かった。
	体温	ラット	雄 5	0 12 40 120	40	12	40 及び 120mg/kg 投与群で投与後 1 から 6 時間まで体温低下がみられた。120mg/kg 投与群ではさらに 48 時間まで低下傾向が認められた。
呼吸・循環器系	イヌ	雄 3		0 12.5 25 50	50	25	50mg/kg 投与群で投与後 6 時間及び 24 時間に平均血圧の低下がみられたが、心電図、心拍数、呼吸数には影響がみられなかった。12.5 及び 25mg/kg 投与群では影響はみられなかった。
腎機能 (尿、電解質排泄量)	ラット	雄 5		0 12 40 120	40	12	40 及び 120mg/kg 投与群で尿量、ナトリウム及び塩素排泄量の増加がみられ、120mg/kg 投与群では浸透圧の増加もみられた。
骨格筋 (握力)	ラット	雄 5		0 12 40 120	—	120	被験物質の握力に対する影響はみられなかった。
血液凝固	ラット	雄 5		0 12 40 120	—	120	被験物質の血液凝固に対する影響はみられなかった。
消化管 (炭末輸送)	マウス	雄 5		0 10 30 100	100	30	100mg/kg 投与群の炭末移行率が有意に高かったが、10 及び 30mg/kg 投与群は対照群と同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

② ラットにおけるコリンエステラーゼ活性阻害作用

(資料 T28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

被験物質：イミシアホス原体

供試動物：Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGS 系ラット、約 7 週齢、1 群雄 5 匹、体重；187～240 g

試験方法：ラットに 1%MC に懸濁した被験物質を単回または 14 日間毎日経口投与した。単回投与における投与量は 0、1、5 及び 20 mg/kg、反復投与試験における投与量は 0 及び 5 mg/kg とした。単回投与試験では、投与後 1～672 時間に腹大動脈より血液を採取し、血漿及び赤血球中コリンエステラーゼ活性の測定に供した。同時に脳を採取し、左半分については、コリンエステラーゼ活性測定に供した。反復投与試験では、最終投与後 12 時間～2016 時間（84 日間）に同様に血液及び脳を採取し、コリンエステラーゼ活性測定に供した。各試料中コリンエステラーゼ活性は、アセチルチオコリンを基質とした DTNB 法で自動分析装置を用いて測定した。

用量設定根拠；

試験結果：5 及び 20 mg/kg の被験物質を経口投与後 72 時間までの血漿、赤血球及び脳中コリンエステラーゼ活性の推移を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

試料	投与量 (mg/kg)	投与後時間								
		0	1	2	4	8	24	48	72	
血漿 (U/l)	0	460	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
	5	— (—)	208 (54.8)	198 (56.9)	201 (56.4)	240 (47.8)	362 (21.3)	445 (3.3)	451 (1.8)	
	20	— (—)	87 (81.0)	77 (83.3)	89 (80.6)	97 (78.9)	293 (36.3)	443 (3.6)	529 (15.1)	
赤血球 (U/kg)	0	1270	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	
	5	— (—)	998 (21.4)	821 (35.3)	828 (34.8)	879 (30.8)	1013 (20.3)	735 (42.1)	823 (35.2)	
	20	— (—)	372 (70.7)	321 (74.7)	355 (72.0)	334 (73.7)	328 (74.2)	291 (77.1)	362 (71.5)	
脳 (U/kg)	0	1880	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	
	5	— (—)	1625 (13.5)	1585 (15.7)	1676 (10.8)	1564 (16.8)	1651 (12.2)	1571 (16.4)	1615 (14.1)	
	20	— (—)	1127 (40.0)	1135 (39.7)	1109 (41.0)	1058 (43.7)	1269 (32.5)	1251 (33.5)	1324 (29.6)	

上段は活性値、下段は対照群の0時間測定値に対する低下率(%)を示す。

5及び20 mg/kg 投与群の血漿中コリンエステラーゼ活性は、投与後1時間には明らかに低下し、2時間後には僅かであるが更に低下した。4時間後には活性値の増加が始まり、48時間後にはほぼ初期値と同等に回復した。

赤血球中コリンエステラーゼ活性も血漿と同様に投与後1時間にはすでに低下がみられ、2時間後にはさらに低下した。その後は、大きな活性値の変化がみられず、72時間後でも明らかに低下していた。

脳中コリンエステラーゼ活性は、5 mg/kg 投与群では投与後1時間から72時間まで大きな変動は見られず、対照群よりも11~17%低かった。20 mg/kg 投与群では、投与後1時間から8時間まで40%程度の低下がみられたが、以降72時間まで軽微ではあるが回復傾向が認められた。

以上の結果から、被験物質投与後72時間を経過しても赤血球及び脳中コリンエステラーゼ活性に回復が認められないことから、1及び5 mg/kg の被験物質を同様にラットに経口投与して、より長期間、コリンエステラーゼ活性の推移について検討した。そ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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

試料	投与量 (mg/kg)	投与後時間				
		0	168	240	336	672
血漿 (U/l)	0	476	—	—	310	372
	1	— (—)	397 (16.6)		374 (21.3)	414 (13.0)
	5	— (—)	408 (14.2)	441 (7.2)	365 (23.3)	401 (15.8)
赤血球 (U/kg)	0	1289	—	—	1149	1287
	1	— (—)	1209 (6.2)		950 (26.3)	1294 (-0.3)
	5	— (—)	1009 (21.7)	989 (23.3)	905 (29.8)	1212 (6.0)
脳 (U/kg)	0	2048	—	—	2014	2213
	1	— (—)	2150 (-5.0)		2145 (-4.7)	2275 (-11.1)
	5	— (—)	2092 (-2.1)	2188 (-6.8)	2034 (0.7)	2348 (-14.6)

上段は活性値、下段は対照群の0時間測定値に対する低下率(%)を示す。

1 mg/kg 及び 5 mg/kg 投与群の血漿中コリンエステラーゼ活性は、初期値と比較して、168 時間以降のいずれの測定時点でも軽度に低下していたが、投与後 672 時間 (28 日) の無処理対照群における測定値より幾分高いことから、両群における血漿中コリンエステラーゼ活性は、168 時間には回復していたと考えられる。

赤血球中コリンエステラーゼ活性は、1 mg/kg 及び 5 mg/kg とも、投与後 336 時間 (14 日) までに軽度の低下がみられたが、672 時間後 (28 日) には、対照群と同等の値に回復した。

脳中コリンエステラーゼ活性は、1 mg/kg 及び 5 mg/kg とも、投与後 672 時間 (28 日) には軽度の低下が認められているが、活性値は、同時に検査した無処理対照群と同等であり、168 時～336 時間の測定値は 672 時間の測定値より低下率が低いことから、脳中コリンエステラーゼ活性は、投与後 168 時間にはすでに回復していたと考えられる。

次に、5 mg/kg の被験物質を 14 日間反復経口投与後 2016 時間 (84 日) までのコリンエステラーゼ活性の推移を下表に示す。

試料	投与量 (mg/kg)	投与後時間							
		12	24	72	168	336	504	1008	2016
血漿 (U/l)	0	543	—	—	—	—	—	—	389 (28.4)
	5	235 (56.8)	283 (47.9)	399 (26.5)	434 (20.2)	409 (24.7)	447 (17.7)	398 (26.7)	450 (25.6)
赤血球 (U/kg)	0	1460	—	—	—	—	—	—	1286 (11.9)
	5	266 (81.8)	172 (88.2)	351 (76.0)	588 (59.7)	593 (59.4)	708 (51.5)	960 (34.3)	1087 (25.6)
脳 (U/kg)	0	2178	—	—	—	—	—	—	2431 (-11.6)
	5	1569 (28.0)	1666 (23.5)	1768 (18.8)	2070 (5.0)	2167 (0.5)	2183 (-0.2)	2480 (-13.9)	2577 (-18.3)

上段は活性値、下段は対照群の0時間測定値に対する低下率(%)を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本試験における血漿中コリンエステラーゼ活性は、最終投与の 12 時間後が最も低く、以降 72 時間まで活性値の増加がみられたが、その後 2016 時間まで活性値が初期値と同等まで回復することはなかった。しかし、2016 時間に検査した無処理動物の活性値よりも高いことから、同群の血漿中コリンエステラーゼ活性は、72 時間には十分回復していると考えられる。

赤血球中コリンエステラーゼ活性は、最終投与後 12 時間には対照群に対して 81.8%の低下率を示し、24 時間後には更に低下率 88.2%まで著しく低下した。以降、順調な回復が認められたが、2016 時間後でも、対照群と同等な活性値には至らなかった。しかし、2016 時間の対照群の活性値と比較した場合の低下率は 15.5%（申請者の計算値）で、正常値に回復したと考えられる。

脳中コリンエステラーゼ活性は、採集投与後 12 時間が最も低く、以降、徐々に回復して、168～336 時間には、対照群と同等の活性値となった。

以上の結果から、イミシアホスの経口投与によって誘発されたラットにおけるコリンエステラーゼ活性の低下は、時間と共に回復することが示唆された。血漿及び脳中コリンエステラーゼ活性の回復は比較的速く、赤血球中コリンエステラーゼ活性の回復は遅れる傾向がみられたが、これは、赤血球の産生から崩壊の周期が関連していると考えられる。