

マウスを用いた 4 週間亜急性毒性試験および 4 週間回復試験

(毒性資料 No. 13)

試験機関： 聖マリアンナ医大第二病理学教室
日本特殊農薬製造株式会社 農薬研究所
報告書作成年月日： 1981 年 6 月 5 日

検体の純度：

試験動物： ICR 系雌雄マウス（試験開始時 5 週令）、1 群雌雄各 20 匹

試験期間： 4 週間+4 週間回復（1980 年 2 月 27 日～1980 年 4 月 22 日）

試験方法：

検体を 0（対照群）、300、1000、3000、10000ppm となるように、CRF-1 粉末飼料に添加した。なお、担体としてクレイ（最高 3%）を使用した。各濃度の飼料を雌雄各 20 匹に 4 週間摂食させ、その後雌雄各 10 匹は屠殺し（主群）、残りの動物には全投与群とも基礎飼料で 4 週間飼育し（副群）、検体起因の所見の回復性を検討した。動物は 1 ケージ 5 匹で群飼育した。

試験項目および試験結果：

1) 一般観察および死亡例

すべての動物について中毒症状と行動の変化を毎日観察した。動物の外観、行動には検体投与群と対照群との間に差異は認めなかった。死亡例は認めなかった。

2) 体重

体重は週 1 回測定した。

体重には各検体投与群とも対照群と比較して検体の影響は認められなかった。

3) 飼料摂取量

飼料摂取量は週 3 回測定した。

各週毎の飼料摂取量および食餌効率には各投与群と対照群とで明らかな差は認められなかった。

4) 検体摂取量

試験期間中の平均検体摂取量（mg/kg/日）を下記に示す。

投与量 (ppm)	主群	
	雄	雌
0	—	—
300	39.4	53.0
1000	124.5	169.2
3000	391.9	537.6
10000	1376.4	1655.0

5) 血液学的検査

検体投与終了時と回復期間終了時にそれぞれ各群雌雄 10 匹で心穿刺により赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球百分比、網状赤血球数、血小板について検査した。また、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) を算出した。

性別	雄					雌					
	投与量(ppm)	0	300	1000	3000	10000	0	300	1000	3000	10000
ヘマトクリット						↓94					
ヘモグロビン					↑108						
赤血球						↓156					
網状赤血球		↑152	↑182	↑157	↑296				↑166	↑200	
白血球					↑156				↑156	↑165	
血小板									↓85	↓84	
MCH			↑105	↑110	↑112						
MCHC			↑105	↑110	↑111						

↑ ↓:p<0.05, ↑ ↓:p<0.01 (Student の t 検定)

10000ppm 群雄でヘマトクリット値、赤血球数の減少、網状赤血球数の増加が、3000ppm 以上の雌で網状赤血球数の増加が認められ検体の影響と考えられた。検体に起因したこれらの変化はいずれも軽度であり、その回復性は比較的速やかであった。

300ppm、1000ppm、3000ppm 群雄でも網状赤血球数が増加したが、用量との関連が明確でなく検体の影響とは断定されなかった。また、雌雄の高用量群における白血球数の増加はその程度も軽度であり、白血球百分率にも変化が認められなかったため偶発的な所見と考えられた。血小板数の減少が 3000ppm 以上の雌で認められたが明確な用量相関性が認められずまた、雄では変動が認められないことから偶発的な変動と判断した。

6) 血液生化学的検査

検体投与終了時と回復期間終了時にそれぞれ各群雌雄各 10 匹で心穿刺により血漿を用い、GOT、総コレステロール、総蛋白質、尿素窒素、総ビリルビンを測定した。

主群の 3000ppm と 10000ppm 群の雄と副群の 1000ppm 以上の群の雄で総コレステロールの増加や副群の 3000ppm と 10000ppm 群の雌でビリルビンの低下等も含め、対照群と有意な変動が散見されているが、いずれも明らかな用量相関性はなく、検体の影響とは考えられない。

7) 剖検所見

投与終了時と回復期間終了時に全生存動物について剖検を行なった。

性別	雄					雌					
	0	300	1000	3000	10000	0	300	1000	3000	10000	
脾臓腫大	主群	0	0	2	0	10	0	0	0	10	10
	副群	0	0	0	0	1	0	2	0	1	4
脾臓暗赤色	主群	0	0	0	10	10	0	4	10	10	10
	副群	0	0	0	1	2	0	0	1	1	0

数値は 10 匹の動物中の所見の認められた動物数

主群の雄では脾臓の腫大が 1000ppm 以上で、暗赤色化が 3000ppm 以上でみられた。一方雌では脾臓の腫大が 3000ppm 以上、暗赤色化が 300ppm 以上で認められた。尚、副群の結果から、これらの変化からの回復は比較的速やかであった。

8) 臓器重量

検体投与終了時と回復期間終了時に屠殺した動物からの脳、顎下腺、胸腺、心、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣を摘出し、その重量を測定した。また体重を用いて体重比重量を算出した。

主群で脾臓重量の増加が 10000ppm 群の雄と 3000ppm 以上の雌で認められた。副群の結果からこの変化の回復性が認められた。

卵巣重量の減少が 10000ppm の雌で認められたが、関連する病理組織学的所見が認められていないことから、検体の影響とは考えられなかった。また肝臓、肺、腎臓等に有意な変動が認められたが、用量相関性がみられなかったり、関連のある所見が認められなかったことから、検体に起因した変化ではないものと考えられた。

9) 病理組織学的検査

検体投与終了時と回復期間終了時に屠殺した動物からの下垂体、甲状腺、胸腺、心、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膵、腸管（十二指腸、空腸、回腸）、腸間膜リンパ節、気管および骨髄について病理組織学的に検索した。

主群では脾臓に色素沈着、髄外造血、うっ血が 3000ppm と 10000ppm 群の雄と 1000ppm 以上の群の雌で、髄外造血が 1000ppm 以上の群の雄で用量相関的に認められた。骨髄には赤血球産生能亢進が雌雄とも 1000ppm 以上で用量相関的に認められた。

副群では脾臓の色素沈着が 3000ppm と 10000ppm 群の雌雄でなお認められた。主群でみられたその他の所見は回復していた。

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

以上の結果から 1000ppm 以上の群の雄と 300ppm 以上の群の雌で検体による貧血所見とこれに伴う病理学的変化が脾臓等で認められていることから、本試験による無毒性量は雄では 300ppm (39.4mg/kg/日)、雌では 300ppm 未満 (<53.0mg/kg/日)と判断された。

マウスを用いた3ヶ月間亜急性毒性試験

(毒性資料 No. 14)

試験機関： 聖マリアンナ医大第二病理学教室
日本特殊農薬製造株式会社 農薬研究所
報告書作成年月日： 1981年5月10日

検体の純度：

試験動物： ICR系雌雄マウス（試験開始時5週令）、1群雌雄25匹

試験期間： 3ヶ月間（1980年7月～1980年10月）

試験方法：

検体を0、50、200、800および3200ppmとなるように、粉末飼料に添加した。なお、担体としてクレー（最高0.18%）を使用した。検体投与期間は3ヶ月間とした。各群雌雄25匹とし、試験開始1、2ヶ月後にうち各群雌雄各5匹を途中検査群として供した。

試験項目および試験結果：

1) 一般観察および死亡例

すべての動物について中毒症状と行動の変化を毎日観察した。雌雄ともにすべての投与群で中毒症状、行動の異常は認められなかった。また、動物の死亡例も認められなかった。

2) 体重

体重は週に1回測定した。

雌雄に各検体投与群とも対照群に比して有意な変動は認められたが、用量相関性は認められなかった。

3) 飼料摂取量

飼料摂取量は週に3回測定した。

雌雄とも週ごとの飼料摂取量および食餌効率に対照群との明らかな差は認められなかった。

4) 検体摂取量

各検体投与群の試験期間中の平均検体摂取量（mg/kg/日）を以下に示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	—	—
50	6.25	8.13
200	25.0	31.8
800	98.0	123.6
3200	405.5	552.8

5) 血液学的検査

検体投与後 1、2 ヶ月目に雌雄各 5 匹で、投与期間終了時に雌雄各 15 匹でいずれも心穿刺により採血し、赤血球数 (RBC)、白血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、白血球百分比 (終了時検査のみ)、赤血球形態 (終了時検査のみ)、網状赤血球数 (RETICUL)、メトヘモグロビン量 (MetHb) について検査した。また、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) を算出した。

性別	雄					雌				
	0	50	200	800	3200	0	50	200	800	3200
投与 1 ヶ月後										
ヘマトクリット					↓84			↓94		↓88
ヘモグロビン					↓96					
赤血球				↓92	↓81			↓93		↓87
網状赤血球			↓69	↓77	↑185				↑264	↑227
メトヘモグロビン				↑294	↑922					↑671
MCH		↑104		↑105	↑117			↑108		↑117
MCHC				↑105	↑113			↑107	↑104	↑116
投与 2 ヶ月後										
ヘマトクリット									↓92	
赤血球									↓93	
網状赤血球				↑135	↑176			↑143	↑336	↑493
メトヘモグロビン				↑230	↑425					↑95
MCH									↑106	↑110
MCHC										
投与 3 ヶ月後										
白血球					↑137					↑152
網状赤血球				↓81					↑150	↑150
メトヘモグロビン		↑214		↑171	↑507				↑213	↑520
MCH		↑103		↑102	↑109		↑104			↑106
MCHC		↑1.3		↑103	↑109		↑105		↑103	↑107
赤血球形態*										
B	15	15	15	15	15	14	15	15	15	15
R								1	1	6

↑ ↓: $p < 0.05$, ↑ ↓: $p < 0.01$ (Student の t 検定)

B: 塩基性斑点 R: 幼若赤血球 *: 観察動物数は 15 匹 (対照群雌のみ 14 匹)

1 ヶ月目検査で赤血球数には 800ppm と 3200ppm 群の雄と 3200ppm 群の雌で、ヘマトクリット値には 3200ppm 群の雌雄で、ヘモグロビン量には 3200ppm 群の雄で有意な減少がみられ、網状赤血球数については 3200ppm 群の雌雄で有意な増加が認められた。メトヘモグロビン量については 2 回の途中検査および終了時検査で 800ppm と 3200ppm 群の雌雄で (2 ヶ月目には 200ppm 群の雌も) 認められた。途中検査での 3200ppm 群の MCH、MCHC の有意な増加は検体投与に起因するものであった。これら、赤血球に対する検体の作用は 1 ヶ月目が最も強く、以後その作用は軽減傾向にあった。また、3 ヶ月間での赤血球形態像から 3200ppm 群雌で幼若赤血球の出現が高頻度にみられた。

他にも統計学的に有意な変動が散見されたが、用量との関連性がない、生理的な変動の範囲内の軽度な変動である等の理由により偶発的な変動と判断した。

6) 血液生化学的検査

試験終了時に雌雄各 15 匹で心穿刺により採血し、血漿を用い、GPT、総蛋白質、グルコース、尿素窒素(BUN)を測定した。

雌雄とも統計学的に有意な変動が散見されたが、いずれも用量相関性は認められず、検体に起因した変化とは考えられなかった。

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	50	200	800	3200	50	200	800	3200
GPT					↓79			
BUN	↓85		↓90				↓77	
総蛋白質	↑116	↑116	↑111	↑116	↑123	↑121	↑124	
血糖							↑183	

↑ ↓ ; p < 0.05、↑ ↓ ; p < 0.01 (Student's T test)

7) 臓器重量

試験終了時に雌雄各 15 匹を屠殺して脳、顎下腺、胸腺、心、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣を摘出し、その重量を測定した。また体重を用いて体重比重量を算出した。

脾臓重量の増加が 3200ppm 群の雌雄で、肝臓重量の増加が 800ppm 群の雌と 3200ppm 群の雌雄で認められた。

その他、雌雄とも臓器重量の有意な変動が散見されたが、用量相関性は認められず、検体に起因したものではなかった。

性	雄				雌			
用量 (ppm)	50	200	800	3200	50	200	800	3200
顎下腺	実重量					↑		↑
	比重量					↑		↑
胸腺	実重量		↓					
	比重量	↓						
心臓	実重量	↓					↓	
	比重量						↑	
肝臓	実重量	↓					↑	↑
	比重量		↑		↑		↑	↑
腎臓	実重量		↑		↑			↑
	比重量			↑				↑
副腎	実重量	↑				↑		
	比重量	↑				↑		
脾臓	実重量				↑			↑
	比重量				↑			↑

↑ ↓ ; p < 0.05、↑ ↓ ; p < 0.01 (Student's T test)

8) 剖検所見

投与終了時に主群の全生存動物について剖検を行なった。

脾臓の腫大が 3200ppm 群の雌雄で脾臓の暗赤色化が 200ppm 以上の

群の雌雄で全例に認められた。また、肝臓では 3200ppm 群の雌雄全例で黄褐色化がみられた。

性別	雄					雌				
	0	50	200	800	3200	0	50	200	800	3200
投与量 (ppm)	0	50	200	800	3200	0	50	200	800	3200
検査動物数	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
脾臓腫大	0	0	0	0	15	1	0	0	0	15
脾臓暗赤色化	0	0	15	15	15	0	0	15	15	15
肝臓黄褐色化	0	0	0	0	15	0	1	0	0	15

9) 病理組織学的検査

試験終了時に雌雄各 15 匹を屠殺して脳、下垂体、甲状腺、顎下腺、胸腺、心、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膵、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、気管、精巣/卵巣、前立腺、膀胱、大腿筋、坐骨神経および大腿骨髄について病理組織学的に検索した。

800ppm 以上の雌雄で脾臓のうっ血、色素沈着が、3200ppm 群雌雄で肝臓の色素沈着と骨髄の赤血球産生能亢進が認められた。

その他の心、肝臓、腎臓、胃で組織学的変化が認められたが、検体に起因するものではなかった。

性別	雄					雌				
	0	50	200	800	3200	0	50	200	800	3200
投与量 (ppm)	0	50	200	800	3200	0	50	200	800	3200
検査動物数	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
肝臓 色素沈着	0	0	0	0	5	0	0	0	0	8
脾臓 うっ血	0	0	0	2	15	1	0	1	3	15
脾臓 色素沈着	0	1	1	4	15	5	4	7	14	15
骨髄 赤血球産生能亢進	0	0	0	0	2	0	0	0	0	5

以上の結果から 200ppm 以上の群の雌雄で検体に起因する貧血所見とこれに伴う病理学的変化が脾臓等に認められたことから、本試験による無毒性量は雌雄とも 50ppm (雄 6.25mg/kg/日、雌 8.13mg/kg/日) と判断される。

マウスを用いた6ヶ月間亜慢性毒性試験

(毒性資料 No. 15)

試験機関：日本特殊農薬製造株式会社 農薬研究所

報告書作成年月日：1983年5月27日

検体の純度：

試験動物：ICR系雌雄マウス（試験開始時5週令）、1群雌雄15匹

試験期間：6ヶ月（1980年7月～1981年1月）

試験方法：

検体を0（対照群）、50、200、800および3200ppmとなるように、CRF-1粉末飼料に添加した。なお、担体としてクレー（最高0.18%）を使用した。検体投与期間は6ヶ月間とした。1群雌雄各10匹とし、メトヘモグロビン測定用として一群雌雄各5匹を追加した。動物は1ケージあたり5匹の群飼育とした。

試験項目および試験結果：

1) 一般観察および死亡例

すべての動物について中毒症状と行動の変化を毎日観察した。各投与群の雌雄には対照群に比し、外観や行動に特記すべき変化は認められなかった。

・死亡率（切迫屠殺動物を含む）

投与量 (ppm)	雄	雌
0	2/10	0/10
50	0/10	0/10
200	0/10	0/10
800	0/10	0/10
3200	1/10	0/10

動物の死亡は全期間を通して対照群で2匹、3200ppm群では1匹であったが、これらはいずれも Fighting 等の偶発的な原因によるものであった。

2) 体重

動物の体重は毎週1回測定した。

各投与群の雌雄とも対照群に比し特記すべき体重の変動は認められなかった。

3) 飼料摂取量

飼料摂取量は毎週3回測定した。

飼料摂取量、食餌効率に検体に起因した変動はみられなかった。

4) 検体摂取量

各検体投与群の試験期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日) を以下に

示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	—	—
50	5.52	6.87
200	23.2	27.6
800	83.3	115.3
3200	352.8	468.2

5) 血液学的検査

投与終了時に心穿刺により採血し、赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、白血球百分比、網状赤血球数 (RETICUL)、メトヘモグロビン量 (MetHb)、赤血球形態について検査した。平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) を算出した。

性別	雄					雌					
	投与量 (ppm)	0	50	200	800	3200	50	0	200	800	3200
ヘマトクリット値					↓90						
ヘモグロビン											↑106
赤血球数					↓89						
網状赤血球					↑135				↓80		↑155
メトヘモグロビン					↑320				↑356		↑204
MCH					↑108						↑108
MCV		↑101			↑101						
MCHC					↑107				↑102		↑107
赤血球形態											
塩基性斑点	3/8				9/9	8/9				10/10	10/10
網状幼若赤血球					9/9						10/10
奇形赤血球					9/9						10/10

↑ ↓; p<0.05, ↑ ↓; p<0.01 (Student's T test)

A/B; A:陽性を示した動物数, B:検査動物数

3200ppm 群の雌雄でメトヘモグロビン量と網状赤血球数の増加が、3200ppm 群の雄で赤血球数とヘマトクリット値の有意な減少が認められた。さらに 800ppm の雌でメトヘモグロビン量の増加が認められた。また、これらの変動に合わせて 3200ppm 群雄および 800ppm 以上の雌で MCH、MCV ないし MCHC の値が変動した。

赤血球形態では 800ppm 群の雄と 3200ppm 群の雌雄で塩基性斑点がみられた。また、3200ppm 群の雌雄で、網状幼若赤血球と奇形赤血球が

みられた。

その他の項目では特記すべき変動は認められなかった。

6) 血液生化学的検査

試験終了時に雌雄各 10 匹で心穿刺により採血し、血漿を用い、GPT、総蛋白質、グルコース、尿素窒素 (BUN) を測定した。

雌で GPT、グルコースに統計学的有意な変動が認められたが、用量との関連性は認められず偶発的な変動と判断された。

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	50	200	800	3200	50	200	800	3200
GPT							↑150	▲175	
血糖						↑124			↑122

↑↓; p<0.05、▲◆; p<0.01 (Student's T test)

7) 剖検所見

投与終了時に全生存動物について剖検を行なった。

性別	雄					雌				
	投与量 (ppm)	0	50	200	800	3200	0	50	200	800
脾臓暗赤色化	0	0	0	10	9	0	0	3	10	10
脾臓腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

数値は 10 匹 (対照群の雄は 8 匹、3200ppm 群の雄は 9 匹) の動物中の所見のみられた動物数

脾臓の腫大は 3200ppm 群の雌のみに、脾臓の暗赤色化は 800ppm と 3200ppm 群の雄で、また 200ppm 以上の群の雌で認められた。

8) 臓器重量

試験終了時の全生存動物を屠殺し、脳、顎下腺、胸腺、心、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣を摘出し、その重量を測定した。また体重を用いて体重比重量を算出した。

雌雄とも各臓器重量において特記すべき変動は認められなかった。

9) 病理組織学的検査

試験終了時の全生存動物を屠殺し、肝臓、腎臓、脾臓および大腿骨骨髓について病理組織学的に検索した。

脾臓の色素沈着を 800ppm 以上の群の雄と、200ppm 以上の群の雌で認めた。800ppm と 3200ppm の雌で脾臓のうっ血と髓外造血を認めた。骨髓では 800ppm 以上の群の雌雄で赤血球産生能亢進が、肝臓と腎臓では 800ppm 以上の群の雌雄で色素沈着が認められた。

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

性別	雄					雌				
	0	50	200	800	3200	0	50	200	800	3200
投与量 (ppm)										
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓										
色素沈着	0	0	0	5	10	0	0	1	3	10
腎臓										
色素沈着	0	0	0	5	6	0	0	0	6	9
脾臓										
うっ血	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
色素沈着	0	0	0	2	10	1	2	5	7	10
髓外造血	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4
骨髓										
赤血球産生能亢進	0	0	0	5	9	0	0	0	3	8

以上の結果から 800ppm と 3200ppm 群の雄と 200ppm 以上の群の雌で検体による貧血所見とこれに伴う病理学的変化が脾臓等で認められたことから、本試験による無毒性量は雄 200ppm (23.2mg/kg/日)、雌 50ppm (6.87mg/kg/日) と判断される。

イヌの経口投与による 13 週間亜急性毒性試験

(毒性資料 No. 16)

試験機関： バイエル社 毒性研究所 (西独)

報告書作成年月日： 1984 年 5 月 3 日

検体の純度：

試験動物： ビーグル犬雌雄 (試験開始時 22~26 週令)、1 群雌雄各 6 匹

試験期間： 13 週間 (1982 年 4 月~1982 年 7 月)

試験方法：

検体を 0 (対照群)、25、250、2500ppm となるように飼料に添加した。飼料は毎日一定量 (1~4 週は 300g、5~11 週は 350g、12 と 13 週は 380g) を与え、13 週間飼育した。試験開始前 (2 週前)、投与開始後 4、7、13 週に眼検査、反射検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を実施した。

試験項目および試験結果：

1) 一般観察および死亡例

すべての動物について中毒症状、行動の変化等を毎日数回観察した。動物の外観と行動には検体投与群と対照群との間に差異は認められなかった。また、動物の死亡は認められなかった。

2) 体重

体重は週 1 回測定した。

いずれの投与群の雌雄とも対照群に比較して体重には検体の影響は認められなかった。

3) 眼検査

試験期間中定期的に眼検査を実施したが、透過媒体 (角膜、前眼房、レンズ、硝子体) や眼底には投与に起因する変化は認められなかった。

4) 反射、体温、脈拍

試験期間中定期的に反射 (瞳孔反射、角膜反射、膝蓋腱反射、屈伸正向反射) を検査したが、検体に起因する変化は認められなかった。

5) 飼料摂取量

飼料摂取量は毎日観察したが、検体の影響は認められなかった。

6) 検体摂取量

各投与群の試験期間中の検体摂取量を下記に示した。

投与量 (ppm)	mg/kg/日	
	雄	雌
0	—	—
25	1.00	1.16
250	9.88	10.3
2500	97.5	108

7) 血液学的検査

投与期間中定期的に頸動脈から採血し、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、白血球百分比、網状赤血球数、トロンボプラスチン時間、血沈、ハインツ小体について検査した。平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) を算出した。

2500ppm 群雌雄で血小板、網状赤血球およびハインツ小体が増加した。同群雌では赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリットの低下およびそれに伴う MCV ならびに MCHC の変動が認められた。(申請者：雌雄別の有意差検定に基づく)

250ppm 群雌で赤血球数の減少が認められたが、同様の変動は投与前の検査時にも認められており検体投与の影響とは判断されなかった。

白血球百分比、血沈、トロンボプラスチン時間には検体に起因した変化は認められなかった。

検査週	性 用量 (ppm)	雄			雌		
		25	250	2500	25	250	2500
-2 週	赤血球					↓91	
4 週	赤血球					↓91	↓78
	ヘモグロビン						↓80
	ヘマトクリット						↓84
	MCV						↑108
	MCHC			↓94			↓96
	血小板			↑154			↑176
	網状赤血球			↑625			↑547
	ハインツ小体			↑4510			↑14700
7 週	赤血球						↓86
	ヘモグロビン						↓85
	ヘマトクリット						
	MCV						↑106
	MCHC						↓93
	血小板			↑144			↑181
	網状赤血球			↑573			↑416
	ハインツ小体			↑3982			↑10817
13 週	赤血球						↓82
	ヘモグロビン						↓85
	ヘマトクリット						↓88
	MCV			↑105			↑107
	MCHC			↓96			↓96
	血小板			↑161			↑173
	網状赤血球			↑600			↑650
	ハインツ小体			↑25250			↑13940

↑ ↓; p < 0.05、↑ ↓; p < 0.01 (Dunnett 検定またはノンパラメトリック Dunnett 検定)

8) 血液生化学的検査

試験期間中定期的に頸動脈から採血し、GOT、GPT、ALP、GLDH、総蛋白質、総コレステロール、血糖、尿素窒素、クレアチニン、ビリルビン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素、メトヘモグロビン、蛋白分画を測定した。

いずれの検査項目においても、検体に起因する変動は認められなかった。

9) 尿検査

試験期間中定期的に、尿量、尿比重、pH、蛋白質、糖、ケトン体、潜血、ビリルビン、尿沈渣を検査した。

蛋白質、糖、ビリルビン、ケトン体はいずれの検査でも陰性であった。潜血の陽性が散発的に出現したが、再試験では陰性であった。尿量、尿比重、pH には検体に起因した変化は認められなかった。尿沈渣の検査においても質的にも量的にも検体に起因した変化は認められなかった。

10) 剖検所見

投与終了時に全動物について剖検を行なった。

2500ppm 群の雌雄で骨髄の暗赤色～暗褐色の頻度が増加した。

11) 臓器重量

試験終了時に全生存動物を屠殺し、脳、甲状腺、心、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、前立腺、膵、精巣/卵巣を摘出し、その重量を測定した。また体重を用いて体重比重量を算出した。

2500ppm 群雄の肝臓の実重量および比重量が有意に増加した。また同群雌雄で脾臓重量の増加傾向が認められた。(申請者：雌雄別の有意差検定に基づく)

性		雄			雌		
用量 (ppm)		25	250	2500	25	250	2500
肝臓	実重量			↑119			
	比重量			↑111			
脾臓	実重量			(154)			(136)
	比重量			(146)			(136)

↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01 (Dunnnett 検定)

12) 病理組織学的検査

試験終了時に全生存動物を屠殺し、脳、下垂体、甲状腺、耳下腺、胸腺、心、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膵、食道、胃、腸、胆のう、リンパ節、精巣/卵巣、前立腺/子宮、精巣上体、膀胱、乳腺、骨格筋、大動脈、眼球、視神経、坐骨神経および骨髄(胸骨、大腿骨)について病理組織学的に検索した。

2500ppm 群雌雄で肝臓の色素沈着、骨髄の赤色髄および鉄沈着の増加、同群雌で脾臓と腎臓で色素沈着が軽度増加し検体の影響と考えられた。鉄染色により肝臓、脾臓および腎臓にみられた色素はヘモジデリンを含むことが確認された。

他の変動は偶発的变化と判断された。

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

表. 主な病理組織学的所見

	性	雄				雌			
		0	25	250	2500	0	25	250	2500
	用量(ppm)	0	25	250	2500	0	25	250	2500
	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
肝臓	色素沈着				3			1	5
肺	細胞浸潤								4
脾臓	色素沈着							1	2
腎臓	細胞浸潤				1				
	色素沈着								2
骨髓	鉄沈着			1	3				4
	赤色髄				6				4

以上の結果から 2500ppm 群で検体による貧血所見とこれに伴う病理学的変化が脾臓等で認められたことから、本試験による無毒性量は雌雄とも 250ppm (雄 9.88mg/kg/日、雌 10.3mg/kg/日) と判断される。

(7) 21 日間反復経皮投与毒性

ウサギでの亜急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 9)

試験機関： バイエル社 毒性研究所 (西独)

報告書作成年月日： 1982 年 3 月 29 日

検体の純度：

試験動物： ニュージーランドホワイト系雌雄ウサギ、1 群雌雄 6 匹

試験期間： 3 週間 (1981 年 7 月)

試験方法：

本検体を蒸留水とクレモホアで用時調製し、投与容量は 0.5ml/kg とし、投与量は 0、50、250mg/kg/日とした。一群雌雄各 6 匹のウサギを用い、そのうち各群雌雄各 3 匹を紙やすりによる損傷皮膚群も設定した。検体の投与は皮膚に塗布し、6 時間放置後、水と石けんで洗浄した。1 週間に 5 回、3 週間投与した。

試験項目および試験結果：

1) 一般観察および死亡率

すべての動物は試験期間中正常と同様の外観と行動を示した。また死亡例は認められなかった。

2) 体重

体重は週 1 回測定した。

各群の平均体重の比較で著しい差はみられなかった。しかし、すべての群で投与期間中の処置や拘束や 6 時間の絶食、絶水に起因すると思われるわずかな体重の減少がみられた。

高投与群 (250mg/kg/日) の雌と対照群の雄の損傷皮膚群で皮膚の前処理に起因する軽度の体重低下がみられた。

3) 皮膚の局所所見

投与部位の皮膚は投与開始前と 6 時間暴露終了時に炎症を観察した。

正常皮膚動物群には検体に起因する発赤や皮膚肥厚は認められなかった。損傷皮膚動物群には損傷による発赤と肥厚が皮膚の炎症症状としてみられ、検体投与群と対照群との間に本質的な差はみられなかった。

4) 血液学的検査

投与開始前と投与終了時に耳静脈から採血し、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、白血球百分比について測定した。平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度を算出した。

赤血球像は正常で、投与と関連する変動は認められなかった。白血球百分比でのリンパ球数と偽好酸球性の顆粒球の変動は投与前でもみられた正常からの変動によるものであった。

5) 血液生化学的検査

投与開始前と試験終了時に耳静脈から採血し、その血清を用いて GOT、GPT、ALP、血糖、尿素窒素、クレアチニンを測定した。

いずれの項目においても検体投与群と対照群と同等な数値であったので、検体に起因する差は認められなかった。

6) 尿検査

投与開始前と投与終了時に夜間の 16 時間の蓄尿を用いて、pH、蛋白質、糖、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣を検査した。

正常値から逸脱した所見も、投与群に特異な差もみられなかった。

7) 剖検所見

投与終了時に全動物について剖検を行なった。

剖検では投与群に特異性のある変化はみられなかった。

8) 臓器重量

甲状腺、心、肺、肝、脾、腎、副腎、精巣／卵巣を摘出し、その重量を測定した。また体重を用いて体重比重量を算出した。

実重量と体重比重量は正常値に相当し、投与群に特異的な変化も用量相関性もみられなかった。

9) 病理組織学的検査

対照群と 250mg/kg 群の動物の甲状腺、心、肺、肝、腎、脾、副腎、精巣／卵巣、精巣上体／子宮、無処理部と塗布部の背部皮膚について病理組織学的に検索した。

検体に起因すると思われる障害は認められなかった。コンベンショナルな飼育により主に腎、心、肝、肺に寄生虫性炎症（囊胞仔虫、コクシジウム）の所見がみられた。

以上の結果から本試験による最大無作用量は 250mg (250mg/kg/日) と判断される。

(8) ラットを用いた反復経口投与神経毒性試験 (追加毒性資料 7)

試験機関 Bayer HealthCare AG (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年 2005 年

検体純度 :

供試動物 : HsdCpb:WU 系 Wistar ラット
1 群雌雄各 12 匹
投与時週齢 ; 雌雄 7 週、
投与時体重 ; 雄 154-215g、雌 109-138g

投与期間 : 13 週間

投与方法 :

検体を 0、100、550 および 3000ppm の濃度で飼料に混和し自由に摂取させた。

用量設定根拠 :

本試験の用量はラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験、90 日間反復経口投与毒性試験、慢性毒性・発がん性試験および繁殖試験の結果を参考に選択した。(繁殖試験以外は Wistar ラットを使用した。各試験における最高用量はそれぞれ 10000ppm、3200ppm、1000ppm および 1000ppm であった。) これらの試験において投与関連性の影響として赤血球および造血系への影響が 100ppm 以上で認められ、メトヘモグロビン症および貧血が認められた。また造血系の変化の 2 次的影響として骨髄、肝臓および脾臓への影響が確認された。これらの結果に基づき、本試験の用量を雌雄とも 0、100、550 および 3000ppm とした。

観察・検査項目および結果 :

臨床症状 ;

ケージサイドからの観察を毎日少なくとも 2 回 (週末および休日は 1 日 1 回) 実施し、死亡および瀕死に関連する臨床症状を観測した。オープンフィールドでの観察を含む詳細な観察を週 1 回実施した。

何れの用量群においても雌雄とも投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。試験期間中に死亡は認められなかった。

体重 ; 体重は毎週測定した。

何れの用量においても、体重および体重増加量に対する影響は認められなかった。

摂餌量・摂水量；

摂餌量および摂水量は動物毎に毎週測定した。

摂餌量には何れの用量においても投与の影響は認められなかった。

3000ppm 群雌雄で体重 1kg 当たりの累積摂水量が対照群に較べ僅かに増加した。

検体摂取量：

試験期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		100	550	3000
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.70	67.2	210
	雌	9.62	53.8	276

FOB； 試験に供試された全ての生存動物について 5 回一投与 1 週間前、2、4、8 および 13 週目に実施した。FOB 検査室において下記の項目を順番に観察した：

ホームケージでの観察 (HC)； 姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動、発声、その他

ハンドリング時の観察； ケージからの取り出し易さ、ハンドリングに対する反応、筋肉の状態、眼瞼閉鎖、瞳孔径、瞳孔反射、流涙、流涎、鼻部排泄物、汚れ、その他

オープンフィールドでの観察 (OF)； 立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常行動、歩行異常、発声、覚醒状態、立ち上がり動作、その他、排便、排尿

反射/生理的観察 (RF/PO)； 対接近反射、接触反射、聴覚反射、痛覚反射、立ち直り反射、握力、着地時開脚、体重、体温

何れの用量群とも投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。対照群を含む全群でいくつかの所見が認められたが偶発的であり投与の影響とは考えられなかった

自発運動量；

FOB 検査と同日に、FOB 検査終了後に、8 の字迷路を用いて自発運動量 (motor activity) および移動運動量 (locomotor activity) を 1 セッション 60 分間、各セッション中 10 分毎のインターバルで検査した。(移動運動量は、自発運動量の計測値から同じビームを連続して遮断したカウントを除いた数値として計測した。)

何れの用量とも投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

セッション中の自発運動量および移動運動量

用量 (ppm)	雄					雌				
	投与前	2週	4週	8週	13週	投与前	2週	4週	8週	13週
自発運動量										
100	120	111	100	93	100	125	96	107	111	120
550	130	110	95	102	96	143	106	121	113	119
3000	028	113	103	111	129	139	98	108	112	105
移動運動量										
100	124	107	110	96	119	121	109	114	117	123
550	131	99	93	94	103	146	123	106	112	119
3000	130	114	106	101	130	135	108	97	108	92

単位は対照群に対する変動率(%)

統計学的有意差なし ($p \leq 0.05$, ANOVA)

眼科学的検査：

投与前に全動物について、最終屠殺前（12 週目）に対照群および高用量群動物について眼科学的検査を実施した。

最終屠殺前検査において投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理所見：

最終投与終了後に全動物について剖検し、全臓器、体腔、切断面、開口部および外表の検査を実施した。

3000ppm および 550ppm 群雌雄に脾臓の腫大および変色が認められた。神経毒性の徴候は認められなかった。

組織採取および臓器重量：最終剖検時に各群雌雄各 6 匹ずつを、フェノバルビタールの腹腔内投与 (50mg/kg 体重) による深麻酔下、左心室よりリン酸緩衝亜硝酸ナトリウム、次いでリン酸緩衝 Universal fixative (1% グルタルアルデヒドおよび 3%ホルムアルデヒド) で灌流固定した。全脳並びに脊髄 (脊髄神経経路、頸部および腰部後根神経節を含む)、両眼 (視神経を含む)、ガッセル神経節、両側腓腹筋並びに末梢神経 (坐骨、脛骨、腓腹) を含む後肢、脾臓を取り出し、10%緩衝ホルマリンで固定した。脳および脾臓重量は、採取直後、固定液に浸漬する前に測定した。

3000ppm 群雌雄で脾臓の実重量および相対重量が対照群に比較して増加した。

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

性別		雄			雌		
用量 (ppm)		100	550	3000	100	550	3000
脾臓	実重量			↑148			↑136
	比重量			↑150			↑139

単位は対照群に対する変動率(%)

↑; p<0.05, ▲; p<0.01 (Dunnett's test)

組織病理検査：

対照群並びに高用量群の組織および灌流並びに非灌流動物の肉眼的病理所見の認められた全ての組織は以下の手順で更に処理し組織病理検査を実施した。

組織	切断方法	固定方法	染色法
脳			
嗅部	環状	パラフィン	H&E
大脳皮質	環状	パラフィン	H&E
淡蒼球尾状核被殻	環状	パラフィン	H&E
海馬	環状	パラフィン	H&E
視床	環状	パラフィン	H&E
視床下部	環状	パラフィン	H&E
中脳・中脳蓋			
小脳脚被蓋	環状	パラフィン	H&E
小脳	環状	パラフィン	H&E
延髄	環状	パラフィン	H&E
胸部	環状	パラフィン	H&E
眼/網膜/視神経 (両側)	横断面	パラフィン	H&E
脊髄：			
頸部	横断および縦断面	パラフィン	H&E
胸部	横断および縦断面	パラフィン	H&E
腰部	横断および縦断面	パラフィン	H&E
馬尾	横断および縦断面	パラフィン	H&E
脊髄神経根/後根神経節 (頸部および腰部、両側)	縦断面	GMA	Lee's
ガッセル神経節	縦断面	GMA	Lee's
末梢神経：			
座骨神経 (両側)	横断および縦断面	GMA	Lee's
脛骨神経 (両側)	縦断面	GMA	Lee's
腓腹神経 (両側)	縦断面	GMA	Lee's
腓腹筋 (両側)	横断面	パラフィン	H&E

投与に関連した骨格筋または神経組織の組織病理学的異常は認められなかった。

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

以上より、本試験では脾臓に対する影響（3000ppm 群雌雄における臓器重量の変化、3000ppm および 550ppm における腫大および変色）に基づき無毒性量は雌雄とも 100ppm（雄 6.70、雌 9.62mg/kg 体重/day）と設定された。

いずれの用量においても神経毒性の徴候は認められなかった。

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

(9) 28日間反復投与遅発性神経毒性

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

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

(10) 慢性毒性及び発癌性

ラットにおける 24 ヶ月間慢性毒性・発癌性試験

(毒性資料 No. 17)

試験機関： (財) 残留農薬研究所

報告書作成年月日： 1985 年 3 月

検体の純度：

試験動物： F344 系雌雄ラット (試験開始時 5 週令)、1 群雌雄各 80 匹

試験期間： 24 ヶ月間 (雄：1981 年 4 月 24 日～1983 年 4 月 25 日)

(雌：1981 年 4 月 30 日～1983 年 5 月 2 日)

試験方法：

検体を 0、10、100、1000ppm の濃度で最大 104 週間混餌投与した。

各群雌雄各 80 匹とし、投与開始 26、52、78 週後各群雌雄各 8 匹を中間屠殺して検査した。動物はケージあたり 5 匹の群飼育とした。飼料と水は自由に摂取させた。

用量設定根拠：なお、投与量は日本特殊農薬製造(株)で実施された毒性資料 No.10、11、

12 と残留農薬研究所で実施した予備試験 (1 ヶ月間) を参考にした。その結果 3000ppm 以上で脾臓の被膜の増生と腎臓の色素沈着の所見が認められたことから最高投与量 1000ppm とした。

試験項目および試験結果：

1) 一般観察および死亡例

試験期間中毎日症状を観察した。

検体投与に起因すると考えられる症状の発現は雌雄ともに認められなかった。

試験期間中の累積死亡動物数を以下に示す。(56 例中)

投与量 (ppm)	雄	雌
0	19	12
10	11	19
100	7	20
1000	14	13

全期間を通じ累積死亡率において投与群と対照群の間に差は認められなかった。

2) 体重

試験開始後 26 週までは毎週 1 回、以降は隔週に 1 回の頻度で体重を測定した。1000ppm と 100ppm 群の雌で軽度な体重の増加傾向を認めしたが、毒性学的に意義のある変動とは考えられなかった。雄では何れの投与群とも対照群に比べ一貫した変動は認められなかった。

3) 飼料摂取量および飲水量

飼料摂取量と飲水量は試験開始後 26 週まで 1 週間ごとに、26 週以降は 2 週間ごとに各群雌雄とも 8 ケージについて測定した。いずれの項目においても検体投与群と対照群との間に著明な差は認められなかった。

4) 検体摂取量

各投与群の試験期間中の検体摂取量 (mg/kg/日) を下表に示した。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	—	—
10	0.364	0.447
100	3.65	4.53
1000	36.9	45.0

5) 尿検査

検体投与後 26、52、78 週時には雌雄各 8 匹で、投与終了時は全生存動物で、尿比重、pH、蛋白質、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲンを検査した。

検体投与群ではいずれの測定項目においても、対照群との間に明らかな差異は認められなかった。

6) 血液学的検査

検体投与後 26、52、78 週時に雌雄とも 8 匹、検体投与終了時に雌雄各 10 匹でいずれも後大動脈から採血し、赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、平均赤血球容積 (MCV)、血小板数 (PL)、白血球百分比、網状赤血球数、メトヘモグロビン濃度 (MetHb) について検査した。ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) を算出した。

1000ppm 群雌雄において、赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の減少、平均赤血球容積、メトヘモグロビン濃度の増加等、軽度の貧血およびメトヘモグロビン血症を示唆する所見が認められた。赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少は雌雄とも何れの検査時期とも対照群に比べ 10% 以内の軽度な変動であったが、同様の変動は先に実施した 4 週間の予備試験でも高濃度群雌雄に認められていたことから投与の影響と考えられた。平均赤血球容積の増加が雄では 26 および 78 週時に、雌では全検査時期に認められ、赤血球の大型化が示唆された。メトヘモグロビン濃度の有意な増加が雌では全検査時期に、雄では 26 および 78 週に認められた。これらの変動はそれぞれ対照群の 2 倍程度の比較的軽度の増加であったが検体投与の影響と考えられた。その他、同群雄で総白血球数の軽度増加、血小板数の増加が一時的に認

められたが、形態学的にこれらに対応する異常は認められず、投与の影響と断定することはできなかった。

100ppm 群では、26 週時の雌に赤血球数およびヘモグロビン量の極めて軽微な減少が認められ、78 週時の雄ではメトヘモグロビン濃度の軽微な増加および平均赤血球ヘモグロビン量の軽微な減少がみられた。さらに 10ppm 群の雌では 26 週時にヘモグロビン量の軽微な減少が認められた。しかし、何れもその程度は軽度であり投与期間との関連性が見られないこと、また、組織学的にも貧血に随伴した変化が見られないこと等から投与による影響とは考えられなかった。その他、統計学的に有意な変動が散見されたが何れも用量および投与期間に関連した変化ではなかった。

表：統計学的に有意な変化が見られた所見

		10ppm			100ppm				1000ppm			
		26 週	78 週	104 週	26 週	52 週	78 週	104 週	26 週	52 週	78 週	104 週
雌	RBC								↓95	↓97		
	Ht								↓97			
	Hb								↓96	↓96		
	MCV								↑102		↑102	
	MCH						↓96					
	MetHb						↑157		↑181		↑229	
	WBC									↑114		
	PL		↑114						↑114		↑121	
雄	RBC				↓97				↓91	↓91	↓93	
	Ht								↓94	↓95	↓97	
	Hb	↓96			↓97				↓92	↓93	↓96	
	MCV	↑101							↑103	↑102	↑104	↑105
	MCH								↑102	↑102	↑102	
	MCC			↑101								
	MetHb								↑228	↑154	↑155	↑225
	WBC		↑116									

表中の数値は対照群に対するパーセント。

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01, ↑ ↓ : p<0.001, (Student's T 検定)

7) 血液生化学的検査

検体投与 26、52、78 週時に雌雄各 8 匹、試験終了時には雌雄各 10 匹でいずれも後大動脈から採血し血清を用い、GOT、GPT、ALP、γ-GTP、総蛋白質量 (TP)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、A/G 比、総コレステロール (T.chol)、尿素窒素 (BUN)、総ビリルビン (T.Bil)、直接ビリルビン (D.Bil)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、血糖を測定した。

1000ppm 群雄の 26 週時に乳酸脱水素酵素の増加が認められた。乳酸脱水素酵素の増加は血液疾患、特に貧血に際しても見られることから、投与との関連性が考えられたが、52 週以降認められず、さらに雌では認

められなかったことから、投与の影響と断定することはできなかった。他に、同群では、カリウム、GOT、尿素窒素、アルブミン、A/G比、総蛋白、総コレステロール値、アルカリホスファターゼ活性、カルシウム、 γ -GTP活性、100ppm群ではGOT活性、A/G比、 γ -GTP活性等で変動が認められたが、投与期間に関連するものではないことと病理学的に対応した変化が認められなかったことから、検体に起因したものとは考えなかった。

表：統計学的に有意な変化の認められた所見

		10ppm			100ppm			1000ppm			
		26週	52週	104週	26週	52週	104週	26週	52週	78週	104週
雄	LDH							↑			
	GOT				↑			↑			
	GPT		↓								
	γ -GTP	↓			↓						
	BUN			↓			↓	↑			
	K							↑			
雌	ALP	↓		↓	↓		↓	↓	↓		
	γ -GTP	↓		↓	↓		↓				↓
	T.Bil			↓	↓						
	D.Bil	↓									
	TP								↑		
	Alb								↑		
	Glob		↑								
	A/G		↑				↑		↑		
	BUN				↓						
	T.chol							↑			↑
	Ca			↓							↓
	Na								↑		
	K	↑						↑	↑		

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01, ↑ ↓ : p<0.001, (Student's T検定)

8) 剖検所見

計画屠殺動物 (26、52、78 週時)、瀕死動物、死亡動物および投与終了時の全生存動物について剖検を行なった。

1000ppm 群の雌雄において脾臓の黒色化・暗調化の発生頻度が増加した。

1000ppm 群の雌で皮膚・皮下の結節・腫瘍が総発生頻度において有意に増加したが、投与期間別発生頻度で対照群とは有意差がないことと組織学的検索による腫瘍の発生率にも有意な増加が認められないことから、検体に起因した変化とは考えられなかった。

100ppm 以下の群では対照群との間に発生頻度における有意差を認める病変はなかった。

表：投与期間別主要剖検所見発生頻度

臓器：所見	用量 (ppm)	0-26週	26週	27-52週	52週	53-78週	78週	79-104週	104週	合計
		fd+ke	ik	ik	ik	fd+ke	i k	fd+ke	tk	
雄										
脾臓	0	0/0	0/8	0/1	0/8	0/5	0/8	0/13	2/37	2/80
	10	0/0	0/8	0/0	1/8	0/2	0/8	1/9	2/45	4/80
黒色化・ 暗調化	100	0/0	0/8	0/0	0/8	0/2	0/8	0/5	3/49	3/80
	1000	0/1	8/8***	0/1	6/8**	1/2	5/8*	0/10	12/42**	32/80**
雌										
脾臓	0	0/0	0/8	0/2	0/8	0/0	0/8	0/10	3/44	3/80
	10	0/0	0/8	0/0	0/8	0/5	0/8	1/14	0/37	1/80
黒色化・ 暗調化	100	0/0	0/8	0/0	0/8	0/6	0/8	0/14	1/36	1/80
	1000	0/0	8/8***	0/1	7/8***	2/3	0/8	0/9	20/43***	37/80***
皮膚及び皮下	0	0/0	0/8	0/2	0/8	0/0	0/8	1/10	9/44	10/80
結節・腫瘍	10	0/0	0/8	0/0	0/8	2/5	0/8	3/14	8/37	13/80
	100	0/0	0/8	0/0	0/8	1/6	0/8	4/14	5/36	10/80
	1000	0/0	0/8	0/1	0/8	1/3	1/8	3/9	14/43	19/80*

Ik:途中計画殺、tk:最終計画殺、fd:死後発見、ke:切迫殺、所見のみられた動物数/検査動物数
*:p<0.05, ***:p<0.001 (Fisherの直接確立法)

9) 臓器重量

計画屠殺動物 (26、52、78 週時) と投与終了時の全生存動物の脳、下垂体、甲状腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣、胸腺 (26 週時のみ) を摘出し、その重量を測定した。また体重を用いて体重比重量を算出した。

1000ppm 群の雌雄において脾臓重量の有意な増加が認められ投与の影響と考えられた。

その他、甲状腺、肝臓、脳、下垂体、腎臓の重量に有意な変動が認められたが、血液学的、血液生化学的および病理検査ではこれらに対応する所見はなく、検体に起因した変化とは考えなかった。

表：統計学的有意差の認められた変化

性	臓器	測定項目	雄						雌								
			10			100			1000			10		100		1000	
検査週			26	52	78	26	78	26	52	78	104	78	104	26	52	78	104
体重														↑			
脳	実重量				↑						↑	↑	↑			↑	↑
	比重量				↑												↑
下垂体	実重量				↑												↑
	比重量				↑												
甲状腺	比重量						↑									↑	
肝臓	実重量		↓														
	比重量		↓				↑										
腎臓	実重量		↓			↑											↑
脾臓	実重量						↑	↑						↑	↑		
	比重量						↑	↑	↑					↑	↑		

↑ ↓ :p<0.05, ↑ ↓ :p<0.01, ↑ ↓ :p<0.001, (Student's T 検定)

10) 病理組織学的検査

計画屠殺動物、死亡動物および最終屠殺動物の脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、唾液腺、胸腺、心、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膵、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、リンパ節、気管、精巣/卵巣、前立腺/子宮、精巣上体、精囊、膀胱、骨格筋、眼とその付属腺、鼻咽頭、喉頭、舌、口腔粘膜、胸大動脈、皮膚、乳腺(雌のみ)、頭部、脊髄、坐骨神経、骨・骨髄及び肉眼的病変部位について病理組織学的に検索した。

[非腫瘍性病変]

1000ppm 群の雌雄において脾臓のうっ血、褐色色素沈着の増加と髄外造血の亢進の発生頻度が上昇した。褐色色素はベルリン青陽性を示し、ヘモジデリンであることが証明された。髄外造血は雄では 78 週以降、雌では 52 週以降に増加する傾向が認められた。

その他、1000ppm 群雌において腎臓の限局性尿細管萎縮と石灰沈着が、また、100ppm および 10ppm 群雌で腎臓の石灰沈着の発生頻度が有意に増加した。しかし、限局性尿細管萎縮は加齢ラットに好発する自然発生性ネフローゼの初期病変と考えられる変化であり¹⁾、特異的な中毒性変化とみなすべき変化ではない。もし、この変化が薬剤投与に関連する変化であるならば、投与初期よりこの変化の発生頻度は有意に増加し、かつ投与期間の経過に伴って対照群に比べ病変の程度も激しくなるものと考えられるが、本試験においては等病変の発生頻度は投与初期より有意な増加を認めず、その病変の程度も重篤にはならなかった。また、この変化の進展病変であるネフローゼの発生頻度も投与群において有意に増加しなかった。石灰沈着も本系統ラットの雌に 13 週頃より多発する限局性の自然発生病変であり²⁾、毒性学的に重要な意義を有する変化ではない。また、雌の投与群におけるこの病変発生頻度(68~73/80 例)は、本試験とほぼ同時期に実施した他の二つの 24 ヶ月間慢性毒性試験の対照群の発生頻度(68~74/80 例)と比べ明らかに多いものではない。以上のように、限局性尿細管萎縮および石灰沈着の発生頻度の増加に対して、中毒性腎障害を明らかに示唆するような所見は今回の検査では得られなかったことから、これらの変化を本薬投与に起因する変化とはみなさなかった。

100ppm 以下の群では対照群に比して有意に増加した病変は雌雄とも認められなかった。

1) Gray, J.E., Chronic progressive nephrosis in the albino rat., CRC Crit. Rev. Toxicol., vol 6, 115-144, 1977

2) Graeves, P and Faccini, J.M. Rat histopathology, Elsevier Science Publisher B.V., 1984

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

表：統計学的に有意な増加の認められた非腫瘍性病変（投与期間別）

臓器：所見	用量 (ppm)	0-26週 fd+kc	26週 ik	27-52週 ik	52週 ik	53-78週 fd+ke	78週 i k	79-104週 fd+ke	104週 tk	合計
雄										
脾臓 うっ血	0	0/0	0/8	0/1	0/8	0/5	0/8	1/13	5/37	6/80
	10	0/0	1/8	0/0	0/8	0/2	0/8	0/9	2/45	2/80
	100	0/0	0/8	0/0	0/8	0/2	0/8	0/5	1/49	1/80
	1000	0/1	8/8***	0/1	7/8***	1/2	8/8***	1/10	17/42**	42/80***
褐色色素 沈着増加	0	0/0	0/8	0/1	0/8	0/5	0/8	1/13	0/37	1/80
	10	0/0	1/8	0/0	0/8	0/2	0/8	0/9	2/45	3/80
	100	0/0	0/8	0/0	0/8	0/2	0/8	0/5	2/49	2/80
	1000	0/1	5/8*	0/1	4/8*	0/2	0/8	1/10	0/42	10/80**
髄外造血 亢進	0	0/0	0/8	0/1	0/8	1/5	0/8	4/13	1/37	6/80
	10	0/0	1/8	0/0	0/8	1/2	0/8	3/9	3/45	8/80
	100	0/0	0/8	0/0	0/8	0/2	0/8	1/5	2/49	3/80
	1000	1/1	0/8	1/1	2/8	0/2	6/8**	4/10	4/42	18/80**
雌										
脾臓 うっ血	0	0/0	0/8	0/2	0/8	0/0	0/8	1/10	0/44	1/80
	10	0/0	0/8	0/0	0/8	0/5	0/8	0/14	0/37	0/80
	100	0/0	0/8	0/0	0/8	0/6	0/8	1/14	2/36	3/80
	1000	0/0	7/8***	0/1	7/8***	1/3	6/8**	0/9	5/43	26/80***
褐色色素 沈着増加	0	0/0	0/8	0/2	0/8	0/0	0/8	1/10	1/44	2/80
	10	0/0	0/8	0/0	1/8	1/5	1/8	3/14	2/37	8/80
	100	0/0	0/8	0/0	1/8	1/6	2/8	0/14	3/36	7/80
	1000	0/0	8/8***	1/1	1/8	0/3	0/8	4/9	15/43***	29/80***
髄外造血 亢進	0	0/0	0/8	0/2	0/8	0/0	5/8	0/10	6/44	11/80
	10	0/0	0/8	0/0	0/8	1/5	4/8	0/14	7/37	12/80
	100	0/0	0/8	0/0	1/8	1/6	2/8	3/14	5/36	12/80
	1000	0/0	2/8	0/1	6/8**	1/3	7/8	4/9*	17/43**	37/80***
腎臓 尿細管 萎縮	0	0/0	3/8	1/2	2/8	0/0	6/8	5/10	29/44	46/80
	10	0/0	3/8	0/0	6/8	3/5	7/8	6/14	27/37	52/80
	100	0/0	6/8	0/0	3/8	4/6	8/8	6/14	28/36	55/80
	1000	0/0	5/8	0/1	5/8	1/3	7/8	7/9	37/43*	62/80**
石灰沈着	0	0/0	8/8	2/2	7/8	0/0	8/8	5/10	26/44	56/80
	10	0/0	7/8	0/0	8/8	5/5	8/8	7/14	33/37**	68/80*
	100	0/0	7/8	0/0	8/8	5/6	8/8	10/14	35/36***	73/80***
	1000	0/0	8/8	1/1	7/8	3/3	7/8	6/9	40/43***	72/80**

Ik:途中計画殺、tk:最終計画殺、fd:死後発見、ke:切迫殺、所見のみられた動物数/検査動物数

*:p<0.05, ***:p<0.001 (Fisherの直接確立法)

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

[腫瘍性病変]

全動物における腫瘍性病変の発生頻度を表 1、各群における腫瘍数および増腫瘍動物数を表 2 に示す。

腫瘍の発生頻度に関しては、検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、1000ppm 群の雌雄でメトヘモグロビン血症を伴う貧血および脾臓の変化が認められたことから、本試験における無毒性量は雌雄ともに 100ppm (雄 3.65mg/kg/日、雌 4.53mg/kg/日) と判定した。

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及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1-1. 腫瘍性病変の発生頻度 (26 週計画殺動物)

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8	8
(所見なし)									

表 1-2. 腫瘍性病変の発生頻度 (52 週計画殺動物)

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8	8
呼吸器系									
肺：腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0
泌尿生殖器系									
精巣：間細胞腫	0	0	1	1	0	0	0	0	0
子宮：内膜ポリープ	0	0	0	0	0	1	0	0	0
内分泌系									
下垂体：前葉腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0
甲状腺：ろ泡状腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0
その他									
悪性中皮腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0

有意差なし (Fisher の直接確立法)

表 1-3. 腫瘍性病変の発生頻度 (78 週計画殺動物)

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8	8
脾臓：血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0
全身性：白血病(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
呼吸器系									
肺：腺腫	0	1	0	0	0	1	0	0	0
泌尿生殖器系									
精巣：間細胞腫	7	8	8	8					
卵巣：莢膜細胞腫					1	0	0	0	0
子宮：内膜ポリープ					2	3	0	1	0
平滑筋肉腫(M)					1	0	0	0	0
陰核腺：扁平上皮癌(M)					1	0	0	0	0
内分泌系									
下垂体：前葉腺腫	0	0	0	0	2	1	1	0	0
副腎：褐色細胞腫	1	0	0	0	0	1	0	0	0
神経系									
大脳：神経膠腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚および皮下									
乳腺：腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1
その他									
ハーダー腺：腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0

有意差なし (Fisher の直接確立法)

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

表 1-4. 腫瘍性病変の発生頻度 (104 週計画殺動物)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	37	45	49	42	44	37	36	43
循環器系								
心臓：神経鞘腫	1	0	0	0	0	0	0	0
血液および造血器系								
脾臓：血管周皮腫	0	0	0	1	0	0	0	0
全身性：白血病(M)	2	5	0	0	5	2	1	0*
呼吸器系								
肺：腺腫	0	1	3	1	1	0	1	1
肺：腺癌(M)	1	1	1	0	0	0	0	0
鼻腔：腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
消化器系								
口腔・口蓋：扁平上皮癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
回腸：平滑筋腫	1	0	0	0	0	0	0	0
平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
直腸：脂肪腫	0	0	0	0	1	0	0	0
肛門：悪性血管内皮腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
肝臓：肝細胞結節性増殖巣	4	2	0*	3	0	0	0	1
肝臓：肝細胞癌(M)	2	1	0	1	0	0	0	0
膵臓：島細胞腺腫	0	2	0	0	0	0	0	0
膵臓：外分泌腺細胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
泌尿生殖器系								
腎臓：過誤腫	0	0	0	1	0	0	0	0
精巣：間細胞腫	37	45	49	40				
包皮腺：腺腫	1	0	1	1				
包皮腺：腺癌(M)	0	1	0	0				
子宮：内膜ポリープ					9	9	11	8
平滑筋腫					1	0	0	1
腺：平滑筋腫					1	0	0	0
陰核腺：腺腫					0	0	1	1
腺癌(M)					1	0	0	1
内分泌系								
下垂体：前葉腺腫	6	5	3	5	16	13	12	15
下垂体：前葉腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
副腎：褐色細胞腫	6	6	5	3	1	1	0	1
甲状腺：明細胞腺腫	0	0	0	0	2	3	0	1
乳頭状腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
明細胞癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
神経系								
大脳：神経膠腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0

*: $p < 0.05$ (Fisher の直接確立法)

表 1-4. (続き)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	37	45	49	42	44	37	36	43
皮膚および皮下								
乳頭腫	3	4	5	2	0	1	1	0
扁平上皮癌(M)	1	1		1	1	0	0	1
基底細胞癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
腺維腫	2	4	3	7	1	1	0	1
繊維肉腫(M)	1	1	1	0	0	0	0	0
脂肪腫	0	0	1	1	0	0	0	0
横紋筋肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性腺維性組織球腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
神経鞘腫	0	0	1	0	0	0	0	0
皮脂腺：腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
乳腺：腺腫	1	0	0	2	3	4	2	5
腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
腺維腺腫	1	1	1	2	2	3	1	5
その他								
腹腔内：悪性中皮腫(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
ジンバル腺：腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
腺癌(M)	2	1	1	0	0	0	0	0
全身性：悪性組織球腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
胸椎部：骨腫	0	0	0	0	1	0	0	0

有意差なし (Fisher の直接確立法)

表 1-5. 腫瘍性病変の発生頻度 (途中死亡・屠殺動物)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	19	11	7	14	12	19	20	13
血液および造血器系								
全身性：白血病(M)	2	2	2	1	5	3	4	0*
呼吸器系								
肺：腺腫	0	0	0	2	0	0	0	0
消化器系								
口腔・口蓋：扁平上皮癌(M)	1	0	0	0	0	1	0	0
空腸：腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
肝臓：肝細胞癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
膵臓：島細胞腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
膵臓：導管癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
泌尿生殖器系								
腎臓：腎芽腫(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
膀胱：移行上皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
精巣：間細胞腫	12	9	6	10				
包皮腺：腺腫	0	0	0	2				
包皮腺：腺癌(M)	1	1	0	0				
子宮：内膜ポリープ					3	3	4	3
平滑筋肉腫(M)					1	0	0	0
陰核腺：腺腫					0	1	1	0

*: p<0.05 (Fisher の直接確立法)

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

表 1-5. (続き)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	19	11	7	14	12	19	20	13
内分泌系								
下垂体：前葉腺腫	4	2	0	0	2	6	5	5
下垂体：前葉腺癌(M)	1	0	0	0	1	0	0	0
副腎：褐色細胞腫	1	0	1	1	0	0	0	0
甲状腺：明細胞腺腫	0	1	0	1	0	0	0	2
神経系								
小脳・延髄：髄膜腫	0	1	0	0	0	0	0	0
皮膚および皮下								
乳頭腫	1	0	0	1	0	0	0	0
扁平上皮癌(M)	1	0	0	0	0	1	1	1
基底細胞癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
腺維腫	2	0	2	3	0	0	0	0
繊維肉腫(M)	1	1	0	0	0	0	0	1
脂肪腫	0	0	1	0	0	1	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
悪性神経鞘腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
乳腺：腺腫	0	0	0	0	0	0	1	2
腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
腺維腺腫	0	0	0	2	1	0	2	1
その他								
腹腔内：中皮腫	1	0	0	0	0	0	0	0
悪性中皮腫(M)	3	0	1	0	0	0	0	0
ジンバル腺：腺癌(M)	1	1	0	0	0	0	0	0

有意差なし (Fisher の直接確立法)

表 1-6. 腫瘍性病変の発生頻度 (全動物)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80
循環器系								
心臓：神経鞘腫	1	0	0	0	0	0	0	0
血液および造血系								
脾臓：血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0
脾臓：血管周皮腫	0	0	0	1	0	0	0	0
全身性：白血病(M)	5	7	2	1	10	5	5	0***
呼吸器系								
肺：腺腫	1	2	3	3	1	1	1	1
肺：腺癌(M)	1	1	1	0	0	0	0	0
鼻腔：腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
消化器系								
口腔・口蓋：扁平上皮癌(M)	1	1	0	0	0	0	0	0
空腸：腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
回腸：平滑筋腫	1	0	0	0	0	0	0	0
平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
直腸：脂肪腫	0	0	0	0	1	0	0	0
肛門：悪性血管内皮腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
肝臓：肝細胞結節性増殖巣	4	2	0	3	0	0	0	1
肝臓：肝細胞癌(M)	2	1	0	1	0	0	0	1
膵臓：島細胞腺腫	0	3	0	0	0	0	0	0
膵臓：外分泌腺細胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
導管癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
泌尿生殖器系								
腎臓：腎芽腫(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
腎臓：過誤腫	0	0	0	1	0	0	0	0
膀胱：移行上皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
精巣：間細胞腫	56	62	64	59				
包皮腺：腺腫	1	0	1	3				
包皮腺：腺癌(M)	1	2	0	0				
卵巣：莢膜細胞腫					1	0	0	0
子宮：内膜ポリープ					14	16	15	12
平滑筋腫					1	0	0	1
平滑筋肉腫(M)					2	0	0	0
膣：平滑筋腫					1	0	0	0
陰核腺：腺腫					0	1	2	1
腺癌(M)					1	0	0	1
扁平上皮癌(M)					1	0	0	0
内分泌系								
下垂体：前葉腺腫	10	7	3*	5	21	20	18	20
下垂体：前葉腺癌(M)	1	0	1	0	1	0	0	0
副腎：褐色細胞腫	8	6	6	4	1	2	0	1
甲状腺：明細胞腺腫	3	4	2	3	2	3	0	3
ろ胞状腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
乳頭状腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
明細胞癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
神経系								
大脳：神経膠腫(M)	0	0	0	2	0	0	0	0
小脳・延髄：髄膜腫	0	1	0	0	0	0	0	0

*: p<0.05, ***: p<0.001 (Fisher の直接確立法)

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

表 1-6. (続き)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80
皮膚および皮下								
乳頭腫	4	4	5	3	0	1	1	0
扁平上皮癌(M)	2	1	0	1	1	1	1	2
基底細胞癌(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
腺維腫	4	4	5	10	1	1	0	1
繊維肉腫(M)	2	2	1	0	0	0	0	1
脂肪腫	0	0	2	1	0	1	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
横紋筋肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性腺維性組織球腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
神経鞘腫	0	0	1	0	0	0	0	0
悪性神経鞘腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
皮脂腺：腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
乳腺：腺腫	1	0	0	2	3	4	3	8
腺癌(M)	0	0	0	0	1	1	0	0
腺維腺腫	1	1	1	4	3	3	3	6
その他								
腹腔内：中皮腫	1	0	0	0	0	0	0	0
悪性中皮腫(M)	3	1	2	1	0	0	0	0
ジンバル腺：腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
腺癌(M)	3	2	1	0	0	0	0	0
全身性：悪性組織球腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
ハーダー腺：腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0
胸椎部：骨腫	0	0	0	0	1	0	0	0

有意差なし (Fisher の直接確立法)

表 2. 各群における腫瘍数および担腫瘍動物数

性別 投与量(ppm)	雄				雌				
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80	
腫瘍数	良性	97	97	97	102	51	54	43	55
	悪性	22	21	10	12	17	12	6	7
腫瘍総数	119	118	107	114	68	66	49	62	
担腫瘍動物数	63	66	64	63	46	44	38	42	

有意差なし (Mann Whitney の U 検定)

マウスにおける 24 ヶ月間慢性毒性・発癌性試験

(毒性資料 No. 18)

試験機関： (財) 残留農薬研究所

報告書作成年月日： 1985 年 2 月

検体の純度：

試験動物： ICR 系雌雄マウス (試験開始時 5 週令)、1 群雌雄各 80 匹

試験期間： 24 ヶ月間 (雄：1981 年 5 月 8 日～1983 年 5 月 6 日)

(雌：1981 年 5 月 14 日～1983 年 5 月 13 日)

試験方法：

検体を 0、30、300、3000ppm の濃度で粉末飼料に添加し最大 104 週間混餌投与した。各群雌雄各 80 匹とし、投与開始 52 週後各群雌雄各 10 匹を中間屠殺した。動物はケージあたり 4 匹の群飼育とした。飼料と水は自由に摂取させた。

試験項目および試験結果：

1) 一般観察および死亡例

試験期間中毎日症状を観察した。

検体投与に起因すると考えられる症状の発現は雌雄ともに認められなかった。

試験期間中の累積死亡動物数を以下に示した。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	42/70	42/70
30	42/70	41/70
300	52/70	39/69*
3000	40/70	40/70

死亡動物数/最終屠殺動物数 *雌 1 例は投与 84 週に事故により死亡したため除外した。

全期間を通じ累積死亡率において検体投与群と対照群の間に差は認められなかった。

2) 体重

試験開始後 26 週までは毎週 1 回、以降は隔週に 1 回の頻度で体重を測定した。

雄では 300ppm 群で試験期間中散発的に有意な低値を認めたが、用量相関性はみられず検体の影響は認められなかった。雌では 3000ppm 群で軽度であるが持続的に 42 週まで低下が認められ、検体の影響が示唆された。30ppm と 300ppm 群でも極軽度の低値が認められたがそれぞれ 17 週と 26 週以降対照群との差は認められなくなり、検体の影響とは考えなかった。

3) 飼料摂取量および飲水量

試験開始後 26 週までは毎週 1 回、以降は隔週に 1 回の頻度で飼料摂取量と飲水量を各群雌雄各 8 ケージにつき測定した。

いずれの項目においても検体投与群と対照群との間に著明な差は認められなかった。

4) 検体摂取量

各投与群の試験期間中の検体摂取量 (mg/kg/日) を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	—	—
30	3.11	2.77
300	29.7	28.3
3000	289	275

5) 尿検査

試験開始後 52 週時に雌雄各 10 匹で、投与終了時には全生存動物で、尿比重、pH、蛋白質、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲンを検査した。

検体投与群ではいずれの測定項目においても、対照群との間に明らかな差異は認められなかった。

6) 血液学的検査

試験開始後 52 週時と検体投与終了時に雌雄各 10 匹で後大静脈から採血し、赤血球数 (RBC)、白血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、平均赤血球容積 (MCV)、血小板数、白血球百分比、網状赤血球数について検査した。ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCC) を算出した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値には全群でいずれの測定時期にも有意な変動は認められなかった。

平均赤血球ヘモグロビン濃度の増加 (雌雄 3000ppm、雄 300ppm)、白血球数の減少 (雌 3000ppm)、リンパ球の減少 (雄 30ppm、雌 3000ppm) 等が有意な変動として散見されたが、いずれも検体に起因する変動とは考えなかった。

表：統計学的に有意な変化が認められた所見

		投与量 (ppm)		30		300		3000	
		検査週		52週	104週	52週	104週	52週	104週
雄	MCC					↑103		↑102	
	白血球百分比：リンパ球 ：分葉核好中球	↓60							
雌	MCC							↑103	
	WBC								↓62
	白血球百分比：リンパ球 分葉核好中球								↓60 ↓64

表中の数値は対照群に対するパーセント。

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01 (Student's T 検定)

7) 血液生化学的検査

試験開始 52 週時と試験終了時には雌雄各 10 匹で後大静脈から採血し、血漿を用い、GOT、GPT、ALP、総蛋白質量 (TP)、総コレステロール (T.Chol)、血糖 (GLU)、尿素窒素 (BUN)、カルシウム (Ca) を測定した。

ALP、尿素窒素、GOT、GPT、総コレステロールおよび血糖値で統計学的に有意な変動が散見されたが、いずれも検体に起因する変動とは考えなかった。

表：統計学的に有意な変化が認められた所見

		投与量 (ppm)		30		300		3000	
		検査週		52週	104週	52週	104週	52週	104週
雄	ALP					↓65		↓69	
	BUN			↑114					
	GOT					↓52			
	T. Chol						↓72		
雌	ALP					↓69			
	GLU					↓91			
	BUN				↓83				
	GOT					↓61			53
	GPT				↓54				↓32

表中の数値は対照群に対するパーセント。

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01 (Student's T 検定)

8) 剖検所見

計画屠殺動物（52週時）、瀕死動物、死亡動物および投与終了時の全生存動物について剖検を行なった。

3000ppm 群の雄の肝臓の結節・腫瘤が増加したが、臓器重量に对照群との差がなく、かつ、病理組織学的検査でも腫瘍あるいは過形成病変の有意な増加が認められなかったため、検体に起因した変化とは考えられなかった。同群雌で脾臓の腫大とろ胞明瞭・退色の増加が認められたが、臓器重量に对照群との差は認められず、また、病理組織学的検査では脾臓で褐色色素沈着の頻度が増加したものの、これら所見に関連した変化が認められなかったことから剖検所見については検体の影響と判断しなかった。

表：統計学的に有意に増加の認められた剖検所見

性	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
用量 (ppm)								
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80
肝臓								
結節・腫瘤	22	30	20	35*	3	10*	8	7
脾臓								
腫大	16	15	17	17	17	25	19	29*
ろ胞明瞭・退色	5	3	4	6	3	3	7	11*
腎臓								
退色・変色	23	25	35*	22	19	31*	19	24
腹腔								
腹水貯留・腹腔内出血					4	6	12*	11

*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001 (Fisherの直接確立法)

9) 臓器重量

計画屠殺動物（52週時）と投与終了時の全生存動物の脳、下垂体、甲状腺、心、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣／卵巣、胸腺（52週時のみ）を摘出し、その重量を測定した。また体重を用いて体重比重量を算出した。

3000ppm 群の雄の腎臓の実重量と比重量は投与終了時に有意な増加を認め、組織学的に糸球体のメサンギウム肥厚とろ胞形成の増加と相関し、検体投与の影響と考えられた。

精巣、副腎、下垂体、脳、心等の重量の変動および30ppm 群の雄の腎臓重量の増加は、実重量か相対重量のいずれかの変動である、用量との関連性が認められないあるいは組織所見との関連性が認められないことから、検体に起因した変化とは考えられなかった。

表：統計学的有意差の認められた所見

性		雄						雌					
用量 (ppm)		30		300		3000		30		300		3000	
検査週		52	104	52	104	52	104	52	104	52	104	52	104
脳	実重量			↓93									
	比重量				↑108								
下垂体	実重量	↓81				↑113		↑126					↑116
	比重量							↑121					
腎臓	実重量		↑110			↑115							
	比重量		↑113		↑114	↑115							
心臓	実重量		↓										
副腎	実重量			↓82									
	比重量			↓85		↓85							
精巣	実重量					↑114							
	比重量		↑114			↑112							

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01, ↑ ↓ : p<0.001, (Student's T 検定)

10) 病理組織学的検査

計画屠殺動物、死亡動物および最終屠殺動物の脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、唾液腺、胸腺、心、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膵、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、リンパ節、気管、精巣/卵巣、前立腺/子宮、精巣上体、精嚢、膀胱、骨格筋、眼とその付属腺、鼻咽頭、喉頭、舌、口腔粘膜、胸大動脈、胆嚢、皮膚、乳腺、頭部、脊髄、坐骨神経、骨・骨髄及び肉眼的病変部位について病理組織学的に検索した。

[非腫瘍性病変]

3000ppm 群の雄で腎臓におけるメサンギウム肥厚とのお胞形成が認められ投与の影響と考えられた。

その他、3000ppm 雄で脾臓の髓外造血亢進、精巣の精子形成低減、精のう・凝固腺の化膿性炎および骨髄における造血亢進が、雌では肝臓の肝細胞過形成と脾臓における褐色色素沈着が、300ppm 群雌雄で甲状腺のろ胞拡張、雄で腎盂拡張が、30ppm 群雌で腎臓のアミロイド腎症と甲状腺小胞拡張が統計学的有意に増加したが、臓器重量を含め他の検査成績とは相関せず、検体に起因した変化とは考えなかった。

表：統計学的に有意な増加の認められた非腫瘍性病変（全動物）

性	用量 (ppm)	雄				雌			
		0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80
肝臓	肝細胞過形成	0	0	0	0	0	0	2	5*
腎臓	糸球体メサンギウム肥厚	29	37	35	45**	0	0	0	0
	のう胞形成	1	5	6	10**	0	0	0	0
	腎盂拡張	21	25	33*	17	0	0	0	0
脾臓	髓外造血亢進	16	22	13	30*	0	0	0	0
	アミロイド腎症	0	0	0	0	1	8*	2	0
精巣	精子形成低減	6	11	9	14*	0	0	0	0
脾臓	褐色色素沈着増加	0	0	0	0	5	8	9	13*
精のう	・凝固腺								
	化膿性炎		4	4	6*	0	0	0	0
甲状腺	ろ胞拡張	13	22	28**	17	12	26**	26**	18
骨髄	造血亢進	11	17	17	21*	0	0	0	0

*:p<0.05, **:p<0.001 (Fisherの直接確立法)

[腫瘍性病変]

全動物における腫瘍性病変の発生頻度を表1、各群における腫瘍数および坦腫瘍動物数を表2に示す。

腫瘍性病変において雌の30ppm群のハーダー腺腺腫(7、対照群:1)と雌の3000ppm群の下垂体の前葉腺腫(8、対照群:2)が軽度増加したが、何れも試験実施機関における背景データ(ハーダー腺腺腫:1~9、平均発生数[5.4±2.7]、下垂体前葉腺腫:2~8、平均発生数[3.9±2.0])の範囲内であり、偶発的変動と考えられた。

以上の結果から、3000ppm群の雄では腎臓の重量増加や組織学的変化、雌では試験初期から中期にかけての軽度な持続性の体重増加抑制がみられたことから、本試験における無毒性量は雌雄ともに300ppm(雄29.7mg/kg/日、雌28.3mg/kg/日)と判断される。催腫瘍性は認められなかった。

表 1-1. 腫瘍性病変の発生頻度 (52 週計画殺動物)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
リンパ及び造血器系								
脾臓：肥胖細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
全身性；リンパ肉腫症(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
呼吸器系								
肺：肺腺腫	0	0	3	0	0	0	1	0
消化器系								
肝臓：肝細胞腺腫	2	1	1	2	0	0	0	0
肝細胞癌(M)	2	1	0	1	0	0	0	0
泌尿生殖器								
子宮：子宮内膜肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
皮膚・皮下								
乳腺腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0

有意差なし (Fisher の直接確立法)

表 1-2. 腫瘍性病変の発生頻度 (104 週計画殺動物)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	28	28	18	30	28	29	30	30
リンパ及び造血器系								
脾臓：海綿状血管腫	0	0	0	0	0	0	0	1
リンパ肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺：リンパ肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	1	0
リンパ肉腫症(M)	0	1	0	1	2	3	4	3
細網細胞肉腫症(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
呼吸器系								
肺：肺腺腫	11	10	5	5	6	7	5	7
肺腺癌(M)	5	2	3	3	2	3	8	4
消化器系								
胃：腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
小腸：乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0
膵臓：島細胞腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
膵管腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0
肝臓：肝細胞腺腫	4	10	4	8	1	2	3	1
胆のう乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0
海綿状血管腫	0	0	0	1	0	0	1	0
肝芽細胞腫	0	1	0	0	0	0	0	0
肝細胞癌(M)	10	10	3	10	0	2	1	0

有意差なし (Fisher の直接確立法)

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

表 1-2. (続き)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	28	28	18	30	28	29	30	30
泌尿生殖器								
腎臓：乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	1
腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
海綿状血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
膀胱：平滑筋腫	0	0	1	0	0	0	0	0
精巣：間細胞腫	1	0	0	2				
卵巣：顆粒膜細胞腫					0	0	1	0
莖腺細胞腫					0	1	1	1
黄体腫					0	1	0	0
卵巣のう・卵管：								
頭腫・乳頭状腺腫					2	0	0	0
子宮：平滑筋腫					1	2	3	2
平滑筋肉腫(M)					0	1	0	2
内分泌系								
甲状腺：ろ胞状腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
副腎：皮膜下細胞腫	0	0	0	0	0	1	1	0
皮膜腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
下垂体：前葉腺腫	0	3	1	2	1	5	4	2
運動器系								
骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
横紋筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
皮膚・皮下								
乳腺腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0
乳腺腺癌(M)	0	0	0	0	3	1	0	1
扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
腺維肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
悪性血管腫・血管周囲細胞腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
その他								
ハーダー腺：腺腫	5	2	0	8	0	5*	2	3
腹腔：海綿状血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1

* : p<0.05 (Fisherの直接確立法)

表 1-3. 腫瘍性病変の発生頻度 (途中死亡・屠殺動物)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	42	42	52	40	42	41	40	40
循環器系								
心臓：悪性血管腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ及び造血器系								
脾臓：海綿状血管腫	0	1	0	1	0	0	0	0
悪性血管腫(M)	0	2	0	0	0	0	0	0
悪性組織球腫(M)	1	1	0	0	1	0	0	0
胸腺：リンパ肉腫(M)	0	0	1	1	0	0	0	1
骨髓：悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	1
リンパ肉腫症(M)	4	2	9	3	6	10	11	12
細網細胞肉腫症(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
骨髓白血病(M)	3	2	1	1	3	1	0	2
呼吸器系								
肺：肺腺腫	6	9	11	7	5	4	3	4
肺腺癌(M)	3	8	8	5	6	6	4	3
鼻腔：扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
鼻粘膜：腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
消化器系								
胃：乳頭腫	0	0	0	0	0	0	1	0
腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
盲腸：腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
小腸：腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
肛門：腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
脾臓：島細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	2
肝臓：肝細胞腺腫	2	3	6	3	1	0	2	4
海綿状血管腫	0	3	0	1	0	0	1	0
肝細胞癌(M)	9	11	9	14	0	0	0	1
肝芽細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
悪性血管腫(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
悪性組織球腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
泌尿生殖器								
精巣：間細胞腫	0	0	1	1				
海綿状血管腫	0	0	1	0				
精巣上体：悪性血管腫(M)	0	1	0	0				
卵巣：黄体腫					0	1	0	0
子宮：平滑筋腫					1	2	2	1
平滑筋肉腫(M)					0	0	2	
子宮内膜肉腫(M)					0	0	0	1

有意差なし (Fisher の直接確立法)

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

表 1-3. (続き)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	42	42	52	40	42	41	40	40
内分泌系								
甲状腺：ろ胞状腺腫	1	0	0	0	1	1	0	0
副腎：皮膜下細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	1
皮質腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0
褐色細胞腫	0	0	2	0	0	0	0	0
下垂体：前葉腺腫	0	1	0	0	1	0	2	6
運動器系								
骨腫	0	0	0	1	0	0	0	1
悪性血管腫(M)	0	0	0	0	1	1	0	0
悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
皮膚・皮下								
腺維腫	0	1	0	0	0	0	0	0
海綿状血管腫	1	0	0	0	0	0	0	1
乳腺腺癌(M)	0	0	0	0	2	3	2	4
汗腺腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	1	1	0	0
腺維肉腫(M)	2	1	0	0	0	1	1	0
悪性血管腫・血管周囲細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	2	0	0	1
悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
リンパ肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性組織球腫(M)	0	0	0	1	1	0	0	0
悪性線維性組織球腫(M)	1	0	0	0	0	0	1	1
その他								
ハーダー腺：腺腫	3	4	3	2	1	2	0	1
脊椎：海綿状血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0
腹腔：悪性組織球腫(M)	0	1	1	0	0	0	0	1
肉腫 (判定不能) (M)	0	0	0	0	0	0	0	1

有意差なし (Fisher の直接確立法)

表 1-4. 腫瘍性病変の発生頻度 (全動物)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80
循環器系								
心臓：悪性血管腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ及び造血器系								
脾臓：海綿状血管腫	0	1	0	1	0	0	0	1
肥胖細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
悪性血管腫(M)	0	2	0	0	0	0	0	0
悪性組織球腫(M)	1	1	0	0	1	0	0	0
リンパ肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺：リンパ肉腫(M)	0	0	1	1	1	0	1	1
骨髄：形質細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	1
リンパ肉腫症(M)	4	3	10	5	8	12	15	15
細網細胞肉腫症(M)	1	0	0	0	0	1	0	0
骨髄白血病(M)	3	2	1	1	3	1	0	2
呼吸器系								
肺：肺腺腫	17	19	19	12	11	11	9	11
肺腺癌(M)	8	10	11	8	8	9	12	7
鼻腔：扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
鼻粘膜：腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
消化器系								
胃：乳頭腫	0	0	0	0	0	0	1	0
腺腫	2	0	0	0	0	0	0	0
盲腸：腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
小腸：乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0
腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
肛門：腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
膵臓：島細胞腺腫	0	1	0	0	1	0	0	2
膵管腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0
肝臓：肝細胞腺腫	8	14	11	18	2	2	5	5
胆のう乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0
海綿状血管腫	0	3	0	2	0	0	2	0
肝芽細胞腫(M)	0	1	1	0	0	0	0	0
肝細胞癌(M)	21	22	12	25	0	2	1	1
悪性血管腫(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
悪性組織球腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
泌尿生殖器								
腎臓：乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	1
腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
膀胱：平滑筋腫	0	0	1	0	0	0	0	0
精巣：間細胞腫	1	0	1	3				
海綿状血管腫	0	0	1	0				
精巣上部：悪性血管腫(M)	0	1	0	0				
卵巣：顆粒膜細胞腫					0	0	1	0
莖腺細胞腫					0	1	1	1
黄体腫					0	2	0	0
卵巣のう・卵管：								
頭腫・乳頭状腺腫					2	0	0	0
子宮：平滑筋腫					2	4	5	3
海綿状血管腫(M)					0	0	1	1
平滑筋肉腫(M)					0	1	2	2
子宮内膜肉腫(M)					0	2	0	1

有意差なし (Fisher の直接確立法)

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

表 1-4. (続き)

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80
内分泌系								
甲状腺：ろ胞状腺腫	1	0	0	0	1	1	0	0
ろ胞状腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
副腎：皮膜下細胞腫	0	0	0	0	0	1	1	1
皮質腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0
褐色細胞腫	0	0	2	0	0	0	0	0
皮膜腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
下垂体：前葉腺腫	0	4	1	2	2	5	6	8*
運動器系								
骨腫	0	0	0	1	0	0	0	1
骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
横紋筋肉腫(M)	1	1	0	0	0	0	1	0
悪性血管腫(M)	0	0	0	0	1	1	0	0
悪性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
皮膚・皮下								
腺維腫	0	1	0	0	0	0	0	0
乳腺腺腫	0	0	0	0	2	0	0	0
海綿状血管腫	1	0	0	0	0	0	0	1
乳腺腺癌(M)	0	0	0	0	5	4	2	5
汗腺腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	2	1	0	0
腺維肉腫(M)	3	1	0	0	0	1	1	0
悪性血管腫・血管周囲細胞腫(M)	0	1	0	0	1	0	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	2	0	0	1
悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
リンパ肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性組織球腫(M)	0	0	0	1	1	0	0	0
悪性線維性組織球腫(M)	1	0	0	0	0	0	1	2
その他								
ハーダー腺：腺腫	8	6	3	10	1	7*	2	4
脊椎：海綿状血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0
腹腔：海綿状血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0
脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
悪性組織球腫(M)	0	1	1	0	0	0	0	1
悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
肉腫(判定不能)(M)	0	0	0	0	0	0	0	1

* : $p < 0.05$ (Fisher の直接確立法)

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

表 2. 各群における腫瘍数および担腫瘍動物数

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80
腫瘍数	良性	40	52	40	48	24	36	34	43
	悪性	44	48	39	44	36	43	43	48
腫瘍総数		84	100	79	92	60	79	77	91
担腫瘍動物数		59	58	56	60	44	55	53	54

有意差なし (Mann Whitney の U 検定)

イヌにおける慢性毒性試験

(追加毒性資料 No. 5)

試験機関： バイエルコーポレーション[GLP 対応]

報告書作成年月日： 1998年6月22日

検体の純度：

試験動物： ビーグル犬（試験開始時6ヶ月齢以下）、1群雌雄各4匹

試験期間： 1年間（1996年9月～1997年9月）

試験方法：

検体を0、50、400、1000ppmとなるように均一に飼料(1%コーン油と少量のアセトン添加)に混ぜ1年間投与した。

用量設定根拠：本試験の投与量は6週間用量設定試験の結果に基づき決定した。当試験では検体を0、20、50、100、200、400、800、1200および3000ppmの用量で1匹/性/用量のイヌに6週間混餌投与し、その結果、1200および3000ppmで摂餌量および体重が減少すると共に血液学的変化および肝臓の病理組織学的変化が認められ投与の関連性が示唆された。

試験項目および試験結果：

1) 一般症状

全動物の外観と行動を毎日数回観察した。

何れの投与群とも検体に起因した影響は認められなかった。

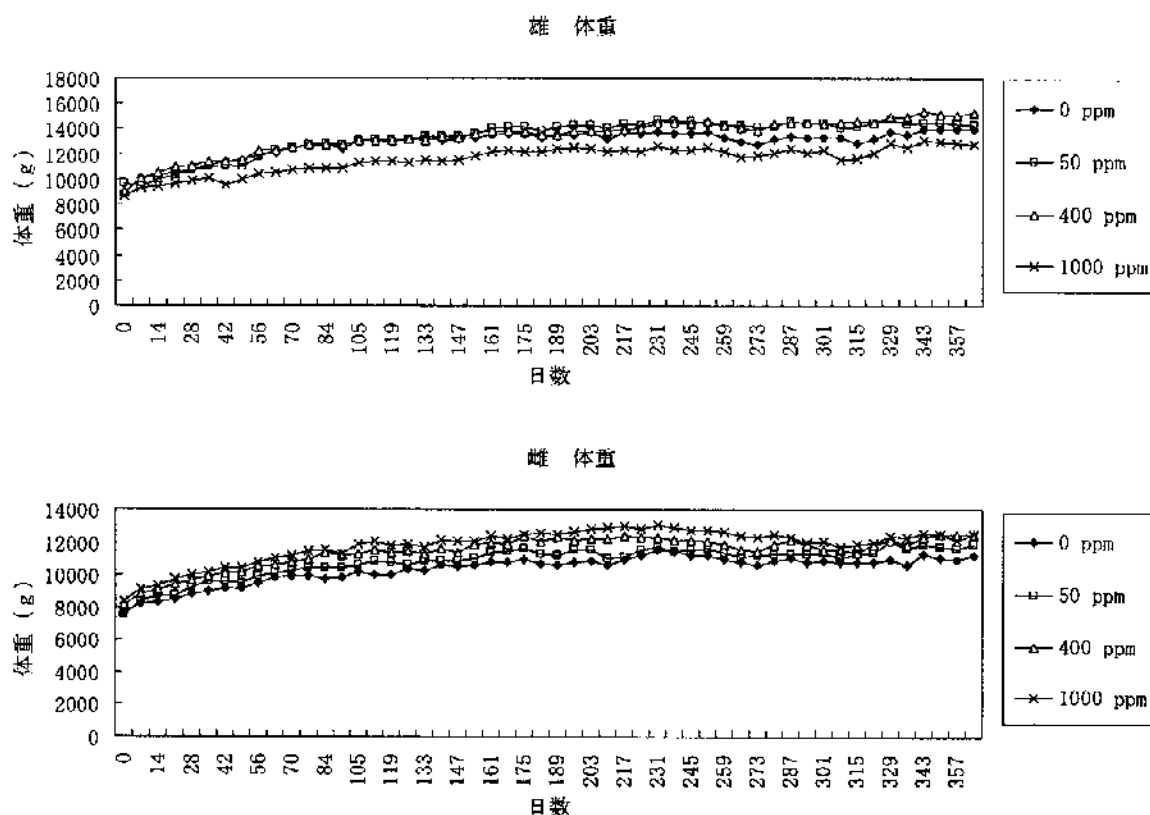
2) 死亡率

試験期間中、死亡例は認められなかった。しかし、1000ppm群の雄の1匹(JS3002)が進行性の元気消失および鼠径部感染からの滲出液がみられたために317日に切迫屠殺した。この動物の剖検では外部にも内部にも炎症所見がみられたが、検体に起因するものではなかった。

3) 体重変化

毎週体重を測定した。

体重増加は対照群に比較して1000ppm群の雄で低下傾向を示し投与の影響と考えられた。一方、投与群雌で対照群に比べ上昇傾向を示したがこの変動の毒性学的意義は不明である。



4) 摂餌量および検体摂取量

毎日、摂餌量を測定した。平均摂餌量は週毎に集計して比較した。何れの投与群とも摂餌量に対する影響は認められなかった。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)	雄	雌
0	—	—
50	1.31	1.23
400	11.0	11.3
1000	31.0	27.9

5) 眼科学的検査

全動物について、動物の試験開始前、投与後 6 ヶ月および実験終了直前に通常の眼科学的検査に加え眼内圧および角膜の厚みについて測定した。

その結果、何れの検査時期においても検体に起因する所見は認められなかった。

6) 臨床神経学的検査

各動物の一般行動、体位反応、歩行、脳神経反射、脊髄反射の神経学

的検査に加え、胸部聴診と直腸温について、試験開始前、投与6ヶ月と投与終了時に測定した。

何れの検査時期においても、検体に起因する所見は認められなかった。

7) 心電図および血圧

各動物のP波、R波、QRS時間について第II誘導により試験開始前、投与後6ヶ月と投与終了時に測定した。

何れの検査時期においても、検体に起因する所見は認められなかった。

8) 血液学的検査

検査開始前、投与後3、6、9および12ヶ月に血液を採取し、以下の項目を測定した。

白血球(WBC)、赤血球(RBC)、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット(Hct)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MHC)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、網状赤血球(Ret)、血小板(Plt)、赤血球形態、白血球百分率、ハインツ小体。

1000ppm群雌で赤血球およびヘモグロビンが3ないし9ヶ月に軽度に減少し赤血球系の極軽微な減少傾向を示唆する変化が認められた。ヘマトクリット値の変動は伴わなかった。

1000ppm群雌で血小板数が軽度に増加したが、血小板数の軽度増加による臨床的影響はなく毒性学的意義は不明である。

全ての投与群でMCV、MCHないしMCHCの低値が散発的に認められたが、同様の低値は投与前の動物にも認められ、1000ppm群雌の3および9か月を除いて赤血球やヘモグロビン量の減少を伴わず、生物学的に意義のない変動と考えられた。

400および1000群雄の6および9ヶ月に赤血球ヘモグロビン濃度分布幅(HDW)ないし赤血球容積分布幅(RDW)が有意に減少したが、赤血球数、ヘモグロビン数の変動を伴わず、個体間差による変動と考えられた。

表：統計学的に有意な変化が見られた所見

投与量(ppm)		50		400				1000				
検査月		6	12	(投与前)	3	6	9	12	3	6	9	12
雄	MCHC				↓98				↓96	↓98		↓97
	HDW					↓91	↓90			↓88	↓88	
	RDW						↓96				↓94	
雌	Hb								↓88		↓82	
	RBC										↓82	
	Plt								↑152		↑143	↑139
	MCV		↓95	↓95					↑106		↑103	↑103
	MCH	↓97	↓95	↓95		↓95		↓94				
	MCHC					↓97		↓97		↓96	↓97	↓98

表中の数値は対照群に対するパーセント。

↑ ↓ : p<0.05 (Student's T検定)

9) 血液生化学的検査

投与前、投与後 3、6、9、12 ヶ月後に全動物について血液を採取し、以下の項目を測定した：

アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、クレアチニンキナーゼ(CK)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、乳酸脱水素酵素(LDH)、総ビリルビン、胆汁酸、コレステロール、血糖(Glu)、クロライド(Cl)、クレアチニン、カルシウム(Ca)、カリウム(K)、ナトリウム(Na)、リン(P)、トリグリセライド、尿素、尿酸、総蛋白(Prot)、アルブミン(Alb)、グロブリン、トリヨードサイロニン(T3)、サイロキシシン(T4)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)

1000ppm 群雌で 12 ヶ月目の乳酸脱水素酵素が対照群と比較して統計学的に有意に高値を示した（対照群雌 91U/L に対し、1000ppm 群雌では 296U/L）。しかし、1000ppm 群における値は背景データの範囲内（104~368U/L）であったことから、この変動は本検体の影響とはみなさなかつた。

他に統計学的に有意な変動が投与群で散見されたが、偶発的変動であり投与の影響とは考えなかつた。

表：統計学的に有意な変化の認められた所見

投与量		50				400			1000			
検査月		3	6	9	12	3	6	9	3	6	9	12
雄	Na	↑ 101				↑ 101						
	P			↑ 115				↑ 110				
	Cl					↑ 102			↑ 102			
雌	LDH								(275)	(171)	(202)	↑ 325
	Glu				↑ 117							
	T3			↓ 77								
	T4									↑ 162		
	Prot			↓ 88								
	Alb		↓ 95							↑ 107		
	K						↑ 106			↑ 108		

表中の数値は対照群に対するパーセント。

↑ ↓: p<0.05(Student's T 検定)

10) 肝臓中酵素活性

剖検時、全動物から肝臓の一部を切除し、N-デメチラーゼ、O-デメチラーゼ、チトクローム P450 を測定した。

1000ppm 群雌雄で何れの測定値も高値傾向を示し、雄の N-デメチラーゼ活性および雌のチトクローム P450 では統計学的有意差が認められた。

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

性 用量(ppm)	雄			雌		
	50	400	1000	50	400	1000
N-デメチラーゼ			↑ 144			(150)
O-デメチラーゼ			(128)			(147)
チトクローム P450			(125)			↑ 155

表中の数値は対照群に対するパーセント。

↑ ↓ : p<0.05(Student's T 検定)

11) 尿検査性

投与前、投与後 3、6、9、12 ヶ月後に全動物について尿を採取し、外観、比重、ビリルビン、潜血、糖、ケトン体、pH、ウロビリノーゲン、白血球、蛋白、亜硝酸および尿沈渣を検査した。

検体投与に関連した変化は認められなかった。

12) 剖検所見

投与終了時に全動物を麻酔下で放血致死させ剖検した。

検体によると考えられる変化は認められなかった。

切迫屠殺した動物 JS3002 では外表および内部に炎症性所見が認められた。

13) 臓器重量

全例について、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、甲状腺、副腎、胸腺、脳、下垂体の重量を測定した。

1000ppm 群雌の肝臓重量が対照群に比べ増加傾向を示した（統計学的有意差なし）。

50 および 400ppm 群雄の甲状腺相対重量が対照群に比べ統計学的有意に減少したがこの変化は 1000ppm 群では認められず、雌でもその傾向が認められなかったことから偶発的変化と考えた。

表：臓器重量

性 用量(ppm)		雄			雌		
		50	400	1000	50	400	1000
肝臓	実重量						(128)
	比重量						(114)
甲状腺	比重量	↓ 70	↓ 72				

表中の数値は対照群に対するパーセント。

↑ ↓ : p<0.05(Student's T 検定)

10) 病理組織学的検査

全動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、脳幹）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、神経（視神経、坐骨神経）、心臓、大動脈、気管、肺、舌、食道、胃、小腸（十二指腸、

空腸、回腸)、盲腸、結腸、直腸、肝臓、胆のう、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、卵管、子宮、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨(胸骨、大腿骨、肋骨)、骨髄、胸腺、腸管膜リンパ節、咽頭後方リンパ節、唾液腺、皮膚、眼球、筋肉、乳腺および肉眼的異常組織

何れの投与群においても検体投与に起因すると思われる形態学的変化は認められなかった。

胸腺の強度萎縮が死亡例を含む 2/4 例の雄で認められた。これらの変化は同月齢のイヌで通常認められる程度に比べ著明であったが、臓器重量および臨床的測定項目等ではこの変化に関連した変化はなく、毒性学的重要性は低いものと考えられた。

腎臓乳頭部の管内小結石を有する鈣質沈着が大部分の動物で認められた。その頻度は対照群、50、400 および 1000ppm 群の雄でそれぞれ 1、2、3 および 4 例であったが、その程度は雌雄ともに対照群と同等であり、雌では対照群でも全例に変化が認められているため、投与に関連した変化とは判断しなかった。

表. 主な病理所見

項目	性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	400	1000	0	50	400	1000
	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
胆のう	リンパ球浸潤	4		4	3	1	2	4	1
脊髄	鈣質沈着		1		1	1	2	2	2
副腎	空胞化	1	1	1	3			2	1
腎臓	線維化						1		
	鈣質沈着	1	2	3	4	4	3	4	4
脾臓	うっ血							1	
	プラーク/ 鉄色素沈着		2		1		1		
肝臓	過形成						1		
	炎症/慢性		2					1	1
	色素沈着		1		1		1		
肺	炎症/慢性		1			1	1		1
	過形成			1					
上皮小体	のう胞		2	1					1
下垂体	のう胞	1	2				1		
	過形成			1					
前立腺	線維化				1				
胸腺	萎縮				2				
甲状腺	のう胞							1	
	変性	2	2	2	1	1	1	1	2
	C細胞過形成	1	1	3	3		3	3	1

統計学的有意差なし (χ^2 検定)

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

以上の結果から、1000ppm 群での体重増加抑制傾向（雄）、赤血球系の低値（雌）、肝酵素系の誘導、および肝臓重量の増加傾向（雌）が認められ、無毒性量は雌雄とも 400ppm（雄；11.0、雌；11.3 mg/kg/日）と判断された。

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

(11) 繁殖毒性及び催奇形性

ラットを用いた次世代（2世代）繁殖試験 （毒性資料. 19）

試験機関：（財）動物繁殖研究所

（財）残留農薬研究所

報告書作成年月日： 1984年7月6日

検体の純度：

試験動物： ウィスター今道ラット（投与開始時4週令）1群雌雄各30匹

世代数： 2世代、第2産児で継代

試験期間： （1982年5月～1983年10月）

投与方法： 薬剤を粉末飼料に0、10、100、1000ppmの濃度に添加して動物に投与した。

試験方法および試験項目：

試験方法の概略を次頁に示す。

F ₀	①交配前飼育	②交配	③妊娠	④哺育(F _{1a})	②交配	③妊娠	⑤哺育(F _{1b})
F ₁	①交配前飼育	②交配	③妊娠	④哺育(F _{2a})	②交配	③妊娠	⑥哺育(F _{2b})
F ₂	⑦飼育						

- ①： 13週間飼育。一般症状を毎日観察し、飼料摂取量と体重を週1回測定。1ケージ5匹の群飼育
- ②： 発情前期を示す雌と雄1:1で交配。交尾を確認。
- ③： 妊娠0、7、14、21日に体重を測定。早産と流産の有無の観察
- ④： 分娩後0、4、7、14、21日目に母体重を測定。新生児の体重を出産後0、4、7、14、21日目に測定。出産後4日目に原則として1腹あたり雌雄各4匹に調整。離乳時に哺育児を屠殺、剖検。各群雌雄各5匹で臓器重量の測定と病理組織学的な検査。
- ⑤： 分娩後0、4、7、14、21日目に母体重を測定。新生児の体重を出産後0、4、7、14、21日目に測定。出産後4日目に原則として1腹あたり雌雄各4匹に調整。離乳時に次世代への継代用に出産日が4日の範囲内で平均体重に近い動物を各群雌雄30匹を選抜。F₀世代の雄は交配終了後3週目、雌は哺育児の離乳日に屠殺、剖検。各群雌雄各20匹で臓器重量の測定。
- ⑥： 分娩後0、4、7、14、21日目に母体重を測定。新生児の体重を出産後0、4、7、14、21日目に測定。出産後4日目に原則として1腹あたり雌雄各4匹に調整。離乳時に生後発育検査用に出産日が4日の範囲内で平均体重に近い動物を各群雌雄15匹を選抜。F₁世代の雄は交配終了後2週目、雌は哺育児の離乳日に屠殺、剖検。各群雌雄各20匹で臓器重量測定と病理組織学的検査。
- ⑦： 13週間飼育。一般症状を観察し、飼料摂取量と体重を測定。1ケージ5匹の群飼育。13週間の飼育後に生存動物を屠殺、剖検。臓器重量測定。

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

試験結果：

世代		親：F0、 児：F1				親：F1、 児：F2				F2				
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	♂	30	30	30	30	30	30	30	30	15	15	15	15	
	♀	30	30	30	30	30	30	30	30	15	15	15	15	
親動物	一般観察													
	死亡率	♂	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/15	0/15	0/15	0/15
		♀	0/30	0/30	0/30	2/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/15	0/15	0/15	0/15
	体重	交配前	♂								抑制			抑制
			♀				抑制							抑制
		妊娠 哺育	♂								抑制	—	—	—
		♀				抑制				抑制傾向	—	—	—	—
	飼料摂取量	♂♀												
	飲水量	♂♀												
	検体採取量 (mg/kg/day)	♂	0	0.7	7.4	75.0	0	0.7	7.0	72.6	0	0.8	8.1	81.3
		♀	0	1.0	9.8	99.5	0	1.0	9.4	97.4	0	0.8	8.1	83.5
	交尾率 (雌雄)	a	30/30	30/30	30/30	29/29	30/30	30/30	30/30	30/30				
		b	29/30	29/30	29/30	29/29	29/30	28/30	30/30	30/30				
	妊娠率 (妊孕率)	a	30/30	29/30	29/30	29/29	29/30	28/30	29/30	30/30				
b		29/29	29/29	29/29	29/29	29/29	28/28	30/30	30/30					
妊娠期間 (日間)	a	22.4	22.3	22.1	22.1	22.4	22.3	22.5	22.1					
	b	22.0	22.0	22.0	22.0	22.1	22.1	22.1	22.0					
脾臓重量 mg	♂	847	840	774	↑1039	954	1018	934	↑1103	847	815	850	↑1029	
	♀	644	636	654	↑978	700	711	682	↑1083	583	543	563	↑667	
脾臓の色調 変化	♂	0/30	0/30	5/30	30/30	0/30	0/30	0/30	10/30	0/15	0/15	0/15	12/15	
	♀	0/30	0/30	0/30	29/29	0/30	0/30	1/30	30/30	0/15	0/15	1/15	15/15	
脾臓の褐色 色素沈着	♂	—	—	—	—	0/10	0/10	↑5/10	↑10/10	—	—	—	—	
	♀	—	—	—	—	2/20	7/20	↑16/20	↑20/20	—	—	—	—	
新生 児数	出生時 (生存児)	a	12.8	12.0	12.0	12.3	12.6	13.2	12.6	12.6				
		b	13.3	↓11.8	12.6	↓11.9	12.3	13.3	12.8	12.1				
	死産児	a	6	1	4	5	3	3	0	2				
		b	0	1	0	2	9a)	9	1	0				
	4日目 生存率	a	99.0	99.1	98.6	98.0	98.6	97.0	98.4	96.8				
		b	98.7	99.1	↓92.6	99.1	99.2	98.1	98.2	98.4				
	21日目 生存率	a	99.2	100.0	99.6	100.0	99.6	98.7	99.6	100.0				
		b	99.6	99.6	↓96.9	99.1	100.0	99.1	99.1	100.0				
性比 ♀/♂	a	0.91	1.07	0.96	0.92	0.98	0.93	1.12	1.12					
	b	0.93	0.86	0.98	1.20	1.07	0.92	1.10	1.04					
児動物	出生時	a			♂♀↑	♂↓								
		b		♀↑										
	4日目	a												
		b		♂♀↑		♀↑								
	7日目	a												
		b		♂♀↑		♀↑								
	14日目	a												
		b		♂♀↑	♀↑	♀↑						♂↑	♂♀↓	
	21日目	a												
		b		♂♀↑	♂♀↑	♀↑						♂♀↑	♂♀↓	
剖検所見 組織学的所見 (aのみ)														

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

(前ページ表 注釈)

交尾率=(交尾動物数/使用動物数)×100、 妊娠率、妊孕率=(妊娠動物数/交尾動物数)×100

4日目生存率=(4日目生存児数/出産時生存児数)×100、

21日目生存率=(21日目生存児数/4日目調整後生存児数)×100

↑↓:統計的に有意な変化(体重、摂餌量、飲水量、食餌効率、産児数、臓器重量; Studentのt検定またはAspin-Welch法、生殖能力指標、哺育児生存率、性比、病理組織所見頻度; χ^2 検定)

a:1回日の交配、 b:2回目の交配

—:実施せず、 空欄:変化なし

生存児=妊娠動物の1腹あたりの同腹生存児数、 性比:出生時の生産児による

死産児:出生時の総数 a:全死産児(6)の母動物1例を含む

1) 一般症状

検体投与に起因すると考えられる親動物の一般症状の変化と動物の死亡は認められなかった。1000ppm群の親動物の体重にはF₀世代の雌とF₁とF₂世代の雌雄で有意な増加抑制または抑制傾向が認められ、検体投与に起因した影響と考えられた。

2) 繁殖成績

雌雄の交尾率、妊娠率、妊孕率、妊娠期間には対照群に比較して各検体投与群とも有意な変動は認められなかった。

3) 新生児に対する影響

新生児の体重については、1000ppm群のF₂第1産児、第2産児で雌雄ともに哺育中に体重の増加抑制がみられた。新生児の出生時生存児数、4日生存率、21日生存率、性比について検体投与群で対照群に比較して有意な変動が散見されたが、投与量および世代で一定の傾向が認められなかったため、検体に起因した変化とは考えなかった。

4) 臓器重量

臓器重量の測定はF₀およびF₁世代の親動物(雄10匹/群、雌20匹/群)とF₂世代の動物(雌雄各15匹/群)および離乳児(F_{1a}とF_{2a}の雌雄各5匹/群)の肝臓、腎臓、肺、心臓、脾臓、脳、下垂体、副腎、精巣、卵巣、前立腺(腹葉)、子宮について行なった。また、体重を用いて体重比重量を算出した。

脾臓重量は、1000ppm群ではF₀、F₁、F₂世代の雌雄に有意な増加が認められた。

肝臓、腎臓、副腎、下垂体等に対照群に対して検体投与群で有意な変動が散発的に認められたが、各世代を通じ一定の傾向が認められなかったため検体の影響とは考えなかった。体重比重量では各世代を通じて脾臓を含む各臓器に有意な増加あるいは減少がみられたが、脾臓の増加以外はその変動は散発的であり、一定の傾向は認められなかった。

離乳児には脾臓を含む臓器で検体に起因する変化は認められなかった。

5) 剖検所見

F₀、F₁世代の親動物（2回の繁殖終了後）やF₂世代の動物（投与13週目）および各世代の児動物を屠殺し、肉眼的に検査した。

各世代の親動物の脾臓の色調の変化（暗赤褐色）が100ppm群で少数に、1000ppm群で高頻度に認められた。10ppm群では脾臓の色調の変化は認められなかった。その他にはほとんど異常所見は認められなかった。また、各世代の児動物には異常所見はみられなかった。

6) 病理組織学的検査

F₁世代の親動物（雄10匹/群、雌20匹/群）とF_{1a}やF_{2a}（雌雄各5匹/群）の重量測定臓器に加え顎下腺、甲状腺、眼球、胸腺、脾、胃、十二指腸、空腸、盲腸、膀胱、精囊、精巣上体、リンパ節（頸部および腸間膜）、腓腹筋、大腿骨について病理組織学的に検索した。

F₁親動物の脾臓に軽度ないし中程度の褐色色素沈着が、100ppm群と1000ppm群の雌雄で有意な出現頻度で認められた。10ppm群と離乳児の脾臓には統計学的有意な変化は認められなかった。その他の臓器に病変が認められたが、散発的で検体に起因する変化ではなかった。また、児動物の臓器には異常所見はみられなかった。

以上の結果、親動物に対し雌雄とも100ppm以上で脾臓への影響、1000ppmで体重増加抑制が認められ、新生児に対しては雌雄とも1000ppmで体重への影響が認められたことから、本試験における検体の無毒性量は以下のとおりと判断される。

無毒性量：

		ppm	mg/kg/day		
			F ₀	F ₁	F ₂
親動物	雄	10ppm	0.7	0.7	0.8
	雌	10ppm	1.0	1.0	0.8
新生児	雄	100ppm	—	7.4	7.0
	雌	100ppm	—	9.8	9.4

繁殖機能への影響は最高用量の1000ppmにおいても認められなかった。

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

ラットを用いた催奇形性試験

(毒性資料. 20)

試験機関： (財)動物繁殖研究所
(財)残留農薬研究所

報告書作成年月日： 1984年6月20日

検体の純度：

試験動物： ウィスター今道ラット（投与開始時、雄13週令、雌10週令）
1群妊娠雌20匹、雄80匹使用

試験期間： 器官形成期投与（1982年9月～11月）

投与方法：

検体は0.5%CMCに懸濁し、動物には5ml/kgの容量で0(対照群)、40、200、1000mg/kgの投与量を、妊娠6日目から15日目までの10日間毎日1回経口投与した。妊娠21日目に頸椎脱臼法により動物を屠殺し、検査した。

交尾後から屠殺までの間、母動物について一般症状は毎日観察し、体重は0、6、15、21日に測定し、飼料摂取量は妊娠6、15、21日目に測定した。

動物の屠殺時には、妊娠黄体数、着床数、死亡胚・死亡胎児数、生存胎児数について検査した。

生存胎児については、摘出時に性別、体重、外表奇形を観察し、その後各腹の半数の胎児をブアン氏液に固定し、残りの半数の胎児を99%メタノールに固定した。前者はWILSON法により内臓検査を実施し、後者はアリザリンレッドで染色後骨格検査に供した。胎盤重量も測定した。

母動物は胎児摘出後、肉眼的異常の有無を記録し、脾臓の重量を測定した。

試験結果：

投与量 mg/kg		0	40	200	1000	
妊娠動物数		20	20	20	20	
母動物	一般症状					
	死亡率					
	飼料摂取量				投与期間中有意な低下	
	飲水量					
	体重				投与期間中低下傾向	
	剖検所見				脾臓の暗赤色化	
	脾臓重量 (mg)	613	597	776***	996***	
	胎盤重量 (mg)	5515	5540	5925	5002	
	着床所見	黄体数 ^a	16.1	16.0	17.7*	17.2
		着床数 ^a	14.8	15.2	16.0*	15.9*
着床率 ^d		92	95	90	92	
吸収胚数 ^b		10	19	13	34	
死亡胎児数 ^b		5	2	4	40	
死亡胎児率 ^c		5.1	6.9	5.3	23.3***	
生存胎児数 ^a		14.0	14.1	15.1*	12.2	
雌/雄		138/142	142/140	142/160	122/121	
胎児	体重(g) ♂	5.1	5.1	5.1	4.8***	
	♀	5.4	5.4	5.4	5.1***	
	外表異常	矮小児、痕跡尾児 各1例	矮小児 1例	皮下出血児1例	矮小児、皮下出血児 各1例	
	骨格異常	椎弓癒合 2例	椎弓癒合 1例	椎弓癒合+椎弓欠損、椎弓低形成 各1例	椎弓低形成1例	
			胸骨椎非対称 1例		14肋骨1例 胸骨椎非対称 2例	
	化骨状態					
	仙尾椎数	12.2	11.9	11.7*	11.7**	
	内臓異常				右心臓症 1例	
	尿管拡張	12	14	35***	27***	

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001 (Student の t 検定または Aspin-Welch 法、および χ^2 検定)

a : 1 匹の妊娠動物あたり

b : 総数

c : 総着床数に対する百分率 d : 着床数/黄体数×100

空欄 : 異常なし

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

検体投与に関連する変化として、1000mg/kg 群で母動物の摂餌量減少、脾臓の色調変化と重量増加、胎児死亡率の上昇および胎児体重の減少が認められた。脾臓の重量の増加は、200mg/kg 群でも認められた。胎児死亡率については、検体の直接的な影響かどうかは不明であったが、当該用量で母動物に影響が認められていることから、それに伴う二次的な影響である可能性が考えられた。胎児体重減少については、化骨仙・尾椎数にも減少がみられることから胎児の子宮内における発育が遅延した可能性が考えられた。

200mg/kg 群での黄体数、生存胎児数および 200g/kg 以上で着床数が有意に増加したが、用量との関連性は認められず、着床率については対照群と差がなかったことから投与の影響とは考えられなかった。

胎児の奇形学的検査においては、外表、骨格および内臓の各検査を通じて検体の影響と考えられる奇形は認められなかった。200mg/kg および 1000mg/kg 群で尿管拡張を示す胎児の出現頻度が有意に高かったが、本系統ラットで比較的高頻度で観察される変化であり検体に起因した変化とは考えられなかった。

以上の結果より、本試験における無毒性量は母動物では 40mg/kg/日、胎児では 200mg/kg/日と判断された。催奇形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及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
ウサギを用いた催奇形性試験

(毒性資料, 21)

試験機関： (財)動物繁殖研究所
(財)残留農薬研究所

報告書作成年月日： 1984年6月20日

検体の純度：

試験動物： ニュージーランドホワイト系ウサギ (試験開始時6ヶ月令)
1群15、16匹の交尾雌

試験期間： 器官形成期投与 (1982年11月~1983年1月)

投与方法：

検体は0.5%CMCに懸濁し、動物には10ml/kgの容量で0(対照群)、50、200、800mg/kgの投与量を、妊娠6日目から18日目まで毎日1回経口投与した。なお、投与量は非妊娠ウサギに0、500、1000、5000mg/kgを14日間投与したとき、1000と5000mg/kg群で摂餌量の顕著な減少に伴う体重増加抑制がみられたことから、最高投与800mg/kgとした。妊娠28日目に空気栓塞法により動物を屠殺し、検査した。

妊娠期間中、母動物について一般症状は毎日観察し、体重は0、6、9、12、15、18、21、28日に測定し、飼料摂取量は体重測定日(妊娠0日を除く)に測定した。

動物の屠殺時には、黄体数、着床数、死亡胚・死亡胎児数、生存胎児数について検査した。

生存胎児については、摘出時に性別、体重、外表奇形を観察し、その後各腹の半数の胎児をブアン氏液に固定し、残りの半数の胎児を99%メタノールに固定した。前者はWILSON法により内臓検査を実施し、後者はアリザリンレッドで染色後骨格検査に供した。胎盤重量も測定した。

母動物は胎児摘出後、肉眼的異常の有無を記録し、脾臓の重量を測定した。

試験結果：

投与量 mg/kg		0	50	200	800
交尾動物数		15	15	15	16
不妊動物数		3	3	3	4
切迫屠殺動物数		0	0	0	1
検査妊娠動物数		12	12	12	10
母動物	一般症状				
	体重				
	飼料摂取量				
	剖検所見				
	脾臓重量 (mg)	1615	1350	1179*	1141*
	胎盤重量 (g)	43.7	36.4	43.4	44.9
	着床所見				
	黄体数 ^a	8.7	8.1	8.6	8.4
	着床数 ^a	7.8	6.4	7.7	7.2
	吸収胚数 ^b	6	2	4	0
死亡胎児数 ^b	1	2	1	1	
生存胎児数 ^a	7.3	6.1	7.3	7.1	
雌/雄	45/42	33/40	48/39	40/31	
胎児	体重(g) ♀	42.2	43.4	39.4	41.5
	♂	43.7	43.5	40.8	43.2
	外表異常(%)			頭蓋脊椎裂、 矮小児 各1例	矮小児 1例
	骨格異常				胸骨癒合+肋骨癒合、肋骨分岐各1例
	化骨状態				
内臓異常	心臓室中隔欠損 1例				

* : p<0.05 有意差あり(Studentのt検定またはAspin-Welch法、および χ^2 検定)

a : 1匹の妊娠動物あたり

b : 総数

空欄 : 異常なし

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

各投与群とも検体に起因するとみられる一般症状、体重および飼料摂取量の変化は認められなかった。200mg/kg と 800mg/kg で脾臓重量の有意な減少が認められたが、検体との関連性は明らかではなかった。

死亡胎児数、生存胎児数、性比、胎児体重、胎盤重量についても検体に起因した変化は認められなかった。外表異常、骨格異常、骨格変異、内臓異常が散発的に発生したが、検体に起因した影響とは認められなかった。また、化骨の遅延も認められなかった。

以上の結果より、本試験における無毒性量は母動物、胎児とも 800mg/kg/day と判断された。催奇形性は認められなかった。

(12) 変異原性

細菌を用いた変異原性試験

(毒性資料 No. 22)

試験機関：(財)残留農薬研究所 毒性部

報告書作成年月日：1981年3月27日

検体の純度：

試験系：細菌(枯草菌、大腸菌、サルモネラ菌)

(i) Rec-assay

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、この両株の-80℃保存株を融解後、小型ピペットを用いてB-2寒天培地上に出発点が接触しないようにストリークした。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)で希釈し、その0.02mlを染ませた直径10mmの濾紙をストリークの開始点を覆うように置いた。37℃で一夜培養後、阻止帯の長さを測定した。陰性対照としてDMSO、カナマイシン、陽性対照としてマイトマイシンCを用いた。

試験結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域(mm)		差(mm)
		M-45	H-17	
陰性対照 (DMSO)		0	0	0
メフェナセット	20	0	0	0
	50	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
	5000	0	0	0
カナマイシン	10	8.5	6.5	2
マイトマイシンC	0.1	10	1.5	8.5

上表に示したように、本検体において両株に全く生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCでは組換修復機構保

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

持株に比し修復機構欠損株に著明な生育阻止帯を生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上の結果より、本剤には DNA 損傷性はないものと判断される。

(ii) 復帰変異性試験

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の 5 株およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli*) の 1 株を用い、PCB で酵素誘導したラット肝から調製した薬物代謝酵素系の非存在下および存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

試験結果： 次表に示したように、本検体ではいずれの場合においても対照に比べ復帰変異コロニーの増加は認められなかった。陽性対照として用いた AF-2、ENNG (N-エチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン)、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また、2-アミノアントラセンは S-9 Mix を加えることにより活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

以上の結果から、本検体には突然変異誘発作用はないものと判断される。

結果

薬剤	濃度 μg/プレート	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対交換型			フレームシフト型			
			WP2hcr ⁻	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	17	9	127	17	20	56	
			25	6	138	14	13	43	
メフェナ セット	10	-	16	5	123	13	9	41	
			7	10	138	7	15	47	
	50	-	11	4	142	13	15	52	
			14	6	114	18	15	46	
	100	-	13	9	132	18	17	46	
			21	11	129	20	16	14	
	500	-	13	5	115	16	17	34	
			26	10	129	9	10	39	
	1000	-	25	5	122	9	24	41	
			28	8	119	7	11	45	
5000	-	21	7	127	3	14	20		
		21	7	134	6	19	27		
溶媒対照 (DMSO)	0	+	24	7	118	4	38	43	
			18	8	136	7	36	34	
メフェナ セット	10	+	25	6	138	8	29	34	
			26	2	115	3	33	39	
	50	+	18	10	161	5	37	46	
			18	4	159	3	42	35	
	100	+	20	10	145	2	33	51	
			25	6	136	8	22	47	
	500	+	19	7	142	7	19	41	
			16	8	138	6	26	32	
	1000	+	19	10	130	2	17	36	
			17	7	143	2	17	28	
5000	+	22	4	121	4	19	24		
		12	4	132	5	19	17		
陽性対照	2-アミノアン トラセン	-	μg/プレート	40	2	0.5	2	0.5	0.5
			18	5	131	16	17	41	
	+	16	10	133	19	18	35		
		500	210	504	118	230	211		
	a)~f)	-	488	228	436	116	192	183	
			a) 728	b) 1508	c) 398	d) 1415	e) 442	f) 332	
			699	1148	348	909	324	302	

- a) 0.04μg/プレート AF-2
- b) 10μg/プレート ENNG
- c) 0.01μg/プレート AF-2
- d) 80μg/プレート 9-アミノアクリジン
- e) 2μg/プレート 2-ニトロフルオレン
- f) 0.1μg/プレート AF-2

微生物における突然変異誘発性試験

(毒性資料 No. 23)

試験機関： 日本特殊農薬製造(株) 農薬研究所

報告書作成年月日： 1981年4月9日

検体の純度：

試験系： 細菌 (枯草菌、大腸菌、サルモネラ菌)

(i) Rec-assay

試験方法： 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株(H - 17) と欠損株 (M - 45) を用い、この両株の一晩培養液を、小型ピペットを用いて固形寒天培地上に出発点が接触しないようにストリークした。なお、供試検体はジメチルスルホキシド (DMSO) で希釈した。

検体希釈液を 0.02ml を染ませた直径 10mm の濾紙をストリークの開始点を覆うように置き、4℃で冷蔵庫内に放置後、37℃で一晩培養後、阻止帯の長さを測定した。陽性対照として AF - 2 を用いた。

試験結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域(mm)		差 (mm)
		M - 45	H - 17	
検体	200	0	0	0
AF - 2	0.2	19	5	14

表に示したように、本検体において両株に全く生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照として用いた AF - 2 では組換修復機構保持株に比べ修復機構欠損株に著明な生育阻止帯を生じた。

以上の結果より、本剤には DNA 損傷性はないものと判断される。

(ii) 復帰変異性試験

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (Salmonella typhimurium) の 5 株およびトリプトファン要求性大腸菌 (Escherichia coli) の 1 株を用い、PCB で酵素誘導したラット肝から調製した薬物代謝酵素系の非存在下および存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

試験結果： 次表に示したように、本検体ではいずれの場合においても対照に比し復帰変異コロニーの増加は認められなかった。陽性対照として用いた AF-2、 β -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また、2-AAF は S-9 Mix を加えることにより活性化され、試験に用いた株に著明な復帰変異を誘起した。

以上の結果から、本検体には突然変異誘発作用はないものと判断される。

結果表.

薬剤	濃度 μg/プレート	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対交換型			フレームシフト型		
			WP2her ⁻	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)	0	-	14	16	173	2	14	20
			25	4	200	3	4	28
メフェナ セット	10	-	21	11	136	3	10	17
			22	21	153	3	7	29
	50	-	28	20	158	5	8	14
			29	14	175	4	14	20
	100	-	15	23	183	3	18	24
			14	17	137	4	9	19
	500	-	17	6	126	5	9	24
			18	15	163	2	3	27
	1000	-	*	23	*	*	*	*
			*	*	*	*	*	*
5000	-	*	*	*	*	*	*	
		*	*	*	*	*	*	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	15	2	193	1	17	43
			16	7	174	3	14	27
メフェナ セット	10	+	15	0	168	2	19	25
			10	1	183	3	11	23
	50	+	11	21	154	3	1	54
			12	20	172	0	13	28
	100	+	8	7	170	4	1	21
			19	3	163	1	0	30
	500	+	20	3	168	4	0	28
			15	8	122	1	0	28
	1000	+	17	5	148	1	9	20
			21	8	141	1	7	25
5000	+	*	*	*	1	*	*	
		*	*	*	*	*	*	
陽性対照 2-AAF	50	+			>500			>500
					>500			>500
陽性対照 a)~f)		-	a >300	b >500	c >500	d >500	e >500	f 168
			>300	>500	>500	>500	>500	>500

a) 0.20μg/プレート AF-2

c) 0.10μg/プレート AF-2

e) 50μg/プレート 2-ニトロフルオレン

2-AFF: 2-アセチルアミノフルオレン

b) 200μg/プレート β-プロピオラクトン

d) 50μg/プレート 9-アミノアクリジン

f) 0.05μg/プレート AF-2

*: 生育抑制のため算定せず。

マウスを用いた小核試験

(毒性資料 No. 24)

試験機関： バイエル社 毒性研究所 (ドイツ)

報告書作成年月日： 1983年5月30日

検体の純度：

試験動物： NMRI系マウス (試験開始時約8~12週令)、1群雌雄各5匹

試験期間： 72時間 (1983年3月21日~4月8日)

試験方法：

試験検体を3%クレモホアで懸濁し、雌雄各15匹のマウスに対して10000mg/kg 1回経口投与した。投与後24、48、72時間にそれぞれ雌雄各5匹のマウスを断頭により屠殺し、大腿骨の骨髓を摘出した。陰性対照は懸濁剤のみを、陽性対照としてエンドキサン58mg/kgを経口投与した。陰性対照群と陽性対照群の屠殺は24時間後のみ行なった。投与容量は、陰性対照と試験検体は30ml/kgとし、陽性対照群では10ml/kgとした。

検査用の標本はSchmidの方法により作製し、光顕下で各種の赤血球数を算定した。

試験結果：

試験群	算定した多染性赤血球総数	1000個の多染性赤血球あたりの正染性赤血球数	小核を有する細胞数	
			1000個の正染性赤血球あたり	1000個の多染性赤血球あたり
陰性対照群	10000	573	2.3	2.4
メフェナセット 24時間屠殺	10000	535	2.5	2.4
メフェナセット 48時間屠殺	10000	770	1.8	2.0
メフェナセット 72時間屠殺	10000	518	2.2	1.2
陽性対照 エンドキサン 58mg/kg	10000	605	2.1	25.2*

* : Wilcoxon の順位和検定で $P < 0.01$ で有意差あり

1) 一般症状

メフェナセット 10000mg/kg を投与した動物には中毒症状は認められず、死亡例もなかった。

2) 突然変異誘発性

突然変異誘発性の評価に意味のある小核を有する多染性赤血球について、メフェナセット 10000mg/kg 投与後の 24、48、72 時間での検査ではそれぞれ 2.4/1000、2.0/1000、1.2/1000 と対照群に比較して有意な増加は認められなかった。しかし、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の増加が認められた。

小核を有する正染性赤血球数はメフェナセット投与群と陽性対照群とも有意な増加を認めなかった。

3) 赤血球産生能

赤血球産生能の指標としての多染性赤血球の正染性赤血球に対する比率について、メフェナセット投与群と陽性対照群とも有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、メフェナセットには突然変異誘発作用も赤血球産生抑制作用もないものと判断される。

雄マウスにおける優性致死試験

(毒性資料 No. 25)

試験機関： バイエル社 毒性研究所 (西独)

報告書作成年月日： 1984年6月7日

検体の純度：

試験動物： NMRI系マウス (試験開始時約8~12週令)

1群雄50匹、雌480匹

試験期間： 48日間交配 (1984年5月2日~7月1日)

試験方法：

検体を3%クレモホアに懸濁し、雄マウスに10000mg/kgを1回経口投与した。対照群には3%クレモホア液を30ml/kg投与した。投与した雄マウスに4日間毎に1匹の無処置の雌マウスと交配し、12回連続した。

妊娠約14日目に雌を屠殺し、子宮を検査し、黄体数、着床数、生存胚数、死胚数を測定した。

試験結果：

1) 一般症状

雄マウスには10000mg/kgの1回経口投与後に障害的な症状を呈すことなく、死亡例も認められなかった。

2) 優性致死試験

交配期	受精率		黄体数/1腹		着床数/1腹	
	対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群
	① ②	① ②				
1	43/50	41/50	14.2	14.0	13.1	13.2
2	41/50	45/50	13.3	13.8	12.2	13.0
3	43/50	45/50	12.6	12.8	11.7	12.3
4	46/50	43/50	12.7	12.7	11.3	11.2
5	42/49	43/50	13.6	13.4	13.1	11.9
6	44/49	38/50	13.1	13.8	12.4	12.7
7	46/50	40/50	13.3	14.5	12.6	13.9
8	42/50	41/50	12.9	12.7	12.2	11.1
9	39/50	41/50	13.3	12.7	12.1	11.0
10	43/50	40/50	13.1	13.8	12.1	13.1
11	39/50	38/50	13.3	13.5	12.4	12.4
12	45/50	47/50	13.1	13.4	12.1	12.4
1 - 12	513/598	502/600	13.2	13.4	12.3	12.4

①：受精雌数

②：交配雌数

交配期	着床前死胚		生存胚数/1 腹		死胚数/1 腹	
	対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群
1	1.09	0.78	12.6	↓12.0	0.49	↑1.24
2	1.10	0.80	11.4	11.7	0.83	↑1.29
3	0.86	0.44	10.5	11.5	1.28	0.84
4	1.37	1.53	10.3	10.4	1.00	0.79
5	0.55	1.49	12.5	11.0	0.64	0.93
6	0.70	1.05	11.6	11.7	0.86	1.03
7	0.76	0.57	11.8	13.0	0.74	0.90
8	0.69	1.51	11.5	10.4	0.62	0.73
9	1.23	1.63	11.4	10.5	0.72	0.54
10	1.00	0.67	11.3	11.8	0.81	1.25
11	0.92	1.11	11.3	11.5	1.10	0.92
12	1.07	1.00	11.4	11.8	0.69	0.60
1 - 12	0.95	1.05	11.5	11.4	0.81	0.92

↑：統計的に有意な増加

↓：統計的に有意な減少

受精率、黄体数、着床前死胚数に対しては薬剤の影響は認められなかった。

死胚数には第 1 交配期と第 2 交配期で薬剤投与群に有意な増加が認められたが、対照群の数値が低値であったことによる有意差であって、生物学的には意味のある差ではなかった。同様に第 1 交配期での生存胚数の有意な低下が薬剤投与群で認められたが、生物学的に意味のある差ではなかった。

以上の結果から本薬剤には突然変異誘発作用はないものと判断される。

培養細胞における in vitro 染色体異常試験

(追加毒性資料 No.1)

試験機関： 残留農薬研究所 毒性部 [GLP 対応]

報告書作成年月日： 1986年10月9日

検体の純度：

供試生物： チャイニーズハムスター肺由来の継代培養細胞株 (CHL 細胞)

試験方法：

- ・ 検体の調製

検体と陽性対照のベンツピレン (B(a)P) をジメチルスルホキシド (DMSO) に、マイトマイシン C (MMC) はハンクス液に溶解した。

- ・ 染色体異常試験

- ① 直接法

10cm のシャーレに 1×10^6 の CHL 細胞を植え、24 時間後に薬液をプレートに添加した。増殖抑制試験から決定した試験濃度は、 3.3×10^{-4} 、 1.0×10^{-4} (約 50% の増殖抑制)、 3.3×10^{-5} 、 1.0×10^{-5} 、 $3.3 \times 10^{-6} M$ の 5 濃度とした。溶媒対照として DMSO (最終濃度 0.5%) のみを添加する群、陽性対照の MMC の $6.0 \times 10^{-7} M$ の群を設定した。

薬液添加 24 時間と 48 時間後に通常の空気乾燥法により染色体標本作製した。試験は各濃度各標本作製時とも 2 枚のプレートで行なった。

- ② 代謝活性化法

S-9 分画は PCB の 500mg/kg を 1 回腹腔内投与したラットの肝から調製した。

1×10^6 の CHL 細胞を 10cm のシャーレに植え、24 時間後に薬液と S-9 Mix を同時にプレートに添加し、6 時間後に培地を新鮮なものに交換した。その 12 時間と 18 時間後に通常の空気乾燥法により染色体標本作製した。試験濃度は、 3.3×10^{-4} (約 50% の増殖抑制)、 1.0×10^{-4} 、 3.3×10^{-5} 、 1.0×10^{-5} 、 $3.3 \times 10^{-6} M$ の 5 濃度とした。溶媒対照として DMSO (最終濃度 0.5%) のみを添加する群、代謝活性化の陽性対照の B(a)P の $1.5 \times 10^{-4} M$ の群を設定した。試験は各濃度各標本作製時とも 2 枚のプレートで行なった。

- ・ 染色体分析

顕微鏡下で各プレートあたり 50 個、また各濃度各標本作製時間につき 100 以上の中期分裂像を観察した。染色体異常の出現頻度の計測にあたって何らかの異常が 1 個でも存在する細胞を異常細胞とした。異常細胞出現率 5% 未満を陰性、5% 以上 10% 未満を疑陽性、10% 以上を陽性とした。

なお、細胞 1000 個に占める中期分裂像の出現頻度を算出し、分裂頻度とした。

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

試験結果：①染色体異常試験—直接法

薬剤	濃度 (M)	観察細胞数	出現頻度		分裂頻度 (%)	染色体型異常			染色体型異常			断片	細粉化	その他	
			異常分裂像	ギャップの みを有する 異常分裂像		ギャップ	切断	交換	ギャップ	切断	多動原体				
24 時 間															
メフエナセント	3.3	100	0 (1.0)	0 (1.0)	1.8 (1.7)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\times 10^{-4}$	100	2	2	1.5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	100	0 (0.5)	0 (0.5)	3.5 (3.4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\times 10^{-4}$	100	1	1	3.3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3.3	100	2 (1.0)	1 (0.5)	3.9 (3.9)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	$\times 10^{-5}$	100	0	0	3.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.0	100	0 (0)	0 (0)	4.6 (4.6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	$\times 10^{-5}$	100	0	0	4.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3.3	100	0 (0)	0 (0)	3.7 (3.5)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	$\times 10^{-6}$	100	0	0	3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
MMC	6.0	50	52 (62)	0 (2.0)	0.5 (0.8)	4	36	30	2	0	0	4	10	0	0
	$\times 10^{-7}$	50	72	4	1.0	6	56	30	0	0	2	4	24	0	0
溶媒 対照	0	100	1 (0.5)	1 (0.5)	4.6 (4.6)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	4.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理	0	100	0 (0)	0 (0)	3.8 (4.4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	4.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48 時 間															
メフエナセント	3.3	100	2 (1.5)	1 (0.5)	0.4 (0.7)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	$\times 10^{-4}$	100	1	0	0.9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	100	0 (0)	0 (0)	1.0 (0.9)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\times 10^{-4}$	100	0	0	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3.3	100	0 (0)	0 (0)	1.5 (1.5)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\times 10^{-6}$	100	0	0	1.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.0	100	0 (0.5)	0 (0.5)	1.4 (1.6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	$\times 10^{-5}$	100	1	1	1.7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
3.3	100	0 (0)	0 (0)	2.2 (2.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	$\times 10^{-6}$	100	0	0	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
MMC	6.0	50	64 (65)	4 (5.0)	1.8 (1.7)	10	22	16	0	0	4	16	20	4	0
	$\times 10^{-7}$	50	66	6	1.6	10	46	28	0	0	0	12	24	0	2
溶媒 対照	0	100	0 (0)	0 (0)	1.7 (2.0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理	0	100	0 (0)	0 (0)	2.5 (2.6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

() : 平均値

MMC : マイトマイシン C

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

試験結果：②染色体異常試験—代謝活性化法

薬剤	濃度 (M)	観察細胞数	出現頻度		分裂頻度 (%)	染色体型異常			染色体型異常			断片	細胞粉化	その他	
			異常分裂像	ギャップのみを有する異常分裂像		ギャップ	切断	交換	ギャップ	切断	多動原体				
1 2 時 間															
メフエナセット	3.3 × 10 ⁻⁴	100	3 (3.5)	0 (0.5)	1.8 (2.0)	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0
		100	4	1	2.2	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0
	1.0 × 10 ⁻⁴	100	0 (0.5)	0 (0)	2.0 (3.0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	1	0	3.9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	3.3 × 10 ⁻⁵	100	1 (0.5)	1 (0.5)	2.7 (2.7)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.0 × 10 ⁻⁵	100	1 (0.5)	0 (0)	3.8 (3.0)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	100	0	0	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3.3 × 10 ⁻⁶	100	0 (0.5)	0 (0.5)	2.1 (2.9)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100	1	1	3.7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
B(a)P	1.5 × 10 ⁻⁴	50	58 (58)	0 (0)	1.1 (1.1)	8	24	52	2	0	0	10	6	0	0
		50	68	0	1.0	2	18	44	0	0	0	8	12	0	0
溶媒対照	0	100	0 (0)	0 (0)	3.1 (2.7)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理	0	100	1 (0.5)	1 (0.5)	2.8 (2.3)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	1.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 8 時 間															
メフエナセット	3.3 × 10 ⁻⁴	100	3 (3)	0 (0)	3.0 (3.2)	0	2	3	0	0	0	1	0	0	0
		100	3	0	3.3	0	1	2	0	0	0	2	1	0	0
	1.0 × 10 ⁻⁴	100	0 (1.0)	0 (0)	2.7 (3.8)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	2	0	4.9	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	3.3 × 10 ⁻⁵	100	0 (1.0)	0 (1.0)	2.9 (3.7)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	2	2	4.4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.0 × 10 ⁻⁵	100	0 (0.5)	0 (0.5)	4.1 (3.5)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100	1	1	2.8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3.3 × 10 ⁻⁶	100	1 (1.0)	1 (1.0)	4.1 (4.3)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100	1	1	4.5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
B(a)P	1.5 × 10 ⁻⁴	50	44 (44)	0 (1.0)	1.0 (1.3)	4	14	34	0	0	2	10	4	0	0
		50	44	2	1.5	2	16	36	0	0	0	4	6	0	0
溶媒対照	0	100	1 (0.5)	1 (0.5)	3.6 (3.4)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	3.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理	0	100	0 (0)	0 (0)	4.2 (4.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	4.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

() : 平均値

B(a)P : ベンツピレン

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

直接法、代謝活性化法のいずれにおいても染色体異常を有する細胞の出現頻度は5%を越えなかった。

直接法でのMMCと代謝活性化法でのB(a)Pのいずれの陽性対照とも染色体異常誘発性が確認された。

従って、本検体は染色体異常誘発性を有しないものと判断された。

(13). 生体機能に及ぼす影響

(毒性資料 No. 26)

試験機関： 日本特殊農薬製造株式会社 農薬研究所
報告書作成年月日： 1983年6月13日

検体の純度：

試験動物： SD系ラット雄（7週令）

1群5匹（これ以外の時には表中に明示）

日本白色ウサギ雄（体重1.5~2.0kg）

1群4匹（これ以外の時には表中に明示）

I. ラットに対する一般症状

投与方法： 5000mg/kgの経口投与、1群5匹

観察方法： IRWIN法

観察は投与前1時間、投与後1、3、6時間、1、3、7日目に実施した。
外徴、行動パターン、反応性、反射性に特記すべき変化は認められなかった。

II. 中枢神経系に対する作用

・ ラットの正常体温

投与方法： 5000mg/kgの経口投与、1群5匹。比較対照としてアセトアニリド500mg/kgを3匹に投与。

観察方法： ラット用サーミスターで直腸温を測定。

投与量 mg/kg	投与前	投与後					
		1時間	3時間	6時間	1日	3日	7日
5000 (5)	37.2	37.4	37.3	37.4	37.6	37.5	37.3
アセトアニリド (3)	37.4	35.5	36.3**	36.7	37.7	38.1	—

単位：℃

**：投与前と P<0.01 で有意差

カッコ内は検査動物数

検体による体温の有意な変動は認められなかったが、アセトアニリドにより体温低下が認められた。

・ ウサギの正常体温

投与方法： 0、1000、5000mg/kg の経口投与。比較対照としてアセトアニリド 500mg/kg を 2 匹に投与。

観察方法： ウサギ用サーミスターで直腸温を測定。

投与量 mg/kg	投与前	投与後					
		1 時間	3 時間	6 時間	1 日	3 日	7 日
0 (3)	39.3	39.2	39.4	39.5	39.3	39.2	39.3
1000 (3)	39.3	38.8*	39.1	39.1	39.1	39.3	39.1
5000 (4)	38.9	38.9	38.8	39.2	38.7	39.1	39.2
アセトアニリド (2)	38.8	38.1	37.3*	38.2	39.3	39.3	39.4

単位：℃ *：投与前と P<0.05 で有意差 カッコ内は検査動物数

1000mg/kg で投与後 1 時間に有意な体温低下がみられたが、5000mg/kg で有意な変動を認めていないことから、検体による影響とは考えられなかった。アセトアニリドでは明らかな体温低下が認められた。

・ ラットの自発運動量

投与方法： 0、1000、5000mg/kg の経口投与。1 群 5 匹

観察方法： 回転カゴを使用。

投与量 mg/kg	投与後				
	0~3 時間	3~8 時間	8~24 時間	3 日	7 日
0	20.3	2.3	2.5	9.1	—
1000	32.5	4.0	3.5	—	—
5000	17.8	4.6	1.5	29.7*	4.9

単位：カウント/時間 *：対照群と P<0.05 で有意差

5000mg/kg の投与後 3 日目に有意な増加がみられたが、その程度は運動亢進を示唆するものではなかった。

III. 呼吸・循環系に対する作用

・ ラットの呼吸数

投与方法： 0、5000mg/kg の経口投与

観察方法： 腹部の動きにより測定。

投与量 mg/kg	投与前	投与後					
		1時間	3時間	6時間	1日	3日	7日
0 (4)	114	114	105	111	105	110	109
5000 (5)	111	107	102	103	111	109	104

単位：回/分

カッコ内は検査動物数

ラット呼吸数には検体による影響は認められなかった。

・ ラットの血圧

投与方法： 0、1000、5000mg/kg の経口投与。1群5匹

観察方法： ラット尾動脈血圧測定装置により最高血圧を測定。

投与量 mg/kg	投与前	投与後				
		3時間	6時間	1日	3日	7日
0	121	126	124	127	118	140*
1000	126	129	127	127	120	139*
5000	130	129	132	130	130	135

単位：mmHg

*：投与前と P<0.05 で有意差

ラットの血圧においてわずかな変動がみられたが、検体投与に起因したものではありません。

・ ラットの心拍数

投与方法： 0、1000、5000mg/kg の経口投与。1群5匹。

観察方法： ラット尾動脈血圧測定装置を用いて測定した脈波から心拍数を測定。

投与量 mg/kg	投与前	投与後				
		3時間	6時間	1日	3日	7日
0	430	426	394	410	422	410
1000	430	414	412	420	428	390
5000	420	392	410	430	416	388

単位：回/分

ラットの心拍数には検体の影響は認められなかった。

・ ウサギの呼吸数

投与方法： 0、5000mg/kg の経口投与

観察方法： 躯体の動きにより測定。

投与量 mg/kg	投与前	投与後					
		1時間	3時間	6時間	1日	3日	7日
0 (3)	98	107	98	98	100	107	110
5000 (4)	98	99	89	96	95	110	110

単位：回/分

カッコ内は検査動物数

ウサギ呼吸数には検体による影響は認められなかった。

・ ウサギの心拍数

投与方法： 0、5000mg/kg の経口投与

観察方法： 触診により心拍数を測定。

投与量 mg/kg	投与前	投与後					
		1時間	3時間	6時間	1日	3日	7日
0 (3)	220	203	240	227	233	243	233
5000 (4)	223	228	235	223	215	238	240

単位：回/分

カッコ内は検査動物数

ウサギの心拍数には検体の影響は認められなかった。

・ ラットの血液ガス値

投与方法： 0、1000、5000mg/kg の経口投与

観察方法： エーテル麻酔下で腹部大静脈から採血し、酸素分圧、溶存酸素、酸素飽和度、pH を測定。

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

投与量 mg/kg	検査 時期	検査数	酸素分圧 mmHg	溶存酸素 mℓ/dℓ	酸素飽和度 %	pH
0		3	61.5	15.3	84.8	7.36
1000	6時間	4	65.3	16.0	91.3	7.40
	1日	4	71.0	16.0	92.8	7.38
	3日	3	53.3	14.3	83.0	7.36
	7日	3	54.3	13.3	84.0	7.36
5000	6時間	4	71.3	17.8*	93.0	7.38
	1日	4	62.8	15.3	89.3	7.40
	3日	3	52.7	15.3	80.3	7.41
	7日	4	43.0*	9.5**	69.3	7.32
	14日	3	61.0	14.0	85.7	7.34

* : 対照群と P<0.05 で有意差 ** : 対照群と P<0.01 で有意差

5000mg/kgの投与7日後で酸素分圧と溶存酸素の有意な低下と酸素飽和度で低下傾向が認められ、酸素運搬能の低下が示唆された。

IV. 自律神経系に対する作用

・ウサギの瞳孔径

投与方法： 0、1000、5000mg/kgの経口投与

観察方法： 約400ルクスの一定照明下でノギスで測定

投与量 mg/kg	投与前	投与後					
		1時間	3時間	6時間	1日	3日	7日
0 (3)	5.9	6.8	6.8	6.8	6.8	6.5	6.6
1000 (3)	6.9	6.7	7.0	6.9	6.7	7.0	6.8
5000 (4)	6.5	6.5	6.5	6.7	6.5	6.3	6.7

単位：mm

カッコ内は検査動物数

ウサギの瞳孔径には検体による影響は認められなかった。

・ラットの腸管輸送能

投与方法： 0、5000mg/kgの経口投与。比較対照として硫酸アトロピン25mg/kgを腹腔内投与。1群4匹

観察方法： 検体投与後、10%活性炭懸濁液 1mℓ/100g B.W.を経口投与後30分に屠殺、開腹して小腸の全長(A)と活性炭末到達距離(B)を測定し、移動率(B×100/A)を算出。

投与量 mg/kg	検査時期	移動率 %
0 (4)		61.0
5000 (4)	1日	51.5*
	3日	61.8
	7日	62.3
アトロピン 25 (4)	30分	44.3**

* : 対照群と P<0.05 で有意差 ** : 対照群と P<0.01 で有意差
カッコ内は検査動物数

検体投与後 1 日に移動率の減少がみられたが、薬液の残存等もみられたことから物理的な影響によるもので、ラットの腸管輸送能には検体の影響は認められなかった。硫酸アトロピンの投与では明らかな移動率の減少がみられ、腸管輸送能の低下を示した。

V. その他への作用

・ ラットの肝機能

投与方法 : 0、5000mg/kg の経口投与。比較対照として四塩化炭素 2ml/kg を経口投与。1 群 5 匹

観察方法 : 検体投与後、BSP 5mg/kg を尾静脈内に投与し、5 分後にエーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈から採血し、血清中の残存 BSP 量を比色定量した。

投与量 mg/kg	検査時期	BSP 残存量 %
0		2.4
5000	1日	2.8
	3日	4.0
	7日	2.8
四塩化炭素 2 ml/kg	1日	24.6**

** : 対照群と P<0.01 で有意差

本検体の BSP 排泄への影響は認められなかった。四塩化炭素の投与では BSP 排泄の遅延が認められた。

・ ラットの腎機能

投与方法 : 対照群 4 匹、1000、5000mg/kg を各 16 匹に経口投与し、投与後 6 時間、1、3、7 日目に各 4 匹で検査した。

観察方法 : 対照群、検体投与群で 5 時間尿の尿量、pH、蛋白、糖、ケト

ン体、潜血、亜硝酸塩、ビリルビン、およびウロビリノーゲンを尿試験紙で定性的に、 Na^+ と K^+ を炎光比色法で測定した。

尿検査でビリルビンとウロビリノーゲンの陽性が 5000mg/kg 群で観察され、検体の影響が示唆された。この変化は検体による変性ヘモグロビン崩壊に伴った血色素由来の排泄と考えられた。

蛋白、糖、ケトン体、潜血、亜硝酸塩、尿量において特記すべき所見は認められなかった。pH と 5000mg/kg 投与の翌日の電解質 (K^+) に有意な減少が散見されたが、検体の大量投与による摂餌の一時的抑制による影響と思われ、検体に起因した変化とは考えられなかった。

・ ウサギの血液凝固時間

投与方法： 0、5000mg/kg の経口投与。1群4匹

観察方法： 耳静脈から採血してガラス試験管法で測定した。

投与量 mg/kg	投与後			
	6時間	1日	3日	7日
0	6.7	6.9	7.8	6.8
5000	6.8	6.4	6.8	7.4

単位：分

血液凝固時間には検体による影響は認められなかった。

以上の結果から、中枢神経系、自律神経系、肝および腎機能、血液凝固系への検体の影響は認められなかった。5000mg/kg 投与後に酸素運搬能の低下が示唆されたが、呼吸数や心拍数に影響が認められていないことから、呼吸・循環生理機能に影響を及ぼさないと思われる。

メフェナセットの生体の機能に及ぼす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
一般症状 [Irwin法]	ラット	経口投与 (Cremophor ELを く加え水に懸濁)	5000	5	>5000	5000	影響は認められ なかった。
中枢神経系 直腸体温	ラット	経口投与 (Cremophor ELを く加え水に懸濁)	5000	5	>5000	5000	影響は認められ なかった。
直腸体温	ウサギ		0, 1000, 5000	2	>5000	5000	
自発運動量	ラット		0, 1000, 5000	5	>5000	5000	
呼吸・循環系 呼吸数	ラット	経口投与 (Cremophor ELを く加え水に懸濁)	0, 5000	5	>5000	5000	影響は認められ なかった。
血圧	ラット		0, 1000, 5000	5	>5000	5000	
心拍数	ラット		0, 1000, 5000	5	>5000	5000	
呼吸数	ウサギ		0, 5000	4	>5000	5000	
心拍数	ウサギ		0, 5000	4	>5000	5000	
血液ガス値	ラット		0, 1000, 5000	5	5000	1000	
自律神経系 瞳孔径	ウサギ	経口投与 (Cremophor ELを く加え水に懸濁)	0, 1000, 5000	4	>5000	5000	影響は認められ なかった。
腸管輸送	ラット		0, 5000	5	>5000	5000	
その他 肝機能	ラット	経口投与 (Cremophor ELを く加え水に懸濁)	0, 5000	5	>5000	5000	影響は認められ なかった。
腎機能	ラット		0, 1000, 5000	16 (対照 群は 4)	5000	1000	5000mg/kg で尿中 ビリルビン、ウロ ビリノーゲンが 陽性を示した。
血液凝固時間	ウサギ		0, 5000	4	>5000	5000	影響は認められ なかった。