

11-2. イヌを用いた飼料混入投与による 12 ヶ月経口毒性試験 (資料 33)

試験機関 :

報告書作成年 : [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬 1 群雌雄各 6 匹

試験開始時月齢 : 6-9 月齢

試験開始時体重 : 雄 9.7-13.5 kg 雌 8.4-12.4 kg

観察期間 : 12 ヶ月

投与方法 : 検体を水に希釈し、有効成分換算濃度で 0 および 6000 ppm の濃度で飼料に混入し、12 ヶ月にわたって毎日 700 g (混餌 350 g および水 350 g を加えてペースト状にした飼料) を摂食させた。検体の水溶液は 32 日間であったが、通常 2-3 週間毎に調製した。混餌への水の添加は投与直前に行った。

用量設定根拠 : 本試験は、12 ヶ月間本検体を投与した際の毒性プロファイリング構築を目的として行われた。同研究所において、同系統のイヌを用いた 12 ヶ月混餌投与試験 (資料 12) では、200、600 および 1800 ppm で試験を実施したが、1800 ppm で僅かに毒性徴候が認められるだけであった。また、予備試験として実施した 4 週間混餌投与試験 (資料 28) では、6000 および 12000 ppm の投与により、流涎反応が認められた。以上の結果より、8000 ppm での試験を開始したところ、投与開始後 1 日で 3 例の死亡が認められたことから、試験を中止し、6000 ppm として本試験を実施した。

試験項目および結果 :

一般状態および生死 : 一般状態および生死について、毎日観察した。また、一般状態の観察に加え、流涎について投与 90 日まで毎日、その後は週に 1 回観察した。

投与群 (6000 ppm) の雌 1 例で投与後 7、16 および 17 日に後肢の弱体化、運動失調、低体温などが認められ、瀕死状態となったため投与後 17 日に切迫屠殺した。

これ以外の生存動物に関しては、検体投与に起因するような異常症状は認められなかった。検体投与に起因しないが、認められた症状としては、投与群の雌 (切迫屠殺動物とは別動物) 1 例で、投与後 7 日に嘔吐が認められ、対照群の雌 1 例では、後肢の脱毛や紅斑など、耳介に痲痺形成を伴う潰瘍が認められ、毛嚢虫症と診断された。

流涎の程度が最も顕著であった時の動物数を次表に示す。流涎は投与群の雌雄で程度および発生頻度で異なっていた。通常、摂餌 2 時間後から軽度の流涎が認められ、

4-6 時間後までに中等度-高度になったが、翌日の給餌前には回復していた。

表 1. 流涎の発生動物数

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		0	6000	0	6000
検査動物数		6	6	6	6
流涎	軽度	0	2	0	0
	中等度	0	2	0	2
	高度	0	2	0	4

体重：試験期間中毎週 1 回、全動物の体重を測定した。

体重は、雌雄ともに対照群と投与群との間に有意な差は認められなかった。体重増加では、雄には試験期間を通して有意な変化は認められなかったが、雌では投与後 7 日にのみ 33.3%の有意な抑制 ($p \leq 0.02$) が認められた。しかしながら、この減少は一次的なものであり、体重そのものに影響がないことから検体投与に起因しないものと判断する。

(統計学的解析：Mann-Whitney U-test)

摂餌量および食餌効率：毎日午前中に給餌し、翌朝の残量から 1 日あたりの摂餌量を算出した。また、食餌効率は 4 週毎に算出した。

試験期間中の平均摂餌量を次表に示す。

表 2. 摂餌量 (給餌量に対する摂食率%)

群 (ppm)	0	6000
雄	100	100
雌	97	99

対照群および投与群ともに、雄の全動物と雌の大半の動物が、給餌飼料をすべて摂取していた。食欲不振をうかがわせる雌が数例みられたが、これらに対照群にも認められるような検体投与に関連しないものであった。

食餌効率は、各群雌雄ともに誤差が大きく、日数の経過にしたがって、投与群および対照群ともに数値の低下が認められた。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

平均検体摂取量は、雄で 166 mg/kg/day、雌で 173 mg/kg/day であった。

血液学的検査：絶食させた動物の前腕橈側皮静脈より、投与開始 3 日前および投与開始 13、26 および 52 週後に採血し、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、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 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (部分トロンボプラスチン時間 : PTPT ; トロンボプラスチン時間 : TPT)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

表 3. 血液学的検査 (%)

検査項目	検査時期 (投与後日数)	投与量 (ppm)	
		雄 6000	雌 6000
WBC	91 日	125 ↑	
	186 日		120 ↑
	361 日	125 ↑	
MCV	91 日		105 ↑
	361 日		113 ↑
MCH	91 日		105 ↑
	361 日		107 ↑
PLT	361 日	80	
RET	361 日		275 ↑

統計学的方法 : Mann-Whitney U-test (両側) ↑ ↓ : $p \leq 0.05$, ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

上表のような変動が認められたが、変化に一貫性がなく、関連する検査項目に変化がない、また片方の性のみ認められることから、雌雄とも検体投与に起因するような変動はないと考えられた。

血液生化学的検査 : 血液学的検査用の採血と同時に採血した血液から得た血清を用いて、以下の項目について検査した。

アラントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

表 4. 血液生化学的検査 (比率%)

検査項目	検査時期 (投与後日数)	投与量 (ppm)	
		雄	雌
		6000	6000
AST	91 日	129 [↑]	
ALP	361 日	134 [↑]	
Gluc	361 日		113 [↑]

統計学的方法: Mann-Whitney U-test (両側) ↑ ↓ : $p \leq 0.05$, ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

表 4 に示すような変化がみとめられた。しかしながら、雌雄同一性がなく、変動も軽微なものであったため、毒性学的意義はないと判断した。

尿検査: 投与開始 4 日前および投与開始 13、26 および 52 週後に、各動物を代謝ケージに移し、絶食および給水 (500 mL) 下で一晩蓄尿を採取し、以下の項目について検査した。

尿量、色調、濁度、亜硝酸塩、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣、

雌雄とも検体投与に起因するような変動は認められなかった。

眼科学的検査: 投与開始前 14 日および投与開始後 52 週に、全動物を対象として眼科学的検査を実施した。

検体投与に起因するような病理学的異常所見は認められなかった。

臓器重量: 試験終了後の全生存動物に対し、麻酔下で頸静脈から放血屠殺し、以下の臓器重量を測定した。また、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、甲状腺 (副甲状腺を含む)、脳、精巣、麻酔動物 (体重測定) 有意差の認められた臓器を表 5 に示す。

表 5. 臓器重量 (%)

性別	雄	雌
	投与量 (ppm)	
	6000	
副腎	重量	114.5 [↑]
	対体重比	
腎臓	重量	
	対体重比	94.7 [↓]

統計学的方法: Wilcoxon-test, ↑ ↓ : $p \leq 0.05$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

投与群雄の副腎重量の有意な増加および腎臓の対体重比の有意な減少が認められた。

いずれの変動も、重量または対体重比のみの変動であり、また病理組織学的異常所見もみとめられないので、検体投与に起因しないものと判断した。

肉眼的病理検査: 試験終了時の全生存動物および死亡動物について剖検を行った。

認められた肉眼的病理異常所見を表 6 に示す。

表 6. 肉眼的病理検査異常所見

投与量 (ppm)		0	6000	0	6000
検査動物数		6	6	6	6
胃	潰瘍	0	0	0	1
肺	巣形成	1	3	0	1
	硬化	1	0	0	2
膀胱	血管拡張	0	0	1	0
前立腺	臓器サイズの縮小	2	0		
下垂体	嚢胞形成	0	0	0	1

上表のような異常所見が認められたものの、偶発的で、検体投与に起因するような肉眼的病理異常所見は認められなかったと判断する。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を行った動物から、下記の臓器/組織を摘出し、全動物の全組織を、ヘマトキシリン・エオジンで染色して病理標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、甲状腺（副甲状腺を含む）、胸腺、気管、肺、大動脈、心臓、唾液腺（顎下腺および耳下腺）、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、食道、胃、十二指腸・空腸・回腸、盲腸、結腸、直腸、子宮（頸部を含む）、陰、膀胱、リンパ節（腋窩および腸管膜）、膵臓、精巣、卵巣、前立腺、乳腺（雌のみ）、皮膚、骨格筋、坐骨神経、脊髓（頸部、胸部および腰部）、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（膝関節部および骨髄を含む）、眼球、肉眼的病理異常部位

認められた主要な病理組織学的異常所見を表 7 に示す。

腎臓の遠位尿細管上皮で空胞化（ほとんど両側腎臓）が、投与群の雄 4 例と雌 5 例に認められた。同所見は、対照群の雄 1 例と雌 4 例にも認められている。しかしながら、所見の程度を見ると、雌雄ともに検体投与群の方が増悪している。また、脾臓のヘモジデリン沈着が全動物で認められたが、その程度は、投与群雄でより増悪していたが、雌では対照群と差がなかった。これらの所見は軽微な検体投与の影響と考えられた。

その他の所見は対照群と同等の発生頻度、あるいは発生頻度の低い偶発的所見であった。

表 7. 認められた主要な病理組織学的異常所見

投与量 (ppm)		雄		雌		
		0	6000	0	6000	
検査動物数		6	6	6	6	
肝臓	ヘモシデリン沈着	6	6	6	6	
甲状腺	嚢胞	4	3	0	0	
腎臓	検査組織数	12	12	12	12	
	空胞化 (遠位尿細管)	軽微	1	5	4	1
		軽度		2		8
		計*	1(1)	7(4)	4(4)	9(5)
脾臓	検査組織数	6	6	6	6	
	ヘモシデリン沈着	軽微	6	2	3	4
		軽度		4	3	2
		計	6	6	6	6

*: 腎臓の () 内の数値は所見の発動物数。

統計解析: 未実施

以上、本検体 6000 ppm を混餌によりイヌに 12 ヶ月間投与した結果、雌雄ともに流涎が異なる発生頻度および程度で認められたが、翌日には回復した。雌 1 例の切迫殺があった。腎臓の尿細管上皮の空胞化が雌雄に認められ、脾臓にヘモシデリンの沈着が雄で認められた。したがって、無毒性量 (NOAEL) は、6000ppm(雄 166 mg/kg/day 雌 173 mg/kg/day) より低い濃度であると判断する。

11-3. ラットを用いた飼料混入投与による 24 ヶ月間慢性および発癌試験 (資料 13)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

(申請者注) 報告書内に記載がないため、当該研究所に確認した数値である。

供試動物： SD 系ラット 群構成を以下に示す

表 1 群構成および供試動物数

投与量 (ppm)	対照群	100	300	1000	3000	9000
発がん性群	100	50	50	50	50	30
52 週中間屠殺群	5				5	5

試験開始時週齢；雌雄 5-6 週齢

試験開始時体重；雌雄 100-105 g

観察期間： 24 ヶ月間

投与方法： 検体を 100、300、1000、3000 および 9000 ppm になるよう飼料に混入し、毎日摂取させた。

用量設定根拠：同系統動物を使用した 3 ヶ月間の亜急性毒性試験の結果 (資料 10) をもとに設定した。

試験項目および結果：

一般症状および生死；一般症状および生死を毎日観察した。また、投与開始 26 週目以降は触診を行い、腫瘤についても調べた。Irwin 法による感覚機能検査を 52 週時に行った。

検体投与に起因する一般症状異常は認められなかった。また、感覚機能に異常は認められなかった。

投与終了時 (104 週) の死亡率を以下に示す。

死亡率

投与量 (ppm)	対照群	100	300	1000	3000	9000
死亡率 (%)	雄	28	30	22	20	22
	雌	19	10	18	18	22

本検体投与による死亡率への影響は認められなかった。

体重；週 1 回体重を測定し、4 週ごとの値を報告書に記載した。

体重変化を表 3 に示す。

表 1. 体重 (%)

性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
	100	300	1000	3000	9000	100	300	1000	3000	9000
52 週時	101	104	101	95	91	100	99	99	91	92
104 週時	104	103	101	101	89 ↓	102	99	103	100	86 ↓

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

投与開始後 3-4 ヶ月で 3000 および 9000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制が認められ、特に 9000 ppm 投与群での抑制は統計学的に有意であった。

(統計学的解析 : Student`s t-test、↓ : $p \leq 0.01$)

摂餌量 : 毎日摂餌量を測定し、4 週ごとの値 (g/kg/day) を報告書に記載した。

摂餌量の体重換算値に関しては、各群間で統計学的有意な差は認められなかったが、3000 および 9000 ppm 投与群雌雄では 3-4 ヶ月以降、絶対値の低下が認められた。

(統計学的解析 : Student`s t-test、 $p \leq 0.01$)

(申請者注) 報告書には 3000 および 9000 ppm 投与群での摂餌量減少傾向とあるが、実際の数値からその様な傾向は読み取れない。したがって、摂餌量への影響はないものとする。

検体摂取量 : 各個体の 1 日あたり摂餌量と投与濃度から、1 日あたりの平均検体摂取量を算出した。結果を表 2 に示す。

表 2. 平均検体摂取量 (mg/kg/day)

	100	300	1000	3000	9000
雄	6.4	18.0	62.4	186.0	684.0
雌	7.3	21.0	71.6	211.9	669.8

血液学的検査 : 投与前、投与後 0、6、13、26、52、78 および 104 週に、各群より雌雄各 10 匹を選抜し、眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (トロンボプラスチン時間 : TPT)

いずれの検査項目においても投与に起因する変動は認められなかった。

(統計学的解析 : Student`s t-test、 $p \leq 0.01$)

血液生化学的検査 : 血液学的検査用血液の採血と同時に採取した血液から血清を回収し、以下の項目について検査した。

[測定時期 : 0、6、13、26、52、78 および 104 週]

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、尿素 (Urea)、グルコース (Gluc)、

[測定時期：13、26、52 および 104 週]

ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST)、尿酸、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、クレアチニン (Crea)

[測定時期：26、52 および 104 週]

アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、

[測定時期：52 および 104 週]

トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)、遊離コレステロール、脂肪酸 (エステル化および非エステル化)、総脂質、リン脂質、ヨウ素 (I)

有意差の認められた検査項目を表 3 に示す。

表 3. 投与 52 週目：る血液生化学的検査 (%)

性別	雄					雌				
	100	300	1000	3000	9000	100	300	1000	3000	9000
投与量 (ppm)										
Glob						128 ↑				
ALP									141 ↑	

統計学的解析：分散分析、Student's t-test、↑； $p \leq 0.01$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差無し

投与開始 52 週目にのみ、上記のような統計学的有意差が認められたが、用量依存性がなく、52 週時にのみ認められ一貫性がないことから、検体投与に起因するものではないと判断した。その他の検査項目に検体投与に起因する変動は認められなかった。

尿検査：血液検査用の採血と同時期に、各群より雌雄各 10 匹を選抜し、0.3%生理的食塩水を 40 mL/kg 強制経口投与後、代謝ケージを用いて採尿した。以下の項目について検査した。

色調、比重、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ヘモグロビン、ビリルビン、沈渣

いずれの検査項目においても投与に起因する変動は認められなかった。

(統計学的解析：Student's t-test、 $p \leq 0.01$)

眼科学的検査、聴覚(単純な騒音試験)および歯列検査：中間層殺動物(対照群および 3000/9000 ppm 投与群の雌雄各 5 匹)および試験終了時の全生存動物を対象として検査した。

いずれの検査項目においても投与に起因する変動は認められなかった。

肉眼的病理検査：中間屠殺動物（対照群および 3000/9000 ppm 投与群の雌雄各 5 匹）、途中死亡／屠殺動物および試験終了時の全生存動物を屠殺し、剖検した。

検体投与に起因する肉眼的異常は認められなかった。

臓器重量：中間屠殺および全生存動物の屠殺時、以下の臓器を採取し臓器重量を測定した。

心臓、肝臓、肺、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、生殖腺、甲状腺、脳

中間屠殺動物では、3000 ppm 投与群の雌で体重の有意な減少（88.0%；統計学的解析：分散分析、Student's t-test、 $p \leq 0.01$ ）が認められたが、臓器重量（絶対値および対体重比ともに）には影響が認められなかった。

発がん性群における統計学的有意差の認められた項目について表 4 に示す。

表 4. 発がん性群：臓器絶対重量（%）

性別	雄					雌				
	100	300	1000	3000	9000	100	300	1000	3000	9000
投与量 (ppm)	100	300	1000	3000	9000	100	300	1000	3000	9000
最終体重	104	103	101	101	89 ↓	102	99	103	100	86 ↓
心臓	110.1 ↑	110.1 ↑	109.5 ↑							86.0 ↓
肝臓										89.8 ↓
腎臓	左			108.5 ↑						
	右									90.3 ↓
副腎	左		82.4 ↓	82.4 ↓	76.5 ↓					
	右		77.1 ↓	82.9 ↓	74.3 ↓					
胸腺						83.7 ↓				
甲状腺	84.4 ↓		84.4 ↓	82.2 ↓						
脳					90.0 ↓					

統計学的解析：分散分析、Student's t-test、↑ ↓； $p \leq 0.01$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差無し

対体重比では統計学的有意な変動が認められなかった。

発がん性群では、9000 ppm 投与群雌において心臓、肝臓および腎臓（右側のみ）絶対重量の統計学的有意な減少が認められた。これらは対体重比で有意差がないことから、体重増加抑制に起因するものと考えられる。また投与群雄では、甲状腺（100、1000 および 3000 ppm）、副腎（1000 ppm 以上）および脳（9000 ppm）において臓器重量の低下が認められたが、対体重比は対照群と同等であり、病理組織学的異常も認められないことから検体投与に起因する影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査：剖検を実施した動物より以下の臓器を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製、鏡検した。

脳、下垂体、眼球、唾液腺、甲状腺、胸腺、食道、気管、肺、心臓、肝臓、脾臓、

腎臓、副腎、胃、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、リンパ節、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮、骨、骨髄、骨格筋、末梢神経、乳腺、大動脈、腫瘤および周辺組織

さらに、心臓、肝臓および腎臓についてはズダン III 染色も行った。

非腫瘍性病変および腫瘍性病変を表 5/6 に示す。

[非腫瘍性病変]

52 週中間屠殺群では検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

発がん性群において、3000 ppm 投与群雄に間質性腎炎、心癒痕および心筋壊死の統計学的有意な増加が認められたが雄のみの発生であり、用量依存性もないことから、検体投与に起因しないものと判断した。

[腫瘍性病変]

52 週中間屠殺群では腫瘍性病変は認められなかった。

発がん性群において、対照群および各検体投与群に腫瘍発生が認められたが、その発生頻度に統計学的有意差は認められなかった。したがって、本剤には発癌性はないものと判断する。

以上の結果より、ラットに対し本剤を 24 ヶ月間混餌投与した場合、その主要毒性は体重増加抑制であり、無毒性量は 3000 ppm (雄: 186.0 mg/kg/day ; 雌: 211.9 mg/kg/day) となる。また本試験での最高投与用量である 9000 ppm (雄: 684.0 mg/kg/day ; 雌: 669.8 mg/kg/day) でも発癌性は認められなかった。

表 5. 非腫瘍性病変

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000	9000	0	100	300	1000	3000	9000
途中死亡・屠殺	検査動物数	28	15	11	10	11	6	19	5	9	9	11	6
	腎臓												
	間質性腎炎	7	6	3	4	3	0	2	2	3	2	2	2
	心臓												
	癒痕	9	6	3	2	7	0	6	1	5	4	2	1
	心筋壊死	6	4	3	2	4	0	3	0	5	2	1	1
副腎													
嚢胞形成	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	
最終屠殺	検査動物数	72	35	39	40	39	24	81	45	41	41	39	24
	腎臓												
	間質性腎炎	16	10	15	14	22↑	6	16	12	4	5	5	3
	心臓												
	癒痕	21	9	13	8	26↑↑	6	35	17	13	13	8↓	8
	心筋壊死	13	8	8	8	19↑↑	3	18	9	5	8	6	4
副腎													
嚢胞形成	6	1	1	1	2	2	18	3	4	0↓	1	1	
全動物	検査動物数	100	50	50	50	50	30	100	50	50	50	50	30
	腎臓												
	間質性腎炎	23	16 ¹	18	18	25↑	6	18	14 ²	7	7	7	5
	心臓												
	癒痕	30	15 ³	16	10	33↑↑	6	41	18 ⁴	18	17	10↓	9
	心筋壊死	19	12 ⁵	11	10	23↑↑	3	21	9	10	10	7	5
副腎													
嚢胞形成	6	1	1	1	2	2	19	4	4	0	2	1	

統計学的解析：Mann-Whitney 検定、↑↓：p < 0.05 ↑↑：p < 0.01

数値は発症症例数を示している

(申請者注) 報告書中、¹は 15、²は 12、³は 14、⁴は 20、⁵は 11、と記載されているが、個体表を基に病変の発症数を計測すると上記の数値となる。

表 6. 腫瘍性病変 (発がん性群)

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000	9000	0	100	300	1000	3000	9000
検査動物数		28	15	11	10	11	6	19	5	9	9	11	6
全身	悪性リンパ腫 M	3	1	0	2	1	1	2	0	0	1	1	1
	白血病 M	0	0	0	0	1	0	10	0	1	0	0	0
脳	海綿膠芽腫 B	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
四肢	線維腫 B	1	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
	線維肉腫 M	2	1	0	1	0	0	3	1	0	0	1	1
乳腺	腺腫 B	-	-	-	-	-	-	2	0	0	0	0	0
	腺癌 M	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0
	線維腺腫 B	-	-	-	-	-	-	2	0	1	2	1	0
肝臓	肝細胞癌 M	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
	血管腫 B	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
膵臓	島細胞腺腫	1	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
腎臓	腺腫 B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
途中死亡	前立腺 線維腫	0	0	0	0	0	0						
	精囊 腺癌 M	0	0	0	0	0	0						
屠殺	精巣 乳頭状腺腫 B	0	0	0	0	0	0						
	間質細胞腫 M	2	3	2	2	0	1						
下垂体	腺腫 B	1	1	2	0	1	0	2	1	1	1	2	1
副腎	腺腫 B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	皮質腺腫 B	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	褐色細胞腫 B	3	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
甲状腺	腺腫 B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
膀胱	乳頭腫 B	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1	0
陰	線維腫 B							0	0	0	0	0	0
子宮	平滑筋腫 B							0	0	0	0	0	0
	平滑筋肉腫 B							0	0	0	0	0	0
	内膜肉腫 M	0	0	0	0	0	0						
卵巣	嚢胞腺腫 B							0	0	0	0	1	0
上皮小体	腺腫 B							-	-	-	-	-	-

表 6. 腫瘍性病変 (つづき)

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000	9000	0	100	300	1000	3000	9000
検査動物数		100	50	50	50	50	30	100	50	50	50	50	30
全身	悪性リウマチ腫 M	5	3	2	3	1	2	5	2	1	2	2	2
	白血病 M	0	0	2	0	2	0	1	1	2	1	1	0
脳	海綿膠芽腫 B	0	0	0	0	1	0						
四肢	線維腫 B	1	0	0	0	0	0						
	骨芽細胞性線維肉腫 M					1							
	線維肉腫 M	43	2	2	2	10	0	54	3	3	3	1	2
乳腺	腺腫 B	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	1	0
	腺癌 M	-	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1	0
	線維肉腫 M							1					
	線維腺腫 B	-	-	-	-	-	-	3	0	2	2	2	0
肝臓	肝細胞癌 M	1	0	0	0	0	0						
	血管腫 B	0	0	0	1	0	0						
膵臓	島細胞腺腫	1	0	0	0	0	0						
腎臓	腺腫 B	0	0	1	0	1	0	2	1	1	1	0	1
全動物	前立腺	線維腫	0	1	0	0	0						
	精囊	腺癌 M	0	0	0	1	0						
精巣	乳頭状腺腫 B	1	0	0	1	0	0						
	間質細胞腫 M	25	11	10	10	11	8						
下垂体	腺腫 B	7	2	5	3	6	3	8	5	3	2	5	3
副腎	腺腫 B	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	皮質腺腫 B	0	43	2	0	1	0	1	0	2	2	0	0
	褐色細胞腫 B	7	3	1	2	1	2	1	2	2	1	0	0
甲状腺	腺腫 B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	管状腺腫 B	1		1		1							
膀胱	乳頭腫 B							0	0	0	0	1	0
陰	線維腫 B							0	0	0	1	0	0
子宮	平滑筋腫 B							1	0	0	0	1	0
	平滑筋肉腫 M							1	0	0	0	0	0
	内膜肉腫 M							1	0	0	0	0	0
卵巣	嚢胞腺腫 B							0	0	0	0	1	1
上皮小体	腺腫 B							1	0	0	0	0	0

表 6. 腫瘍性病変 (つづき) 506 頁

性別		雄						雌						
		0	100	300	1000	3000	9000	0	100	300	1000	3000	9000	
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000	9000	0	100	300	1000	3000	9000	
合 計	検査動物数	100	50	50	50	50	30	100	50	50	50	50	30	
	腫瘍数	良性	*44	21	20	17	23	13	20	10	12	12	12	5
		悪性	*10	5	6	6	4	2	13	6	6	7	5	4
		総腫瘍数	54	26	26	23	27	15	33	16	18	19	17	9
	担腫瘍動物数	49	24	21	22	23	14	32	15	18	18	17	9	
	個体当りの腫瘍数	1.1	1.1	1.2	1.0	1.2	1.1	1.0	1.1	1.0	1.1	1.1	1.0	

B: 良性腫瘍; M: 悪性腫瘍; -: 「該当無し」または「報告書表に記載無し」

統計学的解析: Mann-Whitney 検定

*報告書中、肝細胞癌 (hepatoma) は、良性腫瘍に区分されていた。しかしながら本来「hepatoma」は悪性腫瘍であることから、本稿では悪性腫瘍に区分し、それに従い良性・悪性腫瘍総数を改訂した。

11-4. ラットを用いた飼料混入投与による 2 年間慢性経口毒性試験 (資料 34)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ウィスター系ラット [Chbb:Thom(SPF)] 1 群雌雄各 20 匹

試験開始時週齢： 42 日齢

試験開始時体重： 雄 180-216 g 雌 140-165 g

観察期間： 2 年間

投与方法： 本試験における投与量について表 1 に示す。

表 1. 本試験系の投与量および検体純度換算値

投与量 (ppm)	500	4000	10000
検体純度換算値	290	2316	5790

検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要濃度の飼料を添加・混合して表中に記載した濃度になるように飼料に混入し、2 年間にわたり摂食させた。

検体を混入した飼料は、1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠： 同研究所において、同系統動物を用いて実施した 4 週間亜急性試験 (資料 27) および 3 ヶ月間亜急性試験 (資料 29 および 30) で得られた結果をもとに、本試験での用量を表 1 のように設定した。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率： 一般状態および生死について、毎日観察した。また、週に 1 回、詳細な一般状態の観察を実施した。

検体投与に起因する一般状態の異常は認められなかった。

また、表 2 に累積死亡率を示す。

表 2. 累積死亡率 (%)

投与量 ppm	対照群		290		2316		5790	
	死亡数	死亡率	死亡数	死亡率	死亡数	死亡率	死亡数	死亡率
雄	5	25	6	30	1	5	6	30
雌	5	25	5	25	6	30	5	25

本検体の投与は死亡率に影響を及ぼさなかった。

体重：投与日（投与 0 日）および投与後最初の 14 週間は 1 週間毎に、以降は 4 週間毎に測定した。

体重および体重増加において、5790 ppm 群の雄は試験期間を通して、雌の体重は投与 98-574 日まで、体重増加はさらに、投与 7、14 および 63 日にも有意な抑制が認められた。その他の投与群では投与の影響は認められなかった。

5790 ppm 群の結果のみを表 3 に示す。

表 3. 5790 ppm 群：体重および体重増加量（%）

測定日 (投与後日数)	雄		雌	
	体重	体重増加量	体重	体重増加量
0				
7	92.3 ↓ ↓	65.7 ↓ ↓		84.4 ↓
14	91.5 ↓ ↓	76.1 ↓ ↓		86.0 ↓
21	91.7 ↓ ↓	80.6 ↓ ↓		
28	90.9 ↓ ↓	80.7 ↓ ↓		
35	90.3 ↓ ↓	80.9 ↓ ↓		
42	89.9 ↓ ↓	81.1 ↓ ↓		
49	91.7 ↓ ↓	85.1 ↓ ↓		
56	89.9 ↓ ↓	82.3 ↓ ↓		
63	89.9 ↓ ↓	82.7 ↓ ↓		90.6 ↓
70	89.1 ↓ ↓	81.8 ↓ ↓		
77	89.0 ↓ ↓	81.9 ↓ ↓		
84	89.0 ↓ ↓	82.3 ↓ ↓		
91	89.3 ↓ ↓	82.9 ↓ ↓		
98	88.8 ↓ ↓	82.1 ↓ ↓	94.8 ↓	89.6 ↓
126	89.1 ↓ ↓	83.2 ↓ ↓	93.5 ↓	87.6 ↓ ↓
154	89.8 ↓ ↓	84.7 ↓ ↓	93.8 ↓	88.3 ↓
182	90.2 ↓ ↓	85.3 ↓ ↓	93.8 ↓	88.4 ↓
210	91.0 ↓	86.7 ↓ ↓	93.0 ↓	87.1 ↓ ↓
238	91.2 ↓	87.3 ↓	92.9 ↓	87.0 ↓ ↓
266	91.1 ↓	87.2 ↓	92.6 ↓	86.7 ↓ ↓
294	91.1 ↓	87.3 ↓	91.3 ↓ ↓	84.5 ↓ ↓
322	90.6 ↓	86.8 ↓	91.2 ↓ ↓	84.3 ↓ ↓
350	90.7 ↓	87.1 ↓	89.3 ↓ ↓	81.4 ↓ ↓
378	90.3 ↓	86.5 ↓	90.4 ↓ ↓	83.2 ↓ ↓
406	89.8 ↓	86.0 ↓ ↓	89.1 ↓ ↓	81.2 ↓ ↓
434	89.7 ↓	85.8 ↓	88.3 ↓ ↓	80.0 ↓ ↓
462	89.5 ↓	85.6 ↓	87.7 ↓ ↓	79.2 ↓ ↓
490	88.6 ↓ ↓	84.5 ↓ ↓	87.0 ↓ ↓	78.3 ↓ ↓
518	88.7 ↓	84.8 ↓	87.4 ↓ ↓	79.2 ↓ ↓
546	88.9 ↓	85.0 ↓	88.1 ↓ ↓	80.1 ↓ ↓
574	89.4 ↓	85.6 ↓	88.7 ↓	81.0 ↓ ↓
602	89.3 ↓	85.5 ↓		
630	88.0 ↓	83.7 ↓		
658	86.7 ↓	82.2 ↓ ↓		
686	86.2 ↓	81.6 ↓		
714	84.6 ↓	79.5 ↓		
728	87.5 ↓	83.3 ↓		

統計学的解析：ANOVA+Dunnett's test (両側)、↓：p≤0.05；↓↓：p≤0.01
 表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差なし

摂餌量および食餌効率：摂餌量は、投与後最初の 14 週間は週に 1 回測定した。以降は、4

週間毎に測定した。また、食餌効率も算出した。

5790 ppm 群 (5790 ppm) において、対照群の 10% を越える摂餌量の減少が散発的に認められた (表 4)。表 4 に記載以外の測定日でも減少傾向にあったが、減少は対照群の 10% 以内であった。その他の用量群は試験期間を通じ、その変動範囲は 10% 以内で、生物学的変動の範囲内であった。また、食餌効率は、検体投与による影響は認められなかった。

高用量群で対照群に比し 90% 以下となった測定時期について摂餌量の変動を表 4 に示す。

表 4. 摂餌量 (%)

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		290	2316	5790	290	2316	5790
測定時期 (投与後日数)	7	99.3	97.9	76.4	98.3	94.8	80.9
	14	101.9	99.7	88.0	101.0	100.8	96.5
	462	101.5	99.6	94.3	96.9	99.0	89.1
	490	98.7	99.1	91.1	100.3	95.9	88.0
	518	98.3	96.8	90.3	101.1	97.8	89.9
	714	101.9	93.6	84.6	94.8	93.9	96.0
	728	98.3	92.1	86.4	95.4	100.3	95.0

統計学的解析：未実施 表中の数値は、対照群を 100% とした際の相対値。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	290	2316	5790	290	2316	5790
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	13	106	268	18	146	371

機能観察総合検査：投与前 3 日および投与後 25 (雌のみ)、30 (雄のみ)、58、86 および 179 日に各群雌雄各 10 匹を対象として観察台に移し、以下の検査を実施した。

一般状態、立毛、皮膚色、姿勢、呼吸、行動、自発運動、振戦、痙攣、運動失調、麻痺、瞳孔サイズ、流涙、涙の状態 (着色)、流涎、発声、体緊張、排尿 (量、臭い、色調)、糞 (量、色調、硬度)、接触反応、正向反射、瞬き反射、瞳孔反射、視覚 (視覚性置き直し反応)、聴覚 (驚愕反応)、嗅覚、疼痛 (hot plate test、尾部および足指圧迫刺激試験)、握力、その他の異常

検体投与に起因する変化は認められなかった。

(統計学的解析：Kruskal-Wallis test + Mann-Whitney U-test)

血液学的検査：投与後 99、182 (雌のみ)、183 (雄のみ)、365、547 および 725 日目に、非絶食・非麻酔下で後眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、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 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (プロトロンビン時間 : PTT)

検体投与に起因する変化は認められなかった。

血液生化学的検査 ; 血液学的検査に用いた血液より血清を回収し、以下の項目について検査した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、血清 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (SGGT)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)、マグネシウム (Mg)

認められた有意な変動を表 5 に示す。

アラニントランスアミナーゼ (ALT) 検査において、比較的頻繁に有意な減少が認められたが、一貫性もなく、減少であることから毒性学的意義はないと考えられる。5790 ppm 群では投与による体重増加抑制が認められていることから、栄養状態の変化に伴うものと考えられ、検体投与に直接起因するものではないと判断する。

表 5 のように有意差の認められたその他の検査項目は変動に一貫性がなく、用量依存性もみられないので、検体投与に起因するものではないと判断した。

表 5. 血液生化学的検査 (%)

検査項目	検査時期* (投与後日数)	群 (投与量 (ppm))					
		雄			雌		
		290	2316	5790	290	2316	5790
ALT	99		86.9 ↓ ↓	80.8 ↓ ↓		84.0 ↓ ↓	84.0 ↓ ↓
	183/182			82.9 ↓ ↓			
	365					85.3 ↓	
	547	77.0 ↓	70.8 ↓ ↓	67.3 ↓ ↓		78.6 ↓ ↓	83.5 ↓
AST	99						
	183/182						
	365						
	547					76.7 ↓ ↓	82.8 ↓ ↓
	725				127.2 ↑		
AIP	99						
	183/182						
	365						
	547		87.0 ↓				
	725						
SGGT	99						
	183/182			900 ↑			
	365						
	547						
	725						
Cl	99	101.0 ↑	100.9 ↑	101.2 ↑ ↑			
	183/182						
	365						
	547			100.7 ↑			
	725						
Gluc	99						
	183/182	106.3 ↑					
	365						
	547						
	725						
Crea	99						
	183/182						
	365						
	547						
	725	111.9 ↑ ↑					
TG	99						69.6 ↓
	183/182	148.0 ↑ ↑					
	365						
	547	137.3 ↑					
	725						44.2 ↓ ↓

*: 検査時期の xx/yy は雄/雌の検査時期を示す。その他は雌雄とも同日に検査した。

統計学的解析: ANOVA+Dunnnett's test (両側), ↑ ↓ : p ≤ 0.05; ↑ ↑ ↓ ↓ : p ≤ 0.01

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。 空欄は有意差なし

尿検査; 投与後 92、177、359、541 (雄のみ)、542 (雌のみ) および 716 日目に、採血した動物と同じ動物を対象として、代謝ケージに移し、絶食・絶水下で一夜尿を採取し、以下の項目について検査した。

尿量、色調、濁度、亜硝酸塩、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノ

ーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣
認められた有意な変動を表 6 に示す。

表 6. 尿検査

検査項目	検査時期(投与後日数)	程度*	群 (投与量 (ppm))							
			雄				雌			
			0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
結晶	92	<3	16	14	16	8				
		3	4	6	4	12↑				
	177	<3	19	20	19	14				
		3	1	0	1	6				
	359	<3	20	20	19	16				
		3	0	0	1	4				
細菌	92	<3	20	15	20	19				
		3	0	5↑	0	1				
赤血球	359	≤1	16	10	15	13				
		>1	4	10↑	5	7				
	716	≤1	14	5	14	12				
		>1	0	9↑	5	3				

*: 結晶/細菌: 3=多量、赤血球: 1=10個/μL、

統計学的解析: Fisher 直接確立検定 (赤血球は片側、結晶/細菌は両側)、↑↓: p≤0.05

雌動物では、いかなる用量群・測定時期においても有意な変動は認められなかった。
一方、雄動物では、3リン酸結晶が沈渣として投与後 92 日に有意な増加、投与後 177 および 359 日に増加傾向が、5790 ppm に認められた。これは投与に起因すると思われる。この他、投与後 359 および 716 日に雄で、290 ppm で赤血球の有意な出現が認められたが、用量依存性がないことから、投与に起因するものではないと判断した。

眼科学的検査: 投与 4 日前および投与後 723 日に、対照群および 5790 ppm 群の動物を対象とし、眼科学的検査を実施した。

検体投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量: 試験終了後の全生存動物を対象として、二酸化炭素麻酔下での断頭処理によって屠殺、放血後、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣

有意差の認められた臓器について表 7 に示す。

5790 ppm 群雄で脳重量の有意な減少が認められた。これは検体投与に起因するものではなく、最終体重の減少による 2 次的変化と判断する。

表 7. 体重および臓器重量 (%)

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		290	2316	5790	290	2316	5790
最終体重				86.2 ↓			
脳	重量			95.6 ↓			
	対体重比						

統計学的解析: Dunnett's-test, ↓: $p \leq 0.05$ 空欄は有意差なし
 表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

肉眼的病理検査; 試験終了後の全生存動物および死亡/切迫殺動物を対象として、剖検を行った。

検体投与に起因するいかなる肉眼的病理所見も認められなかった。

病理組織学的検査; 肉眼的病理検査を行った動物から、以下の臓器/組織を摘出した。対照群および 5790 ppm 群については全動物の全臓器/組織を、中間用量群 (290 および 2316 ppm 群) については死亡動物の全臓器/組織並びに肺、肝臓および腎臓をヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、骨格筋、胸骨 (骨髄を含む)、骨髄 (大腿骨)、大腿脛骨関節、脳、食道、胃、十二指腸、空腸、盲腸、回腸、直腸、結腸、乳腺 (雌のみ)、皮膚、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、肺、リンパ節 (顎下および腸間膜)、卵巢、輸卵管、膀胱、下垂体、顎下腺、舌下腺、坐骨神経、脊髄 (頸部、胸部および腰部)、眼球、精巢、精巢上体、前立腺、精囊、胸腺、甲状腺、上皮小体、気管、膀胱、子宮、肉眼的異常部位

(統計学的解析: 未実施)

非腫瘍性病変

認められた主要な非腫瘍性病変を表 8 に示す。

表 8 に示すような主要な非腫瘍性病変が認められたが、いずれの異常所見とも用量依存性や雌雄同一性がなく、投与関連性は認められなかった。

腫瘍性病変

認められたすべての腫瘍性病変を表 9 に示す。

表 9 に示す腫瘍性病変が認められたが、いずれの腫瘍とも用量依存性や雌雄同一性がなく、投与関連性は認められなかった。

以上の結果から、本検体をラットに 24 ヶ月間混餌投与した場合、5790 ppm 群で摂餌量の減少を伴い体重の抑制が認められた。また、同群の雄動物では、尿中に 3 リン酸結晶の増加ないし増加傾向が認められた。したがって、5790 ppm は最大耐用量であり、無毒性量は雌雄とも 2316 ppm (雄 106 mg/kg/day、雌 146 mg/kg/day) と判断される。

表 8. 主要な非腫瘍性病変の発生動物数

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
脳	検査動物数	20	8	2	20	20	10	10	20
	圧縮	2	1	2	1	9	8	8	5
	脳室拡張	1	2		1	8	4	2	1
脊髄	検査動物数	20	6	2	20	20	5	7	20
腰部	神経根神経症	14	2	1	11	8		2	10
坐骨神経	検査動物数	20	6	2	20	20	5	7	20
	神経根神経症	15	3	1	14	10	1	5	7
心臓	検査動物数	20	7	4	20	20	5	7	20
	心筋細胞融解・線維化	19	7	3	18	16	6	6	14
	心筋壊死	2			8	4		4	5
肺	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
	鬱血	4	4		4	6	1	5	2
	肺泡出血	6	8	10	6	2	3	6	8
	血管内鈣化	6	10	4	8	6	3	4	2
	肺泡内組織球増多症	10	8	5	5	4	7	7	6
腺胃	検査動物数	20	6	4	20	20	8	8	20
	腺拡張	13	1	3	15	16	4	6	15
肝臓	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
	鬱血	4	3	3	5	5	3	4	1
	脂肪変性	15	13	14	12	10	14	12	8
	炎症巣	16	15	16	18	17	13	15	17
	造血巣	0	4	2	0	1	7	2	4
	色素貪食	2	6	3	2	2	5	5	2
	胆管細胞増殖	9	5	6	4	6	5	4	3
	胆管線維化	5	4	6		3		1	1
	明細胞巣	0	6	1	4	0	1	1	0
	好塩基性細胞巣	14	12	12	13	9	10	14	11
脾臓	検査動物数	20	5	2	20	20	7	7	19
	色素沈着	15	1	1	16	9	1	1	7
腎臓	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
	慢性腎症	18	20	18	17	14	16	14	13
	腎盂炎	7	4	8	4	5	4	4	6
	尿管管鈣化	2	4	2	5	20	20	20	20
	血管周囲鈣化	7	9	16	6	10	13	17	11
精巣	検査動物数	20	15	14	20				
	精細管萎縮	12	12	11	13				
	精細管鈣化	5	5	8	6				
	間細胞過形成	14	9	7	11				
精巣 上体	検査動物数	20	7	2	20				
	円形細胞浸潤	13	5	2	12				

表 8. 主要な非腫瘍性病変の発生動物数 (つづき)

性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)							
		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
卵巣	検査動物数					20	8	12	20
	色素沈着					18	8	11	19
	間質細胞過形成					14	5	7	13
	卵管過形成					7	3	3	4
子宮	検査動物数					20	14	9	20
	間質線維化					13	4	5	14
甲状腺	検査動物数	20	6	2	20	20	5	8	20
	色素貪食	14	3	1	13	2			3
	C細胞過形成	11	2		9	14	0	2	5
副腎皮質	検査動物数	20	9	7	20	20	17	18	20
	瀰漫性空胞化	11	6	4	15	5		5	5
	空胞性細胞巣	4	1	3	1	3	5	5	9
	脂肪性色素	20	9	6	20	20	16	18	200
	ヘモジデリン沈着	1				3	5	8	6
	血管拡張	4	2	4	7	20	17	18	20
	細胞肥大	7	2	3	12	7	6	5	2
	結節性過形成	6	6	1	7	3	6	4	6
脾臓	検査動物数	20	7	4	20	20	5	7	20
	鬱血	20	7	3	17	17	2	2	16
	造血促進	18	5	3	17	16	3	5	18
	ヘモジデリン沈着	20	6	3	20	19	5	5	17
胸腺	検査動物数	19	7	2	17	17	5	10	19
	リンパ球萎縮	7	5	1	12	2	2	2	3
腹膜リンパ節	検査動物数	20	7	2	20	20	4	7	20
	リンパ球増生	9	3	1	6	11	2	2	7
	組織球増多症	19	4	1	17	18	3	7	19
	色素貪食	19	6	2	19	20	4	7	20
腸骨リンパ節	検査動物	7	12	7	9	2	4	5	4
	色素貪食	4	10	6	6	1	3	2	4
	赤血球貪食	2	8	5	4	0	2	3	3
下顎リンパ節	検査動物数	20	6	2	20	20	5	7	20
	リンパ球増生	18	2	2	15	18	3	7	16
乳腺	検査動物数					20	8	11	20
	分泌物					19	3	8	18
	乳瘤					9	1	3	10
胸骨	検査動物数	20	6	2	20	20	5	7	20
	軟骨形成異常	9	2		8	14	3	2	11

表 9. すべての腫瘍性病変の発生動物数

性別		雄				雌			
		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
死亡/切迫殺動物									
死亡/切迫殺動物数		5	6	2	6	5	5	7	5
脳	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	乏突起膠腫 (M)				1		1		
	顆粒細胞腫瘍 (B)	1							
	顆粒細胞腫瘍 (M)					1			
	神経鞘腫 (M)				1				
肝臓	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	胆管腫瘍 (B)				1				
	癌 (M)				1				1
脾臓	検査動物数	5	5	1	6	5	5	7	5
	島細胞腺腫 (B)				1				
	島細胞癌 (M)		1						
精巣	検査動物数	5	6	2	6	/			
	間細胞腫 (B)	1	2		1				
子宮	検査動物数	/				5	5	7	5
	間質ポリープ (B)						1		
	神経鞘腫 (M)								1
	血管肉腫 (M)								1
	間質細胞肉腫 (M)								1
下垂体	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	腺腫 (B)	2	2	2	1	5	4	6	3
甲状腺	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	C細胞腺腫 (B)					1	1		
上皮小体	検査動物数	5	6	2	5	5	5	7	5
	腺腫 (B)			1	1				
副腎皮質	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	腺癌 (M)		1	1		1	2	1	
	癌 (M)			1					
副腎髄質	検査動物数	5	6	2	6	5	5	6	5
	褐色細胞腫 (B)		1	2		1			
リンパ細網系	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	線維性組織球腫 (M)							1	
	組織球肉腫 (M)			1					
脾臓	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	血管肉腫 (M)		1					1	
胸腺	検査動物数	4	6	2	4	2	4	6	5
	胸腺腫 (B)	2				1	1		
腹膜リンパ節	検査動物数	5	6	2	6	5	4	7	5
	血管腫 (B)	1							
	血管肉腫 (M)		1						1

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性病変の発動物数 (つづき)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
死亡/切迫殺動物 (つづき)									
乳腺	検査動物数					5	4	7	5
	腺癌 (M)							1	
皮膚	検査動物数	5	6	2	6	5	5	7	5
	線維腫 (B)		1						
	角化棘細胞腫 (B)	1	1		1				
	扁平上皮癌 (M)				1				
	神経鞘腫 (M)	1							
	神経冠細胞腫瘍 (M)					1			
最終屠殺動物									
最終屠殺 (生存) 動物数		15	14	18	14	15	15	13	15
脳	検査動物数	15	2		14	15	5	3	15
	髄膜腫 (B)				1				
	顆粒細胞腫瘍 (B)	2							
	顆粒細胞腫瘍 (M)	1	1						
鼻腔	検査動物数			1					
	腺癌 (M)			1					
肺	検査動物数	15	14	18	14	15	15	13	15
	癌 (M)			1					
肝臓	検査動物数	15	14	18	14	15	15	13	15
	胆管腫瘍 (B)							1	
	癌 (M)	1	1	1	1			1	
脾臓	検査動物数	15		1	14	15	2	0	15
	島細胞腺腫 (B)				1				
精巣	検査動物数	15	9	12	14				
	間細胞腫 (B)	8	7	9	7				
卵巣	検査動物数					15	3	5	15
	黄体腫 (B)					2			
	卵胞膜/顆粒膜細胞腫 (B)					1	1	2	2
	卵胞膜/顆粒膜細胞腫 (M)					1			
	生殖腺間質細胞腫 (B)							1	
子宮	検査動物数					15	9	2	15
	腺癌 (M)						1		
	間質ポリープ (B)					2	2	1	
	平滑筋腫 (B)								1
	神経鞘腫 (M)						1		
膣	検査動物数					1			
	顆粒細胞腫 (B)					1			
下垂体	検査動物数	15	3		14	15	13	12	15
	腺腫 (B)	6	3		3	12	13	11	9
甲状腺	検査動物数	15			14	15		1	15
	C 細胞腺腫 (B)				1	1		1	2
	C 細胞癌 (M)								1

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性病変の発生動物数(つづき)

性別		雄				雌			
		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
最終屠殺動物 (つづき)									
上皮小体	検査動物数	15			14	15		1	14
	腺癌(M)								1
副腎皮質	検査動物数	15	3	5	14	15	12	11	15
	腺癌(M)		1	1		1	2	1	
	癌(M)			1					
副腎髄質	検査動物数	15	3	3	14	15	12	11	15
	褐色細胞腫(M)				1				
	褐色細胞腫(B)	3	2	2	3	1			
リンパ細網系	検査動物数	15	2	2	14	15	2	4	15
	線維性組織球腫(M)						1		
脾臓	検査動物数	15	1	2	14	15			15
	血管肉腫(M)		1	1	2				
胸腺	検査動物数	15	1		13	15	1	4	14
	胸腺腫(B)	5	1		1	3	1	4	2
腹膜リンパ節	検査動物数	15	1		14	15			15
	血管腫(B)	2	1		1	1			
	血管肉腫(M)	2			2				
顎下腺	検査動物数	15			14	15			15
	神経鞘腫(M)				1				
乳腺	検査動物数	/				15	4	4	15
	線維腺腫(B)					3	2	3	4
	腺癌(M)						2	1	2
皮膚	検査動物数	15	10	7	14	15	1	2	15
	脂肪腫(B)			1					
	線維腫(B)			1					
	角化棘細胞腫(B)	2	2		2				
	扁平上皮癌(M)			1					
	未分化肉腫(M)	1							
	神経鞘腫(M)			1					
胸腔	検査動物数							1	
	血管肉腫(M)							1	
	検査動物数	1		1					
腸間膜	検査動物数	1		1					
	神経鞘腫(M)			1					

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性病変の発生動物数(つづき)

性別		雄				雌			
		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
全動物									
脳	検査動物数	20	8	2	20	20	10	10	20
	髄膜腫 (B)				1				
	乏突起膠腫 (M)				1		1		
	顆粒細胞腫瘍 (B)	3							
	顆粒細胞腫瘍 (M)	1	1			1			
	神経鞘腫 (M)				1				
鼻腔	検査動物数			1					
	腺癌 (M)			1					
肺	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
	癌 (M)			1					
十二指腸	検査動物数	19	5	2	19	19	6	6	20
	腺癌 (M)				1				
肝臓	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
	胆管腫瘍 (B)				1			1	
	癌 (M)	1	1	1	2			1	1
膵臓	検査動物数	20	5	2	20	20	7	7	19
	島細胞腺腫 (B)				2				
	島細胞癌 (M)		1						
精巣	検査動物数	20	15	14	20				
	間細胞腫 (B)	9	9	9	8				
卵巢	検査動物数					20	8	12	20
	黄体腫 (B)					2			
	卵胞膜/顆粒膜細胞腫 (B)					1	1	1	2
	卵胞膜/顆粒膜細胞腫 (M)					1		1	
	生殖腺間質細胞腫 (B)							1	
子宮	検査動物数					20	14	9	20
	腺癌 (M)						1		
	間質ポリープ (B)					2	2	1	
	平滑筋腫 (B)								1
	神経鞘腫 (M)						1		1
	血管肉腫 (M)							1	
	間質細胞肉腫 (M)							1	
膺	検査動物数					1		1	
	顆粒細胞腫 (B)					1			
下垂体	検査動物数	20	9	2	20	20	18	19	20
	腺腫 (B)	8	5	2	4	17	17	17	12
甲状腺	検査動物数	20	6	2	20	20	5	8	20
	C細胞腺腫 (B)				1	2	1	1	2
	C細胞癌 (M)								1
上皮小体	検査動物数	20	6	2	19	20	5	8	19
	腺癌 (M)			1	1				1
副腎皮質	検査動物数	20	9	7	20	20	17	18	20
	腺癌 (M)		1	1		1	2	1	
	癌 (M)			1					

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性病変の発生動物数(つづき)

性別		雄				雌			
		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
全動物									
副腎髓質	検査動物数	20	9	5	20	20	17	17	20
	褐色細胞腫(M)				1				
	褐色細胞腫(B)	3	3	4	3	2			
リンパ細網系	検査動物数	20	8	4	20	20	7	11	20
	線維性組織球腫(M)						1	1	
	組織球肉腫(M)			1					
脾臓	検査動物数	20	7	4	20	20	5	7	20
	血管肉腫(M)		2	1	2			1	
胸腺	検査動物数	19	7	2	17	17	5	10	19
	胸腺腫(B)	7	1		1	4	2	4	2
腹膜リンパ節	検査動物数	20	7	2	20	20	4	7	20
	血管腫(B)	3	1		1	1			
	血管肉腫(M)	2	1		2				1
顎下腺	検査動物数	20	6	2	20	20	5	7	20
	神経鞘腫(M)	0			1				
乳腺	検査動物数	/				20	8	11	20
	線維腺腫(B)					3	2	3	4
	腺癌(M)						2	2	2
皮膚	検査動物数	20	16	9	20	20	6	9	20
	脂肪腫(B)			1					
	線維腫(B)		1	1					
	角化棘細胞腫(B)	3	3		3				
	扁平上皮癌(M)			1	1				
	未分化肉腫(M)	1							
	神経鞘腫(M)	1		1					
	肥満細胞腫(M)		1						
胸腔	検査動物数							1	
	血管肉腫(M)							1	
腸間膜	検査動物数	1		1				0	
	神経鞘腫(M)			1					
検査動物数		20	20	20	20	20	20	20	20
腫瘍数	良性	37	29	24	29	36	27	32	24
	悪性	8	7	8	12	3	6	9	7
	総腫瘍数	45	36	32	41	39	33	41	31
担腫瘍動物数	良性	18	16	12	16	19	19	19	15
	悪性	8	6	8	9	3	6	8	6
	合計	18	18	15	18	19	19	20	15

11-5. ラットを用いた飼料混入投与による2年間発癌試験

(資料 35)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ウィスター系ラット [Chbb:Thom(SPF)] 1群雌雄各50匹

試験開始時週齢：42日齢

試験開始時体重：雄 164-193 g 雌 127-155 g

観察期間：2年間

投与方法：本試験における投与量について表1に示す。

表1. 本試験系の投与量および検体純度換算値

投与量 (ppm)	500	4000	10000
検体純度換算値	290	2316	5790

検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要濃度の飼料を添加・混合して表中に記載した濃度になるように飼料に混入し、2年間にわたり摂食させた。

検体を混入した飼料は、1週間に1回調製した。

用量設定根拠：同研究所において、同系統動物を用いて実施した4週間亜急性試験（資料27）および3ヶ月間亜急性試験（資料29および30）で得られた結果をもとに、本試験での用量を表1のように設定した。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率：一般状態および生死について、毎日観察した。また週に1回、詳細な一般状態の観察を実施した。

検体投与に起因する一般状態の異常は認められなかった。

死亡率を表2に示す。

表 2. 累積死亡率 (%)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
投 与 後 日 数	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	91	0	0	0	0	0	0	0	0
	182	0	0	0	0	0	0	0	0
	273	2	0	0	0	0	0	0	0
	364	8	2	0	2	2	0	0	0
	455	8	2	0	2	6	2	0	2
	546	16	6	2	4	8	6	4	4
	637	30	14	10	16	18	14	6	14
	728	46	24	28	18	34	22	20	26

検体の投与は死亡率に影響しなかった。

体重；投与日（投与 0 日）および投与後最初の 14 週間は 1 週間毎に、以降は 4 週間毎に測定した。

各データは ANOVA で解析し、有意差が認められた場合にのみ Dunnett の両側検定を行い対照群と投与群を比較した。

雄および雌において有意な変動が認められた。表 3（体重および体重増加）に結果を示す。

5790 ppm 群の雌雄で、統計学的有意な体重の抑制（対対照比で約 10-20%の抑制）が投与期間中認められた。また、2316 ppm 群で、雄では統計学的有意な体重の抑制が 1 年目は散発的に、投与 2 年目以降は常時有意な変動が認められた。290 ppm 群では、雄で投与 518 日以降有意に抑制されたが、抑制率は対照群に比し、約 8%と軽微であった。290 および 2316 ppm 投与で認められた体重および体重増加の抑制は、10%前後の極軽微なものであり、同時期に当該研究機関で行われていた別の発癌試験における対照群の体重値と比べても、明らかな差はなかった。さらに 290 ppm 投与群での減少は散発的なものである。したがって、検体投与に起因するものではないと判断した。

雌では 290 および 2316 ppm 群とも有意な変動は認められなかった。

表 3. 体重および体重増加 (%)

投与後 日数	投与群 (ppm)											
	体重						体重増加					
	雄			雌			雄			雌		
	290	2316	5790	290	2316	5790	290	2316	5790	290	2316	5790
0			98.4 ↓									
7		98.1 ↓	90.5 ↓			96.4 ↓		94.8 ↓	65.7 ↓			81.8 ↓
14		97.5 ↓	89.1 ↓			95.1 ↓		94.7 ↓	73.0 ↓			82.6 ↓
21			91.6 ↓			94.8 ↓			82.4 ↓			85.0 ↓
28			89.4 ↓			94.7 ↓			80.0 ↓			85.9 ↓
35		96.9 ↓	89.0 ↓			95.3 ↓		94.9 ↓	80.4 ↓			88.6 ↓
42		96.3 ↓	87.7 ↓			92.8 ↓		94.0 ↓	79.0 ↓			83.4 ↓
49		96.6 ↓	88.2 ↓			93.0 ↓		94.7 ↓	80.5 ↓			84.5 ↓
56			87.8 ↓			93.3 ↓			80.6 ↓			86.0 ↓
63			88.0 ↓			92.9 ↓			81.2 ↓			85.6 ↓
70			87.7 ↓			92.1 ↓			81.2 ↓			84.3 ↓
77			87.6 ↓			91.9 ↓			81.2 ↓			84.3 ↓
84		96.5 ↓	87.2 ↓			92.5 ↓		95.0 ↓	80.9 ↓			85.6 ↓
91		96.4 ↓	86.9 ↓			91.2 ↓		94.9 ↓	80.7 ↓			83.4 ↓
98			87.3 ↓			90.7 ↓			81.4 ↓			82.6 ↓
126		96.3 ↓	86.8 ↓			90.2 ↓		94.9 ↓	81.2 ↓			82.2 ↓
154			86.9 ↓			91.0 ↓			81.7 ↓			84.1 ↓
182			86.7 ↓			90.0 ↓			81.7 ↓			82.3 ↓
210			87.0 ↓			90.0 ↓			82.2 ↓			82.5 ↓
238		95.6 ↓	86.0 ↓			90.0 ↓		94.2 ↓	81.0 ↓			82.7 ↓
266			86.4 ↓			89.4 ↓			81.7 ↓			81.9 ↓
294		95.4 ↓	85.8 ↓			89.1 ↓		94.0 ↓	81.1 ↓			81.8 ↓
322		94.6 ↓	84.9 ↓			87.8 ↓		93.0 ↓	80.0 ↓			79.8 ↓
350		94.5 ↓	84.9 ↓			87.7 ↓		92.9 ↓	80.1 ↓			79.8 ↓
378		94.3 ↓	84.9 ↓			86.8 ↓		92.6 ↓	80.1 ↓			78.4 ↓
406		93.9 ↓	84.5 ↓			87.1 ↓		92.1 ↓	79.8 ↓			79.0 ↓
434		94.0 ↓	84.4 ↓			86.7 ↓		92.2 ↓	79.7 ↓			78.5 ↓
462		94.0 ↓	83.8 ↓			85.4 ↓		92.4 ↓	79.1 ↓			76.7 ↓
490		93.8 ↓	82.9 ↓			84.2 ↓	94.0 ↓	92.0 ↓	78.0 ↓			75.2 ↓
518	95.1 ↓	93.4 ↓	82.3 ↓			84.3 ↓	93.6 ↓	91.6 ↓	77.3 ↓			75.7 ↓
546	94.8 ↓	93.5 ↓	82.5 ↓			83.7 ↓	93.2 ↓	91.7 ↓	77.5 ↓			74.9 ↓
574	94.1 ↓	92.9 ↓	82.2 ↓			82.1 ↓	92.3 ↓	90.9 ↓	77.1 ↓			72.4 ↓
602	93.1 ↓	90.6 ↓	80.5 ↓			82.3 ↓	90.9 ↓	88.0 ↓	75.0 ↓			72.6 ↓
630	93.1 ↓	90.5 ↓	82.4 ↓			80.5 ↓	90.9 ↓	87.8 ↓	77.5 ↓			70.0 ↓
658		91.4 ↓	83.5 ↓			80.0 ↓		88.9 ↓	78.9 ↓			69.6 ↓
686	93.8 ↓	91.0 ↓	83.9 ↓			81.1 ↓	91.8 ↓	88.4 ↓	79.4 ↓			71.3 ↓
714		90.1 ↓	84.1 ↓			78.1 ↓		87.3 ↓	79.6 ↓			67.2 ↓
728	91.6 ↓	88.4 ↓	82.0 ↓			81.0 ↓	89.0 ↓	85.1 ↓	77.0 ↓			71.0 ↓

統計学的解析: Anova + Dunnett's test (両側)、↓: p ≤ 0.05; ↓↓: p ≤ 0.01

表中の数値は、対照群を 100%としたさいの相対値。空欄は有意差なし

摂餌量および食餌効率: 摂餌量は、投与後最初の 14 週間は週に 1 回測定した。以降の試験期間は、4 週間毎に測定した。また、食餌効率も算出した。

5790 ppm 群の雌雄で、摂餌量の低下傾向 (対照群と比べ雄約 10-15%; 雌で約 5-10% 減少) が認められた。その他の投与群は生物学的変動の範囲内にあった。

また、食餌効率も検体投与に起因する変動は認められなかった。

(統計学的解析は未実施)

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は表 5 のとおりであった。

表 5. 平均検体摂取量

検体投与量 (ppm)		500	4000	10000
純度換算値 (ppm)		290	2316	5790
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	13	105	269
	雌	17	141	370

血液学的検査：試験終了時、対照群および 5790 ppm 群の全生存動物（雌雄）を断頭により屠殺し、その際に得られた血液を用いて血液塗抹標本を作製し、Wright 染色標本を用いて、白血球百分比および赤血球形態を検査した。さらに、すべての切迫屠殺動物についても同様に検査した。

白血球百分比検査および赤血球形態検査ともに、検体投与に起因する変化は認められなかった。

(統計学的解析は未実施)

臓器重量：試験終了後の全生存動物を対象として、二酸化炭素麻酔下での断頭処理によって放血屠殺し、以下の臓器重量を測定した。絶また、対体重比も算出した。

各データは Dunnett 両側検定を行い対照群と投与群を比較した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣

有意差の認められた臓器について表 6 に示す。

表 6. 体重および臓器重量 (%)

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	239	2316	5790	239	2316	5790
最終体重		91.2 ↓ ↓	87.9 ↓ ↓	81.8 ↓ ↓			80.3 ↓ ↓
肝臓	重量		91.0 ↓	82.6 ↓ ↓			84.0 ↓ ↓
	対体重比						
腎臓	重量			85.5 ↓ ↓			
	対体重比						119.3 ↑ ↑
脳	重量						
	対体重比			119.3 ↑			119.6 ↑ ↑

統計学的解析：Dunnett's test (両側)、↑ ↓ : $p \leq 0.05$; ↑ ↑ ↓ ↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は、対照群を 100%としたさいの相対値。

最終体重の有意な抑制が 5790 ppm 群の雌雄並びに 290 および 2316 ppm 群の雄で認められた。雄の抑制は用量依存的であった。

臓器重量は表のように肝臓、腎臓および脳で重量または対体重比のみの有意な変動が認められた。これらの変動は片方のパラメーターのみの変動であり、体重抑制によるもので、投与に起因するものではないと判断した。

肉眼的病理検査；試験終了後の全生存動物および死亡/切迫殺動物を対象として、剖検を行った。

検体投与に起因する肉眼的病理所見は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を行った動物から、以下の臓器/組織を摘出した。対照群および 5790 ppm 群については全動物の全臓器/組織を、中間用量群（290 および 2316 ppm 群）については死亡動物の全臓器/組織並びに肺、肝臓および腎臓をヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、骨格筋、胸骨（骨髄を含む）、骨髄（大腿骨）、大腿脛骨関節、脳、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、直腸、結腸、乳腺（雌のみ）、皮膚、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、肺、リンパ節（顎下および腸間膜）、卵巣、輸卵管、膵臓、下垂体、顎下腺、舌下腺、坐骨神経、脊髄（頸部、胸部および腰部）、眼球、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、胸腺、甲状腺、上皮小体、気管、膀胱、子宮、肉眼的病理異常部位

<非腫瘍性病変>

認められた主要な非腫瘍性病変を表 7 に示す。（統計解析：未実施）

雌で乳腺における分泌活性、卵巣囊の拡張、舌下の腺房萎縮、子宮における線維化・扁平上皮過形成・間質過形成、雄で前立腺の胞萎縮が、5790 ppm 群に比較的高率または重篤に認められた。

本検体の投与により、5790 ppm 群では体重減少が認められている。したがって、上記の非腫瘍性病変は、この体重減少に伴う生体の生理状態変化によるものであり、検体投与に起因するものではないと判断した。

<腫瘍性病変>

認められたすべての腫瘍性病変を表 8 に示す。（統計解析：未実施）

種々の腫瘍が認められたが、個別の腫瘍、腫瘍の発生数および担腫瘍動物数ともに検体投与に起因する腫瘍の発生は認められなかった。したがって、本検体は発癌性を有しないと判断する。

以上の結果から、本検体をラットに 24 ヶ月間混餌投与した場合、5790 ppm 群で摂餌量の減少を伴い体重抑制が認められた。また、5790 ppm でも投与に起因する腫瘍の発生は認められなかった。したがって、本試験の無影響量 (NOEL) は、2316 ppm (雄：105 mg/kg/day；雌：141 mg/kg/day) と判断する。

表 7. 主要な病理組織学的所見 (全動物)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	290	2316	5790	0	290	2316	5790
総動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
脳	検査動物数	50	13	15	50	50	22	22	50
	圧迫	2	1	3	0	24	15	15	19
坐骨神経	検査動物数	50	12	14	50	49	11	10	50
	神経根神経症	19	2	4	23	24	5	2	28
心臓	検査動物数	50	18	18	50	50	14	13	50
	筋細胞溶解/線維化	46	15	18	42	38	10	8	32
	筋細胞壊死	6	1	1	11	8	1	1	10
	骨化生	11	2	3	7	10	2	2	7
肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	鬱血	12	5	12	4	11	3	2	2
	肺泡出血	21	23	26	25	18	16	30	24
	血管鈣化	19	17	18	18	12	13	12	10
	骨化生	6	5	5	6	2	4	2	2
	肺泡組織球増多症	19	23	22	20	8	8	6	5
腺胃	検査動物数	50	15	18	50	50	16	13	50
	腺拡張	39	9	6	39	40	13	6	38
肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	鬱血	16	6	12	4	12	5	3	4
	脂肪変性	42	37	34	36	30	31	33	28
	炎症巣	34	37	38	43	32	39	33	37
	色素貪食	14	4	6	12	12	9	8	11
	胆管細胞増殖	13	15	19	15	17	9	15	14
	胆管線維化	12	8	12	6	5	3	4	1
	胆管空胞化	4	5	6	4	8	15	14	16
	好塩基性細胞巣	25	37	32	25	21	26	26	23
	細胞過形成	16	3	1	3	10	6	6	5
脾臓	検査動物数	50	15	14	50	50	14	12	50
	色素沈着	31	7	4	31	18	6	2	16
腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	慢性腎症	41	46	46	37	38	37	29	23
	腎盂炎	12	13	19	15	9	9	9	14
	尿細管鈣化	11	7	6	6	49	50	50	50
	腎盂鈣化	15	15	18	25	35	35	37	42
	尿細管円柱	3	2	3	5	6	6	11	13
	尿細管萎縮	5	3	3	12	9	9	13	16
精巣	検査動物数	50	39	39	50				
	精細管萎縮	30	33	26	23				
	精細管鈣化	19	17	13	16				
	間質細胞過形成	24	16	21	32				
精巣上体	検査動物数	50	13	16	50				
	無精子症	12	1	2	11				
	円形細胞浸潤	30	9	8	34				
前立腺	検査動物数	50	20	18	50				
	胞結石	35	15	10	26				
	前立腺炎	13	7	10	17				
	過形成	12	2	1	10				
	胞萎縮	1	2	4	7				
貯精囊	検査動物数	50	20	19	50				
	胞萎縮	11	6	7	12				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

卵巣	検査動物数					50	31	27	50
	胚性遺残					11	3	7	17
	嚢拡張					1	2	2	13
	嚢胞					22	22	16	21
	色素沈着					47	29	23	47
	間質細胞過形成					24	10	6	21
	卵管細胞過形成					25	12	16	26
子宮	検査動物数					50	19	24	50
	間質性線維化					35	13	10	42
	色素沈着					5	1	0	10
	内膜細胞過形成					15	7	8	7
	扁平上皮過形成					5	5	4	14
	間質細胞過形成					2	3	1	11
下垂体	検査動物数	50	21	20	50	50	42	41	50
	嚢胞	3	0	3	7	3	2	6	10
	過形成	8	3	4	13	4	5	3	6
甲状腺	検査動物数	50	12	15	50	50	11	11	50
	管遺残	13	6	7	12	19	3	2	12
	色素貪食	29	8	10	37	2	0	0	6
	濾胞出血	12	4	1	16	0	0	0	1
	嚢胞性濾胞	4	1	1	9	15	1	2	12
	C細胞過形成	18	4	3	31	24	7	3	17
副腎皮質	検査動物数	49	23	23	50	50	42	47	50
	鬱血	10	3	6	2	15	3	0	2
	瀰漫性空胞化	22	11	3	25	9	8	7	3
	空胞化細胞巢	7	5	1	9	16	9	5	17
	脂質様色素	45	20	21	49	48	41	47	48
	ヘモジデリン色素	0	0	0	0	18	17	19	20
	血管拡張症	12	5	8	15	46	42	47	49
	線維化	0	0	0	0	4	13	6	11
	細胞肥大	20	13	15	25	23	17	22	19
副腎髄質	検査動物数	49	23	22	50	49	42	43	49
	過形成	14	4	3	9	8	4	5	8
脾臓	検査動物数	50	20	17	50	50	14	11	50
	鬱血	37	11	12	42	32	7	3	33
	造血亢進	44	16	15	43	40	9	11	42
	ヘモジデリン色素	45	16	16	49	46	10	6	45
胸腺	検査動物数	40	14	15	46	46	16	12	45
	出血	2	3	2	6	12	4	2	28
	髄質嚢胞	0	0	0	2	10	4	4	11
	リンパ球萎縮	29	6	6	23	9	11	7	12
リンパ節 腸間膜	検査動物数	50	13	17	50	50	11	12	50
	リンパ球増生	20	7	6	24	22	2	3	16
	組織球増多症	46	8	9	44	44	10	8	44
	色素貪食	47	9	12	48	50	11	10	50
	赤血球貪食	12	4	3	5	5	0	3	7
リンパ節 腸骨	検査動物数	26	34	24	27	8	6	12	8
	リンパ球増生	6	10	12	11	5	1	5	2
	色素貪食	11	16	10	18	3	4	6	5
	赤血球貪食	7	10	5	12	1	1	2	5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

リンパ節 顎下	検査動物数	50	12	15	50	50	11	10	49
	リンパ球増生	41	7	11	42	38	8	7	41
	色素貪食	4	1	4	4	13	2	2	12
舌下腺	検査動物数	50	12	14	50	50	11	9	49
	腺房萎縮	4	3	3	6	4	2	0	14
	管上皮化生	13	1	2	9	11	4	2	4
乳腺	検査動物数	0	0	0	2	47	16	14	50
	分泌物	0	0	0	0	30	9	7	45
	乳瘤	0	0	0	0	14	6	6	21
	乳管過形成	0	0	0	0	12	4	3	12
胸骨	検査動物数	50	12	14	50	50	11	10	50
	軟骨形成異常	26	6	8	20	32	4	6	26
眼球	検査動物数	50	15	16	50	50	14	11	50
	レンズ変性	1	2	7	7	1	3	1	3

表 8. 全ての腫瘍性所見

性別		雄				雌				
		投与量 (ppm)		0	290	2316	5790	0	290	2316
死亡・屠殺動物										
動物数		23	12	14	9	17	11	10	13	
脳	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13	
	希突起神経膠腫 (M)					1				
	顆粒細胞 (M)	1								
	膠芽細胞腫 (M)								2	
脊髓 頸部	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13	
	顆粒細胞腫 (B)	1								
末梢 神経	検査動物数	2								
	神経鞘腫 (M)	2								
肺	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13	
	扁平上皮癌 (M)								1	
空腸	検査動物数	22	11	11	6	14	9	9	11	
	平滑筋肉腫					1			0	
回腸	検査動物数	22	10	10	5	14	10	10	10	
	平滑筋腫 (B)							1	0	
結腸	検査動物数	22	12	14	9	17	11	10	13	
	腺癌 (M)	1								
肝臓	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13	
	胆管腫 (B)							2		
	癌 (M)	2		1	2					
	血管肉腫 (M)	1								
膵臓	検査動物数	23	11	14	9	17	11	10	13	
	島細胞腺腫 (B)	1								
	腺房腺腫 (B)	1								
腎臓	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13	
	脂肪腫性腫瘍 (B)							1		
膀胱	検査動物数	23	12	14	9	17	11	9	13	
	尿路上皮乳頭腫 (B)			1	1					
	平滑筋肉腫 (M)			1						
精巣	検査動物数	23	12	14	9					
	間細胞腫 (B)	7	4	4	1					
前立腺	検査動物数	23	11	14	9					
	腺腫 (B)			1						
	腺癌 (M)				1					
卵巢	検査動物数					17	11	10	13	
	卵胞膜/顆粒膜細胞腫 (B)					1				
子宮	検査動物数					17	11	10	13	
	腺癌 (M)							1		
	間質ポリープ (B)					1			1	
	腺腫様ポリープ (B)							1		
	線維腫								1	
	神経鞘腫 (M)					2	1	3		
	血管肉腫 (M)							1	1	
間質肉腫 (M)					1					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

腫	検査動物数					1	1	2	1
	神経鞘腫 (M)							1	
下垂体	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13
	腺腫 (B)	5	3	2		13	7	6	7
甲状腺	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13
	C 細胞腺腫 (B)	3		3		2	4	1	
	濾胞状癌 (M)						1		
上皮小体	検査動物数	22	12	14	9	16	11	10	13
	腺腫 (B)			1					
副腎皮質	検査動物数	23	11	14	9	17	11	10	13
	腺腫 (B)	1						1	
	癌 (M)	1							
副腎髄質	検査動物数	22	11	14	9	17	11	10	13
	褐色細胞腫 (B)	3	2	2	1	1	1		1
リンパ細網系	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13
	リンパ腫 (M)	1	1	1	1				
	線維性組織球腫 (M)	1	1	1	1				
	組織球肉腫 (M)		1						
脾臓	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13
	血管腫	2	1						
	血管肉腫 (M)				1				
胸腺	検査動物数	14	12	12	8	14	11	9	10
	胸腺腫 (B)	4		3		1		1	1
腸間膜リンパ	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13
	血管腫 (B)	2			1			1	
	血管肉腫 (M)	4	1						
乳腺	検査動物数				1	15	10	9	13
	嚢胞腺腫 (B)						1	1	1
	線維腺腫 (B)					3		1	2
	腺癌 (M)				1			2	1
	血管肉腫 (M)					1			
皮膚	検査動物数	23	12	14	9	17	11	10	13
	脂肪腫 (B)		1						
	線維腫 (B)			2	1				
	角化棘細胞腫 (B)	2		1					
	扁平上皮癌 (M)								1
	血管周囲細胞腫 (M)					1			
	線維肉腫 (M)	1							
	軟骨肉腫 (M)	1							
	未分化肉腫 (M)						1		
	神経鞘腫 (M)	1							1
骨	検査動物数		1	1	1				
その他	骨肉腫 (M)		1		1				
	線維肉腫 (M)			1					

最終屠殺（生存）動物

動物数		27	38	36	41	33	39	40	37
脳	検査動物数	27	1	1	41	33	11	12	37
	神経膠腫(M)					1			
	顆粒細胞腫(B)				1				1
	顆粒細胞腫(M)		1						
肺	検査動物数	27	38	36	41	33	39	40	37
	癌(M)			1					
	扁平上皮癌(M)	1							
前胃	検査動物数	27	4	4	41	33	5	3	37
	扁平上皮乳頭腫(B)						3		
空腸	検査動物数	27			41	33	1		37
	平滑筋腫(B)						1		
結腸	検査動物数	27			41	33			37
	神経鞘腫(M)					1			
肝臓	検査動物数	27	38	36	41	33	39	40	37
	胆管腫(B)						1		1
	腺腫(B)		2		2	1			
	癌(M)	3	2	2	1		3	1	2
	血管肉腫(M)					1			
膵臓	検査動物数	27	4		41	33	3	2	37
	島細胞腺腫(B)	1			1				
	島細胞癌(M)		1				2		
	腺房腺腫(B)	2	2		1				
腎臓	検査動物数	27	38	36	41	33	39	40	37
	尿細管細胞腺腫(B)	1						1	
	尿細管細胞癌(M)			1					
	移行細胞乳頭腫(B)							1	
膀胱	検査動物数	27	3	3	41	33			37
	尿路上皮乳頭腫(B)	1		1	2				
精巣	検査動物数	27	27	25	41				
	間細胞腫(B)	15	20	13	19				
	血管腫(B)			1	1				
前立腺	検査動物数	27	9	4	41				
	腺腫(B)		1	1	1				
貯精囊	検査動物数	27	8	5	41				
	腺腫(B)				1				
卵巢	検査動物数					33	20	17	37
	黄体腫(B)					1	1		1
	卵胞膜・顆粒膜細胞腫(B)					7	3	5	3
	卵胞膜・顆粒膜細胞腫(M)						1		
	セルトリ細胞腫瘍(B)								1
	生殖腺間質腫(B)								1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

子宮	検査動物数	/				33	8	14	37
	腺腫 (B)					1			
	腺癌 (M)								2
	扁平上皮癌 (M)								1
	間質ポリープ (B)					1	1	4	3
	平滑筋腫 (B)						1		1
	神経鞘腫 (M)							1	
	血管肉腫 (M)								1
	血管周囲細胞腫 (M)								1
	間質肉腫 (M)					1			1
下垂体	検査動物数	27	9	6	41	33	31	31	37
	腺腫 (B)	8	9	4	7	31	29	28	31
甲状腺	検査動物数	27		1	41	33		1	37
	C細胞腺腫 (B)	1			6	5			6
	C細胞癌 (M)			1				1	1
	濾胞状腺腫 (B)					1			
	濾胞状癌 (M)					1			
上皮小体	検査動物数	27			38	30			36
	腺腫 (B)								1
副腎皮質	検査動物数	26	12	9	41	33	31	37	37
	腺腫 (B)		1		2		1	1	1
	癌 (M)								1
副腎髄質	検査動物数	27	12	8	41	32	31	36	36
	褐色細胞腫 (B)	5	5	2	3	4	4	3	3
リンパ細網系	検査動物数	27	1		41	33		1	37
	リンパ腫 (B)							1	
	線維性組織球腫 (M)	1	1			1			
脾臓	検査動物数	27	8	3	41	33	3	1	37
	血管腫 (B)						1		
	血管肉腫 (M)	1	5	3		3			1
胸腺	検査動物数	26	2	3	38	32	5	3	35
	扁平上皮癌 (M)	1							
	胸腺腫 (M)	1							
	胸腺腫 (B)	1	2	3	10	9	5	3	5
腸間膜リンパ	検査動物数	27	1	3	41	33		2	37
	血管腫 (B)	3			6	2			2
	血管肉腫 (M)	2	1	3	2	1		1	
耳下腺	検査動物数	1							
	腺癌 (M)	1							
乳腺	検査動物数				1	32	6	5	37
	腺腫 (B)							1	
	嚢胞腺腫 (B)						1		
	線維腺腫 (B)				1	3	3	2	3
	腺癌 (M)					4	1	1	5
	線維腫 (B)							2	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

皮膚	検査動物数	27	17	12	41	33	10	6	37
	乳頭腫 (B)		1				1		
	脂肪腫 (B)		1				0		
	線維腫 (B)	1	2				0		1
	角化刺細胞腫		3		2		1		
	線維肉腫 (M)						1		
	神経鞘腫 (M)		1						

全動物

対象動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
脳	検査動物数	50	13	15	50	50	22	22	50
	神経膠腫 (M)					1			
	希突起神経膠腫 (M)					1			
	顆粒細胞腫 (M)	1	1						
	顆粒細胞腫 (B)				1				1
	神経膠芽腫 (M)								2
脊髓 頸部	検査動物数	50	11	14	50	50	11	10	50
	顆粒細胞腫 (B)	1							
末梢神 経	検査動物数	2							
	神経鞘腫 (M)	2							
肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	癌 (M)			1					
	扁平上皮癌 (M)	1							1
前胃	検査動物数	50	16	18	50	50	17	11	50
	扁平上皮乳頭腫 (B)						3		
空腸	検査動物数	49	11	11	47	47	10	9	48
	平滑筋腫 (B)						1		
	平滑筋肉腫 (M)					1			
回腸	検査動物数	49	10	10	46	46	10	10	47
	平滑筋腫 (B)							1	
結腸	検査動物数	49	12	14	50	50	11	10	50
	腺癌 (M)	1							
	神経鞘腫 (M)					1			
肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	胆管腫 (B)						1	2	1
	腺腫 (B)		2		2	1			
	癌 (M)	5	2	3	3		3	1	2
	血管肉腫 (M)	1				1			
膵臓	検査動物数	50	15	14	50	50	14	12	50
	島細胞腺腫 (B)	2			1				
	島細胞癌 (M)		1				1		
	腺房腺腫 (B)	3	2		1				
腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	尿細管腺腫 (B)	1						1	
	尿細管癌 (M)			1					
	移行細胞乳頭腫 (B)							1	
	脂肪腫性腫瘍 (B)							1	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

膀胱	検査動物数	50	15	17	50	50	11	9	50
	尿路上皮乳頭腫(B)	1		2	3				
	平滑筋肉腫(M)			1					
精巣	検査動物数	50	39	39	50				
	間細胞腫(B)	22	24	17	20				
	血管腫(B)			1	1				
前立腺	検査動物数	50	20	18	50				
	腺腫(B)		1	2	1				
	腺癌(M)				1				
精囊	検査動物数	50	20	19	50				
	腺腫(B)				1				
卵巢	検査動物数					50	31	27	50
	黄体腫(B)					1	1	0	1
	卵胞膜/顆粒膜細胞腫(B)					8	3	5	2
	卵胞膜/顆粒膜細胞腫(M)						1		1
	セルトリ細胞腫(B)								1
	生殖腺間質腫(B)								1
子宮	検査動物数					50	19	24	50
	腺腫(B)					1			
	腺癌(M)							1	2
	扁平上皮癌(M)								1
	間質ポリープ(B)					2	1	4	4
	腺腫(B)様ポリープ(B)							1	
	線維腫(B)								1
	平滑筋腫(B)						1		1
	神経鞘腫(M)					2	1	4	
	血管肉腫(M)							1	2
	血管周囲細胞腫(M)								1
	間質肉腫(M)					2			1
	膈					検査動物数			
神経鞘腫(M)				1	0				
下垂体	検査動物数	50	21	20	50	50	42	41	50
	腺腫(B)	13	12	6	7	44	36	34	38
甲状腺	検査動物数	50	12	15	50	50	11	11	50
	C細胞腺腫(B)	4		3	6	7	4	1	6
	C細胞癌(M)			1				1	1
	濾胞状腺腫(B)					1			
上皮小体	検査動物数	49	12	14	47	46	11	10	49
	腺腫(B)			1					1
副腎皮質	検査動物数	49	23	23	50	50	42	47	50
	腺腫(B)	1	1		2		1	2	1
	癌(M)	1							1
副腎髓質	検査動物数	49	23	22	50	49	42	46	49
	褐色細胞腫(B)	6	6	4	4	4	5	3	3
	褐色細胞腫(M)	2	1			1			1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

リンパ 細網系	検査動物数	50	13	14	50	50	11	11	50
	リンパ腫 (B)	1	1	1	1			1	
	線維性組織球腫 (M)	2	2	1	1	1			
	組織球性肉腫 (M)		1						
脾臓	検査動物数	50	20	17	50	50	14	11	50
	血管腫 (B)	2	1				1		
	血管肉腫 (M)	1	5	3	1	3			1
胸腺	検査動物数	40	14	15	46	46	16	12	45
	扁平上皮癌 (M)	1							
	胸腺腫 (B)	5	2	6	10	10	5	4	6
	胸腺腫 (M)	1							
腸間膜 リンパ	検査動物数	50	13	17	50	50	11	12	50
	血管腫 (B)	5			7	2		1	2
	血管肉腫 (M)	6	2	3	2	1		1	
耳下腺	検査動物数	1							
	腺癌 (M)	1							
乳腺	検査動物数				2	47	16	14	50
	腺腫 (B)							1	
	嚢胞腺腫 (B)						2	1	1
	線維腺腫 (B)				1	6	3	3	5
	腺癌 (M)				1	4	1	3	6
	線維腫 (B)							2	
	血管肉腫 (M)					1			
皮膚	検査動物数	50	29	26	50	50	21	16	50
	乳頭腫 (B)		1				1		
	脂肪腫 (B)		2						
	線維腫 (B)	1	2	2	1				1
	角化棘細胞腫 (B)	2	3	1	2		1		
	扁平上皮癌 (M)								1
	血管周囲細胞腫 (M)					1			
	線維肉腫 (M)	1					1		
	軟骨肉腫 (M)	1							
	未分化肉腫 (M)						1		
	神経鞘腫 (M)	1	1					1	
骨	検査動物数		1	1	1				
その他	骨肉腫 (M)		1		1				
	線維肉腫 (M)			1					
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良性	83	73	52	79	89	71	70	78
	悪性	31	22	16	11	22	12	15	24
	合計	114	95	68	90	111	83	85	102
担腫瘍 動物数	良性	18	24	21	32	31	34	27	26
	悪性	7	6	4	5	4	3	3	3
	合計	46	42	35	43	50	44	42	47

11-6. マウスを用いた飼料混入投与による 24 ヶ月間慢性および発癌試験 (資料 14)

試験機関 :

報告書作成年 : [非 GLP]

検体の純度 :

供試動物 : NMRI 系マウス 1 群雌雄各 50 匹 (ただし対照群は雌雄各 100 匹)

試験開始時週齢 ; 雌雄 3-4 週齢

試験開始時体重 ; 雌雄 17-20 g

観察期間 : 24 ヶ月間

投与方法 : 検体を 100、300、1000 および 3000 ppm になるよう飼料に混入し、週に 7 日間摂取させた。

試験項目および結果 :

一般症状および生死 ; 一般症状異常および生死を毎日観察した。また投与開始 26 週目以降は、触診により腫瘤を確認した。

検体投与に起因すると思われる一般症状異常は認められなかった。

死亡率を以下に示す。

死亡率 (%)

投与量 (ppm)	対照群	100	300	1000	3000
雄	49	48	48	54	50
雌	61	64	62	60	60

死亡率に群間差は認められなかった。

体重 : 週 1 回、体重を測定し、報告書には 4 週毎に記載した。

体重変動を表 1 に示す。

投与開始後 6-7 ヶ月目より、1000 および 3000 ppm 投与群雄において対照群に比べて抑制傾向が認められ、1000 ppm 投与群では試験終了時まで、3000 ppm 投与群では 19 ヶ月目まで継続した。しかしながら、これらの変動には統計学的有意差は認められなかった。

(統計学的解析 : Student's t-test, $p \leq 0.01$)

表 1. 体重 (%)

性別 投与量 (ppm)	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
投与 6 ヶ月	100	100	98	97			99	99
投与 12 ヶ月	97	101	94	95			99	99
投与 15 ヶ月	98	101	96	96			103	98
投与 18 ヶ月	100	100	98	100			102	99
投与 24 ヶ月	103	100	97	101			102	103

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

摂餌量；毎日摂餌量を測定し、報告書には 4 週毎に記載した。

投与開始後 6-7 ヶ月以降の 1000 および 3000 ppm 投与群雄で、個体あたりの摂餌量が対照群に比べて軽微な減少傾向を示したが、対体重比では対照群と変化はなかった。

(統計学的解析：Student's t-test、 $p \leq 0.01$)

検体摂取量；各個体の 1 日あたり摂餌量と投与濃度から、1 日あたりの平均検体摂取量を算出した。結果を表 2 に示す。

表 2. 平均検体摂取量 (mg/kg/day)

	100	300	1000	3000
雄	16.0	48.9	169.4	513.5
雌	21.7	65.3	226.1	689.4

血液学的検査；投与 26、52 および 104 週後、各群より雌雄各 10 匹を選抜し、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (トロンボプラスチン時間：TPT)

白血球数で有意差が認められた。表 3 に示す。

表 3. 白血球数 (%)

性別 投与量 (ppm)	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
投与 52 週	130 ↑	120	124	128				
投与 104 週	116	116	126	132				

統計学的解析：Student's t-test、↑： $p \leq 0.01$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

白血球数が雄で比較的高く、100 ppm 群の 52 週時の検査で有意であったが、用量依存性はなく、試験終了時にはより軽度で、かつ対照群の値が低値であったこ

とから偶発的な変化であると考えられた。その他の検査項目においても投与に起因する変動は認められなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査用血液と同時に採血した血液より得た血清を用いて以下の項目について検査した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、ヨウ素 (I) また、投与 52 および 104 週後の血清は、以下の検査も行った。

コレステロール (Chol)、遊離コレステロール、脂肪酸 (エステル化および非エステル化)、総脂質、リン脂質、トリグリセリド (TG)

いずれの検査項目においても投与に起因する変動は認められなかった。

(統計学的解析：Student's t-test、 $p \leq 0.01$)

尿検査：血液学的検査用血液の採血と同時期に 0.3%生理的食塩水 40 mL/kg を強制経口投与後、代謝ケージに收容して採尿し、以下の検査を行った。

色調、比重、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ヘモグロビン、ビリルビン、沈渣

いずれの検査項目においても投与に起因する変動は認められなかった。

(統計学的解析：Student's t-test、 $p \leq 0.01$)

眼科学的検査、聴覚(単純な騒音試験)および歯列検査：投与終了時の全生存動物を対象として検査した。

いずれの検査項目においても投与に起因する変動は認められなかった。

肉眼的病理検査：途中死亡/切迫殺動物および投与終了時の全生存動物を屠殺し、剖検した。

投与に起因する異常症例は認められなかった。

臓器重量：投与終了時の全生存動物より、以下の臓器を採取し重量を測定した。また測定した体重より、対体重比を算出した。

脳、肺、腎臓、胸腺、肝臓、精巣、心臓、脾臓

いずれの臓器においても統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：Student's t-test、 $p \leq 0.01$)

肉眼的病理検査：肉眼的病理検査を実施した動物より、以下の組織を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色病理標本を作製、鏡検した。

脳、下垂体、眼球、唾液腺、甲状腺、胸腺、食道、気管、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胃、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、リンパ節、膀胱、

精巣、前立腺、卵巣、子宮、骨、骨髄、骨格筋、末梢神経、乳腺、大動脈、腫瘤
および周辺組織

さらに、心臓、肝臓および腎臓についてはズダン III 染色も行った。

[非腫瘍性病変]

本試験では、検体投与に起因するような非腫瘍性所見は認められなかった。

(統計解析：未実施)

[腫瘍性病変]

本試験における、腫瘍性所見の発症数を表 4 に示す。

白血病の発症頻度が 3000 ppm 群で低下 (27%) した (対照群：56.5%)。また、リンパ腫の発症頻度 (6%) が高かった (対照群：1%)。肺腺腫の発症頻度が 100 および 3000 ppm 投与群の雌で増加した。しかしながら、これらの変動は、雌雄同一性が認められず、用量依存性も認められないため、検体投与に起因するものではないと判断する。したがって、本検体投与は発癌を亢進するものではない。

(統計解析：Student's T-test)

以上の結果より、マウスに本検体を混餌により 24 ヶ月間経口投与した場合の主要毒性は、軽度の体重増加抑制であり、無毒性量は 1000 ppm (雄：169.4 mg/kg/day；雌：226.1 mg/kg/day) と判断する。また、本検体には発癌性は認められない。

表 4. 腫瘍性病変

性別		雄					雌				
		0	100	300	1000	3000	0	100	300	1000	3000
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000	0	100	300	1000	3000
検査動物数		49	24	24	27	25	61	32	31	30	30
全身	リンパ腫 M			2		1		1	2	1	1
	白血病 M	20	6	2	6	6	37	12	13	16	5
腹腔内	血管肉腫 M							1			
皮膚	扁平上皮癌 M	1					2				
	毛嚢腫 B		1								
乳腺	乳頭状癌 M										1
	腺癌 M						1	1			
	癌肉腫 M								1		
脾臓	リンパ肉芽腫 M			1							
	リンパ腫 M										1
	血管肉腫 M									1	
骨	骨肉腫 M						1				
骨格筋	筋膜肉腫 M							1			
肺	癌 M	1	2	1				1	1		
	腺腫 B	3	2	2	2			3			2
肝臓	肝細胞癌 M							1		1	
胃	乳頭腫 M	1					1				
	紡錘細胞肉腫 M										1
膀胱	扁平上皮癌 M	1									
大腸	腺癌 M						1				
腎盂	癌 M							1			
精囊	癌 M	1				1					
精巣	間細胞腫 B	1									
子宮	ホリフ B							1	1	1	1
	筋腫 B						1				
	平滑筋腫 B										1
	平滑筋肉腫 M								1		
卵巢	壊死性腫瘍 M										1
	肝細胞癌 M										1
	良性顆粒膜卵胞膜細胞腫 B						1	1			
	門細胞腫 B						1				
	線維腫 B									1	
	奇形腫 B						1				
下垂体	腺腫 B									1	
副腎	癌 M							1			
	腺腫 M	1		1							1
	褐色細胞腫 B									1	
甲状腺	癌 M		1								

死亡 / 切迫殺

	性別	雄					雌					
		0	100	300	1000	3000	0	100	300	1000	3000	
	投与量 (ppm)	0	100	300	1000	3000	0	100	300	1000	3000	
	検査動物数	51	26	26	23	25	39	18	19	20	20	
最終層殺	全身	リンパ腫 M	1			1		1				2
		白血病 M	34	10	6	6	8	22	15	7	16	9
	皮膚	皮脂腺癌 M										1
	頸部	壊死性腫瘍 M		1								
	乳腺	癌 M								1		
		腺癌 M								1		
	脾臓	リンパ肉芽腫症 M				1						
	肺	癌 M	1	1	1			1				
		腺癌 M							1			
		腺腫 B	7	4	3	3	4	1	2	4	2	3
	肝臓	肝細胞癌 M	1		2		1					
		壊死性腫瘍 M							1			
	胃	癌 M	45								1	
		乳頭腫 M	1									
		腺癌 M			1							
	大腸	腺癌 M						1				
	精囊	腺癌 M			1							
	精巣	間細胞腫 B	3	2	1	1	1					
	子宮	ホリフ B						3	2	2	5	2
		血管性ホリフ B										1
		扁平上皮癌 M						1				
		腺癌 M							2			
		筋腫 B						1	1			
		平滑筋腫 B						1		1		1
		紡錘細胞肉腫 M						1				
	卵巢	壊死性腫瘍 M										1
嚢胞腺腫 B											1	
良性顆粒膜卵胞膜細胞腫 B							4			5	1	
悪性顆粒膜卵胞膜腫 M										1		
下垂体	腺腫 B			1			1				2	
副腎	腺腫 M	1	1	1								
甲状腺	胸骨下甲状腺腫 B		1									
	腺腫 M			1								
胸腺	胸腺腫 M						1					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

性別		雄					雌				
		0	100	300	1000	3000	0	100	300	1000	3000
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000	0	100	300	1000	3000
検査動物数		100	50	50	50	50	100	50	50	50	50
全身	リンパ腫 M	1		2	1	1	1	1	2	1	3
	白血病 M	54	16	8	12	14	59	27	20	32	14
腹腔内	血管肉腫 M							1			
皮膚	扁平上皮癌 M	1					2				
	毛嚢腫 B		1								
	皮脂腺癌 M										1
頸部	壊死性腫瘍 M		1								
乳腺	癌 M								1		
	乳頭状癌 M										1
	腺癌 M						1	1	1		
	癌肉腫 M								1		
脾臓	リンパ肉芽腫症 M			1	1						
	リンパ腫 M										1
	血管肉腫 M									1	
骨	骨肉腫 M						1				
骨格筋	筋膜肉腫 M							1			
肺	癌 M	2	3	2			1	1	1		
	腺癌 M							1			
	腺腫 B	10	6	5	5	4	1	5	4	2	5
肝臓	肝細胞癌 M	1		2		1		1		1	
	壊死性腫瘍 M							1			
胃	癌 M	1								1	
	乳頭腫 M	2					1				
	腺癌 M			1							
	紡錘細胞肉腫 M										1
膀胱	扁平上皮癌 M	1									
大腸	腺癌 M						2				
腎盂	癌 M							1			
精囊	癌 M	1									
	腺癌 M			1							
精巣	間細胞腫 B	4	2	1	1						
子宮	ホリフ B						3	3	3	6	3
	血管性ホリフ B										1
	扁平上皮癌 M						1				
	腺癌 M							2			
	筋腫 B						2	1			
	平滑筋腫 B						1		1		2
	紡錘細胞肉腫 M						1				
	平滑筋肉腫 M								1		
	壊死性腫瘍 M										2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

全動物	卵巣	肝細胞癌 M	/									1			
		嚢胞腺腫 B													1
		良性顆粒膜卵胞膜細胞腫 B						5	1			5	1		
		悪性顆粒膜卵胞膜腫M										1			
		門細胞腫 B						1							
		線維腫 B										1			
		良性奇形腫 B						1							
	下垂体	腺腫 B			1			1		1	2				
	副腎	癌 M						1							
		腺腫 M	2	1	2						1				
		褐色細胞腫 B								1					
	甲状腺	胸骨下甲状腺腫 B		1											
		癌 M		1											
		腺腫 M			1										
	胸腺	胸腺腫 M						1							

B: 良性腫瘍; M: 悪性腫瘍

合計	検査動物数		100	50	50	50	50	100	50	50	50	50
	腫瘍数	良性	18	11	10	6	4	16	10	8	16	16
		悪性	62	21	17	14	16	69	39	28	37	24
		総腫瘍数	80	32	27	20	20	85	49	36	53	40
	担腫瘍動物数	良性	15	8	8	6	14	39	11	7	13	16
		悪性	60	20	16	14	16	40	31	23	34	21
		総動物数	65	27	22	18	19	76	36	28	36	32

11-7. マウスを用いた飼料混入投与による2年間発癌試験

(資料 36)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： B6C3F1/CrIBr 系マウス 1群雌雄各60匹

(うち10匹は12カ月後の採血用：サテライト群)

試験開始時週齢：7週齢

試験開始時体重：発がん性群；雄 20.7-27.0 g 雌 17.0-22.0 g

サテライト群；雄 22.0-26.4 g 雌 17.3-20.2 g

観察期間： 2年間（発がん性群； 年 - 年 ）

（サテライト群； 年 - 年 ）

投与方法： 検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要量の飼料を添加・混合して検体濃度として0、864、3454 および12953 ppm（有効成分として0、500、2000 および7500 ppm）の飼料を調製し、2年間にわたり投与した。混餌は調製後32日間安定であることが確認されているので、この範囲内で調製した。

用量設定根拠：同研究所において、同系統動物を用いて実施した3ヶ月亜急性試験（資料31）では、300、900、2700 および8100 ppm を投与したが、検体に起因するような毒性は認められなかった。よって、既実施の試験結果を基に、本試験の用量を500、2000 および7500 ppm（限界用量の1000 mg/kg/day に相当）と設定した。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率：一般状態および生死について、毎日観察した。また週に1回、詳細な症状一般状態の観察を実施した。

検体投与に起因する一般状態の異常は認められなかった。

サテライト群では死亡は認められなかった。

発がん性群における死亡率を表1に示す。

表1. 発がん性群における累積死亡率（%）

検査時期	雄				雌			
	0	500	2000	7500	0	500	2000	7500
試験終了時	16	4	4	14	18	12	18	16

死亡率に対する投与の影響は認められなかった。

体重；投与前、投与日（Day 0）および投与後最初の 14 週間は 1 週間毎に、以降は 4 週間毎に測定した。

本試験で有意差の認められた結果を、表 2（発癌性群）および 3（サテライト群）に示す。

表 2. 体重および体重増加（%）（発癌性群）

投与後 日数	投与群 (ppm) /性別											
	体重						体重増加					
	雄			雌			雄			雌		
	500	2000	7500	500	2000	7500	500	2000	7500	500	2000	7500
7 日										(-0.2) ↓	271.4 ↑	486.8 ↑
14 日										73.0 ↓		
28 日												129.8 ↑
35 日				103.3 ↑						128.4 ↑		137.8 ↑
42 日					96.9 ↓						73.6 ↓	
63 日			94.8 ↓							77.7 ↓		
70 日			94.9 ↓							80.1 ↓		
84 日			95.0 ↓							83.3 ↓		
91 日	95.0 ↓		94.0 ↓							80.7 ↓		
98 日	95.5 ↓		93.9 ↓							80.8 ↓		
126 日			94.5 ↓							84.6 ↓		
154 日			94.1 ↓									
182 日	93.4 ↓		93.0 ↓							82.3 ↓		
210 日			92.5 ↓							81.5 ↓		
350 日			93.5 ↓							86.2 ↓		

統計学的解析：ANOVA+Dunnett's test (両側)、↑↓：p≤0.05、↑↓：p≤0.01

空欄は有意差なし。表中(-0.2)は、計測結果がマイナスとなったため測定値を記載。

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

発癌性群では、試験前半に 7500 ppm 群雄で有意な体重抑制が認められた。また、500 ppm 群でも散発的に有意な体重抑制が認められたが、投与に起因するものではないと判断した。体重増加においても、雄では 7500 ppm 群で体重抑制と関連する体重増加抑制が認められたが、雌では各投与群で投与初期に有意な増減が散発的に認められたが、増減に一貫性も用量依存性もなく、検体投与に起因しないと判断した。

一方、サテライト群において、雄では体重に有意な変化はなく、体重増加の有意な増加が投与後 35 日に認められたのみであった。雌では、投与後 2-3 カ月の間に有意な体重および体重増加の変動が認められたが、用量依存性が認められないため、投与に起因するものではないと判断した。

表 3. 体重および体重増加 (%) (サテライト群)

投与後日数	投与群 (ppm) / 性別											
	体重						体重増加					
	雄			雌			雄			雌		
	500	2000	7500	500	2000	7500	500	2000	7500	500	2000	7500
7日												850.0↑
35日									158.1↑			
49日					91.5↓	92.3↓					60.6↓	68.5↓
56日					93.1↓	94.0↓					68.7↓	
63日						92.6↓						73.4↓
70日					92.8↓	91.8↓					72.5↓	71.8↓
77日					92.7↓	92.6↓					74.0↓	76.5↓
84日											74.6↓	75.5↓
91日						90.2↓					73.0↓	71.0↓
98日				91.3↓		90.2↓					71.9↓	73.6↓

統計学的解析: ANOVA+Dunnett's test (両側), ↑↓: p≤0.05, ↑↓: p≤0.01

空欄は有意差なし。表中(-0.2)は、計測結果がマイナスとなったため測定値を記載。

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

摂餌量および食餌効率: 摂餌量は、投与後最初の 14 週間は週に 1 回測定した。以降は 4 週間毎に測定した。また食餌効率も算出した。

全群で餌の取りこぼしが認められたので、正確な摂餌量を算出できなかった。摂餌量の変動は偶発的で、一時的な変動で、投与群と対照群との間に摂餌量の顕著な差は認められなかった。食餌効率も同様に、投与群と対照群との間に顕著な差は認められなかった。(統計学的解析は未実施)

検体摂取量: 投与期間中の平均検体摂取量は表 4 に示す。

表 4. 平均検体摂取量

性別		雄			雌		
		500	2000	7500	500	2000	7500
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	発癌性群	74	297	1140	85	328	1348
	サテライト群	83	314	1249	95	414	1607

血液学的検査: 投与後 369 日 (サテライト群) および試験終了時 (雄: 投与後 724 日、雌: 投与後 718 日) (発癌性群)、全生存動物 (雌雄) を断頭により屠殺、採血して、血液塗抹標本を作製、Wright 染色して標本を作製した。さらに、切迫殺動物についても血液塗抹標本を作製した。鏡検は対照群および最高用量群について行い、白血球百分比および形態を検査した。(統計学的解析は未実施)

サテライト群および発癌性群 (生存および切迫殺動物) とともに検体投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量；試験終了後の全生存動物を対象として、二酸化炭素麻酔下での断頭処理によって放血屠殺し、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣

有意差の認められた臓器について表 5 に示す。

表 5 のような変動が認められたが、用量依存性はなく、また重量あるいは対体重比のみの変動であり、また、これらの重量増加に関連する病理組織学的所見も認められなかったため、検体投与に起因しないものと判断した。

表 5. 臓器重量 (%)

群	性別		雄			雌		
	投与量 (ppm)		500	2000	7500	500	2000	7500
発癌性	副腎	重量		113.6 ↑				
		対体重比	117.6 ↑	117.6 ↑	117.6 ↑			
サテライト	肝臓	重量						
		対体重比				94.3 ↓		
	腎臓	重量						
		対体重比					96.6 ↓	

統計学的解析：Dunnett's test (両側)、↑↓： $p \leq 0.05$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

肉眼的病理検査；試験終了後の全生存動物および脂肪/切迫殺動物を対象として、剖検を行った。

<サテライト群>

雌雄ともに検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

<発癌性群>

対照群と比べて包皮腺の拡張が投与全群で高頻度に認められた。しかしながら、その発生頻度（対照群：6/50；500 ppm 群：10/50；2000 ppm 群：11/50；7500 ppm 群：13/50）には用量依存性が認められなかった。また、病理組織学的検査で嚢胞や炎症が対照群を含むすべての群で高頻度に認められことから、検体投与に起因しないものと判断した。その他、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を行った動物から、以下の臓器/組織を摘出し、ヘマトキシリン・エオジンで染色して病理標本を作製し、鏡検した。鏡検は対照群および 7500 ppm 群のすべての動物の臓器/組織を、中間用量群については死亡/切迫殺動物のすべての臓器/組織、並びにすべての生存動物の肺、肝臓、腎臓、副腎、包皮腺および肉眼的異常部位について行った。なお、発がん性群の包皮腺はすべての群、副腎は中間用量群についてのみ鏡検した。

副腎、大動脈、胸骨（骨髄を含む）、骨髄（大腿骨）、脳、食道、胃、十二指腸、空

腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、心臓、脾臓、腎臓、肝臓、胆嚢、肺、リンパ節（顎下および腸間膜）、下垂体、唾液腺（顎下線および舌下腺）、前立腺、精嚢、精巣、精巣上体、膵臓、胸腺、甲状腺、上皮小体、気管、膀胱、卵巣、子宮、膣、包皮腺、骨格筋、乳腺（雌のみ）、皮膚、脊髄（頸部、胸部および腰部）、坐骨神経、眼球、膝関節を含む大腿骨、肉眼的異常部位、

認められた病理組織学的所見について、主要な非腫瘍性所見を表 6（サテライト群）および 7（発がん性群）、すべての腫瘍性所見について表 8（サテライト群）および 9（発がん性群）に示す。

（統計解析：未実施）

<非腫瘍性所見>

雌雄ともに検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

包皮腺の嚢胞や炎症がすべての投与群で高頻度に認められたが、対照群との差は認められなかった。

<腫瘍性所見>

検体投与群の各臓器/組織におけるの発生、腫瘍発生総数および担腫瘍動物数に対照群との差は認められなかった。

以上の結果より、検体を 2 年間、マウスに混餌経口投与したとき、7500 ppm 群の雄で体重および体重増加の抑制が認められた。その他に検体投与に起因する毒性は認められなかった。雌では 7500 ppm でも検体投与に起因する毒性は認められなかった。したがって、無毒性量（NOAEL）は、雄が 2000 ppm（297 mg/kg/day）、雌が 7500 ppm（1348 mg/kg/day）と判断する^{申請者注}。催腫瘍性は 7500 ppm でも認められなかった。

申請者注）本試験の報告書では、NOAEL を雌雄の平均値で記載されているが、雌雄別にわけて記載した。

表 6. 主要な非腫瘍所見：サテライト群

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500
動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	空胞化	5	2	4	3	3	2	1	
腎臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	空胞化	6	5	6	9				
卵巣	検査動物数					10	0	0	10
	嚢胞					2			3
子宮	検査動物数					10	4	3	10
	腺過形成					8	3	2	10
	間質細胞過形成					2	1	1	
脳	検査動物数	10	0	0	10	10	0	0	10
	巣状石灰化	5			9	5			7
甲状腺	検査動物数	10	0	0	10	10	0	0	10
	嚢胞				4	3			2

表 7. 主要な非腫瘍所見：発癌性群

性別		雄				雌			
		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500
投与量 (ppm)		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
前胃	検査動物数	50	7	5	50	50	11	10	50
	過角化症	3	4	2	4	5	1		5
腺胃	検査動物数	50	5	4	50	50	10	13	50
	腺拡張	6	1	1	2	11	3		12
肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	空胞化	3		7	1	16	7	6	11
	肝細胞変性	14	17	10	16	5	5	1	5
	明細胞巣	7	10	2	9	3	2		2
	巣状壊死	4	3	3	2	7	5		3
膵臓	検査動物数	50	3	2	50	50	9	10	50
	島細胞過形成	7	1		10	1		1	5
腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	空胞化	22	24	35	34				
	嚢胞	12	20	26	16	7	4	5	3
	尿細管過形成	25	27	35	30	1	4	4	2
精巣	検査動物数	49	3	2	50				
	ライディヒ細胞過形成	9	1		10				
包皮腺	検査動物数	49	50	49	49				
	嚢胞性拡張	48	47	46	48				
	炎症	12	8	15	12				
卵巣	検査動物数					50	22	20	50
	嚢胞					25	21	14	20
子宮	検査動物数					50	45	44	50
	子宮水腫					3	7	9	5
	腺過形成					48	40	36	47
脾臓	検査動物数	50	5	7	50	50	19	18	50
	髄外部造血	5		1	3	9	5	4	5
	リンパ球増生		1	1	2	3	4	5	6
胸腺	検査動物数	50	2	3	50	50	13	11	50
	リンパ球増生	3		1	2	14			14
リンパ節 腸骨	検査動物数	2	0	1	0	11	11	9	11
	リンパ球増生					2	4	2	7
脳	検査動物数	50	3	2	50	50	8	10	50
	巣状石灰化	23	1	0	28	27	3	6	31
副腎	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	皮質過形成	26	27	34	20	25	24	22	25
	髄質過形成	3	7	5	4	11	4	8	6
甲状腺	検査動物数	50	2	2	50	50	8	10	50
	嚢胞	19		1	21	26	3	4	29

表 8. すべての腫瘍性所見 (サテライト群)

臓器/組織	所見	投与量 (ppm) /性別							
		雄				雌			
		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500
動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	1							
肺	肺胞腺腫 (B)						1		

表 9. すべての腫瘍性所見 (発がん性群)

臓器/組織	所見	投与量 (ppm) /性別							
		雄				雌			
		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500

死亡/切迫殺動物

死亡/切迫殺動物数		8	2	2	7	9	8	10	8
十二指腸	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	腺癌 (M)			1					
肝臓	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	肝細胞腺腫 (B)				1				
	肝細胞癌 (M)	1	1		2				
	胆管癌 (M)		1						
	血管腫 (B)	2							
脾臓	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	島細胞腺腫 (B)	1							
肺	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	気管支肺胞上皮腺腫 (B)	1							
	腺癌 (M)						1		1
胸腔	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
	神経鞘腫 (M)				1				
卵巣	検査動物数	/				9	8	10	8
	奇形腫 (B)							1	
乳腺	検査動物数	/				9	8	10	8
	腺癌 (M)							1	
脾臓	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	血管腫 (B)						1		
リンパ細網系	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	悪性リンパ腫 (M)	3		1	2	3	2	4	4
	組織球性肉腫 (M)	1				1	1	1	1
	顆粒球性白血病 (M)				1	1	1		
脳	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	皮質乳頭腫 (B)						1		
下垂体	検査動物数	8	2	2	7	9	8	9	8
	腺腫 (B)	1							
骨盤腔	検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨肉腫 (M)							1	
皮膚	検査動物数	8	2	2	7	9	8	10	8
	基底細胞癌 (M)					1			
	神経鞘腫 (M)							1	

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性所見（発がん性群）（つづき）

臓器/ 組織	所見	投与量 (ppm) /性別											
		雄				雌							
		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500				
最終屠殺動物													
最終屠殺動物数		42	48	48	43	41	42	40	42				
前胃	検査動物数	42	5	3	43	41	3	0	42				
	扁平上皮乳頭腫 (B)						2						
腺胃	検査動物数	42	3	2	43	41	2	3	42				
	腺腫 (B)						1	1					
	腺癌 (M)					1							
十二指腸	検査動物数	42	1		43	41	0	0	42				
	腺腫 (B)		1										
空腸	検査動物数	42	2	2	43	41	2	1	42				
	腺腫 (B)			2									
肝臓	検査動物数	42	48	48	43	41	42	40	42				
	肝細胞腺腫 (B)	3	4	4	1	4	4	4	2				
	肝細胞癌 (M)	5	4	5	2	1		3	3				
	胆管腫 (B)	1											
	血管腫 (B)	1		1	1	1	1	1	1				
	血管肉腫 (M)			2			1						
肺	検査動物数	42	48	48	43	41	42	40	42				
	気管支肺胞上皮腺腫 (B)	5	3	7	7	1	2	1	1				
	腺癌 (M)	2	2	1	4	1			1				
精巣	検査動物数	42	1	0	43								
	ライディッチ細胞腫 (B)	1											
精巣上体	検査動物数	42	0	0	43								
	血管腫 (B)				1								
卵巣	検査動物数					41	14	10	42				
	嚢胞腺腫 (B)											1	1
	奇形腫 (B)									1			
子宮	検査動物数					41	37	34	42				
	ポリープ (B)					1	1	1					
	血管腫 (B)									2			
	神経鞘腫 (M)									1			1
脾臓	検査動物数	42	3	5	43	41	11	8	42				
	血管腫 (B)			1	1	2		1					
	血管肉腫 (M)			1									
腸間膜 リンパ節	検査動物数	42	10	10	43	41	4	4	42				
	血管腫 (B)	1											
リンパ 細網系	検査動物数	42	0	0	43	41	7	3	42				
	悪性リンパ腫 (M)	2			1	8	5	2	1				
	組織球性肉腫 (M)	1					2	1					
ハーダー 腺	検査動物数	2	3	0	1	0	0	0	0				
	腺腫 (B)	2	2		1								
副腎	検査動物数	42	48	48	43	41	42	40	42				
	皮質腺腫 (B)	2	1	1									
	褐色細胞腫 (M)				1		1						

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性所見（発がん性群）（つづき）

臓器/ 組織	所見	投与量 (ppm) /性別							
		雄				雌			
		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500

最終屠殺動物（つづき）

甲状腺	検査動物数	42	0	0	43	41	0	0	42
	濾胞細胞腺腫 (B)								1
上皮小体	検査動物数	34	0	0	43	37	0	0	37
	腺腫 (B)	1							
下垂体	検査動物数	42	0	0	43	41	0	0	42
	腺腫 (B)					2			
皮膚	検査動物数	42	2	3	43	41	2	0	42
	線維腫 (B)			1					
	角化棘細胞腫 (B)			1					
	悪性組織球腫 (M)	1							
	黒色腫 (M)						1		
	神経鞘腫 (M)								1

全動物

前胃	検査動物数	50	7	5	50	50	11	10	50
	扁平上皮乳頭腫 (B)						2		
腺胃	検査動物数	50	5	4	50	50	10	13	50
	腺腫 (B)						1	1	
	腺癌 (M)						1		
十二指腸	検査動物数	50	3	2	50	50	8	10	50
	腺腫 (B)		1						
	腺癌 (M)			1					
空腸	検査動物数	50	4	4	50	50	10	11	50
	腺腫 (B)			2					
肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝細胞腺腫 (B)	3	4	4	2	4	4	4	2
	肝細胞癌 (M)	6	5	5	4	1		3	3
	胆管腫 (B)	1							
	胆管癌 (M)		1						
	血管腫 (B)	3		1	1	1	1	1	1
膵臓	検査動物数	50	3	2	50	50	9	10	50
	島細胞腺腫 (B)	1							
肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	気管支肺胞上皮腺腫 (B)	6	3	7	7	1	2	1	1
	腺癌 (M)	2	2	1	4	1	1		2
胸腔	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
	神経鞘腫 (M)				1				
精巣	検査動物数	49	3	2	50				
	ライディッヒ細胞腫 (B)	1	0	0	0				
精巣上体	検査動物数	50	2	2	50				
	血管腫 (B)				1				

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性所見（発がん性群）（つづき）

臓器/ 組織	所見	投与量 (ppm) /性別							
		雄				雌			
		0	500	2000	7500	0	500	2000	7500

全動物（つづき）

卵巣	検査動物数	/				50	22	20	50
	嚢胞腺腫 (B)							1	1
	奇形腫 (B)					1		1	
子宮	検査動物数	/				50	45	44	50
	ポリープ (B)					1	1	1	
	血管腫 (B)						2		
	神経鞘腫 (M)						1		1
乳腺	検査動物数	/				50	8	10	50
	腺癌 (M)						1		
脾臓	検査動物数	50	5	7	50	50	19	18	50
	血管腫 (B)			1	1	2	1	1	
	血管肉腫 (M)			1					
腸間膜 リンパ節	検査動物数	50	12	12	50	50	12	14	49
	血管腫 (B)	1							
リンパ 細網系	検査動物数	50	2	2	50	50	15	13	50
	悪性リンパ腫 (M)	5		1	3	11	7	6	5
	組織球性肉腫 (M)	2				1	3	2	1
	顆粒球性白血病 (M)				1	1	1		
脳	検査動物数	50	3	2	50	50	8	10	50
	乳頭腫 (B)						1		
ハーダー 腺	検査動物数	2	3		1				
	腺腫 (B)	2	2		1				
副腎	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	皮質腺腫 (B)	2	1	1					
	褐色細胞腫 (M)				1		1		
甲状腺	検査動物数	50	2	2	50	50	8	10	50
	濾胞細胞腺腫 (B)								1
上皮小体	検査動物数	41	2	1	50	43	4	9	45
	腺腫 (B)	1							
下垂体	検査動物数	50	2	2	50	50	8	9	50
	腺腫 (B)	1				2			
骨盤腔	検査動物数							1	
	骨肉腫 (M)							1	
皮膚	検査動物数	50	4	5	50	50	10	10	50
	線維腫 (B)			1					
	黒色腫 (M)						1		
	角化棘細胞腫 (B)			1					
	基底細胞癌 (M)					1			
	神経鞘腫 (M)							1	1
	悪性組織球腫 (M)	1						0	0

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 9. すべての腫瘍性所見（発がん性群）（つづき）

腫瘍数および担腫瘍動物総数

供試動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良性	22	11	18	13	12	16	11	6
	悪性	16	8	11	14	17	16	13	13
	腫瘍総数	38	19	29	27	29	32	24	19
担腫瘍動物数	良性	15	10	13	13	11	13	10	6
	悪性	16	8	11	12	16	15	13	12
	腫瘍動物総数	29	18	22	23	25	24	21	17

12. 発達神経毒性

12-1. ラットを用いた強制経口投与による発達神経毒性試験

(資料 37)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ウィスター系妊娠ラット(Crl:WI(Han)) (10-12 週齢) および新生児
 分娩後、少なくとも新生児が 8 匹以上いる腹、かつ連続する 4 日間に分娩した腹のみ以降の試験に用い、分娩後 4 日に少なくとも母動物 20 匹/群が得られるようにした。その他の母動物は検査することなく、屠殺廃棄した。

投与期間： 母動物は妊娠 6 日-分娩後 10 日まで、新生児は生後 11-21 日の 11 日間投与

試験群構成： 試験の群構成を表 1 に示す。

表 1. 試験群の構成および供試動物数

投与量 (mg/kg/day)	投与容量 (mL/kg)	母動物	新生児	
			雄	雌
0 (蒸留水)	10	40	91	92
15	10	40	84	92
30	10	40	116	124
60	10	40	110	114

生後 4 日に児数を少なくとも腹あたり 8 匹 (できるだけ雌雄各 4 匹) に調整した。児数が 8 匹より少ない母動物は試験に使用せず、児動物とともに屠殺・廃棄した。以下の検査開始前日に各腹から雌雄各 1 匹を選定し、群当たり雌雄各 10 匹を以下のサブセット群に割り付け検査に使用した。割り付けなかった児動物は予備動物とし、生後 21 日まで哺育させた後、母動物とともに屠殺廃棄した。

サブセット群	検査項目	検査時期 (生後日数)
I	灌流固定・脳重量測定・神経病理検査	22 日
II	聴覚試験	24, 60 日
	灌流固定・脳重量測定・神経病理検査	62 日
III	一般状態検査 (オープンフィールド観察)	4, 7, 11, 22, 35, 45, 60 日
	自発運動量検査	13, 17, 22, 60 日
IV	記憶・学習検査 (水迷路試験)	22 日
V	記憶・学習検査 (水迷路試験) VI	60±2 日
VI*	ニコチン・プローブ検査 (生理的食塩水群)	71±4 日
VII*	ニコチン・プローブ検査 (ニコチン群)	

*: この群の動物については生後 68-70 日、あるいは 72-74 日に自発運動量の検査も行った。

投与方法： 検体を蒸留水で希釈し、表 1 に示す投与量（有効成分換算）を、強制経口投与した。投与容量は直近の体重に基づいて決定した。投与液の調製は 6 または 7 日毎に行った。対照群には賦形剤のみ同様に投与した。膣栓または膣垢に精子が認められた日を妊娠 0 日とし、分娩日を分娩後 0 日とした。

用量設定根拠： 本試験に先駆けて行われた用量設定試験では、新生児に対する毒性徴候として、表 2 に示すような結果が得られている。

試験 1 では母動物に対して妊娠 6 日-分娩後 10 日まで、新生児に対して生後 11-21 日まで投与した。母動物および/または新生児に 200 および 300 mg/kg で振戦、姿勢異常、死亡等が認められた。50 mg/kg は母動物および新生児ともに無影響量であった。新生児は投与開始（生後 11 日）まで毒性症状は認められなかった。母動物の症状発現および新生児の死亡のみられたピークは投与後 2-3 時間であった。

試験 2 では母動物は無投与とし、新生児に対して生後 11-21 日まで投与した。新生児の死亡が 100 mg/kg 以上で認められた。

試験 3 では試験 1 と同様に投与した。母動物に毒性症状は認められなかったが、新生児に毒性症状および死亡が生後 11 日の投与開始後から認められた。

表 2. 用量設定試験の概要

試験 1 ^a		試験 2 ^b		試験 3 ^a	
用量 (mg/kg)	毒性徴候	用量 (mg/kg)	毒性徴候	用量 (mg/kg)	毒性徴候
50	無影響	75	無影響	75	振戦 姿勢異常 低頻度死亡
200	振戦 姿勢異常 死亡	100	死亡	90	
300		125		/	
/	150				
/	200				

^a：母動物に対して妊娠 6 日-分娩後 10 日まで、新生児に対して生後 11-21 日まで投与。

^b：母動物は無投与とし、新生児に対して生後 11-21 日まで投与。

これらの結果から、最高用量を 60 mg/kg/day と設定し、中用量を 30 mg/kg/day および低用量を 15 mg/kg/day とした。

試験項目：

<母動物>

一般状態および死亡： 毎日一般状態、哺育状況および生死を観察した。

摂餌量： 妊娠 0、6、13 および 20 日、分娩後 1、7、14 および 21 日に摂餌量を測定した。

体重： 妊娠 0 および 6-20 日の毎日、分娩後 0-10 日の毎日および 14、21 日) に体重を測定した。

詳細な一般状態の観察；妊娠 7 および 14 日、分娩後 7 および 14 日にオープン・フィールドの観察台上で以下の項目について観察した。

取り扱い時の行動、被毛、皮膚、流涎、鼻漏、流涙、瞳孔サイズ、姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦、痙攣、異常動作、歩行異常、行動/覚醒レベル、糞、尿、その他の異常繁殖諸指標検査；妊娠率、出産率および出生時生存率を算出した。

$$\begin{aligned} \text{妊娠率 (\%)} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾動物数}} \times 100 \\ \text{出産率 (\%)} &= \frac{\text{出生時に生存児を有する母動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100 \\ \text{出生時生存率 (\%)} &= \frac{\text{出生時生存児数}}{\text{出産児総数}} \times 100 \end{aligned}$$

<新生児>

出生時；出生児数、性別、生死、外表異常について検査した。

生存率；生死について毎日観察した。投与期間中は、毎日投与後 2 および 6 時間後にも観察した。死亡率は、生後 0、1-4、5-10、11-14、15-21 日の期間について算出し、腹あたり生存率は、分娩日および分娩後 4、7、14、21 日について算出した。

性比；生後 0 および 21 日の性比を算出した。

一般状態の観察；生後 1-10 日まで、全新生児について毒性症状および外表異常の観察を行った。また生後 11-21 日の投与期間中は、毎日投与後 2-6 時間、生死・行動変化・毒性徴候を観察した。

体重；生後 1、4 および投与期間（生後 11-21 日）中、毎日測定した。また離乳後は、1 週間毎に測定した。

性成熟検査；雌（サブセット群 IV の雌を除く）については、陰開口を生後 27 日から毎日、雄（サブセット群 IV の雄を除く）については、包皮分離を生後 40 日から観察した。また、陰開口日または包皮分離日の体重を測定した。

詳細な一般状態の観察；サブセット群 III の動物を対象として、生後 4、11、22、35、45 および 60 日にオープン・フィールドの観察台上で母動物と同様に観察した。また生後 11 および 22 日の観察は、投与後 2 時間まで行った。

自発運動量測定；サブセット群 3（生後 13、17、22 および 60 日）、サブセット群 VI（生後 68-70 日）およびサブセット群 VII（生後 72-74 日）の動物を対象として、自発運動量を 5 分間隔で 1 時間測定した。

聴覚検査；サブセット群 II の動物に対し、生後 24 および 60 日後に、一定音量を動物に聞かせた際の反応速度を計測した。

記憶・学習検査；サブセット群 IV（生後 22 および 29 日）およびサブセット群 V（生後 60

および 67 日) の動物を対象として、M-水迷路試験で記憶・学習について検査した。学習試験では 1 時間に 6 試行を行い、1 週間後の記憶検査では 1 試行を行った。さらに、記憶試験終了 1 時間後に再学習検査を行った。

肉眼的病理検査；途中死亡動物は、外表および各臓器の肉眼的病理検査を行い、4%ホルムアルデヒドで固定した。

ニコチン・プローブ検査；検体のニコチン受容体に対する作用を自発運動量として測定した。生後約 70(±4) 日、サブセット群 VI および VII の動物を対象として、生理的食塩水に溶解したニコチン(0.4 mg/kg) または生理的食塩水を単回腹腔内投与し、投与前後の 1 時間の自発運動量を比較した。

神経病理学的検査；生後 22 (サブセット群 I) および 62 日 (サブセット群 II) の検査対象動物の体重を測定後、麻酔下で、灌流固定した。灌流固定後、肉眼的病理検査を実施し、臓器の異常を観察した。脳は摘出し、対照群および 60 mg/kg 群を対象として脳重量測定および主要な脳部位の形態計測 (長さ・幅) を行った。また、以下の組織を摘出した。

<生後 22 日の動物>

脳 (嗅球を含む)、下垂体、眼球 (網膜および視神経を含む)、ガッセル神経節、脊髄 [頸部膨大部 (C1-C5)、胸髄 (Th5-Th8)、腰部膨大部 (L1-L4)]、腓腹筋、鼻・鼻腔、肉眼的異常部位

<生後 62 日の動物>

生後 22 日の動物から採取した部位の他に以下を摘出した。

背根神経節 (C1-C5、L1-L4)、背根線維 (C1-C5、L1-L4)、腹根線維 (C1-C5、L1-L4)、近位坐骨神経、近位脛骨神経 (膝)、遠位脛骨神経 (下肢)、

また、以下に示す脳各部 (新皮質、尾状核、脳梁、海馬、小脳) の形態計測を行った。

病理組織学的検査：

生後 62 日の動物から採取した対照群および 60 mg/kg 群の坐骨神経系 [背根神経節 (C3-C6、L1-L4)、背根線維 (C3-C6、L1-L4)、腹根線維 (C3-C6、L1-L4)、近位坐骨神経、近位脛骨神経 (膝)、遠位脛骨神経 (下肢)] を対象として、5%グルタルアルデヒドで再固定し、エポキシ樹脂包埋、半薄切り、アズール II メチレンブルー 塩基性フクシンで染色し、鏡検した。

また、生後 22 日および 62 日の動物から採取した対照群および 60 mg/kg 群の脳横断切片 [嗅球、前頭葉を含む前脳、頭頂葉を含む間脳、後頭葉および側頭葉を含む中脳 (黒質核、尾状核被殻を含む)、橋、小脳、延髄]、脊髄縦断および横断切片 (頸部膨大部 I および II、胸髄、腰部膨大部)、脳付属臓器/組織 (網膜お

よび視神経を含む眼、下垂体、鼻腔レベル III 嗅球上皮) および末梢神経系 (ガッセル神経節、腓腹筋縦断および横断切片) をパラプラスチック包埋、切り出し、ヘマトキシリン・エオジン染色し、鏡検した。15 および 30 mg/kg 群の生後 62 日の雌動物の中脳および小脳をヘマトキシリン・エオジン染色し、形態計測を行った。

結果 :

<母動物>

一般状態および死亡率 ; 投与群の母動物において、検体投与に起因する一般状態の異常および死亡は認められなかったが、対照群の母動物が 1 匹が哺育 3 日に死亡した。

摂餌量 ; 妊娠中および分娩後の摂餌量において、低用量 (15 mg/kg/day) および中用量 (30 mg/kg/day) 群では有意な変動は認められなかった。これに対し、60 mg/kg では、妊娠中には有意な変動は認められなかったものの、分娩後 7-14 日に 5.1% の有意な低下が認められた (統計学的解析 : Dunnett's 検定-両側, $p \leq 0.05$)。しかしながら、この有意な変動は軽微なものであり、その他の期間で有意差が認められない単発的なものであることから、毒性学的な意義はないものと判断した。

体重 ; 妊娠中の体重および体重増加において、すべての投与群とも投与関連性の影響は認められなかった。

哺育期間中に 15 mg/kg 群でのみ、体重の有意な増加が表 3 のように認められたが、偶発的で、毒性学的意義はないと考えられた。

表 3. 哺育間中の体重 (%)

投与量 (mg/kg/day)		15	30	60
哺 育 期 間	4 日	105.2 ↑		
	5 日	104.9 ↑		
	6 日	104.6 ↑		
	8 日	104.8 ↑		
	9 日	106.1 ↑		
	10 日	104.8 ↑		
	21 日	104.3 ↑		

統計学的解析 : Dunnett's test (両側)、↑ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は、対照群を 100% とした際の相対値。空欄は有意差なし

詳細な一般状態の観察 ; 認められた所見は対照群と各投与群との間で、同様の発生頻度あるいは 1 動物に偶発的に認められた所見であったことから、投与に起因する異常症状はないものと判断した。

繁殖能検査 ; 本試験における繁殖能に関する結果を表 4 に示す。

表 4. 繁殖能検査結果の概要

投与量 (mg/kg/day)	対照群	15	30	60
動物数	40	40	40	40
交尾率 (%) ^{Fi}	100.0	100.0	100.0	100.0
妊娠動物数 ^{Fi}	32	35	37	38
不妊動物数	8	5	3	2
妊娠率 (%) ^{Fi}	80	88	93	95
妊娠期間 (日) ^{Du}	21.4	21.6	21.5	21.6
生存児出産動物数 ^{Fi}	32	34	37	38
死産児出産動物数 ^{Fi}	2	2	2	1
全出産児死産動物数 ^{Fi}	0	0	0	0
出産率 (%) ^{Fi}	100.0	97.1	100.0	100.0
出産児数 ^{Du}	302	298	344	331
出産時生存児数 ^{Fi}	299	296	342	330
出生時生存率 (%) ^{Fi}	99.0	99.3	99.4	99.7

統計学的解析: Fi: Fischer's 直接確立検定、Du: Dunnett's 検定 (両側) 有意差なし。

母動物の繁殖能に及ぼす検体投与の影響は認められなかった。

<新生児>

新生児を用いた試験成績の概要を表 5 (離乳前) および 6 (離乳後) に示す。

一般状態: 哺育期間中および離乳後とも検体投与に起因する異常は認められなかった。

性比: 出生時および離乳時とも正常な生物学的変動の範囲内にあった。

体重および体重増加量:

離乳前: 15 mg/kg 群で有意な増加が体重および体重増加量で認められたが、用量関連性もなく、投与に起因する影響ではないと考えられた。また 60 mg/kg 群で体重増加が生後 19-20 日にのみ認められたが、体重に対照群との差はなく、生後 4-21 日の体重増加にも影響がないことから投与に起因する影響ではないと考えられた。

離乳後: サブセット群において、表 6 のような統計学的に有意な増加が認められたが、偶発的で、投与関連性がないと考えられた。

性成熟: 15 mg/kg 群で膈開口日が、包皮分離日も 15 および 30 mg/kg 群で対照群に比し、若干早かったが、用量関連性もなく、体重に対照群との差もないので、投与の影響ではないと考えられた。

死亡率:

離乳前: 検体投与に起因する変化が認められた。対照群 (183 匹)、15 mg/kg 投与群 (176 匹)、30 mg/kg 投与群 (240 匹) および 60 mg/kg 投与群 (224 匹) のうち、投与開始後に 15 (生後 11-14 日) および 7 (生後 15-21 日) 匹の死亡が 60 mg/kg 投与群で認められた。60 mg/kg 投与期間中の計 22 匹 (9.8%)

の死亡は統計学的に有意であり、検体投与に起因するものと判断する。これに対し、他の用量群でも死亡は認められたが、統計学的有意差は認められなかった。

離乳後：サブセット群の死亡は離乳後 1 週に IV 群の雌 1 例（対照群）および雄 1 例（15 mg/kg 群）が死亡したのみであった。剖検で所見は認められなかった。

詳細な一般状態の観察：対照群および投与群において、生後 4 および 11 日に振戦が認められたが、親から離されたときに頻繁に認められる所見で、投与関連性はないと考えられた。

自発運動、聴覚驚愕：サブセット群 III の雌雄の自発運動量（立ち上がり回数および運動距離）、聴覚驚愕に投与関連性の影響は認められなかった。

学習/記憶：生後 22 日に 60 mg/kg 群雄で評価基準に達した動物の割合が試行 5 においてのみ有意に低かった。この孤立所見は投与に関連性があるとは考えられなかった。

生後 60 日の検査で 30 および 60 mg/kg 群の初回の学習でゴール到達までの時間の延長がみられた。この影響は同一動物を用いた 1 週間後の 2 回目の学習検査では延長はなく、記憶への影響はみられなかった。さらに、明確な用量反応性もなく、1 回目の学習検査で雄、2 回目の学習検査で雌には影響がみられなかったことから、これらの有意な差は投与に関連性があるとは考えられなかった。

ニコチン受容体に対する影響（表 7）：サブセット VI 群には生理的食塩水、サブセット VII 群にはニコチンを腹腔内に投与した。これらの投与前の自発運動量（移動距離および立ち上がり回数）にはすべての投与群（0、15、30 および 60 mg/kg 群）で検体による影響はみられなかった。生理的食塩水あるいはニコチン投与後、検体投与群間の自発運動量に生物学的に意義のある差は認められなかった。対照群に対する有意な変動（増加または減少）が、数セッションで散見されたが、生物学的に意義があるとは考えられなかった。

生理的食塩水またはニコチン投与による影響を比較した時、いずれの検体投与群においてもセッション合計の移動距離に生物学的に意義のある影響は認められなかった。しかし、対照群およびすべての投与群ともにニコチンはセッションの初めに活動を低下させ、セッションの進行につれて活動が増加する傾向にあったけれど、ニコチンは検体投与群において水平移動を増加させることはなく、またニコチンに対する感受性の差は検体投与動物にみられなかった。

立ち上がり回数は対照群および同じ検体投与群の生理的食塩水投与動物に比較してニコチン投与動物で減少した。このことはニコチンは対照および検体投与動

物に同様の影響を示すことを示唆しており、ニコチンに対する感受性の差は検体投与動物にみられないことを示唆している。

脳重量： 15 および 30 mg/kg 群の生後 22 日の児動物で対体重比のみ有意な減少が認められたが、偶発的で、投与関連性もないと考えられた。生後 62 日の児動物は対照群と同等であった。

肉眼的および病理組織学的所見：投与関連性の所見は認められなかった。

主要脳領域の形態計測：新皮質、尾状核、脳梁、海馬および葉状錐体について計測した。生後 22 日の児動物では有意な変化は認められなかったが、生後 62 日の直線的測定において、60 mg/kg 群の雌のみ脳梁、海馬および葉状錐体は Wilcoxon 検定で有意であったが、Bonferoni-Holm 調整後の Wilcoxon 検定では有意差は認められなかった。これらの平均値は以下に示す通り背景データの範囲内であった。したがって、これらの変化は偶発的で、生物学的意義はないと考えられた。

	60 mg/kg 群	背景データ	
	平均値	平均値	範囲
脳梁	292	310	245-427
海馬	1702	1776	1671-1852
葉状錐体	339	357	329-374

以上の結果より、本検体を母動物は妊娠 6 日-分娩後 10 日まで、新生児は生後 11-21 日の 11 日間経口投与した発達神経毒性において、60 mg/kg 群では直接投与による急性死亡が認められたが、児動物に発達神経毒性は認められなかった。一方、母動物に対しては 60 mg/kg でも毒性所見は認められなかった。したがって、発達神経毒性としての無毒性量 (NOAEL) は 60 mg/kg/day であり、全身毒性としては 30 (児動物) および 60 (母動物) mg/kg/day と判断する。

表 5. 新生児に対する試験結果概要 (離乳時まで)

投与量 (mg/kg/day)		対照群	15	30	60	
出産腹数		32	34	37	38	
出産児数 ^{Du}		302	298	344	331	
腹あたり出産児数 ^{Du}		9.4	8.8	9.3	8.7	
生存児数 ^{Fi}		299	296	342	330	
死産児数 ^{Fi}		3	2	2	1	
一般状態・外表異常		異常なし				
生存児数 ^{Fi}	出生時	299	296	342	330	
	生後4日(調整前)	233	215	295	269	
	生後4日(調整後)	184	176	240	224	
	生後7日	184	176	240	224	
	生後11日	183	176	240	224	
	生後14日	183	174	235	209	
	生後21日	183	168	235	202	
死亡児数 ^{Fi}	生後5-21日	1	2	2	22↑	
	生後11-21日	0	2	2	22↑	
腹あたり生存児数 ^{Du}	出生時	9.3	8.7	9.2	8.7	
	生後4日(調整前)	7.3	6.3	8.0	7.1	
	生後4日(調整後)	5.8	5.2	6.5	5.9	
	生後7日後	5.8	5.2	6.5	5.9	
	生後14日後	5.7	5.1	6.4	5.5	
	生後21日後	5.7	4.9	6.4	5.3	
性比(雄%)	出生時	雄	52.8	48.6	49.4	49.7
	生後21日後	雄	49.7	48.8	48.5	50
体重(%) ^{Du}	生後1日後	雄+雌		106↑		
	生後4日後(調整前)	雄		108↑		
	生後4日後(調整後)	雄		108↑		
	生後11日後	雄		106↑		
	生後20日後	雄		106↑		
	生後21日後	雄		107↑		
体重増加量(%) ^{Du}	生後11-12日後	雌		86↓		
	生後18-19日後	雄		122↑		
		雄+雌		123↑		
	生後19-20日後	雄		121↑		121↑
		雄+雌		117↑		117↑
	生後4-21日後	雄		107↑		
生後4-21日後	雄+雌		106↑			
性成熟 ^{Du}	平均膣開口日数(日)		32.7	31.4◎	32.0	32.0
	平均包皮分離日数(日)		43.3	42.3↓	42.3↓	43.0

統計学的解析: Fi: Fischer's exact test; Du: Dunnett's test (両側);
 ↑↓: p≤0.05; ↑↓: p≤0.01; 矢印なし、または空欄は有意差なし

表 6. 新生児に対する試験結果概要 (離乳後)

投与量 (mg/kg)				対照群	15	30	60	
検査児数				10	10	10	10	
一般状態				投与に関連する異常なし				
	サブセット	離乳後週	性別					
死亡数	IV	1週	雌	1				
	VI	1週	雄		1			
体重 ^{Du}	V	5週	雄			109.4	110.0	
			雌			↑	↑	
		6週	雄			110.1		
			雌			↑	109.2	109.6
	VI	1週	雄			114.0		
		2週	雄		113.2	114.2 [↑]		
		3週	雄		↑	111.5	109.1	
		4週	雄		↑	112.5 [↑]	109.2	
		5週	雄		↑	111.1 [↑]	108.2	
		6週	雄		↑	109.9 [↑]		
	体重増加量 ^{Du}	II	4-5週	雄			125.2 [↑]	123.4
			0-5週	雄			↑	↑
III		0-5週	雄				107.3	
V		5-6週	雄			129 [↑]	123 [↑]	
		0-6週	雄			110.5		
			雌			↑	111.5	113.5
VI		0-1週	雄			120.0		
		1-2週	雄		114.1	114.7 [↑]		
		3-4週	雄		↑	116.5		
		0-6週	雄		↑	109.6		
VII		0-7週	雌			110.4		
						↑		
詳細状態観察				投与に関連する異常なし				
自発運動 ^{KW}				異常なし				
聴覚 ^{KW}				異常なし				
記憶・学習能力 ^{Fi/KW}	生後 22+29 日 ^a	学習 1 (雌)	試行 5	10/10	8/10	8/10	6/10 ↓	
			試行 4	6	8	12 ↓	9 ↓	
	生後 60+67 日 ^b	学習 1 (雄)	試行 5	5	5	10 ↓	11 ↓	
			試行 6	6	4	13 ↓	13	
		学習 2 (雄)	試行 4	21	5 ↑	16	10 ↑	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

肉眼的病理検査			異常なし		
神経病理	脳重量 ^{KW}	対体重比(生後 22 日)		88↓	93↓
	肉眼的病理検査				
	近位坐骨神経 軸索変性(生後 22 日)				1/0
	形態学的検査 Wilcoxon (有意) Wil+Bonferoni-Holm 調 整 (有意差なし) (雌生後 62 日)	脳梁	338		292↓
		海馬(左)	1808		1702↓
海馬(右)		1761		1708	
	葉状錐体	365		339↓	

^a: 評価基準に達した動物数/検査動物数

^b: 到達するまでの時間 (秒)

統計学的解析: Fi: Fischer's exact test; Du: Dunnett's test (両側); KW: Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test (両側); ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$; 矢印なし、または空欄は有意差なし

表 7. 生理的食塩水またはニコチンを添加前後の自発運動量

群	性別	検査項目	生理的食塩水/ニコチンの添加	セッション	投与群 (mg/kg)				
					対照群	15	30	60	
					10	10	10	10	
生理的食塩水群(雄) ^a KW	雄/雌	移動距離	添加前	3		78 ↓/-		72 ↓/-	
				4			134 ↑/-	121 ↑/-	
				6			149 ↑/-		
			添加後	5			39 ↓/-	41 ↓/-	
				12			9 ↓/-		
				12					
		立ち上がり回数	添加前	3		77 ↓/-		68 ↓/-	
				4			144 ↑/-		
				6			183 ↑/-		
			添加後	5			43 ↓/-	11 ↓/-	
				12					
				12					
ニコチン群 ^a KW	雄/雌	移動距離	添加後	9			436 ↑/-		
			添加前	4			-/76 ↓		
		立ち上がり回数	添加前	5			-/55 ↓		
			添加後	1			(1.7 ↑)/-	(1.4 ↑)/-	
				9			1500/-		
ニコチン/生理的食塩水 ^b KW	雄/雌	移動距離	添加前	3				134 ↑/-	
				添加後	1	46 ↓/45 ↓	58 ↓/65 ↓	-/53 ↓	58 ↓/68 ↓
					2	25 ↓/34 ↓	52 ↓/42 ↓	-/38 ↓	-/45 ↓
					3	-/40 ↓		-/32 ↓	-/37 ↓
					5				273 ↑/-
					6				217 ↑/-
			7				-/703 ↑		
			10	-/24 ↓					
			11	508 ↑/28 ↓	-/1045 ↑				
			12	-/28 ↓					
			1-12			126 ↑/-			
			立ち上がり回数	添加前	2				-/121 ↑
		4					80 ↓/-	144 ↑/-	
		11			-/18 ↓				
		12			-/28 ↓				
		添加後			1	0 ↓/1 ↓	0.8 ↓/3 ↓	6 ↓/0.8 ↓	6 ↓/4 ↓
					2	0.5 ↓/1 ↓	0.7 ↓/2 ↓	3 ↓/3 ↓	15 ↓/0.8 ↓
				3	16 ↓/7 ↓	8 ↓/-	30 ↓/3 ↓	15 ↓/9 ↓	
				4	15 ↓/-	16 ↓/-			
				7			-/(2.4 ↓)		
				9			321 ↑/-		
		10			-/3450 ↑				
		11			-/1433 ↑	(2.0 ↑)/-			
		1-12	23 ↓/27 ↓	18 ↓/72 ↓	36 ↓/36 ↓	32 ↓/38 ↓			

^a: 生理的食塩水群およびニコチン群の表中の数値は対照群に対する各群の比率%を示す。xx/yy は雄/雌の値で、() 内の数値は対照群が0であったので、実数を示した。

^b: ニコチン/生理的食塩水の表中の数値は生理的食塩水群の各投与群の値に対するニコチン群の各投与群の値の比率%を示す。xx/yy は雄/雌の値で、-は有意差がなかった。() 内の数値は対照群が0であったので、実数を示した。

統計学的解析: KW: Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test (両側); ↑ ↓ : p ≤ 0.05; ↑↓ : p ≤ 0.01; 矢印なし。

13. 繁殖毒性、催奇形性および新生児毒性

13-1. ラットを用いた飼料混入投与による繁殖毒性試験

(資料 15)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： SD 系ラット 1 群雌雄各 40 匹

試験開始時日齢；雄 42 日齢 雌 40 日齢

試験開始時体重；雌雄ともに 100-150 g

投与期間：

F0 世代；約 7 週齢から F1b 離乳時までの 27 週間

F1 および F2 世代；離乳時から F1b または F2b 離乳時までの約 31 週間

F3 世代；離乳時から 9 週間

投与方法： 検体を 0、319.1、1063.8 および 3191.5 ppm になるように飼料に混入し、自由に摂取させた。検体混入飼料は、週に 1 回調整した。

試験方法および項目：本試験の手順概要を表 1 に示す。

一般症状および生死；試験期間中、全動物の一般症状と生死を毎日観察した。

体重；親動物の体重を週 1 回測定した。

交配および妊娠の確認；各群の雌雄動物を 1:1 で 1 晩同居させ、翌朝に陰垢中の、精子の有無を確認した。精子確認日を妊娠 0 日とした。

精子の確認が出来ない場合、7 日毎に交尾相手を変更し、最長 2 週間まで交配を繰り返した。

出産；各世代の第 1 回目交配より得られた母動物は自然分娩させ、第 2 回目交配より得られた母動物のうち、20 匹は自然分娩させて次世代を得た。20 匹は妊娠 20 日に帝王切開し、催奇形性試験に使用した。

繁殖性に関する指標；以下の指標について、記載した算出式などを用い検査した。

平均妊娠期間

妊娠率 (妊娠動物数 / 交配雌動物数 x 100)

出産率 (生存児を出産した動物数 / 妊娠動物数 x 100)

生存児平均体重（出生時、出生後 4、14 および 21 日目）

児生存率（出生 4 日の生存児数 / 出生児数）

哺育率（生後 21 日目の生存児数 / 生後 4 日目の生存児数）

児動物の検査；以下の項目について検査した。

一般状態、生死、体重、性比（出生時および生後 3 週間後）、外表発育（F3b のみ生後 9 週間まで切歯萌出、眼瞼開裂、耳介展開、毛生を観察）

病理学的検査；各世代の親動物は、第 2 産児離乳時に屠殺し、剖検を実施した。また各世代の第 1 産児および継代に使用しなかった第 2 産児は、離乳時に屠殺し、剖検を実施した。

F3 世代の各群雌雄各 10 匹は、生後 9 週後に屠殺し、剖検した。このうち雌雄各 10 匹より、以下の臓器を摘出し重量を測定した。

心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、生殖腺、甲状腺、脳

また、F3 世代の対照群および最高用量投与群の雌雄各 10 匹からは、以下の組織を病理組織学的検査のために摘出した。

心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、生殖腺、甲状腺、脳、前立腺、子宮、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、唾液腺、眼球（視神経を含む）、膀胱、骨髄、気管、大動脈、食道、膵臓、腸間膜リンパ節、骨格筋、骨
さらに、最低用量投与群および中間用量投与群の雌雄各 10 匹からは、心臓、肝臓、肺、腎臓、副腎、胸腺および膀胱を摘出し、病理組織学的検査を実施した。
また、各世代の親動物（各群雌雄各 10 匹）の生殖腺についても同様に病理組織学的検査を実施した。

催奇形性に関する試験；各世代の第 2 産を妊娠 20 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行い、ついで黄体数、着床数、死亡・吸収胎児数、生存胎児数および胎盤重量を検査した。

胎児；性別、体重（平均同腹児体重の 70%以下の児を矮小児とした）、外表異常の観察、胎盤重量の測定を行った。各同腹児群の 1/2 の胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

表 1. 試験手順の概要

世代	期間	作業手順	試験項目	
F0	生育 (8 週間)		一般症状、生死、飲水量、摂餌量を毎日観察、体重は週 1 回屠殺するまで測定。	
	F1a	交配 (2 週間)	雌雄 1 : 1 で交配。交尾は膣栓または膣垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)。	交配状況の確認。
		妊娠 (3 週間)		
	出産		出産状況の確認、妊娠期間の算出、新生児数、死産児数、矮小児数、性別、外表異常、生存児体重測定。	
	哺育 (3 週間)		児数：生後 0、4、14 および 21 日目に検査。、 体重測定：生後 0、7、14 および 21 日目。 発育程度検査：3 週時。 行動観察。	
	離乳	児動物の屠殺	性別判定	
	F1b	交配 (2 週間)	F1a 交配に準ずる。	F1a 交配に準ずる。
		妊娠 (3 週間)		F1a に準ずる
		帝王切開 (妊娠 20 日)	1 群各 20 匹の雌は帝王切開し催奇形性試験に使用。	母動物：剖検、黄体数、着床数、着床部位、 生存および死亡/吸収胚数の検査 胎児：性別の判定、生存児体重、胎盤重量を測定。外表、内臓、骨格異常の検査。
		出産	1 群各 20 匹の雌は自然分娩	F1a に準ずる
哺育 (3 週間)			F1a に準ずる	
離乳	次世代用の各群雌雄各 40 匹を無作為に選抜。選抜しなかった児動物の屠殺 親動物の屠殺 (34 週齢)	屠殺前に眼科学的検査、聴覚及び歯列検査 雌雄の剖検。各群雌雄各 10 匹の生殖腺を病理組織学的検査。		
F1	生育 (11 週間)	F0 世代に準ずる	F0 世代に準ずる	
	F2a	交配 (2 週間)		
		妊娠 (3 週間)		
		出産		
		哺育 (3 週間)		
		離乳		
	F2b	交配 (2 週間)		
		妊娠 (3 週間)		
		帝王切開 (妊娠 20 日)		
		出産		
離乳				
F2	生育 (11 週間)	F0 世代に準ずる	F0 世代に準ずる	
	F3a	交配 (2 週間)		
		妊娠 (3 週間)		
		出産		
		哺育 (3 週間)		
		離乳		
	F3b	交配 (2 週間)		
		妊娠 (3 週間)		
		帝王切開 (妊娠 20 日)		
		出産		
離乳		親動物の屠殺		
F3	生育 (6 週間)	児動物発育検査	児動物：各群雌雄各 20 匹の発育検査 (切歯萌出、開眼開裂、耳介展開、毛生)。	
		生後 9 週後に児動物屠殺	屠殺後剖検、各群雌雄各 10 匹の臓器重量測定および病理組織学的検査。	

試験結果：本試験で得られた結果の概要を表 2 に示す。

一般状態および生死；本試験では、F0 世代の対照群雄（生後 33 週）および F1 世代の 1063.8 ppm 投与群雄（生後 34 週）に、各 1 例で死亡が認められた。死亡動物では、気管支肺炎が認められた。しかしながら、この死亡は散発的かつ用量非依存性であるため、検体投与には起因しないと判断した。その他、一般症状、外表および糞の状態に検体投与による異常は認められなかった。

摂餌量および摂水量；摂餌量および摂水量にも検体投与に起因する変化は認められなかった。

検体平均摂取量；摂餌量および体重より算出した投与開始から屠殺するまでの平均検体摂取量を下表に示す。

表 検体平均摂取量 (mg/kg/day)

飼料中濃度 (ppm)	性別	F0 世代	F1 世代	F2 世代	F3 世代
319.1	雄	24.9	26.7	27.0	39.7
	雌	37.1	37.5	37.9	41.5
1063.8	雄	83.3	89.1	88.5	126.8
	雌	122.9	127.1	129.0	137.4
3191.5	雄	256.6	258.0	271.5	378.7
	雌	383.9	374.6	379.8	424.5

体重；親動物の体重に有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析および Student's t-test、 $p \leq 0.001$)

繁殖成績および哺育成績；いずれの検査においても、群間差は認められず、F0、F1 および F2 世代の各 2 回の出産で、投与による変化は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析および Student's t-test、 $p \leq 0.001$)

肉眼的病理検査；親動物および児動物の剖検では、肺において硬化および白色巣形成（単一）が対照群を含む全群で認められた。また、親動物および F3 世代動物の膀胱に柔らかい沈殿物が認められた。しかしながら、これらの異常は散発的であり、かつ用量非依存性であることから、検体投与に起因しないものと判断した。

臓器重量；F3 世代の各臓器重量では、群間の有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析および Student's t-test、 $p \leq 0.001$)

病理組織学的検査；各世代の親動物の生殖腺および F3 世代の各臓器組織学的検査では、肺での泡沫細胞病巣、気管支周囲のリンパ節肥厚、気管支肺炎、肝臓における単一壊死巣、および膀胱での軟沈殿物が対照群および各用量群で認められた。しかしながら、その発症頻度は散発的であり、かつ非用量依存性であったことから、投与に起因するものではないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

催奇形性検査 (表 3) ; 各世代の第 2 産の胎児を用いた催奇形性試験において、投与による変化は認められず、奇形および変異の発症率にも影響は認められなかった。

(統計学的解析 : 分散分析および Student's t-test、 $p \leq 0.001$)

以上の結果から、本検体を飼料に混入し 4 世代に亘り投与した場合、本試験の最高投与用量である 3191.5 ppm (F0 世代 : 雄 256.6、雌 383.9 mg/kg/day ; F1 世代 : 雄 258.0、雌 374.6 mg/kg/day ; F2 世代 : 雄 271.5、雌 379.8 mg/kg/day ; F3 世代 : 雄 378.7、雌 424.5 mg/kg/day) で一般毒性も繁殖毒性もなく、また催奇形性も有しないと判断した。

表 2. 試験成績の概要

世代		親 : F0 児 : F1									
投与量 (ppm)		0		319.1		1063.8		3191.5			
産児		a	b	a	b	a	b	a	b		
供試動物数	雄	40	20	40	20	40	20	40	20		
	雌	40	20	40	20	40	20	40	20		
親動物	一般症状		異常なし								
	死亡例	雄	1 (33週齢)		0		0		0		
		雌	0		0		0		0		
	平均体重 (g)	投与開始時	雄	101.9		102.2		101.8		102.1	
			雌	102.1		102.2		101.7		102.0	
		28週齢	雄	476.3		472.0		467.0		477.7	
			雌	298.3		303.1		295.0		303.9	
		34週齢	雄		490.3		487.9		497.3		499.8
			雌		284.5		282.0		288.3		275.9
	摂餌量		異常なし								
	交配までの日数		3.9	4.6	4.2	4.2	3.8	4.9	3.8	4.6	
	妊娠期間 (日数)		21.8	21.9	21.9	22.1	22.0	21.9	21.9	22.0	
	妊娠動物数/交配動物数		34/40	18/20	33/40	17/20	36/40	16/20	35/40	16/20	
	妊娠率 (%)		85.0	90.0	82.5	85.0	90.0	80.0	87.5	80.0	
	交尾率 (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
	出産率 (%)		92.2	92.2	91.1	91.0	92.8	91.3	93.9	93.7	
	哺育率 (%)		95.1	97.9	96.6	99.0	96.6	98.8	98.6	97.2	
病理組織学的検査 (生殖腺)		異常なし									
児動物	出生時総児数		399	206	384	210	416	184	392	189	
	死産児総数		0	1	0	0	1	0	0	1	
	矮小総児数		3	1	1	2	2	1	1	0	
	生後 21 日目総生存児数		350	186	338	189	373	166	363	172	
	平均生存児数/母獣		11.7	11.4	11.6	12.4	11.6	11.5	11.2	11.8	
	生後 21 日目平均生存児数		10.3	10.3	10.2	11.1	10.4	10.4	10.4	10.8	
	性比	出生時	50/50	49/51	50/50	50/50	49/51	49/51	50/50	52/48	
		生後 21 日目	47/53	49/51	48/52	47/53	47/53	48/52	49/51	51/49	
	死産児数/母獣		0	0.1	0	0	0.03	0	0	0.1	
	矮小児数/母獣		0.1	0.1	0.03	0.1	0.1	0.1	0.03	0	
	奇形児数		0	0	0	0	0	0	0	0	
	新生児平均体重 (g)	出生時	5.51	5.55	5.54	5.44	5.5	5.52	5.56	5.52	
		生後 7 日	12.37	12.44	12.51	12.16	12.43	12.39	12.49	12.41	
生後 14 日		20.52	20.62	20.72	20.15	20.64	20.58	20.61	20.74		
生後 21 日		35.29	35.17	35.40	34.84	35.22	35.14	35.20	35.10		

表 2 (つづき) . 試験成績の概要

世代		親 : F1 児 : F2								
投与量 (ppm)		0		319.1		1063.8		3191.5		
産児		a	b	a	b	a	b	a	b	
供試動物数	雄	40	20	40	20	40	20	40	20	
	雌	40	20	40	20	40	20	40	20	
一般症状		異常なし								
死亡例	雄	0		0		1 (34週齢)		0		
	雌	0		0		0		0		
平均体重 (g)	投与開始時	雄	64.3		64.6		64.0		62.6	
		雌	58.4		60.7		60.6		60.5	
	28週齢	雄	460.2		461.0		467.4		459.9	
		雌	301.8		301.2		307.7		296.5	
	34週齢	雄		482.4		490.7		491.9		491.3
		雌		281.2		275.8		282.0		283.4
摂餌量		異常なし								
交配までの日数		3.9	5.3	3.4	4.0	3.7	5.2	4.1	4.7	
妊娠期間 (日数)		22.0	22.0	21.9	21.9	21.9	22.0	22.1	22.0	
妊娠動物数/交配動物数		36/40	17/20	36/40	18/20	35/40	16/20	35/40	17/20	
妊娠率 (%)		90.0	85.0	90.0	90.0	87.5	80.0	87.5	85.0	
交尾率 (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
出産率 (%)		93.0	85.7	89.3	93.8	92.5	93.2	91.4	89.6	
哺育率 (%)		96.8	98.1	96.2	98.3	97.2	100.0	98.1	97.2	
病理組織学的検査 (生殖腺)		異常なし								
出生時総児数		399	189	412	193	388	177	406	202	
死産児総数		1	2	1	0	0	2	3	0	
矮小総児数		1	1	3	1	4	0	1	1	
生後 21 日目総生存児数		359	159	354	178	349	165	364	176	
平均生存児数/母獣		11.1	11.1	11.4	10.7	11.1	11.1	11.6	11.9	
生後 21 日目平均生存児数		10	9.4	9.8	9.9	10	10.3	10.4	10.4	
性比	出生時	50/50	51/49	50/50	51/49	49/51	47/53	50/50	48/52	
	生後 21 日目	48/52	49/51	49/51	50/50	47/53	46/54	48/52	47/53	
死産児数/母獣		0.03	0.1	0.03	0	0	0.1	0.1	0	
矮小児数/母獣		0.03	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0.03	0.1	
奇形児数		0	0	0	0	0	0	0	0.1	
新生児平均体重 (g)	出生時	5.55	5.53	5.51	5.55	5.53	5.54	5.51	5.45	
	生後 7 日	12.61	12.33	12.44	12.4	12.63	12.44	12.37	12.21	
	生後 14 日	20.81	20.76	20.57	20.67	20.82	20.65	20.62	20.62	
	生後 21 日	35.31	35.19	35.02	35.32	35.65	35.06	35.19	35.4	

表 2 (つづき) 試験成績の概要

世代		親 : F2 児 : F3								
投与量 (ppm)		0		319.1		1063.8		3191.5		
産児		a	b	a	b	a	b	a	b	
供試動物数	雄	40	20	40	20	40	20	40	20	
	雌	40	20	40	20	40	20	40	20	
一般症状		異常なし								
死亡	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	
平均体重 (g)	投与開始時	雄	64.5		64.9		64.7		63.5	
		雌	58.2		61.5		61.5		59.6	
	28週齢	雄	480.0		466.2		459.0		461.9	
		雌	301.7		301.6		305.2		301.7	
	34週齢	雄		494.7		489.9		498.0		491.7
		雌		290.3		277.4		277.8		276.3
摂餌量		異常なし								
交配までの日数		4.3	3.7	3.6	4.3	4.1	4.8	4.2	4.7	
妊娠期間 (日数)		22.1	22.0	22.0	22.1	22.1	22.0	22.0	22.0	
妊娠動物数/交配動物数		34/40	18/20	35/40	17/20	34/40	16/20	35/40	18/20	
妊娠率 (%)		85.0	90.0	87.5	85.0	85.0	80.0	87.5	90.0	
交尾率 (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
出産率 (%)		91.7	89.0	91.5	90.1	91.7	90.7	93.0	95.2	
哺育率 (%)		97.4	95.7	98.6	97.3	98.1	98.2	99.2	96.1	
病理組織学的検査 (生殖腺)		異常なし								
児動物	出生時総児数		384	210	398	203	396	182	398	188
	死産児総数		3	1	0	0	4	2	0	0
	矮小総児数		2	3	4	1	4	1	4	3
	生後 21 日目総生存児数		343	179	359	178	356	162	367	172
	平均生存児数/母獣		11.3	11.7	11.4	11.9	11.6	11.4	11.4	10.4
	生後 21 日目平均生存児数		10.1	9.9	10.3	10.5	10.5	10.1	10.5	9.6
	性比	出生時	49/51	50/50	48/52	50/50	50/50	52/48	52/48	51/49
		生後 21 日目	48/52	48/52	47/53	51/49	49/51	49/51	50/50	49/51
	死産児数/母獣		0.1	0.1	0	0	0.1	0.1	0	0
	矮小児数/母獣		0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
	奇形児数		0	0	0	0	0	0	0	0
	新生児平均体重 (g)	出生時	5.49	5.50	5.52	5.50	5.51	5.50	5.52	5.60
		生後 7 日	12.37	12.52	12.55	12.39	12.49	12.44	12.58	12.70
		生後 14 日	20.63	20.53	20.76	20.38	20.73	20.72	20.76	20.91
生後 21 日		35.26	35.04	35.35	34.80	35.40	35.12	35.26	35.30	

表 2. 試験成績の概要 (F3b の発育および生後 9 週後の病理学的検査)

世代		親 : F2 児 : F3b					
投与量 (ppm)		0	319.1	1063.8	3191.5		
児動物	新生児 平均体重 (g)	出生時	5.50	5.50	5.50	5.60	
		生後 7 日	12.52	12.39	12.44	12.70	
		生後 14 日	20.53	20.38	20.72	20.91	
		生後 21 日	35.04	34.80	35.12	35.30	
	平均体重 (g) 10 週齢	雄	276.3	279.6	276.5	282.1	
		雌	201.1	204.5	198.6	200.0	
	外表発育 (観察日齢)	耳介開展	2.9	2.9	2.8	2.8	
		毛生開始	3.9	3.9	3.8	3.8	
		切歯萌出	8.5	8.6	8.4	8.3	
		眼瞼開裂	15.4	15.4	15.3	15.4	
	臓器重量 (g)	雄	体重	271.8	279.8	276.7	282.3
			心臓	0.90	0.95	0.89	0.88
			肝臓	11.9	12.6	11.2	11.4
			肺	1.44	1.65	1.80	1.54
			脾臓	0.58	0.62	0.59	0.58
			腎臓 (L/R)	1.07/1.06	1.16/1.15	1.00/1.03	1.03/1.06
			副腎 (L/R)	0.026/0.025	0.032/0.031	0.023/0.023	0.025/0.025
			胸腺	0.44	0.68	0.49	0.39
			下垂体	0.009	0.010	0.010	0.010
			生殖腺 (L/R)	1.37/1.36	1.45/1.44	1.46/1.46	1.54/1.53
		甲状腺 (L+R)	0.019	0.017	0.019	0.021	
		脳	1.71	1.81	1.81	1.78	
		雌	体重	198.0	207.6	200.5	201.9
			心臓	0.70	0.75	0.65	0.75
			肝臓	8.6	9.2	8.8	8.2
			肺	1.29	1.47	1.27	1.24
			脾臓	0.46	0.44	0.45	0.45
			腎臓 (L/R)	0.81/0.82	0.81/0.79	0.78/0.79	0.82/0.83
			副腎 (L/R)	0.037/0.035	0.036/0.036	0.033/0.033	0.037/0.035
			胸腺	0.41	0.46	0.39	0.40
下垂体	0.011		0.009	0.009	0.010		
生殖腺 (L/R)	0.061/0.058		0.058/0.061	0.055/0.055	0.056/0.057		
甲状腺 (L+R)	0.018	0.018	0.018	0.018			
脳	1.61	1.71	1.72	1.70			
主な 病理組織所見	肝臓	壊死巣 (雄/雌)	0/1	0/1	1/2	0/3	
	肺	泡沫細胞巣 (雄/雌)	3/7	7/5	8/7	7/8	
		気管支周囲 リンパ増生 (雄/雌)	0/4	3/3	2/5	2/2	
		気管支肺炎 (雄/雌)	0/1	2/0	2/1	2/1	
	膀胱	軟沈殿物 (雄/雌)	5/0	3/0	3/0	3/0	

表 3. 催奇形性試験成績の概要

世代	親 : F0 児 : F1b				親 : F1 児 : F2b				親 : F2 児 : F3b			
	0	319.1	1063.8	3191.5	0	319.1	1063.8	3191.5	0	319.1	1063.8	3191.5
投与量 (ppm)	0	319.1	1063.8	3191.5	0	319.1	1063.8	3191.5	0	319.1	1063.8	3191.5
交配動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
妊娠動物数	16	17	16	17	17	16	18	16	18	16	17	15
平均産仔数	13.1	12.9	12.3	13.6	13.0	13.8	13.6	13.1	13.6	13.8	13.9	14.1
平均着床数	12.6	12.5	11.6	13.3	12.4	13.3	12.9	12.2	13.1	13.3	13.1	13.6
平均吸収胚数	0.9	0.7	1.1	0.8	0.9	0.7	0.8	1	0.7	1.1	1.1	0.8
吸収胚数 (総数)	15	12	17	13	15	11	14	16	13	17	18	12
初期吸収	7	7	12	7	12	7	11	12	9	13	5	8
後期吸収	8	5	5	6	2	4	3	4	4	4	13	4
吸収率 (%)	7.4	5.7	9.1	5.8	7.1	5.2	6.0	8.2	5.5	8.0	8.1	5.9
着床前損失率 (%)	5.2	3.2	5.6	2.6	5.0	3.6	4.5	6.7	4.1	3.6	5.9	3.3
着床後損失率 (%)	7.4	5.7	9.1	5.8	7.1	5.2	6.0	8.7	5.5	8.0	8.1	5.9
胎児総数	187	200	169	213	195	202	219	179	222	195	204	192
死亡胎児数 (総数)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
平均生存胎児数	11.7	11.8	10.6	12.5	11.5	12.6	12.2	11.2	12.3	12.2	12.0	12.8
平均矮小胎児数	0.1	0.2	0	0.2	0.1	0.1	0	0.1	0	0.1	0	0.2
奇形胎児数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
骨格変異を持つ胎児数	58	48	47	58	50	57	52	42	59	54	71	46
変異率 (%)	31	24	27.8	27.2	25.6	28.2	23.7	23.5	26.6	27.7	34.8	24
肉眼的変異を持つ胎児数	1	0	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0
変異率 (%)	0.5	0	0.6	0	0	0.1	0	0	0	0.5	0	0
平均生存胎児重量 (g)	3.47	3.53	3.57	3.43	3.52	3.53	3.45	3.55	3.49	3.48	3.46	3.38
平均胎盤重量 (g)	0.55	0.55	0.56	0.54	0.55	0.54	0.54	0.55	0.54	0.55	0.55	0.53
生存児性比 (雄/雌)	53/47	51/49	51/49	53/47	52/48	50/50	52/48	49/51	49/51	49/51	49/51	52/48

統計学的解析 : 分散分析および Student's t-test、 $p \leq 0.001$

13-2. ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験

(資料 38)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ウィスター系 [Chbb:Thom(SPF)] ラット 1 群雌雄各 25 匹

試験開始時週齢；34±1 日齢

試験開始時体重；雄 102-119 g 雌 93-115 g

投与期間： F0 世代 投与開始から屠殺までの約 30 週間

F1 世代 投与開始から屠殺までの約 34 週間

(年 - 年)

投与方法： 検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要量の飼料を添加・混合して有効成分として 0、500、1500 および 5000 ppm (検体として 0、864、2591 および 8636 ppm) の濃度で混餌を調製し、随時摂食させた。混餌は、安定性の確認されている 32 日以内の間隔で調製した。

用量設定根拠：既に実施済みの試験 (資料 9、10 および 13) からの結果に基づき、本試験の用量を設定した。

方法および試験項目 (表 1 参照)：

表 1. 試験の概要

世代	期間	作業手順	試験項目	
F0	生育 (10週)		一般症状/生死：毎日観察。 摂餌量/飲水量/体重測定：週1回 神経機能観察総合検査：F1a 交配数日前	
	F1a	交配 (3週)	雌雄1:1で交配 交尾は膣垢中の精子で確認(妊娠0日)	交配状況の観察。
		妊娠 (3週)		妊娠期間中の一般状態の観察 摂餌量測定：妊娠0-7、7-14、14-20日 体重測定：妊娠0、7、14、20日
		出産 (1日)		出産状況の観察 出産児数、生存児数、死産児数、性別 同腹生存児体重測定、外表異常
		哺育 (3週)	哺育4日に1腹の同腹児数を雄4匹、雌4匹に調整(不可能なとき、合計8匹)。 離乳前、雌雄各25匹を次世代として選抜	親動物：哺育状況の観察 摂餌量測定：哺育0-4、4-7、7-14 体重測定：出産1、4、7、14、21日 神経機能観察総合検査：哺育13-21日 児動物： 生存児数・体重：生後1、4、7、14、21日 発育検査：耳介展開(生後4日調整前)、 耳道開口(生後13日)、開眼(生後15日) 行動試験：握り反射(生後13日)、聴覚驚愕反 射(生後21日)、瞳孔収縮反射(生後20日) 剖検：死産児、生後4日屠殺児、哺育時死亡 児の外表/内臓異常検査。 組織学的/骨格/頭部内臓検査：剖検で異常が あれば、必要により検査
		離乳	次世代として未選抜動物の屠殺	親動物： 神経機能観察総合検査：出産30-35日 児動物：外表/内臓異常検査
	休息	10日間	神経機能観察総合検査：F1b 交配数日前	
	F1b	交配 (3週)	F1aに準ずる。	F1aに準ずる。
		妊娠 (3週)		F1aに準ずる。
		出産 (3週)		F1aに準ずる。
哺育 (3週)		F1aに準ずる。	F1aに準ずる。	
離乳		親動物の屠殺 児動物の屠殺	親動物： 臨床検査：血液学的/血液生化学的/尿検査 神経機能観察総合検査：離乳後 不妊動物の妊性の確認 児動物：F1aに準ずる。	
F1	生育 (14週)	F1aに準ずる。	F1aに準ずる。	
	交配 (3週)	F1aに準ずる。	F1aに準ずる。	
	妊娠 (3週)		F1aに準ずる。	
	出産 (3週)		F1aに準ずる。	
	哺育 (3週)	F1aに準ずる。	F1aに準ずる。	
F2	離乳	離乳数週間後親動物の屠殺 離乳後屠殺	F1に準ずる。	

一般状態および死亡；全親動物に対し、一般状態および生死を毎日観察し、巣作り、哺育および授乳行動を観察した。死亡動物または切迫屠殺動物は剖検した。

神経機能観察総合検査 (FOB)；雌雄親動物に対し F1a、F1b および F2 交配数日前、母動物に対し哺育 13-21 日、離乳後（出産 30-35 日）に実施した。動物をケージから取り出し、標準観察台に移して、以下について検査した。

一般状態、振戦、痙攣、立毛、流涙および眼漏、流涎、瞳孔サイズ、糞、発生、不全麻痺、麻痺、運動失調、体緊張、姿勢、体表、活動、呼吸、尿、皮膚色、正向反応、行動、握力、瞳孔反射、接触感覚、疼痛（ホットプレート試験）、その他肉眼的症状

摂餌量；雌雄とも最初の 10 週間（F0 親動物）または 14 週間（F1 親動物）は、週に 1 回 7 日間の摂餌量を測定した。以降は、雌のみ以下のようなスケジュールで測定した。

（妊娠期間）雌動物の妊娠 0-7 日、7-14 日および 14-20 日

（哺育期間）出産 0-4 日、4-7 日および 7-14 日

飲水量；最初の 10 週間（F0 親動物）または 14 週間（F1 親動物）は、週に 1 回 3 日間の飲水量を測定した。

検体摂取量；測定した摂餌量および体重から平均検体摂取量を算出した。

体重；週に 1 回、親動物（雌雄）の体重を測定した。また交配期間中、雌で交尾確認日を妊娠 0 日とし、妊娠期間中は妊娠 0、7、14、20 日に、哺育期間中は出産 1、4、7、14 および 21 日に体重を測定した。F0 親動物に対し、F1a の離乳後、第 2 回交配までの期間は、週に 1 回測定した。不妊雌の妊性確認時には体重は測定しなかった。

繁殖性に関する指標；生育、交配、妊娠および哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

$$\text{雄交尾率 (\%)} = \frac{\text{交尾確認雄数}}{\text{雌と同居させた雄数}} \times 100$$

$$\text{雄授精率 (\%)} = \frac{\text{雌を受精させた雄数}}{\text{雌と同居させた雄数}} \times 100$$

$$\text{雌交尾率 (\%)} = \frac{\text{交尾確認雌数}}{\text{雄と同居させた雌数}} \times 100$$

$$\text{雌受精率 (\%)} = \frac{\text{妊娠雌数}}{\text{交尾雌数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率 (\%)} = \frac{\text{生存児出産雌数}}{\text{妊娠雌数}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{生存児率 (\%)} &= \frac{\text{出生時生存児数}}{\text{出産児総数}} \times 100 \\ \text{出産率 (\%)} &= \frac{\text{生存児出産雌数}}{\text{妊娠雌数}} \times 100 \end{aligned}$$

不妊動物の妊性の確認: F1b および F2 交配後の投与群の不妊親動物は交尾確認済みの対照群の動物、対照群の不妊動物は同群の交尾確認済みの動物と再交配（交配期間中は対照飼料を給餌）した。剖検後、子宮を摘出し、死亡・吸収胚について検査し、明らかに不妊の子宮は染色して検査後、病理組織学的標本を作製して検査した。

出生児状態検査: 全出生児に対し、産後速やかに以下の項目を検査した。

出生児総数、生存児数（腹ごと）、死産児数（腹ごと）

出産後も、毎日 2 回（就労日）または 1 回（休日）出生児の死亡や状態を確認した。

これらの数値を基に、出生日および産後 1-4 日、5-7 日、8-14 日および 15-21 日（授乳期間中）の生存率を算出した。また腹ごとの生存児数を出生日および授乳期間中 4、7、14 および 21 日に測定した。生存率および授乳率は以下の式で算出した。

$$\begin{aligned} \text{生存率 (\%)} &= \frac{\text{調整前生後 4 日の生存児数}}{\text{出生時生存児数}} \times 100 \\ \text{哺育率 (\%)} &= \frac{\text{生後 21 日の生存児数}}{\text{生後 4 日の調整後生存児数}} \times 100 \end{aligned}$$

出産時または出生後 21 日に、出産児の性別を肛門から生殖原器までの距離で決定し、性比を算出した。

出生児の体重および体重増加量を、産後 1、4（選別前）、7、14 および 21 日に測定した。

出生児の発育について、以下の 3 項目で評価した。

耳介展開（生後 4 日の選別前）、耳道開通（生後 13 日）、眼瞼開裂（生後 15 日）
離乳までに、以下の項目を検査し、行動検査とした。

握り反射（生後 13 日）、聴覚試験（生後 21 日）、瞳孔反射（生後 20 日）

生後 4 日の調整児または次世代として選抜しなかった離乳児は屠殺後、外表および内臓異常について検査し、異常が認められ、必要と判断された場合にのみ、骨格標本の作製および頭部の粗大切片を作製して検査した。異常のみられなかった児は剖検後、廃棄した。

臨床検査：群当たり各 12 匹の動物を対象として、以下にあげる臨床検査を実施した。採血（F0 世代は投与 29 週、F1 世代は投与 25 週）は、非絶食および非麻酔下で後眼窩静脈叢より行い、血清を採取した。また尿（F0 世代は投与 30 週、F1 世代は投与 24 週）は、代謝ケージを用い絶食/絶水下で一晩蓄尿を採取した。

<血液学的検査>

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、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 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (トロンボプラスチン時間：TPT)

<血液生化学的検査>

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、血清コリンエステラーゼ活性 (SChE)、赤血球コリンエステラーゼ活性 (EChE)、脳コリンエステラーゼ活性 (BChE)、血清 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (SGGT)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)、マグネシウム (Mg)

<尿検査>

尿量、色調、濁度、亜硝酸塩、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

病理学的検査：

肉眼的病理検査：生存動物は、麻酔下で断頭により放血屠殺し、特に生殖器官に注意して検査した。切迫殺動物も同様に検査した。

臓器重量：F0 および F1 親動物の生存動物から摘出した、以下の臓器の重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、精巣上体、精巣

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を行った動物を対象として、以下の臓器/組織を摘出し、ヘマトキシリン・エオジンで染色して病理標本を作製し、鏡検した。鏡検は対照群および 5000 ppm 群については全動物を、中間用量群 (500 および 1500 ppm 群) については全動物の肝臓、腎臓および肉眼的異常部位を、さらに、不妊動物については下垂体並びに生殖臓器およびその付属器について行った。

膣、子宮頸部、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺、前立腺、下垂体、肝臓、腎臓、肉眼的異常部位

結果：本試験で得られた結果の概要を表 2 に示す (親動物の体重は表 3 に示す)。

親動物：

一般状態： F0 および F1 親動物ともに試験期間中、検体投与に起因する一般状態の異常は認められなかった。

死亡： F0 世代では、死亡動物は認められなかった。F1 親動物世代で交配期間の開始前に 5000 ppm 群で雌雄各 1 匹の死亡が認められた。

神経機能検査： F0 世代では、交配前および F1a および F2b 児の離乳後の期間中に異常症状は雌雄とも認められなかった。これに対し、5000 ppm 群の雌において、両世代とも哺育期間中および離乳後早期 (F0：哺育 4-24 日、F1：哺育 7-28 日) に、振戦、過敏症が多く動物で、また、運動失調が数例の動物で認められた。これらは主に、取り扱い時に発現し、離乳後、数日で回復した。これらの症状は、検体投与に起因するものと判断する。

F0B 検査：疼痛(ホット・プレート)試験では、検体投与に起因する異常はいかなる群においても認められなかった。

握力検査において、5000 ppm 群では、雄で後肢握力の低下が F1 世代の交配前のみ認められた。雌では前肢握力の低下が F1 世代の F1a 児の哺育および離乳後の期間に、F1 世代の交配前および哺育時に有意な低下が認められ、また、後肢握力の低下が交配前および哺育時に認められ、投与関連性が考えられる。

摂餌量：5000 ppm 群において、F0 および F1 世代の雌雄とも生育期の摂餌量は有意に減少していた。雌では妊娠期および哺育期の摂餌量も有意に減少していた。これらの減少は投与の影響と考えられる。1500 ppm 群の雌の生育期に摂餌量の軽度の有意な増加が認められたが、用量関連性もなく検体投与の影響とは考えられなかった。

摂水量：生育期についてのみ測定したが、F0 および F1 世代とも 5000 ppm 群で雄は有意な減少が散見され、生育期間中の平均飲水量は軽度の減少が認められたものの有意差は認められなかった。雌でも同様に軽度の減少が認められ、平均飲水量は F0 世代では有意に減少していたが、F1 世代では有意差は認められなかった。これは、摂餌量の減少によるものと考えられる。

体重：5000 ppm 群において両世代とも、体重は、雄では屠殺するまで、雌でも生育期間から哺育期間を通して有意な抑制が認められた。体重増加は雄では有意な減少が投与初期に散見されたが、その後有意差は見られないものの減少傾向が継続したが、総増加量は有意に減少した。雌の体重増加は生育期間中対照群とほとんど差がなく、妊娠および哺育期間中は測定時点で変動があるものの、総増加量には有意な減少が認められた。これらの減少は検体投与に起因すると考えられる。

雄生殖能検査：5000 ppm 群において、F0 世代 F1a の交配時に授精率の低下が認められたが、F1b 交配時には全例が授精していることから、検体投与に起因する低下ではないと考えられた。F1 世代は全例が授精した。

雌生殖能検査：妊娠期間の有意で軽微な短縮が F0 世代の 5000 ppm 群の雌でのみ認められたが、F1 世代では対照群と差が認められなかった。これは、検体投与に起因する可能性が考えられる。

出産児数：F2 児の腹あたり出産児数が 5000 ppm 群（10.7 匹/腹）でわずかに低下していた。これは、背景データ（11.1-16.4 匹/腹）を逸脱するため、検体投与に起因する可能性が考えられる。

血液学的検査：WBC の増加が 500 および 1500 ppm 群の F1 世代の雄で認められたが、用量関連性もなく、投与関連性はないと考えられた。

血液生化学的検査：F0 世代で、クレアチニン値（F0 世代）およびグロブリン（F1 世代）の統計学的有意な低下が、5000 ppm 群の雌で認められた。これは検体投与に起因するものと考えられた。また、ALT 活性の低下（F0 世代）が 500 ppm 群で認められたが、用量関連性がなく投与関連性はないと考えられた。

尿検査：両世代とも検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

臓器重量：5000 ppm 群において、F0 および F1 親動物とも、対照群に比し最終体重の有意な抑制が認められた。重量測定臓器の重量減少がすべての臓器で認められた。また、これらの臓器では対体重比の増加あるいは減少が認められた。これらの変動は最終体重の有意な抑制に基づくもので、検体による直接的な影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査：5000 ppm 群の F0 および F1 雌雄とも肝臓の脂肪蓄積の減少が認められた。これは摂餌量の減少および体重の低下による栄養状態の悪化に起因するもので、検体による直接的な影響とは考えられなかった。その他の所見は偶発的で、対照群との間に顕著な差は認められなかった。

児動物

出生時生存児率：両世代の児ともに対照群との差は認められなかった。

生存率：哺育期間中に F1a 児の死亡数および母動物による食殺数の有意な増加が 5000 ppm 群で認められ、4 日生存率の有意な低下となった。F1b 児および F2 児にはこのような影響は認められなかった。

性比：両世代の児ともに対照群と投与群間に差は認められなかった。

体重：5000 ppm 群において、F1a および F1b 児では体重および体重増加の有意な低下が出生時から認められた。F2 児でも検体投与の影響が認められ、生後 4 日の児数を調整後から有意な低下が認められた。

発育状態検査：一定の時期までに耳介展開、耳道開通および眼瞼開裂に達した児動物の割合は F1a および F1b 児において 5000 ppm 群で有意に低く、発育遅延が認められた。500 および 1500 ppm 群においてこれらの指標に変動が見られたが、用量関連性もなく、偶発的と考えられた。F2 児において 5000 ppm 群で耳道開通および眼瞼開裂の遅延が認められた。500 あるいは 1500 ppm 群で耳道開通あるいは眼瞼開裂の遅延が認められたが、平均値は背景データ（児動物の結果の表に記載）の範囲内にあり、体重に投与の影響はなく、用量関連性も明確でないので偶発的と考えられた。

行動検査：5000 ppm 群 F1b 児において、握り反射および瞳孔反射の遅延が、また、F2 児では握り反射の遅延が認められ、生育遅延と関連していると考えられた。

肉眼的病理検査：5000 ppm 群 F1a 児の死後自己融解の増加が認められた。これは、F1a 出産児に死亡例が多かったことに起因するものである。（F2 出産児）本試験では、検体投与に起因するような異常所見は認められなかった。

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、5000 ppm 群において、親動物に摂餌量の減少を伴う体重の抑制が認められ、この影響は栄養状態の悪化となり、臓器重量の減少および肝臓の脂肪蓄積の低下を生じた。両世代とも哺育期間中および離乳後早期に、振戦、過敏症が多く動物で、運動失調が数例の動物で認められた。また、後肢あるいは前肢握力の低下が認められた。本検体にはニコチン性アセチルコリン活性化受容体に及ぼす特異的影響があることから（資料 4 3 および 4 4）、この受容体の活性化が、筋線維の脱分極を生じ、結果として、筋肉の興奮伝達、次いで筋肉の弛緩が生じ、神経機能障害として表れたものと考えられる。これらは主に、離乳後、数日で回復したことから、離乳後の検体摂取量の減少により回復する形態学的変化を伴わない可逆的变化である。児動物では、母動物の栄養状態の不良による二次的影響として、体重の低下として表れ、これに起因する発育遅延（耳介展開、耳道開通、眼瞼開裂、握り反射の低下）が認められた。生殖能に悪影響が認められなかった。1500 ppm 群では投与に起因する影響は親動物および児動物ともに認められなかった。したがって、生殖毒性としての NOAEL は、最大用量である 5000 ppm であると判断する。しかしながら、同用量において、親動物や新生児の体重減少など、幾つかの毒性が認められたことから、親動物（F0 および F1 世代動物）および新生児（F1a、F1b および F2 世代動物）に対する全身毒性としての NOAEL は、1500 ppm（F0 世代：雄 153.1、雌 163.6；F1 世代：雄 146.6、雌 162.0 mg/kg/day）と判断する。

親動物

世代		親 : F0 児 : F1a/F1b ³				親 : F1 児 : F2					
投与量 (ppm)		0	500	1500	5000	0	500	1500	5000		
供試動物数 (雌雄各)		25	25	25	25	25	25	25	24 ⁴		
一般状態		異常なし				異常なし					
死亡		死亡例なし				死亡例なし					
神経機能検査		異常なし				異常なし					
神経機能検査	雄										
	振戦					17					
	過敏症					16					
	運動失調					3/2					
体重 ¹	生育	10/14 週	雄		90 ⁴				78 ⁴		
		29/25 週	雄		89 ⁴				80 ⁴		
		14 週	雄		93 ↓				84 ⁴		
	妊娠 20 日	雌		92 ⁴ /90 ⁴				83 ⁴			
	哺育 21 日	雌		84 ⁴ /86 ⁴				78 ⁴			
体重増加 ¹	生育	0-29/25 週	雄		87 ⁴				87 ⁴		
		0-10/14 週	雌		89 ↓				102		
	妊娠 0-20 日	雌		89 ↓ / 88 ⁴				83 ⁴			
	哺育 0-21 日 ²	雌		21.0/10.7		-0.2 ⁴ / -2.0 ↓		7.9		-3.3 ↓	
摂餌量 ¹	生育	10/14 週	雄		91 ↓				85 ⁴		
			雌		104 ↑				95 ↓		89 ⁴
	妊娠	14-20 日	雌		90 ⁴ /90 ⁴				90 ⁴		
		0-20 日	雌		94/90				90		
	哺育	0-4 日	雌		78 ⁴ /82 ⁴				80 ⁴		
		4-7 日	雌		81 ⁴ /80 ⁴				83 ⁴		
		7-14 日	雌		74 ⁴ /77 ⁴				76 ⁴		
0-14 日	雌		77/79				79				
摂水量 ¹	生育 10/14 週	雄		94				91			
		雌		95 ↓				92			
検体摂取量 (mg/kg/day)	生育期	雄		51.2	153.1	499.3	48.6	146.6	574.5		
	生育期	雌		54.0	163.6	530.0	53.3	162.0	626.5		
	妊娠期	雌		45.6/42.0	137.0/127.7	460.2/433.3	45.6	134.8	485.8		
	哺育期	雌		79.2/69.9	227.7/198.1	662.3/625.1	72.7	224.2	715.2		
FOB 検査	疼痛		異常なし				異常なし				
	握力	雄後肢	交配前	130↑/-						85 ⁴	
		雌前肢	交配前							90 ↓	
		雌前肢	哺育時	-/107		93 ↓ /-				83 ⁴	
		雌後肢	離乳後			91 ⁴ /-					
	雌後肢	交配前							89 ↓		
雌後肢	哺育時							84 ↓			
雄生殖能	交尾率 (%)	100/100	100/100	100/100	100/100	100	100	100	100		
	授精率 (%)	100/100	92/96	100/100	80 ↓ /100	92	88	92	83		

雌生殖能	交尾率 (%)	100/100	100/100	100/100	100/100	100	100	100	100		
	受精率 (%)	100/100	92/96	100/100	80 ↓ /100	100	100	100	100		
	授精動物数	25/25	23/24	25/25	20/25	23	22	23	20		
	不妊数	0/0	2/1	0/0	5/0	2	3	2	4		
	交尾までの日数	2.5/3.3	2.6/2.6	2.8/2.5	2.5/3.4	2.7	2.3	2.6	3.8		
	妊娠期間 (日)	22.0/21.9	22.0/21.9	22.0/21.8	21.6 ⁴ /21.6 ↓	22.0	22.0	21.9	22.0		
	生存児出産率 (%)	100/100	100/100	100/100	100/100	100	100	100	100		
	生存児を有す腹数	25/25	23/24	25/25	20/25	23	22	23	20		
死産児を有す腹数	4/6	5/5	6/7	1/4	6	6	8	2			
臓器重量 ¹	最終体重				98	88 [↓]			100	80 [↓]	
	肝臓	重量				84 [↓]				74 [↓]	
		対体重比					95 ↓				94 ↓
	腎臓	重量				92 [↓]					81 [↓]
		対体重比									
	精巣	重量									89 [↓]
		対体重比					113 [↑]				112 [↑]
	精巣上体	重量									92 [↓]
		対体重比					112 [↑]				116 [↑]
	最終体重				100	89 [↓]			104	85 [↓]	
	肝臓	重量				90 [↓]					84 [↓]
		対体重比									
腎臓	重量									77 [↓]	
	対体重比					109 [↑]					
肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常所見なし									
病理組織学的検査	検査数(雌雄各)		25	25	25	25	25	25	25	25	
	肝臓	雄	計	19	20	15		15	22	20	15
			軽微	8	7	8	10	3	8	12	12
		軽度	8	11	7	5	10	13	7	2	
		中等度	3	2		5					
	脂肪蓄積	雌	計	16	12	16	3	9	13	15	2
			軽微	14	9	14	3	9	11	14	2
		軽度	2	3	2			1	1		
中等度							1				
血液学的検査 ¹	雄	WBC	投与による影響なし					123 [↑]	120 ↑		
	雌		投与による影響なし								
血液生化学的検査 ¹	雄	投与による影響なし									
		ALT		85 ↓							
	雌	Crea				93 ↓					
		Glob								82 ↓	
尿検査(雌雄)		投与による影響なし									

¹: 対照群に対する比率 (%) を変動の目安として示す。

²: 哺育期の体重増加は投与群で減少が認められたので、増加量を g で示した。

³: 親: F0, 児: F1a/F1b の欄で xx/yy の数値は F1a/F1b の値である。

⁴: 交配期間の開始前に雌雄各 1 例が死亡した。

統計学的方法: Dunnet 検定: 摂餌量、飲水量、体重および体重増加、握力、疼痛試験、血液学および血液生化学的検査、臓器重量 ↑ ↓: p ≤ 0.05, ↑↓: p ≤ 0.01

児動物

世代		親 : F0				親 : F1			
投与量 (ppm)		0	500	1500	5000	0	500	1500	5000
供試動物数 (雌雄各)		25	25	25	25	25	25	25	25
総出産児数		350/385	320/340	371/366	265/348	295	275	310	214
腹あたり出産児数		14.0/15.4	13.9/14.2	14.8/14.6	13.3/13.9	12.8	12.5	13.5	10.7
生存児数		345/375	314/332	365/359	264/340	286	261	299	212
死産児数		5/10	6/8	6/7	1/8	9	14	11	2
生存児率 (%)		99/97	98/98	98/98	100/98	97	95	96	99
腹あたり生存児数		13.8/15.0	13.7/13.8	14.6/14.4	13.2/13.6	12.4	11.9	13	10.6
生後 4 日までの死亡児数		23/18	11/6 ↓	17/21	30 ↑ /13	10	12	10	15
食殺児数		2/3	6/3	5/2	13 ↑ /7	15	10	3 ↓	14
4 日生存率 (%)		96/95	95/98	94/94	89 ↓ /96	96	93	96	93
離乳率 (%)		95/100	99/99	100/99	91/97	93	98 ↑	100 ↑	90
性比 (雄%)	出産時	56.8/50.9	51.6/50.3	49.9/52.4	53.0/49.4	52.8	49.8	48.2	51.4
	生後 21 日	52.1/49.7	49.7/51.3	51.6/50.0	52.9/49.2	50.3	48.4	48.9	50
体重 (g)	生後 1 日	6.4/6.4	6.5/6.6	6.3/6.5	6.0 ↓ /6.1 ↓	6.3	6.4	6.3	6.2
	生後 4 日 (選別前)	9.1/9.2	9.2/9.7	9.0/9.1	7.3 ↓ /7.7 ↓	8.7	8.8	8.9	7.8
	生後 4 日 (選別後)	9.1/9.3	9.2/9.7	9.2/9.2	7.4 ↓ /7.6 ↓	8.7	8.8	8.9	7.8
	生後 21 日	53.5/54.3	53.4/55.3	52.0/53.1	34.3 ↓ /36.2 ↓	49.5	48.8	48.2	33.9 ↓
体重増加 (g)	生後 1-4 日	2.7/2.8	2.8/3.1	2.7/2.7	1.3 ↓ /1. ↓	2.4	2.4	2.6	1.6 ↓
	生後 4-21 日	44.3/45.0	44.2/45.6	43.0/43.8	26.9 ↓ /28.6 ↓	42	40.4	40.7	26.7 ↓
一般状態検査		検体投与に起因する異常なし							
発育 状態 検査 *	耳介展開	94/93	96/99 ↓	96/98 ↓	67 ↓ /72 ↓	93	88	91	92
		(背景データ範囲 : 74-100)							
	耳道開通	99/97	95 ↓ /97	99/99	65 ↓ /93 ↓	96	88 ↓	94	81 ↓
		(背景データ範囲 : 81-100)							
眼瞼開裂	100/95	99/100 ↑	97/99	75 ↓ /73 ↓	99	96 ↓	88 ↓	89 ↓	
	(背景データ範囲 : 85-100)								
行動 検査 *	握り反射	100/100	99/100	100/100	99/94 ↓	100	100	100	97 ↓
		(背景データ範囲 : 98-100)							
	聴覚驚愕	100/100	100/100	100/100	100/100	100	100	100	100
		瞳孔反射	99/100	99/99	100/99	99/95 ↓	100	99	99
(背景データ範囲 : 95-100)									
肉眼的 病理 検査	検査児動物数	298/382	264/337	316/364	202/341	280	265	307	200
	生存児	293/372	258/329	310/357	201/333	271	251	296	198
	死産児	5/10	6/8	6/7	1/8	9	14	11	2
	死後自己融解	0/0	3/1	1/2	4 ↑ /2	2	1	0	1
	腎盂拡張	10/18	3/1 ↓	8/12	2/3 ↓	4	7	1	1
	切歯傾斜	4/7	5/9	3/6	1/3	8	2	5	0 ↓
	所見総数	15 (9) / 27 (15)	14 (13) / 13 (10)	13 (10) / 22 (13)	8 (7) / 9 ↓ (6 ↓)	15 (9)	14 (6)	7 (6)	2 ↓ (2 ↓)

* : 評価基準に達した動物の割合%

統計学的方法 : Dunnet 検定 : 体重および体重増加、

Fisher 確立検定 : 発育状態検査、行動検査、児数、繁殖諸指標 ↑ ↓ : p ≤ 0.05, ↑ ↓ : p ≤ 0.01

13-3. ラットを用いた飼料混入投与による催奇形性試験

(資料 16)

試験機関 :

報告書作成年 : [非 GLP]

検体の純度 :

供試動物 : SD 系妊娠ラット 1 群雌各 35 匹 (帝王切開群 : 25 匹 自然分娩群 : 10 匹)

試験開始時平均体重 : 204 g

投与期間 : 妊娠期間中 20 日間

投与方法 : 膺垢中に精子を確認した日を妊娠 0 日とし、検体を 0、100、300、1000 および 3000 ppm となるよう粉末飼料に混入して、妊娠 0-20 日間の給餌による投与を行った。

試験項目 :

(帝王切開群)

親動物 ; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠期間中の摂餌量を妊娠 20 日まで毎日測定した。体重は、週に 3 回測定した。各群より 25 匹を妊娠 20 日に帝王切開し、摘出子宮重量を測定後、妊娠の有無、黄体数、着床数および生存・死亡・吸収胚数を検査した。

生存胎児 ; 体重、頭腎長および胎盤重量を測定し、性別の判定と外表異常の観察を行った。各胎児の 2/3 を骨格標本とし、骨格異常の有無を、また残りの胎児については内臓異常の検査を実施した。

(自然分娩群)

親動物 ; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠期間中の摂餌量を妊娠 21 日まで毎日測定した。体重は、分娩前に週 3 回 (月、水、金曜日) および妊娠 0、6、11、15 および 20 日、さらに分娩後 0、7、14 および 21 日に測定した。母動物の出産状況、分娩日、同腹児数および性別を検査した。新生児は、そのまま哺育させ、離乳時 (分娩後 21 日 16 時間絶食後) に屠殺し、剖検した。妊娠率および着床数 (硫酸アンモニウムによる) を検査し、さらに心臓、肝臓、腎臓および脾臓の重量を測定し、対体重比を算出した。

新生児 ; 一般状態および生死を離乳時 (分娩後 21 日) まで毎日観察し、分娩後 0、7、14 および 21 日目に体重を測定した。哺育期間中、新生児の発育状況 (毛生および眼瞼開裂など) を観察した。生後 14 日までに死亡した新生児は内臓異常について検査後、頭部は Wilson 法により検査した後、Dawson 法に従って骨格標本作製し、また、妊娠 14 日以降に死亡した新生児は X 線による骨格異常検査を実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

施した。さらに遊泳検査（生後 14 または 15 日）および回転棒検査も実施した。離乳時、全新生児を 16 時間絶食後に屠殺し、剖検し、心臓、肝臓、腎臓および脾臓の重量を測定した。外表および内臓異常の検査後、X 線により骨格検査を実施し、また頭部はブアン液で固定後 Wilson 法により検査した。途中死亡の新生児についても同様に検査した。

試験結果：本試験で得られた結果の概要を表に示す。

帝王切開群：母動物の体重変化および摂餌量には有意な変化は認められず、死亡例もまた認められなかったが、3000 ppm 投与群では 25 日目以降の糞の色調が対照群に比べて明るかった。妊娠率および着床所見に異常は認められなかった。

胎児の体重、頭腎長、雌雄平均胎盤重量（雌は有意に低かった。p<0.05）および性別などについても異常は認められなかった。生存胎児の観察では、検体投与に起因する外表、内臓および骨格異常は認められなかった。

以上の結果より、本検体を飼料混入により妊娠ラットに投与した場合、最高投与用量である 3000 ppm でも親動物・児動物に異常所見は認められず、催奇形性も認められなかった。

表. 試験成績の概要

		帝王切開群					
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000	
合計検体摂取量 (mg)		0	43	135	446	1292	
親動物	動物数	25	25	25	25	25	
	一般症状	異常なし	異常なし	15日以降、 黄色調明化	15日以降、 黄色調明化	15日以降、 黄色調明化	
	死亡数	0	0	0	0	0	
	体重増加量 (g)	112.19	119.00	114.13	114.55	121.37	
	摂餌量	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	
	剖検所見/腎盂拡張	異常なし	1	異常なし	異常なし	異常なし	
	妊娠動物数 (妊娠率)	21 (84%)	20 (80%)	23 (92%)	22 (88%)	19 (76%)	
	着床所見	黄体数/母体	12.14	12.80	11.96	12.09	13.89
		着床数/母体	8.52	10.70	9.35 ↑	9.00	10.95
		生存胎児数/母体	8.33	10.35	8.78	8.64	10.53
死亡・吸収胚数/母体		0.19	0.35	0.57	0.36	0.42	
死亡・吸収率 (%)		3.89	3.69	15.00	9.92	4.02	
平均胎児体重 (g)	雄	3.82	3.94	3.94	4.04	3.96	
	雌	3.66	3.69	3.72	3.77	3.74	
	合計	3.73	3.82	3.84	3.90	3.84	
平均頭腎長 (cm)		3.41	3.43	3.43	3.47	3.41	
平均胎盤重量 (g)	雄	0.65	0.67	0.72	0.77	0.66	
	雌	0.71	0.64	0.66	0.70	0.63 ↑ T	
	合計	0.72	0.66	0.69	0.75	0.65	
性別 (雄/雌) (総数)		85/90 (175)	102/105 (207)	93/109 (202)	88/102 (190)	104/96 (200)	
外表観察	検査胎児数	175	207	202	190	200	
	奇形数	0	0	0	0	0	
	全体的遅延数	0	0	1	1	1	
内臓観察	検査胎児数	59	69	67	64	66	
	奇形数	横隔膜欠71、 肝肥大1		0	0	0	
	変異・ 遅延数	腎盂拡張 (両側)	0	0	0	0	3
		腎盂拡張 (片側)	0	0	0	3	1
骨格観察	検査胎児数	116	138	135	126	134	
	奇形数	推骨分離	3	1	3	1	1
		推骨非対称分離	0	1	0	0	0
		波状肋骨 (両側)	4	2	0	2	1
		波状肋骨 (片側)	4	1	1	1	0
	変異・ 遅延数	頭骨不完全骨化	9	4	7	8	4
		副肋骨	1	2	2	3	1
		胸骨欠損	1	3	3	2	0
		胸骨部分骨化	9	16	9	8	12
		胸骨非対称	1	4	2	0	2
胸椎体中心部分骨化		0	0	0	0	1	

統計学的解析：傾向検定 (T) および U-test (U) ↑ : p < 0.05 ;

自然分娩群：母動物の一般症状および体重変化は、妊娠・哺育期間中で有意な変化は認められなかった。しかしながら、妊娠 1-6 日の摂餌量は全投与群とも対照群と比べ有意な減少が認められた。妊娠率では、投与に起因する影響は認められなかったが、対照群の 1 匹が分娩困難であったため屠殺した。また妊娠期間にも異常は認められなかった。新生児離乳時における親動物の剖検では、着床数および剖検所見のいずれにおいても投与に起因する異常は認められなかった。臓器重量では 3000 ppm 群の脾臓の対体重比が有意に増加していた。

新生児の生後生存率には、有意な変化は認められなかったが、雌新生児の生後 7 および 14 日の体重が有意に低下していたが、その後の体重に有意な変化は認められなかった。毛生および眼瞼開裂に対照群との差は認められなかった。遊泳および回転棒試験でも対照群との差は認められなかった。

離乳時の新生児臓器重量では、3000 ppm 群において、雄の心臓、雌の脾臓、肝臓および腎臓の有意な低下が認められた。内臓および骨格異常検査では、頭部嚢胞、副胸骨および胸骨の癒合などの異常所見が対照群を含む全群で散見された。これらのいずれも検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

(統計学的解析：William's T-test および Fischer 検定)

表. 試験成績の概要 (つづき)

		自然分娩群				
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000
合計検体摂取量 (mg)	妊娠期間中	0	46	140	483	1395
	哺育期間中	0	118	341	1051	3327
供試動物数		10	10	10	10	10
妊娠動物数 (妊娠率)		10 (100%)	9 (90%)	9 (90%)	10 (100%)	10 (100%)
死亡数		0	0	0	0	0
一般症状		異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
体重増加 量 (g)	妊娠期間中	118.10	115.89	119.56	114.30	113.20
	哺育期間中	43.00	36.88	32.22	35.10	40.60
摂餌量 (%)	妊娠 1-6 日	100	81 \downarrow U	85 \downarrow U	89 \downarrow U	92 \downarrow U
	哺育期間中	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
分娩状況		分娩困難で屠 殺 (1例)	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
妊娠期間 (分娩日)	21 日	2	0	6	4	5
	22 日	7	6	3	5	5
	23 日	0	3	0	1	0
着床数/母体		13.11	13.00	13.11	12.70	12.90
総分娩児数		111	115	111	121	125
分娩児数/母体		12.33	12.78	12.11	12.10	12.20
死産児数		0	0	2	0	3
生存児数/母体		12.33	12.78	12.11	12.10	12.20
死亡・吸収胚数/母体		0.78	0.22 \downarrow	0.78	0.60	0.40
剖検所見		異常なし	胸水・盲腸出血 (1例)	異常なし	異常なし	異常なし
臓器重量 (g)/相対 重量 (g /100g 体 重)	体重	225.56	220.63	226.44	222.40	225.30
	心臓	0.97/0.43	0.96/0.44	0.95/0.42	0.96/0.43	0.93/0.41
	脾臓	0.46/0.20	0.48/0.22	0.50/0.22	0.49/0.22	0.52/0.23 \uparrow
	肝臓	9.41/4.17	8.85/4.02	9.45/4.17	8.26/3.73	9.27/4.13
	腎臓	1.99/0.89	1.85/0.84	1.95/0.87	1.88/0.85	1.94/0.86

統計学的解析：傾向検定 (T) および U-test (U) $\uparrow \downarrow$: $p < 0.05$; $\uparrow \downarrow$: $p < 0.01$

表. 試験成績の概要 (つづき)

自然分娩群								
投与量 (ppm)		0	100	300	1000	3000		
合計検体摂取量 (mg)	妊娠期間中	0	46	140	483	1395		
	哺育期間中	0	118	341	1051	3327		
供試動物数		10	10	10	10	10		
平均体重 (g) (動物数)	雄	0日	5.78 (56)	5.93 (56)	5.94 (49)	5.95 (64)	5.86 (57)	
		7日	12.43 (51)	12.31 (52)	13.14 (47)	12.13 (60)	12.32 (54)	
		14日	23.67 (39)	22.12 (46)	23.71 (39)	23.53 (35)	23.36 (42)	
		21日	36.40 (36)	33.68 (46)	35.97 (38)	36.75 (31)	35.63 (39)	
	雌	0日	5.63 (55)	5.56 (59)	5.60 (60)	5.55 (57)	5.60 (65)	
		7日	12.40 (52)	11.77 (58)	12.10 (58)	11.26 (55) ↓T	11.54 (60) ↓T	
		14日	24.14 (47)	21.15 (55) ↓T	22.00 (48) ↓T	22.79 (42) ↓T	22.61 (46) ↓T	
		21日	35.21 (47)	32.14 (54)	33.75 (45)	35.17 (41)	33.06 (46)	
	生存児数 (生存率)	雄 + 雌	0日	111	115	109	121	122
			7日	103 (92.79%)	110 (95.65%)	105 (96.33%)	115 (95.04%)	114 (93.44%)
			14日	86 (77.48%)	101 (87.83%)	87 (79.82%)	77 (63.64%)	88 (72.13%)
			21日	83 (74.77%)	100 (86.96%)	83 (76.15%)	72 (59.50%)	85 (69.67%)
新生児動物	臓器重量 (g) / 相対重量 (g / 100g 体重)	雄	動物数	36	45	38	31	39
			体重	49.73	45.55	50.09	49.65	46.13
			心臓	0.28/0.56	0.26/0.56	0.26/0.52	0.27/0.55	0.24↓T/0.51↓T
			脾臓	0.15/0.31	0.16/0.34	0.17/0.33	0.17/0.34	0.14/0.29
		雌	動物数	47	54	45	41	46
			体重	46.79	42.16	46.18	44.66	42.30 ↓T
			心臓	0.26/0.56	0.23/0.55	0.26/0.56	0.25/0.57	0.24/0.58
			脾臓	0.15/0.33	0.14/0.33	0.15/0.33	0.15/0.34	0.13 ↓T/0.32
	内臓奇形	検査腹数	9	9	9	9	10	
			検査新生児数	83	99	83	73	85
			嚢胞拡張性腎盂拡張 (片側)	0	0	0	0	1
		骨格変異遅延	検査腹数	9	9	9	9	10
			検査新生児数	83	99	83	73	85
			頭部嚢胞	5	5	2	2	2
			副胸骨癒合	2	4	1	6	0
			胸骨癒合	0	2	2	6	8
		0	1	0	0	0		

統計学的解析: William's T-test および Fischer 検定、↓: p < 0.05; ↓↓: p < 0.01

以上の結果より、本検体を飼料混入により妊娠ラットに投与した場合、100 ppm 以上で親動物での摂餌量低下、新生児の体重増加抑制や臓器重量への影響など軽度の発育抑制が認められたが、用量依存性や臓器重量対体重値・絶対値の連動が認められないなど、検体投与の影響とは考えられなかった。したがって、無毒性量は 3000 ppm 以上と判断される。3000 ppm であっても催奇形性は認められない。