

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

4) マウスを用いた混餌投与による 80 週間発がん性試験 (資料 No.T-22)

試験機関：Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年：1997 年 (CTL/P/5281) [GLP 対応]

検体の純度： %

試験動物：C57BL/10J_{CD-1} マウス、6~7 週齢、1 群雌雄各 55 匹

開始時体重 雄：16.0~25.2g、雌：15.5~19.9g

試験構成を下表に示した。

投与量 (ppm)	0	10	350	3500/7000 ^a
雄	55	55	55	55
雌	55	55	55	55

a：試験開始後 7 週間は 3500ppm を投与し、その後 7000ppm に増量して試験終了まで投与した。

投与期間：1995 年 2 月 14 日~1996 年 9 月 6 日

投与方法：検体を飼料中に 0、10、350 および 3500/7000 ppm の濃度で混和し、80 週間にわたって摂食させた。最高投与群は 3500ppm で試験を開始したが、7 週間投与しても体重あるいは摂餌量に影響が認められなかったため、マウスを用いた発がん性試験における限界用量である 7000ppm に増量し、80 週まで投与した。

試験項目および結果：

死亡率：全動物について生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡数を表 1 に示した。死亡率に統計学的有意差は認められなかった。

表 1. 死亡率

投与量 (ppm)	0	10	350	7000
検査動物数	55	55	55	55
雄	7 (13%)	9 (16%)	8 (15%)	8 (15%)
雌	6 (11%)	12 (22%)	6 (11%)	12 (22%)

一般状態および詳細な症状観察;全動物について一般状態および行動の変化を1日1回観察し、詳細な症状観察を毎週1回実施した。

投与に起因した症状は認められなかった。

体重変化;全動物について、投与開始前および1~12週間は毎週、その後は2週毎に体重を測定した。

雄の7000ppm群では、投与期間を通して有意な体重増加抑制がみられ、最大約9%の低下を示した。

雄の350ppm群および雌の7000ppm群でも軽度な体重増加抑制(5%以内)がみられたが、変化の程度が小さいこと、一貫した統計学的有意差がみられないことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。

350ppm群の雌および10ppm群雌雄では、投与に関連した体重変化は認められなかった。

表 2. 体重変化 (平均体重) (g)

性別	雄				雌			
	0	10	350	7000	0	10	350	7000
投与量 (ppm)								
2週	23.0	22.9 (100)	22.8 (99)	22.6** (98)	18.7	18.7 (100)	18.8 (101)	18.5 (99)
13週	28.9	28.6 (99)	28.7 (99)	28.0** (97)	24.4	24.5 (100)	24.6 (101)	24.5 (100)
27週	31.5	31.4 (100)	31.0 (98)	30.2** (96)	26.1	26.2 (100)	26.5 (102)	26.0 (100)
41週	34.0	33.8 (99)	33.0* (97)	31.7** (93)	27.6	27.5 (100)	27.8 (101)	26.9** (97)
49週	34.9	34.8 (100)	33.6** (96)	31.9** (91)	28.0	27.7 (99)	27.9 (100)	26.8** (96)
53週	34.7	34.8 (100)	33.7** (97)	32.1** (93)	28.2	28.0 (99)	28.0 (99)	27.4* (97)
57週	35.2	35.2 (100)	34.0* (97)	32.2** (91)	28.5	28.2 (99)	28.5 (100)	27.6** (97)
67週	35.1	35.3 (101)	34.4 (98)	32.4** (92)	28.9	29.0 (100)	29.1 (101)	28.1* (97)
81週	34.9	35.3 (101)	34.7 (99)	32.3** (93)	29.6	29.4 (99)	29.7 (100)	29.0 (98)

統計解析: Student's t-test, *:p<0.05 ** :p<0.01

() 内の値は併合対照群に対する変動率 (%) を示す

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

摂餌量および食餌効率；摂餌量を1～12週、その後は4週間毎に各ケージ毎に測定し、1匹あたりの摂餌量 (g/日) を算定した。また、1～13週 of 食餌効率 (飼料 100 g 当りの体重増加量) を算出した。

表 3-a に摂餌量、表 3-b に食餌効率を示した。

摂餌量については、雌雄ともいずれの投与群においても投与に関連した変動は認められなかった。

食餌効率については、7000ppm 群の雄で 1～12 週 of 食餌効率に有意な低下が認められた。

雄の 10 および 350ppm 群では食餌効率の軽度低下がみられたが、変化の程度が小さいことから毒性学的意義はないものと考えられた。

雌の食餌効率には投与の影響は認められなかった。

表 3-a 摂餌量 (g)

性別	雄				雌			
	0	10	350	7000	0	10	350	7000
1 週	4.5	4.5 (100)	4.6 (102)	4.7** (104)	4.6	4.7 (102)	4.7 (102)	4.5 (98)
12 週	4.3	4.3 (100)	4.4 (102)	4.5** (105)	4.7	4.9 (104)	4.9 (104)	4.9 (104)
52 週	4.2	4.1 (98)	4.2 (100)	4.2 (100)	4.1	4.2 (102)	4.1 (100)	4.1 (100)
80 週	3.7	3.9 (100)	3.8 (103)	3.7 (100)	3.8	4.1 (108)	4.2* (111)	4.0 (105)

統計解析：Student's t-test, *:p<0.05 **;p<0.01

() 内の値は併合対照群に対する変動率 (%) を示す

表 3-b 食餌効率(g growth/100g food)

性別	雄				雌			
	0	10	350	7000	0	10	350	7000
1-4 週	3.33	3.00* (90)	3.18 (95)	2.94** (88)	2.97	2.94 (99)	3.05 (103)	2.89 (97)
1-12 週	2.10	2.03 (97)	1.98 (94)	1.76** (84)	1.70	1.67 (98)	1.70 (100)	1.70 (100)

() 内の値は併合対照群に対する変動率 (%) を示す

統計解析：Student's t-test, *:p<0.05, **:p<0.01

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は、表 4 のとおりであった。

表 4. 検体摂取量

投与量(ppm)		10	350	7000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.4	49.7	897.7
	雌	1.8	63.5	1102.9

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

血液学的検査；試験 52 週時に生存した全動物を対象として尾静脈から採血し、末梢血塗抹標本を作製した。さらに投与終了時には生存した全動物から心臓穿刺により血液を採取し、以下の項目を測定した。

血球数測定用には EDTA を、凝固検査用には 0.11M クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として用いた。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、総白血球数、白血球分類、血小板数

表 5 に対照群と比べ有意差のみられた項目を示した。

雄の 350 および 7000ppm 群では、赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の増加がみられ、MCV は僅かに低下したが、MCH は対照群と同程度であった。

雌の 350 および 7000ppm 群では、MCH に僅かな増加が認められた。これらは、変化の程度が小さいこと、関連する病理所見がみられないことから毒性学的意義は乏しいと考えられた。

雌では白血球パラメータにおいて投与群に統計学的有意差がみられた。これはリンパ肉腫を有する対照群 2 例の高い白血球数とリンパ球数に起因する変化と考えられた (表 5-b)。

その他にも統計学的に有意な変化が認められたが、用量相関性がないこと、変化の程度が小さいことから投与に関連した変化とは考えられなかった。

表 5-a. 血液学的検査結果

性 別	雄			雌		
	10	350	7000	10	350	7000
投与量(ppm)						
赤血球数		106↑	106↑			
ヘモグロビン濃度		105↑	105↑		103↑	
ヘマトクリット値		104↑	104↑			
MCV		99↓	98↓			
MCH					102↑	101↑
MCHC	101↑					
総白血球数				49↓	55↓	57↓
リンパ球数				38↓	48↓	50↓
好酸球数				18↓	22↓	23↓
好塩基球数					6↓	7↓
LUC 数				33↓		27↓

統計解析：Student's t-test、↑↓：p<0.05、↑↑↓：p<0.01

表中の数値は併合対照群に対する変動率 (%) を示す。

LUC:分類不能な細胞

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

表 5-b. 雌の白血球数($\times 10^9/L$)

投与量(ppm)		0 全例	0 2例除外後	10	350	7000
検査動物数		47	45	42	47	41
総白血球数	平均値	6.53	3.32	3.22	3.58	3.74
	個体値範囲	1.2-112.0	1.2-18.0	1.0-14.8	1.4-11.5	1.3-18.7
	除外動物の値 a	112.0, 45.4	-	-	-	-
リンパ球数	平均値	5.20	2.28	1.99	2.49	2.58
	個体値範囲	0.75-108.4	0.75-12.84	0.71-4.6	0.73-7.39	0.66-17.1
	除外動物の値 a	108.4, 33.54	-	-	-	-
好酸球数	平均値	0.283	0.073	0.052	0.061	0.064
	個体値範囲	0.0-10.0	0.0-0.61	0.01-0.18	0.01-0.24	0.0-0.22
	除外動物の値 a	10.0, 0.0	-	-	-	-
好塩基球数	平均値	0.233	0.012	0.015	0.014	0.016
	個体値範囲	0.0-10.0	0.0-0.09	0.0-0.25	0.0-0.11	0.0-0.22
	除外動物の値 a	10.0, 0.44	-	-	-	-
LUC 数	平均値	0.376	0.167	0.123	0.124	0.103
	個体値範囲	0.01-8.04	0.01-1.92	0.01-1.62	0.01-0.57	0.02-0.46
	除外動物の値 a	2.1, 8.04	-	-	-	-

a: 病理組織学的にリンパ肉腫であり白血球数が顕著な高値であった2例の測定値

臓器重量；投与終了時の全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、体重比を算出した。

副腎、脳、腎臓、肝臓、精巣

表 6 に対照群と比べ統計学的に有意差のみられた項目を示した。

肝臓重量は、7000ppm 群雌雄および 350ppm 群雄で補正重量および体重比の増加がみられた。雌の肝臓重量については、対照群 1 例の実重量は組織球性肉腫の転移により高値であったことから、この高値を除くことにより 7000ppm 群の肝臓補正重量の変化が明確になり、対照群に比べて増加 (8%増 $p<0.05$) が認められた。また、実重量 (7%増) および体重比 (8%増) にも増加傾向がみられた。

腎臓重量の増加 (実重量、補正重量および体重比) が、雌の 350 および 7000ppm 群に認められた。

雌の 7000ppm 群の脳重量 (実重量、補正重量) に僅かな減少がみられたが、これは水頭症を有する対照群 2 例の脳重量が高値であったことに起因した変化と考えられた。また、雌の 350ppm 群で副腎重量に有意差がみられたが、孤立性の変化であった。従って、脳重量および副腎重量の変化は投与に関連したものではないと考えられた。

表 6. 臓器重量

性 別		雄			雌		
投与量(ppm)		10	350	7000	10	350	7000
最終体重		101	99	93	101	101	99
脳	実重量	100	100	99	100	99	98↓ (99)
	体重比 ^S	99	101	106	99	98	99
	補正重量	99	100	100	100	99	98↓ (99)
副腎	実重量	100	100	100	113	125↑	100
	体重比 ^S	93	93	114	107	121	100
	補正重量	80	100	100	113	125↑	113
腎臓	実重量	102	102	98	105	107↑	107↑
	体重比 ^S	101	103	105	102	105	108
	補正重量	100	102	102	105	107↑	110↑
肝臓	実重量	102	104	101	97	99	102 (107)
	体重比 ^S	101	105	109	96	98	104 (108)
	補正重量	101	105↑	108↑	95	98	105 (108↑)

補正重量：最終体重を共変量とした調整平均値

統計解析：Student's t-test, ↓：p<0.05, ↑：p<0.01

S：体重比統計解析実施せず

表中の数値は対照群に対する変動率（%）を示す

（ ）：脳は対照群 2 例（水頭症）、肝臓は対照群 1 例（組織球肉腫の転移）を除いて統計解析を実施した結果を示した

肉眼的病理検査；途中死亡動物および投与期間終了時の全生存動物を対象として、詳細な肉眼的病理検査を実施した。

雌雄とも検体投与に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

脾臓、骨髄（大腿骨）、頸部リンパ節、腸間膜リンパ節、大腿骨（後膝関節含む）、胸骨、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺、膵臓、肝臓、胆嚢、食道、胃、十二指腸、回腸、空腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、包皮腺、子宮（頸部を含む）、卵巣、卵管、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、胸腺、脳（大脳、小脳、脳幹）、脊髄（頸髄、胸髄、腰髄）、坐骨神経、眼、ハーダー腺、皮膚、随意筋、鼠径部乳腺（雌）および肉眼的病変部

非腫瘍性病変：

表 7 に観察された主な非腫瘍性病変を示した。

投与の影響として、胆嚢上皮好酸性変化の発現頻度に有意な増加が 7000ppm 群の雌で認められた。この変化は高齢マウスによくみられる所見であること、胆嚢にこれ以外の組織変化は認められず、肝臓にも投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

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

雄の 7000ppm 群で唾液腺の萎縮、脾臓のリンパ球増生および包皮腺の炎症の発現頻度の増加が認められた。

雌の 7000ppm 群で脾臓の単核細胞浸潤、脾臓の髄外造血亢進の発現頻度の減少がみられた。

副腎皮質へのセロイド沈着が雌雄の投与群でみられたが、発現頻度は用量依存性のない変化であった。また、程度は各投与群の雄では対照群に比べて軽度であった。その他に観察された変化は、本系統のマウスに通常観察される所見であり、それらの発現頻度、分布および組織型のいずれにも投与との関連を示唆するものはなかった。

腫瘍性病変：

表 8 に認められた腫瘍性病変を示した。

認められた良性および悪性腫瘍は、本系統のマウスに通常観察される所見であり、それらの発現頻度、分布および組織型のいずれにも投与との関連を示唆するものはなかった。

以上の結果から、本剤をマウスに 80 週間混餌投与した影響として、7000ppm 群の雄で体重増加抑制および食餌効率の低下が認められた。また、7000ppm 群では、肝臓重量の増加（雌雄）および腎臓重量の増加（雌）、胆嚢上皮の好酸性変化の発現頻度増加（雌）がみられ、雄では、唾液腺の萎縮、脾臓のリンパ球増生および包皮腺の炎症の発現頻度の増加が認められた。

腫瘍性病変に投与の影響は認められなかった。

350ppm 群では、肝臓重量（雄）および腎臓重量（雌）の増加がみられたが、関連する病理所見が認められなかったことから、350ppm 群の肝臓および腎臓重量増加の毒性学的意義は小さいと考えられた。

従って、無毒性量は雌雄とも 350 ppm（雄：49.7 mg/kg/day、雌：63.5 mg/kg/day）であると判断された*。また、最高投与量である 7000ppm を投与しても発がん性は認められなかった。

*食品安全委員会における第 45 回農薬専門調査会幹事会（2008 年 11 月 18 日）で、350ppm 以上投与群の雌で胆嚢上皮の好酸性変化が認められたことから、無毒性量は雄で 350ppm (49.7mg/kg/day)、雌で 10ppm (1.8mg/kg/day) と評価された。

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

表 7-a. 主な非腫瘍性病変 (途中死亡動物)

検査時期	性 別		雄				雌				
	投与量(ppm)		0	10	350	7000	0	10	350	7000	
	検査動物数		7	9	8	8	6	12	6	12	
途中死亡動物	唾液腺	単核細胞浸潤	1	2	4	3	0	4	2	2	
		萎縮	0	0	0	0	0	2	0	2	
	肝 臓	肝細胞壊死	0	1	1	0	0	0	0	1	
		肝細胞肥大	0	0	0	2	0	0	0	0	
		単核細胞浸潤	0	1	0	1	0	1	2	1	
	胆 嚢	上皮好酸性変化	0	0	0	1	1	0	0	0	
	腎 臓	尿細管好塩基性化	0	1	1	1	0	0	0	0	
		間質単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	0	0	
	膀 胱	単核細胞浸潤	0	1	0	0	0	1	1	2	
	脾 臓	髓外造血亢進	1	2	4	1	1	5	5	2	
		炎症	1	0	0	0	—	—	—	—	
		単核細胞浸潤	1	2	0	0	—	—	—	—	
	副 腎	被膜下紡錘細胞増生	1	3	2	2	3	7	6	10	
		皮質セロイド沈着	軽 微	1	1	2	2	1	0	0	1
			軽 度	3	3	4	3	0	1	1	0
			中程度	1	1	0	0	0	0	0	0
	坐骨神経	脱髄	1	1	2	2	0	2	2	1	

統計解析: Fisher's exact test, Mann-Whitney U-test, 有意差なし
 minimal: 軽微、slight: 軽度、moderate: 中程度

表 7-b. 主な非腫瘍性病変 (最終屠殺動物)

検査時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	10	350	7000	0	10	350	7000
	検査動物数		48	46	47	47	49	43	49	43
途中死亡動物	唾液腺	単核細胞浸潤	35	32	34	31	32	37 #	36	31
		萎縮	1	4	5	9 **	8	8	7	8
		軽 微	0	2	0	5	1	1	0	2
		軽 度	1	1	2	2	5	5	5	5
		中程度	0	1	3	2	2	2	2	1
肝 臓	肝細胞脂肪空胞化	5	2	3	1	0	0	0	0	
	肝細胞壊死	0	1	0	0	0	0	0	1	
	単核細胞浸潤	6	6	12	7	13	11	18	15	
胆 嚢	上皮好酸性変化	軽 微	4	5	4	4	6	5	16 #	21 **
		軽 度	2	1	2	0	1	3	6	9
		中程度	2	4	1	3	4	1	8	8
		重 度	0	0	1	1	1	0	2	4
重 度	0	0	0	0	0	1	0	0		
脾 臓	単核細胞浸潤	2	3	4	3	10	5	4	1 **	
腎 臓	尿細管好塩基性化	12	6	10	3 #	2	1	3	3	
	間質単核細胞浸潤	3	2	5	1	1	2	1	1	
	腎盂単核細胞浸潤	3	10 #	7	11 #	15	5 #	10	6	
膀 胱	単核細胞浸潤	3	3	8	5	19	20	29 #	21	
脾 臓	髓外造血亢進	リンパ球増生	1	2	4	8 #	5	7	5	1
		軽 微	0	0	0	1	2	2	2	0
		軽 度	1	1	3	5	3	5	3	1
		中程度	0	1	1	2	0	0	0	0

統計解析: Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01, Mann-Whitney U-test, #:p<0.05, ##:p<0.01
 minimal: 軽微、slight: 軽度、moderate: 中程度、marked: 重度

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

表 7-b. 主な非腫瘍性病変 (最終屠殺動物 : つづき)

検査時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	10	350	7000	0	10	350	7000
	検査動物数		48	46	47	47	49	43	49	43
最終屠殺動物	包皮腺	炎症	1	5	6#	8#	—	—	—	—
		軽微度	0	0	2	1				
		軽度	1	2	2	1				
		中程度	0	2	2	6				
		重度	0	1	0	0				
		単核細胞浸潤	4	3	6	7	—	—	—	—
	副 腎	被膜下紡錘細胞増生	17	23	19	21	46	42	49	41
		皮質セロイド沈着	48	44##	47##	45##	18	7#	16	2##
		軽微度	2	11	16	9	16	6	15	2
		軽度	43	30	31	35	2	1	1	0
中程度		3	3	0	1	0	0	0	0	
坐骨神経	脱髓	25	20	26	23	33	33	29	25	

統計解析 : Fisher's exact test, *;p<0.05, **;p<0.01, Mann-Whitney U-test, #;p<0.05, ##;p<0.01
 minimal : 軽微、slight : 軽度、moderate : 中程度、marked : 重度

表 7-c. 主な非腫瘍性病変 (全動物)

検査時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	10	350	7000	0	10	350	7000
	検査動物数		55	55	55	55	55	55	55	55
全動物	唾液腺	単核細胞浸潤	36	34	38	34	32	41	38	33
		萎縮	1	4	5	9##	8	10	7	10
		軽微度	0	2	0	5	1	1	0	2
		軽度	1	1	2	2	5	6	5	7
		中程度	0	1	3	2	2	3	2	1
	肝 臓	肝細胞脂肪空胞化	5	2	3	1	0	0	0	0
		肝細胞壊死	0	2	1	0	0	0	0	1
		肝細胞肥大	0	0	0	2	0	0	0	0
		単核細胞浸潤	6	7	12	8	13	12	20	16
	胆 嚢	上皮好酸性変化	4	5	4	5	7	5	16	21##
軽微度		2	1	2	0	1	3	6	9	
軽度		2	4	1	4	5	1	8	8	
中程度		0	0	1	1	1	0	2	4	
	重度	0	0	0	0	0	1	0	0	
脾 臓	単核細胞浸潤	2	3	4	3	10	5	4	1##	
腎 臓	尿管好塩基性化	12	7	11	4	2	1	3	3	
	間質単核細胞浸潤	3	2	5	1	1	3	1	1	
	腎盂単核細胞浸潤	3	10	7	11#	15	5#	10	6	
膀 胱	単核細胞浸潤	3	4	8	5	19	21	30#	23	
脾 臓	髓外造血亢進	4	3	4	2	14	15	13	5#	
	リンパ球増生	1	2	4	8#	5	7	5	1	
	軽微度	0	0	0	1	2	2	2	0	
	軽度	1	1	3	5	3	5	3	1	
	中程度	0	1	1	2	0	0	0	0	
包皮腺	炎症	2	5	6	8#	—	—	—	—	
	軽微度	0	0	2	1					
	軽度	2	2	2	1					
	中程度	0	2	2	6					
	重度	0	1	0	0					
	単核細胞浸潤	5	5	6	7	—	—	—	—	
副 腎	被膜下紡錘細胞増生	18	26	21	23	49	49	55*	51	
	皮質セロイド沈着	53	49#	53##	50##	19	8#	17	3##	
	軽微度	3	12	18	11	17	6	15	3	
	軽度	46	33	35	38	2	2	2	0	
	中程度	4	4	0	1	0	0	0	0	
坐骨神経	脱髓	26	21	28	25	33	35	31	26	

統計解析 : Fisher's exact test, *;p<0.05, **;p<0.01, Mann-Whitney U-test, #;p<0.05, ##;p<0.01
 minimal : 軽微、slight : 軽度、moderate : 中程度、marked : 重度

表 8-a. 腫瘍性病変

検査 時期	性 別	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		0	10	350	7000	0	10	350	7000
	検査動物数	7	9	8	8	6	12	6	12
途 中 死 亡 動 物	血管系組織：血管肉腫 (M)	1	0	2	0	0	0	1	0
	子宮：血管腫 (B)	—	—	—	—	0	0	0	1
	脳：悪性髄膜腫 (M)	0	0	0	1	0	1	0	0
	耳／ジンバル腺：扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	ハーダー腺：腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮下組織：線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	リンパ網内系：リンパ肉腫 (M)	2	6	3	0	4	3	3	6
	組織球形肉腫 (M)	0	1	2	2	1	3	3	0

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍、Fisher's exact test で有意差なし。

表 8-b. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		0	10	350	7000	0	10	350	7000
	検査動物数	48	46	47	47	49	43	49	43
最 終 屠 殺 動 物	肺：腺腫 (B)	2	0	3	1	2	0	1	0
	腺癌 (M)	1	1	0	1	0	0	0	0
	唾液腺：血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	十二指腸：腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓：肝細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	胆嚢：乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	血管系組織：血管肉腫 (M)	0	0	1	3	0	1	0	2
	精巣：良性ライディヒ細胞腫 (B)	1	2	2	0	—	—	—	—
	卵巣：腺癌 (M)	—	—	—	—	1	0	0	0
	良性顆粒膜／莢膜細胞腫 (B)	—	—	—	—	1	0	0	0
	嚢胞腺腫 (B)	—	—	—	—	1	0	0	0
	子宮：血管腫 (B)	—	—	—	—	0	0	1	0
	下垂体：腺腫 (B)	0	0	0	0	2	3	2	3
	甲状腺：濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1
	上皮小体：腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	ハーダー腺：腺腫 (B)	1	0	1	1	1	1	0	0
	骨 (大腿骨膝蓋関節)：骨肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	頭蓋：悪性髄膜腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮下組織：血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	2	0
	原発組織不明：骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
リンパ網内系：リンパ肉腫 (M)	12	12	10	13	16	17	7	13	
	組織球形肉腫 (M)	3	2	2	0	3	4	5	6

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍、Fisher's exact test で有意差なし。

(12) 繁殖毒性および催奇形性

1) 繁殖毒性

ラットを用いた混餌投与による多世代繁殖毒性試験 (資料 No. T-23)

試験機関: Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年: 1997年 (a) (CTL/P/S147) [GLP 対応]

2000年 () [非 GLP]

検体の純度: %

試験動物: Wistar 系ラット (Alpk:AP₁SD)

1 群雄 26 匹、雌 26 匹、投与開始時約 4 週齢

投与期間: F0 世代; 雄: 約 16 週間 (交配前 10 週間、交配中 3 週間、交配後約 3 週間)
雌: 約 17 週間 (交配前 10 週間、妊娠期間中 3 週間、哺育期間中約 4 週間)
F1 世代; 雄: 約 16 週間 (交配前 10 週間、交配中 3 週間、交配後約 3 週間)
雌: 約 17 週間 (交配前 10 週間、妊娠期間中 3 週間、哺育期間中約 4 週間)
F2 世代・投与継続群; 雄: 約 25 週間 (交配前 18 週間、交配中 3 週間、
交配後約 4 週間)
雌: 約 19 週間 (交配前 18 週間、妊娠期間中 3 週間、哺育期間中 4 週間)
F2 世代・回復試験群; 雄: 14 週間 (交配前 14 週間)
雌: 14 週間 (交配前 14 週間)
F3 世代・投与継続群; 雄: 約 3 週間 (離乳後 3 週間)
雌: 約 3 週間 (離乳後 3 週間)
(1995 年 6 月 13 日～1996 年 9 月 19 日)

投与方法: 飼料中濃度、0、2.5、10、100 および 2500 ppm で自由に摂食させた。F2 世代は 14 週間投与後、各投与群をそれぞれ 2 群に分け、投与を継続した投与継続群と、対照飼料を与え投与を中止した回復試験群を設定した。また、それぞれの児動物も同様の投与条件とした。

交配・調整・選抜・および観察・検査項目；概要を表9にまとめた。

一般状態および死亡率；全動物の全検査期間に一般状態および生死を毎日観察した。

体重；雄は、交配前および交配期間中は毎週、交配期間後は2週間に1回測定した。

雌は、交配前および交配期間中は毎週、妊娠期間中は妊娠1、8、15および22日、哺育期間中は分娩後1、5、8、11、15、22および29日に測定した。

摂餌量；雄は、屠殺時まで毎週測定した（同居期間は除く）。

雌は、妊娠・哺育期間中についても毎週測定した。

食餌効率；体重および摂餌量から、体重増加量100g当たりの食餌効率を算出した。

検体摂取量；体重、摂餌量および飼料中の検体濃度から、1日当たりの平均検体摂取量を算出した。

交配および妊娠の確認；同一投与群の雌雄を1対1で同居させ、翌朝、膈垢中の精子の有無により交尾を確認し、交尾が確認された日を妊娠1日とした。雌雄の同居期間は最長21日間とした。F1世代動物の交配は兄妹交配を避けて組み合わせた。生児を出産したことにより交配成功とみなした。

眼科学的検査；F0世代動物は剖検前、F1世代動物は、親動物として選択後約1週間および剖検前の2回、並びにF2世代動物は、親動物として選択後約1週間、14週間の投与後および剖検前の3回、各群10匹の動物について検眼鏡を用いて眼科学的検査を実施した。また、F3世代児動物については、十分な同腹児がいる腹から雌雄各1匹を選択して実施した。

妊娠、出産および哺育；分娩日を分娩1日とし、同様に生後1日とした。分娩1日に各腹の児動物について出産児数、生存児数、死産児数および性別を調査した。また、生存児の外表検査および体重測定をおこなった。

児動物の生存児数および一般状態の観察を毎日実施し、児動物体重を生後1、5、8、11、16、22および29日に測定した。

交配、妊娠、出産および哺育期間中の観察に基づき、以下の指標を算出した。

・交尾までに要した日数（日）

・妊娠日数（日）

・交配の成功は少なくとも1匹の生存児の出産を確認すること

交配成功率（%）＝（生児出産雌動物数／同居雌動物数）×100

・生存率（%）＝〔生存児数／（生存児数＋死亡児数）〕×100

・生後22日生存率（%）

＝（生後22日目の生存児数／出産時生存児数）×100

児動物の性成熟；F2 世代の動物について生後 29 日以降毎日 1 回、雄動物は陰茎亀頭包皮分離の有無を、雌動物は膣開口の有無をそれぞれ観察した。また、生後 37 日から F3 世代雄動物の各腹 2 匹について包皮分離の有無を観察した。

臓器重量；親動物：F0 および F1 世代動物は、肝臓、腎臓、胸腺、精巣および精巣上体の重量を測定した。F2 世代の動物は、肝臓および腎臓の重量を測定した。

児動物：生後 29 日齢の F1 および F2 世代の動物各群雌雄 10 匹について肝臓、腎臓、精巣および精巣上体の重量を測定した。

肉眼的病理検査；F0、F1 および F2 世代の全ての親動物について、肉眼的病理検査を実施した。児動物については、生後 18 日齢以上の途中死亡児を含む全ての動物について検査した。

病理組織学的検査；親動物：F0 および F1 世代で、対照群および 2500ppm 群の全動物は、眼、膣、子宮（頸部を含む）、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、下垂体、肝臓、腎臓および肉眼的病変部について、2.5、10 および 100ppm 群の全動物は眼および腎臓について、病理組織学的検査を実施した。さらに 2.5、10 および 100ppm 群の F0 および F1 世代の妊娠しなかった雌の生殖器、F2 世代は腎臓のみ病理組織学的検査を実施した。

児動物：F1A および F2A 児動物では、対照群および 2500ppm 群の動物の、眼、膣、子宮（頸部を含む）、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、下垂体、肝臓および肉眼的病変部について、また、2.5、10 および 100 ppm 群では同世代の同数の児動物で眼について病理組織学的検査を実施した。腎臓については F1、F2 および F3 世代の児動物全例で病理組織学的検査を行った。

また、肉眼的病変部に関しては全例について検査を行った。

親動物および児動物の腎臓については、倍率×2 のレンズを用いて HE 染色標本を検査し水腎症を評価した。

結 果：

親 動 物；結果の概要を表 10 にまとめた。

死亡率；各世代とも数例の死亡あるいは人道的に屠殺した動物が認められたが、対照群でも死亡が認められ、かつ死亡動物数は用量相関性が認められないため、いずれも投与による死亡とは考えられなかった。

一般状態；表 1 に眼球混濁が認められた動物数を示した。

眼球混濁が、雄ではいずれの世代とも 100ppm 以上の投与、雌では F0 世代では 2500ppm 投与群、F1 および F2 世代で 100ppm 以上の投与群、F2 世代回復群では 2500ppm 投与群で発現頻度が有意に増加し、投与の影響と考えられた。

雄では F0 世代の 2.5ppm 投与群および F1 世代の 10ppm 投与群で各 1 例に眼球混濁が発現したが、本ラット自然発生の範囲内であることから偶発的な変化とみなした。

表 1. 一般状態の観察結果（眼球混濁の発生動物数）

世 代	性 別	雄					雌					
		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100	2500
F0 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	眼球混濁	0	1	0	9**	16**	0	0	0	0	0	8**
F1 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	眼球混濁	0	0	1	26**	25**	0	0	0	13**	26**	
F2 世代 (交配前 14 週間)	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	眼球混濁	0	0	1	21**	26**	0	0	0	11**	24**	
F2 世代 (継続投与群)	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	眼球混濁	0	0	0	10**	12**	0	0	0	5*	10**	
F2 世代 (回復試験群)	検査動物数	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	眼球混濁	0	0	0	9**	14**	0	0	0	1	10**	

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01 (申請者が実施)

体重変化；F0 世代では、2500ppm 群雌雄で交配前期間の中期から体重が低値を示し、体重増加量も対照群との比較で低値であった。また、2500ppm 群雌の妊娠および哺育期間中の体重は低値のままであったが、体重増加量は対照群と等しかった。100ppm 群雌雄でも交配前期間の中期から体重および増加量が低値傾向を示し、また、雌の哺育期間中の体重は低値を示した。

F1 世代では、投与開始時から 100 および 2500ppm 群雄で体重と増加量が低値を示し、交配前期間を通じて認められた。雌では 100 および 2500ppm 群で投与開始初期に体重と増加量が低値を示したが、交配前期間中に回復した。また、哺育期間中の体重は低値を示した。2.5 あるいは 10ppm 群でも一過性に体重の低値が認められたが、偶発的であると考えられる。

F2 世代では、投与開始時から 100 および 2500ppm 群雄で体重および増加量が低値を示し、

交配前期間を通じて認められた。雌では、いずれの投与群、あるいはいずれの期間でも体重に影響は認められなかった。F2 世代における投与継続群と回復試験群の間では体重の差は認められなかった。

摂餌量 ; F0 世代では、交配前期間の摂餌量は 2500ppm 群雌では対照群より低値を示した。また、10ppm および 100ppm 群雄において、軽度ではあるが摂餌量の増加が散見された。哺育期間中の摂餌量は 100 および 2500ppm 群で低値を示した。

F1 世代では、100 および 2500ppm 群雌において、対照群と比較して摂餌量の低下が認められた。雌では哺育期間中の摂餌量が全投与群で低値を示した。

F1 世代の雌では 2.5 および 10ppm 群の哺育期の摂餌量が低値であったが、F0 および F2 世代の 2.5 および 10ppm 群では哺育期の摂餌量に影響がなかったことから、F1 世代の 2.5 および 10ppm 群における哺育期の摂餌量低下は偶発的な変化と判断した。

F2 世代では、交配前期間では雌雄ともに摂餌量には変化は認められなかった。哺育期間中の摂餌量は 100ppm 群では哺育初期に、2500ppm 群（投与継続群）では哺育期間をとおして摂餌量が低値を示した。

食餌効率 ; F0 世代では、雄では 10ppm 以上の投与群、雌では 100ppm 以上の投与群で食餌効率に有意な低下がみられた。

F1 世代の雄では 100ppm 以上の投与群、F2 世代の雄では 10ppm 以上の投与群で食餌効率に有意な低下がみられた。

F1 および F2 世代の雌では、対照群と投与群の食餌効率は同等であり、影響はなかった。

検体摂取量 ; F0 および F1 世代について、体重、摂餌量および飼料中の検体濃度から算出した 1 日当たりの平均検体摂取量 (mg/kg/day) を表 2 に示した。

表 2. 平均検体摂取量 (mg/kg/day)

投与量 (ppm)		2.5	10	100	2500
F0 世代(交配前期)	雄	0.3	1.1	11.6	278.1
	雌	0.3	1.2	12.4	306.8
F0 世代・妊娠期	雌	0.2	0.9	9.4	235.9
F0 世代・哺育期	雌	0.6	2.3	21.7	476.4
F0 世代・雌動物平均値		0.4	1.5	14.5	339.7
F1 世代(交配前期)	雄	0.3	1.1	11.7	297.2
	雌	0.3	1.2	12.3	316.0
F1 世代・妊娠期	雌	0.2	0.9	9.0	237.3
F1 世代・哺育期	雌	0.5	2.0	19.9	423.3
F1 世代・雌動物平均値		0.3	1.4	13.7	325.5

繁殖性に関する指標；いずれの世代でも、交尾あるいは分娩に関する指標に投与の影響は認められなかった。

全児死亡母動物数が F1 世代の 2500ppm 群で増加し、これは投与の影響と考えられた。

妊娠日数の延長が F1 世代の 100 および 2500ppm 群にみられたが、分娩に異常がなかったこと、F2 世代の 100 および 2500ppm 群の妊娠日数は対照群と同等であったことから、偶発的変化と判断した。

F0 世代の 2.5ppm 群および F2 世代の 10ppm 群では、対照群との比較で妊娠日数の短縮がみられたが、ともにこれ以上の投与群で妊娠日数に影響がなかったこと、分娩に異常がなかったことから、F0 世代と F2 世代にみられた変化は投与に関連しないものと判断した。

眼科学的検査；表 3 に角膜混濁および角膜不透明、血管新生、並びに回復所見である癒痕化した血管に関する群別眼球発生数を示した。

角膜混濁あるいは不透明を呈した眼球数の有意な増加が、いずれの世代の雌雄とも 100ppm 以上の投与群で認められ、投与の影響と考えられた。また、血管新生がみられた眼球数の有意な増加が、雌雄のいずれの世代でも 100ppm 以上の投与群で認められた。

F2 世代の回復試験群の検査では、これらの角膜所見は高用量投与群でもほとんど認められず、癒痕化した血管のみを示す眼球数が増加した。基礎飼料に戻すことで発現した角膜所見は回復性であることが示された。

2.5ppm 群および 10ppm 群で角膜混濁あるいは角膜不透明が発現したが、本ラット系統の自然発生頻度と同程度であることから偶発的な変化とみなした。

表 3. 眼科学的検査所見 (所見発現眼球数)

世代 群 検査時期	性別	雄					雌				
		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100
F0 世代 剖検前	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	0	0	1	0	0	0	9**	7*
	角膜不透明	1	1	0	7*	9**	0	0	0	0	12**
	血管新生	0	0	0	6*	8**	0	0	0	6*	16**
F1 世代 投与 2 週	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	1	5	5	0	0	0	0	0
	角膜不透明	0	0	0	13**	15**	1	0	0	11**	19**
	血管新生	0	0	0	15**	14**	0	0	0	11**	18**
F1 世代 剖検前	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	2	0	1	0	0	0	1	0
	角膜不透明	1	0	2	19**	19**	0	0	0	15**	20**
	血管新生	0	0	2	19**	19**	0	0	0	12**	20**
F2 世代 投与 2 週	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	0	8**	9**	0	0	0	7*	3
	角膜不透明	0	0	0	10**	11**	1	0	0	8*	17**
	血管新生	0	0	0	11**	16**	0	0	0	6*	18**
F2 世代 継続投与群 投与 13 週 ^a	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	1	1	5	0	0	0	6*	8**
	角膜不透明	0	0	0	15**	13**	0	0	0	0	10**
	血管新生	0	0	0	15**	19**	0	0	0	0	17**
	癒痕化した血管	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0
F2 世代 回復試験群 投与 13 週 ^a	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	0	5	8*	1	0	0	5	2**
	角膜不透明	0	0	0	13**	11**	2	0	0	0	11**
	血管新生	0	0	0	18**	19**	1	0	0	2	12**
	癒痕化した血管	0	0	0	0	0	0	0	0	2	7
F2 世代 継続投与群 投与 18 週	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	0	1	0	0	0	0	4	1
	角膜不透明	0	0	0	15**	20**	0	0	0	1	11**
	血管新生	0	0	0	13**	18**	0	0	0	1	9*
	癒痕化した血管	0	0	1	3	2	0	0	0	2	8**
F2 世代 回復試験群 投与 18 週 (回復 4 週)	検査眼球数	20	20	20	20	20	18	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	角膜不透明	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0
	血管新生	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	癒痕化した血管	0	0	0	17**	15**	0	0	0	0	13**
F2 世代 継続投与群 投与 27・28 週	検査眼球数	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
	角膜不透明	0	0	0	15**	18**	0	0	0	5	18**
	血管新生	0	0	0	13**	17**	0	0	0	2	12**
	癒痕化した血管	0	0	0	2	2	0	0	0	3	4
F2 世代 回復試験群 投与 27・28 週 (回復 14 週)	検査眼球数	18	20	18	20	20	18	20	20	20	20
	角膜混濁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	角膜不透明	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	血管新生	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	癒痕化した血管	0	0	0	15**	14**	0	0	0	0	15**

a: 回復期間開始前

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01

臓器重量；腎臓重量（実重量、体重比、補正重量）は、雄ではいずれの世代においても10、100および2500ppm群で対照群と比較して有意に増加した。また、雌ではF0世代（補正重量）およびF2世代回復試験群（実重量）の2500ppm群で対照群と比べて増加した。腎臓重量の増加は投与の影響と考えられた。

肝臓重量は、雄ではF0世代の全投与群（実重量、体重比、補正重量）、F1世代の10ppm以上の投与群（体重比、補正重量）、F2世代では投与継続群の全投与群（体重比、補正重量）、回復試験群の2500ppm群（補正重量）、雌ではF0世代の10ppm以上の投与群で実重量と体重比、100ppm以上の投与群で補正重量が増加した。

F1世代の雌では100ppm群で、F2世代回復試験群の雄では10ppm群で肝臓重量（実重量、体重比、補正重量）が増加したが、F1世代の雌では2500ppm群に、F2世代回復試験群の雄では100ppm群で影響がみられていないことから、これらの変化は偶発的であり、投与の影響ではないと考えられた。

精巣重量は、F0世代の10ppm以上の投与群で有意な増加がみられたが、他の世代では同様の傾向は認められなかったこと、病理組織学的所見に影響がなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

精巣上体重量（実重量、補正重量）は、F1世代の100および2500ppm群で低下した。これは雄の100および2500ppm群でみられた体重増加抑制に起因する変化と考えられた。

肉眼的病理検査；表 4-1 に眼球混濁、表 4-2 に腎盂拡張の発生動物数を示した。

眼球混濁（眼球の曇りを含む）がみられた動物数の増加が、雄ではF0およびF1世代、並びにF2世代投与継続群の100ppm以上の投与群、雌ではF0およびF1世代とF2世代投与継続群の2500ppm群に認められ、これらは投与の影響と考えられた。

また、F2世代回復試験群でも2500ppm群の雌雄で眼球混濁（眼球の曇りを含む）が観察されたが、発現動物数は少なく回復性がみられた。

腎盂拡張が、F1世代およびF2世代では雌雄とも2500ppm投与群で対照群と比較して有意に高い発生がみられ、投与の影響と考えられた。雄ではF1世代の10および100ppm投与群で有意な差がみられたが、F2世代の同じ投与量で同様の影響がみられていないことから偶発的な変化とみなした。

その他には、投与に起因した変化は認められなかった。

表 4-1. 親動物における眼球混濁の発現動物数

世代群	性別	雄					雌					
		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100	2500
F0 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	眼球混濁	0	0	0	5*	14**	0	0	0	0	0	2
F1 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	眼球混濁	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	3
	眼球曇り	0	0	1	24**	24**	0	0	0	2	16**	
F2 世代 継続投与群	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	眼球曇り	0	0	0	7**	8**	0	0	0	0	0	7**
F2 世代 回復試験群	検査動物数	13	14	13	14	14	13	14	14	14	14	14
	眼球混濁	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	眼球曇り	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	2

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01 (申請者が実施)

表 4-2 親動物における腎盂拡張の発生数

世代群	性別	雄					雌					
		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100	2500
F0 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	腎盂拡張	3	3	0	1	3	0	1	0	0	0	0
F1 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	腎盂拡張	9	10	18*	19*	21**	4	0	4	8	12*	
F2 世代 継続投与群	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	腎盂拡張	6	6	8	10	12*	1	1	0	3	5	
F2 世代 回復試験群	検査動物数	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	腎盂拡張	5	8	10	9	14**	0	1	3	3	7**	

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01 (申請者が実施)

病理組織学的検査；表 5-1 に眼所見、表 5-2 に水腎症の発生数を示す。

角膜血管新生を伴う角膜炎（軽微～顕著）の発生は、F0 および F1 世代の 100ppm 以上の投与群で増加した。F1 世代では 10ppm 群の雄でも角膜炎および角膜血管新生の発生が認められた。

F1 世代では、網膜剥離を伴うブドウ膜炎および白内障変化が 100ppm 以上の投与群で認められたが、これらの変化は角膜炎による二次的変化と考えられた。

表 5-1 親動物における眼の所見

世代群	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100	2500
F0 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	角膜炎	0	0	0	11**	18**	0	0	0	8**	25**
	血管新生	0	0	0	7*	16**	0	0	0	8**	21**
F1 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	角膜炎	0	0	5*	26**	26**	0	0	0	23**	26**
	血管新生	0	0	5*	26**	26**	0	0	0	12**	26**

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01

眼の病理組織学的検査は F2 世代については実施しなかった。

水腎症の発生は、F1 および F2 世代の 2500ppm 投与群の雌雄、F1 世代の 100ppm 投与群の雌で、対照群と比較して有意に高い発生がみられ、投与の影響と考えられた。

雄では、F1 および F2 世代の 10 および 100ppm 投与群、F2 世代の 2.5ppm 投与群で水腎症の発生が高かったものの、対照群との比較で統計学的有意差がみられなかったことから投与の影響ではないと考えられた。

F1 世代では腎盂炎（中等度）や乳頭炎（軽度）は F1 世代の 100ppm 群雌 2 例、2500ppm 群雌 1 例に認められた。

その他には、投与に起因したと考えられる所見は認められなかった。

表 5-2 親動物における水腎症の発生数

世代群	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100	2500
F0 世代	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	水腎症発生数 (発生率%)	6 (23)	4 (15)	4 (15)	5 (19)	7 (27)	4 (15)	1 (4)	0	0	1 (4)
F1 世代	検査動物数	26	26	26	25	25	25	26	26	26	25
	水腎症発生数 (発生率%)	16 (62)	17 (65)	23 (88)	22 (88)	24** (96)	8 (32)	12 (46)	13 (50)	23** (88)	17* (68)
F2 世代 継続投与群	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	水腎症発生数 (発生率%)	6 (50)	9 (75)	11 (92)	11 (92)	12* (100)	3 (25)	3 (25)	1 (8)	5 (42)	7 (58)
F2 世代 回復試験群	検査動物数	13	14	13	14	14	13	14	14	14	14
	水腎症発生数 (発生率%)	7 (54)	10 (71)	10 (77)	10 (71)	14** (100)	2 (15)	3 (21)	3 (21)	5 (36)	8* (57)

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01

児動物； 結果の概要を表 11 に示す。

一般状態および生存率；眼球混濁が F1、F2 および F3 世代の 100 および 2500ppm 群で発現した。

また、F1 世代の 2500ppm、F2 世代の 100ppm および 2500ppm 群で眼脂の発現が増加した。

出生時生存率は、F2 世代および F3 世代投与継続群において、2500ppm 投与群で有意な低値を示した。また、生後 22 日の生存率は、F1 および F2 世代、ならびに F3 世代の投与継続群において 2500ppm 投与群で有意な低値を示した。

母動物毎の生存児数は、F1 世代では 2500ppm 群、F2 世代では 10ppm 以上の投与群、F3 世代では 2500ppm 群で有意な低下がみられた。

体重変化； F1 世代では、雌雄ともに 100 および 2500ppm 群で生後 22 および 29 日の補正体重（生後 1 日の体重を共変量として補正した）が低値を示した。

F2 および F3 世代では児の体重に影響は認められなかった。

児動物の性成熟；包皮分離日齢を表 5 に示す。

雌動物の膣開口日齢については、投与の影響は全く認められなかった。

雄動物の包皮分離日齢については、F1 世代では影響は認められなかった。

F2 世代雄動物では、全投与群の包皮分離が認められた日齢は、対照群と比較して有意に遅延した。F3 世代投与継続群の雄動物では、10ppm 群のみ、対照群と比較して遅延が認められた。F2 世代で認められた全投与群の包皮分離日齢の遅延は、F3 世代で再現性が認められなかったことから、投与による影響ではないと考えられる。

表 5 平均包皮分離日齢

投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500
F2 世代	46.2	47.5*	47.7**	49.0**	49.1**
F3 世代 投与継続群	44.7	44.7	46.9**	45.8	45.5

Student's t-test, * : p<0.05, ** : p<0.01.

臓器重量；腎臓重量（実重量、体重比、補正重量）は、F2 世代の 2500ppm 投与群雌雄で増加し、投与の影響と考えられた。

F1 世代の児動物の腎臓重量に影響は認められなかった。

雄ではいずれの投与群も肝臓重量に変化は認められなかった。

精巣上体重量は、F1 世代の全投与群では対照群より低値であったが、F2 世代では同様の変化が認められなかったことから、投与の影響ではないと考えられる。

精巣重量は、いずれの投与群でも影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；表 6-1 に眼球混濁、表 6-2 に腎盂拡張の発生数を示した。

眼球混濁が F1A 世代では 2500ppm 投与群の雄児動物と雌児動物、F2A 世代の 100 および 2500ppm 群の雄児動物および雌児動物に高頻度に認められた。

腎盂拡張は、F1 および F2 世代では、雄児動物の 10ppm 以上の投与群、雌児動物の 100 および 2500ppm 群で発生頻度が増加した。

これ以外に、投与に関連した変化はいずれの世代でも認められなかった。

表 6-1 児動物における眼球混濁の発生数

世代群	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100	2500
F1A 世代	眼瞼閉鎖	0/44	0/43	0/39	0/38	18**/54	1/49	0/46	0/42	0/43	7**/42
	眼球混濁	0/44	0/43	0/39	0/38	0/54	0/49	0/46	0/42	0/43	1/42
	眼球曇り	0/44	0/43	0/39	0/38	4/54	0/49	0/46	0/42	0/43	3/42
F2A 世代	眼球混濁	0/45	0/35	0/39	0/50	1/13	0/45	0/35	0/37	0/37	3**/10
	眼球曇り	0/45	0/35	0/39	13/50	8/13	0/45	0/35	0/37	10**/37	4**/10

Fisher's exact test, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

表 6-2 児動物における腎盂拡張の発生数

世代群	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100	2500
F1A 世代	腎盂拡張	7/44	13/43	12/39	19**/38	19*/54	5/49	11/46	6/42	18**/43	9/42
F2A 世代	腎盂拡張	11/45	7/35	12/39	21/50	8**/13	4/45	9*/35	4/37	7/37	7**/10
F3A 世代 継続投与群	両側腎盂拡張	8/50	5/41	5/28	4/33	5/17	6/57	26/86	11/83	17/73	5/59
	片側腎盂拡張	0/50	2/41	1/28	5/33	3/17	1/57	3/86	5/83	9/73	5/59
F3A 世代 回復試験群	両側腎盂拡張	13/50	13/41	9/28	9/33	3/17	5/57	8/86	10/83	7/73	9/59
	片側腎盂拡張	0/50	0/41	0/28	0/33	0/17	0/57	1/86	0/83	1/73	0/59

Fisher's exact test, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

病理組織学的検査；眼の所見数を表 7-1 に、両側性水腎症の発生数を表 7-2 に示した。

児動物の眼にみられた変化（血管新生を伴う角膜炎）は、成熟ラットにみられた眼病変と同様であり、F1A および F2A の 100 および 2500ppm 群で発生数が増加し、投与の影響と考えられた。

F2A では 10ppm 群の雄 1 例にも軽度な角膜炎が認められた。

F1A では軽度の片側性白内障変化が 2500ppm 投与群雄 1 例に認められた。ブドウ膜炎

(軽微～軽度)が2500ppm投与群雌雄児の各1例、100ppm投与群雌児1例に認められた。F2Aでは、網膜剥離を伴う両側性白内障変化が2500ppm投与群雌児の1例に、ブドウ膜炎(軽微～軽度)が100ppm群の雄児3例と雌児2例、2500ppm投与群雌児の1例に認められた。

肉眼的に異常な眼が観察された児動物についての組織学的検査でも類似の所見が認められた。

水腎症の発生率は、F1世代では雄で100ppm以上の投与群、雌で100ppm投与群、F2世代では雌雄とも2500ppm投与群、F3世代では雄で2500ppm投与群、雌で100ppm以上の投与群で増加が認められ、投与の影響と考えられた。

雌のF3世代では2.5ppm投与群で統計学的有意差がみられたが、用量に依存した変化ではないことから偶発的変化とみなした。

F3世代の回復試験群における水腎症の発生は、雌雄とも対照群を含め投与群で散発的で発生数は少なく、回復性が示された。

これ以外には投与に起因したと考えられる所見は認められなかった。

表 7-1 児動物における眼所見

世代群	性別	雄					雌				
		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100
F1A 世代	検査動物数	5	5	5	5	5	6	5	5	5	5
	角膜炎	0	0	0	4*	5**	0	0	0	4*	5**
	血管新生	0	0	0	4*	4**	0	0	0	3*	5**
	ブドウ膜炎	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
	片側性白内障変化	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
F2A 世代	検査動物数	10	9	10	10	10	10	10	10	10	9
	角膜炎	0	0	1	9*	9**	0	0	0	5**	8**
	血管新生	0	0	0	2	6*	0	0	0	2	6**
	ブドウ膜炎	0	0	0	3	0	0	0	0	2	1
	網膜剥離	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	両側性白内障変化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01

表 7-2 児動物における水腎症の発生数

世代群	性別	雄					雌				
		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	0	2.5	10	100
F1A 世代	発生数/検査数	8/44	16/43	15/39	23**/38	21*/54	7/49	12/46	8/42	21**/43	11/42
	発生率 (%)	18	37	38	61	39	14	26	19	49	26
F2A 世代	発生数/検査数	13/45	12/35	14/39	23/50	11**/13	9/45	10/35	8/37	13/37	10**/10
	発生率 (%)	29	34	36	46	85	20	29	22	35	100
F3A 世代 継続投与群	発生数/検査数	13/22	9/11	6/10	11/12	8*/8	12/33	33**/48	18/33	29**/34	10**/10
	発生率 (%)	59	82	60	92	100	36	69	55	85	100
F3A 世代 回復試験群	発生数/検査数	18/28	15/30	11/18	10/21	3/9	11/24	18/38	14/50	12/39	10*/49
	発生率 (%)	64	50	61	48	33	46	47	28	31	20

Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01

以上の結果、本剤をラットに4世代にわたり混餌投与した影響として、親動物については、食餌効率の低下を伴う体重増加の抑制が2500ppm投与群の雄動物にみられ、また、体重増加抑制は100ppm投与群の雄動物にも認められた。一般状態の所見として眼球混濁が雄ではいずれの世代とも100ppm以上の投与群で、雌についてはF0世代では2500ppm投与群、F1およびF2世代では100ppm以上の投与群、F2世代回復群では2500ppm投与群で発現頻度が有意に増加した。眼科学的検査では、角膜混濁・不透明を呈した眼球数が雌雄ともいずれの世代の100ppm以上の投与群で増加し、また、血管新生がみられた眼球数も雌雄ともいずれの世代の100ppm以上の投与群で増加した。投与を中止した場合、眼病変に関して明らかな回復所見が認められた。この眼病変は、病理組織学的検査では角膜血管新生を伴う角膜炎（軽微～顕著）として認められ、F0およびF1世代の100ppm以上の投与群で増加した。F1世代では10ppm群の雄でも角膜炎および角膜血管新生の発生が認められた。

腎臓重量の増加が、雄ではいずれの世代においても10ppm以上の投与で、雌ではF0世代およびF2世代回復試験群の2500ppm群でみられた。病理組織学的所見としてF1世代以降に水腎症が発生し、F1およびF2世代の2500ppm投与群の雌雄、F1世代の100ppm投与群の雌で発生頻度が増加した。

繁殖能力に関しては、2500ppm 群で全児死亡腹数の増加がみられた。

児動物に対する影響は、眼球混濁が 100ppm 以上の投与群で認められたほか、全ての世代で出生時生存率の低下が 2500ppm 投与群で、F2 世代哺育期間中の生存児数の減少が 10ppm 以上の投与群で、ならびに哺育期間中の体重増加抑制が 100ppm 以上の投与群で認められた。

腎臓重量の増加が F2 世代の 2500ppm 群でみられ、病理組織学的所見として水腎症が F1 世代の雄で 100ppm 以上、雌で 100ppm 投与、F2 世代の雌雄で 2500ppm 投与、F3 世代の雄で 2500ppm 投与、雌で 100ppm 以上の投与群で増加した。

したがって、親動物および児動物に対する無毒性量は、雌雄とも 2.5ppm（雄；F0 世代：0.3 mg/kg/day、F1 世代：0.3 mg/kg/day、雌；F0 世代：0.3 mg/kg/day、F1 世代：0.3 mg/kg/day）と考えられた。繁殖能力に及ぼす影響に関する無毒性量は 100ppm と考えられた。

表 9 試験方法および試験項目の要約

世代	期間	作業手順	試験項目
F0(P)	育成 (10週)	1群雌雄各26匹	一般状態、死亡の有無を毎日観察 体重、摂餌量を毎週測定
	交配 (3週)	雌雄1対1で交配、膈垢中の精子の有無により交尾を確認	交配状況の観察 交尾率・妊娠率を測定
	妊娠 (3週)		体重および摂餌量を毎週測定
	出産	F1	出産児数、生存児数、死産児数、肉眼的異常、性別および体重を測定 F0雄動物、眼科学的検査、臓器重量測定、肉眼的・病理組織学的検査
	哺育 (3週)	(同腹児数の調節はせず)	哺育児の観察、生存児数 親および児動物の体重・摂餌量測定
F1	離乳 (29日)	各群雌雄各26匹を無作為に選抜し、次世代用とする。	選択されなかった児動物の肉眼的病理検査、臓器重量測定(生後29日) 親動物(F0雌)の眼科学的検査、臓器重量測定、肉眼的・病理組織学的検査
	育成 (10週)	(F0(P)世代に準じる)	眼科学的検査 (F0(P)世代に準じる)
	交配 (3週)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)世代に準じる)
	妊娠 (3週)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)世代に準じる)
	出産	F2	(F0(P)およびF1世代に準じる)
F2	哺育 (29日)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)およびF1世代に準じる)
	離乳	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)およびF1世代に準じる)
	育成 (14週)	(F0(P)世代に準じる)	性成熟の観察(包皮分離・膈開口) 眼科学的検査
	群分け (4週)	各群を投与継続群と回復試験群に分ける(以降回復試験群には投与しない)	眼科学的検査
	交配 (3週)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)世代に準じる)
F3	妊娠 (3週)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)世代に準じる)
	出産	F3	(F0(P)世代に準じる)
	哺育 (29日)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)およびF1世代に準じる)
F3	離乳	(F0(P)世代に準じる)	親動物・児動物の眼科学的検査、臓器重量測定、肉眼的病理検査
	育成		選択した雄動物の性成熟の観察(包皮分離)、臓器重量測定、肉眼的・病理組織学的検査

表 10 親動物の試験結果(1)

世代・群・所見		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500
死亡数/動物数							
F0 世代	雄		0/26	2/26	0/26	0/26	0/26
	雌		0/26	0/26	0/26	0/26	0/26
F1 世代	雄		0/26	0/26	0/26	1/26	1/26
	雌		2/26	0/26	0/26	0/26	2/26
F2 世代・投与継続群	雄		0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	雌		0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
F2 世代・回復試験群	雄		1/14	0/14	1/14	0/14	0/14
	雌		1/14	0/14	0/14	0/14	0/14
体 重 a) (変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を示した)							
F0 世代 (交配前)	雄	1 週	100	99	100	100	101
		6 週	100	100	99	98	↓ 97
		11 週	100	99	99	98	97
	雌	1 週	100	99	102	100	99
		6 週	100	101	101	99	↓ 97
		11 週	100	99	99	98	↓ 95
F0 世代 (妊娠・哺育)	妊娠	1 日	100	99	101	97	↓ 94
		8 日	100	100	100	99	99
		15 日	100	100	100	99	99
	哺育	22 日	100	100	99	99	↓ 98
		1 日	100	99	103	100	↓ 96
		8 日	100	101	100	97	↓ 97
		15 日	100	102	99	97	↓ 96
		29 日	100	100	99	98	↓ 96
		1 週	100	102	101	93	↓ 91
F1 世代 (交配前)	雄	6 週	100	98	99	↓ 94	↓ 92
		11 週	100	100	99	↓ 94	↓ 93
		1 週	100	105	104	97	94
	雌	6 週	100	100	100	102	100
11 週		100	101	100	103	102	
F1 世代 (妊娠・哺育)	妊娠	1 日	100	103	103	101	97
		8 日	100	100	100	100	100
		15 日	100	100	100	99	99
	哺育	22 日	100	99	98	99	98
		1 日	100	102	103	100	99
		8 日	100	99	99	98	98
		15 日	100	99	98	98	↓ 97
		29 日	100	98	↓ 97	98	98
		1 週	100	101	104	102	100
F2 世代・投与継続群 (交配前)	雄	6 週	100	99	101	↓ 94	↓ 92
		10 週	100	98	99	↓ 90	↓ 91
		1 週	100	107	↑ 115	99	↑ 112
雌	6 週	100	100	101	100	100	
	10 週	100	101	100	101	100	
	1 日	100	101	101	97	101	
F2 世代・投与継続群 (妊娠・哺育)	妊娠	8 日	100	99	101	101	100
		15 日	100	101	102	102	100
		22 日	100	99	100	101	99
	哺育	1 日	100	104	↑ 106	100	103
		8 日	100	98	97	97	97
		15 日	100	99	99	97	97
		29 日	100	98	101	98	99
		1 週	100	99	106	100	100
		6 週	100	100	99	96	↓ 93
F2 世代・回復試験群 (交配前)	雄	10 週	100	100	98	↓ 93	↓ 93
		1 週	100	103	102	99	99
		6 週	100	98	101	100	102
雌	10 週	100	99	101	101	↑ 105	
	1 日	100	100	102	105	106	
	8 日	100	99	99	99	99	
F2 世代・回復試験群 (妊娠・哺育)	妊娠	15 日	100	99	99	99	99
		22 日	100	97	99	98	97
		1 日	100	100	102	103	106
	哺育	8 日	100	99	99	100	99
		15 日	100	↓ 95	↓ 94	97	96
		29 日	100	100	99	100	99

a) : Student's t-test, ↑↓ : p < 0.05, ↑↓↓ : p < 0.01

表 10 親動物の試験結果(2)

世代・群・所見		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500
累積体重増加量 a) (変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した)							
Fo 世代 (交配前)	雄	1-2 週	100	103	↑105	101	100
		1-6 週	100	100	98	97	↓96
		1-11 週	100	98	98	98	96
	雌	1-2 週	100	↑105	↑↑109	104	102
		1-6 週	100	102	101	99	↓94
		1-11 週	100	98	99	97	↓↓92
F1 世代 (交配前)	雄	1-2 週	100	97	97	↓↓86	↓↓84
		1-6 週	100	99	99	↓↓90	↓↓87
		1-11 週	100	100	99	↓↓91	↓↓89
	雌	1-2 週	100	95	101	98	↓91
		1-6 週	100	100	100	102	100
		1-11 週	100	102	101	104	102
F2 世代・投与継続群 (交配前)	雄	1-2 週	100	101	104	98	↓↓91
		1-6 週	100	99	103	↓93	↓↓90
		1-10 週	100	97	99	↓↓89	↓↓89
	雌	1-2 週	100	96	96	98	93
		1-6 週	100	100	101	101	99
		1-10 週	100	100	99	101	100
F2 世代・回復試験群 (交配前)	雄	1-2 週	100	100	102	99	↓↓89
		1-6 週	100	99	100	↓94	↓↓91
		1-10 週	100	100	98	↓91	↓91
	雌	1-2 週	100	100	98	94	92
		1-6 週	100	96	101	100	104
		1-10 週	100	97	101	101	↑107

a) : Student's t-test, ↓ : p < 0.05, ↑↑↓ : p < 0.01

表 10 親動物の試験結果(3)

世代・群・所見		投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	
摂餌量 a) (変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を示した)								
F0 世代 (交配前)	雄	1 週	100	101	↑104	↑↑105	99	
		6 週	100	99	99	102	98	
		10 週	100	96	101	104	99	
	雌	1 週	100	101	↑104	102	97	
		6 週	100	97	102	101	97	
		10 週	100	98	99	98	↓95	
F0 世代 (妊娠・哺育)	妊娠	1 週	100	102	101	101	98	
		2 週	100	99	102	100	97	
		3 週	100	96	98	97	94	
	哺育	1 週	100	99	95	↓89	↓↓83	
		2 週	100	97	90	↓↓83	↓↓73	
		3 週	100	103	95	↓↓86	↓↓73	
		4 週	100	102	94	↓89	↓↓72	
F1 世代 (交配前)	雄	1 週	100	104	102	96	95	
		6 週	100	101	103	97	96	
		10 週	100	101	101	↓96	↓↓94	
	雌	1 週	100	102	104	99	95	
		6 週	100	101	104	102	104	
		10 週	100	↓94	95	96	96	
F1 世代	妊娠	1 週	100	↓94	98	95	97	
		2 週	100	100	102	98	101	
		3 週	100	99	102	99	101	
	哺育	1 週	100	100	95	93	↓84	
		2 週	100	92	87	↓87	↓↓77	
		3 週	100	88	↓85	↓↓84	↓↓73	
		4 週	100	87	↓83	↓↓80	↓↓63	
F2 世代・投与継続群 (交配前)	雄	1 週	100	105	106	101	101	
		6 週	100	96	102	96	95	
		10 週	100	95	104	95	96	
	雌	1 週	100	105	↑109	102	104	
		6 週	100	100	100	99	99	
		10 週	100	100	100	100	105	
F2 世代・投与継続群	妊娠	1 週	100	100	101	96	102	
		2 週	100	101	103	97	100	
		3 週	100	97	102	99	103	
	哺育	1 週	100	99	90	87	↓81	
		2 週	100	97	85	82	↓↓63	
		3 週	100	113	95	96	↓↓68	
		4 週	100	112	93	98	↓66	
F2 世代・回復試験群 (交配前)	雄	1 週	100	100	105	97	↓93	
		6 週	100	100	104	96	97	
		10 週	100	94	99	93	96	
	雌	1 週	100	108	102	99	98	
		6 週	100	95	100	98	102	
		10 週	100	98	100	99	100	
F2 世代・回復試験群 a)	妊娠	1 週	100	96	97	99	94	
		2 週	100	97	99	101	98	
		3 週	100	98	101	100	103	
	哺育	1 週	100	98	94	97	91	
		2 週	100	99	90	91	88	
		3 週	100	99	85	90	85	
		4 週	100	92	82	85	80	
食餌効率 a) (変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を示した)								
F0 世代	雄	1-10 週	100	99	↓96	↓↓95	98	
F1 世代		1-10 週	100	100	98	↓↓94	↓↓94	
F2 世代・投与継続群		1-9 週	100	100	↓95	↓↓91	↓↓92	
F2 世代・回復試験群		1-9 週	100	102	97	95	97	
F0 世代		雌	1-10 週	100	99	98	↓96	↓↓95
F1 世代			1-10 週	100	102	101	103	101
F2 世代・投与継続群	1-9 週		100	101	98	102	99	
F2 世代・回復試験群	1-9 週		100	99	99	102	106	

a) : Student's t-test, ↑ : p < 0.05, ↑↑ : p < 0.01

表 10 親動物の試験結果(4)

世代・群・所見			投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500
臓器重量 a,d) (変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した)								
F0 世代	雄	腎 臓	実重量	100	101	104	##↑↑110	##↑↑109
			体重比 ^a	100	100	104	112	112
			補正重量	100	100	105	##↑↑112	##↑↑112
		肝 臓	実重量	100	↑108	##↑110	##↑↑114	##↑↑117
			体重比 ^a	100	105	108	113	118
			補正重量	100	↑107	##↑↑110	##↑↑115	##↑↑119
	精 巢	実重量	100	103	↑105	105	105	
		体重比 ^a	100	103	107	107	107	
		補正重量	100	102	↑105	↑104	↑105	
	雌	腎 臓	実重量	100	102	↑105	100	102
			体重比 ^a	100	103	101	100	105
			補正重量	100	102	102	100	↑104
肝 臓		実重量	100	103	↑108	#↑108	↑108	
		体重比 ^a	100	102	105	107	112	
		補正重量	100	103	103	##↑↑109	##↑↑111	
F1 世代	雄	腎 臓	実重量	100	99	↑107	102	102
			体重比 ^a	100	102	108	112	115
			補正重量	100	101	#↑↑107	##↑↑110	##↑↑111
		肝 臓	実重量	100	100	##↑↑113	102	100
			体重比 ^a	100	103	113	113	113
			補正重量	100	102	##↑↑112	##↑↑111	##↑↑111
	精巣上体	実重量	100	105	100	↓93	#↓92	
		体重比 ^a	100	108	100	104	104	
		補正重量	100	105	101	↓93	↓92	
	雌	腎臓	実重量	100	95	104	105	100
			体重比 ^a	100	93	100	102	100
			補正重量	100	#↓93	99	103	100
肝臓		実重量	100	100	105	##↑↑118	103	
		体重比 ^a	100	98	100	116	102	
		補正重量	100	97	100	##↑↑115	104	
F2 世代 投与継続群	雄	腎 臓	実重量	100	98	↑112	101	107
			体重比 ^a	100	103	118	115	125
			補正重量	100	104	##↑↑120	##↑↑118	##↑↑126
		肝 臓	実重量	100	106	##↑↑119	105	105
			体重比 ^a	100	111	123	120	123
			補正重量	100	##↑↑114	##↑↑129	##↑↑124	##↑↑127
F2 世代 回復試験群	雄	腎 臓	実重量	100	103	↑111	108	109
			体重比 ^a	100	103	107	108	110
			補正重量	100	104	↑109	↑↑109	↑↑110
		肝 臓	実重量	100	100	110	100	104
			体重比 ^a	100	103	106	103	106
			補正重量	100	101	↑107	101	↑106
	雌	腎 臓	実重量	100	101	106	106	↑↑112
			体重比 ^a	100	101	104	101	104
			補正重量	100	102	105	102	106
		肝 臓	実重量	100	102	105	103	↑↑112
			体重比 ^a	100	103	103	97	105
			補正重量	100	103	104	98	103

臓器重量、補正重量：最終体重を共変量として補正した。

a) : Student's t-test, ↑ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01, \$: 体重比の統計解析実施せず

d) : Dunnett 検定、# : p<0.05, ## : p<0.01. (F2 世代回復試験群は Dunnett 検定を実施せず)

表 10 親動物の試験結果(5)

所見・世代・群	投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500
交尾までに要した日数 (平均値) a)	F0 世代	3.00	3.15	2.62	2.42	3.65
	F1 世代	3.20	2.76	2.48	3.80	2.73
	F2 世代・投与継続群	2.36	3.50	2.08	2.75	3.00
	F2 世代・回復試験群	2.31	2.93	1.79	3.14	2.50
平均妊娠日数 a)	F0 世代	22.7	↓ 22.4	22.6	22.7	22.9
	F1 世代	22.3	22.3	22.4	↑↑ 22.8	↑↑ 22.9
	F2 世代・投与継続群	23.0	22.9	↓ 22.5	22.9	23.1
	F2 世代・回復試験群	22.4	22.4	22.7	22.8	22.7
交配成功動物数 および率 (%) f)	F0 世代	23 (88.5)	21 (80.8)	21 (80.8)	20 (76.9)	23 (88.5)
	F1 世代	21 (84.0)	19 (73.1)	23 (88.5)	25 (96.2)	20 (76.9)
	F2 世代・投与継続群	9 (75.0)	10 (83.3)	11 (91.7)	11 (91.7)	10 (83.3)
	F2 世代・回復試験群	7 (53.8)	13 (92.9)	14 (100)	13 (92.9)	14 (92.9)
全児死亡母動物数 および割合 (%) f)	F0 世代	1 (4.3)	0 (0)	2 (9.5)	1 (5.0)	1 (4.3)
	F1 世代	1 (4.8)	0 (0)	2 (8.7)	2 (8.0)	↑ 7 (35.0)
	F2 世代・投与継続群	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	1 (9.1)	3 (30.0)
	F2 世代・回復試験群	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (7.7)	0 (0)
出産時全児生存母動物数	F0 世代	17/23	15/21	19/21	12/20	17/23
	F1 世代	17/21	14/19	18/23	20/25	12/20
	F2 世代・投与継続群	6/9	9/10	7/11	6/11	4/10
	F2 世代・回復試験群	6/7	12/13	8/14	7/13	9/13

a) : Student's t-test, f) : Fisher's exact test

↓ : p<0.05, ↑↑↑ : p<0.01

表 11 児動物の試験結果 (1)

所見	投与量 (ppm)	0	2.5	10	100	2500	
生存児数 a)	F1 世代	生後 1 日	11.9	12.4	11.0	10.3	↓↓ 9.5
		生後 5 日	11.4	11.1	10.3	9.7	↓↓ 7.8
		生後 22 日	11.4	11.1	10.3	9.7	↓↓ 7.7
	F2 世代	生後 1 日	11.7	9.8	9.6	10.2	↓↓ 8.5
		生後 5 日	10.5	8.5	8.7	↓ 8.3	↓↓ 5.8
		生後 22 日	10.3	8.4	↓ 7.9	↓ 8.2	↓↓ 5.8
	F3 世代 ・投与継続群	生後 1 日	10.6	10.8	8.9	9.1	7.0
		生後 5 日	9.7	9.9	8.0	8.5	↓ 5.9
		生後 22 日	9.6	9.8	8.0	8.5	↓ 5.9
	F3 世代 ・回復試験群	生後 1 日	11.7	10.5	9.6	9.7	↓ 8.2
		生後 5 日	11.1	9.2	8.5	8.6	↓ 7.7
		生後 22 日	11.1	9.2	8.3	8.6	↓ 7.7
出生時 生存率 f) (%)	F1 世代	97.1	96.1	99.1	94.9	96.9	
	F2 世代	97.8	97.4	97.0	98.1	↓↓ 92.2	
	F3 世代・投与継続群	94.6	98.2	92.2	89.3	↓ 83.4	
	F3 世代・回復試験群	97.8	98.2	90.0	84.5	95.4	
生後 22 日 生存率 f) (%)	F1 世代	92.4	89.9	85.2	89.7	↓ 77.6	
	F2 世代	83.9	88.7	79.7	75.8	↓↓ 48.2	
	F3 世代・投与継続群	90.3	93.0	80.2	85.4	↓ 57.6	
	F3 世代・回復試験群	93.3	88.7	86.6	81.8	94.4	
雄児体重 a) (g)	F1 世代	生後 1 日	6.3	6.0	6.3	6.4	6.4
		生後 22 日 (補正)	42.3	43.5	43.6	↓ 38.2	39.1
		生後 29 日 (補正)	79.6	81.7	82.7	↓ 73.7	74.7
	F2 世代	生後 1 日	6.3	6.2	6.4	6.4	6.2
		生後 29 日 (補正)	84.4	85.5	86.9	81.9	85.6
	F3 世代 投与継続群	生後 1 日	6.5	6.4	6.3	6.6	6.1
		生後 29 日 (補正)	85.3	92.2	90.4	83.9	88.9
	F3 世代 回復試験群	生後 1 日	6.2	6.3	6.3	6.4	6.3
		生後 29 日 (補正)	87.5	91.4	90.3	91.9	↑ 96.5
	雌児体重 a) (g)	F1 世代	生後 1 日	5.9	5.6	6.0	6.1
生後 22 日 (補正)			40.5	41.0	41.9	↓ 36.5	37.4
生後 29 日 (補正)			74.1	75.8	75.6	↓ 68.1	69.4
F2 世代		生後 1 日	5.6	5.9	↑ 6.1	5.9	6.0
		生後 29 日 (補正)	78.7	79.2	80.0	77.7	77.2
F3 世代 投与継続群		生後 1 日	5.9	6.1	6.0	6.2	5.6
		生後 29 日 (補正)	78.1	85.5	83.2	78.3	79.8
F3 世代 回復試験群		生後 1 日	5.8	5.9	5.9	6.0	6.0
		生後 29 日 (補正)	80.7	84.2	84.2	87.5	88.7
一般状態 (児数)		F1 世代	眼 脂	1	0	5	3
	眼球混濁		0	0	0	1	65
	死亡児数		8	10	4	12	10
	喰殺児数		0	0	1	1	0
	不明児#		15	26	31	20	40
	F2 世代	眼 脂	1	0	0	8	6
		眼球混濁	0	0	0	48	54
		死亡児数	7	5	7	8	14
		喰殺児数	1	1	0	0	0
		不明児#	39	27	52	59	76
	F3 世代 投与継続群	眼 脂	1	4	0	2	0
		眼球混濁	0	0	0	3	17

a) : Student's t-test, f) : Fisher's exact test, ↓ : p<0.05, ↓↓↓ : p<0.01

: 不明児は死亡したとみられる児数を示す。

児体重、補正体重 : 生後 1 日の児体重を共変量として補正した。

表 11 児動物の試験結果 (2)

所見	投与量 (ppm)		0	2.5	10	100	2500		
臓器重量 a) (変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した)									
F1 世代	雄	精巣上体	実重量	100	88	↓ 78	↓ 76	83	
			体重比 ^S	100	86	86	88	88	
			補正重量	100	85	81	80	84	
F2 世代		腎臓	実重量	100	101	110	100	109	
			体重比 ^S	100	102	103	102	111	
			補正重量	100	102	105	102	↑↑ 111	
F1 世代		雌	肝臓	実重量	100	98	106	101	108
				体重比 ^S	100	103	102	103	110
				補正重量	100	102	102	102	↑ 109
F2 世代	腎臓		実重量	100	110	104	111	↑ 115	
			体重比 ^S	100	99	99	106	117	
			補正重量	100	99	99	105	↑↑ 115	
	肝臓		実重量	100	↑ 118	106	↑ 115	111	
			体重比 ^S	100	106	101	109	112	
			補正重量	100	106	100	↑ 109	↑ 110	

a) : Student's t-test, ↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01 \$: 体重比の統計解析は実施せず
臓器重量、補正重量 : 最終体重を共変量として補正した。

2) ラットを用いた混餌投与による1世代繁殖毒性試験

(資料 No. T-24)

試験機関：Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年：1997年 (CTL/P/8015)

試験目的：ラットを用いた多世代繁殖試験（1997年、CTL/P/5147、資料番号 T-23）では、メソトリオンの投与により新生児の生存性が低下したため、飼料にチロシンを加えてメソトリオンと併用投与した場合、ラットの児動物数と新生児の生存性に与える影響を調べることを目的とした。

検体の純度： %

試験動物：Wistar系ラット (Alpk:AP_rSD)

1群雌20匹、投与開始：妊娠1日（10～12週齢）

投与期間：雌：約4週間

妊娠確認日（妊娠1日）から分娩後5日まで

投与方法：粉末飼料に所定量の検体を混合し、混餌検体を調製した。飼料中の検体濃度は、0および2500 ppmとし、自由に摂食させた。

以下に、投与群の構成を示す。

表1 群構成

群	飼料中の被験物質濃度 (ppm, w/w)	
1	0	
2	0	
3	0	
4	0	
5	2500	
6	2500	
7	2500	
8	2500	

試験項目および結果：結果を表2にまとめた。

親動物；

一般状態および死亡率；全動物の全検査期間に一般状態および生死を毎日観察した。

1群～7群では試験中の途中死亡例はなかった。

メソトリオン 2500ppm 投与群（5群）でも円背と立毛が観察されたが、その発生は低頻度であった。

体重；妊娠1、4、7、15および22日、分娩後1および5日に体重を測定した。

6群 および7群 においては、妊娠7日および15日の体重が有意に低値であったが、妊娠最終日には対照群と同等であった。

2群～4群 および5群（メソトリオン 2500ppm）では体重への影響はなかった。

繁殖性に関する指標；雌ラットは時間交配を行い、交尾が確認された日から投与を開始し、自然分娩させた。

出産母動物数には、投与の影響は認められなかった。また、生存児の娩出が認められなかった母動物は、4群 および5群（2500ppm 投与群）に各1例ずつ認められた。分娩後5日までに、全児が死亡した母動物数は、6群で4例および7群で8例と増加した。

児動物；出産日を生後1日とした。生後1日および5日に各腹の児動物について出生児数、生存児数、死産児数および性別を調査し、生存児の外表検査および体重測定を実施した。

生後1日の生存性については、6群（メソトリオン 2500ppm ）および7群（2500ppm ）では、雄の死亡児数が有意に増加し、生存児数が有意に減少した。雌の6群および7群における死亡児数および生存児数は対照群と差がなかった。

生後5日の生存性については、6群および7群ともに雄の生存児数が有意に減少し、死亡率が有意に増加した。雌では7群で生存児数が有意に減少し、死亡率が有意に増加した。

また、5群（メソトリオン 2500ppm 投与群）でも対照群と比較すると総死亡率が増加傾向であり、生存児総数が低下傾向を示した。

児動物の体重には投与の影響は認められなかった。

表 2 結果

投 与 群		1	2	3	4	5	6	7	8	
被験物質投与量 (ppm)		0	0	0	0	2500	2500	2500	2500	
親動物	動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	
	一般状態 : 眼球混濁 円背 立毛	0	0	0	0	0	7	15	8	
		0	1	1	0	1	1	2	5	
		2	1	3	3	4	12	16	14	
	体 重*	妊娠 1 日	(100)	(99)	(99)	(98)	(102)	(101)	(102)	(100)
		妊娠 4 日	(100)	(99)	(99)	(98)	(100)	(97)	(97)	(89)↓↓
		妊娠 7 日	(100)	(99)	(98)	(99)	(98)	(94)↓↓	(95)↓	(87)↓↓
		妊娠 15 日	(100)	(99)	(96)	(99)	(99)	(94)↓↓	(95)↓	—
		妊娠 22 日	(100)	(100)	(93)	(100)	(102)	(96)	(99)	—
	生後 1 日児動物所見									
生存児を分娩した腹数		19	19	14	18	18	17	18	—	
生存児数/腹	雄	7.05	5.89	5.79	6.00	5.94	5.35↓	4.83↓	—	
	雌	4.74	5.47	5.29	5.39	5.11	5.82	5.06	—	
死亡児数/腹	雄	0.00	0.26	0.21	0.56	0.33	0.35↑	0.67↑	—	
	雌	0.26	0.32	0.29	0.44	0.39	0.59	0.67	—	
生存児総数/腹		11.79	11.37	11.07	11.39	11.06	11.18	9.89	—	
死亡児総数/腹		0.26	0.58	0.50	1.00	0.72	0.94	1.39↑	—	
体 重*	雄	(100)	(101)	(100)	(99)	(105)	(103)	(97)	—	
	雌	(100)	(113)	(102)	(99)	(104)	(102)	(97)	—	
生後 5 日児動物所見										
生存児を分娩した腹数		19	18	12	16	18	13	10	—	
生存児数/腹	雄	6.47	5.56	5.50	5.94	5.39	3.77↓↓	2.60↓↓	—	
	雌	4.37	5.11	5.17	4.94	4.28	4.77	2.60↓	—	
死亡率 (%)	雄	4.35	6.50	4.86	7.00	10.30	20.53↑	45.50↑↑	—	
	雌	12.51	7.17	2.38	9.90	26.38	22.56	36.53↑	—	
生存児総数/腹		11.11	10.67	10.67	10.88	9.67	8.54↓	5.20↓↓	—	
総死亡率 (%)		6.91	7.31	2.97	8.68	14.50	22.47↑	43.16↑↑	—	
体 重*	雄	(100)	(105)	(102)	(102)	(106)	(106)	(97)	—	
	雌	(100)	(105)	(105)	(103)	(105)	(103)	(99)	—	

↑↓<0.05, ↑↑↑<0.01 (Student's t-test)

—: 該当なし

*: 体重は対照群に対する変動率で示した

以上の結果から、メソトリオンを 2500ppm の用量で雌ラットに妊娠期間中および分娩後 5 日間混餌投与すると、母動物については一般状態の変化（円背と立毛）が低頻度で観察されたものの、体重への影響はなかった。メソトリオン 2500ppm 一般状態

の変化（眼球混濁、円背、立毛）、軽度な体重増加抑制がみられた。

児動物については、メソトリオン 2500ppm の投与で生後 5 日の死亡率がやや増加し、多世代繁殖試験（資料番号 T-23）と同様の結果が得られた。

メソトリオン 2500ppm

生後 1 日および 5 日の

生存児数が有意に減少し、児動物の生存性がさらに低下した。また、雄児動物は雌児動物より生存率が低値であった。

3) マウスを用いた混餌投与による 2 世代繁殖毒性試験 (資料 No.T-25)

試験機関 : Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年 : 1997 年 (CTL/P/5531) [GLP 対応]

検体の純度 : %

試験動物 : Alpk:AP₁CD-1 マウス、1 群雄 26 匹、雌 26 匹、投与開始時約 4 週齢

投与期間 : F0 世代 ; 雄 : 交配前 8 週間、交配中および後約 9 週間

雌 : 交配前 8 週間、妊娠期間中約 3 週間、泌乳期間中および後約 7 週間

F1 世代 ; 雄 : 交配前 8 週間、交配中および後約 9 週間

雌 : 交配前 8 週間、妊娠期間中約 3 週間、泌乳期間中および後約 7 週間

(1996 年 11 月 4 日～1997 年 7 月 2 日)

投与方法 : 飼料中検体濃度 0、10、50、350、1500 および 7000 ppm で自由に摂食させた。

交配・調整・選抜・および観察・検査項目 : 概要を表 4 にまとめた。

一般状態および死亡率 ; 全動物の全検査期間に一般状態および生死を毎日観察した。

体重 ; 雄は、交配前期間中毎週測定した。

雌は、交配前および交配期間中は毎週、妊娠期間中は妊娠 1、8 および 15 日、泌乳期間中は分娩後 1、5、8、15、22 および 29 日に測定した。

摂餌量 ; 雄は、交配開始まで毎週測定し（同居期間は除く）、群飼育（2匹）のため1ケージ当りの量を測定した。

雌は、交配開始まで毎週測定し、群飼育（2匹）のため1ケージ当りの量を測定した。妊娠および泌乳期間中も毎週測定し、同期間中は個別飼育を行ったので、1匹当たりの量を測定した。

食摂効率 ; 交配前期間中の体重および摂餌量から、飼料100g当たりの体重増加量をケージ当りで算出した。

検体摂取量 ; 体重、摂餌量および飼料中の検体濃度から、1日当たりの平均検体摂取量を算出した。

交配および妊娠の確認 ; 同一投与群の雌雄を1対1で同居させ、翌朝、膣栓の有無により交尾を確認し、交尾が確認された日を妊娠1日とした。雌雄の同居期間は最長3週間とした。F1動物の交配は兄妹交配を避けて組み合わせた。交配成功の基準は、生育可能な生存児を1匹以上分娩したことである。

妊娠、出産および哺育 ; 分娩が確認された日を分娩後1日または生後1日とした。分娩日に、各腹の児動物について、生存児数、死産児数および性別を調査した。

児動物の一般状態の観察を毎日実施した。児動物体重測定を雌雄別に生後1、5、8、15、22および29日に行い、同時に児数を調べた。

交配、妊娠、出産および哺育期間中の観察に基づき、以下の指標を算出した。

・交配成功率 (%) = (1匹以上の生児を出産した動物数 / 交配動物数) × 100

・出産時生存率 (%) = (出産時生存児数 / 総出産児数) × 100

・生後22日生存率 (%) = [生後22日の生存児数 / 生後1日の生存児数] × 100

児動物の性成熟 ; F1およびF2世代の雄動物については、生後29日以降に毎日1回、陰茎亀頭包皮分離の有無を観察した。

臓器重量 ; 親動物 : F0およびF1世代の全動物の、腎臓、肝臓、精巣および精巣上体について測定し、体重比および最終体重を共変量として補正した重量を算出した。

児動物 : 生後29日に剖検したF1およびF2世代の児動物の、腎臓、肝臓、精巣および精巣上体の重量を測定し、体重比および最終体重を共変量として補正した重量を算出した。

肉眼的病理検査 ; F0およびF1世代の全ての親動物について、着床痕の検査を含む肉眼的病理検査を実施した。生後29日にF1およびF2児動物は無作為に選択した各群雌雄各10匹に関して、剖検を行った。F1およびF2の途中死亡児および人道的屠殺児は、全ての動物について剖検した。

病理組織学的検査；親動物：F0 および F1 世代の対照群および 7000ppm 群を対象とし、膣、子宮（頸部も含む）、卵巣、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、下垂体、肝臓、腎臓、眼および肉眼的異常組織について、病理組織学的検査を実施した。また、眼および肉眼的異常組織については全動物の検査を行った。他の投与群においては、不妊の疑いのある動物の生殖器および下垂体について病理組織学的検査を実施した。

児動物：F0 および F1 世代の対照群および 7000ppm 群の各群雌雄各 10 匹の、膣、子宮（頸部も含む）、卵巣、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、下垂体、肝臓、腎臓、眼および肉眼的異常組織について、病理組織学的検査を実施した。また、眼および肉眼的異常組織については組織を採取した動物全例の検査を行った。

結 果：

親 動 物；結果の概要を表 5 にまとめた。

一般状態および死亡率；重篤な症状を呈した F0 世代雌 50ppm 群 1 例（頭部腫脹、立毛、円背位、不整呼吸）および F1 世代 7000ppm 群雄 1 例（皮下腫瘍、努力呼吸、蒼白）は人道的理由から屠殺した。F0 および F1 世代とも、対照群を含む雌動物に死亡動物が散見されたが、いずれも妊娠後期、泌乳後期あるいは泌乳後に死亡し、死亡前に症状は認められず、投与に起因した死亡ではなかった。また、雌 3 例は（F0 世代 50ppm 群雌 1 例、F1 世代 50ppm 群雌 1 例および 350ppm 群雌 1 例）は膣が開口しなかったため、屠殺した。いずれも用量相関性はなく、投与に起因した途中死亡動物はなかった。

一般状態の影響として、眼球混濁が F0 世代では 7000ppm 群雄 1 例にのみ認められ、F1 世代では 7000ppm 群雌雄で発生率が増加した。

その他、投与に起因した症状は観察されなかった。

体 重 変 化；F0 世代では、1500 および 7000ppm 群雄で累積体重増加量が低値であり体重増加抑制がみられ、投与の影響が認められた。雌動物では、交配前期間の投与群の体重は対照群より高値であった。妊娠期間の体重には変化はなかったが、泌乳期間の体重は、7000ppm 群で有意に低値（泌乳 1 日の体重を共変量として補正した体重）であり、泌乳期間中の体重増加に影響が認められた。

F1 世代の交配前期間では、投与開始時から 7000ppm 群雌雄、1500 および 10ppm 群雌の体重が低値を示し、交配前期間を通じて低値であったが、投与開始時（1 週）の体重を共変量として補正した体重に変化が認められなかったため、成長に関して影響はなかった。7000ppm 群雌では、妊娠期間中の体重は低値であったが、妊娠 1 日の体重を共変

量として補正した体重は対照群と差はなく、妊娠期間中の体重増加には影響はなかった。しかし、同群雌の泌乳期間中の体重は、対照群と比較して低値であり、補正した体重も低値を示した。

摂餌量 ; F0 世代では、交配前期間は摂餌量への影響は雌雄ともに認められなかった。妊娠期間中、影響は認められなかったが、泌乳期間中、1500 および 7000ppm 群雌の摂餌量の減少が認められた。7000ppm 群の摂餌量は授乳期間を通して対照群に比べて 85~71% であり、1500ppm 群の摂餌量は授乳後半 (3~4 週) に対照群と比べて 93~92% であった。F1 世代では、7000ppm 群雌に摂餌量の減少 (対照群に対して 96~95%) が認められた。妊娠期間中、影響は認められなかったが、泌乳期間中、1500 および 7000ppm 群雌に摂餌量の減少が認められた。7000ppm 群の摂餌量は授乳期間を通して対照群に比べて 90~67% であり、1500ppm 群の摂餌量は授乳 2~4 週に對照群と比べて 95~88% であった。

食餌効率 ; 体重、摂餌量から算出した 1 ケージ当りの食餌効率は、F0(P)世代では影響は認められなかった。F1 世代では、7000ppm 群雌雄で 1~4 週および 1~8 週の食餌効率が増加した。

表 1. 平均食餌効率 (g growth/100g food) - 交配前

性別	世代	F0 世代						F1 世代					
		投与量 (ppm)	0	10	50	350	1500	7000	0	10	50	350	1500
雄	1-4 週	7.85	7.55	8.04	7.99	7.60	7.31	7.10	7.23	7.48	7.40	7.56	8.41↑↑
	5-8 週	1.62	1.51	1.53	1.37	1.39	1.80	1.28	1.43	1.28	1.46	1.25	1.30
	1-8 週	4.84	4.60	4.86	4.78	4.56	4.61	4.25	4.39	4.45	4.48	4.45	4.92↑↑
雌	1-4 週	5.00	5.47	5.80↑↑	5.84↑↑	5.40	5.48	4.69	4.84	4.90	5.24	4.85	5.60↑↑
	5-8 週	1.49	1.40	1.51	1.21	1.28	1.53	1.50	1.30	1.10↑	1.07↑	1.43	1.35
	1-8 週	3.20	3.43	3.65↑↑	3.54↑↑	3.34	3.48	3.07	3.03	2.97	3.08	3.12	3.46↑

統計解析 : Student's t-test, ↑: p<0.05, ↑↑: p<0.01.

検体摂取量 ; 体重、摂餌量および飼料中の検体濃度から算出した 1 日当りの平均検体摂取量 (mg/kg/day) を表 2 に示した。

表 2. 平均検体摂取量 (mg/kg/day)

投与量 (ppm)	F0 世代					F1 世代				
	雄	雌				雄	雌			
		交配前	妊娠期	哺育期	平均		交配前	妊娠期	哺育期	平均
10	2.1	2.4	2.1	13.4	6.0	2.1	2.4	2.0	13.2	5.9
50	10.2	12.0	10.0	70.1	30.7	10.0	11.4	9.8	65.8	29.0
350	71.4	84.4	72.9	481.6	213.0	71.3	80.5	73.5	422.4	192.1
1500	311.8	371.6	300.1	2001.4	891.0	301.6	353.8	302.9	1878.7	845.1
7000	1471.9	1631.5	1430.3	8726.1	3929.3	1439.1	1673.0	1491.3	8260.2	3808.2

報告書中の添付書日に基づいて申請者が作成した。

臓器重量；F0 世代では、**肝臓重量**は雄では 350ppm 以上の投与群で補正重量（最終体重を共変量として補正した）が増加、実重量は 350 および 7000ppm 群で増加し、雌では補正重量が 1500ppm 以上で、実重量が 150ppm 以上の投与群で増加した。

腎臓重量は、雌の 50、350 および 1500ppm 群で実重量が増加し、1500ppm 群で補正重量が増加したが、雌の 7000ppm 群および雄動物では影響がみられなかったことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。

精巣上体あるいは**精巣**に関しては投与の影響は認められなかった。

F1 世代では、**肝臓**の補正重量が 350ppm と 7000ppm 群雌雄で増加した。**腎臓重量**に関しては 350ppm 以上の投与群の雄で、実重量および補正重量が増加し、雌では 50ppm 以上の投与群で腎臓の補正重量が増加した。1500 および 7000ppm 群で**精巣上体**の補正重量が増加したが、**精巣重量**に影響は認められなかった。

これらの臓器重量への影響は、病理組織学検査から重量変化に関連すると考えられる所見が認められなかったことから、いずれも毒性学的に重要ではないと考えられる。

肉眼的病理検査；F0 世代の 7000ppm 群雄、および F1 世代の 7000ppm 群雌雄の**眼球混濁**あるいは**曇り**の所見は増加した。これ以外に投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；投与に関連すると考えられる所見は**眼球**のみに認められた。F0(P)および F1 世代とも、**眼球**の片側性あるいは両側性**白内障**変化が F0 世代の 7000ppm 群雄 3 例、F1 世代の 7000ppm 群雄 8 例および雌 6 例に認められたが、これ以外の群には観察されなかった。また、F1 世代の 7000ppm 群雌雄各 1 例に**網膜剥離**が観察されたが、これは**白内障**による**水晶体病変**の二次的変化と考えられた。

F0(P)および F1 世代とも、**出産**しなかった動物の**生殖器**に**不妊**の原因となる所見は観察されなかった。

繁殖性に関する指標；F0 および F1 世代ともに**交尾**までに要した日数および**妊娠期間**には影響は認められなかった。F0(P)世代では、**交尾**が不成功であった（**生児**を 1 匹も分娩しなかった）ペアは、**対照群**が 1 ペアであるのに対し、350ppm 群が 6 ペア、1500ppm 群が 4 ペア、並びに 7000ppm 群が 6 ペアと増加する傾向がみられた。しかし、F1 世代では**交尾不成功**のペア数について、**対照群**と**投与群**はほぼ同数であり、投与の影響ではないと考えられた。

児動物；結果の概要を表 6 に示す。

一般状態および**死亡率**；F1 および F2 世代のいずれにも、投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。**全児死亡率**、**哺育中**の**同腹児数**、**出産時生存率**および**生後 22 日生存率**のいずれにも、F1 および F2 世代ともに、投与による影響は認められなかった。

眼脂が投与群の児動物のみに認められた。この所見は、F1 および F2 世代のいずれも 7000ppm 群が最も発生率が高かったが、**生後 15 日以降**の**眼瞼開裂直後**、**眼脂**が発現し

た児動物のほとんどが生後 22 日に 1 回のみ観察された一時的な変化であり、投与量、
に対応したものではなかった。また、用量設定試験の対照群においても眼脂所見がみられていること、飼料の粉化と眼脂所見との関連が示唆されたことを考慮すると、眼刺激反応性のものと考えられた。これらから眼脂の発生原因は不明であり、本剤投与で発現する角膜障害との関連性はなかった。

体重変化；F1 および F2 世代の雌雄ともに、7000ppm 群では生後 8 日から、1500ppm 群では生後 22 日から児体重が低値を示し、投与の影響と考えられた。

F1 世代では、生後 22 日および 29 日の児体重が 10、50 および 350ppm 群でも低値であったが、F2 世代では同群に影響は認められなかった。

雄児動物の性成熟；包皮分離の完成日齢は、対照群と比べて F1 世代では 10ppm 群で 1.7 日、1500ppm 群で 1.0 日、7000ppm 群で 2.0 日、また F2 世代では 7000ppm 群で 3.0 日、それぞれ遅延した。

臓器重量；F1 世代（生後 29 日）では、7000ppm 群雌雄の肝臓補正重量（最終体重で補正した）が増加した。腎臓重量は、7000ppm 群雌雄で実重量が低下したが、補正重量には影響が認められなかったことから、この群でみられた体重増加抑制に起因した変化であると考えられた。また、50ppm 群雄の腎臓実重量と補正重量の低下、10ppm 群雌の腎臓実重量の低下、350ppm 群雌の肝臓補正重量の増加は、それぞれ用量相関性が認められなかったため、投与の影響ではないと考えられた。

F2 世代（生後 29 日）では、7000ppm 群雄の肝臓補正重量が増加し、実重量が低下したが、同群雌では肝臓補正重量は対照群と有意差は認められず、減少傾向であり、実重量も低下した。腎臓重量は、7000ppm 群雌雄で実重量の低下がみられたが、補正重量には影響は認められなかったことから、この群でみられた体重増加抑制に起因した変化であると考えられた。同様に、精巣上体の重量も 7000ppm 群で実重量が低下したが、補正重量に影響は認められなかったことから、この群でみられた体重増加抑制に起因した変化であると考えられた。

精巣重量に関しては、F1 および F2 世代のいずれにも一貫した変化は認められなかったため、偶発的变化と考えられた。

これらの臓器重量への影響は、病理組織学検査から重量変化に関連すると考えられる所見が認められなかったことから、いずれも毒性学的に重要ではないと考えられる。

肉眼的病理検査；F1 世代では、眼球混濁あるいは曇りが対照群雌で 40 匹中 6 例に認められ、10ppm 群雄で 44 匹中 5 例、また同群雌で 44 匹中 8 例に認められた。対照群でも認められたことから、F1 世代では投与による眼球への影響は明らかではなかった。

F2 世代では、同所見が 7000ppm 群雄で 33 匹中 10 例、同群雌で 31 匹中 3 例、また 1500ppm

群雄で 36 匹中 4 例、同群雌で 35 匹中 3 例にそれぞれ認められた。対照群では雌 1 例に認められたのみであり、投与の影響であると考えられた。

病理組織学的検査；投与に関連すると考えられる所見は眼球のみに認められた。F1 および F2 世代ともに、眼球の片側性あるいは両側性白内障性変化が 7000ppm 群にのみ認められ、F1 世代では雄 4 例および雌 2 例に認められた。同病変は F2 世代では 7000ppm 群雄 5 例および雌 1 例に、また肉眼的に眼球混濁あるいは曇りが確認された 7000ppm 群の動物のうち雄 6 例および雌 2 例にもそれぞれ認められた。しかし、白内障性変化は肉眼的に眼球混濁あるいは曇りが観察された対照群および 10ppm 群の動物には認められなかった。7000ppm 群に認められた網膜剥離あるいは虹彩後癒着が観察されたが、これは水晶体病変の二次的変化と考えられた。また、軽微な片側性白内障性変化が 1500ppm 群雄 2 例に認められた。

以上の結果、本剤をマウスに 2 世代にわたり混餌投与した影響として、親動物の一般毒性については、1500ppm 群および 7000ppm 群で体重増加抑制、泌乳期間中の摂餌量の低下がみられ、7000ppm 群で眼球混濁および病理組織所見として白内障性変化が認められた。

350ppm 群以上の投与群で肝臓重量に増加が認められたが、病理組織学的変化が観察されなかったことから毒性学的に重要ではないと考えられる。

児動物については、F1 および F2 世代ともに、1500ppm 群および 7000ppm 群雌雄で体重の低値、7000ppm 群で包皮分離日齢の遅延が認められ、眼球混濁および病理組織学的所見として白内障性変化が 1500ppm 以上の用量で認められた。

7000ppm 群で肝臓重量が増加したが、病理組織学的所見が観察されなかったことから毒性学的に重要でないと考えられる。

従って、親動物および児動物に対する無毒性量は雌雄とも 350ppm (雄; F0(P)世代: 71.4 mg/kg/day、F1 世代: 71.3 mg/kg/day、雌; F0 世代: 84.4 mg/kg/day、F1 世代: 80.5 mg/kg/day) と考えられた。また、最高投与量である 7000ppm でも繁殖性および児動物の生存性に影響は認められなかった。

表 4. 試験方法および試験項目の要約

世代	期間	作業手順	試験項目
F0(P)	育成 (8週)	1群雌雄各 26 匹	一般状態および死亡の有無を毎日観察 体重および摂餌量を毎週測定 交配前 3 週間、雌の発情周期を観察
	交配 (3週)	雌雄 1 対 1 で交配、膣栓の有無により交尾を確認	交配状況の観察 交尾率および妊娠率を測定
	妊娠 (3週)		体重および摂餌量を毎週測定
	出産	F1	出産児数、生存児数、死産児数、肉眼的異常、性別および体重を測定 出産開始 2~4 週後に F0 雄動物の臓器重量測定、肉眼的および病理組織学的検査
F1	哺育 (4週)		哺育児の観察、生存児数、体重、性別、親動物(F0 雌)の体重を出産 0、7、14 および 21 日後に測定 摂餌量を出産 0~7、7~14、14~21 日に測定 数調整された児動物の肉眼的病理検査
	離乳	各腹の離乳児から少なくとも雌雄各 1 匹 (各群雌雄各 26 匹) を無作為に選抜し、次世代用とする。	選抜されなかった児動物の肉眼的病理検査、臓器重量測定 (生後 29 日) 親動物(F0 雌)の臓器重量測定、肉眼的および病理組織学的検査
	育成 (8週)	(F0(P)世代に準じる)	選抜されなかった児動物の肉眼的病理検査 (生後 24~34 日) 性成熟の観察 (F0(P)世代に準じる)
	交配 (3週)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)世代に準じる)
F2	妊娠 (3週)	(F0(P)世代に準じる)	(F0(P)世代に準じる)
	出産	F2	(F0(P)および F1 世代に準じる)
	哺育 (3週)	(F1 世代に準じる)	(F0(P)および F1 世代に準じる)
	離乳		児動物の肉眼的病理検査 (離乳時) 親動物(F1 雌雄)の臓器重量測定、肉眼的および病理組織学的検査

表 5. 親動物の試験結果(1)

世 代		F0 親動物						F1 親動物						
投与量 (ppm)		0	10	50	350	1500	7000	0	10	50	350	1500	7000	
動物数	雄	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	
	雌	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	
一般状態: 眼球混濁 ^{b)}	雄	0	0	0	0	0	2 (1) 15-17週	0	1 (1) 18週	0	10 (1) 4-18週	0	14 (4) 6-18週	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11 (1) 8-19週	76 (6) 3-19週	
途中死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	雌	1	1	2	0	1	0	0	1	1	3	1	0	
体重および摂餌量 (表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの)														
体重 ^{a)} (交配前)	雄	1週	100	102	104	101	99	100	100	95	97	98	95	84
		4週	100	99	102	101	98	95	100	103	102	103	103	105
		6週	100	99	102	102	98	98	100	102	102	104	102	105
		9週	100	99	101	100	97	98	100	103	103	104	103	105
	雌	1週	100	100	100	101	101	103	100	93	98	95	93	83
		4週	100	103	105	105	104	103	100	103	103	106	103	107
		6週	100	103	105	105	104	104	100	101	103	105	101	105
		9週	100	102	105	104	103	103	100	102	100	102	102	103
体重増加 量 ^{a)}	雄	1-2週	100	100	110	104	90	88	100	111	108	110	105	103
		1-4週	100	97	108	103	94	88	100	110	107	109	110	118
		1-6週	100	99	107	105	95	94	100	106	106	109	107	115
		1-9週	100	98	105	102	93	95	100	106	106	109	107	113
	雌	1-2週	100	112	124	126	119	110	100	135	123	144	133	149
		1-4週	100	111	118	117	114	109	100	113	111	124	114	135
		1-6週	100	108	116	116	112	110	100	106	110	117	108	122
		1-9週	100	106	114	111	107	106	100	107	102	108	107	114
体重 ^{a)} (妊娠期間)	1日	100	101	102	105↑	104	101	100	96	99	96	95	91	
	8日	100	98	99	99	100	101	100	100	98	99	99	99	
	15日	100	100	101	99	102	101	100	102	100	99	101	102	
体重 ^{a)} (授乳期間)	1日	100	100	101	103	102	101	100	97	99	98	97	91	
	5日	100	101	102	102	100	97	100	102	103	101	101	100	
	8日	100	101	102	102	100	93	100	101	102	100	101	97	
	15日	100	102	102	101	99	87	100	100	102	99	98	88	
	22日	100	107	105	105	107	102	100	99	102	103	102	103	
29日	100	102	102	103	102	99	100	97	99	100	97	97		
摂餌量 ^{a)} (交配前)	雄	1週	100	107	107	104	100	100	100	104	101	104	99	95
		4週	100	101	106	106	100	103	100	101	100	105	97	96
		6週	100	111	107	103	101	101	100	103	100	105	100	96
		9週	100	100	101	100	100	100	100	104	104	108	106	103
	雌	1週	100	103	104	103	104	99	100	107	108	111	106	103
		4週	100	100	99	101	104	96	100	108	101	103	104	96
		6週	100	103	103	99	103	97	100	107	101	104	103	99
		8週	100	97	99	100	104	97	100	105	107	108	109	104
摂餌量 ^{a)} (妊娠期間)	1週	100	95	93	95	98	95	100	98	97	107	103	102	
	2週	100	97	97	108↑	96	99	100	101	101	108	99	97	
摂餌量 ^{a)} (授乳期間)	1週	100	92	97	98	100	85↓	100	94	98	93	105	89	
	2週	100	89↓	96	97	97	71↓↓	100	90↓	97	90↓	92	67↓↓	
	3週	100	98	105	101	92	85↓	100	107	108↑	91	88↓	78	
	4週	100	95	96	97	93↓	85↓↓	100	102	103	95	95	90↓	

a) : F1・F2ともに Student's t-test, ↑↓ : p<0.05, |||| : p<0.01

b) : 眼球混濁、上段は所見数、()内は発現動物数、下段は所見発現週

表 5. 親動物の試験結果(2)

世 代		F0 親動物						F1 親動物						
投与量 (ppm)		0	10	50	350	1500	7000	0	10	50	350	1500	7000	
動物数	雄	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	
	雌	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	
臓器重量 (表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの)														
雄	腎臓	実重量 ^{a)}	100	100	103	103	95	100	100	100	101	#↑110	↑108	#↑113
		体重比 ^{b)}	100	100	100	100	99	101	100	100	101	106	109	118
		補正重量 ^{a)}	100	100	101	100	98	101	100	100	101	↑106	#↑108	#↑117
	肝臓	実重量 ^{a)}	100	103	106	#↑112	103	↑106	100	101	102	#↑110	104	106
		体重比 ^{b)}	100	102	102	108	107	106	100	101	101	105	104	111
		補正重量 ^{a)}	100	103	103	#↑109	#↑106	#↑106	100	101	102	#106	104	#↑110
	精巣	実重量 ^{a)}	100	103	↑109	103	99	97	100	101	97	105	106	104
		体重比 ^{b)}	100	103	106	100	102	97	100	100	98	101	107	110
		補正重量 ^{a)}	100	103	106	101	102	97	100	101	96	100	107	110
	精巣 上体	実重量 ^{a)}	100	102	105	105	102	106	100	107	106	108	111	108
		体重比 ^{b)}	100	101	101	101	105	105	100	106	106	102	111	112
		補正重量 ^{a)}	100	101	101	100	105	105	100	107	106	102	↑111	↑114
雌	腎臓	実重量 ^{a)}	100	103	↑106	↑107	#↑108	105	100	97	103	104	104	103
		体重比 ^{b)}	100	100	103	102	105	103	100	101	104	104	107	109
		補正重量 ^{a)}	100	100	103	102	#↑105	103	100	101	↑104	↑104	#↑107	#↑109
	肝臓	実重量 ^{a)}	100	105	↑107	#↑110	↑109	#↑111	100	95	100	106	99	102
		体重比 ^{b)}	100	103	103	105	105	110	100	98	102	106	102	108
		補正重量 ^{a)}	100	102	103	104	↑105	#↑109	100	99	102	↑106	103	#↑109
肉眼的病理検査														
雄	眼球混濁	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	4	
	眼球曇り	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	
雌	眼球混濁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	
	眼球曇り	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	
病理組織学的検査 ^{c)}														
眼球/ 白内障性変化 ^{d)}	雄	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	8**	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6*	
網膜剥離	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
交配成功動物数 (雌雄同数)		24	25	23	20	22	20	21	20	21	20	21	19	
交配成功率 ^{f)}		92.3	96.2	95.8	76.9	84.6	76.9	80.8	76.9	84.0	83.3	80.8	73.1	
交尾までの日数 (日) ^{g)}		3.32	2.18	2.57	3.86	2.73	3.18	3.09	3.33	3.13	3.00	2.64	3.43	
全児死亡動物数		1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
全児生存母動物数		20	22	19	19	19	15	17	16	18	19	16	15	
妊娠期間 (日) ^{h)}		19.2	19.0	19.1	19.3	19.0	19.2	19.4	19.3	19.5	19.5	19.5	19.2	

a): F0・F1ともに Student's t-test, f): F0・F1ともに Fisher's exact test,

↑あるいは*: p<0.05, ↑↑あるいは **: p<0.01, Dunnett 検定, #: p<0.05, ##: p<0.01, \$: 体重比の統計解析実施せず
臓器重量、補正重量: 最終体重を共変量として補正した。

c): Fisher's Exact Test, *p<0.05, **p<0.01 (申請者が実施) d): 白内障性変化は片側および両側を含む

表 6. 児動物の試験結果

世 代		F1 児動物						F2 児動物						
投与量 (ppm)		0	10	50	350	1500	7000	0	10	50	350	1500	7000	
腹数		24	25	23	20	22	20	21	20	21	20	21	19	
一般状態:														
眼脂発生児数 (腹)		0	4 (3)	1 (1)	4 (3)	5 (3)	11 (5)	0	3 (3)	0	3 (3)	2 (2)	11 (5)	
発現日		—	22, 29	22	22	15, 22	22	—	22	—	22	22	22	
出産時生存率 (%) ^{a)}		97.9	99.0	98.7	99.6	98.8	97.8	98.5	98.6	99.0	99.6	97.9	98.1	
22 日生存率 (%) ^{a)}		95.5	96.3	96.1	95.7	92.1	93.7	94.8	94.2	95.1	94.1	94.6	92.7	
同腹児数	1 日 ^{a)}	11.7	12.8	13.0	12.6	12.7	11.8	11.9	12.5	11.9	11.1	11.6	12.0	
	5 日 ^{a)}	11.3	12.4	12.5	12.3	11.9	11.1	11.3	11.8	11.2	10.5	10.9	11.2	
	8 日 ^{a)}	11.2	12.4	12.5	12.3	11.8	11.1	11.3	11.8	11.2	10.5	10.9	11.2	
	15 日 ^{a)}	11.2	12.4	12.5	12.1	11.7	11.1	11.3	11.8	11.2	10.4	10.9	11.1	
	22 日 ^{a)}	11.2	12.3	12.5	12.0	11.6	11.1	11.2	11.7	11.2	10.4	10.9	11.1	
	29 日 ^{a)}	11.2	12.3	12.5	12.0	11.6	11.1	11.2	11.7	11.2	10.4	10.9	11.9	
体 重 (g, 出生後 0 日の体重を共変量として補正)														
雄	1 日 ^{a)}	1.6	1.6	1.6	1.7	1.7	1.7	1.9	1.8	1.9	2.0	1.9	1.8	
	5 日 ^{a)}	3.3	3.1	3.2	3.3	3.2	3.3	3.5	3.5	3.7	3.6	3.6	3.5	
	8 日 ^{a)}	5.2	5.0	5.1	5.3	5.0	↓4.9	5.3	5.3	5.5	5.4	5.3	5.2	
	15 日 ^{a)}	8.4	8.2	8.2	8.1	8.1	↓↓7.1	9.1	9.1	9.4	9.2	9.1	↓8.3	
	22 日 ^{a)}	15.6	↓14.4	14.7	↓14.5	↓↓13.4	↓↓11.8	15.8	15.7	16.0	15.5	↓↓14.2	↓↓12.6	
	29 日 ^{a)}	26.5	↓↓24.5	↓25.0	↓↓24.5	↓↓23.6	↓↓21.4	26.4	26.3	26.3	25.9	↓↓24.3	↓↓22.0	
雌	1 日 ^{a)}	1.6	1.6	1.6	1.7	1.6	1.6	1.8	1.8	1.9	1.9	1.9	1.7	
	5 日 ^{a)}	3.3	3.1	3.1	3.2	3.2	3.3	3.5	3.4	3.7	3.6	3.5	3.5	
	8 日 ^{a)}	5.2	5.0	4.9	5.1	5.1	4.9	5.2	5.2	5.5	5.4	5.2	5.2	
	15 日 ^{a)}	8.4	8.1	7.9	8.0	8.1	↓↓7.2	9.0	9.1	9.4	9.1	9.0	8.5	
	22 日 ^{a)}	15.9	↓14.6	↓14.6	↓14.6	↓↓13.7	↓↓12.4	15.7	15.8	16.2	15.8	↓14.4	↓↓13.1	
	29 日 ^{a)}	26.0	↓24.5	↓24.7	↓24.4	↓↓23.6	↓↓21.7	25.1	25.3	25.8	25.7	↓23.7	↓↓22.2	
包皮分離日齢 ^{a)}		30.2	31.9**	31.0	30.7	31.2*	32.2**	30.5	30.6	30.3	31.2	31.3	33.5**	
臓器重量 (表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの)														
雄	腎	実重量 ^{a)}	100	95	↓85	91	92	↓↓88	100	97	108	104	101	↓↓75
		体重比	100	94	91	94	94	97	100	100	98	99	101	99
		補正重量 ^{a)}	100	94	↓91	94	94	97	100	99	94	98	100	103
	肝	実重量 ^{a)}	100	100	94	98	105	103	100	100	114	108	104	↓81
		体重比	100	99	100	101	107	113	100	102	102	104	104	106
		補正重量 ^{a)}	100	99	101	101	107	↑↑114	100	102	100	103	104	↑112
	精巣	実重量 ^{a)}	100	110	102	112	113	102	100	112	↑↑133	↑119	↑↑128	86
		体重比	100	107	109	114	114	111	100	114	120	114	130	112
		補正重量 ^{a)}	100	109	113	116	116	↑↑118	100	114	↑↑122	114	↑↑130	112
	精巣 上体	実重量 ^{a)}	100	88	97	94	91	106	100	92	111	100	108	↓71
		体重比	100	86	102	97	94	119	100	91	99	92	105	87
		補正重量 ^{a)}	100	84	103	97	94	119	100	92	100	95	108	97
雌	腎	実重量 ^{a)}	100	↓86	100	98	96	↓↓84	100	107	102	107	94	↓86
		体重比	100	95	100	98	103	101	100	104	103	104	103	102
		補正重量 ^{a)}	100	95	100	98	102	99	100	104	102	104	101	100
	肝	実重量 ^{a)}	100	90	106	109	99	95	100	108	98	109	90	↓↓79
		体重比	100	97	106	110	106	116	100	105	99	106	99	97
		補正重量 ^{a)}	100	97	106	↑↑111	106	↑↑112	100	106	99	107	96	92
肉眼的病理検査														
雄	眼球混濁・曇り	1/37	5/44	0/34	1/28	2/32	2/30	0/31	1/33	0/31	0/30	4/36	10/33	
雌	眼球混濁・曇り	6/40	8/40	4/35	1/29	1/30	2/30	1/32	0/34	0/31	2/30	3/35	3/31	
病理組織学的検査 ^{c)}														
眼球/ 白内障性変化 ^{d)}	雄	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	2	5	
	雌	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	
網膜剥離	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
虹彩後癒着	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

a): F1・F2ともに Student's t-test, fa): F1・F2ともに Freeman and Tukey + ANOVA, ↑あるいは*: p<0.05, ↑↑あるいは**: p<0.01.
臓器重量、補正重量: 最終体重を共変量として補正した、体重比の統計解析実施せず
c): Fisher's Exact Test, *: p<0.05, **: p<0.01 (申請者が実施) d): 白内障性変化は片側および両側を含む

4) ラットを用いた催奇形性試験 (経口投与)

(資料 No.T-26)

試験機関: Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年: 1999 年 (CTL/P/5034) [GLP 対応]

検体の純度: %

試験動物: Wistar 系 (Alpk:AP₁SD) 妊娠ラット

試験開始時 11 週齢以上、1 群 24 匹

試験期間: 1996 年 2 月 6 日～1996 年 3 月 8 日

投与期間 10 日間 (妊娠 7 日～16 日: 妊娠日を妊娠 1 日とする)

投与方法: 雄動物と一晩同居させ、翌朝膣垢中に精子の認められた日を妊娠 1 日とした。検体を脱イオン化水に懸濁させ、0、100、300 および 1000 mg/kg の用量で、妊娠 7 日から 16 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した (投与液量: 10 mL/kg)。

試験項目:

親動物: 一般状態、生死および流産について毎日観察し、体重を妊娠 4 日、7 日から 16 日の間は毎日、妊娠 19 日および 22 日に測定した。摂餌量は妊娠 1-4、4-7、7-10、10-13、13-16、16-19 および 19-21 日の 3 日間の摂取量から 1 日当たりの量を求めた。妊娠 22 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、子宮内死亡数 (早期・後期) を調べた。

生存胎児: 生存および死亡胎児数、体重を測定し、性を判定した。全例の生存胎児について、剖検時に外表および内臓検査を行った後、全例の骨格標本を作製し骨格検査を実施した。奇形、異常および変異を調べた。

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

結果：概要を表に示す。

親動物；試験期間を通して死亡例はなかった。投与に関連すると考えられる一般状態の変化として、尿による被毛汚染が、1000mg/kg 群で数例に、100 および 300mg/kg 群でそれぞれ 1 例に投与期間中、散見された。また、300 および 1000mg/kg 群では、ピンク色／紫色の糞が観察された。

投与期間中の体重は、投与群全例で低値であった。300 および 1000mg/kg 群では投与翌日から有意に低値であり、100mg/kg 群では妊娠 11 日から有意に低値であった。投与終了後も、1000mg/kg 群の体重は低値のままであった。

投与期間中の摂餌量は、いずれの投与群でも対照群より有意に低値であり、用量相関性が認められた。

胎児動物；胎児体重は 1000mg/kg 群で有意な低値を示し、この胎児体重の低値は投与に関連した胎児発育遅延と考えられた。

外表検査および内臓検査では、投与の影響は認められなかった。

骨格奇形に関しては、所見の種類および発生頻度に関して投与による影響は認められなかった。

骨格異常と骨格変異に関して発生頻度は用量に相関して増加した。所見としては、頸椎体未骨化、歯突起未骨化、踵骨未骨化などの所見が用量相関的に増加し、第 5 胸骨分節不完全骨化の発生頻度が 1000mg/kg 群で増加し、骨化遅延がみられた。

また、骨化進行もみられ、投与群では、第 4 および第 5 頸椎弓の不完全骨化、第 7 頸骨横突起もしくは第 4 腰椎横突起の不完全骨化の発生頻度が低値であった。

手足骨格の骨化進行度の評価では、投与群全群で投与に関連した低下が認められ、100、300 または 1000 mg/kg 群の同腹当たりの平均評価点は、対照群に比べ有意に高く、用量に相関した骨化遅延が認められた。

過剰肋骨短小は全投与群で発生頻度が増加した。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した場合の親動物に対する影響として 100、300 および 1000mg/kg 群で摂餌量の低下、体重増加量抑制が認められた。

胎児に対する影響として 1000mg/kg 群で胎児体重の低値がみられ、投与に関連した胎児発育遅延と考えられた。骨化遅延（頸椎体未骨化、歯突起未骨化、踵骨未骨化、第 5 胸骨分節不完全骨化の増加）と骨格変異（過剰肋骨短小）が全投与群で増加した。また、手足骨格の骨化進行度も投与群全群で低下した。

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

胎児の骨化遅延および発育遅延に関連しては、投与群でみられた母毒性の二次的影響と考えられるが、1000mg/kg 群における骨化遅延については、この群の胎児体重に影響がみられていることから投与の影響と考えられた。

100 および 300mg/kg 群に骨化遅延がみられたが、これらの投与群では胎児体重に影響がみられなかった。

過剰肋骨短小が全投与群で増加したが、用量に対応した変化ではないこと、腰椎数に変化がなかったことから毒性学的に重要ではないと考えられた。

従って、親動物に対する無毒性量は 100mg/kg/day 以下であると判断され、胎児に対する無毒性量は 300mg/kg/day であると考えられた*。

また、最高投与量である 1000mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性は認められなかった。

*食品安全委員会における第 45 回農薬専門調査会幹事会（2008 年 11 月 18 日）で、全投与群において、頸椎体未骨化、歯突起未骨化などの骨化遅延及び短小過剰肋骨の発生が増加し、骨化異常あるいは骨化変異を有する胎児の発生頻度が上昇し、手足骨格の骨化進行度が低下したことから、無毒性量は、母動物、胎児ともに 100mg/kg/day 未満と評価された。

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

表：結果(1)

投与量 (mg/kg/day)		0	100	300	1000	
1群当たりの動物数		24	24	24	24	
親動物	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	尿による被毛着色 (乾燥)	0	1	1	6
		尿による被毛着色 (湿潤)	0	1	1	8
		ピンク色/紫色糞	0	0	10	22
	体重 (補正体重) ^a	8日	(100)	(99)	(98)↓↓	(97)↓↓
		11日	(100)	(99)↓	(97)↓↓	(97)↓↓
		14日	(100)	(98)↓	(96)↓↓	(95)↓↓
		19日	(100)	(98)	(96)↓↓	(96)↓↓
		22日	(100)	(99)	(98)	(96)↓↓
	累積体重増加量 ^a	8日	(100)	(72)↓	(17)↓↓	(-7)↓↓
		11日	(100)	(83)↓	(64)↓↓	(58)↓↓
		14日	(100)	(87)↓	(67)↓↓	(57)↓↓
		19日	(100)	(93)	(84)↓↓	(81)↓↓
		22日	(100)	(98)	(94)	(87)↓↓
	摂餌量 ^a	7-10日	(100)	(94)↓	(92)↓↓	(83)↓↓
10-13日		(100)	(92)↓↓	(87)↓↓	(82)↓↓	
13-16日		(100)	(93)↓↓	(90)↓↓	(86)↓↓	
16-19日		(100)	(96)	(95)↓	(93)↓↓	
妊娠数 ^f (%)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)		
流産数 ^f	0	0	0	0		
全胚吸収母動物数 ^f	0	0	0	0		
生存胎児を持つ母動物数 ^f	24	24	24	24		
着床所見 (ノ腹)	黄体数 ^a	15.3	16.1	15.5	14.9	
	着床数 ^a	14.2	14.3	13.4	13.6	
	着床前損失率 ^a (%)	7.6	11.6	14.1**	9.7	
	着床後損失率 ^a (%)	3.1	7.3*	2.9	0.8	
	早期吸収胚率 ^a (%)	2.5	6.4*	2.6	0.6	
	後期吸収胚率 ^a (%)	0.5	0.8	0.3	0.2	
	生存胎児数 ^a	13.7	13.3	13.0	13.5	
妊娠子宮重量(g) ^a	96.3	94.2	91.6	90.9		
肉眼的の病理検査 ^a	-	投与に関連した影響なし	投与に関連した影響なし	投与に関連した影響なし		
胎児動物	性比(雄%) ^a	48.7	47.1	55.2	55.1	
	体重 (g)	同腹児重量 ^a	67.7	65.1	62.9	62.4
		個体重量 ^a	4.95	4.89	4.91	4.66↓↓
	外表	奇形胎児発生数 ^a (%)	1/329 (0.3)	1/320 (0.4)	2/312 (0.8)	0/324 (0)
		腹発生数 ^a	1/24	1/24	1/24	0/24
	内臓	髄膜脳瘤 ^f	0	0	1	0
		小眼 ^f	1	0	0	0
		口蓋裂 ^f	0	0	1	0
		横隔膜ヘルニア ^f	0	1	0	0
		異常胎児発生数 ^a (%)	15/329 (4.5)	10/320 (2.7)	9/312 (2.6)	8/324 (2.4)
検査	腹発生数 ^a	7/24	7/24	7/24	6/24	
	肝嚢胞形成 ^f	1	1	3	0	
	肝退色域 ^f	1	0	0	0	
	尿管拡張 (中程度) ^f	1	0	1	1	
	尿管拡張 (軽度) ^f	12	9	6	8	
	膀胱漿膜面赤色点 ^f	0	0	1	0	
変異胎児発生数 ^a (%)	変異胎児発生数 ^a (%)	29/329 (8.4)	26/320 (8.2)	24/312 (7.1)	33/324 (11.6)	
	腹発生数 ^a	12/24	10/24	12/24	16/24	
尿管蛇行 ^f	29	26	24	33		

a : Student's t-test, ↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01.

f : Fisher's Exact Test, 有意差なし

ft : Freeman and Tukey + ANOVA, *: p<0.05, **: p<0.01.

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

表；結果(2)

		投与量 (mg/kg/day)	0	100	300	1000
胎 児 動 物	骨 格 検 査	奇形胎児発生数 ^f (%)	0/329 (0)	1/320 (0.6)	2/312 (0.6)	0/324 (0)
		腹発生数 ^f	0/24	1/24	2/24	0/24
		頭蓋骨奇形 ^f	0	0	1	0
		上顎骨癒合・鼻骨癒合 ^f	0	0	1	0
		第2頸椎弓未骨化	0	1	0	0
		異常胎児発生数 ^f (%)	102/329 (31.7)	154/320 (48.1)**	179/312 (56.7)**	242/324 (74.6)**
		腹発生数 ^f	24/24	23/24	23/24	24/24
		鼻骨中央縫線へ傾斜 ^f	5	6	2	3
		頭骨二分 ^f	0	0	1	0
		頭頂骨不完全骨化 ^f	0	0	0	1
		余剰骨化片 (頭頂骨・頭頂骨の間) ^f	0	1	2	1
		余剰骨化片 (頭頂骨間) ^f	0	0	1	0
		大泉門拡張 ^f	0	2	0	0
		鼻骨癒合 ^f	0	0	1	0
		第3頸椎弓不完全骨化 ^f	3	1	0	0
		第4頸椎弓不完全骨化 ^f	8	1*	1*	1*
		第5頸椎弓不完全骨化 ^f	10	1*	2*	1*
		第6頸椎弓不完全骨化 ^f	1	0	1	1
		第4頸椎弓小型 ^f	1	0	0	0
		頸椎腹結節未骨化 ^f	11	7	5	8
		第3頸椎体未骨化 ^f	12	61**	94**	189**
		第4頸椎体未骨化 ^f	8	26**	44**	111**
		第5頸椎体未骨化 ^f	1	7	21**	49**
		第6頸椎体未骨化 ^f	3	2	8	20**
		第7頸椎体未骨化 ^f	0	0	1	4
		第7頸椎横突起完全骨化 ^f	8	1*	0**	3
		第7胸椎弓小型 ^f	0	1	0	0
		第12胸椎弓小型 ^f	0	0	1	0
		第2胸椎体二分 ^f	1	1	0	0
		第3胸椎体二分 ^f	1	1	0	0
第4胸椎体二分 ^f	1	0	0	0		
第5胸椎体二分 ^f	2	0	1	0		
第6胸椎体二分 ^f	0	1	0	0		
第10胸椎体二分 ^f	0	1	1	0		
第11胸椎体二分 ^f	1	2	1	4		
第12胸椎体二分 ^f	2	3	5	8		
第13胸椎体二分 ^f	1	2	6	0		
第6胸椎体位置異常 ^f	0	1	0	0		

f : Fisher's Exact Test, *: p<0.05, **: p<0.01

f : Freeman and Tukey + ANOVA, *: p<0.05, **: p<0.01.

表；結果(3)

投与量 (mg/kg/day)		0	100	300	1000	
胎 児 動 物	骨 格 検 査	第1 胸椎体未骨化 ^f	1	1	0	0
		第3 胸椎体不完全骨化 ^f	1	0	0	0
		第4 胸椎体不完全骨化 ^f	1	0	1	1
		第5 胸椎体不完全骨化 ^f	1	0	0	0
		第8 胸椎体不完全骨化 ^f	0	1	0	0
		第9 胸椎体不完全骨化 ^f	0	0	0	1
		第10 胸椎体不完全骨化 ^f	2	1	1	1
		第11 胸椎体不完全骨化 ^f	0	1	3	1
		第12 胸椎体不完全骨化 ^f	0	1	4	3
		第13 胸椎体不完全骨化 ^f	0	3	2	1
		第13 胸椎体半椎体位置異常 ^f	0	0	1	0
		第5 胸椎体半椎体未骨化 ^f	0	1	0	0
		第7 胸椎体半椎体未骨化 ^f	0	1	0	0
		第12 胸椎体半椎体未骨化 ^f	0	0	1	0
		第2 胸椎体半椎体不完全骨化 ^f	1	1	0	0
		第3 胸椎体半椎体不完全骨化 ^f	0	1	0	0
		第4 胸椎体半椎体不完全骨化 ^f	1	0	0	0
		第5 胸椎体半椎体不完全骨化 ^f	0	0	1	0
		第13 胸椎体半椎体不完全骨化 ^f	0	1	1	0
		第1 腰椎体二分 ^f	0	3	2	0
		第1 腰椎体不完全骨化 ^f	0	0	1	0
		第4 腰椎体不完全骨化 ^f	0	0	1	0
		第4 腰椎横突起完全骨化 ^f	23	7**	8*	4**
		第5 腰椎横突起不完全骨化 ^f	2	2	3	4
		第6 腰椎横突起不完全骨化 ^f	3	4	3	3
		第1 仙椎形態異常 (非対称) ^f	0	1	0	0
		椎体列異常 (第11 胸椎第1 腰椎間) ^f	0	0	1	0
		椎骨数過剰 (仙尾補余き27) ^f	0	2	3	1
		第1 胸骨分節二分 ^f	0	0	6*	2
		第2 胸骨分節二分 ^f	0	2	4	3
		第3 胸骨分節二分 ^f	0	1	3	3
		第4 胸骨分節二分 ^f	0	3	3	2
		第6 胸骨分節二分 ^f	0	0	4	2
		第2 胸骨分節配列異常 (重度) ^f	0	1	1	0
		第3 胸骨分節配列異常 (重度) ^f	0	1	1	0
		第4 胸骨分節配列異常 (重度) ^f	0	2	1	0
第5 胸骨分節配列異常 (重度) ^f	3	1	3	0		
第2 胸骨分節未骨化 ^f	0	0	1	0		
第5 胸骨分節未骨化 ^f	6	2	6	5		

f: Fisher's Exact Test, *: p<0.05, **: p<0.01

表；結果(4)

投与量 (mg/kg/day)		0	100	300	1000
胎 児 動 物 骨 格 検 査	第1 胸骨分節不完全骨化 ^f	0	0	1	1
	第2 胸骨分節不完全骨化 ^f	0	2	2	1
	第3 胸骨分節不完全骨化 ^f	0	1	1	0
	第4 胸骨分節不完全骨化 ^f	0	0	1	0
	第6 胸骨分節不完全骨化 ^f	1	2	1	3
	第2 胸骨分節配列異常 (軽度) ^f	0	1	1	4
	第3 胸骨分節配列異常 (軽度) ^f	1	1	3	2
	第4 胸骨分節配列異常 (軽度) ^f	5	7	5	6
	第5 胸骨分節配列異常 (軽度) ^f	17	16	11	8
	胸骨分節徐剩骨化片 (第5・6間) ^f	0	1	0	0
	胸骨分節癒合 (第3・4) ^f	0	2	0	0
	第1 肋骨短小 ^f	0	1	0	0
	第13 肋骨短小 ^f	0	0	0	1
	完全過剩肋骨 ^f	0	5	5	4
	短小過剩肋骨 ^f	10	76**	64**	63**
	肋骨癒合 (第7・8) ^f	0	1	0	0
	変異胎児発生数 ^{ft} (%)	237/329 (71.5)	269/320 (84.1)**	280/312 (88.4)**	316/324 (97.3)**
	腹発生数 ^{ft}	24/24	24/24	24/24	24/24
	歯突起未骨化 ^f	64	131**	151**	218**
	第2 頸椎体未骨化 ^f	73	190**	218**	281**
	第7 頸椎横突起不完全骨化 ^f	72	30**	14**	41**
	第5 胸骨分節不完全骨化 ^f	92	35**	76	118*
	第5 胸骨分節二分 ^f	79	46**	60	57
踵骨未骨化 ^f	84	162**	222**	291**	
骨化:1 (良好) から6 (不良) に分類					
手骨格骨化評価点 ^a	3.82	3.97 ↑	4.03 ↑↑	4.13 ↑↑	
足骨格骨化評価点 ^a	3.98	4.20 ↑↑	4.23 ↑↑	4.42 ↑↑	

a : Student's t-test, ↑: p<0.05, ↑↑: p<0.01

f : Fisher's Exact Test, *: p<0.05, **: p<0.01

ft : Freeman and Tukey + ANOVA, **: p<0.01

骨化評価の尺度

- 評点1：骨化度が良好。中手骨/中足骨が完全に骨化し、第1/3 指骨/趾骨が完全に骨化している状態。
- 評点2：中手骨/中足骨が完全に骨化し、第1/3 指骨/趾骨が完全に骨化しているが、その他の指骨/趾骨（2個以内）が部分骨化のみの状態。
- 評点3：中手骨/中足骨が完全に骨化し、第1～3 指骨/趾骨は部分骨化または未骨化で、その他の指骨/趾骨は完全に骨化している状態。
- 評点4：中手骨/中足骨が部分骨化し、その他の中手骨/中足骨は完全に骨化している。第1～3 指骨/趾骨（6個以内）は部分骨化または未骨化な状態。
- 評点5：幾つかの中手骨/中足骨が部分骨化し、その他の中手骨/中足骨は完全に骨化している。第1～3 の大部分の指骨/趾骨（6個以上）が部分骨化または未骨化で、幾つかの指骨/趾骨は完全骨化している状態。
- 評点6：骨化度が不良。中手骨/中足骨が部分骨化または未骨化で、その他の中手骨/中足骨は完全に骨化している。第1 指骨/趾骨は未骨化で、第3 指骨/趾骨は部分骨化または未骨化な状態。

5) マウスを用いた催奇形性試験 (経口投与)

(資料 No.T-27)

試験機関 : Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年 : 1999 年(CTL/P/6238) [GLP 対応]

検体の純度 : %

試験動物 : Alpk:AP₁CD-1 妊娠マウス

試験開始時約 9 週齢以上、1 群 26 匹 (1 群 30 匹を準備したが、帝王切開前に多数の動物が分娩した 4 反復群 (各群 4 匹) は、全群からデータを除外したため)

試験期間 : 1998 年 11 月 5 日 ~ 1999 年 3 月 5 日

投与期間 14 日間 (妊娠 5 日 ~ 18 日 : 妊娠日を妊娠 1 日とする)

投与方法 : 雄動物と一晚同居させ、翌朝膣栓が認められた日を妊娠 1 日とした。検体を水に懸濁させ、0、10、60、150 および 600 mg/kg の用量で、妊娠 5 日から 18 日までの 14 日間、1 日 1 回強制経口投与した (投与液量 : 10 mL/kg)。対照群 (0 mg/kg) は 2 群設定した。

投与量設定根拠 ;

試験項目：

親動物；一般状態、生死および流産について毎日観察し、体重を妊娠 3 日、5 日から 18 日の投与直前、および妊娠 19 日に測定した。摂餌量は妊娠 1-3、3-5、5-8、8-11、11-14、14-17 および 17-19 日間の摂取量から 1 日当たりの量を求めた。妊娠 19 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、子宮内死亡数（早期・後期）を調べた。

生存胎児；生存および死亡胎児数、体重を測定し、性を判定した。全例の生存胎児について、剖検時に外表および内臓検査を行った後、二重染色法により全例の骨格標本を複製し、骨および軟骨の骨格検査を実施した。奇形、異常および変異を調べた。

結果：概要を表に示す。

親動物；60mg/kg 群の 1 例は、妊娠 9 日から緑膿を含む皮下腫瘍が確認され、体重および摂餌量に減少が認められたため妊娠 12 日に屠殺した。この 1 例の所見は偶発的であり投与との関連はないと考えられる。

一般状態および体重には、投与に関連する変化はみられなかった。

投与群の摂餌量は対照群より増加する傾向にあったが、用量相関性は認められなかった。

全例が妊娠し、全胚吸収はなかった。また、着床数、黄体数、子宮内死亡胚数等の妊娠状態を示す各指標に関しても、投与による影響は認められなかった。

胎児動物；胎児体重は 10 および 600mg/kg 群で有意な増加がみられたが、用量相関性が認められないことから投与による影響とは考えられなかった。

外表検査および内臓検査では、600mg/kg 群で外表および内臓異常の発生率が増加した。しかし、各所見に関しては、対照群と有意差が認められなかったことから、自然発生的に認められる異常を反映したものであり、検体投与による影響ではないと考えられた。

骨格奇形、異常、変異のいずれに関しても、発生率に投与による影響は認められなかった。また、ほとんどの所見は、対照群間でも発生率に差が大きく、用量相関性がみられないことから、偶発的であることが示唆された。しかし、頸椎体未骨化、歯突起未骨化、半胸骨分節位置異常（第 2、第 4）、第 5 胸骨分節不完全裂、第 6 半胸骨分節不完全骨化または不完全癒合に関して、600mg/kg 群で発生率が増加し、骨化遅延がみられた。

10mg/kg や 60mg/kg 群でも頸椎体未骨化（第 2、第 6、第 7）あるいは歯突起未骨化、第 4 半胸骨分節位置異常、第 6 半胸骨分節不完全骨化または不完全癒合の発生率が対照群との比較で有意であったが、150mg/kg 群の発生に統計学的有意差はなかった。

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

また、骨格変異では、過剰肋骨短小の発生は 60 および 600mg/kg 群で有意に増加し、150mg/kg 群でも認められたが、統計学的有意差はなかった。600mg/kg 群では完全頸肋および踵骨の骨化の発生率は最も低値であり、同群における骨化低下が示唆された。しかし、手足骨格の骨化平均評価点は対照群と差がなく、骨化程度に関しても検体による毒性作用はないと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠マウスに投与した場合、親動物に対する影響は本試験条件下では認められなかった。

胎児に対する影響として 600mg/kg 群で頸椎体未骨化、歯突起未骨化、半胸骨分節位置異常、胸骨分節不完全裂、半胸骨分節不完全骨化または不完全癒合の増加、完全頸肋の低値がみられ骨化遅延が増加したが、体重に影響はみられなかった。

踵骨の骨化遅延が 600mg/kg 群で増加したが、手足骨格の骨化進行度に差がないので毒性を意味する変化ではないと考えられた。

また、過剰肋骨短小が増加したが、腰椎数に変化がないこと、異常胎児発生数に用量依存性がないことから毒性学的に重要ではないと考えられた。

従って、本試験における母および胎児に対する無毒性量は 600mg/kg/day であると考えられた。

また、本剤のマウス胎児に対する催奇形性は 600mg/kg/day でも認められなかった。

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

表 1. 親動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600	
1 群当たりの動物数		26	26	26	26	26	26	
親動物	死亡数	0	0	0	1	0	0	
	一般状態	—	—	影響なし	皮下腫瘍: 1 9-12 日	影響なし	影響なし	
	体重 (補正体重) ^a	—	—	増加(102)↑ 妊娠 11 日	増加 (101-102)↑ 妊娠 8,10,11 日	影響なし	影響なし	
	累積体重増加量 ^a	—	—	増加(119)↑ 妊娠 11 日	増加 (121, 109)↑ 妊娠 11,19 日	影響なし	影響なし	
	摂餌量 ^a	5-8 日	—	—	(108)↑	(110)↑	(105) ^b	(108) ^b
		8-11 日	—	—	(110)↑	(109)↑	(106) ^b	(107) ^b
		11-14 日	—	—	(109)↑	(105) ^b	(105)↑	(108)↑
		14-17 日	—	—	(107)↑	(109)↑	(104) ^b	(107) ^b
		17-19 日	—	—	(110)↑	(107)↑	(104) ^b	(106) ^b
	妊娠数 ^f (%)	24/26 (92.3)	26/26 (100)	24/26 (92.3)	25/26 (96.2)	25/26 (96.2)	23/26 (88.5)	
	流産数 ^f	0	0	0	0	0	0	
	全胚吸収母動物数 ^f	0	0	0	0	0	0	
	生存胎児を持つ母動物数 ^f	24	26	24	25	25	23	
	着床所見 (/腹)	黄体数 ^a	15.8	15.1	15.7	15.6	15.4	16.6
		着床数 ^a	13.6	13.0	13.3	13.9	13.6	13.9
		着床前損失率 ^{ft} (%)	12.6	13.5	13.9	10.5	11.9	15.1
		着床後損失率 ^{ft} (%)	10.0	7.2	6.9	9.5	7.6	8.0
早期吸収胚率 ^{ft} (%)		8.1	5.9	6.1	7.3	5.6	6.4	
後期吸収胚率 ^{ft} (%)		1.9	1.3	0.8	2.2	1.9	1.6	
生存胎児数 ^a	12.5	12.1	12.6	12.6	12.5	12.8		
妊娠子宮重量(g) ^a	21.3	20.8	23.3	22.5	22.5	23.6		
肉眼的病理検査	腎盂拡張 (片側) : 1 胃ガス膨脹 : 1	所見なし	腎盂拡張 (片側) : 2 尿管膨脹 : 1	皮下腫瘍 : 1	腎盂拡張 (片側) : 1	所見なし		

補正体重 ; 妊娠 5 日の体重を共変量として補正した平均値

a : Student's t-test, ↑:p<0.05, ↑↑:p<0.01.

f : Fisher's Exact Test, 有意差なし

ft : Freeman and Tukey+ANOVA, 有意差なし

b : 増加傾向がみられ、参考値として記載した

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

表 2-1 児動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600
胎	性 比 (雄%) ⁿ	58.6	48.3	51.1	56.6	58.7	54.4
	体重 (g)	15.7	15.6	16.6	16.5	16.5	17.1
児	同腹児重量 ^a	1.25	1.29	1.34 ↑	1.32	1.32	1.34 ↑
	個体重量 ^a						
動	奇形胎児発生数 ⁿ (%)	3/299(1.0)	6/315(1.8)	2/302(0.7)	2/315(0.7)	2/313(0.5)	4/294(1.5)
	腹発生数 ⁿ	3/24	1/26	2/24	2/25	2/25	3/23
物	髄膜脳瘤 ^f	1	0	0	1	0	0
	外						
表	耳介形態異常 ^f	0	0	0	1	0	0
	胸腹壁破裂 ^f	0	0	1	0	0	0
内	腹壁破裂 ^f	0	0	0	0	1	2
	臍帯ヘルニア ^f	1	0	0	0	0	1
臓	臍ヘルニア ^f	1	0	1	0	1	0
	多指 ^f	0	3	0	0	0	0
査	合指 ^f	1	1	0	0	0	1
	短指 ^f	1	0	0	1	0	2
物	小前肢 ^f	0	0	0	0	0	1
	多趾 ^f	1	3	0	1	0	0
内	合趾 ^f	0	3	0	0	0	0
	短趾 ^f	0	0	0	0	0	1
臓	異常回転後肢 ^f	0	0	0	0	0	2
	過屈曲足 (重度) ^f	0	0	0	0	1	0
査	小眼球 ^f	1	0	0	0	0	0
	小下顎 ^f	1	0	0	0	0	0
物	下顎強直 ^f	0	0	0	1	0	0
	口蓋裂 ^f	1	0	0	0	0	2
内	内臓逆位 ^f	1	0	0	0	0	0
	右鎖骨下動脈起始異常 (肺動脈) ^f	1	0	0	0	0	0
臓	肺葉欠損 ^f	0	0	0	1	0	0
	重度尿管拡張 ^f	1	0	0	0	0	0
査	異常胎児発生数 ⁿ (%)	12/299(1.0)	17/315(5.0)	16/302(4.9)	17/315(5.0)	21/313(5.9)	26/294(9.5)*
	腹発生数 ⁿ (%)	11/24	9/26	10/24	11/25	12/25	12/23
物	不完全過剰指 ^f	1	4	1	2	1	2
	過屈曲後肢 (軽度) ^f	0	0	0	0	2	0
査	過屈曲足 (軽度) ^f	0	1	1	5*	2	4
	曲尾 (軽度) ^f	1	0	0	0	0	0
内	胸腺退色 ^f	3	1	7	5	5	3
	大動脈拡張 (軽度) ^f	0	0	0	1	0	0
臓	大動脈延長 ^f	0	0	1	0	0	0
	血管起始異常 (肺動脈) ^f	0	0	0	0	0	1
査	肺動脈起始異常 ^f	1	0	0	0	0	0
	肺動脈延長 ^f	0	0	1	0	0	0
内	臍動脈膀胱両側走行 ^f	0	1	0	0	0	0
	臍動脈膀胱左側走行 ^f	9	12	7	7	13	16
臓	嚢胞形成 ^f	0	0	1	0	0	1
	腎位置異常 (尾側) ^f	0	0	0	0	0	1
査	副腎位置異常 (尾側) ^f	0	0	0	0	0	1
	膀胱拡張 ^f	1	3	0	0	0	0
物	精巣位置異常 (頭側) ^f	0	0	0	0	0	1
	変異胎児発生数 ⁿ (%)	0/299(0)	0/315(0)	0/302(0)	0/315(0)	0/313(0)	0/294(0)
内	腹発生数 ⁿ (%)	0/24	0/26	0/24	0/25	0/25	0/23

a : Student's t-test, ↑: p<0.05, ↑↑: p<0.01.

f : Fisher's Exact Test, *: p<0.05, ** : p<0.01. ft : Freeman and Tukey + ANOVA, *: p<0.05, **: p<0.01.

表 2-2 児動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600	
	奇形胎児発生数 ^f (%)	3/299(1.0)	9/315(2.8)	3/302(0.9)	5/315(1.6)	3/313(0.8)	6/294(2.1)	
	腹発生数 ^f	3/24	3/26	3/24	3/25	3/25	523	
胎	骨	前頭骨不完全骨化 (重度) ^f	1	0	0	11	0	0
		頭頂間骨欠損 ^f	1	0	0	0	0	0
		頬骨位置異常 (腹側) ^f	1	0	0	1	0	0
		下顎骨癒合 ^f	1	0	0	1	0	0
		下顎骨骨化形態異常 ^f	0	0	0	1	0	0
		下顎骨小型 ^f	1	0	0	1	0	0
		鼻骨不完全骨化 (重度) ^f	0	0	0	4*	0	0
		顎間骨癒合 ^f	1	0	0	1	0	0
		顎間骨小型 ^f	0	0	0	1	0	0
		蝶形骨翼状突起拡張 ^f	1	0	0	0	0	1
児	格	頭蓋骨奇形 ^f	1	0	0	1	0	0
		頸椎腹板が第5椎弓軟骨と癒合 ^f	0	0	0	0	1	0
		頸椎配列異常 ^f	0	0	0	1	0	0
		頸椎欠損 (特定不可) ^f	0	0	0	1	0	0
		第7頸椎弓・第1胸椎弓癒合 ^f	0	0	0	0	1	0
		第3-4胸椎弓癒合 ^f	1	0	0	0	0	0
		胸椎弓解離 ^f	0	0	0	0	0	1
		第1-2腰椎弓癒合 ^f	1	0	0	0	0	0
		第6腰椎弓軟骨不完全癒合 ^f	0	0	0	0	0	1
		腰椎弓背側軟骨癒合 ^f	0	3	1	1	1	1
動物	査	腰椎弓解離 ^f	0	0	0	0	0	1
		第1仙椎弓軟骨裂 ^f	0	0	1	0	0	0
		仙椎配列異常 ^f	0	0	0	1	0	0
		第4胸骨分節裂 ^f	0	0	0	0	0	1
		第3-4胸骨軟骨間裂 ^f	0	0	0	0	0	1
		第5胸骨分節裂 ^f	1	0	0	0	0	1
		第4-5胸骨軟骨間裂 ^f	0	0	0	0	0	1
		第6胸骨分節裂 ^f	1	0	0	0	0	2
		第5-6胸骨軟骨間裂 ^f	0	0	0	0	0	1
		全胸骨分節裂 ^f	0	0	1	0	0	0
		第13肋骨欠損 ^f	0	0	0	0	0	2
		第4肋軟骨・第3肋骨癒合 ^f	0	1	0	0	0	0
		指節骨過剰 ^f	0	2	0	0	0	0
		中手骨過剰 ^f	0	2	0	0	0	0
		趾節骨過剰 ^f	1	3	0	1	0	0
		中足骨過剰 ^f	0	0	0	1	0	0

f : Fisher's Exact Test. *:p<0.05, **:p<0.01

ft : Freeman and Tukey + ANOVA, *:p<0.05, **:p<0.01

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

表 2-3 児動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600	
	異常胎児発生数 ^f (%)	179/299 (60.0)	152/315 (49.3)	185/302* (63.7)	167/315 (52.5)	157/313 (50.8)	177/294 (58.9)	
	腹発生数 ^f	23/24	25/26	24/24	25/25	25/25	23/23	
胎	骨	前泉門拡張 (軽度) ^f	3	0	1	0	3	1
		底後頭骨骨化形態異常 ^f	0	0	0	1	0	0
		底蝶形骨不完全骨化 ^f	1	0	0	11**	0	0
		前頭骨不完全骨化 (軽度) ^f	0	0	0	1	0	0
		底舌骨二分骨化 ^f	0	0	0	0	1	0
		舌骨角大型 (骨化域存在) ^f	0	0	1	0	0	0
		底舌骨不完全骨化 ^f	2	1	2	13**	0	1
		底舌骨未骨化 ^f	0	0	0	5**	0	0
		骨化域存在 (前頭骨付近) ^f	0	0	0	0	1	0
		頭頂間骨不完全骨化 ^f	17	7	9	9	1**	11
児	格	下顎骨不完全骨化 ^f	1	0	0	1	2	0
		鼻骨不完全骨化 (軽度) ^f	3	0	8*	12**	4	2
		上後頭骨二分骨化 ^f	0	0	0	1	0	1
		上後頭骨孔 (小型) ^f	13	21	18	8*	13	21
		上後頭骨不完全骨化 (重度) ^f	1	1	1	6*	1	0
		上後頭骨不完全骨化 (軽度) ^f	2	6	22**	20**	19**	10
		口蓋骨不完全骨化 ^f	3	0	1	14**	3	2
		口蓋骨骨化形態異常 ^f	0	0	0	0	0	1
		後泉門拡張 (軽度) ^f	1	1	2	0	1	0
		頭頂骨不完全骨化 (軽度) ^f	15	13	10	10	7	18
動物	査	側頭部鱗部突起不完全骨化 ^f	0	1	0	2	0	1
		第2頸椎体未骨化 ^f	9	5	13	21**	11	18**
		第6頸椎体未骨化 ^f	22	8	29**	26	19	30**
		第7頸椎体未骨化 ^f	4	2	16**	18**	2	15**
		歯突起不完全骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		歯突起未骨化 ^f	8	8	15	21**	14	22**
		腹弓二分骨化 ^f	1	0	0	0	0	1
		腹弓裂 ^f	0	0	1	0	0	0
		腹弓不完全骨化 ^f	0	0	0	2	1	0
		腹弓三分骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		第1頸椎弓背側部狭小 ^f	0	0	0	0	0	1
		第2頸椎弓二分 ^f	4	2	0	1	0	1
		第2頸椎弓不完全骨化 ^f	0	2	0	1	0	0
		第2頸椎弓背側部狭小 ^f	15	17	18	16	18	14
		第2頸椎弓骨化片を伴う狭小 ^f	17	14	7	7	6*	3**
		第2頸椎弓二分骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		腹板上第5頸椎弓 ^f	0	0	0	0	1	0
		第11胸椎体二分骨化 ^f	0	0	0	0	0	1
		第11胸椎半椎体不完全骨化 (軽度) ^f	1	0	0	0	0	0
		第10・11胸椎半椎軟骨癒合 ^f	0	0	0	0	0	1
第10・11胸椎半椎体癒合 ^f	0	0	0	0	0	1		

f: Fisher's Exact Test, *p<0.05, **p<0.01

ft: Freeman and Tukey + ANOVA, *p<0.05, **p<0.01.

表 2-4 兎動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600	
胎	骨	第1 胸椎体不完全骨化 ^f	3	0	1	5	1	1
		第1 胸椎未骨化 ^f	0	0	0	9**	0	1
		第2 胸椎半椎体未骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		第2 胸椎体不完全骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		第3 胸椎半椎体未骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		第2・3 胸椎半椎軟骨癒合 ^f	1	0	0	0	0	0
		第4 胸椎半椎体未骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		第4 胸椎体非対称骨化 ^f	0	1	0	0	0	0
児	格	第6 胸椎体非対称骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		第7 胸椎体二分骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		第8 胸椎半椎体不完全癒合 (中等度) ^f	1	0	0	0	0	0
		第5 胸椎弓不完全骨化 ^f	0	0	0	0	0	1
		第7 胸椎弓余剰骨化片 (頭側) ^f	0	1	0	0	0	0
		胸椎配列異常 (軽度) ^f	0	0	0	1	1	1
		胸椎腹側軟骨配列異常 (軽度) ^f	0	0	1	0	0	0
		第1 腰椎体不完全骨化 ^f	1	0	0	0	0	0
		第1 腰椎体未骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		第2 腰椎体未骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
検	査	第3 腰椎体未骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		第4 腰椎体未骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		第5 腰椎半椎体未骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		第6 腰椎体二分骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		第1 腰椎弓小型 ^f	1	0	0	0	0	0
		第6 腰椎弓不完全骨化 ^f	0	0	0	0	0	1
		第6 腰椎弓軟骨位置異常 (頭側) ^f	0	0	0	0	0	1
		第1 仙椎体骨化形態異常 ^f	0	0	0	1	0	0
		第1 仙椎弓棘突起・最後腰椎突起癒合 ^f	0	1	2	0	0	1
		第1・2 仙椎棘突起癒合 ^f	0	0	2	2	0	0
第2・3 仙椎棘突起癒合 ^f	0	0	0	1	0	0		
査	査	第1 胸骨分節二分骨化 ^f	0	0	1	0	0	0
		第1 胸骨分節不完全骨化 ^f	0	0	0	1	0	0
		第1 胸骨分節骨化形態異常 ^f	3	2	4	3	0	1
		第1 半胸骨分節位置異常 (重度) ^f	0	0	2	0	0	0
		第1 半胸骨分節位置異常 (軽度) ^f	0	0	0	0	1	2
		第2 胸骨分節二分骨化 ^f	3	2	4	1	5	2
		第1・2 胸骨分節癒合 (軽度) ^f	0	3	5	2	5	4
		第2 胸骨分節不完全骨化 ^f	0	0	0	2	1	0
		第2 胸骨分節骨化形態異常 ^f	1	0	0	0	0	0
		第2 半胸骨分節位置異常 (重度) ^f	4	2	4	1	5	2
		第2 半胸骨分節位置異常 (軽度) ^f	4	2	8	7	7	10*
		第3 胸骨分節二分骨化 ^f	2	3	9*	6	4	3
		第3 胸骨分節余剰骨化片 (頭側) ^f	0	0	0	0	1	0
		第2・3 胸骨分節癒合 (重度) ^f	0	0	1	0	0	2
		第2・3 胸骨分節癒合 (軽度) ^f	0	2	4	2	3	0

f: Fisher's Exact Test, *:p<0.05, **:p<0.01

表 2-5 児動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600	
胎	骨	第3胸骨分節不完全骨化 ^f	1	0	0	4	0	0
		第3半胸骨分節位置異常 (重度) ^f	1	4	9*	5	3	3
		第3半胸骨分節位置異常 (軽度) ^f	11	4	8	12	12	13
		第3胸骨分節不完全裂 ^f	0	0	0	0	0	1
		第3半胸骨分節未骨化 ^f	0	0	1	0	0	0
		第4胸骨分節二分骨化 ^f	4	1	7	7	6	2
		第3・4胸骨分節癒合 (重度) ^f	0	1	2	0	0	0
		第3・4胸骨分節癒合 (軽度) ^f	2	2	4	4	6	2
		第4半胸骨分節不完全癒合 ^f	3	1	3	2	0	2
		第4胸骨分節不完全骨化 ^f	1	0	0	8**	4	1
児	格	第4胸骨分節未骨化 ^f	0	0	1	0	0	0
		第4半胸骨分節位置異常 (重度) ^f	4	2	9	4	3	3
		第4半胸骨分節位置異常 (軽度) ^f	9	16	16	26*	20	24*
		第4胸骨分節不完全裂 ^f	16	19	23	17	13	20
		第5胸骨分節二分骨化 ^f	13	13	26*	19	16	18
		第4・5胸骨分節癒合 (重度) ^f	0	1	1	0	0	0
		第4・5胸骨分節癒合 (軽度) ^f	0	4	5	2	3	2
		第5半胸骨分節不完全癒合 ^f	22	16	23	34*	15	24
		第5胸骨分節不完全骨化 ^f	3	4	9	12*	11*	7
		第5胸骨分節骨化形態異常 ^f	0	0	1	0	1	0
動物	査	第5胸骨分節未骨化 ^f	1	0	4	10**	2	1
		第5半胸骨分節位置異常 (重度) ^f	7	9	16	16	7	8
		第5半胸骨分節位置異常 (軽度) ^f	24	25	25	33	29	30
		第5胸骨分節不完全裂 ^f	18	15	13	15	10	29*
		第5胸骨分節断片化骨化 ^f	1	1	1	1	0	0
		第5半胸骨分節未骨化 ^f	1	0	1	0	0	0
		第6胸骨分節二分骨化 ^f	7	2	13*	20**	8	2
		第6胸骨分節余剩骨化片 (頭側) ^f	0	1	2	4	2	2
		第6半胸骨分節不完全癒合 ^f	22	11	30*	23	21	44**
		第6胸骨分節不完全骨化 ^f	7	1	11*	16**	10	14**
動物	査	余剩骨化片と第6胸骨分節癒合 ^f	0	0	0	1	0	0
		第6胸骨分節孔 (大型) ^f	8	0	4	5	14**	8
		第6胸骨分節骨化形態異常 ^f	16	15	24	11	15	7
		第6胸骨分節断片化骨化 ^f	0	0	0	0	1	1
		第5・6胸骨軟骨間不完全裂 ^f	0	0	0	0	1	0
		全胸骨分節癒合 (軽度) ^f	0	0	1	0	0	0
		剣状軟骨形態異常 ^f	0	0	0	2	1	1
		剣状軟骨に骨化片 ^f	0	0	0	0	1	0
		第11肋軟骨不連続 ^f	1	0	0	0	0	0
		第11肋軟骨短小 ^f	1	0	0	0	1	0
動物	査	第13肋軟骨不連続 ^f	1	0	0	0	0	0
		第13肋骨未骨化 ^f	0	0	0	0	0	1
		第13肋骨短小 ^f	0	0	0	1	0	4*

f: Fisher's Exact Test, *:p<0.05, **:p<0.01

表 2-6 児動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600				
胎	骨	第2肋軟骨・第1肋骨癒合 (軽度) ^f	0	0	0	0	0	1			
		第4肋軟骨・第3肋骨癒合 (軽度) ^f	0	0	1	0	0	0			
		第5肋軟骨・第4肋骨癒合 (軽度) ^f	1	0	0	0	2	0			
		第5・6肋骨癒合 (軽度) ^f	0	0	0	0	0	1			
		第7肋軟骨・胸骨非癒合 ^f	0	0	0	1	0	2			
		第8肋軟骨・第7肋骨癒合 (軽度) ^f	0	0	1	0	0	0			
		第8肋軟骨形態異常 ^f	0	0	0	0	0	1			
		第9肋軟骨形態異常 ^f	1	1	1	0	0	1			
		胸骨側肋軟骨位置異常 (頭側) ^f	0	0	1	0	1	0			
		胸骨側肋軟骨位置異常 (尾側) ^f	0	0	1	1	3	1			
児	格	過剰肋軟骨 (脊柱付着) ^f	0	3	0	0	0	0			
		過剰肋軟骨 (脊柱非付着) ^f	3	1	3	0	0	0			
		完全過剰肋骨 ^f	1	1	0	2	1	1			
		過剰肋骨短小 ^f	3	3	9	10*	5	16**			
		動物	検	完全頸肋 ^f	17	16	25	10	10	6*	
				中手骨大型 ^f	0	1	0	0	0	0	
				坐骨不完全骨化 ^f	0	0	0	3	0	0	
				査	脊椎数減少 (仙尾椎除き25、両側) ^f	5	4	4	1	3	7
					脊椎数減少 (仙尾椎除き25、左側) ^f	2	0	2	0	0	0
					脊椎数減少 (仙尾椎除き25、右側) ^f	2	4	8	5	7	1
脊椎数過剰 (仙尾椎除き27、左側) ^f	0				0	0	1	0	0		
脊椎数過剰 (仙尾椎除き27、右側) ^f	2				0	1	1	0	0		
距骨骨化 ^f	1				0	1	0	0	0		
変異胎児発生数 ^{ft} (%)				264/299 (88.5)	266/315 (83.8)	270/302 (89.0)	248/315** (78.8)	267/313 (84.6)	244/294 (83.9)		
腹発生数 ^{ft}		24/24	26/26	24/24	25/25	25/25	23/23				
動物	査	前頭骨間縫合骨未骨化 ^f	94	54	75	76	85	98**			
		第3頸椎体未骨化 ^f	39	11	36	36	39*	50**			
		第4頸椎体未骨化 ^f	45	17	44	38	46	62**			
		第5頸椎体未骨化 ^f	37	11	36	35	40*	58**			
		第6胸骨分節孔 (小型) ^f	85	104	84	100	99	106			
		剣状軟骨裂 ^f	60	64	80*	47	74	65			
		頸肋短小 ^f	111	101	99	95	113	85			
		踵骨骨化 ^f	86	114	94	58**	69**	33**			

f : Fisher's Exact Test, *:p<0.05, **:p<0.01, ft : Freeman and Tukey+ANOVA, **:p<0.01

表 2-7 児動物の所見

		投与量 (mg/kg/day)		0	0	10	60	150	600
骨 格 検 査	骨 化 度	胎児数		299	315	302	315	313	294
		骨化：1(良好) から 6(不良) に分類)							
		手骨格骨化評価点 ^a		3.96	3.78	3.82	3.99	3.84	3.98
		足骨格骨化評価点 ^a		3.68	3.36	3.81	3.73	3.55	3.93

a: Student's t-test, 有意差なし

骨化評価の尺度：

<手骨格骨化評点>

評点 1：骨化度が良好。第 2 指骨が完全に骨化している状態。

評点 2：第 2 指骨の不完全骨化が 1 個以上で、その他の指骨は完全骨化している状態。

評点 3：第 2 指骨の完全骨化が 1 個以上で、その他の指骨は不完全骨化、但し、指骨の未骨化が 1 個以下の状態。

評点 4：第 2 指骨が不完全骨化で、未骨化が 1 個以上の状態。

評点 5：第 2 指骨が未骨化な状態。

評点 6：骨化度が不良。第 2 指骨は未骨化で、第 1 と第 3 指骨は 1 個以上未骨化の状態。

<足骨格骨化評点>

評点 1：骨化度が良好。第 2 趾骨は完全に骨化しているが、不完全骨化が 1 個以上ある状態。

評点 2：第 2 趾骨が未骨化で、第 1 趾骨の不完全骨化が 1 個以下で、その他の趾骨は完全骨化している状態。

評点 3：第 2 趾骨が未骨化で、第 1 趾骨も不完全骨化が 2 個以上あるが、その他の趾骨は不完全骨化の状態。

評点 4：第 2 趾骨が未骨化で、第 1 趾骨は未骨化が 1 個以下、完全骨化が 1 個以上で、その他の趾骨は不完全骨化の状態。

評点 5：第 2 趾骨が未骨化で、第 1 趾骨は未骨化が 1 個以上、その他の趾骨は不完全骨化の状態。

評点 6：骨化度が不良。第 1 と第 2 趾骨が未骨化の状態。

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

6) ウサギを用いた催奇形性試験 (経口投与)

(資料 No.T-28)

試験機関 :Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年 : 1999 年 (CTL/P/4892) [GLP 対応]

検体の純度 : %

試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ

開始時 18~25 週齢、1 群 20 匹

試験期間 : 1995 年 8 月 9 日~1995 年 9 月 15 日

投与期間 13 日間 (妊娠 8 日~20 日 : 妊娠日を妊娠 1 日とする)

投与方法 : 雄動物と自然交配させ、交尾した日を妊娠 1 日とした。検体を脱イオン化水に懸濁させ、0、100、250 および 500 mg/kg の用量で、妊娠 8 日から 20 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した (投与量 : 10 ml/kg)。

試験項目 :

親動物 ; 一般状態、生死および流産について毎日観察し、体重を妊娠 4 日、8 から 20 日の間は毎日、妊娠 23 日、26 日および 30 日に測定した。摂餌量は妊娠 4-8、8-11、11-14、14-17、17-20、20-23 および 23-26 日の摂取量から 1 日当たりの量を求めた。妊娠 30 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、子宮内死亡数 (早期・後期) を調べた。

生存胎児 ; 生存および死亡胎児数、体重を測定し、性を判定した。全例の生存胎児について、剖検時に外表および内臓検査を行った後、全例の骨格標本を作製し骨格検査を実施した。奇形、異常および変異を調べた。

結果：概要を表に示す。

親動物；100mg/kg 群の1例で、投与前妊娠4日に死亡が認められた。250mg/kg 群の1例は体重減少が著しく、重篤な症状が認められたため、妊娠22日に屠殺した。

体重変化は、500mg/kg 群では投与期間中は低値であり、投与終了後剖検時には対照群と同レベルに回復した。

投与期間中の摂餌量は、いずれの投与群でも対照群と同レベルであり、投与の影響は認められなかった。

一般状態の変化として、排便量減少あるいは無便が投与群で観察されたが、対照群と比較して統計学的有意差がみられていないので偶発的変化と考えられた。また、着色尿（赤色/褐色）が全投与群で観察され、用量に相関した増加が認められた。

全胚吸収はみられなかったが、流産が100mg/kg 群で1例（妊娠29日）、250mg/kg 群で2例（妊娠25、28日）、500mg/kg 群で2例（妊娠23、25日）に認められた。

100mg/kg 群の流産発生については、投与による影響は否定し難いものの、流産の発生数が1例であり、背景データの範囲内にあることから、無毒性量の範疇と考えられた。250および500mg/kg 群の流産については出血（250mg/kg 群1例、500mg/kg 群2例）が観察された。250mg/kg および500mg/kg 群の間に用量反応性はなかったが、投与による毒性と考えられた。

500mg/kg 群で着床前損失率が増加したが、着床は投与開始前であるので投与の影響ではないと判断された。

胎児動物；250mg/kg 群で雄児が少なく児の性比に関して有意差が認められたが、500mg/kg 群で認められなかったことから、偶発的変化と考えられる。

外表および内臓奇形の発生数は、100mg/kg 群で5例と増加したが、より高用量群で奇形の増加がないことから、検体の毒性作用による影響ではないと考えられた。外表および内臓の異常および変異、骨格奇形の所見の種類および発生頻度には、投与による影響は認められなかった。

骨格異常に関しては、異常がみられた胎児の割合は対照群よりも投与群で低値であった。これは、主として、第7頸椎横突起完全骨化、第7頸肋および第3腰椎横突起完全骨化の発生が低かったことによるものであり、骨化遅延がみられた。

加えて、第7頸椎横突起不完全骨化、舌骨形態異常、第5胸骨分節未骨化、第6胸骨分節不完全骨化および短小過剰肋骨分離の発生数が投与群で低値であった。

一方、骨格変異が認められた胎児の割合は、投与群の方が対照群より高値であり、250および500mg/kg 群は対照群に比べて有意であった。歯突起不完全骨化が増加し、骨化遅延がみられた。また、第5胸骨分節不完全骨化は投与群で低値であった。

椎骨数（27）過剰および完全過剰肋骨が投与群で増加した。

手足骨格の骨化程度は対照群と同程度であり、投与に関連した変化は認められなかった。

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

椎骨数（27）過剰および完全過剰肋骨が投与群で増加がみられたが、胎児発生数は用量に依存した変化ではなかった。背景データとの比較では、椎骨数過剰については、投与群の胎児発生数は背景データの範囲を超えるものであったが、完全過剰肋骨の胎児発生数は背景データの範囲の上限に近似した発生数であった。さらに、腹ごとの胎児発生率を検討すると、完全過剰肋骨に関しては投与群で高値を示し、対照群と比較して有意差がみられた。椎骨数過剰については、250 および 500mg/kg 群の腹ごとの胎児発生率は対照群と比較して有意差がみられたが、100mg/kg 群では対照群と比較して有意差はみられなかった（表 2-1、表 2-2）。

従って、250 および 500mg/kg 群では椎骨数過剰および完全過剰肋骨の発生が高値であり、投与の影響と考えられた。また、100mg/kg 群については、椎骨数過剰は腹ごとの胎児発生率に統計学的有意差がみられなかったことから、完全過剰肋骨は背景データに近似した発生であったことから、毒性学的意義は小さいと考えられた。

以上のことより、本剤を妊娠ウサギに投与した場合、母動物に対する影響として、500mg/kg 群で投与期間中、体重は低値であり、250mg/kg 以上の投与群で流産が各 2 例に発生した。

一般状態として、着色尿（赤色/褐色）が用量に相関して増加した

胎児に対する影響としては、全投与群で骨化程度を示す所見に関して発生率が増加あるいは低値であったが、正常な骨格構造への影響は認められなかった。

第 7 頸椎横突起完全骨化、第 7 頸肋および第 3 腰椎横突起完全骨化が低値であり、歯突起不完全骨化が増加し、骨化遅延がみられたが、胎児体重に影響がみられていないので毒性学的に重要ではないと考えられた。

椎骨数（27）過剰および完全過剰肋骨が増加し、骨格変異の増加が 250 および 500mg/kg 群で認められた。

従って、本試験における母動物に対する無毒性量は、500mg/kg 群で体重増加抑制がみられたこと、250mg/kg 以上で流産数が増加したことから 100mg/kg/day であり*、胎児に対する無毒性量は 250mg/kg 以上で骨格変異が増加したことから 100mg/kg/day であると考えられる。

また、最高投与量である 500mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性は認められなかった。

*食品安全委員会における第 45 回農薬専門調査会（2008 年 11 月 18 日）で、流産の発生は背景データの範囲内にあること及び再現性がなかったことから母動物に対する無毒性量は 250mg/kg/day と評価された。

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

表1 結果 (1)

投与量 (mg/kg/day)		0	100	250	500	
1群当たりの動物数		20	20	20	20	
死亡数		0	1	1	0	
一般状態 ^f	排糞量減少	2	5	4	7	
	無排糞	0	0	3	3	
	着色尿	1	6*	12**	12**	
体重 (補正体重) ^a	9日	(100)	(100)	(100)	(100)	
	18日	(100)	(99)	(99)	(98)↓	
	20日	(100)	(99)	(100)	(98)	
	23日	(100)	(99)	(100)	(97)	
	30日	(100)	(101)	(101)	(98)	
累積体重増加量 ^a	18日	(100)	(88)	(92)	(59)↓	
摂餌量 ^a	26-30日	(100)	(109)	(112)	(139)↑↑	
親動物	妊娠数 ^f (%)	18/20 (90)	15/20 (75)	20/20 (100)	18/20 (90)	
	流産数 ^f	0	1	2	2	
	全胚吸収母動物数 ^f	0	0	0	0	
	生存胎児を持つ母動物数 ^f	18	14	17	16	
	着床所見 (ノ腹)	黄体数 ^a	10.3	10.8	11.5	10.8
		着床数 ^a	9.3	9.6	9.9	8.1
		着床前損失率 ^{ft} (%)	8.7	10.4	14.1	24.7*
		着床後損失率 ^{ft} (%)	10.3	7.3	10.2	9.3
		早期吸収胚率 ^{ft} (%)	4.5	4.7	2.1	6.2
		後期吸収胚率 ^{ft} (%)	5.8	2.6	8.1	3.1
生存胎児数 ^a	8.3	8.9	8.8	7.4		
妊娠子宮重量(g) ^a	548	564	580	467		
肉眼的病理検査 ^{ft}	—	投与に関連した所見なし	投与に関連した所見なし	投与に関連した所見なし		
胎児動物	性比 (雄%) ^{ft}	56.1	57.8	43.1*	57.6	
	体重 (g)	同腹児重量 ^a	358	378	369	302
		個体重量 ^a	43.7	42.7	43.0	43.0
	外表	奇形胎児発生数 ^{ft} (%)	1/150 (0.9)	5/124 (3.9)*	0/149 (0)	1/118(0.6)
		腹発生数 ^{ft}	1/18	5/14	0/17	1/16
	内臓	二分脊椎、髄膜瘤 ^f	1	0	0	1
		脳瘤 ^f	0	1	0	0
		下顎小顎 ^f	0	1	0	0
		内水頭症 ^f	0	1	0	0
		大動脈拡張 ^f	0	1	0	0
		肺動脈狭窄 ^f	0	1	0	0
		全肺葉重度に縮小 ^f	0	1	0	0
		第1指欠指 ^f	0	1	0	0
	検査	異常胎児発生数 ^{ft} (%)	17/150 (12.4)	10/124 (8.3)	7/149 (4.4)	6/118(5.3)
		腹発生数 ^{ft} (%)	10/18	6/14	4/17	4/16
	内臓	腹水貯留 ^f	1	1	0	0
		肝付着嚢胞 ^f	12	8	6	4
		胆嚢二分 ^f	1	0	0	1
副脾 ^f		4	3	1	1	
脾臓小型 ^f		0	1	0	0	
変異胎児発生数 ^{ft} (%)		0/150 (0)	0/124 (0)	0/149 (0)	0/118(0)	
腹発生数 ^{ft}	0/18	0/14	0/17	0/16		

補正体重；妊娠8日の体重を共変量として補正した平均値。

体重、累積体重増加量、摂餌量は対照群に対する変動率で表した。

a: Student's t-test, ↓:p<0.05, ↑↑p<0.01

f: Fisher's Exact Test, ft: Freeman and Tukey+ANOVA. *:p<0.05, **:p<0.01

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

表1 結果 (2)

投与量 (mg/kg/day)		0	100	250	500
胎 骨 児 格	奇形胎児発生数 ^f (%)	2/150 (1.4)	5/124 (3.9)	1/149 (0.6)	1/118(0.6)
	腹発生数 ^f (%)	2/18	5/14	1/17	1/16
	骨格奇形 (全身) ^f	0	1	0	0
	猿頭症 ^f	0	1	0	0
	有窓頭頂骨 ^f	0	1	1	0
	頭蓋骨奇形 ^f	0	1	0	0
	上顎骨癒合 ^f	0	2	0	0
	第4胸椎弓欠損 ^f	0	0	0	1
	第2腰椎弓未骨化 ^f	1	0	0	0
	仙椎弓過剰 (第3・第4間) ^f	0	1	0	0
	胸椎弓癒合 (第5・第6) ^f	0	0	0	1
	胸椎弓癒合 (第8・第9) ^f	0	1	0	0
	腰椎弓配列異常 ^f	1	0	0	0
	第4肋骨欠損 ^f	0	0	0	1
	重度肋骨癒合 (第5・第6) ^f	0	0	0	1
	第1指指骨欠損 ^f	0	1	0	0
	第1指指骨小型化 ^f	0	1	0	0
動 査	異常胎児発生数 ^f (%)	80/150 (50.8)	36/124 (28.7)**	49/149 (30.1)**	37/118(38.8)**
	腹発生数 ^f	17/18	13/14	15/17	14/16
物	前頭骨孔 ^f	0	1	0	0
	頭頂間骨二分骨化 ^f	0	0	0	1
	頭頂骨不完全骨化 ^f	0	0	0	1
	頭頂骨孔 ^f	1	1	1	0
	余剰骨化片 (前頭骨・頭頂骨間) ^f	1	0	0	0
	余剰骨化片 (鼻骨間) ^f	0	0	0	1
	余剰骨化片 (頭頂骨間) ^f	0	2	2	0
	舌骨形態異常 ^f	14	9	8	4
	歯突起未骨化 ^f	0	1	5	3
	中央結節との癒合 ^f	0	0	0	1
	第5頸椎弓小型 ^f	0	0	1	0
	第2頸椎体位置異常 ^f	0	1	0	0
	第3頸椎体半椎体未骨化 ^f	0	0	0	2
	第6頸椎体半椎体未骨化 ^f	0	0	1	0
	第7胸椎体半椎体未骨化 ^f	0	0	1	0
	第7頸椎横突起完全骨化 ^f	5	0	0	0
	第7頸椎横突起不完全骨化 ^f	10	1*	1*	0**
	余剰骨化片 (歯状突起・第2頸椎体間) ^f	0	0	0	1
	第7頸肋 ^f	6	0	0	0
	第4胸椎体半椎体未骨化 ^f	0	0	0	1
第2腰椎体半椎体未骨化 ^f	1	0	0	0	
第3腰椎横突起完全骨化 ^f	12	1**	2*	3	

f: Fisher's Exact Test, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

ft: Freeman and Tukey + ANOVA, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

表1 結果 (3)

		投与量 (mg/kg/day)	0	100	250	500
胎 骨	第4腰椎横突起未骨化 ^f	0	0	1	4	0
	第5腰椎横突起未骨化 ^f	0	0	1	1	0
	第6腰椎横突起未骨化 ^f	0	0	1	2	0
	第7腰椎横突起未骨化 ^f	3	2	6	2	
	第4仙椎体未骨化 ^f	0	1	0	0	
	椎体配列異常 (第2・第4仙椎間) ^f	0	2	0	0	
	椎体配列異常 (第4・第7胸椎間) ^f	0	0	0	0	1
	椎骨数過剰 (仙椎・尾椎除き28) ^f	0	1	0	0	0
	第4胸骨分節二分 ^f	0	0	0	0	1
	第5胸骨分節二分 ^f	2	2	0	0	0
	第6胸骨分節二分 ^f	0	0	2	1	
	第4胸骨分節配列異常 (重度) ^f	0	0	0	0	1
	第5胸骨分節未骨化 ^f	19	4**	5**	5*	
	第6胸骨分節未骨化 ^f	4	2	5	4	
児 格 動 物	第2胸骨分節不完全骨化 ^f	0	1	0	2	
	第6胸骨分節不完全骨化 ^f	12	9	10	5	
	第3胸骨分節配列異常 (軽度) ^f	0	1	0	0	
	第4胸骨分節配列異常 (軽度) ^f	2	1	0	0	
	第5胸骨分節配列異常 (軽度) ^f	1	3	0	1	
	胸骨分節数過剰 (7) ^f	1	0	1	0	
	胸骨分節癒合 (第3・4) ^f	0	1	0	2	
	胸骨分節癒合 (第4・5) ^f	0	0	1	2	
	胸骨分節除剩骨化片 (第5・6間) ^f	0	0	0	1	
	完全過剰肋骨分離 (13) ^f	3	0	1	1	
	短小過剰肋骨分離 (13) ^f	21	7*	4**	7*	
	完全過剰肋骨 (14) ^f	0	1	0	0	
	軽度肋骨癒合 (第8・9) ^f	0	1	0	0	
	骨盤体配列異常 ^f	7	4	4	5	
恥骨未骨化 ^f	0	0	0	1		
距骨未骨化 ^f	0	1	1	0		
変異胎児発生数 ^f (%)		137/150 (91.7)	120/124 (96.6)	146/149 (98.2)*	116/118(97.9)**	
腹発生数 ^{ft}		18/18	14/14	17/17	16/16	
歯突起不完全骨化 ^f		60	80**	92**	85**	
第1仙椎形態異常 (非対称) ^f		28	21	22	17	
第2仙椎形態異常 (非対称) ^f		22	15	16	16	
椎骨数過剰 (仙尾椎除き27) ^f		42	73**	97**	82**	
第5胸骨分節不完全骨化 ^f		78	40**	43**	29**	
完全過剰肋骨 (第13) ^f		63	97**	123**	96**	
短小過剰肋骨 (第13) ^f		16	16	12	9	

f: Fisher's Exact Test, *:p<0.05, **:p<0.01

ft: Freeman and Tukey+ANOVA, *:p<0.05, **:p<0.01

表1 結果 (4)

		投与量 (mg/kg/day)	0	100	250	500
骨格検査	骨化度	検査胎児数	150	124	149	118
		骨化: 1(良好) から 6(不良) に分類				
		手骨格骨化評価点 ^a	2.83	2.97	2.87	2.94
		足骨格骨化評価点 ^a	1.02	1.08	1.06	1.11

a: Student's t-test, 有意差なし

骨化評価の尺度:

- 評点 1: 骨化度が良好。中手骨/中足骨および第 1~3 指骨/趾骨が完全に骨化している状態。変異のほとんどは第 2 指骨/趾骨でみられる。これらが明瞭な三角形にある状態を完全に骨化しているとみなした。
- 評点 2: 中手骨/中足骨および第 1/3 指骨/趾骨が完全に骨化している。第 2 指骨/趾骨は、第 5 指の部分骨化を除いて完全に骨化している状態。
- 評点 3: 中手骨/中足骨のひとつが部分骨化し、その他の中手骨/中足骨は完全に骨化している。第 2 指骨/趾骨の第 5 指は部分骨化で、その他の第 1~3 指骨/趾骨は完全に骨化している状態。
- 評点 4: 中手骨/中足骨のひとつが部分骨化し、その他の中手骨/中足骨は完全に骨化している。第 1/3 指骨/趾骨は完全骨化しているが、第 2 指骨/趾骨のいくつかが部分骨化または未骨化の状態。
- 評点 5: 中手骨/中足骨のひとつが未骨化で、その他の中手骨/中足骨は完全に骨化している。第 1 指骨/趾骨と第 3 指骨/趾骨はいくつかの部分骨化を残し、ほぼ完全骨化。第 2 指骨/趾骨は部分骨化または未骨化の状態。
- 評点 6: 骨化度が不良。中手骨/中足骨のひとつが未骨化で、その他の中手骨/中足骨は完全に骨化している。第 2 指骨/趾骨は未骨化で、第 1 指骨/趾骨と第 3 指骨/趾骨は未骨化または部分骨化の状態。

表 2-1 完全過剰肋骨および椎骨数過剰の胎児発生数と発生率

投与量 (mg/kg/day)	0	100	250	500
腹 数	18	14	17	16
胎児数	150	124	149	118
椎骨数過剰 (仙尾椎除き 27)				
胎児発生数 ^f (発生率%)	42 (28.0)	73** (58.9)	97** (65.1)	82** (69.5)
腹ごとの平均胎児発生率 ^k (%)	28.9	57.4	66.2**	64.8**
完全過剰肋骨 (第 13)				
胎児発生数 ^f (発生率%)	63 (42.0)	97** (78.2)	123** (82.6)	96** (81.4)
腹ごとの平均胎児発生率 ^k (%)	43.1	77.4*	82.9**	75.3**

統計解析 f: Fisher's exact test, *:p<0.05, **:p<0.01.

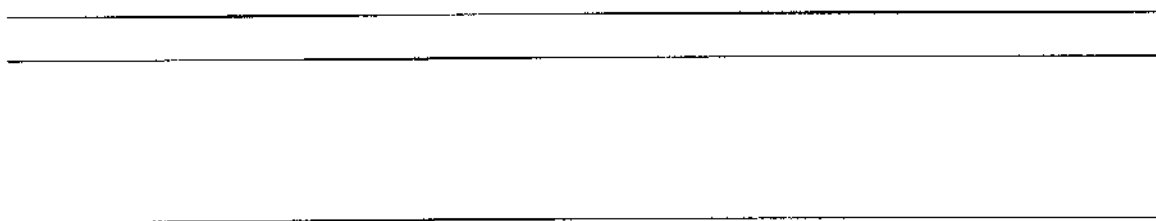
k: 順位和検定 (Kruskal-Wallis 検定+Dunnnett type 検定)、**:p<0.01.

表 2-2 椎骨数 (27) 過剰および完全過剰肋骨の背景データ[#]

	胎児発生数 (発生率)	
	平均	範囲
完全過剰肋骨 (第 13)	705/1687 (41.8%)	28/164 (17.1%) ~ 127/165 (77.0%)
椎骨数過剰 (仙尾椎除き 27)	456/1687 (27.0%)	24/164 (14.6%) ~ 80/165 (48.5%)

#: 1992 年 4 月 ~ 1996 年 1 月に試験を開始した 10 試験を引用

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

(13) 変異原性

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-30)

試験機関：Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年：1993年 (CTL/P/4206) [GLP 対応]

検体の純度： %

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2P、WP2uvrA) を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、100～5000 µg/プレートの6段階濃度で2回実施した。

検体は3連制、溶媒対照は5連制、陽性対照は2連制とした。

結果：結果を表1および表2に示す。

二つの試験とも、検体処理群では代謝活性化系の存在下、非存在下で、いずれの菌株および濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン (2-AA)、アジ化ナトリウム (NaN_3)、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG)、マイトマイシン (MMC)、ダウノマイシン (DR) およびアミノアクリジン (ICR191) では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を認めた。

以上の結果より、本条件下において本剤は代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、復帰突然変異誘発性はないものと判断された。

表1 1回目の試験結果

S-9 mixの有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数 (コロニー数/プレート)						
			塩基対置換型				フレームシフト型		
			WP2uvrA	WP2P	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
-	溶媒対照 (DMSO) #	-	101.8	39.4	91.6	9.4	17.6	6.8	
	メソトリオン	100	94.3	32.0	87.7	8.3	16.7	5.0	
		200	89.7	30.0	89.3	8.0	18.0	7.0	
		500	93.0	30.0	84.3	6.7	19.0	6.0	
		1000	98.5	31.0	80.0	4.3	19.0	5.7	
		2500	98.7	37.7	78.3	4.3	20.0	4.3	
		5000	117.3	24.7	88.3	5.7	20.3	2.0	
	陽性対照	($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	ENNG	MMC	NaN_3	NaN_3	DR	ICR191	
		0.2	256.5**	154.5**	—	—	1151.5**	—	
		0.5	971.5**	163.5**	294.5**	224.5**	1647.0**	46.0**	
		1.0	1825.5**	177.0**	397.0**	353.5**	1749.0**	74.5**	
		2.0	—	—	1180.5**	955.0**	—	148.5**	
	+	溶媒対照 (DMSO) #	-	151.2	57.2	101.0	12.6	21.0	4.8
		メソトリオン	100	151.3	52.3	105.3	12.0	17.0	5.0
200			149.5	48.7	97.0	16.7*	19.3	6.0	
500			146.0	53.0	107.3	17.3*	16.5	6.0	
1000			128.7	44.0	131.5*	11.3	20.3	8.7	
2500			134.0	51.0	142.3**	17.3	19.3	8.0	
5000			127.3	43.3	106.3	9.7	26.3	12.7**	
陽性対照		($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	
		0.2	—	—	277.5**	—	102.0**	—	
		0.5	—	—	980.0**	105.0**	189.0**	24.5**	
		1.0	383.5**	—	2059.0**	151.0**	909.5**	86.0**	
		2.0	1301.5**	—	—	224.5**	—	204.5**	
		5.0	2700.0**	80.0**	—	—	—	—	
		10.0	—	102.5**	—	—	—	—	
	20.0	—	138.5**	—	—	—	—		

統計解析: Student's t-test, * $0.01 \leq p < 0.05$, ** $p < 0.01$

: DMSO 100 μL

MMC : マイトマイシン

DR : ダウノマイシン

2-AA : 2-アミノアントラセン

— : 該当せず

NaN_3 : アジ化ナトリウム

ICR191 : アミノアクリジン

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

表2 2回目の試験結果

S-9 mixの 有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数 (コロニー数/プレート)						
			塩基対置換型				フレームシフト型		
			WP2uvrA	WP2P	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
-	溶媒対照 (DMSO) #	-	86.2	28.8	86.2	11.6	21.2	5.2	
	メントリオン	100	71.3	23.3	79.0	7.7	18.0	7.0	
		200	87.7	27.3	86.0	8.7	23.0	4.3	
		500	76.0	21.3	90.0	14.0	20.7	9.0	
		1000	79.7	22.7	93.3	11.7	20.7	6.3	
		2500	72.3	22.0	105.0**	12.3	23.3	9.7*	
		5000	96.3	24.0	113.3**	10.3	24.0	7.3	
	陽性対照	($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	ENNG	MMC	NaN ₃	NaN ₃	DR	ICR191	
		0.2	196.0**	112.0**	—	—	472.0**	—	
		0.5	1364.0**	142.5**	179.0**	199.0**	1704.5**	49.5**	
		1.0	2683.5**	179.5**	270.0**	342.0**	1893.5**	94.5**	
		2.0	—	—	1173.5**	866.5**	—	157.0**	
	+	溶媒対照 (DMSO) #	-	110.4	51.8	92.0	10.8	26.4	9.3
		メントリオン	100	105.0	42.0	90.3	11.7	25.3	9.0
200			105.0	42.7	89.0	15.0*	20.0	7.7	
500			110.0	36.0	101.7	13.7	20.0	7.3	
1000			112.3	29.0	92.3	15.3	24.7	6.3	
2500			76.3	33.0	95.3	17.0*	22.7	7.0	
5000			88.3	20.3	44.0	9.3	28.7	3.0	
陽性対照		($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	
		0.2	—	—	278.5**	—	154.0**	—	
		0.5	—	—	491.5**	90.5**	369.5**	40.5**	
		1.0	210.0**	—	1529.5**	125.0**	1077.0**	61.5**	
		2.0	1325.0**	—	—	180.5**	—	131.0**	
		5.0	2032.5**	77.5**	—	—	—	—	
		10.0	—	88.5**	—	—	—	—	
	20.0	—	105.0**	—	—	—	—		

統計解析: Student's t-test, * 0.01 \leq p < 0.05, ** p < 0.01

: DMSO 100 μL

MMC : マイトマイシン

DR : ダウノマイシン

2-AA : 2-アミノアントラセン

— : 該当せず

NaN₃ : アジ化ナトリウム

ICR191 : アミノアクリジン

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

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

2) マウスリンホーマ細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験 (資料 No.T-31)

試験機関：Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年：1994年 (CTL/P/4183) [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法：マウスリンホーマ細胞 L5178Y TK^{+/+}を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下および非存在下における 5-トリフルオロチミジン耐性突然変異誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、125~1000 μ g/ml の4段階濃度で2回実施した。

検体の処理時間は4時間 (37 $^{\circ}$ C)、発現時間は72時間とした。

S-9 mixの有無によらず試験培地中での検体の最小沈殿濃度は、1000 μ g/mlであることが得られたため、本試験では1000 μ g/mlを最高濃度とし、以下公比2で計4段階濃度を設けた。

陽性対照として、代謝活性化系非存在下ではエチルメタンサルホン酸 (EMS)、存在下では N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) 処理群を、溶媒対照として DMSO 処理群を設けた。

試験結果：結果を表1に示した。

検体は S-9 mix の有無にかかわらず、いずれの濃度でも溶媒対照と比較して突然変異コロニーの発現頻度に増加は認められなかった。

一方、陽性対照では突然変異コロニーの顕著な増加が認められた。

以上の結果より、本剤は本試験条件下においてマウスのリンホーマ細胞 L5178Y TK^{+/+}に対する突然変異誘発性はないものと判断された。

表 1. 試験結果

試験	S9 mix	薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞生存率 (%)	突然変異発現頻度 ($\times 10^{-4}$)
第 1 回目	-	溶媒対照 (DMSO)	10	100	1.9
		メソトリオン	1000	108	1.5
			500	101	1.8
			250	99	1.9
			125	93	2.1
	陽性対照 (EMS)	750	39	13.5	
	+	溶媒対照 (DMSO)	10	100	1.2
		メソトリオン	1000	99	1.8
			500	106	1.5
			250	97	2.0
125			107	1.8	
陽性対照 (NDMA)	600	80	9.0		
第 2 回目	-	溶媒対照 (DMSO)	10	100	1.4
		メソトリオン	1000	105	0.8
			500	107	1.2
			250	99	1.1
			125	109	0.8
	陽性対照 (EMS)	750	45	11.5	
	+	溶媒対照 (DMSO)	10	100	1.3
		メソトリオン	1000	113	1.6
			500	105	1.7
			250	128	1.3
125			107	1.0	
陽性対照 (NDMA)	600	96	7.6		

EMS : エチルメタンサルホン酸、 NDMA : N-ニトロソジメチルアミン

3) ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No.T-32)

試験機関：Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年：1994年 (CTL/P/4187) [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：健康なドナー男女各1名(ドナー1男性、ドナー2女性)から得られた末梢血リンパ球(両ドナーとも、末梢血リンパ球の染色体損傷発生率が低値であることが確認されている)を用い、代謝活性化系(S-9 mix)の存在下および非存在下について染色体異常誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。試験は2反復とした。

[用量設定試験]：

DMSOに溶解した9段階の濃度10、50、100、250、500、750、1000、1500および2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ において培養液のpHおよび浸透圧を測定した結果、最高濃度の2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でも培養液の浸透圧に影響はなかった。1500および2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の検体添加培地による処理で顕著なpH低下が生じた。低下は1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ が0.3単位、2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ が0.4単位であった。

[細胞増殖抑制試験(分裂指数の測定)と濃度選択]：

ヒトリンパ球を48時間培養した後に検体、DMSO、陽性対照溶液およびS9-mixを培養株に添加投与した。処理時間は3時間とし、37 $^{\circ}\text{C}$ でインキュベーションした。標準サンプリング時間は、培養末梢血リンパ球の実測細胞周期時間の平均が13.5時間であることに基づき培養開始68時間目とし、これ以降は24時間間隔とした。

[染色体異常]：

培養液のpH低下および分裂指数の低下をもとに、68時間目の採取時では各ドナーについて3段階濃度の染色体異常誘発性を調べた。96時間目の採取時ではドナー2(女性)のみ1段階濃度の染色体異常誘発性を調べた。

可能な場合はプレート当たり100個の分裂中期細胞について観察を行った。

陽性対照として、S9-mix存在下ではマイトマイシンC、非存在下ではシクロホスファミドを、溶媒対照としてDMSOを用いた。

試験結果 : 結果を表 1 に示した。

[細胞増殖抑制試験 (分裂指数の測定) と濃度選択]:

68 時間目の採取時では S9-mix 非存在下の 1500 および 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理培養株について、平均有糸分裂指数の溶媒対照値に対する有意な低下が認められ、1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理のドナー1 (男性) で約 31%、2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理のドナー2 (女性) で 42% の低下であった。S9-mix 存在下での処理を 68 時間目に回収した場合には、いずれのドナーにも平均有糸分裂指数の有意な低下は認められなかった。92 時間目の採取時では S9-mix 存在下または非存在下のいずれについても平均有糸分裂指数の有意な低下は認められなかった。

[染色体異常試験]:

代謝活性化系存在下および非存在下のいずれの試験においても染色体異常を有する細胞数に増加は認められなかった。

サンプリング時間 68 時間では、ドナー2 の S9-mix 非存在下および存在下、ドナー1 の S9-mix 存在下において異常細胞出現率に増加はみられなかった。ドナー1 の S9-mix 非存在下では、1000 および 1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で対照群に比して異常細胞出現率が増加し、統計学的に有意であった。しかし、1000 および 1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で観察された異常細胞の出現は小さく、対照群の異常細胞出現率が低値であった。また、S9-mix 非存在下のドナー2 で異常細胞出現率に有意な増加がみられておらず、ドナー間において再現性がないことが示された。このことから、ドナー1 での異常細胞出現率の高値には生物学的意義はないと判断した。

サンプリング時間 92 時間では、S9-mix 非存在下および存在下とも異常細胞出現率に有意な増加はみられなかった。

陽性対照のマイトマイシン C およびシクロホスファミドでは、染色体異常を有する細胞出現率に明らかな増加がみられた。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下で、染色体異常誘発性を有さないものと判断された。

表 1. 染色体異常試験結果

S-9 mix	ドナー	薬物	濃度 (µg/mL)	処理時間	異常細胞出現率 (%) [#]	細胞あたりの異常数 [#]	平均有糸分裂指数 (%)	観察細胞数	染色体異常を有する細胞数						
									ギャップ	切断	断片 / 点状断片	複合損傷	分体交換	その他	
-	1	未処理対照	—	3h (68h) ^a	0.50	0.005	7.7	100	2	0	1	0	0	0	
									100	0	0	0	0	0	
		メソトリオン	1500		5.50**	0.060	5.3	100	2	4	0	0	1	0	
									100	1	5	2	0	0	0
			1000		4.00*	0.045	5.7	100	1	4	1	0	0	0	
			250		1.50	0.015	6.0	100	1	0	1	0	0	0	
							100	0	1	1	0	0	0		
		陽性対照 ^b	0.2	40.00**	0.580	3.6	100	7	31	7	0	6	8		
	2	溶媒対照 ^c	10	3h (68h) ^a	1.00	0.010	8.8	100	0	1	0	0	0	0	
									100	0	1	0	0	0	
		メソトリオン	2000		3.63	0.036	5.1	93	0	3	0	0	0	0	
									100	0	3	1	0	0	0
			1000		2.50	0.025	8.4	100	1	1	1	0	0	0	
			250		1.00	0.010	4.9	100	0	3	0	0	0	0	
							100	2	1	0	0	0	0		
		陽性対照 ^b	0.2	24.00**	0.380	4.4	50	0	12	0	0	0	1		
	2	溶媒対照 ^c	—	3h (92h) ^a	3.50	0.040	6.4	100	3	3	4	0	0	0	
								100	2	1	0	0	0	0	
		メソトリオン	1500	4.00	0.040	5.9	100	1	3	0	0	0	0		
							100	1	4	1	0	0	0		
+	1	未処理対照	—	3h (68h) ^a	3.00	0.030	5.1	100	1	3	1	0	0	0	
									100	0	1	1	0	0	0
		メソトリオン	2000		1.50	0.015	4.5	100	0	1	0	0	0	0	
									100	1	2	0	0	0	0
			1000		0.00	0.000	4.6	100	2	0	0	0	0	0	
			250		2.00	0.025	5.7	100	0	1	1	0	0	0	
							100	0	1	1	0	0	0		
		陽性対照 ^d	50	34.00**	0.430	2.9	100	9	25	8	0	3	3		
	2	溶媒対照 ^c	—	3h (68h) ^a	0.00	0.000	5.9	100	1	0	0	0	0	0	
									100	0	0	0	0	0	
		メソトリオン	2000		0.00	0.000	10.1	200	0	0	0	0	0	0	
									100	0	0	0	0	0	
			1000		1.00	0.010	6.4	100	0	2	0	0	0	0	
			250		0.00	0.000	6.5	50	0	0	0	0	0	0	
						100	0	0	0	0	0	0			
	陽性対照 ^d	50	22.86**	0.229	2.4	35	0	7	1	0	0	0			
2	溶媒対照 ^c	—	3h (92h) ^a	1.00	0.015	5.9	100	9	1	1	0	0	0		
							100	5	0	0	0	0	0		
	メソトリオン	2000	0.00	0.000	7.6	100	3	0	0	0	0	0			
						100	1	0	0	0	0	0			

a) 回復時間

b) マイトマイシン C

c) DMSO 10µL/mL

d) シクロホスファミド

ギャップを除く

* 統計学的有意性 p < 0.05 (Fisher's exact test)

** 統計学的有意性 p < 0.01 (Fisher's exact test)

4) マウスの骨髓細胞を用いた小核試験

(資料 No.T-33)

試験機関：Zeneca Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年：1994年 (CTL/P/4249) [GLP 対応]

検体の純度： %

試験動物：CD-1 マウス、1 群雌雄各 5 匹 (本試験)、
開始時週齢；予備試験 4～11 週齢、本試験 5～12 週齢
体重；22.1～38.8g (本試験)

試験方法：検体を滅菌脱イオン水に懸濁し、500 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。さらに別の群に滅菌脱イオン水のみおよび陽性対照としてシクロホスファミド (65 mg/kg) を投与した。

検体 500 mg/kg 群および溶媒対照は、投与 24 および 48 時間後に、陽性対照は投与 24 時間後に屠殺した後、大腿骨骨髓細胞を採取し塗抹標本を作製した。

各動物 1000 個の多染性赤血球について小核の発現頻度を検査した。また、各動物について 1000 個の赤血球を数え、赤血球数に対する多染性赤血球出現比率を算出した。なお、雌の 500mg/kg 投与後 48 時間で小核を有する多染性赤血球の発現頻度に統計学的有意な増加がみられたため、雌の溶媒対照および投与群の 48 時間標本を追加検査 (各動物 2000 個の多染性赤血球) した。

結果：結果の概要を表 1 に示す。

500mg/kg 投与 4 時間後に雄マウス 1 例が死亡したが、臨床所見に異常はみられなかった。

雄の 24 および 48 時間後、雌の 24 時間後の採取時間では、溶媒対照群と比較して、統計学的に有意または生物学的に重要な小核を有する多染性赤血球の発現頻度に増加は認められなかった。

雌の 500 mg/kg 投与では、48 時間後における小核を有する多染性赤血球の発現頻度が、溶媒対照群と比較して統計的に有意に増加した。これは、1 例で小核を有する多染性赤血球の発現頻度が高値であったことによるものであった。

さらに、雌の溶媒対照および 500mg/kg 投与の 48 時間の骨髓標本について、再検査し、また、1 回目の検査と再検査時の小核を有する多染性赤血球を合計して検討した。しかしながら、両検討結果とも、溶媒対照群と比較して統計学的に有意または生物学的に重要な小核を有する多染性赤血球の発現頻度増加は認められなかった。これらのことから、雌の 500mg/kg 投与後 48 時間の 1 回目の検査でみられた小核を有する多染性赤血球の発現頻度増加は、再現性がなく、投与に関連したものではないと判断した。

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加が認められた。

以上の結果から、本剤はマウスの骨髓小核試験において染色体異常誘発性を有しないと判断される。

表 1. 小核試験結果

性	薬物	投与量 (mg/kg)	小核を有する 多染性赤血球数 ^{a)}		多染性赤血球の 出現率 ^{b)} (%)	
			24 時間後	48 時間後	24 時間後	48 時間後
雄	溶媒対照 (脱イオン水)	—	0.4±0.9	0.0±0.0	53.0±8.9	51.0±4.8
	メソトリオン	500	0.4±0.6	0.0±0.0	58.4±12.6	63.9±5.3
	陽性対照 (シクロホファミド ^{c)})	65	25.6±9.7**	-	47.6±6.8	-
雌	溶媒対照 (脱イオン水)	—	1.0±0.7	0.6±0.9	48.7±9.0	58.2±7.4
	メソトリオン	500	0.6±0.6	2.2±2.8*	53.5±8.3	50.0±9.6
	陽性対照 (シクロホファミド ^{c)})	65	24.8±7.1**	-	56.7±3.1	-
雌 ^{d)} (再検)	溶媒対照 (脱イオン水)	—	-	0.9±0.2	-	-
	メソトリオン	500	-	0.9±0.8	-	-
雌 ^{d)} (合算)	溶媒対照 (脱イオン水)	—	-	0.8±0.4	-	-
	メソトリオン	500	-	1.3±1.3	-	-

a) 多染性赤血球 1000 個当たりの小核を有する赤血球数 (5 匹の平均値)

b) 赤血球 1000 個当たりの多染性赤血球数の出現率 (5 匹の平均値)

c) 再検査：多染性赤血球 2000 個当たりの小核を有する赤血球数 (5 匹の平均値)

d) 1 回目の検査と再検査の合算：多染性赤血球 3000 個当たりの小核を有する赤血球数 (5 匹の平均値)

-) 該当なし、*Student's t-test、有意水準 p<0.05、**Student's t-test、有意水準 p<0.01

5) ラットの肝を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成試験

(資料 No.T-34)

試験機関 : Syngenta Central Toxicology Laboratory (英国)

報告書作成年 : 2002 年 (CTI/SR1123)

[GLP 対応]

検体の純度 : 95.6%

試験動物 : Wistar 系ラット雄 (Alpk:AP₁SD)、6~8 週、体重 273~332g

検体投与 ; 1 群各 3 匹、溶媒対照および陽性対照 ; 1 群各 2 匹

試験方法 : 検体を脱イオン水に懸濁し、2000mg/kg の用量で単回経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。溶媒対照として脱イオン水、陽性対照 1,2-ジメチルヒドラジン二塩酸塩を経口投与した。

検体投与群および溶媒対照群は、投与 2 および 16 時間後に各動物から肝細胞を単離し、単離肝細胞を ³H-標識チミジンの存在下で 4 時間培養し、オートラジオグラフィによる UDS の検査を行った。

肝細胞単離および培養 ;

ラットから 2 段階コラゲナーゼ灌流法により肝細胞を単離した。緩衝液を用いて肝臓内の血液を洗浄し、塩化カルシウムおよびコラゲナーゼを添加した第 2 緩衝液を用いて肝組織の凝集を解離させた。次に肝臓を摘出切断し、150 μm ナイロン製篩絹で濾過後に、肝細胞を調製して William E 完全培地中に懸濁した。肝細胞の生存率はトリパンブルーを用いて測定した。William E 完全培地を用いて肝細胞懸濁液を最終細胞数 1.5×10^5 細胞/mL に希釈し、6 ウェルプレート中に置いたカバーガラス上に移し、95%空気-5%CO₂ (v/v)、37°C のインキュベーターに 90 分間入れ、細胞を付着させた。無菌的に培地を吸引し、William E 不完全培地を用いて肝細胞を洗浄した。各ウェルに ³H-チミジンを含む William E 不完全培地を加え、37°C で約 4 時間インキュベートした。次にチミジン添加 William E 不完全培地を用いて洗浄した。次に同一培地を用いて培養細胞を一晩インキュベートした。次に培養細胞を培地で洗浄後に、氷酢酸-無水アルコール混液で固定し、その後に脱イオン水で洗浄した。

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

オートラジオグラフィーおよび染色；

検体当たり 3 枚のスライドガラスをオートラジオグラフィー用に作製した。細胞は Meyers Haemalum およびエオジン染色をした。

UDS 分析；

検体投与群 3 個体、溶媒対照および陽性対照は各 1 個体から得たスライドガラスを UDS 分析した。各細胞について核を覆う銀粒子数を測定した。次に核から外れた細胞質のうち見かけの銀粒子数が最多の領域について同一面積の分析を行った。この 2 つの値の差を正味核内粒子数とした。各個体につき 60 個の細胞について検査した。

結 果：結果を表 1 に示した。

培養肝細胞の生存率は 63%～85%であった。

検体投与群では、2 時間および 16 時間処理とも溶媒対照と比較して平均正味核内粒子数および修復細胞率に有意な増加はみられなかった。検体投与群の肝細胞の平均正味核内粒子数は 0 未満であった。

一方、陽性対照物質の 1,2-ジメチルヒドラジン二塩酸塩は、平均正味核内粒子数および修復細胞率に明らかな高値がみられた。

表 1. 試験結果

試料採取時間 (h)	薬物	濃度 (mg/kg)	動物数	核内粒子数 [N]	細胞質内粒子数 [C]	正味核内粒子数 [N - C]	修復細胞率 ^c (%)
2	溶媒対照 ^a	—	1	8.3	12.8	-4.5	2
	メントリオン	2000	3	8.2	11.8	-3.6	0
	陽性対照 ^b	50	1	19.2	10.8	8.3	68
16	溶媒対照 ^a	—	1	8.3	11.1	-2.8	2
	メントリオン	2000	3	7.5	10.1	-2.6	3
	陽性対照 ^b	30	1	23.7	11.8	12.0	85

a：脱イオン水

b：DMH·2HCl = 1,2-ジメチルヒドラジン二塩酸塩

c：N - C が 5 以上の細胞の割合%

以上の結果から、本剤は本試験条件下で *in vivo* ラット肝細胞において DNA 損傷誘発性はないものと判断された。

(14) 生体機能影響

1) 生体機能への影響に関する試験

(資料 No.T-35)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

報告書作成年：2005 年

[GLP 対応]

検体の純度： %

検体調製法および投与方法：*in vivo* 試験では検体を秤量し乳鉢内に入れ注射用水を加えて懸濁し、溶媒を加え所定量までメスアップして調製した。*in vitro* 試験では検体を秤量し、DMSO を添加溶解後、所定量までメスアップし調製した。*in vivo* 試験のマウスおよびラットは、ゾンデを用いて強制的に胃内に投与した。ウサギはカニューレを用いて十二指腸内に投与した。*in vitro* 試験ではマグナス槽内適用とした。投与液量は、*in vivo* 試験では 10 mL/kg とした。

1. 中枢神経系に及ぼす影響

(1) 一般状態観察および行動に及ぼす影響 (マウス)

供試動物：CD-1 (ICR) マウス、雄 28.0~31.7g、雌 22.0~25.3g、5 週齢、1 群各 3 匹

群構成：検体投与量は、500、1000 および 2000mg/kg とした。対照群には溶媒 (注射用水) を投与した。

試験方法：投与前、溶媒および検体の経口投与後 0.5、1、2、4 および 6 時間に、Irwin の多次元観察法に準じて、一般状態および行動を観察した。各症状に関してはスコアで表

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

示した。投与翌日の Irwin の多次元観察法にて動物を観察したが症状がみられなかったため、以後の観察は実施しなかった。

試験結果 : 500 mg/kg 投与群では雌雄とも影響は認められなかった。1000 mg/kg 投与群では雄マウスに影響はみられなかったが、雌マウスに投与 6 時間後に探索行動の亢進（軽度：3 匹中 2 匹）および姿勢と歩行の異常（軽度：3 匹中 2 匹）がみられた。2000 mg/kg 投与群では、雄マウスに影響はみられなかったが、雌マウスに投与 4 時間後に身づくろい行動の亢進（中等度：3 匹中 2 匹）、落ち着きのなさ（中等度：3 匹中 2 匹）、振戦（中等度：3 匹中 2 匹）および痙攣（軽度：3 匹中 2 匹）がみられた。投与 6 時間後には 3 匹中 2 匹が死亡し、死亡しなかった 1 匹では立毛（中等度）および探索行動の抑制（軽度）がみられた。1000 および 2000 mg/kg 投与群にみられた一般状態および行動変化は、投与翌日にはすべて消失していた。

(2) 一般状態観察および行動に及ぼす影響（ラット）

供試動物 : Wistar(Glx/BRL/Han) (IGS)ラット、雄 115.9～137.3g、雌 101.4～117.8g、5 週齢、1 群各 3 匹

群構成 : 検体投与量は、500、1000 および 2000mg/kg とした。対照群には溶媒（注射用水）を投与した。

試験方法 : 投与前、溶媒および検体の経口投与後 0.5、1、2、4 および 6 時間に、Irwin の多次元観察法に準じて、一般身体状態および行動を観察した。投与翌日の Irwin の多次元観察法にて動物を観察したが症状がみられなかったため、以後の観察は実施しなかった。

試験結果 : 雌雄とも全投与群で影響は認められなかった。

(3) 自発運動量に及ぼす影響

供試動物 : CD-1 (ICR) マウス雄、5 週齢、26.4～35.4 g（実験 1）、24.2～35.3 g（実験 2）
1 群 6 例（3 匹を 1 例とみなした）

群構成（実験 1） : 検体投与量は 500、1000 および 2000mg/kg とした。対照群には溶媒（注射用水）を経口投与した。

群構成（実験 2） : 検体投与量は 20、100 および 250mg/kg とした。対照群には溶媒（注射用水）を経口投与した。

試験方法 : 供試動物に検体を経口投与した。投与前、投与後 6 時間までに 30 分間の各個体の自発運動量を、自発運動量測定装置を用いて測定した。

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

試験結果 : (実験 1) ; 2000 mg/kg 投与群では対照群と比較して投与 0.5~1.0 時間後に有意な減少 ($p<0.05$) を示した。1000 mg/kg 投与群では対照群と比較して投与 0.5~1.0 時間後に有意な減少 ($p<0.05$) を示した。500 mg/kg 投与群では対照群と比較して投与 0.5~1.0 および 1.0~1.5 時間後に有意な減少 ($p<0.05$) を示した。

(実験 2) ; 250、100 および 20 mg/kg 投与群において対照群と比較して影響はみられなかった。

(4) 麻酔作用

供試動物 : CD-1 (ICR) マウス雄、28.0~33.2 g、5 週齢、1 群各 8 匹

群構成 : 検体投与量は、500、1000 および 2000mg/kg とした。対照群には溶媒 (注射用水) を投与した。

試験方法 : 検体の経口投与後 1 時間にヘキソバルピタール 80 mg/kg を腹腔内投与した。ヘキソバルピタール投与後、正向反射が消失した動物を約 37°C の温水マット上におき、正向反射消失から回復までの時間を測定した。

試験結果 : 全ての検体投与群で対照群と比較して差はなかった。

(5) 痙攣誘発作用 (電撃痙攣)

供試動物 : CD-1 (ICR) マウス雄、28.0~33.2 g、5 週齢、1 群各 10 匹

群構成 : 検体投与量は、500、1000 および 2000mg/kg とした。対照群には溶媒 (注射用水) を投与した。

試験方法 : 検体の経口投与後 1 時間に電撃痙攣装置を用いて閾値下最大電流 (7.0 mA、パルス幅 5 mS、刺激間隔 10 mS、刺激時間 0.6 Sec) を角膜に通電し、強直性屈曲痙攣および強直性伸展痙攣の発現の有無を通電直後に観察した。

試験結果 : 全ての試験群で注射用水投与群と同様、痙攣は誘発されなかった。

2. 自律神経系および平滑筋に及ぼす影響 (摘出モルモット回腸のアゴニスト収縮に及ぼす影響)

供試動物 : Hartley 系モルモット雄、380~512 g、6~8 週齢、13 匹を使用

群構成 : 検体は、 10^{-6} 、 10^{-5} 、および 10^{-4} mol/L (最終濃度) の 3 濃度を適用した。対照区には、DMSO を適用した。

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

試験方法 : モルモットをジエチルエーテル麻酔後、放血致死させて回腸を摘出した。混合ガス (95%O₂ + 5%CO₂) を通気し、約 32°C に保温した 20 mL の Krebs 液を含むマグナス槽内に回腸を懸垂した。収縮は摘出回腸に静止張力 0.5 g を負荷し、等張性トランスデューサーを介してレコーダーに記録した。収縮薬としてアセチルコリン (10⁻⁶ mol/L)、ヒスタミン (3×10⁻⁶ mol/L) およびバリウム (10⁻³ mol/L) を用い、これらによる収縮反応が安定して得られるようになってから 1 標本について溶媒、検体 10⁻⁶、10⁻⁵ および 10⁻⁴ mol/L (最終濃度) の順に処置した。各濃度の検体の処置時間は約 5 分とし、各濃度の検体処置後、前述と同様に収縮薬による回腸の収縮反応を観察した。例数は 1 群 4 標本とした。

試験結果 : 全ての投与群で DMSO 適用群と比較してアセチルコリン、ヒスタミン、バリウムによる収縮反応に影響を及ぼさなかった。

3. 呼吸循環器系に及ぼす影響 (麻酔ウサギの呼吸、血圧、心拍数および心電図に及ぼす影響)

供試動物 : 日本白色種ウサギ (Kbl: JW) 雄、2.0~2.6 kg、10~12 週齢、1 群各 4 匹

群構成 : 検体投与量は 500、1000 および 2000 mg/kg とした。対照群には溶媒 (注射用水) を投与した。

試験方法 : ウレタン 1.0 g/kg 腹腔内投与による麻酔後、背位に固定した。呼吸運動は気管に挿入したカニューレを呼吸流量計に接続し測定した。血圧は大腿動脈内に挿入したカニューレを圧トランスデューサーに接続することにより、心拍数は心拍計を用いて測定した。これらのパラメータはサーマルレイレコーダーに記録した。心電図は心電計を用いて四肢第 II 誘導の波形を記録した。パラメータ測定は投与前、溶媒および検体投与後 0.5、1、2 および 4 時間に行った。投与はカテーテルを用いて十二指腸内に行った。

試験結果 : 500 mg/kg 投与群では、対照群と比較し、呼吸数、平均血圧、心拍数および心電図波形に影響はみられなかった。1000 mg/kg 投与群では、対照群と比較し、呼吸数および心電図波形に影響はみられなかったが、平均血圧が投与 0.5 時間後より低下し、心拍数が投与 4 時間後に減少した。投与 3 時間後から 4 時間後の間に 4 匹中 2 匹が死亡した。2000 mg/kg 投与群では、対照群と比較し、呼吸数に影響はみられなかったが、平均血圧が投与 1 時間より低下し、心拍数も投与 4 時間に減少した。また心電図波形は 4 匹中 1 匹で T 波が平坦化した。