

(11) 慢性毒性および発がん性

- 1) メタラキシル M を用いたビーグル犬における慢性毒性試験 (資料 No.T-18)
試験成績提出の除外

メタラキシル M の当該資料は、ラセミ体であるメタラキシルの試験成績で代替できると考えられるため試験を省略した。

メタラキシルを用いたビーグル犬における慢性毒性試験成績 (1984 年、
) を参照

1) メタラキシルのイヌにおける慢性毒性試験

(資料 No. T-18)

報告書作成年：1984 年

検体の純度：

試験動物：ビーグル犬、1 群当たり雌雄各 6 頭、開始時 6 ヶ月齢

試験期間：24 ヶ月間（1980 年 11 月 18 日～1982 年 11 月 18 日）

試験方法：メタラキシルをゼラチンカプセルに封入し、0.8、8.0 および 80 mg/kg/day となるように 1 日 1 回、24 ヶ月間にわたって強制経口投与した。
対照群にはゼラチンカプセルのみ投与した。

用量設定根拠：

試験項目および試験結果：

一般状態および死亡率；毎日動物の一般状態を観察し、異常があれば、その発見日、種類、程度および遷延時間を記録した。

80 mg/kg/day 投与群雌雄各 4 頭において、投与 10～30 分後に一過性の強直性痙攣および流涎が観察された。同群の雌雄各 2 頭に途中死亡がみられた。これらの変化は、検体投与による影響と考えられた。

80mg/kg/day 投与群の変化の個体別発現時期（週）を次表に示す。

< 80mg/kg/day 投与群における変化の個体別発現時期（週） >

性別	雄				雌				
	20	21	23	24	19	20	21	22	23
強直性痙攣 及び流涎	1、10、19	50	11	4、11、13、 18、23、26、 81	3、37、78	/	1~3、 10~12、22、 27、34	24、52	1~3、8~10、 12~13、 15~17、23、 26~27、48
途中死亡	/	50	20	/	/	43	52*	/	/

*床板が前方にスライドし、ケージとの間にできた隙間に両後肢がはさまれた状態で死後発見

8 および 0.8 mg/kg/day 投与群では検体投与による影響は認められなかった。
試験終了時の死亡率は、対照群、0.8、8 および 80 mg/kg/day 投与群の雄で各々0、0、0 および 66.7%、雌で 0、0、0 および 66.7%であった。

体重変化；毎週 1 回全例について体重を測定した。

試験期間を通じて、いずれの投与群についても対照群と比較して有意差が認められず、検体投与による影響はないと考えられた。

飼料摂取量；毎日全例について飼料摂取量を測定し、1 日当りの飼料摂取量を算出した。

試験期間を通じて、いずれの投与群についても対照群との間に差は認められず、検体投与による影響はないと考えられた。

飲水量；試験開始前および投与 12、25、51、77、103 週時に、連続 3 日間にわたって、全例の飲水量を測定し、1 日当りの飲水量を算出した。

8.0 および 80 mg/kg/day 投与群において、雄の飲水量が対照群と比較してわずかに高値を示したが、個体別あるいは測定時期による差が大きく、一定した傾向は認められず、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

眼科学的検査；試験開始前および投与 4、13、26、52、78、103 週時に、全例を対象にして眼底検査を含む眼科学的検査を行なった。

試験期間を通じていずれの群にも異常な所見は認められなかった。

血液学的検査；試験開始前および投与 4、13、26、52、78 および 103 週時に、全例を対象として、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、血小板数、白血球数および白血球百分率について測定した。網状赤血球数を投与 26 週時以降測定した。また、MCV、MCH、MCHC を算出した。なお、採血は橈側皮静脈より行なった。統計学的有意差の認められた項目を表 1 に示す。

80 mg/kg/day 投与群雌雄において、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量および赤血球数の有意な減少または減少傾向が認められた。これらの変化は 26 週以降、持続的に観察されたことから検体投与に関連した影響と考えられた。

80 mg/kg/day 投与群雄において、13、78 および 103 週時に MCHC の有意な増加が認められたが、26 および 52 週時では有意差が認められず、一貫した変化を示さなかったことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

80 mg/kg/day 投与群雄において、52 および 103 週時に血小板数の有意な増加が認められたが、4~26 週時および 78 週時には有意差が認められず、一貫した変化を示さなかったことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

0.8 および 8.0 mg/kg/day 投与群でみられた有意な変化についても用量相関性が認

められず、持続的に観察された変化ではないため、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

表 1. 血液学的検査

検査時期	開始前						4 週						13 週						26 週						
	0.8		8.0		80		0.8		8.0		80		0.8		8.0		80		0.8		8.0		80		
投与量 (mg/kg/day)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
検査例数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	
ヘマトクリット値		91↓																					110↑	86↓	89↓
ヘモグロビン量		91↓																					109↑	87↓	90↓
赤血球数																							87↓		
MCV													97↓		97↓↓										
MCH				97↓																					
MCHC													104↑		103↑	103↑									
白血球数	131↑																								
好中球		73↓↓											150↑↑												

検査時期	52 週						78 週						103 週					
	0.8		8.0		80		0.8		8.0		80		0.8		8.0		80	
投与量 (mg/kg/day)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
検査例数	6	6	6	6	4	4	6	6	6	6	4	4	6	6	6	6	4	4
ヘマトクリット値	108↑	87↓				83↓↓						88↓					78↓↓	
ヘモグロビン量	108↑	88↓				82↓↓											81↓↓	
赤血球数	107↑					83↓↓					87↓						77↓↓	
血小板数					153↑												134↑	
MCV				97↓														
MCH																	105↑	
MCHC											103↑						104↑↑	
白血球数		83↓		81↓		80↓							129↑					
好中球	138↑	80↓	145↑			73↓							133↑					
リンパ球			71↓↓															

統計解析：Student の t 検定、↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01
 表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

生化学的検査；試験開始前および投与 4、13、26、52、78 および 103 週時に全例を対象として
 総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルカリフォスファターゼ (ALP)、尿素窒素 (BUN)、血糖、総コレステロール、乳酸脱水素酵素 (LDH)、GOT、GPT、γ-グルタミルトランスフェラーゼ (γ-GTP)、総ビリルビン、直接ビリルビン、トリグ

リセライド、クレアチニン、尿酸、カルシウム、ナトリウムおよびカリウムについて測定した。なお、検査には血清を用いた。

統計学的有意差の認められた項目を表3に示す。

80 mg/kg/day 投与群雌雄で13あるいは26週以降に一貫してALP、GPTおよびアルブミンの有意な上昇が認められ、肝臓重量および体重比も有意に増加していたことから検体投与に関連した変化であると考えられた。また、アルブミンの増加に関連すると考えられる総蛋白、A/G比、カルシウムの上昇およびグロブリンの有意な低下が認められた。

8.0 mg/kg/day 投与群雄で13~103週の各検査時期にALPの有意な上昇が認められたが、表3に示すとおり、対照群および8.0 mg/kg/day 投与群雄の実測値が背景データの範囲内にあることから検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

8.0 mg/kg/day 投与群雄で4、13および103週の各検査時期GPTの有意な上昇が認められたが、用量相関性が認められない、あるいは投与期間との相関性がみられないことから検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

その他の有意な変化についても用量あるいは投与期間との相関性がみられないことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

表2. 生化学的検査

検査時期 投与量 (mg/kg/day)	開始前		4 週						13 週						26 週									
	0.8		8.0		80		0.8		8.0		80		0.8		8.0		80		0.8		8.0		80	
性別	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
検査例数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6
総蛋白																							106	109
アルブミン											107				116	108	105				106	121	119	119
A/G											110				127	113							130	134
ALP					86								215				137				158		414	221
BUN			119																					
血糖							106				90													90
総コレステロール															136						130			
LDH																							50	
GPT									135						132								186	213
γ-GTP							84		84														132	
尿酸																								
カルシウム					96				96		95												104	109
ナトリウム			98				99		98		97	99			98	98	76		99		98	98		102
カリウム											91													
クレアチニン																							89	

統計解析：Studentのt検定、↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01、↑↑↑↓↓↓：P<0.001、
表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

表 2 生化学的検査 (続き)

検査時期	52 週						78 週						103 週					
	0.8		8.0		80		0.8		8.0		80		0.8		8.0		80	
投与量 (mg/kg/day)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
検査例数	6	6	6	6	4	4	6	6	6	6	4	4	6	6	6	6	4	4
総蛋白					112 ↑↑↑	107 ↑					109 ↑↑							106 ↑
アルブミン	107 ↑				125 ↑↑↑	114 ↑	107 ↑				127 ↑↑↑	117 ↑↑	104 ↑					120 ↑
グロブリン										89 ↓		91 ↓						86 ↓↓
A/G					94 ↓↓		110 ↑				142 ↑↑↑	124 ↑↑	115 ↑					139 ↑↑↑
ALP			200 ↑		417 ↑				205 ↑		451 ↑				248 ↑			564 ↑
血糖						89 ↓							112 ↑		107 ↑			
総コレステロール								131 ↑							125 ↑			
LDH												53 ↓						
GPT					295 ↑						300 ↑	384 ↑	319 ↑	150 ↑			391 ↑	319 ↑
総ビリルビン													106 ↑	110 ↑				
直接ビリルビン												65 ↓						
トリグリセライド	165 ↑								131 ↑									
クレアチニン																		83 ↓
尿酸	120 ↑		118 ↑↑															
カルシウム					111 ↑↑↑						110 ↑↑↑	108 ↑					109 ↑↑↑	
ナトリウム					102 ↑													103 ↑↑↑
カリウム												119 ↑↑						

統計解析: Student の t 検定、↑: P<0.05、↑↑↓: P<0.01、↑↑↑↓↓: P<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

表 3. ALP 活性の背景データ、対照群および 8mg/kg/day 投与群 (雄) との比較

検査時期 (週)	13	26	52	78	104
雄ラットの背景データ* (検査動物数)	108~332 (24)	67~515 (24)	53~1032 (18)	42~424 (18)	43~440 (18)
対照群/雄 (検査動物数)	108~187 (6)	67~137 (6)	53~126 (6)	42~116 (6)	43~104 (6)
8.0 mg/kg/day 投与群/雄 (検査動物数)	130~259 (6)	92~246 (6)	87~294 (6)	58~243 (6)	77~329 (6)

*: 1980~1983 年に本試験と同じ試験機関で実施されたビーグル犬を用いた慢性毒性試験の対照群の実測値

臓器重量；投与終了時に、全生存動物を対象にして、脳、下垂体、甲状腺、心臓、肺、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣の重量および体重比を算出した。統計学的有意差の認められた項目を表4に示す。

80 mg/kg/day 投与群雄において、肝臓および腎臓の重量および体重比が増加し、80 mg/kg/day 投与群雌で肝臓の体重比の有意な増加が認められた。

8.0 mg/kg/day 投与群雄で前立腺の体重比の増加が認められたが、用量相関性がないことから投与に関連した影響ではないと考えられた。

その他に投与に関連した臓器重量の変化はみられなかった。

表4. 臓器重量

性 別		雄			雌		
投与群 (mg/kg/日)		0.8	8.0	80	0.8	8.0	80
最終体重		110	97	99	98	98	99
肝 臓	重 量			↑↑ 158			
	体重比			↑↑↑ 158			↑↑ 154
腎 臓	重 量			↑↑ 135			
	体重比			↑ 138			
前立腺	重 量						
	体重比		↑ 138				

統計解析：Student の t 検定、↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01、↑↑↑↓↓↓：P<0.01、表中の数値は対照群に対する変動率%

肉眼的病理検査；途中死亡動物および最終屠殺動物の全例を対象にして剖検し、体表、体腔、頭蓋腔および臓器（胸腔、腹腔、骨盤腔内）等を観察した。

80 mg/kg/day 投与群において、途中死亡および投与終了時屠殺動物で肝臓の腫大または肥大（雄6例中3例、雌6例中4例）が観察された。

病理組織学的検査；全例の動物については以下の臓器を病理組織学的に検査した。

脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、末梢神経（坐骨神経）、下垂体、胸腺または胸腺部分、甲状腺・上皮小体、副腎（両側）、口蓋扁桃、脾、骨・骨髓（胸骨、大腿骨、肋骨）、リンパ節（頸部、腸間膜）、心、大動脈、舌、口腔粘膜、唾液腺、咽頭、食道、胃（噴門部、胃底部、幽門部）、肝臓、胆嚢、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、気管、肺（主気管支を含む）、横隔膜、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、陰茎、卵巣、卵管、子宮（子宮角、体部、頸管部）、陰、眼球および付属腺（視神経を含む）、骨格筋（大腿部）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）および肉眼的異常部位（正常組織との境界部も含める）。

結果を表5に示す。

検体投与に関連した病理組織所見は認められなかった。

80 mg/kg/day 投与群雌雄において、肝臓で軽度の局所性細胞浸潤、小葉間結合組織増生あるいは星状細胞褐色色素沈着等が散見されたが、いずれも有意な増加を示さなかった。

以上の結果から 80 mg/kg/day 投与群雌雄において、検体の影響と思われる中毒症状および死亡、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数の低下、ALP、GPT、アルブミンの上昇、肝臓重量あるいは体重比の増加が認められた。

8.0 mg/kg/day 投与群雄で ALP の有意な上昇が認められたが、実測値が背景データの範囲内にあること、肝臓重量および体重比の有意な変化が認められていないこと、病理組織学的検査において肝臓に異常な所見が認められていないことから検体投与に関連した変化ではないと考えられた。また、8.0 mg/kg/day 投与群雄で GPT の有意な上昇が認められたが、用量相関性が認められない、あるいは投与期間との相関性がみられないことから検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

これらのことから、メタラキシルの無毒性量は雌雄とも 8.0 mg/kg/day であると考えられる。

表5-1 病理組織学的検査

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)		0	0.8	8.0	80.0	0	0.8	8.0	80.0
検査例数		6	6	6	4 (2)	6	6	6	4 (2)
肝	炎症性細胞浸潤	1	2	1	2	2	2	2	3
	グリソン鞘炎	0	0	0	(1)	0	1	0	2
	小葉間結合組織増生	0	0	0	2	0	0	0	0
	星状細胞褐色色素沈着増加	0	0	0	2	0	0	0	0
	肝細胞肥大	0	0	0	1	0	0	0	0
	胆管周囲炎	0	0	1	0	0	0	1	1
	肝線維症	0	0	1	0	0	1	1	0
	肉芽形成	0	0	1	0	0	0	0	0
	うっ血	0	0	0	(1)	0	0	0	0
	出血	0	0	0	0	0	0	0	(1)
	死後変化	0	0	0	(1)	0	0	0	(1)
腎	間質性腎炎	0	1	0	0	0	0	0	1
	糸球体腎炎	0	0	0	1	0	0	0	0
	炎症性細胞集簇	0	0	1	0	0	0	0	0
	炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	1
	腎盂炎	1	1	0	0	0	1	0	0
	うっ血	0	0	0	(1)	0	0	0	0
	ヘレン尿管上皮空胞化	0	0	0	0	0	0	1	1
脾	白脾髄腫大	0	0	0	0	0	0	1	0
	ガムナー・ギャンジー小結節	1	1	0	1	2	1	1	0
	うっ血	1	2	0	0	0	1	2	(1)
心	心筋炎	0	0	0	0	1	0	0	0
	冠動脈炎	0	0	1	0	0	0	0	0
	出血	0	0	0	(1)	0	0	0	0
肺	肺炎	1	0	0	1	0	0	0	0
	気管支肺炎	0	0	0	0	1	1	2	1
	炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1
	異物性肉芽腫	0	1	0	0	0	0	0	0
	うっ血	0	0	0	0	0	0	0	(2)
	出血	0	0	0	(2)	0	0	0	0
胸腺	腺管遺残	1	1	0	2	1	0	1	0
	出血	0	0	0	(2)	0	0	0	(2)
リンパ節	リンパ節炎	2	2	1	(1)	1	0	1	2
	洞拡張	0	0	0	0	0	0	1	0
	出血	0	0	0	0	0	0	0	(1)
	死後変化	0	0	0	(1)	0	0	0	0

統計解析：Fisher's exact test、有意差なし

() は死亡動物および発現数

表5-2 病理組織学的検査 (続き)

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)		0	0.8	8.0	80.0	0	0.8	8.0	80.0
検査例数		6	6	6	4 (2)	6	6	6	4 (2)
舌	舌炎	0	0	0	0	1	0	1	0
唾液腺	萎縮	0	0	0	0	0	0	0	(1)
	唾液腺炎	0	0	0	0	0	0	1	0
胃	粘膜壊死	0	0	0	0	0	0	0	1
十二指腸	うっ血	0	0	0	(1)	0	0	0	(1)
脾	脾炎	0	0	0	0	0	0	0	1
	出血	0	0	0	0	0	0	0	(1)
胆のう	胆のう炎	0	0	0	0	0	0	0	2
	リンパろ胞腫大	0	0	1	1	0	0	0	0
	のう胞形成	1	0	0	0	1	0	0	0
精巣	精細管萎縮	0	0	1	0	/			
	小円形細胞集簇	0	1	0	0				
	出血	1	0	0	0				
精巣上体	小円形細胞集簇	0	2	1	0				
前立腺	前立腺炎	0	0	1	0				
精索	動脈炎	0	0	1	0				
下垂体	のう胞形成	3	0	1	1	1	0	0	1
甲状腺	甲状腺炎	1	0	0	0	2	0	0	0
	明細胞過形成	1	1	1	0	3	2	2	1
上皮小体	のう胞形成	0	0	0	0	0	0	1	0
	リンパ管拡張	1	0	0	0	0	0	0	0
副腎	うっ血	0	0	0	0	0	0	0	(1)
脊髄	石灰沈着	0	0	0	0	0	1	0	0
皮膚	毛のう周囲炎・皮膚炎	0	0	0	(1)	1	1	0	0
	出血	0	0	0	0	0	0	0	(1)
肋骨	骨化遅延	1	0	0	0	0	0	0	0
内涙腺	内涙腺炎	0	1	0	0	0	0	0	0

統計解析：Fisher's exact test、有意差なし

() は死亡動物および発現数

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) メタラキシル M を用いたラットにおける慢性毒性および発がん性試験 (資料 No.T-19)
試験成績提出の除外

メタラキシル M の当該資料は、ラセミ体であるメタラキシルの試験成績で代替できると考えられるため試験を省略した。

メタラキシルを用いたラットにおける慢性毒性/発がん性試験成績 (1980 年、
) を参照

2) メタラキシルのラットにおける慢性毒性および発がん性試験

(資料 No. T-19)

報告書作成年： 1980 年

検体の純度：

試験動物：CD系ラット、開始時5週齢、1群雌雄各80匹

試験期間：24ヵ月間（1977年9月28日～1979年10月）

試験方法：メタラキシルを0、50、250および1250ppm含有した飼料を24ヵ月間摂食させた。

試験項目および試験結果：

一般状態；一般状態および生死を1日2回毎日観察した。また、週に1回身体検査、触診を行った。

検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

死亡率は対照群、50、250および1250ppm投与群の雄でそれぞれ71、56、69および60%、雌で56、63、61および66%であった。

体重変化；投与開始13週間は週1回、16週からは4週間隔で個体別に体重を測定した。これに26週と78週を追加した。

対照群と投与群の間に有意差が認められず、検体投与による影響はないと考えられた。

飼料摂取量および食餌効率；飼料摂取量はケージ毎に投与開始後13週間は毎週、16週以降は4週間隔で測定し、これに26週と78週を追加した。さらに食餌効率も算出した。

飼料摂取量および食餌効率とも対照群と差がなく投与による影響はないと考えられた。

検体摂取量；飼料摂取量および投与濃度から1日当りの検体摂取量を算出した。

算出した検体摂取量 (mg/kg/day) を下表に示す。

投与量	雄	雌
50ppm	1.9	2.2
250ppm	9.4	11.1
1250ppm	46.6	55.1

飲水量；飲水量を目視で毎日観察した。

毎日の観察結果から、いずれの群の飲水量も同等と推定され、投与による影響はないと考えられた。

眼科学的検査；試験開始前に全動物について投与 13、26、51、78 および 102 週時に対照群および 1250ppm 投与群の動物を対象にして両眼を観察した。

検体投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査；投与 13、25、51、78 および 104 週時に各群雌雄各 10 匹を対象としてヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球百分率、ヘマトクリット値、網状赤血球数（投与 51 週時を除く）およびプロトロンビン時間を検査し MCHC および MCV を算出した。採血は眼窩静脈叢より行なった。

統計学的に有意差のみられた項目を表 1 に示す。

いずれの有意な変化についても用量および投与期間との相関性が認められないことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

表 1. 血液学的検査

投与量	50 ppm										250 ppm									
	雄					雌					雄					雌				
性別																				
検査項目	13	25	51	78	104	13	25	51	78	104	13	25	51	78	104	13	25	51	78	104
ヘモグロビン量																				
赤血球数																				
網状赤血球数				100 ↓																
MCV								102 ↑												
白血球数			127 ↑															73 ↓↓		
好中球		200 ↑																		
リンパ球																		73 ↓↓	132 ↑	
単球																				
プロトロンビン時間														95 ↓						

統計解析：多重 t 検定、↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01
表中の数値は対照群に対する変動率%

表 1. 血液学的検査 (続き)

投与量	1250 ppm									
	雄					雌				
性別										
検査週	13	25	51	78	104	13	25	51	78	104
検査項目										
ヘモグロビン量		104 ↑								
赤血球数				105 ↑						
網状赤血球数										
MCV										
白血球数										
好中球							171 ↑			
リンパ球										
単球							400 ↑↑			
プロトロンビン時間							92 ↓↓			

統計解析：多重t検定、↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率%

生化学的検査；血液学的検査と同様の条件で、投与 13、25 週時には血清を、それ以降は血漿を用い、尿素窒素 (BUN)、血糖、総蛋白、蛋白分画、アルカリフォスファターゼ (ALP)、GPT、GOT、ナトリウムおよびカリウムを検査した。
統計学的に有意差のみられた項目を表 2 に示す。

投与 13 週時に GPT の有意な低下および総蛋白の有意な減少が全投与群雌で、投与 25 週時に GOT の有意な低下が 250ppm 以上の投与群雄で、投与 51 週時にアルブミンの有意な低下が全投与群雌で認められたが、いずれも 51~104 週時までには回復し、104 週時の GPT、GOT およびアルブミンについては対照群と投与群の間で有意差が認められず、一貫した変化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。総蛋白については、104 週時にも 50ppm 投与群で有意な減少が認められたが、104 週時の 250 および 1250ppm 投与群では有意差が認められなかったことから、用量相関性がなく、投与に関連した変化ではないと考えられた。
その他の有意な変化についても明らかな用量相関性が認め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。

表 2. 生化学的検査

投与量		50 ppm										250 ppm													
性別		雄					雌					雄					雌								
検査週		13	25	51	78	104	13	25	51	78	104	13	25	51	78	104	13	25	51	78	104				
検査項目																									
ALP																									
GPT																									
GOT																									
BUN																									
血糖																									
総蛋白																									
アルブミン																									
蛋白 分 画	α ₁ グロブリン	80 ↓	85 ↓↓	119 ↑	85 ↓	110 ↑	120 ↑↑	122 ↑	73 ↓↓	85 ↓	120 ↑														
	α ₂ グロブリン	150 ↑↑											125 ↑	83 ↓	113 ↑										
	βグロブリン											86 ↓	88 ↓	86 ↓	79 ↓↓↓										
	γグロブリン											75 ↓	80 ↓	77 ↓↓											
ナトリウム		98 ↓↓↓											102 ↑↑	98 ↓↓	99 ↓	103 ↑↑↑	102 ↑								
カリウム		107 ↑↑											108 ↑	108 ↑	108 ↑										

投与量		1250 ppm											
性別		雄					雌						
検査週		13	25	51	78	104	13	25	51	78	104		
検査項目													
ALP		77 ↓↓											
GPT													
GOT													
BUN		84 ↓↓	91 ↓										
血糖													
総蛋白													
アルブミン													
蛋白 分 画	アルブミン	122 ↑	80 ↓	85 ↓↓	90 ↓↓	88 ↓↓	80 ↓↓	127 ↑↑					
	α ₁ グロブリン												
	α ₂ グロブリン												
	βグロブリン	129 ↑	150 ↑										
γグロブリン													

統計解析：多重t検定、↑↓：P<0.05、↑↑↓：P<0.01、↑↑↑↓↓：P<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率%

尿検査；投与 13、26、52、78 および 103 週時に各群雌雄各 10 匹を対象にして採尿し、尿量、pH、比重、還元物質、糖、蛋白、ケトン体、ビリルビン、ウロビリリン、潜血、沈渣（上皮細胞、多形核白血球、単核白血球、赤血球、円柱、その他の異常）の検査を行なった。

いずれの検査項目についても投与群と対照群で同等であり、検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；投与 55 週時に各群雌雄各 10 匹、投与 105 週時に全生存動物を対象として、脳、心、肝、腎（投与 105 週時のみ）、副腎、精巣（精巣上体を含む）の臓器重量を測定した。また体重比および脳重量比を算出した。

統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

肝重量の体重比の増加が投与 55 週時に 1250ppm 投与群の雌で、投与 105 週時に 250ppm 以上の投与群の雄で、1250ppm 投与群の雌に有意な増加が認められ、投与による影響と考えられた^{注)}。

その他の有意な変化については、用量相関性が認められないことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。

性 別		雄						雌					
		55			105			55			105		
検査時期 (週)		50		250		1250		50		250		1250	
投与群 (ppm)		50	250	1250	50	250	1250	50	250	1250	50	250	1250
最終体重		108	107	104	95	92	97	99	91	89	106	102	94
心	脳重量比			↑111									
肝	体 重 比					↑↑119	↑↑116			↑↑116			↑↑122
副腎	重 量										↑134		
	脳重量比										↑133		

統計解析：多重 t 検定、↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01、↑↑↑↓↓↓：P<0.01、
表中の数値は対照群に対する変動率%

骨髓塗抹検査；投与 55 週時の中間屠殺例および投与 97 週時までの切迫屠殺例について検査したが、特記すべき変化はなかった。

血液塗抹検査；投与 105 週時の最終屠殺例について検査したが、特記すべき変化はなかった。

注)：食品安全委員会における第 46 回農薬専門調査会幹事会 (2008 年 12 月 9 日) で、250ppm 投与群雄の肝の体重比増加は、同群の生化学的検査における肝に関連した検査項目および肝の病理組織学的検査において投与による影響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評価された。

肉眼的病理検査；途中死亡例、投与 55 週時の中間屠殺例、投与 105 週時の最終屠殺動物を対象にして検査した。

いずれの病変についても対照群と投与群との間に差は認められず、投与による影響はないと考えられた。

病理組織学的検査；全動物を対象にして、副腎、大動脈弓、骨髄（投与 97 週時以降）、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼と視神経、ハーダー腺、心、回腸、空腸、腎、肝、肺と主気管支、リンパ節（頸部、腸間膜）、乳腺、食道、卵巣、睪、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄、脾、胸骨、胃、精巣、甲状腺と上皮小体、腫瘤、腫瘍と所属リンパ節、気管、膀胱、子宮頸部（投与 97 週時以降）、子宮について検査した。

非腫瘍性所見

主な非腫瘍性病変を表 3 に示す。

投与 0～52 週時の死亡例

認められた変化については、発生頻度に有意差が認められず、用量相関性もみられないため、投与による影響ではないと考えられた。

投与 55 週時の中間屠殺例

肝の小葉周辺帯の大滴脂肪性空胞化の頻度と重症度が雌で増加した。

1250ppm 投与群雌雄で肝の小葉周辺帯の淡明な腫大が多くみられ、雌の方がより重度であったが、発生頻度に有意差が認められず、これらは投与 53 週時以降の死亡例および最終屠殺例では認められなかったことから、偶発的な変化であり、投与による影響ではないと考えられた。

投与群 (ppm)		雄				雌				
		対照群	50	250	1250	対照群	50	250	1250	
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	
肝	小葉周辺帯の大滴脂肪性空胞化	軽度	1	0	2	1	0	1	1	4
		中等度	0	1	1	2	0	0	4	3
		重症	0	1	0	1	0	3	3	2
	小葉周辺帯の淡明な腫大	軽度	0	0	2	7	0	1	2	2
		中等度	0	0	0	1	0	0	0	3
		重症	0	0	0	0	0	0	0	2

統計解析：Fisher's exact test

投与 53 週時以降の死亡例

統計学的に有意差のある病変が散見されたが、いずれも用量相関性がないか、あるいは、0～52 週時および 55 週の間中間屠殺時には、有意差が認められず、一貫した変化ではないため、投与の影響ではないと考えられた。

最終屠殺動物

統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

1250ppm 群雄で脊髄神経根の神経線維の変性の発生頻度が有意に減少し、雌で腎の巣状性石灰化の発生頻度が有意に増加した。

投与群 (ppm)	雄				雌			
	対照群	50	250	1250	対照群	50	250	1250
検査動物数	20	31	22	28	32	26	28	24
腎の巣状性石灰化	0	1	0	0	0	4	3	5*
脊髄神経根の 神経線維の変性	9	9	5	4*	4	0	1	0

統計解析：Fisher's exact test、*：P<0.05

腫瘍性所見

すべての腫瘍の分布、集計を表 4 に示す。

投与 52 週時までの死亡例、投与 55 週時の中間屠殺例

少数の腫瘍が散見されたが、有意差および用量相関性が認められず、投与との関連性はないと考えられた。

投与 53 週時以降の死亡例

腫瘍としては、膵のラ氏島腺腫、外分泌腺腺腫、下垂体腺腫、甲状腺嚢胞（傍嚢胞）腺腫、副腎褐色細胞腫、精巣の間質細胞腫、皮膚（皮下）の良性、または悪性の間葉系腫瘍などが比較的多く認められたが、いずれも発生頻度に有意差が認められず、投与との関連性はなかった。

最終屠殺動物

皮膚、皮下の上皮性および間葉系の腫瘍、乳腺の線維、上皮性腫瘍、甲状腺傍嚢胞腺腫、副腎の良性褐色細胞腫等が比較的多く認められた。発生頻度が有意に増加したものは、50ppm 投与群雄の膵ラ氏島腺腫および 1250ppm 投与群雌の下垂体腺腫（合計では有意差なし）であった。いずれの腫瘍性病変とも明確な用量相関性が認められず、投与による影響ではないと考えられた。

各時期の腫瘍数を合計した全体の頻度では、甲状腺の傍嚢胞腺腫が 250ppm 投与群雌で統計学的に有意に増加した（対照の発生頻度 2.5% に対し 12.5%）。しかし、同週齢における蓄積対照群で 7.5%（21/280）の発生が記録されている。したがって、この発生は偶発的なもので投与による影響ではないと考えられた。

性 別		雄				雌			
投与群(ppm)		対照群	50	250	1250	対照群	50	250	1250
検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80
脂肪性空胞化発生数	軽 度	25	23	23	32	29	30	32	26
	中等度	9	15	24*	4	19	30	40**	37**
	重 度	1	3	2	5	5	9	8	9

統計解析： χ^2 検定、*：P<0.05、**：P<0.01

以上の結果から、雄の 250ppm 以上と雌の 1250ppm 投与群において肝重量体重比の増加が認められたことから、本試験の無毒性量は 50ppm (雄 1.9 mg/kg/day、雌 2.2 mg/kg/day) と考えられる^{注)}。また、発がん性はないものと考えられる。

なお、申請者は雌の 250ppm 以上の投与群で肝細胞の脂肪性空胞化が検体投与により発生するものと考えられる。

注)：食品安全委員会における第 46 回農薬専門調査会幹事会 (2008 年 12 月 9 日) で本試験における 250ppm 投与群雄の肝の体重比増加は、同群の生化学的検査における肝に関連した検査項目および肝の病理組織学的検査において投与による影響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判断され、雄の無毒性量は 250ppm (9.4mg/kg/day) と評価された。したがって、本試験における無毒性量は、雄で 250ppm (9.4mg/kg/day)、雌で 50ppm (2.2mg/kg/day) となった。

表 3-1. 病理組織学的検査 非腫瘍性病変 雄

死亡、屠殺の時期の区分		0～52週				55週				53～105週				105週			
投与量	ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
	mg/kg/day	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6
検査例数		6	3	2	6	10	10	10	10	44	36	46	36	20	31	22	28
副腎	広汎な皮質蒼白化	3	1	2	4	7	8	8	9	0	0	0	0	0	0	0	0
	皮質出血変性	0	0	0	0	0	0	0	0	9	6	8	2	3	4	5	3
心	慢性心筋炎	2	0	0	0	0	2	6	1	25	24	21	20	12	23	14	22
腎	腎症	1	2	0	3	7	10	6	7	40	35	42	31	20	31	22	27
	水腎症	1	0	0	0	1	0	0	2	11	15	14	8	3	3	2	8
	皮質嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	0	4	10	8	3	2	3	3	8
肝	肝細胞空胞化 ^{a)}	1	1	1	1	5	6	3	4	18	14	29	16	11	20	16	20
	胆管増生	0	0	0	1	1	3	3	3	4	3	6	6	6	4	4	11
	慢性炎症	1	0	0	0	0	0	0	0	12	10	10	14	8	8	14	13
	細胞変性巣	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	3	5	4	3	7	7
肺	気管支周囲のリンパ様過形成	2	1	1	0	6	8	8	6	39	33	42	35	18	30	21	27
	血管周囲のリンパ球浸潤	1	0	2	1	8	7	9	8	22	25	25	27	16	21	18	21
	肺胞内マクロファージの浸潤	0	0	0	0	0	4	4	2	3	3	2	9	2	6	5	5
	充血	1	0	0	0	0	0	1	1	6	6	8	7	2	5	3	2
乳腺	過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	24	20	25	18	8	11	12	11
	分泌活性	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3	8	4	3	4	2	3
	乳瘤	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1	0	3	2
膵	腺房変性	1	0	0	0	3	0	0	3	4	9	8	9	4	6	6	8
動脈周囲炎		0	0	0	0	0	0	0	0	14	11	24	9	4	8	10	11
脊髄	神経線維の変性(神経根)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	1	9	9	5	4*
脾	ヘモジデリン沈着	2	2	1	4	9	6	1	5	10	5	3	4	0	3	2	0
精巣	萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	2	9*	10*	9*	3	5	5	8
胸腺	退行/退縮	0	0	0	0	0	0	0	0	19	12	14	14	19	29	21	25
検査例数		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	11	9	16
咽頭	上皮下のリンパ球浸潤 ^{b)}													10	11	9	15
鼻	涙管上皮下のリンパ球浸潤 ^{b)}													5	4	4	5

統計解析：Fisherの直接確率法、*：P<0.05

a) 投与55週までの空胞化は、脂肪性空胞化のみを採用した。

b) 咽頭上皮下のリンパ濾胞における所見と咽頭上皮下におけるリンパ球浸潤を同一視した。鼻涙管皮下についても同様とした。

表 3-2. 病理組織学的検査 非腫瘍性病変 雌

死亡、屠殺の時期の区分		0～52週				55週				53～105週				105週			
投与量	ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
	mg/kg/day	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1
検査例数		0	2	4	4	10	10	10	10	38	42	38	42	32	26	28	24
副腎	広汎な皮質蒼白化	0	1	4	2	9	10	10	8	0	0	0	0	0	0	0	0
	皮質出血変性	0	0	0	0	2	2	1	4	31	30	19	22	27	21	27	21
心	慢性心筋炎	0	0	0	0	0	0	0	1	11	8	3	6	14	13	13	14
腎	腎症	0	1	1	2	8	8	6	8	29	31	33	34	26	22	23	20
	水腎症	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	3	0	1	3	2	1
	皮質嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	1	1	0	3	0
肝	肝細胞空胞化 ^{a)}	0	2	2	4	3	7	9	9	31	33	40	35	19	27	29	24
	胆管増生	0	0	0	0	3	1	0	1	6	11	6	9	10	8	10	5
	慢性炎症	0	0	0	0	0	0	0	0	14	17	13	17	9	5	9	5
	細胞変性集	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	1	4	6	11	6	6
肺	気管支周囲のリンパ様過形成	0	1	2	2	9	8	8	8	32	42**	37	37	31	25	28	23
	血管周囲のリンパ球浸潤	0	0	2	1	8	5	8	8	25	29	25	23	23	21	21	13
	肺胞内マクロファージの浸潤	0	0	1	0	2	1	1	2	9	5	2	1	3	4	4	4
	充血	0	0	0	0	0	1	0	0	5	4	2	8	5	9	6	2
乳腺	過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	33	40	35	36	29	24	27	20
	分泌活性	0	0	0	0	0	0	0	0	26	29	26	17*	16	16	17	16
	乳瘤	0	0	0	0	1	2	3	2	15	13	19	8	8	9	6	9
脾	腺房変性	0	0	0	0	3	0	1	0	2	1	1	3	5	3	0	3
動脈周囲炎		0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	2	3	4	1	2	2
脊髄	神経線維の変性(神経根)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	1	0
脾	ヘモジデリン沈着	0	2	3	1	10	10	8	10	13	18	20	15	9	5	9	6
胸腺	退行/退縮	0	0	0	0	0	0	0	0	13	15	8	12	31	26	27	24
検査例数		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	11	11
咽頭	上皮下のリンパ球浸潤 ^{b)}	/				/				/				9	10	11	11
咽頭	上皮下のリンパ球浸潤 ^{b)}	/				/				/				5	7	3	6

統計解析：Fisherの直接確率法、*：P<0.05、**：P<0.01

a) 投与55週までの空胞化は、脂肪性空胞化のみを採用した。

b) 咽頭上皮下のリンパ濾胞における所見と咽頭上皮下におけるリンパ球浸潤を同一視した。鼻涙管皮下についても同様とした。

表 4-1. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雄

死亡、屠殺の時期の区分		0~52週+55週				53~105週				105週				計			
投与量	ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
	mg/kg/day	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6
検査例数		16	13	12	16	44	36	46	36	20	31	22	28	80	80	80	80
皮膚・皮下	乳頭腫 ^B	0	0	0	0	1	0	2	1	1	2	1	1	2	2	3	2
	角化棘細胞腫 ^B	0	0	0	0	2	1	2	1	3	2	1	3	5	3	3	4
	皮質腺腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	毛嚢上皮腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	線維腫 ^B	2	0	0	0	7	8	7	8	6	7	0*	8	15	15	7	16
	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	6	3	2	2	6	8	4	3	12	11	6	5
	線維脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	早期癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	基底細胞癌 ^M	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	扁平上皮癌 ^M	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	2	0	1	1	4	0
	線維肉腫 ^M	0	0	0	1	5	1	5	5	1	1	2	1	6	2	7	7
	多形細胞肉腫 ^M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	骨形成型線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	組織球性肉腫 ^M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
乳腺	線維上皮腫 ^B	0	0	0	0	3	3	4	1	1	0	1	1	4	3	5	2
	乳癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脾	ラ氏島腺腫 ^B	0	0	0	0	3	0	1	0	0	7*	2	2	3	7	3	2
	外分泌腺腫 ^B	0	0	0	0	2	4	4	2	2	0	2	2	4	4	6	4
肝	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	胆管腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝細胞癌 ^M	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2	1	0	0	3
肺	腺腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腎	皮質腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腎芽細胞腫 ^M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
下垂体	腺腫 ^B	1	0	1	1	27	17	24	16	7	15	12	11	35	32	37	28
	癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体	腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
甲状腺	ろ胞腺腫 ^B	0	0	0	0	5	3	3	7	1	3	2	4	6	6	5	11
	傍ろ胞腺腫 ^B	0	0	0	0	2	1	4	3	2	0	1	1	4	1	5	4
副腎	皮質腺腫 ^B	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	2	1	1
	褐色細胞腫 ^B	0	1	0	0	4	4	6	7	4	1	5	8	8	6	11	15
	皮質腺癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
胃	腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
精巣	間質細胞腫 ^B	0	0	0	0	3	4	0	1	0	0	0	4	3	4	0	5

統計解析：Fisherの直接確率法、*：P<0.05、B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

表 4-1. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雄 (前頁の続き)

死亡、屠殺の時期の区分		0～52週+55週				53～105週				105週				計			
投与量	ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
	mg/kg/day	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6	0	1.9	9.4	46.6
検査例数		16	13	12	16	44	36	46	36	20	31	22	28	80	80	80	80
血管	血管腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	1	2
	血管肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
脳	髄膜腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	星状細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	1	3
	乏突起膠細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	上衣細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
胸腔	線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
¹⁾ 腹腔	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
十二指腸	線維腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
²⁾ 悪性リンパ腫 ^M		1	0	1	0	4	2	0	0	0	2	0	0	5	4	1	0
²⁾ 顆粒球白血病 ^M		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
悪性腫瘍数		2	0	1	1	11	6	10	8	2	4	6	2	15	10	17	11
良性腫瘍数		3	1	1	1	66	52	64	55	35	48	29	52	104	100	94	108
総腫瘍数		5	1	2	2	77	58	74	63	37	51	35	54	119	110	111	119
悪性腫瘍動物数		2	0	1	1	10	6	9	7	2	4	6	3	14	10	16	11
良性腫瘍動物数		3	1	1	0	30	24	30	27	18	25	13	20	51	50	44	47
腫瘍動物数		5	1	2	1	40	30	39	34	20	29	19	23	65	60	60	58

統計解析：Fisherの直接確率法、B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

- 1)：報告書の本文中では、悪性リンパ腫に顆粒球白血病を含めている。
- 2)：報告書の本文中では、腹腔の脂肪腫および線維肉腫を皮下の腫瘍に含めている。

表 4-2. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雌

死亡、屠殺の時期の区分		0~52週+55週				55~105週				105週				計			
投与量	ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
	mg/kg/day	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1
検査例数		10	12	14	14	39	42	39	42	31	26	27	24	80	80	80	80
皮膚・皮下	乳頭腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0
	皮質腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	毛嚢上皮腫 ^B	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	線維腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	2	2	3	2	1	3	3	2	3
	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	1	0	2	1	2	0	2	0	3	0	4	1
	線維脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	早期癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	基底細胞癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	3	2	1	0	2	0	1	0	5	4	2
	多形細胞肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	骨形成型線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	組織球形肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
乳 腺	線維上皮腫 ^B	0	0	1	0	28	28	23	20*	20	20	20	19	48	48	44	39
	乳 癌 ^M	0	0	1	0	3	5	4	8	2	3	1	2	5	8	6	10
膵	ラ氏島腺腫 ^B	0	0	0	0	2	0	0	1	3	2	1	1	5	2	1	2
	外分泌腺腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
肝	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	胆管腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
	肝細胞癌 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
肺	腺 腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腎	皮質腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	2	0	0
	腎芽細胞腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体	腺 腫 ^B	3	4	2	2	25	34	26	29	18	15	15	21*	46	53	43	51
	癌 ^M	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	0	2	1	1	0
上皮小体	腺 腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	ろ胞腺腫 ^B	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0	3	1	0	0
	傍ろ胞腺腫 ^B	0	0	0	0	0	4	5	0	2	3	5	5	2	7	10	5
副 腎	皮質腺腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	0	1	2	2	0	1
	褐色細胞腫 ^B	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	2	1	0	0
	皮質腺癌 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
胃	腺 腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
卵 巢	顆粒膜細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0

統計解析：Fisher の直接確率法、*：P<0.05、B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

表 4-2. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雌 (前頁の続き)

死亡, 屠殺の時期の区分		0~52週+55週				55~105週				105週				計			
投与量	ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
	mg/kg/day	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1	0	2.2	11.1	55.1
検査例数		10	12	14	14	39	42	39	42	31	26	27	24	80	80	80	80
子宮	線維腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	平滑筋腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
	平滑筋線維肉腫 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
血管	血管腫 ^B	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	血管肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脳	髄膜腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	星細胞腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	星状細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	乏突起膠細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
胸腔	線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
腹腔	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
十二指腸	線維腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
悪性リンパ腫 ^M		0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
顆粒球白血病 ^M		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
悪性腫瘍数		0	0	1	0	6	8	9	14	4	7	1	4	10	15	11	18
良性腫瘍数		3	4	3	2	68	73	60	57	48	50	42	49	119	127	105	108
総腫瘍数		3	4	4	2	74	81	69	71	52	57	43	53	129	142	116	126
悪性腫瘍動物数		0	0	1	0	6	7	9	14	4	6	1	4	10	13	11	18
良性腫瘍動物数		3	4	3	2	32	35	29	28	24	20	24	20	59	59	56	50
腫瘍動物数		3	4	4	2	38	42	38	42	28	26	25	24	69	72	67	68

統計解析: Fisher の直接確率法、B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

3) メタラキシル M を用いたマウスにおける発がん性試験

(資料 No.T-20)

試験成績提出の除外

メタラキシル M の当該資料は、ラセミ体であるメタラキシルの試験成績で代替できると考えられるため試験を省略した。

メタラキシルを用いたマウスにおける発がん性試験成績（1980 年、
）を参照

3) メタラキシルのマウスにおける発がん性試験

(資料 No.T-20)

報告書作成年：1980年

検体の純度：

試験動物：スイス系 ICI Alderley Park 系マウス、開始時4～5週齢、1群雌雄各60匹

試験期間：24ヵ月（1978年1月4日～1980年1月10日）

試験方法：メタラキシルを0、50、250および1250ppm含有した飼料を24ヵ月間摂食させた。

用量設定根拠：

試験項目および試験結果：

一般状態；投与3～29週時は毎日1回、その他は開始時から終了時まで毎日2回、観察を行なった。また週1回触診を行なった。

投与54～57週時、64～67週時に軽度の感染症が見られた。腫脹が雌雄の乳腺、リンパ節、雄の包皮腺に多くみられたが、いずれも対照群と投与群で発現率に差は認められなかった。

死亡率は投与78週時までは各群とも50%以下であったが、投与104週時では0、50、250および1250ppm群について雄で92%、90%、90%、83%、雌で87%、87%、92%、90%であった。死因の主なものとしては悪性リンパ腫、加齢による腎障害が考えられた。各時期の死亡率については群間差が認められず、検体投与に関連した影響はないと考えられた。

体重変化；投与開始時とそれ以降14週時までは毎週、次の40週時までは1ヵ月毎に、その後は1週間毎に測定を行なった。なお、雄の1250ppm投与群で体重に変化がみられたことから、対照群と1250ppm投与群の雄各20匹について投与32週時から52週時までは2週間毎に測定を行なった。

体重変化を表1に示す。

1250ppm投与群の雄で投与11～30週時に体重増加抑制が認められ、18～62週時まで、有意な低値を示した。

その他には検体投与による変化は認められなかった。

表 1. 体重変化

性 別 投与量 (ppm)	雄			雌		
	50	250	1250	50	250	1250
0 週	100	100	100	100	95	95
7 週	100	100	100	100	100	100
11 週	98	96	96	100	100	100
18 週	97	98	95 ↓	98	100	100
26 週	97	102	94 ↓↓	99	100	102
30 週	97	100	91 ↓↓	100	100	100
34 週	97	100	91 ↓↓	98	100	98
38 週	97	100	92 ↓↓	98	98	97
42 週	97	101	92 ↓↓	98	98	97
46 週	99	101	93 ↓	98	98	98
50 週	99	103	93 ↓	98	100	100
54 週	99	104	92 ↓	100	98	97
58 週	100	103	93 ↓	102	102	98
62 週	97	101	91 ↓	100	100	95
78 週	97	95	96	102	103	94
104 週	96	106	109	102	92	97

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)
統計解析: Student の t-検定、↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01

飼料摂取量および食餌効率; 飼料摂取量は毎週ケージごとに測定した。投与開始から 14 週時までは 1 週間ごとに、その後は 4 週間ごとに食餌効率 (単位体重増加当りの飼料摂取量) を算出した。

飼料摂取量については、群間差が認められず検体投与に起因する影響は認められなかった。食餌効率は 1250ppm 投与群の雄で投与 11~30 週時に、雌では投与 31~56 週時に増加し、食餌効率はこれらの時期に低下した。これらの変化は、その群の体重変化を反映したものと考えられた。

検体摂取量; 体重と飼料摂取量および飼料の分析値を基に計算した検体摂取量は次の通りであった (本文 P.60、表 8 より算出)。

投 与 群 (ppm)		50	250	1250
mg/kg/day	雄	4.5	22.8	119.0
	雌	5.0	24.9	132.3

骨髓塗抹検査; 対照群と 1250ppm 投与群の屠殺動物を対象にして検査を行なった。
検体投与による影響は認められなかった。

血液塗抹検査; 対照群と 1250ppm 投与群の屠殺動物を対象にして検査を行なった。
検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；死亡又は切迫屠殺運動および試験終了時の全生存動物を対象にして、肉眼的病理検査を行なった。

いずれの変化についても明確な用量相関性が認められず、検体投与による影響はないと考えられた。

病理組織学的検査；全動物を対象にして次の組織を検査した。

副腎、大動脈弓、骨、脳（大脳・小脳・延髄）、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼および視神経、ハーダー腺、心、回腸、空腸、腎、肝、肺および主気管支幹、リンパ節（頸部・腸間膜）、乳腺（前・後）、食道、卵巣、脾、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺（下顎部）、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、末梢神経、脾、胃（噴門・胃底・幽門）、精巣、胸腺*、甲状腺、腫瘤および疑いのある組織と所属リンパ節、舌*、気管、膀胱、子宮（*肉眼所見のある場合のみ検査）

非腫瘍性所見

主な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

53～104 週時の 50 および 250ppm 投与群雄において、腎の水腎症の発現頻度が有意に増加したが、1250ppm 投与群雄では有意差が認められず、発生数も 50 および 250ppm 投与群と比較して少なく、用量相関性がみられないことから、投与による影響ではないと考えられた。

その他の非腫瘍性病変については発現頻度の有意な増加および明確な用量相関性がみられないことから、検体投与による影響はないと考えられた。

腫瘍性所見

腫瘍性病変を表 2 に示す。

いずれの腫瘍性病変とも発現頻度の有意な増加および明確な用量相関性がみられないことから、検体投与による影響はないと考えられた。

以上の結果から、投与の影響として、雄の 1250ppm 投与群における体重増加抑制と食餌効率の低下がみられたことから、無毒性量は 250ppm（雄 22.8mg/kg/day、雌 24.9mg/kg/day）であると判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

表1 病理組織学的検査 非腫瘍性病変

死亡または 屠殺時期	0～52週				53～104週				最終屠殺															
	0		50		250		1250		0		50		250		1250									
投与量 ppm	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀								
性別	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀								
検査例数	10	7	8	10	9	5	7	14	46	44	46	42	45	49	43	40	4	8	6	8	6	5	10	5
眼：白内障	0	2	0	0	0	0	0	0	6	4	2	2	0	2	5	1	2	1	0	3	3	2	3	0
腎：腎症	1	2	0	1	0	1	0	3	15	16	7	4	5	5	10	8	1	2	0	0	1	0	5	2
水腎症	3	0	1	0	1	0	1	0	6	5	17**	4	20*	3	1	2	1	3	2	2	3	0	4	0
異栄養性 石灰沈着	3	3	0	0	0	0	0	2	16	4	3	1	9	0	6	3	0	0	0	1	1	0	3	0
リンパ球 浸潤	0	0	0	0	2	0	1	0	5	2	0	0	3	0	2	4	3	0	1	1	1	0	5	0
肝：脂肪性 空胞化	1	3	1	1	0	0	2	10	20	24	19	14	20	16	18	26	2	6	0	2	1	0	6	4
血管拡張	0	0	0	0	0	0	0	1	9	4	2	0	2	0	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Tyzzer病	0	2	0	1	0	0	0	1	15	19	14	12	14	19	10	11	0	0	0	0	0	0	0	0
膵：ラ氏島過形成	1	0	0	0	0	0	0	0	12	12	0	0	0	0	1	9	2	3	0	0	1	0	1	1
脾：髓外造血	3	1	3	3	1	1	2	2	16	13	8	3	17	12	9	9	1	6	2	0	0	1	5	1
卵巢：ろ胞のう胞	-	0	-	0	-	0	-	0	-	8	-	1	-	5	-	8	-	2	-	1	-	1	-	0
子宮：のう胞	-	0	-	0	-	0	-	2	-	10	-	3	-	8	-	13	-	0	-	4	-	1	-	1
内膜腺 過形成	-	0	-	2	-	0	-	3	-	22	-	16	-	14	-	19	-	6	-	7	-	3	-	4
内膜水腫	-	0	-	0	-	0	-	0	-	6	-	7	-	1	-	4	-	0	-	5	-	2	-	1
ポリープ	-	0	-	1	-	0	-	0	-	7	-	7	-	6	-	3	-	2	-	0	-	0	-	0
精巣：精細管 上皮変性	0	-	0	-	0	-	1	-	14	-	2	-	2	-	10	-	2	-	1	-	0	-	2	-
精のう：腔拡大 のう胞	0	-	1	-	0	-	0	-	10	-	12	-	6	-	8	-	4	-	5	-	5	-	5	-
包皮腺：膿瘍	2	-	0	-	0	-	0	-	4	-	5	-	3	-	6	-	0	-	1	-	0	-	0	-
慢性炎症	0	-	0	-	0	-	0	-	4	-	6	-	1	-	4	-	0	-	2	-	0	-	0	-
皮膚：炎症	0	1	1	0	0	0	0	0	9	1	6	3	5	2	3	6	2	0	1	1	0	0	0	1
潰瘍	0	1	0	0	1	0	0	0	3	1	2	2	1	1	2	4	1	0	1	0	0	0	0	0
膿瘍形成	0	0	1	0	0	0	0	0	3	1	3	0	2	0	4	1	0	0	2	0	0	0	0	0

統計解析： χ^2 検定、*：P<0.05、**：P<0.01

表 2-1. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雄

死亡または屠殺時期	0~52 週				53~104 週				104 週				計				
	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	
投与量 ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	
検査例数	10	8	9	7	46	46	45	43	4	6	6	10	60	60	60	60	
腎	尿細管腺腫 ^B	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	2	1	1
	尿細管癌 ^M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
膵	ラ氏島腺腫 ^B	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
	外分泌腺腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
胃	乳頭腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮癌 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肝	腺腫 ^B	1	0	0	1	10	19	13	13	2	2	1	6	13	21	14	20
	癌 ^M	0	0	0	0	1	1	2	3	0	0	1	0	1	1	3	3
胆嚢	腺腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
下垂体	神経線腫 ^B	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
副腎	褐色細胞腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
甲状腺	ろ胞腺腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
皮膚	棘細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	0	0	1	1	2	0
	乳頭腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
	脂肪腫 ^B	0	0	0	0	7	2	5	2	1	0	0	0	8	2	5	2
	線維腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	横紋筋腫 ^B	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
	血管腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
	扁平上皮癌 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	2	2	0	1	0	1	0	1	2	3
	基底細胞癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
	横紋筋肉腫 ^M	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	血管肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
骨	軟骨腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	滑液膜肉腫 ^M	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
悪性リンパ腫 ^M	4	2	6	5	24	17	24	23	1	3	2	4	29	22	32	32	
細網細胞肉腫 ^M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
精巣	間質細胞腺腫 ^B	0	0	0	0	5	1	2	0	2	1	0	2	7	2	2	2
	間質細胞癌 ^M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
前立腺	腺腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
精巣上体	未分化肉腫 ^M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1

統計解析： χ^2 検定、B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

表 2-1. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雄 (続き)

死亡または屠殺時期	0~52 週				53~104 週				104 週				計			
投与量 ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
検査例数	10	8	9	7	46	46	45	43	4	6	6	10	60	60	60	60
包皮腺																
棘細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
腺棘細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
肺																
肺胞上皮性腺腫 ^B	0	0	0	0	5	3	7	3	2	0	1	1	7	3	8	4
肺胞上皮性癌 ^M	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
ハーダー腺：腺腫 ^B	0	0	0	0	4	1	0	4	0	0	0	2	4	1	0	6
悪性腫瘍数	6	3	7	6	30	19	30	30	5	5	3	7	38	27	40	43
良性腫瘍数	1	1	0	1	40	30	33	27	9	6	3	13	50	37	36	41
総腫瘍数	7	4	7	7	70	49	63	57	11	11	6	20	88	64	76	84
悪性腫瘍動物数	2	3	2	5	28	18	28	28	5	3	7	5	35	24	35	38
良性腫瘍動物数	1	2	1	5	11	15	8	9	1	1	0	0	13	18	9	14
総腫瘍動物数	3	5	3	10	39	33	36	37	6	4	7	5	18	42	46	52

統計解析： χ^2 検定、B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

表 2-2. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雌

死亡または屠殺時期	0~52 週				53~104 週				104 週				計			
投与量 ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
検査例数	7	10	5	14	44	42	49	40	8	8	5	5	59	60	59	59
膀胱：乳頭腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脾：ラ氏島腺腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	2
胃：扁平上皮癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
肝：腺腫 ^B	0	0	0	0	4	1	5	1	0	2	1	1	4	3	6	2
癌 ^M	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
下垂体：腺腫 ^B	0	0	0	0	7	5	7	5	1	0	1	1	8	5	8	6
副腎：褐色細胞腫 ^M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
甲状腺：ろ胞腺腫 ^B	0	0	0	0	1	2	0	2	1	0	0	1	2	2	0	3
皮膚：棘細胞腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
腺棘細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
脂肪腫 ^B	0	0	0	0	1	1	4	1	2	0	0	0	3	1	4	1
線維腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
血管腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
腸間膜：脂肪腫 ^B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

統計解析： χ^2 検定、B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

表 2-2. 病理組織学的検査 腫瘍性病変 雌 (続き)

死亡または屠殺時期	0~52 週				53~104 週				104 週				計			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
投与量 ppm	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
検査例数	7	10	5	14	44	42	49	40	8	8	5	5	59	60	59	59
皮膚 扁平上皮癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
線維肉腫 ^M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
紡錘細胞肉腫 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
組織球性肉腫 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
横紋筋肉腫 ^M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
血管肉腫 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
骨 骨腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性リンパ腫 ^M	4	2	4	6	28	29	21	19	6	2	1	3	33	33	26	28
顆粒球性白血球 ^M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
子宮 内膜腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	1	0	2	0
細織球細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
血管腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
平滑筋線維腫 ^B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
内膜癌 ^M	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
線維筋肉腫 ^M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
平滑筋肉腫 ^M	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	2	1	0	0
卵巣 黄体腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	1	1	2
嚢胞状腺腫 ^B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
顆粒膜細胞腫 ^B	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	2	0	1	0	4	0
顆粒膜細胞癌 ^M	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
癌 ^M	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
乳腺 脂肪腫 ^B	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1
癌 ^M	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0
肺 肺胞上皮性腺腫 ^B	0	0	0	0	7	1	3	6	3	0	0	1	10	1	3	7
ハーダー腺 腺腫 ^B	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	1	3	0	0	2
癌 ^M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性腫瘍数	4	3	4	6	35	34	26	23	9	2	2	3	48	39	32	32
良性腫瘍数	0	0	0	0	27	15	27	22	12	3	5	5	39	18	32	27
総腫瘍数	4	3	4	6	62	49	53	45	21	5	7	8	87	57	64	59
悪性腫瘍動物数	8	2	2	3	30	30	24	21	4	3	4	6	42	35	30	30
良性腫瘍動物数	0	2	2	0	8	1	12	12	0	0	0	0	8	3	14	12
総腫瘍動物数	8	4	4	3	38	31	36	33	4	3	4	6	50	38	44	42

統計解析: χ^2 検定、B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

(12) 繁殖毒性および催奇形性

- 1) メタラキシル M を用いたラットにおける繁殖毒性試験 (資料 No.T-21)
試験成績提出の除外

メタラキシル M の当該資料は、ラセミ体であるメタラキシルの試験成績で代替できると考えられるため試験を省略した。

メタラキシルを用いたラットにおける繁殖性試験成績 (1980 年、
) を参照

1) メタラキシルのラットにおける繁殖毒性試験

(資料 No.T-21)

報告書作成年：1980年

検体の純度：

試験動物：CrL：COBS CD(SD)BR 系 SPF ラット、1群雌雄各 25 匹（開始時 5 週齢）

投与期間：F₀世代；投与開始から F_{1A} 離乳までの約 22 週間、F_{1B} 離乳までの約 10 週間および F_{1C} 分娩までの約 8 週間。

F₁世代；離乳時から F_{2A} 離乳までの約 19 週間および F_{2B} 離乳までの約 8 週間。

F₂世代；離乳時から F_{3A} 離乳までの約 22 週間、F_{3B} 離乳までの約 8 週間。

(1977年11月～1979年6月)

投与方法：メタラキシルを 0、50、250、1250ppm 含有した飼料を各世代のそれぞれの投与期間、自由に摂食させた。メタラキシルを混合した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：

試験項目および結果：試験方法の概要を図 1、結果を表 1～6 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。

検体投与に関連する所見は認められなかった。

飼料摂取量および食餌効率；飼料摂取量は交配前期間に週 1 回測定し、食餌効率（単位体重増加当りの飼料摂取量）を算出した。

検体投与に関連する変化は認められなかった。

飲水量；交配前期間の 1 週または 2 週時、ならびに交配 2 週間前の 1 週間について測定した。

検体投与に関する変化は認められなかった。

体重変化；試験開始時から交配前までは週に 1 回、交配中は 1 日おきに、妊娠期間中は 0、7、14、20 日目に、分娩後は 0、7、14、21 日目に測定した。

F₁世代の 1250ppm 投与群雄で有意な減少 (P<0.01) を示したが、F₂世代では有意差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た。

繁殖に関する指標；交配、妊娠時の観察に基づき次の指標を算出した。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

また、妊娠 20 日目の検査ではさらに黄体数、生存胎児数および子宮内分布、死亡胎胚ないし胎児数および子宮内分布、平均胎児体重、胎児の異常を調べ、以下の指数を算出した。

$$\text{着床前損失率} = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{着床後損失率} = \frac{\text{黄体数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

いずれの項目についても検体投与に関連した変化はみられなかった。

仔動物；繁殖性の項目；産児数、性別について調べ、分娩時、4、8、12、21 日目に一腹児体重および平均児体重を測定し、死亡率についても算出した。さらに F₀および F₁世代の児を対象として外表異常および内臓異常検査を実施した。

1250ppm 群の F_{1B}雄において、育成期間中に有意な体重増加抑制が認められた。それ以外には、いずれの世代でも、検体投与に関連する変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；F₀、F_{1B}および F_{2B}世代を対象として検査を実施した。

いずれの世代でも、検体投与に関連する変化は認められなかった。

臓器重量；F_{2B}および F_{3B}世代を対象として以下の臓器の重量を測定し、必要に応じて比重量を算出した。

副腎、肝臓、脾臓、脳、肺、精巣、心臓、卵巣、胸腺、腎臓、下垂体、甲状腺、子宮。

一部の臓器において、有意な変化がみられたが、用量に依存した変化ではなく、F₂および F₃世代で一貫した変化を示さなかったことから投与による影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査；F_{3B}世代の対照群および最高投与群を対象として下記の組織の検査を実施した。

副腎、骨髄、脳、(髄質、小脳および皮質)、盲腸、十二指腸、眼、心、回腸、腎、肝、肺、リンパ節 (頸部および腸間膜)、卵巣、膵、下垂体、唾液腺、精囊、脾、胃 (腺胃および非腺胃)、精巣、胸腺、甲状腺、膀胱、子宮、肉眼的異常部位。
検体投与に関連する変化は認められなかった。

以上の結果より、2世代にわたり検体を飼料中に混入して投与した場合、繁殖能力への影響は認められず、最高用量の 1250ppm 投与においても毒性が認められなかったことから、無毒性量は親および児に対し 1250ppm（親動物の雄で 77.6mg/kg/day、雌で 92.9mg/kg/day、児動物の雄で 106.1mg/kg/day、雌で 127.3mg/kg/day）と判断された。

図 1. 試験方法の概要

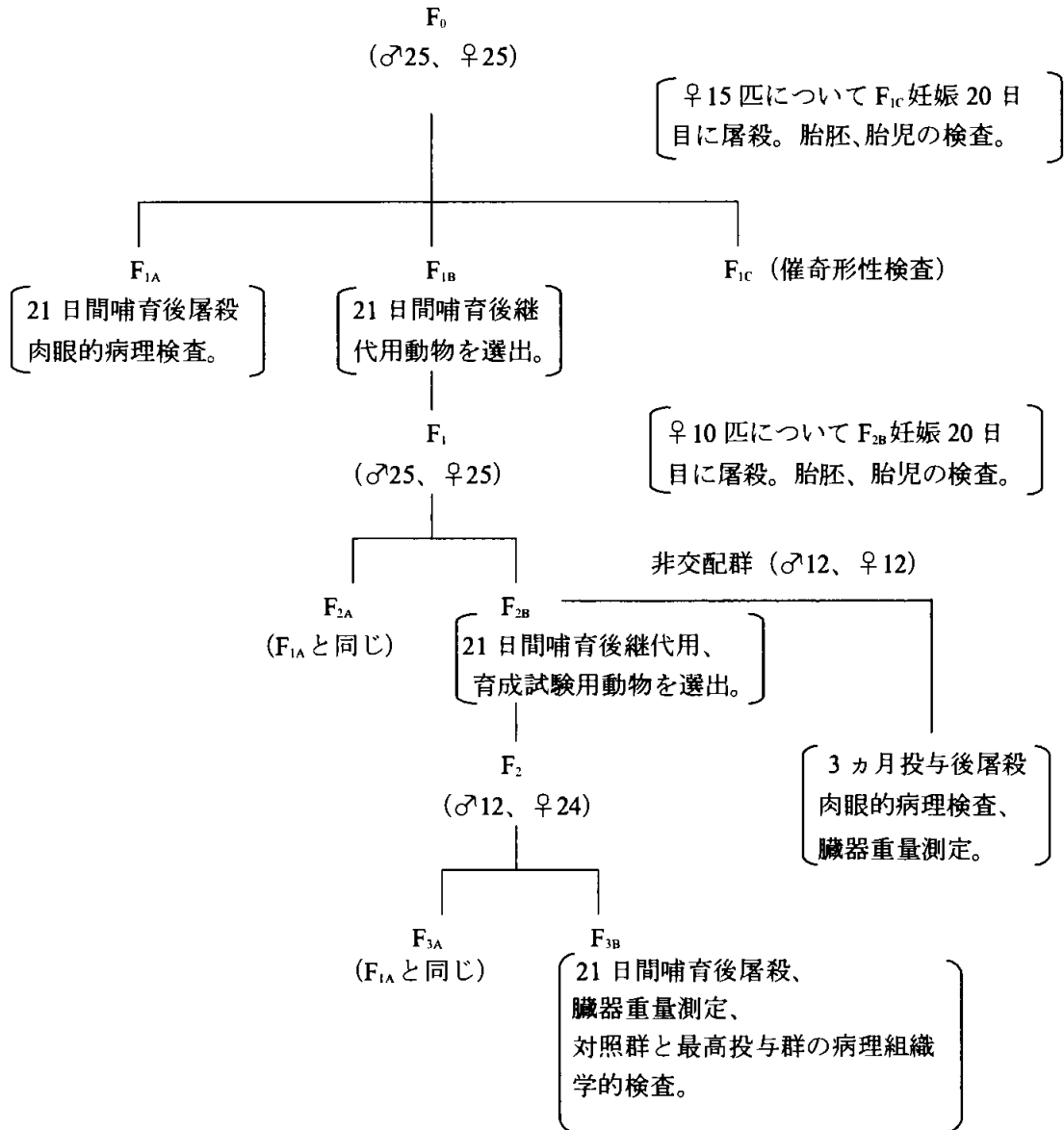


表 1

		親 動 物												
世 代		F ₀				F ₁				F ₂				
投与量 (ppm)		0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250	
一般状態			—	—	—		—	—	—		—	—	—	
死亡率 (%)	雄	0	0	0	4	4	4	0	0	4	4	0	0	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
飼料摂取量 ^{a)} (g/ラット/週)	雄	193	184	178	189	180	173	164	184	201	196	186	202	
	雌	135	129*	128**	135	137	131*	119***	155	132	140	130	137	
飲水量 (ml/ラット/日)	1 回目	雄	28.3	26.9	26.8	29.2	18.2	16.3	15.6	16.1	23.5	21.8	24.0	25.9
		雌	28.0	26.8	28.4	29.2	16.4	14.5	14.9	15.8	24.1	21.2	23.8*	23.8*
	2 回目	雄	33.9	36.7	35.2	38.9**	34.8	34.6	34.8	31.7	37.6	37.4	36.9	43.2
		雌	30.3	30.2	31.4	31.1	27.5	27.3	27.2	29.5	30.4	30.4	31.9	32.9
体 重	全期間	雄		—	—	—		—	—	**91% ^{b)}		—	—	—
		雌		—	—	—		—	—	—		—	—	—
	妊娠期間		—	—	—		—	—	—		—	—	—	
哺育期間		—	—	—	—		—	—	—		—	—	—	
食餌効率	雄		—	—	—		—	—	—		—	—	—	
	雌		—	—	—		—	—	—		—	—	—	
検体摂取量 (mg/kg/day) ^{c)}	雄	0	3.1	15.6	77.6	0	4.1	20.9	106.1	0	4.0	19.7	99.2	
	雌	0	3.6	17.5	92.9	0	4.8	23.0	127.3	0	4.7	23.2	123.9	
妊娠率 (%)	1 回目	80	88	96	80	88	88	100	96	92	75	96	96	
	2 回目	76	88	80	84	76	80	96	88	96	71	92	88	
	3 回目	80	53	73	67									
50%交尾所要期間 (日)	1 回目	2.0	2.0	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	4.0	7.5	4.5	7.0	
	2 回目	3.0	3.0	4.0	3.0	4.0	3.0	2.0	2.0	3.0	5.5	3.0	3.0	
	3 回目	3.0	17.0	5.0	4.0									
妊娠期間 (日)	1 回目	22.4	22.3	22.1	22.4	22.0	22.2	22.1	22.0	22.3	22.2	22.2	22.3	
	2 回目	22.2	22.2	22.3	22.2	22.3	22.4	22.3	22.2	22.0	22.2	22.6	22.0	
肉眼的病理検査		検体投与に関連した変化は認められなかった。												
備考		統計解析；群間の平均の飼料摂取量、飲水量および体重については、共分散分析（あるいは分散分析）後、LSDs 法または Williams 法で検定 —；対照との差がない、*；p<0.05、**；p<0.01、***；p<0.001 a)；F ₀ 、F ₂ は13週、F ₁ は10週の測定値 b)；交配1週間前の測定値のみ。％は対照群に対する変動率を示す。 c)；群別平均体重、平均摂餌量および添加濃度を基に申請者が計算した。												

表 2

		児 動 物							
世 代		F _{1A}				F _{1B}			
投与量 (ppm)		0	50	250	1250	0	50	250	1250
全死産腹児出現率 (%)		10	0	4	0	11	0	0	5
平均生存一腹 児数の推移	分娩時	12.5	13.9	12.8	12.9	10.8	14.7***	13.7*	14.3***
	4日後	12.2	13.2	12.3	12.3	10.0	14.5***	12.9*	13.9***
	8日後	11.8	13.0	11.9	11.8	9.8	14.3***	12.6*	13.6***
	12日後	11.8	12.9	11.8	11.8	9.8	14.2***	12.6*	13.5***
	21日後	11.7	12.9	11.7	11.8	9.7	13.9***	12.5*	13.3**
累積死亡率 (%)	分娩時	0.4	0.0	1.3	0.7	1.4	0.3	1.3	0.0
	4日後	2.5	4.7	5.5	5.3	7.4	1.7	7.1	3.3
	8日後	4.9	6.1	8.2	8.4	8.9	3.1	8.9	4.8
	12日後	4.9	7.3	9.1	8.4	9.3	3.7	9.1	5.4
	21日後	5.7	7.3	9.5	8.4	9.8	5.4	9.4	6.7
一腹児体重 (g)	分娩時	77.8	88.2	78.0	82.7	67.1	94.2***	86.4*	93.1***
	4日後	113.5	128.5	112.7	122.9	90.9	134.1***	119.0*	129.9***
	8日後	188.4	211.5	186.0	199.7	154.9	218.5***	191.2	209.8**
	12日後	277.1	305.5	266.6	290.7	234.9	323.5***	284.3	309.5**
	21日後	544.1	615.7	538.5	581.6	440.1	602.0**	536.4*	578.0**
平均児体重 (g)	分娩時	6.3	6.4	6.2	6.5	6.5	6.5	6.4	6.6
	4日後	9.6	9.7	9.4	10.0	9.4	9.5	9.3	9.7
	8日後	16.3	16.3	16.0	16.8	16.3	15.6	15.2	16.0
	12日後	24.0	23.9	23.1	24.5	24.6	23.3	22.6	23.7
	21日後	47.4	48.2	46.8	48.8	46.5	44.2	42.9	45.0
肉眼病理検査		検体投与に関連した変化は認められなかった。							
備考		統計解析；ノンパラメトリック法 (Jonckheere および Kruskal Wallis) 、* ; p<0.05、 ** ; p<0.01、*** ; p<0.001							

表 3

		児 動 物							
世 代		F _{2A}				F _{2B}			
投与量 (ppm)		0	50	250	1250	0	50	250	1250
全死産腹児出現率 (%)		0	5	0	0	0	21	0	0
平均生存一腹 児数の推移	分娩時	13.5	11.5	13.2	13.0	12.8	11.4	13.1	12.4
	4日後	13.2	11.3	13.0	12.8	12.4	10.5	12.9	12.2
	8日後	13.0	11.2	12.9	12.6	12.2	10.5	12.9	12.2
	12日後	13.0	11.2	12.9	12.6	12.1	10.5	12.9	12.2
	21日後	13.0	11.1	12.8	12.5	12.1	10.5	12.9	12.2
累積死亡率 (%)	分娩時	0.4	0.4	1.3	0.8	0.5	0.8	1.0	3.1
	4日後	2.6	2.4	2.8	2.7	3.6	7.9	2.1	4.8
	8日後	4.4	3.2	3.0	3.9	4.5	7.9	2.1	4.8
	12日後	4.7	3.2	3.0	3.9	4.9	7.9	2.1	4.8
	21日後	4.7	3.6	3.5	4.5	4.9	7.9	2.5	4.8
一腹児体重 (g)	分娩時	79.9	73.9	81.8	80.2	78.4	73.5	82.8	76.8
	4日後	118.9	115.4	128.1	120.0	120.2	109.5	130.9	117.8
	8日後	195.4	190.0	209.2	198.3	198.1	184.2	215.7	198.3
	12日後	293.8	277.6	303.6	294.9	292.2	268.4	314.7	296.0
	21日後	571.9	551.6	590.4	567.6	591.0	538.9	621.1	577.9
平均児体重 (g)	分娩時	5.9	6.5***	6.2*	6.2	6.2	6.5	6.3	6.2
	4日後	9.0	10.4**	10.0**	9.5	9.8	10.3	10.2	9.8
	8日後	14.9	17.4**	16.4*	15.9	16.4	17.2	16.8	16.4
	12日後	22.7	25.5	23.9	23.6	24.4	25.2	24.6	24.5
	21日後	44.4	50.9*	46.9	45.8	49.4	50.5	48.9	48.0
肉眼病理検査	検体投与に関連した変化は認められなかった。								
備考	統計解析；ノンパラメトリック法 (Jonckheere および Kruskal Wallis)、* ; p<0.05、** ; p<0.01、*** ; p<0.001								

表 4

		児動物							
世代		F _{3A}				F _{3B}			
投与量 (ppm)		0	50	250	1250	0	50	250	1250
全死産腹児出現率 (%)		9	6	4	0	0	0	0	0
平均生存一腹 児数の推移	分娩時	13.3	12.5	12.3	12.7	12.7	11.7	12.8	12.4
	4日後	13.1	12.1	11.8	12.5	12.5	11.7	12.5	12.2
	8日後	12.9	12.1	11.5	12.4	12.4	11.6	12.4	12.2
	12日後	12.9	12.1	11.4	12.3	12.3	11.5	12.3	12.2
	21日後	12.9	12.1	11.4	12.3	12.3	10.9	12.2	12.2
累積死亡率 (%)	分娩時	0.5	0.5	1.7	0.0	0.0	0.6	0.9	3.1
	4日後	1.6	3.8	5.2	1.0	1.0	0.6	2.9	4.8
	8日後	3.3	4.3	7.0	1.9	1.9	1.1	3.6	4.8
	12日後	3.9	4.3	7.9	2.3	2.3	2.3	4.4	4.8
	21日後	3.9	4.3	7.9	2.3	2.3	5.9	5.1	4.8
一腹児体重 (g)	分娩時	81.4	78.6	77.0	76.8	76.8	76.0	84.4	76.8
	4日後	122.3	114.9	108.7	120.2	120.2	125.5	133.5	117.8
	8日後	198.3	188.6	175.8	191.8	195.9	202.9	212.9	198.3
	12日後	295.1	278.2	260.9	283.3	295.0	293.6	311.5	296.0
	21日後	556.3	536.8	504.5	545.7	572.1	546.6	597.8	577.9
平均児体重 (g)	分娩時	6.2	6.3	6.3	6.3	6.2	6.6	6.7	6.2
	4日後	9.3	9.4	9.4	9.7	9.8	11.1	10.9	9.8
	8日後	15.3	15.6	15.5	15.7	16.3	18.1	17.5	16.4
	12日後	23.0	23.3	23.2	23.2	24.5	26.6	25.9	24.5
	21日後	43.5	45.0	44.7	44.7	47.7	52.1	50.2	48.0
病理組織検査		対照群と 1250ppm 投与群について検査したところ、検体投与に関連した変化は認められなかった。							

表 5

催奇形性試験									
世代	F ₀				F ₁				
投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250	
着床前吸収胚 (%)*	4.9	5.2	7.4	17.6	2.8A 8.8B	11.1	7.6	5.5	
一腹児数	13.6	14.4	13.5	10.9	11.7	10.4	11.8	12.9	
性比 ♂/♀	1.14	1.96	1.37	0.95	0.95	0.86	0.84	0.82	
着床後吸収胚 (%)**	6.0	2.9	7.0	5.5	5.6A 6.6B	11.4	12.1	10.7	
一腹児体重 (g)	45.99	49.22	45.97	36.96	40.15A 46.72B	35.96	42.76	46.28	
胎児平均体重 (g)	3.38	3.41	3.46	3.46	3.46A 3.61B	3.47	3.60	3.70	
大奇形出現率	0.9	2.1	1.3	0.9	0.0	0.0	1.7	0.0	
小変形出現率	内臓異常	3.9	5.2	2.4	0.0	0.0	23.3	5.1	2.8
	骨格異常	7.5	4.2	4.2	3.6	5.6	9.1	4.1	1.8
備考: A; 本試験の平均値 B; ハンチンドン・リサーチ・センターの蓄積データの平均値 (屠殺用妊娠動物が少ない為)									
F ₂ 親世代 育成試験									
投与量 (ppm)	0		50		250		1250		
肉眼病理検査	検体投与に関連した変化は認められなかった。								
備考									
*: 着床前吸収胚 = $\frac{(\text{黄体総数} - \text{着床数})}{\text{黄体総数}} \times 100$ **: 着床後吸収胚 = $\frac{(\text{着床総数} - \text{生存胎児数})}{\text{着床総数}} \times 100$									

表 6

臓器重量													
世代	F ₂						F ₃						
性別	雄			雌			雄			雌			
投与量 (ppm)	50	250	1250	50	250	1250	50	250	1250	50	250	1250	
最終体重	103	98	106	93	91	95	109	103	104	119	115	111	
副腎	重量			84 ↓↓	84 ↓↓	85 ↓↓							
	体重比												
	補正值			88 ↓	90 ↓								
脳	重量		105 ↑↑			106 ↑↑				104 ↑	105 ↑	102 ↑	
	体重比			109 ↑	110 ↑↑	112 ↑↑				88 ↓			
	補正值		104 ↑			107 ↑↑							
心臓	重量			109 ↑	111 ↑	106 ↑							
	体重比												
	補正值												
腎臓	重量			94 ↓	90 ↓	98 ↓							
	体重比			92 ↓								90 ↓	
	補正值			93 ↓									
肝臓	重量												
	体重比					111 ↑↑	109 ↑	110 ↑	108 ↑				
	補正值					111 ↑							
肺	重量										122 ↑	106 ↑	
	体重比												
	補正值												
卵巣	重量	/						/			123 ↑	114 ↑	
	体重比												
	補正值												
下垂体	重量			79 ↓↓	79 ↓↓	86 ↓↓					150 ↑	125 ↑	
	体重比			80 ↓					67 ↓↓				
	補正值			79 ↓	79 ↓	79 ↓			60 ↓				
甲状腺	重量				75 ↓	90 ↓							
	体重比												
	補正值				80 ↓	90 ↓							
胸腺	重量				69 ↓	83 ↓	121 ↑	117 ↑					
	体重比						121 ↑						
	補正值												

統計解析：Student-t test ↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01、表中の数値は対照群に対する割合％
補正值は最終体重値を共変量として調整した平均値

2) メタラキシルMのラットを用いた催奇形性試験(経口投与)

(資料 No.T-22)

報告書作成年：1995年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley系 (Tif:RAIf、SPF) 妊娠ラット
試験開始時約8週齢以上、1群24匹

試験期間：投与期間10日間(妊娠6～15日目)

投与方法：雌動物を雄動物と2対1で一晩同居させて交配し、膣栓あるいは膣垢中に精子の認められた日を妊娠0日とした。検体をカ0.5%ルポキシメチルセルローズ水溶液に懸濁させ、0、10、50および250mg/kgの用量で、妊娠6日目から15日目までの10日間、毎日1回強制経口投与した(10mL/kg)。

<投与量の設定>

試験項目：

親動物；一般状態および生死について毎日観察し、体重を毎日測定した。飼料摂取量は妊娠6、11、16および21日に測定した。妊娠21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、早期・後期吸収胚数、着床後損失数、流産数、生存および死亡胎児数を調べた。

生存胎児；体重を測定し、性を判定した。外表、内臓および骨格検査を実施し、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]

投与と関連した所見として、250mg/kg群では、投与期間中(妊娠6日～16日)に体重増加抑制および飼料摂取量の低下、50mg/kg群では飼料摂取量の低下がみられた。一般状態および死亡に投与の影響は認められなかった。

剖検時の各群当たりの生存胎児を有する妊娠動物数は、0、10、50、250mg/kg 群でそれぞれ 23、24、24、22 匹であった。剖検において、投与の影響と考えられる所見は認められなかった。

[胎児動物]

胎児の性比および体重に被験物質投与の影響はなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格に投与に起因すると考えられる異常の発現はなかった。

外表奇形として 10mg/kg 群の 1 匹に全身性浮腫および口蓋裂がみられたが、孤立性の発現であ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。

内臓異常が 10mg/kg 群の 4 匹（腹腔内血液様液/1 匹、肝の肥大/1 匹、腎盂拡張/2 匹）および 50mg/kg 群の 1 匹（腎盂拡張）で観察され、内臓変異として、胸腺頸部残留が全群に、肝副葉が対照群、50mg/kg 群および 250mg/kg 群にみられたが、これらの変化はいずれも被験物質投与とは関連しないと考えられた。

骨格異常が対照群、10mg/kg、50mg/kg および 250mg/kg 群で各々 13 匹、17 匹、13 匹、6 匹でみられ、内訳は胸骨分節の癒合、非対称または二分、後頭骨の骨化不整、泉門拡張、第 5 中手骨の未骨化、胸椎椎体の二分、位置異常であった。10mg/kg および 50mg/kg 群で対照群と比較し、第 5 および 6 胸骨分節非対称が増加したが、これらの異常は、骨格異常の種類、関連する変化がないこと、胎児重量に影響がないこと、用量相関性がないなどの理由から、偶発的な変化と考えられた。

骨格変異として、胸骨、踵骨、第 1 中足骨、頸椎および胸椎椎体および指骨における骨化不全または未骨化、ならびに第 13 肋骨の短小がみられ、250mg/kg 群で対照群と比較し、第 1 中足骨および第 5 指末節骨の未骨化の発生数が有意に増加した。しかしこの変化は背景データの範囲にあったため、被験物質投与に関連した変化ではないと考えられた（第 1 中足骨：胎児発現率 23.6%に対し背景対照データは 0.6～25.9%、腹発現率 45.5%に対し背景対照データは 4.5～66.7%）（末節骨：胎児発現率 3.1%に対し背景対照データは 0.0～3.6%、腹発現率 13.6%に対し背景対照データは 0.0～16.7%）。また、低用量群で対照群と比較し、第 5 指基節骨の未骨化が統計的に有意に増加したが、生物学的関連性はないと考えられた。

以上の結果より、250 mg/kg 群で体重増加抑制および飼料摂取量の低下、50 mg/kg 群で飼料摂取量の低下が認められたことから、母動物の無毒性量は 10mg/kg/day と判断された。胎児においては、最高投与量である 250mg/kg/day でも胎児に対する影響がみられなかったことから、胎児の無毒性量は 250mg/kg/day と判断された。催奇形性は認められなかった。

表：

投与量(mg/kg/day)		0	10	50	250	
1群当たりの動物数		24	24	24	24	
親動物	死亡数	0	0	0	1(切迫屠殺)	
	一般状態	脱毛	0	0	2	0
		会陰部血液様分泌物	1	1	0	0
	体重 ^{1,d}	妊娠 6 日	100	100	99	100
		妊娠 11 日	100	100	99	98
		妊娠 16 日	100	99	98	97
		妊娠 21 日	100	99	99	98
	体重増加量 ^{1,d}	妊娠 6-11 日	100	97	94	73↓↓
		妊娠 6-16 日	100	97	92	88
	飼料摂取量 ^{1,d}	妊娠 6-11 日	100	97	93↓	84↓↓
		妊娠 11-16 日	100	98	92↓	94
	妊娠率(%)		23/24(96)	24/24(100)	24/24(100)	22/23(96)
	動物	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	23	24	24	22
着床所見(腹)	黄体数 ^d	18.2	17.3	17.8	17.3	
	着床数 ^d	15.4	14.4	15.8	14.8	
	着床前損失(%) ^u	14.6	16.7	11.5	14.3	
	着床後損失(%) ^u	6.4	3.9	4.8	4.2	
	早期吸収胚数 ^d	0.9	0.5	0.8	0.6	
	後期吸収胚数 ^d	0.0	0.0	0.0	0.0	
	生存胎児数 ^d	14.5	13.9	15.0	14.2	
	死亡胎児数 ^d	0	0	0	0	
妊娠子宮重量(g) ^d		105.0	102.9	107.3	102.0	
カーカス重量(g) ^d		269.0	267.8	262.9	263.5	
カーカス重量変化(g) ^d		40.5	39.1	35.7	34.0	
胎児	性 比(雄 %) ^f		50.5	48.5	50.3	48.1
	体重(g)	雄 ^d	5.4	5.6	5.4	5.5
		雌 ^d	5.1	5.2	5.1	5.1
	外表検査	胎児発生率(%)	0/333(0)	1/334(0.3)	0/360(0)	0/312(0)
		腹発生率(%)	0/23(0)	1/24(4.2)	0/24(0)	0/22(0)
		奇形：口蓋裂	0	1	0	0
奇形：全身性浮腫	0	1	0	0		
動物内臓検査	胎児発生率(%)	7/161(4.3)	6/162(3.7)	4/173(2.3)	8/151(5.3)	
	腹発生率(%)	5/23(21.7)	5/24(20.8)	4/24(16.7)	8/22(36.4)	
	奇形：口蓋裂	0	1	0	0	
	異常：腹腔内血液様液	0	1	0	0	
	異常：肝肥大	0	1	0	0	
	異常：腎盂拡張	0	2	1	0	
変異：胸腺頸部残留	6	2	3	5		
変異：肝副葉	2	0	1	3		

1；未妊娠動物を除く

体重、体重増加量および飼料摂取量は対照群に対する変動率で示した統計学的方法；f: Fisher の直接確率法で有意差なし

d: Dunnett test (↓:p<0.05, ↓↓:p<0.01)

u: Kruskal-Wallis + Mann-Whitney U-test

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。

投与量(mg/kg/day)		0	10	50	250
1群当たりの動物数		23	24	24	22
胎 骨 ^f 児 格 動 査 物	奇形胎児発生率(%)	0/172(0)	0/172(0)	0/187(0)	0/161(0)
	腹発生率(%)	0/23(0)	0/24(0)	0/24(0)	0/22(0)
	異常胎児発生率(%)	13/172(7.6)	17/172(9.9)	13/187(7.0)	6/161(3.7)
	腹発生率(%)	10/23(43.5)	14/24(58.3)	8/24(33.3)	4/22(18.2)
	第1,2 胸骨分節癒合	2	0	1	0
	第1 胸骨分節非対称	4	2	2	0
	第2 胸骨分節非対称	1	1	0	0
	第3 胸骨分節非対称	1	1	0	0
	第3 胸骨分節二分	0	1	0	0
	第4 胸骨分節非対称	1	3	2	0
	第5 胸骨分節非対称	5	7	7	1
	第6 胸骨分節非対称	1	10*	5	1
	泉門拡張	1	0	0	0
	後頭骨骨化不整	2	2	0	3
	第5 中手骨未骨化	1	0	0	0
	胸椎椎体位置異常	0	0	1	0
	胸椎椎体二分	0	0	0	1
	変異胎児発生率(%)	172/172(100)	172/172(100)	187/187(100)	161/161(100)
	腹発生率(%)	23/23(100)	24/24(100)	24/24(100)	22/22(100)
	第1 胸骨分節欠損	2	2	0	0
	第2 胸骨分節未骨化	0	1	0	0
	第2 胸骨分節骨化不全	0	1	1	0
	第6 胸骨分節骨化不全	1	1	0	0
	後肢踵骨未骨化	168	156	180	151
	後肢踵骨骨化不全	1	1	1	3
	第1 中足骨未骨化	24	16	30	38*
	第1 中足骨骨化不全	4	3	2	4
頸椎椎体未骨化	169	169	185	158	
頸椎椎体骨化不全	40	42	46	33	
頸椎椎体二分	17	17	15	20	
皿鈴型頸椎椎体	3	7	2	2	
皿鈴型胸椎椎体	0	3	5	7	
胸椎椎体未骨化	0	1	0	0	
胸椎椎体骨化不全	0	2	0	0	
第13 肋骨短小	10	13	20	18	
第13 肋骨未骨化	1	6	1	4	
第1 指末節骨未骨化	0	0	0	1	
第2 指基節骨未骨化	9	3	5	4	
第2 指末節骨未骨化	0	0	0	1	
第2 指基節骨骨化不全	1	2	2	5	
第3 指基節骨未骨化	1	0	0	0	

統計学的方法 ; f: Fisher の直接確率法 (*;p<0.05)

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。

		投与量(mg/kg/day)	0	10	50	250
胎 児 動 物	骨 ^f	第4指基節骨未骨化	1	0	0	0
		第4指末節骨未骨化	0	0	0	1
		第5指基節骨未骨化	13	4*	14	18
		第5指末節骨未骨化	0	0	0	5*
	格 検 査	第5指基節骨骨化不全	9	5	14	11
		第5指末節骨骨化不全	0	0	0	1
		第1趾末節骨未骨化	0	0	0	1
		第1趾末節骨骨化不全	2	2	0	2
		第2趾基節骨未骨化	51	37	65	57
		第2趾基節骨骨化不全	10	11	21	14
		第2趾末節骨骨化不全	4	2	0	3
		第3趾基節骨未骨化	40	29	49	43
		第3趾基節骨骨化不全	6	9	18	14
		第3趾末節骨未骨化	0	0	0	1
		第3趾末節骨骨化不全	3	2	0	2
		第4趾基節骨未骨化	41	29	47	40
		第4趾基節骨骨化不全	7	8	17	11
		第4趾末節骨骨化不全	2	2	0	3
		第5趾基節骨未骨化	83	64	106	93
		第5趾基節骨骨化不全	21	16	22	20
第5趾末節骨未骨化	2	2	0	3		
第5趾末節骨骨化不全	1	0	0	0		

統計学的方法 ; f. Fisher の直接確率法 (*; p<0.05)

3) メタラキシル M を用いたウサギにおける催奇形性試験
試験成績提出の除外

(資料 No.T-23)

メタラキシル M の当該資料は、ラセミ体であるメタラキシルの試験成績で代替できると考えられるため試験を省略した。

メタラキシルを用いたウサギにおける催奇形性試験成績を参照

- ① (1984 年、)
- ② (1984 年、)

メタラキシルのウサギにおける催奇形性試験 - ①

(資料 No.T-23)

報告書作成年：1978年

報告書改訂：1984年

検体の純度：

試験動物：ChinChilla種ウサギ（4～5月齢、体重2.57～4.00kg、未経産）
1群雌2匹（全動物を妊娠28日に開腹）

試験期間：1978年8月29日～（終了時期不明）

試験方法：メタラキシルを2%CMC水溶液に懸濁させ、0、5、10および20mg/kg/日の投与レベルで妊娠6日から18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には2%CMC水溶液を同様に投与した。

試験項目：

母体；一般状態および生死を毎日観察し、また体重を毎日測定した。飼料摂取量を妊娠0～5、6～10、11～14、15～18、19～23および24～28日の6期間に測定した。
妊娠28日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎仔数、吸収胚数、吸収胎仔数および死亡胎仔数を検査した。

生存胎仔；性別および体重ならびに外表および内臓異常を観察した。
頭部については頭蓋骨の縫合、脳、脳室、頭蓋外表異常を、躯幹部については骨格異常を観察した。

試験結果：表参照。

母体；妊娠動物の10mg/kg投与群で飼料摂取量および体重が対照群より有意に低い期が認められたが用量相関性のない変化であった。

一般状態、着床所見等その他の検査項目には対照群との差は認められなかった。

生存胎仔；性別および体重に対照群との差は認められなかった。外表異常は全く認められず、両前肢および左後肢の第5指節骨の骨化促進例数が5mg/kg投与群で有意に高かったが、いずれも用量相関性がなく、検体の影響とは考えられなかった。骨格変異として肋骨の短小または欠損を示す延仔動物数が10mg/kg以上の投与群で幾分多かったが、統計学的に差がないことから検体の影響とは考えられなかった。また骨格の奇形は全く認められなかった。

内臓の異常については、10mg/kg投与群に左腎および尿管の欠損が1例に、腎の形成不全が1例に、20mg/kg投与群に右腎および尿管の欠損が1例に認められたが、蓄積対照では692例中4例に腎ないし尿管の欠損が認められているので、本試験における変化は自然発生的なものと考えられた。

以上の結果より、メタラキシルを妊娠ウサギに投与したときの母体における最大無作用量は20mg/kg/日であった。また最高投与量である20mg/kg/日でも胎仔に対して催奇形性は及ぼさないと判断される。

投与群 (mg/kg/day)		対照群	5	10	20	
1 群当り動物数		20	18*	20	20	
親動物	一般状態		影響なし	影響なし	影響なし	
	死亡数 (率%)	0	1 (5.5)	0	0	
	体重増加量 (g)	0.73	0.70	0.66	0.75	
	飼料摂取量 (率%) (妊娠 6~18 日)	100	100~104	69~87 ↓***	93~96	
	妊娠動物数 (率%)	18 (90.0)	12 (66.7)	16 (80.0)	19 (95.0)	
	自然分娩動物数	1	1	1	0	
	** 着床所見	黄体数	10.6	9.8	9.5	10.4
		着床数	8.4	8.0	8.0	8.6
		生存胎児数	♂ ♀ 4.2 3.7	♂ ♀ 4.0 2.9	♂ ♀ 3.7 3.7	♂ ♀ 4.7 2.8
		吸収胚数	0.4	1.7	0.3	0.7
吸収胎児数		0.2	0.2	0.3	0.4	
死亡胎児数		0.0	0.0	0.0	0.0	
胎児動物	体 重 (g)	♂ ♀ 34.4 34.0	♂ ♀ 37.3 36.2	♂ ♀ 34.5 34.4	♂ ♀ 36.0 34.3	
	性 比 (雄率%)	53.2	58.0	49.5	62.5	
	外表検査	検査胎児数 (腹数)	141 (18)	69 (10)	111 (15)	144 (19)
		異常胎児数 (腹数)	0	0	0	0
	骨格検査	検査胎児数 (腹数)	141 (18)	69 (10)	111 (15)	144 (19)
		骨化遅延胎児数 (腹数)	0	指骨の骨化促進	0	0 (19)
		変異胎児数 (腹数)	A : 3 (3) B : 11 (8)	A : 4 (2) B : 7 (3) C : 1 (1) D : 2 (1)	A : 4 (3) B : 16 (7) D : 1 (1)	A : 2 (2) B : 20 (9) E : 1 (1)
		奇形胎児数 (腹数)	0	0	0	0
	内臓検査	検査胎児数 (腹数)	141 (18)	69 (10)	109 (15)	143 (19)
		変異胎児数 (腹数)	0	0	0	0
奇形胎児数 (腹数)		0	0	左腎及び尿管の欠損 1(1) 腎の形成不全 1(1)	右腎及び尿管の欠損 1(1)	

* : 事故死 1 例、吸収胚のみの 1 例を除外、** : 自然分娩例を除外

A : 胸骨のジッパー型骨化 (延べ胎児数と延べ腹数)、B : 肋骨短小/欠損 (延べ胎児数と延べ腹数)

C : 胸骨癒合 (延べ胎児数と延べ腹数)、D : 分岐胸骨 (延べ胎児数と延べ腹数)、

E : 二分胸骨核 (延べ胎児数と延べ腹数)

*** : 一元配置 ANOVA および Duncan の多重比較検定、↓ : P<0.05、%は妊娠 6~18 日の対照群に対する変動率を示す

メタラキシルのウサギにおける催奇形性試験-②

(資料 No.T-23)

報告書作成年：1984年

検体の純度：

試験動物：Dutch Belted 種妊娠ウサギ（交配時5～6ヵ月齢）、1群雌18匹

試験期間：1984年5月24日（授精開始）～1984年6月22日（帝王切開終了）

試験方法：検体を1%CMC水溶液に懸濁し、0, 30, 150, 300mg/kg/日の投与レベルで妊娠7日から19日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には1%CMC水溶液を同様に投与した。

試験項目：

- 母体；体重増加量が300 mg/kg 投与群で投与期間及び妊娠期間に低かった。
150mg/kg 投与群でも体重増加量がやや低かったが、ウサギにおける体重増加量の変動を考慮すると検体投与によるものとは考えられなかった。
飼料摂取量は300 mg/kg 投与群で投与期間中低く、投与終了後も妊娠20日まで低下がみられた。同群の妊娠後期（妊娠24-28日）の飼料摂取量は高値を示した。
30mg/kg 投与群の飼料摂取量は妊娠後期（妊娠24-28日）で高値を示したが、用量に依存した変化ではなく、投与に関連しない変化と考えられた。
その他の検査項目について検体投与に関連した影響は認められなかった。

生存胎児；種々の奇形が認められたが、その発生率に統計学的に有意な群間差は認められなかった。また、変異、骨化遅延およびその他の検査項目にも対照群と各投与群との間に、統計学的な差は認められなかった。

以上の結果より、本剤をダッチベルテッド種妊娠ウサギに投与したときの母体における無毒性量は150 mg/kg/dayであった。また、最高投与量の300 mg/kg/dayでも、胎児に対して催奇形性を示さないと判断される。

投与群 (mg/kg/day)		対 照	30	150	300	
1 群当り動物数		18	18	18	18	
親動物	一般状態		影響なし	影響なし	糞量の低下	
	死亡数 (率%)	2 (11.1)	0	0	1 (5.6)	
	体重増加量 (g)	186	329	140	132	
	飼料摂取量 [#] (率%)	妊娠 0-7 日	100	101	98	94
		妊娠 7-13 日	100	108	96	75 ^{↓6)}
		妊娠 13-20 日	100	121	103	78
		妊娠 20-24 日	100	116	92	95
		妊娠 24-28 日	100	142 ^{↑6)}	105	141 ^{↑6)}
	妊娠動物数 (率%)	16 (88.9) ¹⁾	17 (94.4)	16 (88.9)	16 (88.9) ²⁾	
	着床所見	黄体数	12.3	10.1 ^{↓↓5)}	11.5	10.6
着床数		8.8	7.7	7.8	7.3	
生存胎児数		8.1	7.3	6.7	6.7	
吸収胚数 ³⁾		0.4	0.1	0.4	0.3	
吸収胎児数 ³⁾		0.1	0.3	0.8	0.3	
死亡胎児数 ³⁾		0.1	0.1	0.0	0.1	
胎児動物	体 重 (g)	31.4	32.3	30.6	30.6	
	性 比 (雄率%)	48.1	56.8	45.8	51.9	
	外表検査	検査胎児数 (腹数)	131 (16)	125 (17)	107 (16)	108 (15)
		異常胎児数 (腹数)	腹壁裂 : 1 (1)	0	0	無頭症 : ^{b)} 1 (1)
	骨格検査	検査胎児数 (腹数)	131 (16)	125 (17)	107 (16)	108 (15)
		骨化遅延胎児数(腹数) ⁴⁾	18 (8)	7 (6)	14 (10)	12 (5)
		変異胎児数 (腹数) ⁴⁾	48 (11)	38 (14)	29 (10)	43 (14)
		奇形胎児数 (腹数)	肩甲骨棘分岐 : 2 (1)	肋骨の異形成 : 2 (2) ^{a)} 肩甲骨棘分岐 : 1 (1)	0	脊髓の異形成 : 1 (1) 尾椎の異形成 : 1 (1) 脊椎及び鎖骨の異形成 : 1 (1) ^{b)}
		検査胎児数 (腹数)	131 (16)	125 (17)	107 (16)	108 (15)
	内臓検査	変異胎児数 (腹数) ⁴⁾	7 (6)	8 (5)	3 (2)	4 (3)
		奇形胎児数 (腹数)	水頭症 : 1 (1) 頸動静脈位置異常 : 1 (1)	0	小眼球症 : 1 (1) 水頭症 : 1 (1) 心室中隔欠損を伴う心の異形成 : 1 (1)	0

: 飼料摂取量は対照群に対する変動率で示した

1) : 妊娠後死亡した 2 例を除く

2) : 妊娠後死亡した 1 例を除く

3) : 個別別表 7 参照

4) : 申請者が個別別表を基に算出した

5) : 分散分析 (片側検定)、Bartlett の均一性検定および

Dunnett の多重比較表を用いた修正 t-検定、↓↓ ; P<0.01

6) : Student's t-test、↑↓ ; P<0.05 (申請者が実施した)

a) : 1 例は肋骨の癒合を伴う

b) : 同一胎児

(13) 変異原性

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-24)

報告書作成年：1994年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (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において変異原性を検定した。検体はジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解した。

試験の最高濃度を 5000 μ g/プレートとし、それ以下の 4 濃度については公比 2 で設定した (312.5~5000 μ g/プレート)。また、DMSO のみの陰性対照と既知変異原化合物の陽性対照を設定し比較に用いた。

試験は 1 回目の試験 (本試験) に加え、結果を確認するために全ての菌株について同じ試験方法および濃度で 2 回目の試験 (確認試験) を行った。さらに、TA102 については同じ試験方法および濃度で 3 回目の試験 (2 回目の確認試験) を行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果の表は次頁に示す。

本試験において、検体処理群では代謝活性化系の存在下および非存在下で、いずれの菌株および濃度においても突然変異株の発現頻度の増加は認められなかった。

確認試験では、TA102 菌株の代謝活性化系比存在下、2500 μ g/プレートにおいてわずかに増加が認められたが、用量相関性がなく、2 回目の確認試験においてはその増加に再現性がみられなかった。よって、検体の処理との関係は無いと考えられた。

以上の結果より、メタラキシル-M は代謝活性化系の存在下および非存在下で、復帰変異誘発性を有さないものと判断された。

表 1. 本試験の結果

S-9 Mixの有無	薬物	濃度 (µg/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート												
			塩基対置換型								フレームシフト型				
			TA100		TA1535		WP2uvrA		TA102		TA98		TA1537		
	平均		平均		平均		平均		平均		平均				
-	溶媒対照 (DMSO)	—	113		14		19		210		40		6		
			80		14		21		254		42		6		
			104	99	13	14	13	18	216	227	45	42	9	7	
	メタラキシル-M	312.5		99		21		21		265		48		8	
				101		12		24		205		42		5	
				101	100	17	17	15	20	253	241	48	46	4	6
		625		87		6		16		157		42		8	
				82		16		24		227		39		6	
				66	78	7	10	12	17	229	204	40	40	12	9
		1250		81		17		18		197		39		11	
				84		13		24		164		47		5	
				80	82	7	12	17	20	206	189	49	45	12	9
		2500		92		13		16		114		42		9	
				88		5		25		145		36		5	
			80	87	14	11	26	22	135	131	41	40	9	8	
5000		89		14		20		100		49		6			
		75		8		14		151		40		7			
		94	86	6	9	25	20	100	117	44	44	8	7		
陽性対照	名称	アジ化ナトリウム		アジ化ナトリウム		4-ニトロキノリン		マイトマイシン-C		2-ニトロフルオレン		9-アミノアクリジン			
	濃度 (µg/プレート)	5.0		5.0		2.0		2.0		20.0		150.0			
	コロニー数/プレート	1612		868		699		1344		1707		3067			
		1671		856		708		1325		1492		2837			
		1546	1610	907	877	629	679	1292	1320	1652	1617	2964	2956		
+	溶媒対照 (DMSO)	—	90		9		17		219		41		8		
			92		12		24		206		33		4		
			109	97	15	12	12	18	231	219	27	34	7	6	
	メタラキシル-M	312.5		110		14		13		246		37		4	
				97		11		16		282		36		3	
				98	102	10	12	24	18	218	249	32	35	5	4
		625		110		16		28		222		29		3	
				98		13		15		233		27		5	
				102	103	4	11	24	22	285	247	42	33	2	3
		1250		96		14		28		207		33		3	
				76		15		18		258		24		9	
				74	82	12	14	20	22	248	238	38	32	6	6
		2500		108		15		19		125		38		6	
				92		3		25		139		26		4	
			90	97	12	10	15	20	149	138	24	29	7	6	
5000		77		6		14		111		28		7			
		80		17		24		192		31		5			
		84	80	15	13	17	18	147	150	27	29	4	5		
陽性対照	名称	2-アミノアントラセン		シクロホスファミド		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン			
	濃度 (µg/プレート)	2.5		400.0		50.0		20.0		2.5		2.5			
	コロニー数/プレート	1740		414		861		1425		1400		124			
		1748		323		717		1377		1880		198			
		2037	1842	487	408	845	808	1384	1395	2084	1788	246	189		

表 2. 確認試験の結果

S-9 Mixの有無	薬物	濃度 (µg/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート											
			塩基対置換型								フレームシフト型			
			TA100		TA1535		WP2uvrA		TA102		TA98		TA1537	
	平均		平均		平均		平均		平均		平均			
-	溶媒対照 (DMSO)	-	147		29		21		168		28		7	
			129		27		26		184		31		7	
			134	137	24	27	26	24	221	191	32	30	8	7
	メタラキシル-M	312.5	111		28		26		136		29		8	
			141		24		20		170		31		14	
			114	122	27	26	18	21	216	174	37	32	8	10
		625	124		18		31		208		32		12	
			129		20		25		241		24		6	
			133	129	21	20	26	27	181	210	26	27	8	9
		1250	116		21		25		148		30		14	
			141		20		27		180		25		12	
			105	121	24	22	19	24	183	170	26	27	12	13
		2500	134		18		20		290		26		7	
			138		25		18		331		44		8	
123	132		17	20	24	21	327	316	36	35	9	8		
5000	133		17		25		195		17		6			
	140		15		14		211		40		7			
	146	140	15	16	20	20	264	223	28	28	14	9		
陽性対照	名称	アジ化ナトリウム		アジ化ナトリウム		4-ニトロキノリン		マイトマイシン-C		2-ニトロフルoren		9-アミノアクリジン		
	濃度 (µg/プレート)	5.0		5.0		2.0		2.0		20.0		150.0		
	コロニー数/プレート	1449		1230		590		784		1965		2814		
		1404		1256		560		1096	975.0	1972		2910		
		1661	1505	1172	1219	487	546	1051	7	2155	2031	3012	2912	
+	溶媒対照 (DMSO)	-	136		20		21		269		50		8	
			168		16		26		290		51		12	
			114	139	17	18	36	28	285	281	60	54	13	11
	メタラキシル-M	312.5	136		19		27		230		45		15	
			108		21		38		290		38		7	
			120	121	18	19	27	31	284	268	29	37	14	12
		625	115		16		31		396		32		6	
			163		15		32		362		36		6	
			148	142	25	19	27	30	397	385	55	41	15	9
		1250	111		18		26		339		31		6	
			117		19		41		389		51		16	
			111	113	20	19	26	31	400	376	48	43	5	9
		2500	139		28		26		277		55		8	
			133		32		26		309		62		8	
140	137		19	26	20	24	308	298	33	50	9	8		
5000	103		21		31		210		42		14			
	103		16		25		186		42		12			
	140	115	20	19	26	27	259	218	38	41	5	10		
陽性対照	名称	2-アミノアントラセン		シクロホスファミド		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		
	濃度 (µg/プレート)	2.5		400.0		50.0		20.0		2.5		2.5		
	コロニー数/プレート	2523		508		589		2258		1365		245		
		2245		561		884		2251		2168		326		
		2246	2338	555	541	926	800	2234	2248	2022	1852	305	292	

表 3. 2 回目の確認試験の結果
(プレートあたりの復帰変異コロニー数)

S-9 Mix の有無	薬物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	TA102	
				平均
—	溶媒対照 (DMSO)	—	269	252
			240	
			248	
	メタラキシル-M	312.5	222	240
			255	
			243	
		625	230	217
			211	
			209	
	1250	234	229	
212				
242				
2500	261	235		
	240			
	205			
5000	165	197		
	229			
	196			
マイトマイシン-C (陽性対照)	2.0	1746	1697	
		1694		
		1652		

2) チャイニーズハムスター培養卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No.T-25)

報告書作成年：1994 年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣細胞 (CHO、CCL 61) 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染色体異常誘発性を検定した。検体はジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解させ、試験を実施した。2030.0 μ g/mL を最高濃度とし、5～8 濃度を用いて代謝活性化系あるいは非存在下で暴露を行った。まず全試験濃度の細胞毒性を分析し、使用した最高濃度あるいは有糸分裂を対照群と比較し約 50～80%阻害する最低用量を染色体異常の最高濃度と決定し、その低濃度 2 濃度の計 3 濃度の細胞の染色体異常の観察を行った。

代謝活性化系非存在下

本試験 : 15.86～2030.0 μ g/mL の 8 濃度で 18 時間暴露した。有糸分裂を 55.28% 阻害した濃度 507.50 μ g/mL を最高濃度とし、253.75、126.88 μ g/mL の 3 濃度の細胞を観察した。

確認試験 1 : 63.44～2030.0 μ g/mL の 6 濃度で 18 時間暴露した。1015.0 μ g/mL では有糸分裂を 35.43%阻害し、2030.0 μ g/mL では 88.19%阻害したため、1015.0 μ g/mL を最高濃度とし、507.50 および 253.75 μ g/mL の 3 濃度の細胞を観察した。

確認試験 2 : 15.86～2030.0 μ g/mL の 8 濃度で 42 時間暴露した。有糸分裂を 59.50% 阻害した濃度 1015.0 μ g/mL を最高濃度とし、507.50 および 253.75 μ g/mL の 3 濃度の細胞を観察した。

代謝活性化系存在下

本試験 : 15.86～2030.0 μ g/mL の 8 濃度で 3 時間暴露および 15 時間の回復時間を設けた。2030.0 μ g/mL では強い細胞毒性のため細胞断片のみが観察されたことから、28.97%の有糸分裂阻害率であるが 2 番目に高濃度である 1015.0 μ g/mL を最高濃度とし、507.50 および 126.88 μ g/mL の 3 濃度の細胞を観察した。

確認試験 1 : 126.88～2030.0 μ g/mL の 5 濃度で 3 時間暴露および 15 時間の回復時間を設けた。有糸分裂阻害率は 29.27%であったが、最高濃度である 2030.0 μ g/mL を染色体異常観察のための最高濃度とし、1015.0 および 507.50 μ g/mL の 3 濃度の細胞を観察した。

確認試験 2 : 15.86~2030.0 μ g/mL の 8 濃度で 3 時間暴露および 39 時間の回復時間を設けた。有糸分裂阻害率は 14.43%であったが、最高濃度 2030.0 μ g/mL を染色体異常観察のための最高濃度とし、507.50 および 126.88 μ g/mL の 3 濃度の細胞を観察した。

観 察 : 観察は検体処理群および陰性対照群では 200 個、陽性対照群では 50 個の分裂中期像について行った。以下の基準にしたがい、陽性判定を行った。

- 1)特異的染色体異常数が 6.0%を上回る場合、および陰性対照群と比較して統計学的に有意に増加した場合
- 2)染色体異常を有する細胞数の増加に、用量相関性がみられた場合

試験結果 : 結果を表 1 および表 2 に示した。

代謝活性化系非存在下で実施した試験で、統計学的に有意差がみられ、本試験においては陽性判定基準の 6.0%を上回る 6.5%の細胞が異常を有する結果も得られた。しかし、確認試験で得られた対応する結果は、いずれも陽性判定基準よりも低く、陰性対照背景データの範囲内であった。さらに、陽性判定基準の 6.0%を上回る値が得られたのは本試験の最低濃度のみであり、用量相関性は認められなかった。

一方、陽性対照のシクロホスファミドは代謝活性化系の存在下で、マイトマイシン C は非存在下で、染色体異常を有する細胞数の統計学的有意な増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下において本剤は染色体異常誘発性を有さないものと考えられる。

表 1. 本試験の結果

S-9 mix	処理期間 (回復期間)	供試化合物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	有糸分裂 指数 (%) ⁴⁾	異常を有 する細胞 率(%) ⁵⁾	染色体異常数							
							特異的異常				複合型		非特異的 異常 (ギャップ)	
							染色分体		染色体		数的異常			異常
							欠失	交換	欠失	交換	多倍数体	核内倍加		
-	18 h (0 h)	陰性対照 ¹⁾	-	200	100.00	0.5	0	0	1	0	7	0	0	5
		メタラキシル-M	126.88	200	75.61	6.5**	5	0	7	1	7	0	0	7
			253.75	200	57.72	2.5	3	0	2	0	5	0	0	6
			507.50	200	44.72	3.5	5	1	1	1	5	0	0	4
		陽性対照 ²⁾	0.2	50	-	60.0***	20	14	4	2	2	0	0	8
+	3 h (15 h)	陰性対照 ¹⁾	-	200	100.00	4.0	4	1	3	0	3	1	0	8
		メタラキシル-M	253.75	200	85.98	2.5	1	0	4	0	8	3	0	6
			507.50	200	71.03	5.0	6	2	2	0	6	1	0	9
			1015.00	200	71.03	2.0	1	0	3	0	10	1	0	9
		陽性対照 ³⁾	20	50	-	26.0***	9	3	1	1	0	0	0	6

- 1) ジメチルスルフォキシド
2) マイトマイシンC
3) シクロホスファミド

- 4) 陰性対照を100とした分裂指数
5) ギャップおよび数的異常を除く

統計学的方法： χ^2 検定

- * ; $p < 0.05$
** ; $p < 0.01$
*** ; $p < 0.001$

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. 確認試験の結果

S-9 mix	処理期間 (回復期間)	供試化合物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	有糸分裂 指数 (%) ⁴⁾	異常を有 する細胞 率(%) ⁵⁾	染色体異常数							
							特異的異常				複合型異常		非特異的 異常 (ギャップ)	
							染色分体		染色体		数的異常			
							欠失	交換	欠失	交換	多倍数体	核内倍加		
-	18 h (0 h)	陰性対照 ¹⁾	-	200	100.00	0.5	0	0	1	0	4	0	0	1
		メタラキシル-M	253.75	200	112.60	0.0	0	0	0	0	2	0	0	1
			507.50	200	111.81	3.0**	2	0	2	2	1	0	0	1
			1015.00	200	64.57	4.5***	4	1	5	1	0	0	0	5
		陽性対照 ²⁾	0.2	50	-	40.0***	16	7	3	0	0	0	9	
-	42 h (0 h)	陰性対照 ¹⁾	-	200	100.00	1.5	0	0	2	1	3	0	0	0
		メタラキシル-M	253.75	200	81.82	0.0	0	0	0	0	2	0	0	2
			507.50	200	57.85	0.5	0	0	1	0	6	0	0	1
			1015.00	200	40.50	3.5*	4	1	3	0	1	0	0	3
+	3 h (15 h)	陰性対照 ¹⁾	-	200	100.00	3.5	5	0	0	1	0	0	1	2
		メタラキシル-M	507.50	200	112.20	2.5	3	0	2	0	0	0	0	2
			1015.00	200	88.41	3.5	6	1	1	1	4	0	0	2
			2030.00	120	70.73	0.8	1	0	0	0	2	1	0	2
		陽性対照 ³⁾	20	50	-	15.0***	19	8	8	2	3	0	10	
+	3 h (39 h)	陰性対照 ¹⁾	-	200	100.00	1.0	1	0	0	1	0	0	0	4
		メタラキシル-M	507.50	200	94.85	3.0	0	0	3	3	3	0	0	1
			1015.00	200	98.45	2.5	3	0	3	0	0	0	0	1
			2030.00	200	85.57	1.5	2	0	1	0	3	0	0	1

- 1) ジメチルスルフォキシド
2) マイトマイシンC
3) シクロホスファミド

- 4) 陰性対照を100とした分裂指数
5) ギャップおよび数的異常を除く

統計: χ^2 検定
* ; $p < 0.05$
** ; $p < 0.01$
*** ; $p < 0.001$

(資料 No.T-65)

3) メタラキシル M のチャイニーズハムスター培養卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

報告書作成年：1995 年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣細胞 (CHO、CCL 61) 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染色体異常誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させ、試験を実施した。本試験では 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、確認試験では 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高濃度とし、10 または 8 濃度を用いて代謝活性化系あるいは非存在下で暴露を行った。まず全試験濃度の細胞毒性を分析し、使用した最高濃度あるいは有糸分裂を対照群と比較し約 50~80% 阻害する最低用量を染色体異常の最高濃度と決定し、その低濃度 2 濃度の計 3 濃度の細胞の染色体異常の観察を行った。

代謝活性化系非存在下

本試験： 9.77~5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 10 濃度で 18 時間暴露した。2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度で重度の細胞毒性が認められたため、その下の 1250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高濃度とし、625.0、312.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度の細胞を観察した。

確認試験： 234.38~2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 8 濃度で 18 時間暴露した。1250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で重度の細胞毒性がみられたため、その下の 937.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高濃度とし、625.0、468.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度の細胞を観察した。

代謝活性化系存在下

本試験： 9.77~5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 10 濃度で 3 時間暴露し、15 時間の回復期間を設けた。2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度で重度の細胞毒性が認められたため、その下の 1250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高濃度とし、625.0、312.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度の細胞を観察した。

確認試験： 234.38~2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 8 濃度で 3 時間暴露し、15 時間の回復期間を設けた。2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で重度の細胞毒性が認められたため、その下の 1875 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高濃度とし、1250、937.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度の細胞を観察した。

観察：観察は検体処理群および陰性対照群では 200 個、陽性対照群では 50 個の分裂中期像について行った。以下の基準を全て満たした場合に陽性と判定した。

1) 特異的染色体異常数が 6.0% を上回る場合、および陰性対照群と比較して統計学的に有意に増加した場合

2)染色体異常を有する細胞数の増加に、用量相関性がみられた場合

試験結果 : 結果を表1および表2に示した。

代謝活性化系非存在下で実施した試験では、2回とも判定基準の6.0%および背景データ(次表)を上回る結果となり、統計学的有意差もみられた。代謝活性化系存在下で実施した確認試験において、判定基準の6.0%および背景データ(次表)を上回る結果となり、統計学的有意差もみられた。

陽性対照のシクロホスファミドは代謝活性化系の存在下で、マイトマイシンCは非存在下で、染色体異常を有する細胞数の統計学的有意な増加が認められた。

<背景データ(1989~1994年)>

S-9 mix	処理期間 (回復期間)	供試化合物	試験数	観察 細胞数	異常を有する細胞率(% (最小%~最大%)
-	18 h (0 h)	ジメチルスルホキシド	134	24400	1.683±1.272 (0~7)
+	3 h (15 h)	ジメチルスルホキシド	132	23910	1.818±1.441 (0~6)

以上の結果より、本試験条件下において本剤は弱い染色体異常誘発性を有するものと考えられる。

表 1. 本試験の結果

S-9 mix	処理期間 (回復期間)	供試化合物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	有糸分裂 指数 (%) ⁴⁾	異常を有 する細胞 率(%) ⁵⁾	染色体異常数							
							特異的異常				数的異常		複合型 異常	非特異的 異常 (ギャップ)
							染色分体		染色体		多倍数体	核内倍加		
							del ⁶⁾	exc ⁷⁾	del ⁶⁾	exc ⁸⁾				
-	18 h (0 h)	溶媒対照 ¹⁾	-	200	100.00	2.0	1	0	3	0	8	0	0	4
		メタラキシル-M	312.5	200	109.93	4.5	2	0	4	3	12	0	0	3
			625.0	200	102.65	3.5	3	0	3	2	12	0	0	4
			1250.0	200	115.23	9.0**	11	2	4	1	5	0	0	21
		陽性対照 ²⁾	0.2	50	-	56.0***	18	7	13	1	3	0	0	9
+	3 h (15 h)	溶媒対照 ¹⁾	-	200	100.00	3.5	4	0	2	1	12	1	0	6
		メタラキシル-M	312.5	200	85.11	3.0	1	0	5	1	7	0	0	3
			625.0	200	83.49	4.5	2	1	4	2	11	0	0	7
			1250.0	200	97.41	6.0	3	1	9	2	3	0	0	2
		陽性対照 ³⁾	20	50	-	40.0***	13	3	6	3	2	0	0	4

1) ジメチルスルホキシド

2) マイトマイシン C

3) シクロホスファミド

6) del : deletion、breakes、fragments を含む。

7) exc : triradials、quadriradials、endfusion、acentric rings を含む。

8) exc : dicentrics、polycentrics、centric、acentric rings を含む。

4) 陰性対照を 100 とした分裂指数

5) ギャップおよび数的異常を除く

統計学的方法 : χ^2 検定

* ; $p < 0.05$

** ; $p < 0.01$

*** ; $p < 0.001$

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. 確認試験の結果

S-9 mix	処理期間 (回復期間)	供試化合物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	有糸分裂 指数 (%) ⁴⁾	異常を有 する細胞 率(%) ⁵⁾	染色体異常数							
							特異的異常				数的異常		複合型 異常	非特異的 異常 (ギャップ)
							染色分体		染色体		多倍数体	核内倍加		
							del ⁶⁾	exc ⁷⁾	del ⁶⁾	exc ⁸⁾				
-	18 h (0 h)	溶媒対照 ¹⁾	-	200	100.00	4.0	6	0	2	0	9	0	0	22
		メタラキシル-M	468.75	200	114.75	6.0	7	1	4	0	6	0	0	29
			937.50	200	85.25	19.5**	35	1	4	0	13	0	0	77
		陽性対照 ²⁾	0.2	50	-	40.0***	15	6	1	0	1	0	0	11
+	3 h (15 h)	溶媒対照 ¹⁾	-	200	100.00	3.0	4	0	3	0	8	0	0	11
		メタラキシル-M	937.50	200	123.81	3.5	3	0	2	3	5	0	0	15
			1250.00	200	142.86	6.5*	6	1	5	1	7	1	0	8
		1875.00	120	146.03	9.5**	15	3	3	0	7	0	0	30	
陽性対照 ³⁾	20	50	-	32.0***	10	4	4	1	1	1	0	2		

1) ジメチルスルホキシド

2) マイトマイシン C

3) シクロホスファミド

4) 陰性対照を 100 とした分裂指数

5) ギャップおよび数的異常を除く

6) del : deletion、breakes、fragments を含む。

7) exc : triradials、quadriradials、endfusion、acentric rings を含む。

8) exc : dicentrics、polycentrics、centric、acentric rings を含む。

統計 : χ^2 検定

* ; $p < 0.05$

** ; $p < 0.01$

*** ; $p < 0.001$

4) マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験

(資料No.T-26)

報告書作成年：1999年

[GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス(Ico:CD1[CRL])、雌雄とも1群各5匹

体重範囲：雄 29～35g、雌 23～28g

試験方法：検体を0.5%カルボキシセルロームナトリウム (CMC) 0.1% Tween80水溶液に懸濁し、雌雄各5匹に経口投与した。投与量は24時間後に採取した群では雄が200、400および800 mg/kg、雌は125、250および500 mg/kgとした。48時間後に採取した群では雌雄とも500 mg/kgとした。なお、溶媒を陰性対照とし、シクロホスファミド (64mg/kg) を陽性対照とした。

設定した採取時期に動物をCO₂により屠殺した後、大腿骨より骨髄を採取し、遠心分離後牛胎仔血清に懸濁させた。この懸濁液より骨髄塗抹標本を作製した。成熟赤血球と多染性赤血球が明瞭に識別できる各群5匹のスライドについて、各スライドで多染性赤血球(2000個以上)あたりの小核を有する多染性赤血球の発現頻度を測定した。また、それぞれ1000個の赤血球について正染色性赤血球数と多染性赤血球数を計測し、その比を算出した。

検体投与群で小核を有する多染性赤血球の出現頻度が0.2%を上回り、かつ陰性対照群と比較して統計学的有意差が認められた場合に陽性と判定した。

<用量設定の根拠>

試験結果：結果の概要を表1に示す。

いずれの採取時期、用量群においても、陰性対照群と比較して小核を有する多染性赤血球数の有意な増加は認められなかった。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、本試験条件下において突然変異誘発性および異数体誘発性を有しないと判断される。

表 1. 小核試験の結果

採取 時期	薬剤	性	投与量 (mg/kg)	多染性 赤血球数 ¹⁾ (P ; 個)	正染色性 赤血球数 ¹⁾ (N ; 個)	P/N比	小核を有する 多染性赤血球 ⁴⁾	
							出現数 ¹⁾ (個)	割合(%)
24 時間	陰性対照 ²⁾	雄	-	440	560	0.79	2	0.02
		雌	-	455	545	0.83	2	0.02
	メタラキシル-M	雄	200	450	550	0.82	2	0.02
			400	444	556	0.80	2	0.02
			800	365	635	0.58	5	0.05
		雌	125	463	537	0.86	1	0.01
			250	485	515	0.94	3	0.03
			500	423	577	0.73	4	0.04
	陽性対照 ³⁾	雄	64	376	624	0.60	214 *	2.14
		雌	64	343	657	0.52	164 *	1.64
48 時間	陰性対照 ²⁾	雄	-	456	544	0.84	1	0.01
		雌	-	448	552	0.81	2	0.02
	メタラキシル-M	雄	500	402	598	0.67	3	0.03
		雌	500	428	572	0.75	2	0.02

¹⁾ : 5 匹の合計値

²⁾ : 0.5% CMC 0.1% Tween80

³⁾ : シクロホスファミド

⁴⁾ : 多染性赤血球計測数は各 1000 個

統計学的方法 : χ^2 検定、* ; $p \leq 0.05$

5) ラット肝細胞を用いた UDS 試験/DNA 不定期合成試験

(資料 No.T-27)

報告書作成年：2000 年

[GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：雄ラット (HAN1bM:WIST、SPF) から分離した肝細胞の初代培養細胞を用い、DNA 損傷の誘発性を ^3H -チミジンの核内への取込みにより判定した。

検体はジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解させ、所定の濃度に調製した。分離肝細胞培養培地に検体、2-アセチルアミノフルオレン (45 μM /L、2-AAF：陽性対照) あるいは DMSO (溶媒対照) を添加した直後に、 ^3H -チミジンを添加して 16~18 時間培養した。BSS (カルシウムフリーの Hanks 液) で洗浄し、1%クエン酸ナトリウムで核を膨張させた後、エタノール:酢酸 (3:1) 液で細胞を固定し、オートラジオグラフ用とした。各濃度で 3 枚のスライドから合計 150 個の細胞を検査し、DNA 損傷による不定期 DNA 合成 (^3H -チミジンの取込み) の誘導を核当りの銀粒子数で評価した。

DNA 修復本試験の一部として、用量設定のための細胞毒性試験を実施した。すなわち、最高濃度を 5000.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、最低濃度を 4.88 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした 11 濃度をラット肝臓の初代培養細胞の培養系に添加した。各濃度 100 個の細胞について生存細胞数の計測および形態学的評価を行なったところ、1250.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度で生存細胞は認められなかった。従って、4.88~625.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 6 濃度の細胞を用いて上述の方法で評価し、その結果を本試験の結果とした。また、確認試験についても、同様の方法により、19.53~625.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 6 濃度で培養を行い評価した。

以下の条件のうち、少なくとも 1 つ該当して再現性が認められた場合に陽性と判断した。

- ① 溶媒対照と比較し、連続する 2 濃度以上で平均核上銀粒子数および平均正味核上銀粒子数の両方に増加が認められ、且つそのうち少なくとも 1 濃度の平均正味核上銀粒子数が 2.0 以上である。
- ② 溶媒対照と比較し、連続する 2 濃度以上で修復細胞率に明らかな増加が認められる。

試験結果：結果を表 1 および 2 に示した。

本試験および確認試験とも、検体を処理した場合の核上銀粒子数および正味核上銀粒子数は、溶媒対照の値と比較して差がみられなかった。

本試験で修復細胞率に僅かな増加がみられたが、同じ条件で実施した確認試験では

再現されず、用量相関性もみられなかった。確認試験では 625.0 と 156.25 $\mu\text{g/mL}$ で修復細胞率の僅かな増加がみられたが、用量相関性は認められなかった。本試験および確認試験とも修復細胞率は低値であり、核上銀粒子数および正味核上銀粒子数の増加もみられなかった。したがって、修復細胞率が増加したことは検体の DNA 損傷誘発性によるものではないと考えられる。

一方、陽性対照では核上銀粒子数および正味核上銀粒子数とも顕著な増加がみられ、修復細胞率も明らかに増加した。

以上の結果から、本剤はラット肝細胞に対して DNA 損傷誘発性がないものと判断された。

表 1. 本試験の結果

処理	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	平均核上 銀粒子数	平均正味 核上 銀粒子数	修復細胞における 総銀粒子数 (平均値)	修復細胞率 (%, $\text{NG} \geq 2$)
溶媒対照 (DMSO)	—	4.48	-1.0	3.2	11.3
メタラキシル-M	625.00	6.06	1.0	4.4	33.3
	312.50	6.90	0.9	4.2	32.0
	156.25	7.03	0.5	4.1	25.3
	78.13	6.18	0.1	4.1	23.3
	19.53	7.47	-1.0	3.3	20.0
	4.88	6.14	0.3	4.1	24.0
陽性対照 (2-AAF)	10.00	23.60	16.4	16.5	99.3

DMSO: ジメチルスルフォキシド

2-AAF: 2-アセチルアミノフルオレン

表 2. 確認試験の結果

処理	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	平均核上 銀粒子数	平均正味 核上 銀粒子数	修復細胞における 総銀粒子数 (平均値)	修復細胞率 (%, $\text{NG} \geq 2$)
溶媒対照 (DMSO)	—	3.85	0.6	3.5	19.3
メタラキシル-M	625.00	4.18	0.6	3.4	28.0
	312.50	4.11	0.5	3.3	21.3
	156.25	4.39	0.8	3.3	30.7
	78.13	3.94	0.2	3.3	19.3
	39.06	4.02	0.3	3.2	19.3
	19.53	4.47	0.5	3.8	24.0
陽性対照 (2-AAF)	10.00	26.38	20.2	20.2	100.0

DMSO: ジメチルスルフォキシド

2-AAF: 2-アセチルアミノフルオレン

(14) 生体の機能に及ぼす影響

1) 一般薬理試験

(資料 No.T-28)

報告書作成年 : 2000 年

検体の純度 : メタラキシル M ;

メタラキシル ;

用量設定根拠

1. 中枢神経系に対する作用

1) 一般状態観察および行動観察

試験動物 : ICR 系マウス (Crj:CD-1、SPF) の雄 (5 週齢)、体重 ; 28.2~33.4 g、1 群 3 匹

方 法 : 用量設定試験の結果を基に 4 濃度を設定した。観察方法として Irwin 法を用いた。

メタラキシル M およびメタラキシルを 0.5% CMC 水溶液に懸濁して、30、100、300、

1000 mg/kg を経口投与した。投与前と投与 0.5、1、2、4、6、8、12 および 24 時間

後に一般状態および行動を観察した。

結 果 : 結果は下表の通り。

投与量 (mg/kg)	結 果	
	メタラキシル M	メタラキシル
30	影響なし	影響なし
100	影響なし	影響なし
300	自発運動低下 (2 例)	自発運動低下 (1 例)
1000	24 時間後に 1 例死亡 警戒性、受動性、身づくろい、運動性の減少、接触刺激反応および疼痛反応の低下、運動協調障害、筋緊張度および握力の低下、反射の抑制、正向反射の消失、散瞳、閉眼、体温低下	死亡例なし 警戒性、受動性、身づくろい、運動性の減少、接触刺激反応および疼痛反応の低下、運動協調障害、筋緊張度および握力の低下、反射の抑制、正向反射の消失、散瞳、閉眼、呼吸異常、体温低下

2) 睡眠時間に対する作用

試験動物：ICR系マウス (Crj:CD-1、SPF) の雄 (5週齢)、体重；28.2～32.9 g、1群8匹

方法：用量設定試験の結果を基に3濃度を設定した。

メタラキシルMおよびメタラキシルを0.5% CMC水溶液に懸濁して100、300、1000 mg/kgを経口投与した。検体投与30分後にヘキソバルビタール80 mg/10 mL/kgを腹腔内投与し、正向反射の消失から回復までの時間を測定した。観察期間はヘキソバルビタール投与の120分後までとした。

結果：結果は下表の通り。

投与量 (mg/kg)	結 果	
	メタラキシルM	メタラキシル
100	影響なし	影響なし
300	対照群と比較し、約1.8倍の延長	対照群と比較し、約2.0倍の延長
1000	2例死亡 対照群と比較し、約4.2倍の延長	2例死亡 対照群と比較し、約4.6倍の延長

3) 痙攣誘発作用 (電撃痙攣)

試験動物：ICR系マウス (Crj:CD-1、SPF) の雄 (5週齢)、体重；25.6～33.6 g、1群10匹

方法：用量設定試験の結果を基に3濃度を設定した。

メタラキシルMおよびメタラキシルを0.5% CMC水溶液に懸濁して100、300、1000 mg/kgを経口投与した。投与30分後に電撃痙攣装置を用いて角膜に閾値下最大電流 (電流値；7.0 mA、パルス幅；5 msec、刺激間隔；10 msec、刺激時間；0.6 sec) を通電し、強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣および間代性の各痙攣と昏睡の有無を観察した。

結果：メタラキシルMおよびメタラキシルは、1000 mg/kg投与でも痙攣誘発作用は認められなかった。

4) 正常体温に対する作用

試験動物：Wistar系ラット (Crj:Wistar、SPF) の雄 (7週齢)、体重；232.9～274.9 g、1群6匹

方法：用量設定試験の結果を基に3濃度を設定した。

メタラキシルMおよびメタラキシルを0.5% CMC水溶液に懸濁して100、300、1000 mg/kgを経口投与した。投与前および投与0.5、1、2、4、6および24時間後に直腸温を測定した。

結果：結果は下表の通り。

投与量 (mg/kg)	結 果	
	メタラキシルM	メタラキシル
100	影響なし	影響なし
300	影響なし	影響なし
1000	影響なし	投与0.5～6時間後まで体温が上昇 (投与前と比較し、最大で1℃の上昇)

2. 自律神経系に対する作用

1) 摘出回腸に対する作用

試験動物：ハートレー系モルモットの雄（6～7週齢、SPF）、体重；355～495 g

方 法：1群4標本とし、メタラキシル M およびメタラキシルの濃度は 3×10^{-7} 、 3×10^{-6} および 3×10^{-5} g/mL とした。モルモットの回腸を摘出して静止張力 0.5g の負荷をかけ、Krebs 液を含むマグヌス管内に懸垂した。アゴニストとしてアセチルコリン (10^{-6} M)、ヒスタミン (3×10^{-6} M) およびバリウム (10^{-3} M) を用い、これらによる収縮反応が安定した後、検体を適用した。検体処置時間は 5 分とし、その後再び同濃度のアセチルコリン、ヒスタミンおよびバリウムを添加して標本の収縮反応を観察した。

結 果：結果は下表の通り。

投与量 (g/mL)	結 果	
	メタラキシル M	メタラキシル
3×10^{-7}	影響なし	影響なし
3×10^{-6}	影響なし	影響なし
3×10^{-5}	アセチルコリン、ヒスタミンおよびバリウムによる回腸の収縮反応をそれぞれ、10、20 および 13% 抑制	アセチルコリン、ヒスタミンおよびバリウムによる回腸の収縮反応をそれぞれ、16、10 および 27% 抑制

3. 循環器系に対する作用

1) 麻酔ウサギの呼吸、血圧、心拍数および心電図に対する作用

試験動物：日本白色ウサギ（SPF）の雄（10～13週齢）、体重；2.0～3.2 kg、1群4匹

方 法：メタラキシル M およびメタラキシルを 0.5% CMC 水溶液に懸濁して、30、100、300 mg/kg となるようカテーテルを用いて十二指腸内に投与した。投与前および投与 0.5、1、2 および 4 時間後に、呼吸数、血圧および心拍数の測定と心電図の記録を行なった。

結 果：結果は下表の通り。

投与量 (mg/kg)	結 果	
	メタラキシル M	メタラキシル
30	影響なし	影響なし
100	死亡例なし 投与 0.5 時間より血圧低下、呼吸数および心拍数の減少	1 例が死亡 生存動物で、投与 0.5 時間後より血圧の低下、呼吸数の増加および心拍数の減少
300	全例（4 例）が死亡	1 例が死亡 生存動物で、投与 0.5 時間後より血圧の低下、呼吸数の増加および心拍数の減少

4. 骨格筋系に対する作用

1) 摘出横隔膜神経標本に対する作用

試験動物：Wistar系ラット (Crj:Wistar, SPF) の雄 (7~8週齢)、体重；266.2~327.6 g

方法：1群4標本とし、メタラキシル M およびメタラキシルの濃度は 3×10^{-7} 、 3×10^{-6} および 3×10^{-5} g/mL とした。ラットの横隔膜を横隔神経と共に摘出し、Krebs液を含むマグヌス管に静止張力1gの負荷で懸垂して、神経ならびに筋肉を交互に電気刺激した。神経および筋収縮が安定した後、検体を5分以上の間隔で累積的に適用し、筋収縮に対する影響を検討した。

結果：電気刺激による横隔膜神経標本の収縮に対して、メタラキシル M およびメタラキシルは供試した全ての濃度で影響を与えなかった。

5. 消化器系に対する作用

1) 腸管輸送能に対する作用

試験動物：ICR系マウス (Crj:CD-1) の雄 (5週齢)、体重；25.6~31.0 g、1群8匹

方法：試験動物を投与前の約19時間絶食させた。

用量設定試験の結果を基に3濃度を設定した。

メタラキシル M およびメタラキシルを0.5% CMC水溶液に懸濁して100、300、1000 mg/kgを経口投与した。投与0.5時間後に、5%アラビアゴム液に懸濁させた5%炭末液を1匹当たり0.2 mL経口投与した。炭末液投与の0.5時間後にマウスを致死させ、胃腸管を摘出した。十二指腸起始部から炭末到達先端までの長さおよび小腸全長を測定し、腸管内輸送率(%)を算出した。

結果：結果は下表の通り。

投与量 (mg/kg)	結 果	
	メタラキシル M	メタラキシル
100	影響なし	影響なし
300	対照群と比較し、腸管炭末輸送率を49%抑制	対照群と比較し、腸管炭末輸送率を36%抑制
1000	6例死亡 生存動物(2例)の平均腸管炭末輸送率は、対照群と比較し70%抑制	7例死亡 生存動物(1例)の腸管炭末輸送率は、対照群と比較し80%抑制

6. 血液に対する作用

1) 血液凝固に対する作用

試験動物：Wistar系ラット (Crj:Wistar, SPF) の雄 (7週齢)、体重；281.9~325.3 g、1群6匹

方法：用量設定試験の結果を基に3濃度を設定した。

メタラキシル M およびメタラキシルを0.5% CMC水溶液に懸濁して100、300、1000 mg/kgを経口投与した。投与0.5時間後にエーテル麻酔下で後大動脈から採血し、その血漿を用いてプロトロンビン時間 (PT) と活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。

結 果： 結果は下表の通り。

投与量 (mg/kg)	結 果	
	メタラキシル M	メタラキシル
100	影響なし	影響なし
300	影響なし	影響なし
1000	PT には影響なし APTT が対照群と比較し、約 2 秒延長	影響なし

メタラキシル M とメタラキシルでは、呼吸と正常体温、血液凝固に対する影響に差が認められた。つまり、メタラキシルで呼吸速拍作用および正常体温の上昇が認められたのに対し、メタラキシル M ではいずれの作用も認められず、メタラキシル M が APTT をわずかに延長したのに対し、メタラキシルでは影響が認められなかった点である。しかし、これらはいずれも高用量投与のみで認められた影響であった。

メタラキシル M およびメタラキシルは、いずれもヘキソバルビタール誘発睡眠時間を 300 mg/kg 以上で延長させたが、閾値下電撃によって痙攣を誘発させる事はなかった。自律神経系や消化器系に関する試験では、摘出回腸の収縮反応を高濃度で抑制し、炭末の腸管内移動率を 300 mg/kg で低下させた。循環器系に関しては、100 mg/kg 以上の用量で血圧低下や心拍数の減少傾向が認められた。神経筋接合部に対する両検体の影響は認められなかった。

以上より、メタラキシル M とメタラキシルの生体機能に及ぼす影響はほぼ同等であり、その作用は弱いものであった。

「メタラキシル M および メタラキシルの生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 (1/2)

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物 数/群	メタラキシル M (mg/kg)		メタラキシル M の結果	メタラキシル (mg/kg)		メタラキシルの結果
				無影響量	影響量		無影響量	影響量	
一般状態および行動に対する作用 (マウス)	経口 (0.5%CMC)	30、 100、 300、 1000	3	100	300	300 mg/kg : 2 例自発運動低下 1000 mg/kg : 24 時間後に 1 例死亡 警戒性、受動性、身づくろい、 運動性の減少、接触刺激反応お よび疼痛反応の低下、運動協調 障害、筋緊張度および握力の低 下、反射の抑制、正向反射の消 失、散瞳、閉眼、体温低下など	100	300	300 mg/kg : 1 例自発運動低下 1000mg/kg : 死亡例なし 警戒性、受動性、身づくろい、 運動性の減少、接触刺激反応お よび疼痛反応の低下、運動協調 障害、筋緊張度および握力の低 下、反射の抑制、正向反射の消 失、散瞳、閉眼、呼吸異常、体 温低下など
睡眠時間に対する作用 (hexobarbital 誘発睡眠時間) (マウス)	経口 (0.5%CMC)	100、 300、 1000	8	100	300	300mg/kg : 対照群と比較し、約 1.8 倍の延長 1000mg/kg : 2 例が死亡。対照群 と比較し約 4.2 倍の延長	100	300	300mg/kg : 対照群と比較し、約 2.0 倍の延長 1000mg/kg : 2 例が死亡、対照群 と比較し約 4.6 倍の延長
痙攣誘発作用 (電撃痙攣) (マウス)	経口 (0.5%CMC)	100、 300、 1000	10	1000	—	1000mg/kg まで痙攣誘発作用なし	1000	—	1000mg/kg まで痙攣誘発作用なし
正常体温に対する作用 (ラット)	経口 (0.5%CMC)	100、 300、 1000	6	1000	—	1000mg/kg まで体温に影響なし	300	1000	1000mg/kg : 投与 0.5 時間後から 6 時間まで体温上昇 (投与前値と 比較し 1.0 °C の上昇)
摘出回腸に対する作用 (モルモット)	<i>in vitro</i>	3×10^{-7} 3×10^{-6} 3×10^{-5} /mL	4 標本 /群	3×10^{-6} g/mL	3×10^{-5} g/mL	3×10^{-5} g/mL : アセチルコリン、ヒスタミンおよびバリウムによる回腸の収縮反応をそれぞれ 10、20 および 13% 抑制	3×10^{-6} g/mL	3×10^{-5} g/mL	3×10^{-5} g/mL : アセチルコリン、ヒスタミンおよびバリウムによる回腸の収縮反応をそれぞれ 16、10 および 27% 抑制

「メタラキシル M および メタラキシルの生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 (2/2)

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物 数/群	メタラキシル M (mg/kg)		メタラキシル M の結果	メタラキシル (mg/kg)		メタラキシルの結果
				無影響量	影響量		無影響量	影響量	
呼吸数、血圧、 心拍数および 心電図に対す る作用 (麻醉ウサギ)	十二指腸内 (0.5%CMC)	30、 100、 300	4	30	100	100mg/kg：投与前値と比較し、 投与 0.5 時間より血圧低下、呼吸 数および心拍数の減少 300 mg/kg：4 例死亡	30	100	100mg/kg：1 例死亡。投与前値と 比較し、投与 0.5 時間より血圧 低下、心拍数の減少、呼吸数の 増加 300mg/kg：1 例死亡。投与前値と 比較し、投与 0.5 時間より血圧 低下、心拍数の減少、呼吸数の 増加
摘出横隔膜神 経標本に対す る作用 (ラット)	<i>in vitro</i>	3×10^{-7} 3×10^{-6} 3×10^{-5} g/mL	4 標本 /群	3×10^{-5} g/mL	—	3×10^{-5} g/mL まで電気刺激による 横隔膜神経標本の収縮に影響な し	3×10^{-5} g/m L	—	3×10^{-5} g/mL まで電気刺激による 横隔膜神経標本の収縮に影響な し
腸管輸送能に 対する作用 (マウス)	経口 (0.5%CMC)	100、 300、 1000	8	100	300	300mg/kg：対照群の腸管炭末輸 送率と比較し、49%抑制 1000mg/kg：6 例死亡。2 例の平 均腸管炭末輸送率は、対照群と 比較し 70%の抑制	100	300	300mg/kg：対照群の腸管炭末輸 送率と比較し、36%抑制 1000mg/kg：7 例死亡。1 例の腸 管炭末輸送率は、対照群と比較 し、80%の抑制
血液凝固に対 する作用 (ラット)	経口 (0.5%CMC)	100、 300、 1000	6	300	1000	1000 mg/kg：APTT が対照群と比 較し、約 2 秒の延長。PT に影響 なし。	1000	—	1000 mg/kg まで PT および APTT に影響なし

PT : prothrombin time APTT : activated partial thromboplastin

(15) その他試験

- 1) メタラキシル M を用いたラット肝薬物代謝酵素誘導試験
試験成績提出の除外

(資料 No.T-29)

メタラキシル M の当該資料は、ラセミ体であるメタラキシルの試験成績で代替できると考えられるため試験を省略した。

メタラキシルを用いたラットにおける吸収、分布、排泄および腸管循環試験の肝薬物代謝酵素誘導測定（1988 年、 ）を参照

(15) その他の試験

メタラキシルのラットの肝における酵素誘導試験

(資料 No.T-29)

(メタラキシル資料 No.T-41)

報告書作成年：1988年

検体の純度：

供試動物：6～7週齢のSD系雄ラット（体重 200～220g）を1群当たり5匹使用した。

試験方法：投与方法および用量は、下表の通りとした。

群	投与物質および用量	投与期間	投与経路
陰性対照群	0.6%メチルセルロース溶液	3日間	連続経口 投与
	0.6%メチルセルロース溶液	7日間	
試験群	メタラキシル 40mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	7日間	
	メタラキシル 80mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	3日間	
	メタラキシル 80mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	7日間	
陽性対照群	フェノバルビタール 80mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	3日間	

最終投与後 20 時間の絶食させた後に屠殺し、灌流放血した肝臓をホモジナイズ後、遠心分離により上清とマイクロソーム画分とを得た。これらの蛋白質量は牛血清アルブミンを標準物質として Lowry 法により定量した。チトクローム b₅ とチトクローム P-450 量は、Omura および Sato の方法、アミノピリン N-デメチラーゼ活性は Nash の方法、p-ニトロアニソール O-デメチラーゼ活性は Nebert 等の方法、NADPH-チトクローム c リダクターゼ活性は Masters 等の方法、p-ニトロフェニル UDP-グルクロニル トランスフェラーゼ活性は Bock 等の方法、DNCB GSN-トランスフェラーゼ活性は Habig 等の方法に従って測定した。

結 果： 結果の概要を下表に示す。

80mg/kgの3日及び7日間投与群では、チトクローム b₅活性を除くいずれの酵素活性も有意に上昇した。また、40 mg/kgの7日間投与群では、チトクローム b₅及びNADPH-チトクローム C リダクターゼ活性を除くいずれの酵素活性もわずかに上昇したが、陽性対照のフェノバルビタールよりも軽度であり、肝における通常の異物代謝と同様に可逆的で正常な反応であると考えられる。

雄ラットにおけるメタラキシルの酵素誘導

群	陰性対照群		供試化合物投与群			陽性対照群
投与物質名	0.6%メチルセルロース溶液		メタラキシル			フェノバルビタール
投与経路	経 口					
用 量	-	-	40mg/kg	80mg/kg	80mg/kg	80mg/kg
投与期間	3日間	7日間	7日間	3日間	7日間	3日間
体 重 (g)	160.7±2.2	204.2±3.6	189.4 ±2.3	163.4 ±1.0	184.8 ±2.5	158.0 ±4.0
肝 重 量 (g/100g 体重)	3.48±0.05	3.35±0.11	3.37±0.03	3.46±0.05	3.46±0.08	4.83±0.21
チトクローム P-450 (nmol/mg 蛋白)	0.54±0.02	0.55±0.02	0.65±0.03 *	0.77±0.04 *	0.73±0.02 *	1.57±0.09 **
チトクローム b ₅ (nmol/mg 蛋白)	0.13±0.02	0.13±0.02	0.15±0.02	0.18±0.02	0.12±0.01	0.35±0.02 *
NADPH-チトクローム C リダクターゼ (µmol/分/mg 蛋白)	0.030±0.002	0.031±0.002	0.030±0.003	0.039±0.001 *	0.038±0.002 *	0.070±0.005 **
アミノピリン-N デメチラーゼ (nmol/分/mg 蛋白)	10.24±0.12	10.26±0.10	10.73±0.25 *	10.91±0.20 *	11.12±0.28 **	14.41±0.42 **
p-ニトロアニソール O-デメチラーゼ (nmol/分/mg 蛋白)	0.23±0.02	0.24±0.01	0.29±0.01 *	0.38±0.02 **	0.42±0.02 **	0.70±0.02 **
p-ニトロフェノール UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ (nmol/分/mg 蛋白)	25.2 ±0.8	25.3 ±1.1	31.5 ±1.9 *	44.5 ±2.0 *	35.5 ±2.3 **	48.6 ±2.5 **
DNCB GSH-トランスフェラーゼ (µmol/分/mg 蛋白)	1.13±0.05	1.14±0.04	1.30±0.06 *	1.28±0.03 *	1.39±0.05 **	2.20±0.19 **

数値は5匹の平均値±S.E.

* : P<0.05、** : P<0.01

2) メタラキシル M のマウス 28 日間経口 (混餌) 投与免疫毒性試験

報告書作成年 : 2012 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : ICR マウス (CrI:CD-1)、1 群雌 10 匹、開始時約 8 週齢、体重範囲 21.3~26.7g

試験期間 : 28 日間投与 (2011 年 6 月 27 日開始、投与開始日を試験 0 日と起算)

投与方法 : 検体を 200、2000 および 5000ppm の濃度で混入した飼料を自由摂取させた。陰性対照群には基礎飼料のみを与え、陽性対照群には基礎飼料を与えるとともに、試験 24~27 日の 4 日間に、免疫抑制剤であるシクロホスファミドを 50mg/kg 用量で毎日 1 回、10mL/kg の液量で腹腔内投与した。試験 24 日に、抗原としてヒツジ赤血球 0.2mL (1×10^8 個) を全動物に静脈内投与した。

試験設計を次表にまとめる。

群	検体の投与量 (ppm)	陽性対照物質の投与量 (シクロホスファミド) (mg/kg/日)	抗原の投与量 (ヒツジ赤血球、 1×10^8 個) (mL/マウス)	雌動物数
陰性対照	0	0	0.2	10
検体	200	0	0.2	10
	2000	0	0.2	10
	5000	0	0.2	10
陽性対照	0	50	0.2	10

[用量設定根拠]

試験項目および結果 :

一般状態および生死 ; 投与期間中毎日観察し、およそ週 1 回の頻度で詳細な身体検査を実施した。死亡は発現せず、検体投与に関連する一般状態の変化もみられなかった。

体重変化；試験-10日から解剖日まで週2回記録した。

結果を表1に示す。

表1. 体重変化

群		検体			陽性対照 ^{a)}
投与量		200ppm	2000ppm	5000ppm	50mg/kg
体重	試験7日	101	102	102	102
	試験10日	98	98	98	100
	試験14日	97	99	98	101
	試験21日	97	99	97	102
	試験24日	96	99	96	101
	試験28日	95	98	96	106
体重 増加量	試験3~7日	(0.6) ^{b)}	(0.8) ^{b)}	(0.8) ^{b)}	(0.5) ^{b)}
	試験7~10日	(-0.6) ^{c)}	(-0.7) ^{c)}	*(-0.8) ^{c)}	(-0.4) ^{c)}
	試験10~14日	57	114	100	143
	試験17~21日	200	200	133	*300
	試験21~24日	(-0.1) ^{c)}	50	(-0.2) ^{c)}	(0.0) ^{c)}
	試験24~28日	80	70	110	**230
累積 体重 増加量	試験0~7日	150	150	140	60
	試験0~10日	75	75	50	*17
	試験0~14日	74	89	68	58
	試験0~21日	77	90	70	80
	試験0~28日	73	85	73	115

a)：シクロホスファミド

表中の数字は、対照群を100とした場合の変動の目安(%)を示す。算出できない場合は、括弧内に群平均値(g)を示す。対照群の群平均値は、次の通り：b)：0.0g、c)：0.2g

統計解析：陰性対照群と検体投与群の比較：Dunnnettの検定(*p<0.05)

陰性対照群と陽性対照群の比較：Studentのt検定(*p<0.05、**p<0.01)

検体投与に関連する変化はみられなかった。

なお、5000ppm群で、試験7~10日の体重増加量が有意に低下したが、他の時期には同様の変化がなく、偶発的な有意差と考えられた。

摂餌量；試験-10日から投与終了日まで週2回測定した。

結果を表2に示す。

表2. 摂餌量

群	検体			陽性対照 ^{a)}
投与量	200ppm	2000ppm	5000ppm	50mg/kg
試験0~3日	89	100	105	109
試験7~10日	*122	112	108	*118
試験10~14日	108	104	104	104
試験17~21日	98	92	94	106
試験24~28日	89	94	91	81

表中の数字は、対照群を100とした場合の変動の目安(%)を示す。

a)：シクロホスファミド

統計解析：陰性対照群と検体投与群の比較：Dunnnettの検定(*p<0.05)

陰性対照群と陽性対照群の比較：Studentのt検定(*p<0.05)

検体投与に関連する変化はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を次表に示す。

投与量 (ppm)	200	2000	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	40	406	1079

抗体測定；試験 28 日（ヒツジ赤血球抗原投与後 4 日）に、全動物を対象として二酸化炭素吸入による屠殺後に脾臓を摘出し、脾臓細胞懸濁液を調製し、Plaque Forming Cell アッセイにより、ヒツジ赤血球抗原に対する IgM 抗体産生細胞数を計測した。
結果を表 3 に示す。

表 3. 抗体測定結果

群	陰性対照	検体				陽性対照 ^{a)}
		200ppm	2000ppm	5000ppm	d)	
投与量	—	200ppm	2000ppm	5000ppm	d)	50mg/kg
脾臓細胞数 (×10 ⁷ 個) ^{b)}	19.91±4.90	20.99±4.46	17.05±3.46	16.52±4.32	--	**6.85±1.37
IgM 抗体産生細胞数／脾臓細胞 10 ⁶ 個 ^{c)}	2365±1527	1454±562	2125±888	1229±449		**1±4
IgM 抗体産生細胞数／脾臓 (×10 ³ 個) ^{c)}	504±372	307±148	368±184	196±67	--	**0.1±0.3

表中の数字は群平均値±SD を示す。

a)：シクロホスファミド

陰性対照群と検体投与群の有意差検定：

b)：Dunnett の検定 (有意差なし)、c)：Wilcoxon の順位検定 (有意差なし)、d)：Jonckheere の検定 (--p<0.01)

陰性対照群と陽性対照群の有意差検定：

Student の t 検定 (**p<0.01)

検体は、体液性免疫機構を抑制しなかったと考えられた。

一方、陽性対照物質では、予め予測された通りに、抗体反応がほとんどみられず、この試験法により免疫抑制作用が検出されたことが明らかであった。

臓器重量；試験 28 日に、全例を対象として二酸化炭素吸入により屠殺し、肝臓、脾臓および胸腺の重量を測定した。

結果を表 4 に示す。

表 4. 臓器重量の測定結果

群		検体				陽性対照 ^{a)}
投与量		200ppm	2000ppm	5000ppm	d)	50mg/kg
最終体重 ^{b)}		95	98	96		106
肝臓	絶対重量 ^{b)}	95	104	**121	/	103
	調整値 ^{b)}	102	108	**128	/	95
	体重比 ^{e)}	99	107	126	/	98
脾臓	絶対重量 ^{b)}	100	90	86	-	**50
	調整値 ^{b)}	109	94	93	/	**43
	体重比 ^{b)}	107	93	91	-	**47
胸腺	絶対重量 ^{c)}	104	104	99		**39
	調整値 ^{b)}	106	104	100	/	**37
	体重比 ^{e)}	112	106	100		**35

表中の数字は、対照群を 100 とした場合の変動の目安 (%) を示す。

a) : シクロホスファミド

陰性対照群と検体投与群の有意差検定 :

b) : Dunnett の検定 (**p<0.01)、c) : Wilcoxon の順位検定 (有意差なし)、d) : Jonckheere の検定 (-p<0.05)、

e) : 検定実施せず。

陰性対照群と陽性対照群の有意差検定 :

Student の t 検定 (**p<0.01)

検体投与に関連する変化として、5000ppm 群で肝臓重量の有意な増加がみられた。

陽性対照群では、脾臓および胸腺の重量低下がみられた。

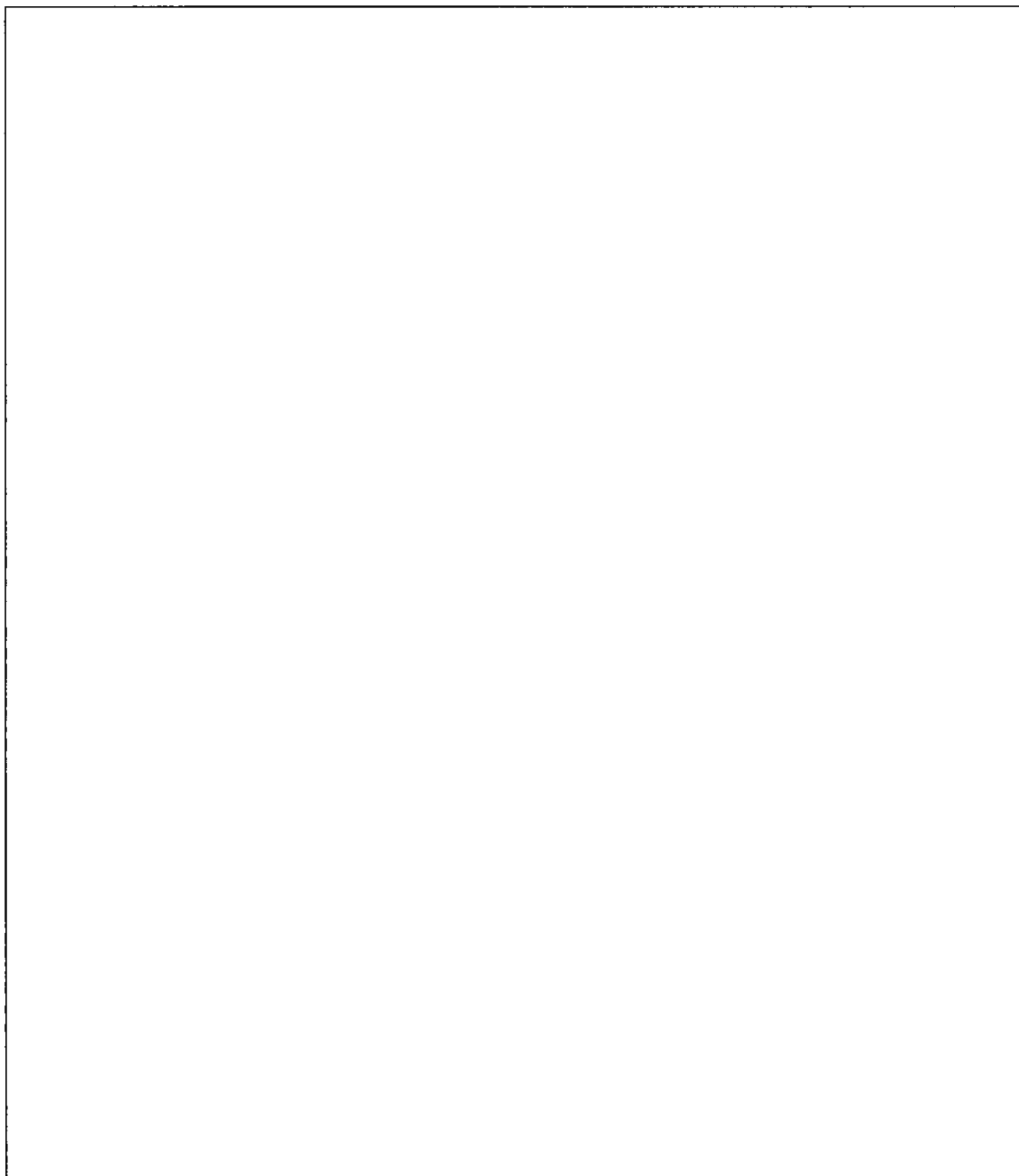
肉眼的病理検査 ; 全例を対象として実施した。

検体投与による変化はみられなかった。

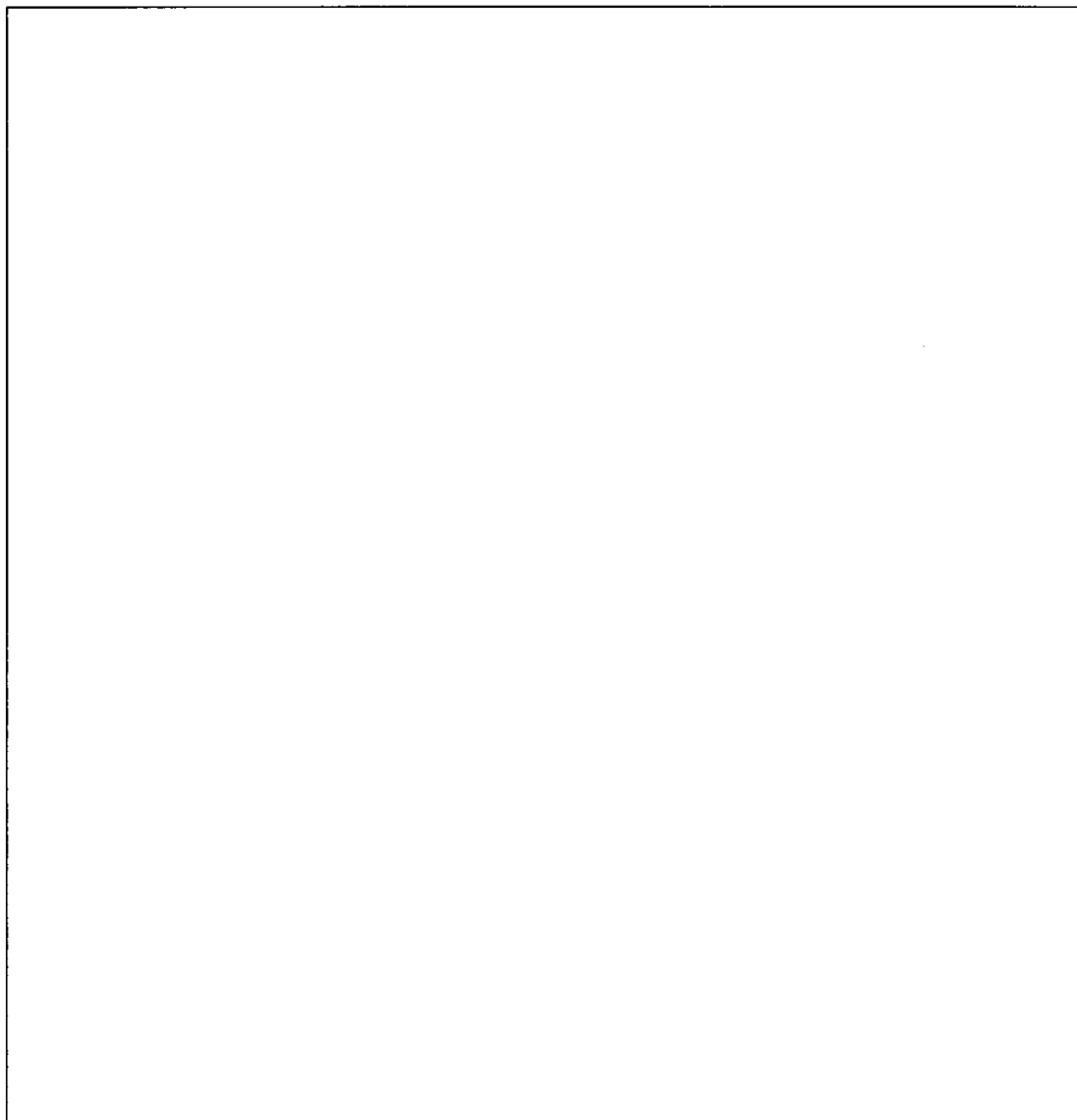
以上より、本剤を雌マウスに 28 日間混餌投与した結果、体液性免疫機構に対する抑制性作用はみられず、免疫毒性に関する無影響量は 5000ppm (1079mg/kg/日) と判断された。

2. 原体混在物および代謝物を用いた試験成績

(1) 原体混在物



(2) 代謝物を用いた試験成績



- (1) 原体混在物を用いた試験成績
急性毒性

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。

変異原性

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。

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。

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。