

(11) 慢性毒性及び発がん性

1) イヌを用いたゼラチンカプセル投与による慢性毒性試験

(資料 No. 12)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1992年

検体純度：

試験動物：ビーグル犬 (Marshall Beagle)、1群雌雄各4匹、開始時7ヶ月齢
開始時体重：雄 7.0～9.2kg、雌 6.8～8.8kg

投与期間：12ヶ月 (1989年12月25日～1990年12月27日)

投与方法：検体を注射用蒸留水に溶解し、純度換算した上で0.5、3、15及び100mg/kgの投与量が得られるように投与溶液をゼラチンカプセルに充填し、毎日経口投与した。投与液量は0.2ml/kgとし、毎日投与液を調製した。対照群には注射用蒸留水を充填したカプセルを投与した。

投与量設定根拠；

観察・試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

100mg/kg投与群の全例が第3週までに死亡または切迫屠殺した。また、15mg/kg投与群の雄全例及び雌3例が第21週までに死亡または切迫屠殺した。これらの動物では検体投与後に嘔吐及び流涎がみられ、死亡または切迫屠殺前には振戦、後弓反張、横臥、起立困難、苦悶及び脱水がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

3mg/kg投与群においても全例に嘔吐及び流涎がみられたが発現頻度は低かった。

また、0.5mg/kg投与群では雄3例及び雌2例に嘔吐がみられたが、いずれも1～4回程度の一過性の発現であり、対照群にもみられていることなどから、毒性所見とは言い難い。

試験期間中の死亡数を下表に示す(100mg/kg投与群は全例死亡)

投与群(mg/kg)	雄				雌			
	5週	13週	26週	52週	5週	13週	26週	52週
15mg/kg	1/4	3/4	4/4	4/4	1/4	2/4	3/4	3/4

体重変化；投与開始後13週までは毎週1回、以降は4週に1回全生存動物の体重を測定した。また死亡時体重も測定した。

100mg/kg投与群では、いずれの動物も死亡または切迫屠殺時、対照群に比較して体重が低下した。

15mg/kg投与群において対照群に比較して、雄では、第2週から体重増加抑制が認められ、雌では順調な体重増加がみられたが、いずれの死亡動物も死亡時に体重が低下した。

0.5及び3mg/kg投与群では、特記すべき変化は認められなかった。

摂餌量；投与期間中、毎日400gの飼料を全例に与え、翌朝の残量から摂餌量を算出し、週単位で平均摂餌量を求めた。

次頁に、統計学的有意差のみられた週を示す。

性 別		雄				雌			
		0.5	3	15	100	0.5	3	15	100
検 査 週	1週			90	50				↓57
	2週			91	64			84	↓13
	3週			64	↓0.64				—
	4週			↓80	—				—
	6週			↓79	—				—
	7週				—		↑120		—
	8週			↓64	—				—
	9週			↓53	—		↑118		—
	10週			↓47	—				—
	11週				—		↑131		—
	17週				—		↑121		—
	20週				—	↑122	↑124		—
	21週				—	↑134	124		—
	22週			—	—	↑143			—
	23週			—	—		137		—
	26週			—	—	↑122			—
	27週			—	—	↑134			—
	29週			—	—		144		—
	33週			—	—		↑136		—
	34週			—	—	↑123	↑135		—
36週			—	—	↑115			—	
37週			—	—	↑125			—	
41週			—	—		↑123		—	
43週		↑125	—	—				—	
46週			—	—		↑124		—	
51週			—	—		↑148		—	
52週			—	—	↑143	↑162		—	

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

数値は対照群を100とした場合の値

— : 全例死亡または切迫屠殺により、測定できず

100mg/kg投与群では投与開始から死亡まで摂餌量が低く推移した。
 15mg/kg投与群では投与期間中、特に雄において統計学的に有意な低下が
 時折認められた。また、死亡直前には摂餌量の低下がみられた。
 3mg/kg及び0.5mg/kg投与群では統計学的に有意な摂餌量の増加が散見さ
 れたが、いずれも正常範囲内の変動であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

飲水量；投与開始後13週間までは毎週1回、以後は4週に1回測定した。

以下に、統計学的有意差のみられた日を示す。

性 別		雄				雌			
		0.5	3	15	100	0.5	3	15	100
測定日	2日			77	61		↑123		
	9日								↓27
	16日				61				
	23日			↓74	—				—
	44日				—	↑130		↑125	—
	51日				—	↑136			—
	58日				—	↑153	↑136		—
	65日				—	↑132			—
	86日				—			↑140	—
	107日				—	↑140		↑152	—
	163日			—	—	↑188	↑201		—
	191日		↑136	—	—				—
	303日			—	—	↑176			—
	359日			—	—	↑176			—

↑↓：p<0.05 ↑↓：p<0.01 (Studentの t 検定)

数値は対照群を100とした場合の値

—：全例死亡または切迫屠殺により、測定できず

100及び15mg/kg投与群では死亡前に減少傾向がみられ、100mg/kg投与群の雌では投与2週に有意差(190.0mL/日, P<0.05)がみられた。すべての検体投与群に散見されたその他の有意な変動はいずれも700~900mL/日前後の値であり、正常範囲内の変動と考えられた。

血液学的検査；投与開始前(0週)、投与開始後5, 13, 26及び52週に全生存動物を対象として、橈側皮静脈から採血を行い、以下の項目の測定を行った。なお、100mg/kg投与群の全例が第3週までに死亡又は切迫屠殺したため、投与後の定期検査はできなかった。瀕死時の検査は、100mg/kg投与群の雄1例及び100mg/kg投与群雌雄の各2例について実施した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、網赤血球数、白血球数、白血球百分率、血小板数、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)

以下に、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性 別		雄			雌		
投 与 量 (mg/kg)		0.5	3	15	0.5	3	15
検査項目/動物数		4	4	4	4	4	4
5週時検査動物数		4	4	3	4	4	3
13週時検査動物数		4	4	1	4	4	2
26週時検査動物数		4	4	0	4	4	1
52週時検査動物数		4	4	0	4	4	1
赤血球数	5週						86
	13週						↓ 76
	26週			—		↑ 112	67
	52週			—			78
ヘマトクリット	0週			↑ 115			
	5週						86
	13週						↓ 76
	26週			—		↑ 112	71
52週			—			82	
ヘモグロビン量	0週			↑ 115			
	5週						84
	13週						↓ 76
	26週			—		↑ 112	69
52週			—			79	
MCHC	5週		↓ 99				
	26週			—			
	52週			—			
リンパ球比率	52週			—		↑ 126	
単球比率	0週			↓ 30			
	5週					↑ 250	
血小板数	5週						↑ 174
	52週			—		↓ 67	
網状赤血球数	0週		↓ 54				
A P T T	5週						↑ 123
	13週						107
	26週		↑ 108	—			119
	52週			—		↑ 112	146

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

数値は対照群を100とした場合の値

— : 全例死亡または切迫屠殺により、測定できず

15mg/kg投与群の雌において、投与5週より赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の低下傾向並びにAPTTの延長傾向がみられ、この傾向は投与52週まで継続した。

統計学的に有意差の認められたその他の変動については、その程度は僅かであり、用量相関性が認められない、あるいは当施設の背景値内の変動であることから、正常範囲内の変動と考えられた。

以下に統計学的に有意差の認められた検査項目の実測値と本試験機関の背景データを示す。

測定項目 (単位)	検査 時期 (週)	雄群平均値		背景 データ	雌群平均値			背景 データ
		3 mg/kg	15 mg/kg		0.5 mg/kg	3 mg/kg	15 mg/kg	
赤血球数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	26					788.3		591~ 872
ヘマトクリット (%)	26					51.65		41.4~ 58.2
ヘモグロビン量 (g/dL)	26						18.85	14.7~ 20.8
MCHC (%)	5	35.18		34.66~ 37.44				33.30~ 37.20
	26				37.08			
	52				36.60			
リンパ球比率 (%)	52				23.3	36.5		12~52
単球比率 (%)	5					2.5		0.0~ 10.0
血小板数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	5				30.95		40.83	28.6~ 48.2
	52					23.00		23.0~ 47.9
APTT (秒)	26	10.38		11.5~ 13.3				9.7 ~13.4
	52					11.03		

また、以下の表に示すように瀕死時の検査を実施した100及び15mg/kg投与群雌雄計5例では、投与前、投与5週及び13週の対照群の値に比較して100及び15mg/kg投与群の雄各1例で白血球数が増加し、100mg/kg投与群の雄1例で血小板数が増加した。

測定項目 (単位)	雄の測定値			対照群雄の平均値		
	15mg/kg	15 mg/kg	100mg/kg	投与前	5週	13週
	動物番号 1401	動物番号 1404	動物番号 1501			
	瀕死日 : 1 43日	瀕死日 : 72日	瀕死日 : 7日			
白血球数 ($\times 10^2/\mu\text{L}$)	88	246	469	135.3	136.8	113.5
血小板数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	44.5	27.7	75.1	35.28	41.40	34.93

血液生化学検査；血液学的検査用血液採取と同時に採血した血液から分離した血清を用いて以下の項目の測定を行った。

なお、100mg/kg投与群の全例が第3週までに死亡又は切迫屠殺したため、投与後の定期検査はできなかった。

瀕死時の検査は、15mg/kg投与群雌雄の各1例について実施した。

グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、LDH、血糖、総蛋白、アルブミン、アルブリン/グロブリン比 (A/G比)、総コレステロール、総ビリルビン、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、トリグリセライド、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

以下に、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性 別		雄			雌		
投 与 量 (mg/kg)		0.5	3	15	0.5	3	15
検査項目/動物数		4	4	4	4	4	4
5週時検査動物数		4	4	3	4	4	3
13週時検査動物数		4	4	1	4	4	3
26週時検査動物数		4	4	0	4	4	1
52週時検査動物数		4	4	0	4	4	1
G O T 1)	13週						300
	26週		185	—		137	
	52週		248	—			
G P T 2)	13週						492
	26週		402	—			
	52週		1140	—			
A L P 3)	13週						346
	26週		246	—			
	52週		430	—			
L D H	13週		↓ 70				235
	26週		⇓ 70	—			
血 糖	0週		↑ 106				
総ビリルビン	13週						2108
	26週		↓ 39	—			
トリグリセライド	0週			↓ 80			
	5週		⇓ 71				
ナトリウム	5週						↓ 99
	13週				↑ 101	⇓ 97	
	52週				—	↓ 98	
カリウム	0週	↓ 95					
	13週					↑ 107	
	26週		↓ 94	—		↑ 105	
	52週			—		↑ 108	
塩素	5週		↑ 101				
	13週						↓ 98
クレアチニン	0週			↑ 116			

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

数値は対照群を100とした場合の値

— : 全例死亡または切迫屠殺により、測定できず

1) 13週時測定値 : 対照雄32.0、 15mg/kg雄26.0 (IU/L)

2) 13週時測定値 : 対照雄27.3、 15mg/kg雄16.0 (IU/L)

3) 13週時測定値 : 対照雄164.5、 15mg/kg雄153.0 (IU/L)

統計学的有意差はなかったが、検体投与に起因する変化として、

- 1) 投与13週の15mg/kg群の雌1例でGOT、GPT、ALP、LDH、総ビリルビン値が増加した。
- 2) 投与26週の3mg/kg群の雄2、雌1例でGOT、GPT、ALP値が増加した。
- 3) 投与52週の3mg/kg群の雄2例でGOT、GPT、ALP値が増加した。

それ以外の統計学的に有意な変動は、その程度は僅かであり、用量増との関係が認められない、あるいは当施設の背景値内の変動であることから、正常範囲内の変動と考えられた。

以下に統計学的に有意差の認められた検査項目の実測値と本試験機関の背景データを示す。

測定項目 (単位)	検査 時期 (週)	雄群平均値		背景 データ	雌群平均値			背景 データ
		3 mg/kg	15 mg/kg		0.5 mg/kg	3 mg/kg	15 mg/kg	
LDH (IU/L)	13	54.5		43~ 296				
	26	85.0						
総ビリルビン (mg/dL)	26	0.22		0.13~ 0.56				
トリグリセリド (mg/dL)	5	50.13		28.3~ 95.0				
ナトリウム (mEq/L)	5						150.3	145.0~ 151.6
	13				152.8	147.0		
	52					148.8		142.6~ 153.2
カリウム (mEq/L)	13			4.02~ 5.38	4.80			4.32~ 5.30
	26	4.63			4.83			
	52				4.98			
塩素 (mEq/L)	5	116.5		109.5~ 116.4				108.7~ 120.1
	13						111.5	

また、以下の表に示すように瀕死時の検査を実施した15mg/kg投与群雌雄各1例では、投与13週の対照群の値に比較してGOT、GPT及びALPが増加した。

測定 項目 (IU/L)	雄の測定値		13週 時対照 群雄の 平均値	雌の測定値		13週 時対照 群雌の 平均値
	15mg/kg			15mg/kg		
	動物番号 1401			動物番号 2404		
	瀕死日：143日			瀕死日：143日		
GOT	60		32	52		25.0
GPT	223		27.3	298		23.3
ALP	182		164.5	508		190.5

尿検査；血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

潜血、ケトン体、尿糖、蛋白、pH、ウロビリノーゲン、
ビリルビン、亜硝酸塩、沈渣、色調、比重

検体投与に関連する変化は認められなかった。

投与5週に、15mg/kg投与群雌の比重で統計学的に有意な低下 (Studentの t 検定、 $p < 0.05$) がみられたが、その値 (1.028) は投与前の値 (1.035) とほぼ同程度であり、当施設の背景値 (1.01~1.07) 内の変動であることから、正常範囲内の変動と考えられた。

眼科的検査；投与開始前、投与 5, 13, 26及び52週に生存動物全例について、角膜、結膜、強膜、虹彩、水晶体等の前眼部を観察後、散瞳剤を点眼し、眼底の観察を行った。

3mg/kg投与群雄 1 例において、投与13週に角膜混濁がみられたが、その他のいずれの動物にも異常は認められなかった。

心電図検査；投与開始前、投与 5, 13, 26及び52週に生存動物全例について、標準肢透導第 2 誘導による心電図から、PR間隔、QRS間隔、QT間隔及びP波長並びに心拍数を測定した。

投与 5 週及び13週に0.5及び15mg/kg投与群において、統計学的に有意なPR間隔またはQRS間隔の延長、あるいは心拍数の減少が認められたが、いずれも用量増との関連がなく、投与開始前と同程度の値であることから、検体投与と関連しない変化であると考えられた。

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、対体重比も算出した。

なお、15mg/kg投与群の雄の全例及び雌の3例並びに100mg/kg投与群の雌雄全例については、切迫屠殺時に臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、顎下腺及び卵巣

次頁に、統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

性 別		雄				雌			
投 与 量 (mg/kg)		0.5	3	15	100	0.5	3	15	100
検 査 項 目 \ 動 物 数		4	4	0	0	4	4	1	0
最 終 体 重 (kg) 1)				—	—				—
脾 臓	対 体 重 比	↑ 116		—	—				—
顎 下 腺 (右)	絶 対 重 量			—	—	↓ 84	↓ 89		—
	対 体 重 比					↓ 73	↓ 76		
顎 下 腺 (左)	絶 対 重 量			—	—	↓ 81			—
	対 体 重 比					↓ 71	↓ 75		
腎 臓 (右)	絶 対 重 量			—	—	↑ 113			—
腎 臓 (左)	絶 対 重 量			—	—		↑ 119		—
卵 巣 (左)	絶 対 重 量			—	—	↑ 200			—

↑ ↓ : $p < 0.05$ ↑ ↓ : $p < 0.01$ (Studentの t 検定) 数値は対照群を100とした場合の値

— : 全例死亡のため、投与終了時測定できず

1) 測定値 (kg) : 雄 対照 12.60、0.5mg/kg 12.05、 3mg/kg 12.60

雌 対照 10.55、0.5mg/kg 12.15、 3mg/kg 12.65、15mg/kg 14.60

0.5mg/kg投与群雄において、脾臓の対体重比で軽度であるが統計学的に有意な増加がみられた。また、0.5及び3mg/kg投与群雌において、顎下腺の絶対重量及び対体重比で有意な減少がみられた。

これらの変化を含め、いずれの統計学的に有意な変化も、その程度は僅かであり、用量増との関連が認められない、あるいは当施設の背景値内の変動であることから、正常範囲内の変動と考えられた。

また、以下の表に示すように100mg/kg投与群雄の切迫屠殺例では精巢、前立腺及び胸腺重量の減少傾向がみられ、15mg/kg投与群雌雄の切迫屠殺例では胸腺重量の減少傾向がみられた。

測定項目 (単位：g)	雄の測定値				
	15mg/kg		100mg/kg		
	動物番号	動物番号	動物番号	動物番号	動物番号
	1401	1404	1501	1503	1504
	瀕死日： 143日	瀕死日： 72日	瀕死日： 7日	瀕死日： 18日	瀕死日： 18日
精巢（右）	6.78	8.68	2.16	2.34	1.41
精巢（左）	5.69	9.44	2.46	2.21	1.41
前立腺	1.06	1.66	0.77	測定せず	測定せず
胸腺	2.01	2.07	259	2.14	1.02

測定項目 (単位：g)	雌の測定値	
	15mg/kg	
	動物番号	動物番号
	2401	2404
	瀕死日： 84日	瀕死日： 143日
胸腺	2.07	0.84

その他、脳、下垂体、肺及び肝臓の対体重比の増加傾向も一部に認められたが、いずれも体重低下に伴う変動と考えられた。

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺及び試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

以下に観察された所見及び発生動物数を示す。

検査時期	性別		雄					雌				
	投与群 (mg/kg)		0	0.5	3	15	100	0	0.5	3	15	100
死亡・切迫屠殺	臓器	所見\検査動物数	0	0	0	4	4	0	0	0	3	4
	胸腺	退縮	—	—	—	2	3	—	—	—	3	2
	胃	粘膜暗赤色斑	—	—	—	0	0	—	—	—	0	3
	肺	暗赤色斑	—	—	—	1	1	—	—	—	0	1

(注) —：死亡・切迫屠殺動物が認められないので、検査せず。

15及び100mg/kg投与群の死亡、切迫屠殺動物において胸腺の退縮及び肺の暗赤色斑が認められ、100mg/kg投与群雌では胃粘膜にも暗赤色斑が認められた。

生存動物には、肉眼的な変化は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理組織標本を作製、鏡検した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、顎下腺、耳下腺、舌下腺、舌、胸腺、気管、気管支、肺、心臓、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮、膣、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、筋肉、皮膚、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、坐骨神経、脊髄、大動脈弓、乳腺(雌のみ)、腸間膜リンパ節、眼球(視神経を含む)、涙腺及び異常部位

観察された病理組織学的所見及び発生動物数を表1に示す。

検体投与に起因すると考えられる変化は、3mg/kg以上の投与群の肝臓及び胃に認められた。

100mg/kg投与群の早期死亡例又は切迫屠殺例では、肝臓に小葉中間帯～中心部肝細胞に軽度～中等度の空胞変性(軽度にズタンⅢ陽性)が雄3例、雌2例にみられ、胃では粘膜上皮が雌雄各3例で軽度に増生した。

15mg/kg投与群の死亡例、切迫屠殺例又は生存例は、肝細胞空胞変性が雄1例にみられ、単細胞壊死を伴う中等度の単核円形細胞浸潤が雌雄各3例にみられ、さらに、胃では粘膜上皮が雄3例、雌2例で軽度に増生した。

3mg/kg投与群の生存例では、肝臓における中等度の単核細胞浸潤が雄2例にみられた。

15mg/kg以上の投与群にみられた死亡又は瀕死の原因として肝障害が考えられるが、これらの例の中には嘔吐の際に検体の気管からの誤飲に起因すると思われる肺の出血、水腫又はうっ血が認められたことから、肝臓又は肺での障害が上記の原因として重要と考えられる。

また、死亡又は切迫屠殺例には、胸腺の退縮、前立腺の萎縮及び子宮の萎縮が多数みられ、これらの変化は衰弱に伴う二次的な変化と考えられた。

以上の結果から、本剤のイヌにおける12ヶ月間カプセル投与による慢性毒性試験の影響として

- 1) 100mg/kg投与群で投与3週までに全例、15mg/kg投与群で21週までに雄全例、雌3例が死亡し、死亡時の体重も対照群に比して低下した。
- 2) 死亡動物では、投与後嘔吐及び流涎が、死亡前に振戦、後弓反張、横臥、起立困難、苦悶及び脱水がみられた
- 3) 試験終了時生存動物において、15 mg/kg投与群では、体重増加抑制（雄のみ）、摂餌量の減少、飲水量の減少（雄のみ）、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の減少（雌のみ）、活性部分トロンボプラスチン時間の延長（雌のみ）、LDH及び総ビリルビンの増加（雌のみ）が、3mg/kg以上の投与群では嘔吐、流涎、GOT、GPT及びALPの増加並びに肝細胞の単核細胞浸潤（3mg/kg群は雄のみ）がみられたことから、無毒性量は雌雄とも0.5mg/kg/dayであると判断される。

表 1 : 病理組織学的所見及び発生動物数

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投 与 群 (mg/kg)		0	0.5	3	15	100	0	0.5	3	15	100
最終 屠殺	臓器	所見\検査動物数	4	4	4	0	0	4	4	4	1	0
	肝臓	単核細胞浸潤			2						1	
		胆管増生			1							
	胸腺	退縮	1		1							
	下垂体	前葉嚢胞	1	2				1	1			
	甲状腺	単核細胞浸潤	1									
	前立腺	単核細胞浸潤		2				-	-	-	-	-
死亡・ 切迫 屠殺	臓器	所見\検査動物数	0	0	0	4	4	0	0	0	3	4
	肝臓	肝細胞空胞変性				1	3					2
		単細胞壊死				3					2	
		単核細胞浸潤				3					2	
	胃	粘膜上皮増生				3	3				2	3
		粘膜下出血					1					1
	肺	炎症										1
		出血				1					1	3
		水腫					1				1	2
		鬱血				1	1					
	気管支	炎症					1					
	気管	炎症					1					
	膀胱	粘膜上皮増生									1	
	胸腺	退縮				3	4				3	3
		異所性甲状腺組織										1
	脳	脳室拡張				1						
		皮質神経膠症										1
下垂体	前葉嚢胞					1				1		
甲状腺	濾胞拡張									1		
副腎	皮質嚢胞				1							
精巣	精子形成低下				1			-	-	-	-	
前立腺	腺組織萎縮					4		-	-	-	-	
子宮	萎縮	-	-	-	-	-				2	4	

(注) 空欄は所見なし、統計学的処理実施せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2) ラットを用いた強制経口投与による慢性毒性/発がん性併合試験

(資料 No. 13)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体純度：

試験動物：Fischer(F-344/DuCrj)系ラット、開始時4週齢

体重；雄 107～138g 雌 88～108g 1群雌雄各90匹、

投与後26、52及び78週時に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

投与期間：104週間（1991年9月3日～1993年9月3日）

投与方法：検体を注射用蒸留水に溶解し、純度換算した上で0、0.5、2.2及び10.0mg/kgの投与量が得られるように投与溶液を用時調製し、5または10mLのディスポーザブルシリンジに金属又はテフロン製ゾンデを付け、104週間にわたって1日1回、週6日間胃内に強制経口投与した。

投与量設定根拠；

投与経路選択理由；本試験は本来混餌経口投与するものであるが、検体の化学的性質上、強制経口投与とした。

観察・試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態は1日1回、生死は1日2回観察した。投与6ヶ月以後は毎週1回体表面の腫瘤について触診した。

脱毛、立毛、脱水、腹部膨満、活動性の低下、鎮静、皮下結節等の症状が対照群を含む全群の雌雄にみられたが、対照群と比較して検体投与群の発生頻度が同程度であったことから、いずれの変化も検体投与に起因するものとは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験終了時の死亡動物数（率）を下表に示す。

投与量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0
死亡動物数/ 検査動物数 (%)	雄	14/90 (23)	16/90 (27)	10/90 (17)	14/90 (23)
	雌	4/90 (7)	8/90 (13)	10/90 (17)	12/90 ↑ (20)

Dunnett又はScheffeの多重比較法：↑：P<0.05

10.0mg/kg群の雌に死亡動物数（率）の有意な増加が認められたが、雌動物の死亡原因は、対照群で全例（4例）が腫瘍であり、10.0mg/kg群で12例中9例が腫瘍、残り3例が肝臓、脾臓及び筋肉障害であった。これらの腫瘍及び非腫瘍性病変とも病理組織学的検査の項で後述するように検体投与に起因する変化ではなく、10.0mg/kg群雌の死亡率の増加は加齢性死亡の範囲内である。

体重変化；投与開始から13週間は週1回、その後は4週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与期間（週）を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	性別	投与期間（週）	
		増加	増加抑制
0.5	雄	7~20, 28~52, 104	—
2.2	雄	9~11, 13, 16, 28~48	—
10.0	雄	—	72~92, 100
	雌	—	4~76, 84~100

（注）—：有意な変化なし、Dunnett又はScheffeの多重比較法

10.0mg/kg群において、雄で投与期間後期に、また雌で投与期間を通じて体重増加抑制が認められ、検体投与に起因すると考えられた。それ以外の有意な変動には用量増との関連がみられないことから、偶発的変化と考えられた。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始から13週間は週1回、その後は4週間に1回測定した。また、以下の公式を用いて投与後13週まで食餌効率を算出した。

$$\text{食餌効率 (\%)} = \frac{\text{平均増加体重 (g)}}{\text{平均総摂餌量 (g/週/匹)}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与期間（週）を下表に示す。
摂餌量；

投与量 (mg/kg)	性別	投与期間（週）	
		増加	減少
0.5	雄	10～13、24、28	—
	雌	12、36、40	—
2.2	雄	6、7、10、11、20～32、84	—
10.0	雄	6、7、11、48	—
	雌	—	4、6～32、60、64、72～88、96

(注) —：有意な変化なし、Dunnett又はScheffeの多重比較法

食餌効率；

投与量 (mg/kg)	性別	投与期間（週）	
		増加	減少
0.5	雄	4、7	—
2.2	雄	13	2
	雌	2	—
10.0	雄	—	2
	雌	—	3

(注) —：有意な変化なし

Dunnett又はScheffeの多重比較法

摂餌量は、10.0mg/kg群雌でほぼ全投与期間にわたり減少した。

食餌効率は、10.0mg/kg群雌雄で投与期間のごく初期に減少した。

その他の検体投与群では、摂餌量の有意な増加及び食餌効率の有意な増加又は減少が散発的に見られたが、その変動が軽微であり、正常範囲内の変動と考えられた。

血液学的検査；投与後13、26、52、78及び104週時に尿検査対象動物について、尾静脈切開により血液を0.02mlを採取し、希釈液10mlに入れて混和後、以下の項目の検査を行った。

赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、血小板数、白血球百分比

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以下に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別	雄												
	0.5mg/kg					2.2mg/kg			10.0mg/kg				
投与量	13	26	52	78	104	13	52	78	13	26	52	78	104
検査時期(週)	13	26	52	78	104	13	52	78	13	26	52	78	104
ヘモグロビン						↓92			↓92				
白血球数	↑128		↑133				↑130						
白血球百分比 好酸球	↑238				↓45								↓45
白血球百分比 単球		↑155				↓15				↑145			
白血球百分比 リンパ球				↓85				↓88			↓88	↓85	
白血球百分比 分葉球				↑145				↑140			↑137	↑157	

性別	雌				
	2.2mg/kg			10.0mg/kg	
投与量	26	78	104	13	52
検査時期(週)	26	78	104	13	52
ヘモグロビン	↓95				
白血球数					↑133
白血球百分比 好酸球		↑267			
白血球百分比 単球			↓17		
白血球百分比 リンパ球				↓91	

Dunnett又はScheffeの多重比較法：↑↓：P<0.05 ↑↓：P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

各検査時期に検体投与群の雌雄ではヘモグロビン値、白血球数、リンパ球比、好酸球比または単球比の有意な増加または減少が認められたが、各検査時期を通して一貫性がみられないこと、用量増との関連がみられないこと、病理組織学的に関連臓器に対応する変化が認められないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

血液生化学検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用いて、以下の項目について検査を行った。なお、投与後13週時に採取した血液については、検査しなかった。

グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、アルカリホスファターゼ (ALP) ブドウ糖、総蛋白、アルブミン、尿素窒素

以下に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 別	雄			雌				
	0.5	2.2	10.0	0.5	2.2	10.0		
投与量 (mg/kg)	0.5	2.2	10.0	0.5	2.2	10.0		
検査時期 (週)	52	52	52	78	104	26	52	104
総蛋白	↓92	↓92	↓93			↓95		
血 糖				↑118	↑119		↑118	↑124

Dunnett又はScheffeの多重比較法：↑↓：P<0.05 ↑↓：P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

第52週にすべての検体投与群雄では総蛋白値が有意に減少したが、ほぼ同時期又は前後（48、52及び56週）してこれらの投与群では、対照群に比較して体重又は摂餌量の増加が継続していた（時として、統計学的に有意な増加）。したがって、この総蛋白値の減少は体重又は摂餌量の増加に対して恒常性を維持するための生理的変動と考えられた。

また、52及び104週時10.0mg/kg投与群雌及び104週時2.2mg/kg投与群雌にみられた血糖値の有意な増加は、同時期の同群の病理組織学的検査および尿検査で変化は認められなかったため、検体投与による影響とは考えられなかった。

尿 検 査；投与後13、26、52、78及び104週時に各群雌雄10匹を対象に蓄尿を採取し、以下の項目の検査を行った。

pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、色調、尿量、比重

104週に2.2mg/kg群雄にみられた尿量の有意な増加（対照群に対して128%）は、10.0mg/kg投与群雄で同じ変化がみられないことから、偶発的変化と考えられた。一方、雌では対照群に比してすべての検体投与群に有意な変動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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

眼科的検査；投与開始前の全動物、投与開始後104週に尿、血液及び血液生化学的検査の対象動物とした対照群及び10mg/kg投与群の各動物について、検査した。

104週時、対照群及び10mg/kg投与群ともに眼の異常は認められなかった。

臓器重量；投与開始後26, 52, 78及び104週時に血液生化学的検査に供した動物を対象として以下の臓器重量を測定し、相対重量も算出した。

脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣

以下に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別		雄									
		0.5mg/kg			2.2mg/kg			10.0mg/kg			
投与量		26	52	78	26	52	78	26	52	78	104
検査時期(週)		26	52	78	26	52	78	26	52	78	104
体重(g)		398.3	454.3	449.1	379.0	440.5	421.0	384.4	440.1	431.8	406.2
脳	絶対重量										
	相対重量						↑108				
肺	絶対重量					↑107			↑109		
	相対重量										
肝臓	絶対重量								↑121		
	相対重量							↑109	↑118		
脾臓	絶対重量					↑111			↑117		
	相対重量								↑120		
腎臓 (右)	絶対重量	↑107							↑116		
	相対重量						↑109	↑107	↑114		
腎臓 (左)	絶対重量	↑106							↑116		
	相対重量						↑109		↑113		
副腎 (右)	絶対重量	↑119						↑117			
	相対重量	↑118			↑114		↑115	↑121			
副腎 (左)	絶対重量										
	相対重量						↑122			↑206	
精巣 (右)	絶対重量										
	相対重量										
精巣 (左)	絶対重量										↑199
	相対重量		↓92								↑204

Dunnett又はScheffeの多重比較法：↑↓：P<0.05 ↑↓：P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

性別	雌									
	0.5mg/kg			2.2mg/kg			10.0mg/kg			
検査時期(週)	26	52	78	26	52	78	26	52	78	104
体重(g)	209.3	223.4	247.8	203.7	230.5	233.1	196.3	213.3	228.3	251.2
肝臓	絶対重量									
	相対重量						↑105	↑110	↑113	
脾臓	絶対重量									
	相対重量						↑115			
腎臓 (右)	絶対重量									
	相対重量						↑106	↑109		
腎臓 (左)	絶対重量									
	相対重量							↑112		
副腎 (右)	絶対重量									
	相対重量							↑115		
副腎 (左)	絶対重量								↑115	
	相対重量						↑123	↑123	↑126	

Dunnnett又はScheffeの多重比較法：↑↓：P<0.05 ↑↓：P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

各検査時期に各検体投与群の雌雄で脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎または精巣の絶対重量及び相対重量に有意な増加または減少がみられたが、各検査時期を通して一貫性がみられないこと、用量増との関連がみられないこと、対応する臓器(脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎または精巣)に肉眼的又は病理組織学的変化が認められないことから、いずれも検体投与による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡動物、切迫屠殺動物、中間屠殺動物及び投与終了時の全生存動物について剖検を行った。

26週時の中間屠殺動物では、検体投与に起因する変化は認められなかった。有意差のみられた所見及び発現数を次頁の表1-1~2に示す。

10mg/kg投与群の雌雄では、検体投与に起因する腺胃粘膜の変色または肥厚の発現頻度が対照群に比して有意に増加または増加傾向を示した。

その他、対照群を含む各投与群に、胸腺では退縮、肝臓では変色、表面顆粒状、結節、肥大、腎臓では変色、表面顆粒状、脾臓では肥大、下垂体では嚢胞、精巣では軟弱、萎縮、変色、肥大、子宮では肥大、粘膜肥厚、皮下では腫瘤などがみられたが、これらの変化は発現頻度に時期的な一貫性がみられないこと、用量増との関連がみられないこと、正常ラットに自然発生的にみられる程度であることから、検体投与に起因するものではなく、自然発生病変と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 1-1 肉眼的病理所見

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
52 週	臓 器	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	腺 胃	粘膜の肥厚	0	0	0	0	0	0	0	0
		粘膜の変色	0	0	0	2	0	0	0	4*
78 週	臓 器	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	腺 胃	粘膜の肥厚	0	0	0	2	0	0	0	2
		粘膜の変色	0	0	0	0	0	0	0	0
	胸 腺	退 縮	10	9	8	6*	7	9	7	8
	精 巢	変 色	5	5	8	9	-	-	-	-
		肥 大	2	1	2	5	-	-	-	-
		軟 弱	6	6	7	8	-	-	-	-
子 宮	肥 大	-	-	-	-	5	3	2	2	
	粘膜肥厚	-	-	-	-	2	1	0	2	
死 亡 ・ 切 迫 殺	臓 器	所見\検査動物数	11	11	7	12	3	6	9	9
	肝 臓	表面顆粒状	1	4	3	3	0	2	2	1
		変 色	3	1	3	4	1	2	1	1
	腎 臓	表面顆粒状	1	4	1	1	0	0	0	0
		変 色	1	1	2	3	0	2	2	1
	脾 臓	肥 大	3	6	4	7	2	4	3	6
	胸 腺	退 縮	9	7	3	3**	1	4	7	5
精 巢	変 色	6	5	5	10	-	-	-	-	
	肥 大	3	3	1	5	-	-	-	-	
	軟 弱	4	4	3	5	-	-	-	-	
最 終 屠 殺	臓 器	所見\検査動物数	46	44	50	46	56	52	50	48
	肝 臓	表面顆粒状	6	2	6	10	3	6	3	5
		変 色	7	11	12	5	0	5*	3	3
		結 節	5	2	7	3	0	4	2	1
		肥 大	14	8	15	14	0	2	4*	1
	腺 胃	粘膜の肥厚	0	0	4	22**	0	0	0	11**
		粘膜の変色	0	0	0	0	0	0	0	0
	腎 臓	表面顆粒状	23	26	35*	29	6	12	8	2
		変 色	7	2	3	3	0	1	8**	3
	脾 臓	肥 大	14	12	11	18	5	7	7	4
	胸 腺	退 縮	33	34	29	40	48	43	38	40
	下垂体	囊 胞	7	7	3	5	21	16	14	10*
	甲状腺	肥 大	7	7	3	3	4	1	11*	5
	精 巢	肥 大	37	33	39	41	-	-	-	-
変 色		28	31	40*	31	-	-	-	-	
軟 弱		6	4	4	1	-	-	-	-	
萎 縮		5	1	3	2	-	-	-	-	
子 宮	肥 大	-	-	-	-	16	18	15	20	
	粘膜肥厚	-	-	-	-	22	22	16	16	
皮下	腫 瘍	3	4	6	7	4	2	2	3	

Fisherの直接確率法： * : P<0.05 ** : P<0.01 - : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 1-2 肉眼的病理所見

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
中 間 屠 殺 を 除 く 全 動 物	臓 器	所見\検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	肝 臓	表面顆粒状	8	6	8	13	3	8	5	7
		変 色	10	12	15	9	1	7*	4	5
		結 節	6	2	8	3	0	4	3	2
		肥 大	14	8	16	14	0	2	4	1
	腺 胃	粘膜の肥厚	0	1	4	24**	0	0	0	11**
		粘膜の変色	0	1	1	2	0	0	0	1
	腎 臓	表面顆粒状	24	30	36*	30	6	12	8	3
		変 色	8	3	5	6	0	3	10**	3
	脾 臓	肥 大	19	18	17	27	7	12	11	12
	胸 腺	退 縮	44	42	34*	44	49	48	46	47
	下垂体	囊 胞	8	8	3	5	21	17	14	10*
	甲状腺	肥 大	7	7	3	3	4	2	12*	6
	精 巢	肥 大	38	33	39	45	-	-	-	-
		変 色	34	36	45*	41	-	-	-	-
		軟 弱	10	8	8	6	-	-	-	-
萎 縮		8	5	4	7	-	-	-	-	
子 宮	肥 大	-	-	-	-	16	19	15	20	
	粘膜肥厚	-	-	-	-	22	23	16	16	
皮 下	腫 瘤	7	4	8	10	4	2	5	3	

Fisherの直接確率法 : * : P<0.05 ** : P<0.01 - : 検査せず

病理組織学的検査 ; 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組織標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、唾液腺（顎下腺、舌下腺、耳下腺）胸腺、心臓、大動脈弓、気管、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、精巢
精巢上体、前立腺、卵巣、子宮、膣、膀胱、舌、食道、胃、十二指腸、空腸
回腸、盲腸、結腸、直腸、脊髄、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、
皮膚（頸背部）、乳腺（雌のみ）、骨格筋（大腿筋）、腸間膜リンパ節、
眼球、坐骨神経、その他の肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

観察された主な非腫瘍性病変を表2-1~3に示した。

0~52週及び53~78週の間死亡・切迫殺した動物には、検体投与に起因する変化は認められなかった。

10mg/kg投与群の雌雄に検体投与に起因すると考えられる病変として、腺胃（胃底腺部又は幽門部）粘膜上皮の過形成が認められ、局所性といえるが乳頭状ではなく、軽微から軽度の増生であった。

全動物におけるこの過形成の発生程度別を以下に表に示す。

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
全 動 物	臓器	所見\検査動物数	90	90	90	90	90	90	90	90
	腺胃	粘膜上皮過形成								
		軽 微	0	0	0	4	1	0	0	0
		軽 度	7	4	3	30	6	2	4	28
	合 計	7	4	3	34*	7	2	4	28*	

Fisherの直接確率法： * : P<0.01

2. 2mg/kg投与群の雄でみられた肝細胞変異増殖巣の有意な増加は、10mg/kg投与群の雄で同様の変化が認められなかったことから、検体投与の影響ではなく、自然発生性の変化と考えられた。

その他、対照群を含む投与各群に、肝臓では単核細胞浸潤、心臓では心筋の線維化、腎臓では腎症、胸腺では萎縮、腸間膜リンパ節では小肉芽腫、卵巣では嚢胞などがみられたが、これらの変化はその発現頻度に時期的な一貫性がみられないこと、用量増との関連がみられないこと、正常ラットに自然発生的にみられる程度であることから、検体投与に起因するものではなく、自然発生病変と考えられた。

なお、この腺胃粘膜上皮過形成の発生機序を検討するため、本試験機関の病理担当者が保存していたパラフィンブロックを用いて1999年に粘液細胞、壁細胞、主細胞及び内分泌細胞に識別し、計測した（資料No.13-1）。

[腫瘍性病変]

観察された良性及び悪性腫瘍の種類及び発生動物数並びに各群の総腫瘍発現数を表3-1~9に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2. 2mg/kg投与群にみられた雄の副腎の褐色細胞腫及び雌の脾臓の単核球性白血病の有意な増加は、10mg/kg投与群に同様の変化が認められなかったことから、検体投与に起因する変化とは判断されなかった。

以下の表のとおり、対照群雄に全く認められなかった肝細胞腺腫及び肝細胞癌が2. 2mg/kg以上の投与群雄に見られた。

検査 時期	性 別		雄			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0. 5	2. 2	10. 0
全 動 物	臓器	所見\検査動物数	60	60	60	60
	肝臓	肝細胞腺腫	0	0	3 (5%)	1 (1. 7%)
		肝細胞癌	0	0	0	1 (1. 7%)

(注) 表中の () の数値は、発生頻度%である。

しかしながら、

- 1) 対照群に比してこれらの肝腫瘍の発生頻度に統計学的有意差がみられない
- 2) 本系統の雄ラットにおける肝腫瘍発生頻度2. 8% (12/434例)¹⁾、5%²⁾及び本試験機関の背景データ1. 5% (5/327例、53~111週、肝細胞腺腫) に比較して、これらの肝腫瘍の発生頻度が高いとはいえない

ことから、2. 2mg/kg以上の投与群雄の肝腫瘍の発生増加は、検体投与の影響ではなく、自然発生性の変化と考えられた。

(引用文献)

- 1) 腫瘍組織病理アトラス、西塚泰章、高山昭三、伊藤信行、林裕造編、文光堂、東京、1985
- 2) Rat Histopathology, Greaves, P. and Faccini, J.M. (eds). Elsevier, 1992

その他、検体投与各群に、下垂体では腺腫、甲状腺ではC-細胞腫、精巣では間細胞腫、乳腺では線維腺腫、皮膚では線維腫などが高頻度にみられたが、その発生頻度に用量増との関連がみられないこと、有意な早期化を示さないこと、正常ラットに自然発生的にみられる程度であることから、検体投与に起因するものではなく、自然発生腫瘍と考えられた。

以上の結果から、本剤のラットに対する104週間強制経口投与による慢性/発がん性併合試験における本剤投与の影響として、10. 0mg/kg投与群の雌で摂餌量の減少が認められた。10mg/kg投与群の雌雄に体重増加抑制、投与期間初期に食餌効率の低下、腺胃の粘膜の変色または肥厚並びに腺胃粘膜上皮の過形成が認められたので、本剤の無毒性量は雌雄とも2. 2mg/kg/dayであると判断される。また、催腫瘍性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 2 - 1 非腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
中 間 屠 殺 全 動 物	臓 器	所見\検査動物数	30	30	30	30	30	30	30	30
	舌下腺	単核細胞浸潤	7	5	1*	5	1	5	4	4
	膵 臓	膵島の線維化	5	2	0*	1	0	0	0	0
	腺 胃	粘膜上皮の過形成	2	0	0	11**	2	0	0	8*
	肺	血管壁の石灰化	20	24	17	21	8	16*	18**	13
	腸間膜 リンパ節	小肉芽腫	13	21*	14	18	24	27	23	27
死亡・ 切迫殺 0~52 週	臓 器	所見\検査動物数	0	1	1	1	1	0	0	0
検体投与に起因する変化は認められず。										
死亡・ 切迫殺 53~78 週	臓 器	所見\検査動物数	3	4	2	1	0	2	1	3
検体投与に起因する変化は認められず。										
死 亡 ・ 切 迫 殺 79週 ~ 104週	臓 器	所見\検査動物数	11	11	7	12	3	6	9	8
	心 臓	単核球性 白血病の転移	1	4	4*	1	0	2	2	3
	脾 臓	リンパ球の過形成	0	1	3*	0	0	0	0	0
	胸 骨 骨 髄	単核球性 白血病の転移	1	6*	1	3	0	1	0	1
	大腿骨 骨 髄	単核球性 白血病の転移	1	6*	1	3	0	1	0	1
	脳	単核球性 白血病の転移	0	4*	0	2	0	1	0	2
	甲状腺	C-細胞の過形成	6	1*	1	5	1	0	3	4
	腺 胃	粘膜上皮の過形成	2	2	2	6	1	0	0	3

Fisherの直接確率法： * : 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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 2 - 2 非腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
最 終 屠 殺	臓 器	所見\検査動物数	46	44	50	46	56	52	50	48
	肝 臓	単核細胞浸潤	35	38	41	25*	43	37	32	37
		肝細胞変異増殖巣	38	42	48*	40	45	40	38	32
		(好塩基性)	24	35**	36*	19	39	39	38	30
		(好酸性)	21	29*	35*	28	9	10	5	5
		(明細胞性)	24	19	16*	19	2	3	1	1
		(空胞化)	0	6*	7**	2	1	2	1	0
	舌下線	単核細胞浸潤	8	11	11	6	5	0*	0*	1
	膵 臓	単核細胞浸潤	7	15*	17*	7	13	11	10	12
		膵島細胞の過形成	4	3	2	6	8	19*	10	10
	腺 胃	粘膜上皮の過形成	2	2	1	16**	4	2	4	16**
	心 臓	心筋の線維化	44	44	50	46	53	42*	44	31**
	腎 臓	腎 症	43	42	49	42	16	16	18	5*
	膀 胱	単核細胞浸潤	8	4	4	2*	12	8	3*	4
	脾 臓	髓外造血の亢進	3	11*	10*	5	40	33	33	34
	胸 骨 骨 髄	造血系細胞の減少	0	1	0	0	7	0**	0**	9
		限局性の肉芽腫性炎	2	10*	6	3	9	16	11	14
	大腿骨 骨 髄	造血系細胞の減少	0	1	0	0	10	0**	0**	9
		限局性の肉芽腫性炎	2	11**	12**	5	11	11	15	15
	腸間膜 リンパ節	小肉芽腫	33	38	46**	36	41	38	37	33
甲状腺	濾胞拡張	11	2**	4*	17	7	5	8	7	
副 腎	出血性嚢胞	8	4	7	6	17	10	6*	15	
精 巢	単核細胞浸潤	4	1	0*	0	—	—	—	—	
卵 巢	嚢 胞	—	—	—	—	29	39**	35*	30	
膣	間質細胞の過形成	—	—	—	—	6	0*	0*	3	
眼 球	白内障	9	2*	1**	2*	8	5	10	6	

Fisherの直接確率法 : * : P<0.05 ** : P<0.01 — : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 2 - 3 非腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
中 間 屠 殺 を 除 く 全 動 物	臓 器	所見\検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	肝臓	肝細胞の脂肪化	5	4	0 *	0 *	0	0	0	1
		単核細胞浸潤	37	39	41	26 *	44	37	35	38
		肝細胞変異増殖巣	40	43	49 *	43	46	43	41	33 *
		(好塩基性)	26	35	37 *	20	40	42	41	31
		(好酸性)	21	30	35 **	29	9	10	6	5
		(空胞化)	0	6 *	7 **	3	1	2	1	0
		肝細胞の結節性過形成	0	1	2	1	0	5 *	2	3
	膵 臓	膵島細胞の過形成	5	8	4	10	9	20 *	10	11
	前 胃	粘膜下織の浮腫	9	8	2 *	4	0	3	1	4
	腺 胃	粘膜上皮の過形成	5	4	3	23 **	5	2	4	20 **
	心 臓	心筋の線維化	58	57	58	56	56	45 **	49 *	38 **
	腎 臓	腎 症	48	49	51	44	16	16	18	5 **
		囊 胞	0	5 *	2	1	0	0	1	0
	膀 胱	単核細胞浸潤	9	4	5	3	12	9	3 *	4 *
	胸 骨 骨 髄	造血系細胞の減少	2	1	0	0	7	2	0 **	9
		限局性の肉芽腫性炎	3	10 *	6	3	9	16	12	14
	大腿骨 骨 髄	造血系細胞の減少	1	1	0	0	10	2 *	0 **	10
		限局性の肉芽腫性炎	3	11 *	12 *	5	11	11	16	15
	腸間膜 リンパ節	小肉芽腫	37	43	51 **	41	43	41	43	35
	脳	脳室の拡張	15	13	7 *	7 *	16	13	13	14
	甲状腺	濾胞の拡張	16	7 *	6 *	23	7	6	12	11
	副 腎	出血性囊胞	8	4	7	8	18	13	8 *	16
卵 巢	囊 胞	—	—	—	—	31	45 **	41 *	36	
膈	間質細胞の過形成	—	—	—	—	6	0 *	1	3	
皮 膚	囊胞性毛包	5	6	0 *	3	2	1	1	0	
眼 球	白内障	16	11	6 *	7 *	8	7	13	9	

Fisherの直接確率法： * : P<0.05 ** : P<0.01 — : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3 - 1 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
52 週	臓器	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	卵 巢	顆粒膜細胞腫 B	—	—	—	—	0	1	0	0
	腹 腔	神経鞘腫 B	—	—	—	1(1)	—	—	—	—
78 週	臓器	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	肝 臓	肝細胞腺腫 B	0	1	0	0	0	0	0	0
	膵 臓	膵島細胞腺腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		膵島細胞腺癌 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎 臓	脂肪腫 B	0	0	0	1	0	0	0	0
	脾 臓	単核球性白血病 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	下垂体	腺 腫 B	1	1	0	0	0	1	2	1
	甲状腺	C-細胞腺腫 B	1	2	0	1	0	0	0	0
		C-細胞腺癌 M	0	1	1	0	0	0	0	0
	副 腎	皮質腺腫 B	0	0	0	1	0	0	0	0
		褐色細胞腫 B	0	0	1	0	0	0	0	0
	精 巢	間細胞腫 B	6	5	9	9	—	—	—	—
	子 宮	平滑筋腫 B	—	—	—	—	0	1	0	0
	膣	神経鞘腫 B	—	—	—	—	0	0	0	1
	乳 腺	線維腺腫 B	—	—	—	—	0	1	2	0
	皮 膚	角化棘細胞腫 B	0	1	0	2	0	0	0	0
腹 腔	脂肪腫 B	0(1)	1(1)	—	—	—	—	—	—	
包皮腺	腺 腫 B	—	—	1(1)1	1(1)	—	—	—	—	

Fisherの直接確率法： * : P<0.05 ** : P<0.01

B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍 — : 検査せず () 内 : 検査例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3 - 2 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
死亡 切迫 殺 0~ 52週	臓器	所見\検査動物数	0	1	1	1	1	0	0	0
	脾臓	単核球性白血病 M	-	0	1	0	0	-	-	-
	子宮	血管内皮腫 B	-	-	-	-	1	-	-	-
	皮膚	基底細胞癌 M	-	0	0	1	0	-	-	-
死 亡 ・ 切 迫 殺 53 ~ 78 週	臓器	所見\検査動物数	3	4	2	1	0	2	1	3
	脾臓	単核球性白血病 M	1	0	1	0	-	1	0	1
	下垂体	腺腫 B	1	0	0	0	-	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫 B	0	0	0	0	-	1	0	0
		悪性褐色細胞腫 M	0	0	0	0	-	1	0	0
	精巣	間細胞腫 B	0	0	1	0	-	-	-	-
	乳腺	腺癌 M	-	-	-	-	-	0	1	0
		線維腫 B	0	0	1	0	-	0	0	0
	皮膚	悪性線維性組織球腫 M (malignant fibrous histiocyto ^m)	1	0	0	0	-	0	0	0
眼球		血管内皮肉腫 M	0	1	0	0	-	0	0	0
腹腔	血管内皮肉腫 M	-	-	-	1(1)	-	-	-	-	

Fisherの直接確率法: * : P<0.05 ** : P<0.01

B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍 - : 検査せず () 内 : 検査例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3-3 腫瘍性病変

検査時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
死亡・ 切迫殺 79 ~ 104 週	臓器	所見\検査動物数	11	11	7	12	3	6	9	9
	肝臓	肝細胞腺腫 B	0	0	1	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	膵島細胞腺腫 B	3	1	1	2	0	1	0	1
		膵島細胞腺癌 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	回腸	カチノイド腫瘍 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	細気管支/ 肺胞上皮腺癌 M	0	1	0	0	0	0	0	0
		膀胱	扁平上皮癌 M	0	0	0	0	0	0	1
	脾臓	単核球性白血病 M	3	7	3	5	1	3	2	4
	脳	星状膠細胞腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		乏突起膠細胞腫 B	0	0	0	0	0	0	0	1
		混合膠細胞腫 B	0	0	0	0	0	0	0	0
		顆粒細胞腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		骨原性肉腫 M	0	0	0	1	0	0	0	0
	下垂体	腺腫 B	1	1	0	0	1	1	2	1
		悪性腺腫 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	C-細胞腺腫 B	0	1	1	0	0	0	0	0
		濾胞腺癌 M	0	0	0	1	0	0	1	0
		C-細胞腺癌 M	0	0	0	1	0	1	0	0
	上皮小体	腺腫 B	0	0	0	0	0	0	1	0
	副腎	褐色細胞腫 B	0	0	1	1	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 M	0	1	0	0	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 B	8	9	7	12	—	—	—	—
		中皮腫(全身性) B	2	0	1	2	—	—	—	—
	子宮	神経鞘腫 B	—	—	—	—	0	0	1	0
		血管内皮腫 B	—	—	—	—	0	1	0	0
		内膜間質性肉腫 M	—	—	—	—	0	0	0	1
平滑筋肉腫 M		—	—	—	—	0	0	1	0	
乳腺	線維腺腫 B	0(1)	—	—	—	0	0	2	1	
皮膚	角化棘細胞腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0	
	線維腫 B	3	0	0	1	0	0	0	0	
	扁平上皮癌 M	0	0	1	1	0	0	0	0	
	横紋筋肉腫 M	0	0	0	0	1	1	0	0	
	血管内皮肉腫 M	0	0	0	1	0	0	0	0	
包皮腺	腺腫 B	—	0(1)	—	1(1)	—	—	—	—	

Fisherの直接確率法： * : P<0.05 ** : P<0.01

B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍 — : 検査せず () 内 : 検査例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3-4 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
最終 屠殺	臓 器	所見\検査動物数	46	44	50	46	56	52	50	48
	肝 臓	肝細胞腺腫 B	0	0	2	1	0	0	0	0
		肝細胞癌 M	0	0	0	1	0	0	0	0
	舌下腺	腺 癌 M	0	0	0	0	0	1	0	0
	膵 臓	膵島細胞腺腫 B	4	1	2	3	0	1	1	0
		膵島細胞腺癌 M	0	1	1	0	3	0	0	0
	十二指腸	平滑筋肉腫 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	回 腸	平滑筋肉腫 M	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	細気管支/ 肺胞上皮腺腫 B	2	0	0	1	2	1	1	1
		細気管支/ 肺胞上皮腺癌 M	0	2	0	2	0	0	0	0
		扁平上皮癌 M	0	1	0	0	0	0	0	0
	腎 臓	脂肪肉腫 M	0	0	1	0	0	0	0	0
	膀 胱	乳頭腫 B	0	0	0	0	0	0	0	1
		平滑筋腫 B	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平上皮癌 M	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾 臓	線維腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		単核球性白血病 M	11	11	13	15	3	4	10 *	5
	胸 腺	胸腺腫 B	0	0	0	0	0	1	0	0
	腸間膜 リンパ節	悪性リンパ腫 M	0	0	0	1	0	1	0	0
	脳	乏突起膠細胞腫 B	0	0	0	0	1	0	0	0
		混合性細胞腫 B	0	0	0	0	0	0	0	1
		顆粒細胞腫 B	0	0	0	1	1	0	0	0
	下垂体	腺 腫 B	7	10	5	9	14	13	11	7
		悪性腺腫 M	1	0	0	0	0	0	1	0
	甲状腺	濾胞腺腫 B	0	0	0	1	0	0	0	0
		C-細胞腺腫 B	6	8	7	2	1	1	3	5
		濾胞腺癌 M	0	1	0	0	0	0	1	0
		C-細胞腺癌 M	4	4	6	6	5	0*	6	4
上皮小体	腺 腫 B	3	2	0	0	0	0	0	0	
副 腎	皮質細胞腺腫 B	0	1	0	2	0	0	0	0	
	褐色細胞腫 B	4	10	10	7	2	3	2	0	
	悪性褐色細胞腫 M	1	1	2	1	2	1	0	0	
	悪性神経節細胞腫 M	0	0	0	0	2	0	0	0	
精 巢	間細胞腫 B	45	43	48	46	-	-	-	-	
精 巢 上 体	悪性線維性組織球腫 M (malignant fibrous histiocytoma)	0	0	1	0	-	-	-	-	

Fisherの直接確率法 : * : P<0.05 ** : P<0.01B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍 - : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3 - 5 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
最 終 屠 殺	臓 器	所見\検査動物数	46	44	50	46	56	52	50	48
	前立腺	腺 腫 B	0	1	0	0	—	—	—	—
	卵 巢	莖膜細胞腫 B	—	—	—	—	0	0	1	0
		顆粒膜— 莖膜細胞腫 B	—	—	—	—	0	0	0	1
		黄体腫 B	—	—	—	—	0	0	1	0
	子 宮	内膜腺腫 B	—	—	—	—	1	1	0	1
		神経鞘腫 B	—	—	—	—	0	0	1	0
		腺 癌 M	—	—	—	—	0	1	0	1
		平滑筋肉腫 M	—	—	—	—	0	0	0	1
		血管内皮肉腫 M	—	—	—	—	1	1	0	0
	膣	線維腫 B	—	—	—	—	1	0	0	0
	乳 腺			(1)	(1)		(4)			
		線維腺腫 B	0	0	—	1	7	2	1 *	3
		線維腫 B	0	0	—	0	0	1	0	2
		腺 癌 M	0	1	—	2	0	1	0	0
	皮 膚	角化棘細胞腫 B	2	2	1	1	1	0	1	0
		基底細胞上皮腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		線維腫 B	2	2	6	6	0	1	0	0
		皮脂腺基底細胞腺腫 B	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 M	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維肉腫 M	0	0	1	0	0	0	0	0
		骨原性肉腫 M	0	1	0	0	0	0	0	0
	口 腔	血管内皮肉腫 M	—	—	—	—	1(1)	—	—	—
腹 腔			(7)	(2)	(3)	(4)				
	脂肪腫 B	2	0	1	0	—	—	—	—	
	線維腫 B	0	0	0	1	—	—	—	—	
	悪性線維性 組織球腫 M	1	0	0	0	—	—	—	—	
包皮腺	腺 腫 B	1(1)	—	—	—	—	—	—	—	
肢	骨肉腫 M	1(1)	—	—	—	—	—	—	—	
陰核腺	腺 腫 B	—	—	—	—	0(2)	0(2)	1(5)	—	

Fisherの直接確率法 : * : P<0.05 ** : P<0.01

B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍 — : 検査せず () 内 : 検査例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3 - 6 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
全 動 物	臓 器	所見\検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	肝 臓	肝細胞腺腫 B	0	0	3	1	0	0	0	0
		肝細胞癌 M	0	0	0	1	0	0	0	0
		組織球性肉腫 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	舌下腺	腺 癌 M	0	0	0	0	0	1	0	0
	膵 臓	膵島細胞腺腫 B	7	2	3	5	0	2	1	1
		膵島細胞腺癌 M	1	1	1	0	3	0	0	0
	十二指腸	平滑筋肉腫 M	1	0	0	0	0	0	0	0
	回 腸	カチノイド腫瘍 M	1	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫 M	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	細気管支/ 肺胞上皮腺腫 B	2	0	0	1	2	1	1	1
		細気管支/ 肺胞上皮腺癌 M	0	3	0	2	0	0	0	0
		扁平上皮癌 M	0	1	0	0	0	0	0	0
	腎 臓	脂肪肉腫 M	0	0	1	0	0	0	0	0
	膀 胱	乳頭腫 B	0	0	0	0	0	0	0	1
		平滑筋腫 B	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平上皮癌 M	0	0	0	0	0	1	1	0
	脾 臓	線維腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		単核球性白血病 M	15	18	18	20	4	8	12 *	10
	胸 腺	胸腺腫 B	0	0	0	0	0	1	0	0
	腸間膜 リンパ 節	悪性リンパ腫 M	0	0	0	1	0	1	0	0
	脳	星状膠細胞腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		乏突起膠細胞腫 B	0	0	0	0	1	0	0	1
混合膠細胞腫 B		0	0	0	0	0	0	0	1	
顆粒細胞腫 B		1	0	0	1	1	0	0	0	
骨原性肉腫 M		0	0	0	1	0	0	0	0	
下垂体	腺 腫 B	9	11	5	9	15	14	13	8	
	悪性腺腫 M	2	0	0	0	0	0	1	0	

Fisherの直接確率法: * : P<0.05 ** : P<0.01

B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍 - : 検査せず () 内 : 検査例数

表 3-7 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
全動物	臓器	所見\検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	甲状腺	濾胞腺腫 B	0	0	0	1	0	0	0	0
		C-細胞腺腫 B	6	9	8	2	1	1	3	5
		濾胞腺癌 M	0	1	0	1	0	0	2	0
		C-細胞腺癌 M	4	4	6	7	5	1	6	4
	上皮小体	腺腫 B	3	2	0	0	0	0	1	0
		副腎	皮質細胞腺腫 B	0	1	0	2	0	0	0
	褐色細胞腫 B		4	10	11*	8	2	4	2	0
	悪性褐色細胞腫 M		1	2	2	1	2	2	0	0
	悪性神経節細胞腫 M		0	0	0	0	2	0	0	0
	精巣	間細胞腫 B	53	52	56	58	—	—	—	—
		中皮腫(全身性) B	2	0	1	2	—	—	—	—
	精巣 上体	悪性線維性 組織球腫 M	0	0	1	0	—	—	—	—
	前立腺	腺腫 B	0	1	0	0	—	—	—	—
	卵巣	莢膜細胞腫 B	—	—	—	—	0	0	1	0
		顆粒膜— 莢膜細胞腫 B	—	—	—	—	0	0	0	1
		黄体腫 B	—	—	—	—	0	0	1	0
	子宮	内膜腺腫 B	—	—	—	—	1	1	0	1
		神経鞘腫 B	—	—	—	—	1	0	2	0
		血管内皮腫 B	—	—	—	—	1	1	0	0
腺癌 M		—	—	—	—	0	1	0	1	
内膜間質性肉腫 M		—	—	—	—	0	0	0	1	
平滑筋肉腫 M		—	—	—	—	—	0	1	1	
血管内皮肉腫 M	—	—	—	—	1	1	0	0		
	腺	線維腫 B	—	—	—	—	1	0	0	
乳腺			(2)	(1)		(4)				
	線維腺腫 B	0	0	—	1	7	2	3	4	
	線維腫 B	0	0	—	0	0	1	0	2	
	腺癌 M	0	1	—	2	0	1	1	0	

Fisherの直接確率法: * : P<0.05 ** : P<0.01

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 —: 検査せず () 内: 検査例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3 - 8 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (mg/kg)		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
全 動 物	臓 器	所見\検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	皮 膚	角化棘細胞腫 B	3	2	1	1	1	0	1	0
		基底細胞上皮腫 B	1	0	0	0	0	0	0	0
		線維腫 B	5	2	7	7	0	1	0	0
		皮脂腺基底 細胞腺腫 B	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性線維性 組織球腫 M (malignant fibrous histiocyctoma)	1	0	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 M	0	0	1	2	0	0	0	0
		基底細胞癌 M	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維肉腫 M	0	0	1	0	0	0	0	0
		横紋筋肉腫 M	0	0	0	0	1	1	0	0
		血管内皮肉腫 M	0	0	0	1	0	0	0	0
	骨原性肉腫 M	0	1	0	0	0	0	0	0	
	眼 球	血管内皮肉腫 M	0	1	0	0	0	0	0	0
	口 腔	血管内皮肉腫 M	—	—	—	—	1(1)	—	—	—
	腹 腔		(8)	(2)	(3)	(6)				
脂肪腫 B		2	0	1	0	—	—	—	—	
線維腫 B		0	0	0	1	—	—	—	—	
悪性線維性組織球腫 M (malignant fibrous histiocyctoma)		1	0	0	0	—	—	—	—	
	血管内皮肉腫 M	0	0	0	1	—	—	—	—	
包皮腺	腺 腫 B	1(1)	0(1)	—	1(1)	—	—	—	—	
陰核腺	腺 腫 B	—	—	—	—	0(2)	0(3)	1(6)	0(1)	
肢	骨肉腫 M	1(1)	—	—	—	—	—	—	—	

Fisherの直接確率法： * : P<0.05 ** : P<0.01

B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍 — : 検査せず () 内 : 検査例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 3 - 9 腫瘍発現数

検査 時期	性 別 投 与 量 (mg/kg)	雄				雌			
		0	0.5	2.2	10.0	0	0.5	2.2	10.0
中間解剖 全動物	所見\検査動物数	30	30	30	30	30	30	30	30
	腫瘍数 M	9	11	11	16	0	4	4	2
	B	2	1	1	0	0	0	0	0
	腫瘍総数	11	12	12	16	0	4	4	2
	担腫瘍動物数 M	7	8	9	11	0	3	4	2
	B	2	1	1	0	0	0	0	0
担腫瘍動物総数		8	8	10	11	0	3	4	2
死亡・ 切迫・ 最終 解剖例	所見\検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	腫瘍数 M	101	92	97	101	35	29	30	26
	B	29	33	32	41	20	18	24	18
	腫瘍総数	130	125	129	142	55	47	54	44
	担腫瘍動物数 M	57	54	58	58	27	24	26	22
B	26	29	26	33	16	15	22	18	
担腫瘍動物総数		60	55	60	60	36	33	39	33

Fisherの直接確率法 : * : P<0.05 ** : P<0.01

B : 良性腫瘍 M : 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

3) ラットを用いた強制経口投与による慢性毒性／発がん性併合試験の
腺胃部粘膜上皮過形成の発生機序に関する検討試験

(資料 No. 13-1)

試験機関：

報告書作成年：1999年

試験目的：残留農薬安全性評価委員会の要求事項として、先に実施したラットを用いた強制経口投与による慢性毒性／発がん性併合試験（資料 No. 13、（株）実医研、1995年）で見られた腺胃部粘膜上皮過形成の発生機序を明らかにするために、腺胃部粘膜上皮を被覆上皮細胞（粘液細胞）、壁細胞、主細胞及び内分泌細胞に分け、それぞれの細胞について一定面積当りの動態を検討した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 論：本剤については変異原性試験として、Ames test、Rec-assay、マウスを用いた小核試験、ラットを用いた *in vivo-in vitro* 肝・不定期DNA試験を実施したが、試験結果は陰性であった（ただし、チャインズハムスター肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、代謝活性化法のみ陽性）。また、発がん性も陰性であることから、腺胃部の粘膜上皮過形成の発生機序は、カーバムあるいはその代謝物による粘膜への刺激性に対する防御反応が挙げられる。

すなわち、カーバムを投与されたラット腺胃部粘膜は、直接的な粘膜刺激、あるいは血流を介しての刺激作用を感知し、

①解毒のために主細胞が壁細胞と協力して蛋白分解作用の亢進を示し、

②粘液細胞は、同細胞への刺激防御と壁細胞により増加した塩酸の防御を行うために、部分的に内分泌細胞と関連して、細胞を増加させ、多量の粘液を分泌した、と考えられる。

従って、これらの腺胃上皮過形成は、①及び②の、粘膜の防御機能の一環として生じたものと推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

3) マウスを用いた強制経口投与による慢性毒性/発がん性併合試験

(資料 No. 14)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体純度：

試験動物：B6C3F1系マウス、1.群雌雄各70匹、投与開始時6週齢

投与開始時体重：雄 22.4~22.9g 雌 18.1~18.3g

投与開始後6ヶ月及び12ヶ月時に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

投与期間：18ヶ月間投与（雄；1991年11月6日~1993年5月11日）

（雌；1991年11月19日~1993年5月24日）

投与方法：検体を注射用蒸留水に溶解し、純度換算した上で0、0.5、5.0及び25mg/kgの投与量が得られるように投与溶液を用時調製し、18ヶ月間にわたって10mL/kgの割合で週6日間、毎日1回胃チューブを用いて強制経口投与した。

投与量設定根拠：

投与経路選択理由；本試験は本来混餌経口投与するものであるが、検体の化学的性質上、強制経口投与とした。

観察・試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；試験全期間にわたって毎日2回一般状態及び生死を観察した。

投与6ヶ月以降は毎週1回体表面腫瘍及び結節の有無について触診した。

対照群を含む各投与群において脱毛、痂皮等が観察されたが、これらの症状は対照群と同様の発生頻度であり、いずれの変化も用量増との関連のある変動は認められなかった。

投与6ヶ月以降に実施した触診では、雄において対照群を含む各投与群で包皮腺の炎症に起因する下腹部結節が多く認められた。体表腫瘍及び結節発現数の検体投与と関連した変化は認められなかった。

各群の死亡例数を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

検体投与に伴う死亡数の変化はいずれの投与群にも認められなかった。

性別及び投与量 (mg/kg)	雄				雌			
	0	0.5	5.0	25	0	0.5	5.0	25
供試動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
中間屠殺動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
最終屠殺動物数	47	47	49	47	49	47	46	47
死亡動物数	2	3	1	2	0	1	3	1
切迫屠殺動物数	1	0	0	1	1	2	1	2

体重変化；投与開始時に測定、その後13週間は毎週1回、以降は4週に1回すべての生存動物の体重を測定した。また、解剖日にも測定した。

対照群と比べ統計学的に有意差のみられた投与期間（週）を下表に示す。

週	性別及び投与量 (mg/kg/日)					
	雄			雌		
	0.5	5.0	25	0.5	5.0	25
0			98 ↓			
3					98 ↓	
4			98 ↓		98 ↓	
5						97 ↓
7				98 ↓		
8				98 ↓	98 ↓	98 ↓
9					98 ↓	96 ↓
10						98 ↓
11				98 ↓		98 ↓
12		98 ↓			98 ↓	98 ↓
13						98 ↓
17		97 ↓	97 ↓	98 ↓	97 ↓	97 ↓
21	97 ↓	97 ↓				
25		97 ↓				
49		97 ↓				
73			96 ↓			

多重検定：↑ ↓ : p<0.05 ⇕ ⇓ : p<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

雄の検体投与群にみられた統計学的に有意な体重減少は、いずれも軽度で、用量増との関連がみられず、一ヶ月以上にわたる持続的な変動はなかったことから、検体投与に関連しない変動であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

雌では、25mg/kg投与群で投与第8週から第17週の間に有意な体重減少がみられたが、その後は回復し18ヶ月まで対照群に比して有意差が認められなかったことから、検体投与に関連しない変動であると考えられた。

5mg/kg以下の投与群では、一ヶ月以上にわたる持続的なあるいは用量増との関連のある変動は認められなかった。

したがって、検体投与に関連した体重の変動は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始後13週間は毎週1回、その後は4週間に1回測定した。また、食餌効率も13週まで算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以下に、摂餌量に関して統計学的有意差のみられた週を示す。

性 別		雄			雌		
投与量 (mg/kg)		0.5	5	25	0.5	5	25
検 査 週	0週	↑105			↑103	↑103	↑103
	1週	↑105	↑102				
	2週	↑105					
	3週		↑105		↑105	↑105	
	4週					↑105	
	5週					↑104	
	6週					↑102	
	7週				↑104	↑107	
	8週				↑104	↑107	
	9週				↑102	↑104	
	10週				↑104	↑104	
	11週		↑104		↑104	↑104	
	12週	↑104	↑104		↑104	↑106	
	13週		↑102			↑104	
	17週	↑104	↑104		↑104	↑107	
	21週	↑102			↑104	↑104	
	25週	↑104					
	29週	↑104				↑102	
	33週			↓98			↓98
	37週			↓96	↑106	↑108	↑104
41週	↑106	↑104	↑102				
45週	↑102						
49週		↑104					
53週	↑105	↑105					
57週	↓96					↓96	
61週			↓94				
65週							
69週	↑96	↓96	↓94				
73週					↓96	↓94	
77週						↓94	

多重検定：↑ ↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01

数値は対照群を100とした場合の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

さらに、食餌効率に関して統計学的有意差のみられた週を示す。

性 別		雄			雌		
投与量(mg/kg)		0.5	5	25	0.5	5	25
検 査 週	1-2週						↓ 71
	2-3週			↓ 67			
	3-4週						
	4-5週	↑ 170	↑ 210	↑ 210			↓ 30
	5-6週						↑ 144
	6-7週	↓ 13			↓ 19		
	7-8週		↓ 36				
	8-9週						↓ -18**
	9-10週				↑ 243		↑ 257
	10-11週		↓ ∞*		↓ -9***		
	11-12週				↑ 600****		
	12-13週						

多重検定：↑ ↓ : p<0.05 ↑ ↓ : p<0.01

数値は対照群を100とした場合の値

* - 対照の値1.5 対 5mg/kg群の値0.0

** - 対照の値1.1 対 25mg/kg群の値-0.2

*** - 対照の値1.1 対 5mg/kg群の値-0.1

**** - 対照の値-0.3 対 5mg/kg群の値0.9

25mg/kg投与群において、一ヶ月以上にわたる摂餌量の低下が33~37週の雄及び73~77週の雌にみられたが、それ以外の減少は散発的であった。

5mg/kg以下の投与群の雌雄では、一ヶ月以上にわたる摂餌量の低下は認められなかった。

検体投与群の雌雄にみられた食餌効率の有意な増加あるいは減少は散発的であり、持続性、かつ用量増と関連は認められなかった。

したがって、検体投与に関連した摂餌量又は食餌効率の変動は認められなかった。

血液学的検査；投与6, 12ヶ月及び最終屠殺時（18ヶ月）に、1群雌雄各10例について心臓から採血（52週時及び最終屠殺時は後大静脈から採血）し、以下の項目について検査を行った。

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

対照群と比べて、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

時期	性別及び投与量 (mg/kg)	雄			雌		
		0.5	5.0	25	0.5	5.0	25
6ヶ月	MCH				↓98		
	MCHC				↓98		
18ヶ月	ヘマトクリット値						↓95
	ヘモグロビン濃度						↓95

多重検定：↑↓：p<0.05 ⇕⇓：p<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

雄では、すべての検査項目、検査時期でいずれの検体投与群にも統計学的に有意差は認められなかった。

雌では、25mg/kg投与群で18ヶ月時にみられたヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の低下並びに0.5mg/kg投与群で6ヶ月時にみられたMCH及びMCHCの低下は軽度であり、関連する形態学的変化が観察されないことから、検体投与と関連しない変化であると考えられた。

血液生化学検査；血液学的検査時に同じ動物から採取した血清を用いて以下の項目について検査を行った。

グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、グルコース (GLU)、総蛋白 (TP)、アルブミン (ALB)、尿素窒素 (BUN)、中性脂肪 (TG)、総コレステロール (T-CHO)、総ビリルビン (T-BIL)

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

時期	性別及び投与量 (mg/kg)	雄			雌		
		0.5	5.0	25	0.5	5.0	25
6ヶ月	ALP						↓86
18ヶ月	GOT						↓81
	ALP				↓68		↓62
	BUN	↓83					
	TG						↓80

多重検定：↑↓：p<0.05 ⇕⇓：p<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

25mg/kg投与群雌で、6ヶ月時にALPの有意な低下、さらに18ヶ月時にはGOT、ALP及びTGの有意な低下がみられ、この内GOT及びTGの減少は、関連する形態学的変化が認められていないこと、また、ALPの減少の原因は不明であるが、各検査時期（6、12及び18ヶ月）に一貫した変化でないことから、検体投与に関連した変動の可能性は低いと考えられた。

0.5mg/kg投与群では18ヶ月時に雄でBUN、雌でALPの有意な低下がみられたが、用量増との関連はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

尿 検 査；血液学的検査と同時期に腰背部圧迫法で採取した新鮮尿を用いて、以下の項目の検査を行った。

色調、pH、蛋白、ケトン体、ビリルビン、潜血、グルコース、
ウロビリノーゲン

25mg/kg投与群の雄で12ヶ月時にみられた蛋白の減少を示す個体の増加は

- 1) 6及び18ヶ月では同じ所見が観察されなかった
 - 2) 25mg/kg投与群の雌のすべての検査時期で同じ所見が観察されなかった
 - 3) 12ヶ月時の腎臓に蛋白の変化を示唆する形態学的変化が観察されなかったことから、検体投与に関連しない偶発的な変化であると考えられた。
- 5.0mg/kg以下の投与群では、いずれの検査時期にも有意差がみられなかった。

眼科的検査；投与開始前に全例について、投与第26週及び52週時には中間屠殺動物について、最終屠殺時には生存例全例について肉眼的に眼の外観を観察した。

いずれの検査時期において、検体投与による異常は認められなかった。

臓器重量；中間屠殺動物及び最終屠殺動物のうち血液・血液化学検査に供した動物についてエーテル麻酔下で放血後、以下の臓器重量を測定するとともに、剖検時体重から相対重量を算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、前立腺、卵巣、子宮

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

時期	性別及び投与量 (mg/kg)		雄			雌		
			0.5	5.0	25	0.5	5.0	25
6ヶ月	脳	相対重量	↑108					
	子宮	重量						↓75
		相対重量						↓76
12ヶ月	前立腺	重量	↑150					
18ヶ月	腎臓	重量			↓90			
		相対重量			↓90			
	副腎	重量	↑142					
	脾臓	重量			↑177			
		相対重量			↑176			
	精巣	重量		↑118				
前立腺	重量	↑175						
	相対重量	↑176						

多重検定：↑↓：p<0.05 ↑↓：p<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

25mg/kg投与群において、6ヶ月時の子宮重量の減少並びに18ヶ月時の雄の腎臓重量の減少及び脾臓重量の増加は、関連する形態学的所見が認められなかったことから、検体投与に関連しない偶発的な変化であると考えられた。

肉眼病理検査；途中死亡動物、切迫屠殺動物、中間屠殺動物及び投与終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群に比べて統計学的に有意差のみられた所見を下表に示す。

性別及び投与量 (mg/kg)		雄															
		0				0.5				5.0				25			
臓器・所見/検査時期		6	12	18	KD	6	12	18	KD	6	12	18	KD	6	12	18	KD
検査動物数		10	10	47	3	10	10	47	3	10	10	49	1	10	10	47	3
胃	前胃白色化	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	3	14**	0
リンパ節	腫大	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	1

性別及び投与量 (mg/kg)		雌															
		0				0.5				5.0				25			
臓器・所見/検査時期		6	12	18	KD	6	12	18	KD	6	12	18	KD	6	12	18	KD
検査動物数		10	10	49	1	10	10	47	3	10	10	46	4	10	10	47	3
胃	前胃白色化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	7**	17**	0
	境界縁 (limiting ridge) の腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4*	0	0
リンパ節	腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4*	1*	0	0	7**	1**

KD：途中死亡/切迫屠殺動物

*：対照群に対して統計学的有意差あり (p<0.05)、**：(p<0.01)

Fisherの検定及び傾向検定

25mg/kg投与群において、前胃の白色化が6、12及び18ヶ月時の雄並びに12及び18ヶ月の雌（雄の18ヶ月時並びに雌の12及び18ヶ月時で有意差あり）にみられ、この剖検所見に対応する組織学的所見として前胃粘膜の増生も認められたことから、検体投与に関連した変化と考えられた。

一方、5mg/kg以下の投与群雌雄でみられた前胃の白色化は、対応する組織学的所見が認められなかったことから、検体投与に関連しない変化と考えられた。

5mg/kg以上の投与群の雌でリンパ節腫大の有意な増加が認められた。

この肉眼所見が検体投与によるものかどうかについて、組織学的所見のリンパ球過形成との関連性を含めて、病理組織学的検査の項目で考察する。

病理組織学的検査；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組織標本を作製し、鏡検した。

大脳、小脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、肺、咽頭、気管、心臓、胸腺、肝臓、胆嚢、腎臓、膵臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、膀胱、包皮腺、陰核腺、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、脊髄(頸部、腰部)、坐骨神経、大腿筋、腸間膜リンパ節、下顎腺、大動脈、眼球、ハーダー氏腺、皮膚、乳腺(雌のみ)、鼻腔、口腔、耳道、肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

観察された主な非腫瘍性病変を表1-1~2に示した。

検体投与に関連した変化として、以下の表に示すとおり25mg/kg投与群雌雄の中間屠殺を除く全動物において前胃粘膜の限局性増生及び乳頭状過形成の増加が認められた(雌の限局性増生及び雌雄の乳頭状過形成は有意差あり)。

性 別		雄				雌			
		0	0.5	5.0	25	0	0.5	5.0	25
投与量 (mg/kg)		0	0.5	5.0	25	0	0.5	5.0	25
中間屠殺を除く全動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
前胃	扁平上皮限局性増生	0	0	0	1	0	0	0	4 b
	扁平上皮乳頭状過形成	1	0	0	4 a	0	0	1	5 ac

a: 対照群に対して傾向検定で統計学的有意差あり (p<0.01)

b: 対照群に対して傾向検定で統計学的有意差あり (p<0.05)

c: 対照群に対してFisherの検定で統計学的有意差あり (p<0.05)

限局性増生とは、前胃粘膜上皮が正常の形態のまま腔内に限局して増生しており、乳頭状過形成は限局性増生より粘膜の増生程度が強い変化である。

乳頭状過形成は、前胃粘膜上皮が正常像よりも肥大し核も明瞭であり、角化亢進も伴って腔内に乳頭状に増生する過形成病変であるが、粘膜上皮の著しい異型性及び粘膜筋板への浸潤性増殖が見られなかったことから、非腫瘍性病変と判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

前胃粘膜の限局性増生あるいは乳頭状過形成がみられた25mg/kg投与群の一部の動物の前胃について、EPOS (Enhanced Polymer one-step Staining) 免疫染色を行ったところ、対照群と比べてEPOS陽性細胞の増加は認められなかったことから、前胃粘膜で細胞増殖が活発化している可能性は、考えられなかった。

それ以外の検体投与群で見られた所見の一部は、傾向検定で有意差を示したが、いずれも対照群の発生がみられなかったことによる偶発的な変化であると考えられた。

雌において肉眼的リンパ節腫大がみられた5mg/kg投与群の5例及び25mg/kg投与群の8例の病理組織学的所見は、以下のとおり；

5.0 mg/kg			25 mg/kg		
動物番号	検査時期	所見	動物番号	検査時期	所見
F431	T K	マクロファージの増生	F492	T K	リンパ球の増生/過形成 褐色色素沈着
F433	T K	悪性リンパ腫	F499	T K	リンパ球の増生/過形成
F462	K/D	リンパ球とプラスマ細胞の増生/過形成	F500	T K	リンパ球の増生/過形成
F467	T K	悪性リンパ腫	F513	K/D	悪性リンパ腫
F468	T K	リンパ球の増生/過形成	F524	T K	悪性リンパ腫
			F533	T K	異常なし
			F538	T K	悪性リンパ腫
			F539	T K	リンパ球の増生/過形成

(注) T K : 最終屠殺 K/D : 途中死亡/切迫屠殺

上記の表から、リンパ球のみの増殖性変化の発生頻度を要約した表を以下に示す。

投与量 (mg/kg)	5.0	25
リンパ球の増生/過形成	1/5	4/8
悪性リンパ腫	2/5	3/8
その他	2/5	1/8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

肉眼的リンパ節腫大がみられた動物の内、組織学的なリンパ球の増生／過形成がみられた動物数は5及び25mg/kg投与群でそれぞれ5例中1例及び8例中4例であった。

一方、リンパ節の組織学的検査によるリンパ球の増生／過形成の発生頻度を以下の表に示す。

投与量 (mg/kg)	0	0.5	5.0	25
検査動物数	50	50	50	50
発生動物数	3	0	6	4

組織学的なリンパ球の増生／過形成の発生頻度を肉眼的なリンパ節腫大の発生頻度と比較すると、25mg/kg群で同一、5mg/kg群で5例増加、0.5mg/kg群で同等、対照群で3例増加になった。さらに、リンパ球の増生／過形成の発生頻度に対照群と検体投与群との間に有意差がみられない(Fisherの検定、 $p < 0.05$)ことから、5mg/kg以上の投与群雌にみられたリンパ節腫大の増加は検体投与に関連しない変化と考えられた。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変の種類及び発生動物数並びに各群の総腫瘍発現数を表2-1～4に示す。

25mg/kg投与群において、Fisherの検定では対照群との間に有意差を示す腫瘍性病変は認められなかったが、傾向検定では、以下に示した腫瘍が、5%の有意性を示した；

雌－悪性リンパ腫（リンパ節3/50例発生率6%、肝臓2/50例発生率4%）

雄－脾臓血管内皮腫（2/50例発生率4%）、肝臓血管腫（2/50例発生率4%）

雄でみられた傾向検定での有意差は、本試験での対照群に肝臓血管腫及び脾臓血管内皮腫ともに全く発生しなかったことによる偶発的な変化と考えられた。

なお、雄マウスの肝臓血管腫の発生率は1.5%（13/891例）¹⁾、また循環器系血管腫及び血管肉腫の発生率は、それぞれ1.2%（範囲0.4～1.5%）及び1.6%（範囲1.3～2.0%）²⁾と報告されている。

(引用文献)

- 1) K. Maita, M. Hirano, T. Harada, K. Mitsumori, A. Yoshida, K. Takahashi, M. Nagashima, T. Kitazawa, A. Enomoto, K. Inui and Y. Shiasu (1988)
Mortality, major cause of moribundity and spontaneous tumors in CD-1 mice.
Toxicol. Pathol. 16:340-349
- 2) J. M. Ward, D. G. Goodman, R. A. Squire, K. C. Chu and M. S. Kinhart (1979)
Neoplastic and nonneoplastic lesions in aging (C57BL/6N x C3H/HeN)F1 (B6C3F1) mice JNCI 63:849-854

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

さらに、造血リンパ組織ごとの悪性リンパ腫の発生動物数を以下の表に示す。

性別	雄							
	0mg/kg		0.5mg/kg		5.0mg/kg		25mg/kg	
投与量	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D
検査時期	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D
動物数	47	3	47	3	49	1	47	3
胸腺	1 (M30)	0	0	0	0	1 (M149)	0	0
脾臓	2 (M30, M44)	0	0	0	0	0	2 (M238, M239)	1 (M246)
腸間膜 リンパ節	1 (M44)	0	0	0	0	0	2 (M238, M239)	1 (M246)
縦隔洞 リンパ節	0	0	0	0	0	1 (M149)	0	0
下顎 リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	1 (M246)
造血リンパ 組織 a	2/50		0/50		1/50		3/50	

(注) TK：最終屠殺 K/D：途中死亡/切迫屠殺

a：検査動物数については、中間屠殺した20匹を除いた。

表中の（ ）は、動物番号を示した。

性別	雌							
	0mg/kg		0.5mg/kg		5.0mg/kg		25mg/kg	
投与量	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D
検査時期	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D	TK	K/D
動物数	49	1	47	3	46	4	47	3
胸腺	0	0	1 (F357)	0	2 (F433, F467)	0	0	0
脾臓	0	0	1 (F357)	0	1 (F467)	0	0	1 (F513)
腸間膜 リンパ節	0	0	1 (F368)	0	2 (F433, F467)	0	2 (F524, F538)	1 (F513)
縦隔洞 リンパ節	0	0	0	0	0	0	1 (F538)	1 (F513)
下顎 リンパ節	0	0	0	0	1 (F467)	0	0	1 (F513)
腋窩 リンパ節	0	0	0	0	0	0	1 (F524)	0
皮下 リンパ節	0	0	0	0	1 (F467)	0	0	1 (F513)
造血リンパ 組織 a	0/50		2/50		2/50		3/50	

(注) TK：最終屠殺 K/D：途中死亡/切迫屠殺

a：検査動物数については、中間屠殺した20匹を除いた。

表中の（ ）は、動物番号を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

その結果、雄では対照群と検体投与群との間で悪性リンパ腫の発生頻度に有意差は認められなかった(Fisherの検定、 $p < 0.05$)。

一方、雌では対照群に全く認められなかった悪性リンパ腫が、検体投与群に2~3例(発生率; 4~6%)見られた。

しかしながら、一般的に報告されている本系統(B6C3F1)の雌マウスでの悪性リンパ腫の発生率21.4%(42/196例)³⁾及び24.4%(5試験の範囲、17.0~30.4%)⁴⁾よりもさらに低かったことから、検体投与群雌にみられた造血リンパ組織の悪性リンパ腫は、検体投与の影響ではなく、自然発生性の変化と考えられた。

なお、本試験機関では、悪性リンパ腫の対照背景データを有していなかった。

(引用文献)

3) 腫瘍組織病理アトラス、西塚泰章、高山昭三、伊藤信行、林裕造編、文光堂、東京、1985

4) R. E. Tarone, K. C. Chu and J. M. Ward. (1981) Variability in the rates of some common naturally occurring tumors in Fisher 344 rats and (C57B1/6N x C3H/HeN) F1 (B6C3F1) mice. JCN1 66:1175-1181

5mg/kg以下の投与群でみられた種々の腫瘍性病変は、用量増との関連を伴う腫瘍発生率の増加が認められなかった。

胃の腫瘍性病変は、いずれも投与群にも認められなかった。

以上の結果から、本剤のマウスにおける18ヶ月間強制経口投与による慢性/発がん性併合試験において、本剤投与の影響として、25mg/kg投与群で肉眼的な前胃の白色化並びに前胃上皮の増生あるいは乳頭状過形成発現率の増加がみられたので、本剤の無毒性量は雌雄とも5.0mg/kg/dayであると判断される。また、催腫瘍性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 1 - 1 非腫瘍性病変 (雄)

性 別		雄											
		0			0.5			5.0			25		
投与量 (mg/kg)		6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
臓器・所見/検査時期 (月)		6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
検査動物数		10	10	50	10	10	50	10	10	50	10	10	50
脾 臓	リンパ球過形成			0			0			0			2 *
前 胃	扁平上皮の 限局性増生	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	扁平上皮の 乳頭状過形成	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4 *
	糜 爛	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	粘膜下浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
肝 臓	リンパ球集簇	0	0	0	0	0	2 *	0	0	0	0	0	4 *
腎 臓	糸球体腎炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 *
	尿管柱	0	0	0	0	0	0	0	0	1 *	0	0	2 *

表 1 - 2 非腫瘍性病変 (雌)

性 別		雌											
		0			0.5			5.0			25		
投与量 (mg/kg)		6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
臓器・所見/検査時期 (月)		6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
検査動物数		10	10	50	10	10	50	10	10	50	10	10	50
前 胃	扁平上皮の 限局性増生	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4 **
	扁平上皮の 乳頭状過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5 ** a
	粘膜下リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	潰 瘍	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	粘膜下浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ハタゲ腺	間質リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	0	0	2*	0	0	2*	0
肺	限局性肺胞												
	リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 *
肝 臓	髓外増血亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	2 *	0	0	2 *
骨 髄 (腰椎)	骨髄線維症	0	0	5	0	0	14 a	0	0	6	0	0	2
甲状腺	ろ胞上皮過形成	1	0	0	0	0	5 a	0	0	5 a	0	0	0

(注) TK: 最終屠殺, KD: 途中死亡/切迫屠殺

Cochran-Armitageの傾向検定で対照群に対して統計学的有意差あり (* p<0.05) (** p<0.01)

a: Fisherの検定で対照群に対して統計学的有意差あり (p<0.05)

表 2 - 1 腫瘍性病変 (雄)

性 別			雄											
			0			0.5			5.0			25		
投与量 (mg/kg)			6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
臓器・所見/検査時期 (月)			6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
検査動物数			10	10	50	10	10	50	10	10	50	10	10	50
胸 腺	悪性リンパ腫	M	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	下 顎 リンパ節	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
縦隔洞 リンパ節	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	腸間膜 リンパ節	M	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3
脾 臓	血管内皮腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2 *
	組織球腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	悪性リンパ腫	M	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3
肺	腺腫	B	0	0	7	0	0	2	0	0	7	0	0	3
	腺癌	M	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
回 腸	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
肝 臓	肝細胞腺腫	B	0	0	10	0	1	14	0	1	12	0	1	11
	血管腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 *
	血管内皮腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	肝細胞腺癌	M	0	0	6	0	0	3	0	1	4	0	0	5
	悪性血管内皮腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
膵 臓	ラ氏細胞腺腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	精 巢 上 体	血管腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
血管内皮腫		B	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
組織球腫		B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
甲状腺	濾胞腺腫	B	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0	3
	C細胞腺腫	B	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
ハダゲ腺	腺 腫	B	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	1	0
腹 腔	血管腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

(注) TK: 最終屠殺, KD: 途中死亡/切迫屠殺, B: 良性腫瘍, M: 悪性腫瘍

*: Cochran-Armitageの傾向検定で対照群に対して統計学的有意差あり (p<0.05)

表 2-2 腫瘍性病変 (雌-その1)

性 別			雌											
投与量 (mg/kg)			0			0.5			5.0			25		
臓器・所見/検査時期 (月)			6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
検査動物数			10	10	50	10	10	50	10	10	50	10	10	50
胸 腺	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0
	組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
下 顎 リンパ節	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
縦隔洞 リンパ節	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 *
腸間膜 リンパ節	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	2 *	0	0	3 *
腋 下 リンパ節	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
皮 下 リンパ節	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	血管腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
脾 臓	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
	腺 腫	B	0	0	1	0	0	2	0	0	2	0	0	0
肺	腺 癌	M	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	転移肝細胞腺癌	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	気管支周囲の 組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	転移組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腺 腎	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
回 腸	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
肝 臓	肝細胞腺腫	B	0	0	1	0	0	2	0	0	1	0	0	0
	肝細胞腺癌	M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	2 *	0	0	2 *
	組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
脾 臓	組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
腎 臓	悪性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
尿 管	組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
膀 胱	組織球肉腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

(注) TK: 最終屠殺、KD: 途中死亡/切迫屠殺、 B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

*: Cochran-Armitageの傾向検定で対照群に対して統計学的有意差あり (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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変 (雌-その2)

性 別		雌											
		0			0.5			5.0			25		
投与量 (mg/kg)		6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD	6	12	TK+KD
臓器・所見/検査時期 (月)													
検査動物数		10	10	50	10	10	50	10	10	50	10	10	50
卵 巢	卵管腺腫 B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性リンパ腫 M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	組織球肉腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
子 宮	腺 腫 B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	平滑筋腫 B	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
	組織球腫 B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	組織球肉腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
下垂体	前葉細胞腺腫 B	0	0	2	0	0	2	0	0	1	0	0	0
	腺 癌 M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
甲状腺	濾胞腺腫 B	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	C細胞腺腫 B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
副 腎	褐色細胞腫 B	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	紡錘細胞腺腫 B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
大 腦	悪性髄膜腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
小 腦	悪性髄膜腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
パルク-腺	腺 腫 B	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
皮下組織	組織球肉腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
頭蓋腔	悪性神経鞘腫瘍 M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
腹 腔	悪性リンパ腫 M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	組織球肉腫 M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

注) TK: 最終屠殺、KD: 途中死亡/切迫屠殺、 B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

*: Cochran-Armitageの傾向検定で対照群に対して統計学的有意差あり (p<0.05)

表 2-4 総腫瘍発現数

性 別		雄				雌			
		0	0.5	5.0	25	0	0.5	5.0	25
投与量 (mg/kg)									
中間屠殺を除く全動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
坦腫瘍動物数	B	16	19	23	23	5	9	7	3
腫瘍数	B	20	20	27	26	5	10	7	3
坦腫瘍動物数	M	9	5	7	8	1	5	4	4
腫瘍数	M	9	5	7	9	1	5	5	4

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性

①ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. 15)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体純度：

試験動物：Wistar系SPFラット、1群雌雄各27匹、投与開始時4週齢

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳までの16～18週間、
F1世代；雄は離乳からF2児離乳までの16～19週間、
雌は離乳からF2児離乳までの16～18週間
(但し、3mg/kg投与群は再交配のため、21～22週間)
(1993年2月1日～1993年10月28日)

投与方法：検体を注射用蒸留水で所定の濃度になるように希釈し、有効成分として0、
0.5、3.0及び15.0mg/kgの用量で金属製胃チューブを用いて5mL/kgの一定容量
で毎日強制経口投与した。投与液は毎日調製し、対照群には蒸留水を投与した。

投与量設定根拠；

投与経路選択理由；本試験は本来混餌経口投与するものであるが、検体の化学的性質上、
強制経口投与とした。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次表にまとめた。

一般状態及び死亡率；試験期間中、一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；

雌を同群の雄と1：1で最大3週間同居させ、膣栓または膣垢中の精子の存在に
よって交尾の確認を行った。交尾の確認された日を妊娠0日とした。

3mg/kg投与群のF1世代で交尾の成立しなかった雌については、交配能の確認
された同群の雄と再交配した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率(\%)} = \frac{\text{交尾確認動物数}}{\text{交配動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率(\%)} = \frac{\text{妊娠成立雌数}}{\text{交尾確認雌数}} \times 100$$

$$\text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児分娩雌数}}{\text{妊娠成立雌数}} \times 100$$

$$\text{性 比} = \frac{\text{雄生存分娩児数}}{\text{雌生存分娩児数}}$$

$$\text{生後4日生存率(\%)} = \frac{\text{生後4日生存児数}}{\text{生存分娩児数}} \times 100$$

$$\text{生後21日生存率(\%)} = \frac{\text{生後21日生存児数}}{\text{生存分娩児数}} \times 100$$

病理組織学的検査；P世代及びF1世代の親動物の剖検時に、全例について子宮、卵巣、精巣、精巣上部、前立腺、下垂体、副腎、肝臓、腎臓及び脾臓の重量を測定した。また、これらの臓器に加え、胃、精嚢、膣、子宮及び異常部位について、10%中性緩衝ホルマリン中に固定保存した。
対照群及び15mg/kg投与群のP世代及びF1世代親動物の以下の臓器組織については病理組織学的検査を行った。

膣、子宮、卵巣、精巣、精巣上部、精嚢、前立腺、下垂体、
胃、副腎、肝臓、腎臓及び脾臓

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
P	生育 (10週)	発情前期の雌を1:1で同群の雄と同居。交尾確認日を妊娠0日とする。	体重を毎週測定 摂餌量は毎週2日間の摂餌量をケージ単位で測定
	交配 (3週)		交尾状況の観察 (膣栓または膣垢中の精子で交尾を確認)
	妊娠 (3週)		体重を妊娠0、7、14及び21日に測定 摂餌量は体重測定日から次の体重測定日までの摂餌量から1日平均摂餌量を個体別に算出。
	出産 (F1)	生後4日目に同腹児数をできるだけ雌雄各4匹に調整 (生存産児数が、8匹以下の時は哺育児数未調整)。	出産状況の観察 新生児数、死産児数、外表異常、性別、生存児 体重測定 外表異常の認められた新生児を固定保存。
哺育 (3週)	間引きした新生児の剖検。 母動物の体重を出産後0、4、7、14及び21日に測定。 摂餌量は体重測定日から次回測定日までの摂餌量から1日平均摂餌量を算出。 同腹児体重は生後0、4、7、14及び21日に性別毎に測定。		
F1	離乳	継代用動物を各同腹児から雌雄各1~2匹無作為に選抜。	親動物の剖検並びに臓器重量測定(子宮、卵巣、精巣、精巣上体、前立腺、下垂体、副腎、肝臓、腎臓、脾臓)。これらに加えて、胃、精囊、膣及び異常部位を固定保存 対照群及び15mg/kg投与群全例の保存臓器の病理組織学的検査。
	生育 (10週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	交配 (3週)		(P世代に準ずる)
	妊娠 (3週)		(P世代に準ずる)
出産 (F2) 哺育 (3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる) (P世代に準ずる)	
F2	離乳	(F1世代に準ずる)	(F1世代に準ずる) 離乳児は離乳時に剖検

結 果：概要を次表の表に示した。

死亡動物では、P世代の0.5mg/kg投与群雌1例が食道栓塞のため切迫屠殺されたが、その他に瀕死のため切迫屠殺された動物はなかった。交尾不成立、不妊等のため、屠殺された動物数には検体投与との関連性がみられなかった。

一般状態では、赤色眼脂、蒼白、流涎、立毛等の症状が散見されたが、いずれも用量増との関連は認められなかった。

体重増加量では、P世代の15mg/kg投与群雌で生育期間後半及び妊娠期間後半の体重が対照群より有意に低かった。また、F1世代では15mg/kg投与群雌雄で生育期間中の体重並びに妊娠及び哺育期間中の体重が対照群より有意に低かった。

摂餌量では、P世代の15mg/kg投与群雌で生育期間中及び哺育期間中に有意な低下が散見された。F1世代では15mg/kg雌雄の生育0～1週に有意な低下がみられ、雌の妊娠期間中及び哺育期間中にも低下が散見された。

交尾率及び受胎率では、P世代では対照群を除くすべての投与群が100%であり、検体投与の影響はみられなかった。F1世代でも対照群と有意差がなかった。

生後0日の生存児数の減少及び死産児数の増加が、P及びF1両世代の15mg/kg投与群でみられ、統計学的に有意ではないが、検体投与の影響と考えられた。

出産時新生児生存率では、15mg/kg投与群においてP世代で対照群より有意に低く、F1世代でも有意ではないが、低下傾向が見られ、検体投与の影響と考えられた。

F1世代の全ての検体投与群の哺育期間中の体重に対照群との差が認められなかったが、F2世代では15mg/kg投与群雄の離乳時体重が対照群より有意に減少した。

肝臓の重量の増加（絶対又は相対）が、15mg/kg投与群のP世代及びF1世代の雌雄、3mg/kg投与群のP世代の雄並びに0.5mg/kg投与群のP世代の雌にみられた。副腎の重量増加については、3mg/kg以上の投与群のP世代の雄及び0.5mg/kg投与群のP世代の雌にみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以上の結果より、ラットの2世代にわたって本剤を経口投与した場合、15mg/kg投与群において親動物で体重増加抑制、摂餌量低下、肝臓及び副腎重量の増加が、児動物で生存児数の減少、死産児数の増加及び体重増加抑制が、さらに、3mg/kg投与群において親動物雄で肝臓及び副腎重量の増加がみられたが、繁殖能に対しては何ら影響はみられなかった。

従って、親動物に対する無毒性量は雄で0.5mg/kg/day、雌で3mg/kg/dayであると判断される。

児動物に対する無毒性量は3mg/kg/dayであると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験結果：

世 代			親：P 児：F1				親：F1 児：F2				
投 与 量 (mg/kg)			対照	0.5	3.0	15	対照	0.5	3.0	15	
動 物 数		雄	27	27	27	27	27	27	27	27	
		雌	27	27	27	27	27	27	27	27	
親動物	一般状態	雄	耳介化膿	0	1	0	0	0	0	0	0
			赤色眼脂	0	0	0	1	0	0	0	0
		眼瞼下垂	0	0	0	1	0	0	0	0	
		雌	赤色眼脂	0	2	0	0	0	0	0	0
	蒼 白		0	1	1	0	0	0	0	0	
	流 涎		0	2	0	1	0	0	0	0	
	立 毛		0	2	0	1	0	0	0	0	
			自発運動低下	0	1	0	0	0	0	0	0
			異常呼吸音	0	1	0	1	0	0	0	0
	死亡動物数 a		雄	0	0	0	0	0	0	0	0
		雌	0(4)	1(2)	0(0)	0(1)	0(5)	0(5)	0(8)	0(3)	
体重推移	雄	投与開始時	67	67	67	67	69	71	68	64*	
		投与10週	466	474	479	453	506	513	511	475**	
	雌	投与開始時	61	61	61	61	65	65	64	58**	
		投与10週	274	269	264	257**	303	309	308	289*	
		妊娠0日	276	273	270	262	299	311	307	288	
		妊娠21日	431	426	428	412*	474	486	475	437**	
		哺育0日	304	296	303	293	341	349	335	313**	
		哺育21日	331	331	326	322	362	367	362	349	
摂餌量推移	雄	投与開始週	10.0	10.2	10.0	10.0	12.0	12.5	11.8	11.1**	
		投与9週	23.6	24.0	25.0	24.2	26.6	26.7	25.6	25.8	
	雌	投与開始週	9.2	9.0	9.1	8.8	11.3	11.1	10.9	9.6**	
		投与9週	15.9	15.9	15.0	15.7	18.4	18.5	17.3	18.5	
		妊娠0~7日	19.3	19.4	19.3	19.4	21.1	21.5	21.7	20.9	
		妊娠7~14日	23.2	23.3	24.2	23.4	25.0	25.3	24.9	23.7	
		妊娠14~21日	23.9	23.4	24.0	23.3	26.6	26.9	26.1	24.6*	
		哺育0~4日	24.7	25.3	24.9	26.9	24.9	23.7	26.9	28.6*	
		哺育4~7日	35.3	36.5	37.8*	39.1**	36.8	36.4	37.2	39.2	
		哺育7~14日	51.8	52.2	52.5	51.9	50.4	50.6	50.1	49.8	
哺育14~21日	63.6	62.2	62.7	60.2*	61.0	62.3	60.9	58.2*			
交尾率(%)		雄	92.6	100	100	100	100	100	88.9	100	
		雌	92.6	100	100	100	100	100	92.6	100	
受胎率(%)		雄	96.0	100	100	100	85.2	88.9	75.0	88.9	
		雌	96.0	100	100	100	85.2	88.9	76.0	88.9	
妊娠動物数			24	26	27	27	23	24	19	24	
分娩動物数			24	26	27	27	22	24	19	24	
出産率(%)			100	100	100	100	95.7	100	100	100	
妊娠期間(日)			22.3	22.5	22.3	22.4	22.3	22.3	22.5	22.4	

(注) 多重検定で対照群に比して有意差あり (: * : p<0.05, ** : p<0.01)

a : ()は交尾、妊娠、分娩あるいは哺育がみられなかったため、試験途中で屠殺剖検した動物数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

世 代				親 : P 児 : F 1				親 : F 1 児 : F 2				
投 与 量 (mg/kg)				対照	0.5	3.0	15	対照	0.5	3.0	15	
親動物	臓器重量	雄	肝臓	絶対		↑ 115	↑ 115			↑ 109	↑ 109	
				相対		↑ 112	↑ 118			↑ 108	↑ 116	
			腎臓	相対				↑ 106				↑ 111
				副腎	絶対		↑ 124	↑ 131	↑ 120			
		相対			↑ 119	↑ 126	↑ 122					
		脾臓	相対				↑ 109				↑ 114	
		精巣	相対								↑ 106	
		精巣 上体	絶対		↑ 114							
	相対			↑ 111								
	前立腺	絶対					↓ 80					
	雌	肝臓	絶対								↑ 110	
			相対		↑ 107		↑ 110				↑ 113	
		副腎	絶対		↑ 111							
			相対		↑ 111							
		脾臓	相対									↑ 109
児動物	平均生存児数			14.0	13.4	13.2	12.7	14.2	14.8	14.7	12.8	
	死産児数			1	5	5	10	1	5	2	6	
	性比 (雄/雌)			1.10	1.07	0.98	0.82	0.96	1.27	1.04	1.07	
	奇形産児数			0	0	1	0	1	0	0	0	
	新生児 生存率 (%)	0日		99.7	98.6	98.6	97.0*	99.6	98.5	99.4	98.1	
		4日 (調整前)		94.9	93.0	97.5	94.1	92.4	97.2	97.3	98.8*	
		21日		99.5	99.5	100	99.5	100	100	99.3	100	
	新生児 体重 推移	雄	0日	6.2	6.2	6.2	6.3	6.2	6.3	6.2	6.1	
			4日 (調整前)	10.1	10.4	10.5	10.3	10.2	10.0	10.0	10.1	
			4日 (調整後)	10.3	10.5	10.6	10.5	10.4	10.3	10.2	10.4	
			7日	16.0	16.4	16.4	16.2	16.0	16.6	16.4	15.9	
			14日	32.1	32.9	32.7	31.8	31.9	32.8	32.0	30.5	
			21日	51.7	52.7	52.5	50.4	49.1	50.8	49.7	46.3*	
		雌	0日	5.7	5.9	5.9	5.8	5.7	5.8	5.8	5.8	
4日 (調整前)			9.5	9.9	9.8	9.7	9.4	9.3	9.3	9.7		
4日 (調整後)			9.6	10.1	10.1	9.9	9.7	9.5	9.6	9.9		
7日			14.9	15.7	15.6	15.3	15.0	15.4	15.4	15.1		
14日			30.3	31.6	31.2	30.2	30.1	30.7	30.2	29.1		
	21日	48.7	50.2	49.3	47.6	45.9	47.7	47.0	43.8			

(注) 親動物の検査項目において多重検定で対照群に比して有意差あり (↑ ↓ : p<0.05, ↑ : p<0.01)

臓器重量の表中の数値は、対照群を100とした場合の値

児動物の検査項目において多重検定で対照群に比して有意差あり (: * : 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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

世 代			親：P 児：F1				親：F1 児：F2				
投 与 量 (mg/kg)			対照	0.5	3.0	15	対照	0.5	3.0	15	
親 動 物	肉 眼 的 病 理 所 見	雄	検査動物数	27	27	27	27	27	27	27	27
		腎臓小型	0	0	0	0	0	0	1	0	
		腎臓腫大	0	0	0	0	0	0	1	0	
		腎臓表面粗造	0	0	0	0	0	0	1	0	
		腎盂拡張	0	0	0	0	0	0	1	0	
		精囊小型	0	0	0	0	0	0	0	0	
		雌	検査動物数	23(4)	25(2)	27	26(1)	22(5)	22(5)	19(8)	24(3)
		脾臓小型	0	0(2)	0	0	0	0	0	0	0
		気管支泡沫液貯留	0	0(2)	0	0	0	0	0	0	0
		食道内巢材充満	0	0(2)	0	0	0	0	0	0	0
	食道内泡沫液貯留	0	0(1)	0	0	0	0	0	0	0	
	胃内巢材充満	0	0(1)	0	0	0	0	0	0	0	
	小腸内ガス充満	0	0(1)	0	0	0	0	0	0	0	
	腸内容物欠如	0	0(1)	0	0	0	0	0	0	0	
	肝臓小型	0	0(2)	0	0	0	0	0	0	0	
	子宮内白色結節	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	腎臓欠損	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	子宮角部分欠損	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	子宮拡張	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	病 理 組 織 学 的 所 見	雄	検査動物数	27	0	0	27	27	1	1	27
前胃上皮過形成			1			0	0	0	0	0	
肝小円形細胞集簇			0			1	3	0	0	4	
肝細胞限局性壊死			0			0	1	0	0	0	
胆管増生			1			0	0	0	0	1	
腎尿管変性			1			1	0	0	0	0	
腎 囊 胞			0			0	2	0	0	1	
腎皮質限局性梗塞			0			0	1	0	0	0	
腎盂上皮空胞変性			0			0	1	0	0	0	
腎盂拡張			0			0	1	0	1	0	
腎硬化症		0			0	0	0	1	0		
雌		検査動物数	23(4)	(2)	0	26(1)	22(5)	0	0	24(3)	
脾臓褐色色素沈着		0	0(1)		0	0			0		
脾濾胞萎縮		0	0(1)		0	0			0		
脾赤血球減少		0	0		0(1)	0			0		
脾髄外造血		0	0(1)		0(1)	0			0		
肝小円形細胞集簇		0(3)	0		2	4			2(2)		
肝血栓		0	0		1	0			0(1)		
肝細胞限局性壊死		0	0		2	0			0		
肝細胞び浸性脂肪化		0	0		0	0			1		
腎尿管変性	0	0		0	0(1)			0			
腎形成不全	0	0		0	0			0			
胎盤遺残	0	0		0	0			0			

(注) 対照群に比してすべての所見で有意差が認められない(多重検定)

() は、交尾不成立、妊娠不成立等のため、試験途中で屠殺剖検した動物を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2) 催奇形性

①ラットにおける催奇形性試験

(資料 No. 16)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1986年

検体純度：

試験動物：JcL：SD系妊娠ラット（10週齢）、1群26匹

試験期間：投与期間10日間（1986年2月5日～1986年3月8日）

投与方法：検体を蒸留水で希釈し、純度換算した上で0、5、15及び50mg/kgの投与量が得られるように投与溶液を調製し、妊娠6日目から15日目までの10日間、毎日1回10ml/kgを強制経口投与した。なお交配後、膣垢を調べ、精子を認めた日を妊娠0日とした。対照群には蒸留水を同様に投与した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物；一般状態及び生死を朝夕及び投与2時間後の3回観察し、妊娠0日及び6日目から21日目までは毎日重量を測定した。摂餌量については、妊娠6日に6日間の摂餌量を測定し、7日目から15日目までは毎日測定した。
妊娠21日目に帝王切開して、黄体数、総着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を調べた。その他、脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺臓、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、子宮、卵巣の重量を測定した。

生存胎児；生存数、性比、体重及び外表異常の観察を行った。

各同腹児群の1/2の胎児については、99.9%メチルアルコールで固定し、Dawson法を用いて骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については、Bouin液で固定し、顕微解剖法を用いて内臓異常の有無を検査した。

試験結果：概要を次頁の表に示した。

親動物；一般状態では、異常はみられなかった。

親動物の臓器重量では、5mg/kg投与群で右腎、右卵巣で有意な増加が認められたが、左右ある臓器の片側だけの変化であり、15あるいは50mg/kg投与群で変化がみられないことから、検体の影響ではないと思われる。

15mg/kg投与群で胸腺、50mg/kg/day投与群で胸腺及び心臓で有意な減少が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

体重増加抑制が15mg/kg投与群の6～16日に、50mg/kg投与群で妊娠11～16日に認められた。また、15及び50mg/kg投与群で、摂餌量の減少が認められた。

胎児動物；体重増加抑制が50mg/kg投与群の雄で認められた。

外表異常では、15mg/kg投与群で躯幹部浮腫が1例、50mg/kg投与群で欠指1例がみられたが、いずれも単発生であり、検体投与の影響でないと考えられた。

骨格変異として第7腰椎の発生が50mg/kg群で増加(3.4%)したが、バックグランドデータでは対照群においても0～2.4%の範囲で出現しており、検体投与の影響ではないと考えられた。

趾骨基節骨の化骨率については、次頁の表に示した背景データと比較すると、対照群及び各投与群ともその変動範囲内にあり、投与量の増加に伴った化骨率の低下が投与群間で明確にみられないことから、検体投与との関連性はないものと判断された。

頸椎椎体の化骨率については、頸椎椎体1を除いて対照群を含め各群とも背景データの範囲内よりさらに低値であった。本試験において、頸椎椎体(2～6)の化骨率が各投与群で有意な低下を示したが、15mg/kg投与群は5mg/kg投与群より高値を示し、明確な用量反応性は認められなかった。頸椎椎体の化骨率を胎児数で算出するのは、対照群も背景データから外れ、偏りが大きくなり、データとして信頼性に乏しい。この試験では頸椎椎体の化骨率を算出しているが、現在ではその発生時期が不明瞭であるので、化骨率の指標としての意義は低い。従って、この場合、推奨されている母体ごとの胎児あたりの平均化骨数で表すのが妥当と考えられる。その方法で示すと、頸椎椎体の平均化骨数は5及び15mg/kg投与群と対照群の間で有意差は認められなかった。一方、50mg/kg投与群においては、頸椎椎体の化骨率及び平均化骨数とも有意な低下を示した。以上より、50mg/kg投与群でみられた化骨遅延は検体の影響と考えられた。また、化骨率の指標になる尾椎々体化骨数では、50mg/kg投与群の化骨が進行しており、検体の化骨への影響はないと考えられた。

内臓異常が検体投与群にみられたが、腹数、胎児数及び各異常発生数ともに対照群に比して有意差がなく、腎乳頭の発育にも用量依存性は認められなかった。

以上の結果より、本検体を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量は5mg/kg/dayで、胎児動物の無毒性量は15mg/kg/dayであった。また、最高投与量の50mg/kg/dayでも、胎児動物に対して催奇形性は及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結果の概要：胎児の骨格及び内臓異常の要約を次頁の表に示す。

投与群 (mg/kg/day)		対 照	5	15	50
1 群当り動物数		26	27	27	27
母 動 物	一般状態	—	—	—	—
	死亡数	0	0	0	0
	妊娠数	26	27	27	27
	体重増加量 (g) ; (平均値±SD)				
	6～21日	59.08±9.00	58.67±8.97	49.93±10.00***	43.52±6.48***
	6～16日	135.31±20.68	142.56±19.67	131.19±21.70	128.11±16.37
	0～21日	164.96±24.82	176.07±23.56	159.78±25.42	158.15±20.90
	摂 餌 量		妊娠0～6日 増 加	妊娠7～14日 及び16日減少	妊娠7～14日 及び16日減少
	臓器重量：胸 腺	219.73±64.05	194.37±59.69	142.56±42.07***	89.78±35.31***
	心 臓	0.84±0.09	0.87±0.08	0.81±0.08	0.79±0.06*
右腎臓	0.84±0.10	0.91±0.11*	0.89±0.12	0.87±0.08	
右卵巢	57.62±8.63	64.44±12.93*	61.96±16.51	60.00±11.11	
剖検所見	胸腺退縮なし	胸腺退縮なし	胸腺退縮なし	胸腺退縮 (9例)	
着 床 所 見	検査母動物数	26	27	27	27
	黄体数/腹	15.8±2.6	17.6±2.3**	17.0±2.9	16.4±2.4
	着床数/腹	14.3±3.0	16.1±2.5*	15.3±3.2	15.6±2.2
	着床数/黄体数	90.5%	91.4%	89.6%	95.0%*
	生存胎児数/ 着床数	94.6%	93.1%	94.9%	92.1%
	生存児数/腹	13.5±2.7	15.0±2.6*	14.5±3.1	14.3±2.4
	吸収胚数 吸収胚数/着床数	21 5.7%	30 6.9%	21 5.1%	33 (7.8%)
胎 児 動 物	検査胎児数	351	405	391	387
	外表異常	—	—	1 例 (躯幹部浮腫)	1 例 (欠指)
	体重 (g) 雄 平均値±SD 雌	5.51±0.31 5.16±0.33	5.39±0.27 5.07±0.35	5.38±0.36 5.05±0.24	5.31±0.35* 5.01±0.31
	性 比 (雄・雌)	0.90	1.29	0.99	0.91

(注) 統計手法名：t 検定 * P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

—：変化を認めない

骨格異常の要約

投与群 (mg/kg/day)	対 照		5		15		50		背景データ 胎児数% (6試験、88母体)
検査腹数/胎児数	26/189		27/217		27/209		27/205		
骨格異常腹数 (%)	1 (3.8)		1 (3.7)		0 (0.0)		1 (3.7)		
骨格異常胎児数 (%)	2 (1.1)		1 (0.5)		0 (0.0)		1 (0.5)		
骨格変異腹数 (%)	23 (88.5)		24 (88.9)		23 (85.2)		25 (92.6)		
骨格変異胎児数 (%)	59 (31.2)		83 (38.2)		67 (32.1)		82 (40.0)		
骨格変異の所見	胎児数 (%)	腹数	胎児数 (%)	腹数	胎児数 (%)	腹数	胎児数 (%)	腹数	
第7腰椎変異	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0	4 (1.9)	2	7 (3.4) *	5*	
頸椎椎体化骨									
頸椎椎体 1	168 (88.9)	26	196 (90.3)	27	192 (91.9)	27	181 (88.3)	27	74.6~92.2
頸椎椎体 2	12 (6.3)	10	4 (1.8) *	2 **	10 (4.8)	6	4 (2.0)	2 **	15.1~77.8
頸椎椎体 3	31 (16.4)	14	17 (7.8) **	10	20 (9.6) *	8	9 (4.4) ***	6 *	16.2~88.9
頸椎椎体 4	35 (18.5)	17	20 (9.2) **	9 *	21 (10.0) *	9 *	12 (5.9) ***	7 **	23.8~91.7
頸椎椎体 5	48 (25.4)	18	26 (12.0) ***	12	33 (15.8) *	12	15 (7.3) ***	7 **	32.4~94.4
頸椎椎体 6	57 (30.2)	19	42 (19.4) *	16	50 (23.9)	15	25 (12.2) ***	11 *	43.8~94.4
頸椎椎体 7	122 (64.6)	26	120 (55.3)	25	118 (56.8)	27	78 (38.0) ***	23 *	76.2~100
化骨数 平均値±S. D.	2.45±1.07		1.99±1.11		2.10±1.13		1.62±0.93**		
趾骨化骨									
基節骨 2	62 (32.8)	19	36 (16.6) ***	18	37 (17.7) ***	18	40 (19.5) **	16	3.9~50.8
基節骨 3	83 (43.9)	20	59 (27.2) ***	24	66 (31.6) *	22	64 (31.2) **	23	17.6~73.5
基節骨 4	82 (43.4)	20	58 (26.7) ***	24	62 (29.7) **	21	61 (29.8) **	21	17.6~71.9
基節骨 5	11 (5.8)	7	9 (4.1)	3	4 (1.9)	4	10 (4.9)	5	0~38.9
化骨数 平均値±S. D.	1.30±1.03		0.76±0.81*		0.89±0.93		0.93±0.99		
尾椎々弓化骨									
尾椎々弓 3	163 (86.2)	26	164 (75.6) **	27	167 (79.9)	26	150 (73.2) **	27	
手指骨基節骨化骨									
手指骨基節骨 5	127 (67.2)	25	134 (61.8)	26	113 (54.1) **	26	123 (60.0)	26	
尾椎々体化骨									
尾椎々体 9	0 (0.0)	0	7 (3.2) *	1	1 (0.5)	1	0 (0.0)	0	

(注) 化骨胎児数 (%) 及び腹数は、カイ二乗検定。化骨数は、Studentのt検定 (* p<0.05 ** p<0.01*** p<0.001)

化骨数は、母体ごとの胎児あたり平均化骨数を求め、さらに群別に平均値±S. D. を求めた。

内臓異常の要約

投与群 (mg/kg/day)	対 照		5		15		50	
検査腹数	26		27		27		27	
内臓異常腹数 (%)	0 (0.0)		3 (11.1)		3 (11.1)		4 (14.8)	
内臓異常検査胎児数	161		184		179		182	
内臓異常の所見	胎児数 (%)	腹数	胎児数 (%)	腹数	胎児数 (%)	腹数	胎児数 (%)	腹数
全ての内臓異常	0 (0)	0	3 (1.6)	3	3 (1.7)	3	5 (2.7)	4 *
脳室拡張	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	1 (0.5)	1
胸腔内出血	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	1 (0.5)	1
胸腺発育不全	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	1 (0.5)	1
心嚢膜内出血	0 (0)	0	2 (1.1)	2	1 (0.6)	1	2 (1.1)	2
肺中間葉屈曲	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	1 (0.5)	1
腎盂拡張	0 (0)	0	1 (0.5)	1	0 (0)	0	1 (0.5)	1
精巣の位置異常	0 (0)	0	1 (0.5)	1	1 (0.6)	1	0 (0)	0
鏡像奇体	0 (0)	0	0 (0.0)	0	1 (0.6)	1	0 (0)	0
腎乳頭の発育段階								
右+4	117 (72.7)	25	121 (65.8)	27	115 (65.0)	26	122 (67.0)	26
+3	37 (23.0)	19	53 (28.8)	25	49 (27.7)	23	51 (28.0)	22
+2	5 (3.1)	5	9 (4.9)	7	11 (6.2)	8	7 (3.8)	7
+1	2 (1.2)	2	0 (0)	0	2 (1.1)	2	1 (0.5)	1
0	0 (0)	0	1 (0.5)	1	0 (0)	0	1 (0.5)	1
左+4	124 (77.0)	26	129 (70.1)	27	114 (64.4) *	24	124 (68.1)	27
+3	33 (20.5)	18	42 (22.8)	24	46 (26.0) *	23	47 (25.8)	23
+2	3 (1.9)	2	10 (5.4)	8	12 (6.8) *	8	11 (6.0)	7
+1	1 (0.6)	1	3 (1.6)	3	5 (2.8) *	4	0 (0)	0
0	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0

(注) 内臓異常所見の胎児数%及び腹数は、カイ二乗検定 (* p<0.05)

腎乳頭の発育段階・胎児数%及び腹数は、順位和検定 (* p<0.05)

腎乳頭の発育段階

+4: 正常、+3: 正常の3/4~1/2、+2: 正常の1/2~1/4、

+1: 正常1/4以下、0: 腎乳頭が全く認められず

50mg/kg群の母動物(番号03202)の胎児1例に胸腔内出血、心嚢膜内出血及び肺中間葉屈曲を併発

15mg/kg群の腎乳頭の発育段階及び%計算は、精巣の位置異常と鏡像奇体の2例を除いた177例で算出

②ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. 17)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1993年

検体純度：

試験動物：New Zealand White系妊娠ウサギ(5～6ヶ月齢)、1群17匹

投与期間：投与期間13日間(1992年11月28日～1992年12月23日)

投与方法：検体を蒸留水で希釈して、純度換算した上で0、1、5および25mg/kg投与量が得られるように投与溶液を調製し、妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回2mL/kgを強制経口投与した。なお、対照群には蒸留水を同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物；妊娠期間中は死亡および流産などの有無を毎日午前、午後の2回観察した。体重を0、4、6～19、21、23、25、27および28日目に測定した。摂餌量を妊娠期間中測定した。妊娠28日目に帝王切開し、妊娠の有無、黄対数、着床数を調べた。母動物について以上のほか異常部位の有無を調べ、主要臓器を摘出してそれらの重量を測定した。

生存胎児；胚・胎児死亡数(着床痕、胎盤遺残、早・後期吸収胚、浸軟胎児および死亡胎児)生存胎児数を調べた。

生存胎児数について性別、体重及び外表異常を調べた。

外表異常の認められなかった胎児はBouin液で固定し、顕微解剖法を用いて内臓の肉眼解剖検査を行った後、アルコールで固定し、Dawson法を用いて骨格標本を作成して、骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次頁の表に示した。

母動物；1mg/kg投与群で1例みられた流産は、剖検で異常は認められず、5mg/kg以上の投与群で流産がみられなかったことから、検体投与の影響でない偶発的な変化と考えられた。

各検体投与群に1例ずつみられた軟便は、用量依存性がないことから、偶発的な変化と考えられた。

25mg/kg投与群では、妊娠7～19日に摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が認められた。

剖検において、5mg/kg投与群にみられた肝臓の硬変及び変色（1例）と1mg/kg投与群にみられた甲状腺の変色（2例）、肺の結節及び変色（1例）、肝臓の硬変（1例）、肝臓の変色（2例）、前胃の結節及び変色（1例）は、25mg/kg投与群に同様の所見が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。25mg/kg投与群にみられた下垂体の嚢胞は、1例と例数が少ないことから、偶発的な変化と考えられた。

胎児動物；外表異常では、25mg/kg投与群に口蓋裂が、1例認められたが、

- ①用量設定試験における50mg/kg投与群で同様の所見がみられなかった
 - ②本所見は、しばしば自然発生もすることが報告されている¹⁾
- ことから、偶発的な変化と考えられた。

骨格および内臓検査では、検体投与の影響は認められなかった。

(引用文献)

- 1) Morita, H. et al: Spontaneous malformations in laboratory animals: Frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice. Cong. Anom., 27, 147-206, 1987

以上の結果より、本検体を妊娠ウサギに投与したときの母動物における無毒性量は5mg/kg/dayで、胎児の無毒性量は25mg/kg/dayであった。

また、最高投与量の25mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

胎児の外表、骨格及び内臓異常の要約を次頁の表に示す。

投与群 (mg/kg/day)		対 照 群	1	5	25
1 群当り動物数		17	17	17	17
母動物	一般状態	—	軟便 (1例) 妊娠22日	軟便 (1例) 妊娠19~20日	軟便 (1例) 妊娠15、17~23日、28日
	死亡数 (誤投与)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	不妊数	0	1	2	1
	流産数	2	1	0	0
	妊娠数 (%) a	14/16 (87.5)	14/16 (87.5)	14/16 (87.5)	16/17 (94.1)
	摂餌量	—	—	—	妊娠7~8日 減少
	体重増加量 : 平均値±SD (妊娠6-19日)	0.26±0.16	0.31±0.19	0.25±0.17	0.11±0.11 増加抑制傾向
	臓器重量	—	—	—	—
	剖検所見	甲状腺変色 (1例)	甲状腺変色(2例) 肺の結節・変色(1例) 肝臓の硬変(1例) 肝臓の変色(2例) 前胃の結節・変色(1例)	肝臓の硬変・変色 (1例)	下垂体の嚢胞 (1例)
	着床所見	検査母動物数	14	14	14
黄体数/腹		8.2±1.7	7.9±1.7	7.4±1.6	8.6±2.1
着床数/腹		7.2±2.0	7.4±1.8	7.1±1.5	7.6±1.9
着床数/黄体数		87.6%	94.3%	97.6%	89.7%
生存胎児数/着床数		97.4%	93.6%	95.3%	96.5%
胚・胎児死亡数 (%)		2 (2.6)	6 (6.4)	5 (4.7)	4 (3.5)
胎盤重量 (g)		5.51±0.9	5.41±1.0	5.54±0.97	5.32±0.80
胎児動物	体重 (g) 雄 (平均値±SD) 雌	44.42±6.83 43.29±5.22	43.56±7.66 42.42±6.58	42.98±6.02 41.18±5.73	41.31±7.26 41.63±6.97
	性比 (雄数/雌数)	56/43	51/47	56/39	54/63

(注) 表中の (—) は変化あるいは異常の認められないことを示す。

a : 妊娠数/誤投与を除く供試母動物数

統計手法名 : Bartlettの等分散検定 (着床所見は、Kruskal-WallisのH検定、

性比は、 χ^2 検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

胎児の外表、骨格及び内臓異常の要約

投与群 (mg/kg/day)	対 照		1		5		25	
外表異常検査腹数/胎児数	14/99		14/98		14/95		16/117	
外表異常腹数	0		0		0		1	
外表異常胎児数	0		0		0		1 (口蓋裂)	
骨格異常、骨格変異 及び内臓異常の 検査腹数/胎児数	14/99		14/98		14/95		16/116	
骨格異常、骨格変異 及び内臓異常所見	胎児数 a (平均%)	腹数 a	胎児数 (平均%)	腹数 a	胎児数 (平均%)	腹数 a	胎児数 (平均%)	腹数 a
骨格異常 尾椎屈曲	1 (0.8)	1	1 (2.4)	1	1 (0.7)	1	1 (1.0)	1
全ての骨格変異	59 (55.3)	13	46 (47.1)	12	33 (35.0)	12	76 (68.4)	15
頸肋骨	1 (0.8)	1	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0
腰肋骨	39 (36.1)	13	35 (36.5)	12	24 (25.4)	11	62 (55.9)	14
8 腰椎	51 (46.7)	12	31 (29.7)	9	22 (22.9)	9	66 (59.5)	14
胸骨分節過剰	0 (0)	0	1 (1.2)	1	1 (1.0)	1	0 (0)	0
胸骨分節非対称	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	1 (0.8)	1
全ての内臓異常	1 (1.2)	1	0 (0)	0	0 (0)	0	2 (1.3)	2
心臓右旋回	1 (1.2)	1	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0
左腎臓欠損	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	1 (0.7)	1
胸腺頸部残遺物	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	1 (0.6)	1

(注) a - 対照群に比して胎児数 (平均%) 及び腹数に統計学的有意差なし

(Kruskal-WallisのH検定)

表中の () の数値は、腹ごとの胎児数%を求め、さらに群別に平均値を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(13) 変異原性

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No. 18)

試験機関：

報告書作成年：1979年

検体純度：

試験方法：ヒスチジンおよびビオチン要求性のサルモネラ菌 (TA-1535、TA-1537、TA-1538、TA-98、TA-100) 及びトリプトファン要求性大腸菌 (WP2hcr) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で Amesらの方法で変異原性を検定した。試験は2連制とした。

試験結果：

薬物	有効成分 濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr	TA-1535	TA-100	TA-1537	TA-1538	TA-98
対照(水)		—	14	9	123	3	16	23
			14	21	130	9	10	22
検体	0.546	—	9	18	122	6	11	31
			15	19	125	10	5	20
	2.73	—	14	13	119	5	2	28
			9	16	127	10	11	25
	5.46	—	10	12	110	10	5	28
			27	12	118	8	6	26
	27.3	—	12	17	106	10	12	30
			12	12	98	4	10	15
	54.6	—	10	14	100	8	12	24
			15	19	89	6	5	26
	273	—	2	3	5*	2*	0*	6
			6	11	51*	2*	8*	4
	546	—	*	*	*	*	*	*
			*	*	*	*	*	*
2730	—	*	*	*	*	*	*	
		*	*	*	*	*	*	

(注) *—菌株の生育阻止を認める

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 _{hcr}	TA-1535	TA-100	TA-1537	TA-1538	TA-98
対照(水)		+	6	15	127	8	14	25
			15	16	151	6	14	18
検体	0.546	+	11	22	126	7	15	19
			17	19	116	10	10	24
	2.73	+	7	22	128	5	16	22
			10	22	148	3	18	19
	5.46	+	12	20	130	8	8	24
			8	20	122	5	10	20
	27.3	+	15	21	99	4	10	11
			11	15	108	10	11	13
	54.6	+	11	11	120	7	17	20
			10	17	96	6	8	16
	273	+	5	9	20	7	1	11
			6	7	0	5	5	10
	546	+	0	0*	3	0*	0	0
			0	1*	0	0*	0	5
2730	+	*	*	*	*	*	*	
2-amino-anthracene	10	-	18	19	143	9	15	36
			13	23	127	9	23	40
	10	+	83	316	>3000	159	>2000	>2000
			102	298	>3000	125	>2000	>2000
陽性 対照		-	>2000 a) >2000	1216 b) 1126	996 c) 1138	>10000 d) 10000	>2000 e) >2000	421 f) 496

(注) * - 菌株の生育阻止を認める

- a) $0.25\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2 b) $50\mu\text{g}/\text{plate}$ β -propiolactone
c) $0.05\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2 d) $200\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-aminoacridine
e) $50\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-nitrofluorene f) $0.1\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

検体の存在下では、いずれの変異株においても対照群と比べ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AF-2、 β -propiolactone、9-aminoacridine、2-nitrofluoreneでは、対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2) 細菌を用いたDNA修復試験

(資料 No. 18)

試験機関：

報告書作成年：1979年

検体純度：

試験方法：枯草菌(*Bacillus subtilis*)の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、
賀田等の方法に準じてRec-assay法でDNAの損傷の誘発性を検定した。

試験結果：結果を以下の表に示した。

薬物	有効成分濃度 (% v/v)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照 (水)		0	0	0
検体	0.00546	0	0	0
	0.01092	0	0	0
	0.0273	0	0	0
	0.0546	0	0	0
	0.1092	<1	<1	<1
	0.273	3	3	0
	0.546	4.5	4	0.5
	1.092	5	5	0
Kanamycin	10 μ g/disk	4	3	1
Mitomycin C	0.1 μ g/disk	8	0.5	7.5

検体の存在下においては、両株に生育阻止は認めなかった。陽性対照として用いた
Mitomycin Cでは、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、検体は、本試験条件下でDNA損傷の誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

3) ラットを用いた *in vivo-in vitro* 肝・不定期 DNA 合成試験

(資料 No. 18-1)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1999年

検体純度:

試験動物: Fischer (F344/DuCrj) 系ラット、1群雄3匹、投与時9週齢、体重; 221~239g

試験方法: 検体を注射用水に溶解し、52.6%水溶液として0、100及び500mg/10mL/kgの用量で単回強制経口投与した。投与後2及び16時間にラットを麻酔し、肝コラゲナーゼ灌流法により肝細胞を遊離した後、Williams' E 培地中に 5×10^5 個/mLの割合で生存した肝細胞を調製した。次に³H-チミジンを添加し、5%CO₂存在下、37°Cで4時間培養した。その後、細胞を酢酸-エタノールで固定し、オートラジオグラムを作製した。さらに、ヘマトキシリン溶液で肝細胞を染色した。DNA損傷性(イニシエーター活性)の有無を不定期DNA合成(UDS)を指標として、細胞の核内に取り込まれた³H-チミジンの放射活性を核あたりのネットグレイン数で評価した。1動物個体あたり50個の細胞を観察した。Butterworthらの判定基準に従い、いずれか1群でもネットグレイン数が5以上の場合を陽性とし、すべての群でネットグレイン数が5未満の場合を陰性とした。

なお、陽性対照にはDimethylnitrosamine (DMN) を用いた。

投与量設定根拠:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験結果：

化合物	投与量 (mg/kg)	投与後 時 間	核あたりのネットグレイン数 a	
			動物個体ごとの平均	試験群の平均±SD
陰性対照 (無処理)	—	—	-0.98	-1.02±0.05
			-1.00	
			-1.08	
検 体	100 (52.6 mg a. i. /kg)	2	-0.98	-1.27±0.34
			-1.64	
			-1.20	
	500 (263 mg a. i. /kg)	16	-1.36	-1.25±0.10
			-1.22	
			-1.16	
陽性対照 (DMN)	10	2	18.76	18.62±0.52
			18.04	
			19.06	
	16	16	7.02	6.61±0.62
			6.92	
			5.90	

a : ネットグレイン数とは細胞の核内グレイン数から核と同一面積の細胞質内グレイン数を引いたものである。

検体投与群の平均ネットグレイン数は、いずれも5未満の値であり、UDS誘発能は陰性と判断された。

一方、陽性対照物質のDMNを投与した2時間及び16時間の群ではそれぞれ平均ネットグレイン数が18.62及び6.61であり、明らかなUDSの誘発が見られた。

したがって、本試験はUDSの検出に十分な感度を有するものと判定された。

以上の結果から、本試験条件下ではカーバムはラットの肝発がんイニシエーター活性を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

4) ハムスターの肺線維芽細胞を用いた in vitro 細胞遺伝学的試験

(資料 No. 19)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1988年

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養(22代)した肺線維芽細胞を用いた。

非活性化法では有効成分として検体の濃度の24時間処理では4 μ g/ml、48時間処理では3 μ g/mlを上限とし、活性化法では、有効成分として200 μ g/mlを上限濃度とした。各濃度で200個の分裂中期像を観察し、染色体または染色体分体の構造的異常(ギャップ、切断、交換など)及び数的異常(倍数性)を調べた。異常を有する細胞の出現頻度は5%未満を(-)、5%以上10%未満を(±)、10%以上20%未満を(+)、20%以上50%未満を(++)、50%以上を(+++)とした。(+)以上の判定を有する細胞の出現率に用量依存性、または再現性が認められた場合を陽性とした。陽性対照にはマイトマイシンC (MMC)及びシクロホスファミド (CPA)を用いた。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

非活性化法では表1に示すように検体の1、2及び4 μ g/mlの24時間処理及び0.75、1.5及び3 μ g/mlの48時間処理では、染色体異常の出現は認められなかった。活性化法では表2に示すように検体の50、100及び200 μ g/mlを適用した場合S9-Mix添加で染色体異常の出現率はそれぞれ3.5%(-)、21.5%(++)及び91.5%(+++)であった。しかし、同様の方法でS9-Mixを添加しないで行った場合でも上記濃度の適用でそれぞれ12.4%(+)、12.9%(+)及び25.6%(++)の頻度で染色体異常が認められた。但し、このS9-Mix非添加試験では、毒性のため検査細胞数はそれぞれ97、116及び39と減少した。なお、陽性対照として用いたMMC及びCPAには明らかな染色体異常の誘発が認められた。また、今回の試験ではいずれも倍数体の出現は認められなかった。

以上のように本検体は、直接法では陰性を示したが、代謝活性化法ではS9-Mix添加群及び非添加群共用量相関性のある明確な染色体異常を示した。一方、陽性対照のMMCとCPAは明らかに染色体異常を誘発した。

このことから、検体はそれ自身染色体異常誘発能を有しているものの、検体そのものより代謝産物により強い誘発作用があるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験 1 : 非代謝活性化の場合の染色体異常試験結果

処 理	処理時間	濃 度 (μ g/ml)	染色体異常を有する細胞数と頻度 (%)							合計 * (%)	判定
			倍数 体数	キ・ヤツブ	染色分 体切断	染色分 体交換	染色体 切 断	染色体 交 換	断片化		
無処理	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
純 水 (溶媒)	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	48	0	0	0	0	0	0	1 (0.5)	0	1 (0.5)	-
検 体	24	1	2 (1.0)	0	0	1 (0.5)	0	0	0	1 (0.5)	-
		2	3 (1.5)	1 (0.5)	2 (1.0)	2 (1.0)	0	0	0	5 (2.5)	-
		4	7 (3.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0	0	0	0	2 (1.0)	-
	48	0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		1.5	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	0	0	0	2 (1.0)	-
		3	1 (0.5)	0	5 (2.5)	5 (2.5)	0	0	0	6 (3.0)	-
陽性対照 (MMC)	24	0.05	0	1 (0.5)	11 (5.5)	85 (42.5)	0	1 (0.5)	0	89 (44.5)	++
	48	0.025	0	3 (1.5)	38 (19.0)	61 (30.5)	0	2 (1.0)	0	90 (45.0)	++

* : 1 個の細胞中の数個の異常をもつ場合でも 1 個異常細胞として計数した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験 2 : 代謝活性化の場合の染色体異常試験結果

処 理	S-9 Mix 有無	濃 度 (μ g/ml)	染色体異常を有する細胞数と頻度 (%)							合計 * (%)	判定
			倍数 体数	キ・ヤツブ'	染色分 体切断	染色分 体交換	染色体 切 断	染色体 交 換	断片化		
無処理	-	0	0	2 (1.0)	1 (0.5)	0	0	0	0	3 (1.5)	-
	+	0	0	0	1 (0.5)	0	0	0	0	1 (0.5)	-
純 水 (溶媒)	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	+	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	0	0	0	0	2 (1.0)	-
検 体	-	50	3 (3.1)	7 (7.2)	6 (6.2)	5 (5.2)	1 (1.0)	2 (2.1)	0	12 (12.4)	+
		100	1 (0.9)	3 (2.6)	14 (12.1)	9 (7.8)	2 (1.7)	1 (0.9)	0	15 (12.9)	+
		200	0	5 (12.8)	7 (18.0)	7 (18.0)	2 (5.1)	1 (2.6)	0	10 (25.6)	++
	+	50	2 (1.0)	0	3 (1.5)	5 (2.5)	0	0	1 (0.5)	7 (3.5)	-
		100	4 (2.0)	1 (0.5)	21 (10.5)	28 (14.0)	0	1 (0.5)	0	43 (21.5)	++
		200	0	1 (0.5)	22 (11.0)	6 (3.0)	0	0	158 (79.0)	182 (91.0)	+++
陽性対照 (CPA)	-	5	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	+	5	0	3 (1.5)	21 (10.5)	24 (12.0)	0	0	0	44 (22.0)	++

* : 1個の細胞中の数個の異常をもつ場合でも1個異常細胞として計数した

5) マウスを用いた小核試験

(資料No. 19-1)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1999年

検体純度:

試験動物: Crj: CD-1(ICR)系マウス、1群雄6匹、投与開始時9週齢

試験方法: 検体を生理食塩液に溶解し、有効成分として0、62.5、125及び250mg/10mL/kgの用量で単回腹腔内投与した。投与後24、48及び72時間にマウスを屠殺して右大腿骨から骨髓細胞を摘出し、骨髓塗抹標本を作製して検鏡した。

1000個の総赤血球(RBC)を多染性赤血球(PCE)と正染性赤血球(NCE)とに区別し、骨髓細胞の増殖抑制の指標としてRBCに対するPCEの比率(%、PCE/RBC値)を求めた。さらに、小核を有する多染性赤血球(MNPCE)を測定し、その出現頻度(%)を算出した。MNPCEの出現頻度が陰性対照と比較して、統計学的に有意な増加又は用量依存性を伴う増加が認められた場合には陽性と判定した。

なお、陽性対照にはマイトマイシンC(MMC)を用いた。

濃度設定根拠;

試験結果: 結果を次頁の表に示した。

検体のいずれの用量においても、陰性対照群と比較して、MNPCEの出現頻度及びPCE/RBC値に統計学的に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群ではMNPCEの出現頻度が統計学的に有意に増加し、本試験が適正条件下で実施されたことが確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

化合物	投与量 (mg/kg)	検査 動物数	検査 PCE数	MNPCE の総数	MNPCE 出現頻度 (平均±S. D. %)	PCE/RBC値 (平均±S. D. %)	判定
陰性対照 (生理食塩液)	0	6	6000	9	0.15±0.05	47.03±1.38	
検 体	62.5	6	6000	7	0.12±0.04	47.33±2.81	-
	125	6	6000	10	0.17±0.05	47.37±1.56	-
	250	6	6000	8	0.13±0.05	48.30±1.56	-
陽性対照 (MMC)	2	6	6000	172	2.87±0.49 *	46.88±1.36	+

PCE：多染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

RBC：総赤血球

*：陰性対照に比較して有意差あり (Wilcoxonの順位和検定 $p < 0.01$)

+：陽性 -：陰性

以上の結果から、本試験条件下ではカーバムのマウス骨髄細胞に対する小核誘発作用は陰性と判断された。

(14) 生体機能への影響
カーバムにおける薬理試験

(資料 No. 20)

試験機関：
報告書作成年：1990年

検体純度： (投与量は純度換算値とした)

1) 中枢神経系に対する作用

① マウスにおける一般症状

供試動物：ICR系マウス、5～6週齢、体重：雄 30g前後 雌 25g前後
1群雌雄各5匹として各7群計70匹を用いた。

投与方法：Irwinの多元観察法に基づいて行った。検体は生理食塩水で希釈し25、50、100、200、400および800mg/kgを各群腹腔内投与した。対照群には溶媒を投与した。

結果：雄では25mg/kg群および50mg/kg群で自発運動の低下が認められ、100～400mg/kgの投与では運動性の抑制のほかに痛覚反応および触覚反応の亢進がみられ、さらに立毛、体温下降、眼裂狭小などの自律神経症状が認められた。800mg/kg群では中枢抑制性の症状のほかに挙尾反応、振戦などの中枢興奮性の反応もみられた。雌では雄における症状とほぼ同様であったが、低濃度群では運動性の亢進がみられ、高濃度群では抑制が認められた。雌の800mg/kg群では1例が死亡した。

② ウサギの自然脳波に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ 18～20週齢 体重：雄 3～3.5kgを3匹用いた。

投与方法：ペントバルビタールナトリウム麻酔下で皮質脳波用電極を前頭部、頭頂部および後頭部に植え込み、深部用の同芯円電極を扁桃核、海馬および中脳網様体に挿入した。人工呼吸下でガラミンを静注して不動化し脳波を記録した。検体は生理食塩水で希釈して25、50、100および150mg/kgを約30分の間隔で漸増的に耳静脈より投与した。

結果：150mg/kgの投与後、動物はまもなく死亡したが、その他の投与量では投与後、心拍数の低下に伴うとみられる低振幅化および徐波化が皮質脳波および深部脳波においてともに認められた以外に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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

③体温に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、15週齢、体重：雄 2.5kg前後

1群3匹として3群計9匹を用いた。

投与方法：日本薬局方の発熱性物質試験法によって行った。検体は生理食塩水で希釈して、30および100mg/kgを2群にそれぞれ耳静脈より投与した。対照群には溶媒を投与した。

結 果：100mg/kg群で投与後2時間以後に有意な低下が認められた。

2) 呼吸、循環器系に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、18～19週齢、体重：雄 3kg前後を3匹用いた。

投与方法：ウレタン麻酔下で呼吸運動、血圧、血流量、心拍数および心電図を測定した。検体は生理食塩水で希釈して0.1, 1, 10および100mg/kgを約1時間の間隔で漸増的に耳静脈より投与した。

結 果：100mg/kgの投与直後に一時的な心拍数の減少が起こり、血圧および血流量は増加した。呼吸は抑制傾向がみられた。ほかの投与量では増減に一定の傾向を持った変化は認められなかった。心電図には影響は認められなかった。

3) 自律神経系に対する作用

①瞳孔径に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、15週齢、体重：雄 2.5kg前後

1群3匹として3群計9匹を用いた。

投与方法：検体投与後5, 15, 30および60分に左右の瞳孔径を測定した。検体は生理食塩水で希釈して、30及び100mg/kgを2群にそれぞれ耳静脈より投与した。対照群には溶媒を投与した。

結 果：瞳孔径に対して影響は認められなかった。

②生体子宮運動に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、約60週齢、体重：雌 4.5kg経産を3匹用いた。

投与方法：ウレタン麻酔下で子宮に水を満たした小型バルーンを挿入し、自発運動を子宮内圧の変化として測定した。検体は生理食塩水で希釈して、6.3, 12.5, 25, 50および100mg/kgを約30分の間隔で累積的に耳静脈より投与した。

結 果：6.3および12.5mg/kgの投与では変化は認められなかったが、25mg/kg以上の投与で自然律動の周期および振幅が抑制された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

③ 摘出回腸に対する作用

供試動物：ハートレー系モルモット、7週齢、体重：雄 400g前後

投与方法：マグヌス法を用いて摘出回腸の収縮を等張性に記録した。検体は蒸留水で希釈して $7 \times 10^{-6} \sim 10^{-3}$ g/mlの濃度とし、0.2mlをタイロード液に添加した。

また、検体のみの作用のほかにアトロピン(最終濃度 2×10^{-5} g/ml)を前処理した場合の回腸の収縮も調べた。

結果：検体の 3×10^{-5} g/ml以上の単独添加で収縮作用が認められた。この収縮はアトロピンの前処理で抑制された。

④ 摘出輸精管に対する作用

供試動物：ウィスター系ラット、8週齢 体重：雄 250g

投与方法：マグヌス法を用いて摘出輸精管の収縮を等張性に記録した。検体は蒸留水で希釈して $1.5 \times 10^{-5} \sim 10^{-3}$ g/mlの濃度とし、0.2mlをタイロード液に添加した。また、検体のみの作用のほかに検体を前処理した輸精管のアドレナリン(最終濃度 10^{-6} g/ml)による収縮に対する影響も調べた。

結果：検体の 6×10^{-5} g/ml以上の濃度の単独添加で収縮作用が認められた。アドレナリンによる収縮に対して影響はみられなかった。

4) 消化器に対する作用

小腸輸送能に対する作用

供試動物：SD系ラット、7週齢、体重：雄200g前後、1群5匹として4群計20匹を用いた。

投与方法：検体投与30分後に炭末・アラビアゴムの各10%水懸濁液を経口投与した。

検体は生理食塩水で希釈し6.2, 25および100mg/kgを皮下投与した。対照群には溶媒を投与した。

結果：25mg/kg以上の投与群で炭末輸送能の有意な抑制が認められた。

5) 骨格筋に及ぼす作用

前脛骨筋収縮に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、18~20週齢、体重：雄 3~3.5kgを3匹用いた。

投与方法：ウレタン麻酔下で、左側の総腓骨神経および前脛骨筋を露出させ、それぞれ電気刺激して生ずる収縮を記録し、その収縮の検体投与による影響を調べた。検体は生理食塩水で希釈して、100mg/kgを耳静脈より投与した。

結果：100mg/kgの静脈内投与後30分まで観察したが、変化は認められなかった。

6) 血液に対する作用

①血液凝固に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ、10週齢、体重：雄 2.2～2.4kg

1群3匹として3群計9匹を用いた。

投与方法：Lee-White法変法に基づいて行った。耳静脈採血時より37℃の温浴中で凝固するまでの時間を測定した。検体は生理食塩水で希釈して、30および100mg/kgを2群にそれぞれ耳静脈より投与した。対照群には溶媒を投与した。

結果：血液凝固には影響は認められなかった。

②溶血作用

供試動物：日本白色種ウサギ、16週齢、体重：雄 2.4kg

投与方法：血液を心臓より採取し、これから赤血球の生理食塩水浮遊液を調製した。検体は最終濃度が0、1、10、50、100、500及び1000ppmとなるように生理食塩水で希釈したものを赤血球浮遊液に添加して、38℃、2時間インキュベーションした。2時間後に溶血度を肉眼的観察によって判定した。

結果：1000ppm(10⁻³g/ml)の濃度でも溶血は認められなかった。

以上の結果から、マウスの急性腹腔内投与の場合、雄では25mg/kgから、雌では50mg/kgから症状があらわれた。雌では800mg/kgが致死量の範囲となった。また、マウスの一般症状における中枢神経系に対する作用および自律神経症状、ウサギの循環系に対する作用、ウサギの体温下降、モルモットの摘出回腸の収縮作用とそのアトロピンによる抑制、さらにラット輸精管の収縮作用などが認められたので、これらの作用は検体化合物のコリン作動性の刺激作用によるとも考えられるが、ウサギの瞳孔およびウサギの前脛骨筋収縮に対しては影響がみられなかったことなど一貫した成績は得られなかったので特異性は低い。

今回の試験で得られた結果を次頁の表に総括した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

「生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 (1群)	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 一般症状 (ICR系マウス)	腹腔内 (生理食塩水)	25, 50, 100, 200, 400, 800	♂♀5	25	—	25及び50mg/kg投与群で自発運動の抑制、100、200及び400mg/kg投与群で痛覚反応及び触覚反応の亢進、さらに立毛、体温下降、眼裂狭小などの自律神経症状が認められた。800mg/kg投与群で中枢抑制の症状、挙尾反応及び中枢興奮性の反応がみられた。
脳波 (ウサギ)	耳静脈 (生理食塩水)	25, 50, 100, 150	♂3	25	—	150mg/kg投与では投与後死亡、その他の投与量では、心拍数の低下に伴う低振幅化及び徐波化が皮質脳波及び深部脳波において認められた。
体温 (ウサギ)	耳静脈 (生理食塩水)	30, 100	♂3	100	30	100mg/kg投与群で投与2時間後有意な体温下降が認められた。
呼吸及び循環系 (ウサギ)	静脈内 (生理食塩水) (ケタミン麻酔下)	0.1, 1, 10, 100	♂3	100	10	100mg/kg投与直後に一時的な心拍数の減少、血圧及び血流量が増加した。呼吸には抑制傾向がみられた。心電図に異常は認められなかった。
自律神経系 瞳孔径(ウサギ)	耳静脈 (生理食塩水)	30, 100	♂3	>100	100	30及び100mg/kg投与群に変化は認められなかった。
生体子宮運動 (ウサギ)	耳静脈 (生理食塩水) (ケタミン麻酔下)	6.3, 12.5, 25, 50, 100	♀3	25	12.5	25mg/kg以上の投与群で自然律動の周期及び振幅が抑制された。
摘出回腸 (モルモット)	<i>in vitro</i> 蒸留水 Tyrode液添加	7×10^{-6} $\sim 10^{-3}$	♂	$>3 \times 10^{-5}$ g/ml	—	検体の 3×10^{-5} g/ml以上の単独添加で収縮作用が認められた。この収縮作用はアトロピンの前処理で抑制された。
摘出輸精管 (ラット)	<i>in vitro</i> 蒸留水 Tyrode液添加	1.5×10^{-5} $\sim 10^{-3}$	♂	$>6 \times 10^{-5}$ g/ml	—	検体の 6×10^{-5} g/ml以上の単独添加で収縮作用が認められた。アドレナリンによる収縮は認められなかった。
消化器 小腸輸送能 (ラット)	皮下 (生理食塩水)	6.2, 25, 100	♂5	25	6.2	25mg/kg以上の投与群で炭末輸送能に有意な抑制が認められた。
骨格筋 前脛骨筋収縮 (ウサギ)	耳静脈 (生理食塩水)	100	♂3	>100	100	投与後30分まで観察したが変化は認められなかった。
血液凝固性 (ウサギ)	耳静脈 (生理食塩水)	30, 100	♂3	>100	100	血液凝固に影響は認められなかった。
溶血性 (ウサギ)	<i>in vitro</i> (生理食塩水)	0, 1, 10, 50, 100, 500, 1000ppm	♂	>1000 ppm	—	検体1000ppm (10^{-3} g/ml) 濃度で溶血作用は認められなかった。