

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

1. 原体

(1) 急性毒性

1) 急性経口毒性

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 1)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1986 年

検体の純度：

供試動物：ICR系マウス、5週齢、体重 雄 24.3~30.9g 雌 20.1~27.8g

1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を1%Tween80に懸濁して経口投与した。投与前に2時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重測定も実施した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	134, 161, 193, 232, 278, 333, 400
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 324 (295~355) 雌 313 (285~342)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後1時間から開始 投与後6日に終了
症状発現時間 及び消失時間	投与後1時間から発現 投与後6日に消失
死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	雄 193 雌 134

中毒症状としては、雌雄に関係なく鎮静、歩行異常及び歩行困難が観察された。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、体重においても検体投与に起因した変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 2)

試験機関 三共(株)安全性研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1988 年

検体の純度：

供試動物：F344系ラット、7週齢、体重 雄 132～166g 雌 104～124g、1群雌雄各 10 匹

観察期間：14 日間

方法：検体を 0.5%CMC に懸濁して経口投与した。投与前に 18 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重測定も実施した。

結果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雄 0, 420, 550, 710, 930, 1200 雌 0, 250, 320, 420, 550, 710
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 762 (670～866) 雌 456 (390～533)
死 亡 開 始 時 間 及 び 終 了 時 間	投与後 5 時間から開始 投与後 4 日に終了
症 状 発 現 時 間 及 び 消 失 時 間	投与後 30 分から発現 投与後 4 日に消失
死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	雄 550 雌 -

中毒症状としては、雌雄に関係なく呼吸不整、うずくまり、ふらつき歩行、歩行不能もしくは正向反射消失、体温低下及び流涙が観察された。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、各投与群雌雄とも、投与後 3 日に体重減少又は増加抑制が認められたが、以後回復傾向を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

イヌにおける急性経口毒性試験

(資料 5)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1987 年

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬、5～6 カ月齢、体重 雄 8.1～9.6kg 雌 7.7～8.4kg、1 群雌雄各 2 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体をゼラチンカプセル内に封入し、経口投与した。投与前に 1 晩絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重及び摂餌量を測定した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	100, 200, 400, 600
確実中毒量 (mg/kg)	雌雄とも 400
死亡開始時間 及び終了時間	投与後 2 日から開始 投与後 2 日に終了
症状発現時間 及び消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 3 日に消失
死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	雄 200 雌 600

中毒症状としては、雌雄に関係なく嘔吐、流涎、鎮静、振顫等が認められた。

死亡例は、雄の 400 及び 600mg/kg 群で各 1 例認められた。

200mg/kg 群で雄 2 例、雌 1 例、400mg/kg 群で雄 1 例、雌 2 例に投与後体重減少がみられたが、14 日目までに回復ないし増加が認められた。

摂餌量は、200mg/kg 以上の投与群で投与後 1～4 日間低値を示した個体が散見された。

剖検所見では、死亡例に肺の暗赤色化及び水腫、胃粘膜の赤色化及び偽膜様物付着等がみられたが、生存例では検体投与に起因すると考えられる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三井化学アグロ株式会社にある。

2) 急性経皮毒性

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 6)

試験機関 三共(株)安全性研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1988 年

検体の純度：

供試動物：F344系ラット、15週齢、体重 雄 288～321g 雌 171～188g、
1群雌雄各10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を粉碎後、注射用蒸留水を加え60% (w/w) 懸濁液とし、背中央部に24時間貼付した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重測定も実施した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0, 5000
LD50 (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

いずれの動物にも中毒症状は認められず、剖検所見においても主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、体重においても検体投与に起因した変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3) 急性吸入毒性

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 7)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1989 年

検体の純度 :

供試動物 : F344 系ラット、8 週齢、体重 雄 190~217g 雌 130~147g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間 : 28 日間

暴露方法 : 検体に賦形剤としてホワイトカーボンを 90 : 10 の割合 (検体含有率 88.7%) で混合し、さらに粉碎して、ターンテーブル型ダストフィーダーを用いてダストを発生させ、4 時間全身暴露させた。

暴露濃度 ;

群	名目濃度 (mg/L)	実測濃度 (mg/L)		
	検体	検体 + 賦形剤 ¹⁾	検体 ²⁾	賦形剤 ³⁾
投与群	4.12	1.12	0.98	0.13
	6.19	1.74	1.49	0.25
	11.58	2.36	2.10	0.27
	14.68	3.31	2.97	0.34
賦形剤対照群	2.51 ⁴⁾	—	—	0.61 ¹⁾

¹⁾ 重量測定

²⁾ 化学分析により測定

³⁾ 検体 + 賦形剤濃度及び検体濃度より算出

⁴⁾ 賦形剤濃度

暴露条件 ;

群	投与群				賦形剤対照群
検体実測濃度 (mg/L)	0.98	1.49	2.10	2.97	0.61
粒子径分布 (%) ⁵⁾ (μm)					
11.0 ~	13.4	27.2	21.6	23.2	7.2
7.0 ~ 11.0	10.5	13.7	14.8	16.1	5.6
4.7 ~ 7.0	27.7	23.5	28.1	27.4	14.9
3.3 ~ 4.7	30.0	21.9	22.3	21.4	23.1
2.1 ~ 3.3	12.9	9.4	8.9	7.9	15.8
1.1 ~ 2.1	4.7	3.6	3.4	3.1	15.2
0.65 ~ 1.1	0.8	0.6	0.8	0.7	11.5
0.43 ~ 0.65	0.0	0.1	0.0	0.1	4.4
0 ~ 0.43	0.0	0.1	0.0	0.1	2.4
空気力学的質量中位径 (μm)	4.9	6.3	5.7	5.9	2.8
チャンパー容積 (L)	380				
チャンパー内通気量 (L/分)	100				
暴露条件	ダスト 4 時間 全身暴露				

⁵⁾ アダグ-センサラーにより 3 回測定した平均

各投与群の粒度分布直線から、いずれの投与群においてもほぼ 90% 以上が 15 μm 以下の呼吸可能な粒子であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

観察・検査項目：暴露中及び暴露後 14 日間(一部の動物では最長 28 日間まで延長した)、中毒症状及び生死を観察した。体重測定も実施した。また、死亡動物及び試験終了時の全生存動物につき、肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投 与 方 法	吸 入
暴 露 濃 度 (mg/L)	0, 0.98, 1.49, 2.10, 2.97
LC50 (mg/L) (95%信頼限界)	雄 1.90 (1.61~2.24) 雌 2.80 (1.89~4.14)
死 亡 開 始 時 間 及 び 終 了 時 間	暴露後 1 時間から開始 暴露後 18 日に終了
症 状 発 現 時 間 及 び 消 失 時 間	暴露後 1 時間後から発現 消失せず
死亡例の認められなかつた最高暴露濃度 (mg/L)	雄 0.98 雌 -

死亡は、ほとんど暴露後 24 時間以内に認められた。

中毒症状としては性別に関係なく、暴露中では、閉眼及び遅くて深い呼吸が認められた。また、暴露後では、口鼻及び眼周囲の赤褐色の汚れ、異常姿勢、自発運動低下、陰部及び口鼻周囲の濡れ、よろめき歩行、眼球色の暗調化、流涙、陰部周囲の被毛の汚れ及び眼周囲の脱毛が観察された。

体重変化では、暴露後 7 日目には濃度依存性のある体重減少又は増加抑制が認められたが、14 日目にはほとんどの個体で増加が認められた。

また、暴露後 3 日目までの途中死亡例の剖検では、鼻吻部・陰部周囲の被毛の汚れ、喉頭・気管内白色内容物、眼脂又は流涙が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 8)

試験機関 ハンティンドン リサーチ センター
[GLP 対応]

報告書作成年 1990 年

検体の純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、約 9～11 週齢、体重 2.2～2.5kg、
1 群雌 6 匹

観察期間：4 日間

投与方法：検体約 0.5g を刈毛した動物の腰背部皮膚 (2.5cm 四方) に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は水で洗い流した。

観察項目：暴露終了後 1 日 (約 30 分後)、2、3 及び 4 日に臨床症状及び適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、農水省ガイドラインに従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は下表の通りである。

項目	最高 評点	暴露後時間			
		1 日	2 日	3 日	4 日
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は 6 匹の平均値である。

観察期間中を通して、刺激性変化及び臨床症状は認められなかった。

以上の結果から、ミルベメクチン原体はウサギの皮膚に対して、刺激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三井化学アグロ株式会社にある。

2) 眼刺激性

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 9)

試験機関 ハンティンドン リサーチ センター
[GLP 対応]

報告書作成年 1990 年

検体の純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、約 11～13 週齢、体重 2.4～2.9kg、
1 群雌 6 匹

観察期間：7 日間

投与方法：検体約 70mg (0.1mL 相当) を片眼に適用した。

観察項目：適用後 1 時間、1、2、3、4 及び 7 日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインに従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は下表の通りである。

項目	最高 評点	適用後時間					
		1 時間	1 日	2 日	3 日	4 日	7 日
角膜混濁	4	0	0.2	0.2	0	0	0
虹彩	2	0	0	0	0	0	0
結膜	発赤	3	1.0	0.5	0.2	0	0
	浮腫	4	1.0	0.2	0	0	0

注) 表の点数は 6 匹の平均値である。

適用 1 時間後に評点 1 の結膜の発赤及び浮腫が全動物にみられた。

内 1 動物では陽性反応 (評点 1 の角膜混濁及び評点 2 の結膜発赤) が認められたが、適用 2 あるいは 3 日後に消失した。

以上の結果から、ミルベメクチン原体は、ウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性があるものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 10)

試験機関 ハンティンドン リサーチ センター
[GLP 対応]

報告書作成年 1990 年

検体の純度 :

供試動物 : Dunkin/Hartley 系白色モルモット、体重 339~426g、1 群雌 10 匹

観察期間 : 72 時間

試験操作 : [Buehler 法]

用量設定の根拠 ; 検体をアセトンに懸濁し、10、30、50 及び 70%w/w の濃度で局所刺激性を試験した結果、いずれの濃度でも刺激性変化は認められなかった。従って、70%w/w アセトン溶液を感作及び惹起濃度とした。

感作 ; 左肩部位を刈毛し、検体の 70%w/w アセトン溶液約 0.5mL をしみ込ませたガーゼパッチ (2×2cm) を約 6 時間閉塞貼付した。1 週間ごとに計 3 回同様に行った。

惹起 ; 右側腹部を刈毛し、最終感作の 2 週間後に検体の 70%w/w アセトン溶液約 0.5mL をしみ込ませたガーゼパッチ (2×2cm) を約 6 時間閉塞貼付した。一方、陽性対照としてホルマリンを用いてハンティンドン リサーチ センターで実施した試験を参照した (附表 3 参照)。

観察項目 : 惹起 24、48 及び 72 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、下記判定基準に従って採点した。

第 1 回感作日及び観察終了時に各動物の体重を測定した。

[判定基準]

紅斑及び痂皮の形成	
紅斑なし	0
軽度の紅斑	1
はっきりした紅斑	2
中等度の紅斑	3
重度の紅斑 (beet redness) から 僅かな痂皮の形成 (深部損傷) まで	4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

浮腫の形成

浮腫なし	0
軽度の浮腫	1
はっきりした浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別出来る)	2
中等度浮腫 (約 1mm の膨隆)	3
高度浮腫 (1mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作 惹起		供試動物数	感作反応動物数									陽性率					
				24 時間後			48 時間後			72 時間後			24 時間	48 時間	72 時間			
				皮膚反応評点			皮膚反応評点			皮膚反応評点								
				0	1	2 3 4	計	0	1	2 3 4	計	0	1	2 3 4	計			
検体	70%検体	70%検体	10	10			0/10	10			0/10	10			0/10	0%	0%	0%
	アセトン	70%検体	10	10			0/10	10			0/10	10			0/10	-	-	-
陽性対照①	30%ホルマリン	15%ホルマリン	10				10/10				10/10				10/10	100%	100%	100%
	蒸留水	15%ホルマリン	10				0/10				0/10				0/10	-	-	-

① 定期的に実施した陽性対照を参照した (1990 年 5 月 14 日～6 月 14 日に実施)

検体処理群では、処理群及び対照群ともに陽性反応は認められなかった。

以上の結果から、ミルベメクチン原体の皮膚感作性は陰性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三井化学アグロ株式会社にある。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 11)

試験機関 コーヴァンス ラボラトリーズ
[GLP 対応]
報告書作成年 2001 年

検体の純度 :

供試動物 : Dunkin-Hartley 系モルモット、約 4~9 週齢、体重 315~405g、
1 群雌各 10~20 匹

観察期間 : 48 時間

試験操作 : [Maximisation 法]

用量設定の根拠 ; 検体の 0.5、1、2、3、4 及び 5% m/v*濃度で皮内注射暴露の結果、中程度以上の刺激反応は認められなかった。また、7.5、15、30、55% m/m 及び 10、25、40、55% m/m 濃度で局所投与暴露の結果、刺激反応は認められなかった。従って、皮内注射感作暴露では 5% m/v、局所投与感作暴露及び惹起では 55% m/m 濃度とした。

感 作 : 背部皮膚を刈毛し、背部中心線の両側にそれぞれ平行して 3 対の皮内注射 (部位当り約 0.1mL) を行った。上部には FCA、中間部には検体の 5% m/v10% DMSO 含有落花生油液、後部には検体の 5% m/vFCA 液を皮内注射した。対照群には上部には FCA、中間部に賦形剤 (10% DMSO 含有落花生油)、後部には賦形剤 50% v/vFCA 液を皮内注射した。試験 8 日に検体の 55% m/m 落花生油液または落花生油 (対照群) 約 2mL を 48 時間閉塞貼付した。

惹 起 : すべての動物を対象として、試験 22 日に刈毛、剃毛した両側腹部の左側腹部に検体の 55% m/m 落花生油液約 1mL を、また、右側腹部に検体の 25% m/m 落花生油液約 1mL を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目 : 惹起 24 及び 48 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。また、毎日臨床徴候を観察し、試験 1 日の投与前及び 25 日に体重を測定した。

判定基準

紅斑なし	0
軽度の紅斑	1
はっきりとした紅斑	2
中等度の紅斑	3
重度の紅斑 (ビート様赤色)	4

* m/v : mass/volume

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作		供試動物数	感作反応動物数						陽性率			
				24 時間後			48 時間後			24 時間	48 時間		
				皮膚反応評点			皮膚反応評点						
0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計		
検体 ①	5%・55% 検体	55%・25% 検体	20	20			0/20	20			0/20	0%	0%
	賦形剤		10	10			0/10	9	1*		1/10	0%	10%
陽性 対照 ②	0.3%・100% α-HCA	100%・50% α-HCA	10	4	6		6/10	4	6		6/10	60%	60%

① 賦形剤：10%DMSO 含有落花生油

② 定期的に実施した陽性対照を用いた（試験終了日 2001年3月30日）。

陽性対照物質：α-hexyl cinnamic aldehyde

賦形剤：Alembicol D

* 右側腹部のみに紅斑及び落屑が観察された。

検体処理群では全く皮膚反応は認められなかった。検体対照群の1例の低用量投与部位に軽度の紅斑及び落屑が認められたが、本所見は有意ではなかった。また、臨床症状及び体重増加に異常は認められなかった。

以上の結果から、ミルベメクチン原体の皮膚感作性は陰性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三井化学アグロ株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 12)

試験機関 コーヴァンス ラボラトリーズ
[GLP 対応]

報告書作成年 1998 年

検体の純度：

供試動物：CrI:CD (SD) BR VAF/Plus 系ラット、開始時 5 週齢、1 群雌雄各 5~10 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 0.5%CMC 溶液に懸濁して、0、20、100 及び 500mg/kg の用量で単回経口投与した。投与は 2 日間に分けて行い、各群の半数 (5 匹) について投与した。最初の日に 500mg/kg を投与した雌 5 匹が死亡したため、500mg/kg 投与群の残りの雌 5 匹への投与量を変更し、これら 5 匹と代替用の 3 匹に 60mg/kg の用量で投与した。投与前に動物を一晩絶食させた。

使用動物数を下表に示す。

投与量 (mg/kg)		0	20	60	100	500
使用動物数	雄	10	10	0	10	10
	雌	10	10	8	10	5

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (mg/kg)		0	20	60	100	500
死亡率 (%)	雄	0	0	—	0	0
	雌	0	0	0	10	100

一般状態；一般状態を毎日観察した。

認められた所見を下表に示す。

性 別	雄				雌				
	投与量 (mg/kg)	0	20	100	500	0	20	60	100
症状\検査動物数	10	10	10	10	10	10	8	10	5
振戦	1	0	0	3	0	0	1	2	1
運動失調	0	0	1	5	0	0	1	4	0
活動低下	0	0	1	6	0	0	1	4	0
横臥	0	0	0	2	0	0	1	3	3
呼吸不整	1	0	1	6	0	0	1	3	2
呼吸困難	0	0	0	0	0	0	0	1	1

振戦、運動失調、呼吸不整等の症状が投与日に 60mg/kg 以上の投与群雌雄で認められ、検体投与に関連した変化であることが示唆されたが、対照群の雄

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

1 例にも観察されており、検体の中枢神経系に及ぼす直接的な作用ではないと判断された。また、これらの臨床徴候はいずれも投与日以降にまで持続することはなかった。

体重変化；投与開始前、投与 1、8、15 日及び剖検時にすべての生存動物の体重を測定した。また、体重増加量も算出した。

500mg/kg 投与群雄で、1-8 日間の体重増加量の有意な低下 (Dunnett 多重比較 t-検定) が認められた以外、対照群及び投与群ともに同等であった。

摂 餌 量；全生存動物の摂餌量を週 1 回測定した。

観察期間を通して全ての群で同等であった。

機能観察検査；投与開始前、投与 1 日の投与約 1 時間後、投与 8 及び 15 日にすべての生存動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

ホームケージ (姿勢・活動性・体緊張性・振戦・痙攣・発声・ケージ開扉時の覚醒)

ケージ取出し時 (取出し易さ・取扱い易さ・発声・眼瞼閉鎖・眼球突出・流涙過多・流涎過多・呼吸・被毛の外観・立毛・苦悶)

オープンフィールド (第一歩までの時間・毛づくろい・立ち上り・排尿・排便・姿勢・異常歩行のタイプ及び重度・活動性・常同行動・体緊張性・振戦・痙攣・他の異常行動)

反射作用及び生理学的項目 (接近反応・接触反応・カタレプシー症状・瞳孔状態・瞳孔反応・角膜反応・驚愕反応・空中正向反射・鎮痛反射・握力・後肢開脚幅・体温)

対照群と比べ統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	投与量 (mg/kg)	20			100			雄 500		雌 60
	検査時期 (日)	1	8	15	1	8	15	1	8	15
雄	毛づくろい数					↑*				
	握力 (前肢 2 回目)							↓ 74		
	握力 (後肢 2 回目)		↑ 131							
	握力 (後肢 1 回目)			↑ 140						
雌	体温							↓ 99		
	体温		↓ 99			↓ 99				

Dunnett 多重比較 t-検定 ↑ ↓ p<0.05

* 対照群値が 0 のため算出できず

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

検体投与に関連した所見として、500mg/kg 投与群の雌でケージ内でのうずくまり姿勢、活動不活発、角膜反応の欠如を伴う接近または接触に対する無反応及び空中正向反射の欠如等が観察されたが、これらの所見は神経毒性の徴候とみなすよりはむしろ、500mg/kg での雌における検体の毒性に起因した変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

500mg/kg 投与群雄でみられた握力の低下は、同群の全体的な自発運動量の減少と相関していた。他の統計学的に有意な変動は、用量相関性がみられず、正常な生物学的変動の範囲内と考えられた。

自発運動量；各機能観察検査終了後に、各動物の自発運動量を 40 分間測定した。

対照群と比べ統計学的有意差が認められた自発運動量データを下表に示す。

性別	投与量 (mg/kg)	20			100			雄 500		雌 60
		検査時期 (日)			1	8	15	1	8	15
雄	0-10 分				↓ 58			↓ 36		
	10-20 分				↓ 19					
	20-30 分	↓ 26			↓ 16			↓ 34		
	30-40 分									
	0-40 分	↓ 69			↓ 42			↓ 37		
雌	0-10 分	↓ 69			↓ 27			↓ 52		
	10-20 分									
	20-30 分									
	30-40 分									
	0-40 分	↓ 68			↓ 33			↓ 54		

Dunnett 多重比較 t-検定 ↑ ↓ p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

雌雄ともに、投与 1 日にのみ自発運動量の低下が認められた。

肉眼的病理検査；死亡動物及び試験終了時の全生存動物を対象として検査した。

検体投与に関連した所見は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に対照群雌雄各 6 匹、500mg/kg 投与群雄 6 匹及び 100mg/kg 投与群雌 6 匹を対象として、ペントバルビタールナトリウムで麻酔し、10% リン酸緩衝ホルマリン溶液で灌流し、下記組織について病理標本を作製し、鏡検した。

嗅球、前脳、尾状核、視床下部／視床、中脳、小脳、髄、下垂体、脊髓 (頸部・胸部・腰部)、頸部後根神経節、腰部後根神経節、三叉神経節、左眼、視神経 (左)、坐骨神経 (左)、脛骨神経 (左)、腓腹神経 (左)、前脛骨筋 (左)、腓腹筋 (左)、肉眼的病変

下線の組織についてはエポキシ樹脂で包埋し、トルイジン ブルーで染色した。その他はパラフィン包埋し、ヘマトキシリン-エオジンで染色した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

検体投与に関連した所見は認められなかった。

変性した軸索が散見され、種々の末梢神経節内に遊離神経線維の短い分節が観察されたが、本系統及び日齢のラットで正常な動物にも通常みられるものであり、投与群と同様に対照群でも認められた。

以上の結果から、本剤のラットに対する強制経口投与による急性神経毒性試験における影響として、雌の 100 及び 500mg/kg 投与群の死亡を含め 60mg/kg 以上の投与群雌雄で種々の臨床徴候がみられ、20mg/kg 以上の投与群雌雄で自発運動量の低下が認められた。この内、20mg/kg 投与群でみられた自発運動量の低下は一過性であり、一般状態、機能観察検査及び神経病理学的変化を伴わなかったため神経毒性とは判断しなかった。そのため、本試験における無毒性量は雌雄とも 20mg/kg 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三井化学アグロ株式会社にある。

(5) 90 日間反復経口投与毒性

マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 13)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1987 年

検体の純度：

供試動物：ICR 系マウス、開始時 5 週齢、1 群雌雄各 12 匹

投与期間：13 週 (1986 年 4 月 17 日～7 月 24 日)

投与方法：検体を 0、500、1000、2000 及び 4000ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定の根拠；

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。

4000ppm 投与群雌で、切歯の伸長が 2 例に認められたが、発生例数が少なく検体投与に起因する影響かどうか判定できなかった。4000ppm 投与群雄及び 2000ppm 以下の投与群では特記すべき変化は認められなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	500	1000	2000	4000
死亡率 (%)	雄	0	0	0	8.3	0
	雌	0	0	8.3	0	0

いずれの群においても死亡は少なく、投与による影響は認められなかった。

体重変化；投与開始から毎週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

対照群と比べ 2000ppm 投与群雄で 2、3 週時に、4000ppm 投与群雌雄で投与期間を通して体重増加抑制を認めた (Dunnett 又は Scheffé の多重比較法) 以外、検体投与に伴う変化はなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

対照群と比べ、摂餌量の減少が 2000ppm 投与群雄で 1 週目及び 4000ppm 投与群雌雄で投与期間を通して認められた (Dunnett 又は Scheffé の多重比較法)。また、4000ppm 投与群雌雄の食餌効率は、投与期間中ほとんど低値で推移した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		500	1000	2000	4000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	56.8	113	226	439
	雌	68.1	138	286	499

血液学的検査；投与終了後に全生存動物を対象として、後大静脈から採血して以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、色素量、赤血球数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数、白血球百分率

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別 投与量 (ppm)	雄				雌			
	500	1000	2000	4000	500	1000	2000	4000

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↓ $p < 0.05$ ↓ $p < 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

2000ppm 及び 4000ppm 投与群雌で軽度の貧血の症状が認められた。一方、4000ppm 投与群雄において認められた平均赤血球色素量の減少は、他の赤血球関連項目に変化がなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

ALP、GOT、GPT、総蛋白、血糖、尿素窒素、総コレステロール、カルシウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別 投与量 (ppm)	雄				雌			
	500	1000	2000	4000	500	1000	2000	4000

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↓ $p < 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

4000ppm 投与群雌で総蛋白及びカルシウムの低下が認められたが、その毒性的意義は不明であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

尿検査；投与後 13 週時に全生存動物から採尿し、以下の項目を検査した。

比重、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	500	1000	2000	4000	500	1000	2000	4000

Mann-Whitney の U test * $p < 0.05$

4000ppm 投与群雌の潜血が陰性傾向を示したが、その毒性学的意義は不明であった。

臓器重量；試験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。

脳、肝、腎、副腎、精巢

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	500	1000	2000	4000	500	1000	2000	4000

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 $\uparrow\downarrow$ $p < 0.05$ $\uparrow\downarrow$ $p < 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

2000ppm 及び 4000ppm 投与群雌雄で変化が認められたが、臓器重量及び対体重比が同一方向へ変化したものはなく、いずれも体重減少に伴う変化であると考えられた。

肉眼的病理検査；途中死亡及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

Fisher の直接確率計算法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられなかった。検体投与による影響と考えられる異常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、下記組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳、脊髄、末梢神経、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体、副腎、脾、骨・骨髄、リンパ節、心、大動脈、唾液腺、食道、胃、肝、胆のう、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎臓、膀胱、精巢、精巢上体、前立腺、精のう及び凝固腺、卵巣、子宮、眼球及びハーダー腺、骨格筋、皮膚、乳腺(雌のみ)、肉眼的異常部位(正常組織との境界部も含む)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

Fisher の直接確率計算法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられなかった。いずれの投与群にも検体投与の影響と考えられる異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する 13 週間飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、2000ppm 投与群雄及び 4000ppm 投与群雌雄に摂餌量減少を伴う体重増加抑制、4000ppm 投与群雌雄に食餌効率の低下、また、2000ppm 及び 4000ppm 投与群雌に軽度の貧血がみられたので、無毒性量は雌雄とも 1000ppm (雄 113mg/kg/day、雌 138mg/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三井化学アグロ株式会社にある。

ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 14)

試験機関 三共(株)安全性研究所
[GLP 対応]
報告書作成年 1986 年

検体の純度：

供試動物：F344 系ラット、開始時 6 週齢、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：13 週（1986 年 1 月 20 日～4 月 23 日）

投与方法：検体を純度補正し、0、375、750、1500 及び 3000ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定の根拠：

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。

3000ppm 投与群雌雄では眼瞼の汚れ、過敏、歩行のふらつきなどが観察され、1500ppm 投与群雌雄では一過性の眼瞼の汚れが観察された。また、3000ppm 投与群雌雄全例に、投与後 3 週時頃より異常な上下前歯の伸長が認められたため、定期的に切除した。

投与期間を通していずれの群においても死亡例は認められなかった。

体重変化；投与開始から毎週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

対照群と比べ、3000ppm 投与群雌雄では、試験期間を通して体重減少を含む増加抑制が認められた (t-検定法) が、他の投与群では検体投与に伴う変化は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

対照群と比べ 3000ppm 投与群雌雄で、試験期間を通して摂餌量の減少が認められた (t-検定法)。また、3000ppm 投与群雌雄の食餌効率では、摂餌量減少に関連したと考えられる変動が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		375	750	1500	3000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	24.96	49.09	100.70	213.48
	雌	27.80	55.74	116.09	230.84

血液学的検査；投与終了後に全生存動物を対象として、腹部大静脈から採血し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、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)、網赤血球数、血小板数、白血球数、白血球百分率、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、フィブリン濃度

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別 投与量 (ppm)	雄				雌			
	375	750	1500	3000	375	750	1500	3000

t-検定 ↑↓ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

1500ppm 以上の投与群雄及び 750ppm 以上の投与群雌で赤血球数の高値、血色素量及びヘマトクリット値の低値を認めた。さらに、750ppm 以上の投与群雄及び 375ppm 以上の投与群雌で赤血球恒数の低値を認めた。また、3000ppm 投与群雌雄の網赤血球数、1500ppm 以上の投与群雌雄の白血球数及び血小板数が高値を示した。これらの変化は検体投与の影響によるものと考えられた。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、ALP、血糖、総ビリルビン、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、A/G 比、尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別 投与量 (ppm)	雄				雌			
	375	750	1500	3000	375	750	1500	3000

t-検定 示↓ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

3000ppm 投与群雌雄で ALP、カリウムの上昇、カルシウムの低下が認められた。
 750ppm 及び 1500ppm 投与群雄、750ppm 以上の投与群雌で総コレステロールの上昇、
 また、750ppm 及び 1500ppm 投与群雄、1500ppm 以上の投与群雌でナトリウムの低下が認められた。これらの変化は検体投与の影響によるものと考えられた。

尿 検 査；投与後 12 週時に全生存動物を対象として尿を採取し、以下の項目を検査した。

pH、蛋白質、ケトン体、ブドウ糖、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン
 各検査項目とも対照群と投与群間に差は認められなかった。

眼科学的検査；投与後 12 週時に、全例について眼底を含め検査を行った。

各投与群とも、検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

臓器重量；試験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。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、心、肺、肝、腎、脾、副腎、
 精巣、卵巣、子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

性 別	雄				雌			
	375	750	1500	3000	375	750	1500	3000
投与量 (ppm)								

t-検定 ↑↓ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

臓器重量及びその対体重比が一定方向に変化し、検体投与の影響と考えられる増加変化は、雄では1500ppm投与群の肝、右腎、脾、左副腎、3000ppm投与群の左右副腎、雌では1500ppm投与群の肝、左右腎、左右副腎に認められた。減少変化は、3000ppm投与群雌の子宮に認められた。そのほか、3000ppm投与群で認められた変化は、摂餌量減少に伴う臓器重量減少や低体重に伴う臓器重量対体重比の増加であった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

各投与群とも、検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

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標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、心、肺、肝、腎、脾、副腎、精巣、卵巣、子宮、顎下腺、皮膚、乳腺(雌のみ)、気管、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膵、腸間膜リンパ節、前立腺、精のう、膀胱、胸骨、骨格筋、骨髄、大動脈、精巣上体、脊髄*、坐骨神経*、眼球*(ハーダー腺を含む)

[*は対照群及び 3000ppm 投与群についてのみ実施した。]

さらに、対照群及び 1500ppm 投与群の雌雄各 2 匹ずつを対象として、肝及び腎の超薄切片を作製し、電子顕微鏡を用いて検査した。

認められた主要な所見を下表に示す。

性 別	雄					雌				
	0	375	750	1500	3000	0	375	750	1500	3000
投与量 (ppm)										

1500ppm 以上の投与群雌雄で肝細胞の肥大、脾及び骨髄における造血活性の亢進、副腎束状帯細胞の肥大が観察された。さらに 3000ppm 投与群雌雄で胸腺の退縮がみられた。

電子顕微鏡検査では、1500ppm 投与群雄に滑面小胞体 (SER) の増生を伴った肝細胞の肥大を認めた。

以上の結果から、本剤のラットに対する 13 週間飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、750ppm 以上の投与群雌雄で血液学的及び血液生化学的検査項目に変化がみられ、375ppm 投与群雌では赤血球恒数にのみ低値を認めた。

また、1500ppm 以上の投与群雌雄で一般状態の異常、肝・副腎などの臓器重量の変化、肝細胞の肥大・脾及び骨髄の造血活性の亢進などの病理組織学的変化が、3000ppm 投与群雌雄で体重増加抑制、摂餌量減少、食餌効率の変動がみられたので、無毒性量は雄に関しては 375ppm (24.96mg/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三井化学アグロ株式会社にある。

イヌを用いたカプセル投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 15)

試験機関 (財) 残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成年 1988 年

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬、開始時 6 カ月齢、体重 雄 8.3~9.5kg 雌 8.1~9.2kg、
1 群雌雄各 4 匹

投与期間：13 週 (1986 年 10 月 21 日~1987 年 1 月 27 日)

投与方法：検体をゼラチンカプセルに封入し、0、3、10 及び 30mg/kg/day の投与量で、13 週間にわたって経口投与した。

用量設定の根拠：

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。

30mg/kg 投与群雌雄では、飼料嘔吐、鎮静、歩様蹣跚、頭部の震え、流涎及び眼漏が、雄では一時的な消瘦 (1 例のみ) が認められ、10mg/kg 投与群雌雄では飼料嘔吐、雄では流涎が認められた。Fisher の直接確率計算法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられなかった。

試験期間中には、いずれの群においても死亡例は認められなかった。

体重変化；投与開始前、その後毎週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

対照群と比べ、30mg/kg 投与群雌雄でほぼ投与期間を通して体重増加抑制が認められた (Dunnett 又は Scheffé の多重比較法)。他の投与群では、検体投与に伴う変化は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

対照群と比べ、30mg/kg 投与群雌雄で摂餌量の軽度な減少がほぼ試験期間を通して認められた (Dunnett 又は Scheffé の多重比較法)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

血液学的検査；投与開始前、投与後7及び13週時に、全生存動物を対象として、一晚絶食後、
橈側皮静脈から採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、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)、血小板数、白血球数、白血球
百分率

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差は
みられなかった。各検査時期また各投与群とも、検体投与による影響と考えられ
る異常は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測
定を行った。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G 比、ALP、尿素窒素、クレアチニン、
血糖、総コレステロール、GOT、GPT、GGTP (γ-グルタミルトランスペプチダ
ーゼ)、総ビリルビン、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雌								
	0 週			7 週			13 週		
検査時期									
投与量 (mg/kg)	3	10	30	3	10	30	3	10	30

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↑ p<0.05 ↑ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与後7週時に3及び10mg/kg投与群雌で総ビリルビンの増加が認められたが、
13週時や雄では認められず、さらに、30mg/kg投与群にも認められないことから、
偶発的な変化と考えられた。

尿 検 査；投与開始前及び投与後13週時に、全生存動物を対象として採尿し、以下の項目を
検査した。

尿量、尿沈渣、外観、比重、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロ
ビリノーゲン、ビリルビン

Mann-Whitney のU検定を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられなかつ
た。各投与群とも検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与後13週時に、全例について眼底を含め検査を行った。

各投与群とも、検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

臓器重量；試験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。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心、肝、脾、脾、腎、副腎、精巣、卵巣、
前立腺

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

性 別 投与量 (mg/kg)	雄			雌		
	3	10	30	3	10	30

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↓ $p < 0.05$ ↑ $p < 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

30 mg/kg 投与群雄で脳及び副腎重量対体重比の増加が認められたが、絶対重量では変化は認められず、病理組織学的検査においても異常が認められないことから、低体重に伴う変化であると考えられた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

Fisher の直接確率計算法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられなかった。検体投与による影響と考えられる異常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標本を作製し、鏡検した。

脳、脊髄、末梢神経、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体、副腎、脾、骨・骨髓、リンパ節、心、大動脈、唾液腺、食道、胃、肝、胆のう、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(主要気管支を含む)、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、眼球、骨格筋、皮膚、乳腺(雌のみ)、
肉眼的異常部位

Fisher の直接確率計算法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられなかった。いずれの投与群にも検体投与の影響と考えられる異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤のイヌに対する 13 週間カプセル投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、10 及び 30mg/kg 投与群雌雄に一般状態の異常、30mg/kg 投与群雌雄に体重増加抑制及び摂餌量の軽度な減少がみられたので、無毒性量は雌雄ともに 3 mg/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三井化学アグロ株式会社にある。

(6) 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた飼料混入投与による 13 週間反復経口投与神経毒性試験

(資料 16)

試験機関 コーヴァンス ラボラトリーズ
[GLP 対応]

報告書作成年 1998 年

検体の純度：

供試動物：CrI:CD(SD)BR VAF/Plus 系ラット、開始時 6 週齢、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：13 週間 (1997 年 8 月 15 日～11 月 19 日)

投与方法：検体を 0、150、375 及び 750ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

申請者注) 資料 14 のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験結果を参考として用量を設定した。

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を毎日観察した。

死亡は認められなかった。

一般状態；一般状態を毎日観察した。

検体投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

体重変化；投与開始前、投与開始日、その後は週 1 回すべての動物の体重を測定した。また、体重増加量も算出した。

750ppm 投与群雌で、1-2 週の体重増加量の有意な低下が認められた以外、対照群及び投与群で同等であった。

摂餌量；全動物の摂餌量を週 1 回測定した。

検体投与に関連した影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		150	375	750
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	12.349	31.963	59.357
	雌	13.383	35.613	72.416

機能観察検査；投与開始前、投与 4、8 及び 13 週にすべての動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

ホームケージ (姿勢・活動性・体緊張性・振戦・痙攣・発声・ケージ開扉時の反応)

ケージ取出し時 (取出し易さ・取扱い易さ・発声・眼瞼閉鎖・眼球突出・流涙過多・流涎過多・呼吸・被毛の外観・立毛・苦悶)

オープンフィールド (第一歩までの時間・毛づくろい・立ち上り・排尿・排便・姿勢・異常歩行のタイプ及び重度・活動性・常同行動・体緊張性・振戦・痙攣・他の異常行動)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

反射作用及び生理学的項目 (接近反応・接触反応・カタレプシー症状・瞳孔状態・瞳孔反応・角膜反応・驚愕反応・空中正向反射・鎮痛反射・握力・後肢開脚幅・体温)

対照群と比べ統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	投与量 (ppm)	150			375			750		
	検査時期 (週)	4	8	13	4	8	13	4	8	13

Dunnett 多重比較 t-検定 ↑ ↓ $p < 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

検体投与に関連した所見は認められなかった。

750ppm 投与群雄で認められた排尿回数の増加は、雌ではみられず、また 13 週の対照群値が他の週に比べ少ないことから、生物学的変動範囲内と考えられた。

また、150ppm 投与群雄で認められた握力の減少は高用量群では認められず、検体投与に関連した変動ではなかった。

自発運動量；各機能観察検査終了後に、各動物の自発運動量を 40 分間測定した。

検体投与に関連した変動は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物を対象として検査した。

検体投与に関連した所見は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に対照群及び 750ppm 投与群の雌雄各 6 匹を対象として、ペンタバルビタールナトリウムで麻酔し、10%リン酸緩衝ホルマリン溶液で灌流固定し、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

嗅球、前脳、尾状核、視床下部／視床、中脳、小脳、髄、下垂体、脊髓 (頸部・胸部・腰部)、頸部後根神経節、腰部後根神経節、三叉神経節、左眼、視神経 (左)、坐骨神経 (左)、脛骨神経 (左)、腓腹神経 (左)、前脛骨筋 (左)、腓腹筋 (左)、肉眼的病変

下線の組織についてはエポキシ樹脂で包埋し、トルイジン ブルーで染色した。

その他はパラフィン包埋し、ヘマトキシリン-エオジンで染色した。

検体投与に関連した所見は認められなかった。

軸索変性及びミエリン変性が時に認められたが、ほとんどは末梢神経節内の神経線維の短いセグメントであり、本系統及び週齢のラットに一般的にみられ、対照群及び投与群ともに認められた。

以上の結果から、本剤のラットに対する 13 週間飼料混入投与による反復経口投与神経毒性試験における影響は 750ppm までの用量では認められず、本剤の神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 750ppm (雄 59.357mg/kg/day、雌 72.416mg/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三井化学アグロ株式会社にある。

(7) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 17)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1989 年

検体の純度：

供試動物：ICR系マウス、開始時5～6週齢、1群雌雄各60匹、投与後52週時に各群雌雄10匹ずつを中間屠殺した。

投与期間：96週間（1986年10月17日～1988年8月25日）

投与方法：検体を0、20、200及び2000ppmの濃度で飼料に混入し、96週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に2～3回調製した。

用量設定の根拠：

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。

2000ppm投与群雌雄で、切歯伸長が認められた(Fisherの直接確率計算法)。また、20ppm投与群雄で呼吸緩徐の増加が認められたが、非特異的なもので検体投与の影響とは考えられなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)	0	20	200	2000

生命表解析で検定した。

各投与群の死亡率は対照群と同程度であった。

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、2000ppm投与群の雄では試験期間を通して体重増加抑制傾向、雌では試験期間初期より体重増加抑制が認められた(Dunnett又はSchefféの多重比較法)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量(ケージ別)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、食餌効率も算出した。

2000ppm投与群雌では、散発的に有意な摂餌量の減少がみられ(Dunnett又はSchefféの多重比較法)、全試験期間の平均摂餌量が対照群に比し10%低下した。

2000ppm投与群雄及び他の投与群では、平均摂餌量は対照群と同等であった。

食餌効率は、試験期間中対照群を含め各投与群で増減したが、総平均値においては2000ppm投与群雄で14%、雌で63%対照群に比べ低下した。

200ppm以下の投与群では対照群と大差を認めなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		20	200	2000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.95	18.9	193
	雌	1.97	19.6	231

血液学的検査；投与後52週時の中間屠殺動物及び試験終了時の生存動物それぞれ各群雌雄10匹ずつを対象として、尾端部切断により採血し、白血球百分率の測定を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄						雌					
	52週			96週			52週			96週		
検査時期	20	200	2000	20	200	2000	20	200	2000	20	200	2000
投与量 (ppm)												

Mann-WhitneyのU検定 ↑ $p < 0.05$ ↑↑ $p < 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

200ppm投与群雄では52週時に単球、96週時に桿状核好中球、また、2000ppm投与群雄では52週時に単球及びその他の細胞、雌では96週時に桿状核好中球がそれぞれ増加した。しかし、いずれの変化も非特異的なもので検体投与の影響とは考えられなかった。

臓器重量；投与後52週時の中間屠殺動物及び試験終了時の生存動物それぞれ各群雌雄10匹ずつ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。

脳、胸腺、肝、腎、副腎、精巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

性別	雄						雌					
	52週			96週			52週			96週		
検査時期	投与量 (ppm)			投与量 (ppm)			投与量 (ppm)			投与量 (ppm)		
	20	200	2000	20	200	2000	20	200	2000	20	200	2000

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↑↓ p<0.05 ↑↓ p<0.01
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

2000ppm 投与群の雌において脳重量対体重比が増加したが、これは低体重による二次的变化と考えられた。また、その他の変化も非特異的变化で、検体投与の影響とは考えられなかった。

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

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		0	20	200	2000	0	20	200	2000

Fisher の直接確率計算法 * p<0.05 ** p<0.01

2000ppm 投与群雌では削瘦及び体型の小型化が認められ、特に試験終了時の生存動物で高頻度に認められた。また、耳介の創傷も増加したが、病理組織学的検査では対応所見に有意差は認められず、検体投与によるものとは考えられなかった。その他にも、各投与群の雌雄において種々の所見が増減したが、投与量及び投与期間に相関していないため、偶発的なものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

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標本を作製し、鏡検した。

脳、脊髄、末梢神経、下垂体、甲状腺・上皮小体、副腎、脾、骨・骨髄、リンパ節、心、大動脈、口腔(切歯を含む)、唾液腺、食道、胃、肝、胆のう、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肺、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう及び凝固腺、卵巣、子宮、陰、眼球及びハーダー腺、骨格筋、皮膚、乳腺(雌のみ)、肉眼的異常部位(正常組織との境界部、腫瘍の場合には近傍リンパ節を含む)

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1(120～121頁)に示す。

対照群を含む全群の雌雄で腎の糸球体メサンギウム肥厚、雄に精のう及び凝固腺の分泌物うっ滞、雌で卵巣のう胞及び副腎の被膜下細胞増生が高頻度で認められたが、いずれの変化も自然発生的又は老令化による変化であり、検体投与に起因するものとは考えられなかった。

また、各投与群雌雄で種々の病変が増減したが、いずれも偶発的な変化であると考えた。

[腫瘍性病変]

認められたすべての腫瘍性病変を表2(122～124頁)に示す。

雄では肝細胞腺腫、肺腺腫、雌では悪性リンパ腫、肺腺腫が本系統においては高かった。ただし、検体投与に関連した発生率の上昇及び早期化を示すことはなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する96週間飼料混入投与による発がん性試験における影響として、2000ppm投与群雌雄で切歯伸長及び食餌効率低下、雄で体重増加抑制傾向、雌で体重増加抑制、摂餌量低下、削瘦及び体型の小型化がみられたので、無毒性量は雌雄とも200ppm(雄18.9mg/kg/day、雌19.6mg/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三井化学アグロ株式会社にある。

表 1 - 1 主要非腫瘍性病変

検査 時期	性 別 投 与 量 (ppm)		雄				雌			
			0	20	200	2000	0	20	200	2000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 1-2 主要非腫瘍性病変

検査 時期	性 投 与 量 (ppm)	雄				雌			
		0	20	200	2000	0	20	200	2000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表2-1 腫瘍性病変

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄				雌			
		0	20	200	2000	0	20	200	2000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 18)

試験機関 三共(株)安全性研究所
[GLP対応]
報告書作成年 1989年

検体の純度：

供試動物：F344系ラット、開始時6週齢、1群雌雄各80匹

投与後52及び78週時に各群雌雄13～15匹ずつを中間屠殺した。

投与期間：24カ月（1986年9月10日～1988年9月13日）

投与方法：検体を純度補正し、0、15、150及び750ppmの濃度で飼料に混入し、24カ月間にわたって随時摂食させた。なお、最高投与群は、投与開始から1500ppmの濃度の検体を含有する飼料を投与したが、雌において切歯の著明な伸長が認められ摂餌が困難となったため、7週目からは雌雄とも750ppmに減じ投与を行った。
検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

用量設定の根拠：

従って、本試験の投与量を0、15、150及び1500 → 750ppmとした。

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。

750ppm投与群では、投与初期(1500ppm投与時)にのみ雌雄に眼瞼周囲の汚れ、雌に切歯の著明な伸長が認められ、投与中期以降では雌雄に粗毛が認められた。
他の投与群では、検体投与に伴う変化は認められなかった。
試験終了時の死亡率を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

投与量 (ppm)		0	15	150	750
死亡率 (%)	雄				
	雌				

χ^2 検定又は Fisher の直接確率計算法で検定を行った。

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、750ppm 投与群雌では、投与 1 週 (1500ppm 投与時) から体重増加抑制が認められた (t-検定法) が、750ppm に変更したことにより回復した。

また、78 週から投与終了まで軽度な増加抑制傾向が認められた。

これ以外に、いずれの投与群にも検体投与に伴う変化は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；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摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量は、750ppm 投与群雌雄で試験期間を通しやや高い値を示した (t-検定法)。

また、食餌効率では、いずれの投与群にも異常は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		15	150	750
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.71	6.81	32.64
	雌	0.92	8.77	44.41

血液学的検査；投与後 15、25、49 及び 77 週時に各群雌雄 20 匹ずつ (77 週時は 15 匹ずつ) を対象として眼窩静脈叢より、また、52 及び 78 週の間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び切迫屠殺動物を対象として腹部大静脈から採血し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、血色素濃度、ヘマトクリット値、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)、血小板数、白血球数、網赤血球数*、白血球百分率、プロトロンビン時間*、活性化部分トロンボプラスチン時間*、フィブリノゲン量* [* は 52、78 及び 104 週時のみ測定。]

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

性 別	雄																					
	15週			25週			49週			52週			77週			78週			104週			
	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	

性 別	雌																					
	15週			25週			49週			52週			77週			78週			104週			
	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	

750ppm 投与群雌で各検査時期を通して、赤血球数の増加、平均赤血球色素量及び平均赤血球容積の低下が認められた。これら以外の変化は、程度は僅かで投与量依存性も明らかでないことから、いずれも偶発的又は生理的変動であると考えられた。また、血液像では白血病性変化を対照群を含めた各群に散見したが、対照群と投与群の間に差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三井化学アグロ株式会社にある。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用了血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、ALP、血糖、総ビリルビン、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、A/G 比、尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム [15、25、49 及び 77 週時は血漿を用い、GOT、GPT のみを測定した。]

対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を下表に示す。

性 別	雄																							
	15週			25週			49週			52週			77週			78週			104週					
	投与量 (ppm)	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750		

性 別	雌																							
	15週			25週			49週			52週			77週			78週			104週					
	投与量 (ppm)	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750		

750ppm 投与群雌雄で、各検査時期を通して、総コレステロールの軽度な増加傾向、トランスアミナーゼに軽度な減少傾向が認められた。これ以外に認められた変化は、投与量依存性もないことから、偶発的又は生理的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三井化学アグロ株式会社にある。

尿検査；投与後 51、77 及び 103 週時に各群雌雄 15 匹から採尿し、以下の項目を検査した。

pH、蛋白質、ケトン体、ブドウ糖、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン
103 週時の検査で、ウロビリノーゲンの値が対照群を含む全群でやや低下したが、104 週時の病理検査を含めた各検査に該当する異常は認められないことより、偶発的な変化であると考えられた。

眼科学的検査；中間屠殺予定動物を除き投与開始週及び投与後 103 週時に、対照群及び 750ppm 投与群の全生存動物につき、角膜状態、瞬膜反射及び瞳孔反射を検査し、そのうち雌雄各 20 匹については、さらに眼底検査を行った。

各検査時期また各投与群とも、検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

臓器重量；投与後 52 及び 78 週時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び途中死亡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。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心、肺、肝、脾、腎、副腎、精巣、
卵巣、子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄									雌									
	52 週			78 週			104 週			52 週			78 週			104 週			
	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	15	150	750	
検査時期																			
投与量 (ppm)																			

104 週時に認められた 750ppm 投与群雄の肝及び腎、雌の腎、副腎及び子宮の増加傾向には投与量依存性が認められるため、検体投与との関連が否定できない。しかし、他の変化は臓器重量及びその対体重比が一定方向へ変化していなかったり、投与量依存性がみとめられず、検体投与の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三井化学アグロ株式会社にある。

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺、中間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。

主要な所見を下表に示す。

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	15	150	750	0	15	150	750

試験終了時の生存動物の検査で、750ppm 投与群雌雄において粗毛の発現頻度が対照群に比して高く、雄において腎表面の粗造化がやや高く認められた。その他の所見はいずれも自然発生的な変化であり、検体投与によるものではなかった。

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標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、心、肺、気管、脾、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、肝、顎下腺、食道、胃、脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、精のう、前立腺、子宮、卵巣、皮膚、乳腺(雌のみ)、骨格筋、胸骨、大腿骨、ハーダー腺、脊髓、坐骨神経、大動脈、眼球*、肉眼的異常部位 (*途中死亡例は実施せず。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1 (132~133頁) に示す。

52及び78週時の中間屠殺動物、また、途中死亡動物には検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。104週時に屠殺した動物では、対照群を含む全群で毛嚢の軽度拡張を認め、雄では投与量依存性の増加傾向を示し、750ppm投与群雌雄で対照群に比し有意に増加したが、この皮膚病変には対照群と投与群の間に質的な差はなく、投与群で病変の程度が強まる傾向もなかった。

また、腎では750ppm投与群雄で中等度の慢性腎症の発生が有意に増加、雌では皮髄境界部のミネラル沈着が有意に減少した。そのほか雄で肝の小胆管増殖、肝細胞過形成、雌で子宮の内膜ポリープ及び子宮水腫などの加齢とともに増加する自然発生性病変を観察したが、いずれも対照群と投与群の間に差はなかった。

[腫瘍性病変]

認められたすべての腫瘍性病変を表2 (134~137頁) に示す。

雄の精巣間細胞腫、雌雄の造血系腫瘍及び下垂体腫瘍の発生頻度が本系統においては高かった。ただし、検体投与に関連した発生率の上昇及び早期化を示すことはなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する24カ月間飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験における影響として、750ppm投与群雌雄で眼瞼の汚れ(1500ppm投与時)、粗毛(一般状態観察及び肉眼的病理検査)、摂餌量の増加傾向、総コレステロールの軽度な増加傾向、トランスアミナーゼの軽度な減少傾向、腎重量及び対体重比の増加及び毛嚢の軽度拡張が認められた。また、雄では肝重量及び対体重比の増加、腎表面の粗造化及び慢性腎症(中等度)が認められ、雌では切歯の異常な伸長(1500ppm投与時)、体重増加抑制(1500ppm投与時)、軽度な体重増加抑制傾向(78週時以降)、赤血球数増加、赤血球恒数低下、副腎・子宮重量及び対体重比の増加及び腎皮髄境界部のミネラル沈着の減少が認められたので、無毒性量は雌雄とも150ppm(雄6.81mg/kg/day、雌8.77mg/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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表1-1 主要非腫瘍性病変

検査 時期	性別 投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	15	150	750	0	15	150	750

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 1 - 2 主要非腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投	与 量 (ppm)	0	15	150	750	0	15	150	750

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 2 - 1 腫瘍性病変

検査 時期	性 別 投 与 量 (ppm)		雄				雌			
			0	15	150	750	0	15	150	750

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 2 - 4 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投 与 量 (ppm)		0	15	150	750	0	15	150	750

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

イヌを用いたカプセル投与による1年間反復経口投与毒性試験

(資料 19)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1989年

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬、開始時5又は6カ月齢、1群雌雄各6匹

投与期間：12カ月（1987年6月4日～1988年6月9日）

投与方法：検体をゼラチンカプセルに封入し、0、3、10及び30mg/kg/dayの投与量で、12カ月間にわたって経口投与した。

用量設定の根拠：

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。

30mg/kg投与群雄では、鎮静及び歩様蹠踉が、雌では泡沫液嘔吐、飼料嘔吐、鎮静、歩様蹠踉、振戦及び流涎が認められた。3及び10mg/kg投与群では、雌雄ともに検体投与に関連する影響は認められなかった。

試験期間中には、いずれの群においても死亡例は認められなかった。

体重変化；投与開始前及び投与後14週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。

雄では、いずれの投与群においても、試験期間を通して異常は認められなかった。

雌では、10mg/kg投与群において投与後13週以降、30mg/kg投与群において投与後1週以降に、体重増加抑制傾向が認められたが、統計学的有意差はみられなかった (Dunnett 又は Scheffé の多重比較法)。

摂餌量；投与開始後14週までは毎週、以後は4週毎に1週間毎日摂餌量を測定した。

雄の摂餌量には、異常は認められなかった。

雌では、30mg/kg投与群のみが投与期間を通して常に低値で推移し、投与後2及び32週時では有意に低下した (Mann-Whitney の *U* 検定)。

血液学的検査；投与開始前、投与後26及び52週時に、全動物を対象として、橈側皮静脈から採血し、以下の項目の測定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ヘマトクリット値、色素量、赤血球数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数、白血球百分率

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法により有意差検定を行ったが、統計学的有意差はみられず、各検査時期また各投与群とも、検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G 比、ALP、尿素窒素、クレアチニン、血糖、総コレステロール、GOT、GPT、総ビリルビン、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄								
	0 週			26 週			52 週		
検査時期									
投与量 (mg/kg)	3	10	30	3	10	30	3	10	30
総コレステロール									
カルシウム									

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↑ p<0.05 ↑ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

上記以外には、検体投与に伴う変化は認められなかった。

尿 検 査；投与開始前及び投与後 26 及び 52 週時に、全動物を対象として採尿し、以下の項目を検査した。

尿量、尿沈渣、尿色、比重、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雌								
	0 週			26 週			52 週		
検査時期									
投与量 (mg/kg)	3	10	30	3	10	30	3	10	30
比 重									

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↓ p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

3 及び 10mg/kg 投与群雌で尿比重の低下がみられたが、投与後 52 週時には認められず、さらに 30mg/kg 投与群においても認められていないため、偶発的な変化であると考えられた。

眼科学的検査；投与開始前、投与後 26 及び 52 週時に、全例について眼底を含め検査を行った。各投与群とも、検体投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

臓器重量；試験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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

脳、下垂体、甲状腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣、卵巣、前立腺
 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄			雌			
	投与量 (mg/kg)	3	10	30	3	10	30

Dunnett 又は Scheffé の多重比較法 ↑↓ p<0.05 ↑ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

10 及び 30mg/kg 投与群雄で肝重量及びその対体重比の用量相関のある上昇が認められ、検体投与による変化と考えられた。その他、30mg/kg 投与群雄で心重量対体重比の低下及び雌で脳重量対体重比の上昇が認められたが、実重量では有意差はなく、病理組織学的検査でも異常は認められず、検体投与の直接的な影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

Fisher の直接確率計算法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられず、検体投与による影響と考えられる異常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標本を作製し、鏡検した。

脳、脊髄、末梢神経、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体、副腎、脾、骨・骨髓、リンパ節、心、大動脈、唾液腺、食道、胃、肝、胆のう、脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(主要気管支を含む)、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、眼球、骨格筋、皮膚、乳腺(雌のみ)、肉眼的異常部位

Fisher の直接確率計算法を用いて検定を行ったが、統計学的有意差はみられず、検体投与の影響と考えられる異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤のイヌに対する 12 カ月間カプセル投与による 1 年間反復経口投与毒性試験における影響として、10 及び 30mg/kg 投与群雄で肝重量の増加、雌で体重増加抑制傾向、30mg/kg 投与群雌雄で一般状態の異常、雄で総コレステロール及びカルシウムの上昇、雌で摂餌量の減少がみられたので、無毒性量は雌雄ともに 3 mg/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三井化学アグロ株式会社にある。

(8) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性

ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 20)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1988 年

検体の純度：

供試動物：SD系ラット、投与開始時5週令、1群雌雄各24匹

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳時までの18週間

F1世代；離乳時からF2児離乳時までの18週間

(1986年11月13日～1987年7月14日)

投与方法：検体を0、50、200及び800ppm含有した飼料を自由に摂食させた。

用量設定の根拠：

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；児動物を含め全動物について、全検査期間を通して一般状態及び生死を毎日観察した。

体重；雄親動物の体重は、投与開始時、生育期間中は毎週1回、その後は2週間に1回及び剖検日に測定した。雌親動物では、投与開始時、生育期間中は毎週1回、その後は妊娠0、7、14、20、哺育0、7、14、21日及び剖検日に測定した。

摂餌量；生育期間中は雌雄ともに1週間毎に7日間の摂餌量を測定した。その後、雄については隔週毎(但し、交配期間の測定は行わなかった)に7日間の摂餌量を、雌については妊娠0-7日、7-14日、14-20日及び哺育0-7日、7-14日、14-21日の各期間の摂餌量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

交配及び妊娠の確認；交配は雌の発情を確かめ、雌雄1対1で同居させ、翌日膣栓又は膣垢中の精子の有無により交尾を確認した。なお、交配は3週間を限度として同一雌雄で実施した。妊娠の確認は、分娩及び剖検時の子宮内着床痕によって行った。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び出産時期の観察により、次の指標を算出した。

- ・雄の交尾率 (%) = (交尾を認めた雄数 / 交配に用いた雄数) × 100
- ・雌の交尾率 (%) = (交尾を認めた雌数 / 交配に用いた雌数) × 100
- ・妊娠率 (%) = (妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数) × 100
- ・出産率 (%) = (正常出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

臓器重量；児動物の離乳後に屠殺した親動物各群雌雄10匹ずつを対象に、脳、心、肝、腎、脾、卵巣又は精巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

病理組織学的検査；対照群及び800ppm投与群のすべての親動物の生殖器官(卵巣、子宮、膣又は精巣、精巣上体、精のう、前立腺)及び下垂体、児が得られなかった雌雄動物の生殖器官、また、剖検時に肉眼的異常を認めた臓器・組織について病理組織学的検査を実施した。

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(10週間) 交配(3週間)	雌雄1対1で交配。交尾は膣栓又は膣垢中の精子で確認(妊娠0日)	交配状況の確認。
	妊娠(3週間) 出産 哺育(3週間)		新生児数・死産児数、性別検査。 雌雄別生存同腹児体重を哺育0、4、7、14及び21日目に測定。 哺育4日目調整児及び途中死亡児の剖検。
	離乳		雌雄親動物及び継代用以外の児動物の剖検。(臓器重量測定、病理組織学的検査実施)
F1	生育(10週間) 交配(3週間) 妊娠(3週間)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	出産 哺育(3週間)		(P世代に準ずる) (P世代に準ずる)
	離乳		雌雄親動物及び児動物を剖検。 (臓器重量測定、病理組織学的検査実施)
F2			

交配は最長3週間

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：概要を次頁の表に示した。

親動物では、800ppm 投与群雌の P 及び F1 世代 (投与 1~2 週) で体重増加抑制、雄の F1 (投与 1~2 週) 世代と雌の P (投与 1 週) 及び F1 (哺育期間) 世代で摂餌量の減少が認められた。また、800ppm 投与群雌では背側腰部の被毛の汚染が高頻度に、200ppm 投与群雌でも少数例に認められたが、組織学的変化は認められず、これらの毒性学的意味は明らかでなかった。

臓器重量ではいくつかの臓器で対照群と投与群間で統計学的有意差が認められたが、世代または投与量との間に一定の関係は認められなかった。

繁殖能力については、各投与群の雌の性周期に検体投与の影響は認められず、交尾率、妊娠率、出産率及び妊娠期間の各指標にも対照群との間に有意差は認められなかった。

児動物の観察では、800ppm 投与群で F1 及び F2 児の低体重と、F1 世代における平均産児数の減少及び F2 児における哺育 0 日の生存率の低下が認められた。

(\$; 出生直前又は直後に児が死亡し、分娩完了時の観察までの間に母動物によって食べられたためと考えられる。)

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、800ppm 投与群で親動物の体重増加抑制及び摂餌量減少、児動物の低体重、生存率低下 (哺育 0 日)、また、平均産児数の減少が認められた。繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。

したがって、無毒性量は親動物及び児動物に対して 200ppm (P : 雄 13.4mg/kg/day 雌 14.8mg/kg/day、F1 : 雄 17.4mg/kg/day 雌 18.8mg/kg/day) であると判断される。

繁殖については最高投与量の 800ppm でも影響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三井化学アグロ株式会社にある。

2) 催奇形性

ラットにおける催奇形性試験

(資料 21)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1988 年

検体の純度：

供試動物：SD 系妊娠ラット、14 週齢、1 群 24 匹

投与期間：器官形成期投与 10 日間 (1987 年 10 月 26 日～11 月 9 日)

投与方法：検体を 1% CMC 水溶液に懸濁し、6、20 及び 60mg/kg の投与レベルで妊娠 6 日目から 15 日目までの 10 日間毎日 1 回経口投与した。

また、対照群に 1% CMC 水溶液を同様に投与した。

なお、妊娠 0 日は膣栓又は膣垢中に精子を認めた日とした。

用量設定の根拠；

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0 日、6 日から 15 日まで毎日及び 20 日目に体重を測定した。また、摂餌量を妊娠 0～6 日、6～9 日、9～12 日、12～15 日及び 15～20 日の各期間について測定した。

妊娠 20 日目に帝王切開し、剖検の後、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重、胎盤重量及び外表異常の観察を行った。

各同腹児群の 1/2 の胎児については骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：概要を次頁の表に示した。

親動物の 60mg/kg 投与群において、体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められたが、6 及び 20mg/kg 投与群には検体投与の影響は認められなかった。

胎児動物の内臓異常検査において、内臓変異である胸腺の頸部残留の出現頻度が 6 及び 20mg/kg 投与群で、また、水尿管症を伴う又は伴わない腎盂拡張の出現頻度が 20 及び 60mg/kg 投与群で対照群と比較して有意に上昇した。

しかし、これらの出現頻度に用量相関性が認められないこと、また背景対照データと比較しても、ほぼその範囲内にあることから、検体投与に関連する影響とは判断されなかった。

胸腺の頸部残留及び腎盂拡張の発生頻度

投与群 (mg/kg/day)	0	6	20	60
胸腺の頸部残留	1.9	7.1*	8.6**	0.6
腎盂拡張	0.6	1.3	7.9**	6.3**
背景値 ¹⁾	胸腺の頸部残留		腎盂拡張	
当該試験機関 ²⁾	2.3 - 13.6 (8.9±4.8)%		0 - 6.2 (2.4±2.3)%	
文献値 ³⁾	0 - 20.8 (5.3±3.2)%		0 - 21.6 (3.1±4.5)%	

Fisher の直接確率計算法 * p<0.05 ** p<0.01

1) 最低発生頻度-最高発生頻度 (平均±標準偏差) を示した

2) (財) 残留農薬研究所において 1985 年から 1987 年に実施された 5 試験からの背景値

3) Morita, H. et al. (1987). Spontaneous malformation in laboratory animals: frequency of external, internal and skeletal malformation in rats, rabbits and mice. Cong. Anom., 27:147-206.

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したときの無毒性量は、母動物においては 20mg/kg/day、胎児動物においては 60mg/kg/day であった。

また、最高投与量の 60mg/kg/day でも胎児動物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三井化学アグロ株式会社にある。

ウサギにおける催奇形性試験 [1]

(資料 22)

試験機関 三共(株)安全性研究所
[GLP 対応]
報告書作成年 1988年

検体の純度：

供試動物：日本白色種妊娠ウサギ、5～6カ月齢、1群14～19匹

投与期間：器官形成期投与13日間（試験期間1987年5月7日～1988年1月26日）

投与方法：検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、160、400及び1000mg/kgの投与レベルで妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回経口投与した。

また、対照群に0.5%CMC水溶液を同様に投与した。

なお、妊娠0日は交配確認日の翌日とした。

用量設定の根拠：

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、体重及び摂餌量を妊娠0日から27日目まで（摂餌量は26日目まで）毎日測定した。

妊娠27日目に帝王切開し、剖検の後、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。また、各胎児とも内臓異常の有無を検査した後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：概要を次頁の表に示した。

親動物の 160mg/kg 投与群では 2 例、400mg/kg 投与群では 3 例、1000mg/kg 投与群では 5 例に体重及び摂餌量の減少、動作緩慢、立毛等の症状がみられ、各々 1 例、1 例、4 例に流産を認めた。また、これらの動物の肉眼的病理検査では、胃内容物に毛球の混入あるいは肝の褪色が観察されたが、これらの所見は摂餌量の著しく減少した動物でよく認められるものであった。

さらに、上記動物のうち妊娠が継続した 160mg/kg 投与群の 1 例、400mg/kg 投与群の 2 例、1000mg/kg 投与群の 1 例では、生存胎児の発育抑制が認められたが、これは摂餌量の減少に伴う二次的な作用と考えられた。

胎児動物の外表面、骨格及び内臓異常検査では、奇形、変異などの発生頻度に各投与群ともに有意差は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したときの無毒性量は、母動物においては 160mg/kg/day 以下、胎児動物においては 1000mg/kg/day であった。また、最高投与量の 1000mg/kg/day でも胎児動物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三井化学アグロ株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	160	400	1000
1群当り動物数		19	15	14	17

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ウサギにおける催奇形性試験〔Ⅱ〕

(資料 23)

試験機関 三共(株)安全性研究所
[GLP 対応]
報告書作成年 1989年

検体の純度：

供試動物：日本白色種妊娠ウサギ、6～8カ月令、体重 2.78～3.62kg、1群 15～20匹

投与期間：器官形成期投与 13日間（試験期間 1988年4月30日～1989年1月6日）

投与方法：検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、5、50 及び 500mg/kg の投与レベルで妊娠 6日目から 18日目までの 13日間、毎日 1回経口投与した。また、対照群に 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。

なお、妊娠 0日は交配確認日の翌日とした。

用量設定の根拠：

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、体重及び摂餌量を妊娠 0日から 27日目まで（摂餌量は 26日目まで）毎日測定した。

妊娠 27日目に帝王切開し、剖検の後、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。また、各胎児とも内臓異常の有無を検査した後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 果：概要を次頁の表に示した。

親動物の 500mg/kg 投与群において、20 例中 6 例に体重及び摂餌量の減少、動作緩慢、立毛等の症状がみられ、死亡、死産及び流産を各 1 例に認めた。また、これらの動物の肉眼的病理検査では、胃内容物に毛球の混入あるいは肝の褪色が観察されたが、これらの所見は摂餌量の著しく減少した動物でよく認められるものであった。さらに、上記動物のうち妊娠が継続した 3 例では胎児の全例死亡又は発育抑制が認められたが、これらは摂餌量の減少に伴う二次的な作用と考えられた。

生存胎児の発育抑制は、対照群を含め 5 及び 50mg/kg 投与群においても 1 又は 2 同腹児で観察されたが、摂餌量減少が投与終了後に認められており、本剤投与に起因したものではないと考えられる。

胎児動物の外表、骨格及び内臓異常検査では、奇形、変異などの発生頻度に各投与群ともに有意差は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したときの無毒性量は、母動物においては 50mg/kg/day、胎児動物においては 500mg/kg/day であった。また、最高投与量の 500mg/kg/day でも胎児動物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三井化学アグロ株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	5	50	500
1群当り動物数		17	15	15	20

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(9) 変異原性

1) 細菌を用いた復帰突然変異性試験

(資料 24)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1986 年

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、TA1535、TA1537)、トリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA* 株) 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。

検体を溶解させるため DMSO を用いた。

用量設定の根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示した。

2 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、最高用量である 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン及び 2-アミノアントラセンではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、本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三井化学アグロ株式会社にある。

[第 2 回試験]

(表中の数値は 3 反復の平均値)

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		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 24)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1986 年

検体の純度 :

試験方法 : 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17, rec⁻) と欠損株 (M-45, rec⁻) を用い、孢子法により代謝活性化及び非代謝活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

試験濃度は、溶解限度である 5000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ を最高用量とする 7 用量 (50~5000 $\mu\text{g}/\text{disk}$) とした。

結果 : 結果を次頁の表に示した。

検体投与群では代謝活性化を含め、溶解限界である 5000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ においても両菌株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照の マイトマイシン C (非代謝活性化) 及び 2-アミノアントラセン (代謝活性化) では両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた。

陰性対照のカナマイシン (非代謝活性化) では両菌株に同程度の生育阻止帯がみられたが、2-アミノアントラセン (非代謝活性化) では生育阻止を認めなかった。

以上の結果より、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で 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三井化学アグロ株式会社にある。

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g/disk}$)	S-9 Mix の有無	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3) チャイニーズ ハムスターの CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 25)

試験機関 (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 1986 年

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 CHL 細胞を用い、代謝活性化及び非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

用量設定の根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

非代謝活性化系では、最高濃度の $54 \mu\text{g/mL}$ において細胞の死滅が認められたが、他の濃度ではいずれの標本採取時間でも染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5% を越えなかった。

代謝活性化系では、すべての濃度のいずれの標本採取時間においても染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5% を越えなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C 及びベンゾ[a]ピレンでは、顕著な染色体異常の増加がみられた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は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三井化学アグロ株式会社にある。

[非代謝活性化；標本採取時間－薬物添加後 24 時間]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	観察 細胞 数	異常 (%)										異常 細胞 (%)	ギョブのみを 有する 異常細胞 (%)	細胞 分裂 頻度 (%)		
			染色分体型			染色体型				断片	細粉化	その他					
			ギョブ	切断	交換	ギョブ	切断	多動 原体	環								

[非代謝活性化；標本採取時間－薬物添加後 48 時間]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	観察 細胞 数	異常 (%)										異常 細胞 (%)	ギョブのみを 有する 異常細胞 (%)	細胞 分裂 頻度 (%)		
			染色分体型			染色体型				断片	細粉化	その他					
			ギョブ	切断	交換	ギョブ	切断	多動 原体	環								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

[代謝活性化；標本採取時間－薬物添加後 12 時間]

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞 数	異常 (%)								異常 細胞 (%)	ギャブのみを 有する 異常細胞 (%)	細胞 分裂 頻度 (%)		
			染色分体型			染色体型				断片				細 粉 化	そ の 他
			ギャブ	切 断	交 換	ギャブ	切 断	多動 原体	環						

[代謝活性化；標本採取時間－薬物添加後 18 時間]

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞 数	異常 (%)								異常 細胞 (%)	ギャブのみを 有する 異常細胞 (%)	細胞 分裂 頻度 (%)		
			染色分体型			染色体型				断片				細 粉 化	そ の 他
			ギャブ	切 断	交 換	ギャブ	切 断	多動 原体	環						

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4) マウスを用いた小核試験

(資料 2 6)

試験機関 コーヴァンス ラボラトリーズ
[GLP 対応]
報告書作成年 1998 年

検体の純度：

供試動物：CD-1 マウス、6 週齢、体重 雄 24~33g、雌 20~28g、1 群雌雄各 5 匹

試験方法：検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、雄は 25、50、100mg/kg、雌は 37.5、75、150mg/kg の投与レベルで、強制的に 2 回経口投与した。なお、対照群には 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。投与 24 及び 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上に無水メタノール固定後、ギムザ染色し、骨髓標本を作製した。陽性対照群には、シクロホスファミドを単回経口投与し、24 時間後に動物を屠殺した。

各標本について、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、多染性赤血球及び正染性赤血球の発現比を算出した後、引き続き 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球を計測した。

用量設定の根拠；

結果：骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

最高投与群で異常歩行及び異常呼吸等の臨床徴候がみられた。また、雌では嗜眠及び衰弱がみられ、3 例が死亡した。その他の投与群では一般状態に異常は認められなかった。

雌雄いずれの標本採取時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において検体は骨髓多染性赤血球に小核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三井化学アグロ株式会社にある。

観察結果

採取時間	性別	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNPCE	PCE/NCE %	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

5) マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験

(資料 27)

試験機関 コーヴァンス ラボラトリーズ
[GLP 対応]

報告書作成年 1998 年

検体の純度：

試験方法：マウスリンパ腫 L5178Y 細胞におけるチミンホラーゼ (*tk*) 遺伝子座 (5-トリフルオロチミン [5-TFT] 耐性) における突然変異誘発性を OECD ガイドライン 476 に準拠して試験した。検体は DMSO に溶解して用いた。

代謝活性化系 (S-9 Mix) の非存在下及び存在下で実施した実験 1 及び 2、更に S-9 の存在下で実施した実験 3 及び 4 について、突然変異体頻度を測定した。

用量設定の根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

代謝活性化系の非存在下での 2 実験及び存在下での 4 実験において、試験したいずれの用量においても突然変異体頻度の統計学的に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 4-ニトロキノリン 1-オキシド及びベンゾ[a]ピレンにより突然変異体頻度の明らかな増加がみられた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において突然変異誘発性は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三井化学アグロ株式会社にある。

実 験 1							
処理 ($\mu\text{g/mL}$)	-S-9			処理 ($\mu\text{g/mL}$)	+S-9		
	%RS	RTG	MF _s		%RS	RTG	MF _s

実 験 2							
処理 ($\mu\text{g/mL}$)	-S-9			処理 ($\mu\text{g/mL}$)	+S-9		
	%RS	RTG	MF _s		%RS	RTG	MF _s

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

実験 3				実験 4			
処理* ($\mu\text{g/mL}$)	+S-9			処理** ($\mu\text{g/mL}$)	+S-9		
	%RS	RTG	MF _s		%RS	RTG	MF _s

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(10) 生体機能への影響に関する試験

ミルベメクチンにおける薬理試験

(資料 28)

試験機関 (株) 科学技術研究所

報告書作成年 1988年

検体の純度：

1. マウスの中樞神経系に対する作用

① 自発運動量に対する作用

供試動物： ddY系マウス、体重 21~23g、1群雄 12匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、1、10及び100mg/kgを経口投与し、4時間後まで自発運動量を測定した。

結果： 各投与群とも、ほとんど影響は認められなかった。

② チオペンタール麻酔に対する作用

供試動物： ddY系マウス、体重 21~23g、1群雄 10匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、1、10及び100mg/kgを経口投与し、3時間後にチオペンタールナトリウム30mg/kgを静注して正向反射の消失持続時間を測定した。

結果： 100mg/kg投与群で、麻酔持続時間延長作用が認められた。

③ 抗痙攣作用

1) 最大電撃痙攣

供試動物： ddY系マウス、体重 21~23g、1群雄 10匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、1、10及び100mg/kgを経口投与し、3時間後にマウスの両角膜に最大電撃(1000V、10.0mA、0.2sec)を加え、強直性痙攣の発現の有無を30分間観察した。

結果： 100mg/kg投与群で軽度の抑制作用が認められた。

2) ペンチレンテトラゾール(PTZ)痙攣

供試動物： ddY系マウス、体重 21~23g、1群雄 10匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、1、10及び100mg/kgを経口投与し、3時間後にPTZ100mg/kgを皮下注射後、間代性痙攣の有無を30分間観察した。

結果： 100mg/kg投与群で軽度の抑制作用が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

④ 筋弛緩作用

供試動物： ddY系マウス、体重 21~23g、1群雄 10匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、1、10及び100mg/kgを経口投与し、1、2、3及び4時間後に筋弛緩作用を観察した。

結果： 各投与群とも、筋弛緩作用はほとんど認められなかった。

2. ラットの呼吸循環器系に対する作用

供試動物： SD系ラット、体重 200~250g、1群雄 5匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、100mg/kgを十二指腸内に挿入したカニューレより投与し、4時間後まで呼吸数、血圧及び心拍数を測定した。

結果： 100mg/kg投与群は、呼吸、血圧及び心拍数に対してほとんど影響を与えなかった。

3. ウサギの平滑筋(摘出回腸)に対する作用

供試動物： 日本白色種家兎、1群雄 5匹

投与方法： 回腸を摘出し、タイロード液を満たしたマグナス槽内に懸垂した。検体は10%DMSOに懸濁させ、最終濃度 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mLとなるようにマグナス槽に注入し、30分間観察した。

結果： 10^{-4} g/mL群で、摘出ウサギ回腸自発運動に対して軽度の抑制作用が認められた。

4. マウスの消化器系(腸管内輸送能)に対する作用

供試動物： ddY系マウス、体重 20~23g、1群雄 10匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、1、10及び100mg/kgを経口投与した。3時間後に10%活性炭素末懸濁液をさらに経口投与した。30分後に胃腸管を摘出し、腸管輸送能を測定した。

結果： いずれの投与群とも、腸管内輸送能に対してほとんど影響を及ぼさなかった。

5. ラットの骨格筋(神経-筋標本)に対する作用

供試動物： SD系ラット、体重 200~250g、1群雄 5匹

投与方法： 横隔膜神経-筋標本を作成し、Krebs液を満たしたマグナス槽内に懸垂した。検体は10%DMSOに懸濁させ、最終濃度 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mLとなるようにマグナス槽に注入後、約1.5Vの矩形波で神経を刺激し、収縮力に関して観察した。

結果： 10^{-4} g/mL群で、軽度の収縮力抑制作用が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

6. ラットの血液凝固に対する作用

供試動物： SD系ラット、体重 200~230g、1群雄 10匹

投与方法： 検体を1%Tween80に懸濁させ、1、10及び100mg/kgを経口投与し、3時間後に採血し、プロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン(APTT)を測定した。

結果： 各投与群とも、血液凝固時間に対してほとんど影響は認められなかった。

以上の試験結果より、本剤の高用量(100mg/kg、 10^{-4} g/mL)で中枢神経系及び平滑筋等に対して軽度の作用が認められたが、高用量における作用であり、特に問題はないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ミルベメクチンの「生体機能への影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系	マウス	経口 (Tween80)	0, 1, 10, 100	♂12	—	100	各群ともほとんど影響は認められなかった。
				♂10	100	10	100mg/kg 群で、麻酔持続時間延長作用が認められた。
					100	10	100mg/kg 群で、強直性痙攣発現の軽度の抑制作用が認められた。
					100	10	100mg/kg 群で、間代性痙攣発現の軽度の抑制作用が認められた。
					—	100	各群とも筋弛緩作用はほとんど認められなかった。
呼吸循環器系	ラット	十二指腸内 (Tween80)	0, 100 (麻酔下)	♂5	—	100	呼吸、血圧、心拍数に対してほとんど影響はみられなかった。
摘出回腸	ウサギ	—	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/mL		10^{-4} g/mL	10^{-5} g/mL	10^{-4} g/mL で、自発運動に対して軽度の抑制作用が認められた。
腸管輸送能	マウス	経口 (Tween80)	0, 1, 10, 100	♂10	—	100	各群ともほとんど影響は認められなかった。
神経—筋標本	ラット	—	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/mL	♂5	10^{-4} g/mL	10^{-5} g/mL	10^{-4} g/mL 群で、軽度の収縮力抑制作用が認められた。
血液凝固	ラット	経口 (Tween80)	0, 1, 10, 100	♂10	—	100	各群とも凝固時間にほとんど影響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三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。