

(11) 1年間反復経口投与毒性および発がん性

① ビーグル犬を用いた1年間反復経口投与試験

(資料 No.T-20)

試験機関：Central Toxicology Laboratory ICI (英国)

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各6匹、試験開始時 雄雌22～29週齢

投与期間：52週間 (1982年6月～1983年6月)

投与方法：検体をゼラチンカプセルに充填し、0、15、75及び300mg/kg/dayの各投与量で52週間、毎日1回経口投与した。なお、対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

<用量設定根拠>

試験項目および結果：

死亡率；毎日(1日3回)観察した。

投与期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態および死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。また、投与開始前及び投与13、26、39及び52週時に、全動物を対象として胸部聴診を行った。

300mg/kg/day投与群雄2例で消瘦がみられ、また同群の別の雄1例、雌3例、75mg/kg/day投与群の雄2例、15mg/kg/day投与群の雌2例、対照群の雌雄各1例にも、散発的に軽微な消瘦がみられた。しかし全投与群で動物は臨床的に良好な状態を保ち、いずれの群においても死亡例はみられなかった。

体重；投与開始前日及び投与開始後週1回、全動物の体重を測定した。

表1に累積体重増加量を示す。300mg/kg/day投与群雄で、投与第1週から試験期間中、平均体重増加量の僅かな減少がみられた。300mg/kg/day投与群雌、75および15mg/kg/day投与群雌雄における体重増加量についてはいずれの時期でも統計学的有意差は認められなかった。

表1. 累積体重増加量

性別	雄				雌			
	0	15	75	300	0	15	75	300
投与量 (mg/kg)								
1-52週	3.25	3.20	2.78	1.83↓↓	2.08	2.68	2.55	1.88
変動率(%)	100	98.5	85.5	82.6	100	129	123	90.4

変動率は申請者が算出した
Student's t-test, ↓↓: p<0.05

摂餌量；雌雄ともに1日当たり350gの制限給餌を行い、摂餌量を毎日測定した。

いずれの投与群においても摂餌量に投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前及び投与4、8、12、16、20、26、39及び52週時に全動物の頸静脈から採血し、赤血球数、総白血球数、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(PCV(Ht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、白血球百分率、カオリン-セファリン時間、プロトロンビン時間を測定した。また、投与期間終了時に全動物を対象として大腿骨骨髓の塗抹標本作製し、骨髓像を観察した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次頁の表に示した。いずれの変化も一過性であり、用量相関性もみられず、あるいは、その変化量も小さかったため、これらの変化は、検体投与によるものとは考えられなかった。

また、全群雌雄で骨髓に異常はみられなかった。

表 2. 血液学的検査結果

雄動物																								
投与量 (mg/kg/day)	15								75								300							
検査時期 (週)	4	8	12	16	20	26	39	52	4	8	12	16	20	26	39	52	4	8	12	16	20	26	39	52
PCV																						90 ↓	91 ↓	
赤血球数																						90 ↓↓	90 ↓	
MCV																				103 ↑				
MCH																	103 ↑		104 ↑↑		103 ↑			
MCHC		101 ↑																				103 ↑↑		
リンパ球比	134 ↑			134 ↑					139 ↑															
単核球比																				157 ↑				
好酸球比			252 ↑							45 ↓														
血小板数		81 ↓																						
プロトロン時間																						111 ↑↑		106 ↑
カリンセファリン時間																				94 ↓				
雌動物																								
投与量 (mg/kg/day)	15								75								300							
検査時期 (週)	4	8	12	16	20	26	39	52	4	8	12	16	20	26	39	52	4	8	12	16	20	26	39	52
MCV																						97 ↓		
MCHC				99 ↓										102 ↑	102 ↑							104 ↑↑		
総白血球数				130 ↑										130 ↑										
好中球比	137 ↑			147 ↑										149 ↑↑										
単核球比						169 ↑																		
好酸球比		181 ↑																						

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)
 Student's t-test, ↑ ↓ : p<0.05, ↑↑ ↓↓ : p<0.01.

表 3. 血液生化学的検査結果

雄動物		15										75										300														
投与量 (mg/kg/day)	検査時期 (週)	4	8	12	16	20	26	30	34	39	52	4	8	12	16	20	26	30	34	39	52	4	8	12	16	20	26	30	34	39	52					
ALP															107 ↑			110 ↑↑	109 ↑	115 ↑↑	113 ↑↑	113 ↑↑	114 ↑↑	118 ↑↑	120 ↑↑	126 ↑↑	123 ↑↑	131 ↑↑	127 ↑↑	132 ↑↑	139 ↑↑	141 ↑↑				
GOT						74 ↓																		67 ↓↓			81 ↓	65 ↓↓								
クレアチンキナーゼ		75 ↓↓				68 ↓										72 ↓↓									63 ↓↓			64 ↓								
アルブミン																										91 ↓↓	87 ↓↓	90 ↓	88 ↓↓				88 ↓↓	88 ↓↓		
総蛋白																									93 ↓	92 ↓↓	92 ↓↓	90 ↓↓				93 ↓↓	94 ↓↓			
K					107 ↑↑											106 ↑																				
Ca																										98 ↓	97 ↓	96 ↓↓	97 ↓					97 ↓		
トリグリセリド																										147 ↑↑	147 ↑↑	179 ↑↑					149 ↑↑	174 ↑↑		
総コレステロール															120 ↑	124 ↑	125 ↑↑																			
グルコース																									105 ↑				107 ↑							
雌動物		15										75										300														
投与量 (mg/kg/day)	検査時期 (週)	4	8	12	16	20	26	30	34	39	52	4	8	12	16	20	26	30	34	39	52	4	8	12	16	20	26	30	34	39	52					
ALP		105 ↑														108 ↑↑	109 ↑↑	111 ↑↑	112 ↑↑	113 ↑↑	115 ↑↑	117 ↑↑	118 ↑↑	119 ↑↑	117 ↑↑	125 ↑↑	129 ↑↑	133 ↑↑	136 ↑↑	138 ↑↑	143 ↑↑	141 ↑↑	141 ↑↑	148 ↑↑	144 ↑↑	
GOT																									74 ↓	79 ↓										
クレアチンキナーゼ																										208 ↑										
アルブミン																										93 ↓	88 ↓↓		92 ↓					92 ↓		
K										94 ↓					94 ↓												94 ↓									
Ca																										97 ↓↓	96 ↓		98 ↓↓							
トリグリセリド													136 ↑		136 ↑		136 ↑									171 ↑↑	145 ↑			136 ↑	151 ↑↑			164 ↑↑	180 ↑↑	
総コレステロール																									126 ↑↑											
尿酸																																				
グルコース																	107 ↑												107 ↑							

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)
Student's t-test、 ↑ ↓ : p<0.05, ↑↑↓↓ : p<0.01.

1-75

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

血液生化学的検査；投与開始前及び投与 4、8、12、16、20、26、39 及び 52 週時に全動物の頸静脈から採血し、血漿中のグルコース、尿素、コレステロール、カルシウム (Ca)、総蛋白、アルブミン、アルカリホスファターゼ (ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (GOT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT)、クレアチンキナーゼ、カリウム (K)、トリグリセリドについて検査した。なお ALP は、投与 30 及び 34 週時にも全動物から採血し測定した。採血はいずれも給餌前に行った。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を前頁の表 3 に示した。300 及び 75mg/kg/day 投与群雌雄で用量に依存した ALP の増加がみられた。この変化は雄よりも雌で顕著であった。また、300mg/kg/day 投与群雌雄及び 75mg/kg/day 投与群雌でトリグリセリドの増加がみられた。300 mg/kg/day 投与群雄で総蛋白及びアルブミンの減少、同群雌でアルブミンの減少、同群雌雄で Ca の僅かな減少がみられた。また、全投与群雄でクレアチンキナーゼの減少が散見され、300mg/kg/day 投与群雌で上昇が見られた。

肝臓アミノピリン N-デメチラーゼ (APDM) 活性；投与期間終了時に、各群雌雄各 4 匹の動物の肝臓を用いて APDM 活性を測定した。

全投与群雄、300 及び 75mg/kg/day 投与群雌で用量に依存した APDM 活性の有意な増加がみられた。しかし、15mg/kg/day 投与群雄の増加は対照群と比較するとわずかであった。

表 4. APDM 活性 ($\mu\text{mol formaldehyde/h/g liver}$)

投与量 (mg/kg)	0	15	75	300
雄	12.6	14.6 $\uparrow\uparrow$	19.4 $\uparrow\uparrow$	30.1 $\uparrow\uparrow$
雌	13.1	13.6	17.8 $\uparrow\uparrow$	24.0 $\uparrow\uparrow$

Student's t-test, $\uparrow\uparrow$: $p < 0.01$.

尿 検 査；投与開始前及び投与 8、17、26 及び 50 週時に全動物を対象として、尿量、pH、比重、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血及び蛋白を測定した。さらに尿沈渣の鏡検を行い、結晶と精子の有無を調べ、赤血球数、白血球数、扁平上皮細胞数、小上皮細胞数及び上皮性円柱数を測定した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を表 5 に示した。

表 5. 尿検査結果（雌動物）

性別	雌														
	15					75					300				
投与量															
検査時期 (週)	投与前	8	17	26	50	投与前	8	17	26	50	投与前	8	17	26	50
尿量		178 ↑	166 ↑												
pH												94 ↓			
比重			99 ↓												

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)
Student's t-test、 ↑ ↓ : p<0.05

いずれの変化も一過性であり用量相関性も認められなかったため、雌動物にみられたこれらの変化は、検体投与による影響とは考えられなかった。また、定性的検査項目にも有意な変化はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与 13、26、39 及び 52 週時に全動物を対象として検査を行った。

対照群雌 1 例に右眼の白内障が投与開始前から投与 52 週時までみられた。また、投与 52 週時に対照群雄 1 例に右眼角膜の潰瘍が、75mg/kg/day 投与群雌 1 例に右眼角膜の混濁が 2 ヲ所にみられた。しかし、これらの所見は偶発的なもので、投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量；投与期間終了時に全動物を対象として、生殖腺、肝臓、脳、下垂体、脾臓、胸腺、肺、副腎、心臓、甲状腺（上皮小体を含む）及び腎臓の重量を測定した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を表 6 に示した。

検体投与に関連する変化として、300mg/kg/day 投与群雌雄及び 75 及び 15mg/kg/day 投与群雄に用量に依存した肝臓重量の増加がみられた。300mg/kg/day 投与群雄の腎臓重量及び同群雌の副腎重量の僅かな増加がみられた。

その他の変化として、15mg/kg/day 投与群雌のみで下垂体重量の増加がみられたが、用量相関性はなかった。

表 6. 臓器重量

性 別	雄			雌			
	15	75	300	15	75	300	
投与量 (mg/kg)							
体重	103	98	93	102	102	98	
副腎	絶対重量	111	114	110	98	107	119↑↑
	補正重量*	110	115	114	98	107	119↑↑
	体重比@	108	116	118	95	104	121
腎臓	絶対重量	106	105	109	98	100	102
	補正重量*	103	106	113↑↑	96	98	103
	体重比@	102	107	118	95	97	104
肝臓	絶対重量	113↑	124↑↑	139↑↑	97	110	129↑↑
	補正重量*	111↑	125↑↑	142↑↑	95	108	131↑↑
	体重比@	109	126↑↑	150↑↑	95	108	133↑↑
下垂体	絶対重量	91	93	97	113↑	110	105
	補正重量*	90	94	101	112↑	109	107
	体重比@	89	95	106	112	108	108

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

Student's t-test, ↑: p<0.05, ↑↑: p<0.01, 無印: 有意差なし

@体重比は申請者が実施した。

*体重調整値

肉眼的病理検査；投与期間終了時に全動物を対象として肉眼的病理検査を行った。

投与による異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査；投与期間終了時に全動物を対象として、副腎、大動脈、脳（延髄、橋、小脳皮質及び大脳皮質切片を含む）、盲腸、結腸、十二指腸、空腸、精巣上体、眼、胆嚢、心臓、回腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（腸間膜及び前肩甲骨リンパ節）、乳腺、坐骨神経、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、肋骨、皮膚、下顎腺、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮体部及び頸管、筋肉及び肉眼的病変部について、病理組織標本を作製し鏡検した。

300mg/kg/day 投与群雄 2 例に、検体投与に関連した軽度の肝細胞腫大がみられた。また、300 及び 75mg/kg/day 投与群雌で各々 2 例及び 3 例の肝臓に軽度の風船細胞がみられた（表 7）。発生頻度はやや高いと考えられた。その他の病理組織学的変化は、ビーグル犬で通常みられるものであった。

表 7. 肝臓にみられた病理組織学的所見

性 別	雄				雌			
	0	15	75	300	0	15	75	300
投与量(mg/kg/day)								
検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
肝細胞腫大	0	0	0	2	0	0	0	0
風船細胞（軽微）	0	0	0	0	3	3	4	2
風船細胞（軽度）	0	0	0	0	0	0	2	3

程度については 5 段階に分類（軽微—軽度—中程度—重度—最重度）

統計解析： χ^2 検定（有意差なし）（申請者が実施）

本剤を1年間（52週間）に亘り、イヌに経口投与した結果、300mg/kg/day 投与群雌雄で消瘦、アルブミン、カルシウムの減少が、同群雄で体重増加量の減少及び総蛋白の減少、また同群雌でクレアチンキナーゼの上昇がみられた。300及び75mg/kg/day 投与群では、ALPの上昇、トリグリセリドの増加がみられた。また、全投与群雄でクレアチンキナーゼの減少が散見された。全投与群雄で肝重量の増加がみられ、300mg/kg/day 投与群雄で腎臓重量の、同群雌で副腎重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、投与に関連した軽度の肝細胞肥大が300及び75mg/kg/day 投与群でみられ、また本剤投与に対する適応性変化と考えられた肝臓 APDM 活性の上昇が全投与群にみられた。

しかしながら、本剤の試験期間中にみられた主な毒性作用は300mg/kg/day 投与群での体重増加量の僅かな減少であり、他の変化は極く軽微なものと考えられるので、無毒性量は75mg/kg/day（雌雄）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シンジェンタジャパン株式会社にある。

② ラットを用いた飼料混入投与による 104 週間反復経口投与毒性／発がん性併合試験

(資料 No.T-21)

試験機関：Hazleton Laboratories Europe (英国)

報告書作成年：1986 年

[GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：SD系ラット (CrI:CD(SD)BR)、約 6 週齢、1 群雌雄各 60 匹

試験構成を下表に示した。

投与量 (ppm)		0	50	250	1250
雄	発がん試験群 (2 年間投与)	50	50	50	50
	52 週時中間屠殺群	10	10	10	10
雌	発がん試験群 (2 年間投与)	50	50	50	50
	52 週時中間屠殺群	10	10	10	10

投与期間：104 週間 (1983 年 9 月～1985 年 9 月)

投与方法：検体を 0、50、250 および 1250 ppm 含有した飼料を 104 週間に亘って摂食させた。検体は飼料に直接添加した。検体を含む飼料は週に 1 回調製した。

<用量設定根拠>

試験項目および結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。1 週間に 1 回、全動物を対象として触診を含む詳細な臨床的観察を行った。

投与期間を通じて検体投与に関連した異常所見はみられなかった。

また、104 週時の生存率を表 1 に示した。生存率に投与の影響は認められなかった。

表 1. 生存率

投与量 (ppm)	0	50	250	1250
雄の生存率 (%) ^a	29/50 (58)	30/50 (60)	33/50 (66)	33/50 (66)
雌の生存率 (%) ^a	21/50 (42)	28/50 (56)	23/50 (46)	22/50 (44)

生存数/発がん性試験動物数 (生存率 %) で表した

体重変化；投与開始当日、投与開始から最初の 12 週間は週 1 回、その後は 2 週間に 1 回全生存動物の体重を測定した。

雄動物では、1250 及び 250ppm 投与群で投与 2 週時に体重増加量のごく軽度の減少がみられ、対照群と比較して 1250ppm 群は約 7%、250ppm 群は約 5%、それぞれ低値であった。しかし、その後の累積増加量は対照群と差は認められなかった。雌動物では、1250ppm 投与群で、投与期間を通じて対照群と比較して統計学的に有意な体重増加量の減少がみられた。同群雌の 104 週時の累積体重増加量は対照群と比較して約 22%低値であった。250ppm 投与群雌で 104 週時に体重増加量の軽度 (約 13%低値) ではあるが対照群と比較して統計学的に有意な減少がみられた。

摂餌量および食餌効率；投与開始から 12 週間は週 1 回、その後は 2 週間に 1 回摂餌量を測定した。

1250ppm 投与群雌で投与 12 週時までの期間、わずかではあるが統計学的に有意な平均累積摂餌量の低下 (4.0~5.1%減少) がみられた。しかし、摂餌量と体重増加量から食餌効率を検討すると、全投与群でパクロブトラゾール投与による影響はみられなかった。

摂水量；投与開始から 12 週間は週 1 回、その後は 27 週、54 週、79 週及び 100 週から各 4 週間、給水びんで給水し、摂水量を測定した。

1250ppm 投与群雌の 27 週から 30 週の平均累積摂水量に、対照群と比較してごくわずかな摂水量の低下 (有意差なし、約 5%減少) がみられた。

検体摂取量；摂餌量及び飼料中の検体濃度から算出した 52 週及び 104 週時における 50、250 及び 1250ppm 投与群雄の 1 日当たりの平均検体摂取量は、それぞれ 1.4、7.2、36.8mg/kg/day 及び 1.4、6.8、33.8mg/kg/day であった。また、雌については 2.1、10.8、57.9mg/kg/day 及び 1.6、8.8、48.8mg/kg/day であった。

以下に全投与期間 104 週を通じた検体摂取量を示す (申請者が計算した)。

表 2. 検体摂取量

投与量(ppm)		50	250	1250
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2.0	10.0	50.2
	雌	2.6	13.3	69.0

眼科学的検査；投与 50 週時及び 102 週時に、対照群及び 1250ppm 投与群の雌雄各 20 匹を対象にして検査を行った。

1250ppm 投与群の 5 例及び対照群の 4 例で 102 週時の検査時に水晶体の混濁あるいは完全な白内障がみられた。これらの異常は、この週齢のこの系統のラットに一般にみられるものでパクロブトラゾール投与による影響とは考えられなかった。

血液学的検査；投与開始前、投与 4、12、26、39、52、78 及び 104 週時に全群の雌雄各 10 匹を対象として抗凝固剤として EDTA を用い、軽いエーテル麻酔下で眼窩静脈叢より採血した。採血前 16 時間は絶食させた。赤血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (PCV (Ht 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)、赤血球の形態、総白血球数、白血球百分率、血小板数について検査した。また、52 週時及び 104 週時には、上記項目の他にクエン酸ナトリウムを抗凝固剤として用い、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についても検査した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次頁の表 3 に示した。

250ppm 投与群雌雄で血小板数の減少がみられた。また、同群雄で総白血球数の減少がみられたが、投与開始前にも減少がみられたので、その意義は不明である。投与 4 週時に全投与群雌で赤血球数及び 1250ppm 投与群雌で Hb 及び PCV の減少がみられた。投与 52 週時に 1250 及び 250ppm 投与群雌で Hb、1250ppm 投与群雌で PCV の減少がみられた。投与 78 週時に全投与群雄で PCV の減少がみられた。対照群と比較して統計学的に有意であった変化は、いずれも一過性であり、用量相関性もみられなかったので、投与による影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査；投与開始前、投与 4、12、26、39、52、78 及び 104 週時に全群の雌雄各 12 匹 (投与開始前のみ雌雄各 20 匹) を対象として軽いエーテル麻酔下で眼窩静脈叢より採血し (抗凝固剤としてヘパリンリチウム使用)、血漿中のアスパラギン酸トランスフェラーゼ (GOT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、グルコース、血中尿素窒素 (BUN)、総コレステロール、トリグリセリド、総蛋白、アルブミン、A/G 比について検査した。採血前 16 時間は絶食させた。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次頁の表 4 に示した。1250ppm 投与群雌で投与 39 及び 52 週時に、また 250ppm 投与群雌で投与 39 週時にトリグリセリドの減少がみられた。1250ppm 投与群雌で 39 及び 52 週時に BUN の増加がみられた。対照群と比較して統計学的に有意な差がみられたその他の変化は、投与による影響とは考えられなかった。表 4 に対照群と比べ、統計学的に有意差のみられた項目を示した。

表 3. 血液学的検査結果

雄動物																									
投与量 (mg/kg/day)		50								250								1250							
検査時期 (週)	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	
Hb					92↓								95												
PCV					93↓		93↓								93↓									96↓	
血小板数																			77↓		78↓				
総白血球数									80↓								71↓								
単球数	18↓								27↓								18↓								
雌動物																									
投与量 (mg/kg/day)		50								250								1250							
検査時期 (週)	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	
Hb														95				99↓					93↓		
赤血球数		96↓								97↓								96↓							
PCV							105↑											95↓					93↓		
MCV																					95↓				
血小板数																							75↓		
総白血球数																							80↓		
好中球数																	42↓								
単球数											40↓														

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)
 Student's t-test, ↑↓: p<0.05, ↑↓↓↓ p<0.01.

表 4. 血液生化学的検査結果

雄動物																									
投与量 (mg/kg/day)		50								250								1250							
検査時期 (週)	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	
GOT															70↓			83↓	78↓		85↓				
ALP							131↑↑					120↑			177↑										
グルコース	154↑								126↑↑			119↑	134↑↑				143↑↑			137↑↑	147↑↑	120↑		139↑	
BUN	140↑↑																								
総コレステロール			118↑																						
アルブミン																	103↑								
雌動物																									
投与量 (mg/kg/day)		50								250								1250							
検査時期 (週)	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	投与前	4	12	26	39	52	78	104	
GOT																	86↓	83↓						84↓	
GPT							142↑						73↓				76↓	77↓			77↓				
グルコース									134↑↑								160↑↑						71↓		
BUN											89↓										120↑↑	133↑↑			
トリグリセリド				141↑		121↑			68↓				47↓								36↓	63↓			
総蛋白						93↓											96↓								
アルブミン						89↓					93↓							92↓	90↓						

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)
 Kruskal-Wallis test 及び Wilcoxon 順位和検定 t-test、 ↑ ↓ : p<0.05, ↑↑↓↓ : p<0.01.

尿検査 ; 投与開始前、投与 4、12、26、39、52、78 及び 104 週時に全群の雌雄各 10 匹を対象として、色調、pH、尿量、比重、沈渣、蛋白、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ヘモグロビン、ビリルビンを検査した。

尿検査に投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量 ; 投与 52 週時の計画屠殺動物、投与期間終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、脳、肝臓、心臓、生殖腺、副腎、甲状腺、下垂体、腎臓、脾臓及び肺の重量を測定した。52 週のみ胸腺重量も測定した。

表 5 に対照群と比べ統計学的に有意差のみられた項目を示した。

検体投与に関連する変化として、1250ppm 投与群雌雄で 104 週時に肝重量の増加がみられた。

その他の変化として、1250ppm 投与群雄で投与 52 週時に生殖腺重量の増加がみられたが、外れ値を示す 1 動物の値を除外すると統計学的有意差は認められなかった。その他の変化は、一過性であり用量相関性もみられなかったので、パクロブトラゾール投与による影響とは考えられなかった。

表 5. 臓器重量

検査時期	性別		雄			雌			
	投与量(ppm)		50	250	1250	50	250	1250	
52 週	体重		103	108	97	102	97	81↓↓	
	脳	絶対重量	100	97	100	98	93↓	98	
		補正重量*	100	97	100	98	94↓↓	99	
		体重比@	98	92	103	95	97	121↑↑	
	肺	絶対重量	104	101	105	102	105	94↓	
		補正重量*	103	98	106	102	105	96	
		体重比@	101	95	108	99	108	116↑	
	生殖腺 (精巣)	絶対重量	103	104	116↑				
		補正重量*	102	103	117↑↑				
		体重比@	96	98	108↑				
	104 週	体重		98	99	102	95	90	84↓↓
		肝臓	絶対重量	101	101	114↑↑	101	95	109
補正重量*			102	101	113↑↑	105	103	124↑↑	
体重比@			110	102	112↑↑	105	107	131↑↑	
心臓		絶対重量	106	104	102	94	86↓↓	89↓	
		補正重量*	106	104	102	96	91↓	97	
		体重比@	108	106	100	98	97	106	
下垂体		絶対重量	140	105	95	85	76	90	
		補正重量*	140↑	105	95	87	79	100	
		体重比@	87	152	77	63	147	118	

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

Student's t-test、↑↓: p<0.05, ↑↑↓↓: p<0.01, 無印: 有意差なし

@体重比は申請者が実施した。

*体重調整値

肉眼的病理検査；投与 52 週時の計画屠殺動物、投与期間終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を実施した。

投与 52 週時の計画屠殺動物では非腫瘍性の病変はほとんど認められず、また腫瘍性病変に投与による影響はみられなかった。投与期間終了時の全生存動物及び途中死亡動物では、軽度の皮膚損傷等の非腫瘍性の病変がみられたが、投与による影響はみられなかった。また、大半の動物で少なくとも 1 個の腫瘍がみられたが、これらの腫瘍は加齢に伴ってみられるもので、投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査；投与 52 週時の計画屠殺動物と投与期間終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、副腎、大動脈、骨髓塗抹標本、脳（髄質、小脳及び皮質）、盲腸、子宮頸部、結腸、十二指腸、眼球（及び視神経）、大腿骨、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節（下顎及び腸間膜）、乳腺、筋肉（大腿四頭筋）、鼻腔（各群雌雄各 10 匹）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（下顎）、坐骨神経、精囊、皮膚、頭蓋骨、脊髄（3 髄節）、脾臓、胃、精巣上部及び精巣、胸腺（採取可能な場合）、甲状腺（同定できる時は上皮小体も）、膀胱、子宮体、肉眼的病変部及び組織腫瘍について病理組織標本を作製し鏡検した。

(1) 非腫瘍性病変（表 6）：

1250ppm 投与群雌雄で投与 52 及び 104 週時に脂肪化を伴う肝細胞の小葉中心性の肥大が検体投与に関連した所見として認められた。250ppm 投与群雄数例にも肝細胞の脂肪化がみられたが、この所見は 52 週時の中間屠殺した動物には全く認められなかった。

表 6. 肝臓における非腫瘍性病変

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量(ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250
52 週	検査動物数	9	10	10	10	10	10	10	10
	脂肪化を伴う肝細胞肥大	0	0	0	8**	0	0	0	10**
104 週	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	脂肪化を伴う肝細胞肥大	1	0	8*	40**	0	0	0	44**

統計解析： χ^2 検定 * <0.05 , ** <0.01 （申請者が実施）

(2) 腫瘍性病変（表 7）：

対照群を含む全群に副腎、下垂体、甲状腺、皮膚及び乳腺などに腫瘍がみられた。これらの腫瘍は加齢ラットに一般的なもので、投与に関連したものではなかった。子宮の間質性ポリープの発生頻度には統計学的に有意な用量相関性の傾向が認められた。これは対照群における発生が皆無であったことに起因し（過去 10 試験では 1 試験のみ対照群で 0 例で

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

あり、通常は 10%程度の発生率の範囲にある)、また子宮にその他の影響がみられなかったことから、この変化は本剤の催腫瘍性を示すものではないと判断した。各群における良性及び悪性腫瘍数、腫瘍総数及び担腫瘍動物数を次の表に示し、各群の臓器別腫瘍発生状況を次頁以降の表に示した。これらの表から、腫瘍の発生頻度に関する本剤投与の影響はみられなかった。

以上の結果より、本剤の 104 週間飼料混入投与によるラット慢性毒性発がん性併合試験では、1250ppm 投与群雌で摂餌量及び摂水量の減少に関連した体重増加量の減少、トリグリセリドの減少及び BUN の増加、同投与群雌雄で肝臓重量の増加、肝細胞の肥大及び脂肪化がみられた。250ppm 投与群雌雄で体重増加量の減少がみられたがごくわずかであること、また同群雄の数例で肝の脂肪化がみられたが肝臓重量に変化はなかったことから、毒性影響とはみなさなかつた。

従って、本剤の無毒性量は 250ppm (雄 10.0mg/kg/day、雌 13.3mg/kg/day)であると判断された。また、本剤には催腫瘍性はないものと考えられる。

表 7. 腫瘍性病変

器官名	腫瘍名	B/M	雄				雌			
			0	50	250	1250	0	50	250	1250
検査動物数			60	60	60	60	60	60	60	60
腹腔	癌腫	M	0	0	0	1	0	0	0	0
	脂肪腫	B	0	0	0	0	0	0	1	1
	肉腫	M	0	1	1	0	0	0	0	0
副腎	腺腫	B	1	0	0	1	0	0	0	0
	褐色脂肪腫	B	10	6	12	11	1	6	2	4
	悪性褐色脂肪腫	M	0	0	0	1	0	0	0	0
脳	髄膜腫	B	1	0	0	1	0	0	0	0
	神経膠腫	M	0	0	1	3	0	0	2	0
結合組織	組織球性肉腫	M	0	1	0	1	0	0	0	0
眼	平滑筋腫	B	0	0	0	0	0	0	0	1
	肉腫	M	0	0	0	1	0	0	0	0
血液・リンパ細網系	悪性リンパ腫	M	1	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ球性リンパ腫	M	0	0	0	2	0	0	0	0
	白血病	M	0	0	0	1	0	0	0	1
	顆粒球性白血病	M	0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ球性白血病	M	0	1	0	1	0	0	0	0
心臓	心内膜腫瘍	B	0	0	1	0	0	0	0	0
腎臓	癌腫	M	0	0	2	0	0	0	0	0
	脂肪性腫瘍	B	0	0	0	1	1	0	0	0
肝臓	胆管癌	M	0	1	0	0	0	0	0	0
肺	腺腫	B	0	0	1	0	0	0	0	0
腸間膜リンパ節	血管腫	B	0	1	2	1	0	0	0	0
乳腺	腺腫	B	0	0	0	0	0	0	0	2
	繊維/腺腫	B	0	0	0	0	14	16	15	13
	癌腫	M	1	0	0	0	2	1	6	2
	多発性癌腫	M	0	0	0	0	0	1	1	0
	癌腫/腺腫	M/B	0	0	0	0	1	3	3	1
	癌肉腫	M	0	0	0	0	0	0	0	1
鼻腔	扁平上皮癌	M	0	0	0	0	0	0	0	1
卵巣	顆粒膜細胞腫	B	-	-	-	-	0	0	1	0
膵臓	腺腫	B	0	0	1	0	0	0	0	0
	島細胞腫	B	5	5	2	3	3	3	0	3
	島細胞癌	M	0	1	0	0	0	1	0	0
上皮小体	腺腫	B	0	1	0	1	0	0	0	0
下垂体	腺腫	B	26	27	28	27	36	46	34	36
	癌腫	M	0	0	0	0	1	0	0	0

数字は腫瘍の認められた動物数

B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

表 7. 腫瘍性病変 (続)

器官名	腫瘍名	B/M	雄				雌			
			0	50	250	1250	0	50	250	1250
検査動物数			60	60	60	60	60	60	60	60
皮下組織	基底細胞腫	B	0	1	1	0	0	1	0	0
	皮脂腺腫	B	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳頭腫	B	5	2	2	1	1	1	1	0
	扁平上皮癌	M	0	1	0	1	0	0	0	0
	線維腫	B	4	3	4	6	0	1	2	0
	多発性線維腫	B	1	1	0	1	0	0	0	0
	皮膚線維腫	B	1	3	3	4	0	0	0	0
	線維脂肪腫	B	0	0	1	0	0	0	0	0
	脂肪腫	B	3	3	3	3	1	2	1	0
	肉腫	M	0	0	2	0	0	0	0	0
	血管肉腫	M	0	0	0	0	0	1	0	0
	組織球性肉腫	M	0	0	0	0	1	0	0	0
尾	乳頭腫	B	0	0	0	1	0	0	0	0
	シュワン鞘腫	B	0	0	0	0	0	0	1	0
精巣	ライディッヒ細胞腫	B	2	4	2	4	-	-	-	-
	中皮腫	B	0	0	0	1	-	-	-	-
胸腔	悪性中皮腫	M	0	0	0	1	0	0	0	0
甲状腺	C細胞腫	B	9	15	8	4	5	10	6	9
	濾胞状腺腫	M	0	0	1	2	1	1	0	1
	濾胞状癌	M	0	1	1	0	0	0	0	0
子宮	ポリープ	B	-	-	-	-	0	0	0	1
	癌腫	M	-	-	-	-	0	0	1	0
	血管腫	B	-	-	-	-	1	0	0	0
	線維腫	B	-	-	-	-	0	1	0	0
	間質性ポリープ	B	-	-	-	-	0#	5*	5**	7**
膣	線維腫	B	-	-	-	-	0	0	0	1
歯	歯牙腫	B	1	0	0	0	0	0	0	0
腫瘍数	良性腫瘍		71	70	72	73	79	109	80	84
	悪性腫瘍		1	7	8	13	3	6	7	4
	総数		72	77	80	86	82	115	87	88
担腫瘍動物数			38	41	40	44	47	54	47	46

数字は腫瘍の認められた動物数

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

-: 検査せず

#: p<0.05 (傾向検定)

* p<0.05, p<0.01 (対照群との1方向2群間比較)

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

③ マウスを用いた飼料混入投与による 104 週間反復経口投与毒性／発がん性併合試験

(資料 No.T-22)

試験機関：Hazleton Laboratories Europe (英国)

報告書作成年：1986 年

検体の純度：

試験動物：Cri:CD-1(ICR)BR 系マウス、1 群雌雄各 63 匹、投与開始 6 週齢

試験構成を下表に示した。

投与量 (ppm)		0	0	25	125	750
雄	発がん試験群 (2 年間投与)	51	51	51	51	51
	52 週時中間屠殺群	12	12	12	12	12
雌	発がん試験群 (2 年間投与)	51	51	51	51	51
	52 週時中間屠殺群	12	12	12	12	12

投与期間：104 週間 (1986 年 9 月～1985 年 9 月に開始)

投与方法：検体を 0、0 (対照群は 2 群設定した)、25、125、750ppm 含有した飼料を 104 週間摂食させた。なお、検体は直接飼料に添加した。パクロブトラゾール添加飼料は初めの 7 週間は毎週 1 回、それ以降は 2 週間に 1 回調製した。

<用量設定根拠>

試験項目および結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。12週間に1回、全動物を対象として触診を含む詳細な臨床観察を行った。全動物について生死を毎日観察した。

104週時の生存率を表1に示した。生存率に統計学的有意差は認められなかった。

投与期間を通じてパクロブトラゾール投与に関連した異常所見はみられなかった。

表1. 生存率

投与量 (ppm)	0	0	25	125	750
雄：生存数/供試数 (生存率%) ^a	20/51 (39.2)	22/51 (43.1)	18/51 (35.3)	23/51 (45.1)	27/51 (52.9)
雌：生存数/供試数 (生存率%) ^a	28/51 (54.9)	23/51 (45.1)	29/51 (56.9)	28/51 (54.9)	27/51 (52.9)

a：最終屠殺時（104週）の値

体重変化；全動物について、投与開始当日、投与開始から12週間は週1回、その後は2週間に1回全生存動物の体重を測定した。

散発的に投与群で対照群と比較して有意な体重増加が認められたが、体重に対する投与の明らかな影響はみられなかった。

摂餌量；投与開始から投与12週時までは週1回、その後は2週間に1回摂餌量を測定した。

摂餌量に対する投与の明らかな影響はみられなかった。

摂水量；投与開始から投与12週時までは週1回測定した。

摂水量に対する投与の明らかな影響はみられなかった。（従って、それ以降の摂水量測定は行わなかった）

検体摂取量；飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した52週及び104週時における25、125及び750ppm投与群雄の1日当たり平均検体摂取量は、それぞれ2.5、12、79mg/kg/day及び2.6、14、81mg/kg/dayであった。また、雌については3.4、17、113mg/kg/day及び3.0、16、89mg/kg/dayであった。

表1に全投与期間104週を通じた検体摂取量を示す（申請者が計算した）。

表 1. 検体摂取量

投与量(ppm)		100	500	2000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.0	15.0	90.4
	雌	3.8	19.6	118.8

血液学的検査;投与 52 週時及び 104 週時に全群の雌雄各 10 匹を対象として眼窩静脈叢より採血し、赤血球数、総白血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (PCV (Ht 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)、総白血球数、白血球百分率、血小板数について検査した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を表 2 に示した。

表 2 血液学的検査結果

性 別	雌					
	25		125		750	
投与量(ppm)						
検査時期 (週)	52	104	52	104	52	104
総白血球数	64↓		63↓↓		73↓	
単球数	33↓		24↓		71↓	
血小板数						125↑

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

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

雄動物には投与による変化は認められなかった。雌動物では、750、125、25ppm 投与群で投与 52 週時に総白血球数及び単球数が減少し、750ppm 投与群で投与 104 週時に血小板数が増加した。しかし、用量相関性はなく、いずれも毒性学的重要性はないと考えられた。

血液生化学的検査 ; 投与 52 週時及び 104 週時に全群の雌雄各 10 匹を対象として眼窩静脈叢より採血し、血漿中のアラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、血中尿素窒素 (BUN)、総コレステロール、トリグリセリド、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比について検査した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次の表に示した。

750ppm 投与群雌雄及び 25ppm 投与群雄で投与 52 週時にトリグリセリドの低下がみられた。しかし、125ppm 投与群ではみられなかったため、25ppm 投与群にみられたトリグリセリドの低下は毒性学的に有意とは考えられなかった。750ppm 投与群雄で 104 週にトリグリセリドとコレステロールが減少した。

表3 血液生化学的検査結果

性別	雄					
投与量(ppm)	25		125		750	
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104
BUN				125↑		122↑
コレステロール						61↓↓
トリグリセリド	71↓				65↓↓	69↓↓
アルブミン					42↓	
性別	雌					
投与量(ppm)	25		125		750	
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104
BUN	118↑				118↑	
トリグリセリド					55↓↓	
アルブミン			104↑			

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

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

臓器重量 ; 投与 52 週時の計画屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、副腎、脳、生殖腺、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、胸腺 (52 週時のみ) の重量を測定した。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た。また、相対重量 (体重比)、最終体重をもとに補正した重量を算出した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次の表に示した。

表4 臓器重量結果

性別	雄					
投与量(ppm)	25		125		750	
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104
肝臓					121↑↑	111↑↑
性別	雌					
投与量(ppm)	25		125		750	
検査時期(週)	52	104	52	104	52	104
脳				97↓		
肝臓		108↑				131↑↑
腎臓				107↑		108↑↑

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

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

750ppm 投与群雄で投与 52 週時及び 104 週時に、同群雌で 104 週時に肝臓重量の増加がみられた。750ppm 投与群雌及び 125ppm 投与群雌で 104 週時に腎臓重量の軽微な増加がみられた。

〔申請者注〕750ppm および 125ppm 投与群雌で認められた腎臓重量の軽微な増加は、両群ともに腎臓に病理組織学的所見が認められなかったことから、投与による毒性影響ではないと考える。

肉眼的病理検査；投与 52 週時の計画屠殺動物、投与期間終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を実施した。

非腫瘍性の病変については、全投与群雌雄で投与による影響は認められなかった。また、腫瘍性の病変については、投与 52 週時の計画屠殺動物では腫瘍の発生率は低く、パクロブトラゾールの催腫瘍性を示唆する腫瘍はみられなかった。また、投与期間終了時の全生存動物では、大部分の動物で少なくとも 1 個の腫瘍がみられたが担腫瘍動物の発生率に投与の影響は認められず、またこれらの腫瘍は加齢マウスに一般的なもの検体投与に関連したものではなかった。

病理組織学的検査；投与 52 週時の計画屠殺動物と投与期間終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、副腎、大動脈、骨髓塗抹標本、脳（髄質、小脳及び皮質部分）、盲腸、子宮頸管、結腸、十二指腸、眼球（及び視神経）、大腿骨、胆嚢、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節（下顎）、リンパ節（腸間膜）、乳腺、筋肉（四頭筋）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（下顎）、坐骨神経、精嚢、皮膚、頭蓋骨、脊髄（3 髄節）、脾臓、胃、精巣上部、精巣、胸腺（採取可能な場合）、甲状腺（同定できる時は上皮小体も）、気管、膀胱、子宮体、肉眼的病変部及び組織腫瘍について病理組織標本を作製し鏡検した。

非腫瘍性病変（表 5）：

750ppm 投与群雄で投与 52 週時及び 104 週時に肝細胞における重度あるいは最重度の脂肪化の程度が有意に増加した。750ppm 投与群雄の脂肪化以外に検体投与に関連した変化はみられなかった。

腫瘍性病変（表 6）：

腫瘍性病変としては、対照群を含む全群に、肺、肝臓、血液リンパ細網系、ハーダー腺などにおける腫瘍がみられた。これらの腫瘍は加齢マウスに一般的にみられるもので投与による影響とは考えられなかった。

各群における良性及び悪性腫瘍数、腫瘍総数及び担腫瘍動物数、各群の臓器別腫瘍発生状況を表 9 に示した。これらの表から腫瘍の発生頻度に関して検体投与の影響はみられなかった。

表 5. 肝細胞脂肪化

検査 時期	性 別 投与量(ppm)	雄					雌				
		0	0	50	125	750	0	0	50	125	750
52 週	検査動物数	10	11	12	11	11	11	12	10	12	10
	脂肪化 (軽微)	1	1	1	0	0	0	0	3	0	0
	脂肪化 (軽度)	2	2	2	5	0	2	2	0	0	1
	脂肪化 (中程度)	2	5	5	4	1	3	4	4	5	1
	脂肪化 (重度)	5	1	3	2	3*	4	5	2	4	5
	脂肪化 (最重度)	0	2	1	0	7*	2	1	1	3	3
104 週	検査動物数	63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
	脂肪化 (軽微)	33	24	29	30	18	18	24	22	25	19
	脂肪化 (軽度)	8	18	13	13	7	9	8	7	3	7
	脂肪化 (中程度)	15	14	15	14	13	12	17	17	18	17
	脂肪化 (重度)	6	3	4	6	12*	18	11	16	14	14
	脂肪化 (最重度)	1	3	1	0	12*	4	2	1	3	6

脂肪化の程度はオイルレッドO染色の程度により判定した(5段階)。

* 重度および最重度の発生頻度をまとめて Armitage 法により傾向検定した。対照群は2群をまとめて検定した。Armitage 法で有意な ($p < 0.05$) 場合、さらに χ^2 検定 (Yates の補正) により群間の有意差検定を実施した。その結果、52 週および 104 週時ともに、雄の 750ppm 群で重度あるいは最重度の発生頻度が有意に増加していることが確認された。

以上の結果より、本剤の 104 週間飼料混入投与によるマウス慢性毒性発がん性併合試験では、750ppm 投与群雌雄で 52 週時にトリグリセリドの低下が、また同群雌雄で 104 週時にトリグリセリド及びコレステロールの低下がみられた。750ppm 投与群雄で投与 52 週時に、また同群雌雄で投与 104 週時に対照群と比較して統計学的に有意な肝臓重量の増加がみられ、750ppm 投与群雄で肝細胞の脂肪化の程度が増加した。125ppm 及び 25ppm 投与群では投与による影響はみられなかった。750 及び 125ppm 投与群雌動物で認められた腎臓重量の増加は、病理組織学的検査の結果、腎臓には相当する所見が認められなかったことから、毒性影響とは考えなかった。

従って、この試験における本剤の無毒性量は 125ppm (雄 15.0mg/kg/day、雌 19.6mg/kg/day) であると判断された。また、本剤には催腫瘍性はないものと考えられる。

表6 腫瘍性病変

器官名	腫瘍名	B/M	雄					雌				
			0	0	25	125	750	0	0	25	125	750
検査動物数			63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
腹腔	悪性腫瘍	M	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	組織球性肉腫	M	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
副腎	腺腫	B	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	褐色脂肪腫	B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
血管	多発性血管腫	B	1	0	1	0	0	1	1	3	1	0
骨	骨腫	B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	骨肉腫	M	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
結合組織	組織球性肉腫	M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
血液・リンパ細網系	悪性リンパ腫	M	0	1	0	1	0	1	2	1	1	0
	未分化性リンパ腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	リンパ球性リンパ腫	M	3	2	2	5	1	6	10	7	9	7
	組織球性リンパ腫	M	0	0	2	0	0	0	1	0	0	1
	複合リンパ腫	M	1	0	0	0	0	3	2	1	4	3
	急性白血病	M	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	顆粒球性白血病	M	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1
形質細胞性白血病	M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
ハーダー腺	腺腫	B	5	3	3	11	2	2	4	9	2	8
腎臓	腺腫	B	1	3	0	0	3	0	0	0	0	0
	癌腫	M	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
肝臓	腺腫	B	13	17	13	15	16	1	1	1	2	2
	多発性腺腫	B	7	3	8	5	9	0	0	0	0	0
	悪性腫瘍	M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	癌腫	M	2	0	5	1	1	0	0	0	0	0
	多発性癌腫	M	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	癌腫/腺腫	M/B	0	1	4	2	2	0	0	0	0	0
血管腫	B	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
肺	腺腫	B	25	17	13	12	13	14	10	19	8	6
	多発性腺腫	B	1	6	2	3	6	1	1	0	1	3
	癌腫	M	2	1	3	2	3	1	1	0	0	3
	癌腫/腺腫	M/B	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
乳腺	腺腫	B	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	癌腫	M	0	0	0	0	0	3	3	2	3	2
卵巢	顆粒膜細胞腫	B	-	-	-	-	-	0	2	1	0	0
	囊腺腫	B	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	平滑筋腫	B	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
脾臓	島細胞腫瘍	B	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
下垂体	腺腫	B	0	0	1	1	0	3	1	3	0	5

数字は腫瘍の認められた動物数

B：良性腫瘍、M：悪性腫瘍

表 6 腫瘍性病変 (続)

器官名	腫瘍名	B/M	雄					雌				
			0	0	25	125	750	0	0	25	125	750
検査動物数			63	63	63	63	63	63	63	63	63	63
皮下組織	乳頭腫	B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	粘液腫	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	血管腫	B	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	肉腫	M	1	1	2	2	0	1	2	1	1	0
	血管肉腫	M	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
	組織球性肉腫	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
脾臓	血管腫	B	0	2	0	0	1	0	1	0	1	0
精巣	ライディッヒ細胞腫	B	2	0	2	1	5	-	-	-	-	-
	血管腫	B	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
子宮	ポリープ	B	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
	腺腫様ポリープ	B	-	-	-	-	-	1	0	0	1	0
	血管腫	B	-	-	-	-	-	3	1	1	3	1
	線維腫	B	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
	平滑筋腫	B	-	-	-	-	-	3	1	3	0	1
	間質性ポリープ	B	-	-	-	-	-	1	6	3	5	3
	肉腫	M	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
	平滑筋肉腫	M	-	-	-	-	-	0	0	0	2	0
	間質性肉腫	M	-	-	-	-	-	5	1	3	3	1
腫瘍数	良性腫瘍		58	53	44	48	55	32	30	48	26	33
	悪性腫瘍		11	11	18	15	10	20	24	16	26	20
	総数		69	64	62	63	65	52	54	64	52	53
担腫瘍動物数			43	43	43	41	43	36	34	38	37	38

数字は腫瘍の認められた動物数

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

-: 検査せず

(12) 繁殖毒性および催奇形性

① ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(資料 No.T-23)

試験機関：Central Toxicology Laboratory ICI (英国)

報告書作成年：1987年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Wistar 系ラット (Alpk:AP₀SD)、1群雄 15 匹、雌 30 匹

投与開始時 26~27 日齢、開始時体重；雄 136~197 g、雌 112~159 g

投与期間： 1985 年 1 月~1986 年 1 月

F0 世代雄；投与開始から F1b 児を得るための交配終了時までの約 31 週間

F0 世代雌；投与開始から F1b 児離乳時までの約 33~35 週間

F1 世代雄；離乳時から F2a 児を得るための交配終了時までの約 28~29 週間

F1 世代雌；離乳時から F2a 児離乳時までの約 27~30 週間

投与方法： 検体 0、50、250、1250ppm を含有する飼料を自由に摂食させた。なお、検体は飼料に直接添加した。

<投与量設定根拠>

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

親動物：

一般状態及び死亡率；全動物の全検査時期に一般状態及び生死を毎日観察した。

体重変化；交配前期間は、全親動物の体重を週1回測定し、F0親動物の初期体重は最初の試験飼料の給餌直前、F1親動物の初期体重は選抜時に記録した。

交配前期間後は、雌の体重を妊娠1、8、15および22日（膈垢中に精子が検出された日を妊娠1日とした）並びに、分娩後1、5、8、15、22および29日（出産日を分娩後1日とした）に測定した。試験終了時に、全親動物の体重を測定した。

摂餌量および食餌効率；交配前期間に摂餌量を各ケージの平均値（g飼料/ラット/日）として1週間間隔で算出した。食餌効率を、摂食飼料100g当たりのケージ内ラットによる体重増加量として算出した。

検体摂取量；両世代について交配前の雌雄動物の摂取量は毎週測定した。

下表に検体摂取量を示す（週単位の摂取量から平均値を申請者が算出）。

投与群 (ppm)		50	250	1250
検体摂取量 (mg/kg/day)	F0 雄	4.85	24.4	121
	F0 雌	5.13	25.9	126
	F1 雄	4.72	23.2	117
	F1 雌	5.14	24.8	124

交配および妊娠の確認；雌2：雄1で同居させ、毎日膈垢を検査して精子の有無により交尾を確認した。10日間の間に交尾が確認されなかった場合、3日間の休止期間の後、繁殖能が認められている雄と再度同居させた。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および分娩の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{妊孕率} = \frac{\text{妊孕性雄動物数}}{\text{妊孕性雄動物数} + \text{不妊孕性雄動物数}} \times 100 (\%)$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊性雌動物数}}{\text{妊性雌動物数} + \text{不妊性雌動物数}} \times 100 (\%)$$

同居期間＝同居開始から交配を確認した日（膈垢中の精子を確認）までの日数

妊娠期間＝交配を確認した日から分娩までの日数

また、生存率、同腹児数、同腹児重量についても分娩後24時間以内及び5、11、22、29日齢の値を測定した。

臓器重量；親動物については F0 及び F1 世代の全例の肝臓重量を測定した。児動物は各群から一定数の動物を選抜し、肝臓重量を測定した。

病理組織学的検査；精巣、精巣上体、精囊、前立腺、乳腺（雌のみ）、卵巣、子宮体、子宮頸管、肝臓、及び異常がみられた組織について病理組織標本を作製した。

F0 及び F1 の親動物については、対照群及び 1250ppm 投与群の全例の肝臓及び生殖器官の観察を行った。また、250 及び 50ppm 投与群の雌雄の不妊動物については、生殖器の観察を行った。

児動物：

一般状態および死亡；全児動物の一般状態および生死を少なくとも 1 日 1 回観察した。分娩後 24 時間以内（第 1 日）および、その後は分娩後 5、8、15、22 および 29 日に、すべての生存および死亡児動物を確認した。

体重変化；全児動物の体重を生後 24 時間以内（第 1 日）および、分娩後 5、11、22 および 29 日に測定した。

臓器重量；病理組織検査を実施した 1 群雌雄各 5 匹の児動物については肝臓重量を測定した。また、一般状態に異常の認められた児動物及び異常が認められなかった児動物を含み 1 母動物当たり 2 匹以上の動物を雌雄それぞれ選択し、これらの児動物の肝臓重量を測定した。

肉眼的病理検査；F1a 及び F1b 児はそれぞれ 1 群雌雄各 5 匹、F2 児は 1 群雌雄各 10 匹の児動物について剖検を行った。死亡を発見した 19 日齢以上の児動物も剖検した。また、一般状態に異常が認められた動物は全例、また同腹の異常の認められなかった児を選択し各母動物当たり雌雄各 2 匹以上となるように児動物を選択し剖検した。

病理組織学的検査；対照群及び 1250ppm 投与群については選択した F1a 及び F1b 児はそれぞれ 1 群雌雄各 5 匹、F2 児は 1 群雌雄各 10 匹の児動物の肝臓、生殖器官および肉眼的異常部位を病理組織学的に観察した。また、各母動物から選択し剖検を実施した対照群及び 1250ppm 投与群の児動物についても、肝臓の病理組織学的検査を実施した。F2a 児についても対照群及び 1250ppm 投与群は、眼及びハーダー腺、頭蓋について病理組織学的検査を実施した。

表 1. 試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
F0	生育 (84 日間)		一般状態を毎日検査し、体重及び飼料摂取量を週 1 回測定した。
	交配 (F1a 児)	雌 2 匹 : 雄 1 匹で交配。 毎日膣スメアを検査し、交尾を確認。 (精子確認日 = 妊娠 1 日)	交配状況を観察した。
	妊娠 (F1a 児 ; 22 日間)		雄は週毎に、雌は妊娠 1、8、15、22 日に体重を測定した。
	出産 (F1a 児) 哺育 (28 日間)	(分娩日 = 哺育 1 日)	出産状況を観察した。 生存児数、死産児数、外表異常、性別、同腹児数、同腹児体重を観察した。 生後 24 時間以内、5、11、22、29 日目の生存児数、死亡児数、児動物体重を測定した。 母動物は分娩 1、5、11、22、29 日に体重を測定した。 18 日齢以下の途中死亡動物は異常のみ記録した。 19 日齢以上の途中死亡動物は剖検し、肝臓、生殖器官及び肉眼的に異常な組織を摘出・固定した。
F1a	離乳 (F1a 児 ; 生後 29 日)	36 日目に継代用の各群雄 15 匹、雌 30 匹を 15 腹から無作為に選抜した。	継代用以外の全動物を選抜後できるだけ早い時期に屠殺した。このうち 1 群雌雄各 5 匹について剖検し、肝臓、生殖器官及び肉眼的に異常な組織を摘出・固定した。対照群及び 1250ppm 投与群については肝臓及び生殖器官の病理組織学的検査を行った。さらに臨床的異常のみられた全児動物に正常な児動物を追加して、各同腹児当たり最低雌雄各 2 匹になるように調整した後、剖検及び肝臓重量の測定を行った。肉眼的に異常な組織を摘出・固定し、そのうち対照群及び 1250ppm 投与群の肉眼的に異常な肝について病理組織学的検査を行った。 継代用の全児動物の体重は 36 日目から生育期間を通じて週 1 回測定した。
	休養 (10 日間) 交配 (F1b 児)	(F1a 児に準ずる)	(F1a 児に準ずる) 雄親動物は交配終了後ただちに屠殺剖検し、体重及び肝重量の測定を行った。また、肝臓、生殖器官及び肉眼的に異常な組織を摘出・固定した。対照群及び 1250ppm 投与群の全動物について肝臓、生殖器官及び異常組織の病理組織学的検査を行った。50、250ppm 投与群の生殖能を有さないと考えられた動物については生殖器官の病理組織学的検査を行った。
	妊娠 (F1b 児 ; 22 日間)	(F1a 児に準ずる)	(F1a 児に準ずる)
F1b	出産 (F1b 児) 哺育 (28 日間)	(F1a 児に準ずる) (F1a 児に準ずる)	(F1a 児に準ずる) (F1a 児に準ずる)

表 1. 試験の概要 (つづき)

世代		期間	交配・調整・選抜	試験項目
F0	F1a F1b	離乳 (F1b児;生後 29 日)		雌親動物は F1b 児動物の離乳後ただちに屠殺剖検し、体重及び肝臓重量を測定した。また、肝臓、生殖器官及び肉眼的に異常な組織を摘出・固定した。対照群及び 1250ppm 投与群の全動物について肝臓、生殖器官及び異常組織の病理組織学的検査を行った。50、250ppm 投与群の生殖能を有さないと考えられた動物については生殖器官の病理組織学的検査を行った。 全児動物を 35 日齢以降のできるだけ早い時期に屠殺した。このうち 1 群雌雄各 5 匹について剖検及び肝臓重量の測定を行い、肝臓、生殖器官及び肉眼的に異常な組織を摘出・固定した後、対照群及び 1250ppm 投与群の肝及び生殖器官の病理組織学的検査を行った。さらに臨床的異常のみられた全児動物に正常な動物を追加して、各同腹児当たり最低雌雄 2 匹になるように調整した後、剖検及び肝臓重量の測定を行った。肉眼的に異常な組織を摘出・固定し、対照群及び 1250ppm 投与群の肉眼的に異常な肝臓について病理組織学的検査を行った。
	F1a	生育 (77 日間)	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
		交配	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる) 肉眼的に異常な膀胱についてはさらに病理組織学的検査を行った。
		妊娠	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
	F2a	出産	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
		哺育 (28 日間)	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
		離乳	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる) 1250ppm 投与群の齧歯類ウィルス抗体検査用雌動物については眼及びハーダー腺も摘出・固定した。 全児動物を 35 日齢以降のできるだけ早い時期に屠殺した。このうち 1 群雌雄各 10 匹について剖検を行い、肝臓、生殖器官、眼、ハーダー腺、頭蓋及び肉眼的に異常な組織を摘出・固定し、対照群及び 1250ppm 投与群の肝臓、生殖器官、眼及びハーダー腺について病理組織学的検査を行った。さらに、臨床的異常の認められた全児動物に正常な児動物を追加して、各同腹児当たり最低雌雄 2 匹になるように調整した後、剖検及び肝臓重量の測定を行った。肉眼的に異常な組織を摘出・固定し、そのうち対照群及び 1250ppm 投与群の肉眼的に異常な肝臓、眼、ハーダー腺について病理組織学的検査を行った。

結果：概要を表 2（F0 親動物及び F1 児動物）および表 3（F1 親動物及び F2 児動物）に示す。

親動物に対する影響：親動物の繁殖能には、投与に関連した影響はみられなかった。F0 世代の 1250ppm 投与群の親動物で F1b を得るための平均妊娠期間に極く僅かな短縮がみられた。これは 22 日以上妊娠期間をもつ母動物の割合が低下したことによるもので、妊娠期間の中央値の明瞭な低下もみられなかったことから、この所見は見掛け上のものと考えられた。

1250ppm 投与群の F1 雌親動物で紅涙、眼瞼肥厚の発生頻度が増加した以外は、試験期間を通じて一般状態は良好であった。

1250ppm 投与群の F0 世代及び F1 世代の雌動物で、生育期間及び妊娠期間を通じて、対照群と比較して統計学的に有意な体重増加の抑制がみられた。

児動物に対する影響：F1a 同腹児では、250ppm 投与群で対照群と比較して統計学的に有意な児動物体重の増加がみられ、250 及び 1250ppm 投与群で対照群と比較して統計学的に有意な同腹児重量の減少がみられたが、F1b 同腹児では 250ppm 投与群でのみ同腹児重量の僅かな減少がみられた。

臓器重量及び病理検査：1250ppm 投与群の F0 及び F1 雌親動物、同群の F1a、F1b 及び F2a 同腹児雌雄で対照群と比較して統計学的に有意な肝臓重量の増加がみられた。肉眼的病理検査において 1250ppm 投与群の F0 雌親動物及び F1a、F1b 及び F2a 雌雄児動物に肝臓表面の斑紋あるいは肝小葉の明瞭化及び網状隆起がみられた。また、病理組織学的検査において、1250ppm 投与群の F0 世代雌及び F1a、F2a 児動物雌雄で肝臓小葉中心性の脂肪化がみられた。

以上の結果から、2 世代にわたって本剤を飼料に混入して投与した場合、1250ppm 投与群で F0、F1 世代雌雄親動物に体重増加抑制及び F0 世代雌親動物、F1a 及び F2a 児動物雌雄に肝臓小葉中心性の脂肪化がみられたが、全投与群で繁殖能に及ぼす影響はみられなかった。

従って、無毒性量は親動物および児動物に対して 250ppm（F0：雄 24.4mg/kg/day、雌 25.9mg/kg/day、F1：雄 23.2mg/kg/day、雌 24.4mg/kg/day）であると判断される。繁殖については最高投与量の 1250ppm でも影響がなかった。

表 2. 結果の概要 (F0 親動物及び F1 児動物)

世 代		親 : F0		児 : F1a, F1b					
投 与 量 (ppm)		0		50		250		1250	
動 物 数	雄	15		15		15		15	
	雌	30		30		30		30	
一般状態 (症状の認められた動物数/ 観察動物数)	雄	異常なし		異常なし		異常なし		紅涙 (1/15) 不整咬合 (1/15)	
	雌	紅涙 (1/30) 眼瞼肥厚 (1/30) 不整咬合 (1/30)		紅涙 (1/30) 眼瞼肥厚 (1/30)		紅涙 (2/30) 眼瞼肥厚 (2/30)		紅涙 (1/30) 眼瞼肥厚 (1/30)	
死亡率 (%)	雄	0		0		1/15 (1.7)		0	
	雌	9/30 (30)		4/30 (13)		4/30 (13)		4/30 (13)	
生育期間の体重増加量 (g) (群平均値)	雄	423.1		429.2		414.1		402.4*	
	雌	192.7		196.4		193.0		185.4*	
生育期間の総摂取量 (g) (群平均値)	雄	2556.4		2636.9		2544.5		2493.4*	
	雌	1724.8		1733.2		1734.6		1658.3*	
妊孕率 (%)	F1a	12/14 (86)		12/15 (80)		15/15 (100)		14/15 (93)	
	F1b	14/15 (93)		14/15 (93)		13/13 (100)		14/15 (93)	
妊娠率 (%)	F1a	25/30 (83)		27/30 (90)		28/30 (93)		28/30 (93)	
	F1b	24/25 (96)		26/27 (96)		27/27 (100)		26/28 (93)	
妊娠 8 日の 平均体重増加量 (g)	F1a	25.6		25.7		25.6		21.3*	
	F1b	21.6		20.6		21.0		16.3**	
妊娠 15 日の 平均体重増加量 (g)	F1a	56.4		55.9		54.4		48.5**	
	F1b	49.5		51.2		49.5		43.5*	
妊娠 22 日の 平均体重増加量 (g)	F1a	128.7		126.7		123.4		118.6**	
	F1b	116.4		124.3		111.6		113.4	
平均同居期間 (日)	F1a	2.95		2.74		3.68		2.67	
	F1b	2.23		2.83		2.08		2.36	
平均妊娠期間 (日)	F1a	22.3		22.2		22.5		22.2	
	F1b	22.2		22.2		22.2		21.9	
性 別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終体重(g)		496.5	262.0	504.1	264.8	485.8	26.5	475.1*	255.2
平均肝臓重量 (g)	絶対重量	22.4	15.8	22.0	15.9	20.7*	15.1	22.3	19.4**
	補正重量 [†]	22.2	15.6	21.5	15.5	20.7*	15.4	22.9	19.7**
	体重比 [‡]	0.03722	0.04393	0.03602	0.04473	0.03496	0.04326	0.03868	0.05562**
肉 眼 的 病 理 所 見	腎盂拡張	1/15	2/30	2/15	3/30	2/15	3/30	1/15	6/30
	肝小葉の明瞭化	0	1/30	0	1/30	0	0	0	8/30
	肝臓の肥大	0	1/30	0	0	0	0	0	2/30
	肝臓の退色	0	0	0	1/30	0	0	0	0
	肝臓表面の斑紋	0	0	0	0	0	1/30	0	3/30
	卵巣囊胞	—	5/30	—	0	—	4/30	—	5/30
病 理 組 織 所 見	限局性肝炎	6/15	1/30	—	—	—	—	5/15	1/30
	肝臓の炎症性細胞浸潤	3/15	1/30	—	—	—	—	0	11/30
	肝臓小葉中心性の脂肪化	0	0	—	—	—	—	0	23/30
	肝細胞好酸性変化	0	0	—	—	—	—	0	14/30
	前立腺炎	3/15	—	—	—	—	—	4/14	—

* p<0.05, ** p<0.01 (Student の t 検定)

[†] 体重調整値 [‡] 体重比は申請者が実施した。

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

表 2. 結果の概要 (つづき) (F0 親動物及び F1 児動物)

世 代				(親 : F0)		児 : F1a, F1b						
投 与 量 (ppm)				0		50		250		1250		
	総産児数	F1a	303	320	279	305						
		F1b	237	262	223	250						
生後 1 日	平均生存率 (%)	F1a	98.5	97.8	97.8	98.9						
		F1b	93.5	95.4	90.4	92.7						
	平均同腹児数	F1a	12.0	11.9	9.8**	10.9						
		F1b	9.3	11.2	8.4	10.2						
平均同腹児重量 (g)	F1a	67.9	67.8	59.9*	62.5							
	F1b	58.3	66.2	52.6	60.6							
生後 22 日	平均生存率 (%)	F1a	98.3	95.1	94.1	91.8						
		F1b	81.7	84.3	78.4	86.6						
	平均同腹児数	F1a	11.9	11.2	9.1**	9.9**						
		F1b	8.8	10.3	7.7	9.5						
平均同腹児重量 (g)	F1a	475.0	457.7	404.7**	395.0**							
	F1b	368.3	403.3	333.3	380.6							
生後 1 日の 平均児動物体重 (g)	F1a	雄	6.0	5.9	6.4*	6.1						
		雌	5.6	5.5	6.0*	5.6						
	F1b	雄	6.6	6.2*	6.6	6.2						
		雌	6.2	5.8*	6.3	5.7*						
生後 22 日までの 平均児動物 体重増加量 (g)	F1a	雄	36.2	36.3	41.1*	35.9						
		雌	34.9	34.7	39.1*	34.2						
	F1b	雄	37.4	34.3	39.1	35.8						
		雌	36.2	32.9	37.1	33.5						
性比 (生後 1 日 ; 雄%)	F1a	49.9	50.7	52.2	47.9							
	F1b	54.8	57.5	45.9	54.3							
児 性比 (生後 29 日 ; 雄%)	F1a	50.1	51.6	51.9	47.7							
	F1b	56.5	54.6	45.9	55.2							
動 物	一般状態 (症状の認められた同腹 数/検査した同腹数)	F1a	紅涙 (4/25) 眼瞼肥厚 (4/25)	異常なし	紅涙 (5/28) 眼瞼肥厚 (4/28)	紅涙 (17/28) 眼瞼肥厚 (18/28) 不整咬合 (9/28)						
		F1b	紅涙 (1/21) 眼瞼肥厚 (1/21)	紅涙 (1/24) 眼瞼肥厚 (1/24)	紅涙 (4/23) 眼瞼肥厚 (4/23)	紅涙 (5/24) 眼瞼肥厚 (8/24) 不整咬合 (3/24)						
性 別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌			
最終体重 (g)		F1a	124	112	127	110	137*	117	126	108		
		F1b	131	114	122	107	135	117	124	108		
平均 肝臓重量	絶対重量 (g)	F1a	5.82	5.14	5.86	5.05	6.65**	5.51	6.99**	6.10**		
		F1b	6.13	5.34	5.82	5.05	6.51	5.57	7.13**	6.09**		
	補正重量 [#]	F1a	6.08	5.15	5.97	5.14	6.19	5.25	7.18**	6.29**		
		F1b	5.98	5.21	6.15	5.31	6.15	5.30	7.36**	6.27**		
体重比 [@]	F1a	0.04660	0.04603	0.04598	0.04604	0.04798	0.04699	0.05570**	0.05612**			
	F1b	0.04687	0.04670	0.04784	0.04746	0.04780	0.04746	0.05748**	0.05615**			
肉 眼 的 病 理 所 見	紅涙	F1a	3/50	1/53	0	0	6/58	4/55	16/61	19/61		
	眼瞼肥厚	F1a	1/50	1/53	7/58	2/55	4/58	1/55	5/61	4/61		
	不整咬合	F1a	0	0	0	0	0	0	3/61	8/61		
	腎盂拡張	F1a	5/50	1/53	7/58	2/55	4/58	1/55	5/61	4/61		
	肝臓の退色	F1a	0	0	0	0	0	0	5/61	1/61		
	肝臓表面の斑紋	F1a	0	0	0	0	0	0	4/61	1/61		
	紅涙	F1b	1/45	0	0	1/50	2/46	3/48	4/52	3/53		
	眼瞼肥厚	F1b	1/45	0	0	1/50	2/46	2/48	4/52	0		
	不整咬合	F1b	0	0	0	0	0	0	2/52	4/53		
	腎盂拡張	F1b	10/45	6/41	9/51	7/50	12/46	4/48	12/52	5/53		
肝臓の網状隆起	F1b	0	0	0	0	0	0	10/52	8/53			
病 理 組 織 所 見	肝臓小葉中心性の 脂肪化	F1a	0	0	-	-	-	-	8/10	5/6		
	肝門脈周囲の リンパ球浸潤	F1b	4/5	3/5	-	-	-	-	3/10	1/6		

* p<0.05, ** p<0.01 (Student の t 検定)

- 検査せず

[#] 体重調整値 @ 体重比は申請者が実施した。

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

表 3. 結果の概要 (F1 親動物及び F2 児動物)

世 代		親 : F1a				児 : F2a			
投 与 量 (ppm)		0		50		250		1250	
動 物 数	雄	15		15		15		15	
	雌	30		30		30		30	
一般状態 (症状の認められた動物数/ 観察動物数)	雄	異常なし		異常なし		紅涙 (2/15) 眼瞼肥厚 (2/15) 不整咬合 (1/15)		紅涙 (3/15) 眼瞼肥厚 (1/15)	
	雌	眼瞼肥厚 (2/30)		異常なし		紅涙 (3/30) 眼瞼肥厚 (2/30) 不整咬合 (1/30)		紅涙 (7/30) 眼瞼肥厚 (8/30) 不整咬合 (1/30)	
死亡率 (%)	雄	0		0		0		0	
	雌	2/30 (6.6)		0		0		1/30 (3.3)	
生育期間の平均体重増加量 (g)	雄	343.1		351.5		327.9		328.1	
	雌	152.8		152.3		150.2		139.4*	
生育期間の平均総摂餌量 (g)	雄	2464.0		2513.0		2422.7		2393.3	
	雌	1719.9		1727.6		1708.0		1589.7	
妊孕率 (%)		14/15 (93)		14/15 (93)		15/15 (100)		14/15 (93)	
妊娠率 (%)		27/30 (90)		27/30 (90)		30/30 (100)		27/30 (90)	
妊娠 8 日の平均体重増加量 (g)		22.7		23.7		20.5		17.2**	
妊娠 15 日の平均体重増加量 (g)		51.7		54.8		48.9		43.5**	
妊娠 22 日の平均体重増加量 (g)		120.3		126.7		121.8		112.2	
平均同居期間 (日)		2.00		2.74		2.89		2.52	
平均妊娠期間 (日)		21.9		22.0		22.0		22.0	
性 別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終体重 (g)		460.9	263.7	478.9	264.9	458.3	270.4	453.3	250.3*
平均肝臓重量 (g)	絶対重量(g)	21.3	11.9	21.9	12.0	20.4	12.2	22.5	12.7*
	補正重量 [#]	21.4	11.7	20.7	11.8	21.1	11.9	23.0	13.3**
	体重比 [@]	0.03618	0.03741	0.03553	0.03770	0.03568	0.03780	0.03871	0.04304**
肉眼病 理所見	精巣小型	1/15	—	1/15	—	1/15	—	0	—
	卵巣囊胞	—	5/30	—	6/30	—	6/30	—	2/30
病理組 織所見	限局性肝炎	7/15	0	—	—	—	—	11/15	0
	肝臓の巣状壊死	0	2/30	—	—	—	—	0	1/30
	胆管増生	4/15	3/30	—	—	—	—	5/15	1/30
	黄体囊胞	—	2/27	—	—	—	—	—	1/27
	卵胞性囊腫	—	2/27	—	—	—	—	—	1/27
総産児数		282		295		334		266	
生後 1 日	平均生存率 (%)	97.9		98.5		96.5		97.4	
	平均同腹児数	10.4		10.9		11.1		10.1	
	平均同腹児重量 (g)	62.7		66.2		66.0		60.2	
生後 22 日	平均生存率 (%)	94.5		97.5		94.7		92.1	
	平均同腹児数	9.8		10.6		10.5		9.7	
	平均同腹児重量 (g)	415.3		435.9		434.0		380.0	
生後 1 日の 平均児動物体重 (g)	雄	6.2		6.3		6.2		6.2	
	雌	6.0		5.9		5.8		5.8	
生後 22 日までの 平均児動物体重増加量 (g)	雄	38.8		36.8		37.9		35.0	
	雌	37.4		35.3		35.8		32.8*	
性比 (生後 1 日; 雄%)		57.6		51.5		50.5		58.4	
性比 (生後 29 日; 雄%)		58.2		51.7		50.4		56.5	
一般状態 (症状の認められた同腹児/ 検査した同腹児数)	雄	異常なし		異常なし		紅涙 (2/27) 眼瞼肥厚 (2/27)		紅涙 (7/30) 眼瞼肥厚 (4/30)	
	雌	異常なし		異常なし		紅涙 (7/30) 眼瞼肥厚 (4/30)		紅涙 (8/26) 眼瞼肥厚 (8/26) 不整咬合 (5/26)	
性 別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
最終体重(g)		131	116	132	116	133	113	121*	107**
平均肝臓重量 (g)	絶対重量(g)	6.19	5.38	6.23	5.20	6.42	5.25	6.93**	5.99**
	補正重量 [#]	6.08	5.23	6.11	5.07	6.23	5.24	7.38**	6.30**
	体重比 [@]	0.04629	0.04645	0.04659	0.04512*	0.04818**	0.04635	0.05726**	0.05593**
肉眼病 理所見	紅涙	0	0	3/63	2/60	6/73	4/69	10/66	3/58
	腎盂拡張	7/66	9/62	14/63	1/60	14/73	5/69	8/66	3/58
	肝臓の退色	0	0	0	0	0	1/69	4/66	1/58
	肝小葉の明瞭化	0	0	0	0	0	0	36/66	18/58
病理組 織所見	肝臓小葉中心性の脂肪化	0	0	—	—	—	—	36/37	21/27
	肝門脈周囲のリンパ球浸潤	3/10	4/10	—	—	—	—	12/37	8/27

* p<0.05, ** p<0.01 (Student の t 検定) — 検査せず [#] 体重調整値 [@] 体重比は申請者が実施した。

② ラットを用いた催奇形性試験 (I)

(資料 No.T-24)

試験機関： Central Toxicology Laboratory ICI (英国)

報告書作成年： 1983 年

検体純度：

供試動物： Wistar 系妊娠ラット(Alpk:AP)、1 群 24 匹、約 10～12 週齢
体重 220～280 g

投与期間： 妊娠 6～15 日までの 10 日間
(1982 年 7 月～8 月)

投与方法： 膣垢中に精子が検出された日を妊娠 0 日とした。
検体をコーン油に懸濁し、0、40、100、250mg/kg/day の投与量で妊娠 6 日目から妊娠 15 日目までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。投与液量は 10mL/kg 体重とした。投与量の設定には、予備投験 1 及び予備試験 2 の結果 (下記) を参考にした。

<用量設定根拠>

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、6～15 日は毎日、及び 21 日に体重を測定した。妊娠 3、6、9、12、15、18 及び 21 日目に摂餌量を測定した。妊娠 21 日に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床位置と着床数、生存胎児数、死亡胎児数及び吸収胚数を検査した。また、死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

生存胎児； 性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹児の約 2/3 の胎児について内臓を肉眼的に検査し、骨格標本を作製し骨格検査を行った。また、胎児の前後肢の化骨程度を調べた。残り約 1/3 の胎児は Wilson 法により内臓検査を行った。

試験結果： 概要を表 1（母動物の所見）および表 2（胎児動物の所見）に示した。

親動物； 親動物においては 250mg/kg/day 投与群で 5 例が投与期間中に死亡した。死亡した 5 例及び生存動物の 19 例中 10 例に生殖器周辺及び腹部の被毛の汚れがみられた。250mg/kg/day 投与群の死亡動物の全例及び生存動物に肝臓の退色、小葉明瞭化及び肥大がみられた。

250 及び 100mg/kg/day 投与群で投与期間初期に体重増加量、摂餌量の減少及び飼料効率の低下がみられた。

胎児動物； 胎児の発達に検体投与の影響はなかった。

着床所見についてはいずれの投与群においても投与に関連した影響はみられなかった。胚または胎児の死亡、同腹児数及び同腹児体重に対して検体投与に関連した影響はみられなかった。

胎児動物においては、口蓋裂が 250mg/kg/day 投与群で 3 例、また 40 mg/kg/day 投与群で 1 例にみられた。

全投与群で胎児の骨格変異の発生率及び化骨の程度に対して用量あるいは投与に関連した影響がみられた。

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

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与した場合、250及び100mg/kg/day投与群で体重増加量、摂餌量の減少及び飼料効率の低下等の親動物に対する毒性作用がみられた。従って、親動物における無毒性量は40mg/kg/dayであった。胎児動物については全投与群で統計学的に有意な不完全骨化、肋骨数の変化がみられたが、統計学的に有意な奇形の発生はみられなかった。従って、本試験において胎児における無毒性量は決定できなかったが、本剤はラットに対して催奇形性を示さないと申請者は考える。

表 1. 母動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	40	100	250
一群当りの動物数		24	24	24	24
一般状態		被毛汚染 : 4/24	被毛汚染 : 3/24	被毛汚染 : 6/24	被毛汚染 : 15/24
死亡数		0	0	0	5
平均体重増加量 ; 妊娠 0~21 日 (g/ラット)		166.1	160.0	163.5	158.0
平均摂餌量 ; 妊娠 0~21 日 (g/ラット)		549	544	534	522
肉眼的 病理 所見 (主要 所見)	腎盂拡張	3/24	2/24	2/24	3/24
	腎臓退色	0	0	0	5/24
	腎表面の陥凹形成	1/24	0	0	3/24
	肝小葉の明瞭化	1/24	0	0	10/24
	肝臓退色・変色	0	0	0	6/24
	肝臓肥大	0	0	0	2/24
妊娠子宮重量 (g)		86.5	86.0	83.1	87.2
妊娠率		24/24	24/24	24/24	23/24
着床 所見	平均黄体数	14.7	13.7	13.5	13.8
	平均着床数	13.7	12.8	12.8	13.0
	平均生存胎児数	12.7	12.4	11.8	12.4
	着床前胚損失率 (%)	7.1	6.1	5.8	5.7
	着床後胚損失率 (%)	7.0	3.6	7.5	5.6
	早期子宮内胎児死亡率 (%)	6.7	3.6	7.5	4.8
	後期子宮内胎児死亡率 (%)	0.3	0.0	0.0	0.8

$$\text{着床前胚損失率 (\%)} = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{着床後胚損失率 (\%)} = \frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

表 2. 胎児動物の所見

投与群 (mg/kg/day)		0	40	100	250	
胎 児 動 物	平均胎児体重 (g)	5.2	5.2	5.3	5.1	
	平均同腹児体重 (g)	64.9	64.2	61.9	63.4	
	性比 (雄%)	54.8	53.2	47.0	50.0	
	外表および内臓検査胎児数 (検査腹数)	305 (24)	297 (24)	283 (24)	234 (19)	
	外表及び内臓異常発生率 (%)	15/305 (4.9)	16/297 (5.3)	12/283 (4.2)	12/234 (5.1)	
	# 外表異常	水頭症	1 (1)	0	0	0
		口蓋裂	0	1(1)	0	3 (2)
		脳ヘルニア・口唇裂	0	0	0	1 (1)
	# 内臓異常	腎盂拡張(片側)	3 (3)	11 (8)	8 (5)	9 (7)
		腎盂拡張(両側)	8 (7)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
		逆位	0	1 (1)	0	0
		心臓奇形	0	0	1 (1)	0
	骨格検査胎児数 (検査腹数)		204 (24)	198 (24)	190 (24)	153 (19)
		骨格異常発生率 (%)	84/204 (41)	110/198** (56)	117/190** (62)	111/153** (73)
	# 骨格異常	過剰肋骨	54 (16)	54 (17)	135** (23**)	125** (18**)
		歯突起未骨化	19 (11)	16 (9)	36** (13)	36** (13)
		後頭骨不完全骨化	5 (5)	9 (9)	2 (2)	17** (7)
		第 7 頸椎横突起不完全骨化	13 (8)	32** (10)	49** (17**)	47** (15**)
		第 2 胸骨分節不完全骨化	12 (8)	13(8)	16(10)	24** (12)
		第 9 胸椎椎体不完全骨化	2 (1)	1(1)	0	8** (6*)
第 4 腰椎横突起不完全骨化		12 (6)	16 (10)	23* (13*)	13 (9)	
椎骨数異常(頸椎から腰椎 計 25 個)		0	6* (4)	6* (2)	1 (1)	
骨化 [§] : 平均指骨骨化評価指数	2.15	2.15	2.21	2.52**		
平均趾骨骨化評価指数	2.72	2.66	2.64	3.01*		

* p<0.05, ** p<0.01 (Student's t-test / Fisher's exact test)

所見が認められた胎児数 (括弧内は所見が認められた腹数)

§ 同腹児平均 (母動物単位) から群平均を算出

③ ラットを用いた催奇形性試験 (II)

(資料 No.T-25)

試験機関 : Central Toxicology Laboratory ICI

報告書作成年 : 1984 年

検体純度 :

試験目的 : 同研究所にて同系統の 1 群 24 匹の妊娠ラットを用いコーン油に懸濁した検体を 0、40、100 および 250mg/kg/day の用量で、10 日間強制経口投与した催奇形性試験(資料 No.T-24)の結果、親動物に対する影響については、無毒性量が確認されたが、胎児の過剰肋骨あるいは不完全骨化といった骨格変異について無毒性量は求められなかった。従って、胎児への無毒性量を求めるために、2 度目の催奇形性試験を実施した。

供試動物 : Wistar 系妊娠ラット(Alpk:AP)、1 群 24 匹、約 12 週齢
体重 226~303 g

投与期間 : 妊娠 6~15 日までの 10 日間
(1983 年 6 月~7 月)

投与方法 : 膺垢中に精子が検出された日を妊娠 1 日とした。
検体をコーン油に懸濁し、0、2.5、10、40、100mg/kg/day の投与量で妊娠 7 日目から妊娠 16 日目までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。投与液量は 10mL/kg 体重とした。

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 1、4 日、7~16 日は毎日、19 日及び 22 日に体重を測定した。妊娠 4、7、10、13、16、19 及び 22 日目に摂餌量を測定した。妊娠 22 日に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床位置と着床数、生存胎児数、死亡胎児数及び吸収胚数を検査した。また、死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

生存胎児 ; 性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹児の約 2/3 の胎児について内臓を肉眼的に検査し、骨格標本作製し骨格検査を行った。また、胎児の前後肢の化骨程度を調べた。残り約 1/3 の胎児は Wilson 法により内臓検査を行った。

試験結果 : 概要を表 1 (母動物の所見) および表 2 (胎児動物の所見) に示した。

親動物 ; 全投与群で検体投与の影響は認められなかった。また、胚または胎児の死亡、同腹児数及び同腹児体重に関する投与の影響はなかった。

胎児動物 ; 胎児動物においては、40、100mg/kg/day 投与群で腎盂拡張や尿管屈曲等の泌尿器系における異常及び化骨不全、過剰肋骨 (第 14 肋骨) の発生等の軽微な骨格の変異の発生頻度の増加がみられた。これらの異常は胎児毒性作用を示唆するものであった。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与した場合、40 及び 100mg/kg/day 投与群で胎児の腎盂及び尿管の変化及び軽微な骨格の変異がみられたことから、本試験における胎児における無毒性量は 10mg/kg/day と判断される。また、親動物にはなんら毒性影響は認められなかったので、親動物の無毒性量は 100mg/kg/day 以上であった。

また、本剤は胎児動物に対して催奇形性を示さないと考えられる。

表 1. 母動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	2.5	10	40	100	
一群当りの動物数		24	24	24	24	24	
母動物	一般状態	—	—	—	—	—	
	死亡数	0	0	0	0	0	
	平均体重増加量 ; 妊娠 0~21 日 (g/ラット)	122.6	126.8	130.2	124.9	130.5	
	平均摂餌量 ; 妊娠 0~21 日 (g/ラット)	461	465	466	459	465	
	肉眼的病理所見	腎盂拡張	2/24	4/24	5/24	3/24	4/24
		肝臓分葉異常	1/24	4/24	4/24	2/24	3/24
	妊娠子宮重量 (g)	76.4	85.3	82.3	81.9	85.4	
	妊娠率	22/24	24/24	24/24	24/24	24/24	
	着床所見	平均黄体数	14.6	14.8	14.4	14.4	14.4
		平均着床数	12.9	14.0	13.4	13.2	13.5
平均生存胎児数		12.0	13.3	12.5	12.6	12.7	
着床前胚損失率 (%)		11.8	5.9	7.0	8.4	6.4	
着床後胚損失率 (%)		7.0	5.1	6.2	4.7	5.9	
早期子宮内胎児死亡率 (%)		6.7	5.1	4.7	4.4	5.6	
後期子宮内胎児死亡率 (%)		0.4	0.0	1.6	0.3	0.3	

— 著変なし

$$\text{着床前胚損失率 (\%)} = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{着床後胚損失率 (\%)} = \frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

表 2. 胎児動物の所見

投与群 (mg/kg/day)		0	2.5	10	40	100	
胎 児 動 物	平均胎児体重 (g)	4.7	4.9	4.9	4.8	4.9	
	平均同腹児体重 (g)	56.1	64.7	61.4	60.2	62.3	
	性比 (雄%)	56.8	55.3	53.2	52.6	50.2	
	外表および内臓検査胎児数 (検査腹数)	264 (22)	318 (24)	301 (24)	302 (24)	305 (24)	
	外表及び内臓異常発生率 (%)	60/264 (23)	75/318 (24)	73/301 (24)	138/302** (48)	147/305** (48)	
	外表異常	0	0	0	0	0	
	# 内 臓 異 常	腎盂拡張 (中程度・片側)	0	3 (2)	1 (1)	2 (2)	6* (3)
		腎盂拡張 (軽度・片側)	24 (12)	34 (14)	27 (15)	63** (18)	49** (19)
		尿管拡張 (中程度・片側)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)	9* (3)
		尿管拡張 (軽度・両側)	3 (3)	5 (3)	3 (3)	10 (8)	21** (8)
		尿管拡張 (軽度・片側)	18 (9)	17 (10)	18 (8)	39* (22**)	49** (17*)
		尿管屈曲	19 (11)	22 (13)	22 (15)	57** (19*)	50** (19*)
		水尿管症	0	0	0	0	8* (4)
	骨格検査胎児数 (腹数)	176 (22)	213 (24)	199 (24)	202 (24)	202 (24)	
	骨格異常発生率 (%)	61/176 (35)	80/213 (37)	75/199 (38)	89/202* (44)	106/202** (52)	
	# 骨 格 異 常	過剰肋骨 (短小・両側)	24 (11)	31 (12)	25 (9)	57* (19)	86** (23)**
		第 10 胸椎椎体不完全骨化	0	3 (3)	1 (1)	1 (1)	5* (4)
		第 7 頸椎横突起不完全骨化 (両側)	3 (3)	4 (3)	1 (1)	7 (5)	14* (7)
		第 7 頸椎横突起不完全骨化 (片側)	7 (6)	16 (10)	18* (11)	35** (15*)	40** (20**)
	骨化 [§] : 平均指骨骨化評価指数	2.14	2.05	2.09	2.04	2.10	
平均趾骨骨化評価指数	2.72	2.63	2.63	2.47	2.65		

* p<0.05, ** p<0.01 (Student's t-test / Fisher's exact test)

所見が認められた胎児数 (括弧内は所見が認められた腹数)

§ 同腹児平均 (母動物単位) から群平均を算出

④ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No.T-55)

試験機関：Central Toxicology Laboratory ICI (英国)

報告書作成年：1983 年

検体純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト 妊娠ウサギ、1 群 18 匹
(妊娠 0 日の体重 2.7~4.0kg)

投与期間： 妊娠 6~18 日までの 13 日間
(1982 年 8 月~1982 年 10 月)

投与方法： 授精能を確認済みの雄と 1:1 で交配させ、膣スメア中に精子が確認された日を妊娠 0 日と起算した。交尾確認できなかった雌については人工授精を行い、人工授精日を妊娠 0 日とした。

検体をコーン油に懸濁させ、0、25、75 および 125 mg/kg の用量で、妊娠 6 から 18 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与液量は、毎日の個体別体重に基づいて 2 mL/kg の一定とした。

<用量設定根拠>

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 1、6～18 及び 29 日に体重を測定した。妊娠 3、6、9、12、15、18、21、25 及び 29 日目に摂餌量を測定した。

妊娠 29 日目に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床位置と着床数、生存胎児数、死亡胎児数及び吸収胚数を検査した。また、死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。全胎児について内臓及び脳を肉眼的に検査し、アリザリンレッド S 染色標本作製し骨格検査を行った。また、胎児の前後肢の化骨程度を調べた。

試験結果：概要を表 1（母動物の所見）および表 2（胎児動物の所見）に示した。

親動物； 対照群、75 及び 125mg/kg/day 投与群で各 2 匹の死亡が認められ、うち対照群の 1 匹は一般状態の悪化、75mg/kg/day 投与群の 1 匹は流産により切迫屠殺された。肉眼的病理検査では、全例とも異常はなかった。

125mg/kg/day 投与群で投与期間初期に体重及び摂餌量の減少がみられた。75mg/kg/day 投与群で投与期間中の体重増加量に軽度の低下がみられたが、投与終了後の期間は対照群とほぼ同等であった。

着床所見については、いずれの投与群においても投与に関連した影響はみられなかった。

胎児動物； 75mg/kg/day 投与群で第 3 及び 4 腰椎横突起部分骨化の発現頻度が有意に増加し、25mg/kg/day 投与群でも対照群と比べて発現頻度に増加がみられたが、125mg/kg/day 投与群では変化はなかった。しかしながら、対照群の検査動物数は 9 腹 63 胎児、125mg/kg/day 投与群の検査動物数は 7 腹 52 胎児のみであり、検体投与との関連性は明確にならなかった。

なお、125mg/kg/day 投与群の 1 匹で無脳、心臓異常、短肢、内反足、脊椎の複合異常な

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

どがみられ、同腹の別の 1 匹で脳髄膜ヘルニアがみられたが、投与とは無関係な先天異常と考えられた。75mg/kg/day 投与群の 1 匹で心臓異常が認められたが、試験施設で同時期に実施した別の試験においても、対照群の胎児動物 67 匹中 2 匹に発生したことから、自然発生性の変化と考えられた。25mg/kg/day 投与群で腎盂拡張及び第 6 胸骨分節未骨化が有意に増加したが、75mg/kg/day 投与群では増加がみられず、偶発的な所見と考えられた。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与した場合、親動物では 125mg/kg/day 投与群で明確な毒性（体重及び摂餌量の減少）がみられた。親及び胎児動物ともに、25mg/kg/day 投与群では何らの変化もみられなかった。

表 1. 母動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	25	75	125	
一群当りの動物数		18	18	18	18	
母動物	一般状態	—	—	—	—	
	死亡数	2	0	2	2	
	平均体重増加量 ^{a)} ; 妊娠 6~9 日 (kg)	0.01	0.02	0.03	-0.09*	
	平均体重増加量 ^{a)} ; 妊娠 6~18 日 (kg)	0.21	0.24	0.17	0.13	
	平均体重増加量 ^{a)} ; 妊娠 18~29 日 (kg)	0.30	0.23	0.28	0.34	
	平均摂餌量 ^{a)} ; 妊娠 6~9 日 (g)	413	472	462	336	
	平均摂餌量 ^{a)} ; 妊娠 9~12 日 (g)	461	479	467	444	
	平均摂餌量 ^{a)} ; 妊娠 12~15 日 (g)	413	466	416	376	
	平均摂餌量 ^{a)} ; 妊娠 15~18 日 (g)	469	562	454	477	
	肉眼的病理所見	—	—	—	—	
	妊娠子宮重量 ^{a)} (g)	383.9	394.2	415.3	409.3	
	妊娠数 ^{b)}	9/18	12/18	13/18	8/18	
	着床所見	平均黄体数	9.7	9.9	9.8	9.0
		平均着床数 ^{a)}	8.0	8.3	8.6	7.3
		平均生存胎児数 ^{b)}	7.0	7.4	7.5	6.5
		着床前胚損失の腹数 ^{b)} 及び率(% ^{a)})	5/9 (17.2)	8/12 (16.0)	7/13 (12.5)	4/7 (9.5)
着床後胚損失の腹数及び率(% ^{a)})		5/9 (12.5)	6/12 (11.0)	8/13 (13.4)	4/8 (10.3)	
早期子宮内胎児死亡の腹数 ^{b)} 及び率(% ^{a)})		4/9 (6.9)	6/12 (9.0)	7/13 (10.7)	4/8 (8.6)	
後期子宮内胎児死亡の腹数 ^{b)} 及び率(% ^{a)})	2/9 (5.6)	2/12 (2.0)	3/13 (2.7)	1/8 (1.7)		

— 著変なし

統計解析: a): 分散分析及び Student の t 検定 (*p<0.05)

b): Fisher の検定 (有意差なし)

表 2. 胎児動物の所見

投与群 (mg/kg/day)		0	25	75	125	
胎 児 動 物	平均胎児体重 ^{a)} (g)	38.6	38.8	39.5	38.9	
	平均同腹児体重 ^{a)} (g)	270.1	287.5	294.5	288.8	
	性比 (雄%) ^{b)}	47.6	51.7	49.5	42.3	
	検査胎児数 (検査腹数)	63 (9)	89 (12)	97 (13)	52 (7)	
	外表/内臓異常発生胎児数 ^{b)} (%)	1 (1.6)	14** (15.7)	8 (8.2)	4 (7.7)	
	# 主 な 外 表 / 内 臓 異 常	無脳	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 ^{c)} (1)
		脳髄膜ヘルニア	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		大動脈肥大	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		右心房肥大及び弛緩	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		心臓異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 ^{c)} (1)
		片側/両側性腎盂拡張	0 (0)	9** (4)	0 (0)	1 (1)
		右前肢屈曲	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		手: 短肢、第 1 及び 3 指欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 ^{c)} (1)
		内反足	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 ^{c)} (1)
	骨格異常発生胎児数 ^{b)} (%)	17 (27.0)	33 (37.1)	45* (46.4)	16 (30.8)	
	# 主 な 骨 格 異 常	第 3 腰椎横突起部分骨化	0 (0)	5 (4)	8* (3)	0 (0)
		第 4 腰椎横突起部分骨化	0 (0)	4 (3)	6* (3)	0 (0)
		第 3 及び 4 仙椎癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		脊椎の複合異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	3 ^{c)} (2)
		第 6 胸骨分節未骨化	0 (0)	9** (3)	2 (2)	0 (0)
骨化 ^s : 平均指骨骨化評価指数	1.87	1.67	1.85	1.98		
平均趾骨骨化評価指数	1.49	1.54	1.60	1.78		

統計解析: a): 分散分析及び Student の t 検定 (有意差なし)

b): Fisher の検定 (*p<0.05、**p<0.01) [腹単位の検定は申請者が実施]

所見が認められた胎児数 (腹数)

c): 同一胎児

s) 同腹児平均 (母動物単位) から群平均を算出

⑤ ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No.T-26)

試験機関：Central Toxicology Laboratory ICI (英国)

報告書作成年：1986年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト 妊娠ウサギ、1群 18匹、16週齢以上
(搬入時体重 2.8~4.0kg、人工授精時体重 2.7~4.2kg)

投与期間： 妊娠 7~19 日までの 13 日間
(1985 年 8 月~1985 年 9 月)

投与方法： 人工授精日を妊娠 1 日とした。
検体をコーン油に懸濁させ、0、25、75 および 125 mg/kg の用量で、妊娠 7 から 19 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与液量は、毎日の個体別体重に基づいて 1 mL/kg の一定とした。

<用量設定根拠>

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 1、4、7～19、22、26 及び 30 日に体重を測定した。妊娠 1、7、10、13、16、19、22 及び 26 日目に摂餌量を測定した。

妊娠 30 日目に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床位置と着床数、生存胎児数、死亡胎児数及び吸収胚数を検査した。また、死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。全胎児について内臓及び脳を肉眼的に検査し、骨格標本作製し骨格検査を行った。また、胎児の前後肢の化骨程度を調べた。

試験結果：概要を表 1（母動物の所見）および表 2（胎児動物の所見）に示した。

親動物；親動物においては、125mg/kg/day 投与群で投与期間初期に体重及び摂餌量の減少がみられた。着床所見についてはいずれの投与群においても投与に関連した影響はみられなかった。

胎児動物；胎児動物においては、対照群を含む全群で大動脈肥大、動脈管遺残、前肢の屈曲等の奇形がみられたが、これらの異常については用量相関性がなく、対照群でも認められているため自然発生的なものと考えられ、投与に関連した影響ではないと判断された。

125mg/kg/day 投与群の外表及び内臓異常の発生率は対照群と比較して統計学的に有意ではなかったが増加傾向であった。

75 及び 125mg/kg/day 投与群で第 7 頸椎横突起不完全骨化、125mg/kg/day 投与群で過剰肋骨（第 13 肋骨）の発生頻度が対照群と比較して統計学的に有意に増加した。

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

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与した場合、親動物では 125mg/kg/day 投与群で体重及び摂餌量の減少がみられたことから、親動物における無毒性量は 75mg/kg/day であった。また、胎児に対しても 125mg/kg/day 投与群では胎児の外表及び内臓異常の発生率が増加傾向であったが、75mg/kg/day 投与群では毒性は認められなかったため、胎児動物における無毒性量も 75mg/kg/day と判断した。また、本剤はウサギに対して催奇形性を示さないと考えられる。

表 1. 母動物の所見

投与量 (mg/kg/day)		0	25	75	125	
一群当りの動物数		18	18	18	18	
母動物	一般状態	—	—	—	—	
	死亡数	0	0	0	0	
	平均体重増加量;妊娠 7~19 日 (g/ウサギ)	216.7	270.1	230.7	224.9	
	平均摂餌量;妊娠 7~19 日 (g/day)	167.3	170.5	152.4	149.5	
	肉眼的病理所見	—	—	—	—	
	妊娠子宮重量 (g)	467.0	473.8	438.1	463.9	
	妊娠率	15/18 (83)	17/18 (94)	16/18 (89)	15/18 (83)	
	着床所見	平均黄体数	10.8	11.4	10.1	10.7
		平均着床数	9.2	8.8	8.4	9.1
		平均生存胎児数	7.5	7.5	6.4	9.1
		着床前胚損失率 (%)	17.3	21.6	19.8	15.6
		着床後胚損失率 (%)	18.7	15.1	20.8	21.5
		早期子宮内胎児死亡率 (%)	9.0	6.6	7.7	7.4
		後期子宮内胎児死亡率 (%)	9.7	8.6	13.1	14.1

— 著変なし

$$\text{着床前胚損失率 (\%)} = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{着床後胚損失率 (\%)} = \frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

表 2. 胎児動物の所見

投与群 (mg/kg/day)		0	25	75	125	
胎 児 動 物	平均胎児体重 (g)	42.01	42.43	42.84	39.61	
	平均同腹児体重 (g)	311.0	316.2	274.1	274.2	
	性比 (雄%)	45.9	48.8	47.6	51.9	
	検査胎児数 (検査腹数)	109 (15)	129 (17)	103 (16)	106 (15)	
	外表及び内臓異常発生率 (%)	25/109 (22.9)	29/129 (22.5)	26/103 (25.2)	31/106 (29.2)	
	#主な外表異常	前肢の屈曲	1 (1)	0	2 (2)	4 (3)
	#主な内臓異常	大動脈肥大	1 (1)	3 (2)	0	0
		動脈管遺残	1 (1)	4 (3)	0	0
		脾臓退色	5 (2)	3 (3)	7 (2)	13* (6)
		臍帯ヘルニア	0	0	1 (1)	0
	骨格異常発生率 (%)	39/109 (35.8)	38/129 (29.5)	39/103 (37.9)	48/106 (45.3)	
	#主な骨格異常	過剰肋骨	49 (14)	42 (12)	38 (13)	62* (14)
		過剰肋骨 (短小・分離)	9 (6)	15 (9)	7 (4)	21* (12*)
		第7頸椎横突起不完全骨化	2 (2)	6 (3)	8* (5)	8* (3)
		第5胸骨分節不完全骨化	30 (9)	55* (15)	47** (13)	45* (13)
脊柱側彎		0	0	0	1 (1)	
骨化 ^S : 平均指骨骨化評価指数	1.97	1.93	1.98	2.01		
平均趾骨骨化評価指数	1.95	1.94	1.98	2.01		

* p<0.05, ** p<0.01 (Student's t-test / Fisher's exact test)

所見が認められた胎児数 (括弧内は所見が認められた腹数)

S 同腹児平均 (母動物単位) から群平均を算出