

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-10)

ピラクロニル原体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及び 4 週間休薬試験

試験機関：AgrEvo UK (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体純度： % (w/w)

供試動物：Sprague-Dawley CD CRL: CD BR 系ラット、約 4 週齢 (入荷時)

投与開始時体重 雄；180～237 g、雌；134～195 g

1 群雌雄各 10 匹

投与期間：投与期間 13 週間及び休薬期間 4 週間 (1996 年 8 月 22 日～1996 年 12 月 23 日)

対照群及び 4000 ppm 群について 13 週間投与後に 4 週間の休薬期間を設けた。

投与方法：検体を 0、40、2000 及び 4000 ppm の濃度で飼料混入し、13 週間随時摂食させた。

検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与に関連した死亡例はなかった。

投与に関連すると思われる所見を次表に示す。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

性別	雄				雌			
	0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
投与量 (ppm)	0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
所見/検査動物数	20	10	10	20	20	10	10	20
一般状態：削瘦	0	0	0	0	0	0	0	2
皮膚：脱毛	1	1	0	4	1	1	0	↑12

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

4000 ppm 群では雌雄で脱毛がみられ、雌では統計学的有意差が認められた。また投与に関連する所見として統計学的有意差は認められなかったが、4000 ppm 群の雌では削瘦がみられた。

その他の投与群では投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。

体重変化；投与期間中全動物の体重を試験開始 15 日前及び 7 日前、投与開始時、その後毎週 1 回及び剖検時に測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定日を次表に示す。

性別	雄			雌		
	40	2000	4000	40	2000	4000
投与期間 (日)	8		↓ 85			↓ 83
	15		↓ 84			↓ 84
	22		↓ 83			↓ 84
	29		↓ 83			↓ 84
	36		↓ 82			↓ 84
	43		↓ 82			↓ 84
	50		↓ 82			↓ 84
	57		↓ 81			↓ 84
	64		↓ 82			↓ 86
	71		↓ 82			↓ 84
	78		↓ 82			↓ 85
	85		↓ 83		↓ 91	↓ 85
92		↓ 82		↓ 91	↓ 86	
休薬期間 (日)	99		↓ 84			
	106		↓ 85			
	113		↓ 85			
	120		↓ 86			

Dunnettの多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群では、雌雄とも投与期間を通して対照群より体重が低く推移し、統計学的有意差が認められた。投与終了時には対照群と比べて雄で 18%、雌で 14% 体重が減少した。

群平均体重増加量 (g/ラット) を次表に示す。

投与週	雄				雌			
	0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
1~13 (%) ^a	328 -	312 (95)	296 (90)	↓232 (71)	128 -	125 (98)	↓102 (80)	↓89 (70)
13~17 ^b (%) ^{ab}	40 -	- -	- -	56 (140)	9 -	- -	- -	35 (389)

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

a : 対照群に対する割合 (%)

b : 申請者計算 (報告書では本計算値は投与 14 週後から 17 週後の 3 週間のみの変化量が記載されているために、投与 13 週後から 17 週後までの 4 週間の値を再計算した。)

4000 ppm 群において雌雄とも体重増加量が統計学的に有意に減少した。投与期間を通した体重増加量は対照群と比べて雄で 29%、雌で 30% 少なかった。休薬期間の体重増加量は雌雄とも統計学的有意差はなかったが対照群よりも大きくなり (対照群に対して雄で 140%、雌で 389%) 回復傾向を示した。

2000 ppm 群において体重増加量が低下し、投与期間を通した体重増加量は対照群と比べて雄で 10%、雌で 20% 少なかった。

40 ppm 群では、検体投与に関連した影響はなかった。

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。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

平均摂餌量

性別	雄			雌		
	40	2000	4000	40	2000	4000
投与期間 (週)	1		↓ 73			↓ 72
	3					↓ 92
	4		↓ 88			
	5			↓ 87		
	9			↓ 91		
	10			↓ 90		
	13			↓ 86		
	1~13	96	97	92	96	100

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群ではいくつかの週において摂餌量が対照群と比べて統計学的に有意に減少した。投与期間を通した平均摂餌量は対照群と比べて雄で 8%、雌で 5%減少した。

食餌効率 (%)

投与期間 (週)	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
1~4	21.7	20.7	21	14.8	11.6	11.8	9.6	6.9
5~9	9.0	9.7	9.3	7.7	3.9	4.4	3.9	3.9
10~13	5.0	4.7	3.4	4.6	3.0	1.6	0.8	1.9
1~13 (%対照群) ^a	11.7	11.5	11.1	8.9	6.0	5.8	4.7	4.2
	-	(98)	(95)	(76)	-	(97)	(78)	(70)
14~17 (%対照群) ^a	4.8	-	-	8.0	1.7	-	-	5.4
	-	-	-	(167)	-	-	-	(318)

a : 対照群に対する割合 (%)

投与期間を通した総平均食餌効率は、対照群と比較して 4000 ppm 群では雄で 24%、雌で 30%減少し、2000 ppm 群では雄で 5%、雌で 22%減少した。40 ppm 群では投与に関連した影響は認められなかった。休業期間では、対照群と比較して 4000 ppm 群雄で 67%、雌で 218%増加した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		40	2000	4000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.87	148	324
	雌	3.89	207	433
	平均	3.38	178	379

飲水量；投与 4、8 及び 12 週時に飲水量を測定した。

統計学的有意差のみられた週を次表に示す。

投与期間 (週)	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	40	2000	4000	40	2000	4000
4						↓77
8						↓70

Dunnnett の多重比較検定 $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群の雌において投与 4 及び 8 週時の測定時に飲水量が対照群と比較して 23%及び 30%統計学的に有意に減少した。2000 ppm 群の雌では投与 8 週時には統計学的有意差はないものの対照群と比較して 10%減少した。

雄ならびに 40 ppm 群の雌では投与の影響はみられなかった。

血液学的検査；13 週間投与終了時及び投与 16 週時に各群雌雄 10 匹ずつの動物を対象として、エーテル麻酔下で後眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値 (HCT)、血色素量 (HB)、赤血球数 (RBC)、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 (PLT)、プロトロンビン時間 (PT)、白血球数 (WBC)、好中球数 (NEUT)、リンパ球数 (LYMPH)、単球数 (MONO)、好酸球数 (EOS)、好塩基球数 (BASO)、大型非染色球数 (LUC)、網赤血球数 (RET)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APPT)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		40	2000	4000	40	2000	4000
赤血球数	13			↑109			↑105
	16	/	/		/	/	↑108
血色素量	13						↓96
平均赤血球容積	13		↓96	↓92		↓95	↓93
	16	/	/		/	/	↓95
平均赤血球血色素量	13		↓96	↓90		↓96	↓91
	16	/	/		/	/	↓94
平均赤血球血色素濃度	13			↓98			↓98
	16	/	/	↓99	/	/	
白血球数	16	/	/		/	/	↑125
網赤血球数	13	↓88	↓88				↑106
好中球数	13			↓71			
リンパ球数	16	/	/		/	/	↑119
好塩基球数	13			↑140			

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

投与 13 週時の検査では、4000 ppm 群の雌雄において赤血球数の統計学的に有意な増加及び平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度の統計学的に有意な減少がみられ、さらに雌では血色素量が統計学的に有意に減少した。2000 ppm 群の雌雄において平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量が統計学的に有意に減少した。40 ppm 群では投与に関連した影響は認められなかった。

上記以外にもいくつかの項目が対照群に比し統計学的に有意に変動したが、投与量と関連がなかったり、対照値の通常範囲内であったことから検体投与の影響とは判断されなかった。

休薬期間では影響のみられた全ての項目で回復傾向がみられた。

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漿を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白 (PROT)、アルブミン (ALB)、総グロブリン (GLOB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)、カルシウム (CA)、リン酸 (PO4)、ナトリウム (NA)、カリウ

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

ム (K)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CREAT)、グルコース (GLUC)、総コレステロール (CHOL)、総ビリルビン (TBIL)、塩素 (CL)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (AP)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)、クレアチンキナーゼ (CPK)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		40	2000	4000	40	2000	4000
総蛋白	13			↑108			
	16						↓95
アルブミン	13			↑110			
	16						↓92
総グロブリン	13			↑107			
A/G 比	16						↓91
カルシウム	13			↑103	↓98		
	16						↓95
リン酸	13	↓90	↓87				↑114
	16			↑108			
カリウム	13		↑106	↑107			
尿素	13				↓82	↓75	↓90
塩素	16			↓99			
クレアチニン	13				↓88	↓88	↓87
	16						↓89
総コレステロール	13		↑126	↑133		↑125	↑167
総ビリルビン	13			↓85			
AST	13	↓89	↓89	↓76			↓71
	16			↓80			↓70
ALT	13	↓81	↓72	↓72			
	16			↓79			↓62
AP	13		↓77			↓80	
GGT	13						15*

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

*対照群の値が<3 だったため実測値 (U/L) を記載

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

4000 ppm群では、投与13週時の検査において雄に総蛋白、アルブミン、総グロブリン、総コレステロールの増加が、雌に総コレステロール及びGGTの増加がみられた。

2000 ppm群では、投与13週時に雌雄とも総コレステロールが増加した。

上記以外にもいくつかの項目が対照群に比し統計学的に有意に変動したが、投与量と関連がなかったり、対照値の通常範囲内であったことから検体投与の影響とは判断されなかった。

休薬期間後では影響のみられた全項目に回復性がみられた。

尿検査；投与12週時に採取した尿について以下の項目を検査した。

pH、蛋白 (PROT)、グルコース (GLUC)、ケトン体 (KET)、ウロビリノーゲン (UBIL)、ビリルビン (BIL)、潜血 (BLD)、外観 (APP)、尿量 (VOL)、尿比重 (SG)、バクテリア (BACT)、赤血球 (RBC)、上皮細胞 (EPTH)、リン酸結晶 (PO4)、尿酸塩結晶 (URAT)、円柱 (CAST)、白血球 (WBC)、精子 (SPER)、尿沈渣色 (SDEP)

統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
pH	12					6	↑7	↑7	↑7

Dunnettの多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は実測値

雌の全投与群において、pHが統計学的に有意に上昇した。その他投与に関連する影響はみられなかった。

(申請者註：全投与群のpHが統計学的に有意に上昇したが、投与量との関連性に乏しく、対照群との差もわずかであることから投与との関連性はないと判断された。)

眼科学的検査；投与開始前には全動物について、投与13週時には対照群及び4000 ppm群の全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与に関連する影響はみられなかった。

臓器重量；休薬群を含めて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、相対重量 (対体重比) も算出した。

肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、精巣上体、脳、副腎、心臓、胸腺、甲状腺

統計学的有意差の認められた項目及び投与の影響と思われる項目を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		40	2000	4000	4000 ^a	40	2000	4000	4000 ^a
最終体重				↓83	↓86			↓85	
肝臓	絶対重量						↑121	↑136	
	相対重量		↑113	↑132	↑114		↑132	↑160	↑109
甲状腺	絶対重量			↑117	↓86			(119)*	
	相対重量	↓87	(125)*	↑150			(120)*	↑160	(117)*
腎臓	絶対重量				↓87				
	相対重量		↑113	↑115			↑113	↑113	
副腎	絶対重量				↑110				
心臓	絶対重量					↓88	↓86	↓78	
精巣	相対重量			↑121		-	-	-	-
胸腺	相対重量			↑133				↑140	↑125
精巣上体	相対重量		↑114			-	-	-	-
脳	相対重量			↑117	↑113			↑113	

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

a : 4 週間休薬群

* : 統計学的有意差はないが、参考値として表示

4000 ppm 群では投与 13 週時に雌の肝臓の絶対重量が対照群と比べて 36% 統計学的に有意に増加した。肝臓の相対重量は投与 13 週時に雄で 32%、雌で 60% 統計学的に有意に増加した。甲状腺の絶対重量は雄では統計学的に有意に 17%、雌では統計学的有意差はなかったが 19% 増加した。甲状腺の相対重量は雄で 50%、雌で 60% 統計学的に有意に増加した。

2000 ppm 群では投与 13 週時に肝臓の絶対重量が雌で 21% 統計学的に有意に増加した。肝臓の相対重量は対照群の値と比べて第 13 週の雄で 13%、雌で 32% 統計学的に有意に増加した。甲状腺の相対重量は対照群の値と比べ雄で 25%、雌で 20% 増加した。

40 ppm 群では投与に関連した影響はみられなかった。

上記以外にもいくつかの臓器の重量が対照群に比し統計学的に有意に変動したが、投与量と関連がなかったり、対照値の通常範囲内であったことから検体投与の影響とは判断されなかった。

4 週間の休薬期間の後、肝臓の相対重量は対照群と比べて統計学的に有意に高かったものの雄で 14%、雌で 9% の高値であった。また雌の甲状腺の相対重量は対照群と比べて 17% の高値であるが統計学的有意差は認められなかった。これらの影響には回復傾向がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

肉眼的病理検査；投与終了時に全ての動物について剖検を行った。

観察された主な所見を次表に示す。

性別	雄					雌				
投与量 (ppm)	0	40	2000	4000	4000 ^a	0	40	2000	4000	4000 ^a
肝臓 腫大	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

a：4週間休薬群

Fisherの直接確率検定 $\uparrow\downarrow$ ： $p \leq 0.05$ ； $\uparrow\downarrow$ ： $p \leq 0.01$ （申請者実施）

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所見はなかった。4000 ppm群の雄1例に肝臓の腫大が認められた。この病変については病理組織学的検査において、小葉周辺性肝細胞肥大であることが確認された。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した対照群及び4000 ppm群の全動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。なお、肝臓の脂肪化を調べるために肝臓の凍結切片をオイルレッドOで染色し、脾臓のヘモジデリンの有無を調べるために脾臓の切片をPerl's法で染色した。

副腎、腹大動脈、骨髓塗沫^a、脳、盲腸、結腸、横隔膜、十二指腸、精巣上体、眼球、大腿骨及び関節、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、外涙腺、肝臓、肺、リンパ節（頸部及び腸間膜）、乳腺、視神経、食道、卵巣、輸卵管、脾臓、脳下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下腺、舌下腺及び耳下腺）、坐骨神経、精のう、骨格筋、皮膚及び皮下組織、脊髓（3部位）、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、舌、気管、膀胱、子宮、膣、その他肉眼的異常部位

^a：骨髓塗沫は死亡動物を除く全動物から作製した。

また、40及び2000 ppm群の全動物を対象として、肺、肝臓、腎臓、脾臓、甲状腺について病理標本を作製し、鏡検した。休薬群については対照群及び最高投与群の全動物を対象として、肝臓、脾臓、甲状腺について病理標本を作製し、鏡検した。

〔非腫瘍性病変〕

発生頻度に統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を次表に示す。

非腫瘍性病変 13週間投与終了時

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
臓器	所見検査例数	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	↑8	0	0	0	↑4
	小葉周辺性肝細胞内褐色色素沈着	0	0	0	↑4	0	0	0	↑4
甲状腺	コロイド枯渇	7	10	8	10	5	4	9	↑10
	濾胞上皮細胞肥大	7	10	8	10	5	4	9	↑10

Fisherの直接確率検定 ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$ (申請者実施)

4000 ppm 群の雌雄において肝臓の小葉周辺性肝細胞肥大及び小葉周辺性肝細胞内に顆粒状の褐色色素沈着の発生頻度に統計学的有意差がみられ、雌において甲状腺のコロイド枯渇(甲状腺濾胞内染色性の低下)及び濾胞上皮細胞肥大の頻度が統計学的に有意に増加した。これらの肥大した小葉周辺性肝細胞には顆粒状の褐色色素沈着がみられた。さらに雌の脾臓ではヘモジデリン沈着症がわずかに増加した。2000 ppm 群の雌において甲状腺のコロイド枯渇及び濾胞上皮細胞肥大の頻度が増加し、甲状腺濾胞内の染色性も低下した。これらの病変は検体投与の影響と判断された。4週間の休薬期間後ではこれらの病変の頻度に統計学的有意差は認められなかった。

40 ppm 群では投与に関連した影響は認められなかった。

(申請者註: 報告書では、雌の4000 ppm 群において脾臓のヘモジデリン沈着症がわずかに増加したと記載があったが、次表に示すように統計学的有意差はみられなかった。しかし、2004年に同じ用量で追加実施されたラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験(資料 毒-11)ではこの変化に対応する褐色色素沈着の発生頻度の統計学的に有意な増加が2000及び4000 ppm 群の雌で脾臓に観察されていることから、検体投与との関連性があると判断された。)

雌の脾臓のヘモジデリン沈着症(パール法染色)の程度別発生数

投与群 (ppm)	0	40	2000	4000
検査例数	10	10	10	10
極軽微	1	1	0	1
軽微	1	4	1	2
中等度	6	4	4	3
重度	2	1	5	4
総発生数	10	10	10	10

Wilcoxonの順位和検定 ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$ (申請者実施)

[腫瘍性病変]

全動物で腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果から、ラットに対する本検体の 90 日間投与の影響として、4000 ppm 群では雌雄とも赤血球数が増加し、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球色素濃度が減少した。さらに、雌で血色素量が減少した。投与 13 週時の血液生化学的検査において雄では総蛋白量のわずかな増加及びアルブミン、総グロブリン、総コレステロールの増加がみられ、雌では総コレステロール及び γ -グルタミルトランスペプチダーゼが増加した。また雄の肝臓の相対重量及び雌の肝臓の絶対重量と相対重量が増加し、雄の甲状腺の絶対重量と相対重量、雌の甲状腺の相対重量が増加した。小葉周辺性肝細胞肥大が雄の 8/10 例、雌の 4/10 例でみられた。これらの肥大した小葉周辺性肝細胞には顆粒状の褐色色素沈着がみられた。さらに雌の脾臓ではヘモジデリン沈着症がわずかに増加した。雌雄とも甲状腺濾胞上皮細胞の肥大及びコロイド枯渇の増加（甲状腺濾胞内の染色性の低下）が認められた。4 週間の休薬期間の後、投与に関係した全ての影響は回復傾向を示した。2000 ppm では、雌雄ともに体重増加量及び食餌効率が低下した。第 13 週の観察において雌雄ともに平均赤血球容積と平均赤血球血色素量の減少及び総コレステロールの増加がみられた。また雌雄ともに肝臓及び甲状腺の重量が増加した。雌で統計学的有意差は認められなかったが、甲状腺コロイド枯渇及び濾胞上皮細胞肥大がみられた。40 ppm では投与に関連した影響はみられなかった。

従って、無毒性量は雌雄とも 40 ppm（雄 2.87 mg/kg/日、雌 3.89 mg/kg/日）であると判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-11)

ピラクロニル原体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

試験機関：残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

実施理由：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及び 4 週間休
薬試験（資料 毒-10）において、現行試験ガイドライン（12 農産第 8147 号）
では要求される詳細な状態観察及び機能検査が不足していたため、これらの項
目を補完するために本試験が実施された。

検体純度： % (w/w)

供試動物：Sprague-Dawley 系 SPF ラット [Crj:CD (SD)]、開始時 5 週齢
試験開始時体重 雄；164～181 g、雌；134～156 g
1 群雌雄各 10 匹

投与期間：投与期間 13 週間（2003 年 7 月 15 日～2003 年 10 月 22 日）

投与方法：検体を 0、40、2000 及び 4000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間随時摂食さ
せた。検体を混入した飼料は 4 週に 1 度調製した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

投与に関連した死亡例はなかった。

投与に関連すると思われる一般状態の変化は認められなかった。

体重変化；全動物について投与開始時及び投与期間中毎週 1 回、体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を次表に示す。

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	40	2000	4000	40	2000	4000
投与期間 (週)	1						↓ 92
	2						↓ 90
	3						↓ 89
	4						↓ 90
	5						↓ 92
	6						↓ 91
	7				↑ 107		↓ 91
	8						↓ 90
	9				↑ 107		↓ 90
	10						↓ 90
	11				↑ 109		↓ 89
	12						↓ 89
	13				↑ 108		↓ 89

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群の雌は、投与期間を通して対照群より体重が低く推移し、統計学的有意差も認められた。また、これらの動物の体重増加量は投与 0 から 1 週で対照群に比較して統計学的に有意に減少した。

上記の変化以外に投与群の雌雄において体重あるいは体重増加量が投与期間の一部で多かったが、投与期間及び投与量との関連はなく偶発的变化と判断された。

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。

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

平均摂餌量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		40	2000	4000	40	2000	4000
投与期間 (週)	1		↓ 90	↓ 77		↓ 83	↓ 59
	2						↓ 80
	3						↓ 78
	4						↓ 85
	5						↓ 79
	6			↓ 90			↓ 80
	7						↓ 85
	8						↓ 88
	9						
	10						↓ 83
	11				↑ 112		↓ 88
	12						
	13						↓ 84
	1~13		99	96	93	103	95

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群の雌において投与 9 及び 12 週を除くすべての週で摂餌量が対照群に比較して統計学的に有意に少なく、全投与期間を通じた総平均摂餌量は対照群の 82% と減少した。特に 1 週の摂餌量は対照群の 59% と顕著な低値を示したが、それ以降やや回復し、概ね対照群の 80% 前後の値で推移した。同群の雄において、摂餌量が投与 1 及び 6 週に統計学的に有意に少なく全投与期間を通じた総平均摂餌量は対照群の 93% であった。

2000 ppm 群の雌雄において投与 1 週に摂餌量が対照群に比較して統計学的に有意に低かったがそれ以降回復し、全投与期間を通じた総平均摂餌量は対照群とほぼ同様であった。この投与 1 週の一時的な摂餌量低下は調製飼料に対する軽度の忌避によると考えられた。

40 ppm 群の雌において 11 週の摂餌量が対照群に比較して統計学的に有意に高かったが、投与期間を通じた摂餌量は雌雄とも対照群とほぼ同様に推移した。

食餌効率には投与に関連した影響はなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次表の通りであった。

投与量 (ppm)		40	2000	4000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.15	108	211
	雌	2.44	120	222

詳細な状態の観察；投与開始前及び投与期間中は週 1 回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ケージ内：興奮、沈静、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行為など）

ハンドリング：取り扱い難さ、筋緊張の変化（亢進、低下）、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化（散瞳、縮瞳）、流涎、流涙、分泌物（鼻孔、耳孔、膣などからの分泌物）、眼球突出、体温の変化（上昇、下降）、呼吸異常音、被毛の変化（外陰部湿潤）、皮膚及び可視粘膜の変化（充血）

オープンフィールド：跳躍、旋回、痙攣、歩様異常（運動協調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など）、自発運動（亢進、低下）、身づくろい動作（頻度）、立ち上がり姿勢（頻度）、呼吸（促迫、緩徐）、発声、立毛、排尿（回数）、排便（回数）、異常姿勢（腹臥、横臥など）、異常行動（後ずさり、常同行動、自傷行動など）

統計学的有意差がみられた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

性別・投与量 (ppm)		スコア	雄				雌			
			0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
立ち上がり	1週	0					0	0	5	5
		1					10	10	5	5
		2					0	0	0	0
		3					0	0	0	0
	統計検定								*	*
	10週	0	6	8	10	10				
		1	4	2	0	0				
		2	0	0	0	0				
		3	0	0	0	0				
	統計検定				*	*				

Dunnett 型の多重比較検定 * : $p \leq 0.05$; ** : $p \leq 0.01$

表中の数値は各スコアを呈した動物数

4000 及び 2000 ppm 群の雄において投与 10 週に、雌において投与 1 週に立ち上がりのスコアが統計学的に有意に減少したが、いずれも投与期間中一度しか観察されなかったところから、検体投与の影響ではない偶発的変化と判断された。また、40 ppm 群の雌雄に对照群との差はなかった。

機能検査；投与 11 週時に、全動物を対象として以下の項目を検査した。

運動量、握力（前肢、後肢）、感覚運動反応（接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応、空中立ち直り反射）

統計学的有意差がみられた項目を次表に示す。

項目	時間 (分)	性別・投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
運動量	0~10								
	10~20								
	20~30	582	469	398	↓345				
	30~40								
	40~50								
	50~60	155	↓12	105	140				
	0~60*	(3056)	(2558)	(2750)	(2602)				

Dunnett の多重比較検定 $\uparrow\downarrow : p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow : p \leq 0.01$

表中の数値はカウント数

* : 統計学的有意差はないが参考値として表示

4000 ppm 群の雄において 20 から 30 分の、40 ppm 群の雄において 50 から 60 分の運動量が統計学的に有意に減少したが、両群とも 60 分を通した総運動量には対照群と比較して統計学的有意差がなかったことから、これらの一時的な変化は偶発性のものであり、検体投与の影響ではないと判断された。その他の投与群の雌雄にも対照群との差は認められなかった。

血液学的検査 ; 13 週間投与終了後に全動物を対象として、エーテル麻酔下で開腹し、後大静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値 (Ht)、血色素量 (Hb)、赤血球数 (RBC)、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 (PLT)、網赤血球数 (Retics)、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、白血球数 (WBC)、白血球のディファレンシャルカウント [リンパ球 (L)、好中球 (N)、単球 (M)、好酸球 (E)、好塩基球 (B)、大型非染色球数 (LUC)]

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	性別・投与量 (ppm)		雄			雌		
	40	2000	4000	40	2000	4000		
ヘマトクリット値						↓ 94		
血色素量						↓ 94		
赤血球数			↑ 104					
平均赤血球容積			↓ 95					
平均赤血球血色素量			↓ 94					
血小板数						↑ 129		
網赤血球数						↑ 145		
プロトロンビン時間			↑ 119					
リンパ球					↑ 140			

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群の雄において赤血球数が対照群に比較して統計学的に有意に増加し、プロトロンビン時間が統計学的に有意に延長した。また、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量が統計学的に有意に減少した。雌では、血小板数及び網赤血球数が統計学的に有意に増加し、ヘマトクリット値及び血色素量が統計学的に有意に減少した。これらの結果から、雌ではごく軽度の小球性低色素性貧血であったと考えられた。

2000 ppm 群の雌ではリンパ球が統計学的に有意に増加したが、この変化は投与量に関連なく起こった偶発性的の変化であり、検体投与の影響ではないと判断された。

2000 ppm 群の雄及び 40 ppm 群の雌雄には投与に関連した異常はなかった。

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。

アルカリホスファターゼ (ALP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGTP)、クレアチニン (Creat)、尿素窒素 (BUN)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)、グルコース (Gluc)、総コレステロール (T.Chol)、トリグリセライド (TG)、総ビリルビン (T.Bil)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	性別・投与量 (ppm)		雄			雌		
	40	2000	4000	40	2000	4000		
GOT						↓82		
GGTP		↑200	↑300			↑500		
クレアチニン						↓88		
アルブミン/グロブリン比		↑106				↓92		
総コレステロール					↑119	↑126		
トリグリセライド						↓57		
総ビリルビン			↓86		↓78	↓56		

Dunnett の多重比較検定 $\uparrow\downarrow : p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow : p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群の雌雄において、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼが対照群に比較して統計学的に有意に増加し、総ビリルビンが統計学的に有意に減少した。さらに雌では、総コレステロールが統計学的に有意に増加し、アルブミン/グロブリン比及びトリグリセライドが統計学的に有意に減少した。これらの変化は検体投与によるものと考えられた。雌においてグルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼならびにクレアチニンが減少したが、これらの検査項目は一般には増加性の変化がそれぞれ肝臓あるいは腎臓の機能の異常を示す指標として意義があるとされていることから、本試験におけるこれらの変化には毒性学的な意義はないと判断された。

2000 ppm 群の雄において γ -グルタミルトランスペプチダーゼが統計学的に有意に増加し、これは検体投与によるものと考えた。アルブミン/グロブリン比の統計学的に有意な増加も認められたが、この変化は投与量との関連性がないところから、偶発性であり検体投与の影響ではないと判断された。雌における総コレステロールの統計学的に有意な増加と総ビリルビンの統計学的に有意な減少は検体投与による影響と考えられた。

40 ppm群の雌雄には投与に関連した異常はなかった。

尿検査；投与 13 週時に、全動物を対象として以下の項目を検査した。

尿比重、グルコース、ケトン体、潜血、pH、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン、尿色、尿量、尿沈渣

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別・投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	2000	4000	40	2000	4000
尿量						↑200

Dunnnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm 群の雌において、尿量が対照群に比較して統計学的に有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。

4000 ppm 群の雄及び 2000 ppm 以下の投与群の雌雄には投与による異常はなかった。

眼科学的検査；投与開始前には全動物について、投与 13 週時には対照群及び 4000 ppm 群の全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与に関連する影響は見られなかった。

臓器重量；投与終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、相対重量（対体重比）も算出した。

脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓（両側）、脾臓、甲状腺（上皮小体を含む、両側）、下垂体、副腎（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、卵巣（両側）、子宮

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

臓器		性別・投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	2000	4000	40	2000	4000		
最終体重									↓89
脳	相対重量								↑111
甲状腺	絶対重量			↑139		↑133		↑134	
	相対重量			↑143		↑136		↑148	
肝臓	絶対重量					↑117		↑127	
	相対重量			↑121		↑120		↑141	
腎臓	絶対重量					↑109			
	相対重量						↑108	↑114	
脾臓	相対重量								↑117
子宮	絶対重量	/	/	/					↑164
	相対重量	/	/	/					↑180

Dunnett の多重比較検定 $\uparrow\downarrow : p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow : p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

4000 ppm群の雌雄において、甲状腺の絶対及び相対重量ならびに肝臓の相対重量が対照群に比較して統計学的に有意に増加した。雌では肝臓の絶対重量も増加した。甲状腺及び肝臓の重量増加は対応する病理組織学的所見も観察されており検体投与の影響と判断された。さらに、雌では腎臓の相対重量が増加した。腎臓には病理組織学的検査において異常は観察されず体重減少の二次的影響とも考えられたが、尿検査で尿量が増加したこと、2000 ppm群の雌においても腎臓の相対重量が増加したところから、その毒性的意義は明らかではないが検体投与の影響と判断された。また、脾臓の相対重量増加は病理組織学的検査におけるうっ血、褐色色素沈着増加及び髄外造血亢進と関連し検体投与の影響と判断された。一方、脳の相対重量増加は最終体重減少による二次的変化と判断された。子宮の絶対及び相対重量が増加したが、病理組織学的検査で子宮には性周期に伴う生理学的な変化以外に病変がなく、また、これらの動物について膣の組織像から性周期を判定したところ、性周期の停滞は見られなかった。さらに、卵巣や下垂体にも異常を認めないことから、子宮の臓器重量の増加は4000 ppm群では発情前期に剖検された個体が多かったことによる偶発性的変化であり、検体投与とは関連のないものと考えられた。

2000 ppm群の雌において、甲状腺及び肝臓の絶対及び相対重量ならびに腎臓の相対重量が統計学的に有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。

40 ppm群の雌において、腎臓の絶対重量が有意に増加したが相対重量に異常のないところから、本変化が2000 ppm以上で観察された腎臓の変化と同一と考え

るのは妥当でなく、検体投与とは関連しない変化であると判断された。同群の雄に異常はなかった。

肉眼的病理検査；13週間投与終了後に全ての動物について剖検を行った。

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別・投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
臓器・病変								
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
甲状腺：腫大	0	0	2	↑6	0	0	0	0

Fisherの直接確率検定 ↑↓： $p \leq 0.05$ ；↑↑： $p \leq 0.01$

4000 ppm 群の雄で甲状腺の腫大の発生頻度が対照群に比較して統計学的に有意に増加した。

2000 ppm 群の雄でも発生頻度に統計学的有意差は見られなかったものの甲状腺の腫大を示す動物が2/10匹に観察された。この変化は病理組織学的検査所見と対応するものであり、検体投与の影響と考えられた。

40 ppm 群の雄及び全ての投与群の雌で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対照群及び4000 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本作製し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経（片側）、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨及び骨髓（胸骨、片側大腿骨及び椎骨3部位）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、脾臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精のう（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（角部及び頸部）、瞳、眼球（網膜及び視神経を含む、両側）、ハーダー腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）、肉眼的異常部位

また、40及び2000 ppm 群の全動物を対象として、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、子宮、雌における骨髓（胸骨、片側大腿骨及び椎骨3部位）ならびに肉眼的異常部位について病理標本作製し、鏡検した。

[非腫瘍性病変]

投与群において対照群に比較して発生頻度に統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を次表に示す。

臓器	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	40	2000	4000	0	40	2000	4000
骨髄 (椎骨)	所見\検査動物数	10	0	0	10	10	10	10	10
	造血亢進	0	-	-	0	0	0	0	↑9
骨髄 (胸骨)	所見\検査動物数	10	0	0	10	10	10	10	10
	造血亢進	0	-	-	0	0	0	0	↑9
骨髄 (大腿骨)	所見\検査動物数	10	0	0	10	10	10	10	10
	造血亢進	0	-	-	0	0	0	0	↑9
脾臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	うっ血	0	0	0	0	0	0	↑4	↑10
	褐色色素沈着	0	0	0	0	3	4	↑8	↑10
	髄外造血亢進	0	0	0	0	0	0	0	↑10
肝臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	↑9
	小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	↑7	0	0	0	0
甲状腺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	濾胞上皮細胞肥大	0	0	2	↑7	0	0	↑6	↑7

Fisherの直接確率検定 ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$

4000 ppm 群の雌雄において、甲状腺の濾胞上皮細胞肥大の発生頻度が対照群に比較し統計学的に有意に増加した。雄では肝臓の小葉周辺性肝細胞肥大の発生頻度が統計学的に有意に増加した。雌では、骨髄（大腿骨、胸骨及び椎骨）の造血亢進、脾臓のうっ血、褐色色素沈着及び髄外造血亢進ならびに肝臓の小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が統計学的に有意に増加した。肝臓の肝細胞肥大に関して、雄では小葉周辺性、雌では小葉中心性に観察された。この雌雄差は検体投与に対する代謝酵素誘導を含む肝細胞の生理学的反応の差異によると考えられた。

2000 ppm 群の雌において脾臓のうっ血及び褐色色素沈着ならびに甲状腺の濾胞上皮細胞肥大の発生頻度が対照群に比較し統計学的に有意に増加した。雄では、発生頻度に統計学的有意差はないものの甲状腺の濾胞上皮細胞肥大が 2/10 匹に観察された。

本検体の肝臓及び甲状腺への影響についてはラットにおける 14 日間反復投与

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

毒性試験（資料 毒-28）において精査されている。また、雌の脾臓及び骨髄の変化はこれらの動物に見られた貧血に対する反応であると判断され、検体投与によるものと考えられた。

2000 ppm 群の雄及び 40 ppm 群の雌雄には投与に関連した異常は認められなかった。

[腫瘍性病変]

4000 ppm 群の雄の一匹の甲状腺に片側性の濾胞上皮細胞腺癌が観察された。甲状腺の濾胞上皮細胞は検体投与により肥大を起こすため本検体の標的と考えられるが、他の動物において過形成、腺腫ないし癌などの増殖性病変がみられないことから、これは偶発性の腫瘍性病変と判断された。

以上の結果から、本検体をラットに 90 日間（13 週間）にわたり混餌投与したところ、2000 ppm 以上の投与群の雌雄で肝臓及び甲状腺に対する検体の影響が見られた。雌ではさらに腎臓及び脾臓に対する検体投与の影響も示唆された。4000 ppm 群の雌では、軽微な小球性低色素性貧血及びそれに伴う脾臓及び骨髄の病理組織学的変化が観察され、雄には貧血はなかったが血液凝固系に対する検体の影響が示唆された。40 ppm 群の雌雄には検体投与に関連する変化は認められなかった。

従って、本試験実施条件下での本検体の無毒性量は、雌雄とも 40 ppm（雄 2.15 mg/kg/日、雌 2.44 mg/kg/日）と結論された。また、詳細な症状観察及び機能検査の結果では、本検体の神経系への影響を示唆する所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-12)

ピラクロニル原体の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

試験機関：AgrEvo UK (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： % (w/w)

供試動物：CD-1 系マウス、4 週齢 (入荷時)

試験開始時体重 雄；29.6～37.8 g、雌；21.3～30.3 g

1 群雌雄各 10 匹

投与期間：投与期間 13 週間 (1996 年 9 月 12 日～1996 年 12 月 19 日)

投与方法：検体を 0、20、200 及び 2000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果；

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与による死亡例はなかった。対照群の雄 1 匹及び 20 ppm 群の雌 1 匹は偶発的外傷により死亡した。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；投与期間中全動物の体重を試験開始 15 日前及び 7 日前、投与開始時、その後毎週 1 回及び剖検時に測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定日を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		20	200	2000	20	200	2000
投与期間 (日)	29			↓ 95			
	36			↓ 93			
	43			↓ 91			
	50			↓ 91			
	57	↓ 94		↓ 91			
	64	↓ 93		↓ 89			
	71			↓ 90			
	78			↓ 89			
	85			↓ 88			
	92	↓ 92		↓ 87			

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

2000 ppm 群では、投与 29 日以降雄で統計学的に有意な低体重がみられ、投与後 92 日目では対照群に比べて雄の体重は 13%減少した。その他投与による影響は認められなかった。

期間ごとに統計学的有意差のみられた体重増加量 (g) を次表に示す。

投与日	性別・投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	20	200	2000	0	20	200	2000
1~8					0.21	0.18	0.16	↓-0.02
22~29					-0.08	0.05	-0.07	↑0.25
29~36	0.25	0.20	0.21	↓0.14				
36~43	0.16	0.13	0.22	↓0.04				
43~50	0.02	↑0.17	0.06	0.07				
50~57	0.23	↓0.03	0.21	0.16				
71~78					-0.08	↑0.33	0.26	0.09
78~85	0.11	-0.03	↓-0.04	0.02	0.38	↓-0.24	-0.02	0.19
1~92 (%) ^a	2.14 -	1.83 (86)	2.08 (97)	1.42 (66)	1.05 -	1.03 (98)	0.94 (90)	0.89 (85)

表中の数値は実測値

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

a: 対照群に対する割合 (%)

2000 ppm 群の雄において体重増加量は 34% (申請者註; 報告書では 35%だが、報告書 p32~33 の Table 1.7 より申請者が計算) 少なかった。その他投与による影響は認められなかった。

摂餌量; 全動物の摂餌量を週 1 回測定した。

摂餌量には投与に関連した影響はみられなかった。

検体摂取量; 投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		20	200	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.97	28.1	302
	雌	4.08	38.5	379
	平均	3.53	33.3	341

血液学的検査; 投与開始 14 週後に、エーテル麻酔下で後眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値 (HCT)、血色素量 (HB)、赤血球数 (RBC)、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 (PLT)、白血球数 (WBC)、好中球数 (NEUT)、リンパ球数 (LYMP)、

単球数 (MONO)、好酸球数 (EOS)、好塩基球数 (BASO)、大型非染色球数 (LUC)、網赤血球数 (RET)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与開始 14 週後

項目	雄			雌		
	20	200	2000	20	200	2000
赤血球数	↓94	↓95	↓91			
血色素量	↓95	↓97	↓91			↓92
ヘマトクリット値	↓94	↓96	↓91			↓94
平均赤血球血色素量						↓96
平均赤血球血色素濃度						↓98
白血球数						↑159
リンパ球数						↑161
単球数			↓50			
好酸球数			↓0			

Student の t 検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

2000 ppm 群では雄(申請者註; 報告書では雌雄だが、報告書 p43~45 の Table 2.1 ~2.2 より雄のみ)の赤血球数、雌雄の血色素量及びヘマトクリット値の統計学的に有意な減少が認められたがこれらは背景データの範囲内であった。雌のみに白血球数及びリンパ球数の増加が認められた。200 及び 20 ppm 群では雌で赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値については対照群との統計学的有意差は認められなかった。雄ではこれらの測定項目に統計学的有意差が認められたが、投与量と関連はなく背景データの範囲内であった。これらの統計学的有意差は投与に関連したものとは考えられなかった。統計学的有意差のみられたその他の項目は、投与量と関連がみられず対照値の通常範囲内であったことから、毒性学的意味はないと考えられた。

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漿を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白 (PROT)、アルブミン (ALB)、総グロブリン (GLOB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)、カルシウム (CA)、リン酸 (PO4)、ナトリウム (NA)、

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

カリウム (K)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CREAT)、グルコース (GLUC)、総コレステロール (CHOL)、総ビリルビン (TBIL)、塩素 (CL)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (AP)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)、クレアチンキナーゼ (CPK)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		20	200	2000	20	200	2000
総蛋白	14						↑107
アルブミン	14						↑110
A/G 比	14			↓90	↑109	↑109	↑109
カルシウム	14						↑109
リン酸	14	↓69	↓80	↓73	↓67	↓72	↓68
ナトリウム	14	↓99					
塩素	14						↓98
尿素	14		↑140	↑139	↑126		
クレアチニン	14						↑117
総コレステロール	14						↑145
AST	14						↓76
CPK	14						↓51

Student の t 検定 $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

2000 ppm群では、雌で総コレステロールの増加ならびに総蛋白及びアルブミンの増加が認められた。

(申請者註：2000 ppm群及び200 ppm群の雄における尿素的有意な増加は、一般的に腎毒性の初期症状とされているため、検体投与による毒性学的所見と考えられた。)

統計学的有意差のみられたその他の項目は、投与量とは関連がないか、もしくは対照値の通常範囲内であったことから、毒性学的意味はないと考えられた。

臓器重量：投与終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、相対重量 (対体重比) も算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、胸腺

統計学的有意差の認められた臓器及び投与の影響と思われる臓器を次表に示す。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

臓器	性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	20	200	2000	20	200	2000
肝臓	絶対重量	↓86					↑168
	相対重量			↑132			↑161
心臓	相対重量			↑117			
精巣	絶対重量			↓87	-	-	-
胸腺	絶対重量			↓73			
精巣上体	相対重量	↑120					
脳	相対重量	↑111		↑117			

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

2000 ppm 群では肝臓の絶対重量は雌で 68%増加した。肝臓の相対重量は対照群と比べて雄では 32%、雌では 61%増加した。

その他にみられた統計学的有意差は、投与量と関連がないか、もしくは対照値の通常範囲内であったことから、毒性学的意味はないと考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了時に全ての動物について剖検を行った。

投与に関連した剖検所見は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び 2000 ppm 群の全組織ならびに全投与群の肝臓及び肉眼病変は脱水、パラフィン包埋し、設定上 5 μm に薄切した。その後ヘマトキシリン・エオジン染色し鏡検した。全群の肝臓は凍結切片を作製しオイルレッド O で染色し、脂肪の存在を確認した。

副腎、腹大動脈、骨髓塗沫^a、脳、盲腸、結腸、横隔膜、十二指腸、精巣上体、眼球、大腿骨及び関節、胆嚢、ハーダー腺、頭部、心臓、回腸、空腸、腎臓、外涙腺、肝臓、肺、腸間膜/頸部リンパ節、乳腺(雌)、視/坐骨神経、骨格筋、食道、卵巣、輸卵管、膵臓、脳下垂体、包皮腺、前立腺、直腸、唾液腺(顎下腺、舌下腺及び耳下腺)、精のう、皮膚及び皮下組織、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、舌、気管、膀胱、子宮^b、陰、その他肉眼的異常部位

^a 骨髓塗沫は死亡動物を除く全動物から作製した。

^b 子宮角及び子宮頸を検査した。

また、20 及び 200 ppm 群の全動物を対象として肝臓について、病理標本を作製し鏡検した。

[非腫瘍性病変]

発生頻度または程度に統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を次表に示す。

非腫瘍性病変 14 週間投与終了時

臓器	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	20	200	2000	0	20	200	2000
肝臓	所見検査例数	10	10	10	10	10	10	10	10
	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	↑9				
	小葉中心性肝細胞脂肪沈着					0	0	2	↑5
腎臓	塩基性尿細管	0	-	-	↑4	3	-	-	0
	囲管性単核細胞浸潤	1	-	-	4	5	-	-	↓0

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

2000 ppm 群で、雄では 9/10 匹に軽微から重度の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。雌では小葉中心性肝細胞肥大は認められなかったが、極軽微から中等度の小葉中心性肝細胞脂肪沈着が認められた。200 ppm 群では雌の 2/10 匹に極軽微な小葉中心性肝細胞の脂肪沈着が認められた。脂肪沈着は雄には認められなかった。20 ppm 群では、病理学的変化は認められなかった。

(申請者註：2000 ppm 群では、雌で囲管性単核細胞浸潤の発生頻度が統計学的に有意に減少した。しかし、腎臓で観察された所見は長期の発がん性試験及びラットでの試験ではみられないことから、投与による影響とは考えられなかった。)

[腫瘍性病変]

全動物で腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果から、マウスに対する本検体の 90 日間投与の影響として、2000 ppm 群では雌で白血球数及びリンパ球数の増加が認められた。第 14 週の血液生化学的検査において (申請者註：雄では尿素の増加がみられ)、雌では総コレステロール、総蛋白及びアルブミンの増加が観察された。雄の肝臓の相対重量及び雌の肝臓の絶対重量と相対重量が増加した。2000 ppm 群では、小葉中心性肝細胞肥大が雄の 9/10 匹、小葉中心性肝細胞脂肪沈着が雌の 5/10 匹に認められた。200 ppm 群では、(申請者註：第 14 週の血液生化学的検査に

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

において雄では尿素の増加がみられ)、雌の 2/10 匹に小葉中心性肝細胞脂肪沈着が認められた。20 ppm では投与に関連した影響はみられなかった。

従って、本試験における無毒性量は、雄では 200 ppm (20 ppm ; 2.97 mg/kg/日、申請者註)、雌では 20 ppm (4.08 mg/kg/日) であると判断された。

(6) 反復経口投与神経毒性

(資料 毒-13)

ピラクロニル原体の反復経口投与神経毒性試験

試験未実施 (代替)

90日間、慢性経口投与毒性及び2世代繁殖試験で神経毒性に関連する観察項目を網羅しており、神経毒性を示す所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから試験は実施しなかった。

下記に、90日間、慢性経口投与毒性及び2世代繁殖試験での神経毒性に関連する観察内容の概要、及び、反復経口投与神経毒性に対する総合考察を記載する。

1. ラットにおける90日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-11)

ラットにおける90日間反復経口投与毒性試験において、以下の通り、致死量以下の投与量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

1) 詳細な状態の観察項目 (抄録: 138頁、報告書: 23頁)

致死量以下の投与量で特異的な神経症状を示唆する所見はない。

2) 機能検査項目 (抄録: 139頁、報告書: 23頁)

致死量以下の投与量で特異的な神経症状を示唆する所見はない。

3) 病理組織学的検査項目 (抄録: 145頁、報告書: 28頁)

① 脳

致死量以下の投与量で脳に対して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

② 脊髄

致死量以下の投与量で脊髄に対して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

③ 坐骨神経

致死量以下の投与量で坐骨神経に対して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

④ 骨格筋

致死量以下の投与量で骨格筋に対して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

⑤ 眼球及びその付属器

致死量以下の投与量で眼球及びその付属器に対して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

4) その他の検査項目

① 脳重量 (抄録: 144頁、報告書: 27頁)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

致死量以下の投与量で脳重量に対して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

② 眼科学的検査（抄録：143頁、報告書：24頁）

致死量以下の投与量で眼科学的検査の結果、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

2. その他の試験からの考察

慢性毒性試験等において以下の通り致死量以下の投与量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

1) 強制経口投与による1年間経口投与慢性毒性試験（イヌ；資料 毒-14）

レポートの要約、考察及び結論の中に致死量以下の投与量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

2) 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（ラット；資料 毒-15）

レポートの要約、考察及び結論の中に致死量以下の投与量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

3) 飼料混入投与による18ヵ月間経口投与発がん性試験（マウス；資料 毒-16）

レポートの要約、考察及び結論の中に致死量以下の投与量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

4) 飼料混入投与による2世代繁殖試験（ラット；資料 毒-17）

レポートの要約、考察及び結論の中に致死量以下の投与量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関について

現在の科学的知見において、本検体は既知神経毒性物質との化学構造の相関はない。

以上の理由から、ピラクロニル原体の反復経口投与神経毒性試験の提出を除外します。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(7) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

(資料 毒-14)

ピラクロニル原体のイヌを用いた強制経口投与による12ヵ月間反復経口投与毒性試験

試験機関: Aventis CropScience UK (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000年

検体純度: % (w/w)

供試動物: ビーグル犬 (入荷時 6~7ヵ月齢、順化期間 22日間)

試験開始時体重 雄; 8.3~11.4 kg、雌; 6.6~9.2 kg

1群雌雄各4匹

投与期間: 12ヵ月 (1998年8月13日~1999年8月18日)

投与方法: 検体を1% w/v メチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、0.5、5及び50 mg/kg/日の投与量で、12ヵ月間にわたって1日1回5 mL/kgの容量で強制経口投与した。投与液は投与4日前~前日に調製した。

投与量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間中の死亡はなかった。

50 mg/kg/日群の雄1例に削瘦が認められたことを除き、その他投与に関連する

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

症状は認められなかった。

体重変化；全動物について、投与開始 14 日前、7 日前、投与開始時、投与期間中は毎週 1 回、さらに剖検前に体重を測定した。

投与期間中の投与群別の体重を次表に示す。

群平均体重 (kg)

性 別	雄				雌			
	0	0.5	5	50	0	0.5	5	50
投与量 (mg/kg/日)								
第 4 週	10.4 -	10.2 (98)	10.2 (98)	9.7 (93)	8.8 -	8.3 (94)	8.7 (99)	8.2 (93)
第 13 週	11.7 -	11.4 (97)	11.3 (97)	10.8 (92)	9.8 -	9.4 (96)	9.2 (94)	8.8 (90)
第 26 週	12.1 -	11.5 (95)	11.3 (93)	10.4 (86)	10.3 -	9.8 (95)	9.7 (94)	8.9 (86)
第 52 週	13.1 -	12.4 (95)	12.2 (93)	11.5 (88)	10.9 -	10.5 (96)	10.5 (96)	9.6 (88)

Dunnett の多重比較検定 \uparrow : $p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.01$

() 内の数値は対照群に対する割合 (%)

50 mg/kg/日群の体重は、雌雄とも投与期間を通じて対照群に比べやや低めに推移し、投与終了時には統計学的に有意ではないものの、雌雄とも対照群より 12% 低下した。

5 mg/kg/日群及び 0.5 mg/kg/日群では投与の影響はみられなかった。

投与期間中、累積体重増加量に有意差のみられた検査日を次表に示す。

累積体重増加量

性別	雄			雌		
	0.5	5	50	0.5	5	50
投与期間 (日)	36					↓30
	43					↓40
	50			↓38		↓36
	64					↓38
	71			↓38		↓40
	85					↓35
	92					↓39
	99					↓39
	106			↓52		↓42
	113					↓40
	120					↓42
	127			↓50		↓37
	134					↓33
	141			↓50		↓33
	148					↓39
	155			↓48		↓43
	162			↓50		↓41
	169			↓41		↓35
	176			↓42		↓39
	183			↓31		↓36
	190			↓30		
	204			↓41		
	211			↓42		
	218			↓43		
232			↓43			
239			↓42			
316					↓39	
323					↓46	

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

50 mg/kg/日群の雌雄には、体重増加量に時折統計学的に有意な低下がみられた。
5 mg/kg/日群及び 0.5 mg/kg/日群では投与の影響はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始前 2 週間ならびに投与期間中毎日測定した。食餌効率も算出した。

群平均摂餌量 (g/動物/日)

性 別	雄				雌			
	0	0.5	5	50	0	0.5	5	50
投与量 (mg/kg/日)								
1~13 週	390 -	389 (100)	394 (101)	350 (90)	374 -	361 (97)	353 (94)	327 (87)
14~26 週	396 -	391 (99)	400 (101)	349 (88)	386 -	370 (96)	380 (98)	336 (87)
27~52 週	398 -	397 (100)	400 (101)	345 (87)	389 -	378 (97)	380 (98)	342 (88)
1~52 週	396 -	394 (99)	399 (101)	347 (88)	385 -	372 (97)	373 (97)	337 (88)

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

() 内の数値は対照群に対する割合 (%)

50 mg/kg/日群の摂餌量は、雌雄とも投与期間を通じ対照群と比べやや低めに推移し、投与期間を通じた摂餌量は雌雄とも対照群より 12%低下した。

5 mg/kg/日群及び 0.5 mg/kg/日群では投与の影響はみられなかった。

なお、食餌効率には投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査； 投与開始 2 週間前、投与開始前、ならびに投与 90、180、364 日に全動物を対象として、頸静脈から採血し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値 (HCT)、血色素量 (HB)、赤血球数 (RBC)、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 (PLT)、白血球数 (WBC)、好中球数 (NEUT)、リンパ球数 (LYMP)、単球数 (MONO)、好酸球数 (EOS)、好塩基球数 (BASO)、大型非染色球数 (LUC)、赤血球沈降速度 (ESR)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APPT)、プロトロンビン時間 (PT)、網赤血球数 (RET)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液学的検査

項目	検査時期	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		0.5	5	50	0.5	5	50
赤血球数	-15日*	↓92	↓91				
	6ヵ月	↓89					
	12ヵ月				↑115	↑111	
血色素量	6ヵ月	↓90					
	12ヵ月				↑112		
ヘマトクリット値	-15日*	↓91					
	12ヵ月				↑116	↑111	
平均赤血球容積	3ヵ月			↑106			
平均赤血球血色素濃度	-15日*	↑103	↑103	↑102			
網赤血球数	12ヵ月				↑197		
血小板数	-2日*					↑124	↑126
	3ヵ月					↑130	↑136
	6ヵ月						↑144
リンパ球数	12ヵ月					↑137	
単球数	12ヵ月		↑150				
好酸球数	-15日*		↓33	↓22			
	-2日*			↓29			
好塩基球数	12ヵ月				↓0		↓0
大型非染色球数 ^a	-15日*		↑200				
プロトロンビン時間	-2日*	↓98	↓98				
	6ヵ月			↓97			↓97
	12ヵ月		↓97	↓97			
赤血球沈降速度 ^a	6ヵ月				↑300		
	12ヵ月		↑300				

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

* 投与開始前

^a 個体別値からの計算

50 mg/kg/日群では雄において投与3ヵ月後に平均赤血球容積が統計学的に有意に増加し、投与6及び12ヵ月後にプロトロンビン時間の短縮が認められた。雌では投与3及び6ヵ月後に血小板数が有意に増加し、投与6ヵ月後にプロトロンビン時間が統計学的に有意に短縮した。

5 mg/kg/日群では雌において赤血球数及びヘマトクリット値が統計学的に有意

に増加した。

以上のように種々の検査項目に統計学的に有意な変動がみられたが、いずれも投与量あるいは投与期間との関連が認められず、対照値の通常範囲内の軽微な変化であった。従って、これらの変化は毒性学的に意味のない偶発的所見と解釈された。

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漿を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、総グロブリン、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)、カルシウム、リン酸、ナトリウム、カリウム、尿素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、総ビリルビン、塩素、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (AP)、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT)、クレアチンキナーゼ (CPK)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液生化学的検査

項目	検査時期	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		0.5	5	50	0.5	5	50
総蛋白	6 ヶ月	↓91					
アルブミン	-15 日*		↑112				
総グロブリン	12 ヶ月					↓87	
A/G 比	-2 日*						↑118
	12 ヶ月					↑127	↑118
カルシウム	-2 日*	↓94	↓94				
リン酸	-2 日*			↓84			
尿素	-15 日*				↓76	↓74	
	12 ヶ月						↓80
クレアチニン	-2 日*			↑116			
	12 ヶ月						↓87
グルコース	-2 日*		↑111				↑112
	3 ヶ月				↑114		
	6 ヶ月						↑111
	12 ヶ月				↑107		
総コレステロール	6 ヶ月				↓74		↑139
	12 ヶ月				↓66	↓65	
総ビリルビン	3 ヶ月						↑135
	12 ヶ月			↑138			
AST	-2 日*				↑145		
	3 ヶ月						↓76
	6 ヶ月			↓65			
	12 ヶ月			↓60	↑160		
ALT	-15 日*		↑139	↑129			
	6 ヶ月				↑180		
AP	-15 日*		↑135				
	3 ヶ月			↑189			
	6 ヶ月			(197)#			
	12 ヶ月			↑236			
CPK	-2 日*			↑140			
	6 ヶ月				↑140		
	12 ヶ月				↑126		

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

* 投与開始前

: 統計学的有意差はないが、参考値として表示

50 mg/kg/日群では雄において投与 3、6 及び 12 ヶ月後にアルカリホスファターゼがわずかに増加し、3 及び 12 ヶ月後には統計学的有意差も認められた。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

その他、種々の検査項目に統計学的に有意な変動がみられたが、いずれも投与量あるいは投与期間との関連が認められないか、対照値の通常範囲内の軽微な変化であった。従って、これらの変化は毒性学的に意味のない偶発的所見と解釈された。

尿検査；投与 91 及び 188 日にカテーテル法により採尿し、投与 369 または 370 日（雄）及び投与 371 または 372 日（雌）に膀胱より直接採尿して以下の項目を検査した。

外観、pH、蛋白、グルコース、尿比重、尿沈渣色、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、バクテリア、赤血球、白血球、上皮細胞、リン酸塩結晶、尿酸塩結晶、円柱、精子

統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

項目	検査時期	投与量 (mg/kg/日)							
		雄				雌			
		0	0.5	5	50	0	0.5	5	50
pH	3 ヶ月	6	6	6	↑8				
	12 ヶ月	6	7	6	↑8				

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は実測値

50 mg/kg/日群の雄では投与 3 ヶ月後及び 12 ヶ月後の検査時に pH が統計学的に有意に上昇したが、投与量との関連がなく単発的であるため、検体投与の影響とは考えられなかった。

5 mg/kg/日群及び 0.5 mg/kg/日群では検体投与の影響は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与終了週に全動物について、眼科学的検査を実施した。

投与に関連する影響はみられなかった。

臓器重量；投与終了時の全生存動物について以下の臓器重量を測定し、相対重量（対体重比）も算出した。

副腎（両側）、脳、精巣（両側）、心臓、腎臓（両側）、肝臓、肺、下垂体、脾臓、甲状腺（上皮小体を含む）、卵巣（両側）

対照群と比べて統計学的有意差の認められた臓器重量の変動はなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行い、肉眼的異常を記録した。

投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の臓器及び組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。なお、肝臓の脂肪化を調べるために肝臓の凍結切片をオイルレッドOで染色した。

副腎、腹大動脈、大腿骨関節面及び骨幹部、骨（胸骨）、骨髄、脳（3部位）、盲腸、結腸、横隔膜、十二指腸、精巣上体（両側）、眼球（両側）、胆のう、心臓、回腸、空腸、腎臓（両側）、外涙腺、肝臓（2葉）、肺、リンパ節（顎下及び腸間膜）、乳腺、神経（視神経、坐骨神経）、食道、卵巣、脾臓、上皮小体、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、骨格筋、皮膚及び皮下組織、脊髄（3部位）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、扁桃、気管、膀胱、子宮及び卵管、膣、肉眼的異常部位

投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、検体投与に関連する影響として、50 mg/kg/日群において雌雄の体重低下、雌雄の摂餌量の減少、アルカリホスファターゼの増加が認められた。

従って、本試験における無毒性量は雌雄とも5 mg/kg/日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-15)

ピラクロニル原体のラットを用いた混餌経口投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

試験機関: Aventis CropScience UK (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: % (w/w)

供試動物: Sprague Dawley CRL: CD (SD) BR 系ラット

入荷時 4 週齢 (馴化 10 日間)

試験開始時体重 雄; 104~156 g、雌; 100~145 g

1 群雌雄各 70 匹 (主群 50 匹、中間屠殺群 20 匹)

投与期間: 主群 104 週間 (1997 年 5 月 22 日~1999 年 5 月 24 日)

中間屠殺群 52 週間 (1997 年 5 月 22 日~1998 年 5 月 27 日)

投与方法: 検体を 0、10、100 及び 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、104 週間随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠;

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、触診を含む詳細な臨床症状を週1回観察した。

中間屠殺時（投与52週）及び試験終了時（投与104週）の死亡動物数を次表に示す。

死亡動物数

投与週	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
0~52	1/70	2/70	0/70	2/70	3/70	2/70	2/70	1/70
0~104	20/50	14/50	16/50	19/50	23/50	22/50	29/50	27/50

死亡動物数/全動物数

Logrank法で統計学的有意差検定

対照群と比べ統計学的有意差のみられた所見を次表に示す。

一般状態

性別	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
所見/検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
全身：								
円背位	3	↑11	7	6	15	21	20	23
削瘦	1	↑9	↑7	6	16	18	23	17
眼：								
半眼	2	7	6	↑9	14	10	16	10
眼球突出	0	2	0	0	0	2	2	↑5
口：								
歯の損傷	11	12	10	7	17	12	8	↓7

表中の数値は所見を呈した動物数

Fisherの直接確率検定 ↑↓： $p \leq 0.05$ ；↑↑↓↓： $p \leq 0.01$ （申請者実施）

死亡率に検体投与による影響は認められなかった。

一般状態については、いくつかの所見の発生頻度に対照群と比べ統計学的有意差がみられたが、投与量と関連がないか又は、対照群にも同様の所見がみられ

たことからいずれも検体投与に関連するものではなかった。

体重変化；投与期間中全動物の体重について、投与開始から14週までは毎週1回、それ以降は2週に1回の頻度で測定し、さらに剖検前に測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定日を次表に示す。

体重

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	10	100	1000	10	100	1000
投与期間 (日)	8			↓ 96			↓ 96
	15			↓ 96			
	36						↓ 95
	43						↓ 96
	50			↓ 96			↓ 95
	57						↓ 96
	64						↓ 95
	71						↓ 95
	78			↓ 96			↓ 96
	85						↓ 95
	92			↓ 96			↓ 95
	99			↓ 96			↓ 95
	113			↓ 96			↓ 94
	127			↓ 96			↓ 94
	141			↓ 96			↓ 94
	155			↓ 96			↓ 94
	169			↓ 95			↓ 93
	183			↓ 95			↓ 93
	197			↓ 96			↓ 93
	211			↓ 96			↓ 93
	225						↓ 92
	239						↓ 92
	253						↓ 91
	267						↓ 91
	281						↓ 90
	295						↓ 90
309						↓ 90	
323						↓ 89	
337						↓ 88	
351						↓ 88	
365		↓ 95				↓ 89	
379		↓ 93	↓ 94			↓ 90	

体重（続き）

性 別		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
投与期間 (日)	393		↓94	↓94			↓90
	407		↓93	↓94			↓90
	421		↓93	↓94			↓89
	435		↓93				↓89
	449		↓94				↓88
	463						↓89
	477		↓93				↓89
	491						↓88
	505						↓88
	519						↓88
	533		↓93	↓92			↓88
	547		↓93	↓93			↓91
	561		↓93	↓92			
	575			↓92			
	589		↓93	↓92			
	603			↓93			
	617			↓93			
	631		↓92	↓92			
	645		↓93	↓92			
	659	↓92	↓93	↓91			
673			↓92				
687		↓93					

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群の雌雄では、投与期間を通じて体重が対照群より低く推移し、ほとんどの測定日において統計学的有意差が認められた。これらは検体投与の影響と考えられた。

100 ppm 群の雄では投与 365 日以降にしばしば体重の統計学的に有意な減少が認められたがいずれも軽微であり検体投与の影響ではないと考えられた（申請者註：軽度であるが持続的であり、検体投与による毒性と考えられる）。

10 ppm 群では雄において投与 659 日に統計学的に有意な減少がみられたものの、単発的であり投与量との関連もないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

期間ごとの体重増加量を次表に示す。

体重増加量

投与週	性別・投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
0~13	354	352 (99)	340 (96)	↓ 336 (95)	164	165 (101)	161 (98)	↓ 150 (91)
0~26	453	450 (99)	431 (95)	↓ 428 (94)	202	203 (100)	199 (99)	↓ 182 (90)
0~52	558	545 (98)	527 (94)	530 (95)	272	270 (99)	270 (99)	↓ 231 (85)
0~104	605	553 (91)	558 (92)	570 (94)	376	349 (93)	365 (97)	341 (91)

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は実測値 (g)、() 内の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群では、群平均体重増加量が投与 13 週間後に雄で 5%、雌で 9% 少なく、投与 26 週では対照群と比較して雄が 6%、雌が 10% 統計学的に有意に少なかった。また投与 52 週では対照群と比較して雌で 15% 統計学的に有意に少なかった。

100 ppm 群及び 10 ppm 群では検体投与に関連した影響は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始から 14 週までは週 1 回測定し、その後は 4 週間ごとに測定した。食餌効率も算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

平均摂餌量

性別	雄			雌		
	10	100	1000	10	100	1000
投与期間 (週)	1		↓ 92			
	2		↓ 96			
	3		↓ 93			
	4		↓ 93			
	5			↓ 93		↓ 90
	6			↓ 96		↓ 95
	7			↓ 96		↓ 95
	9		↓ 93			↓ 95
	10					↓ 90
	11			↓ 93		↓ 90
	12			↓ 96		↓ 90
	13		↓ 96	↓ 96		↓ 95
	18		↓ 96	↓ 93		↓ 90
	22					↓ 95
	26					↓ 90
	30					↓ 90
	34					↓ 90
	38		↓ 93	↓ 96		↓ 90
	42			↓ 96		↓ 90
	46		↓ 96	↓ 96	↓ 91	↓ 86
	50					↓ 90
	54	↓ 96	↓ 96	↓ 93		
	58		↓ 93	↓ 93		
	62					↓ 87
	66					↓ 91
	70					↓ 90
	82					↓ 88
	90			↓ 93	↓ 92	↓ 88
1~104	99	96	95	98	97	↓ 92

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群では、雌雄とも投与期間を通じて摂餌量が対照群より低く推移し、多くの測定週において統計学的有意差も認められた。

100 ppm 群では、時折対照群と比較して統計学的に有意な低下が認められた。

10 ppm 群では統計学的に有意な低下が認められた測定週もあったが、単発的であり投与の影響とは考えられなかった。

食餌効率には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以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	100	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.44	4.4	44
	雌	0.56	5.8	58
	平均	0.50	5.1	51

血液学的検査；投与開始後 3、6、12、18 及び 24 ヶ月時に各群雌雄 10 匹ずつの動物を対象として、イソフラン麻酔下で後眼窩静脈叢から採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値 (HCT)、血色素量 (HB)、赤血球数 (RBC)、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 (PLT)、白血球数 (WBC)、好中球数 (NEUT)、リンパ球数 (LYMP)、単球数 (MONO)、好酸球数 (EOS)、好塩基球数 (BASO)、大型非染色球数 (LUC)、網赤血球数 (RET)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APPT)、プロトロンビン時間 (PT)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液学的検査

項目	検査月	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
赤血球数	12	↑ 106				↑ 105	↑ 105
	24			↑ 113			
血色素量	3				↓ 97		↓ 97
	12	↑ 105					
	18					↓ 94	
平均赤血球容積	3		↓ 96	↓ 96		↓ 97	↓ 97
	12					↓ 97	↓ 96
	24			↓ 95			
平均赤血球 血色素量	3				↓ 97	↓ 96	↓ 96
	6					↓ 97	↓ 97
	12					↓ 97	↓ 95
	24			↓ 95			
平均赤血球 血色素濃度	12		↑ 102				
	18					↓ 98	
血小板数	24	↓ 75	↓ 73		↓ 67		
白血球数	12				↓ 72	↓ 75	↓ 67
大型非染色球数	6		↓ 100	↓ 67	↓ 50	↓ 50	
	24		↓ 33				
好中球数	3			↓ 65		↓ 64	
	12					↓ 65	↓ 53
リンパ球数	12				↓ 71		↓ 71
単球数	12	↑ 150		↑ 150	↓ 67	↓ 67	↓ 67
	18		↓ 50				
好酸球数	3	↑ 100	↑ 100		↓ 50		↓ 50
	6				↓ 50	↓ 50	↓ 100
	12	↑ 200	↑ 200		↓ 50		↓ 50
	24		↑ 150				
活性化部分トロン ボプラスチン 時間	6		↓ 91				
	12	↓ 89	↓ 90				
プロトロンビン 時間	3			↑ 109	↑ 106		
	18				↑ 107	↑ 111	↑ 108
	24	↓ 87					

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群において、雄では 24 ヶ月後、雌では 12 ヶ月後に赤血球数が統計学的に有意に増加し、雌では 3 ヶ月後に血色素量の統計学的に有意な低下が、3 及び 12 ヶ月後に平均赤血球容積の統計学的に有意な低下が、3、6 及び 12 ヶ月

後に平均赤血球血色素量の統計学的に有意な低下が認められた。雄では3及び24ヵ月後に平均赤血球容積の統計学的に有意な低下が、24ヵ月後に平均赤血球血色素量の統計学的に有意な低下が認められた。雌では白血球数が統計学的に有意に低下した。100 ppm群において、12ヵ月後に雌の赤血球数が統計学的に有意に増加し、雌で3及び12ヵ月後に、雄で3ヵ月後に平均赤血球容積が統計学的に有意に低下した。さらに雌では3、6及び12ヵ月後に平均赤血球血色素量が統計学的に有意に低下し、18ヵ月後には血色素量及び平均赤血球血色素濃度が統計学的に有意に低下した。

以上のように種々の検査項目に統計学的に有意な変動がみられたが、いずれも投与量あるいは投与期間と関連が認められないか、対照値の通常範囲内の軽微な変化であった。従って、これらの変化は毒性学的に意味のない偶発的所見と解釈した。

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 (PROT)、アルブミン (ALB)、総グロブリン (GLOB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G比)、カルシウム (CA)、リン酸 (PO₄)、ナトリウム (NA)、カリウム (K)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CREAT)、グルコース (GLUC)、総コレステロール (CHOL)、総ビリルビン (TBIL)、塩素 (CL)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (AP)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)、クレアチンキナーゼ (CPK)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液生化学的検査

項目	検査月	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
総蛋白	6			↑ 105			
	12			↑ 105		↓ 94	
	18					↓ 92	
アルブミン	6			↑ 104			
	24		↑ 107				
総グロブリン	3					↓ 94	
	6			↑ 107			
	12					↓ 93	
	18					↓ 90	
A/G比	6				↑ 110	↑ 110	↑ 110
	12	↓ 89		↓ 89			
	18						↑ 111
カルシウム	6			↑ 102			
リン酸	3				↓ 84		
	6				↓ 86		↓ 88
	12						↓ 86
	18					↓ 80	↓ 84
	24			↓ 66			
ナトリウム	3		↓ 99		↑ 101		
	12			↓ 99			
	18	↑ 101		↑ 101			
尿素	3		↓ 85				
	12				↑ 112		↑ 112
塩素	3				↑ 102		
	12				↑ 101		↑ 101
クレアチニン	12	↓ 94	↓ 92				
グルコース	6			↓ 79			
	18	↓ 81					
総コレステロール	3			↑ 130	↓ 85		
	6	↑ 125		↑ 135			
	12	↑ 136	↑ 131	↑ 138			
AST	3			↓ 83			
	6	↓ 87		↓ 82			
ALT	3			↓ 81			
	6			↓ 84			
CPK	6	↓ 52					
	12			↓ 63			
	18	↓ 76					

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群の雄において、6 及び 12 ヶ月後に総蛋白が、6 ヶ月後にアルブミンと総グロブリンが統計学的に有意に増加した。また、3、6 及び 12 ヶ月後に総コレステロールが統計学的に有意に増加し、3 及び 6 ヶ月後にアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼが統計学的に有意に低下した。雌では 6 及び 18 ヶ月後にアルブミン/グロブリン比が統計学的に有意に増加し、6、12 及び 18 ヶ月後にリン酸が統計学的に有意に減少した。100 ppm 群の雄では 12 ヶ月後に総コレステロールが統計学的に有意に増加した。雌では 12 及び 18 ヶ月後に総蛋白が統計学的に有意に減少し、3、12 及び 18 ヶ月後に総グロブリンが統計学的に有意に減少した。10 ppm 群においても雌雄ともいくつかの項目で統計学的に有意な変動がみられた。

以上のように種々の検査項目に統計学的に有意な変動がみられたが、いずれも投与量あるいは投与期間と関連が認められないか、対照値の通常範囲内の軽微な変化であった。従って、これらの変化は毒性学的に意味のない偶発的所見と解釈した。

尿検査；投与 13、26、52、78 及び 104 週時に各群雌雄 10 匹について尿を採取し、以下の項目を検査した。

外観、尿量、尿比重、蛋白、ビリルビン、pH、グルコース、ウロビリノーゲン、ケトン体、潜血、バクテリア、赤血球、上皮細胞、リン酸塩結晶、尿酸塩結晶、円柱、白血球、精子、尿沈渣色

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

尿検査

項目	検査月	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
尿比重	3		↓ 99	↓ 99			
尿量	3		↑ 146				
	6		↑ 145				
pH	3	↓					
	18	↓	↓			↑	↑
	24			↑	↓		

Dunnnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$

数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群では投与 3 ヶ月後の検査において雄の尿比重が統計学的に有意に減少した。100 ppm 群では投与 3 ヶ月後の検査において雄の尿比重が統計学的に

有意に減少し、尿量が統計学的に有意に増加した。尿量は投与 6 ヶ月後の検査でも統計学的に有意に増加した。

(申請者註：上記の尿比重、尿量および pH に見られた変化については、投与時期あるいは投与量と関連がないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。)

眼科学的検査；投与開始前には全動物について、中間屠殺前（投与 52 週時）ならびに最終屠殺前（投与 104 週時）には対照群及び 1000 ppm 群の全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与に関連する影響はみられなかった。

臓器重量；投与 52 週時の中間屠殺群（衛星群）及び試験終了時の最終屠殺群の全生存動物について以下の臓器重量を測定し、相対重量（対体重比）も算出した。

肝臓、腎臓（両側）、脾臓、精巣（両側）、卵巣（両側）、心臓、脳、副腎（両側）、精巣上体（両側）

統計学的有意差の認められた項目及び投与の影響と思われる項目を次表に示す。

臓器重量

項目	検査時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
最終体重	52						↓ 88
肝臓	絶対重量	104		↑ 113			
	相対重量	104		↑ 119			
腎臓	相対重量	104	↑ 115	↑ 109			
脾臓	相対重量	52					↑ 113
副腎	絶対重量	52					↓ 78
	絶対重量	104					↓ 79
副腎	相対重量	104	↑ 140				
	相対重量	104					↓ 88
心臓	絶対重量	104					
	相対重量	104	↑ 118				
精巣上体	絶対重量	104		↑ 109			
	相対重量	104	↑ 114	↑ 116			
脳	相対重量	52					↑ 115

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

1000 ppm 群では、投与 52 週時に雌の副腎の絶対重量が統計学的に有意に減少した。投与 104 週時には雄の肝臓の絶対重量及び相対重量が統計学的に有意に増加した。雄ではまた、精巣上体の絶対重量及び相対重量がそれぞれ 9%及び 16%統計学的に有意に増加した。雌の心臓の絶対重量及び雌の副腎の絶対重量が統計学的に有意に減少した。

上記以外にもいくつかの臓器の重量が対照群に比し統計学的に有意に変動したが、投与量と関連がなかったり、対照値の通常範囲内の軽微な変動であったところから検体投与の影響とは判断されなかった。

100 ppm 及び 10 ppm 群でもいくつかの臓器重量に変動がみられたものの、投与量と関連がなかったり、対照値の通常範囲内の軽微な変動であったところから検体投与の影響とは判断されなかった。

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行ない、肉眼的異常を記録した。

対照群と比べ発生頻度に統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

肉眼的病理所見

検査動物	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
衛星群	皮膚	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		脱毛	1	3	0	1	4	↑10	↑12	4
主群	肝臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		小型化	1	2	↑8	1	5	8	11	6

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表中の数値は実際の観察数

投与 52 週時に中間屠殺した衛星群では、100 ppm 及び 10 ppm 群の雌において脱毛が統計学的に有意に増加した。投与 104 週時に最終屠殺した主群では 100 ppm 群の雄において肝臓の小型化が統計学的に有意に増加した。いずれも 1000 ppm 群では統計学的有意差はみられていないことから投与に関連した影響ではないと判断された。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の臓器・組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。なお、肝臓の脂肪化を調べるために肝臓の凍結切片をオイルレッド O で染色した。

副腎、腹大動脈、胆管、骨髄、脳、盲腸、結腸、横隔膜、十二指腸、精巣上体、

眼球、大腿骨及び関節、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、外涙腺、肝臓、肺、リンパ節（頸部及び腸間膜）、乳腺、骨格筋、視神経、坐骨神経、食道、卵巣、卵管、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下腺、舌下腺及び耳下腺）、精のう、皮膚、脊髄（3部位）、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、舌、気管、膀胱、子宮、膈、その他肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

発生頻度に統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を表1に示す。

1000 ppm 群の雄において肝臓の小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が統計学的に有意に増加した。これは検体投与の影響と考えられた。

（申請者註：報告書には記載がないが、以下の病変の発生頻度が統計学的に有意に増加した。）

- ・ 全動物での雌 1000 ppm 群の肝臓限局性緊張性脂肪化発生頻度の詳細を次表に示す。

雌	0 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	病変数/例数			
死亡・切迫殺	1/27	1/23	2/30	6/27
最終屠殺	2/23	4/27	3/20	5/23
全動物	3/50	5/50	5/50	↑ 11/50

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表に示すように、最終屠殺動物で差がないことから、この肝臓限局性緊張性脂肪化の増加は偶発所見と解釈された。

- ・ 最終屠殺での雌 100 及び 1000 ppm 群の卵巣セルトリ様細胞管状過形成発生頻度の詳細を次表に示す。

雌	0 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	病変数/例数			
死亡・切迫殺	8/27	5/23	5/30	4/27
最終屠殺	5/23	11/27	↑ 11/20	↑ 14/23
全動物	13/50	16/50	16/50	18/50

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

病変の程度を次表に示す。

程度 \ 雌	0 ppm		10 ppm		100 ppm		1000 ppm	
	D	T	D	T	D	T	D	T
±	4	4	2	4	1	6	2	6
+	2	1	3	4	4	3	1	8
++	1	0	0	2	0	2	1	0
+++	1	0	0	1	0	0	0	0

D：死亡・切迫殺、 T：最終屠殺

±：極軽微、 +：軽微、 ++：中等度、 +++：重度

全動物では統計学的有意差がなく、また病変の程度には投与量との関連がないので、卵巣セルトリ様細胞管状過形成の統計学的に有意な増加は偶発的であると判断された。

- 死亡・切迫殺での雄 1000 ppm 群の脾臓髓外造血発生頻度の詳細を次表に示す。

雄	0 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	病変数/例数			
死亡・切迫殺	9/20	7/16	8/17	↑ 15/19
最終屠殺	24/30	26/34	24/33	25/31
全動物	33/50	33/50	32/50	40/50

Fisher の直接確率検定 ↑↓： $p \leq 0.05$ ；↑↓： $p \leq 0.01$ （申請者実施）

さらに病変の程度を次表に示す。

程度 \ 雄	0 ppm		10 ppm		100 ppm		1000 ppm	
	D	T	D	T	D	T	D	T
±	7	17	3	17	2	17	8	17
+	0	5	1	8	2	6	3	6
++	2	2	1	0	2	1	3	1
+++	0	0	2	1	1	0	1	1
++++	0	0	0	0	1	0	0	0

D：死亡・切迫殺、 T：最終屠殺

±：極軽微、 +：軽微、 ++：中等度、 +++：重度、 ++++：極重度

最終屠殺および全動物では統計学的有意差がなく、また病変の程度には、投与量との関連がないことに加え、血液学的検査でも対応する変化がないことから、この死亡・切迫殺における脾臓髓外造血の統計学的に有意な増加は偶発的であると判断された。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変を表 2 に示す。

雌雄とも腫瘍性病変には被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

(申請者註：報告書には記載がないが、腸間膜リンパ節の血管腫が以下のごとく統計学的に有意に増加した。)

腸間膜リンパ節の血管腫の発生頻度を次表に示す。

雄	0 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
	病変数/例数			
衛星群	2/20	0/20	1/20	0/20
死亡・切迫殺	1/20	1/16	2/17	0/19
最終屠殺	0/30	↑ 5/34	3/33	↑ 7/31
全動物 ^a	1/50	6/50	5/50	↑ 7/50
全動物 ^b	3/70	6/70	6/70	7/70

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

a 衛星群を含まない b 衛星群を含む

最終屠殺では病変の発生には投与量との関連は認められず、衛星群を含む全動物では各群間に統計学的有意差が認められなかったこと及び、衛星群の対照群でも同腫瘍が 2/20 例でみられたことから腸間膜リンパ節の血管腫は検体投与によって誘発されたものではないと判断された。

一方、腫瘍発生数、担腫瘍動物数、担良性・悪性腫瘍動物数に対照群と投与群間で差はみられなかった。

以上の結果から、CD (SD) BR 系ラットを用いた 2 年間反復経口投与毒性発がん性併合試験における本検体投与の影響として、1000 ppm 群の雌雄の群平均体重増加量の低下、中間屠殺時の雌の副腎の絶対重量の減少、最終屠殺時の雄の肝臓の絶対重量と相対重量の増加、雄の精巣上体の絶対重量及び相対重量の増加、雌の心臓の絶対重量の減少が認められた。さらに雄では小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が増加した。100 ppm 群及び 10 ppm 群では雌雄とも試験期間を通じ投与に関連した影響は認められなかった。従って、本試験における無毒性量は、雌雄とも 100 ppm (雄：4.4 mg/kg/日、雌：5.8 mg/kg/日) と判断された (申請者註：100 ppm 群の雄では、持続的な体重増加抑制がみられたため、無毒性量は 10 ppm (0.44 mg/kg/日) と考えられる)。また、本検体には発がん性は認められなかった。

表 1. 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
衛星群	肝臓	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		小葉周辺性脂肪沈着	9	8	9	11	7	7	↑15	6
	乳腺	所見\検査動物数	/				20	20	20	20
		腺細胞増殖					2	6	↑8	5
	卵巣	所見\検査動物数	/				20	20	20	20
		卵胞性嚢腫					5	↓0	↓0	5
	皮膚	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		限局性上皮過形成	0	0	0	1	0	2	↑6	1
死亡・切迫殺	副腎皮質	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		巣状細胞肥大	0	0	0	0	8	2	↓2	4
	肝臓	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		好塩基性細胞小増殖巣	2	↑7	↑7	6	13	15	12	17
	肺	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		限局性慢性肺炎	5	2	4	2	4	1	↓0	2
	脾臓	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		髄外造血	9	7	8	↑15	11	13	19	13
最終屠殺	外涙腺	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		ハーダー腺化	5	↓0	1	1	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		小葉中心性肝細胞肥大	1	1	2	↑8	0	0	0	1
	肺	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		肺胞内大食細胞集簇巣	11	↑21	15	16	12	12	6	12
	坐骨神経	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		軸索変性	28	27	↓19	26	13	15	10	9
	精巣	所見\検査動物数	30	34	33	31	/			
		精上皮変性	7	↑16	8	4				
卵巣	所見\検査動物数	/				23	27	20	23	
	セルトリ様細胞管状過形成					5	11	↑11	↑14	

Fisherの直接確率検定 ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↓: $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 1 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
全動物	前立腺	所見\検査動物数	50	50	50	50				
		限局性炎症	30	24	30	↓19				
	外涙腺	所見\検査動物数	49	50	50	50	49	50	49	50
		ハーダー腺化	7	↓0	↓1	2	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		小葉中心性肝細胞肥大	1	1	2	↑9	0	0	0	1
		好塩基性細胞小増殖巣	28	29	31	24	33	↑42	32	40
		限局性緊張性脂肪化	8	7	6	4	3	5	5	↑11
	坐骨神経	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		軸索変性	37	30	↓26	31	16	16	14	13

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
衛星群	副腎髓質	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		褐色細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脳	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		血管腫 (B)	2	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	/				20	20	20	20
		線維腺腫 (B)					1	2	4	2
		腺癌 (M)					3	2	0	0
	下垂体	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		前葉腺腫 (B)	1	1	2	4	6	8	8	5
		前葉腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	精巣	所見\検査動物数	20	20	20	20	/			
		間細胞腫 (B)	0	0	1	0				
	皮膚	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	所見\検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
C細胞腺腫 (B)		0	1	0	0	0	0	1	0	
子宮	所見\検査動物数	/				20	20	20	20	
	内膜間質ポリープ (B)					2	2	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ♂↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
死亡・ 切迫殺	副腎 皮質	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	2	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0
	副腎 髄質	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		良性褐色細胞腫 (B)	5	2	1	2	3	2	3	1
	骨	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	26
		骨肉腫 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0
	脳	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		良性顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	2
		乏突起膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性上衣細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	盲腸	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮 頸部	所見\検査動物数					26	23	30	27
		悪性神経鞘腫 (M)					0	0	0	0
	血液 リンパ 系	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		組織球性肉腫 (M)	1	3	0	0	0	2	3	0
		顆粒性大リンパ/LGL 性白血病 (M)	1	0	0	1	0	1	0	0
		骨髄性白血病 (M)	0	3	0	1	0	0	0	0
		所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
	心臓	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	回腸	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	肝臓	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
肝細胞腺腫 (B)		0	0	0	0	0	0	0	1	
肝細胞腺癌 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0	
肺	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27	
	肺腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
死亡・切迫殺	腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		血管腫 (B)	1	1	2	0	1	1	1	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	/				27	23	30	27
		線維腺腫 (B)					8	↑15	7	11
		腺癌 (M)					2	5	6	1
	膵臓	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	26
		島細胞腺腫 (B)	1	0	0	1	0	1	0	0
		島細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		内分泌/外分泌細胞混合腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	耳下腺	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	下垂体	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		前葉腺腫 (B)	13	7	8	9	24	18	21	23
		中間葉腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	0
		前葉腺癌 (M)	0	1	1	0	0	0	2	0
	皮膚	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	23	30	27
		脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	1	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		線維腫 (B)	4	3	1	3	0	3	2	1
		線維肉腫 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	1
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	0	0	1	0	0	0
		角化棘細胞腫 (B)	4	0	2	2	0	0	0	0
	基底細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	脊髄	所見\検査動物数	20	16	17	19	26	23	30	27
悪性神経鞘腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
死亡・切迫殺	脾臓	所見\検査動物数	20	16	17	19	26	23	30	27
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	所見\検査動物数	20	16	17	19				
		間細胞腫 (B)	1	0	0	0				
	胸腺	所見\検査動物数	20	14	16	18	26	22	30	25
		胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	3	0
	甲状腺	所見\検査動物数	20	16	17	19	27	22	30	27
		C細胞腺腫 (B)	6	2	2	2	1	2	2	0
		濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	2	0	0	0	0	0
		濾胞細胞腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	子宮	所見\検査動物数					27	23	30	27
		悪性神経鞘腫 (M)					0	0	1	0
		内膜間質ポリープ (B)					0	1	4	3
	膣	所見\検査動物数					27	23	30	27
		平滑筋腫 (B)					0	1	0	0
	腹腔	所見\検査動物数	1	-	-	1	-	-	-	-
		悪性神経鞘腫 (M)	0	-	-	1	-	-	-	-
		中皮腫 (M)	1	-	-	0	-	-	-	-
頭部	所見\検査動物数	-	1	-	-	-	-	-	-	
	ジンバル腺癌 (M)	-	1	-	-	-	-	-	-	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
最終屠殺	副腎皮質	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		腺腫 (B)	1	0	1	1	1	1	1	2
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎髄質	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		良性褐色細胞腫 (B)	2	3	5	4	1	1	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	4	1	0	0	0	0	0
	脳	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		良性顆粒細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	盲腸	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮頸部	所見\検査動物数					23	27	20	23
		悪性神経鞘腫 (M)					0	1	0	0
	血液リンパ系	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	1	1	0	1	1	0	1	0
		顆粒性大リンパ/LGL性白血病 (M)	2	1	1	1	0	0	0	0
		骨髄性白血病 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	心臓	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		良性神経鞘腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	回腸	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
腎臓	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23	
	移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	
肺	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23	
	肺腺腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0	
	肺腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	1	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
最終屠殺	腸間膜リンパ節	所見検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		血管腫 (B)	0	↑5	3	↑7	1	0	0	1
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	乳腺	所見検査動物数	/				23	27	20	23
		線維腺腫 (B)					17	16	11	16
		腺癌 (M)					6	7	3	4
	卵巣	所見検査動物数	/				23	27	20	23
		腺腫 (B)					0	1	0	0
	脾臓	所見検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		島細胞腺腫 (B)	1	1	3	2	0	0	1	0
		島細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	上皮小体	所見検査動物数	29	34	32	30	23	27	20	23
		腺腫 (B)	0	0	2	1	0	0	0	0
	下垂体	所見検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		前葉腺腫 (B)	18	18	18	10	19	17	16	17
		前葉腺癌 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0
	前立腺	所見検査動物数	30	34	33	31	/			
		腺腫 (B)	0	0	1	0				
		腺癌 (M)	0	0	0	1				
	皮膚	所見検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		脂肪腫 (B)	3	1	1	0	1	1	0	2
		線維腫 (B)	6	8	4	11	0	2	0	3
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	1
扁平上皮乳頭腫 (B)		0	2	0	1	0	0	1	0	
角化棘細胞腫 (B)		6	3	6	3	0	2	0	0	
扁平上皮癌 (M)		1	1	0	0	0	0	0	0	
皮脂腺腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0	
基底細胞腺腫 (B)	1	0	1	2	0	0	0	0		

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
最終屠殺	脾臓	所見\検査動物数	30	34	33	31	23	27	20	23
		平滑筋腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査動物数	30	34	33	31	/			
		間細胞腫 (B)	2	3	2	1				
		精上皮腫 (B)	0	1	0	0				
	胸腺	所見\検査動物数	30	34	32	31	23	27	19	23
		胸腺腫 (B)	1	0	0	0	1	0	0	1
		悪性胸腺腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	甲状腺	所見\検査動物数	30	34	32	30	23	27	20	23
		C細胞腺腫 (B)	5	10	8	8	8	3	1	3
		C細胞腺癌 (M)	0	0	1	0	0	2	0	0
		濾胞細胞腺腫 (B)	2	1	1	0	0	0	0	3
		濾胞細胞腺癌 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0
	子宮	所見\検査動物数	/				23	27	20	23
		平滑筋腫 (B)					0	1	0	0
		内膜間質ポリープ (B)					1	2	3	1
		内膜腺腫 (B)					0	1	0	0
		卵黄囊癌 (M)					0	1	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	1	-	-	1	-	-	-	-
		線維腫 (B)	1	-	-	1	-	-	-	-

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
全動物	副腎皮質	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫 (B)	1	0	2	1	1	1	3	2
		腺癌 (M)	0	0	1	0	1	1	0	0
	副腎髄質	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		褐色細胞腫 (B)	7	5	6	6	4	3	3	1
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	4	1	0	0	0	0	0
	骨	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
		骨肉腫 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0
	脳	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		良性顆粒細胞腫 (B)	0	0	1	1	0	0	0	0
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	2
		乏突起膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性上衣細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	盲腸	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮頸部	所見検査動物数					49	50	50	50
		悪性神経鞘腫 (M)					0	1	0	0
	血液リンパ系	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	2	4	0	1	1	2	4	0
顆粒性大リンパ/LGL性白血病 (M)		3	1	1	2	0	1	0	0	
骨髄性白血病 (M)		0	3	0	1	1	0	0	0	
心臓	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	良性神経鞘腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
	悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
回腸	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	2	
腎臓	所見検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 $\uparrow\downarrow : p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow : p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
全動物	肝臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		肝細胞腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肺腺腫 (B)	1	0	1	0	1	0	0	0
		肺腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	1
	腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管腫 (B)	1	6	5	↑7	2	1	1	1
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	2	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	/				49	50	50	50
		線維腺腫 (B)					25	31	18	27
		腺癌 (M)					8	12	9	5
	卵巣	所見\検査動物数	/				50	50	50	49
		腺腫 (B)					0	1	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
		島細胞腺腫 (B)	2	1	3	3	0	1	1	0
		島細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	1	0
		内分泌/外分泌細胞混合腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	上皮小体	所見\検査動物数	48	49	47	48	50	50	50	50
		腺腫 (B)	0	0	2	1	0	0	0	0
耳下腺	所見\検査動物数	50	49	49	50	50	50	50	50	
	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
下垂体	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	前葉腺腫 (B)	31	25	26	↓19	43	↓35	37	40	
	中間葉腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	0	
	前葉腺癌 (M)	0	1	1	0	0	2	2	0	
前立腺	所見\検査動物数	50	50	50	50	/				
	腺腫 (B)	0	0	1	0					
	腺癌 (M)	0	0	0	1					

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍
 Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
全動物	皮膚	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		脂肪腫 (B)	3	1	2	0	1	2	0	2
		脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		線維腫 (B)	10	11	5	14	0	↑5	2	4
		線維肉腫 (M)	1	0	1	0	1	0	0	1
		肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	1
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	3	0	1	1	0	1	0
		角化棘細胞腫 (B)	10	3	8	5	0	2	0	0
		扁平上皮癌 (M)	1	1	0	0	0	0	0	0
		皮脂腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	基底細胞腺腫 (B)	1	0	1	2	0	1	0	0	
	脊髄	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50
		平滑筋腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	所見\検査動物数	50	50	50	50	/			
		間細胞腫 (B)	3	3	2	1				
		精上皮腫 (B)	0	1	0	0				
	胸腺	所見\検査動物数	50	48	48	49	49	49	49	48
		胸腺腫 (B)	1	0	0	0	1	1	3	1
		悪性胸腺腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	甲状腺	所見\検査動物数	50	50	49	49	50	49	50	50
		C細胞腺腫 (B)	11	12	10	10	9	5	3	3
		C細胞腺癌 (M)	0	0	1	0	0	2	0	0
		濾胞細胞腺腫 (B)	2	1	3	0	0	0	0	3
		濾胞細胞腺癌 (M)	1	0	2	0	0	0	0	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
全動物	子宮	所見\検査動物数	/				50	50	50	50
		平滑筋腫 (B)					0	1	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)					0	0	1	0
		内膜間質ポリープ(B)					1	3	↑7	4
		内膜腺腫 (B)					0	1	0	0
		卵黄囊癌 (M)					0	1	0	0
	膣	所見\検査動物数	/				50	50	50	50
		平滑筋腫 (B)					0	1	0	0
	腹腔	所見\検査動物数	1	-	-	1	-	-	-	-
		悪性神経鞘腫 (M)	0	-	-	1	-	-	-	-
		中皮腫 (M)	1	-	-	0	-	-	-	-
	頭部	所見\検査動物数	-	1	-	-	-	-	-	-
		ジンバル腺癌 (M)	-	1	-	-	-	-	-	-
	乳腺	所見\検査動物数	1	-	-	1	-	-	-	-
線維腫 (B)		1	-	-	1	-	-	-	-	
合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	良性腫瘍数	88	72	79	72	89	95	80	92	
	悪性腫瘍数	11	17	11	9	21	24	17	11	
	腫瘍総数	99	89	90	81	110	119	97	103	
	担良性腫瘍動物数	47	40	41	37	46	43	42	47	
	担悪性腫瘍動物数	10	17	11	9	19	18	14	10	
	担腫瘍動物数	47	44	43	42	49	46	46	49	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-16)

ピラクロニル原体のマウスを用いた混餌経口投与による 18 ヶ月間発がん性試験

試験機関: Aventis CropScience UK (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体純度: % (w/w)

供試動物: CD-1 系マウス

試験開始時体重 雄; 27~42 g、雌; 21~33 g

1 群雌雄各 52 匹

投与期間: 18 ヶ月 (1998 年 2 月 2 日~1999 年 8 月 23 日)

投与方法: 検体を 0、5、50 及び 500 ppm の濃度で飼料に混入し、18 ヶ月間随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、触診を含む詳細な臨床症状を週 1 回観察した。

試験終了時の死亡動物数を次表に示す。

死亡動物数

投与週	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	5	50	500	0	5	50	500
0~78	23/52	20/52	19/52	19/52	15/52	14/52	14/52	10/52

死亡動物数/全動物数

Logrank 法で統計学的有意差検定

対照群と比べ統計学的有意差のみられた所見を次表に示す。

一般状態

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
所見検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
全身：削瘦	3	5	2	6	7	11	↑17	11
円背位	6	↑16	13	9	21	15	24	15
被毛、皮膚：立毛	14	14	22	16	24	↓14	15	↓14
眼：眼球突出	0	0	2	2	0	↑6	3	3
耳：赤色耳介	2	0	1	2	0	0	1	↑6
呼吸：浅呼吸	8	5	6	↓1	5	6	6	4
活動：活動量減少	11	11	6	9	11	9	11	↓4

表中の数値は所見を呈した動物数

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

死亡率に検体投与による影響は認められなかった。

一般状態については、500 ppm 群の雌において赤色耳介が統計学的に有意に増加したものの本所見の毒性学的意義は不明であった。その他いくつかの所見の発生頻度に対照群と比べ統計学的有意差がみられたが、投与量と関連がないか又は、対照群にもみられた所見であることから、いずれも検体投与に関連するものではなかった。

体重変化；投与期間中全動物について、投与開始から 14 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回の頻度で測定し、さらに剖検前に測定した。Dunnnett の多重比較検定法による統計学的検定を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた測定日はなく、検体投与に関連した変動は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始から 14 週までは週 1 回測定し、その後は 4 週間ごとに測定した。Dunnnett の多重比較検定法による統計学的検定を行っ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

た。食餌効率も算出した。

500 ppm 及び 50 ppm 群の雌において投与 66 週に摂餌量の統計学的に有意な減少が認められたが、単発的であり、検体投与の影響とは考えられなかった。食餌効率には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以下の通りであった。

投与量 (ppm)		5	50	500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.68	6.7	68
	雌	0.83	8.6	87
	平均	0.76	7.7	78

血液学的検査；投与 18 ヶ月後に各群雌雄 10 匹ずつの動物を対象として、イソフラン麻酔下で後眼窩静脈叢から採血し、以下の項目の測定を行った。

白血球数 (WBC)、好中球数 (NEUT)、リンパ球数 (LYMP)、単球数 (MONO)、好酸球数 (EOS)、好塩基球数 (BASO)、大型非染色球数 (LUC)

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

血液学的検査

項目	検査月	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		5	50	500	5	50	500
好酸球数	18						↑ 200

Dunnett の多重比較検定 $\uparrow\downarrow : p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow : p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

500 ppm 群の雌において好酸球数が統計学的に有意に増加した。

(申請者註：本変化はマウスを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-12) では異常がみられなかったため、投与による影響とは考えられなかった。) その他、雌雄いずれの投与群においても投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物について以下の臓器重量を測定し、相対重量 (対体重比) も算出した。

肝臓、腎臓 (両側)、脾臓、精巣 (両側)、卵巣 (両側)、精巣上体 (両側)、脳、

副腎（両側）、心臓

統計学的有意差の認められた項目及び投与の影響と思われる項目を次表に示す。

臓器重量

項目		検査 時期 (月)	投与量 (ppm)					
			雄			雌		
			5	50	500	5	50	500
腎臓	絶対重量	18					↓ 92	
副腎	絶対重量	18		↓ 63				
	相対重量	18		↓ 69				
脳	絶対重量	18		↓ 96				
心臓	絶対重量	18					↓ 90	↓ 90

Dunnett の多重比較検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

500 ppm 及び 50 ppm 群の雌において心臓の絶対重量が統計学的に有意に減少した。雄では変化はみられなかった。

50 ppm 群では、上記以外にもいくつかの臓器の重量が対照群に比し統計学的に有意に変動したが、投与量と関連がなかったり、対照値の通常範囲内であったことから検体投与の影響とは判断されなかった。

5 ppm 群では雌雄ともに投与に関連した影響は認められなかった。

(申請者註：報告書において検体投与との関連性がある変化として 500 及び 50 ppm 群の雌に心臓の絶対重量の統計学的に有意な減少があったとされているが、雄の心臓の絶対重量には異常はなく、相対重量にも雌雄ともに異常はなかった。さらに、心臓には病理解剖学的あるいは組織学的検査においても異常は観察されなかったことから、本変化に対しては毒性学的な意義を明らかにすることはできなかった。)

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行い、肉眼的異常を記録した。

対照群と比べ発生頻度に統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

肉眼的病理所見

検査動物	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
全動物	外観	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		四肢の蒼白	1	6	3	↑7	4	2	1	2
	腎臓	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		のう胞	4	↑13	8	8	0	1	0	1
	肝臓	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		腫大	10	4	↓3	5	8	4	4	3
	頸部リンパ節	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		赤色化	0	1	0	0	5	1	1	↓0

Fisher の直接確率検定 $\uparrow\downarrow : p \leq 0.05$; $\uparrow\downarrow : p \leq 0.01$ (申請者実施)

両側臓器については左右いずれか、あるいは左右両方に病変を有する動物の数について検定を実施した。

500 ppm 群の雄において外観での四肢の蒼白が統計学的に有意に増加した。その他の統計学的有意差の認められた所見は投与量と関連がない変化、又は毒性的に意味のない変化であった。

(申請者注：剖検において四肢の蒼白が観察された個体はいずれも臨床症状観察において四肢の蒼白として観察されており、この所見は剖検観察時においても確認された所見であると思われた。そこで、個体別の病理学的検査所見をそれぞれ確認したところ、この四肢の蒼白に対応する特定病変の発現は観察されなかったことから検体投与との関連性はないと判断された。また、臨床症状における四肢の蒼白にも検体投与との関連性は認められなかった。)

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。なお、肝臓の脂肪化を調べるために肝臓の凍結切片をオイルレッドOで染色した。

副腎、腹大動脈、骨髄、脳、盲腸、結腸、横隔膜、十二指腸、精巢上体(両側)、眼(両側)、大腿骨及び関節、胆のう、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、外涙腺、肝臓、肺、リンパ節(頸部及び腸間膜)、乳腺、骨格筋、視神経、坐骨神経、食道、卵巣、卵管、脾臓、上皮小体、下垂体、包皮腺(雄)、前立腺、直腸、唾液腺(顎下腺、舌下腺及び耳下腺)、精のう、皮膚、脊髄(3部位)、脾臓、胸骨、胃、精巢、胸腺、甲状腺、舌、気管、膀胱、子宮、膈、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

[非腫瘍性病変]

発生頻度に統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を表 1 に示す。

雌雄いずれの投与群においても、検体投与に関連するような非腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変を表 2 に示す。

いくつかの腫瘍性病変の発生頻度に対照群と投与群間で統計学的有意差が認められたものもあったが、検体投与量に関連して増加した腫瘍性病変はなかった。腫瘍発生数、担腫瘍動物数、担良性・悪性腫瘍動物数に対照群と投与群間で差はみられなかった。

以上の結果から、CD-1 系マウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験において本検体投与の影響として、500 ppm 群の雌において赤色耳介が統計学的に有意に増加し、心臓の絶対重量が統計学的に有意に減少した。50 ppm 群の雌において心臓の絶対重量が統計学的に有意に減少した（申請者註：心臓の絶対重量の減少について毒性学的意義を明確にすることが出来なかったため毒性学的所見とは考えられなかった）。従って、本試験における無毒性量は、雄が 500 ppm (68 mg/kg/日)、雌が 5 ppm (0.83 mg/kg/日)（申請者註：50 ppm ; 8.6 mg/kg/日）と判断された。また、本検体に発がん性は認められなかった。

表 1. 非腫瘍性病変

検査 時期	臓器	性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)		0	5	50	500	0	5	50	500
死亡・ 切迫殺	腎臓	所見\検査動物数		25	24	21	19	17	14	16	16
		リンパ球浸潤		3	5	↑8	0	0	0	0	0
最終 屠殺	脳	所見\検査動物数		27	28	31	33	35	38	36	42
		巣状石灰沈着		6	3	↓0	2	0	0	0	1
	眼球	所見\検査動物数		27	28	31	33	35	38	36	42
		虹彩石灰沈着		0	0	0	3	0	↑5	2	1
	外涙腺	所見\検査動物数		27	27	29	33	34	38	35	42
		リンパ球浸潤		10	12	↓4	↓4	9	5	↓2	↓1
	肝臓	所見\検査動物数		27	28	31	33	35	38	36	42
		小葉中心性脂肪沈着		0	2	2	0	1	↑7	4	2
	皮膚	所見\検査動物数		27	28	31	33	35	38	36	42
		付属器萎縮		10	↓2	↓3	9	15	13	19	20
	腺胃	所見\検査動物数		27	28	31	33	35	38	36	42
		粘膜異形成		3	↑13	9	↑15	3	2	2	2
全 動物	腎臓	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		糸球体アミロイド沈着		2	↑8	1	0	4	6	3	4
		リンパ球浸潤		5	5	9	↓0	0	0	0	0
		慢性腎症		23	20	24	25	15	10	11	↓5
	外涙腺	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		リンパ球浸潤		10	13	6	5	10	6	↓3	↓1
	肝臓	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		好塩基性細胞小増殖巣		0	↑6	0	0	1	0	0	1
		小葉中心性脂肪沈着		0	2	2	0	1	↑7	4	2
		肝細胞脂肪沈着		23	22	25	26	33	31	31	↓21
	肺	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		肺炎		8	5	↓2	↓2	8	5	4	7
	皮膚	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		リンパ節出血		7	↓1	4	3	0	0	0	0
	腺胃	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		粘膜異形成		5	↑16	11	↑18	6	2	2	2
	乳腺	所見\検査動物数						52	52	52	52
		導管拡張						3	4	↑10	5

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
死亡・切迫殺	血液リンパ系	所見\検査動物数	25	24	21	19	17	14	16	10
		悪性リンパ腫 (M)	3	2	5	5	8	2	5	5
		顆粒球性白血病 (M)	2	1	1	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	1	0	1	0	0	1	2	1
	ハーダー腺	所見\検査動物数	24	24	21	19	17	14	16	10
		腺腫 (B)	0	0	2	1	0	0	0	1
	空腸	所見\検査動物数	25	24	21	19	17	14	16	10
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	25	24	21	19	17	14	16	10
		肝細胞腺腫 (B)	5	1	3	1	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	2	1	0	2	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	25	24	21	19	17	14	16	10
		肺腺腫 (B)	2	0	2	2	1	2	0	1
		肺癌 (M)	2	0	0	0	1	0	2	1
	乳腺	所見\検査動物数	/				16	14	15	10
		腺腫 (B)					0	0	0	2
		腺癌 (M)					0	0	0	1
	包皮腺	所見\検査動物数	22	24	19	18	/			
		乳頭腫 (B)	0	0	1	0				
		線維肉腫 (M)	0	1	0	0				
卵巢	所見\検査動物数	/				16	14	16	10	
	良性顆粒膜細胞腫 (B)					1	0	0	0	
	良性黄体腫 (B)					0	0	1	0	
	平滑筋腫 (B)					0	0	1	0	
下垂体	所見\検査動物数	25	24	21	19	17	14	16	10	
	前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	1	0	
精のう	所見\検査動物数	25	24	21	19	/				
	平滑筋肉腫 (M)	1	0	0	0					

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
死亡・切迫殺	皮膚	所見\検査動物数	25	24	21	19	16	14	16	10
		線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	3	2	1	0	0	0	0
		骨原性肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	1	1	0	1	0	0	0	0
	胸腺	所見\検査動物数	25	24	21	19	14	12	15	9
		良性胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	右前肢	所見\検査動物数	1	-	-	-	-	-	-	-
		線維肉腫 (M)	1	-	-	-	-	-	-	-
	腹腔	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	-	-	1
		肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	1

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
最終屠殺	副腎皮質	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		紡錘形細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	副腎髄質	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		褐色細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	十二指腸	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	血液リンパ系	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		悪性リンパ腫 (M)	1	2	2	0	4	4	3	5
		顆粒球性白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	ハーダー腺	所見検査動物数	27	28	31	32	35	38	36	42
		腺腫 (B)	3	2	2	0	0	0	1	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	肝臓	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		肝細胞腺腫 (B)	9	10	14	10	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	2	↑5	4	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0
	肺	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		肺腺腫 (B)	4	2	5	6	4	0	3	1
		肺癌 (M)	1	4	0	1	0	↑5	4	2
膵臓	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42	
	島細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
乳腺	所見検査動物数	/				35	38	36	42	
	腺癌 (M)					1	1	0	0	
	腺棘細胞腫 (M)					2	0	0	0	
卵巣	所見検査動物数	/				35	38	36	42	
	良性黄体腫 (B)					2	1	1	1	
	良性セルトリ細胞腫 (B)					0	1	1	1	
	平滑筋腫 (B)					0	0	0	1	
下垂体	所見検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42	
	前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	1	2	2	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
最終屠殺	精のう	所見\検査動物数	27	28	31	33				
		癌 (M)	0	1	0	0				
	皮膚	所見\検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		線維腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	1
		線維肉腫 (M)	0	1	0	1	0	0	1	0
		肉腫 (M)	2	1	2	1	0	2	0	0
		褐色脂肪腫 (B)	2	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0
		良性基底細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	所見\検査動物数	27	28	31	33				
		間細胞腫 (B)	0	0	1	0				
	膀胱	所見\検査動物数	27	28	31	33	35	38	36	42
		癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮	所見\検査動物数					35	38	36	42
		平滑筋腫 (B)					3	1	0	2
		平滑筋肉腫 (M)					1	2	0	0
		脱落膜腫 (B)					0	1	0	0
		血管腫 (B)					0	0	0	1
	右前肢	所見\検査動物数	1	-	-	-	-	-	-	-
肉腫 (M)		1	-	-	-	-	-	-	-	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
全動物	副腎皮質	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		紡錘形細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	副腎髓質	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		褐色細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	十二指腸	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	血液リンパ系	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		悪性リンパ腫 (M)	4	4	7	5	12	6	8	10
		顆粒球性白血病 (M)	2	1	1	0	0	1	0	0
		組織球性肉腫 (M)	1	0	1	0	0	1	3	1
	ハーダー腺	所見\検査動物数	51	52	52	51	52	52	52	52
		腺腫 (B)	3	2	4	1	0	0	1	2
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	空腸	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		肝細胞腺腫 (B)	14	11	17	11	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	2	3	5	6	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0
	肺	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		肺腺腫 (B)	6	2	7	8	5	2	3	2
		肺癌 (M)	3	4	0	1	1	5	6	3
	膵臓	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		島細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	/				51	52	52	52
		腺腫 (B)					0	0	0	2
		腺癌 (M)					1	1	0	1
		腺棘細胞腫 (M)					2	0	0	0
包皮腺	所見\検査動物数	49	52	48	50	/				
	乳頭腫 (B)	0	0	1	0					
	線維肉腫 (M)	0	1	0	0					

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	5	50	500	0	5	50	500
全動物	卵巣	所見\検査動物数	/				51	52	52	52
		良性顆粒膜細胞腫 (B)					1	0	0	0
		良性黄体腫 (B)					2	1	2	1
		良性セルトリ細胞腫 (B)					0	1	1	1
		平滑筋腫 (B)					0	0	1	1
	下垂体	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	2	2	3	0
	精のう	所見\検査動物数	52	52	52	52	/			
		癌 (M)	0	1	0	0				
		平滑筋肉腫 (M)	1	0	0	0				
	皮膚	所見\検査動物数	52	52	52	52	51	52	52	52
		線維腫 (B)	1	1	0	0	0	0	0	1
		線維肉腫 (M)	0	4	2	2	0	0	1	0
		肉腫 (M)	2	1	2	1	0	2	0	0
		骨原性肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		褐色脂肪腫 (B)	2	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0
		良性基底細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	1	1	0	0	0
	血管肉腫 (M)	1	1	0	1	0	0	0	0	
	精巣	所見\検査動物数	52	52	52	52	/			
		間細胞腫 (B)	0	0	1	0				
	胸腺	所見\検査動物数	52	52	52	52	47	47	51	51
		良性胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	膀胱	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

表 2. 腫瘍性病変（つづき）

検査時期	臓器	性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)		0	5	50	500	0	5	50	500
全動物	子宮	所見\検査動物数		/				52	52	52	52
		平滑筋腫 (B)						3	1	0	2
		平滑筋肉腫 (M)						1	2	0	0
		脱落膜腫 (B)						0	1	0	0
		血管腫 (B)						0	0	0	1
	右前肢	所見\検査動物数		2	-	-	-	-	-	-	-
		肉腫 (M)		1	-	-	-	-	-	-	-
		線維肉腫 (M)		1	-	-	-	-	-	-	-
	腹腔	所見\検査動物数		-	-	-	-	-	-	-	1
		肉腫 (M)		-	-	-	-	-	-	-	1
合計	検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52	
	良性腫瘍数		27	17	32	20	15	10	12	13	
	悪性腫瘍数		19	20	18	18	20	18	19	17	
	腫瘍総数		46	37	50	38	35	28	31	30	
	担良性腫瘍動物数		21	15	28	19	14	9	11	12	
	担悪性腫瘍動物数		16	17	18	17	20	17	17	15	
	担腫瘍動物数		30	25	36	30	29	24	27	25	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率検定 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ↑↑↓ : $p \leq 0.01$ (申請者実施)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(8) 繁殖毒性及び催奇形性

(資料 毒-17)

ピラクロニル原体のラットを用いた繁殖毒性試験

試験機関：Covance Laboratories (英国)

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体純度： % (w/w)

試験動物：SD系 (CrI: CDBR) ラット、1群雌雄各24匹

投与開始時8~10週齢 (P世代)、23~27日齢 (F1世代)

投与開始時体重 P世代 雄：272.3~332.4 g、雌：186.2~236.1 g

F1世代 雄：41.8~85.1 g、雌：46.0~81.7 g

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳後の剖検までの約18週間

F1世代；離乳時からF2児離乳後の剖検までの約18週間

(動物試験期間1997年5月13日~1998年1月27日)

投与方法：検体を0、10、100または1000 ppmの濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお、対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

一般状態及び死亡率；試験期間中全動物の一般状態を毎日1回以上、死亡の有無を1日2回観察した。死亡及び瀕死の動物は、発見後速やかに剖検して所見を記録した。

交配及び妊娠の確認；交配は雌の発情を膣垢像で確かめ、同投与群内の雌雄を1対1で15日間同居させた。交尾成立は膣栓又は膣垢中の精子の存在により確認した。交尾を確認した日を妊娠0日とした。妊娠は分娩によって、また剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることによって確認した。

繁殖性に関する指標；育成、交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時の観察に基づき、次の指標を算出した。

性成熟=雄の陰茎包皮分離と雌の膣開口の日齢 (F1動物についてののみ)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

性周期＝交配前の2週間発情周期を観察し、発情周期の平均日数を算出

交尾成立までの期間＝半数の雌に交尾が認められるまでに要した日数

交尾率(%)＝(交尾雌数/交配に用いた雌数)×100

受胎率(%)＝(妊娠雌数/交尾成立雌数)×100

妊娠期間＝交尾確認日(妊娠0日)から分娩完了日までの日数

着床数＝剖検時に肉眼的に数えた着床痕数

出産率(%)＝(生存児を出産した雌数/妊娠雌数)×100

産児数＝出産日における生存児と死亡児の合計

出生時生存率(%)＝(哺育1日の生存児数/産児数)×100

哺育4日の生存率(%)＝(哺育4日の調整前生存児数/哺育1日の生存児数)×100

離乳時生存率(%)＝(哺育21日の生存児数/哺育4日の調整後生存児数)×100

哺育1日の性比(%)＝(哺育1日の雄生存児数/哺育1日の全生存児数)×100

精巢上体精子；運動性、形態及び数

体重；雄は週1回、雌について、交配前は週1回、繁殖期間中は妊娠0、7、14、20日及び哺育1、4、7、14、21日に測定した。児動物についても雌親動物に合わせて生後1、4、7、14及び21日に測定した。

体重増加量；雄は、0～5週、5～10週、10～15週、15～20週(F1世代；15～18週)、0～10週、0～20週(F1世代；0～18週)の期間について、また雌は0～5週、5～10週、0～10週、妊娠0～7日、7～14日、14～20日、0～20日、哺育1～4日、4～7日、7～14日、14～21日、1～21日の期間について求めた。

摂餌量；雌雄とも交配前期間中は毎週1回、さらに雌は、妊娠0～3日、3～7日、7～10日、10～14日、14～17日、17～20日に測定し、妊娠0～7日、7～14日、14～20日、0～20日の期間について求めた。哺育期間中は哺育1、4、7、14、21日に測定し、哺育1～4日、4～7日、7～14日、14～21日、1～21日の期間について求めた。

病理学的検査；

剖検所見；親動物は児動物の検査終了後に屠殺し、外表及び内臓・組織の肉眼による病理学的変化を記録した。雌親動物全例の子宮を染色し、着床痕数を数えた。死亡動物、屠殺児動物(選抜されなかったF1児や離乳したF2生存児)全例についても外表及び内臓・組織の肉眼による病理学的検査を実施した。

臓器重量；親動物の脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、卵巣、頸部を含む子宮、精巢、精巢上体(全体及び左側尾部)、精のう(凝固腺を含む)及び前立腺の重量を測定した。離乳時に選抜されなかったF1児動物及びF2児動物の脳、脾臓、胸腺、肝臓及び甲状腺の重量を測定した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

病理組織学的検査；親動物の卵巣、子宮（卵管及び頸部）、腔、精巣、片側の精巣上体、精のう、前立腺、凝固腺、肝臓、甲状腺、下垂体及び肉眼的異常部位を固定保存して以下の組織について組織学的検査を実施した。

対照群及び1000 ppm群動物の前記の全組織

10 ppm群及び100 ppm群動物の肝臓と甲状腺

10 ppm群及び100 ppm群動物の不妊動物の全組織

肉眼的異常部位（対応する全群の組織も検査した）

表1. 試験の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成(10週)	雌雄1対1で交配。交尾成立は臙栓又は臙垢中の精子の存在により確認(妊娠0日)。	毎日一般状態及び死亡の有無確認。 体重、摂餌量を週1回測定。
	交配(15日間)		交配14日前から性周期を観察。 交配状況の観察。
	妊娠(3週)		妊娠0、7、14、20日に体重測定、妊娠0～3日、3～7日、7～10日、10～14日、14～17日、17～20日の摂餌量測定。
	出産----- 哺育(3週)		出産状況の観察(分娩終了日を哺育1日)。 F1児の生死、性別、外表異常、生存(哺育1、4、7、14、21日)の観察、体重測定(哺育1、4、7、14、21日)、死亡児及び哺育4日屠殺児の剖検。 母動物の体重及び摂餌量を哺育1、4、7、14、21日に測定。
	離乳----- 育成(10週)		継代用の各群雌雄24匹ずつを無作為に選抜(原則各腹から雌雄各1匹)。
F1	交配(15日間)	(P世代に準ずる)	臙開口及び陰茎包皮分離を観察。 体重、摂餌量を週1回測定。 (P世代に準ずる)
	妊娠(3週)		(P世代に準ずる)
	出産----- 哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
F2	離乳-----		離乳後(哺育22日)F2児を屠殺し、臓器重量測定を含む剖検を実施。親動物はP世代と同様の検査。

結 果：概要を表2に示す。

調製飼料分析の結果、飼料中での検体の濃度・均一性・安定性に問題はなかった。検体の群平均摂取量 (mg/kg/日) は、10、100、1000 ppm群において、それぞれP世代雄が0.7、7.3、73.8、P世代雌が1.1、11.1、115.8、F1世代雄が1.1、10.9、107.6、F1世代雌が1.2、12.4、124.9であった。

(P世代)

親動物

死亡率；対照群の雄1例、雌1例、10 ppm群雄1例、雌2例が死亡・切迫殺されたが、1000 ppm群と100 ppm群では雌雄とも死亡・切迫殺例はなかった。

一般状態；本系統ラットによくみられる皮膚・被毛に関連した症状等が認められたが検体投与との関係はなかった。

体重及び体重増加量；雄では、1000 ppm群の平均体重増加量が対照群に比して低下したが統計学的有意差はなかった。また100 ppm及び10 ppm群では影響は認められなかった。

雌では、交配前は全群で雄と同様の結果であった。妊娠期間中の検体投与群では体重増加量が対照群よりもわずかに低値を示し、また哺育1日の体重にも同様の低値がみられた。しかし、いずれの場合でも対照群と比較して統計学的有意差はみられなかった。その後の哺育期間中の体重変化には投与による影響は認められなかった。

摂餌量；育成期間において、1000 ppm群の雌雄で摂餌量が減少し、雄ではこの期間全体にわたって統計学的有意差が認められた。100 ppm群と10 ppm群では影響は認められなかった。

妊娠期間において、100 ppm群と10 ppm群の雌で摂餌量が低下したが、1000 ppm群雌の摂餌量は対照群の値と同様であったので、この変化は投与とは関係がないと考えられた。

哺育14～21日に1000 ppm群の雌で摂餌量が統計学的に有意に低下したが、この期間の母動物の体重には特に影響がなかったことから、児動物数の減少に関連するものと思われた。

雄の繁殖能力；精子検査や精巣ステージ分類に投与による影響はみられなかった。

雌の繁殖能力；発情周期及び交配成績にも投与による影響はみられなかった。いずれの群においても、少なくとも21例に妊娠が認められ、平均妊娠期間は約22.5日であった。平均着床数は検体投与群と対照群で同様であった。

剖 検；親動物の臓器重量には対照群と比べて統計学的有意差はみられなかった。剖検所見では投与に関連した変化はみられなかった。

病理組織学的検査；投与との関連が明らかな所見として甲状腺の濾胞上皮細胞肥大が雌雄に認められた。この所見は対照群を含むすべての群にみられたが、その頻度は1000 ppm群で統計学的に有意に高かった（対照群で雄3/24例、雌2/24例に対して1000 ppm群で雄10/24例、雌14/24例）。また、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が1000 ppm群で雄1/24例、雌2/24例に認められた。顕微鏡的検査においてみられた他の所見は発生頻度も低く軽度であり、同系統及び同週齢の動物における背景所見と思われる種類のものではあった。

F1 児動物

一般状態；いずれの投与群においても対照群と同様であった。

産児数及び性比；平均産児数、哺育1日の生存率（出生時生存率）、性比はいずれの投与群においても対照群と同様であった。

死亡率；哺育4日までは、全同腹児死亡が投与群にみられたため、哺育4日の生存率は対照群、10 ppm群、100 ppm群、1000 ppm群でそれぞれ91.3、67.9、73.9、75.7%であったが、統計学的有意差は認められず用量相関性もなかった。後述するF1世代では対照群を含めた全群で同程度の全同腹児死亡がみられたことも考慮して、この変化は自然発生的なものと考えた。哺育4日以降の児動物の生存率（離乳時生存率）は、いずれの投与群においても対照群と同様であった。

体 重；1000 ppm群の児動物体重が、哺育期間を通して対照群の値を下回り、哺育21日では統計学的な有意差がみられた。100 ppm群及び10 ppm群では影響はみられなかった。

離乳児剖検；単発的な変化が散見され、これらは投与に関連しないと思われた。

臓器重量；1000 ppm群離乳児雄では、脾臓の絶対重量が統計学的に有意な低値を示した（低体重に関連したもの）が、補正臓器重量では対照群と同様であった。その他離乳児雌雄では、投与と関連する臓器重量の変化は認められなかった。

(F1世代)

親動物

死亡率；10 ppm群の雌1例、1000 ppm群の雌1例が死亡・切迫殺されたが、雄には死亡例はなかった。

一般状態；本系統ラットによくみられる皮膚・被毛に関連した症状等が認められたが検体投与との関係はなかった。

体重及び体重増加量；雄では、「100 ppm群の第15～18週の平均体重増加量が対照群に比して統計学的に有意に低下したが、1000 ppm群と10 ppm群には影響が認められないことから100 ppm群の変化は投与に関連したものではないと考えられた（申請者註）」。

雌では、育成期間及び哺育期間の体重には影響はみられなかったが、1000 ppm群で妊娠0～7日の体重増加量が有意に低く、この差は妊娠0～20日の全妊娠期間の体重増加量に反映された。10 ppm群でも軽度ながら同様の変化がみられたが、100 ppm群では統計学的有意差が認められなかったことから10 ppm群の変化は投与とは関係がないと考えられた。

摂餌量；雄では、1000 ppm群の育成期間における値が減少したが、統計学的有意差はなかった。100 ppm群と10 ppm群では影響は認められなかった。

雌では、「10 ppm群の妊娠0～7日の摂餌量に統計学的有意な低下がみられたが、1000 ppm群と100 ppm群には影響が認められないことから10 ppm群の変化は投与に関連したものではないと考えられた（申請者註）」。

性成熟；1000 ppm群雄の陰茎包皮分離を認めた平均日齢が対照群を含めた他の群よりも1日上回り、用量相関性も認められた。しかし、1000 ppm群の日齢の範囲は、対照群における分離確認日齢の範囲内にあったことから、投与による内分泌を介した影響とは考えにくかった。雌では、1000 ppm群及び100 ppm群の膈開口平均日齢が対照群よりも1日上回り、用量相関性も認められたが、全個体の数値の分布からみて投与による影響とは考えられなかった。

雄の繁殖能力；精子検査では、運動性と形態異常率に投与との関連性はみられなかった。1000 ppm群及び100 ppm群の精子数（用量相関検定）及び濃度（群間比較）に用量相関性のある増加が認められた。しかし、10 ppm群では同程度の減少がみられたことからこれらは通常範囲内の変動であり、毒性学的意義はないと考えられた。雄の精巣ステージ分類には投与による影響はみられなかった。

雌の繁殖能力；性周期、交尾所要日数、交尾率、受胎率、出産率及び妊娠期間は全群で同様であった。全群において少なくとも21例に妊娠が認められた。1000 ppm群では対照群に比して着床数の統計学的に有意な減少がみられたが、対照群との差は主として3例の雌によるものでその内2例は片側の子宮角のみの妊娠であったため、直接検体投与に関連したものではないと考えられた。

剖 検；親動物の臓器重量では、1000 ppm群雌雄の補正肝臓重量平均値が統計学的に有意に増加した。他の臓器重量には投与に関連した変化はみられなかった。剖検所見では投与に関連した影響は認められなかった。

病理組織学的検査；投与との関連が明らかな所見として甲状腺の濾胞上皮細胞肥大が雌雄に認められた。この所見は対照群を含むすべての群にみられたが、その頻度は1000 ppm群で統計学的に有意に高かった（対照群で雄4/24例、雌3/24例に対して1000 ppm群で雄20/24例、雌12/24例）。また、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が1000 ppm群で雄1/24例、雌2/24例に認められた。顕微鏡的検査においてみられた他の所見は発生頻度も低く軽度であり、同系統及び同週齢の動物における背景所見と思われる種類のものであった。

F2 児動物

一般状態；いずれの投与群においても対照群と同様であった

産児数及び性比；平均産児数が1000 ppm投与群で有意に低かったが、着床数の低値を反映したものであった。哺育1日における性比に対照群と投与群で有意な差はなかった。

死亡率；哺育1日から6日までに対照群、10 ppm群、100 ppm群、1000 ppm群でそれぞれ4例、2例、5例、1例の全同腹児死亡がみられた。これを反映して、哺育4日の生存率は対照群、10 ppm群、100 ppm群、1000 ppm群でそれぞれ78.7、87.8、72.3、90.4%であったが統計学的有意差は認められなかった。

体 重；哺育1日における児動物の平均体重及びその後21日の離乳までの児動物の成長には、投与による影響はみられなかった。

離乳児の剖検；全群の大部分の児動物に所見は認められなかった。認められた変化も本系統ラットによくみられるものであった。投与群では対照群よりやや高い頻度で腎盂拡張がみられたが、この変異は成熟動物では認められなかった。

臓器重量；全投与群とも離乳児雄では、脾臓の補正重量が統計学的に有意な低値を

示した。1000 ppm群でのこの所見は低体重を反映しているものと思われるが、低下に対する毒性学的意義は小さいものと考えられた。その他離乳児雌雄では、投与と関連する臓器重量の変化は認められなかった。

(申請者註：共分散分析においてみられた100 及び10 ppm群の脾臓重量の有意な低値は、偶発性に見られた剖検時体重の統計学的に有意な高値に起因するものであり、検体投与との関連性はないと判断された。)

以上の結果から、ラットに本検体を1000 ppmの投与量で2世代にわたって混餌経口投与すると、雌雄の親動物に、体重及び摂餌量の低下、肝臓及び甲状腺の肥大という軽度な毒性が認められた。本濃度では、F1児動物の発育がわずかに抑制されたが、F2児動物には影響は認められなかった。本試験における本検体の無毒性量は100 ppmであり、これはP世代の雄では7.3 mg/kg/日、雌では11.1 mg/kg/日であり、F1世代の雄では10.9 mg/kg/日、雌では12.4 mg/kg/日に相当する。

繁殖については最高投与量の1000 ppmでも影響がなかった。これはP世代の雄では73.8 mg/kg/日、雌では115.8 mg/kg/日であり、F1世代の雄では107.6 mg/kg/日、雌では124.9 mg/kg/日に相当する。

表2. 結果の概要

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	一般状態	検体投与に起因する異常なし								
	死亡	雄	1	1	0	0	0	0	0	0
		雌	1	2	0	0	0	1	0	1
	a 体重増加量	雄	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	↓第15-18週	有意差なし
		雌	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	↓妊娠0-7日、 ↓妊娠0-20日	有意差なし	↓妊娠0-7日、 ↓妊娠0-20日
	摂餌量	雄	—	有意差なし	有意差なし	↓第1-10週、 ↓第6-10週	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし
		雌	—	↓妊娠0-7日 ↓妊娠0-20日	↓妊娠0-7日 ↓妊娠0-20日	↓哺育14-21日	—	↓妊娠0-7日	有意差なし	有意差なし
	b 検体摂取量	雄	—	0.7	7.3	73.8	—	1.1	10.9	107.6
		雌	—	1.1	11.1	115.8	—	1.2	12.4	124.9

a : 育成、妊娠、哺育のそれぞれの開始日に測定した体重値についてのみ検定を行った

b : mg/kg/日

Dunnettの多重比較検定 : 体重、体重増加量、摂餌量 ↑↓ : $p \leq 0.05$; ⚡↓ : $p \leq 0.01$

表2. 結果の概要 (つづき)

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2				
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
親動物	繁殖能力									
	雄	包皮分離 (日齢) ^a	—	—	—	—	45	45	45	46 <△>
		精子数 (x10 ⁶) ^{a, b}	47.3	48.6	46.6	46.9	46.7	40.1	51.8	52.5 <△>
			0.9	0.9	0.8	0.8	0.9	0.8	↑1.0	↑1.1
		精子運動性 (スコア) ^{a, c}	4.0	3.9	4.0	3.8	4.0	3.8	3.8	4.0
		精子形態異常率 (%) ^a	0.5	—	—	0.7	0.7	—	—	0.6
	精巣ステージ分類 (%)									
	VIIとVIII	25.9	—	—	26.6	27.8	—	—	27.3	
	XIIとXIII	14.0	—	—	14.2	15.2	—	—	15.0	
	雌	膈開口 (日齢) ^a	—	—	—	—	36	36	37	37 <△>
		性周期 (日) ^a	4.0	3.9	3.8	3.9	4.0	3.9	4.0	3.9
		交尾成立までの期間	3.5	2.5	3.0	3.0	2	3	3	2
		交尾率	21/24	24/24	22/24	23/24	24/24	23/24	24/24	24/24
		交尾率 (%)	87.5	100.0	91.7	95.8	100.0	95.8	100.0	100.0
		受胎率	22/23	23/24	23/23	21/23	21/24	21/22	23/24	21/24
		受胎率 (%)	95.7	95.8	100.0	91.3	87.5	95.5	95.8	87.5
		出産率	21/22	22/23	23/23	21/21	21/21	21/21	23/23	20/21
		出産率 (%)	95.5	95.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.2
		妊娠期間 (日) ^a	22.4	22.5	22.5	22.5	22.3	22.5	22.5	22.5
着床数 ^a	15.5	16.1	15.2	15.7	15.8	14.8	15.3	↓13.3		

a: 平均

b: 上段は平均全精子数、下段は精巣上体液 1 μL当りの精子数

c: スコアは 4 (80%以上が活発な運動能)、3 (80%以上がゆっくりした運動能)、2 (80%以下が始め活発で次第に運動能減少)、1 (わずかな運動能)

Dunnettの多重比較検定: 精子数

2標本 t 検定: 精子形態異常率、精巣ステージ分類

Fisherの直接確率検定: 交尾率、受胎率、出産率、出生時生存率

Wilcoxon 検定: 包皮分離、膈開口、着床数、産児数

↑↓: p ≤ 0.05; ↑↑↓: p ≤ 0.01

用量相関性検定結果 △▽: P < 0.05、▲▼: P < 0.01 (1000 ppm群の欄に記入)

表2. 結果の概要 (つづき)

<臓器重量説明>臓器重量は、剖検時の体重を共変量として共分散分析し、臓器重量と体重との関係が一次直線式で表せ、かつ各群の直線式の傾きが同じであると検定された臓器について、共分散分析を用いて体重で補正した臓器重量を求めた。

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2			
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
親動物	副腎								
	雄 A(g)					0.056	0.057	0.060	0.055
	U(g)	0.056	0.061	0.058	0.053				
	R(%)	0.010	0.011	0.010	0.010				
	雌 A(g)	0.079	0.077	0.073	0.074	0.080	0.081	0.077	0.080
	腎臓								
	雄 A(g)	3.372	3.359	3.406	3.320	3.030	2.984	3.184	3.047
	雌 A(g)	2.101	2.092	2.129	2.087				
	U(g)					2.009	2.012	2.068	2.062
	R(%)					0.659	0.670	0.680	0.700
									(▲)
	脾臓								
	雄 A(g)	0.848	0.844	0.865	0.829	0.834	0.871	0.858	0.839
	雌 A(g)	0.599	0.640	0.606	0.633	0.630	0.660	0.652	0.672
	肝臓								
	雄 A(g)	18.369	18.451	18.024	19.072	17.306	16.638	17.462	↑18.675
	雌 A(g)	13.585	13.187	13.408	14.339	11.932	13.032	12.445	↑14.629
	脳								
	雄 A(g)	2.201	2.128	2.183	2.191	2.132	2.104	2.139	2.130
	雌 A(g)	1.975	1.983	1.983	2.008	1.965	1.947	1.943	1.964
下垂体									
雄 A(g)	0.015	0.014	0.014	0.014	0.015	↓0.012	0.014	0.014	
雌 A(g)	0.017	0.017	0.016	0.016	0.017	0.016	0.017	0.019	
甲状腺									
雄 A(g)	0.025	0.024	0.024	0.025	0.023	0.021	0.024	0.025	
雌 A(g)	0.019	0.019	0.018	0.020	0.019	0.019	0.021	0.021	

A: 補正重量 (臓器重量と体重との共分散分析から求めた補正重量)

U: 絶対重量、R: 体重比 (絶対重量/体重)

統計学的有意差 ↑↓: $p \leq 0.05$; ↑↑: $p \leq 0.01$ (Dunnnettの多重比較検定、但し雌腎臓の体重比はWilcoxon検定)

用量相関性検定結果 △▽: $P < 0.05$ 、▲▼: $P < 0.01$ (1000 ppm群の欄に記入)

表2. 結果の概要 (つづき)

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2			
投与量(ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
親動物	胸腺								
	雄 A(g)	0.179	0.173	0.195	0.183	0.259	0.289	0.258	0.278
	雌 A(g)	0.181	0.212	0.200	0.200	0.269	0.281	0.285	0.283
	精巣								
	雄 A(g)	3.768	3.828	3.914	3.818	3.786	3.494	3.757	3.753
	精巣上体								
	雄 A(g)	1.589	1.568	1.603	1.584	1.439	1.518	1.554	1.520
	前立腺								
	雄 A(g)	1.350	1.379	1.418	1.360	1.159	1.095	1.281	1.239
	精のう								
	雄 A(g)	1.514	1.559	1.694	1.585	1.571	1.741	1.740	1.525
	子宮								
	雌 A(g)	0.839	0.882	0.875	0.705	0.752	0.743	0.780	0.815
	卵巣								
	雌 U(g)	0.115	0.112	0.105	0.108	*0.119	*0.117	*0.114	*0.119
	R(%)	0.037	0.036	0.034	0.035				
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった								
病理組織学的所見:									
甲状腺濾胞上皮細胞肥大									
雄	3/24	4/24	6/24	↑10/24	4/24	6/24	5/24	↑20/24	
雌	2/24	3/24	2/24	↑14/24	3/24	2/24	7/24	↑12/24	
小葉中心性肝細胞肥大									
雄	0/24	0/24	0/24	1/24	0/24	0/24	0/24	1/24	
雌	0/24	0/24	0/24	2/24	0/24	0/24	0/24	2/24	

A: 補正重量 (臓器重量と体重との共分散分析から求めた補正重量)

U: 絶対重量、R: 体重比 (絶対重量/体重)

Dunnett検定: 臓器重量

Fisherの直接確率検定: 病理組織学的所見 (申請者実施)

↑↓: $p \leq 0.05$ 、↑↓: $p \leq 0.01$

* 統計検定せず

用量相関性検定結果 $\triangle \nabla$: $P < 0.05$ 、 $\blacktriangle \blacktriangledown$: $P < 0.01$ (1000 ppm群の欄に記入)

表2. 結果の概要 (つづき)

世 代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
児 動 物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった								
	産児数 ^a	14.5	15.2	14.2	14.3	14.8	13.8	14.5	↓11.7	
	生後1日の性比 (%) ^a	48.3	56.1	49.3	47.4	53.9	49.1	48.6	49.5	
	出生時生存率 (%) ^a	96.4	93.1	96.9	91.4	90.3	90.5	90.1	96.9	
	生後4日の生存率 (%) ^a	91.3	67.9	73.9	75.7	78.7	87.8	72.3	90.4	
	離乳時生存率 (%) ^a	97.0	99.2	98.6	100.0	96.4	100.0	100.0	99.3	
	体重(g) ^a									
	雄	生後1日	6.2	6.1	6.1	5.9	5.9	6.0	5.9	6.2
		生後4日 ^b	8.5	8.3	8.4	7.8	8.0	8.6	8.5	8.8
		生後7日	14.4	13.8	14.0	13.4	13.2	13.9	13.7	13.7
		生後14日	30.5	30.0	30.1	28.4	28.6	30.3	29.9	28.6
		生後21日	49.8	49.2	49.3	45.5 (▽)	47.5	50.4	49.7	45.6
	雌	生後1日	5.8	5.7	5.7	5.4	5.6	5.6	5.6	5.9
		生後4日 ^b	8.0	7.7	8.0	7.3	7.4	8.3	8.0	8.5 (△)
		生後7日	13.7	13.2	13.4	12.7	12.3	13.4	12.8	13.5
生後14日		29.2	28.7	29.0	27.2	27.0	↑29.4	28.5	28.1	
生後21日		47.5	47.2	47.1	↓44.0	45.2	↑48.9	47.3	44.7	

a : 平均

b : 児数調整前

Fisherの直接確率検定 : 生後4日の生存率、離乳時生存率

Wilcoxon 検定 : 産児数、生後1日の雄の割合、体重

↑↓ : $p \leq 0.05$ 、↑↓ : $p \leq 0.01$

用量相関性検定結果 △▽ : $P < 0.05$ 、▲▼ : $P < 0.01$ (1000 ppm群の欄に記入)

表2. 結果の概要 (つづき)

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
剖検時 体重 (g)	雄	52.6	52.1	52.5	↓46.6	51.3	↑54.0	↑53.7	↓48.3	
	雌	50.4	49.7	49.4	↓45.1	47.9	↑51.9	↑50.8	46.2	
臓器重量	脾臓									
	雄	A (g)				0.240	↓0.225	↓0.215	↓0.217	
		U (g)	0.226	0.223	0.234	↓0.187				
		R (%)	0.427	0.427	0.443	0.399				
	雌	A (g)				0.226	0.225	0.213	0.214	
		U (g)	*0.227	*0.233	*0.222	*0.189				
	肝臓									
	雄	A (g)	2.074	2.032	2.067	2.123				
		U (g)					*2.005	*2.244	*2.226	*1.962
	雌	A (g)	2.003	1.939	1.969	2.031	1.974	2.003	2.014	2.006
	脳									
	雄	A (g)	1.448	1.431	1.444	1.445	1.450	1.453	1.453	1.462
	雌	A (g)	1.407	1.386	↓1.385	1.387	1.399	1.399	↓1.373	1.417
	甲状腺									
	雄	A (g)	0.006	0.007	0.006	0.006	0.007	0.008	0.007	0.007
	雌	A (g)	0.007	0.007	0.007	0.006	0.007	0.007	0.007	0.007
	胸腺									
	雄	A (g)	0.218	0.217	0.218	0.215	0.220	0.217	0.214	0.212
雌	A (g)	0.221	0.217	0.221	0.219	0.226	0.222	↓0.208	0.219	
剖検所見 :										
腎盂拡張										
	雄	8/57	4/39	7/51	6/42	4/66	7/74	4/71	5/73	
	雌	8/55	3/31	11/46	11/42	4/67	10/78	8/70	↑12/74	

A : 補正重量 (臓器重量と体重との共分散分析から求めた補正重量)

U : 絶対重量、R : 体重比 (絶対重量/体重)

Dunnettの多重比較検定 : 臓器重量

Fisherの直接確率検定 : 剖検所見 (申請者実施)

↑↓ : $p \leq 0.05$ 、↑↓ : $p \leq 0.01$

* 統計検定せず

用量相関性検定結果 $\triangle \nabla$: $P < 0.05$ 、 $\blacktriangle \blacktriangledown$: $P < 0.01$ (1000 ppm群の欄に記入)

(資料 毒-18)

ピラクロニル原体のラットにおける催奇形性試験

試験機関：Hoechst Marion Roussel Deutschland (独国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1998年

検体純度： % (w/w)

供試動物：Wistar系 (Hoe:WISKf (SPF71)) ラット、約8～10週齢 (開始時、妊娠0日)
1群当り交尾成立雌23匹

投与期間：妊娠7日から16日までの10日間
(1996年10月21日～11月2日、交配期間4日間)

投与方法：検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、3、26及び225 mg/kg/日の投与量で、妊娠7日から16日までの10日間毎日1回ほぼ同時刻に、5 mL/kgの容量で胃ゾンデを用いて強制経口投与した (膺垢中精子の確認日を妊娠1日とした)。対照群の動物には、媒体の1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物；試験期間 (妊娠1～21日) 中、一般状態及び死亡について毎日数回 (週末と祝日は毎日1回) 観察して所見を記録した。各動物の体重を妊娠1、4、7、10、14、17、19及び21日に測定した。摂餌量を妊娠1～4、4～7、7～10、10～14、14～17、17～19及び19～21日の各測定期間について母動物の体重100g当たりの摂取量として計算すると共に、その間の体重増加量も計算した。妊娠21日に母動物を安楽死させ、帝王切開によって胎児を摘出した。子宮に重点をおいて肉眼的変化について剖検を行った。妊娠子宮重量を測定し、子宮内の生存胎児と死亡胎児の数、吸収された受胎産物数及び卵巣の黄体数を数え、それらの肉眼的検査も実施した。子宮を硫化アンモニウムで染色した後、着床数を数えた。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

胎 児；胎児、胎盤及び吸収された受胎産物を子宮から摘出した後、秤量または計測すると共に、肉眼的外表異常について調べた。さらに、頭臀長を測定した。各腹約半数の胎児をアルコールで固定し、剖検、性別観察及び内臓の検査を実施した。カーカスを水酸化カリウム液に浸漬した後、アリザリンレッドSで染色して、骨格異常について検査した。帝王切開で見つかった死亡胎児は、アルコール固定後、外表異常について検査した。残りの胎児はブアン液で固定した後、Wilsonの粗大切片法に従って内臓異常と性別について調べた。

結 果：概要を次頁以降の表に示す。

母動物；

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	3	26	225	
1群当り雌動物数	23	23	23	23	
死亡雌動物数	0	0	0	0	
一般状態	—	影響なし	影響なし	影響なし	
体重	—	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 10~17日	
体重増加量*	—	影響なし	影響なし	体重の減少 (妊娠 7-10日)	
摂餌量	—	有意差なし	↓妊娠 7~10日	↓妊娠 7~14日 ↑妊娠 17~21日	
剖検所見	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
妊娠子宮重量(g)**	62.49	59.18	61.37	65.11	
着床所見	妊娠雌動物数	22	20	23	20
	全同腹児死亡の腹数	0	0	0	1
	生存胎児を得た腹数	22	20	23	19
	黄体数*	14.5	15.1	14.2	14.3
	着床数*	13.2	13.1	13.0	13.5
	子宮内初期死亡数**	0.77	1.20	1.04	0.63
	子宮内 初期死亡率(%)*	5.94	9.25	8.45	4.65
	子宮内後期死亡数**	0.00	0.10	0.09	0.00
	子宮内 後期死亡率(%)*	0.00	0.61	0.54	0.00
	胚・胎児死亡数**	0.77	1.30	1.13	0.63
	生存胎児数*	12.4	11.8	11.9	12.9
	胎児性比(%)*	49.1	49.2	54.0	49.0
	胎児体重(g)*	3.3	3.3	3.3	3.2
	頭臀長(mm)*	34.2	34.3	34.0	33.7
胎盤重量(g)*	0.46	0.48	0.45	0.44	

*統計検定の実施なし

*平均

子宮内初期(後期)死亡率=子宮内初期(後期)死亡数/着床数

胎児性比=100×雄生存胎児数/生存胎児数

t検定及び Wilks 統計検定：体重(当初体重と比較した体重増加量で検定)、子宮内初期死亡率、子宮内後期死亡率、胎児体重、頭臀長、胎盤重量

Wilcoxon の順位和検定：摂餌量、黄体数、着床数、生存胎児数

Fisher の直接確率検定：剖検所見

↑↓：P≤0.05 で対照群と比較して統計学的に有意差あり(5%のみでの検定)

試験結果：(つづき)

胎児；

外表異常と内臓異常

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	3	26	225
外表変異：				
検査胎児 (腹) 数	273 (22)	236 (20)	274 (23)	245 (19)
外表変異のある胎児 (腹) 数 ^b	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
外表奇形：				
検査胎児 (腹) 数	273 (22)	236 (20)	274 (23)	245 (19)
外表奇形のある胎児 (腹) 数 ^b	5 (4)	4 (3)	8 (5)	5 (4)
矮小体	5 (4)	4 (3)	8 (5)	5 (4)
内臓変異：				
検査胎児 (腹) 数	132 (22)	113 (20)	130 (23)	116 (19)
内臓変異のある胎児 (腹) 数 ^b	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓奇形：				
検査胎児 (腹) 数	132 (22)	113 (20)	130 (23)	116 (19)
内臓奇形のある胎児 (腹) 数 ^b	9 (7)	9 (6)	6 (6)	12 (10)
脳；頭蓋と脳間血様液	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
中脳脳室軽度拡張	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
眼球/胸腔・腹腔；無眼球症-両側、内臓逆位	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
心臓；心嚢内血様液	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腹腔内；腹腔内血様液	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
肝臓；右葉-血腫、副右葉-出血	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
副腎；血腫-右側・両側	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
腎臓；腎内血様液-右側	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
血腫-片側	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
腎臓；腎盂拡張-片側・両側	3 (2)	5 (2)	3 (3)	↑10 (↑9)
尿管；拡張-左側・両側	2 (2)	1 (1)	2 (2)	7 (6)

Fisherの直接確率検定 ↑：P≤0.05、↑↑：P≤0.01

^b 統計検定は申請者実施：期待値がいずれも5以上の場合は χ^2 検定法、期待値のいずれかが5未満の場合にはFisherの直接確率検定を用いた (↑↓：P≤0.05、↑↓↑：P≤0.01)。

胎児；(つづき)

骨格異常

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	3	26	225
化骨遅延：				
検査胎児 (腹) 数	141 (22)	123 (20)	144 (23)	129 (19)
化骨遅延のある胎児 (腹) 数 ^b	101 (20)	91 (19)	107 (23)	90 (19)
頭骨;個々の頭骨-骨化遅延・無骨化	51 (14)	47 (15)	↑76 (20)	41 (14)
頸椎弓;骨化遅延・無骨化-正中方向・背方-片側・両側	2 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸椎椎弓;骨化遅延-左側・両側	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腰椎椎弓;骨化遅延-片側・両側	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
仙椎; 無骨化	4 (4)	2 (2)	2 (1)	3 (3)
尾椎椎体;骨化数が2以下 ^b	66 (19)	51 (14)	↓49 (15)	54 (16)
胸骨分節;骨化遅延・無骨化 ^b	44 (16)	44 (15)	↓29 (12)	↓18 (11)
肋骨;骨化遅延-遠位部-右側・両側	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
前肢; 第2中手骨無骨化-両側	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
第2中手骨骨化遅延-両側	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
第4中手骨骨化遅延-両側	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
第5中手骨無骨化-両側	59 (17)	54 (15)	56 (17)	46 (17)
前肢-趾骨; 第1~5手指の第3中手骨無骨化-両側	3 (2)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
後肢; 第5中足骨無骨化-両側	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
後肢-趾骨; 第1~5足指の第3中足骨無骨化-両側 ^b	33 (13)	23 (8)	↓14 (8)	↓4 (↓4)
骨格変異：				
検査胎児 (腹) 数	141 (22)	123 (20)	144 (23)	129 (19)
骨格変異のある胎児 (腹) 数 ^b	37 (19)	27 (12)	37 (18)	35 (15)
過剰椎骨;第7腰椎原基	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
過剰椎骨/過剰肋骨;第14胸椎原基と類縁				
第14肋骨-短長・正常長-右側・両側	2 (2)	1 (1)	2 (2)	2 (2)
過剰胸骨分節; 第7胸骨分節原基	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
過剰肋骨; 第1腰椎-短長・正常長-片側・両側	34 (18)	26 (12)	36 (18)	34 (14)

Fisherの直接確率検定 ↑: P≤0.05、↑↑: P≤0.01

^b: 統計検定は申請者実施; 期待値がいずれも5以上の場合は χ^2 検定法、期待値のいずれかが5未満の場合にはFisherの直接確率検定を用いた (↑↓: P≤0.05、↑↓↑: P≤0.01)。

骨格異常 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	3	26	225
骨格奇形:				
検査胎児 (腹) 数	141 (22)	123 (20)	144 (23)	129 (19)
骨格奇形のある胎児 (腹) 数 ^b	24 (11)	11 (8)	17 (10)	20 (10)
頭骨; 頭頂間骨離断-右側	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
頸椎弓; 癒合-腹方・背方-右側	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸椎椎体; 断片化	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
胸骨分節; 縦変位・癒合・断片化・形成不全	3 (2)	1 (1)	0 (0)	5 (3)
肋骨; 短長-第 13 肋骨-両側	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
波状ないし肥厚 ^b	22 (10)	↓8 (7)	17 (10)	15 (6)
肩帯; 肩甲骨-肋骨方向彎曲-右側・両側	1 (1)	0 (0)	0 (0)	↑8 (3)

Fisher の直接確率検定 ↑: $P \leq 0.05$ 、↑↑: $P \leq 0.01$

^b: 統計検定は申請者実施; 期待値がいずれも 5 以上の場合 χ^2 検定法、期待値のいずれかが 5 未満の場合には Fisher の直接確率検定を用いた (↑↓: $P \leq 0.05$ 、↑↑↓: $P \leq 0.01$)。

母動物に対する検体投与の影響は、225 mg/kg/日群でのみ認められた。妊娠 10 日から 17 日にかけて低体重が、妊娠 7 日から 14 日にかけて摂餌量減少が観察された。同群では、検体投与終了後の妊娠 17 から 21 日にかけて摂餌量の増加がみられた。26 mg/kg/日群で妊娠 7 日から 10 日にかけて摂餌量が軽度低下したが、対照群と比較するとその減少は極くわずかであること、体重に影響がみられないこと (申請者註)、及びこの群の摂餌量は投与開始前から少なめであったことから、26 mg/kg/日群の摂餌量低下と検体投与との間に関連性はないと考えられた。

妊娠 21 日の帝王切開時の検査で、全同腹児死亡が 225 mg/kg/日群の雌 1 例に認められたが、1 例のみの所見であったため、検体投与との関連は明白ではなかった。さらに、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、子宮内初期及び後期死亡率、胚・胎児死亡数、生存胎児数、胎児の性比、胎児重量、頭臀長及び胎盤重量について調べたが、225 mg/kg/日群まで影響はみられなかった。

胎児の奇形学的検査において、母動物に体重減少と顕著な摂餌量減少がみられた 225 mg/kg/日群では肩甲骨の肋骨方向への彎曲ならびに腎盂拡張を示す胎児が統計学的に有意に増加した。

以上の結果から、本検体を妊娠ラットに投与した時の母動物及び胎児における無毒性量は 26 mg/kg/日であり、225 mg/kg/日の投与量は、母動物に体重減少と顕著な摂餌量減少がみられ、胎児に肩甲骨の彎曲と腎盂拡張の出現頻度が増加したことから、毒性量であると結論された。本検体は、母動物に対して毒性を示さない投与量では催奇形性はないものと判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

[申請者註：同投与量を妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間に延長して投与したラットにおける催奇形性試験（資料 毒-19）では、母動物に本試験より強い毒性のみられた 225 mg/kg/日の投与量においても催奇形性は認められなかった。]