

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

(11) 繁殖毒性および催奇形性

1) 繁殖毒性

ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験

(資料No.1.18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

供試動物：Cr1:CD(SD)系雌雄ラット、1 群雄 27 匹、雌 27 匹、投与開始時約 6 週齢（体重：P 世代雄 190.7～225.2 g、雌 140.4～173.9 g、F1 世代雄 74.1～153.7 g、雌 55.2～137.6 g）

投与期間：P 世代；交配の約 10 週間前から雄は交配後までの 12 週間、雌は F₁ 児離乳時までの 18 週間、F₁ 世代；離乳時から雄は交配後までの 12 週間、雌は F₂ 児離乳時までの 18 週間
(2009 年 3 月 20 日～2009 年 12 月 2 日)

投与方法：検体を 0、25、100、400 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。
[投与量設定根拠]

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

親動物；

一般状態及び死亡；すべての親動物について、ケージサイドからの観察を少なくとも 1 日に 2 回行った。観察項目は、活動の低下/亢進、反復行動、発生、強調運動失調/跛行、損傷、神経筋機能(痙攣、線維束性攣縮、振戦、単収縮)、呼吸変化、皮膚および粘膜、眼の異常(破裂)、糞および尿の異常などであった。

また、雌に関しては、精子または膣栓を認めた日を妊娠 0 日として、妊娠 0、14、21 日に臨床症状の観察を、妊娠 20 日前後に分娩開始の徴候について観察を行った。

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

体重及び摂餌量；雄動物の体重は、試験期間を通して週 1 回の頻度で測定した。
雌の体重は、全動物について交配前及び交配期間は週 1 回の頻度で、交尾
成立雌動物については妊娠 0、7、14、21 日及び哺育 1、4、7、21 日に測

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

定した。交尾不成立または分娩がみられなかった雌の体重は妊娠および哺育期間中の体重測定は行わなかった。屠殺日にすべての動物の体重を測定した。摂餌量は全動物について交配前期間中は週1回測定し、交配期間中は測定せず、交配後は試験終了まで週1回測定した。雌の摂餌量は、交尾成立雌動物については妊娠0、7、14、21日及び哺育1、4、7、11、14、17、19、21日に測定した。

交配及び妊娠の確認；雌を同群の雄と1対1で最長2週間同居させて交配を行った。膈垢中に精子が確認されるか膈栓が認められた場合に交尾成立と判断し、妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

性周期；交配期間前の3週間に各雌から膈垢を採取して検査し、性周期を調べた。

交尾成立までの日数；同居開始から交尾成立日（妊娠0日）までの期間

妊娠期間；妊娠0日から出産日（哺育0日）までの日数

雄交尾率（%）＝（交尾成立雄数／同居雄数）×100

雌交尾率（%）＝（交尾成立雌数／同居雌数）×100

雄授精率（%）＝（交尾した雌が妊娠した雄数／交尾成立雄数）×100

雌受胎率（%）＝（妊娠雌数／交尾成立雌数）×100

雄繁殖率（%）＝（交尾した雌が妊娠した雄数／同居雄数）×100

雌繁殖率（%）＝（妊娠雌数／同居雌数）×100

出産率（%）＝（生存児動物を出産した雌数／妊娠雌数）×100

着床後胚損失率（%/腹）＝（（着床数－生存児数）／着床数）×100

精子検査；すべてのPおよびF₁群の雄親動物について屠殺時に評価した。左右の精巣上体および精巣を以下のように割り当てた：右側精巣上体－運動性および病理組織学的検査、左側精巣上体－精子数、右側精巣－病理組織学的検査、左側精巣－精子数。

- ① 運動性－右側精巣上体尾部から少量の精子を搾りだし、インキュベート後、HTM精子運動解析装置により全精子運動率を測定した。
- ② 精子数－左側精巣および精巣上体尾部は重量測定後、それぞれ1gあたり精子数および均質化抵抗性精子細胞数を測定した。対照群及び400 ppm群雄の精子数に変化がなかったため、その他の群の計測は行わなかった。
- ③ 形態－精子懸濁液の一定量をスライドガラスにのせて塗抹標本作製し、対照群及び400 ppm群の少なくとも200精子について形態を検査した。その結果変化はなかったためその他の群の検査は行わなかった。

病理学的検査；雄動物は交配期間終了後、雌親動物は児動物の離乳後、児動物を

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

出産しなかった雌動物は交配期間終了から少なくとも24日後に屠殺した。すべての親動物について、詳細な剖検を行い、以下の臓器重量を測定した。

卵巣、子宮及び子宮頸部、精巣、精巣上部、凝固腺を含む精嚢、前立腺、脳、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、上皮小体を含む甲状腺、精子計測パラメータの算出に用いるため、左側精巣および左側精巣上部尾部。

また、全動物を対象として、右側精巣および右側精巣上部を除き、以下の臓器の病理標本を作製した。そのうち対照群と400 ppm群の全親動物について、またその他の群では、400 ppm群で組織学的影響がみられた組織（肝臓、雄のみ）および肉眼的病変部、また繁殖性低下の兆候がみられた動物について検鏡した。

副腎、大動脈、外耳道皮脂腺、骨（関節を含む）、骨髄、脳（大脳、脳幹、小脳）、盲腸、子宮頸管、凝固腺、結腸、視神経、十二指腸、精巣上部、食道、眼、肉眼的病変、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺/ハーダー腺、喉頭、肝臓、肺、乳腺（雌のみ）、縦隔リンパ節、縦隔組織、腸間膜リンパ節、腸間膜組織、鼻部組織/咽頭、口腔組織、卵巣、卵管、膵臓、上皮小体、末梢神経、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精嚢、骨格筋、皮膚および皮下組織、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、気管、膀胱、子宮、陰。

児動物：

一般状態及び死亡；哺育期間中は、ケージサイドからの観察を少なくとも1日に2回行った。観察項目は、親動物と同様であった。臨床症状観察も行った。また、分娩日、哺育1、4、7、14および21日における生存および死亡児数を記録し、以下の指標を算出した。

生児出生率(%) = (出産生存児数 / 出産児数) × 100

哺育1または4日生存率(%) = (哺育1日または4日における生存児数 / 哺育0日の生存児数) × 100

哺育7、14または21日生存率(%) = (哺育7、14または21日における生存児数 / 淘汰後の生存児数) × 100

性比；哺育1日の生存雄児数の百分率：哺育1日の生存雌児数の百分率

体重；生後1、4、7、14及び21日に個体別に測定した。

性成熟；F₁世代動物について、雌の膣開口開始及び雄の包皮分離開始が確認された日齢を記録した。F₂世代雌雄動物については生後1日の肛門生殖突起間距離（AGD）を測定し、相対AGD（体重の立方根に対する比）を算出した。

病理学的検査；離乳時にF₁及びF₂児動物から無作為に一腹当たり雌雄各3匹を選抜し、肉眼的病理検査に供し、その3匹の中からさらに1匹を無作為に選抜して脳、脾臓、子宮、肝臓（F₂のみ）、胸腺の臓器重量を測定した。また、脳、脾臓、胸腺、子宮、肝臓（F₂のみ）および肉眼的異常組織については10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。死亡または瀕死

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

状態の哺育児に関しては異常の有無、死因を検査し上記ホルマリン液に保存した。

剖検時に F₁ 世代親動物で哺育後まで生存した対照群および、400 ppm 群のうちそれぞれ 15 匹を無作為に選抜して、原始卵胞の計数を行った。

結 果：概要を表 1 に示した。

親動物；

死 亡；

P 世代；25 ppm 投与群の雄 1 例が試験 20 日に死亡したが、これは初期の死亡であり投与と関連しないものと考えられた。死亡前に臨床症状はみられず、剖検結果から死因は尿路の病変と推定された。対照群の雌 1 例で、妊娠 23 日にケージ内に血液が、さらに翌日には外陰部に赤色分泌物が観察され、妊娠 25 日に難産（分娩困難）のため安楽死させた。剖検の結果、子宮内には 2 匹の死亡胎児が認められた。

F₁ 世代；25 ppm 群の雄 1 例（3725）および雌 1 例（3838）、100 ppm 群の雌 1 例（3867）、400 ppm 群の雄 2 例（3772 および 3784）が試験期間途中で死亡した。そのうち、動物番号 3725、3838 および 3772 はすべて離乳後まもなく死亡した。剖検の結果、25 ppm 群の雄（3725）では、胃腸管内に溶血がみられ、中等度の自己融解のため病理組織学的検査は不可能であり、死因は究明できなかった。25 ppm 群の雌（3838）の死因は尿路閉塞と推定された。この雌では結石は観察されなかったが、腎臓（両側）に重度の炎症がみられ、膀胱に重度の上皮過形成が認められた。400 ppm 群の雄（3772）では食道閉塞がみられた。鼻部組織の病理組織学的検査の結果、咽頭が飼料で満たされており、死因は飼料が詰まったものであると考えられた。このほかに、100 ppm 群の雌（3867）では試験 74 日に左側後肢に擦過傷がみられ、試験 76 日には左側後肢が使用不能のため歩行困難となり、鼻部周囲の赤色汚れおよび左右後肢の腫脹が認められたため、人道的理由により安楽死させた。剖検では、隣接した皮膚および皮下組織とともに両側の足根骨に重度の急性炎症が認められた。400 ppm 群の雄（3784）では、試験 85 日に鼻口部に外傷がみられ、さらに口呼吸を伴う呼吸困難、切歯の不正咬合、眼周囲および会陰周囲の汚れが認められたため、安楽死させた。肉眼的および病理組織学的検査の結果、上顎骨骨折が確認された。

一般状態；投与に関連する変化はみられなかった。

体重及び体重増加量；F₁ 世代の交配前に 25 および 400 ppm 群の雌雄に群平均体重値に統計学的有意差が散見されたが、一時的であり投与に関連しない変化と考えられた。

体重増加量については、F₁ 世代の全投与群の雌で哺育 7～14 日間に統計学的有意差をとともなう増加がみられたが、その他の時期には有意差は認められず、検体投与の影響ではないと判断された。

摂餌量；P 及び F₁ 世代のいずれの投与群の雌雄にも投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

性周期；投与に関連する差は認められなかった。

繁殖性；両世代とも、いずれの投与量でも交尾率、受胎率、受精率、繁殖率、出産率、交尾成立までの期間及び妊娠期間に影響は認められなかった。統計学的に有意ではないものの、F₁世代の400 ppm群で着床後損失率のわずかな増加がみられたが、P世代ではこの変化はみられなかった。この値は、背景データの範囲（5.06～10.8%）を超えていたため検体投与の影響であると判断された。しかしながら、この変化は同群動物でみられた新生児死亡の影響（詳細は児動物の結果で記載）の反映であり、催奇形性試験（資料No.19）において、2倍の投与用量（1000 ppm、70.2 mg/kg/日）にもかかわらず着床後胚損失率には投与に影響が認められなかったという結果を加味すると、着床後損失率のわずかな増加は繁殖毒性ではないと解釈される。

臓器重量；P及びF₁世代の400 ppm群の雄で肝臓重量の高値が統計学的有意差をともなつて認められ、検体投与の影響と考えられた。同群では対照群と比較して、P世代では、肝臓重量および対体重比はそれぞれ、12.8および9.8%、F₁世代では、肝臓重量および対体重比はそれぞれ、6.8および7.8%増加した。

P世代400 ppm群の雄で腎臓重量が対照群と比べ統計学的に有意に増加したが、F₁世代では認められず、関連する病理組織学的変化もなかったことから検体投与との関連はないと考えられた。

その他、検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；投与に関連する変化はみられなかった。

病理組織学的検査；P及びF₁世代の400 ppm群の雄で肝臓に色素沈着をともなう小葉中心性肝細胞肥大、小葉中心性多発性壊死の発生頻度が増加し、検体投与の影響と判断された。

その他、検体投与の影響は認められなかった。

精子検査；両世代とも、いずれの用量でも精巣上体の精子運動性、精巣上体及び精巣の精子数ならびに精巣上体の精子形態に投与の影響は認められなかった。F₁世代400 ppm群の雄で精巣精子濃度が対照群と比べ統計学的に有意に増加したが、精巣上体での精子数に変化はなく、P世代では対照群と差はみられず、検体投与との関連はないと考えられた。

児動物；

同腹児数及び性比；F₂世代400 ppm群の同腹児において、生児出産率が統計学的に有意に低下した。この値は背景データの範囲内にあり、F₁世代では観察されなかった。しかし、新生児死亡が予備試験でもみられており、生児出産率の低下は投与に起因するものと考えられた。その作用機序を明らかにするためメカニズム試験（資料No.28～34）を実施したが、これら全てにおいて妊娠中の死亡は認められなかった。また、この影響は哺乳に起因するものでないことが明らかに

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

され、検体の子宮内暴露により出生時あるいは出生後の死亡が引き起こされる可能性が示唆された。そこで、出生時および出生後のごく早期にみられる新生児死亡のプロファイルを明確にするために、生児出産率と哺育 1~4 日の生存率を合わせた「哺育 0~4 日生存率」を求めた。

「哺育 0~4 日生存率」を求めた結果、400 ppm 群では投与に関連した、統計学的に有意な総哺育児生存率の低下が認められた。25 および 100 ppm 群の哺育児生存率には、投与に関連した影響は認められなかった。

両世代の 400 ppm 群における新生児死亡の増加のため、同群では F_1 および F_2 世代で平均同腹児数がわずかに減少した。新生児死亡とともに、400 ppm 群では F_2 死産児数がわずかに増加したが (0.4)、これは背景データの範囲内 (0.0~0.6) にあった。前述のように、この所見は出生後早期の死亡に起因するものであり、出生前の死亡を反映したものではないと考えられた。いずれの世代においても 25 および 100 ppm 投与群では、生産児数、死産児数または同腹児数に投与の影響は認められなかった。

性比に投与に関連する影響は認められなかった。

一般状態 ; F_2 世代では、400 ppm 群の死亡哺育児に胎盤組織が付着しているのが観察され、新生児死亡の増加と一致した、検体投与に関連した所見と判断された。その他は、投与に関連する変化はみられなかった。

体重及び体重増加量 ; F_1 世代の 400 ppm 群雄で哺育 7 日に統計学的有意差をともな

った体重の低値がみられたが、その後の検査時期およびF₂世代では同様の変化は認められず、また背景データの範囲内（群平均値：16.1g、背景データ：15.9～17.5g）であることから検体投与の影響ではないと考えられた。その他、両世代とも投与に関連する変化はみられなかった。

性成熟；F₁世代の400 ppm群雄で統計学的に有意な包皮分離の遅延が体重低値をとまなうことなく認められ、検体投与の影響と考えられた。400 ppm群の性成熟の遅延に投与との関連性がみられたことは無視できないが、この所見はアンドロゲン関連項目とは無関係に生じた。雄ラットの性成熟には多くの因子が寄与している（Stokerら、2000年）が、以下に示すアンドロゲン感受性のエンドポイントに関する毒性試験結果から、本試験において、ラットのアンドロゲン状態の変化を示すものはないとの結論に至った。

- ・F₂世代雄のAGDに統計学的に有意な、または投与に関連した影響は認められなかった。AGDは、アンドロゲン状態の変化に最も感受性の高いエンドポイントの一つであると考えられている（Clark、1999年）。
- ・尿道下裂、異所性精巣の証拠、または暴露に関連した精巣、精巣上体、前立腺もしくは精嚢の重量または病理組織学的変化の証拠は認められなかった。さらに、精巣の精子形成段階に対する定性的影響は認められなかった。
- ・精子パラメータ（精子細胞および精子数、精子の運動性および精子の形態）において有意な変化は認められなかった。
- ・検体は、交尾率、繁殖率、交尾所要時間または妊娠期間を含む繁殖指標に影響を及ぼさなかった。
- ・ラットを用いた発達神経毒性試験（資料No.1.21）において、本試験と同用量（400 ppm）で雄の包皮分離に被験物質に関連した影響は認められなかった。

以上のように、本検体を投与した雄ラットにおいて、アンドロゲン性の変化に一定のパターンは認められなかった。総合すると、データからは本検体を介した抗アンドロゲン作用の裏付けは得られなかった。

F₂世代の25および400 ppm群雌でAGDが、統計学的に有意に短縮したが、雌の場合、内分泌機能変化はAGDの延長（雄性化）として現れるため、この変化は生物学および毒性学的に意義はないものと考えられた。

臓器重量；投与に関連する変化はみられなかった。

肉眼的病理検査；検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、2世代にわたって本検体を飼料中に混入して投与した場合、400 ppm群では親動物雌雄に、肝臓重量の増加、肝細胞肥大および壊死が、同群雌には生存産児数の減少にともなう着床後胚損失率の増加、児動物雌雄に、生児出産率の低下、死産児数の増加、生存率の低下、包皮分離の遅延、雌にAGDの低値が認められた。繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。

したがって、無毒性量は親動物P世代で100 ppm（雄6.07 mg/kg/日、雌6.63 mg/kg/日）、F₁世代で100 ppm（雄6.86 mg/kg/日、雌6.66 mg/kg/日）、児動物に対して

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

も 100 ppm と判断された。繁殖性については最高投与量の 400 ppm でも影響がなかった。

(申請者注) : 無毒性量は、各世代、各期間 (雄…生育期、雌…生育期、妊娠期間、授乳期間) ごとの検体摂取量を比較し、最小値を記載した。

参考文献

Clark, R. L. (1999). Endpoints of reproductive system development. In: *An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment*, 10-27. International Life Sciences Institute, Washington, D. C.

Stocker, T. E., Parks, L. G., and Cooper, R. L. (2000). Endocrine-disrupting chemicals: prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid function in the male rat. A focus on the EDSTAC recommendations. Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee. *Crit. Rev. Toxicol.* 30: 197-252.

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

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

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

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

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

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

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

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

2) ラットにおける催奇形性試験

(資料No.1.19)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

供試動物： Cr1:CD(SD)妊娠ラット

(10~11週齢；体重 200~250 g)、1群 26匹

投与期間： 妊娠 6~21 日の 16 日間 (2008 年 9 月 21 日~2008 年 10 月 21 日)

投与方法： 検体を、0、25、150 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し妊娠 6~21 日の間
混餌投与した (動物は同系統の雄と自然交配させ、膣栓が確認された日を妊娠
0 日とした)。

投与経路の選定理由；

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物； ケージサイド観察を以下の項目で毎日 1 回行った[活動性の低下/亢進、反復行動、発声、協調運動失調/跛行、外傷、神経筋機能 (痙攣、線維束性収縮、振戦及び筋攣縮)、呼吸の変化、皮膚及び粘膜の青色化/蒼白、重度の眼の損傷 (破裂)、糞便粘度の変化及び糞便/尿の量]。また、すべての動物について少なくとも 1 日 2 回生死、病的状態を観察し、臨床症状観察を少なくとも毎日 1 回観察した。体重を、妊娠 0 日 (供給者による) と、その後妊娠 6~12 日は毎日、妊娠 12~19 日までは 3 日ごとおよび妊娠 21 日に測定した。摂餌量は妊娠 3 日と、妊娠 6~12 日は毎日、妊娠 12~19 日までは 3 日ごと、妊娠 19~21 日は毎日測定した。

妊娠 21 日に全動物を安楽死させ、子宮、胎盤及び卵巣など生殖器官を詳細に検査し、着床数および配置、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数と位置、及び黄体数を記録した。着床前胚損失率および着床後胚損失率は以下のように計算した。

着床前胚損失率 (%) = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] × 100 (各腹の平均値)

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

着床後胚損失率 (%) = [(着床数 - 生存児数) / 着床数] × 100 (各腹の平均値)

妊娠子宮重量、腎臓及び肝臓の重量測定を行い、内臓及び子宮内受胎産物の検査を含む肉眼的病理検査を行った。また、試験終了時に1群4匹の母動物およびその同腹胎児より採血し、検体の血中濃度を分析した。

生存胎児；全生存胎児の体重、性別及び外表異常、体型、頭蓋、口蓋の閉鎖を含む顔面、腹腔、脊椎、四肢、性器、直腸および尾を検査した。その後、胎児を安楽死させ、各腹から半数の胎児を無作為に選抜し内臓検査を行った。これらの胎児の頭部は切除してブアン固定液に入れ、連続切片を作製して検査した。残りの胎児は骨格異常の観察を行った。外表、内臓及び骨格所見を発達変異又は奇形として記録した。

結果：概要を後記の表に示した。

親動物； いずれの用量にも投与に関連した異常臨床所見は認められなかった。

妊娠 21 日、1000ppm 群で平均体重値が対照群と比べ統計学的に有意に減少した。また、妊娠 6～21 日における平均体重増加量は対照群と比べ 22% 減少、統計学的有意差も認められた。これら体重の低下は摂餌量の低下と相関しており、投与に関連した変化と考えられた。その他の群においては体重および摂餌量に検体投与の影響は認められなかった。妊娠 21 日目の体重値から子宮重量を引いた補正体重および妊娠子宮重量も、1000ppm 群では平均値が対照群と比べ統計学的に有意に減少し、検体投与による影響と考えられた。その他の群においては検体投与の影響は認められなかった。

死亡、流産、出産に関して、検体投与の影響は認められず、また妊娠 21 日の計画剖検まで生存した雌動物に検体投与に関連した肉眼的所見は認められなかった。1000ppm 群では肝臓の相対重量が統計学的有意差をともなって増加し、検体投与の影響と解釈された。腎臓重量およびその他の群の肝臓重量に関しては、いずれも検体投与の影響は認められなかった。

母動物における検体摂取量は、25、150 および 1000 ppm 群でそれぞれ 1.95、11.5 および 70.2 mg/kg 日であった。

1000 ppm 群における腹当たりの平均生存胎児数 (12.3) が対照群の値 (13.3) よりわずかに低く、この差は統計学的に有意であった。これは、12.3 という値が背景データの範囲内であること、同群の平均黄体数が対照群に比して 0.6 低かったこと (これは投与前における排卵数が少なかったことが示唆される)、同群における平均着床後胚損失率 (5.2%) は背景データと同等であったことより、投与とは関連性のないものと考えられた。25 および 150 ppm 投与群では、いずれの繁殖指標にも投与に関連した影響は認められなかった。

黄体数、着床数、吸収胚数、着床前胚損失率および着床後胚損失率は、いずれの投与群においても対照群と同様であり検体投与の影響は認められなかった。

胎児； 1000 ppm 群における胎児体重は対照群と比べ統計学的に有意に減少し検体投与の影響と考えられた。その他の群では検体投与による影響は認められなかった。本試験では、奇形の評価に当たっては、米国環境保護庁の発生毒性リスク評価指針書（USEPA、1991年）により、「生存、発育または機能に有害な影響を及ぼすと思われる永久的な構造変化」と定義されている基準を用いた。さらに、奇形は「特定の種または系統に比較的低頻度に発現する」ことを考慮した。この定義以外の胎児異常は「変異」に分類した。

外表検査においては、1000 ppm 群で軽度の前肢屈曲、後肢回旋の発生頻度が統計学的に有意に増加しており、投与に関連したものであると考えられた。同群の胎児には、身体、四肢および頸部の収縮または円背も認められた。これらの異常は構造的障害ではなく、骨格筋の収縮によって内臓検査時に胎児を平らに置くことが困難な状態になったものを示し、その後実施した暴露の臨界期検討試験（資料No.1.31 および 1.32）で出生後速やかに回復することが確認された。したがって、これらの所見は上記分類に基づく、胎児変異であると分類される。その他の群では検体投与に起因する外表異常は認められなかった。

内臓検査では、1000 ppm 群において 19/149 例の胎児に片側または両側性の尿管屈曲が認められ、その発生頻度は統計学的に有意であり、投与に関連したものであると考えられた。これらの胎児のうち 2 例では水尿管も認められた。しかしながら、これらの変化は暴露の臨界期検討試験（資料No.1.31 および 1.32）で認められなかったことから、一時的な変化で、出生後回復することが示唆された。

連続切片による頭蓋顔面検査では異常は認められなかった。

骨格検査では、150 ppm 投与群の 1 例（6398）で尾椎不整、他の 1 例（6415）で過剰腰椎が、25 ppm 投与群の 1 例で第 13 胸椎の半椎を伴う第 12 肋骨の分岐および胸椎癒合が、対照群の 1 例に過剰腰椎、他の 1 例に尾椎不整が認められた。25 および 150 ppm 投与群にみられたこれらの奇形は、高用量では認められない単発の所見であり、投与に関連のないものであった。

1000 ppm 群において、40/133 例の胎児に片側または両側性の屈曲鎖骨が認められ、これらのうち 35 例は四肢の異常も伴っていた。この変化は統計学的に有意であり、投与に関連したものであると考えられた。また、同群では、マイナーな変異である胸骨分節癒合の発生頻度（6/133 例）が統計学的に有意に増加し、投与に関連したものと考えられた。これらの異常は、暴露の臨界期検討試験（資料No.1.31 および 1.32）では認められなかった。150 ppm 投与群では 1 例の胎児に胸骨分節癒合が認められたが、低頻度（1/159 例）であったことから、偶発的で投与と関連のないものと考えられた。

また、1000 ppm 群では、頭頂骨骨化遅延が 5/133 例（3.8%）に認められ統計学的に有意な増加を示した。この所見の発生頻度は背景データの範囲内であり、投与関連性の変化ではないと考えられた。

以上の結果より、本検体を妊娠ラットに投与した際の投与用量 1000ppm における母動物の体重値減少、体重増加抑制、摂餌量減少、妊娠子宮重量減少、肝臓の対体重比の増加に基づき、母動物における無毒性量は 150ppm(11.5mg/kg/日)であると判断された。また、胎児にお

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

いては 1000ppm については胎児体重の減少、一過性の変異である前肢屈曲、軽度の前肢屈曲、後肢回旋、尿管屈曲、水尿管が認められたことから、無毒性量は 150ppm(11.5mg/kg/日)であると判断された。検体投与関連性の奇形はみとめられなかったことから催奇形性はないものと考えられた。

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

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

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

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

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

3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料No.1.20)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ

(5~6 カ月齢；体重 2500~3500 g)、1 群 26 匹

投与期間： 妊娠 7~28 日の 22 日間 (2008 年 10 月 13 日~2008 年 11 月 18 日)

投与方法： 検体を、0、30、150 および 750 ppm の濃度で飼料に混入し妊娠 7~28 日の 22 日間混餌投与した (動物は同系統の雄と自然交配させ、交配が確認された日を妊娠 0 日とした)。

投与経路の選定理由：

投与量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物； ケージサイド観察を以下の項目で毎日 2 回行った (活動性の低下/亢進、反復行動、発声、協調運動失調/跛行、外傷、神経筋機能 (痙攣、線維束性収縮、振戦及び筋攣縮)、呼吸の変化、皮膚及び粘膜の青色化/蒼白、重度の眼の損傷 (破裂)、糞便粘度の変化及び糞便/尿の量)。また、妊娠状態及び生死を毎日 1 回観察し、体重を、妊娠 0 日 (供給者による) と、妊娠 7 日から毎日測定した。子宮とその内容物を除いた妊娠 28 日の体重を補正体重とした。摂餌量は妊娠 4~29 日に毎日測定した。

妊娠 28 日に全動物を安楽死させ、子宮、胎盤及び卵巣など生殖器官を詳細に検査し、着床数および配置、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数及び黄体数を記録した。着床前胚損失率および着床後胚損失率は以下のように計算した。

着床前胚損失率 (%) = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] × 100 (各腹の平均値)

着床後胚損失率 (%) = [(着床数 - 生存児数) / 着床数] × 100 (各腹の平均値)

妊娠子宮重量、腎臓及び肝臓 (胆のうを含む) の重量測定を行い、内臓及び子宮

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

内受胎産物の検査を含む肉眼的病理検査を行った。

生存胎児；全生存胎児の体重、性別及び外表異常、体型、頭蓋、顔面、腹腔、脊椎、四肢、性器、直腸および尾を検査した。その後、胎児を安楽死させ、内臓及び骨格異常の観察並びに発達変異の評価を行った。各同腹児の約半数で頭蓋顔面検査を行った。外表、内臓及び骨格所見を発達変異又は奇形として記録した。

結果：概要を後記の表に示した。

親動物； 750 ppm 群に 7/26 例で糞便の減少が観察され検体投与に関連した症状と考えられた。150 ppm 群 1 例では妊娠 24～25 日に出血、軟便、糞・尿による汚れが観察され、妊娠 25 日に流産したため、安楽死に供した。この動物の所見は例数も少ないため検体投与との関連性はないと考えられた。その他、いずれの用量にも臨床所見に異常は認められなかった。

750 ppm 群で妊娠 10～13 日の投与期間および妊娠 7～28 日の全投与期間で、平均体重増加量が対照群と比べ減少し、妊娠 10～13 日では統計学的有意差が認められた。また、妊娠 7～8 日、9～10 日および 12～15 日の投与期間、750 ppm 群で摂餌量が対照群と比べ統計学的に有意に減少した。これらの体重増加量および摂餌量の変化は検体投与の影響と判断された。その他の群では、体重および摂餌量に検体投与の影響は認められなかった。また、妊娠 28 日目の補正体重（体重値から子宮重量を引いた値）および妊娠子宮重量に検体投与による影響はなかった。

死亡、流産、出産に関して検体投与の影響は認められず、また、妊娠 28 日の計画剖検まで生存した雌動物の肉眼的所見に検体投与による影響は認められなかった。肝臓および腎臓重量に関してもいずれの投与群にも検体投与の影響は認められなかった。

母動物における検体摂取量は、30、150 および 750 ppm 群でそれぞれ 1.33、6.55 および 31.9 mg/kg 日であった。

黄体数、着床数、吸収胚数、生存児数、着床前胚損失率および着床後胚損失率などを調べたが、いずれの投与群においても対照群と同様であり検体投与の影響は認められなかった。

胎児； 胎児体重に検体投与による影響は認められなかった。

外表異常は 150 ppm 群に 1 例左前肢の彎曲が見られた以外、いずれの動物にも認められなかった。

内臓奇形は、対照群に頸静脈異常走行が 1 例、30 ppm 群には右腎臓の水腎症 1 例、胆のう欠損 2 例および左精巣欠損 1 例が、150 ppm 群では横隔膜ヘルニア 2 例、胆のう欠損 2 例、肺葉低形成・心臓低形成 1 例、750 ppm 群では胆のう欠損 2 例が観察された。胆のう欠損に関しては、本試験で散見されたが、用量相関性を欠いており、当該試験機関の背景データと同等であった。以下に、本所見の、本試験における発生頻度と背景データを示す。

このように、これらの内臓奇形は発生頻度が低く統計学的有意差もなかったため検体投与の影響ではないと判断された。

内臓変異として、卵巢のう腫、肺後葉欠損、右側食道、大静脈後尿管が対照群を含む全ての群で認められた。また、胸腺出血が750 ppm群で1例に、肺癒合が750ppm群で1例に、肝中間葉絞扼性捻転(Torsion strangulation liver, median lobe)が対照群および750 ppm群でそれぞれ1例に、肝尾状葉絞扼性捻転(Torsion strangulation liver, caudate lobe)が30ppm群に1例認められた。これらの所見の発生頻度に統計学的有意差は認められず検体投与の関連性はないと判断された。

頭蓋顔面異常は、いずれの群においても認められなかった。

骨格奇形も認められなかった。

骨格変異として、舌骨骨化遅延、舌骨彎曲、胸骨分節骨化遅延、胸骨分節癒合、恥骨骨化遅延が対照群も含めすべての群に認められた。また、頭頂間骨骨化遅延が30および150 ppm群にそれぞれ2および1例に、胸骨分節過剰骨化が対照群、30および150 ppm群でそれぞれ1、1および2例に、胸骨分節異常骨化が対照群、30および150 ppm群でそれぞれ3、1および3例に、距骨骨化遅延が対照群および150ppm群でそれぞれ4および1例認められた。これらの所見の発生頻度に統計学的有意差は認められず検体投与との関連性はないと判断された。以上のことから、本試験のいずれの胎児にも、検体関連性の奇形及び発達変異は認められなかった。

以上の結果より、本検体を妊娠ウサギに投与した際、投与用量750 ppmにおける母動物の体重増加抑制、摂餌量減少及び排糞減少に基づき、母動物における無毒性量は150 ppm(6.55mg/kg/日)と判断された。また、胎児においていずれの投与群においても検体投与の影響が認められなかったことから胎児の無毒性量は最高用量の750 ppm(31.9mg/kg/日)であり、最高用量でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

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

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

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

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

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

4) ラットを用いた発達神経毒性試験

(資料 No. 1.21)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

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

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

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

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

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

以上の結果から、妊娠ラットに妊娠6日から哺育21日まで本検体を飼料中に混入して投与したところ、F0母動物ではいずれの試験項目にも影響は認められず、F1動物では400ppm投与群で生後の生存率の減少、低体重および平面立ち直り反応の出現の遅延が認められた。したがって、無毒性量はF0母動物で400ppm（妊娠期：27.7mg/kg/day、哺育期：29.8mg/kg/day）、F1動物で100ppm（妊娠期：7.1mg/kg/day、哺育期：7.6mg/kg/day）であると判断された。また、最高投与量の400ppmでもF1動物に対して発達神経毒性を及ぼさないと判断された。

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

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

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

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

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

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

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

(12) 変異原性

1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料No.1. 22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella trphimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法で実施し、復帰突然変異原性を検定した。検体を溶解させるため、溶媒に DMSO を用いた。当該試験機関では、変異原性試験を最低二回実施して結果を確認している。今回は二回目の確認試験でプレートの汚染が認められたため、試験を三回実施した。

陽性対照として以下の物質を用いた。

試験菌株	S9 mix	陽性対照物質	プレート当たりの濃度
TA98	+	ベンゾ[a]ピレン	2.5µg
TA98	-	2-ニトロフルオレン	1.0µg
TA100	+	2-アミノアントラセン	2.5µg
TA100	-	アジ化ナトリウム	2.0µg
TA1535	+	2-アミノアントラセン	2.5µg
TA1535	-	アジ化ナトリウム	2.0µg
TA1537	+	2-アミノアントラセン	2.5µg
TA1537	-	ICR-191	2.0µg
WP2 <i>uvrA</i>	+	2-アミノアントラセン	25.0µg
WP2 <i>uvrA</i>	-	4-ニトロキノリン-N-オキシド	0.4µg

陽性反応の判定基準は、以下のように行った。

プレートあたりの平均復帰変異体数において、適切な溶媒対照のプレートあたりの平均値と比較して、TA98、TA1535、TA1537、WP2*uvrA* の菌株では3倍以上、TA100 では2倍以上の、用量に相関した再現性のある増加が認められた場合に、被験物質は陽性であると判断した。観察された反応が上記3つの基準 (程度、用量反応性、再現性) を満たさない場合、陰性と判断した。

用量設定の根拠：

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

結 果：

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

初回の変異原性試験では、S9 mix の存在下、非存在下のいずれにおいても、プレートあたりの復帰変異体数増加は認められなかった。第二回目の試験では試験プレートの汚染が認められ、溶媒対照群の平均値が試験計画書で特定した範囲外であったため、再度確認試験を実施した。その結果、第三回目の試験（確認試験）において、S9 mix の存在下、非存在下のいずれにおいても、プレートあたりの復帰変異体数増加は認められなかった。一方、陽性対照群では著明な増加が認められた。（表には初回および第三回目の試験結果を示した。）

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さないものと判断された。

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

2) ラットリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.1. 23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験動物： SD系雄性ラット (10~11 週齢)

試験方法： ラットの血液から採取したリンパ細胞を用い染色体異常誘発性を検索した。検体を溶解させるために溶媒DMSOを用いた。検体の濃度は、代謝活性化及び非代謝活性化系で、0、693.3、1386.5、2773 µg/mL、または非代謝活性化系で0、173.3、346.6、693.3 µg/mLとした。ラットリンパ細胞を、全血培養開始からおよそ48時間後にS9 mixの存在下(代謝活性化系)および非存在下(非代謝活性化系)において、上記濃度範囲で検体処理した。処理時間は、非代謝活性化系では4ないし24時間、代謝活性化系では4時間とした。その後、培養液で洗浄して暴露を終了した。

陽性対照には、非活性化系ではマイトマイシンCを0.5ないし0.075 µg/mL、または活性化系ではシクロホスファミドを2 µg/mLの濃度で用いた。

各濃度2枚のコード化したスライドを用い、1枚のスライドあたり100個の分裂中期像を観察し、構造異常の発生頻度が多かった場合には50個の分裂中期像を観察し記録した。染色体の異常は、染色分体型および染色体型の、ギャップ(gap)、切断(break)、交換(exchange)、その他種々の異常に分類し計測した。一つの細胞に5つ以上異常をもつ細胞は多数異常細胞として分類した。さらに総計100分裂中期細胞/連を観察し、倍数性異常の出現率を求めた。以上のデータから次の指標を計算し統計処理を実施した。

異常細胞出現率 (%) = (異常細胞数 (ギャップのみを有する細胞を除く) × 100 / 評価した中期細胞数)

評価基準； 1) 陽性対照物質の染色体異常誘発率が溶媒対照より有意に高いこと、2) 溶媒対照の染色体異常誘発率が当該試験機関の背景データの範囲内であること、が必要である。その上で、異常細胞の出現率に有意な用量相関性および再現性のある増加が誘発された場合に、検体が陽性であると判断した。

用量設定の根拠；

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

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

検体処理群では、濃度と相関した染色体異常の増加はなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C 及びシクロホスファミドは、有意な染色体異常の増加を示した。

また、溶媒対照群と比較していずれの濃度でも倍数体数に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体はラットのリンパ細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において陰性であると判断された。

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

3) マウスの骨髄を用いた小核試験

(資料No.1.24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験動物：CD-1 系マウス (約 8 週齢) 1 群雌雄各 6 匹投与、最初の各 5 匹について検査。

試験方法： 検体を 0.5%メチルセルロース溶液に懸濁させ、CD-1 系雌雄マウスに、100、200、400 mg/kg 体重の用量で 1 日 1 回、2 日間連続強制経口投与した。陰性対照群には、溶媒を 10 mL/kg 体重の用量で検体投与群と同様に投与し、陽性対照群にはシクロホスファミドを 120 mg/kg 体重の用量で単回投与した。

検体の最終投与後 24 時間に全動物を屠殺し、骨髄試料を採取した。

各群の最初の 5 匹について 2000 個の多染性赤血球 (PCE) を観察し、そのうち小核 (MN) を有する多染性赤血球 (MN-PCE) の出現頻度を記録した。

また、赤血球中の多染性赤血球の割合は動物あたり 200 個の赤血球に基づいて計測し、結果は百分率で表した。

評価基準；本試験系の有効性を確認するには、1) 溶媒対照の MN-PCE 値が過去 5 年間の当該試験機関の背景データの範囲内であること、2) 陽性対照物質の MN-PCE 値が溶媒対照より有意に増加すること、3) 検体投与群の 1 群以上で PCE の出現率 (%) の平均値が対照群の 20% 以上であること、が必要である。その上で、1 用量以上で、用量相関性を伴って MN-PCE 出現率が統計学的に有意に増加した場合に検体が陽性であると判断した。

用量設定根拠；

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

結 果：

検体投与群と陰性対照群の間で、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意差は認められなかった。一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加が認められた。

また検体投与群の動物において、多染性赤血球の比率に陰性対照値と比較して有意差は認められなかったが、陽性対照動物の多染性赤血球の比率は、陰性対照動物における値と比較して有意に低いことが確認された。

以上の結果から、本試験条件下で本検体はマウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験において陰性であると判断された。

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

4) CHO 細胞を用いた *in vitro* 前導突然変異試験

(資料No.1.25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験方法：

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

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

検体処理されたどの濃度においても、代謝活性化の有無に関わらず、突然変異出現率（細胞 10^6 個に対する頻度）に有意な増加は認められなかった。一方陽性対照物質で処理された群では明らかな増加が認められた。

結論：以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下において突然変異原性は陰性であると判断された。

(13) 生体の機能に及ぼす影響

一般薬理試験

(資料No.1. 26)

試験機関

報告書作成年

検体純度：

1) マウス及びラットの一般症状および行動に及ぼす影響

(1) 雌雄マウスの一般状態

供試動物： Crlj:CD1(ICR)系マウス、6週齢(体重 雄 28.9~34.3 g、雌 19.6~22.9 g)、1群雌雄各4匹

方法： 動物を3~5時間絶食させ、検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して0、125、250、500 mg/kg(容量として10 mL/kg)の用量で単回強制経口投与し、Irwinの多次元観察法に準じて検体投与前および投与後2、4、6、24時間時に一般状態および行動を観察した。

結果： 250 mg/kg以上の投与群の雌雄で、投与後2~4時間に自発運動、正向反射に抑制的影響が認められ、250 mg/kg以上の投与群雄では上記の症状に加えて、受動性、眼裂に抑制的影響および振戦、痙攣が認められた。500 mg/kg群の雌雄で、投与後2~6時間に警戒性、身づくろい、いらだち、反応性、疼痛反応、体姿勢、握力に抑制的影響、触反応に亢進、また、異常歩行および挙尾反応が認められた。500 mg/kg群では、250 mg/kg群以上の雄に観察された振戦、痙攣が雌にも認められた。また、500 mg/kg群の雄で上記の症状に加えて驚愕反応、散瞳、流涎が認められた。125 mg/kg群では、雌雄いずれの動物にも異常は認められなかった。

2) ラットの一般状態

供試動物： Crl:CD(SD)系雌雄ラット、6週齢(体重 雄 169~194 g、雌 129~146 g)、1群雌雄各6匹

方法： 動物を17~21時間絶食させ、検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して0、250、500、750 mg/kg(容量として10 mL/kg)の用量で単回強制経口投与し、多次元観察法に準じて検体投与前および投与後2、4、6、24、48時間時に一般状態および行動を観察した。

結果： 500 mg/kg以上の投与群の雌雄で投与後2~6時間に、受動性、身づくろい、反応性、自発運動、体姿勢、呼吸数、眼裂に抑制的影響、また驚愕反応が認められた。500 mg/kg以上の投与群の雄ではさらに正向反射、筋緊張の抑制的影響、触反応の亢進、また異常歩行、振戦、攣縮、痙攣が認められ、雌では警戒性に抑制的影響が認められた。750 mg/kg群雌雄では投与後2~24時間に、握力の抑制的影響および流涎が認められた。750 mg/kg群では、500 mg/kg以上の群の雄で観察された触反応の亢進、異常歩行、振戦、攣縮、痙攣、流涎が雌にも認められ、また雌で観察された警戒性の抑制的影響が雄にも認められた。750 mg/kg群雄では疼痛反応に抑制的影響、いらだちの亢進および散瞳が、同群雌では位置視覚、筋緊張の抑制的影響および流涎が認められた。

250 mg/kg群では、雌雄いずれの動物にも異常は認められなかった。

(2) 中枢神経系に及ぼす影響

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

1) マウスの自発運動量

供試動物： Cr1j:CD1(ICR)系マウス、6週齢（体重 26.8～32.8 g）、1群雄6匹
方 法： 動物を3～5時間絶食させ、検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して0、125、250、500 mg/kg（容量として10 mL/kg）の用量で単回強制経口投与し、ただちに動物を1匹ずつ入れたケージを自発運動測定装置に乗せ、その後15分間隔で投与後360分までの運動量および投与後23時間から24時間までの運動量を測定した。各投与後時間直前の15分間の運動量を、各投与後時間における運動量とした。

250 mg/kg以上の投与群では投与後1時間で統計学的に有意な自発運動量の減少が認められ、検体投与の影響と考えられた。

125 mg/kg群では、検体投与の影響は認められなかった。

2) マウスの痙攣増強作用

供試動物： Cr1j:CD1(ICR)系マウス、6週齢（体重 28.2～36.0 g）、1群雄各6匹
方 法： 動物を3～5時間絶食させ、検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して0、125、250、500 mg/kg（容量として10 mL/kg）の用量で単回強制経口投与し、1時間後にペンチレンテトラゾール50 mg/kgを腹腔内投与した。以後、30分間にわたって間代性痙攣、強直性痙攣および死亡の有無を観察した。

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

500 mg/kg 群で強直性痙攣の発生頻度が統計学的に有意に増加した。また、統計学的有意差は認められなかったものの、250 mg/kg 以上の投与群では強直性痙攣および死亡が認められた。

125 mg/kg 群では、検体投与の影響は認められなかった。

(3) 呼吸・循環器系に及ぼす影響

1) ラットの血圧・心拍数に対する作用

供試動物： Cr1:CD(SD)系雄ラット、7~8 週齢 (体重 205~247 g)、1 群雄 6 匹

方 法： 動物を 17~21 時間絶食させ、検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して 0、250、500、750 mg/kg (容量として 10 mL/kg) の用量で単回強制経口投与し、投与前および投与後 2、4、6、24 時間時に収縮期血圧、心拍数に対する影響を調べた。

500 mg/kg 以上の投与群において、心拍数が対照群と比べて統計学的に有意に低下し、検体投与の影響と考えられた。

250 mg/kg 群では検体投与の影響は認められなかった。

2) ラットの呼吸数に対する作用

供試動物： Cr1:CD(SD)系雄ラット、7~8 週齢 (体重 245~270 g)、1 群雄 6 匹

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

方 法： 動物を 17～21 時間絶食させ、検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して 0、250、500、750 mg/kg (容量として 10 mL/kg) の用量で単回強制経口投与し、投与前および投与後 2、4、6、24 時間時に呼吸数を測定した。

500 mg/kg 群の呼吸数は、投与後 2～6 時間に対照群と比べて統計学的に有意に減少した。750 mg/kg 群でも投与後 2 時間に呼吸数が統計学的に有意に減少した。同群では投与後 4～6 時間に 1 例、投与後 6～24 時間に 3 例が死亡した。250 mg/kg 群では、検体投与の影響は認められなかった。

(4) 腎機能に及ぼす影響

供試動物： 初回試験；Cr1:Cd(SD)系雄ラット、7～8 週齢 (体重 217～246 g)、1 群雄 6 匹

追加試験；Cr1:Cd(SD)系雄ラット、7～8 週齢 (体重 225～249 g)、1 群雄 6 匹

方 法： 動物を 17～21 時間絶食させ、検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して 0、250、500、750 mg/kg (容量として 10 mL/kg) の用量で単回強制経口投与し、投与後ただちに 37℃に加温した生理食塩水を 25 mL/kg の割合で経口投与し、1 匹ずつ代謝ケージに収容し 6 時間後に採尿して尿量、比重、pH、尿中の Na⁺、K⁺および Cl⁻を測定した。

その結果、250 mg/kg 群においても検体投与の影響がみられたことから、初回試験と同様の方法で、0、10、50 mg/kg の用量で追加試験を実施した。

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

なお、750 mg/kg 群では投与後 6 時間までに 3 例が死亡したため、得られたデータは参考値とし、統計処理は実施しなかった。

250 および 500 mg/kg 群で、尿量、pH が対照群と比べて統計学的に有意に増加した。さらに 500 mg/kg 群で尿中 Na⁺排泄量が、250 mg/kg では尿中 K⁺排泄量が対照群と比べて統計学的に有意に増加した。750 mg/kg 群の生存例 3 例の尿中 Na⁺排泄量は、500 mg/kg 群と同様に高値であった。250 mg/kg 群で認められた K⁺排泄量の高値は、500 mg/kg 群で認められていないことより検体投与の影響ではないと考えられた。

上記のように最初の試験では無作用量が求められなかったため、追加試験を実施した。

10 mg/kg 以上の投与群で、Cl⁻排泄量 (mEq/mL) が統計学的に有意に増加したが、より高用量で実施した初回試験では、いずれの投与群においても Cl⁻排泄量に検体投与の影響は認められなかったこと、および初回試験での対照群の測定値以下であったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。
その他、いずれの項目にも検体投与の影響は認められなかった。

(5) 血液系に及ぼす影響 (溶血作用)

供試動物： Cr1:CD(SD)系雄ラット、8 週齢 (体重 247~284 g)、1 群雄 6 匹

方 法： 動物を 17~21 時間絶食させ、検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して 0、250、500、750 mg/kg (容量として 10 mL/kg) の用量で単回強制経口投与し、1 時間後にペントバルビタール麻酔下で、腹部大動脈より 2.5 mL 採血した。

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

採血した血液をヘパリン処理して血漿を得た。得られた血漿を、生理食塩水を用いて5倍希釈し、分光光度計で吸光度を測定して溶血性を調べた。

検体投与群の吸光度は対照群と同様で、統計学的有意差は認められなかった。

(6) まとめ

以上、本剤の急性中毒症状発症の可能性及び急性中毒症の性格を明らかにするため、本試験を行った。

マウスでは、250 mg/kg 以上の投与群に自発運動、正向反射および自発運動量の減少が認められ、これらに加え同群雄に受動性、眼裂の抑制的影響、振戦および痙攣が認められた。また、ペンチレンテトラゾールを後処理した場合 250 mg/kg 以上の投与群で、強直性痙攣、死亡が認められた。500 mg/kg 群では、警戒性、身づくろい、いらだち、反応性、疼痛反応、体姿勢、握力の抑制的影響、触反応の亢進、異常歩行、挙尾反応が認められた。これらに加え、同群雄に驚愕反応、散瞳および流涎が、雌に振戦および痙攣が認められた。

ラットでは、250 mg/kg 以上の投与群で尿量、尿 pH、尿中電解質(Na⁺、K⁺)の増加が認められた。500 mg/kg 以上の投与群では、受動性、身づくろい、反応性、自発運動、体姿勢、呼吸数、眼裂の抑制的影響、驚愕反応、心拍数の減少、呼吸数の減少が認められた。これらに加え、同群雄に警戒性、正向反射、筋緊張の抑制的影響、触反応の亢進、異常歩行、振戦、攣縮、および痙攣が認められた。750 mg/kg 群では、握力の抑制的影響、筋緊張および流涎が認められた。これらに加え、同群雄で警戒性、位置視覚、疼痛反応の抑制的影響、いらだちの亢進および散瞳が、雌で触反応の亢進、異常歩行、振戦、攣縮、痙攣および流涎が認められた。

以上の試験結果より、本検体を大量に摂取しない限り、急性中毒の発現する可能性は低いと推察された。

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

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

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

(14) その他の試験

1) げっ歯類における肝臓腫瘍の発生機序

(資料No.1.27-1)

試験機関:

報告書作成年:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

総括すると、本剤投与で認められた変化はCAR介在性発生機序に一致する。また、本剤をげっ歯類へ肝臓発がん用量以下で投与しても肝臓に腫瘍性病変の増加は認められないが、マウスでは750 ppm (79.6 mg/kg/日)、ラットでは500 ppm (21.3 mg/kg/日) をげっ歯類に投与すると、肝臓腫瘍性病変の増加が認められる。同様の発生機序を示すPBがヒトの肝臓発がん物質ではないことから本剤の発がん性に関するヒトへのリスクは極めて小さいと考えられる。

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

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

2) ラットにおける精巣間細胞腫瘍の発生機序

(資料No.1.27-2)

試験機関：

報告書作成年：

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

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

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

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

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

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

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

3) ラットを用いた微量透析法試験

(資料No.1.27-3)

試験機関：

報告書作成年：

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

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

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

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

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

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

ラットに認められた精巣間細胞腺腫（ライディッヒ細胞腫）に関する申請者の考察

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

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

結論

本試験で得られたデータに基づき、ラットを用いた慢性/発がん性試験で認められた精巣間細胞腺腫は、慢性的なドーパミン流出の増強を介しており、その結果、下垂体からの黄体刺激ホルモン流出が阻害され、きわめて感受性が高い動物モデルであるFischer 344ラットに最終的にドーパミン作動/増強作用を示す作用機序によって誘発されたことは妥当であると考えられる。この作用機序による発がん性はヒトへの関係が低いとされている。加えて、本試験におけるホルモン量の変化に関する所見は、当該試験で認められた精巣間細胞腺腫がホルモン介在性であり、閾値が認められる変化であることを支持している。

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

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

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

3) ラットを用いた交叉哺育試験

(資料No.1.28)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

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

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

結果：概要を後記の表に示した。

1000 ppm群の母動物では体重、体重増加量および摂餌量に投与に関連した影響が認められた。これらは、繁殖毒性試験（資料No.1.18）および催奇形性予備試験（資料No.1.19-1）の同用量で認められた影響と一致した。哺育児の親化合物の血漿中濃度は相互に酷似しており、母動物の血漿中濃度と同様であった。同群の母動物の哺育0日における乳汁中濃度は、対応する血漿中濃度の約半分であった。

出産前に検体1000 ppmを投与した母動物から得られた児動物は、対照群の里親に養育されたか、投与群の里親に養育されたかにかかわらず、出生後4日までに全例が死亡した。生存率の低下に符合して、児動物には低体温、蒼白、自己融解、喰殺および胃内乳汁が認められないものが観察された。一方、出生後にのみ検体に暴露された場合は、新生児の生存には影響は認められなかった。さらに、出生前に暴露された児動物では、哺育1日において体重に低値がみられた。以上のデータより、哺育児の生存率に対する検体の影響は、哺乳によるものではなく、子宮内暴露に起因するものであることが示された。

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

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

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

4) ウサギにおける新生児生存率に及ぼす影響

(資料No.1.29)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

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

以上の結果より、母動物には750 ppm投与群で平均体重増加量および摂餌量の低値、ならびにこれに対応した臨床所見として糞排泄の減少が認められたが、児動物の出生後の生存率および一般状態には検体に関連した影響は認められなかった。

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

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

5) 哺乳類ニコチン・アセチルコリン受容体に対するアゴニスト試験

(資料No.1.30)

試験機関：

報告書作成年：

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

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

以上、本剤はラット胎児筋肉のnACh受容体のアゴニストであることが示された。これに反して、本剤はヒト胎児筋肉のnACh受容体もしくは成獣ラットやヒト成人の筋肉nACh受容体にはアゴニスト作用を示さなかった。これらの知見により、スルホキサフロルの選択的アゴニスト作用は、サブユニットにおけるラットとヒト、あるいは胎児型と成獣型のアミノ酸配列の差によるものと考えられる。

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

6) ラットにおける胎児異常および新生児生存率に対する影響（暴露の臨界期検討試験1）

（資料No.1. 31）

試験機関：

〔GLP対応〕

報告書作成年：

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

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

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

本試験は、スルホキサフロルによって誘発された胎児異常および新生児生存率の低下に対する発生的感受性の臨界期が妊娠16日から出産までの間にあり、胎児異常のすべてが出生後速やかに回復することを示した。また、これらの結果は、妊娠期間のこの時期に機能発現が発達する胎児筋肉のニコチン性アセチルコリン受容体に対する薬理作用によって、胎児異常および新生児生存率の低下を誘発するという仮説を支持するものである。

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

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

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

7) ラットにおける胎児異常および新生児生存率に対する影響（暴露の臨界期検討試験 2）

（資料No.1.32）

試験機関：

〔GLP対応〕

報告書作成年：

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

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

本試験は、スルホキサフロルによって誘発された胎児異常および新生児生存率の低下に対する発生学的感受性の臨界期が出産直前（妊娠21または22日）にあり、胎児異常のすべてが出生後速やかに回復することを示した。また、これらの結果は、妊娠期間のこの時期に機能発現が発達する胎児筋肉のニコチン性アセチルコリン受容体に対する薬理作用によって、胎児異常および新生児生存率の低下を誘発するという仮説を支持するものである。

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

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

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

8) ラット新生児の横隔神経一片側横隔膜に対する影響試験

(資料No.1.33)

試験機関：

報告書作成年：

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

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

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

このように、筋肉機能や神経筋伝達に非可逆的な影響がないことから、検体の作用は可逆的であると考えられる。本剤の添加を延長した間、持続的な拘縮が認められたことから、拘縮に付随した横隔膜神経誘発性の筋攣縮の減少は、実験動物での呼吸筋肉阻害 (Patonら、1951年) とよく一致しており、*in vivo*の毒性試験 (資料No.1. 18、1. 19、1. 28、1. 31、1. 32) でみられた新生児の生存率減少のメカニズムであり、また、このことが*in vivo*で見られた胎児肢の屈曲 (資料No.1. 19、1. 31、1. 32) のメカニズムであることが示唆される。

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

9) ラット催奇形性試験における胎児肺試料の病理組織学的検査

(資料No.1.34)

試験機関：

報告書作成年：

催奇形性試験における対照群および1000 ppm群の胎児を対象として、気管および肺の病理組織学的検査を行った結果、ラット新生児死亡の原因と判断される形態学的異常は認められなかった。

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

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

ラットで認められた新生児死亡と胎児異常に関する申請者の考察

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

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

以上、本剤暴露によるラットの新生児死亡と胎児異常に関して、作用機序を調べるため一連のメカニズム試験を実施した。その結果、スルホキサフロルは、

- (1) ラット胎児のニコチン・アセチルコリン受容体(nAChR)に結合、
 - (2) 受容体を活性化させ、筋肉拘縮を誘導する。
 - (3) そして暴露が持続すれば、持続的な筋肉拘縮も生じる。
 - (4) 横隔膜拘縮は胎児の呼吸障害を起こし、新生児の死亡が増加する。
 - (5) また、胎児の筋肉拘縮は、四肢の異常、屈曲鎖骨などの胎児異常を引き起こす。
- ことが判明し、繁殖毒性試験とラット催奇形性試験で認められた所見は、以上の作用機序で生じることが強く示唆された。

以上の事象が発現するのは、ラット妊娠動物を妊娠21から22日に暴露した場合のみで、この時期はラット胎児のアセチルコリン受容体の発現と一致している。本剤は、ラット成獣、ウサギ、あるいはヒトには影響はなく、種差が認められた。したがって、ラット胎児でみとめられた異常がヒトに起こる可能性は極めて低いと判断される。

2. 原体中混在物及び代謝物

(1) 急性毒性

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料No.2.1)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

試験動物： F344/DuCr1 ラット (開始時約 9~10 週齢) 1 群雌 1~3 匹
(体重 雌 122~137 g)

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 上げ下げ法

投与方法： 検体(液体)をそのまま、単回強制経口投与した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間毎日観察した。

死亡動物および試験終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♀ : 1000、2000、5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	♀ : 2000 (639.6~5310)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 3 時間に開始 投与当日に終了
症状発現及び消失時間	投与後 30 分後に発現 投与後 2 日目に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	—
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	1000

1000 mg/kg 群では、2/2 例で投与後 30 分から活動の低下および立毛が認められ、投与後 6 時間までに消失した。2000 mg/kg 群では 2/3 例が投与当日に死亡し、それらの死亡動物では、死亡前に活動の低下、異常姿勢、立毛がみられた。同群の生存動物 1/3 例では、投与後 30 分で活動の低下、円背姿勢、立毛、糞排泄量の減少が認められ、投与後 2 日までに消失した。5000 mg/kg 群の 1 例は投与後 3 時間以内に死亡した。死亡前には腹臥姿勢、眼の分泌物が認められた。

肉眼的病理検査では生存例で異常所見は認められなかった。死亡例では、2000 および 5000 mg/kg 群で、腸の赤色化が認められた。

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

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料No.2.2)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

試験動物： F344/DuCr1 ラット (開始時約 9~10 週齢) 1 群雌 1~3 匹
(体重 雌 124~131 g)

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 急性毒性等級法

投与方法： 検体を、蒸留水に懸濁し、単回強制経口投与した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間毎日観察した。

試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♀： 2000、5000
LD50 (mg/kg)	♀： >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	投与後 3 時間に発現 投与後 2 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

死亡は認められなかった。2000 mg/kg 群では、異常症状は認められなかったが、5000 mg/kg 群では、投与後 3 時間から 3/3 例に、流涎、鼻汁、肛門・生殖器の着色・汚れ、粘液、歩行異常、姿勢異常、立毛、排便が認められ、投与後 2 日に消失した。肉眼的病理検査ではいずれの動物にも異常は認められなかった。

のラットにおける急性経口毒性試験 (資料No.2.3)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度:

試験動物: F344/DuCr1 ラット (開始時約 9~12 週齢) 1 群雌 1~3 匹
(体重 雌 120~145 g)

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 上げ下げ法

投与方法: 検体を 0.5% メチルセルロース溶液に懸濁して、単回強制経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間毎日観察した。

死亡動物および試験終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♀: 320、1000、2000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	♀: 565.7 (320~1000)
死亡開始時間及び終了時間	投与当日に開始 投与後 3 日に終了
症状発現及び消失時間	投与後 1 時間に発現 投与後 2 日目に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	320
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	320

320 mg/kg 群では死亡、異常な臨床症状および肉眼的病理所見は認められなかった。1000 mg/kg 群では全動物が投与後 2 日以内に死亡した。また、1/3 例で投与 5 時間半後に粘液が、2/3 例で投与 5 時間半後と 1 日目に唾液の過剰分泌および 1 時間後から 5 時間半後にかけて立毛が、全動物で 2 時間後から 1 日目にかけて徐呼吸、1 時間後から 1 日目にかけて運動亢進、活動低下が、2 時間後から 1 日目にかけて異常姿勢が、2/3 例で 3 時間後から 5 時間半後にかけてわずかな震顫が、2/3 例で 2 時間後から 1 日目にかけてわずかな歩行障害が観察された。2000 mg/kg 群の 1 例は投与後 1 日以内に死亡し、死亡前に活動低下および異常姿勢が認められた。

肉眼的病理検査では、1000 mg/kg 群の全例で腸の赤色/黒色化および肝臓の退色が、2000 mg/kg 群の 1 例で腸の赤色変化が認められた。

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

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料No.2.4)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

試験動物： F344/DuCr1 ラット (開始時約 8~12 週齢) 1 群雌 5 匹
(体重 雌 124~136 g)

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 上げ下げ法

投与方法： 検体を 0.5% メチルセルロース溶液に懸濁して、単回強制経口投与した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間毎日観察した。

試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♀ : 2000
LD50 (mg/kg)	♀ : >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	投与後 3 時間に発現 投与後 2 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	—
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

死亡は認められなかった。2000 mg/kg 群の 1/5 例では、投与後 1 時間に立毛が認められたが、投与後 2 日に消失した。肉眼的病理検査ではいずれの動物にも異常は認められなかった。

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料No.2.5)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

試験動物： F344/DuCr1 ラット (開始時約 8~12 週齢) 1 群雌 5 匹
(体重 雌 123~136 g)

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 上げ下げ法

投与方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース溶液に懸濁して、単回強制経口投与した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間毎日観察した。

試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♀ : 2000
LD50 (mg/kg)	♀ : >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	投与後 5 時間に発現 投与後 2 日で消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	—
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

死亡は認められなかった。2000 mg/kg 群の 2/5 例が、投与後 5 時間に立毛が認められたが、投与後 2 日に消失した。肉眼的病理検査ではいずれの動物にも異常は認められなかった。

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

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

のラットにおける急性経皮毒性および皮膚刺激性試験

(資料No.2.6)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

試験動物： F344/DuCr1 ラット (開始時約 9 週齢)

1 群雌各 3 匹 (体重 雌 136.2~148.0 g)

試験期間： 5 日間観察

方法： 検体を 0.5% メチルセルローズ溶液に懸濁して、1000 mg/kg の用量で剃毛した範囲 (体表の約 10%) に 24 時間閉鎖塗布した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 3 日間毎日観察した。暴露前および試験終了時に動物の体重を測定した。試験終了時、全動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♀ : 1000
LD50 (mg/kg)	♀ : >1000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	毒性症状は認められなかった
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	1000
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	1000

死亡例はなかった。毒性症状、異常行動も認められなかった。肉眼的病理検査においても異常は認められなかった。

以下に皮膚刺激性について皮膚評点を示す。

動物番号	項目	最高評点	暴露後時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
08A	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
0245	浮腫	4	0	0	0	0
08A	紅斑・痂皮	4	2	0	0	0
0246	浮腫	4	2	0	0	0
08A	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
0247	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	4	0	0	0
	浮腫	12	2	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.3	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4	0.7	0.0	0.0	0.0

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

検体除去後、1 時間以内に全例で軽微から軽度の紅斑、および 1 例に軽度の浮腫が認められたが、48 時間には消失した。

以上より、本検体の急性経皮 LD50 は 1000 mg/kg 以上であり、軽度の皮膚刺激性があるものと考えられた。

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

のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No.2.6)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体の純度：

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ、1群雌1匹 (体重 2.663 kg)

試験期間： 72時間観察

方法： 検体 0.069 g (0.1 mL 重量相当) を動物の右眼の結膜のう内に適用した。

観察項目： 検体適用後 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。暴露前および試験終了時に動物の体重を測定した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

なお、判定は Draize 法によった。

項目				最高 評点	適用後時間				
					1時間	24時間	48時間	72時間	
非 洗 眼 群	動物番 号	角膜 混濁	程度 ^a	4	0	0	0	0	
			面積 ^b	4	0	0	0	0	
	8A0348	結膜	虹 彩 ^c	2	0	0	0	0	
			発赤 ^d	3	1	0	0	0	
			浮腫 ^e	4	1	0	0	0	
			分泌物 ^f	3	1	0	0	0	
	合計*				110	6	0	0	0
	平均				110	6	0	0	0

* : Draize法による評価点 = (a x b) x 5 + c x 5 + (d + e + f) x 2 (最高110点)

適用後 1 時間に軽度の結膜発赤、浮腫、分泌物が認められたが、24 時間後の観察では全例が回復した。

以上の結果より、本検体は軽度の眼刺激性を有するものと考えられた。

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

(3) 感作性

のマウスを用いた皮膚感作性試験

(資料No.2.7)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度 :

試験動物 : CBA/J 系マウス 雌、9~12週齢 (体重 雄19.9~24.1 g) 雄各群6匹

試験期間 : 3日間、観察期間 3日間

方法 : [局所リンパ節試験]

マウスの耳介に検体を局所適用して耳介リンパ節でのリンパ球増殖反応を計測する局所リンパ節試験 (LLNA) を実施した。

一群 6 匹の雌マウスに、適用当日 (試験 1 日) から 3 日後まで毎日 1 回、50% 検体および溶媒 (DMSO) を適用した。試験 6 日に、³H-チミジンを投与してから 5 時間後に、適用部位に開口している耳介リンパ節内への ³H-チミジンの取り込みを測定し、動物当たりの毎分壊変数 (disintegrations per minute, dpm) として表した。また、刺激指数 (Stimulation Index, SI) は以下の計算式で算出した。

$$SI = \frac{\text{各動物の毎分壊変数 (dpm)}}{\text{溶媒対照群の平均毎分壊変数 (dpm)}}$$

局所リンパ節試験において、SI 値が 3 以上は皮膚感作性陽性物質とされている。

投与量設定根拠 :

観察項目 : 全動物を毎日 2 回、ケージサイドから観察し、以下の項目を評価した ; 皮膚、被毛、粘膜、呼吸、神経系機能 (振戦、痙攣など)、行動、瀕死、死亡。試験開始前および終了時に全動物の体重を測定した。また、検体適用前および ³H-チミジン投与前に以下の基準に従って耳介の紅斑について評価した。

紅斑の評点

	評点
肉眼的変化なし	0
軽度の紅斑 (かすかに判別可能)	1
明瞭な紅斑	2
中等度から重度の紅斑	3
痂皮形成	4

結果 : 結果を下表に示す。

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

検体適用群の SI は、対照群との間に差は認められなかった。また、検体適用群では、耳介に紅斑は認められず、体重にも影響はなかった。

以上の結果から、本検体の皮膚感作性は、本試験条件下では陰性であると判断された。

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

(4) 反復経口投与毒性

1) のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.2.8)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度:

試験動物: F344/DuCr1 雌雄ラット、1群各5匹、試験開始時約6週齢

投与期間: 28日間 (2009年12月22日～2010年1月19日)

投与方法: 検体を0、1000、3000および8000 ppmの用量で飼料に混入し、28日間にわたって随時摂食させた。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・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および動物の生死を毎日観察し、週1回以下の詳細な症状観察を行った; 動作・行動の異常、動物の取扱操作に対する抵抗、眼瞼閉鎖、瞳孔の大きさ、流涙、流涎、筋緊張、伸筋衝動反応、刺激性に対する反応、異常行動、眼の異常、排泄状態、胃腸の異常、四肢欠損、筋肉の異常運動、腫瘍・腫脹、姿勢・体位、繁殖器官の異常、呼吸、皮膚、被毛、粘膜、過度の汚れ、その他の異常、歩行異常。
投与期間中死亡は認められなかったいずれの動物にも検体投与に関連した所見は認められなかった。

体重変化; 投与開始前、投与期間中は投与開始後3、7、14、21および28日に全動物の体重を測定した。

主な測定日における平均体重 (g)を次表に示す。

8000 ppm群の雌で投与開始後最初の3日間に体重の減少が見られたが、一時的な摂餌量減少によるものと解釈された。8000 ppm投与群の雄と雌の29日目までの平均体重は、統計学的有

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

意差は認められなかったものの、それぞれ対照群に比較して4%および2%低かった。これらの動物は試験期間後半に体重増加量が向上したことにより、試験終了時には対照群と同等の体重まで回復した。

摂餌量；投与開始前4から1日、投与期間中は1週目に2回、その後は週1回、全動物の摂餌量を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

8000 ppm群の雌雄で、投与開始後3日間の摂餌量が、対照群に比較して雄で12%、および雌で13%低く、雄では統計学的有意差が認められた。3000 ppm以下の投与群では、投与に関連した摂餌量への影響は認められなかった。この期間の摂餌量が低かったのは、投与飼料に対する嗜好性が減退したことに原因があると考えられる。

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)		1000	3000	8000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	79	236	622
	雌	82	244	649

眼科学的検査；投与開始前および与終了前に全動物を対象として眼科学的検査を実施した。

検体投与に関連した所見は認められなかった。

血液学的検査；剖検時に全動物を対象として、二酸化炭素/酸素麻醉下で後眼窩静脈から採血し、以下の項目を測定した。採血前に一晚絶食させた。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、白血球数、白血球ディファレンシャルカウント、血小板数、網赤血球数、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、プロトロンビン時間

検体投与の影響は認められなかった。

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

アルカリホスファターゼ(ALP)、アラニントランスアミナーゼ(ALT)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ(AST)、ガンマ-グルタミルトランスペプチダーゼ(GGT)、アルブミン(ALB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、コレステロール、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、リン、カルシウム、塩素、グロブリン(算出値)、グルコース(GLU)、総ビリルビン、総蛋白、トリグリセリド、尿素窒素(BUN)。

検体投与の影響は認められなかった。

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

尿検査；剖検前に全動物から採取した尿について以下の項目を検査した。

色、外観、尿比重、尿量、pH、ビリルビン、糖、蛋白、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量；剖検時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、心臓、副腎、肺および気管支、精巣、精巣上体、胸腺、脾臓
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

8000 ppm群の雌雄の最終体重は、対照群に比較してわずかに低値であった。8000 ppm群の雄では、平均肝重量が絶対重量、体重比ともに、対照群に比較してわずかに高かったが、統計学的有意差は認められなかった。8000 ppm投与群の雌の肝重量は対照群に比較してわずかに高く、体重比では統計学的有意差が確認された。3000 ppm投与群の雌では同様の差異が観察されなかった。投与群間で肝重量に用量反応相関関係が認められなかったこと、肝臓において関連する組織学的相関が認められなかったことから、8000 ppm投与群の雌の肝重量の差異は、投与に関連しないと判断された。

肉眼的病理検査；剖検時に全動物を対象として詳細な剖検を行った。

いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物のうち、対照群および8000 ppm群の雌雄ならびに試験途中で死亡した動物について眼（視神経を含む）と精巣を除く以下の組織の病理標本を、中性緩衝ホルマリンで固定した。眼と精巣はDavidsonの固定液に固定した。固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施してパラフィン固定して作製し、顕微鏡観察を実施した。

副腎、大動脈、骨、骨髄、脳（大脳、脳幹、小脳、延髄／橋）、精巣上体、食道、眼と視神経、リンパ節、消化管、心臓、関節、腎臓、外涙腺／ハーダー腺、十二指腸、盲腸、結腸、回腸、空腸、喉頭、肝臓、肺と気管支、縦隔リンパ節、腸間膜リンパ節、腸間膜組織、乳腺（雌のみ）、鼻腔組織、口腔組織、卵巣、卵管、脾臓、咽頭、下垂体、前立腺、唾液腺、骨格筋、皮膚および皮下、精囊、直腸、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、気管、子宮、尿管、膀胱、膣、肉眼的異常部。

1000、3000 ppm群の動物については、肉眼的異常部位および肝臓の病理組織標本作製し、顕微鏡観察を実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本検体のラットに対する飼料混入投与による28日関反復投与毒性試験でいずれの投与群においても悪影響は認められなかったことから、本試験における無毒性量（NOEL）は雌雄とも8000 ppm（雄 622 mg/kg/日、雌 649 mg/kg/日）と判断された。

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

2) の ラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.2.9)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度 :

試験動物 : F344/DuCr1 雌雄ラット、1群各10匹 (免疫毒性陽性対照群は雌雄各5匹)、
試験開始時6週齢、体重 (雄 116.4~150.6 g、雌 97.2 ~117.0 g)

投与期間 : 90日間 (2009年5月7日~2009年8月7日)

投与方法 : 検体を0、500、1000および5000 ppmの用量で飼料に混入し、90日間にわたって随時摂食させた。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・検査項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 一般状態および動物の生死を毎日観察し、週1回全動物を対象として、以下の項目で詳細な症状観察を行った ; 動作・行動の異常、動物の取扱操作に対する抵抗、眼瞼閉鎖、瞳孔の大きさ、流涙、流涎、筋緊張、伸筋衝動反応、刺激性に対する反応、異常行動、眼の異常、排泄状態、胃腸の異常、四肢欠損、筋肉の異常運動、腫瘍・腫脹、姿勢・体位、繁殖器官の異常、呼吸、皮膚、被毛、粘膜、過度の汚れ、その他の異常、歩行異常。

投与期間中死亡は認められなかったが、対照群の雌 1 例を採血中の眼の外傷により切迫屠殺した。いずれの動物にも検体投与に関連した所見は認められなかった。

体重変化 ; 投与開始前、投与期間中は週 1 回、全動物の体重を測定した。

主な測定日における平均体重 (g) および雌の対照背景値を次表に示す。

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

1000 ppmおよび5000 ppm群の雄の体重は、投与期間を通して対照群と同等またはわずかに増加し、線形対比 ($\alpha=0.02$) で有意差が認められた。1000 ppmおよび5000 ppm群の雌の体重は、投与期間を通して対照群と同等またはわずかに減少し、線形対比 ($\alpha=0.02$) で有意差が認められた。雄における差は正常な変動範囲内と考えられ、雌は対照群の体重が対照背景値より重かったことが原因と考えられ、いずれも毒性学的意義はないと考えられた。

摂餌量；投与開始前、投与期間中は週1回、全動物の摂餌量を測定した。
対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

500 ppm群の雌において投与85～91日間の摂餌量が対照群より有意に低下したが、体重への影響はなく、用量との相関性もないことから毒性学的意義はないと考えられた。1000 ppm群および5000 ppm群に異常はなかった。

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)		500	1000	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	32.2	65.3	327
	雌	35.2	71.8	352

眼科学的検査；投与開始前に全動物を、投与終了前に免疫毒性陽性対照群を除く全動物を対象として間接検眼鏡を用いて眼科学的検査を実施した。
検体投与に関連した所見は認められなかった。

機能検査；投与開始前および投与終了週に全動物を対象として以下の機能検査を実施した。
感覚検査（ティルピンチ（痛覚）反応）、驚愕反応（音に対する反応）、直腸温、握力、運動量（8分×6回）。
いずれの検査項目についても検体投与の影響は認められなかった。

血液学的検査；剖検時に免疫毒性陽性対照群を除く全動物を対象として、二酸化炭素/酸素麻醉下で後眼窩静脈から採血し、以下の項目を測定した。採血前に一晩絶食させた。
ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、白血球数、白血球分画、血小板数、網赤血球数、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、プロトロンビン時間

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

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

1000 ppm群の雌雄において白血球数が有意に増加したが、5000 ppm群に影響はみられないことから毒性学的意義はないと考えられた。その他の検査項目にも変化はなく、検体投与の影響は認められなかった。

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

アルカリホスファターゼ (ALP)、アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)、ガンマ-グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT)、アルブミン (ALB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、コレステロール、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、リン、カルシウム、塩素、グロブリン (算出値)、グルコース (GLU)、総ビリルビン、総蛋白、トリグリセリド、尿素窒素 (BUN)。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

5000 ppm群の雌雄においてコレステロール値が有意に増加し、これは投与による影響と考えられた。

その他の検査項目に検体投与の影響は認められなかった。

尿検査；剖検前に免疫毒性陽性対照群を除く全動物から採取した尿について以下の項目を検査した。
色、外観、尿比重、尿量、pH、ビリルビン、糖、蛋白、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈査。

いずれの検査項目にも検体投与に関連した変化は認められなかった。

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

臓器重量；剖検時に免疫毒性陽性対照群を除く全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、心臓、副腎、精巣、精巣上体、子宮、卵巣、胸腺、脾臓、甲状腺および上皮小体

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目および背景データを下表に示す。

5000 ppm群の雄において肝臓の絶対重量および対体重比が増加した。病理組織学検査において肝臓の肥大等が観察されていることから投与の影響と考えられた。

また、5000 ppm群の雄において副腎および甲状腺の絶対重量および対体重比が増加したが、その重量は対照背景値の範囲内またはわずかに高い程度であり、関連する組織学的異常もないことから投与の影響ではないと考えられた。

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

肉眼的病理検査；剖検時に免疫毒性陽性対照群を除く全動物を対象として詳細な剖検を行った。
いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物のうち、対照群および5000 ppm群の雌雄ならびに試験途中で死亡した動物について以下の組織の病理標本を作製し、顕微鏡観察を実施した。

副腎、大動脈、耳介皮脂腺、骨（関節を含む）、骨髄、脳（大脳、脳幹、小脳）、盲腸、頸部、凝固腺、結腸、脳神経-視神経、十二指腸、精巣上体、食道、眼、心臓、回腸、空腸、腎臓、外涙腺/ハーダー腺、喉頭、肝臓、肺、乳腺（雌のみ）、縦隔リンパ節、縦隔組織、腸間膜リンパ節、腸間膜組織、鼻腔組織/咽頭、口腔組織、卵巣、卵管、膀胱、上皮小体、末梢神経（脛骨）、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精嚢、骨格筋、皮膚および皮下、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、膀胱、子宮、陰、肉眼的異常部位。

50、1000 ppm群の動物については、肉眼的異常部位および肝臓の病理組織標本を作製し、顕微鏡観察を実施した。

検体投与に関連すると考えられる所見とその程度を次表に示す。

5000 ppm 群の雄全例および雌 9/10 例に、軽微から軽度の小葉中心帯/中間帯肝細胞肥大（エオジン好性）が観察され、5000 ppm 群の雄 7/10 例に軽微な多巣性小葉中心性肝細胞壊死および軽微な多巣性肝細胞空胞化（脂肪変性）が観察された。これらは検体投与に起因すると考えられた。

500 ppm 群および1000 ppm 群に異常はなかった。

以上の結果から、本検体のラットに対する飼料混入による90日間反復経口投与試験の主な影響として、5000 ppm 群においてコレステロール値の増加、肝臓重量の増加、肝臓の組織学的病変の増加が認められた。したがって、本試験における無毒性量（NOAEL）は1000 ppm（雄 65.3 mg/kg/日、雌 71.8 mg/kg/日）と判断した。

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

3) のイヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. 2. 10)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度:

試験動物: ビーグル犬、1群雄4匹、入荷時5~6カ月齢 (馴化期間1週間)、投与開始時体重 7.65~8.95 kg

親化合物のイヌにおける90日間反復経口投与毒性試験 (資料No.1.11) において、雌に比し雄の血中濃度が高く毒性の感受性が高かったこと、および本検体のラットにおける28日間経口投与毒性試験において、雄の血中濃度が雌に比し高かったことから、本試験では雄動物のみを用いた。

投与期間: 90日間 (2009年10月30日~2010年1月28日)

投与方法: 検体を0.5%メチルセルロースに溶解し、0、10、25および50 mg/kg/日の濃度で90日間にわたって1日1回、10 mL/kgの投与容量で強制経口投与した。投与液は使用時に調製した。

投与量設定根拠;

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および動物の生死を1日2回観察し、週1回詳細な症状観察 (異常動作/行動、歩行状態、眼瞼閉鎖、姿勢性伸筋突伸反応、触覚反応性、眼球運動、瞳孔反応、流涙、流涎、筋緊張、視覚反応、観察者に対する反応、カテゴリー観察 (異常行動、眼の異常、糞尿の異常、消化管の異常、外傷、四肢損傷、異常筋運動、腫瘤/腫脹、異常姿勢、生殖器官の異常、異常呼吸、皮膚被毛粘膜の異常、過剰な汚れ) を実施した。投与期間中死亡は認められなかった。また、いずれの動物にも検体投与に関連した所見は認められなかった。

体重変化; 投与開始前および投与期間中は週1回、全動物の体重を測定した。いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量; 投与開始前および投与期間中は週1回、全動物の摂餌量を測定した。いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査; 投与第6週および第13週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。採血前に一晚絶食させた。

白血球数、白血球分画、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、網赤血球 (数および割合)、血小板数、血球形態、プロトロンビン時間。

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

10 mg/kg/日群では第6週時にヘマトクリット値が有意に増加し、25 mg/kg/日群では第6週時および13週時に網赤血球数または網赤血球の割合が有意に増加したが、いずれも高用量群に影響はみられないことから毒性学的意義はないと考えられた。その他の検査項目にも変化はなく、検体投与の影響は認められなかった。

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

アルカリフォスファターゼ (ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、総ビリルビン、総蛋白、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)、尿素窒素、総コレステロール、低比重リポタンパク、高比重リポタンパク、トリグリセリド、クレアチニン、ブドウ糖、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

10 mg/kg/日群では第6週および13週時に総蛋白が有意に増加し、25 mg/kg/日群では第13週時にナトリウム、総ビリルビンが有意に低下し、第6週および13週時にグロブリンが有意に増加した。いずれも高用量群に影響はみられないことから毒性学的意義はないと考えられた。その他の検査項目にも変化はなく、検体投与の影響は認められなかった。

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

尿検査；投与6週および13週時に全動物から採取した尿について以下の項目を検査した。

尿量、尿比重、pH、色、外観、蛋白、白血球、亜硝酸塩、糖、ビリルビン、ケトン体、
潜血、ウロビリノーゲン、尿沈査。

いずれの検査項目にも検体投与に関連した変化は認められなかった。

トキシコキネティクス検査；投与13週時に全動物を対象として、投与0.5、2、4および24時間後に頸
静脈から採血し、血漿を分離して検体の血漿中半減期を測定した。採血前の絶食は行わな
かった。

検体の血漿中半減期は、10 mg/kg/日群が 8.4 ± 2.4 時間、25 mg/kg/日群が 7.8 ± 1.0 時間、50
mg/kg/日群が 7.7 ± 1.1 時間であった。

臓器重量；剖検時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比、対脳重量比も算出
した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、上皮小体、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸
腺、甲状腺。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

50 mg/kg/日群において下垂体重量の対体重比が有意に低下し、10 mg/kg/日群において心
臓の絶対重量および対脳重量比、下垂体の絶対重量、対体重比、対脳重量比が有意に低下
した。いずれも用量との相関性はなく毒性学的意義はないと考えられた。その他の臓器に
も変化はなく、検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；剖検時に全動物を対象として詳細な剖検を行った。

いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物について以下の組織の病理標本を作製し、顕微鏡的観察を対照群および
50 mg/kg/日群について実施した。

副腎、大動脈、骨（大腿骨- 脛骨関節を含む）、骨（胸骨および肋骨、骨髄を含む）、骨
髄塗抹（大腿骨）、脳（大脳、中脳、小脳、脳幹/橋）、精巣上体、食道、眼（視神経を
含む）、胆嚢、心臓、腎臓、喉頭、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓、肺、リンパ節（縦
隔、腸間膜）、鼻甲介、神経（脛骨）、口腔粘膜、脾臓、咽頭、下垂体、前立腺、唾液腺
（下顎）、骨格筋（腓腹筋）、皮膚（および皮下）、小腸（十二指腸、回腸、空腸）、脊髄
（頸部、腰部、胸部）、脾臓、胃（噴門、胃底部、幽門）、精巣、胸腺、甲状腺および上
皮小体、舌、扁桃腺、気管、膀胱、肉眼的異常部位。

観察された病理組織学的所見を次表に示す。

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

検体投与に関連する所見は認められなかった。このため10、25 mg/kg/日群の動物については顕微鏡的観察を行わなかった。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する強制経口投与による90日間反復経口投与毒性試験でいずれの用量群においても投与に関連する所見は認められなかったことから、本試験における無毒性量（NOEL）は50 mg/kg/日と判断された。

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

4) のラットにおける28日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.2.11)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度 :

試験動物 : F344/DuCr1 雌雄ラット、1群各5匹、試験開始時7週齢

投与期間 : 90日間 (2010年9月8日～2010年10月7日)

投与方法 : 検体を0、100、300、1000および2000 ppmの用量で飼料に混入し、28日間にわたって随時授食させた。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・検査項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 一般状態および動物の生死を毎日観察し、週1回全動物を対象として、以下の項目で詳細な症状観察を行った ; 動作・行動の異常、動物の取扱操作に対する抵抗、眼瞼閉鎖、瞳孔の大きさ、流涙、流涎、筋緊張、伸筋衝動反応、刺激性に対する反応、異常行動、眼の異常、排泄状態、胃腸の異常、四肢欠損、筋肉の異常運動、腫瘤・腫脹、姿勢・体位、繁殖器官の異常、呼吸、皮膚、被毛、粘膜、過度の汚れ、その他の異常、歩行異常。

2000 ppm群の雌 1 例が剖検前の採血直後に死亡した。また、1000 ppm群の雄 1 例および2000 ppm群の雌 1 例が同じく採血直後蒼白になり安楽死させた。これら3例の動物を剖検したところすべてに、腋窩血腫が認められたことから、これらすべての動物の死因は採血した頸静脈からの出血死であると判断された。

いずれの動物にも検体投与に関連した所見は認められなかった。

体重変化 ; 投与開始後1週間は週2回、その後は週1回、全動物の体重を測定した。

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

1000 ppmおよび2000 ppm群の雌雄の体重および体重増加量は、投与期間を通して対照群と比べ統計学的に有意に減少し、検体投与の影響と考えられた。300 ppm以下の群では体重および体重増加量に検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量；投与開始前、投与期間中は週1回、全動物の摂餌量を測定した。
対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

1000 ppm以上の投与群の雌雄において、ほぼ投与期間を通して餌量が対照群より有意に低下し、同群の体重および体重増加量も減少したため、検体投与の影響と考えられた。300 ppm群の雌で投与1～4日の摂餌量が統計学的有意に減少したが、背景データの範囲内であり（群平均値：9.7g、背景データ：9.7～11.6 g）、その後の投与期間では当該群平均値は対照群と同等であったため検体投与の影響ではないと考えられた。100 ppm群に統計学的有意差は認められず、検体投与の影響も認められなかった。

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)		100	300	1000	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	7.7	23.1	74.0	140
	雌	8.5	24.9	77.2	152

眼科学的検査；投与開始前に全動物を、投与終了前に全動物を対象として間接検眼鏡を用いて眼科学的検査を実施した。

検体投与に関連した所見は認められなかった。

血液学的検査；剖検時に全動物を対象として、二酸化炭素/酸素麻醉下で後眼窩静脈から採血し、

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

以下の項目を測定した。採血前に一晩絶食させた。

ヘマトクリット、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球分画、血小板数、網赤血球数、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、プロトロンビン時間。

1000および2000 ppm群の雌雄において赤血球、ヘモグロビン量およびヘマトクリットが統計学的に有意に減少し、検体投与の影響と考えられた。300 ppm群においても雌雄で上記3項目で統計学的有意差が認められたが、減少幅は小さく、背景データの範囲内あるいはその付近であり、投与関連性の変化ではないと解釈された。血小板数が有意に増加したが、背景データの範囲内であったことから毒性学的意義はないと考えられた。

100 ppm群およびすべての投与群のその他の項目では統計学的有意差あるいは検体投与の影響は認められなかった。

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

アルカリフォスファターゼ (ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT)、アルブミン (ALB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、コレステロール、クレアチニン、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、カルシウム (Ca)、リン (P)、グロブリン (GLOB)、グルコース (GLU)、尿酸、総ビリルビン、総蛋白、トリグリセリド、尿素窒素 (BUN)。

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

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

300 ppm群以上の投与群の雌雄において総蛋白、アルブミンおよびコレステロール値が対照群と比べ統計学的に有意に増加し、投与による影響と考えられた。また、1000 ppm以上の投与群の雄でアラニンアミノトランスフェラーゼが統計学的有意差をともなって増加した。同群では、統計学的有意差はみられなかったものの、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの増加が認められ、これらも検体投与の影響と解釈された。1000 ppmおよび2000 ppm群の雌、および2000 ppm群の雄で統計学的に有意な γ -グルタミルトランスぺプチダーゼの増加が認められ、同じく検体投与の影響と考えられた。

その他の検査項目に統計学的有意差が散見されたが、いずれも用量相関性がないもの、背景データの範囲内あるいはその付近の値であり、検体投与の影響ではないと考えられた。

尿検査；剖検前に全動物から採取した尿について以下の項目を検査した。

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

300 ppm以上の投与群の雄および1000 ppm以上の投与群の雌で対照群と比べてpHが軽度に減少した。また、2000 ppm群の雄で蛋白が対照群と比べて軽度に上昇した。以上の変化は検体投与の影響と考えられた。

その他は、いずれの検査項目にも検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量；剖検時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、心臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺および前立腺+精嚢+凝固腺の

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

内容物、子宮、卵巣、胸腺、脾臓。
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

1000 ppm以上の投与群の雌雄において最終体重値の減少が対照群と比べて統計学的に有意に減少した。また、すべての投与群雌雄において、副腎および肝臓の重量および対体重比が統計学的有意差をともなって増加した。これらは、病理組織学検査において肝臓の肥大等あるいは副腎束状帯肥大が観察されていることから投与の影響と考えられた。

また、その他の臓器で統計学的有意差が散見されたが、これらは、最終体重の減少により対体重比のみが増加したもの、用量相関性の認められないもの、背景データの範囲内または付近の値であり、関連する組織学的異常もないことから投与の影響ではないと考えられた。以下に脳（対体重比）、心臓（対体重比）、腎臓（対体重比）、脾臓（対体重比）、精巣（対体重比）、胸腺（重量+対体重比）の背景データと該当する群の平均値を示す。

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

肉眼的病理検査；剖検時に免疫毒性陽性対照群を除く全動物を対象として詳細な剖検を行った。
以下に主要な病変を示す。

300 ppm以上の雌雄の投与群で肝臓肥大が認められ、検体投与の影響と考えられた。また、トキシコカイネティクス検査のため、頸静脈から採血後、2000 ppm群の雌 1 例が死亡し、1000 ppm群の雄 1 例および2000 ppm群の雌 1 例が同じく採血直後蒼白になり安楽死させた。これら3例の動物には、腋窩に出血が認められた。多量出血して死あるいは瀕死状態に陥ったものと考えられる。血液検査ではプロトロンビン時間等で異常は認められなかったが、これら3例の動物で投与関連性の凝固異常があった可能性が示唆される。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物のうち、対照群および2000 ppm群の雌雄ならびに試験途中で死亡した動物について以下の精巣と精巣上体を除く組織の病理標本を、中性緩衝ホルマリンで固定した。精巣と精巣上体はボアン固定液で固定した。固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施してパラフィン固定して作製し、顕微鏡観察を実施した。

副腎*、大動脈、耳介皮脂腺、骨（関節を含む）、骨髄*、脳（大脳、脳幹、小脳）、盲腸、頸部*、凝固腺、結腸、脳神経-視神経、十二指腸、精巣上体、食道、眼、心臓、回腸、空腸、腎臓*、外涙腺/ハーダー腺、喉頭、肝臓*、肺、乳腺（雌のみ）、縦隔リンパ節、縦隔組織、腸間膜リンパ節、腸間膜組織*、鼻腔組織/咽頭、口腔組織、卵巣、卵管、脾臓*、上皮小体、末梢神経（脛骨）、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺*、精囊、骨格筋、皮膚および皮下、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺*、舌、気管、膀胱、子宮*、膣。

*：肉眼的異常部位。

*印の組織は100、300、1000 ppm群の動物についても病理組織学的検査を実施した。

検体投与に関連すると考えられる所見とその程度を次表に示す。

100 ppm 以上の投与群の雌雄全例に、軽微から中等度の染色性変化を伴う小葉中心帯・小葉中間帯肝細胞肥大が認められた。また、100 ppm 以上の投与群の雄および 300 ppm 以上の投与群の雌で肝細胞有糸分裂像増加が、300 ppm 以上の投与群の雌雄で多巣性肝細胞壊死、さらに 1000 ppm 以上の投与群の雄および 1000 ppm 群の雌で炎症を伴った肝細胞壊死が認められ、これらは投与関連性の影響と考えられた。肝臓への影響と関連して、甲状腺では、び慢性ろ胞細胞肥大が、300 ppm 以上の投与群の雄および 1000 ppm 以上の投与群の雌で認められた。本所見は、肝ミクロゾーム酵素活性の誘導により甲状腺ホルモンの胆汁排泄が増加、甲状腺が刺激を受けて生じたものと解釈された。

300 ppm 以上の投与群の雄および 2000 ppm 群の雌で、腎尿細管変性の発生頻度が増加し、これも検体投与の影響と考えられる。

300 ppm 以上の投与群の雄および 1000 ppm 以上の投与群の雌で副腎皮質束状帯肥大が、100 ppm 以上投与群の雄および 300 ppm 以上の雌で皮質空胞化が認められた。また、1000 ppm 以上の雄および 2000 ppm 群の雌で唾液腺腺房肥大が認められ、副腎と唾液腺の所見は、ストレスによるものと解釈された。1000 ppm 以上の雌雄で骨髄における赤血球増多が、また 2000 ppm 群の雌で脾臓髓外造血亢進が認められ、これらは血液学的検査でみられた赤血球

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

数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリットの減少を反映した造血反応と考えられた。加えて、1000 ppm 以上の投与群の雌雄で腸間膜脂肪組織の委縮が、1000 ppm 以上の投与群の雌で子宮、子宮頸管および膣の萎縮が認められ、これらの変化は体重減少ないし摂餌量減少による成長抑制と考えられた。以上の副腎、唾液腺、骨髄、脾臓、脂肪組織、雌生殖器官における所見は検体投与の二次的影響であると考えられた。

以上の結果から、本検体のラットに対する飼料混入による 28 日間反復経口投与試験の主な影響として、2000 ppm 群で尿蛋白の増加、頸管・膣の萎縮が、1000 ppm 以上の投与群で、体重および摂餌量の減少、赤血球数・ヘモグロビン濃度・ヘマトクリットの減少、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ・アルカリフォスファターゼ・ γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ・グロブリン（雌のみ）の増加、炎症を伴う多巣性肝細胞壊死、唾液腺腺房び慢性肥大、骨髄赤血球増多、腸間膜脂肪組織委縮、子宮萎縮が、300 ppm 以上の投与群で、総蛋白・アルブミンの増加、総コレステロールの増加、尿 pH の増加、肝臓肥大、多巣性肝細胞壊死、尿細管多巣性変性、甲状腺ろ胞細胞肥大、副腎束状帯肥大が、100 ppm 以上の投与群で、肝臓の小葉中心帯・小葉中間帯肝細胞肥大、肝細胞有糸分裂像増加、副腎皮質空胞化、肝臓および副腎重量増加、*Cyp* 遺伝子発現の増加が認められた。したがって、本試験における無毒性量 (NOAEL) は求められなかった。

(5) 繁殖毒性及び催奇形性

1) ラットにおける繁殖毒性スクリーニング試験 (資料No.2.12)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

供試動物： Cr1:CD(SD)ラット、1群雌雄各12匹、投与開始時 8週齢
体重 雄 238.7~273.6 g、雌 185.7~213.7 g

投与期間：親動物；投与開始から交配前2週間、交配、妊娠および哺育期間（哺育22~24日まで）（2008年10月10日~2008年12月12日）

投与方法：検体を0、1000、2000および5000 ppmの濃度で含有した飼料を自由に摂取させた。

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。

親動物に関する指標：

一般状態および死亡；全動物を投与期間中毎日観察した。

体重；雄親動物：投与開始2日前、投与1、8日、その後は週1回測定した。

雌親動物；投与開始2日前、投与1、8および15日、妊娠期間中は妊娠0、7、14および20日、哺育期間中は哺育1、4、7、14および21日に測定した。

摂餌量；交配前は投与1、8および15日に測定した。雌親動物について妊娠期間中は妊娠0、7、14および20日、哺育期間中は哺育1、4、7、11、14、17、19および21日に測定した。

交配および妊娠の確認；

雌雄1対1で同居させ、膣栓または膣垢中の精子の観察によって交尾を確認し、その日を妊娠0日とした。最大交配期間を2週間とした。

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

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

雌交配率 = (交配雌動物数 / 同居動物数) × 100

雄交配率 = (交配雄動物数 / 同居動物数) × 100

雄交尾率 (%) = (交尾成立雄数 / 同居雄数) × 100

雌交尾率 (%) = (交尾成立雌数 / 同居雌数) × 100

雄授精率 (%) = (交尾した雌が妊娠した雄数 / 交尾成立雄数) × 100

雌受胎率 (%) = (妊娠雌数 / 交尾成立雌数) × 100

雄繁殖率 (%) = (交尾した雌が妊娠した雄数 / 同居雄数) × 100

雌繁殖率 (%) = (妊娠雌数 / 同居雌数) × 100

生存児出産率 (%) = (生存児動物を出産した雌数 / 妊娠雌数) × 100

着床後胚損失率 (% / 腹) = ((着床数 - 生存児数) / 着床数) × 100

児動物に関する指標：

出生日を0日とした。出生直後に出生児数を計測し、哺育児の生死を哺育0、1、4、7、14および21日、性比および体重を哺育1、4（同腹児数調整の前および後）、7、14および21日に検査し、臨床観察を哺育0、1、4、7、14および21日に実施した。

哺育4日に各同腹児数を8匹（原則として雌雄各4匹）に調整した。

同腹児数調整時の間引き児動物の内、各群の最初の4腹について雌雄各1匹から心臓採血し血漿中の検体濃度を測定した。

児動物の観察に基づき、以下の指標を算出した。

哺育1または4日生存率 (%) = (哺育1日または4日における生存児数 / 哺育0日の生存児数) × 100

哺育7、14または21日生存率 (%) = (哺育7、14または21日における生存児数 / 淘汰後の生存児数) × 100

肉眼的病理検査；

親動物：雄親動物は投与38および39日、雌親動物は哺育22から24日に絶食後屠殺し肉眼的病理検査を実施した。子宮を10%硫化ナトリウムで染色し着床痕を検査した。

児動物：哺育21日に屠殺し外表を肉眼的に検査した。

臓器重量；親動物について以下の臓器重量を測定し、相対重量を算出した。

精巣上体、腎臓、肝臓、精巣。

病理組織学的検査；

対照群並びに5000 ppm群の親動物について、以下の組織を病理組織学的検査に供した。肝臓および肉眼的異常部位については他の投与群の動物についても検査した。精巣には過ヨウ素酸シッフ・ヘマトキシリン染色を施し、精上皮サイクルを検査した。

子宮頸管、凝固腺、精巣上体、肉眼的異常部位、腎臓、肝臓、乳腺（雌

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

のみ)、卵巣、卵管、下垂体、前立腺、精嚢、精巣、子宮、膣。

試験結果： 概要を表 2 に示した。

① 親動物

一般状態および死亡；

検体投与に関連した一般状態の変化および死亡は認められなかった。

体重および体重増加量；

雌動物において、妊娠 7～14 日の体重増加量が 2000 ppm 群で対照群に比し有意に低下した。また、体重が哺育 4 日に 2000 および 5000 ppm 群において、哺育 14 日に 2000 ppm において対照群に比し有意に低下した。

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

しかし、これらの低下の程度は小さく、用量相関性がなく、また投与期間の一部に生じた変化であるところから、検体投与の影響とは判断しなかった。これらの変化を以下に表示する。
雄親動物に異常はなかった。

摂餌量；検体投与に関連した摂餌量の異常はなかった。

繁殖性に関する指標；

交尾期間、妊娠期間、後期胎児吸収率、生存児出生率、児動物性比、児動物生存率を含む繁殖成績に検体投与の影響はなかった。

毒性動態学的検査；児動物中の検体濃度は親動物の投与量に相関していた。

肉眼的病理検査；全ての動物において検体投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量；5000 ppm 群雌雄において、肝臓重量が対照群に比し増加した。

2000 ppm 以下の投与群雌雄に異常はなかった。

病理組織学的検査；

5000 ppm 群雌雄の肝臓において、肝小葉中心帯から中間帯に軽微な肝細胞肥大が観察された。

2000 ppm 以下の投与群雌雄に検体投与の影響はなかった。

② 児動物

一般状態および死亡；検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。哺育1日目に5000 ppm 群および哺育4日目に1000 ppm 群の生存率が対照群に比し有意に低下したが、いずれも低下の程度が小さく（2.3%および3.0%）、背景値の範囲内にあり、また、用量相関性を欠くところから検体投与の影響とは考えなかった。

次ページに哺育1日および4日目の児動物の生存率を表示する。

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

腹内児動物数、性比および体重；検体投与の影響はなかった。

以上の結果より、本検体をラットに1世代に亘って飼料中に混入して投与したところ、親動物の毒性に関する無毒性量は2000 ppm [雄 162 mg/kg/日、雌 183.3 mg/kg/日 (全試験期間の平均)]と判断された。繁殖毒性は5000 ppmにおいても認められなかった。

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

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

2) ラットにおける催奇形性試験 (資料No.2.13)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度 :

供試動物 : Cr1:CD(SD)妊娠ラット、1群 26 匹、投与開始時 10~11 週齢

投与期間 : 妊娠 6~21 日 (2009 年 4 月 9 日~2009 年 5 月 12 日)

投与方法 : 検体を 0、1000、2000 および 5000 ppm の濃度で飼料に混じ妊娠 6~21 日に
亘り投与した。

なお、動物はブリーダーで交配し膣栓が認められた日を妊娠 0 日とした。
妊娠 1 または 2 日で試験施設に入荷した。

投与量設定根拠 :

観察・検査項目 :

母動物 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。体重を妊娠 0 日(ブリーダーで測定)、
6~12 日まで毎日、妊娠 15、18、19、20 日さらに解剖時(妊娠 21 日)に記
録した。

摂餌量を妊娠 3~6 日間、妊娠 6~12 日まで毎日、妊娠 12~15 日間、15
~18 日間さらに妊娠 19、20 および 21 日に記録した。

解剖後、各群の母動物 4 匹とそれらの胎児について眼窩静脈叢および臍
帯(腹単位で血液をプール)から採血し、血漿中検体濃度を測定した。

妊娠 21 日目に解剖後、肉眼的異常を観察し、肝臓、腎臓および妊娠子宮
重量を測定し、肝臓と腎臓の相対重量を算出した。さらに子宮を帝王切開
し着床数、生存及び死亡胎児数を検査し、黄体数を計数した。着床前損失
率および着床後損失率は以下のように計算した。

着床前損失率 (%) = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] × 100 (各腹の平均値)

着床後損失率 (%) = [(着床数 - 生存児数) / 着床数] × 100 (各腹の平均
値)

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

また、肉眼的に着床の確認できない場合は、子宮を 10%硫化ナトリウムで染色し初期吸収胚の有無を確認した。肝臓、腎臓および肉眼的異常部位の一部を中性緩衝 10%ホルマリン液にて固定したが、組織学的検査は必要としなかったため実施しなかった。

生存胎児；性別及び体重を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児群の 1/2 以上の胎児について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格標本の作製後に骨格異常の有無を検査した。

結果：概要を表 1 に示した。

母動物の 5000 ppm 群において、投与開始直後の妊娠 6~9 日における体重増加量が対照群に比し有意に低下した。しかし、その後の妊娠期間および妊娠期間を通じた体重増加量並びに体重推移に対照群との差はなかった。この体重増加抑制は投与開始日の妊娠 6~7 日における摂餌量低下と相関しており、調製飼料への忌避による一時的変化と判断し毒性影響とは考えなかった。

母動物の 5000 ppm 群において、摂餌量が投与開始直後の妊娠 6~7 日に有意に低下したが、その後の妊娠期間および妊娠期間を通じた摂餌量に対照群との差はなかった。この摂餌量低下は調製飼料への忌避による一時的変化と判断し毒性学的に意義ある変化とは考えなかった。

血漿中検体濃度は母動物の投与量と良く相関していた。胎児の血漿中検体濃度は 1000、2000 および 5000 ppm 群において母動物のそれぞれ 123、115 および 113%であった。

母動物の 2000 ppm 群において、着床後損失率が対照群に比し増加したが背景値の範囲内にあり、かつ、用量相関性を欠くところから投与の影響とは判断しなかった。以下に各群の着床後損失率と背景値を示す。

母動物の妊娠率、腹当たりの生存児動物数、黄体数、着床数、着床前損失率および臓器、胎児の性比および胎児動物体重に投与群と対照群間に差はなく、また、母動物に投与の影響による肉眼的異常もなかった。

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

胎児動物に認められた主な内臓異常、頭部異常、骨格異常および骨格変異の概要を表 1 に記載した。これらの変化はいずれも発生例数が少なく、用量相関性を欠き、あるいは背景データの範囲内にあるところから投与の影響ではないと判断された。なお、本試験で認められた骨格異常および変異の背景データを VIII-273 ページに付記した。

以上の結果より、本検体を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量 (NOAEL) は 5000 ppm (368 mg/kg/日)、胎児動物の無影響量 (NOEL) も 5000 ppm と判断された。

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

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

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

(6) 変異原性

1) の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料No.2.14)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度:

方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法で実施し、復帰突然変異原性を検定した。検体を溶解させるため、溶媒に DMSO を用いた。

陽性対照として以下の物質を用いた。

試験菌株	S9 mix	陽性対照物質	プレート当たりの濃度
TA98	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA98	-	2-ニトロフルオレン	1.0 µg
TA100	+	2-アミノアントラセン	2.0 µg
TA100	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1535	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1535	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1537	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1537	-	9-アミノアクリジン	75 µg
WP2 <i>uvrA</i>	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
WP2 <i>uvrA</i>	-	メタンサルホン酸メチル	1,000 µg

陽性反応の判定基準は、以下のように行った。

少なくとも一つの菌株に 2 濃度以上で、プレートあたりの平均復帰変異体数において、再現性のある用量相関性の増加が認められた場合を陽性と判断した。適切な溶媒対照のプレートあたりの平均値と比較して、ピーク反応での平均復帰変異体数の増加が TA98, TA1535, TA1537, WP2*uvrA* の菌株では 3 倍以上、TA100 では 2 倍以上の増加が認められた場合に、被験物質は陽性であると判断した。部分的に陽性反応の基準に当てはまる場合を擬陽性とする。以上の、陽性あるいは擬陽性に当てはまらない反応を、陰性と判断した。

用量設定の根拠:

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

結 果：

注

検体では、S9 mix の存在下、非存在下のいずれにおいても、プレートあたりの復帰変異体数増加は認められなかった。一方、陽性対照群では著明な増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

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

2) の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料No.2. 15)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella trphimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法で実施し、復帰変異原性を検定した。検体を溶解させるため、溶媒 DMSO を用いた。

陽性対照として以下の物質を用いた。

試験菌株	S9 mix	陽性 2.5 質	プレート当たりの濃度
TA98	+	ベンゾ[a]ピレン	2.5 µg
TA98	-	2-ニトロフルオレン	1.0 µg
TA100	+	2-アミノアントラセン	2.5 µg
TA100	-	アジ化ナトリウム	2.0 µg
TA1535	+	2-アミノアントラセン	2.5 µg
TA1535	-	アジ化ナトリウム	2.0 µg
TA1537	+	2-アミノアントラセン	2.5 µg
TA1537	-	ICR-191	2.0 µg
WP2 <i>uvrA</i>	+	2-アミノアントラセン	25.0 µg
WP2 <i>uvrA</i>	-	4-ニトロキノリン-N-オキシド	0.4 µg

陽性反応の判定基準は、以下のように行った。

プレートあたりの平均復帰変異体数において、再現性のある用量相関性の増加が認められた場合を陽性と判断した。適切な溶媒対照のプレートあたりの平均値と比較して、ピーク反応での平均復帰変異体数の増加が TA98, TA1535, TA1537, WP2*uvrA* の菌株では 3 倍以上、TA100 では 2 倍以上の増加が認められた場合に、被験物質は陽性であると判断した。以上の、陽性に当てはまらない反応を、陰性と判断した。

用量設定の根拠:

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

結 果：

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

検体では、S9 mix の存在下、非存在下のいずれにおいても、プレートあたりの復帰変異体数増加は認められなかった。一方、陽性対照群では著明な増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

3)

の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料No.2.16)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

方 法： ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法で実施し、復帰突然変異原性を検定した。検体を溶解させるため、溶媒 DMSO を用いた。

陽性対照として以下の物質を用いた。

試験菌株	S9 mix	陽性対照物質	プレート当たりの濃度
TA98	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA98	-	2-ニトロフルオレン	1.0 µg
TA100	+	2-アミノアントラセン	2.0 µg
TA100	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1535	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1535	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1537	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1537	-	9-アミノアクリジン	75 µg
WP2 <i>uvrA</i>	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
WP2 <i>uvrA</i>	-	メタンサルホン酸メチル	1,000 µg

陽性反応の判定基準は、以下のように行った。

少なくとも一つの菌株に 2 濃度以上で、プレートあたりの平均復帰変異体数において、再現性のある用量相関性の増加が認められた場合を陽性と判断した。適切な溶媒対照のプレートあたりの平均値と比較して、ピーク反応での平均復帰変異体数の増加が TA98、TA1535、TA1537、WP2*uvrA* の菌株では 3 倍以上、TA100 では 2 倍以上の増加が認められた場合に、被験物質は陽性であると判断した。部分的に陽性反応の基準に当てはまる場合を擬陽性とする。以上の、陽性あるいは擬陽性に当てはまらない反応を、陰性と判断した。

用量設定の根拠：

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

結 果：

検体では、S9 mix の存在下、非存在下のいずれにおいても、プレートあたりの復帰変異体数増加は認められなかった。一方、陽性対照群では著明な増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

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

4) の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料No.2.17)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

2010 年

検体純度：

方 法： ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下および非存在下でプレインキュベーション法で実施し、復帰突然変異原性を検定した。検体を溶解させるため、蒸留水を用いた。

陽性対照として以下の物質を用いた。

試験菌株	S9 mix	陽性対照物質	プレート当たりの濃度
TA98	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA98	-	2-ニトロフルオレン	1.0 µg
TA100	+	2-アミノアントラセン	2.0 µg
TA100	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1535	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1535	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1537	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1537	-	9-アミノアクリジン	75 µg
WP2 <i>uvrA</i>	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
WP2 <i>uvrA</i>	-	メタンスルホン酸メチル	1,000 µg

陽性反応の判定基準は、以下のように行った。

少なくとも一つの菌株に 2 濃度以上で、プレートあたりの平均復帰変異体数において、再現性のある用量相関性の増加が認められた場合を陽性と判断した。適切な溶媒対照のプレートあたりの平均値と比較して、ピーク反応での平均復帰変異体数の増加が TA98、TA1535、TA1537、WP2*uvrA* の菌株では 3 倍以上、TA100 では 2 倍以上の増加が認められた場合に、被験物質は陽性であると判断した。部分的に陽性反応の基準に当てはまる場合を擬陽性とする。以上の、陽性あるいは擬陽性に当てはまらない反応を、陰性と判断した。

用量設定の根拠：

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

結 果：

検体では、S9 mix の存在下、非存在下のいずれにおいても、プレートあたりの復帰変異体数増加は認められなかった。一方、陽性対照群では著明な増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

5) の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料No.2.18)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度:

方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella trphimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下および非存在下でプレインキュベーション法で実施し、復帰突然変異原性を検定した。検体を溶解させるため、溶媒 DMSO を用いた。

陽性対照として以下の物質を用いた。

試験菌株	S9 mix	陽性対照物質	プレート当たりの濃度
TA98	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA98	-	2-ニトロフルオレン	1.0 µg
TA100	+	2-アミノアントラセン	2.0 µg
TA100	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1535	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1535	-	アジ化ナトリウム	1.0 µg
TA1537	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
TA1537	-	9-アミノアクリジン	75 µg
WP2 <i>uvrA</i>	+	2-アミノアントラセン	1.0 µg
WP2 <i>uvrA</i>	-	メタンスルホン酸メチル	1,000 µg

陽性反応の判定基準は、以下のように行った。

少なくとも一つの菌株に 2 濃度以上で、プレートあたりの平均復帰変異体数において、再現性のある用量相関性の増加が認められた場合を陽性と判断した。適切な溶媒対照のプレートあたりの平均値と比較して、ピーク反応での平均復帰変異体数の増加が TA98、TA1535、TA1537、WP2 *uvrA* の菌株では 3 倍以上、TA100 では 2 倍以上の増加が認められた場合に、被験物質は陽性であると判断した。部分的に陽性反応の基準に当てはまる場合を擬陽性とする。以上の、陽性あるいは擬陽性に当てはまらない反応を、陰性と判断した。

用量設定の根拠:

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

結 果：

検体では、S9 mix の存在下、非存在下のいずれにおいても、プレートあたりの復帰変異体数増加は認められなかった。一方、陽性対照群では著明な増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

6) のラットリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.2.19)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

2010 年

検体純度:

試験動物: SD系雄性ラット (11週齢)

試験方法: ラットの血液から採取したリンパ細胞を用い染色体異常誘発性を検索した。検体を溶解させるために蒸留水を用いた。検体の濃度は、代謝活性化及び非代謝活性化系で、0、480、960、1920 µg/mL (4時間処理)、または非代謝活性化系で0、120、240、480 µg/mL (24時間処理) とした。ラットリンパ細胞を全血培養開始からおよそ48時間後にS9 mixの存在下 (代謝活性化) および非存在下 (非代謝活性化) の条件で上記の濃度範囲で検体を処理した。処理時間は、非代謝活性化では4ないし24時間、代謝活性化では4時間であった。その後、培養液で洗浄して暴露を終了した。

陽性対照には、非活性化系ではマイトマイシンCを0.5ないし0.075 µg/mL、または活性化系ではシクロホスファミドを4 µg/mLの濃度で用いた。

各濃度2枚のコード化したスライドを用い、1枚のスライドあたり100個の分裂中期像を観察し、構造異常の発生頻度が多かった場合には50個の分裂中期像を観察し記録した。染色体の異常は、染色分体型および染色体型の、ギャップ (gap)、切断 (break)、交換 (exchange)、その他種々の異常に分類し計測した。さらに一つの細胞に5つ以上異常をもつ細胞は多数異常細胞として分類した。合計数を算出する場合、ギャップは含めなかった。さらに総計100分裂中期細胞/連を観察し、倍数性異常の出現率を求めた。以上のデータから次の指標を計算し統計処理を実施した。

異常細胞出現率 (%) = $\frac{\text{異常細胞数 (ギャップのみを有する細胞を除く)}}{\text{評価した中期細胞数}} \times 100$

評価基準; 1) 陽性対照物質の染色体異常誘発率が溶媒対照より有意に高いこと、2) 溶媒対照の染色体異常誘発率が当該試験機関の背景データの範囲内であることが必要である。その上で、異常細胞の出現率に有意な用量相関性および再現性のある増加が誘発された場合に検体が陽性であると判断した。

用量設定の根拠;

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

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

検体処理群では、濃度と関連した染色体異常の増加はなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC及びシクロホスファミドは、有意な染色体異常の増加を示した。

また、溶媒対照群と比較していずれの濃度でも倍数体数に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体はラットのリンパ細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において陰性であると判断された。

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

7) の ラットリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.2. 20)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

試験動物： SD系雄性ラット (12週齢)

試験方法： ラットの血液から採取したリンパ細胞を用い染色体異常誘発性を検索した。検体を溶解させるために溶媒DMSOを用いた。検体の濃度は、代謝活性化系では0、369.1、738.25、2953 µg/mL (4時間処理)、及び非代謝活性化系では、0、738.25、1476.5、2953 µg/mL (4時間および24時間処理)とした。ラットリンパ細胞を全血培養開始からおよそ48時間後にS9 mixの存在下 (代謝活性化) および非存在下 (非代謝活性化) の条件で上記の濃度範囲で検体を処理した。処理時間は、非代謝活性化では4ないし24時間、代謝活性化では4時間であった。その後、培養液で洗浄して暴露を終了した。陽性対照には、非活性化系ではマイトマイシンCを0.5ないし0.05 µg/mL、または活性化系ではシクロホファミドを2 µg/mLの濃度で用いた。

各濃度2枚のコード化したスライドを用い、1枚のスライドあたり100個の分裂中期像を観察し、構造異常の発生頻度が多かった場合には50個の分裂中期像を観察し記録した。染色体の異常は、染色分体型および染色体型の、ギャップ(gap)、切断(break)、交換(exchange)、その他種々の異常に分類し計測した。さらに一つの細胞に5つ以上異常をもつ細胞は多数異常細胞として分類した。合計数を算出する場合、ギャップは含めなかった。さらに総計100分裂中期細胞/連を観察し、倍数性異常の出現率を求めた。以上のデータから次の指標を計算し統計処理を実施した。

異常細胞出現率 (%) = 異常細胞数 (ギャップのみを有する細胞を除く) x 100 / 評価した中期細胞数

評価基準； 1) 陽性対照物質の染色体異常誘発率が溶媒対照より有意に高いこと、2) 溶媒対照の染色体異常誘発率が当該試験機関の背景データの範囲内であることが必要である。その上で、異常細胞の出現率に有意な用量相関性および再現性のある増加が誘発された場合に検体が陽性であると判断した。

用量設定の根拠；

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

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

検体処理群では、濃度と相関した染色体異常の増加はなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC及びシクロホスファミドは、有意な染色体異常の増加を示した。

また、溶媒対照群と比較していずれの濃度でも倍数体数に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体はラットのリンパ細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において陰性であると判断された。

8) のラットリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験
(資料No.2.21)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度：

試験動物：SD系雄性ラット（10週齢）

試験方法：ラットの血液から採取したリンパ細胞を用い染色体異常誘発性を検索した。検体を溶解させるために溶媒DMSOを用いた。検体の濃度は、代謝活性化及び非代謝活性化系で、0、635、1270、2540 µg/mL（4時間処理）、または非代謝活性化系0、158.8、317.5、635 µg/mL（24時間処理）とした。ラットリンパ細胞を全血培養開始からおよそ48時間後にS9 mixの存在下（代謝活性化）および非存在下（非代謝活性化）の条件で上記の濃度範囲で検体を処理した。処理時間は、非代謝活性化では4ないし24時間、代謝活性化では4時間であった。その後、培養液で洗浄して暴露を終了した。

陽性対照には、非活性化系ではマイトマイシンCを0.5、0.05ないし0.075 µg/mL、または活性化系ではシクロホスファミドを2 µg/mLの濃度で用いた。

各濃度2枚のコード化したスライドを用い、1枚のスライドあたり100個の分裂中期像を観察し、構造異常の発生頻度が多かった場合には50個の分裂中期像を観察し記録した。染色体の異常は、染色分体型および染色体型の、ギャップ（gap）、切断（break）、交換（exchange）、その他種々の異常に分類し計測した。さらに一つの細胞に5つ以上異常をもつ細胞は多数異常細胞として分類した。合計数を算出する場合、ギャップは含めなかった。さらに総計100分裂中期細胞/連を観察し、倍数性異常の出現率を求めた。以上のデータから次の指標を計算し統計処理を実施した。

異常細胞出現率（%）＝ 異常細胞数（ギャップのみを有する細胞を除く）× 100
／評価した中期細胞数

評価基準；1）陽性対照物質の染色体異常誘発率が溶媒対照より有意に高いこと、2）溶媒対照の染色体異常誘発率が当該試験機関の背景データの範囲内であることが必要である。その上で、異常細胞の出現率に有意な用量相関性および再現性の増加が誘発された場合に検体が陽性であると判断した。

用量設定の根拠；

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

検体処理群では、濃度と相関した染色体異常の増加はなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC及びシクロホスファミドは、有意な染色体異常の増加を示した。

また、溶媒対照群と比較していずれの濃度でも倍数体数に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体はラットのリンパ細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において陰性であると判断された。

9) のラットリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料No.2.22)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

検体純度:

試験動物: SD系雄性ラット (10週齢)

試験方法: ラットの血液から採取したリンパ細胞を用い染色体異常誘発性を検索した。検体を溶解させるために蒸留水を用いた。検体の濃度は、代謝活性化及び非代謝活性化系で、0、631.3、1262.5、2525 µg/mL (4時間および24時間処理)とした。ラットリンパ細胞を全血培養開始からおよそ48時間後にS9 mixの存在下(代謝活性化)および非存在下(非代謝活性化)の条件で上記の濃度範囲で検体を処理した。処理時間は、非代謝活性化では4ないし24時間、代謝活性化では4時間であった。その後、培養液で洗浄して暴露を終了した。

陽性対照には、非活性化系ではマイトマイシンCを0.05ないし0.5 µg/mL、または活性化系ではシクロホスファミドを2 µg/mLの濃度で用いた。

各濃度2枚のコード化したスライドを用い、1枚のスライドあたり100個の分裂中期像を観察し、構造異常の発生頻度が多かった場合には50個の分裂中期像を観察し記録した。染色体の異常は、染色分体型および染色体型の、ギャップ(gap)、切断(break)、交換(exchange)、その他種々の異常に分類し計測した。さらに一つの細胞に5つ以上異常をもつ細胞は多数異常細胞として分類した。合計数を算出する場合、ギャップは含めなかった。さらに総計100分裂中期細胞/連を観察し、倍数性異常の出現率を求めた。以上のデータから次の指標を計算し統計処理を実施した。

異常細胞出現率(%) = $\frac{\text{異常細胞数 (ギャップのみを有する細胞を除く)}}{\text{評価した中期細胞数}} \times 100$

評価基準; 1) 陽性対照物質の染色体異常誘発率が溶媒対照より有意に高いこと、2) 溶媒対照の染色体異常誘発率が当該試験機関の背景データの範囲内であることが必要である。その上で、異常細胞の出現率に有意な用量相関性および再現性のある増加が誘発された場合に検体が陽性であると判断した。

用量設定の根拠;

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

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

検体処理群では、濃度と関連した染色体異常の増加はなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC及びシクロホスファミドは、有意な染色体異常の増加を示した。

また、溶媒対照群と比較していずれの濃度でも倍数体数に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体はラットのリンパ細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において陰性であると判断された。

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

10) の CHO 細胞を用いた *in vitro* 前進突然変異試験 (資料No.2.23)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

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

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

検体処理されたどの濃度においても、代謝活性化の有無に関わらず、突然変異出現率（細胞 10^6 個に対する頻度）に有意な増加は認められなかった。一方陽性対照物質で処理された群では明らかな増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下において突然変異原性は陰性であると判断された。

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

11) の CHO 細胞を用いた *in vitro* 前進突然変異試験 (資料No.2.24)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

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

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

検体処理されたどの濃度においても、代謝活性化の有無に関わらず、突然変異出現率（細胞 10^6 個に対する頻度）に有意な増加は認められなかった。一方陽性対照物質で処理された群では明らかな増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下において突然変異原性は陰性であると判断された。

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

12)

の CHO 細胞を用いた *in vitro* 前進突然変異試験
(資料No.2.25)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

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

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

検体処理されたどの濃度においても、代謝活性化の有無に関わらず、突然変異出現率（細胞 10^6 個に対する頻度）に有意な増加は認められなかった。一方陽性対照物質で処理された群では明らかな増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下において突然変異原性は陰性であると判断された。

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

13) の CHO 細胞を用いた *in vitro* 前進突然変異試験 (資料No.2.26)
試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年

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

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

検体処理されたどの濃度においても、代謝活性化の有無に関わらず、突然変異出現率（細胞 10^6 個に対する頻度）に有意な増加は認められなかった。一方陽性対照物質で処理された群では明らかな増加が認められた。

以上の結果から、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下において突然変異原性は陰性であると判断された。

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

(7) その他の試験

のげっ歯類における肝臓腫瘍の発生機序

(資料No.2. 27)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年:

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

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

以上、本検体の肝臓に対する影響の発生機序を調べた。その結果、検体投与によって誘発される肝臓重量増加、肝細胞肥大は、親化合物と同様、フェノバルビタールと同様であることが判明した。すなわち、本検体を投与した場合の肝臓毒性は閾値があり、ヒトでの発がん性に関するリスクは極めて少ないと考えられる。