

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ラットを用いた混餌法による慢性毒性・発がん性併合試験 (資料T-20)

試験機関 三菱化学安全科学研究所 [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: Fischer系ラット

投与開始時5週齢 (体重 雄 76~93 g、雌 77~94 g)

	1群あたりの動物数		投与開始日~屠殺解剖日
	雄	雌	
投与53週時 中間屠殺対象動物	10	10	雄: 1997年2月12日~1998年2月16日 雌: 1997年2月21日~1998年2月25日
投与105週時 最終屠殺対象動物	50	50	雄: 1997年2月12日~1999年2月12,15,16日 雌: 1997年2月21日~1999年2月22~24日

投与方法: 被験物質を0、15、40および80 ppmの濃度で飼料中に混入し、104週間(24ヶ月)にわたって連続的に自由摂取させた。被験物質を混入した飼料は3~13週間に1回の頻度で調製した。

投与量の設定根拠:

検査項目および結果:

一般状態および死亡: 一般状態および生死を毎日観察した。

最終屠殺対象動物の経時的な生存率の変化を次表に示す。

雌雄の被験物質投与群の生存率はいずれも対照群と同等であった。一般状態にも被験物質投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

体重: 全動物の体重を投与13週時までは週1回、それ以降は3~4週間に1回測定した。各群の経時的な体重の推移を次表(次頁)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日本農薬株式会社にある。

雌の 40 ppm 群および雌雄の 80 ppm 群の体重および体重増加量は、ほぼ投与期間を通じて対照群に比べて低値を示した。

摂餌量および摂餌効率：各ケージの摂餌量を投与 13 週時までは週 1 回、それ以降は 3～4 週間に 1 回測定した。また、投与 13 週時までは摂餌量の測定毎に摂餌効率（体重増加量÷摂餌量×100）を算出した。

雄の 80 ppm 群および雌の 40 ppm 以上の群で摂餌量の低値が、投与期間を通じてほぼ継続してみられ、被験物質投与による影響と考えられた。

その他、摂餌量および摂餌効率には各被験物質投与群で統計学的有意差が散見されたが、一過性的変化であり、毒性学的に意義のない変化と判断した。

被験物質摂取量：被験物質投与量、摂餌量および体重から、各被験物質投与群の全投与期間における 1 日あたりの平均被験物質摂取量を算出した。その数値を次表に示す。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	15	40	80	15	40	80
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	0.561	1.50	3.07	0.686	1.85	3.79

血液学的検査：投与 14、27 および 79 週時に中間検査として、雌雄の各群 10 匹の眼窩静脈叢から採血した。また、53 および 105 週計画屠殺時には全動物について、麻酔下で後大静脈より採血した。採血はいずれの検査時期でも一晩絶食後に実施し（瀕死期動物を除く）、以下の項目を測定した。

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

対照群と比較して、統計学的有意差のみられた項目を次表（次頁）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日本農薬株式会社にある。  
(血液学的検査)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

いずれの検査においても、被験物質の毒性学的影響を示唆する変化はみられなかった。

網状赤血球数の低値が 80 ppm 群の雄で、MCH の高値が 40 ppm 以上の群の雌でみられたが、他の赤血球関連パラメーターには変動がみられず、対照群に比べわずかな変動であり、個体別値のほとんどが背景データの範囲内であった。血小板数の低値および APTT の高値が雄の 80 ppm 群、白血球数の低値が雄の 80 ppm 群と雌の 40 ppm 以上の群にみられた。しかし、これらの変化は対照群との比較でもわずかな変動であり、個体別値も背景データの範囲内であった。したがって、網状赤血球、MCH、血小板、APTT および白血球数の変化は毒性学的には意義のない変化と考えられた。また、好酸球数比および単球数比の変動が雄の 80ppm 群でみられたが、いずれの変動も軽微であり、背景データの範囲内の変化であることから偶発的変化と考えられた。

背景データを別表に示す。

血液生化学的検査：上記の血液学的検査と同時期に採取した血液から得られた血清を用いて以下の項目を測定した。

GOT、GPT、 $\gamma$ GT、ALP、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、総蛋白、アルブミン、A/G 比、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール、マグネシウムおよびリビートル脱水素酵素 (SDH)

なお、105 週計画屠殺時には任意の各群 10 匹を対象とした。対照群に比べ、統計学的有意差の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る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
(生化学的検査、続き)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
(生化学的検査、続き)

いずれの検査においても、被験物質の毒性学的影響を示唆する変化はみられなかった。

トリグリセライドの低値が 15ppm 群からみられたが、雄の 105 週検査時には対照群と比較して有意差がみられず、雌の 105 週検査時には個別値のほとんどが背景データの範囲内であり、いずれも経時的な一貫性がみられなかった。カリウムの高値が 15ppm 群からみられ、雌雄の 53 週検査時には 40 ppm 以上の群において背景データを超える個体が散見された。しかし、105 週検査時には個別値のほとんどが背景データの範囲内であり、経時的な一貫性が

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

みられなかった。マグネシウムの高値が雄の 80 ppm 群、雌の 15ppm 群からみられたが、個体別値は背景データの範囲内であった。これらのことより、トリグリセライド、カリウムおよびマグネシウムの変化は毒性学的には意義のない変化と考えられた。

クレアチニンの高値が雄の 80 ppm 投与群で 105 週検査時にみられたが、軽度な変化であり、105 週検査時に尿素窒素に変化はみられず、個体別値のほとんどが背景データの範囲内であることから偶発的な変化と判断した。

ナトリウムの低値が雄の 80 ppm 群で 105 週検査時にみられたが、軽度な変化であり、105 週検査時にクロールに変化はみられず、背景データと同等の平均値を示していることから偶発的な変化と判断した。

尿素窒素および A/G 比の低値が雄の 15ppm 群でみられたが、経時的な一貫性がなく、用量相関性もみられないことから偶発的な変化と判断した。

GPT の低値が雄の 40 ppm 以上の群で、 $\gamma$ GT の低値が雄の 80 ppm 群で、ALP の低値が雄の 15 ppm 以上の群でみられたが、これらの変化は毒性とは反対方向の変動であり、経時的な一貫性がみられないことから毒性学的意義はないものと考えられた。

その他尿素窒素の高値、総コレステロールの低値および総蛋白の低値、血糖の低値、無機リンの高値、SDH の高値およびマグネシウムの高値、A/G 比の高値、アルブミンの低値、カルシウムの低値、クロールの高値が 80 ppm のみあるいは 80 ppm を含む群でみられたが、これらの変化には経時的な一貫性がみられなかった。

背景データを別表に示す。

尿検査 : 投与 14、27 および 79 週の間検査時には、血液学的検査対象動物のうち各群 10 匹を、53 週計画屠殺時には全対象動物を、105 週計画屠殺時には任意の各群 10 匹を用い、個体別採尿ケージで採尿し、以下の項目を測定した。

pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣 (鏡検)、色調、尿量、比重

シュウ酸カルシウム結晶の発現頻度の高値が 27 週時に雄の 80ppm 群でみられ、リン酸アンモニウム・マグネシウム結晶の発現頻度の低値が 79 週時に雄の 40 ppm 以上の群でみられた。いずれも経時的一貫性がなく、毒性学的に意義のない変化であると考えられた。

眼科学的検査 : 投与開始前に全例、最終屠殺時に対照群と 80 ppm 群の全生存例について以下の項目を検査した。

前眼部、中間透光体、眼底

いずれの投与時期においても、被験物質投与に起因する異常はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

器官重量：53 および 105 週屠殺動物の全生存例を対象として、解剖後以下の器官重量（絶対重量）を測定した。また、相対重量として対体重比を算出した。

脳、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

対照群に比して、統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

雄の 80ppm 群で 53 週時に肝臓の相対重量の高値がみられ、雄の 40 および 80 ppm 群で 53 週時に腎臓の相対重量の高値、105 週時に肝臓および腎臓の相対重量の高値がみられた。雌の 80 ppm 群で 53 および 105 週時に肝臓および腎臓の相対重量の高値がみられた。

脾臓の絶対重量の低値が 80 ppm 群の雄と 40 ppm 以上の群の雌で 105 週検査



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

時にみられた。そこで、より適切に評価するため病理組織検査で LGL 白血病と診断された個体を除外して集計した結果、40 ppm 群の雌では有意な変動はみられず (雌対照群 vs. 40 ppm 群 :  $0.597 \pm 0.218$  g vs.  $0.540 \pm 0.230$  g)、被験物質投与と関連のない偶発的な変化と判断した。しかし、雌雄の 80 ppm 群では LGL 白血病を除外した場合でも有意な変動を示した (雄対照群 vs. 80 ppm :  $0.946 \pm 0.159$  g vs.  $0.832^{**} \pm 0.095$  g、雌対照群 vs. 80 ppm :  $0.597 \pm 0.218$  g vs.  $0.509^{*} \pm 0.110$  g、 $*p < 0.05$ 、 $**p < 0.01$ )。この 80 ppm 群での変動は体重の変化に伴う変化であり、毒性学的意義のない変化と判断した。脾臓の相対重量の低値が 15 ppm 群の雌で 105 週検査時にみられたが、40 ppm 以上の群ではみられないことから、偶発的な変化と判断した。その他の項目の変化は、当該臓器に被験物質の投与に起因した組織変化が認められないこと、体重が対照群に比べ低値であったことを反映する変化であることから、毒性学的に意義のない変化と考えられた。

剖検 : 全ての動物を対象として、屠殺・解剖時に剖検を実施した。105 週計画屠殺対象動物の主要な剖検所見を次表に示す。

#### 105 週計画屠殺対象動物

a :  $p < 0.05$ , b :  $p < 0.01$  (Fisher の直接確率法)

53 週計画屠殺動物では、いずれの群でも被験物質投与に起因した病変の増加は観察されなかった。被験物質の投与に起因した変化として、105 週計画屠殺動物では、肝臓の白色斑が雌の 80 ppm 群、腎臓の暗褐色化が雌雄の 80 ppm 群、ハーダー腺の褐色化が雄の 40 ppm 以上の群と雌の 80 ppm 群で有意に増加した。

病理組織学的検査 : 全ての対照群および 80 ppm 群の動物、全ての死亡・瀕死期殺動物を対象に以下の全臓器について病理標本を作製し、鏡検した。さらに、15 および 40 ppm 群の全ての動物の肺、肝臓、腎臓および肉眼的病変部についても検査した。また、105 週計画屠殺対象動物についてのみ腸間膜リンパ節とハーダー腺について全例検査した。

脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、咽頭、喉頭、気管、肺、気管支、心臓、大動脈 (胸部)、顎下腺、舌下腺、肝臓、脾臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、前立腺腹葉、精囊、卵巣、子宮、膣、皮膚、舌、食道、胃 (前

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

胃・腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、膀胱、リンパ節(下顎・腸間膜)、乳腺、骨格筋(大腿筋)、坐骨神経、大腿骨(骨髄を含む)、胸骨(骨髄を含む)、眼球(視神経を含む)、ハーダー腺、脊髄(頸部・胸部・腰部) および全ての肉眼的病変部

主要な非腫瘍性病変を表 I に、腫瘍性病変を表 II に、総腫瘍数および腫瘍保有動物数を表 III に示す。

#### <非腫瘍性病変>

53 週計画殺動物：雌の 80 ppm 群で好塩基性肝細胞小増殖巣が有意に増加した。雄の 40 ppm 以上の群で腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴が有意に増加した。硝子滴はシュモール染色、ベルリンブルー染色および PAS 染色に対して反応性を示さず、アザン染色に濃赤色に染まり、抗 $\alpha_{2u}$ グロブリン抗体に対して陰性であった。その他の変化は発現状況から被験物質とは関連のない変化と判断された。

105 週計画殺動物および死亡・瀕死期解剖動物：腸間膜リンパ節における肥満細胞の増加が雄の 80 ppm 群、洞組織球症が雄の 80 ppm 群および雌の 40 ppm 以上の群、腎臓の近位尿細管上皮細胞の肥大が雄の 80 ppm 群および雌の 40 ppm 以上の群、ハーダー腺の分泌亢進が雌雄の 80 ppm 群で有意に増加した。肝臓では好塩基性肝細胞小増殖巣が雌の 40 ppm 以上の群で有意に強く発現した。その他の変化は発現状況から被験物質とは関連のない変化と判断された。

#### <腫瘍性変化>

53 週計画殺動物：細気管支／肺胞上皮腺腫、肝細胞腺腫、子宮内膜間質ポリープ、陰核腺腫、皮下織の脂肪腫および線維腫がみられたが、発現状況から被験物質と関連ない変化と判断された。

105 週計画殺動物および死亡・瀕死期解剖動物：対照群と比較して 80 ppm 群で腫瘍発現数および早期に発現する腫瘍は増加しなかった。悪性腫瘍を保有する動物数と LGL 白血病が 80 ppm の雌で有意に減少した。

その他 80 ppm 群のみにみられた腫瘍は雄の造血器系の悪性リンパ腫、口腔の扁平上皮癌、舌の扁平上皮乳頭腫、結腸の血管肉腫、腎臓の移行上皮癌、上皮小体の腺腫、脳の悪性髄膜腫、皮膚の扁平上皮癌、雌の鼻腔の嗅神経芽細胞腫、膈の良性神経鞘腫および間質ポリープ、脳の良性髄膜腫であった。これらは全て 1 例のみの発現であることから、被験物質投与とは関連のない変化と考えられた。

以上、被験物質をラットに 24 ヶ月間投与した結果、発癌性を示唆する変化は雌雄とも認められなかった。また、被験物質に起因する毒性変化として体重、体重増加量、摂餌量の低値が雄 80ppm 群および雌 40ppm 以上の群でみられた。肝臓および腎臓への影

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

響として、相対器官重量の高値が雄 40ppm 以上の群および雌 80ppm 群、肝の白色斑が雌 80ppm 群、腎の暗褐色化が雌雄の 80ppm 群、肝で好塩基性肝細胞増殖巣の増加が雌 40ppm 以上の群、腎で近位尿細管上皮の肥大の増加が雄 80ppm 群および雌 40ppm 以上の群、ならびに近位尿細管上皮の硝子滴の増加が雄 40ppm 以上の群でみられた。その他、ハダ腺の褐色化が雄 40ppm 以上の群および雌 80ppm 群でみられ、同器官で分泌亢進が雌雄の 80ppm 群でみられた。さらに、腸間膜リンパ節の肥満細胞の増加が雄 80ppm 群、洞組織球症の増加が雄 80ppm 群および雌 40ppm 以上の群でみられた。したがって、本試験条件下における無毒性量は雌雄とも 15 ppm (雄 : 0.561 mg/kg/day、雌 : 0.686 mg/kg/day) であると判断された。

---

申請者注 :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以下の病理組織学的検査結果表を示す。

表Ⅰ：非腫瘍性病変発生頻度- 53 週中間および 105 週最終屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺+計画殺）

表Ⅱ-1：腫瘍性病変発生頻度- 53 週中間屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺+計画殺）

表Ⅱ-2：腫瘍性病変発生頻度- 105 週最終屠殺対象動物：死亡および瀕死期殺動物

表Ⅱ-3：腫瘍性病変発生頻度- 105 週最終屠殺対象動物：計画殺動物

表Ⅱ-4：腫瘍性病変発生頻度- 105 週最終屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺+計画殺）

表Ⅲ：腫瘍総数および腫瘍保有動物数- 105 週最終屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺+計画殺）

表Ⅰ：非腫瘍性病変発生頻度- 53 週中間および 105 週最終屠殺対象動物：全動物  
（死亡・瀕死期殺+計画殺）

表Ⅱ-1：腫瘍性病変発生頻度- 53 週中間屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺+計画殺）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－２：腫瘍性病変発生頻度-105週最終屠殺対象動物：死亡および瀕死期殺動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－２：腫瘍性病変発生頻度-105週最終屠殺対象動物：死亡および瀕死期殺動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－3：腫瘍性病変発生頻度-105週最終屠殺対象動物：計画殺動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－3：腫瘍性病変発生頻度-105週最終屠殺対象動物：計画殺動物（続き）



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－４：腫瘍性病変発生頻度-105週最終屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺＋計画殺）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－４：腫瘍性病変発生頻度-105週最終屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺＋計画殺）（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－４：腫瘍性病変発生頻度- 105 週最終屠殺対象動物：全動物  
(死亡・瀕死期殺+計画殺) (続き)

表Ⅲ：腫瘍総数および腫瘍保有動物数- 105 週最終屠殺対象動物：全動物  
(死亡・瀕死期殺+計画殺) (続き)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

別表：試験機関の背景データ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) マウスを用いた混餌法による発がん性試験 (資料T-21)

試験機関 Covance Laboratories (米国) [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: ICR系マウス、投与開始時約6週齢 (体重 雄 22.7~30.8 g、雌 16.7~23.9 g)

	1群あたりの動物数		投与開始日~屠殺解剖日
	雄	雌	
投与78週時 最終屠殺対象動物	50	50	雄: 1997年9月15日~1999年3月16~19日 雌: 1997年9月15日~1999年3月16~19日

投与方法: 被験物質を0、15、150および500 ppmの濃度で飼料中に混入し投与を開始した。

しかし、500 ppm群で雌雄とも体重増加抑制、摂餌量の低値ならびに重篤な症状がみられたので、高用量を投与13週時に500 ppmから400 ppmに減じた。その後も低体重、体重増加抑制、摂餌量の低値および重篤な症状が継続してみられたことから、投与20週時に再度高用量を400 ppmから300 ppmに減じた。いずれの動物にも78週間(18ヶ月間)にわたって被験物質を連続的に摂取させた。なお、被験物質を混入した飼料は週1回調製した。

以下、高用量を500/400/300 ppmと表記する。

投与量の設定根拠:

検査項目および結果:

一般状態および生存率: 一般状態および生死を毎日観察した。

各群の経時的な生存率の推移を次表に示す。

雌雄の被験物質投与群の生存率はいずれも対照群と比較して統計学的有意差は認められず、生存率に対する被験物質の影響はみられなかった。

一般状態の変化として、高用量群では最初の12週間(投与量: 500 ppm)で円背位あるいは削瘦等が、同群の雌では活動性の低下、糞量減少および蒼白がみられた。投与13~19週(投与量: 400 ppm)では円背位、削瘦および活動性の低下がみられた。投与20~22週(投与量: 300 ppm)では削瘦または活動性の低下が散見された。その他、耳介/尾の部分欠損が雌雄の150 ppm以上の群で観

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

察されたが、原因は不明であった。

体重：全動物の体重を投与 14 週時までは週 1 回測定した。その後、投与 18 週時ならびに 20～26 週では週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回測定した。各群の経時的な体重の推移を次表に示す。

雄の 150 ppm 以上の群および雌の高用量群の体重は、投与期間を通じて対照群に比べて低値を示し、被験物質投与に起因する変化と考えられた。雄の 15ppm 群で投与期間の初期に体重の低値がみられたが、78 週間の投与期間では雄の同群と対照群の体重増加量は同程度であった。

摂餌量および摂餌効率：摂餌量を投与 1～13 週、17 週、20～25 週は週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回測定した。また、摂餌効率（体重増加量÷摂餌量×100）も算出した。

雌雄の高・中用量群の摂餌量は、投与期間を通じて対照群に比べて低値を示し、被験物質投与による影響と考えられた。高用量群の最初の 12 週間（500 ppm）では、摂餌効率は対照群と比較して雄で約 1/4、雌で約 1/2 であった。投与 13～19 週（400 ppm）の摂餌効率は対照群と比較して雄で 14 倍、雌で 7.5 倍高かった。その他、摂餌量および摂餌効率に各被験物質投与群で統計学的有意差がみられたが、散発的であるため被験物質投与の影響ではないものと考えられた。

被験物質摂取量：被験物質投与量、摂餌量および体重から、各被験物質投与群の全投与期間における 1 日あたりの平均被験物質摂取量を算出し、その数値を次表に示す。

性別	雄			雌		
	15	150	500/400/300	15	150	500/400/300
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	2.2	20.8	60.9	2.8	27.1	75.9

血液学的検査：投与 52 週時および投与終了時に全例を対象として、採血前一晩絶食後、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、白血球数、血小板数、白血球分画、細胞形態 (52 週に全例、79 週に対照群と高用量群で実施)

対照群に比べ、統計学的有意差のみられた項目を次表（次頁）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日本農薬株式会社にある。

(血液学的検査)

これらの変動の程度はいずれも軽微であり、経時的な一貫性がないこと、あるいは用量依存性がないことから、被験物質投与とは無関係の偶発的な変化と考えられた。

器官重量：最終屠殺時に、各群 10 匹の動物を対象として、解剖後以下の器官重量（絶対重量）を測定した。また、相対重量として対体重比および対脳重量比を算出した。

副腎（固定後）、脳（脳幹も含む）、肝臓（胆嚢も含む）、肺、腎臓、卵巣、脾臓、精巣および精巣上体

対照群と比較して、統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

雌雄の 150 ppm および 500/400/300 ppm 群では、平均器官重量と平均器官重量対体重比の著しい変動がみられた。しかし、500/400/300 ppm 群ではこれらの変化と関連する組織学的変化はみられなかった。この 150 ppm および 500/400/300 ppm 群でみられた変化は、投与終了時の体重低値に起因し、被験物質投与による変化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日本農薬株式会社にある。

肉眼的病理検査：全ての動物を対象として、屠殺・解剖時に肉眼的病理検査を実施した。

被験物質投与に起因した異常はみられなかった。

病理組織学的検査：全ての対照群および高用量群の動物、全ての死亡・瀕死期殺動物を対象に以下の全臓器について病理標本を作製し、鏡検した。また、15 および 150ppm 群の全動物の肺、肝臓、腎臓および肉眼的病変部について検査した。

副腎、大動脈、骨髄 (大腿骨/胸骨)、脳および脳幹 (髄質/橋、小脳皮質および大脳皮質)、脊髄 (頸部、腰部、胸部)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、食道、眼 (視神経も含む)、大腿骨 (関節表面を含む)、心臓、腎臓、喉頭、肝臓 (胆嚢を含む)、肺、乳腺 (雌)、腫瘤 (周囲組織)、腸間膜リンパ節、卵巣、膵臓、咽頭、下垂体、前立腺、顎下腺、坐骨神経、精嚢、皮膚、脾臓、胸骨、胃、精巣および精巣上体、大腿筋、胸腺、甲状腺 (上皮小体)、気管、膀胱、子宮 (子宮頸部を含む)および膣、肉眼的病変部

主要な非腫瘍性病変を表 I に、腫瘍性病変の発生を表 II に、腫瘍総数および腫瘍保有動物数を表 III に示す。

検査した組織には、被験物質に関連した組織学的変化はみられなかった。肺、肝臓、および造血系に一般にみられる腫瘍の発生率は、被験物質投与によって増加しなかった。

500/400/300 ppm では、雌生殖器 (卵巣、子宮、子宮頸部) の萎縮がみられ、子宮内膜の嚢胞状過形成の発生率/程度の低下がみられた。これらの所見は摂餌量低下および体重増加抑制の二次的作用と判断された。

以上、被験物質をマウスに 18 ヶ月間投与した結果、発癌性は雌雄ともみられなかった。また、被験物質に起因する毒性変化として一般状態の変化が雌雄の高用量群 (500 または 400ppm)、体重の低値が雄 150ppm 以上の群および雌高用量群、摂餌量の低値が雌雄 150ppm 以上の群でみられた。したがって、本試験条件下における無毒性量は雌雄とも 15 ppm (雄 : 2.2 mg/kg/day、雌 : 2.8 mg/kg/day) であると判断された。

---

申請者注：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
以下の病理組織学的検査結果表を示す。

表 I-1 : 非腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 死亡および瀕死期殺動物

表 I-2 : 非腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 計画殺動物

表 I-3 : 非腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 全動物 (死亡・瀕死期+計画殺)

表 II-1 : 腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 死亡および瀕死期殺動物

表 II-2 : 腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 計画殺動物

表 II-3 : 腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 全動物 (死亡・瀕死期+計画殺)

表 III : 腫瘍総数および腫瘍保有動物数- 79 週最終屠殺対象動物 : 全動物 (死亡・瀕死期殺+計画殺)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I - 1 : 非腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 死亡および瀕死期殺動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I - 2 : 非腫瘍性病変発生頻度- 79 週最終屠殺対象動物 : 計画殺動物



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I - 3 : 非腫瘍性病変発生頻度-79 週最終屠殺対象動物 : 全動物 (死亡・瀕死期+計画殺)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－１：腫瘍性病変発生頻度-79週最終屠殺対象動物：死亡および瀕死期殺動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－２：腫瘍性病変発生頻度-79週最終屠殺対象動物：計画殺動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表Ⅱ－3：腫瘍性病変発生頻度-79週最終屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期＋計画殺）

表Ⅲ：腫瘍総数および腫瘍保有動物数-79週最終屠殺対象動物：全動物（死亡・瀕死期殺＋計画殺）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

## (8) 繁殖毒性および催奇形性

### 1) 繁殖毒性

#### ①ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(資料T-22)

試験機関 三菱化学安全科学研究所 [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質：

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各30匹 (F0親動物)

F0世代投与開始時6週齢 (体重 雄189~234g、雌144~179g)

投与期間：F0世代- 雌雄とも交配前 (10週間、雄の解剖日まで)、交配、妊娠/分娩/哺育 (雌)、  
F1児の離乳 (分娩後21日) まで投与。

F1世代- 雌雄とも離乳 (3週齢) から交配前 (10週間、雄の解剖日まで)、交配、  
妊娠/分娩/哺育 (雌)、F2児の離乳まで投与。

(投与期間：F0親投与開始1998年2月9日~F2児離乳開始9月30日)

投与方法：被験物質を飼料中に混入し、2世代にわたって連続的に自由摂取させた。投与量は0、0.75、1.5、3 mg/kg/dayに設定し、これらの被験物質摂取量が達成されるように混餌濃度を全投与期間にわたって適宜調整した。被験物質を混入した飼料は、ほぼ毎週調製した。

投与量の設定根拠：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

被験物質摂取量：摂餌量、体重および混餌濃度から算出された1日あたりの平均被験物質摂取量を次表に示す。

各投与群の交配前期間、妊娠期間および哺育期間の平均被験物質摂取量は、雌雄ともにいずれの世代においても設定用量の±20%以内であり、各測定日毎の変動も設定用量の±30%以内であった。

性 別		雄		
投与量(mg/kg/day)		0.75	1.5	3
F0	交配前 10 週間	0.7127	1.389	2.804
	交配後 4 週間	0.6936	1.396	2.869
F1	交配前 10 週間	0.7092	1.450	2.820
	交配後 2 週間	0.7094	1.375	2.881
性 別		雌		
投与量(mg/kg/day)		0.75	1.5	3
F0	交配前 10 週間	0.7595	1.512	3.048
	妊娠期間	0.7620	1.593	3.066
	哺育期間	0.7290	1.434	2.912
F1	交配前 10 週間	0.7810	1.585	3.052
	妊娠期間	0.6994	1.477	2.836
	哺育期間	0.6885	1.339	2.766

検査項目：試験の流れに沿った検査項目の概要を表 I に示す。

<親動物 (F0、F1) >

一般状態および死亡：投与期間を通じて、全動物の一般状態および死亡の有無を毎日観察した。

体重および摂餌量：雄では投与期間を通じて週 1 回、雌では交配前期間は週 1 回、交尾以降、妊娠 0、7、14、20 日および哺育 0、4、7、14、17、21 日に測定した。また、摂餌効率（体重増加量÷摂餌量×100）も算出した。

性周期：交配開始前 21 日間および交配期間中に毎日膣垢を採取して検査した。平均性周期日数を算出するとともに性周期が 4~6 日周期でないものは不整性周期とし、その発現率を算出した。

交配：雄 1 雌 1 の交配対を設け、最長 8 日間昼夜同居させた。膣栓または膣垢標本中に精子が観察された場合を交尾成立と判断し、その日を妊娠 0 日とした。なお、妊娠の判断は出産または着床痕の有無により最終的に確認した。

これらの観察結果から次の項目を算出した。

交尾所要日数

交尾成立までに逸した発情期の回数

交尾率 (%) = (交尾動物数 ÷ 同居動物数) × 100

受胎率 (%) = (妊娠動物数 ÷ 交尾動物数) × 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

精子検査：剖検時、精巣上体尾部の重量を測定した。その後、緩衝液 5 mL 中で精巣上体尾部を細切した液を精子原液として次の項目を検査した。

精子活性 = 5 段階評価

精子生存率 (%) = ヘキスト 33258 の蛍光色素染色後、精子 100 個中の死滅精子数を計数し、生存率を算出した。

精子数 = 精巣上体尾部 1 g あたりの精子数

精子形態異常 = 塗抹標本をエオジン Y で染色し、頭部と尾部が分離していない精子 200 個中の形態異常精子を計数し、発現率を算出した。  
また、精子 100 個中の頭部と尾部が分離している精子を計数し、Tailless Sperm の発現率を算出した。

分娩および哺育の観察：妊娠 21 日から 25 日まで最低 1 日 2 回分娩の観察を行い、哺育中は 1 日 1 回観察した。これらの観察結果から次の項目を算出した。

妊娠期間

出産率 (%) = (生存児出産雌数 ÷ 妊娠雌数) × 100

出生率 (%) = (出産生存児数 ÷ 着床数) × 100

病理学的検査：雄は交配終了後（交尾した雄は射精から 2 日以上の回復期間の後）、分娩した雌は哺育終了後（離乳後）、非分娩雌は交尾確認後 26 日、未交尾雌は交配期間終了後 14 日に剖検に供した。また、全生存動物について次の器官重量を測定するとともに、剖検時の体重をもとに対体重比も算出した。雌は、剖検日の午前中に膣垢を採取し、性周期のステージを検査した。なお、死亡、瀕死動物および全出生児が死亡した雌は発見後速やかに剖検した。

脳、下垂体、胸腺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、精巣上体（全体および尾部）、精囊（凝固腺および内容を含む）、前立腺（腹葉）、卵巣、子宮（頸部を含む）

全動物から次の器官および組織を採取し、固定保存した。また、対照群および 3 mg/kg/day 群の下記識別(\*)器官・組織に関して、染色標本を作製して鏡検した。なお、精巣上体は縦断切片を、卵巣は左右各 5 切片を検査した。

脳、下垂体\*、胸腺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣\*、精巣上体\*、精囊\*、凝固腺\*、前立腺(腹葉)\*、卵巣\*、卵管\*、子宮(頸部を含む)\*、膣\*、肉眼的異常部位\*

なお、死亡例、瀕死期殺例および全出生児が死亡した雌については、原因究明のため上記の器官・組織以外に心臓、胸腺、脾臓、肺、肝臓、腎臓、胃、腸管、副腎および乳腺等についても病理組織学的検査を行った。

#### < 児動物 (F1、F2) >

観察： 出生日に出産児数（生存児数、死亡児数）、性別および外表異常の有無を検査した。その後は、一般状態および死亡の有無を毎日観察した。また、体重を個体ごとに出生日、生後 4、7、14、21 日に測定した。生後 4 日に同腹児数を無作為に 8 匹（可能な限り雌雄同数）に調整した。F1 児は生後 21 日に各群各腹から雌雄

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

各1匹を無作為に選抜し、継代用動物とした。これらの観察・検査から次の項目を算出した。

$$\text{出産時生存率 (\%)} = (\text{出産時の生存児数} \div \text{出産児数}) \times 100$$

$$\text{4日生存率 (\%)} = (\text{生後4日の生存児数} \div \text{出産時の生存児数}) \times 100$$

$$\text{離乳率 (\%)} = (\text{離乳時の生存児数} \div \text{児数調整後の児数}) \times 100$$

生後形態分化：全児について、生後2～4日に耳介展開の発現の有無を観察し、発現率を算出した。また、眼瞼開裂、陰茎亀頭包皮分泌腺開裂（雄）および膈開口（雌）の発現日を検査した。

反射反応性：児数調整後のF1児全例について、平面正向反射、自由落下反射および瞳孔反射を検査した。

病理学的検査：継代用に選抜されなかった全てのF1児および全てのF2児は、生後21日に剖検に供した。また、各腹あたり雌雄各1匹を無作為に選抜し、次の器官重量を測定し、剖検日の体重をもとに対体重比も算出した。

#### 脳、脾臓、胸腺

全動物から脳、脾臓、胸腺を採取し、固定した。また、対照群および3mg/kg/day群の脾臓および胸腺に関して、染色標本を作製して鏡検した。

なお、F2児において生後初期に腹腔内黒色化がみられ、生後4日に剖検した3mg/kg/day群の3例には空腸および回腸に暗緑色を呈した異常内容物がみられたので、その内2例および対照群の2例の当該器官を同様に病理組織学的検査に供した。

試験結果：親動物および児動物の検査成績をそれぞれ表II-1～4に示す。

#### <親動物 (F0、F1) への影響>

F0およびF1動物ともに雄では3mg/kg/day群、雌では1.5mg/kg/day以上の群で体重増加抑制、摂餌量の減少がみられ、さらに、F0雌では3mg/kg/day群で妊娠末期に3例が死亡または瀕死期殺された。器官重量、剖検および病理組織検査においては、F0およびF1動物とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

繁殖機能への影響として、F0雌3mg/kg/day群で難産、遷延分娩の分娩異常、妊娠期間の延長、全出産児死亡、出産率および出生率の低下がみられた。これらの分娩異常は死亡、瀕死期殺および全出産児死亡例で観察され、これらの母動物には病理組織学的検査において全身状態の悪化を示唆する所見（表II-1、F0親）が認められた。このことから、これらの母動物では交配前から妊娠期間を通した顕著な摂餌量減少による低栄養状態に加えて、娩出時の過度の出血と衰弱が原因となり、分娩異常、死亡あるいは全出産児死亡が生じたものと推察された#)。

#)申請者注：



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性周期、精子検査、卵胞数、交尾率、受胎率、哺育行動においては F0 および F1 動物とも被験物質に起因する変化はみられなかった。

#### < 児動物 (F1、F2) への影響 >

F1 動物では 1.5mg/kg/day 以上の群、F2 動物では 3mg/kg/day 群で低体重、生後の体重増加抑制、耳介展開および眼瞼開裂の遅延がみられた。また、生後初期に小腸への暗緑色内容物貯留による腹腔内黒色化がみられた。さらに、F1 動物では 3 mg/kg/day 群で出産生存児数の減少、出生時および 4 日生存率の低下、平面正向反射成立日の遅延がみられた。F1 動物の離乳後の膈開口および陰茎亀頭包皮分泌腺開裂には被験物質の影響はみられなかった。なお、離乳時の胸腺重量において、統計学的に有意な低値が F1 動物では 3mg/kg/day 群の雌雄、F2 動物では全被験物質投与群の雄および 1.5mg/kg/day 以上の群の雌でみられたが、病理組織変化を伴わない軽微な変化であり、F0 および F1 親動物ではみられなかった。さらに、次世代免疫毒性検討試験 (資料 T-23) において F1 および F2 動物の免疫機能を検討した結果、いずれの世代およびいずれの用量 (0.75 および 3 mg/kg/day) においても液性・細胞性免疫機能に異常はみられなかったことから、本試験でみられた胸腺重量の低下は毒性学的意義に乏しい変化と判断された。

以上、親動物には一般毒性学的影響が F0 および F1 動物ともに雄で 3 mg/kg/day 群、雌で 1.5 mg/kg/day 以上の群、雌の繁殖機能への影響が F0 動物の 3 mg/kg/day 群でみられた。また、F1 動物の 1.5 mg/kg/day 以上の群、F2 動物の 3 mg/kg/day 群で発育抑制がみられた。しかし、0.75 mg/kg/day 群では親動物への一般毒性学的影響および繁殖機能への影響ならびに次世代への毒性はみられなかった。したがって、無毒性量は親動物および児動物とも 0.75 mg/kg/day と考えられた。また、繁殖に対する無毒性量は 1.5mg/kg/day と考える<sup>#)</sup>。

---

<sup>#</sup> 申請者注:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I. 試験の流れと検査概要

世代	期 間	作業手順	主要な検査項目
F0	交配前 (10 週)		<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 一般状態観察、体重・摂餌量測定</li> <li>◆ 性周期検査 (♀)</li> </ul>
	交配 (8 日)	♂♀ 1 対同居	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 交尾状況の観察</li> <li>◆ 性周期検査 (♀)</li> </ul>
	妊娠 (3 週)		<p>&lt;妊娠♀ (♂)&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 一般状態観察、体重・摂餌量測定</li> </ul> <p>&lt;♂&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 精子検査、器官重量、剖検および組織検査</li> </ul>
	哺育 (3 週)	分娩  児数調整 (生後 4 日)  離乳(生後 21 日) 継代用動物の選抜	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 出産状況の観察・検査 娩出児：生存児数、死亡児数、性別、外表観察、体重 分娩しない♀：剖検、着床痕の確認</li> </ul> <p>&lt;授乳♀&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 一般状態観察、体重・摂餌量測定</li> </ul> <p>&lt;哺育児&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 一般状態観察、体重測定</li> <li>◆ 生後形態分化の検査</li> <li>◆ 反射反応性の検査</li> </ul> <p>&lt;授乳♀&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 器官重量、剖検および組織検査</li> </ul> <p>&lt;離乳後の余剰児&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 器官重量、剖検および組織検査 (胸腺、脾臓)</li> </ul>
F1	交配前 (10 週)	(F0 世代と同様)	(F0 世代と同様)
	交配 (8 日)	(F0 世代と同様)	(F0 世代と同様)
	妊娠 (3 週)	(F0 世代と同様)	(F0 世代と同様)
	哺育 (3 週)	離乳(生後 21 日)	(F0 世代と同様。ただし、生後形態分化の包皮分離および臆開口、ならびに反射反応性の検査は非実施。)

統計学的解析法

- ・ 離乳までの出生児に関するデータ (体重、外表異常の発現率、生後形態分化、反射反応性) は、各腹ごとに算出した値を標本単位とした。
- ・ 統計手法および解析対象項目  
 多重比較検定：体重、体重増加量、摂餌量、摂餌効率、器官重量、着床数、出産児数、出生児数、性周期日数、原始卵胞数、一次卵胞数、精子数  
 Kruskal-Wallis 検定と Dunnett 型の多重比較検定：交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、妊娠期間、出生率、出生時生存率、4 日生存率、離乳率、外表異常の発現率、生後形態分化、反射反応性、精子生存率、精子形態異常の発現率  
 a × b の  $\chi^2$  検定および Armitage の  $\chi^2$  検定：精子活性、病理組織所見  
 Fisher の直接確率法：交尾率、妊娠率、出産率、性比 (雄/雌)、不整性周期動物の発現率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
表Ⅱ-1. F O 親

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
表Ⅱ-1. F O 親 (続き)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
表Ⅱ-2. F1児

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
表Ⅱ-3. F1 親

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。  
表Ⅱ-4. F 2 児

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

②ラットを用いた次世代免疫毒性検討試験

(資料T-23)

試験機関

報告書作成年

試験目的：先に実施されたラットの2世代繁殖毒性試験（資料T-22）において、被験物質投与群のF1およびF2児に胸腺と脾臓重量の低値がみられた。脾臓重量の低値は、高用量の3 mg/kg/dayのみでみられたが、胸腺重量の低値はF2動物では0.75 mg/kg/dayからみられた。胸腺および脾臓に関する病理組織学的検査の結果、異常所見は観察されなかった。

この試験は、被験物質をラットの妊娠・哺育期間からF2動物の成熟期まで経口投与し、F1およびF2動物の免疫機能に及ぼす影響に関して検討するため実施された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上、被験物質を3世代にわたり経口投与しF1 およびF2 動物の免疫機能に対する影響を検討した結果、3 mg/kg/day では胸腺および脾臓重量の低値、およびそれら器官の細胞数の低値とリンパ球サブセットの変化が、0.75 mg/kg/day では胸腺重量の低値がみられたが、これらの変化は生後の日数経過に伴い回復する傾向にあった。また、これらの変化にもかかわらず、成獣においては液性免疫および細胞性免疫機能に影響がみられなかったことから、上記の変化の毒性学的意義が乏しく、被験物質は次世代に対する免疫毒性を有さないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

## 2) 催奇形性

### ①ラットを用いた催奇形性試験

(資料T-24)

試験機関 三菱化学安全科学研究所 [GLP対応]

報告書作成年 1997年

被験物質：

試験動物：SD系妊娠ラット、1群24匹（交尾確認雌）

妊娠0日において10週齢（体重234～291g）

（投与：1996年9月24日～10月15日）

投与方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、1、3および4.5 mg/kg/dayの投与量で妊娠6日から15日までの10日間、1日1回強制経口投与した。また、対照群の動物には0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液のみを同様に投与した。帝王切開は妊娠20日に実施した。なお、交配は雄1雌2の交配对を昼夜同居させることにより行い、膣栓または膣垢中に精子が確認された日を妊娠0日とした。

投与量の設定根拠：

検査項目：

母動物：一般状態および生死を毎日観察し、体重および摂餌量を妊娠0、6、9、12、15および20日に測定した。妊娠20日にすべての母動物を剖検した。卵巣および子宮を摘出し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚数等を検査した。

生存胎児：性別、体重および外表異常の有無を全胎児について検査した。

対照群および全被験物質投与群の各腹約半数の胎児について内臓異常の有無を検査した。残りの胎児は骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果：概要を次頁の表に示す。

試驗結果表：

。

## 試験結果表（続き）

母動物への影響として、3 mg/kg/day 以上の群で体重の低値または増加抑制、摂餌量の低値がみられた。

胚・胎児については、生存胎児の体重および中手骨骨化数の低値が 4.5 mg/kg/day 群でみられた。また、14 本肋骨の発生率の高値が 4.5 mg/kg/day 群でみられたが、それ以外の変異または奇形の増加はなかった。14 本肋骨の発生率の高値は予備試験ではみられていないことから、本試験で観察された 14 本肋骨の発生率の高値と被験物質の投与との関係は不明であったが、催奇形性を示唆する変化ではなかった。また、腰椎数にも変化はみられなかった。その他、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚数、胚死亡率および性比のいずれの項目にも被験物質に起因した変化はみられなかった。

以上、被験物質の投与に起因する影響として体重の低値または増加抑制、摂餌量の低値が 3 mg/kg/day 以上の群で母動物にみられた。胚・胎児に関しては、生存胎児体重および中手骨骨化数の低値が 4.5 mg/kg/day 群でみられた。したがって、無毒性量は母動物では 1 mg/kg/day、胚・胎児では 3 mg/kg/day と判断された。また、被験物質は最高投与量である 4.5 mg/kg/day においても胎児に対して催奇形性を示さないと判断された。

---

<14 本肋骨に関する申請者の見解>





②ウサギを用いた催奇形性試験

(資料T-25)

試験機関 三菱化学安全科学研究所 [GLP対応]

報告書作成年 1997年

被験物質：

試験動物：日本白色種妊娠ウサギ、1群16匹（人工授精雌）

妊娠0日において19週齢（体重3.30～4.30kg）

（投与：1996年9月30日～11月1日）

投与方法：被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、0、1、3および6mg/kg/dayの投与量で妊娠6日から18日までの13日間、1日1回強制経口投与した。また、対照群の動物には0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液のみを同様に投与した。帝王切開は妊娠28日に実施した。なお、交配は雌に排卵誘発のため局方胎盤性性腺刺激ホルモン（HCG）を静脈内投与し、良好な精液を人工授精することにより行った。人工授精日の翌日を妊娠0日とした。

投与量の設定根拠：

検査項目：

母動物：一般状態および生死を毎日観察し、体重および摂餌量を妊娠0（体重のみ）、6、9、12、15、18、21、25および28日に測定した。妊娠28日にすべての母動物を剖検した。卵巣および子宮を摘出し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚数等を検査した。また、1例の死亡動物（妊娠28日に死亡）、早産動物（妊娠27日に早産）および対照群の代表例の動物について、肝臓、腎臓、肺、心臓、脾臓、その他早産動物の胃、卵巣、子宮（膈を含む）および副腎を採取し固定した。死亡動物については常法にしたがって組織標本を作製後、鏡検した。

生存胎児：性別、体重および外表異常の有無を全胎児について検査した。

全生存胎児について内臓異常の有無を検査したのち、骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果：概要を次頁の表に示す。

試驗結果表：

試験結果表 (続き)

母動物への影響として、6 mg/kg/day 群で体重の低値ないし低値傾向および摂餌量の低値がみられ、1例が妊娠27日に早産した。また、3 mg/kg/day 群では体重増加の抑制傾向および摂餌量の低値傾向がみられ、妊娠28日に1例死亡した。死亡例の病理組織検査の結果、肺のうっ血、肝臓および腎臓の脂肪化、脾臓の萎縮などの循環障害、低栄養または衰弱による変化がみられた。これらのことから、体重減少、無摂餌あるいは摂餌抑制の状態が継続し、母体の全身状態が悪化したことにより死亡あるいは早産したと考えられた。一方、1 mg/kg/day 群ではこれらの影響はみられなかった。

胚・胎児については、6 mg/kg/day 群で全胚死亡（着床痕数：9）が、体重減少および無摂餌状態を示した母動物の1例にみられ、被験物質の投与による変化と考えられた。骨格変異を有する胎児の発生率の高値が1および6 mg/kg/day 群でみられた。その要因は1 mg/kg/day 群では13本肋骨および過剰胸骨分節、6 mg/kg/day 群では13本肋骨の発生率が対照群と比べ高値を示したためと考えられた。過剰胸骨分節については6 mg/kg/day 群で増加傾向がないことから、偶発的変化と考えられた。1および6 mg/kg/day 群での13本肋骨の発生率は試験機関の背景データの範囲内である。また、本試験において腰椎数に変化はみられなかった。さらに、ウサギの胸椎数は通常12であるが、13の個体もしばしば存在する。したがって、本試験で見られた13本肋骨の発生は自然発生の範囲内の変化であり、被験物質の投与とは関連のない変化であると考えられた。その他、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚数、胚死亡率、生存胎児体重および性比のいずれの項目にも被験物質に起因した変化はみられなかった。

以上、被験物質の投与に起因する影響として体重の減少または増加抑制、摂餌量の減少が3 mg/kg/day 以上の群の母動物でみられた。また、早産が6 mg/kg/day 群の1例、母動物の死亡が3 mg/kg/day 群の1例にみられた。胚・胎児に関しては、全胚死亡が6 mg/kg/day 群の1例にみられた。したがって、無毒性量は母動物では1 mg/kg/day、胚・胎児では3 mg/kg/day と判断された。また、被験物質は最高投与量である6 mg/kg/day においても胎児に対して催奇形性を示さないと判断された。

---

<着床後胚・胎児死亡率に関する申請者の見解>



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

## (9) 変異原性

### 1) 遺伝子突然変異原性

#### ①細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料T-26)

試験機関 Covance Laboratories (英国) [G L P 対応]  
報告書作成年 1997年

被験物質:

試験方法: ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537 株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用いた。ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下において実験1ではプレート法、実験2ではプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験の実験1

では 5000  $\mu$ g/プレートを最高用量とし、以下公比5で計5用量を設定し、また、実験1の5000および1000  $\mu$ g/プレートで被験物質の沈殿がみられたので、実験2では 1000  $\mu$ g/プレートを最高用量とし、以下公比2で計5用量を設定した。各実験は、3プレート/用量とした。

[判定基準] 以下の3条件を満たせば、陽性と判定された。

- ・陰性対照群の値に比べて、Dunnett検定で有意 ( $p \leq 0.01$ ) な復帰変異コロニー数の増加がみられ、また、用量相関性 (直線回帰分析) があること。
- ・上記の反応に再現性があること。
- ・陰性対照群の値に比べて、2倍以上の復帰変異コロニー数の増加があること。

試験結果: 結果を次頁以降の表1および2に示す。

実験1および2において、被験物質はS9 mixの共存下および非共存下においていずれの用量またはいずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照物質として用いた2-ニトロフルオレン、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン、グルタルアルデヒドおよび4-ニトキリソ 1-ヒドライドではすべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。実験2において2-アミアントラセンでは、S9 mix共存下においてTA102株に復帰変異コロニー数の増加がみられなかった。しかし、その他の2-アミアントラセン処理においては、S9 mix共存下および非共存下においていずれの指標菌株でも明らかな復帰変異コロニーの増加がみられた。

以上の結果から、原体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異を誘発しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1 : 実験 1

薬 物	S9 mix の 有 無	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> <sup>-</sup>	TA102	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0							
被験物質		8							
		40							
		200							
		1000							
		5000							
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0							
被験物質		8							
		40							
		200							
		1000							
		5000							
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	NaN <sub>3</sub>	NaN <sub>3</sub>	NQO	GLU	2NF	AAC	
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2	2	2	25	5	50	
		コロニー数/プレート							
	S9 mix を 必要とする もの	名称	AAN	AAN	AAN	AAN	AAN	AAN	
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	5	5	5	5	5	5	
		コロニー数/プレート							

表中の数値は、対照では5プレート、被験物質および陽性対照物質では3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明：NaN<sub>3</sub>：アジ化ナトリウム、NQO：4-ニトロキノリン 1-オキシド、GLU：グルタミルグリコシルトランスフェラーゼ、  
2NF：2-ニトロフルオレン、AAC：9-アミノアクリジン、AAN：2-アミノアントラセン

L：1プレート紛失（破損または技術的ミス）

C：1プレートが汚染

P：被験物質の沈殿



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表2：実験2

薬物	S9 mix の有無	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> <sup>-</sup>	TA102	TA98	TA1537
対照(DMSO)	S9 mix [-]	0						
被験物質		62.5						
		125						
		250						
		500						
		1000						
対照(DMSO)	S9 mix [+]	0						
被験物質		62.5						
		125						
		250						
		500						
		1000						
陽性 対 照 物 質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	NaN <sub>3</sub>	NaN <sub>3</sub>	NQO	GLU	2NF	AAC
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2	2	2	25	5	50
		コロニー数/プレート						
	S9 mix を 必要とする もの	名称	AAN	AAN	AAN	AAN	AAN	AAN
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	5	5	5	5	5	5
		コロニー数/プレート						

表中の数値は、対照では5プレート、被験物質および陽性対照物質では3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明：NaN<sub>3</sub>：アジ化ナトリウム、NQO：4-ニトロキノリン1-オキシド\*、GLU：グルタリルアルデヒド、

2NF：2-ニトロフルオレン、AAC：9-アミノアクリン、AAN：2-アミノアントラセン

1):S9 mix 共存下の AAN 処理では、復帰変異コロニー数の増加がみられなかった。しかし、S9 mix 非共存下の GLU 処理では、復帰変異コロニー数の増加がみられ、S9 mix 共存下の溶媒対照の復帰変異コロニー数も正常であった。また、その他の AAN 処理では復帰変異コロニー数の増加がみられた。したがって、TA102 株の被験物質処理で得られたデータは有効であると考えられた\*。

\*申請者注：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料T-27)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 2000年

試験目的：前回の試験（資料 T-26）において、実験 2 の S9 mix 共存下における TA102 株で得られた結果の妥当性に問題があった。申請者は、前回の試験結果を総合的に評価し、被験物質の復帰突然変異誘発性を陰性と考えたが、念のため、TA102 株を含む同様の試験を再実施し、被験物質の変異原性の有無を確認した。

被験物質：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537 株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*-株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて被験物質の変異原性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本試験では 5000  $\mu$ g / プレート を最高用量とし、以下公比 2 で計 6 用量を設定した。各実験は、3 プレート / 用量とした。

試験結果：予備試験および本試験の結果を次頁以降の表 I と II に示す。

被験物質では、S9 mix の共存下および非共存下においていずれの用量、また、いずれの菌株においても陰性対照の 2 倍をこえる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照物質として用いた 2-(2-フル)-3-(5-ニトロ-2-フル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロエチル)-アミノ<sup>o</sup>ロピ<sup>o</sup>ルアミノ]アクリジン・2HCl、マイトマイシン C、2-アミノアントラセンおよびベンゾ<sup>o</sup>[a]ピレンでは、すべての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果から、原体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰突然変異を誘発しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I. 予備試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型		架橋型/酸化型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	TA102	
対照(DMSO)		0							
被験物質	S9 mix [-]	0.305							
		1.22							
		4.88							
		19.5							
		78.1							
		313							
		1250							
		5000							
対照(DMSO)		0							
被験物質	S9 mix [+]	0.305							
		1.22							
		4.88							
		19.5							
		78.1							
		313							
		1250							
		5000							
陽性 対照 物質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	ICR-191	MMC	
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00	0.01	
	コロニー数/プレート								
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	2-AA	
濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )		5.00	2.00	10.0	5.00	5.00	10.0		
コロニー数/プレート									

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

MMC: マイトマイシン C

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

P: 結晶の析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II. 本試験の結果

薬物	S9 mix の有無	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型		架橋型/酸化型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	TA102	
対照(DMSO)		0							
被験物質	S9 mix [-]	156							
		313							
		625							
		1250							
		2500							
		5000							
対照(DMSO)		0							
被験物質	S9 mix [+]	156							
		313							
		625							
		1250							
		2500							
		5000							
陽性 対照 物質	S9 mix を 必要としな いもの	名称	AF-2	$\text{NaN}_3$	AF-2	AF-2	ICR-191	MMC	
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	0.01	0.50	0.01	0.10	1.00	0.01	
		コロニー数/プレート							
	S9 mix を 必要とする もの	名称	BP	2-AA	2-AA	BP	BP	2-AA	
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	5.00	2.00	10.0	5.00	5.00	10.0	
		コロニー数/プレート							

表中の数値は、3プレートの平均値である。

表中の陽性対照物質の説明

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

$\text{NaN}_3$ : ナジ化ナトリウム

ICR-191: 2-メキシロ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピル]アクリジン・2HCl

MMC: マイトマイシン C

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

P: 結晶の析出

③ マウスリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験

(資料T-76)

試験機関 Covance Laboratories Inc. (米国) [G L P 対応]

報告書作成年 2007年

被験物質：

試験方法：マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK<sup>+</sup>-3.7.2C 株を用い、代謝活性化系 (S9 mix) 存在下および非存在下で、ソフトアガーを用いる方法に従ってトリフルオロチミジン (TFT) 抵抗性細胞の出現頻度を測定し、前進突然変異誘発性を検定した。

被験物質は DMSO に溶解した。

用量設定根拠：

試験は溶媒対照 3 連、陽性対照 2 連、検体 1 連から構成される試験を 3 回実施した (初回試験⇒再試験⇒確認試験)。被験物質、陽性対照物質の処理は 4 時間として代謝活性化系存在下および非存在下で行った。なお、陽性対照として、代謝活性化非存在下ではメタンスルホン酸メチル (MMS)、代謝活性化存在下ではメチルコラントレン (MCA) を用いた。

試験結果：結果を 2 頁後に表示した。

【代謝活性化系非存在下】

初回試験では 1.00~200 $\mu$ g/mL の範囲の 11 濃度で被験物質処理を行ったが、極度の毒性発現のため 100 $\mu$ g/mL 以上の濃度は途中で試験を中止するか、計測を中止した。残り 7 濃度でも強い細胞毒性が観察され相対増殖率は 15.9~24.8%であった。いずれの被験物質濃度の変異体頻度においても、変異体頻度陽性の基準 (溶媒対照の変異体頻度と  $90 \times 10^{-6}$  の合計を上回る頻度) を下回っていた。しかし、溶媒対照の変異体頻度が低過ぎ、許容基準を満たさないことから再試験が行われた。

再試験では 0.0100~100 $\mu$ g/mL の範囲の 11 濃度で被験物質処理を行ったが 10~75 $\mu$ g/mL では変異体コロニーが無かったので計測しなかった。計測した 0.0100~5.00 $\mu$ g/mL では弱~中高度の細胞毒性がみられた。いずれの被験物質濃度の変異体頻度においても、変異体頻度陽性の基準を下回った。

確認試験では 0.00500~10.0 $\mu$ g/mL の範囲の 8 濃度で被験物質処理を行い、弱~中高度の細胞毒性 (相対増殖率が 77.0~20.3%) がみられた。評価したいずれの被験物質濃度の変異体頻度においても、変異体頻度陽性の基準を下回った。

【代謝活性化系存在下】

初回試験では 1.00~200 $\mu$ g/mL の範囲の 11 濃度で被験物質処理を行ったが、極度の毒性発現のため 100 $\mu$ g/mL 以上の濃度は途中で試験を中止するか、計測を中止した。残り 7 濃度でも強い細胞毒性が観察され相対増殖率は 29.6~15.9%であった。いずれの被験物質濃度の変異体頻度においても、変異体頻度陽性の基準を下回っていた。しかし、溶媒対照の変異体頻度が低過ぎ許容基準を満たさないことから代謝活性化系非存在下と同様に再試験が行われた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

再試験では 0.0100～100 $\mu$ g/mL の範囲の 11 濃度で被験物質処理を行ったが、75 と 100 $\mu$ g/mL では変異体コロニーが無かったので計測しなかった。計測した 0.0500～25.00 $\mu$ g/mL の 6 濃度で突然変異誘発性を検索した。これらの濃度での細胞毒性は無し～高度であった。いずれの被験物質濃度の変異体頻度においても、変異体頻度陽性の基準を下回った。

確認試験では 0.0100～50.0 $\mu$ g/mL の範囲の 9 濃度で被験物質処理を行ったが、50.0 $\mu$ g/mL では極度の細胞毒性のため中止し、残り 8 濃度で突然変異誘発性を検索した。これらの濃度の細胞毒性は、無し～高度であった（相対増殖率が 104.5～9.7%）。評価したいずれの被験物質濃度の変異体頻度においても、変異体頻度陽性の基準を下回った。

陽性対照として用いたメタンスルホン酸メチルおよびメチルコラントレンでは、代謝活性化系の非存在下の確認試験を除いて、許容基準<sup>#</sup>を上回る変異体頻度の上昇が観察され、試験系の有効性が確認された（<sup>#</sup>変異体頻度が  $300 \times 10^{-6}$  以上、または小コロニー変異体が  $150 \times 10^{-6}$  以上）。また、これらの陽性対照は大コロニーおよび小コロニーの突然変異コロニーを誘発した。

以上の結果から、原体は代謝活性化系の有無にかかわらず、本試験条件下でマウスリンパ腫細胞 L5178Y 細胞株 TK 遺伝子座における前進突然変異誘発能は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

非代謝活性化（初回試験）

群	濃度	累積 RSG (%) <sup>a</sup>		クローニング効率 <sup>b</sup>		相対増殖率 (%) <sup>c</sup>	変異体頻度 ( $\times 10^{-6}$ ) <sup>d</sup>		
		第 1 日	第 2 日	絶対%	相対%		合計	小	大
溶媒対照 (DMSO)	1%								
	1%								
	1%								
陽性対照 (MMS) ( $\mu\text{g/mL}$ )	13								
	18								
被験物質 ( $\mu\text{g/mL}$ )	1.00								
	5.00								
	10.0								
	25.0								
	37.5								
	50.0								
	75.0								

非代謝活性化（再試験）

群	濃度	累積 RSG (%) <sup>a</sup>		クローニング効率 <sup>b</sup>		相対増殖率 (%) <sup>c</sup>	変異体頻度 ( $\times 10^{-6}$ ) <sup>d</sup>		
		第 1 日	第 2 日	絶対%	相対%		合計	小	大
溶媒対照 (DMSO)	1%								
	1%								
	1%								
陽性対照 (MMS) ( $\mu\text{g/mL}$ )	13								
	18								
被験物質 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0.0100								
	0.100								
	1.00								
	5.00								

a: 累積 RSG (%) = 溶媒対照の浮遊細胞増殖率の平均に対する浮遊細胞の累積増殖率の割合(%)

b: クローニング効率 = 総生存コロニー数 / 播種細胞数  $\times 100$

c: 相対増殖率 = (相対浮遊細胞増殖率  $\times$  相対クローニング効率) / 100

d: 変異体頻度 = (総突然変異体コロニー数 / 総生存コロニー数)  $\times (2 \times 10^{-4})$  ( $10^{-6}$  で表示)

MMS: メタンサルホン酸メチル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

非代謝活性化（確認試験）

群	濃度	累積 RSG (%) <sup>a</sup>		クローニング効率 <sup>b</sup>		相対増殖率 (%) <sup>c</sup>	変異体頻度 (×10 <sup>-6</sup> ) <sup>d</sup>		
		第 1 日	第 2 日	絶対%	相対%		合計	小	大
溶媒対照 (DMSO)	1%								
	1%								
	1%								
陽性対照 (MMS) (μg/mL)	13								
	13								
被験物質 (μg/mL)	0.00500								
	0.0100								
	0.0500								
	0.100								
	0.500								
	1.00								
	5.00								
	10.0								

a : 累積 RSG (%) = 溶媒対照の浮遊細胞増殖率の平均に対する浮遊細胞の累積増殖率の割合(%)

b : クローニング効率 = 総生存コロニー数 / 播種細胞数 × 100

c : 相対増殖率 = (相対懸濁液増殖 × 相対クローニング効率) / 100

d : 変異体頻度 = (総突然変異体コロニー数 / 総生存コロニー数) × (2 × 10<sup>-4</sup>) (10<sup>-6</sup> で表示)

MMS : メタンスルホン酸メチル



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

代謝活性化（初回試験）

群	濃度	累積 RSG (%) <sup>a</sup>		クローニング効率 <sup>b</sup>		相対増殖率 (%) <sup>c</sup>	変異体頻度 (×10 <sup>-6</sup> ) <sup>d</sup>		
		第 1 日	第 2 日	絶対%	相対%		合計	小	大
溶媒対照 (DMSO)	1%								
	1%								
	1%								
陽性対照 (MCA) (μg/mL)	5								
	10								
被験物質 (μg/mL)	1.00								
	5.00								
	10.0								
	25.0								
	37.5								
	50.0								
	75.0								

代謝活性化（再試験）

群	濃度	累積 RSG (%) <sup>a</sup>		クローニング効率 <sup>b</sup>		相対増殖率 (%) <sup>c</sup>	変異体頻度 (×10 <sup>-6</sup> ) <sup>d</sup>		
		第 1 日	第 2 日	絶対%	相対%		合計	小	大
溶媒対照 (DMSO)	1%								
	1%								
	1%								
陽性対照 (MCA) (μg/mL)	5								
	10								
被験物質 (μg/mL)	0.0500								
	0.100								
	0.500								
	1.00								
	10.0								
	25.0								

a : 累積 RSG (%) = 溶媒対照の浮遊細胞増殖率の平均に対する浮遊細胞の累積増殖率の割合 (%)

b : クローニング効率 = 総生存コロニー数 / 播種細胞数 × 100

c : 相対増殖率 = (相対懸濁液増殖 × 相対クローニング効率) / 100

d : 変異体頻度 = (総突然変異体コロニー数 / 総生存コロニー数) × (2 × 10<sup>-4</sup>) (10<sup>-6</sup> で表示)

MCA : メチルコラントレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

代謝活性化（確認試験）

群	濃度	累積 RSG (%) <sup>a</sup>		クローニング効率 <sup>b</sup>		相対増殖率 (%) <sup>c</sup>	変異体頻度 ( $\times 10^{-6}$ ) <sup>d</sup>		
		第 1 日	第 2 日	絶対%	相対%		合計	小	大
溶媒対照 (DMSO)	1%								
	1%								
	1%								
陽性対照 (MCA) ( $\mu$ g/mL)	2								
	4								
被験物質 ( $\mu$ g/mL)	0.0100								
	0.0500								
	0.100								
	0.500								
	1.00								
	5.00								
	10.0								
	25.0								

a: 累積 RSG (%) = 溶媒対照の浮遊細胞増殖率の平均に対する浮遊細胞の累積増殖率の割合(%)

b: クローニング効率 = 総生存コロニー数 / 播種細胞数  $\times 100$

c: 相対増殖率 = (相対懸濁液増殖  $\times$  相対クローニング効率) / 100

d: 変異体頻度 = (総突然変異体コロニー数 / 総生存コロニー数)  $\times (2 \times 10^{-4})$  ( $10^{-6}$  で表示)

MCA: メチルコラントレン

## 2) 染色体異常誘発性

### ①哺乳動物培養細胞を用いた染色体異常試験

(資料T-28)

試験機関 Covance Laboratories (英国) [G L P 対応]

報告書作成年 1997年

被験物質:

試験方法: チャイニーズハムスターの肺組織由来の培養細胞株 (CHL細胞) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の共存下および非共存下で被験物質の染色体異常誘発性を検索した。以下の条件で被験物質処理を行った後、染色体標本を作製し、染色体検査を実施した。なお、被験物質の溶媒として DMSO を用いた。

(実験 1): 24 時間処理 (S9mix 非共存下)

6 時間処理 (S9mix 共存下) + 18 時間回復

(実験 2): 24 時間処理 (S9mix 非共存下)

6 時間処理 (S9mix 共存下) + 18 時間回復

48 時間処理 (S9mix 非共存下)

6 時間処理 (S9mix 非共存下) + 18 時間回復

各処理条件における細胞増殖率および染色体検査のために選択した用量について表 I に示す。染色体検査のための用量として、溶媒対照に比較して 50~75% の細胞増殖抑制がみられた用量を最高用量として選択した。

[判定基準] 次の 3 条件を満たした場合に、陽性と判定した。

- ・被験物質処理群の 1 用量以上でギャップを含まない構造異常の出現頻度が、陰性対照群に比べて統計学的 (Fisher の直接確率法) に有意 ( $p \leq 0.05$ ) に増加すること。
- ・その増加が正常範囲を超えること。
- ・その増加に再現性があること。

試験結果: 染色体検査の結果を表 II - 1 ~ 6 に示す。

いずれの被験物質の処理においても溶媒対照に比べて統計学的に有意な染色体構造異常細胞の増加はみられなかった。

染色体の数的異常については、被験物質 24 および 48 時間処理 (S9mix 非共存下) で統計学的に有意な増加 (特に倍数体) がみられ、これらの高値は背景データ<sup>#)</sup> の範囲を上回っていた。

一方、陽性対照物質として用いたメチルメタンсульフォネートおよびシクロフオスファミドでは、統計学的に有意な染色体構造異常細胞数の増加がみられた。

以上の結果から、原体は本試験条件下で染色体の数的異常を増加させたが、構造異常は誘発しないと判断された。

#): 数的異常の背景データ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 I : 細胞毒性

実験 1				実験 2			
薬物	用量 ( $\mu$ g/mL)	24 時間処理	6 時間処理	用量 ( $\mu$ g/mL)	24 時間処理	6 時間処理	48 時間処理
		-S9 mix	+S9 mix		--S9 mix	+S9 mix	-S9 mix
		細胞増殖率 (%) a		細胞増殖率 (%) a			
溶媒対照 (DMSO)	0			0			
無処理対照	0			0			
被験物質	4.943			8.59			
	7.062			10.74			
	10.09			13.42			
	14.41			16.78			
	20.59			20.97			
	29.41			26.21			
	42.02			32.77			
	60.03			40.96			
	85.75			51.2			
	122.5			64			
175			80				
250			100				
染色体検査のための 用量		10.09, 14.41, 20.59 $\mu$ g/mL	42.02, 60.03, 85.75 $\mu$ g/mL	8.59, 10.74, 13.42 $\mu$ g/mL	51.2, 64, 80 $\mu$ g/mL	8.59 $\mu$ g/mL	32.77 $\mu$ g/mL

a 細胞増殖率 (%) : 溶媒対照の増殖細胞数を 100 とした場合の各被験物質処理群の値である。申請者が原報に基づき算出した。  
NT : 非実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II-1：染色体の観察結果＜実験1：24時間処理（S9 mix 非共存下）＞

薬物	用量 ( $\mu$ g/ml)	数的異常の出現数と頻度(%)					構造異常の出現数と頻度(%)							判定			
		H	E	P	合計 (%)	判定	観察細胞数	ギヤップ	染色分体型		染色体型		その他		合計 <sup>a</sup>		
		観察細胞数	観察細胞数	観察細胞数	観察細胞数	観察細胞数			交換	切断	交換	切断			ギヤップを含む	ギヤップを含まず	
溶媒対照 (DMSO)	0	201					200										
無処理対照	0	200					200										
被験物質	10.09	218					200										陰性
	14.41	201					200										陰性
	20.59	201					200										陰性
陽性対照物質 MMS	25	101					100										陽性

H : hyperdiploid (高二倍体)

E : endoreduplicated (核内倍化)

P : polyploid (倍数体)

a : 1ヶの細胞に複数の異常がみられる場合も、1ヶとカウントした。

MMS : メチルメタンсульフォネート

\*\*\* :  $p < 0.001$  (Fisherの直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II-2: 染色体の観察結果<実験1: 6時間処理 (S9 mix 共存下) + 18時間回復>

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	数的異常の出現数と頻度(%)					構造異常の出現数と頻度(%)							判定			
		観察細胞数	H	E	P	合計 (%)	判定	ギヤップ	染色体型 切断	交換	染色体型 切断	交換	その他		合計 a ギヤップ を含ませず	判定	
溶媒対照 (DMSO)	0	200															
無処理対照	0	201															
被験物質	42.02	200					陰性										陰性
	60.03	200					陰性										陰性
	85.75	201					陰性										陰性
陽性対照物質 CPA	25	100					陰性										陽性

H: hyperdiploid (高二倍体)

E: endoreduplicated (核内倍化)

P: polyploid (倍数体)

a: 1ヶの細胞に複数の異常がみられる場合も、1ヶとカウントした。

CPA: シクロホスファミド

\*\*\*:  $p < 0.001$  (Fisherの直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II-3: 染色体の観察結果<実験2: 24時間処理 (S9 mix 非共存下) >

薬物	用量 ( $\mu\text{g/ml}$ )	数的異常の出現数と頻度(%)				観察細胞数	判定	構造異常の出現数と頻度(%)								判定							
		H	E	P	合計 (%)			ギャンプ	染色体型 切断	交換	染色体型 切断	交換	その他	ギャンプ を含む	ギャンプ を含まず								
溶媒対照 (DMSO)	0					202	/																
無処理対照	0					201	/																
被験物質	8.59					305	陽性																
	10.74					270	陽性																
	13.42					227	陽性																
陽性対照物質 MMS	12.5					100	陰性																

H: hyperdiploid (高二倍体)

E: endoreduplicated (核内倍化)

P: polyploid (倍数体)

a: 1ヶの細胞に複数の異常がみられる場合も、1ヶとカウントした。

MMS: メチルメタンсульフォネート

\*\*\*:  $p < 0.001$  (Fisherの直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II-4: 染色体の観察結果<実験2: 6時間処理 (S9 mix 共存下) + 18時間回復>

薬物	用量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	数的異常の出現数と頻度(%)					構造異常の出現数と頻度(%)							判定				
		観察細胞数	H	E	P	合計 (%)	観察細胞数	ギャップ	染色体型	染色体型	交換	交換	切断		切断	その他	ギャップを含む	ギャップを含まず
溶媒対照 (DMSO)	0	201																
無処理対照	0	202																
被験物質	51.2	201																陰性
	64	201																陰性
	80	205																陰性
陽性対照物質 C.P.A	25	101																陽性

H: hyperdiploid (高二倍体)

E: endoreduplicated (核内倍化)

P: polyploid (倍數体)

a: 1ヶの細胞に複数の異常がみられる場合も、1ヶとカウントした。

C.P.A: シクロフォスファミド

\*\*\*:  $p < 0.001$  (Fisherの直接確率法)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II-5: 染色体の観察結果<実験2: 48時間処理 (S9 mix 非共存下) >

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	数的異常の出現数と頻度(%)					構造異常の出現数と頻度(%)							判定				
		H	E	P	合計 (%)	判定	ギヤップ	染色分体型		染色体型		その他	合計 a					
		観察細胞数	観察細胞数	観察細胞数	観察細胞数	観察細胞数		切断	交換	切断	交換		ギヤップを含む		ギヤップを含まず			
溶媒対照 (DMSO)	0	203																
無処理対照	0	200																
被験物質	8.59	1332																陽性

H: hyperdiploid (高二倍体)

E: endoreduplicated (核内倍化)

P: polyploid (倍数体)

a: 1ヶの細胞に複数の異常がみられる場合も、1ヶとカウントした。

\*\*\*:  $p < 0.001$  (Fisherの直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表II-6: 染色体の観察結果<実験2: 6時間処理 (S9 mix 非共存下) + 18時間回復>

薬物	用量 ( $\mu\text{g/ml}$ )	数的異常の出現数と頻度(%)					構造異常の出現数と頻度(%)							判定			
		観察細胞数	H	E	P	合計 (%)	観察細胞数	ギヤップ	染色分体型		染色体型		その他		合計 a		
									交換	切断	交換	切断			ギヤップを含む	ギヤップを含まず	
溶媒対照 (DMSO)	0	202					200		切断	交換							
無処理対照	0	200					200										
被験物質	32.77	202					200										陰性

H: hyperdiploid (高二倍体)

E: endoreduplicated (核内倍化)

P: polyploid (倍数体)

a: 1ヶの細胞に複数の異常がみられる場合も、1ヶとカウントした。

\*\*\*:  $p < 0.001$  (Fisherの直接確率法)

② チャイニーズハムスターの CHL 細胞を用いた *in vitro* 細胞周期の解析 (資料 T-77)

試験機関

報告書作成年

背景および目的：以前実施されたチャイニーズハムスター肺 (CHL) 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 T-28) において、代謝活性化非存在下の被験物質 24 および 48 時間処理で染色体の数的異常 (主に倍数体) の頻度の増加が認められた。本試験では被験物質の細胞周期への影響を検索し、数的異常の頻度増加との関連性を考察する。

以上の結果より、トルフェンピラド原体は代謝活性化系非存在下の本試験条件下において CHL 細胞に細胞周期の遅延を引き起こすことが明らかとなった。従って、トルフェンピラドによって惹起された染色体の数的異常である倍数性および核内倍加の出現頻度の増加は、遺伝子への作用に起因する影響では無く、細胞周期の遅延に関連した変化であると判断された。

結果表：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

③ マウスを用いた小核試験

(資料T-29)

試験機関 大塚化学

報告書作成年 1997年

被験物質：

試験動物：d d Y系マウス、1群雌雄各6匹

投与開始時8週齢(体重 雄 34.2~38.7 g、雌 27.5~29.7 g)

試験方法：被験物質をオリーブ油に懸濁し、雄では0(溶媒対照)、3、6、12、24 mg/kg、雌では0、1.8、3.5、7、14 mg/kgの用量で24時間間隔で2回腹腔内投与した。

2回目の投与後24および48時間に動物を屠殺し、アクリジン・ホルジ染色による骨髄塗抹標本を作製した。各動物1000個の多染性赤血球(PCE)を観察し、被験物質投与群で小核を有する多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度が、溶媒対照群の値に比べて統計学的に有意な増加を示した場合に陽性と判定した。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

雌雄いずれの被験物質投与群においても小核を有する多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度について、統計学的に有意な増加はみられなかった。一方、陽性対照物質のマイトマイシンC投与群では、MNPCEが顕著に増加した。

なお、投与後24時間の雄24 mg/kg群および投与後48時間の雌14 mg/kg群において全赤血球に対する多染性赤血球比の有意な減少がみられた。また、これらの高用量群では、自発運動の減少、腹臥および体重減少がみられ、雄の24 mg/kg群では死亡もみられた。

以上の結果から、原体は本試験条件下において、骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、*in vivo*染色体異常誘発性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果表：

性別	標本作製時間	試験物質	用量 × 投与回数	PCE(%) <sup>1)</sup>	MNPCE(%) <sup>2)</sup>	判定
雄	最終投与後 24 時間	溶媒対照(オリーブ油)	—			
		被験物質	3 mg/kg×2			陰性
			6 mg/kg×2			陰性
			12 mg/kg×2			陰性
			24 mg/kg×2			陰性
	陽性対照(マイトマイシン C)	1.0 mg/kg×1			陽性	
	最終投与後 48 時間	溶媒対照(オリーブ油)	—			
		被験物質	3 mg/kg×2			陰性
			6 mg/kg×2			陰性
			12 mg/kg×2			陰性
24 mg/kg×2						
雌	最終投与後 24 時間	溶媒対照(オリーブ油)	—			
		被験物質	1.8 mg/kg×2			陰性
			3.5 mg/kg×2			陰性
			7 mg/kg×2			陰性
			14 mg/kg×2			陰性
	陽性対照(マイトマイシン C)	1.0 mg/kg×1			陽性	
	最終投与後 48 時間	溶媒対照(オリーブ油)	—			
		被験物質	1.8 mg/kg×2			陰性
			3.5 mg/kg×2			陰性
			7 mg/kg×2			陰性
14 mg/kg×2					陰性	

- 1) PCE (%) : 全赤血球に対する多染性赤血球の出現率 (%)  
 2) MNPCE (%) : 多染性赤血球 1000 個中の小核を有する細胞数  
 3) 数値は、平均値±標準偏差 (N=6) を示す。  
 4) — : 6 例中 4 例が死亡し、有効なデータが得られなかった。  
 \*\*: p<0.01 (Dunnnett の多重比較検定)  
 ## : p<0.01 (Kastenbaum and Bowman の検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

③ マウスを用いた小核試験

(資料 T-78)

試験機関 Covance Laboratories Inc. (米国) [GLP 対応]  
報告書作成年 2007年

被験物質：

試験動物：CD-1 系雄マウス、1 群各 5 匹 (最高用量群のみ 8 匹)

投与開始時約 9 週齢、体重 32.1~39.7 g

試験方法：被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁し、0 (溶媒対照)、5、10、20 および 50 mg/kg/回の用量で、24 時間間隔で 2 回経口投与した。

1 回目投与で 50 mg/kg 群の 6/8 例および 20 mg/kg 群の 1/5 例が死亡した。50 mg/kg 群の残り 2 例には 2 回目は 20 mg/kg を投与した。2 回目投与でさらに 20 mg/kg 群の 1/5 例が死亡し、1 回目に 50 mg/kg を投与した 1/2 例を切迫屠殺した。したがって、50 mg/kg 群では骨髄塗抹標本の検査は実施しなかった。

2 回目の投与後 24 間後に動物を屠殺し、May-Grünwald-Giemsa 染色による骨髄塗抹標本を作製した。各動物 2000 個の多染性赤血球数 (PCE) を観察し、被験物質投与群で小核を有する多染性赤血球数 (MNPCE) の出現頻度が、溶媒対照群の値に比べて統計学的に有意な増加を示した場合に陽性と判定した。細胞毒性を調べるため全赤血球 500 個中の多染性赤血球数 (PCE) および正染性赤血球数 (NCE) の割合を算出した。

なお、陽性対照物質としてシクロホスファミドを 80 mg/kg の用量で単回強制経口投与する陽性対照群を同様に設けた。

投与量設定根拠；

試験結果：結果を次頁の表に示す。

いずれの被験物質投与群においても小核を有する多染性赤血球数 (MNPCE) の出現頻度について、統計学的に有意な増加はみられず、細胞毒性も認められなかった。一方、陽性対照物質のシクロホスファミド投与群では MNPCE が顕著に増加した。

なお、20 mg/kg 群の動物に臨床症状として自発運動の低下、円背位、腹臥位、努力性呼吸、運動失調および/または不整呼吸が認められた。

以上の結果から、原体は本試験条件下において、骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、*in vivo* 染色体異常誘発性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果表：

標本作製時間	試験物質	用量 × 投与回数	観察 動物数	MNPCE (%) (平均値±SE)	PCE/(PCE+NCE) (平均値±SE)	判定
最終 投与 後 24 時間	溶媒対照 (0.5%CMC)	-	5			-
	被験物質	5 mg/kg×2	5			陰性
		10 mg/kg×2	5			陰性
		20 mg/kg×2	4 <sup>#</sup>			陰性
陽性対照 (CP)	80 mg/kg×1	5			陽性	

\* :  $p \leq 0.01$  (Dunnnett 検定)

# : 4匹の内1匹では、初回投与が 50 mg/kg、2回目投与が 20 mg/kg であった。

0.5%CMC : 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液、CP : シクロホスファミド

PCE : 多染性赤血球数、NCE : 正染性赤血球数

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球数の割合 (%)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

### 3) DNA損傷誘発性

#### ①細菌を用いたDNA修復試験

(資料T-30)

試験機関 三菱化学安全科学研究所 [GLP対応]

報告書作成年 1996年

被験物質：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復能保持株 (H17、rec+) および欠損株 (M45、rec-) を用い、胞子法により代謝活性化 (S9 mix) の共存下および非共存下で DNA 損傷の誘発性を検索した。被験物質はDMSOに溶解した。

本

試験では 20000  $\mu$ g/ディスクを最高用量として、以下公比 2 で計 5 用量を設定した。なお、1 濃度あたり 2 枚のペーパーディスクを用いた。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

本試験において、S9 mix の共存下および非共存下のいずれの条件においても、また、いずれの菌株においても生育阻止帯はみられず、両菌株間の生育阻止帯の差はみられなかった。

一方、陰性対照として用いたカナマイシンでは両菌株に生育阻止帯はみられたが、両菌株間でその長さに差はみられなかった。また、陽性対照のマイトマイシン C および 2-アミノアントラセンでは、両菌株の生育阻止帯直径の差は 5 mm 以上であった。

以上の結果から、原体は代謝活性化を含む本試験条件下で DNA の損傷を誘発しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果表：

薬 物	S9 mix の有無	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	阻止帯の直径 <sup>1)</sup> (mm)		差 <sup>2)</sup> (mm)
			M45	H17	
溶媒対照(DMSO)	—	0			
被験物質	—	1250			
		2500			
		5000			
		10000			
		20000			
溶媒対照(DMSO)	+	0			
被験物質	+	1250			
		2500			
		5000			
		10000			
		20000			
陰性対照	カマイシン	—	2		
		+	2		
陽性対照	マトマイシン C	—	0.02		
	2-アミノアントラセン	+	10		

表中の数値は2つのディスクの平均値。

1) : 生育阻止帯の直径からディスクの直径8mmを差し引いた値。

2) : 生育阻止帯の長さの平均値の差 (M45の生育阻止帯直径 - H17の生育阻止帯直径)。

C : ディスク上に析出物あり。