

(3)皮膚感作性

マウスを用いた局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA)

(毒性資料 No. 原体-7)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

検体純度:

供試動物: CBA/J系マウス 1群雌5匹 投与開始時8週齢以上

投与期間: 3日間

試験方法: [LLNA法]

検体を 25、50 および 100% (w/v) の濃度でジメチルホルムアミド (DMF) に懸濁し、各群 5 匹の雌マウスの両耳介外背面に左右各 25 μ L ずつ 3 日間 (試験 0~2 日目) 毎日 1 回処理した。溶媒のみ、および 30% α -ヘキシル桂皮アルデヒド (HCA) をそれぞれ別の群に処理し、陰性対照および陽性対照群とした。処理部位皮膚の局所刺激反応の有無、動物の生死、一般状態について毎日観察し、体重を測定した。

試験 5 日目に、20 μ Ci (74 \times 10⁴Bq) の [メチル-³H]-チミジンを含む生理食塩水 (0.9% NaCl) 250 μ L を各動物の尾部より静注し、5 時間後にマウスを屠殺し、両耳介リンパ節を採取した。各動物の耳介リンパ節の DPM (壊変毎分) を測定し、以下の式より各試験群の刺激指数 (SI) を求めた。

$$SI = \frac{\text{各試験群の DPM}}{\text{陰性対照群 DPM}}$$

SI が 3 以上かつ用量相関性が認められた場合に検体を感作性物質と評価した。

用量設定の根拠: 100% の濃度での耳重量と対照群の耳重量はそれぞれ、12.6mg、11.9mg であり、両者の数値は近似していた。従って、この 100% の濃度において刺激性を示すものとは考えられなかったことから、100% を最高濃度とした。

結果:

死亡および臨床症状: 試験期間中動物の死亡および一般状態の変化は認められなかった。いずれの群においても投与部位に皮膚反応は見られなかった。

体重: 対照群を含む全ての試験群で差は認められなかった。

増殖評価: 各群の増殖活性 (DPM/リンパ節) および刺激指数は下表の通りであった。

群番号	薬剤	濃度 (%)	DPM/リンパ節	SI
1	陰性対照	0	1489	-
2	検体	25	845	0.6
3		50	766	0.5
4		100	987	0.7
5	陽性対照 (HCA)	30	6741	4.5

検体による SI はいずれも 3 未満であった。一方、陽性対照の HCA では SI > 3 であり、感作性を示した。

以上の結果、本試験において検体は非感作性物質と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

トリアファモンの急性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-8)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての急性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)の⑦のア)の試験成績の提出の除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、急性経口毒性試験における一般状態の観察及びラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験における詳細な状態の観察、機能検査、病理組織学的検査等において、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見がないことが確認でき、かつ、既知神経毒性物質と化学構造に類似性がない。したがって、急性毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがないと認められるため、本急性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

トリアファモンの急性遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-9)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての急性遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)の⑧のイ)の試験成績の提出の除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、本急性遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(6)90日間反復経口投与毒性

ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料No.原体-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

検体の純度：

試験動物：Wistar Rj:WI (IOPS HAN) ラット

主群：雌雄各群10匹を設定

回復群(回復期間；1ヶ月)：雌雄0ppmおよび最高用量群各群10匹を設定

試験開始時；雌雄6週齢(平均体重；雄186～222g, 雌152～179g)

投与期間：13週間(2009年2月24日～2009年5月27日)

投与方法：

検体を飼料に混入し、混餌濃度として0、250、1100および5000ppmに調製した飼料を90日間投与した。

投与用量設定の根拠；

観察・検査項目および結果：

1. 一般症状および死亡：

生死を1日2回（週末と祝祭日は1回）、臨床症状を少なくとも1日1回観察した。個々の動物の詳細な身体検査は、毎週1回実施した。

その結果、5000ppm 群雌雄で認められた所見は、尾の汚れ（オレンジ色）であり投与開始43日以降、回復期間も認められた。さらに同群雌では20例中4例で局所的な被毛の汚れ（主に22～36日目）が、そして20例中4例で肛門および性器部の汚れ（57日目以降）が観察された。主な所見を表1に示した。

1100ppm および 250ppm では投与に関連する一般状態の変化はなかった。

表1. 一般症状

性別	雄				雌			
	0	250	1100	5000	0	250	1100	5000
投与用量 (ppm)	0	250	1100	5000	0	250	1100	5000
供試動物数	20	10	10	20	20	10	10	20
尾の汚れ (オレンジ色)	0	0	0	19**	0	0	0	20**
局所的な被毛の汚れ	0	0	0	1	0	0	0	4
肛門/性器部の汚れ	0	0	0	0	0	0	0	4

**； p≤0.01 (Fisher 検定 申請者により実施)

死亡は、投与期間中では 250ppm 群(主群)の雌1例と 5000ppm(回復群)の雄1例でそれぞれ試験12日目と14日目にみられた。これらの死亡は単独で認められていること、また死亡前に検体に関連すると考えられる影響がみられなかったことから、これらの死亡は本検体に起因するものではないものと考えられた。

2. 神経学的検査

試験11週から12週目に動物の所属する群を知らされていない観察者が全動物について下記の項目について検査を行った。

探索的自発運動量；

自動フォトセル記録装置 (Imetronic (Bordeaux、フランス)) を用いて、動物を1匹ずつ検査した。90分間のセッションを通じて各々15分間隔でデータを集積した。

オープンフィールド観察；

歩行、姿勢の変化、間代性または強直性運動、常同行動（例えば、過度の身づくろい、反復旋回）、異常な行動（例えば、自傷、後ずさり）、その他神経学的な変化を記録した。

感覚反応；

瞳孔反射（数秒間動物の眼を覆った後、眼に狭ビーム光を当てて瞳孔の収縮を観察する）、

平面正向反射（動物を仰向けに置き、正常な立ち姿勢に戻る能力/速度を評価する）、

角膜反射（内眼角に細い物で触れ、眼瞼を迅速かつ完全に閉じるか否かを観察する）、

屈筋反射（爪先をつまみ、各後肢における屈筋反応の有無/強度を評価する）、

聴覚性驚愕反応（聴覚刺激に対する反応を評価する）、

テールピンチ反応（尾を鉗子でつまみ、反応を評価する）

握力；全動物について前肢および後肢の握力を測定した。3回連続して測定した。

その結果、いずれの項目についても検体の影響はみられなかった。

3. 体重

各動物の体重を、初回投与日に測定し、その後は投与期間および回復期間を通して週1回測定した。

その結果を表2(投与期間)および表3(回復期間)に示した。

投与期間中の平均体重増加量は、雌の5000ppm群で対照群の体重増加量をごくわずかに下回った(対照群に比べて-5%~-13%、統計学的に有意差なし)。しかし、平均体重では、投与期間を通して対照群と同程度であった。雄の5000ppm群および雌雄の1100ppm群以下では平均体重および体重増加量に差は認められなかった。

表2. 体重および増加量(投与期間)

測定日/投与用量(ppm)	性別			性別		
	雄	雄	雄	雌	雌	雌
測定日/投与用量(ppm)	250	1100	5000	250	1100	5000
第1週(第8日)	97	98	100	101	99	98
第4週(第29日)	101	100	97	101	97	96
第8週(第57日)	101	100	97	104	98	96
第1-4週(第1-29日)	102	101	94	104	92	87
第1-8週(第1-57日)	102	99	95	109	96	92
全期間(第1-92日)	100	97	94	106	94	95

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの統計処理：Anova検定

回復期間中、雄では体重および体重増加量に影響はなかった。

一方雌では5000ppm群において、無処理飼料を与えた回復期間の1日目から22日目まで、平均体重が対照を統計学的な有意差を伴って下回った(-6~-7%)が、差はわずかであり、この影響は時間と共にあまりはつきりしなくなった。回復期間の終了時、平均体重は対照と同程度であり、また体重増加量も対照群と5000ppm群であきらかな差は認められなかった。

表3. 体重(回復期間)

性別	雄	雌
測定日/投与用量(ppm)	5000	5000
第1日	95	↓94
第8日	95	↓94
第15日	96	↓93
第22日	96	↓94
第29日	95	95
増加量(第1-29日) [#]	104	140

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの

↓：p≤0.05(t-検定)

#：雄 対照群 28g, 5000ppm 29g, 雌 対照群 5g, 5000ppm 7g

4. 摂餌量および検体摂取量

摂餌量を個体毎に最初の6週間は週に2回、その後は投与期間、回復期間ともに週1回測定した。

その結果、表4に示したとおり、雄では5000ppmおよび1100ppmで、投与最後の週の平均摂餌量が対照を下回った(それぞれ-21%および-24%、 $p < 0.01$)。一方雌では投与最後の週の平均摂餌量が1100ppm群で対照を上回り、5000ppmでは同等であった。

これらの変化は雌雄で一致せず、それ以前には変化は見られなかったため、投与に関連するものではないと考えられた。

回復期間には何ら変化は認められなかった。

従って、雌雄いずれの投与群においても、平均摂餌量に投与の影響はないものと判断した。

表4. 摂餌量(統計学的に有意のみられた測定日)

性別	雄			雌		
	250	1100	5000	250	1100	5000
測定日/投与用量(ppm)						
第4日						
第8日						
第29日						
第57日						
第92日		↓76	↓79		↑141	

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

↓↑: $p < 0.01$ (Dunnett 検定)

検体摂取量を表5に示す

表5 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与用量(ppm)		250	1100	5000
検体摂取量	雄	16.4	69.0	323
	雌	20.0	88.5	395

5. 眼科学的検査

試験開始前は全例について、また投与13週目に対照群と最高用量群の全生存動物について眼科学的検査を実施した。検査には散瞳剤を滴下し、各眼を倒像検眼鏡で検査した。

投与13週目に、眼科学的異常所見は何ら認められなかった。

6. 臨床検査

一晚絶食させた全生存動物について、計画屠殺日に後眼窩静脈叢から血液を採取した。血液学的検査用の血液サンプルは、抗凝固剤EDTA二ナトリウムで処理し、血液凝固項目にはクエン酸ナトリウムで処理した。血液生化学検査用の血液サンプルは、凝固促進剤で処理した。尿については、計画屠殺日の1週間前に一晚採取した。尚、採尿中は飼料および水を与えなかった。

6-1. 血液学的検査

以下の項目について測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

白血球数, 赤血球数, ヘモグロビン量(Hb), ヘマトクリット値, 平均赤血球血色素量, 平均赤血球血色素濃度, 平均赤血球容積, 血小板数, プロトロンビン時間, 白血球分画, 網状赤血球数, 赤血球形態(血液凝固項目以外の血液学的検査で異常値が認められた場合)

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表6に示す。

表6 血液学的検査(投与終了時)(有意差の認められた項目)

性別	雄			雌		
	250ppm	1100ppm	5000ppm	250ppm	1100ppm	5000ppm
赤血球			↓94			
Hb			↓96			
血小板数						↑116

↑↓: p≤0.05 (Dunnett 検定)

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

表6に示すように、5000ppm群では、雄において対照と比べて、赤血球数(-6%)およびHb(-4%)の低下が観察され、雌では平均血小板数の増加(+16%)が観察された。しかし、各個体値で比較した場合、5000ppmの雄1例の赤血球値が90日後および回復後を合わせた対照群の値の範囲をわずかに下回っていただけであり、その他の値は全てこれらの対照群の値の範囲内に入っていた。また1ヶ月の回復期間後には同様な変化が認められなかったことから、回復性があるものと考えられた。これらのことから、統計学的に有意差を伴う上記のパラメータの変動に毒性学的な意義はないものと考えられた。

1100ppmおよび250ppmでは、投与に関連する変化は観察されなかった。

申請者注)なお、今回の当該対照群の範囲の下限を下回った赤血球値も、実施研究施設の背景データの範囲内であった。

6-2. 血液生化学的検査

以下の項目について測定した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ, アルカリホスファターゼ(ALP), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ, γ-グルタミルトランスフェラーゼ, アルブミン, グロブリン, 総ビリルビン(t-BIL), 総コレステロール, クレアチニン, 総蛋白(t-PROT), トリグリセリド, グルコース, 尿素, 塩素, カルシウム(Ca), 無機リン, カリウム, ナトリウム(Na) アルブミン/グロブリン(A/G比)

なお、グロブリンおよびアルブミン/グロブリン比(A/G)を計算により求めた。

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表7(投与終了時)および表8(回復期間終了時)に示す。

[投与期間終了時]

表 7. 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

項目/投与用量	雄			雌		
	250ppm	1100ppm	5000ppm	250ppm	1100ppm	5000ppm
t-BIL			↓75			↓ _b 55
t-PROT						↑108
ALP						↓81
Ca			↑103			↑105

↑ ↓; p≤0.05, ↓ ↑; p≤0.01 (Dunnett 検定) ↓_b; p≤0.01 (Dunn 検定),
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

表 7 に示すように、5000ppm では雌雄とも t-BIL が対照群よりも統計学的有意差を伴って低値を示した。しかし、これに関連した機能障害は認められなかったため、こうした低下は有害影響ではないと考えられた。加えて雌雄共に平均 Ca がわずかではあるが統計学的有意差を伴って対照群を上回った。さらに雌では ALP 活性の低下や t-PROT の増加が認められ、いずれも統計学的有意差を伴った。

1100ppm および 250ppm では、雌雄共に投与に関連する変化は観察されなかった。

[回復期間終了時]

表 8. 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄	雌
投与用量 (ppm)	5000	5000
Na		↑101
A/G		↓93

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの
↑ ↓ : p≤0.05 (t-検定)

投与期間終了時に観察された変化は、回復期間後には認められず、投与期間終了時に 5000ppm で認められた変化は可逆的なものと考えられた。

回復期間終了時に雌で Na の増加は統計学的有意差が認められたものの、きわめて軽微な変化であり、投与終了時に認められていないことから検体の影響とは考えられなかった。また A/G 比の低下もみられたが、アルブミン、グロブリンに統計学的に有意な変動はなく、また投与終了時に影響が認められていないことから、検体の影響とは考えられなかった。

6-3. 尿検査

以下の項目について測定した。

外観

定量的検査; 尿量(尿重量測定によって算出), 比重(屈折率), pH

半定量的検査；グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノーゲン沈渣の顕微鏡的検査；赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶の存在

その結果、投与終了時および回復期間終了時において、雌雄共に対照群と比較していずれの用量においても異常は認められなかった。

7. 剖検

投与期間終了時、回復期間終了時に全ての生存動物について剖検した。なお、死亡した2例については、自己融解がすすんでいるか、あるいは喰殺されて臓器がなくなっており剖検は不可能であった。

投与終了時に剖検した動物で5000ppm群のみに肝臓の腫大が10例中それぞれ雄1例、雌3例に認められた。肝臓器重量の増加と病理組織学的検査において肝細胞肥大と呼応していたことから、検体の影響と考えられた。

回復期間には肝臓腫大は認められなかった。

投与期間終了時、回復終了時にその他に認められた所見は用量に関連しておらず、また頻度も少ないことから偶発的で検体投与とは無関係であると考えられた。

8. 臓器重量

投与期間の終了時、および回復期間終了時に全生存動物を対象として、脳、下垂体、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、卵巣、子宮、精巣、前立腺および精巣上体の臓器重量を測定し、それらの対体重比も算出した。

表9および表10に統計学的に有意差の認められた項目を示した。

[投与期間終了時]

表9. 臓器重量 (有意差の認められた項目) (投与期間終了時)

性別		雄			雌		
		250	1100	5000	250	1100	5000
脳	実重量	↑ _b 104					
	対脳重量比						
下垂体	実重量			↓85			
	対脳重量比	↓86		↓85			
腎臓	対体重比			↑109			
肝臓	実重量			↑117			↑115
	対体重比			↑ _b 121	↑108		↑116
	対脳重量比			↑116			↑115

↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (Dunnett 検定), ↑_b : p<0.01 (Dunn 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

表9に示すように、5000ppmでは雌雄いずれも、平均肝実重量、肝対体重比および肝対脳重量比が統計学的に有意に対照を上回った。また1100ppmの雌では、肝対体重比が統計学的に有意に対照を上回った。これらの肝臓重量変化は鏡検における肝細胞肥大と関連していた。その他に雄で認められた統計学的に有意差を伴う変動は、用量関連性がない、あるいは病理組織学的検査において、何ら関連する所見が認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

[回復期間終了時]

表 10. 臓器重量 (有意差の認められた項目) (回復期間終了時)

性別		雄	雌
投与量 (ppm)		5000	5000
脳	対体重比		↓95
下垂体	実重量		↓78
	対体重比		↓81
	対脳重量比	↓89	↓81
心臓	実重量		↓92
肝臓	実重量		
	対体重比		↑105
	対脳重量比		
精巣	対体重比	↑110	—
卵巣	実重量	—	↓88

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

◆ : $p \leq 0.01$, ↑ ↓ : $p \leq 0.05$ (t-検定)

表 10 に示すように、5000ppm の雌では、肝対体重比が対照を統計学的に有意に上回った。この変化は最終体重が幾分低値であったことによるもので、偶発的なものと判断された。

この他にもいくつかの臓器重量で対照群と比較して統計学的に有意な差を示したが、これらには関連する病理組織所見が認められなかったことから偶発的なものと考えられた。

9. 病理組織学的検査

肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

主群 ; 副腎, 大動脈, 胸骨, 骨髄(胸骨), 脳, 精巣上部, 食道, 眼, 眼窩外涙腺(固定のみ), ハーダー氏腺, 心臓, 小腸(十二指腸, 空腸, 回腸), 盲腸, 結腸, 直腸, 腎臓, 喉頭(固定のみ), 咽頭(固定のみ), 鼻腔(固定のみ), 肝臓, 肺, リンパ節(下顎, 腸間膜), 乳腺, 視神経, 卵巣, 脾臓, 脳下垂体, 前立腺, 唾液腺, 坐骨神経, 精のう, 骨格筋, 皮膚, 脊髄(頸部, 胸部および腰部), 脾臓, 胃, 精巣, 胸腺, 甲状線, 上皮小体, 気管, 膀胱, 子宮(頸部を含む), 膣, 舌, 肉眼的病変部

回復群 ; 肝臓, 腎臓, 肺(検鏡せず), 甲状腺および肉眼的病変部

[投与期間終了時]

肝臓および甲状腺で検体の投与に関連する影響が認められた。その病理組織学的所見と発生頻度を表 11 に示した。

表 11. 肝臓および甲状腺における病理組織学的検査所見(投与期間終了時)

性別	雄				雌			
	0	250	1100	5000	0	250	1100	5000
投与量(ppm)	0	250	1100	5000	0	250	1100	5000
検査動物数	10	10	10	10	10	9	10	10
肝臓：肝細胞肥大：小葉中心性								
軽微	0	0	1	9	0	0	6	4
軽度	0	0	0	1	0	0	1	5
合計	0	0	1	10**	0	0	7**	9**
肝臓：肝細胞大空胞化：小葉中心性								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	2
合計	0	0	0	0	0	0	0	2
甲状腺：濾胞細胞肥大：びまん性								
軽微	1	1	3	5	0	0	1	3
軽度	0	0	1	0	0	0	0	0
合計	1	1	4	5	0	0	1	3
甲状腺：コロイド変化 [#]								
軽微	0	1	3	1	0	0	0	1
軽度	0	0	1	2	0	0	0	0
合計	0	1	4	3	0	0	0	1

**； p≤0.01 (Fisher 検定 申請者により実施)

#；斑点状、顆粒状あるいは凝集したコロイドを示す。

表 11 に示すように、肝臓では 5000ppm の雌雄および 1100ppm の雌において、小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度の増加が統計学的有意差を伴って認められた。5000ppm の雌ではさらに、10 例中 2 例で小葉中心性肝細胞大空胞化が観察されたが、統計学に有意な差がみられなかった。これらの肝臓での変化は、後述するように、回復終了時にはみられなかった。

甲状腺では 5000ppm 群の雌雄および 1100ppm 群の雄でびまん性の濾胞細胞肥大の発生頻度の増加が認められ、雄では更に 1100ppm 以上でコロイド変化の発生頻度の増加が認められた。これらの甲状腺での頻度の増加は対照群と比べ統計学的に有意な差を伴わなかったが、検体投与による影響と考えられた。

[回復期間終了時]

その病理組織学的所見と発生頻度を表 12 に示した。

表 12. 甲状腺における病理組織学的検査所見(回復期間終了時)

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	0	5000	0	5000
検査動物数	10	9	10	10
甲状腺：濾胞細胞肥大：びまん性				
軽微	0	3	0	2
合計	0	3	0	2
甲状腺：コロイド変化 [#]				
軽微	2	5	0	4
軽度	0	1	0	0
中等度	0	1	0	0
合計	2	7*	0	4

*; $p \leq 0.05$ (Fisher 検定 申請者により実施)

#; 斑点状、顆粒状あるいは凝集したコロイドを示す。

表 12 に示すように、甲状腺においてのみ検体投与に関連する影響がみられた。対照群に比べ 5000ppm では雌雄ともにより多くの例で甲状腺の濾胞細胞肥大およびコロイド変化が認められ、これらの所見には完全な回復性はみられなかった。なお、雄のコロイド変化の頻度の増加のみ対照群に比べ統計学的に有意であった。

以上、本試験における検体の影響として、5000ppm では雌雄共に尾の汚れ(オレンジ色)がみられ、雌では対照群に比べ体重増加量の低下が認められた。剖検では雌雄ともに肝臓の腫大がみられた。臓器重量では雌雄ともに肝臓重量の増加が認められた。病理組織学的検査では雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大の発生頻度の増加がみられた。また甲状腺では雌雄でびまん性の濾胞細胞肥大、雄でコロイド変化の発生頻度の増加が認められた。

1100ppm では雌において小葉中心性の肝細胞肥大の発生頻度の増加が、雄では甲状腺のびまん性の濾胞細胞肥大およびコロイド変化の発生頻度の増加がみられた。

従って、本試験における無毒性量は、雌雄共に 250ppm (雄: 16.4mg/kg/日, 雌: 20.0mg/kg/日) であると判断した。

イヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

検体の純度：

試験動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹

供試時月齢；8～9 ヶ月齢，

供試時平均体重；雄 7.4～9.0kg，雌 5.6～7.5kg

投与期間： 14 週間(2010 年 9 月 6 日～2010 年 12 月 16 日)

投与方法：

検体を均質に飼料に混ぜ、混餌濃度として 0(対照群)、800、2400、4000、7200ppm の検体飼料を調製した。以前に実施した試験において、800ppm 以上では忌避効果が予想されたため、今回、800ppm の低用量群を除き、中用量群および高用量群については、以下のとおり、数日から 1 週間にかけて 800ppm の飼料を与えた後、目標濃度まであげて 13 週間にわたって投与した。

群	目標濃度 (ppm)	飼料中の濃度 (ppm)
対照	0	0
低用量	800	800
中用量	2400	800(第 1 日～7 日) 2400(第 8 日～102 日)
高用量*	7200/4000*	雄：800(第 1 日～3 日) 2400(第 4 日～7 日) 7200(第 8 日～70 日) 4000(第 71 日～102 日)
	7200/4000*	雌：800(第 1 日～3 日) 2400(第 4 日～7 日) 7200(第 8 日～49 日) 4000(第 50 日～102 日)

*:高用量群については、投与 8 日目に目標濃度であった 7200ppm を与えたが、著しい摂餌量および体重の低下が認められたため、雄では 71 日目、雌では 50 日目に投与用量を 4000ppm に減じた。

投与用量設定の根拠；

試験項目および結果：

一般症状および死亡率；

観察された臨床症状については少なくとも1日1回記録した。オープンエリアにての詳細な一般状態の観察は週1回行った。動物の行動変化、瀕死状態、死亡に関する観察は1日2回行った(祝日および週末は1日1回)。

その結果、高用量群の雄の2例(それぞれ投与64日目、71日目)でのみ痩せた状態となった。この2例以外の雌雄で認められた一般症状は、用量に関連した発生頻度の増加を伴わなかったことから、検体の投与に関連しているものとは考えられなかった。

試験期間中に死亡例はみられなかった。

身体検査；

1ヶ月に1回、身体検査を実施した。この身体検査では以下の項目について検査した。

被毛および皮膚、眼、耳、歯、歯茎、粘膜、直腸温、歩行、姿勢、一般行動、心拍数および呼吸数を含む胸部、動悸を含む腹部、外部生殖器、乳腺、意識レベル、行動変化、姿勢、歩様、運動機能、筋緊張、姿勢反応、脊髄反射、知覚、脳神経反射等

54日目の検査において高用量群の雄1例で痩せ状態を示した。低用量群の雄1例でも54日目の検査において痩せ状態と判定されたが、この動物の摂餌量は正常であり、一時的に体重低下を示しただけであったので、偶発的な所見と考えられた。

その他の項目について、検体の影響はみられなかった。

体重変化；

週に1回体重を測定した。

高用量群の雌雄において、800ppm(3日間暴露)および2400ppm(4日間暴露)の投与期間中では体重は対照群に比べ差は認められなかった。しかし、7200ppmに投与用量を上げた最初の1週から体重に統計学的な有意差を伴わないものの低下傾向を示し、その後も体重増加抑制が認められた。そのため、雄では10週後(71日目)以降、雌では7週後(50日目)以降は投与用量を7200ppmから4000ppmに減じた。4000ppmに投与用量を低下させてから、雄では体重増加量に差が認められなくなった。一方雌では7週後から最終(50~99日目)の体重増加量が対照をわずかに下回った(対照群の+0.40kgに対し、+0.22kg)。この結果、第2週から第14週(8~99日目)にかけての体重増加量および最終体重については対照群に比べ高用量群の雄では統計学的に有意差な差は認められなかったが、雌では統計学的な有意差を伴った低値を示した。中および低用量群では、試験期間中を通して雌雄いずれにも、平均体重に投与の影響は認められなかった。

表1および表2に体重および体重増加量の概要を示した。

表 1. 体重および体重増加量 -雄-

群	対照群	低用量群		中用量群		高用量群	
投与用量 (ppm)	0	800		800 (1-7 日目) 2400 (8-102 日目)		800 (1-3 日目) 2400 (4-7 日目) 7200 (8-70 日目) 4000 (71-102 日目)	
平均体重 (kg)	平均	平均	%	平均	%	平均	%
1 日目	8.25	8.15	99	8.38	102	8.28	100
1 週後 (8 日目)	8.40	8.23	98	8.55	102	8.43	100
2 週後 (15 日目)	8.60	8.28	96	8.65	101	8.18	95
10 週後 (71 日目)	9.10	8.98	99	9.75	107	7.53	83
最終 (99 日目)	9.10	9.15	101	10.00	110	8.13	89
増加重量 (kg)	平均	平均		平均		平均	
第 1 週 (1-8 日目)	0.15	0.08		0.18		0.15	
第 2 週 (8-15 日目)	0.20	0.05		0.10		-0.25**	
第 2-10 週 (8-71 日目)	0.70	0.75		1.20		-0.90**	
第 2-14 週 (8-99 日目)	0.70	0.93		1.45		-0.30	

% ; 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

** : $p \leq 0.01$; (Dunnnett 検定)

表 2. 体重および体重増加量 -雌-

群	対照群	低用量群		中用量群		高用量群	
投与用量 (ppm)	0	800		800 (1-7 日目) 2400 (8-102 日目)		800 (1-3 日目) 2400 (4-7 日目) 7200 (8-49 日目) 4000 (50-102 日目)	
平均体重 (kg)	平均	平均	%	平均	%	平均	%
1 日目	6.65	6.58	99	6.65	100	6.73	101
1 週後 (8 日目)	6.85	6.70	98	6.73	98	6.85	100
2 週後 (15 日目)	7.10	6.93	98	6.85	96	6.63	93
7 週後 (50 日目)	7.50	7.40	99	7.30	97	5.98*	80
最終 (99 日目)	7.90	7.93	100	7.70	97	6.20*	78
増加重量 (kg)	平均	平均		平均		平均	
第 1 週 (1-8 日目)	0.20	0.13		0.08		0.13	
第 2 週 (8-15 日目)	0.25	0.23		0.13		-0.23**	
第 2-10 週 (8-50 日目)	0.65	0.70		0.58		-0.88**	
第 2-14 週 (8-99 日目)	1.05	1.23		0.98		-0.65**	

% ; 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

* : $p \leq 0.05$; ** : $p \leq 0.01$; (Dunnnett 検定)

摂餌量および検体摂取量;

摂餌量については、個体別に毎日測定した。

高用量群では雌雄共に、800ppm(3日間暴露)および2400ppm(4日間暴露)の投与期間中では平均摂餌量に対照群との差は認められなかった。しかし、雄では7200ppmに投与用量を上げた第2週～10週の摂餌量は対照群の摂餌量から平均31%下回り、4測定時(第5, 8, 9, 10週)で統計学的な有意差を伴った。そのため4000ppmに投与用量を減じたところ、11～14週目には対照群の摂餌量から平均13%下回ったものの、摂餌量の影響は7200ppmを投与していたときよりも明らかな軽減がみられ、統計学的な有意差は認められなくなった。一方、雌では7200ppmでは第2週～7週の摂餌量が対照群の摂餌量から平均54%下回り、全ての測定時点で統計学的に有意であった。そのため、50日目(8週目)以降、用量を4000ppmに減じた。4000ppmに減じた後、第8～14週にかけては対照群の摂餌量から平均30%下回り、摂餌量への影響は7200ppmを与えていた時よりも軽減されたものの、統計学的な有意差を伴った。

表3にこれらの概要を示す。

表3. 平均摂餌量

群	低用量群	中用量群	高用量群
雄 投与用量(ppm)	800	800(1-7日目) 2400(8-102日目)	800(1-3日目) 2400(4-7日目) 7200(8-70日目) 4000(71-102日目)
第1週(1-7日目)	105	103	106
第2週(8-14日目)	101	101	78
第5週(28-35日目)	104	114	66**
第8週(50-56日目)	107	100	67**
第9週(57-63日目)	108	106	64**
第10週(64-70日目)	113	111	67*
第14週(92-98日目)	111	100	85
第2-10週(8-70日目)	109	108	69
第11-14週(71-98日目)	109	106	87
第2-14週(8-98日目)	109	107	74
雌 投与用量(ppm)	800	800(1-7日目) 2400(8-102日目)	800(1-3日目) 2400(4-7日目) 7200(8-49日目) 4000(50-102日目)
第1週(1-7日目)	109	99	98
第2週(8-14日目)	107	98	65**
第7週(43-49日目)	115	96	46**
第14週(92-98日目)	111	96	64**
第2-7週(8-49日目)	110	98	46
第8-14週(50-98日目)	110	97	70
第2-14週(8-98日目)	110	97	59

表中の数字は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; (Dunnett 検定)-各測定週について統計処理を実施

投与期間中の平均検体摂取量(mg/kg/日)は以下のとおりであった。

表 4. 検体摂取量(mg/kg/日) [第 2 週～14 週]

群		低用量	中用量	高用量
検体摂取量	雄	27.2	74.6	155
	雌	30.3	81.0	123

眼科学的検査;

検体投与開始前および試験終了時の剖検前に、全例について眼科学的検査を実施した。

雌雄共にいずれの投与群においても影響は認められなかった。

血液学的検査;

投与 7 日前、第 7 週(43 または 44 日目)および第 14 週(92 または 93 日目)に頸静脈穿刺により全動物から血液を採取した。

以下の項目について検査した。

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

投与開始以降、対照群に比べ統計学的に有意な変動は雌雄共にいずれの群でも認められなかった。

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。

以下の項目について検査した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT), アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT), アルカリホスファターゼ(ALP), γ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT), グルコース, 総コレステロール(t-CHOL), トリグリセリド, クレアチニン(CREA), 尿素, 総ビリルビン(t-BIL), 総蛋白, アルブミン(A1b), グロブリン, アルブミン/グロブリン比(A/G 比), ナトリウム, カリウム(K), カルシウム(Ca), 塩素, 無機リン

なお、グロブリンおよびアルブミン/グロブリン比(A/G)を計算により求めた。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 5 に示す。

雌雄共に、7 および 14 週目、ALP 活性のすべての投与群の平均値が、対照群の平均値を上回り、そのうち、雄では高用量群、雌では中用量と高用量群で統計学的有意差を伴った増加がみられた。また、GGT については対照群および投与開始前の各群の値は 0.0 IU/L を示したが、雄の高用量群、雌の中用量と高用量群では時間とともに増加がより顕著となった。一方、ASAT については雄の高用量群の 14 週目測定時に統計学的に有意な増加がみられたが軽度であった。ALAT は雌雄ともに統計学的に有意な差はいずれの群でもみられなかった。

t-CHOL の統計学的に有意な低下が高用量群の雄で認められた。また t-BIL については、雌雄共に全投与群で両測定時において低下傾向が認められたが、統計学的な有意差は必ずしも明らかな用量および経時的に関連を示したものではなかった。なお、t-BIL の低下は毒性学的な有意性はないものと考えられた。Alb 並びに A/G 比の低下が高用量および中用量群の雌雄数匹においてみられ、平均値では統計学的な有意差を伴った。なお、低用量においても、雌雄共に統計学的な有意な低下が認められたが、個別別にみた場合、対照群に比べ変動は小さいものと考えられたことから、低用量でのこの低下は、検体の投与によるものとは考えられなかった。

その他の変化は、たとえ統計学的に有意であっても、対照群との差は軽度であり、または個体値の変動から見て投与関連性ではないと考えられた。

表 5. 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

群	低用量			中用量			高用量			
	検査時期	-7 日	7 週	14 週	-8 日	7 週	14 週	-7 日	7 週	14 週
項目/性別	雄									
ASAT										▲R 147
ALP	(155)	(326)	(504)	(121)	(210)	(294)	(115)	▲R 582	▲R 891	
GGT [#] (IU/L)	0.0	0.3	1.8	0.0	0.0	0.3	0.0	2.8	7.5	
t-BIL					↓40			↓26		
グルコース								↓86	↓R 73	
総蛋白		↓88			◆83			◆84		
Alb		↓83			◆77	↓82		◆75	◆73	
A/G			◆80			◆78				◆69
t-CHOL							(91)	(60)	↓52	
CREA										◆80
Ca		↓93			↓92			↓92		
項目/性別	雌									
ALP	(72)	(137)	(165)	(89)	▲R 296	↑R 538	(98)	↑R 274	▲R 584	
GGT [#] (IU/L)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	5.0	0.0	2.3	8.0	
t-BIL		↓R 7						↓R 12	◆R 5	
総蛋白										↓90
Alb			◆88		↓83	◆81		◆82	◆79	
A/G			↓86		↓80	◆77				◆74
尿素								◆69	↓74	
CREA			↓89							◆82
K						↑R 115				▲R 117

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。() は統計学的な有意差はないが参考値として記載。

↑ ↓ : p ≤ 0.05, ◆ : p ≤ 0.01 (Dunnett 検定),

↑R, ↓R : p ≤ 0.05, ▲R, ▼R : p ≤ 0.01 (Dunn Rank Sum 検定)

#GGT については、参考のために雌雄の投与前値および投与開始後の全ての検査時点で対照群の値が 0.0 IU/L のため、実測値を記載

尿検査:

投与開始前(投与 4 日前)、第 7 週(45、46 または 47 日目)および第 14 週(94、95 または 96

日目)に全群の全動物から一晚蓄尿した尿サンプルを午前中に採取した。尿採取の間は飲水を制限した。

以下の項目について検査した。

外観, 尿量, 屈折率, pH, 蛋白*, グルコース*, ケトン体*, ビリルビン*, 潜血*, ウロビリノーゲン*, 尿沈渣(鏡検) *;尿試験紙により検査

雄の低用量群で第45日目の尿量に統計学的に有意な増加(Dunnett検定; $p \leq 0.05$)が認められたが、その1時点のみであり、中、高用量群では何ら影響はみられなかったことから、この変化は偶発的なものと考えられた。屈折率、pHについては統計学的に有意な変化(屈折率; Dunnett検定, pH; Dunn検定)は認められなかった。半定量的検査および尿沈渣についてもいずれの検体投与群においても対照群と比べて相違する所見は認められなかった。

剖検;

試験終了時に、全動物について剖検を行った。

肝臓の腫大が高用量群の雄2例のみで観察された。この変化は病理組織学的所見および肝臓重量の増加を伴っていたため、投与関連性で、毒性学的に意味のあるものと考えられた。その他に認められた所見は、対照群との間に差は認められないあるいは、用量に関連した変化ではなかったことから、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

臓器重量;

全例について、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、甲状腺(上皮小体も含む)、副腎、脳、下垂体の重量を測定し、対体重比、対脳重量比を算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表6に示す。

表6. 臓器重量(有意差の認められた項目)

性別	雄			雌			
	用量(ppm)	低用量	中用量	高用量	低用量	中用量	高用量
最終体重				(92)			↓78
肝臓 実重量	(130)	↑R 151		(138)	↑137	▲142	(118)
対体重比	(130)	↑138		▲151	↑137	▲146	▲150
対脳重量比	(130)	↑154		(136)	▲148	↑139	(114)
副腎 対体重比							↑156
対脳重量比					▲143		
脳 対体重比							▲132
腎臓 対体重比							↑129
脾臓 対体重比						↑144	
心臓 対脳重量比					▲122		↓84

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

↑↓: $p \leq 0.05$, ▲: $p \leq 0.01$ (Dunnett検定), ↑R: $p \leq 0.05$ (Dunn Rank Sum検定)

()は統計学的に有意差ないが参考値として記載

表6に示すように、肝臓の平均実重量および対比重量(体重あるいは脳に対する臓器重量)は、全群とも雌雄両方で対照群を上回り、ほとんどの場合、統計学的に有意であった。肝臓の他にも統計学的な有意な差がみられたが、用量に関連した変化ではないか、実重量、対体重比に変化を伴わない対脳重量比の変動であったことから偶発的な変化と考えられた。また雌の最高用量群で認められた対体重比のみの増加は低体重に基づいたものと考えられた。

病理組織学的検査；

全動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製した。

顎下腺，食道，胃，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸，舌，肝臓，膵臓，胆のう，気管，肺，動脈，リンパ節(咽頭後，腸間膜)，心臓，胸骨および骨髄，脾臓，胸腺，腎臓，膀胱，精巣，精巣上体，前立腺，卵巣，乳腺，子宮，卵管，膣，脳，脊髄，坐骨神経，眼球，視神経，下垂体，副腎，眼窩外涙腺，上皮小体，甲状腺，骨格筋，皮膚，関節面(大腿骨頭)，肉眼的異常組織および塊

ダビッドソン固定液に浸漬した眼球、視神経、精巣、精巣上体を除き、その他の臓器については10%緩衝ホルマリン液に浸漬した。染色はヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)を用いた。

検体投与によると考えられた病理所見を表7に示した。

表7 病理組織学的所見

性別 群	雄				雌			
	対照	低	中	高	対照	低	中	高
所見 試験動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
肝細胞肥大 [#] 軽微	0	↑4	↑4	↑4	0	3	↑4	↑4
肝細胞壊死巣	0	0	0	2	0	1	1	1
肝単細胞壊死 軽微	0	1	0	1	0	0	2	0
胆管過形成(限局性) 軽微	0	0	0	0	0	0	1	0
	軽度	0	0	1	0	0	0	1
	合計	0	0	0	1	0	0	1

[#]：細胞質の好酸性化および好酸性細胞質内封入体を伴う。

↑：p≤0.05 (Fisher検定，申請者により実施；)

雌雄ともに肝臓で、投与に関連する病理組織学的所見が観察された。

全投与群の雌雄両方で、細胞質の好酸性化および好酸性細胞質内封入体を伴う軽微な肝細胞肥大が肝小葉全体に観察された。高用量群の雄2例および各投与群の雌1例で、肝細胞壊死巣が観察された。また、高用量群および低用量群の雄1例、中用量群の雌2例で、軽微な肝単細胞壊死が認められた。高用量群の雄1例ならびに高用量群および中用量群の雌1例で、軽微ないしは軽度の限局性胆管過形成^{*}が観察された。

以上、高用量群では雌雄ともに7200ppmに飼料濃度を上昇させた以降、体重増加抑制、摂餌量の減少が認められた。4000ppmに濃度を減じてから、雄では体重増加量に対照群との差はみられなくなったが、雌では最終時においても低体重を示した。摂餌量については、4000ppmに投与量を減少してから、雌雄ともに対照群に比べ差が軽減され、雄では統計学的に有意な低下は認められなくなった。一方、雌では有意な低下が認められた。身体検査では7200ppm投与時、痩せ状態となった雄が認められた。生化学検査では、雌雄でアルカリホスファターゼ活性およびγ-グルタミルトランスフェラーゼの上昇、アルブミンの低下、A/G比の低下が認められ、さらに雄においてアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの活性値の上昇がみられ、コレステロールの低下も認められた。臓器重量では雌雄ともに肝臓重量の増加がみられた。そして剖検では肝臓腫大が雄で、病理組織学的検査では雌雄ともに肝細胞肥大の頻度の増加がみられ、さらに肝細胞壊死巣が雌雄で、肝単細胞壊死が雄でみられた。

中用量群の雌雄群では生化学検査でアルカリホスファターゼ活性の上昇(雌のみ統計学的有意差あり)、アルブミンおよびA/G比の低下がみられ、さらに雌では、γ-グルタミルトランスフェラーゼ活性の上昇がみられた。臓器重量では、雌雄ともに肝臓重量の増加がみられた。病理組織学的検査では雌雄ともに肝細胞肥大の頻度の増加がみられ、雌で肝細胞壊死巣がみられた。また、最高用量群の雌では認められなかったが、中用量の雌で肝単細胞壊死もみられた。

低用量群の雌雄において、生化学的検査ではアルカリホスファターゼ活性の上昇(雌雄ともに統計学的な有意差なし)がみられ、肝臓重量の増加(雄では統計学的な有意差なし)がみられた。病理組織学的検査では肝細胞肥大の頻度の増加が雌雄でみられた(雌では統計学的有意差なし)。また雌では肝細胞壊死巣が、一方、雄では中用量群では認められなかったものの肝単細胞壊死がみられた。

これらのことから、本試験における無毒性量は設定できず、雌雄ともに、800ppm(雄; 27.2mg/kg/日, 雌 30.3mg/kg/日)以下であると判断した。

(7)21 日間反復経皮投与毒性

トリアファモンの 21 日間反復経皮投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-12)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての 21 日間反復経皮投与毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑩イの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体の急性経皮毒性試験の結果から、限界最高用量である 2000mg/kg で、何ら本原体の影響は認められなかった。このように経皮毒性が低く、したがって、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い経皮毒性は認められていない。

このようなことから、21 日間反復経皮投与毒性試験の提出は不要であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(8)90日間反復吸入毒性

トリアファモンの90日間反復吸入毒性試験

(毒性資料 No. 原体-13)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての90日間反復吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)⑩イの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体の急性吸入毒性試験の結果から、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い吸入毒性は認められていない。

このようなことから、90日間反復吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

トリアファモンの反復経口投与神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-14)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての反復経口投与神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) の⑫のア」の試験成績の提出の除外にあてはまる。

[除外根拠]

ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験等における詳細な状態の観察、機能検査、病理組織学的検査等において、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見がないことが確認でき、かつ、既知神経毒性物質と化学構造に類似性がない。したがって、90 日間反復経口投与毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがないと認められるため、本反復経口神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(10) 28 日間反復投与遅発性神経毒性

トリアファモンの 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-15)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑬の規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、28 日間反復投与遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(11)1 年間反復経口投与毒性および発がん性
イヌを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-16)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 2012 年

検体純度：

供試動物：ビーグル犬 1 群雌雄各 4 匹

投与開始時 約 8~9 ヶ月齢、体重；雄 8.8~11.7kg、雌 6.9~10.2kg

投与期間：1 年間（2011 年 3 月 29 日~2012 年 3 月 29 日）

投与方法：検体を 0（対照群）、100、300 および 800ppm の濃度で飼料に混入し、1 年間にわたって摂食させた。

用量設定根拠；

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；

全動物について毎日一般状態を観察した。行動の変化、健康障害、瀕死状態および死亡の兆候は 1 日 2 回（週末および祝日は 1 日 1 回）検査した。また、毎週 1 回、行動および外観、皮膚および被毛、歯および歯茎、眼、耳、粘膜、歩行、姿勢、ハンドリングに対する反応などについて詳細に観察した。月に 1 回は詳細な身体検査も実施した。

雌雄いずれにも投与に関連した一般状態の変化や身体検査での変化は認めなかった。また、試験中に死亡例は認めなかった。

体 重；

馴化期間および投与期間中の給餌前、週に 1 回測定した。また、最終剖検の前にも測定した。

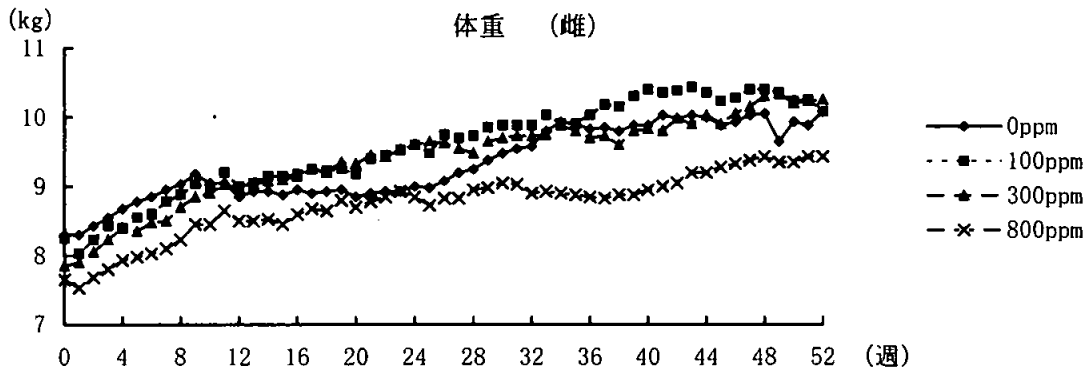
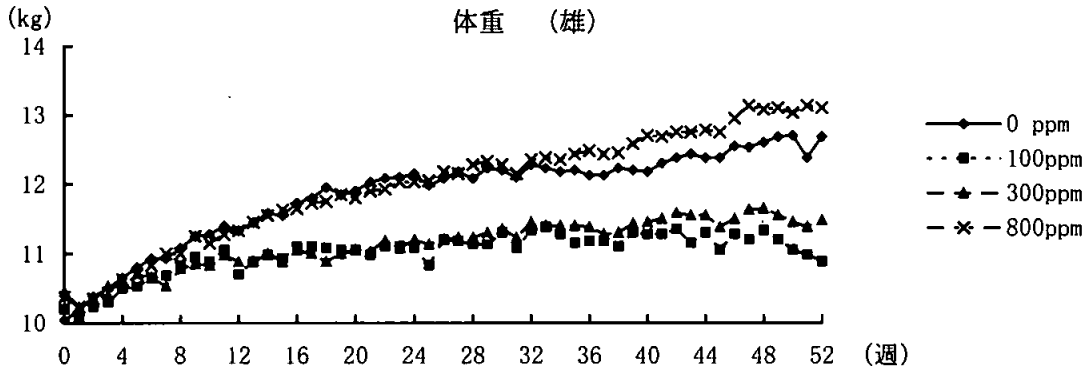
雌雄ともに体重増加量に軽微な変動が散発的に認められたが、これらの変化は用量とは無関係であったこと、また 1 週から 13 週、13 週から 26 週、26 週から

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

52 週そして 1 週から 52 週における体重増加量に用量に関連した差は認められなかったこと、さらに投与群と対照群の体重に統計学的な有意な差が認められなかったことから、これらは偶発的なものであり、検体投与との関連性はないものと判断した。

*(Dunnett 検定または Dunn 検定)

体重変化を以下に示す。



摂餌量；

投与期間中は、各動物に与えた飼料の重量と食べ残した飼料の重量を毎日記録した。また、投与開始直前にも連続する少なくとも 5 日間にわたって摂餌量を測定した。

表 1 に摂餌量を示す。

性別	雄			雌		
	100	300	800	100	300	800
1 週 [1~8 日目]	96	102	98	94	91	80
1~52 週 [1~364 日目]	97	103	103	95	102	89

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの Dunnett または Dunn 検定を実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 に示すように 800ppm 群の雌は、投与 1 週目の平均摂餌量が対照と比較してわずかに減少し (-20%、統計学的に有意ではない)、また、この期間以外でも摂餌量の低下が試験中に数回観察された[#] (最大-26%、統計学的に有意ではない)。そして試験期間全体としての平均摂餌量は対照群と比較して 11%のわずかな低下を示した。

800ppm 群の雄ならびに 300 および 100ppm 群の雌雄では、平均摂餌量は試験期間を通じて検体投与の影響を受けなかった。

[#]申請者注)

検体摂取量：

各群の試験期間を通じた平均検体摂取量は以下の通りであった。

表 2. 平均検体摂取量

投与量 (ppm)		100	300	800
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.8	8.8	21.9
	雌	3.0	9.7	24.3

眼科学的検査：

馴化期間中、アトロピン剤 (Mydriaticum, Merck Sharp and Dohme) を滴下後、全動物に対して眼科学的検査を実施した。検査には細隙灯および倒像検眼鏡を用いた。また投与終了時に全生存動物を再検査した。

雌雄のいずれの飼料中濃度においても、眼科学的検査の結果に変化は認められなかった。

血液サンプル採取 (血液学的検査および血液生化学検査)；

投与開始前に 1 回、また、3 ヶ月 (87 または 88 日目)、6 ヶ月 (178 または 179 日目)、9 ヶ月 (248 日目または 249 日目；血液生化学検査のみ) および 12 ヶ月 (360 または 361 日目) に、頸静脈穿刺により血液サンプルを全群の全動物から採取した。なお、血液学的検査用の血液サンプルは EDTA、血液生化学検査用の血液サンプルは凝固促進剤、血液凝固系パラメータ用の血液サンプルはクエン酸ナトリウムでそれぞれ処理した。

血液学的検査：

以下の項目について検査した。

赤血球数、血色素量 (Hb)、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 (RET, 数および%)、白血球数、白血球分画、血小板数 (PLT)、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

さらに、血液塗抹標本を作製し、May-Grünwald-Giemsa で染色した。しかし、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

その他の検査において異常が認められなかったことから、塗抹標本の検査は行わなかった。

表3に有意差の認められた項目を示す。

表3. 血液学的検査（有意差の認められた項目）

用量	100ppm				300ppm				800ppm			
	9日 [#]	3ヶ月	6ヶ月	12ヶ月	9日 [#]	3ヶ月	6ヶ月	12ヶ月	9日 [#]	3ヶ月	6ヶ月	12ヶ月
性別	雄											
Hb											↓90	
PT												↑107
性別	雌											
MCV			↑104								↑105	
MCH			↑106	↑106							↑107	
MCHC				↑103								
PLT					↓57		↑136					↑138
NEU(%)	↑114											
RET(数)		↓51								↓32		
RET(%)										↓R32		

[#]; 馴化9日目, NEU%; 白血球分画のうちの好中球%

↑↓: p<0.05, ↑ ↓: p<0.01 (Dunnnett 検定), ↓R: p<0.05 (Dunn Rank Sum 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものを。

表3にみられるように、検査で認められた統計学的に有意な変動は、散発的もしくは対照群との差の程度が小さいことを考慮して、検体の投与とは無関係と判断した。従って、投与に関連のある変化は認められなかった。

生化学的検査；

以下の項目について検査した。

血清の外観, カルシウム, 塩素, 無機リン(P), ナトリウム, カリウム, アルカリホスファターゼ(ALP), アラニンアミノトランスフェラーゼ, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT), γ-グルタミルトランスフェラーゼ, アルブミン(A1b), クレアチニン, 尿素(UREA), 総コレステロール(t-CHOL), グルコース(GLUC), 総ビリルビン(t-BIL), 総蛋白(t-PROT), トリグリセリド(TRIG)

なお、グロブリンおよびアルブミン/グロブリン比(A/G)を計算により求めた。

表4に有意差の認められた項目を示す。

表 4. 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

用量	100ppm				300ppm				800ppm						
測定時	9日 [#]	①	②	③	④	9日 [#]	①	②	③	④	9日 [#]	①	②	③	④
性別	雄														
ALP												▲R211		↑R280	↑276
ASAT		↑R187										↑R140			
GLUC	▲127			↑112		▲117					▲122				
t-BIL								↓35					↓32		
Alb						↓90	▼89				↓91	▼87	↓89		
UREA							↑R133								
t-CHOL											↓71	↓60	↓66	↓70	
P						↓75									
性別	雌														
ALP										↑437					↑362
TRIG	↑175														
t-BIL				↓42				▼14						▼9	
t-CHOL								▼58						▼52	
t-PROT								▼87			↓90		▼84	↓90	
Alb						↓90	▼84	▼86			▼84	↓88	▼79	▼82	
A/G							▼83		↓85		↓85	▼82		↓82	
P								↓73							

[#]: 馴化9日目, ①; 3ヶ月, ②; 6ヶ月, ③; 9ヶ月, ④12ヶ月

↑↓: p<0.05, ▲▼: p<0.01 (Dunnett 検定), ↑R: p<0.05, ▲R: p<0.01 (Dunn Rank Sum 検定)
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

表4にみられるように、ALPの統計学的に有意な増加が雄の800ppmおよび雌の300ppm以上の群で認められた。なお、雌では800ppm群と300ppm群の間には明確な用量-影響関係が見られなかったが、検体の影響と考えた。

雌雄共に300ppm以上の群でAlbの減少がみられ、その減少は雌の800ppm群では全ての測定時期において、統計学的に有意であった。雌でみられたt-PROTおよびA/G比の統計学的に有意な減少は、このAlbの減少に関連しているものと考えられた。また雄の800ppm群で全期間を通じてt-CHOL値が対照群に比べ統計学的に有意に低下した。

それ以外の項目の変動はたとえ統計学的に有意であったとしても、差がみられるのが散発的であったことを考慮して、投与に関連したものとは考えなかった。

尿検査;

投与開始前に1回、また、3ヶ月(85日目)、6ヶ月(176または177日目)および12ヶ月(354、358、または359日目)に一晚蓄尿した尿サンプルを午前中に採取

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

した。尿採取期間中は飲水を制限した。

以下の項目について検査した。

外観、尿量、pH、比重/浸透圧/屈折率、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣(鏡検)

雌雄いずれにも影響は認められなかった。

薬物動態学的検査；

試験最終日に検体投与群および対照群それぞれ雌雄各2匹を選び、頸部または適切な静脈から血液を採取し、その血液サンプルをヘパリン処理したバイアルに入れた。血液採取は給餌直前に行い、投与群についてはさらに給餌後1、2および4時間にも行った。親化合物および下記の主要代謝物*を高速液体クロマトグラフィ/質量分析により定量した。

*ジヒドロ体[M1]，N-脱メチル体[M5]，ジヒドロ-N-脱メチル体[M6]

表5に定量結果を示す。

表5. 血漿中における親化合物および主要代謝物(mg/L) -平均値-

検体	採取時間	雄			雌		
		100ppm	300ppm	800ppm	100ppm	300ppm	800ppm
親化合物	0	<VL			<VL		
	1						
	2						
	4						
[M1]	0	<VL			<VL		
	1						
	2						
	4						
[M5]	0	<VL		<VL	<VL		<VL
	1			0.62			0.75
	2			<0.59 [#]			0.94
	4			<0.59 [#]			0.69
[M6]	0	<0.76 [#]	3.01	6.26	1.16	3.25	8.78
	1	<VL	1.33	3.23	0.86	2.52	6.65
	2	<0.53 [#]	1.46	3.46	0.91	2.48	7.20
	4	<VL	1.93	4.43	1.16	2.99	9.18

VL: 定量限界(有効とされた分析法による)-親化合物;0.1mg/L, 上記3代謝物;0.5mg/L

#; 群内で定量限界以下の個体があったため、定量限界以下についてはそれぞれの定量限界をあてはめて平均値を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

全ての用量群の全動物において、いずれの採取時間においても血漿サンプル中の親化合物の濃度は定量限界 (0.1mg/L) 未満であった。

また[M1]についても、同じ時点で全ての用量群において定量限界(0.5mg/L) 未満であった。

[M5]については、すべての用量群の給餌前ならびに 100ppm 群および 300ppm 群の給餌後において、血漿サンプル中の濃度は定量限界 (0.5mg/L) 未満であった。800ppm 群では、給餌後の濃度が定量限界の 0.5mg/L から最大 1.08mg/L の範囲に分布しており、表 5 に示すように、給餌後の 3 時点で平均濃度に変わりはなかった。

[M6]については、その血漿中濃度は 100ppm 群で定量限界の 0.5mg/L から 1.36mg/L、300ppm 群で 1.07mg/L から 4.95mg/L、800ppm 群で 1.69mg/L から 11.0mg/L の範囲に分布していた。表 5 に示すように、平均濃度は 4 時点 (給餌前ならびに給餌後 1、2 および 4 時間) および雌雄間であきらかな差は認められなかった。

剖 検 ;

投与 365~368 日目に、前日の給餌後絶食させた全動物を深麻酔下で、放血致死させ剖検した。

対照群と比較したとき、投与群の動物に投与と関連のある肉眼的変化は認められなかった。

最終体重および臓器重量 ;

剖検時、体重および以下の臓器の重量を測定した。

肝臓、心臓、脾臓、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣、子宮 (および子宮頸部)、
脳、副腎、甲状腺 (および上皮小体)、胸腺、前立腺、下垂体

また上記の組織について、対体重比および対脳重量比も算出した。

検体投与群の最終体重および臓器重量は、対照群に比べ統計学的有意な差*を示さなかった。

なお、病理組織学的検査において肝細胞肥大が雌雄 800ppm 群および雌の 300ppm 群で認められていることから、統計学的に有意ではないものの、これらの群で認められた肝臓重量の軽度な増加は毒性学的に有意なものと考えた。

表 6 に肝臓重量について示す。

表 6. 臓器重量 (肝臓重量)

	雄 800ppm	雌 300ppm	雌 800ppm
実重量	112	108	119
対体重比	103	106	127
対脳重量比	119	99	118

*(Dunnett または Dunn 検定); 統計学的な有意差なし

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

病理組織学的検査；

全動物を対象として以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

舌、顎下(唾液)腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、膵臓、胆嚢、気管、肺、大動脈、心臓、骨髄(胸骨)、腸間膜リンパ節、咽頭後リンパ節、脾臓、胸腺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮(子宮頸部を含む)、乳腺、膈、卵管、脳、坐骨神経、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼、視神経、下垂体、副腎、上皮小体、甲状腺、骨(胸骨)、骨格筋、皮膚、関節面(大腿骨頭)、肉眼的病変部および腫瘍

なお、咽頭と喉頭については、組織を採取し保存したが、病理組織学的検査は実施しなかった。

肝臓に検体投与によると考えられる所見がみられ、それらを表7にした。

表7. 肝臓でみられた所見とその程度

性別	雄				雌			
投与用量(ppm)	0	100	300	800	0	100	300	800
検査数	4	4	4	4	4	4	4	4
肝細胞肥大(細胞質の好酸性化を伴う)*								
軽微	0	0	0	3	0	0	3	1
軽度	0	0	0	1	0	0	0	3
合計	0	0	0	4*	0	0	3	4*
肝細胞グリコーゲン蓄積								
軽微	0	3	1	2	0	0	2	2
軽度	1	0	0	0	2	4	2	0
中等度	2	1	0	0	1	0	0	0
重度	0	0	0	0	1	0	0	0
合計	3	4	1	2	4	4	4	2

#:小葉中心性から汎小葉性

*:p<0.05; Fisher 検定(申請者により実施)

800ppmの雌雄群および300ppmの雌群において、肝臓に細胞質の好酸性化を伴う肝細胞肥大が認められた。それに付随して、300ppm以上の雌雄群において、肝細胞グリコーゲン蓄積の発生率の低下および/または程度にわずかな軽減が認められた。その他の所見では800ppmの雌1例*に、軽微な甲状腺ろ胞細胞肥大が認められた。

申請者注)

以上の結果より、800ppm 群の雌雄ではアルカリホスファターゼ活性の増加、アルブミンの低下が、雄で総コレステロールの低下が、雌で総蛋白および A/G 比の低下が統計学的に有意差を伴ってみられた。また雌雄で統計学的に有意ではないものの肝臓重量の増加(実重量, 対体重比重量, 対脳比重量)、そして細胞質の好酸性変化を伴う肝細胞肥大を示す動物数の増加が統計学的な有意差を伴ってみられた。さらに、雌雄共に肝細胞グリコーゲン蓄積の発生率および/または程度のわずかな低下がみられた。

300ppm 群においては雌雄ともにアルブミンの低下が、雌で総蛋白および A/G 比の低下、アルカリホスファターゼの増加が統計学的な有意差を伴って認められた。また雌で統計学的に有意ではないものの肝臓重量(実重量, 対体重比重量)の増加がみられた。それに関連して、雌で細胞質の好酸性化を伴う肝細胞肥大を示す動物数の増加がみられた(統計学的な有意差なし)。さらに、雌雄共に肝細胞グリコーゲン蓄積の発生率および/または程度のわずかな低下がみられた。

従って、無毒性量は、雌雄共に 100ppm (雄では 2.8mg/kg/日、雌では 3.0mg/kg/日)と考えられた。

ラットを用いた混餌投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(毒性資料 No. 原体-17)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 2013 年

検体の純度：

試験動物：ウイスター(Rj:WI(IOPS HAN))系ラット、

1 群雌雄各 70 匹(慢性毒性群; 1 群雌雄各 10 匹、発がん性群; 1 群雌雄各 60 匹)

試験開始時 6 週齢, 平均体重 雄 204.1~208.1g, 雌 158.7~161.0g

投与期間：慢性毒性群 12 ヶ月(2010 年 2 月 9 日~2011 年 2 月 18 日)

発がん性群 24 ヶ月(2010 年 2 月 9 日~2012 年 2 月 28 日)

試験方法：

検体を 0(対照群)、50、250 および 1500ppm となるように飼料に混ぜ、2 年間にわたって随時摂食させた。

用量設定の根拠；

観察・検査項目および結果：

一般症状および死亡率；

生死を 1 日 2 回(週末と休日は 1 回)、一般状態は少なくとも 1 日 1 回観察した。腫瘍の触診を含む詳細な身体検査は毎週 1 回実施した。

1 日 1 回行ったケージサイドでの一般状態観察では、1 年目には雌雄共にいずれの投与群においても、投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

2 年目においては、1500ppm 群では、雌雄ともに半眼、痂皮、被毛の汚れおよび自発運動量の低下の発生率が対照群よりも高かった。また、雌において伏臥の発生率の上昇が認められた。250ppm 群では、投与に関連した一般状態の変化は雌のみで記録され、痂皮(用量昇順の発生率 0-0-3-4)および被毛の汚れの発生数(用量昇順の発生数 3-3-9-13*, *; $p \leq 0.05$ (Fisher 検定; 申請者により実施))が対照群よりもわずかに高かった。しかし、250ppm で認められたこれらの発生率のわずかな増加は統計学的有意差も認められず、少なくとも検体投与による毒性影響とはとらえなかった。50ppm 群では雌雄共に投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

1 週間に 1 回実施された詳細な身体検査(表 1)においては、1500ppm 群では雌雄共に 1 年目(雄では $p \leq 0.01$, 雌では $p \leq 0.001$) および試験 2 年目(雌のみ $p \leq 0.001$) に、被毛の汚れの発生率が対照群よりも高かった。また、試験 2 年目の雄については、脱毛の発生率も対照群より高かった ($p \leq 0.05$)。250 および 50ppm 群の詳細な身体検査では、

雌雄いずれにも投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。これらの頻度を表 1 に示す。

表 1. 詳細な身体検査

性別	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
1 年目 (1 週～53 週)									
動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	
被毛の汚れ	3	3	1	14**	1	1	6	22***	
2 年目 (54 週～105 週)									
動物数	57	59	57	60	58	59	59	60	
被毛の汚れ	21	25	16	31	13	17	24	36***	
脱毛	0	0	0	6*	6	6	12	9	

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$ (Fisher 検定)

死亡数を表 2 に示す。

表 2 死亡数

投与量 (ppm)		0	50	250	1500
12 ヶ月 終了時	動物数 雄/雌	70/70	70/70	70/70	70/70
	雄	5	2	4	1
	雌	3	1	2	0
投与 終了時	動物数 雄/雌	60/60	60/60	60/60	60/60
	雄	35	39	30	33
	雌	31	30	28	14

(TARONE 検定)

表 2 に示すように、投与に関連した死亡は認められなかった。

体重；

順化期間中は週に 1 回、投与期間の最初の 13 週間は毎週 1 回、その後は 4 週に 1 回および剖検前に測定した。

雄の平均体重とその動きを表 3 および図 1 に、雌の体重の動きを図 2 に示した。

雄の 1500ppm 群では、基本的に試験の第 2 四半期(92 日～175 日)および 400 日に測定した体重は、当該対照群の体重に比べ統計学的に有意な低値を示し、92 日を起点としてそれぞれ 120 日、148 日および 175 日までの体重増加量に統計学的に有意な低下が認められた。それ以外の期間の平均体重は対照群と同等かわずかに低かった。250ppm 以下の雄では 1500ppm 群と同様に、特に第 2 四半期に体重増加抑制が認められたが、平均体重自体に統計学的有意差はみられず、その後の試験期間 (175～372 日) に平均体重増加量が代償的な増加を示したため、投与とは無関係と判断した。

一方、雌については、全投与群ともに検体に起因した体重への影響は認められなかった。

表 3. 平均体重 -雄- (有意差の認められた主な測定時期)

投与用量 (ppm)	0			50		250		1500	
平均体重 (g)	平均	平均	%	平均	%	平均	%	平均	%
1 日目	207	208	100	204	98	206	99		
第 2 週 (8 日目)	264	266	101	266	101	266	101		
第 14 週 (92 日目)	538	537	100	537	100	518	96		
第 18 週 (120 日目)	571	571	100	564	99	↓524	92		
第 22 週 (148 日目)	602	598	99	590	98	↓ _R 568	94		
第 25 週 (175 日目)	621	609	98	604	97	↓589	95		
第 54 週 (372 日目)	713	719	101	723	101	690	97		
第 58 週 (400 日目)	737	734	100	735	100	↓ _R 699	95		
第 78 週 (540 日目)	763	757	99	771	101	732	96		
最終第 105 週 (729 日目)	679	676	100	700	103	668	98		
増加重量 (g)	平均	平均	%	平均	%	平均	%	平均	%
第 1-2 週 (1-8 日目)	57	58	102	↑ _R 61	108	↑60	106		
第 1-14 週 (1-92 日目)	331	329	99	333	101	312	94		
第 14-18 週 (92-120 日目)	33	34	103	↓28	85	↓24	73		
第 14-22 週 (92-148 日目)	64	61	95	↓ _R 53	83	↓ _R 50	78		
第 14-25 週 (92-175 日目)	83	↓72	87	↓67	81	↓71	86		
第 25-54 週 (175-372 日目)	93	↑ _R 109	117	↑ _R 118	127	101	108		
第 54-78 週 (372-540 日目)	37	33	89	47	128	36	97		
第 78-105 週 (540-729 日目)	-65	-68	-	-59	-	-54	-		
第 1-105 週 (1-729 日目)	474	470	99	496	105	465	98		

平均体重(g), % ;変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

↓:p<0.05, ↓:p<0.01 (Dunnett 検定),

↑_R↓_R:p<0.05, ↑_R↓_R:p<0.01 ↑_R↓_R:p<0.001 (Dunn Rank Sum 検定)

図1 体重(雄)

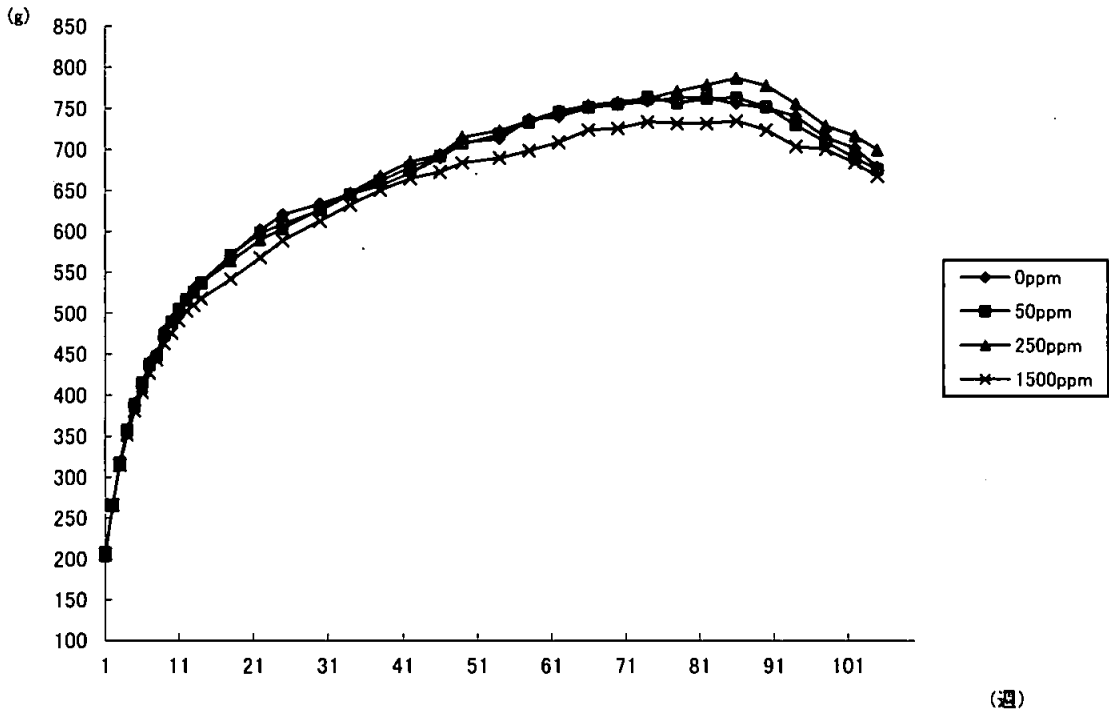
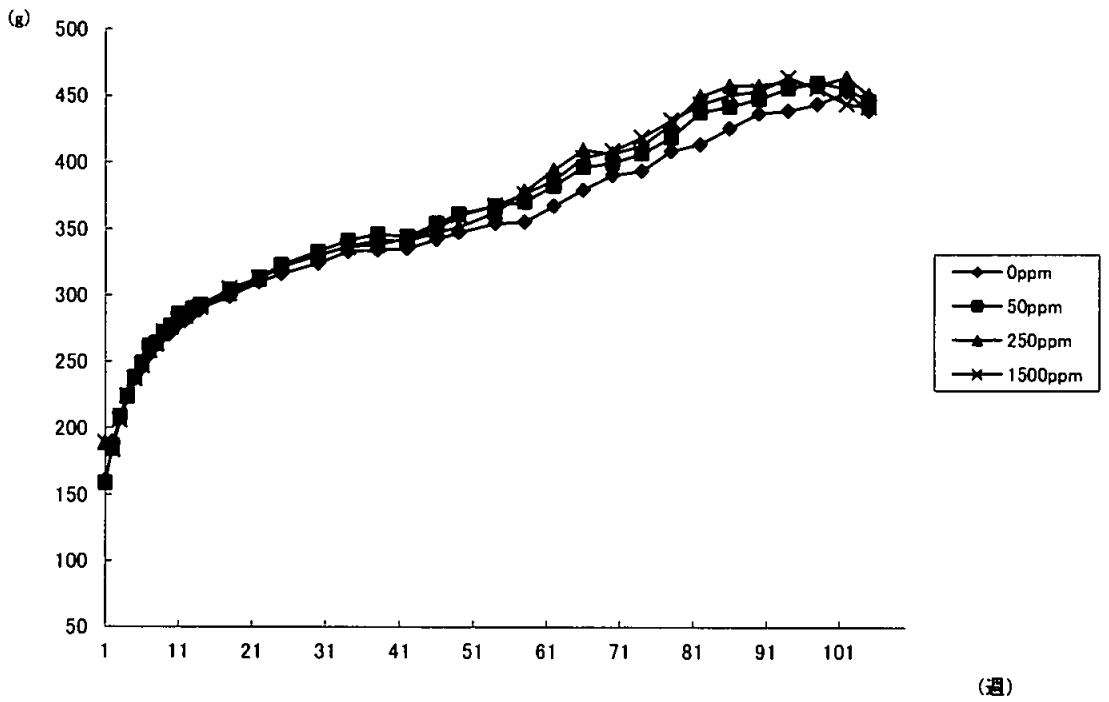


図2. 体重(雌)



投餌量；

投餌量の測定を投与開始から6週間は週2回、13週目までは週1回、それ以後はほぼ4週間に1回の割合で行った。

対照群と投与群の間に、検体投与に関連していると思われる差は認められなかった。

検体摂取量；

投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

表 4. 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量(ppm)		50	250	1500
1週～1年	雄	2.31	11.5	70.5
	雌	3.14	15.8	94.7
1週～2年	雄	1.96	9.86	60.4
	雌	2.81	14.2	84.2

眼科学的検査；

馴化段階中は全動物について、投与1年経過後には対照群と高用量群について、倒像検眼鏡を用いて眼を検査した。2年経過後には全生存動物を対象として、まず倒像検眼鏡を用いてそれぞれの眼を検査し、次にアトロピン製剤を点眼後、細隙灯顕微鏡および倒像検眼鏡を用いてそれぞれの眼を再検査した。

投与1年経過後には、高用量群の雄において紅涙の発生率の上昇が観察された。投与2年経過後にも、高用量群の雄において紅涙の発生率のわずかな上昇が観察されたが統計学的に有意ではなかったことから、2年目については検体の影響を否定できるものと考えた。

従って、中および低用量群の雄ならびにすべての用量群の雌については、1年間および2年間の投与後も投与に関連した眼科学的所見は認められなかった。

表 5. 眼科学的検査 (紅涙の発生数)

		雄				雌			
		0	50	250	1500	0	50	250	1500
1年後	検査数	66	/	/	70	67	/	/	70
	発症数	0	/	/	7**	3	/	/	0
2年後	検査数	29	27	25	29	39	35	35	33
	発症数	2	2	3	6	2	2	3	1

**； p<0.01 (Fisher 検定)

血液サンプリング；

一晚絶食させた動物をイソフルランで麻酔後、眼窩静脈叢への穿刺により採血した。血液検査および血液生化学検査は、慢性毒性群では4(17週)、6(26週)および12(50週)ヶ月目に全生存動物を対象とし、最終屠殺群については、4、6、12、18(78週)および24(104週)ヶ月目に、動物番号の若いほうから10匹の適切な生存動物を対象として行った。

血液学的検査；

検査項目は以下のとおりであった。

赤血球数，白血球数，ヘモグロビン濃度(Hb)，ヘマトクリット値(HCT)，平均赤血球色素量，平均赤血球色素濃度，平均赤血球容積，血小板数，プロトロンビン時間(PT)，白血球分画，網状赤血球(RET)

また、計画屠殺時(1年および最終)に全動物の血液塗抹標本を作製した。可能な場合は瀕死動物についても屠殺直前に血液塗抹標本を作製した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

表 6. 血液学的検査(統計学的に有意差が認められた項目)

投与量	50ppm					250ppm					1500ppm				
	4	6	12	18	24	4	6	12	18	24	4	6	12	18	24
雄															
Hb					↑108										
HCT					↑108										
PT							^R ↑103					^R ↑104			
RET(%)														^R ↓84	
雌															
Hb														^R ↓96	
HCT														^R ↓97	

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの、

↑ : P≤0.05 (Dunnett 検定)，

^R↑ ^R↓ : P≤0.05, (Dunn Rank Sum 検定)

いずれの投与群においても雌雄ともに投与に関連した変化は認められなかった。

なお、観察された少数の項目における差は、その発生が一過性または偶発的で、しかもその差の程度も小さかったことを考慮すると、統計学的に有意であったとしても投与とは無関係と判断した。

血液生化学検査；

血液検査で採取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。

測定時期は血液学的検査と同様であった。

酵素

アラニンアミノトランスフェラーゼ，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ，アルカリホスファターゼ(ALP)，γ-グルタミルトランスフェラーゼ，

電解質

塩素(Cl)，カルシウム(Ca)，無機リン，カリウム(K)，ナトリウム

その他

総ビリルビン，総コレステロール(t-CHOL)，クレアチニン(CREA)，総蛋白(t-PROT)，トリグリセリド(TRIG)，尿素，アルブミン，グロブリン，グルコース，アルブミン/グロブリン比

なお、グロブリンおよびアルブミン/グロブリン比(A/G)を計算により求めた。

また、血清の外観に異常があった場合は記録した。

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

表 7. 血液生化学検査(統計学的に有意差が認められた項目)

投与量 検査月	50ppm					250ppm					1500ppm				
	4	6	12	18	24	4	6	12	18	24	4	6	12	18	24
雄															
TRIG											↓62	(78)	↑72	(83)	(120)
CREA								^R ↑106							
雌															
ALP	↓79														
K						↑107									
Cl											↓99				
Ca		↑103													
t-CHOL											↑122	^R ↑118	↑119	↑123	
TRIG	↑117	(112)	(133)	(148)	(66)	(104)	(102)	(105)	(108)	(101)	↑118	(111)	^R ↑130	(96)	(79)

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

() は有意差はないが参考値として記載

↑ ↓ : P ≤ 0.05, [▲] [◆] : P ≤ 0.01 (Dunnett 検定),

^R↑ : P ≤ 0.05, ^R▲ : P ≤ 0.01, ^R◆ : P ≤ 0.001 (Dunn Rank Sum 検定)

1500ppm 群では、最長で 18 ヶ月までの期間において、雄の平均トリグリセリド濃度がわずかに低く(6 ヶ月と 18 ヶ月には統計学的な有意差なし)、雌の平均総コレステロール濃度がわずかに高い状態となった。

その他に見られた変動は、用量に関連したものではなかったり、軽微な変化であることから、検体投与によるものとは考えられなかった。

申請者注)

尿検査 ;

慢性毒性群のすべての生存動物に対し、3(13~15 週)、6(25 週)および 12(51 週)ヶ月目に尿検査を行った。また、発がん性群については、番号の若いほうから 10 匹の適切な生存ラットに対し、3、6、12、18(76 もしくは 77 週)および 24(103 週)ヶ月目に尿検査を行った。

なお、一晚(約 16 時間)の採尿期間中は、飼料と水を与えなかった。

尿検査の項目は以下の通りであった。

目視 ; 外観

定量的検査 ; 屈折率, 尿量, pH

半定量的検査 ; 潜血, ビリルビン, グルコース, ケトン体, 蛋白, ウロビリノーゲン

顕微鏡検査 ; 沈渣

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

表 8. 尿検査(統計学的に有意差が認められた項目)

投与量	50ppm					250ppm					1500ppm				
	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
検査月															
	雄														
尿量			↑149					↑152							
屈折率										↑100					
	雌														
pH															*↑6.5

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの、
pH は実測値を記載(雌/18 ヶ月;対照群値-6.1)

↑ : P<0.05(Dunnnett 検定), *↑ : P<0.05(Dunn Rank Sum 検定)

統計学的に有意な差を示した項目がいくつか認められたが、その発生が一過性または偶発的であったことを考慮して、統計学的に有意であったとしても投与とは無関係と考えられた。従って、雌雄のいずれの投与群においても、投与に関連した変化は認められないものと判断した。

薬物動態学的検査 ;

試験 1 年目および 2 年目のそれぞれ最終日に検体投与群では雌雄各 5 匹、対照群では雌雄各 1 匹を選び、イソフルランを用いて麻酔後、後眼窩洞静脈叢から採血(約 500μL)した。採決前の一晩絶食は行わなかった。採血は午前 8 時頃に実施した(暗期終了時)。この血液サンプルの血漿を用いて、高速液体クロマトグラフィー/質量分析により親化合物および下記の主要代謝物*の濃度を測定した。

*ジヒドロ体[M1], N-脱メチル体[M5], ジヒドロ-N-脱メチル体[M6]

表 9. 血漿中における親化合物および主要代謝物の濃度(mg/L)

性別	雄			雌		
	用量(ppm)	50	250	1500	50	250
試験週	52 週					
親化合物	<VL			<VL		
[M1]	<VL			<VL	<0.518 [#]	0.818
[M5]	<VL		<0.652 [#]	<VL		2.231
[M6]	<VL		1.325	<VL	<0.510 [#]	3.188
試験週	104 週					
親化合物	<VL			<VL		
[M1]	<VL	<0.504 [#]	<0.547 [#]	<VL	<0.511 [#]	0.717
[M5]	<VL		0.803	<VL		2.075
[M6]	<VL	<0.533 [#]	1.614	<VL	<0.659 [#]	3.778

VL: 定量限界(有効とされた分析法による)-親化合物;0.1mg/L, 上記 3 代謝物;0.5mg/L

#;群内で定量限界以下の個体があったため、定量限界以下についてはそれぞれの定量限界をあてはめて平均値を算出した。

親化合物については、全ての用量群で定量限界未満(<0.1mg/L)であった。中用量および高用量群で、主要代謝物(M1, M5, M6)の濃度が投与量に関連して高まり、雄よりも雌の値のほうがわずかに高値を示した。

剖検；

慢性毒性群については試験 12 ヶ月 (373~375 日目) に、発がん性群については、試験 24 ヶ月 (737~750 日目) に生存していた全動物を、深麻酔下 (イソフルラン吸入) で放血により屠殺した。屠殺前に動物を一晩絶食させた。途中死亡動物および瀕死動物についても剖検した。

剖検では、外表面、すべての開口部、すべての主要臓器、すべての組織および体腔部を検査した。肉眼で確認できる有意な異常を記録し、サンプルを採取し、顕微鏡により検査した。

慢性毒性群 (1 年計画屠殺群) :

途中死亡および切迫屠殺例で観察された肉眼的所見は偶発的なもので、投与とは無関係なものと判断した。

最終屠殺例では 1500ppm 群の雌雄それぞれ 2 例に肝臓の腫大が認められた。この所見は、雌のみ小葉中心性肝細胞肥大と関連していた。これらのことから、雌で認められた肝臓の腫大は投与に関連した影響であると判断した。

それ以外の剖検所見は偶発的なもので、投与とは無関係と判断した。

発がん性群 (2 年計画屠殺群) :

表 10 (途中死亡) および表 11 (最終屠殺) に肝臓で認められた主な剖検所見を示す。

表 10. 肝臓における主な剖検所見 (途中死亡例) 頻度表

性別	雄				雌			
	0	50	250	1500	0	50	250	1500
用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
検査動物数	31	34	41	32	21	26	27	29
腫大	1	0	1	3	1	0	1	3
小葉紋理明瞭	0	0	1	4	0	0	2	6*
結節/腫瘤	0	0	0	1	0	0	0	0

* ; $p \leq 0.05$ (Fisher 検定, 申請者により実施)

肝臓の小葉紋理が明瞭となっている例がみられ、この所見は 4 匹中 3 匹の雄および 6 匹中 4 匹の雌で検鏡所見との関連があったため、投与に関連した影響であると判断した。途中死亡例では 1500ppm 雌雄群で肝臓腫大を示す動物数が増加した (統計学的有意差なし) が、検鏡所見と関連があったのは、雄のみであった。更に 1500ppm の雄では肝臓に結節/腫瘤が認められた。この所見は、検鏡において肝細胞腺腫と診断された。

表 11. 肝臓における主な剖検所見 (最終屠殺例) 頻度表

性別	雄				雌			
	0	50	250	1500	0	50	250	1500
用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
検査動物数	29	26	19	28	39	34	33	31
結節/腫瘤	0	2	0	0	1	0	1	4
腫大	0	0	0	1	0	0	0	1

(Fisher 検定, 申請者により実施)

最終屠殺例では 1500ppm 雌群において肝臓の結節／腫瘤の発生率が対照群よりも高かった。この所見は、検鏡所見（雌 3 匹の肝細胞腺腫および雌 1 匹の好酸性変異肝細胞巣）と関連があったため、投与に関連した影響であると判断した。更に同群雌 1 匹で認められた肝臓腫大は、検鏡所見の肝細胞肥大と関連があった。

その他に認められた剖検所見は用量に関連した増加はみられず偶発的な変化と考えられ、従って投与に関連した変化とは考えられなかった。

臓器重量；

慢性毒性群および発がん性群について、それぞれ投与期間終了時に体重および下記臓器の重量を測定した。

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

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表 12 および表 13 に示す。

慢性毒性群(1年計画屠殺群)：

表 12. 臓器重量 (有意差の認められた項目) (慢性毒性群)

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		50	250	1500	50	250	1500
肝臓	実重量						↑ ^c 122
	対体重比						▲114
	対脳重量比						↑ ^c 121
腎臓	実重量				↑115		▲116
	対脳重量比				↑114		↑115
副腎	実重量						↑120

↑ : p<0.05, ▲ : p<0.01 (Dunnett 検定)

↑^c : p<0.05 (Cochran and Cox 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

最終体重(1年後)は雌雄ともに対照群と投与群との間に差は認められなかった。

臓器重量は、雄においては測定した全ての臓器の重量に対照群と投与群で差は認められなかった。

一方雌では肝臓、腎臓および副腎重量に統計学的に有意な変動がみられた。まず肝臓では、1500ppm 群で実重量、対体重比および平均対脳重量比が対照群よりも統計学的に有意に高かった。これらの変化は投与に関連した影響であると考えられた。腎臓では 1500ppm 群および 50ppm 群で、実重量および対脳重量比が対照群よりも統計学的に有意に高かった。しかし、これらの増加は用量と関連がなく、検鏡所見とも無関係であったため、偶発的なもので投与とは無関係と判断した。さらに、副腎については 1500ppm で実重量の有意な増加が認められたが、対体重比および対脳重量比に有意な差を伴わず、検鏡所見とも無関係であったことから偶発的なもので投与とは無関係と判断した。

発がん性群(2年計画屠殺群) :

表 13. 臓器重量 (有意差の認められた項目) (発がん性群)

性別		雄			雌		
		50	250	1500	50	250	1500
肝臓	対体重比			↑108			↑109
	実重量			↓ ^a 63			
下垂体	対体重比			↓ ^a 63			
	対脳重量比			↓ ^a 64			

↑ : p≤0.05, ↑ : p≤0.01 (Dunnett 検定)

↓^a : p≤0.05 (Dunn Runk Sum 検定)

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

最終体重(2年後)は雌雄ともに対照群と投与群との間に差は認められなかった。

肝臓では、1500ppm 群の雌雄ともに対体重比が対照群よりも統計学的に有意に高かった。これらの変化は病理組織学的所見と関連があり、投与に関連した影響であると考えられた。これ以外の臓器重量の変化は関連する病理組織学的所見がない、および/または、用量との関連がなかったため、偶発的なものであり投与とは無関係と判断した。

申請者注)雄の 1500ppm 群において下垂体の実重量、対体重比および対脳重量比の全てにおいて対照群に比べ有意な低下が認められた。しかし個別別にみると以下の通り、1500ppm の下垂体重量はほぼ対照群値の範囲内であった。また病理組織学的検査においても、下垂体に関連する所見は認められないことから、投与に関連したものとは考えられなかった。

下垂体重量;対照群雄; 0.0082g~0.0991(0.02263±0.021795(SD))g

1500ppm 群雄; 0.0080g~0.0260(0.01426±0.004037(SD))g

病理組織学的検査;

剖検を実施した動物を対象として、以下の組織を採取した。

唾液腺, 食道, 胃, 小腸(十二指腸, 空腸, 回腸), 盲腸, 結腸, 直腸, 肝臓, 膵臓, 舌, 鼻腔, 咽頭, 喉頭, 気管, 肺, 心臓, 大動脈, 骨髄, 脾臓, 胸腺, 下顎リンパ節, 腸間膜リンパ節, 乳腺, 子宮(頸部を含む), 卵巣, 精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺, 膣, 腎臓, 膀胱, 副腎, 下垂体, 甲状線, 上皮小体, ハーダー氏腺, 眼窩外涙腺, 脳(3切片),

眼, 視神経, 坐骨神経, 脊髄(頸部, 胸部および腰部), 胸骨, 骨格筋, 肉眼的病変部および腫瘍, 関節面(大腿脛骨関節), 皮膚

これら採取した組織を 10%緩衝ホルマリン液中に固定し、眼、視神経、ハーダー腺、精巣上体および精巣は Davidson 液に固定した。固定後、パラフィン包埋(眼窩外涙腺、喉頭、咽頭および鼻腔を除く)した。ヘマトキシリン・エオジンで染色しスライド標本を作製した。なお、以下に示す組織についてはまず試験に関係する病理学者が検鏡した後、別の病理学者によってピアレビューが行われた。

慢性毒性群（1年計画屠殺群）：

- －投与期間中に屠殺または死亡した動物のすべての包埋した組織
- －対照群および1500ppm群の動物の包埋したすべての組織
- －50ppmおよび250ppmの動物の肝臓、肺、腎臓および甲状腺
- －全動物の肉眼で確認できる異常のみられた組織

発がん性群（2年計画屠殺群）：

- －投与期間中に屠殺または死亡した動物の包埋したすべての組織
- －全動物のすべての包埋した組織
- －全動物の肉眼で確認できる異常のみられた組織

非腫瘍性病変：

主な非腫瘍性病変の頻度については表にして、後頁(毒-69～72)に記載した。

慢性毒性群(1年計画屠殺群)：

投与に関連したと考えられる所見が肝臓および甲状腺に認められた。

肝臓では1500ppm群の雌雄において、好酸性変異肝細胞巢の発生率の統計学的に有意な増加がみられ、雌のみに軽微～軽度の肝細胞肥大および軽微～中等度の肝細胞大空胞化の発生率の統計学的に有意な増加が観察された。更に軽微～軽度の肝単細胞壊死および軽微な肝細胞褐色色素沈着の発生率にわずかな増加が雌雄でみられたが、統計学的な有意差は伴わなかった。250ppm群では雄において、好酸性変異肝細胞巢の発生率がわずかに増加したが、対照群に比べ統計学的な有意差を伴わなかった。50ppm群では雌雄ともに肝臓について対照群との差は認められなかった。

甲状腺では、1500ppm群の雌雄でコロイド変化[‡]の発生率の増加が統計学的有意差を伴って認められ、更に雄1匹に極わずかな濾胞細胞肥大が認められた。250ppm群では、雄1匹に極わずかな濾胞細胞肥大が認められた。50ppm群の甲状腺には、投与に関連した所見は観察されなかった。

12ヶ月慢性毒性試験段階に観察された上記以外のすべての病理組織学的変化は、発生率が低く、および/または、用量との関連性が見られなかったため、投与とは無関係と判断した。

次表に肝臓および甲状腺でみられた主な所見を示す。

[‡]:斑点状、顆粒状あるいは凝集したコロイドを示す。

表 14. 肝臓および甲状腺における主な病理組織学的所見(慢性毒性群)

性	雄				雌			
	0	50	250	1500	0	50	250	1500
用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
好酸性変異肝細胞巢								
軽微	4	3	7	9	1	0	0	7
軽度	0	1	0	0	0	0	0	0
合計	4	4	7	9*	1	0	0	7**
肝細胞肥大: 小葉中心性								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	5
軽度	0	0	0	0	0	0	0	2
合計	0	0	0	0	0	0	0	7**
肝細胞大空胞化: 主に小葉中心性								
軽微	1	0	0	0	0	0	0	3
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
合計	1	0	0	0	0	0	0	5**
肝単細胞壊死: 限局性								
軽微	1	1	2	4	0	0	0	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
合計	1	1	2	4	0	0	0	2
肝細胞褐色色素沈着: 限局性								
軽微	1	0	0	2	0	0	0	3
合計	1	0	0	2	0	0	0	3
甲状腺/コロイド変化#								
軽微	1	3	4	6	0	0	0	3
軽度	2	1	1	3	0	0	0	1
合計	3	4	5	9**	0	0	0	4*
甲状腺/濾胞細胞肥大: びまん性								
軽微	0	0	1	1	0	0	0	0
合計	0	0	1	1	0	0	0	0

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Fisher 検定; 申請者により実施)

#; 斑点状、顆粒状あるいは凝集したコロイドを示す。

発がん性群(2年計画屠殺群)：

投与に関連したと考えられる所見が肝臓、甲状腺および膀胱に認められた。

肝臓では1500ppm群の雌雄において、好酸性変異肝細胞巢の発生率の上昇が観察された。さらに両性ともに軽微から軽度の肝細胞肥大や肝細胞褐色色素沈着の発生率の上昇もみられ、いずれも統計学的に有意であった。また雌において、軽微から中等度の肝細胞の大空胞化および軽微から軽度の肝単細胞壊死の発生率の上昇が統計学的有意差を伴ってみられた。250ppm群では肝細胞肥大の発生率が雌雄で、好酸性変異肝細胞巢と肝細胞大空胞化の発生率が雌で統計学的有意差を伴って増加した。また、雌では肝細胞褐色色素沈着の発生率が上昇したが、統計学的に有意な差は認められなかった。50ppm群では雌雄ともに肝臓について対照群との差は認められなかった。

甲状腺では、1500ppm群の雌雄でコロイド変化[#]の発生率に統計学的に有意な上昇が観察された。さらに濾胞細胞の肥大の発生率のわずかな上昇がみられたが、この発生率の上昇には統計学的な有意差を伴わなかった。

250ppm群および50ppm群では甲状腺に、検体の投与に関連した非腫瘍性所見は見られなかった。

膀胱では1500ppm群の雌においてびまん性移行上皮過形成の発生率の上昇、同群雌雄で尿路上皮下单核細胞浸潤の発生率の上昇がみられたがいずれも統計学的有意差を伴ったものではなかった。250ppm群および50ppm群では膀胱に、検体の投与に関連した非腫瘍性所見は見られなかった。

2年間の発がん性試験に供試した動物に見られた上記以外の病理組織学的変化は、たとえ統計学的に有意であったとしても、発生率の低さ、および/または、用量との関連性が無いことから、検体の投与とは無関係と判断した。

次表に肝臓、甲状腺および膀胱でみられた主な所見を示す。

#;斑点状、顆粒状あるいは凝集したコロイドを示す。

表 15-1. 肝臓における主な病理組織学的所見(発がん性群-全動物)

性	雄				雌			
用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
好酸性変異肝細胞巢								
軽微	18	19	27	31	18	12	24	36
軽度	3	1	1	10	0	2	5	10
中等度	0	0	2	2	0	0	0	0
合計	21	20	30	43***	18	14	29*	46***
肝細胞肥大：小葉中心性								
軽微	0	1	9	20	0	0	8	27
軽度	0	0	0	4	0	0	0	22
合計	0	1	9**	24***	0	0	8**	49***
肝細胞大空胞化：主に小葉中心性								
軽微	0	0	3	3	0	0	6	16
軽度	0	0	0	0	0	0	2	12
中等度	0	0	0	0	0	0	0	2
合計	0	0	3	3	0	0	8**	30***
肝単細胞壊死：限局性								
軽微	2	3	1	4	1	2	1	6
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
合計	2	3	1	4	1	2	1	7*
肝細胞褐色色素沈着：限局性								
軽微	0	0	0	5	6	4	13	28
軽度	0	0	0	0	0	0	0	7
中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
合計	0	0	0	5*	7	4	13	35***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ (Poly-K 検定)

表 15-2. 甲状腺における主な病理組織学的所見(発がん性群-全動物)

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250
動物数	58	59	55	59	59	59	60	60
コロイド変化 [#]								
軽微	13	17	10	21	10	12	10	22
軽度	10	6	9	15	1	1	1	3
中等度	2	0	3	5	0	2	0	0
合計	25	23	22	41**	11	15	11	25**
濾胞細胞肥大：びまん性								
軽微	1	1	2	6	1	0	1	4
合計	1	1	2	6	1	0	1	4

**： p≤0.01 (Poly-K 検定)

#：斑点状、顆粒状あるいは凝集したコロイドを示す。

表 15-3. 膀胱における主な病理組織学的所見(発がん性群-全動物)

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250
動物数	58	57	58	60	58	57	59	58
移行上皮過形成：びまん性								
軽微	2	2	1	2	5	7	4	5
軽度	2	0	0	1	0	0	1	5
中等度	1	0	0	0	0	0	0	0
合計	5	2	1	3	5	7	5	10
尿路上皮下单核細胞浸潤：限局性								
軽微	4	9	8	13	7	10	12	7
軽度	2	0	0	0	2	4	3	11
合計	6	9	8	13	9	14	15	18

(Poly-K 検定)

腫瘍性病変：

腫瘍性病変の頻度については表にして、後頁(毒-73~83)に記載した。

慢性毒性群 (1年計画屠殺群)：

投与に関連した腫瘍性所見は観察されなかった。

発がん性群(2年計画屠殺群)：

1500ppm 群の雌雄において、肝細胞腺腫の発生率が対照群よりも高かった(雌のみ $p < 0.01$)。この所見は、発生率が当該試験施設の背景対照データ*の範囲から外れていたため、検体の投与に関連したものであると判断した。

次表にその発生率を示す。

表 16. 肝臓における腫瘍性病変(発がん性群-全動物)

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60
肝細胞腺腫	0	2	2	4	0	2	2	8**	
肝細胞癌	0	0	0	0	1	0	0	0	

**： $p < 0.01$ (Poly-K 検定)

*申請者注；肝細胞腺腫背景データ(2000年~2009年当該試験施設で実施；12試験の対照群)

雄；2.3% (705例中16例) 範囲；0%~5.0%

雌；1.6% (705例中11例) 範囲；0%~5.0%

上記以外のすべての腫瘍性所見は、偶発的なもので検体投与とは無関係と判断した。

以上の結果から、ラットに本検体を1年間あるいは2年間混餌投与した影響として、以下の所見が認められた。

1500ppm 群では雌雄ともに一般状態不良(被毛の汚れ等)がみられ、雄では体重増加にわずかな抑制が認められた。また眼科学的検査において、紅涙の発生数の増加(1年)が雄で認められた。剖検では雌雄共に、肝臓腫大(1年は雌のみ)や肝臓の小葉紋理明瞭(2年)となり、雌では肝臓の結節/腫瘤の頻度の増加(2年)が確認された。臓器重量では1年では雌で、2年目では雌雄で肝臓重量に統計学的に有意な増加がみられた。病理組織学的検査においては、1年目では肝臓に好酸性変異肝細胞巣が雌雄で、肝細胞肥大および肝細胞大空胞化が雌で統計学的に有意差を伴った頻度の増加がみられた。また甲状腺ではコロイド変化の頻度に統計学的に有意な増加が雌雄共にみられた。2年目では肝臓に好酸性変異肝細胞巣、肝細胞肥大、肝細胞褐色色素沈着が雌雄で、肝単細胞壊死が雌で統計学的有意差を伴った頻度の増加がみられた。また甲状腺ではコロイド変化の頻度に雌雄ともに統計学的に有意な増加が認められた。腫瘍性病変として肝細胞腺腫の発生頻度の増加が雌雄ともに認められた。

250ppm でみられた所見は病理組織学的検査で認められた所見に限られ、1年目には統計学的に有意差を伴った頻度の増加は認められなかったが、2年目では肝細胞肥大が雌雄で、好酸性変異肝細胞巣および肝細胞大空胞化が雌で統計学的有意差を伴った頻度の増加がみられた。

250ppm 以下では腫瘍の種類、腫瘍性病変の発生頻度および臓器分布に検体投与群と対照群の間に差は認められなかった。

これらのことから、本試験条件下において、検体の1年間投与による無毒性量 (NOAEL) は、飼料中濃度が雌雄ともに 250ppm (雄: 11.5mg/kg/日, 雌: 15.8mg/kg/日) であると判断し、2年間投与による総合的な無毒性量 (NOAEL) は、飼料中濃度が雌雄ともに 50ppm (雄: 1.96mg/kg/日, 雌: 2.81mg/kg/日) と判断した。

なお、肝細胞線腫の発生率の上昇が 1500ppm で認められたことから、腫瘍性変化に関する無影響量 (NOEL) は雌雄ともに 250ppm (雄: 9.86mg/kg/日, 雌: 14.2mg/kg/日) であった。

主な非腫瘍性病変(慢性毒性群)

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	10	10	10	10	10	10	10	10
一 年	肝臓	10	10	10	10	10	10	10	10
	好酸性変異肝細胞巢	4	4	7	9*	1	0	0	7**
	好塩基性変異肝細胞巢	1	1	2	0	0	0	0	0
	明細胞型変異肝細胞巢	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞肥大:小葉中心性	0	0	0	0	0	0	0	7**
	肝細胞大空胞化:主に小葉中心性	1	0	0	0	0	0	0	5**
	肝単細胞壊死:限局性	1	1	2	4	0	0	0	2
	肝細胞褐色色素沈着:限局性	1	0	0	2	0	0	0	3
	甲状腺	10	10	10	10	10	10	10	10
	コロイド変化	3	4	5	9*	0	0	0	4*
	濾胞細胞肥大:びまん性	0	0	1	1	0	0	0	0
	C細胞過形成:びまん性	6	5	8	4	6	6	4	8
	C細胞過形成:限局性	0	2	3	3	3	1	0	2

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Fisher 検定, 申請者により実施)

主な非腫瘍性病変(発がん性群)-1

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	31	34	41	32	21	26	27	29
途 中 死 亡 動 物	肝臓	31	34	41	32	21	26	27	29
	好酸性変異肝細胞巢	6	7	12	16	2	3	10	21***
	好塩基性変異肝細胞巢:びまん性	2	2	0	2	1	2	1	1
	好塩基性変異肝細胞巢:虎斑状	16	13	22	17	11	14	17	15
	明細胞型変異肝細胞巢	6	6	16	8	5	3	7	4
	再生性肝細胞過形成	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝細胞肥大:小葉中心性	0	1	6	14***	0	0	2	22***
	肝細胞大空胞化:主に小葉中心性	0	0	2	2	0	0	4	10**
	肝細胞大空胞化:主に門脈周囲	2	3	2	4	4	4	7	12
	肝単細胞壊死:限局性	2	2	0	2	1	2	1	6
	肝細胞褐色色素沈着:限局性	0	0	0	3	2	2	5	14**
	甲状腺	29	33	36	31	20	25	27	29
	コロイド変化	5	6	12	18**	2	7	3	12*
	濾胞細胞過形成:限局性	1	0	0	0	1	0	0	0
	濾胞細胞肥大;びまん性	0	0	0	4*	0	0	1	3
	濾胞細胞色素沈着	1	3	1	3	1	2	2	3
	C細胞過形成:びまん性	10	13	15	18	11	13	19	23
	C細胞過形成:限局性	5	2	3	4	6	4	4	1
	下垂体	31	34	41	32	20	26	27	29
	前葉過形成:限局性	6	10	11	5	3	4	7	9
前葉過形成:びまん性	0	1	1	1	1	3	2	3	
中間部過形成:限局性	1	0	1	1	1	0	1	1	
膀胱	29	31	39	32	19	24	26	27	
移行上皮過形成:びまん性	3	2	1	1	3	3	1	8	
移行上皮過形成:限局性	0	0	0	1	0	0	0	0	
尿路上皮下单核細胞浸潤:限局性	3	3	7	7	3	5	8	12	
腎臓	31	34	41	32	21	26	27	29	
好塩基性尿細管	1	6	7	3	1	7	9	4	
移行上皮細胞鉍質沈着	7	13	12	11	12	20	22	20	
骨格筋	31	34	41	32	21	25	27	28	
筋原線維萎縮/変性:限局性	24	28	32	29	14	17	26*	27*	
下顎リンパ節	31	34	41	32	21	26	27	28	
形質細胞増多	28	32	36	29	17	25	26	28*	

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 (Poly-K 検定)

主な非腫瘍性病変(発がん性群)-2

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	29	26	19	28	39	34	33	31
最終屠殺動物	肝臓	29	26	19	28	39	34	33	31
	好酸性変異肝細胞巢	15	13	18**	27***	16	11	19	25***
	好塩基性変異肝細胞巢:びまん性	2	2	2	3	2	4	2	1
	好塩基性変異肝細胞巢:虎斑状	20	13	12	23	29	29	28	24
	明細胞型変異肝細胞巢	8	5	6	12	3	2	5	6
	のう胞	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝細胞肥大:小葉中心性	0	0	3*	10***	0	0	6**	27***
	肝細胞大空胞化:主に小葉中心性	0	0	1	1	0	0	4*	20***
	肝細胞大空胞化:主に門脈周囲	5	3	2	0	20	21	13	10
	肝単細胞壊死:限局性	0	1	1	2	0	0	0	1
	肝細胞褐色色素沈着:限局性	0	0	0	2	5	2	8	21***
	甲状腺	29	26	19	28	39	34	33	31
	コロイド変化	20	17	10	23	9	8	8	13
	濾胞細胞過形成:限局性	0	0	0	1	0	0	2	2
	濾胞細胞肥大:びまん性	1	1	2	2	1	0	0	1
	濾胞細胞色素沈着	12	20	13	13	8	8	11	9
	C細胞過形成:びまん性	29	22	16	26	35	33	33	27
	C細胞過形成:限局性	6	9	8	9	11	13	11	9
	下垂体	29	26	19	28	38	34	33	31
	前葉過形成:限局性	12	12	5	9	13	8	10	10
	前葉過形成:びまん性	3	2	2	2	11	6	6	6
	中間部過形成:限局性	1	0	3	3	1	1	2	3
	中間部過形成:びまん性	0	0	0	0	0	0	0	1
	膀胱	29	26	19	28	39	33	33	31
	移行上皮過形成:びまん性	2	0	0	2	2	4	4	2
	移行上皮過形成:限局性	0	0	1	0	0	0	0	0
	尿路上皮下単核細胞浸潤:限局性	3	6	1	6	6	9	7	6
腎臓	29	26	19	28	39	34	33	31	
好塩基性尿細管	4	2	2	2	11	5	9	9	
移行上皮細胞鉍質沈着	13	14	12	8	35	28	28	26	
骨格筋	29	26	19	28	39	34	33	31	
筋原線維萎縮/変性:限局性	29	26	19	28	39	33	32	31	
下顎リンパ節	29	26	19	28	39	34	33	31	
形質細胞増多	27	26	19	27	39	33	32	31	

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 (Poly-K検定)

主な非腫瘍性病変(発がん性群)-3

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	肝臓	60	60	60	60	60	60	60	60
	好酸性変異肝細胞巢	21	20	30	43***	18	14	29*	46***
	好塩基性変異肝細胞巢:びまん性	4	4	2	5	3	6	3	2
	好塩基性変異肝細胞巢:虎斑状	36	26	34	40	40	43	45	39
	明細胞型変異肝細胞巢	14	11	22	20	8	5	12	10
	再生性肝細胞過形成	1	0	0	0	0	0	0	0
	のう胞	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝細胞肥大:小葉中心性	0	1	9**	24***	0	0	8**	49***
	肝細胞大空胞化:主に小葉中心性	0	0	3	3	0	0	8**	30***
	肝細胞大空胞化:主に門脈周囲	7	6	4	4	24	25	20	22
	肝単細胞壊死:限局性	2	3	1	4	1	2	1	7*
	肝細胞褐色色素沈着:限局性	0	0	0	5*	7	4	13	35***
	甲状腺	58	59	55	59	59	59	60	60
	コロイド変化	25	23	22	41**	11	15	11	25**
	濾胞細胞過形成:限局性	1	0	0	1	1	0	2	2
	濾胞細胞肥大:びまん性	1	1	2	6	1	0	1	4
	濾胞細胞色素沈着	13	23	14	16	9	10	13	12
	C細胞過形成:びまん性	39	35	31	44	46	46	52	50
	C細胞過形成:限局性	11	11	11	13	17	17	15	10
	下垂体	60	60	60	60	58	60	60	60
	前葉過形成:限局性	18	22	16	14	16	12	17	19
	前葉過形成:びまん性	3	3	3	3	12	9	8	9
	中間部過形成:限局性	2	0	4	4	2	1	3	4
	中間部過形成:びまん性	0	0	0	0	0	0	0	1
	膀胱	58	57	58	60	58	57	59	58
	移行上皮過形成:びまん性	5	2	1	3	5	7	5	10
	移行上皮過形成:限局性	0	0	1	1	0	0	0	0
	尿路上皮下単核細胞浸潤:限局性	6	9	8	13	9	14	15	18
腎臓	60	60	60	60	60	60	60	60	
好塩基性尿細管	7	9	10	8	15	15	20	16	
移行上皮細胞鉍質沈着	20	27	24	19	47	48	50	46	
骨格筋	60	60	60	60	60	59	60	59	
筋原線維萎縮/変性:限局性	53	54	51	57	53	50	58	58	
下顎リンパ節	60	60	60	60	60	60	60	59	
形質細胞増多	55	58	55	56	56	58	58	59	

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 (Poly-K 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

腫瘍性病変(慢性毒性群)

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	10	10	10	10	10	10	10	10
— 年	乳腺	9	1	0	9	9	0	1	10
	線維腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	下垂体	10	1	1	10	10	1	2	10
	前葉腺腫(B)	0	0	1	0	1	1	0	1
	胸腺	10	2	0	10	9	0	1	10
	胸腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	10	10	10	10	10	10	10	10
	C細胞腺腫(B)	0	0	1	0	0	1	0	0
	子宮	/	/	/	/	10	5	2	10
	子宮内膜間質ポリープ(B)	/	/	/	/	4	2	0	1
	耳	0	0	0	1	0	0	0	0
	良性シュワン細胞腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮下	0	0	1	2	0	0	0	0
	脂肪腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	造血組織	10	1	1	10	10	0	1	10
	リンパ腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0

(Fisher 検定, 申請者により実施)

M: 悪性腫瘍, B: 良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-1

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	31	34	41	32	21	26	27	29
途中死亡動物	副腎	31	34	40	32	21	26	27	29
	皮質腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	1	0
	良性褐色細胞腫(B)	0	0	0	0	0	1	1	0
	脳	31	34	41	32	21	26	27	29
	良性髄膜腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	悪性星状膠細胞腫(M)高グレード	0	0	0	1	0	0	0	1
	悪性星状膠細胞腫(M)低グレード	1	0	0	0	0	0	0	0
	稀突起膠細胞腫(M)低グレード	1	0	0	0	0	0	0	0
	十二指腸	22	29	33	27	17	23	26	28
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	食道	31	34	41	32	21	26	27	29
	線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	眼	30	34	41	32	21	25	27	29
	平滑筋腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	良性シュワン細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	ハーダー氏腺	31	34	41	32	21	26	27	29
	扁平上皮癌(M) (原発不明)	0	0	0	0	0	0	1	0
	心臓	31	34	41	32	21	26	27	29
	良性シュワン細胞腫(B)	2	1	1	1	0	1	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	回腸	18	26	29	25	18	21	25	29
	平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	空腸	22	26	32	27	18	20	26	26
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	線維腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	31	34	41	32	21	26	27	29
	移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	脂肪肉腫(M)	0	0	0	1	1	0	0	0
肝臓	31	34	41	32	21	26	27	29	
肝細胞腺腫(B)	0	0	2	3	0	1	0	3	
肺	31	34	41	32	21	26	27	29	
細気管支/肺胞腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
乳腺	24	27	31	24	21	25	27	29	
腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
線維腺腫(B)	1	0	0	0	7	8	8	5	
線維腺腫(B)(異型細胞を伴う)	0	0	0	0	2	4	3	3	
腺癌(M)	0	0	0	0	1	2	1	2	
腺癌(M)(線維腺腫内に発生)	0	0	0	0	0	2	0	1	
混合腫瘍(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
視神経	31	34	41	32	21	25	27	28	
扁平上皮癌(M) (原発不明)	0	0	0	1	0	0	0	0	
卵巣	/	/	/	/	21	26	27	29	
良性セルトリ型細胞腫(B)	/	/	/	/	0	1	2	0	
管間質腺腫(B)	/	/	/	/	0	0	2	0	

Poly-K 検定

M:悪性腫瘍, B:良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-2

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	31	34	41	32	21	26	27	29
途中死亡動物	膵臓	27	31	37	31	20	25	27	29
	腺房細胞腺腫(B)	0	0	1	2	0	0	0	0
	腺房-膵島細胞腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	膵島細胞腺腫(B)	1	3	5	2	0	0	1	1
	膵島細胞癌(M)	1	1	0	0	0	0	1	0
	上皮小体	31	32	39	32	17	24	27	27
	腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	0	1
	下垂体	31	34	41	32	20	26	27	29
	前葉腺腫(B)	10	12	11	15	13	18	17	21
	前葉癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	前立腺	31	34	39	32	/	/	/	/
	腺腫(B)	0	0	1	0	/	/	/	/
	唾液腺	30	34	41	32	21	26	27	28
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	精囊	31	34	41	32	/	/	/	/
	悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	0	/	/	/	/
	骨格筋	31	34	41	32	21	25	27	28
	顆粒細胞腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮膚	31	33	41	32	21	26	27	29
	良性基底細胞腫瘍(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	良性毛包腫瘍(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫(B)	1	0	2	1	0	0	0	1
	乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮脂腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	悪性基底細胞腫瘍(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脊髄	31	34	41	32	21	26	27	29
	悪性星状膠細胞腫(M)高グレード	0	0	0	0	0	1	0	0
	稀突起膠細胞腫(M)低グレード	0	0	0	1	0	0	0	0
	脾臓	31	34	40	32	21	25	26	29
	血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	胃	31	34	38	32	21	26	27	29
線維肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
精巣	31	34	41	32	/	/	/	/	
間質(ライディッヒ)細胞腫(B)	0	1	0	0	/	/	/	/	
胸腺	30	33	40	31	20	23	27	29	
良性胸腺腫(B)	0	1	0	0	1	2	1	1	
甲状腺	29	33	36	31	20	25	27	29	
C細胞腺腫(B)	3	7	2	3	3	1	1	4	
C細胞癌(M)	1	0	0	1	0	0	0	0	
舌	31	34	41	32	21	26	27	29	
扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0	

(Poly-K 検定)

M: 悪性腫瘍, B: 良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-3

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	31	34	41	32	21	26	27	29
途中死亡動物	子宮	/	/	/	/	21	26	27	29
	子宮内膜間質ポリープ(B)	/	/	/	/	2	2	4	7
	血管肉腫(M)	/	/	/	/	0	0	1	1
	平滑筋肉腫(M)	/	/	/	/	0	0	0	1
	悪性シュワン細胞腫(M)	/	/	/	/	1	0	1	1
	腫	/	/	/	/	21	26	27	29
	悪性シュワン細胞腫(M)	/	/	/	/	0	1	1	0
	造血組織	31	34	41	32	21	26	27	29
	組織球肉腫(M)	1	0	1	1	0	0	1	1
	顆粒性大リンパ白血病(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	リンパ腫(M)	0	0	0	1	0	1	0	0
	耳	0	2	0	0	0	0	0	0
	良性シュワン細胞腫(B)	0	2	0	0	0	0	0	0
	皮下組織	4	3	5	8	2	0	6	2
	線維腫(B)	1	1	0	0	0	0	0	0
	脂肪腫(B)	1	0	0	2	0	0	0	0
	脊索腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	線維肉腫(M)	1	3	4	3	1	0	3	1
	脂肪肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	骨肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肉腫(M)鑑別診断できず	0	0	0	2	1	0	1	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	1	0	0	1	1
	尾	2	3	1	0	0	0	1	0
	乳頭腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腹腔内	0	0	0	3	0	0	1	1
	脂肪腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	線維肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	胸腔内	0	1	0	0	0	0	0	1
	脂肪腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
ジンバル腺	1	0	0	1	0	0	0	0	
扁平上皮癌(M)	1	0	0	1	0	0	0	0	
骨	0	4	2	1	0	0	0	1	
骨腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
骨肉腫(M)	0	3	2	1	0	0	0	1	
腸間膜	0	2	0	0	0	0	0	2	
悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
顎	0	0	0	0	0	1	0	0	
扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
神経	0	0	1	0	0	0	0	0	
悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	

Poly-K 検定

M: 悪性腫瘍, B: 良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-4

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	29	26	19	28	39	34	33	31
最終計 画屠殺動物	副腎	29	26	19	28	39	34	33	31
	皮質腺腫(B)	0	0	0	1	0	2	2	0
	良性褐色細胞腫(B)	5	2	0	1	0	0	0	0
	脳	29	26	19	28	39	34	33	31
	悪性星状膠細胞腫(M)低グレード*	1	1	0	0	0	0	0	0
	稀突起膠細胞腫(M)低グレード*	0	0	0	0	0	0	1	0
	精巣上体	29	26	19	28	/	/	/	/
	中皮腫(M)	2	0	0	0	/	/	/	/
	ハーダー氏腺	29	26	19	28	39	34	33	31
	扁平上皮癌(M) (原発不明)	1	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	29	26	19	28	39	34	33	31
	良性シュワン細胞腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	回腸	29	26	19	28	39	34	33	31
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	空腸	29	26	19	28	39	34	33	31
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	5	0	0	0
	線維腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	腎臓	29	26	19	28	39	34	33	31
	脂肪腫(B)	1	0	0	2	0	0	0	0
	脂肪肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝臓	29	26	19	28	39	34	33	31
	胆管腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫(B)	0	2	0	1	0	1	2	5*
	肝細胞癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肺	29	26	19	28	39	34	33	31
	細気管支/肺胞腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	細気管支/肺胞腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	29	26	19	28	39	34	33	31
血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	1	0	0	
乳腺	26	25	17	24	39	34	33	31	
脂肪腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	2	0	
線維腺腫(B)	0	0	0	0	11	14	8	8	
線維腺腫(B) (異型細胞を伴う)	0	0	0	0	9	10	5	4	
混合腫瘍(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
腺癌(M)	0	0	0	0	3	6	5	6	
腺癌(M) (線維腺腫内に発生)	0	0	0	0	3	1	0	2	
混合腫瘍(M)	0	0	0	0	1	0	1	0	

*: p<0.05 (Poly-K 検定)

M: 悪性腫瘍, B: 良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-5

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	29	26	19	28	39	34	33	31
最終計画屠殺動物	卵巣	/	/	/	/	39	34	33	31
	良性顆粒膜細胞腫 (B)	/	/	/	/	4	2	0	0
	混合型性索-間質腫瘍 (B)	/	/	/	/	1	0	0	0
	良性セルトリ細胞腫 (B)	/	/	/	/	0	0	0	1
	良性セルトリ型細胞腫 (B)	/	/	/	/	2	1	0	0
	管間質腺腫 (B)	/	/	/	/	1	0	0	0
	悪性顆粒膜細胞腫 (M)	/	/	/	/	1	0	0	0
	脾臓	29	26	19	28	39	34	33	31
	腺房細胞腺腫 (B)	7	4	2	3	0	0	0	0
	腺房-膵島細胞腺腫 (B)	1	0	1	1	2	2	0	2
	膵島細胞腺腫 (B)	3	2	3	4	1	3	3	1
	膵島細胞癌 (M)	3	1	0	1	0	1	1	2
	上皮小体	28	26	17	25	38	32	32	27
	腺腫 (B)	1	0	1	0	0	0	1	0
	下垂体	29	26	19	28	38	34	33	31
	前葉腺腫 (B)	8	14*	7	5	19	23	20	19
	中間部腺腫 (B)	1	1	0	0	1	0	0	1
	前立腺	29	25	19	28	/	/	/	/
	腺腫 (B)	2	1	0	0	/	/	/	/
	骨格筋	29	26	19	28	39	34	33	31
	顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮膚	29	26	19	28	39	34	33	31
	良性毛包腫瘍 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫 (B)	2	1	2	4	0	1	1	2
	脾臓	29	26	19	28	39	34	33	31
	血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	血管肉腫 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	29	26	19	28	/	/	/	/
	間質(ライディッヒ)細胞腫 (B)	1	1	0	1	/	/	/	/
	中皮腫 (M)	0	1	0	0	/	/	/	/
胸腺	29	26	19	27	39	33	32	31	
良性胸腺腫 (B)	2	0	2	0	2	3	1	3	
甲状腺	29	26	19	28	39	34	33	31	
C細胞腺腫 (B)	3	1	1	3	4	4	2	5	
濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
C細胞癌 (M)	1	0	0	0	3	0	1	2	
濾胞細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
子宮	/	/	/	/	39	34	33	31	
子宮内膜間質ポリープ (B)	/	/	/	/	12	4	11	10	
良性顆粒細胞腫 (B)	/	/	/	/	0	1	1	0	
子宮内膜腺癌 (M)	/	/	/	/	1	0	0	0	
悪性シュワン細胞腫 (M)	/	/	/	/	0	0	0	1	
扁平上皮癌 (M)	/	/	/	/	0	0	0	1	

(Poly-K 検定)

M: 悪性腫瘍, B: 良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-6

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	29	26	19	28	39	34	33	31
最終計画屠殺動物	腫	/	/	/	/	39	33	33	31
	良性顆粒細胞腫(B)	/	/	/	/	2	0	0	1
	造血組織	29	26	19	28	39	34	33	31
	リンパ腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	耳	0	0	0	1	0	0	0	0
	良性シュワン細胞腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮下組織	2	2	5	4	0	1	1	4
	線維腫(B)	1	0	0	1	0	0	0	1
	脂肪腫(B)	0	1	1	0	0	0	0	1
	線維肉腫(M)	1	0	4	3	0	0	1	2
	脂肪肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	ジンバル腺	0	0	0	1	0	0	0	0
	扁平上皮癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	骨	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腹膜	0	0	0	0	0	0	0	1
	中皮腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	鼻腔	0	0	0	0	0	0	1	0
	歯源性線維腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	横隔膜	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	血管	0	1	0	0	0	0	0	0
C細胞癌*(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	所見/検査数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	副腎	60	60	59	60	60	60	60	60
	皮質腺腫(B)	0	0	0	1	2	2	3	0
	良性褐色細胞腫(B)	5	2	0	1	0	1	1	0
	脳	60	60	60	60	60	60	60	60
	良性髄膜腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	悪性星状膠細胞腫(M)高グレード*	0	0	0	1	0	0	0	1
	悪性星状膠細胞腫(M)低グレード*	2	1	0	0	0	0	0	0
	稀突起膠細胞腫(M)低グレード*	1	0	0	0	0	0	1	0
	十二指腸	51	55	52	55	56	57	59	59
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣上体	60	60	60	60	/	/	/	/
	中皮腫(M)	2	0	0	0	/	/	/	/
	食道	60	60	60	60	60	60	60	60
	線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	眼	59	60	60	60	60	59	60	60
	平滑筋腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
良性シュワン細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	

(Poly-K 検定)

M:悪性腫瘍, B:良性腫瘍

*:甲状腺のスライドに原発腫瘍としてのC細胞癌なし

腫瘍性病変(発がん性群)-7

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	ハーダー氏腺	60	60	60	60	60	60	60	60
	扁平上皮癌(M) (原発不明)	1	0	0	0	0	0	1	0
	心臓	60	60	60	60	60	60	60	60
	良性シュワン細胞腫(B)	2	1	2	1	0	1	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	0
	回腸	47	52	48	53	57	55	58	60
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	空腸	51	52	51	55	57	54	59	57
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	5	1	0	0
	線維腺癌(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
	腎臓	60	60	60	60	60	60	60	60
	脂肪腫(B)	1	0	0	2	0	0	0	0
	移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	脂肪肉腫(M)	0	0	1	1	1	0	0	0
	肝臓	60	60	60	60	60	60	60	60
	胆管腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫(B)	0	2	2	4	0	2	2	8**
	肝細胞癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肺	60	60	60	60	60	60	60	60
	細気管支/肺胞腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	0	0
	細気管支/肺胞腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	60	60	59	60	60	58	60	59
	血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	1	0	0
	乳腺	50	52	48	48	60	59	60	60
	脂肪腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	2	1
	線維腺腫(B)	1	0	0	0	18	22	16	13
	線維腺腫(B) (異型細胞を伴う)	0	0	0	0	11	14	8	7
	混合腫瘍(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
腺癌(M)	0	0	0	0	4	8	6	8	
腺癌(M) (線維腺腫内に発生)	0	0	0	0	3	3	0	3	
混合腫瘍(M)	0	0	0	0	1	0	2	0	
視神経	60	60	60	60	60	59	60	59	
扁平上皮癌(M) (原発不明)	0	0	0	1	0	0	0	0	
卵巣	/	/	/	/	60	60	60	60	
良性顆粒膜細胞腫(B)	/	/	/	/	4	2	0	0	
混合型性索-間質腫瘍(B)	/	/	/	/	1	0	0	0	
良性セルトリ細胞腫(B)	/	/	/	/	0	0	0	1	
良性セルトリ細胞腫(B)	/	/	/	/	2	2	2	0	
管間質腺腫(B)	/	/	/	/	1	0	2	0	
悪性顆粒膜細胞腫(M)	/	/	/	/	1	0	0	0	

** : p<0.01 (Poly-K 検定)

M: 悪性腫瘍, B: 良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-8

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	60	60	60	60	60	60	60	60
動物	脾臓	56	57	56	59	59	59	60	60
	腺房細胞腺腫(B)	7	4	3	5	0	0	0	0
	腺房-膵島細胞腺腫(B)	1	0	2	1	2	2	0	2
	膵島細胞腺腫(B)	4	5	8	6	1	3	4	2
	膵島細胞癌(M)	4	2	0	1	0	1	2	2
	上皮小体	59	58	56	57	55	56	59	54
	腺腫(B)	1	0	1	0	2	0	1	1
	下垂体	60	60	60	60	58	60	60	60
	前葉腺腫(B)	18	26	18	20	32	41	37	40
	中間部腺腫(B)	1	1	0	0	1	0	0	1
	前葉癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	前立腺	60	59	58	60	/	/	/	/
	腺腫(B)	2	1	1	0	/	/	/	/
	唾液腺	59	60	60	60	60	60	60	59
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	精囊	60	60	60	60	/	/	/	/
	悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	0	/	/	/	/
	骨格筋	60	60	60	60	60	59	60	59
	顆粒細胞腫(B)	0	0	0	1	0	1	0	0
	線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮膚	60	59	60	60	60	60	60	60
	良性基底細胞腫瘍(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	良性毛包腫瘍(B)	0	1	1	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫(B)	3	1	4	5	0	1	1	3
	乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮脂腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	悪性基底細胞腫瘍(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脊髄	60	60	60	60	60	60	60	59
	悪性星状膠細胞腫(M) 高グレード*	0	0	0	0	0	1	0	0
稀突起膠細胞腫(M) 低グレード*	0	0	0	1	0	0	0	0	
脾臓	60	60	59	60	60	59	59	60	
血管腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
血管肉腫(M)	1	1	1	0	0	0	0	0	
胃	60	60	57	60	60	60	60	60	
線維肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
精巣	60	60	60	60	/	/	/	/	
間質(ライディッヒ)細胞腫(B)	1	2	0	1	/	/	/	/	
中皮腫(M)	0	1	0	0	/	/	/	/	
胸腺	59	59	59	58	59	56	59	60	
良性胸腺腫(B)	2	1	2	0	3	5	2	4	

(Poly-K 検定)

M:悪性腫瘍, B:良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-9

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	甲状腺	58	59	55	59	59	59	60	60
	C細胞腺腫(B)	6	8	3	6	7	5	3	9
	濾胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	C細胞癌(M)	2	0	0	1	3	0	1	2
	濾胞細胞癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	舌	60	60	60	60	60	60	60	60
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	子宮	/	/	/	/	60	60	60	60
	子宮内膜間質ポリープ(B)	/	/	/	/	14	6	15	17
	良性顆粒細胞腫(B)	/	/	/	/	0	1	1	0
	子宮内膜腺癌(M)	/	/	/	/	1	0	0	0
	血管肉腫(M)	/	/	/	/	0	0	1	1
	平滑筋肉腫(M)	/	/	/	/	0	0	0	1
	悪性シュワン細胞腫(M)	/	/	/	/	1	0	1	2
	扁平上皮癌(M)	/	/	/	/	0	0	0	1
	膣	/	/	/	/	60	60	60	60
	良性顆粒細胞腫(B)	/	/	/	/	2	0	0	1
	悪性シュワン細胞腫(M)	/	/	/	/	0	1	1	0
	造血組織	60	60	60	60	60	60	60	60
	組織球肉腫(M)	1	0	1	1	0	0	1	1
	顆粒性大リンパ白血病(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	リンパ腫(M)	0	0	0	1	1	1	0	0
	耳	0	2	0	1	0	0	0	0
	良性シュワン細胞腫(B)	0	2	0	1	0	0	0	0
	皮下組織	6	5	10	12	2	1	7	6
	線維腫(B)	2	1	0	1	0	0	0	1
	脂肪腫(B)	1	1	1	2	0	0	0	1
	脊索腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	線維肉腫(M)	2	3	8	6	1	0	4	3
	脂肪肉腫(M)	1	1	0	0	0	0	0	0
	骨肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肉腫(M)鑑別診断できず	0	0	0	2	1	0	1	0
悪性シュワン細胞腫(M)	1	0	0	1	0	0	1	2	
尾	2	4	1	0	0	1	1	3	
乳頭腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
腹腔内	0	0	0	3	0	0	1	1	
脂肪腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
線維肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
胸腔内	0	1	0	0	0	0	0	1	
脂肪腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
ジンバル腺	1	0	0	2	0	0	0	0	
扁平上皮癌(M)	1	0	0	2	0	0	0	0	

(Poly-K 検定)

M: 悪性腫瘍, B: 良性腫瘍

腫瘍性病変(発がん性群)-10

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500
	所見/検査数	60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	骨	0	4	2	1	0	0	1	1
	骨腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	骨肉腫(M)	0	3	2	1	0	0	1	1
	腸間膜	0	2	0	0	0	0	0	2
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腹膜	0	0	0	0	0	1	0	1
	中皮腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	鼻腔	0	0	0	0	0	0	1	0
	歯源性線維腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	横隔膜	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	血管	0	1	0	0	0	0	0	0
	C細胞癌*(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	顎	0	0	0	0	0	2	0	0
	扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	神経	0	0	1	0	0	0	0	0
悪性シュワン細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	

(Poly-K 検定)

M:悪性腫瘍, B:良性腫瘍

*:甲状腺のスライドに原発腫瘍としてのC細胞癌なし

腫瘍数および担腫瘍動物数

	性別	雄				雌				
	用量(ppm)	0	50	250	1500	0	50	250	1500	
合計	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	
	腫瘍数	良性	60	63	48	62	112	114	104	115
		悪性	22	18	18	27	21	18	26	29
	腫瘍総数	82	81	66	89	133	132	130	144	
	担腫瘍動物数	良性	38	42	32	43	52	54	54	53
		悪性	18	16	16	23	16	18	25	24
	担腫瘍動物数(良性+悪性)	43	46	39	51	55	55	56	58	