

6) トリホリン原体のマウスを用いた飼料混入投与による 105 週間発がん性試験

(資料 No. T-23)

試験機関：Inveresk Research International Ltd. (英国)

報告書作成年：1992 年[GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Cri: CD-1 (ICR)系マウス、1 群雌雄各 50 匹、投与開始時週齢；雌雄約 6 週齢、  
試験開始時体重範囲；雄 24~35 g、雌 18~26 g

投与期間：105 週間\* (1989 年 8 月 2 日~1991 年 8 月 14 日)

\*: 78 週間の投与を予定していたが、生存率が高かったため、105 週まで延長した。

投与方法：検体を 0、70、700 および 7000 ppm の濃度で飼料に混入し、105 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠；同試験機関で同系のマウスを用いて実施した 90 日間反復経口投与毒性試験(資料 No.T-15) の結果、7000 ppm 投与群で僅かな赤血球数の低値、脾臓および肝臓重量の高値が認められた。従って、本試験の最高用量を限度濃度の 1000 mg/kg 相当量である 7000 ppm とし、以下 700 および 70 ppm を選択した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；動物の生死は 1 日 2 回、一般状態観察は 1 日 1 回および腫瘤の触診を含む詳細な状態観察は 1 週間に 1 回実施した。

投与期間中に投与に起因した一般症状は認められなかった。

試験終了時の死亡動物数を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	70	700	7000
死亡動物数 (死亡率、%)	雄	14/50 (28)	19/50 (38)	↑35/50 (70)	↑28/50 (56)
	雌	27/50 (54)	27/50 (54)	32/50 (64)	30/50 (60)

Wilcoxon 検定 ↑↓: p<0.024、↑↓: p<0.001

700 ppm 以上の投与群の雄で統計学的に有意な死亡動物数の増加が認められた。

体重変化；全動物の体重を投与後 13 週までは毎週 1 回測定し、それ以降は 4 週間に 1 回測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた測定週を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

性別 投与量 (ppm)	雄			雌		
	70	700	7000	70	700	7000
0 週		↓97				
2		↓96	↓97			
4		↓96				
5		↓96	↓95			
6		↓95	↓96			
7		↓95	↓95			
8		▼93	↓96			
9		↓96				
10		↓95	↓97			
11	▲118	▲113	▲115			
12		↓94	↓96			
13		▼94	↓95			
16		▼93	↓95			
20		▼93				
24		↓94				
28		▼93	↓95			
32		↓93	↓95			
36		↓93				
40		▼91	↓94			
44		↓92	↓94			
48		▼91	↓95			
52		↓93	↓95		↓92	↓93
56		↓93				
60		↓93				
64		↓93				
68		↓92				
72		▼91	↓93			
76		↓92	↓94			
80		↓91	↓94			
88		↓93	↓94			
92		▼91	↓93			
96		↓94	↓93			
100		↓94	↓93			
104		↓92	↓94			
106			↓94			
体重増加量 (%) (0-106 週)	99	89	84	90	104	91

ANOVA 検定 ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001  
 表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す

雄では 700 ppm 以上の投与群において、体重増加抑制がみられ、体重の低値が投与 5 週以降に顕著に認められたが、70 ppm 投与群では、検体投与による影響は認められなかった。

雌では、70 および 7000 ppm 投与群で体重増加抑制がわずかにみられたが、有意な体重の低値は 700 ppm 以上の投与群で 52 週時のみであり、一過性の変化であったことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

摂餌量；各動物の摂餌量は、投与後 13 週までは週 1 回測定し、それ以降は 4 週間に 1 回測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日) は以下の通りである。

投与量 (ppm)		70	700	7000
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄			
	雌			

飲水量；飲水量の変化を視診により毎日観察した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；投与後 52、78 および 104 週に全動物の尾から採血し、血液塗末標本を作製して対照群および最高用量群について白血球型別百分率を調べた。

血液学的検査において、検体投与による影響はみられなかった。

臓器重量；投与期間終了後、1 群雌雄各 10 匹の動物を対象として以下の臓器重量(絶対重量)を測定し、体重を条件とした共分散分析を行った。

脳、腎臓、肝臓(胆嚢を含む)、脾臓、精巣、卵巣

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別	雄			雌		
	70	700	7000	70	700	7000
肝臓	絶対重量					↑121
	体重補正*					↑121
	相対重量**					↑120

ANOVA 検定 ↓↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表中の数字は対照群を 100 とした場合の値を示す。

\* : 臓器重量と体重を考慮した共分散分析の結果を示す。

\*\* : 申請者が相対重量を算出し、ANOVA 検定を実施した。

7000 ppm 投与群の雌において肝臓の絶対重量および体重補正で有意な高値が認められた。しかしながら、肝臓の病理組織学的検査では関連する所見がみられなかった。なお、全投与群の雄および 70 ppm ならびに 700 ppm 投与群の雌では検体投与による影響は認められなかった。

[申請者註]

申請者が相対重量を算出し、統計検定を実施した結果、7000 ppm 投与群の雌の肝臓相対重量の高値が認められた。

肉眼的病理検査； 途中死亡・切迫殺および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

投与終了後に全生存動物を二酸化炭素吸入後、放血殺し、剖検を行った。

認められた主な剖検所見を以下に示す。

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
死亡・切迫殺	検査動物数		14	19	35	28	27	27	32	30
	結腸	腫大	0	0	3	4	1	0	0	1
	直腸	腫大	0	0	2	6	0	0	1	0
	肝臓	腫瘍	3	4	11	7	1	1	1	2
	肺	腫瘍	3	2	5	8	1	2	3	10**
		変色	0	1	4	8*	5	9	10	9
最終屠殺	検査動物数		36	31	15	22	23	23	18	20
	結腸	腫大	0	0	0	0	0	0	1	0
	直腸	腫大	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	腫瘍	7	12	6	12**	2	2	1	0
	肺	腫瘍	12	8	2	6	3	3	3	10*
		変色	4	2	2	7	0	4	4*	6**
全動物	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	結腸	腫大	0	0	3	4	1	0	1	1
	直腸	腫大	0	0	2	6*	0	0	1	0
	肝臓	腫瘍	10	16	17	19*	3	3	2	2
	肺	腫瘍	15	10	7*	14	4	5	6	20**
		変色	4	3	6	15**	5	13*	14*	15*

申請者註：申請者が統計検定を実施した。

Fisher の直接確率検定(片側) \* : P<0.05 \*\* : P<0.01

全投与群の雄で肝臓の腫瘍が増加したが、特定の傾向はみられなかったため、検体投与の影響ではないと考えられた。また主に結腸および直腸の腫大が 700 および 7000 ppm 投与群で認められた。

7000 ppm 投与群雌では、肺の腫瘍の増加が認められた。

肺変色の発現頻度が 7000 ppm 投与群の雄、700 ppm 以上の投与群の雌で高値を示した。また、直腸腫大の発現頻度の高値が 7000 ppm 投与群の雄で認められた。

[申請者註]

申請者が上表の剖検所見について統計検定を実施した結果、肝臓の腫瘍の増加が 7000 ppm 投与群の雄、肺の腫瘍の増加が 7000 ppm 投与群の雌でそれぞれ認められ、肺の変色の発現頻度の高値が 7000 ppm 投与群の雄、70 ppm 以上の投与群の雌で認められた。

7000 ppm 投与群の雄の肝臓の腫瘍については、関連する所見として、病理組織学的検査で総肝細胞腫瘍(肝細胞腺腫+肝細胞癌の合計)の発現頻度の高値が認められたが、肝細胞腺腫および肝細胞癌の発現頻度は、それぞれ 10~22%、8~18%であり、背景値の範囲内であり、対照群との有意差はみられなかったことから、当該所見は特段有害な影響ではないと考えられた。

70 ppm 投与群の雌において、全動物で肺の変色の発現頻度の高値がみられたが、途中死亡・切迫殺例および最終屠殺例では高値はみられなかったことから、当該投与群の変化は特段有害な影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査； 全動物を対象として、以下の組織について常法に従って病理標本を作成し、全途中死亡・切迫殺動物、対照群および最高用量群の全生存動物、中間および低用量群の雌雄の腎臓、肝臓(胆嚢)、肺および脾臓、中間および低用量群の雄の結腸および直腸について鏡検した。

副腎、大動脈弓、膀胱、骨(胸骨)、脳、眼球、心臓、腸(十二指腸、空腸、回腸盲腸、結腸、直腸)、腎臓、肝臓(胆嚢を含む)、肺、乳腺、腸間膜リンパ節、骨格筋(大腿部)、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃(腺胃、無腺胃)、唾液腺、精巣(精巣上体を含む)、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、気管、子宮、肉眼的病変部位

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

700 および 7000 ppm 投与群の雄の途中死亡・切迫殺動物において、死因と思われる結腸および直腸の肥厚/腫大/炎症/潰瘍の発現頻度の高値が認められた。

70 ppm 投与群の雄および全投与群の雌動物では検体投与の影響はみられなかった。

[申請者註]

7000 ppm 投与群の雌で膵臓の肥大の発現頻度の高値が認められたが、他の試験で膵臓への影響はみられていないことから、特段有害な影響とは考えなかった。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

7000 ppm 投与群の雄で総肝細胞腫瘍(肝細胞腺腫+肝細胞癌の合計)の発現頻度の高値が認められた。しかしながら、肝細胞腺腫および肝細胞癌の発現頻度は、それぞれ 10~22%、8~18%であり、背景値の範囲内であり、対照群との有意差はみられなかったことから、当該所見は特段有害な影響ではないと考えられた。

7000 ppm 投与群の雌において肺の細気管支肺胞上皮腺腫の発現頻度が Fisher の正確検定により有意な高値を示した。

さらに、動物の生存率を考慮した統計検定 (Time adjusted analysis) の結果、7000 ppm 群の雌雄で担肺腫瘍動物数の高値 (雄で 48%、雌で 55%) が認められ、7000 ppm 群の雌で細気管支肺胞上皮腺腫および細気管支肺胞上皮癌ともに有意な増加が認められた。700 ppm 群以下では雌雄ともいずれの所見にも有意差は認められなかった。

一方、7000 ppm 群雌の担肺腫瘍動物数は Fisher の正確検定でも有意な高値を示したが、雄については細気管支肺胞上皮腺腫および細気管支肺胞上皮癌とも二つの検定法により有意差は認められなかったことから、特段有害な影響ではないと考えられた。

なお、通常、化学物質により腫瘍が誘発される場合、過形成等の前癌病変の発現頻度の高値を伴うことが多いが、本試験では前癌病変の発現頻度の高値は認められなかった。

肺および肝臓の原発性腫瘍性病変発生率の比較および背景データを次頁以降の表に示す。

肝細胞腫瘍病変の集計表

観察時期	所見	投与群 (ppm)								
		雄				雌				
		0	70	700	7000	0	70	700	7000	
死亡・切迫殺	検査動物数	14	19	35	28	26	27	32	30	
	多発性肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0	
	肝細胞腺腫 (B)	1	2	4	6	0	0	1	0	
	転移性肝細胞癌 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0	
	肝細胞癌 (M)	2	3	6	4	0	0	0	0	
最終屠殺	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20	
	多発性肝細胞腺腫 (B)	3	3	2	4	0	1	0	0	
	肝細胞腺腫 (B)	5	7	1	5	2	1	0	2	
	肝細胞癌 (M)	2	4	2	5	1	0	0	0	
全動物	検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50	
	多発性肝細胞腺腫 (B)	3	3	3	4	1	1	0	0	
	肝細胞腺腫 (B)	6 (12)	9 (18)	5 (10)	11 (22)	2 (4)	1 (2)	1 (2)	2 (4)	
	転移性肝細胞癌 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0	
	肝細胞癌 (M)	4 (8)	7 (14)	18 (16)	9 (18)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	合計	肝細胞腺腫+肝細胞癌	10	16	13	▲20	3	1	1	2
		良性腫瘍	9	12	8	15	3	2	1	2
		悪性腫瘍	5	7	8	10	1	0	0	0
合計		14	19	16	25	4	2	1	2	

Fisher の正確検定 ↓: p<0.05、↑↓: p<0.01、▲▼: p<0.001

動物の生存率を考慮した検定 ↓↓: p<0.05、↑↑: p<0.01、▲▲: p<0.001

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

( )内の数値は、発現頻度 (%) を示す。

所見	背景データ*									
	雄					雌				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
肝細胞腺腫	22/99 (22)	16/50 (32)	10/50 (20)	0/50 (0)	10/48 (21)	2/99 (2)	4/50 (8)	1/50 (2)	0/50 (0)	1/49 (2)
肝細胞癌	21/99 (21)	7/50 (14)	3/50 (6)	0/50 (0)	4/48 (8)	1/99 (1)	0/50 (0)	0/50 (0)	0/50 (0)	0/49 (0)

\*: 5 試験の背景データ

( )内の数値は、発現頻度 (%) を示す。

試験実施期間

A=1986-1988 年、B=1984-1986 年、C=1984-1986 年、

D=1988-1990 年、E=1988-1990 年

肺腫瘍病変の集計表

観察 時期	所見	投与群 (ppm)							
		雄				雌			
		0	70	700	7000	0	70	700	7000
死亡 ・ 切迫 殺	検査動物数	14	19	35	28	27	27	32	29
	細気管支肺胞上皮腺腫 (B)	3	4	4	8	3	4	4	↑11
	細気管支肺胞上皮癌 (M)	3	1	4	4	0	0	1	5
最終 屠殺	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20
	細気管支肺胞上皮腺腫 (B)	14	9	4	10	2	3	3	↑11
	細気管支肺胞上皮癌 (M)	2	1	0	3	1	2	0	1
全 動 物	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
	細気管支肺胞上皮腺腫 (B)	17 (34)	13 (26)	8 (16)	18 (36)	5 (10)	7 (14)	7 (14)	▲▲22 (45)
	細気管支肺胞上皮癌 (M)	5 (10)	2 (4)	4 (8)	7 (14)	1 (2)	2 (4)	1 (2)	16 (12)
	担肺腫瘍動物数	19 (38)	15 (30)	12 (24)	124 (48)	6 (12)	8 (16)	8 (16)	▲▲27 (55)

Fisher の正確検定 ↓↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

動物の生存率を考慮した検定 ↓↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

( )内の数値は、発現頻度 (%) を示す。

申請者が計数し、統計検定した。

所見	背景データ*									
	雄					雌				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
細気管支肺 胞上皮腺腫	11/99 (11)	9/50 (18)	13/50 (26)	9/50 (18)	9/49 (18)	11/99 (11)	2/50 (4)	9/50 (18)	6/50 (12)	9/49 (18)
細気管支肺 胞上皮癌	7/99 (7)	6/50 (12)	2/50 (4)	4/50 (8)	6/49 (12)	2/99 (2)	4/50 (8)	0/50 (0)	2/50 (4)	2/49 (4)

\*: 5 試験の背景データ

( )内の数値は、発現頻度 (%) を示す。

試験実施期間

A=1986-1988 年、B=1984-1986 年、C=1984-1986 年、

D=1988-1990 年、E=1988-1990 年

以上の結果から、本剤のマウスに対する 105 週間飼料混入投与による発がん性試験における影響として、700 ppm 以上の投与群の雄において、死亡率の高値、体重増加量の僅かな抑制、結腸あるいは直腸の肥厚/腫大の発現頻度の高値がみられ、7000 ppm 投与群雌で肝臓重量の高値および細気管支肺胞上皮腺腫の発現頻度の高値が認められた。また、動物の生存率を考慮した統計検定の結果、7000 ppm 投与群の雌雄で担肺腫瘍動物数の高値ならびに雌で細気管支肺胞上皮腺腫および細気管支肺胞上皮癌の発現頻度の高値が認められた。

従って、無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 70 ppm (雄 11.4 mg/kg/日、雌 15.9 mg/kg/日) と判断される。また、マウスの雌の肺に対して催腫瘍性を有するものと判断される。

#### [申請者註]

本試験において、7000 ppm 投与群の雌で肺腫瘍の発現頻度の高値が認められ、トリホリン投与により腫瘍が誘発された可能性が疑われた。しかしながら、腫瘍の発現頻度の高値が認められた用量は、ガイドラインで規定されているマウスに投与する最大用量 (7000 ppm:1000 mg/kg/日相当、当該試験では雄 1204 mg/kg/日、雌 1570 mg/kg/日) のみであり、対照群と比較して前癌病変や悪性腫瘍の増加は認められなかった。また、ラットにおける反復経口毒性試験/発がん性併合試験 (資料 No.T-20 および T-21) においてはトリホリン投与による腫瘍の増加は認められなかった。従って、トリホリンの発癌ポテンシャルは極めて低く、高用量を投与した場合にのみ認められるものであり、トリホリンは遺伝毒性を認められないことから、閾値の設定は可能であると考えられた。

表 1-1 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	所見	0	70	700	7000	0	70	700	7000
死亡・切迫殺	副腎	検査動物数	14	19	33	27	27	27	32	30
		被膜下過形成	5	0	7	6	23	18	21	↓14
	結腸	検査動物数	11	16	34	25	24	22	28	25
		肥厚	0	1	2	4	0	0	0	0
		腫大	0	1	8	5	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	14	19	35	28	26	27	32	30
		炎症/壊死性変化	1	2	↑13	5	7	4	6	4
		続発性腫瘍	0	2	7	3	5	4	2	4
	腎臓	検査動物数	14	19	34	28	27	27	32	30
		嚢胞	1	3	4	3	2	2	0	3
	肺	検査動物数	14	19	35	28	27	27	32	29
		肺泡マクロファージの増加	3	3	3	3	1	6	6	7
		付随性限局性上皮化	0	0	0	0	0	0	1	0
	膵臓	検査動物数	13	19	35	28	27	26	32	30
		肥大	1	0	2	2	0	1	0	5
	直腸	検査動物数	11	16	34	25	24	22	28	25
		肥厚	0	1	↑11	6	0	0	0	0
		腫大	0	1	↑12	8	0	0	0	1
	皮膚/皮下	検査動物数	14	19	35	28	27	27	32	30
		潰瘍/炎症/壊死	4	2	5	↓1	0	1	2	1
子宮	検査動物数					26	26	32	29	
	嚢胞性子宮内膜過形成					23	19	15	↓15	
最終屠殺	副腎	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	20
		被膜下過形成	9	-	-	2	20	-	-	16
	結腸	検査動物数	36	31	15	22	23	0	0	20
		肥厚	0	0	0	2	0	-	-	0
		腫大	0	0	0	1	0	-	-	0
	肝臓	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20
		炎症/壊死性変化	5	0	2	2	4	1	4	1
		続発性腫瘍	0	1	0	0	0	0	1	0

Fisher の正確検定    ↓↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001  
 - : 該当なし

表 1-2 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
最終屠殺	腎臓	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20
		嚢胞	11	6	5	↓1	1	3	0	0
	肺	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20
		肺泡マクロファージの増加	7	2	1	6	1	5	2	2
		付随性限局性上皮化	0	2	0	↑3	0	0	0	1
	脾臓	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	20
		肥大	2	-	-	0	0	-	-	1
	直腸	検査動物数	36	31	15	22	23	0	0	20
		肥厚	0	0	2	↑3	0	-	-	0
		腫大	0	0	0	1	0	-	-	0
	皮膚/ 皮下	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	2
		潰瘍/炎症/壊死	1	-	-	0	0	-	-	0
	子宮	検査動物数					23	-	-	20
		嚢胞性子宮内膜過形成					22	-	-	19
全動物	副腎	検査動物数	50	19	33	49	50	27	32	50
		被膜下過形成	14	0	7	8	43	18	21	↓30
	結腸	検査動物数	47	45	47	45	47	22	28	44
		肥厚	0	1	2	↑6	0	0	0	0
		腫大	0	1	↑8	↑6	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50
		炎症/壊死性変化	6	2	↑15	7	11	5	10	6
		続発性腫瘍	0	3	↑7	3	5	4	3	4
	腎臓	検査動物数	50	50	49	50	50	50	50	50
		嚢胞	12	9	9	4	3	5	0	3
	肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
		肺泡マクロファージの増加	10	5	4	9	2	↑11	8	↑9
		付随性限局性上皮化	0	2	0	3	0	0	1	1
	脾臓	検査動物数	49	19	35	50	50	26	32	50
肥大		3	0	2	2	0	1	0	↑6	

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

- : 該当なし

表 1-3 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
全動物	直腸	検査動物数	47	47	49	47	47	22	28	45
		肥厚	0	1	▲13	▲9	0	0	0	0
		腫大	0	1	▲12	▲9	0	0	0	1
	皮膚/ 皮下	検査動物数	50	19	35	50	50	27	32	50
		潰瘍/炎症/壊死	5	2	5	1	0	1	2	1
	子宮	検査動物数					49	26	32	49
		嚢胞性子宮内膜過形成					45	19	15	▼34

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、▲▼ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

- : 該当なし

表 2-1 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
死亡・ 切迫殺	腹腔	検査動物数	0	0	1	0	1	1	1	2
		転移性中皮腫 (M)	-	-	1	-	0	0	0	0
	副腎	検査動物数	14	19	33	27	27	27	32	30
		片側性皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	結腸	検査動物数	11	14	32	23	24	22	28	24
		腺腫性ポリープ (B)	0	0	1	1	0	0	0	0
	十二指腸	検査動物数	11	14	27	23	24	24	28	24
		腺腫性ポリープ (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	膵臓	検査動物数	0	0	0	0	1	0	1	1
		片側性腺腫 (B)	-	-	-	-	1	-	0	0
	肝臓	検査動物数	14	19	35	28	26	27	32	30
		多発性肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	1	2	4	6	0	0	1	0
		付随性多発性肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	3	0	0	0	0
		付随性肝細胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		転移性肝細胞癌 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	2	3	6	4	0	0	0	0
	肺	検査動物数	14	19	35	28	27	27	32	29
		細気管支肺胞上皮腺腫 (B)	3	4	4	8	3	4	4	↑11
		細気管支肺胞上皮癌 (M)	3	1	4	4	0	0	1	5

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

表 2-2 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
死亡・切迫殺	リンパ 細網/ 造血 組織	検査動物数	0	1	2	3	7	6	9	7
		転移性組織球性肉腫 (M)	-	0	1	0	4	5	2	3
		組織球性肉腫 (M)	-	0	0	0	0	0	1	0
		リンパ腫 (M)	-	1	1	2	3	1	6	4
		胸腺リンパ腫 (M)	-	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	検査動物数	7	11	20	15	27	26	32	28
		混合細胞腫瘍 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		局所性破壊性導管性癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		癌 (M)	0	0	0	0	1	3	3	3
	神経系	検査動物数	0	0	0	1	1	1	0	1
		シュワン細胞腫 (M)	-	-	-	0	1	0	-	0
	卵巣	検査動物数					26	25	31	29
		黄体腫 (B)					0	0	0	1
	下垂体	検査動物数	12	17	33	27	26	26	32	28
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	1	1
	皮膚/ 皮下	検査動物数	14	19	35	28	27	27	32	30
		多発性基底細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		基底細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	唾液腺	検査動物数	14	19	35	28	27	27	31	30
		導管性癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨格筋	検査動物数	14	19	35	27	25	27	32	30
		横紋筋肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脊髄	検査動物数	13	19	35	28	27	27	32	30
		シュワン細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	胃	検査動物数	14	18	33	28	26	26	29	29
		扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	胸腔	検査動物数	0	1	1	2	0	0	0	1
中皮腫 (M)		-	0	0	0	-	-	-	1	

Fisher の正確検定 ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

表 2-3 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
死亡・切迫殺	子宮	検査動物数					26	26	32	29
		平滑筋腫 (B)					2	0	1	0
		ポリープ (B)					4	2	0	1
		平滑筋肉腫 (M)					0	0	1	0
		転移性扁平上皮癌 (M)					0	0	0	1
		癌 (M)					0	0	1	1
	血管系	検査動物数	0	1	3	2	2	4	1	1
	血管腫 (B)	-	0	0	0	1	0	0	0	
	多中心性血管肉腫 (M)	-	0	1	1	1	0	0	0	
	血管肉腫 (M)	-	1	2	1	0	1	1	1	
最終屠殺	副腎	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	20
		片側性被膜下腺腫 (B)	2	-	-	0	1	-	-	1
	十二指腸	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	20
		癌 (M)	0	-	-	0	1	-	-	0
	胆嚢	検査動物数	36	31	15	22	22	21	18	20
		乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	ハタゲ腺	検査動物数	1	0	0	2	1	0	0	2
		片側性腺腫 (B)	1	-	-	2	1	-	-	1
	空腸	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	20
		ポリープ (B)	1	-	-	0	0	-	-	0
	腎臓	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20
		片側性腺管状腺腫 (B)	1	1	0	1	0	0	0	0
		片側性腺管状癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20
		多発性肝細胞腺腫 (B)	3	3	2	4	0	1	0	0
肝細胞腺腫 (B)		5	7	1	5	2	1	0	2	
付随性多発性肝細胞腺腫 (B)		0	1	0	1	0	0	0	0	
肝細胞癌 (M)		2	4	2	5	1	0	0	0	

Fisher の正確検定 ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

表 2-4 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	所見	0	70	700	7000	0	70	700	7000
最終屠殺	肺	検査動物数	36	31	15	22	23	23	18	20
		細気管支肺胞上皮腺腫 (B)	14	9	4	10	2	3	3	↑11
		細気管支肺胞上皮癌 (M)	2	1	0	3	1	2	0	1
	リンパ 細網/ 造血 組織	検査動物数	0	1	0	1	0	0	0	3
		転移性組織球性肉腫 (M)	-	0	-	0	-	-	-	1
		組織球性肉腫 (M)	-	0	-	1	-	-	-	0
		多中心性肥満細胞腫瘍 (M)	-	0	-	0	-	-	-	1
		リンパ腫 (M)	-	1	-	0	-	-	-	2
	乳腺	検査動物数	10	0	0	9	23	0	1	20
		筋上皮細胞腫瘍 (M)	0	-	-	0	0	-	0	1
		導管性癌 (M)	0	-	-	0	0	-	0	1
		転移性癌 (M)	0	-	-	0	0	-	1	0
	卵巣	検査動物数					23	0	0	19
		片側性セルトリ細胞腫 (B)					1	-	-	0
		片側性黄体腫 (B)					1	-	-	1
		片側性嚢胞状腺腫 (B)					1	-	-	0
	膵臓	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	20
		島細胞腺腫(B)	1	-	-	0	0	-	-	0
	下垂 体	検査動物数	35	0	0	22	22	0	0	19
		腺腫 (B)	1	-	-	0	2	-	-	0
皮膚/ 皮下	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	20	
	粘液腫 (B)	0	-	-	0	1	-	-	0	

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

表 2-5 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
最終屠殺	胃	検査動物数	36	0	0	22	22	0	0	20
		扁平上皮癌 (M)	1	-	-	0	0	-	-	0
	精巣	検査動物数	36	0	0	22				
		片側性間細胞腺腫 (B)	1	-	-	1				
		両側性間細胞腺腫 (B)	0	-	-	1				
	甲状腺	検査動物数	36	0	0	22	23	0	0	19
		片側性濾胞細胞腺腫 (B)	1	-	-	0	0	-	-	0
	子宮	検査動物数					23	0	0	20
		平滑筋腫 (B)					1	-	-	1
		ポリープ(B)					2	-	-	3
		転移性平滑筋肉腫 (M)					1	-	-	0
		局所性破壊性平滑筋肉腫 (M)					1	-	-	0
	癌 (M)						1	-	-	0
血管系	検査動物数	0	1	0	0	0	0	0	0	
	血管肉腫 (M)	-	1	-	-	-	-	-	-	
全動物	腹腔	検査動物数	2	-	1	2	1	1	1	3
		転移性中皮腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎	検査動物数	50	19	33	49	50	27	32	50
		片側性皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		片側性被膜下腺腫 (B)	2	0	0	0	1	0	0	1
	結腸	検査動物数	47	45	47	45	47	22	28	44
		腺腫性ポリープ (B)	0	0	1	1	0	0	0	0
	十二指腸	検査動物数	47	14	27	45	47	24	28	44
		腺腫性ポリープ (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	胆嚢	検査動物数	47	47	41	44	46	40	43	45
		乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

表 2-6 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
全動物	ハタゲ -腺	検査動物数	1	0	0	2	2	0	1	3
		片側性腺腫 (B)	1	-	-	2	2	-	0	1
	空腸	検査動物数	46	14	26	44	48	20	27	44
		ポリープ (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	50	50	49	50	50	50	50	50
		片側性腺管状腺腫 (B)	1	1	0	1	0	0	0	0
		片側性腺管状癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50
		多発性肝細胞腺腫 (B)	3	3	3	4	1	1	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	6	9	5	11	2	1	1	2
		付随性多発性肝細胞腺腫 (B)	0	1	1	4	0	0	0	0
		付随性肝細胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		転移性肝細胞癌 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	4	7	8	9	1	0	0	0
	肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
		細気管支肺胞上皮腺腫 (B)	17	13	8	18	5	7	7	▲22
		細気管支肺胞上皮癌 (M)	5	2	4	7	1	2	1	6
	リンパ 細網/ 造血 組織	検査動物数	0	2	2	4	7	6	9	10
		転移性組織球性肉腫 (M)	-	0	1	0	4	5	2	4
		組織球性肉腫 (M)	-	0	0	1	0	0	1	0
		多中心性肥満細胞腫瘍 (M)	-	0	0	0	0	0	0	1
		リンパ腫 (M)	-	2	1	2	3	1	6	6
		胸腺リンパ腫 (M)	-	0	0	1	0	0	0	0

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

表 2-7 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
全動物	乳腺	検査動物数	17	11	20	24	50	26	33	48
		混合細胞腫瘍 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		筋上皮細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		局所性破壊性導管性癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		導管性癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		転移性癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		癌 (M)	0	0	0	0	1	3	3	3
	神経系	検査動物数	0	0	0	1	1	1	0	1
		シュワン細胞腫 (M)	-	-	-	0	1	0	-	0
	卵巢	検査動物数					49	25	31	48
		片側性セルトリ細胞腫 (B)					1	0	0	0
		片側性黄体腫 (B)					1	0	0	1
		両側性黄体腫 (B)					0	0	0	1
		片側性嚢胞状腺腫 (B)					1	0	0	0
	膵臓	検査動物数	49	19	35	50	50	26	32	50
		島細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	下垂体	検査動物数	47	17	33	49	48	26	32	47
		腺腫 (B)	1	0	0	0	2	1	1	1
	皮膚/皮下	検査動物数	50	19	35	50	50	27	32	50
		粘液腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		多発性基底細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		基底細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	唾液腺	検査動物数	50	19	35	50	50	27	31	50
		導管性癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨格筋	検査動物数	50	19	35	49	48	27	32	50
		横紋筋肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脊髄	検査動物数	49	19	35	50	50	27	32	50
		シュワン細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0

Fisher の正確検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

表 2-8 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	70	700	7000	0	70	700	7000
	臓器	所見								
全動物	胃	検査動物数	50	18	33	50	48	26	29	49
		扁平上皮癌 (M)	1	1	0	0	0	0	0	0
	精巣	検査動物数	50	19	35	50				
		片側性間細胞腺腫 (B)	1	0	0	1				
		両側性間細胞腺腫 (B)	0	0	0	1				
	胸腔	検査動物数	0	1	1	2	0	0	0	1
		中皮腫 (M)	-	0	0	0	-	-	-	1
	甲状腺	検査動物数	49	19	34	48	50	26	31	48
		片側性濾胞細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮	検査動物数					49	26	32	49
		平滑筋腫 (B)					3	0	1	1
		ポリープ(B)					6	2	0	4
		転移性平滑筋肉腫 (M)					1	0	0	0
		局所性破壊性平滑筋肉腫 (M)					1	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)					0	0	1	0
		転移性扁平上皮癌 (M)					0	0	0	1
	血管系	検査動物数	0	2	3	2	2	4	1	1
		血管腫 (B)	-	0	0	0	1	0	0	0
		多発性血管肉腫 (M)	-	0	1	1	1	0	0	0
		血管肉腫 (M)	-	2	2	1	0	1	1	1
合計*	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	腫瘍数	良性	36	28	17	41	28	14	10	30
		悪性	12	14	14	19	12	7	16	23
		転移性	1	1	5	4	5	5	3	5
	総腫瘍数		49	43	36	64	45	26	29	58
	担腫瘍動物数	良性	26	23	17	35	21	11	9	27
		悪性	11	15	17	20	16	10	15	19
担腫瘍動物数		30	33	29	39	32	19	23	38	

Fisher の正確検定 ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当なし

\* : 申請者にて計数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

(11) 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

1) トリホリン原体のラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. T-24)

試験機関：マインツ大学、CH ベーリンガー研究所（ドイツ）

報告書作成年：1974 年

検体の純度：

供試動物：Chbb:Thom 系ラット、全世代；1 群雄 10 匹、雌 20 匹

試験開始時平均体重；雄 約 114 g、雌 約 109 g

投与期間：P 世代；投与開始から F<sub>1</sub>B 児離乳時までの 30 週間

F<sub>1</sub> 世代；離乳時から F<sub>2</sub>B 児離乳時までの 29 週間

F<sub>2</sub> 世代；離乳時から F<sub>3</sub>B 児離乳時までの 29 週間

(1972 年 5 月～1973 年 12 月)

投与方法：検体を 0、100、500 および 2500 ppm の濃度で飼料に混入し、3 世代にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週 1 回調製した。

用量設定根拠；

イヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 No.T-14）の NOAEL である 100 ppm、ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 No.T-10）の NOAEL である 500 ppm および同試験（資料 No.T-09）の 2500 ppm 投与群に貧血症状、肝臓重量の増加、肝臓および脾臓のヘモジデリン沈着の増加が認められたことに基づいて、本試験の投与濃度は 100、500 および 2500 ppm を設定した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態および死亡率；

生死および動物の外観、行動等の一般状態観察は毎日行った。

体重変化；

雄は投与開始後 27 週目まで毎週、雌では交配前の期間中は毎週、妊娠 0、7、14、20 日および出産後(哺育)0、7、14、21 日に体重を測定した。児動物の体重は出産時、哺育 4、14 および 21 日に測定した。

摂餌量；

雌雄とも交配前の期間中に毎週測定した。

交配および妊娠の確認；

同じ群の雄 1 匹および雌 2 匹を同居させ、膣垢中の精子の有無を調べて交尾を確認した。交尾が確認された日を妊娠 0 日とした。1 回目の交配で得た同腹児を A 児動物 ( $F_1A$ 、 $F_2A$ 、 $F_3A$ ) とし、この同腹児の離乳後、1 回目と同様の方法で行った 2 回目の交配で得た同腹児を B 児動物 ( $F_1B$ 、 $F_2B$ 、 $F_3B$ ) とした。交配については兄妹交配を避けて行った。

繁殖性に関する指標；

交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、妊娠率、妊娠期間、哺育率を算出した。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{出生児を有した動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

$$\text{哺育率} = \frac{\text{哺育 21 日の生存児数}}{\text{哺育 4 日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{死亡率} = \frac{\text{哺育期間*中の死亡児数}}{\text{哺育 0 日の生存児数}} \times 100$$

\*哺育期間 (0~4 日、5~21 日、0~21 日)

調整； 全世代とも同腹児数の調整は行わなかった。

選 抜；

B 児動物を哺育 21 日目に離乳させ、次世代親動物として異なる同腹児から雄 10 匹および雌 20 匹を選抜した。

出生児の検査；

生死および一般状態は毎日観察した。平均生存児数、死亡率、平均体重を出産時、哺育 4、14 および 21 日に検査し、21 日目には雌雄の生存児数を計数した。離乳後、次世代親動物として選抜されなかった動物について、外表および内臓検査を行った。

$F_3B$  動物の検査；

離乳時に雌雄各 10 匹の  $F_3B$  児動物について、最終体重、心臓、肺、肝臓、腎臓、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

胸腺、脾臓、副腎、下垂体、甲状腺、脳および雌雄生殖器の臓器重量を測定し、アリザリンレッドS染色を施して骨格検査を行った。また、0および2500 ppm投与群について心臓、肺、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、生殖器（雄のみ）、唾液腺、脳の病理組織学的検査を実施し、肝臓については低および中間用量群についても検鏡した。

肉眼的病理検査；

全親動物および全世代のB児動物について剖検を行った。

世代 (児)	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P  (F <sub>1</sub> A)	生育 (9-10 週)	雄 1 対雌 2 で交配。交配は膈垢中の精子の存在で確認 (妊娠 0 日)	試験期間中は一般状態、生死を毎日観察。体重、摂餌量を週 1 回測定。交配状況の確認  雄は毎週、雌は妊娠 0、7、14、21 日に体重測定。 出産状況の観察 新生児数、死産児数、外表異常、体重を測定。 一般状態、生死を毎日観察、母動物の体重を哺育 0、7、14、21 日に測定。児動物の体重を哺育 0、4、14、21 日に測定。21 日目に性別毎に生存児数算出。 F <sub>1</sub> A 児動物は外表、内臓検査後屠殺、全例を殺処分。
	1 回目交配 (3 週)		
	妊娠 (3 週)		
	出産		
	哺育 (3 週)		
(F <sub>1</sub> B)	離乳	21 日齢時に離乳。	F <sub>1</sub> B 出産のための休養期間  (F <sub>1</sub> A に準ずる)  21 日齢時に離乳。 継代用の雄 10 匹、雌 20 匹を各同腹児から無作為に選抜。
	休養 (2 週)	(F <sub>1</sub> A に準ずる)	
	2 回目交配 (3 週)		
	妊娠 (3 週)		
出産			
F <sub>1</sub> (F <sub>2</sub> A)	哺育 (3 週)	(P 世代に準ずる)	F <sub>1</sub> B の非選抜動物および P 世代の動物を剖検。外表、内臓検査後廃棄処分。必要に応じて病理組織標本作製。
	離乳		
	休養 (2 週)		
	交配 (3 週)		
	妊娠 (3 週)		
(F <sub>2</sub> B)	出産	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	哺育 (3 週)		
	離乳		
	生育 (9 週)		
	交配 (3 週)		
F <sub>2</sub> (F <sub>3</sub> A)	妊娠 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	出産		
	哺育 (3 週)		
	離乳		
	休養 (2 週)		
(F <sub>3</sub> B)	交配 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)		
	出産		
	哺育 (3 週)		
	離乳		
F <sub>3</sub>			雌雄各 10 匹の F <sub>3</sub> B 離乳児の臓器重量測定、0、2500 ppm 投与群の病理組織学的検査 (肝のみ全群) および骨格検査。F <sub>3</sub> B 離乳児の残余動物および F <sub>2</sub> 世代の動物を剖検。

結 果： 概要を次頁以降の表に示した。

親 動 物； P、F<sub>1</sub> および F<sub>2</sub> 世代のいずれの雌雄動物においても一般状態、死亡率、摂餌量、体重、繁殖性、剖検、臓器重量および病理組織学的検査に関して、検体投与の影響は認められなかった。

[申請者註]

F<sub>3</sub>B 離乳動物に対して実施した臓器重量において、2500 ppm 投与群の雄で脾臓重量の高値および全投与群の雌の下垂体重量の低値が認められた。脾臓重量の高値に関しては、雌ではみられていないことおよび他のラットを用いた試験でみられたようなヘモジデリン沈着などの病理組織学的異常所見が認められなかったことから、有害な影響ではないと考えられた。雌の下垂体重量の低値については、500 および 2500 ppm 投与群の個別測定値の範囲をみると、それぞれ 1.0-2.0 mg、1.0-2.0 mg であり、対照群の測定値 1.0-3.0 mg の範囲内にあり、また、IRI で実施されたラット繁殖毒性試験（資料 No. T-25）では影響が認められなかった。そのため、当該下垂体重量の変動は、検体投与による有害なものではないと考えられ、100 ppm 投与群の 1 例の測定値 0.5 mg は、対照群の測定値の範囲を下回ったが、偶発的と考えられた。

児 動 物； F<sub>3</sub>A 児動物の出生時の体重が全投与群で有意に低下したが、F<sub>3</sub>B 児動物では影響がみられなかったことから、偶発的なものと考えられた。

生存率、剖検、奇形において、検体投与の影響は認められなかった。

[申請者註]

F<sub>3</sub>A 児動物において、2500 ppm 投与群で産児数および哺育 4、14 日目の生存児数の有意な増加がみられ、100 および 500 ppm 投与群の哺育 14 日の生存児数も有意に増加し、100 ppm 投与群では哺育 0-21 日の死亡率も有意に減少した。これらは、いずれも毒性影響ではないと考えられ、また、F<sub>3</sub>B 児動物で同様の変化がみられなかったことから偶発的な変化であると考えられた。

検体摂取量； 平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		100	500	2500	
検体摂取量* (mg/kg/日) (交配前)	雄	P 世代	9.5	47.3	235.3
		F <sub>1</sub> 世代	8.4	43.5	216.7
		F <sub>2</sub> 世代	9.6	49.7	247.1
		平均	9.2	46.8	233.0
	雌	P 世代	9.9	48.9	244.5
		F <sub>1</sub> 世代	9.2	45.6	233.9
		F <sub>2</sub> 世代	10.2	53.1	260.9
		平均	9.8	49.2	246.4

\*：申請者が算出。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

以上の結果より、3世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、親動物に対する毒性影響および繁殖能への影響は認められなかった。また、児動物に対しても影響は認められなかった。

従って、無毒性量(NOEL)は、親動物及び児動物に対して2500 ppm (P世代:雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日 F<sub>1</sub>世代:雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日 F<sub>2</sub>世代:雄 mg/kg/日、雌 mg/kg/日)と判断される。繁殖及び催奇形性については最高用量の2500 ppmでも影響がなかった。

結果の概要：

世代	親：P		親：F <sub>1</sub> (F <sub>1</sub> A, F <sub>1</sub> B)		親：F <sub>1</sub> 児：F <sub>2</sub> (F <sub>2</sub> A, F <sub>2</sub> B)		親：F <sub>2</sub> 児：F <sub>3</sub> (F <sub>3</sub> A, F <sub>3</sub> B)					
	0	100	500	2500	0	100	500	2500	0	100	500	2500
投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500	0	100	500	2500
供試動物数	雄	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	雌	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
死亡動物数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	雌	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
一般状態												
雄	雄	244.0	226.4	227.9	222.9	221.1	219.7	217.7	204.8	224.2	209.8	195.6
	交配前											
雌	雌	131.3	123.1	132.7	116.7	113.8	107.4	102.9	111.3	122.0	112.2	101.4
	交配前											
平均体重 (g)	妊娠 A	367.9	355.2	364.6	351.9	388.8	370.0	356.7	383.2	339.3	365.4	332.0
	20日 B	400.1	399.0	408.3	396.4	414.6	400.1	393.8	415.6	394.5	413.6	372.1
分娩後 (g)	分娩後 A	309.8	289.4	295.6	279.4	307.0	289.5	293.6	282.4	295.4	314.4	286.4
	21日 B	32.8	322.9	337.3	322.5	344.8	327.1	327.2	335.2	313.1	324.4	311.6
平均摂餌量 (g) (交配前期間)	雄	162.4	155.8	153.3	153.4	162.3	163.5	160.0	153.2	169.4	168.6	169.2
	雌	126.3	127.1	127.3	121.2	128.8	123.6	122.0	123.3	134.1	138.8	130.2
剖検												
病理組織学的検査	脾臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	下垂体	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
臓器重量 (絶対)	雄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑124
	雌	-	-	-	-	-	-	-	-	↓53	↓65	↓63
妊娠動物数	A	19	19	20	19	17	19	16	17	17	16	17
	B	19	18	18	17	20	15	19	17	18	20	18

Wilcoxon 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01, Duncan-t 検定 ↓↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01.  
 表中の臓器重量の数値は対照群を100とした場合の値を示す。空欄は異常がみられなかったことを示す。- : 実施しなかった。  
 A (1回目交配) および B (2回目交配) はそれぞれ A 児動物 (21日齢で判処分) および B 児動物 (次世代へ選抜) に係るデータを示す。

結果の概要 (続き) :

世代	投与量 (ppm)	親 : P 児 : F <sub>1</sub> (F <sub>1</sub> A, F <sub>1</sub> B)				親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2</sub> (F <sub>2</sub> A, F <sub>2</sub> B)				親 : F <sub>2</sub> 児 : F <sub>3</sub> (F <sub>3</sub> A, F <sub>3</sub> B)			
		0	100	500	2500	0	100	500	2500	0	100	500	2500
母動物	A	95	95	100	95	90	100	80	90	85	80	85	100
	B	100	95	95	85	100	80	95	85	90	100	90	85
動物	A	21.4	21.5	21.7	21.7	21.4	21.3	21.3	21.5	21.3	21.1	21.0	21.2
	B	21.6	21.6	21.6	21.5	21.5	21.4	21.4	21.5	21.4	21.2	21.2	21.4
全同腹児損失母動物数	A	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1	0
	B	0	0	0	3	1	1	0	0	1	0	0	0
産児数#	A	12.7	12.3	12.2	12.1	13.1	14.0	12.0	13.5	10.9	13.4	12.6	↑13.8
	B	13.0	13.7	14.3	14.3	12.7	13.7	13.3	13.6	13.2	14.0	12.6	15.2
平均死産児数#	A	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0	0.3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
	B	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	0	0.1	0.2	0.1	0.3	0	0.1
0日	A	12.5	12.2	12.0	12.1	12.9	14.0	11.8	13.4	10.8	13.3	12.4	13.7
	B	12.8	13.6	14.1	14.1	12.7	13.7	13.2	13.4	13.1	13.7	12.6	15.1
4日	A	12.3	11.9	11.7	11.9	12.7	13.5	11.5	12.9	10.5	13.1	12.1	↑13.4
	B	12.0	13.4	13.5	13.5	12.5	13.3	12.9	13.2	12.9	13.3	12.3	14.6
14日	A	10.7	11.2	11.1	10.9	12.7	13.5	10.9	12.9	9.4	↑13.0	↑11.8	↑11.3
	B	11.0	12.9	12.6	13.1	12.2	12.5	12.4	12.8	12.6	13.2	12.3	14.4
21日	A	10.7	11.2	11.0	10.7	12.7	13.5	10.9	12.9	9.4	12.9	11.7	11.2
	B	11.0	13.0	12.6	13.0	12.2	12.5	12.4	12.8	12.6	13.2	12.3	14.4

Wilcoxon 検定 ↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01。空欄は異常がみられなかったことを示す。

# : 全同腹児損失を除外した。

A (1回目交配) および B (2回目交配) はそれぞれ A 児動物 (21日齢で利処分) および B 児動物 (次世代へ選抜) に係るデータを示す。

結果の概要 (続き) :

世代	親 : P				親 : F <sub>1</sub> (F <sub>1</sub> A、F <sub>1</sub> B)				親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2</sub> (F <sub>2</sub> A、F <sub>2</sub> B)				親 : F <sub>2</sub> 児 : F <sub>3</sub> (F <sub>3</sub> A、F <sub>3</sub> B)			
	0	100	500	2500	0	100	500	2500	0	100	500	2500	0	100	500	2500
投与量 (ppm)																
	A	86.8	93.5	93.8	90.1	100	100	94.6	100	100	99.0	97.1	83.6			
B	91.3	96.7	93.0	96.6	97.5	94.0	96.3	96.9	97.7	98.9	100	98.8				
離乳率 (%)	A	50	50	46	50	48	56	50	47	54	46	50	48			
	B	46	48	58	50	54	63	56	59	53	53	54	51			
離乳時の性比* (雄、%)																
	A	1.27	1.83	2.19	1.46	1.72	3.23	2.13	4.13	2.72	2.34	2.84	2.55			
B	6.25	1.63	3.75	3.83	1.66	3.40	2.00	1.75	2.23	2.92	2.20	3.50				
死亡率 (%)	A	13.08	6.39	6.14	9.76	0	0	5.32	0	10.32	0.93	2.84	16.0			
	B	8.20	3.27	6.74	3.28	2.49	5.82	3.60	3.05	2.23	1.09	0	1.17			
0~4日	A	14.35	8.22	8.33	11.22	1.72	3.23	7.45	4.13	13.04	↓3.27	5.68	18.55			
	B	14.45	4.90	10.49	7.11	4.15	9.22	5.60	4.80	4.46	4.01	2.20	4.67			
5~21日	A	5.7	5.7	5.8	5.8	5.8	5.4	5.7	6.0	6.0	↓5.4	↓5.4	↓5.7			
	B	5.7	5.7	5.6	5.9	5.8	5.7	5.7	6.1	6.0	5.5	5.4	5.9			
0~21日	A	8.7	8.9	8.7	8.2	9.5	8.9	9.2	9.8	8.6	7.9	8.0	8.1			
	B	8.6	8.6	8.5	9.0	8.9	8.8	8.6	9.1	8.9	8.3	7.9	8.8			
0日	A	21.3	21.0	20.0	19.3	22.2	21.5	23.8	21.5	22.9	19.9	20.5	21.4			
	B	23.6	22.5	22.2	21.8	21.0	20.9	20.9	21.6	22.4	21.3	20.5	21.3			
4日	A	30.8	29.1	27.5	27.8	33.2	31.0	37.7	31.2	35.5	29.7	29.4	31.8			
	B	37.1	35.5	34.8	33.0	33.1	31.1	32.1	32.2	35.1	32.8	31.0	32.5			
14日																
21日																

Wilcoxon 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↑ : p<0.01。

空欄は異常がみられなかったことを示す。\* : 申請者の計算による。

A (1回目交配) および B (2回目交配) はそれぞれ A 児動物 (21日齢で判処分) および B 児動物 (次世代へ選抜) に係るデータを示す。

結果の概要 (続き) :

世代	親 : P 児 : F <sub>1</sub> (F <sub>1</sub> A、F <sub>1</sub> B)		親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2</sub> (F <sub>2</sub> A、F <sub>2</sub> B)		親 : F <sub>2</sub> 児 : F <sub>3</sub> (F <sub>3</sub> A、F <sub>3</sub> B)					
	投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500	
児動物	剖検	A								
		B								
	奇形 (症例数)	A	半陰陽 (1)	左嚢胞 腎(1)		曲尾(1)				口蓋裂、前肢形成不全 (2)
		B	左嚢胞 腎(2)	左嚢胞 腎(2)		左嚢胞 腎(1)				

空欄は異常がみられなかったことを示す。

A (1回目交配) および B (2回目交配) はそれぞれ A 児動物 (21日齢で利処分) および B 児動物 (次世代へ選抜) に係るデータを示す。

2) トリホリン原体のラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. T-25)

試験機関：Inveresk Research International Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：CrI:CD(SD)BR系ラット、P世代；1群雌雄各28匹、F<sub>1</sub>世代；1群雌雄各24匹、  
試験開始時週齢；約6週齢

投与期間：P世代；投与開始からF<sub>1</sub>児離乳時までの約17週間  
F<sub>1</sub>世代；離乳時からF<sub>2</sub>児離乳時までの約18週間  
(1990年1月22日～1990年10月22日)

投与方法：検体を0、500、3000および20000 ppmの濃度で飼料に混入し、2世代にわたって  
随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週1回調製した。

用量設定根拠；

同試験機関で実施した同系のラットに0、1250、5000および20000 ppmの濃度で飼料に混入し、1世代(F<sub>1</sub>児離乳後6～7週齢まで投与)にわたって混餌経口投与した予備試験の結果、P世代動物への影響として、20000 ppm投与群雌雄に体重増加の抑制および摂餌量の低値、肝臓重量の高値、雌に脾臓重量の高値が認められた。F<sub>1</sub>世代の動物では、5000 ppm以上の投与群に体重増加の抑制および摂餌量の低値が投与初期に認められた。1250 ppm投与群では影響は認められなかった。従って、本試験の投与濃度として、0、500、3000および20000 ppmを設定した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を次表にまとめた。

一般状態および死亡率；

動物の生死は1日2回、一般状態観察は1日1回および詳細な状態観察は1週間に1回実施した。また妊娠期間中および哺育期間中の異常行動も記録した。

体重変化；

雄は交配中を除いて週1回測定し、雌では交配前の期間は週1回、妊娠0、7、14、20日および哺育1、7、14、21日に測定した。P世代の動物については、最終体重も測定した。児動物の体重は哺育1、4、7および14日に雌雄別に同腹児毎に測定し、哺育21日に個別に測定した。体重増加量も算出した。

摂餌量；

雄は交配中を除いて週1回、雌では交配前の期間中は週1回、妊娠0～7、7～14、14～20日および哺育0～7、7～14、14～21日に個体別に測定した。

交配および妊娠の確認； 同じ群の雌雄を1対1で同居させ、翌朝、膣栓あるいは膣垢中の精子の有無を調べて交尾を確認した。交尾が確認された日を妊娠0日とした。交配期間は最大7日とし、この間に交尾を確認できなかった雌動物は、2日間の休養後、交尾を成功させた雄と最大7日間の追加交配に供した。この追加交配で交配が成立しなかった場合、さらなる交配は行わなかった。交配については、兄妹交配を避けて行った。交配開始日の朝から交尾確認日まで膣垢を毎朝採取し、性周期を測定した。

繁殖性に関する指標；

交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。なお出産がみられた日を哺育0日とした。

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠動物数（雌の場合）} / \text{出産させた雄動物数（雄の場合）}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{出生児を有した動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

$$\text{産児率} = \frac{\text{総産児数（出生児数+死亡児数）}}{\text{着床痕数（剖検時の母動物のデータ）}} \times 100$$

$$\text{出生率} = \frac{\text{哺育0日の生存児数}}{\text{総産児数（出生児数+死亡児数）}} \times 100$$

$$\text{生存率} = \frac{\text{哺育4日の生存児数}}{\text{哺育0日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{離乳率} = \frac{\text{哺育21日の生存児数}}{\text{哺育4日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{総生存率} = \frac{\text{哺育21日の生存児数}}{\text{総産児数（出生児数+死亡児数）}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

調 整；

全世代とも同腹児数の調整は行わなかった。

選 抜；

哺育 21 日目に、次世代親動物として異なる F<sub>1</sub> 同腹児から各群に雌雄 24 匹を選抜し、哺育 24 日に離乳した。

出生児の検査；

分娩時に出生児数および死産児数を計数した。哺育 1、4、7、14 および 21 日に生存児数、性別および胃中ミルク観察で授乳の有無の検査ならびに外表異常の検査を行った。死亡又は切迫殺児動物についても同様に検査した。

臓器重量；

剖検時に採取した親動物の以下の臓器の重量を測定した。

肝臓、腎臓、甲状腺、脾臓、精巣、精巣上部、精囊腺および凝固腺、前立腺、副腎

肉眼的病理検査；

[親動物]

全親動物について剖検した。雌動物については着床痕数を計数し、非妊娠雌動物については、生殖器を注意深く観察し、妊娠の有無も検査した。

[児動物]

哺育 14 日までに死亡・切迫殺した児動物については、外表異常の有無および胃中ミルクの観察で授乳の有無を検査し、異常が認められた児動物のみを固定・保存した。哺育 14 日以降に死亡・切迫殺した児動物については剖検した。また頭蓋に異常がみられた動物については頭蓋骨を切開して観察した。継代用の親として選抜されなかった F<sub>1</sub> 児動物および F<sub>2</sub> 児動物は外表検査後廃棄処分とし、外表異常がみられた動物のみを剖検した。

病理組織学的検査；

P 世代の非妊娠雌動物および出産させなかった雄動物の生殖器、両世代の全親動物から摘出した肝臓、腎臓、脾臓および甲状腺ならびに両世代の対照群および高用量群から摘出した精巣、精巣上部、精囊・凝固腺、前立腺、卵巣、子宮、子宮頸部・膈および肉眼的異常部位について鏡検した。

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (10 週)		親動物の一般状態は毎日、生死は 1 日 2 回観察し、詳細な状態観察は週 1 回実施。体重、摂餌量を毎週測定。
	交配 (1 週)	雌雄 1 対 1 で交配。交配は膣栓又は膣垢中の精子の存在で確認 (妊娠 0 日)、最大 7 日以内に交尾未確認の雌動物は、交尾確認雄動物と最大 7 日間の追加交配を実施。	交配状況の確認。膣垢検査で性周期を測定。
	妊娠 (3 週)		雄は毎週、雌は妊娠 0、7、14、20 日に体重、妊娠 0~7、7~14、14~20 日に摂餌量を測定。
	出産	出産がみられた日を哺育 0 日とした。	出産状況の観察 出産児数、死産児数、外表異常、体重を測定。
	哺育 (3 週)	同腹児数の調整は行わなかった。	雄は毎週、母動物は哺育 0、7、14、21 日に体重、哺育 0~7、7~14、14~21 日に摂餌量を測定。 哺育 0、4、14、21 日に生存児数、性別、胃中ミルク、外表異常の検査、哺育 1、4、7、14、21 日に体重測定。 14 日までの死亡・切迫殺児は外表および胃中ミルクを検査し、異常動物のみ剖検。14 日以降は剖検し、頭蓋異常動物は頭蓋骨を切開して観察。
	離乳	継代用の各群雌雄 24 ずつを各同腹児から無作為に選抜 (21 日齢時)。24 日齢時に離乳。	F <sub>1</sub> 世代非選抜動物は外表検査、異常動物の剖検。P 世代動物は剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査。雌の着床痕の観察。非妊娠雌動物の妊娠の有無の確認。
F <sub>1</sub>	生育 (11 週)		
	交配 (1 週)		
	妊娠 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	出産		
	哺育 (3 週)		
F <sub>2</sub>	離乳		離乳時、F <sub>2</sub> 離乳動物は外表検査、異常動物の剖検。F <sub>1</sub> 世代親動物は剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査。雌の着床痕の観察。非妊娠雌動物の妊娠の有無の確認。

結 果： 概要を次頁以降の表に示した。

[親動物；P および F<sub>1</sub> 世代]

一般状態および死亡率；

一般状態観察において、検体投与に関連すると考えられた変化は認められなかった。死亡では、P 世代の 500 ppm 投与群の雌雄各 1 匹で死亡がみられたが、著しい自己融解のため、死因は特定できなかった。

F<sub>1</sub> 世代の 20000 ppm 投与群の雌 1 例で難産がみられ、その後健康状態が悪化したため切迫殺したが、1 例のみの変化であったため、検体投与によるものではないと考えられた。

体重、体重変化、摂餌量および食餌効率；

P 世代の雄では 20000 ppm 投与群で体重増加量が投与期間中に低値を示し、主に 0～1 週で著しく、摂餌量の軽度な低値もみられた。500 および 3000 ppm 投与群でも 0～1 週のみ体重増加量の低値を示したが、摂餌量の低値はみられなかった。雌では 0～10 週の体重増加量の低値が全群にみられ、20000 ppm 投与群では妊娠中の体重増加量も僅かな低値を示し、20000 ppm 投与群では 1 から 10 週の間摂餌量および食餌効率の低値、3000 ppm 投与群では 1～2 週に摂餌量の低値および 6～10 週に食餌効率の低値がみられた。500 ppm 投与群では影響はみられなかった。

F<sub>1</sub> 世代では、20000 ppm 投与群の雌雄で軽度な体重増加量の低値および摂餌量の低値が主に離乳後 3 週（6 週齢時）までみられた。3000 ppm 投与群の雌雄でも初期に体重増加量および摂餌量とも低値を示したが、その後は対照群と同等であった。500 ppm 投与群では雌雄とも 3.5 週齢時の体重のみ低値を示したが、その後は対照群と同等であった。また妊娠および哺育中に影響はみられなかった。

[申請者註]

500 ppm 投与群において、体重又は体重増加量の低値が散発的に認められたが、P 世代、F<sub>1</sub> 世代の両世代で一貫性がなく、一過性の変化であったことから、検体投与による有害な影響ではないと考えられた。3000 ppm 投与群において認められた体重、摂餌量への影響は、軽微ではあるが、両世代でみられていることから、検体投与の影響と考えた。

繁殖性；

P 世代では繁殖能への影響はみられなかった。

F<sub>1</sub> 世代の 20000 ppm 投与群の雄の受胎率が対照群より僅かに低値であったが、統計検定では有意差はなく、P 世代の対照群とほぼ同程度であり、病理組織学的所見がみられなかったことから、偶発的な変化であると考えられた。その他の検査項目に

において、繁殖能への影響は認められなかった。

#### 臓器重量；

P世代の20000および3000 ppm 投与群の雌雄に肝臓および腎臓の相対重量の高値、同群の雌に甲状腺および脾臓相対重量の高値、同群の雄に甲状腺の絶対重量の高値が認められた。500 ppm 投与群では雌に甲状腺相対重量の高値がみられた。

F<sub>1</sub>世代では、20000 ppm 投与群の雌雄に肝臓および脾臓の相対重量の高値がみられ、雄で甲状腺および腎臓の相対重量の高値と精巣相対重量の低値がみられた。3000 ppm 投与群では雌雄に肝臓相対重量の高値、雄に甲状腺相対重量の高値および精巣相対重量の低値、雌に腎臓および脾臓の相対重量の高値がみられた。500 ppm 投与群では雄で肝臓相対重量の高値および精巣相対重量の低値がみられたが、肝臓重量の高値は対照群に対してわずか6%のみであったことから、生物学的意義は疑わしく、また全群の精巣重量の低値は、対照値がP世代の対照値より高かったことに起因するものと考えられ、有害な影響ではないと考えられた。

#### [申請者註]

P世代の雌500 ppm 投与群で甲状腺相対重量の高値が認められ、F<sub>1</sub>世代の500 ppm 以上の投与群で精巣相対重量の低値がみられた。しかしながら、当該投与群での甲状腺あるいは精巣の病理組織学的検査では異常所見は認められず、先に実施された3世代繁殖毒性試験(資料No.T-24)では影響がみられなかったことから、当該変化は検体投与による有害な影響ではないと考えられた。

また、F<sub>1</sub>世代の雄500 ppm 投与群でみられた肝臓の相対重量の高値は、軽微であり、病理組織学的検査で異常所見はみられなかったことから、有害な影響ではないと考えた。

#### 肉眼的病理学的検査；

剖検において、検体投与の影響はみられなかった。

#### 病理組織学的検査；

P世代、F<sub>1</sub>世代とも雌雄3000 ppm 以上の投与群において、脾臓のヘモジデリン沈着の発現頻度増加が認められた。当該所見に関連した変化としては、髄外造血の増加(P世代：雌20000 ppm 投与群、F<sub>1</sub>世代：雌雄3000 ppm 以上の投与群)、脾臓重量の高値が考えられた。F<sub>1</sub>世代の雄500 ppm 投与群でもヘモジデリン沈着の発現頻度の増加がみられたが、軽微であった。

F<sub>1</sub>世代の雄全投与群において、腎症の発現頻度の増加が認められた。しかしながら、腎症は、雄ラットでよく認められる所見であり、腎症発現の初期段階で認められる

好塩基性尿細管の発現頻度と腎症を合算した場合、対照群との間に差異はみられなかった。

P世代、F<sub>1</sub>世代とも雌 3000 ppm 以上の投与群において、腎臓の鉍質沈着の発現頻度の増加がみられ、P世代の 20000 ppm 投与群においては、雌で腎盂鉍質沈着、雄で腎盂拡張が認められた。なお、P世代の 500 ppm 投与群の雌でも腎臓の鉍質沈着の発現頻度の増加が観察されたが、鉍質沈着は、雌ラットによく認められる所見であり、F<sub>1</sub>世代の同群では影響がみられなかった。

甲状腺ではP世代、F<sub>1</sub>世代とも雌 20000 ppm 投与群において、機能亢進像の発現頻度の高値が認められた。

肝臓では、臓器重量の高値がみられたが、病理組織学的検査で小葉中心性肝細胞肥大の発現頻度の高値はみられなかった。

その他の所見で発現頻度の高値が認められたものもあったが、中および低用量群のみであったことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

#### [申請者註]

F<sub>1</sub>世代の雄 500 ppm 投与群で脾臓のヘモジリン沈着の発現頻度が高値を示したが、同群の脾臓重量の変化はなく、髄外造血の発現頻度に影響はなかったことから、当該所見は有害な影響ではないと考えられた。

P世代の雌 500 ppm 投与群で腎臓の鉍質沈着の発現頻度が高値を示したが、F<sub>1</sub>世代では影響が認められなかったことから、当該所見は重篤なものではないと考えられた。

F<sub>1</sub>世代の雄全投与群で認められた腎症の発現頻度の高値については、ラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験で腎臓に特段影響は認められなかったことから、有害な影響ではないと考えられた。

[児動物] 20000 ppm 投与群の F<sub>1</sub> 児、F<sub>2</sub> 児動物の体重に影響が認められ、哺育 14 日、21 日で低値がみられた。3000 ppm 投与群の F<sub>1</sub> 児動物でも哺育 14 日で体重の低値がみられ、F<sub>2</sub> 児動物では哺育 21 日のみに低値がみられたが、いずれも有意差はみられなかった。

500 ppm 投与群の F<sub>1</sub> 児動物において、体重の軽微な低値傾向がみられたが、F<sub>2</sub> 児動物では特段影響はみられなかった。

#### [申請者註]

報告書の本文に平均児動物体重については記載されていないため、申請者が上述のとおり記載した。

その他の検査項目において、検体投与の影響は認められなかった。

検体摂取量； 平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)			500	3000	20000	
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	P 世代				
		F <sub>1</sub> 世代				
		平均				
	雌	交配前	P 世代			
			F <sub>1</sub> 世代			
			平均			
		妊娠中	P 世代			
			F <sub>1</sub> 世代			
			平均			
		哺育第 1 週	P 世代			
			F <sub>1</sub> 世代			
			平均			

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、両世代の 3000 および 20000 ppm 投与群の雌雄に体重増加量および授餌量の低下がみられ、肝臓および脾臓重量の増加、脾臓のヘモジデリン沈着の増加、髄外造血がみられた。児動物においても 3000 および 20000 ppm 投与群の雌雄で体重の低値がみられた。

従って、親動物および児動物に対する無毒性量(NOAEL)は、500 ppm (P 世代：雄 38.4 mg/kg/日、雌     mg/kg/日 F<sub>1</sub> 世代：雄     mg/kg/日、雌     mg/kg/日)と判断される。また、繁殖については最高用量の 20000 ppm (P 世代：雄     mg/kg/日、雌     mg/kg/日 F<sub>1</sub> 世代：雄 mg/kg 日、雌     mg/kg/日)でも影響がなかった。

結果の概要：

世代			親：P 児：F <sub>1</sub>				親：F <sub>1</sub> 児：F <sub>2</sub>			
投与量 (ppm)			0	500	3000	20000	0	500	3000	20000
供試動物数	雄		28	28	28	28	24	24	24	24
	雌		28	28	28	28	24	24	24	24
死亡・切迫殺動物数	雄		0	1	0	0	0	0	0	0
	雌		0	1	0	0	0	0	0	1 (切迫殺)
一般状態										
平均体重*	雄	投与後 10 週				↓95	-	-	-	-
		3.5 週齢時	-	-	-	-	↓85	↓88	↓78	
		15 週齢時	-	-	-	-			↓91	
	雌	投与後 10 週			↓94	↓90	-	-	-	-
		3.5 週齢時	-	-	-	-	↓91	↓88	↓80	
		15 週齢時	-	-	-	-			↓88	
体重増加量*	雄	投与後 0~1 週		↓95	↓91	↓83	-	-	-	-
		投与後 0~10 週				↓92	-	-	-	-
		投与後 0~16 週				↓91	-	-	-	-
		3.5~6 週齢	-	-	-	-		↓91	↓87	
	雌	投与後 0~10 週		↓91	↓89	↓80	-	-	-	-
		3.5~6 週齢	-	-	-	-		↓94	↓92	
		6~15 週齢	-	-	-	-			↓88	
		妊娠 0~20 日				↓91				
平均摂餌量*	雄	投与後 1~2 週				↓91				
		3.5~5 週齢	-	-	-	-		↓92	↓89	
雌	投与後 1~2 週			↓95	↓90					
	投与後 3~10 週				↓94					
食餌効率*	雌	投与後 1~5 週				↓90	-	-	-	-
		投与後 6~10 週			↓83	↓79	-	-	-	-
剖検			特記事項なし							

Snedecor & Cochran 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↑↓ : p<0.01

空欄は異常がみられなかったことを示す。

\* : 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を示す。

- : 該当なし又は実施しなかった。

結果の概要 (続き) :

世代			親 : P 児 : F <sub>1</sub>				親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2</sub>					
投与量 (ppm)			0	500	3000	20000	0	500	3000	20000		
臓器重量*	最終体重	雄				↓93				↓91		
		雌						↓94		↓93		
	甲状腺	絶対	雄		↑109	▲114						
		相対	雄		<111>	<119>			↑121	↑121		
	肝臓	相対	雌	↑113	↑120	↑120			<111>	<116>		
			雄		▲111	▲123		↑106	▲113	▲131		
	腎臓	相対	雌		▲122	▲145			▲121	▲145		
			雄		↑107	▲109				↑106		
	脾臓	相対	雌		↑105	▲107			↑107	<102>		
			雄		<102>	<108>				▲116		
	精巣	相対	雌		↑111	▲147			↑120	▲142		
			雄	<99>	<98>	<102>		↓94	↓95	↓93		
	親動物	腎臓	腎症(合計)	雄	8/28	6/28	16/28	14/28	1/24	↑8/24	↑7/24	▲16/24
			軽微(+/-)		7	3	7	8	1	5	2	↑8
軽度(+)				1	2	7	2	0	2	3	↑5	
中等度(++)				0	1	2	3	0	1	2	3	
重度(+++)				0	0	0	1	0	0	0	0	
腎臓		好塩基性尿細管	雄	11/28	10/28	↓3/28	8/28	10/24	9/24	↓3/24	↓3/24	
		鉍質沈着	雌	0/26	▲10/28	↑8/28	↑8/28	0/24	3/24	↑4/23	↑5/24	
		腎盂鉍質沈着	雌	0/26	5/28	1/28	↑7/28	0/24	1/24	1/23	3/24	
		腎盂拡張	雄	3/28	8/28	3/28	↑11/28	3/24	3/24	2/24	2/24	
雌			11/26	10/28	↓4/28	16/28	3/24	1/24	1/23	2/24		
肝臓		小葉中心性肥大	雄	0/28	0/28	2/27	0/28	0/24	↑5/24	0/24	0/24	
		雌	0/26	0/26	0/25	1/28	0/24	0/24	3/23	0/24		
脾臓		ヘモジデリン沈着増加	雄	5/28	8/27	▲21/27	▲26/28	4/24	↑13/24	▲21/24	▲24/24	
			雌	1/26	4/27	▲25/27	▲28/28	3/24	8/24	▲21/23	▲24/24	
	髓外造血	雄	1/28	↑7/27	2/27	6/28	0/24	4/24	↑5/24	▲12/24		
雌		0/26	1/27	4/27	↑7/28	1/24	4/24	↑7/23	↑10/24			

Snedecor & Cochran 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001

空欄は異常がみられなかったことを示す。

\* : 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を示す。病理組織検査は症例数/検査動物数を示す。

- : 該当なし又は実施しなかった。

<> : 統計学的有意差はないが参考値として提示。

結果の概要 (続き) :

世代				親 : P 児 : F <sub>1</sub>				親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2</sub>				
投与量 (ppm)				0	500	3000	20000	0	500	3000	20000	
病 理 組 織 検 査	甲状腺	機能亢進像	雄	10/28	4/27	6/27	13/28	6/24	3/24	6/24	12/24	
			雌	3/26	1/27	4/27	↑15/28	6/24	2/24	2/24	↑18/24	
	精囊	収縮	雄	1/28	-	-	0/28	0/24	↑1/1	-	0/24	
			雌	0/28	-	-	0/28	0/24	↑1/1	↑1/1	1/24	
	子宮	子宮蓄膿症	雌	0/26	-	0/2	0/27	0/24	-	↑1/1	0/24	
			雄	0/26	-	↑2/2	0/27	0/24	-	0/1	0/24	
	卵巣	嚢胞	雌	1/26	-	0/2	1/28	0/24	-	↑1/1	1/24	
			雄	0/26	↑1/1	0/2	0/28	1/24	-	↑4/5	1/24	
	妊娠させた雄動物数				23	26	21	23	22	21	20	19
	妊娠動物数				24	27#	23	27	23	22	22	24
生存同腹児を有した雌動物数				24	26	23	27	23	22	22	24	
雄の受胎率 (%)				82	96	75	82	92	88	83	79	
雌の受胎率 (%)				86	96	82	96	96	92	92	100	
交尾成立までの平均日数				3	3	3	2	2	2	3	3	
妊娠期間				21.8	21.9	22.1	22.0	22.0	22.0	22.0	22.1	
妊娠率 (%)				100	96	100	100	100	100	100	100	
交配中に 2 回以上の発情期を有した雌動物数				2	0	1	0	0	1	2	3	
平均着床痕数/妊娠動物				16.0	15.7	16.2	15.1	15.5	15.6	14.5	15.9	
着床後胚損失率 (%)				14	8	8	10	12	11	8	9	
親 動 物	平均総産児数/同腹児+			14.5	15.4#	15.0	13.8	14.0	14.1	13.8	14.5	
	産児率 (%)			90	90	93	91	90	90	94	91	
	平均死産児数/同腹児+			0.67	0.31#	0.09	0.19	0.43	0.27	0.27	0.50	
	平均出生児数/同腹児			13.8	15.1#	15.0	13.6	13.6	13.8	13.4	14.4	
	出生児率 (%)			96	98	99	99	97	98	98	99	
	4 日生存率(0~4 日) (%)			92	94	86	94	89	92	91	86	
	離乳率(4~21 日) (%)			96	98	98	99	94	99	98	97	
	総生存率 (0~21 日) (%)			85	89	84	92	82	89	88	82	
児 動 物	哺育 21 日の性比(雄、%) +			54	48	53	48	53	47	45	46	

Snedecor & Cochran 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、▲▼ : p<0.001 空欄は異常がみられなかったことを示す。

\* : 表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を示す。病理組織検査は症例数/検査動物数を示す。

- : 該当なし又は実施しなかった。

#:1 例は交尾未確認であったが着床痕が 1 個認められたため妊娠としたが、産児数は 0 匹であったため、各種同腹児の計算からは除外した。+ : 申請者の算出による。

結果の概要 (続き) :

世代		親 : P 児 : F <sub>1</sub>				親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2</sub>					
投与量 (ppm)		0	500	3000	20000	0	500	3000	20000		
児動物	平均 生存児 数±SD	1日	13.5 ±3.1	15.0 ±2.5	14.0 ±2.5	13.3 ±2.4	13.0 ±2.7	13.3 ±2.8	13.0 ±3.3	13.1 ±3.4	
		4日	12.7 ±3.6	14.1 ±3.0	12.8 ±3.7	12.8 ±2.7	12.1 ±3.3	12.5 ±3.0	12.8 ±3.2	12.9 ±3.5	
		7日	12.3 ±3.4	13.8 ±2.9	12.7 ±3.7	12.7 ±2.6	11.9 ±3.2	12.3 ±3.0	12.6 ±3.0	12.7 ±3.5	
		14日	12.3 ±3.4	13.6 ±2.8	12.7 ±3.6	12.7 ±2.6	11.8 ±3.2	12.3 ±3.0	12.5 ±2.9	12.5 ±3.5	
		21日	12.2 ±3.3	13.6 ±2.8	12.6 ±3.6	12.5 ±2.6	11.8 ±3.2	12.3 ±3.0	12.5 ±2.9	12.4 ±3.5	
	平均 同腹児 重量 (g)±SD	1日	87 ±20	94 ±14	90 ±17	85 ±12	85 ±18	84 ±18	83 ±18	83 ±23	
		4日	122 ±35	132 ±29	123 ±38	118 ±24	119 ±38	120 ±33	122 ±25	119 ±35	
		7日	172 ±47	190 ±37	173 ±57	167 ±34	172 ±51	177 ±43	176 ±33	162 ±44	
		14日	339 ±75	363 ±58	333 ±96	304 ±47	332 ±83	333 ±69	324 ±53	282 ±63	
		21日	553 ±126	596 ±98	538 ±153	475 ±77	511 ±152	540 ±111	519 ±87	426 ±97	
	平均 児動物 体重 (g)	1日	雄	6.70	6.55	6.67	6.68	6.73	6.51	6.73	6.59
			雌	6.30	6.23	6.30	6.33	6.32	6.16	6.18	6.15
		4日	雄	9.93	9.67	9.72	9.54	9.96	9.90	10.11	9.60
			雌	9.33	9.22	9.32	9.02	9.26	9.21	9.50	8.94
		7日	雄	14.7	14.3	14.0	13.6	14.9	15.1	14.7	↓13.3
			雌	13.9	13.5	13.6	12.8	13.9	14.0	13.9	12.6
		14日	雄	29.3	27.4	↓26.6	↓24.9	28.2	28.6	27.5	↓24.2
			雌	27.6	26.2	25.7	↓23.6	26.8	26.7	26.1	↓23.3
	21日	雄	47.9	45.6	43.8	↓39.6	46.5	46.8	44.3	↓37.1	
		雌	45.7	43.6	42.0	↓37.4	44.0	43.2	41.9	↓35.8	
剖検		特記事項なし									

Wilcoxon 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

空欄は異常がみられなかったことを示す。

— : 該当なし又は実施しなかった。

平均児動物体重は、改訂版 (TF-430-010) に基づいた値を使用したため、標準偏差を記載しなかった。

3) トリホリン原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 No. T-26)

試験機関：ハンブルグ薬学毒性学研究所（ドイツ）

報告書作成年：1972年

被験物質の純度：

供試動物：SD系ラット、1群交配雌20匹、試験開始時体重範囲；201～257g

試験開始時週齢；12～15週齢

投与期間：妊娠6～15日までの10日間（器官形成期）

[試験期間；1971年9月～1972年1月（注：日にちは不明）]

投与方法：検体を1%CMC水溶液に懸濁し、0、100、400、800および1600 mg/kgの用量で妊娠6日から15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した。なお、投与液量は5 mL/kgとし、対照群には1%CMC水溶液を同様に投与した。交尾確認日を妊娠0日とした。

観察・検査項目：

親動物；生死、行動異常、糞便の状態および飲水状態の観察を含んだ一般状態の観察、体重および摂餌量の測定は毎日実施し、妊娠19日に全生存動物をエーテル麻酔下で帝王切開し、剖検、黄体数、着床数、吸収痕の大きさと数（早期および後期吸収）、子宮内胎児の位置（生存および死亡胎児）を検査した。

胎児動物；胎児の生死（自発呼吸および運動性で判断）、外表異常（奇形および変異）、体重および性別を検査し、同腹児毎に約2/3胎児をDAWSON法に従ってアリザリンレッド染色骨格標本作製し、骨格異常（奇形および変異）を検査した。残りの1/3胎児はWILSON法に従って薄切し、異常（奇形および変異）を検査した。なお、平均同腹児体重の70%未満の体重の胎児を矮小児とした。

結果：概要を次頁以降の表に示した。

親動物；一般状態(行動および糞便を含む)、飲水量、体重、摂餌量および剖検において、検体投与の影響はみられなかった。試験終了時に1600 mg/kg投与群の体重が有意に低下したが、これは胎児数の減少による変化であり、投与と無関係であると考えられた。1600 mg/kg投与群では胚/胎児の吸収の有意な増加がみられ、着床後胚損失率は対照群が8.1%だったのに対し39.4%と増加し、生存胎児数が有意に減少した。

胎児動物； 外表、内臓および骨格検査において、奇形は認められなかった。400 mg/kg 投与群の1胎児が外表検査で矮小がみられ、800 mg/kg 以上の投与群では骨格変異の割合が増加した。その他、胎児体重および性比において検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物および胎児動物における無毒性量は400 mg/kg であった。また、最高投与量の1600 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

[申請者註]

母動物については、1600 mg/kg 投与群で有意な吸収の増加が認められたことから、無毒性量 (NOAEL) は800 mg/kg と考えられる。胎児に関しては、800 mg/kg 以上の投与群で骨格変異の割合が増加したが、統計検定では有意差は認められなかったことから、検体投与による影響とは考えなかった。また、800 mg/kg 以上の投与群で骨化遅延(胸骨分節)の発現頻度の高値が認められたが、1993年に実施したラットの催奇形性試験(資料 No.T-27)では最高濃度の1000 mg/kg 投与群でも骨化遅延の増加は認められなかったことから、当該変化は偶発的なものと考えられる。

結果の概要：

投与量 (mg/kg)		0	100	400	800	1600	
1 群当り動物数		20	20	20	20	20	
親動物	一般状態	影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	
	死亡数	0	0	0	0	0	
	交配動物数	22	24	21	23	23	
	妊娠動物数	20	20	20	20	20	
	非妊娠動物数	3	2	4	1	3	
	体重 (g)	妊娠 1 日	217.5	228.7	225.8	221.2	227.3
		妊娠 6 日	241.1	247.7	244.1	241.3	245.3
		妊娠 15 日	259.7	264.4	262.2	257.8	261.3
		妊娠 19 日	324.4	329.7	328.7	324.7	↓304.1
	摂餌量	影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	
	剖検	影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	
	着床所見	平均黄体数	14.0	13.2	14.5	13.1	13.9
		平均着床数	14.0	13.1	14.1	12.8	13.5
		生存胎児数 (平均)	249 (12.5)	248 (12.4)	258 (12.9)	237 (11.9)	▽166 ↓(8.3)
		吸収	早期 (平均)	19 (1.0)	11 (0.6)	17 (0.9)	17 (0.8)
後期 (平均)			3 (0.2)	2 (0.1)	7 (0.4)	4 (0.2)	36 ↑(1.8)
合計 (平均)			22 (1.1)	13 (0.7)	24 (1.2)	19 (1.1)	△103 ↑(5.2)
吸収率 (%)			8.1	4.9	8.5	8.2	↑38.2
死亡胎児数 (平均)		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (0.2)	
着床前胚損失率 (%) a)		2.8	1.1	2.7	1.9	2.9	
着床後胚損失率 (%) b)	8.1	4.9	8.5	7.4	↑39.4		

a) 着床前胚損失率(%) : (黄体数 - 着床数) ÷ 黄体数 × 100

b) 着床後胚損失率(%) : (吸収例数 + 死亡胎児数) ÷ 着床数 × 100

Student t-検定 △▽ : p ≤ 0.01

申請者註 : 申請者が Wilcoxon の検定を行った (↑↓ : p ≤ 0.05, ↑↓ : p ≤ 0.01)

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)		0	100	400	800	1600		
1 群当り動物数		20	20	19	20	20		
1 群当り母動物数(検査動物数)		20	20	20	20	17*		
胎児動物	平均胎児体重 (g)		3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	
	性比 (%、雄)		51	49	50	50	57	
	外表・内臓異常	矮小	胎児数	0	0	1	0	0
			腹平均(%)	(0.0)	(0.0)	(0.3)	(0.0)	(0.0)
		腹数		0	0	1	0	0
		内臓検査胎児数		85	80	80	80	54
		奇形	胎児数	0	0	0	0	0
			腹平均(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
	腹数		0	0	0	0	0	
	変異	胎児数	0	0	0	0	0	
		腹平均(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	
	腹数		0	0	0	0	0	
	骨格異常	骨格検査胎児数		164	161	166	157	112
		奇形	胎児数	0	0	0	0	0
			腹平均(%)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
		腹数		0	0	0	0	0
変異		胎児数	16	16	18	27	28	
		腹平均(%)	(9.9)	(8.9)	(10.2)	(17.6)	(24.5)	
腹数		8	7	8	9	10		
変異の種類		骨化遅延	指骨	1	0	1	2	1
			胸骨分節	14	14	17	↑26	↑27
			頭蓋	0	0	1	2	3
第 13 肋骨対の形成不全又は欠損		2	4	6	6	4		
総奇形胎児数 (%)		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		
奇形を有した総腹数 (%)		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		

\* : 1600 mg/kg 投与群の母動物 20 例中 3 例(No.3,8,13)で全胚損失がみられたため、検査動物数は 17 例であった。

腹平均(%) : 母動物ごとに所見のみられた胎児の出現頻度(%)を群内で平均した値を示す。

腹数 : 所見のみられた胎児を出産した母動物の数を示す。

総奇形胎児数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児数 (比率) を示す。

奇形を有した総腹数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児を出産した母動物の数 (比率) を示す

申請者註 : 申請者が統計検定を行った。なお、骨格異常の「変異の種類」については、報告書に個別別データが収載されていないため、腹ごとの統計検定は実施できなかった。

腹平均(%)は Wilcoxon の検定、腹数は Fisher の直接確率検定を行ったが、有意差は認められなかった。

骨格異常の「変異の種類」については、検査胎児数を母数として群単位で Fisher の直接確率検定 (↑↓ :  $p \leq 0.05$ 、↑↓ :  $p \leq 0.01$ ) を実施した。

4) トリホリン原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 No. T-27)

試験機関：Hazleton (ドイツ)

報告書作成年：1993 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Crl:CD(SD)BR 系ラット、1 群交配雌 30 匹

試験開始時体重範囲；181～247 g、試験開始時週齢；約 8～12 週齢

投与期間： 妊娠 6～15 日までの 10 日間 (器官形成期)

(試験期間；1992 年 7 月 14 日～1992 年 10 月 26 日)

投与方法： 検体を蒸留水に懸濁し、0、200、500 および 1000 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、投与液量は 10 mL/kg とし、妊娠 6、9 および 12 日目の体重に基づいて算出した。対照群には蒸留水を同様に給与した。交尾確認日を妊娠 0 日とした。投与調製液は毎日作製した。

用量設定根拠；

同試験機関において同系のラットに 0、250、500 および 1000 mg/kg の用量で妊娠 6～15 日までの 10 日間連続投与した予備試験の結果、500 および 1000 mg/kg 投与群で妊娠 9～12 日の間で体重増加量が低下したが、その他の変化は認められなかった。従って、本試験の投与用量を 0、200、500 および 1000 mg/kg と設定した。

観察・検査項目：

親動物； 生死は 1 日 2 回、一般状態は 1 日 1 回観察し、妊娠 0、6、9、12、16 および 20 日に体重を測定し、妊娠 0～6、6～9、9～12、12～16 および 16～20 日に摂餌量を測定した。妊娠 20 日に全生存動物を二酸化炭素吸入で安楽死させ、帝王切開し、剖検、黄体数、着床数とその位置 (生存および死亡胎児、早期および後期吸収に分類) を検査した。非妊娠雌動物の子宮は、10%硫化アンモニウムに浸漬して着床の有無を確認した。

胎児動物； 全生存胎児および死亡胎児は可能な限り外表異常 (奇形および変異)、体重および性別を検査し、同腹児毎に約半数の胎児の内臓を摘出し、アリザリン染色法で骨格標本作製し、骨格異常 (奇形および変異) を検査した。残りの半数は Wilson-Barrow 変法を用いてエチルアルコールで固定後に内臓異常 (奇形および変異) を検査した。なお、死亡胎児と生存胎児は別々に検査した。

結 果： 概要を次頁以降の表に示した。

親動物； 一般状態、体重、体重増加量および剖検において、検体投与の影響はみられなかった。500 および 1000 mg/kg 投与群の各 1 例がそれぞれ妊娠 7 日目および 16 日目に死亡し、いずれも剖検所見で肺と膈に赤色変化がみられたが、偶発的変化と判断された。1000 mg/kg 投与群で妊娠 6~12 日間の摂餌量が減少し、6~9 日の測定期間では有意に減少した。この所見は投与によるものではなく、偶発的と考えられた。また、いずれの投与群においても着床所見への影響はみられなかった。

[申請者註]

500 mg/kg、1000 mg/kg 投与群の死亡例(各 1 例)については、1972 年に実施したラットの催奇形性試験(資料 No.T-26)では最高濃度の 1600 mg/kg 投与群でも死亡例は認められなかったことから、当該変化は偶発的なものと考えられた。

投与期間中の摂餌量(妊娠 6~16 日)において、有意差がみられなかったことから、毒性学的有意性はないものと考えられる。

胎児動物； 外表・内臓検査において、対照群の 1 胎児および 200 mg/kg 投与群の 1 胎児に奇形が認められたが、500 および 1000 mg/kg 投与群に奇形がみられなかったことから、偶発的と判断された。骨格奇形は認められなかった。その他、胎児体重、性比、生存児数、死亡胚/児数、変異および化骨遅延において検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物および胎児動物における無毒性量は 1000 mg/kg であった。また、最高投与量の 1000 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

結果の概要：

投与量 (mg/kg)		0	200	500	1000
1 群当り動物数		30	30	30	30
一般状態		影響なし	影響なし	影響なし	影響なし
死亡数	妊娠動物	0	0	1*	0
	非妊娠動物	0	0	0	1
妊娠動物数		27	25	24	23
非妊娠動物数		3	5	6	7
全胚吸収動物数		0	0	1	1
生存胎児が得られた動物数		27	25	22	22
親動物 体重 (g)	妊娠 0 日	209.8	207.6	215.0	210.6
	妊娠 6 日	252.2	246.9	254.7	250.2
	妊娠 9 日	264.5	257.6	266.9	261.0
	妊娠 12 日	286.4	281.5	284.8	282.0
	妊娠 16 日	313.3	312.7	318.6	312.6
	妊娠 20 日	371.9	375.9	386.7	371.9
親動物 体重増加量 (g)	妊娠 0-6 日	42.40	39.31	39.69	39.63
	妊娠 6-9 日	12.26	10.69	13.32	10.78
	妊娠 9-12 日	21.91	23.83	17.92	21.05
	妊娠 12-16 日	26.95	31.28	33.85	30.56
	妊娠 16-20 日	58.63	63.19	68.12	59.32
	妊娠 6-16 日	61.12	65.81	65.09	62.40
	妊娠 0-20 日	162.14	168.31	172.51	161.35
親動物 摂餌量 (g/ラット/日)	妊娠 0-6 日	23.9	23.7	24.8	23.8
	妊娠 6-9 日	25.3	23.6	24.6	↓23.1
	妊娠 9-12 日	27.1	26.3	25.9	25.6
	妊娠 12-16 日	29.7	29.1	30.1	28.5
	妊娠 16-20 日	31.3	32.1	32.5	31.2
	妊娠 6-16 日	27.6	26.6	27.2	26.0
	妊娠 0-20 日	27.3	26.9	27.7	26.3
剖検		影響なし	影響なし	影響なし	影響なし

統計処理：ANOVA、Levene、Dunnett の検定 (↓ :  $p \leq 0.05$ , ↑↓ :  $p \leq 0.01$ )

\* 妊娠 7 日に死亡

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)		0	200	500	1000	
1 群当り動物数		30	30	30	30	
親動物	着床所見	検査動物数	27	25	23	23
		(生存胎児を有した検査母動物数)	(27)	(25)	(22)	(22)
		平均黄体数*	16.5	16.9	16.3	16.5
		平均着床数	13.8	14.6	14.6	14.1
		生存胎児数	350	348	315	305
		(平均)	(13.0)	(13.9)	(13.7)	(13.3)
		早期吸収	23	18	18	15
		(平均)	(0.9)	(0.7)	(0.8)	(0.7)
		後期吸収	0	0	1	1
		(平均)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
		死亡胎児数	0	0	2	3
		(平均)	(0.0)	(0.0)	(0.1)	(0.1)
		子宮内死亡胚/胎児総数	23	18	21	19
(平均)	(0.9)	(0.7)	(0.9)	(0.8)		
着床率 (%)	92.9	95.0	89.3	90.9		
着床前胚損失率 (%) *	15.7	13.0	6.6	12.3		
着床後胚損失率 (%)	7.1	5.0	10.7	9.1		
胎児動物	平均体重 (g)	同腹児	48.3	52.0	55.1	52.2
		雄	3.8	3.8	3.9	3.9
		雌	3.6	3.6	3.8	3.7
		全胎児	3.7	3.7	3.9	3.8
	性比 (%、雄)	50.1	50.8	56.1	44.9	

統計処理 : Bartlett、ANOVA、Dunnett、Kruskal-Wallis、Wilcoxon の統計検定/バージョン 6.04

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

\* : 生存胎児を有した母動物からのデータのみを提示、その他の着床所見は全胚吸収動物のデータも含む。

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)		0	200	500	1000	
1 群当り動物数		30	30	30	30	
1 群当り母動物数(検査動物数)		27	25	22	22	
胎 児 動 物	外表 ・ 内 臓 異 常	外表検査胎児数	350	348	315 (2*)	305 (3*)
		内臓検査胎児数	179	174	161	151
	奇形	外表・内臓奇形の 種類	外脳、無眼球 症、小眼球症、 無顎症、耳位 置異常、臍帯 ヘルニア (1)	関節拘縮 (1)	-	-
		胎児数	1	1	0	0
		腹平均(%)	(0.5)	(0.6)	(0.0)	(0.0)
	変異	腹数	1	1	0	0
		胎児数	16	25	27	22
		腹平均(%)	(8.4)	(14.4)	(15.5)	(13.8)
	骨 格 異 常	腹数	10	11	11	10
		骨格検査胎児数	170	170	174	154
		奇形	胎児数	0	0	0
	腹平均(%)		(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
	腹数		0	0	0	0
	変異	胎児数	169	174	154	154
		腹平均(%)	(99.4)	(100.0)	(100.0)	(100.0)
腹数		27	25	22	22	
総奇形胎児数 (%)		1 (0.3)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
奇形を有した総腹数 (%)		1 (3.7)	1 (4.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	

\* : 追加検査した死亡胎児数。

- : 奇形は認められなかった。

腹平均(%) : 母動物ごとに所見のみられた胎児の出現頻度(%)を群内で平均した値を示す。

腹数 : 所見のみられた胎児を出産した母動物の数を示す。

総奇形胎児数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児数(比率)を示す。

奇形を有した総腹数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児を出産した母動物の数(比率)を示す。

申請者註 : 腹平均(%)は Wilcoxon の検定、腹数は Fisher の直接確率検定を行ったが、有意差は認められなかった。

5) トリホリン原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. T-28)

試験機関：E メルク 毒性研究所（ドイツ）

報告書作成年：1981 年

検体の純度：

供試動物： Chbb：HM-SPF ヒマラヤウサギ、1 群交配雌 15 匹

試験開始時体重範囲；1.94～2.54 kg、試験開始時週齢；20～30 週齢

投与期間：妊娠 6～18 日までの 13 日間（器官形成期）

[試験期間；1980 年 11 月～1980 年 12 月（注：日にちは不明）]

投与方法：検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、0、5、25 および 125 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、投与液量は 5 mL/kg とした。対照群には 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。投与液は毎日作製した。交尾を目視確認した日を妊娠 0 日とした。

観察・検査項目：

親動物；生死および一般状態を毎日観察し、体重を 3～4 日間隔で測定し、摂餌量は週 1 回測定した。妊娠 29 日に全生存動物を放血殺し、帝王切開後、剖検、黄体数、生存胎児および死亡胎児数、早期および後期吸収、流産とその子宮内分布状態を検査した。子宮について着床を検査した。これら動物の子宮は、Salewski の変法で染色し、着床後短時間で生じた流産の有無を検査した。なお死亡動物および生存動物の剖検時に異常がみられなかったため、病理組織学的検査は実施しなかった。

胎児動物；全生存胎児は、室温 28℃、相対湿度 65%の保育器内で 24 時間保育し、24 時間以内の死亡（生存能力の強弱）の有無を検査した。なお、この 24 時間保育中に死亡した胎児/児動物は死亡胎児としなかった。24 時間後、全胎児/児動物を殺処分し、死亡胎児および生後 24 時間以内に死亡した胎児/児動物は、側方および背-腹方向の 2 方向から X 線撮影を行い、骨格異常の有無を検査した。次に剖検を行い、生殖腺を観察して性別を決定し、内臓奇形を観察した。心臓および肺を摘出・固定し、頭部も切断して奇形の有無を検査した。大動脈、肺動脈、頭部大静脈および後大静脈を実体顕微鏡下で検査した。心臓は中隔欠損の有無を検査した。外表検査および X 線検査で骨格異常が認められた胎児/児動物については、Whitaker and Dix のアリザリンレッド S およびアルシアンブルーの二重染色でそれぞれ骨および軟骨の奇形を再検査した。

結 果： 概要を次頁以降の表に示した。

親動物； 対照群の1匹、5 mg/kg 投与群の2匹、25 mg/kg 投与群の4匹および125 mg/kg 投与群の3匹が流産し、125 mg/kg 投与群の1匹が早産したが、有意差はみられなかった。また、対照群を含む全群の流産動物の1匹が流産前に臍出血を示した。全投与群で投与初期（妊娠7~10日）に摂餌量の有意な減少がみられ、25および125 mg/kg 投与群では体重減少も伴った。25および125 mg/kg 投与群におけるこれら変化は軽度ではあったが、検体投与の影響と考えられた。5 mg/kg 投与群では体重への影響はみられなかったことから投与の影響はないと考えられた。剖検および着床所見に対する影響は認められなかった。

[申請者註]

全投与群で認められた流産、早産は有意な変動ではなく、検体投与による影響ではないと考えられた。また、5 mg/kg 投与群で投与初期（妊娠7~10日）に摂餌量の低値が見られたが、一過性であり、体重への影響は認められなかったことから、有害な影響ではないと考えられた。

胎児動物； 胎児体重、性別、外表・内臓および骨格検査、矮小胎児数および生後24時間の生存能力において、投与の影響は認められなかった。

対照群の3同腹児の3胎児、25 mg/kg 投与群の2同腹児の6胎児および125 mg/kg 投与群の1同腹児の1胎児に奇形が認められた。5 mg/kg 投与群では奇形はみられなかった。外表奇形では軽度な内水頭症が対照群の1胎児および25 mg/kg 投与群の1胎児に認められ、内臓奇形はいずれの群でも認められなかった。骨格奇形では、胸骨分節の癒合が対照群の2胎児、25 mg/kg 投与群の5胎児および125 mg/kg 投与群の1胎児に認められた。また骨格変異において、検体投与の影響は認められなかった。

[申請者註]

生後24時間以内に25 mg/kg 投与群の胎児/児動物の死亡が有意に増加したが、125 mg/kg 投与群では有意差はみられなかったことから、偶発的と考えられた。外形、内臓異常および骨格異常については、統計検定を実施したところ、有意な変化はみられなかったことから、検体投与による有害な影響はなかったと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物では25 mg/kg以上の投与群で体重の低値傾向あるいは低値がみられ、投与初期に摂餌量の低値が認められたことから、母動物の無毒性量は5 mg/kg/日と考えられた。胎児動物については、検体投与による影響は認められなかったことから、無毒性量は125 mg/kg/日であった。また、最高投与量の125 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

結果の概要：

投与量 (mg/kg)		0	5	25	125	
1 群当り動物数		15	15	15	15	
親動物	一般状態	膣出血				
		1	1	1	1	
	死亡数		0	0	0	0
	妊娠動物数		9	8	12	10
	流産動物数		1	2	4	3
	早産動物数		0	0	0	1
	妊娠 29 日の妊娠動物数		8	6	8	6
	体重 (kg)	妊娠 0 日	2.27	2.24	2.23	2.21
		妊娠 3 日	2.30	2.27	2.23	2.25
		妊娠 6 日	2.32	2.24	2.26	2.26
		妊娠 7 日	2.31	2.25	2.25	2.22
		妊娠 8 日	2.30	2.25	2.22	2.17
		妊娠 9 日	2.31	2.24	2.20	2.15
		妊娠 10 日	2.30	2.23	2.19	↓2.12
		妊娠 11 日	2.29	2.23	2.18	↓2.12
		妊娠 12 日	2.30	2.22	2.18	2.13
		妊娠 13 日	2.29	2.22	2.17	2.13
		妊娠 14 日	2.29	2.24	2.17	2.15
		妊娠 15 日	2.29	2.25	2.17	2.18
		妊娠 16 日	2.30	2.23	2.16	2.21
妊娠 17 日		2.30	2.24	2.17	2.21	
妊娠 18 日		2.31	2.22	2.16	2.21	
妊娠 21 日		2.33	2.27	2.20	2.23	
妊娠 24 日		2.36	2.32	2.23	2.24	
妊娠 27 日		2.41	2.35	2.27	2.27	
妊娠 29 日	2.46	2.38	2.27	2.29		
剖検		影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	

統計検定：体重、摂餌量は Dunnett の多重比較 t-検定

妊娠動物数、流産・早産数、性比、外表異常、骨格異常、内臓異常等は Fisher の直接確率検定（申請者実施）

着床所見は Scheffe の多重比較検定（申請者実施）↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)		0	5	25	125	
1群当り動物数		15	15	15	15	
親動物	摂餌量 (g)	妊娠 0~3 日	285	272	295	298
		妊娠 4~6 日	284	244	265	277
		妊娠 7~10 日	341	↓224	↓203	↓87
		妊娠 11~14 日	249	236	164	136
		妊娠 15~17 日	156	118	116	124
		妊娠 18~19 日	151	123	116	129
		妊娠 20~21 日	169	119	172	156
		妊娠 22~24 日	304	231	245	202
		妊娠 25~27 日	322	318	318	184
		妊娠 28~29 日	252	205	210	167
	合計	2513	2090	2134	1760	
着床所見	検査動物数		8	6	8	6
	平均黄体数		6.4	6.3	6.8	6.8
	平均着床数	妊娠 29 日の妊娠動物	6.0	5.5	5.6	6.8
		全妊娠動物	6.1	5.1	5.8	6.7
	生存胎児	胎児数 (平均)	46 (5.8)	33 (5.5)	42 (5.3)	39 (6.5)
		%	84.3	75.0	63.1	58.6
	早期吸収	吸収胚数 (平均)	1 (0.1)	0 (0.0)	3 (0.4)	2 (0.3)
		%	2.8	0	3.5	3.4
	後期吸収	吸収胚数 (平均)	1 (0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
		%	1.9	0	0	0
	死亡胎児	胎児数 (平均)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
		%	0	0	0	0
	着床率 (%)		100	100	100	100
胎児動物	平均体重 (g)	雄	37.41	40.37	37.26	34.45
		雌	38.03	39.43	36.79	35.22
	性比: 雄/雌 (%、雄)		22/24 (48)	20/13 (61)	24/18 (57)	17/22 (44)
	矮小胎児	胎児数	0	0	1	0
		%	0	0	2.4	0
	生後 24 時間以内死亡	胎児数	1	2	↑6	3
		%	2.2	6.1	14.3	7.7

統計検定: 体重、摂餌量は Dunnett の多重比較 t-検定

妊娠動物数、流産・早産数、性比、外表異常、骨格異常、内臓異常等は Fisher の直接確率検定 (申請者実施)

着床所見は Scheffe の多重比較検定 (申請者実施) ↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)				0	5	25	125				
1 群当り動物数				15	15	15	15				
1 群当り母動物数(検査動物数)				8	6	8	6				
胎児動物	外表異常	外表検査胎児数		46	33	42	39				
		外表奇形	胎児数		1	0	1	0			
			腹平均(%)		(2.5)	(0.0)	(1.8)	(0.0)			
			腹数		1	0	1	0			
		種類	軽度な 内水頭症	胎児数		1	0	1	0		
				腹平均(%)		(2.5)	(0.0)	(1.8)	(0.0)		
	腹数			1	0	1	0				
	内臓異常	内臓検査胎児数		46	33	42	39				
		内臓奇形	胎児数		0	0	0	0			
			腹平均(%)		(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)			
	腹数		0	0	0	0					
	骨格異常	骨格検査胎児数		46	33	42	39				
		奇形	胎児数		2	0		1			
			腹平均(%)		(6.7)	(0.0)	5(8.9)	(2.8)			
			腹数		2	0	1	1			
			種類	胸骨分節癒合	第 4、5	胎児数		2	0	0	0
						腹平均(%)		(6.7)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
					腹数		2	0	0	0	
第 4、5 ; 3~5 ; 3、 4		胎児数		0	0	5	0				
		腹平均(%)		(0.0)	(0.0)	(8.9)	(0.0)				
腹数		0	0	1	0						
第 3、4		胎児数		0	0	0	1				
		腹平均(%)		(0.0)	(0.0)	(0.0)	(2.8)				
腹数		0	0	0	1						
合計	総奇形胎児胎児数 (%)		3 (9.2)	0 (0.0)	6 (10.7)	1 (2.8)					
	奇形を有した総腹数 (%)		3 (37.5)	0 (0.0)	2 (25.0)	1 (16.7)					
骨格変異 (%)	検査胎児数		46	33	42	39					
	頭蓋	無舌骨	0	2	0	0					
		第 13	2	0	0	0					
	尾椎	第 14	34	31	12	33					
		第 15	64	63	82	62					
		第 16	0	6	6	5					
		肋骨	頸肋	3	0	0	0				
	骨化胸骨分節	第 5	24	13	15	34					
		第 6	76	87	85	66					
	四肢骨化	第 4 中節骨	0	6	12	11					
第 5 中節骨		100	94	88	89						

腹平均(%) : 母動物ごとに所見のみられた胎児の出現頻度(%)を群内で平均した値を示す。

腹数 : 所見のみられた胎児を出産した母動物の数を示す。

総奇形胎児数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児数(比率)を示す。

奇形を有した総腹数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児を出産した母動物の数(比率)を示す。

骨格変異は、全群が0%および100%の出現率を示した場合を除いて記載した。

申請者註 : 腹平均(%)は Wilcoxon の検定、腹数は Fisher の直接確率検定を行ったが、有意差は認められなかった。

骨格異常における変異の種類については、報告書に個体データが収載されていないため、統計検定は実施できなかった。

6) トリホリン原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.T-29)

試験機関：Hazleton (ドイツ)

報告書作成年：1995年 [GLP 対応] \*

\*：本報告書は、同試験機関で1989年に発行された報告書 (GLP 対応) を EPA の要求に合わせた形式に GLP 下で再編集したものであり、試験結果の変更は行っていない。

検体の純度：

供試動物：ニュージーランド白色種ウサギ、1群交配雌18匹、

試験開始時体重範囲；3.1～4.0 kg、試験開始時週齢；約14～17週齢

投与期間：妊娠6～18日までの13日間 (器官形成期)

(試験期間：1988年2月10日～1988年3月21日)

投与方法：検体を蒸留水に懸濁し、0、6、30および150 mg/kgの用量で妊娠6日から18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。なお、投与液量は10 mL/kgとし、毎日の体重に基づいて算出した。対照群には蒸留水を同様に投与した。交尾が成立した日を妊娠0日とした。

観察・検査項目：

親動物；生死は1日1回、一般状態は1日2回観察し、妊娠0、6～18、24および28日に体重を測定し、0、6、12、18、24および28日の体重を評価に使用、妊娠0～6、6～12、12～18、18～24および24～28日の摂餌量も測定した。妊娠28日に全生存動物をペントバルビタールナトリウムの静注で安楽死させ、帝王切開し、剖検、黄体数、着床数とその位置 (生存および死亡胎児、早期および後期吸収に分類) を検査した。非妊娠雌動物の子宮は、10%硫化アンモニウムに浸漬して着床の有無を確認した。

胎児動物；胎児の性別を検査した。全胎児の外表異常 (奇形および変異) を検査し、個別体重を測定後、切開して内臓異常を検査した。内臓摘出後、約半数の胎児の頭部を摘出後 Bouin 溶液に固定し、Wilson 変法下で異常 (奇形および変異) を検査した。全胎児のカーカスのアリザリン染色骨格標本を作製し、骨格異常 (奇形および変異) を検査した。

結 果： 概要を次頁以降の表に示した。

親動物； 対照群の2匹、6 mg/kg 投与群の1匹が死亡し、同群の1匹が流産した。6 mg/kg 投与群の1匹が妊娠20日目に産出し、投与開始前から妊娠していたと思われるため、試験の評価から除外した。また、150 mg/kg 投与群の1匹が肺炎所見を示したため、試験の評価から除外した。一般状態の観察および剖検では、検体投与の影響はみられなかった。投与期間中（妊娠6~12および12~18日）の体重増加量が、150 mg/kg 群でほんの僅か減少し、妊娠18~24日では有意な増加を示した。また投与期間中の摂餌量の減少も同群で持続して認められ、妊娠12~18日では有意に減少した。着床所見では、全胚吸収動物が全投与群の各1母動物にみられ、その結果、全母動物を対象として子宮内死亡胚/胎児数を計数した場合に30および150 mg/kg 投与群で有意な増加がみられた。しかし、生存児を有した母動物のみを対象として計数した場合、有意差はみられず、着床後胚損失率（%）においても有意差は認められなかった。また、30 mg/kg 投与群の子宮内死亡胚/胎児数は、背景データを上回っていたが、150 mg/kg 投与群では背景データの範囲内であったことから、これらの変化は偶発的であると考えられた。

[申請者註]

1993年に実施したウサギを用いた催奇形性試験（資料 No.T-30）において、1000 mg/kg の濃度で妊娠6~18日までの13日間投与したにもかかわらず子宮内死亡胚/胎児総数および着床後胚損失率に影響はみられなかったことから、本試験におけるこれらの影響も偶発的と考えられる。投与期間中の体重増加量のわずかな減少は、体重に影響がみられなかったことから偶発的と考えられる。

胎児動物； 胎児体重、性別、外表・内臓および骨格検査において、検体投与の影響はみられなかった。対照群および6 mg/kg 投与群の3同腹児の3胎児、30 mg/kg 投与群の6同腹児の6胎児および150 mg/kg 投与群の3同腹児の2生存児および1死亡児に奇形が認められた。外表・内臓奇形は、対照群で1胎児に網膜形成異常がみられ、6 mg/kg 投与群の2胎児に無頭蓋、巨肢症および臍帯ヘルニア、30 mg/kg 投与群の2胎児に顎裂および短尾/痕跡尾、150 mg/kg 投与群の2生存児に二分頭蓋、眼球出血および臍帯ヘルニアおよび1死亡児に関節拘縮がみられた。骨格奇形では、対照群の2胎児に脊柱側弯症がみられ、6 mg/kg 投与群の1胎児に過剰肋骨と胸椎半椎、30 mg/kg 投与群の4胎児に脊柱側弯症（3胎児）、肋骨近位の癒合（1胎児）および胸椎癒合（1胎児）がみられ、150 mg/kg 投与群では奇形はみられなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物における無毒性量は30 mg/kgであり、胎児動物における無毒性量は150 mg/kgであった。また、最高投与量の150 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

結果の概要：

投与量 (mg/kg)		0	6	30	150	
1 群当り動物数		18	18	18	18	
親動物	一般状態	影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	
	死亡数	妊娠動物	2	1	0	0
		非妊娠動物	0	0	0	0
	妊娠動物数		17	16	18	14
	非妊娠動物数		1	1	0	3
	流産動物数		0	1	0	0
	全胚吸収動物数		0	1	1	1
	生存胎児が得られた動物数		15	13	17	13
	体重 (kg)	妊娠 0 日	3.5	3.6	3.7	3.6
		妊娠 6 日	3.8	3.8	4.0	3.9
		妊娠 12 日	3.9	3.9	4.1	4.0
		妊娠 18 日	4.1	4.1	4.2	4.1
		妊娠 24 日	4.2	4.2	4.4	4.3
		妊娠 28 日	4.3	4.3	4.5	4.4
	体重増加量 (kg)	妊娠 0~6 日	0.3	0.2	0.3	0.3
		妊娠 6~12 日	0.1	0.1	0.1	0.1
		妊娠 12~18 日	0.2	0.2	0.1	0.1
妊娠 18~24 日		0.1	0.1	0.2	↑0.2	
妊娠 24~28 日		0.1	0.1	0.1	0.1	
妊娠 6~18 日		0.3	0.3	0.2	0.2	
妊娠 0~28 日		0.8	0.7	0.8	0.8	
摂餌量 (g/日)	妊娠 0~6 日	194.5	205.3	211.0	215.1	
	妊娠 6~12 日	198.2	202.3	199.0	185.9	
	妊娠 12~18 日	202.4	203.2	192.0	↓169.7	
	妊娠 18~24 日	180.1	182.2	197.5	196.5	
	妊娠 24~28 日	165.8	161.8	173.3	179.9	
	妊娠 6~18 日	200.6	202.7	195.5	177.8	
	妊娠 0~28 日	188.7	193.0	196.1	191.1	
剖検		影響なし	影響なし	影響なし	影響なし	

統計処理：Newman-Keuls、Kruskal-Wallis 検定/SAS バージョン 6.03 (↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)		0	6	30	150		
1 群当り動物数		18	18	18	18		
親動物	着床所見	検査動物数 (生存胎児を有した検査母動物数)	15	13	17	13	
		平均黄体数*	11.0	12.0	11.7	11.8	
		平均着床数	7.9	6.5	8.6	8.3	
		生存胎児数 (平均)	115 (7.7)	81 (5.8)	122 (6.8)	100 (7.1)	
		早期吸収 (平均)	3 (0.2)	9 (0.6)	23 (1.3)	12 (0.9)	
		後期吸収 (平均)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.1)	2 (0.1)	
		死亡胎児数 (平均)	0 (0.0)	1 (0.1)	8 (0.4)	2 (0.1)	
		子宮内死亡 胚/胎児総数 (平均)	全母動物	3 (0.2)	10 (0.1)	↑32 (1.8)	↑16 (1.1)
			生存児を有した母動物	3 (0.2)	9 (0.7)	28 (1.6)	15 (1.2)
			背景データ	胚/胎児数 : 範囲 ; 7-26、平均 ; 13.8 平均数 : 範囲 ; 0.4-1.9、平均 ; 1.0			
		着床率 (%)		97.8	80.9	77.4	80.6
		着床前胚損失率 (%) *		26.9	39.1	23.8	21.9
		着床後胚損失率 (%)		2.2	19.1	22.6	19.4
		着床後胚損失率 (%) の背景データ (同腹児当りの平均)			範囲 ; 4.8-24.8、平均 ; 12.5		
胎児動物	平均体重 (g)	同腹児	300.3	234.2	278.4	292.2	
		雄	40.7	39.8	39.3	39.2	
		雌	38.9	38.1	38.2	40.2	
		全胎児	40.1	39.2	39.7	39.4	
	性比 (%、雄)		52.1	59.1	52.8	64.5	

統計処理 : Newman-Keuls、Kruskal-Wallis 検定/SAS バージョン 6.03 (↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)

\* : 生存胎児を有した母動物からのデータのみを提示、その他の着床所見は全胚吸収動物のデータも含む。

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)		0	6	30	150			
1群当り動物数		18	18	18	18			
1群当り母動物数(検査動物数)		15	13	17	13			
胎児動物	外表・内臓異常	外表検査胎児数	115	81	122	100[101]*		
		内臓検査胎児数	115	80	122	99		
		頭部検査胎児数	56	40	60	49		
		奇形	種類	胎児数 (腹平均%)	1(1.1)	2(1.6)	2(2.2)	3[4]*(3.3)
				腹数	1	2	2	3
			無頭蓋 (腹平均%)	0(0.0)	1(0.8)	0(0.0)	0(0.0)	
			二分頭蓋 (腹平均%)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(1.3)	
			眼球出血 (腹平均%)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.6)	
			網膜形成異常 (腹平均%)	1(1.1)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	
			顎裂 (腹平均%)	0(0.0)	0(0.0)	1(1.0)	0(0.0)	
	巨肢症 (腹平均%)		0(0.0)	1(0.9)	0(0.0)	0(0.0)		
	関節拘縮 (腹平均%)		0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1[2]*(1.3)		
	短尾/痕跡尾 (腹平均%)	0(0.0)	0(0.0)	1(1.2)	0(0.0)			
	臍帯ヘルニア (腹平均%)	0(0.0)	1(0.8)	0(0.0)	1(1.3)			
	変異	胎児数 (腹平均%)	0(0.0)	1(7.7)	4(4.8)	1(1.3)		
		腹数	0	1	3	1		
	骨格異常	骨格検査胎児数	115	80	122	99		
		奇形	種類	胎児数 (腹平均%)	2(1.5)	1(1.5)	4(3.4)	0(0.0)
				腹数	2	1	4	0
脊柱側弯症 (腹平均%)			2(1.5)	0(0.0)	3(2.7)	0(0.0)		
過剰肋骨(痕跡) (腹平均%)			0(0.0)	1(1.5)	0(0.0)	0(0.0)		
肋骨近位の癒合 (腹平均%)			0(0.0)	0(0.0)	1(0.7)	0(0.0)		
胸椎癒合 (腹平均%)			0(0.0)	0(0.0)	1(0.7)	0(0.0)		
胸椎半椎 (腹平均%)		0(0.0)	1(1.5)	0(0.0)	0(0.0)			
変異		胎児数 (腹平均%)	114(98.9)	80(100.0)	122(100.0)	99(100.0)		
		腹数	15	13	17	13		
合計	総奇形胎児数 (%)	3 (2.6)	3 (3.2)	6 (5.6)	3[4]* (3.3)			
	奇形を有した総腹数 (%)	3 (20.0)	3 (23.1)	6 (35.3)	3 (23.1)			

\* : [ ]内の数字は死亡胎児1例を含む。

腹平均% : 母動物ごとに所見のみられた胎児の出現頻度(%)を群内で平均した値を示す。

腹数 : 所見のみられた胎児を出産した母動物の数を示す。

総奇形胎児数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児数 (比率) を示す。

奇形を有した総腹数(%) : 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児を出産した母動物の数 (比率) を示す

申請者註 : 腹平均(%)は Wilcoxon の検定、腹数は Fisher の直接確率検定を行ったが、有意差は認められなかった。

7) トリホリン原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. T-30)

試験機関：Hazleton (ドイツ)

報告書作成年：1993 年 [GLP 対応]

本試験は、過去のウサギを用いた催奇形性試験 (資料 No. T-28 および T-29) において、最高濃度での母体毒性が不十分であった可能性が示唆されたため、これらを補充する目的で実施した。

検体の純度：

供 試 動 物： ニュージーランド白色ウサギ、1 群交配雌 18 匹

試験開始時体重範囲；2.9～4.3 kg、試験開始時週齢；約 14～17 週齢

投 与 期 間： 妊娠 6～18 日までの 13 日間 (器官形成期)

(試験期間；1993 年 1 月 6 日～1993 年 2 月 18 日)

投 与 方 法： 検体を蒸留水に懸濁し、0 および 1000 mg/kg の投与レベルで妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、投与容量は 10 mL/kg とし、最新の体重に基づいて算出した。対照群には蒸留水を同様に投与した。投与調製液は毎日作製した。交尾が成立した日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠；

同試験機関で同系の 1 群 8 匹のウサギに 0、250、500 および 1000 mg/kg の用量で妊娠 6～18 日までの 13 日間連続投与した予備試験の結果、500 および 1000 mg/kg 投与群で母動物および胎児の体重減少が認められたが、投与に関連した奇形および変異は認められなかった。従って、本試験の投与用量は、0 および 1000 mg/kg を設定した。

観察・検査項目：

親 動 物； 生死は 1 日 2 回、一般状態は 1 日 1 回観察し、妊娠 0、6、9、12、15、19、24 および 28 日に体重を測定し、妊娠 0～6、6～9、9～12、12～15、15～19、19～24 および 24～28 日に摂餌量を測定した。妊娠 28 日に全生存動物をペントバルビタールナトリウムの静注で安楽死させ、帝王切開し、剖検、黄体数、着床数とその位置 (生存および死亡胎児、早期および後期吸収に分類) を検査した。非妊娠雌動物の子宮は、10%硫化アンモニウムに浸漬して着床の有無を確認した。

胎児動物； 全生存胎児および死亡胎児は可能な限り外表異常 (奇形および変異)、個別体重、性別、内臓異常および骨格異常を検査した。外部奇形のみられた胎児を含む全胎

児を顕微解剖で検査し、内臓を摘出後、アリザリン染色骨格標本を作製し、骨格異常（奇形および変異）を検査した。約半数の胎児の頭部を摘出後 Bouin 溶液に固定し、Wilson 変法下で異常（奇形および変異）を検査した。なお、死亡胎児と生存胎児は別々に検査した。

結 果： 概要を次頁以降の表に示した。

親動物； 1000 mg/kg 投与群において、3 匹が死亡し、このうち 2 匹はそれぞれ妊娠 10 および 20 日目に肺炎で死亡し、残りの 1 匹は誤投与により妊娠 8 日目に死亡した。一般状態観察では、排糞および飲水量の減少がみられたが、排糞の減少は摂餌量の減少に伴う変化であり、飲水量の減少は大部分の動物で投与前からみられ、また対照群でも 7 匹に認められたことから、検体投与の影響ではないと考えられた。投与初期（妊娠 6~9 日および 12~15 日）に有意な体重増加量の減少または抑制がみられ、全投与期間（妊娠 6~19 日）でも有意な減少を示したが、投与終了後は対照群と同様であった。摂餌量においても投与期間中および全投与期間ならびに全期間（妊娠 0~28 日）で有意な減少がみられたが、投与終了後は対照群と同様であった。剖検所見および着床所見への影響はみられなかった。

胎児動物； 1000 mg/kg 投与群において、全胎児体重の有意な減少がみられ、雄胎児体重でも有意差がみられた。外表・内臓および骨格検査において、対照群の 4 同腹児の 13 胎児および 1000 mg/kg 投与群の 4 同腹児の 6 胎児に奇形が認められた。外表・内臓奇形は、対照群で 3 同腹児の 7 胎児にみられたが、1000 mg/kg 投与群では 1 同腹児の 1 胎児に索状尾が認められたのみであった。骨格奇形は、対照群で 4 同腹児の 9 胎児にみられ、1000 mg/kg 投与群で 4 同腹児の 6 胎児に胸骨分節の癒合および屈曲、肋骨および脊柱（頸椎、胸椎、仙椎、尾椎）の癒合あるいは欠損が認められた。これら奇形の種類および発現頻度において投与の影響は認められなかった。一方、骨格変異では、1000 mg/kg 投与群で手根骨、足根骨、胸骨および後肢帯の未骨化あるいは不完全骨化の胎児数が増加した。

申請者註：骨格変異について統計検定を実施した結果、1000 mg/kg 投与群で恥骨不完全骨化、距骨不完全骨化の胎児数の高値がみられた。この骨化遅延は、胎児体重の抑制の結果生じた二次的变化であると考えられた。その他、性比、生存児数および死亡胚/児数において検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したとき、1000 mg/kg 投与において、母動物の体重増加抑制、摂餌量の低値および胎児動物の体重の低値が認められたことから、母動物ならびに胎児動物の無毒性量は 1000 mg/kg 未満であった。また、最高投与量の 1000 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

結果の概要：

投与量 (mg/kg)		0	1000	
1 群当り動物数		18	18	
一般状態	排糞減少	7	17	
	飲水量の低下	7	13	
死亡数	妊娠動物	0	2	
	非妊娠動物	0	1	
妊娠動物数		15	18	
非妊娠動物数		3	1	
全胚吸収動物数		2	0	
生存胎児が得られた動物数		13	16	
親動物	体重 (g)	妊娠 0 日	3442.8	3508.4
		妊娠 6 日	3744.9	3772.0
		妊娠 9 日	3867.3	3739.0
		妊娠 12 日	3952.5	3835.2
		妊娠 15 日	4073.2	3864.6
		妊娠 19 日	4204.5	4006.4
		妊娠 24 日	4351.5	4225.3
		妊娠 28 日	4456.3	4301.8
	体重増加量 (g)	妊娠 0~6 日	302.12	263.59
		妊娠 6~9 日	122.38	↓-32.96
		妊娠 9~12 日	85.14	96.22
		妊娠 12~15 日	120.75	↓29.33
		妊娠 15~19 日	131.30	141.89
		妊娠 19~24 日	147.04	218.90
		妊娠 24~28 日	104.73	76.45
妊娠 6~19 日		459.56	↓234.48	
妊娠 0~28 日		1013.45	793.42	

統計処理：ANOVA、Levene、Dunnnett の検定 (↑↓：p≤0.05、↑↓：p≤0.01)

結果の概要 (続) :

投与量 (mg/kg)		0	1000		
1群当り動物数		18	18		
摂餌量 (g/ウサギ/日)	妊娠 0~6 日	220.8	217.3		
	妊娠 6~9 日	240.9	↓148.1		
	妊娠 9~12 日	232.6	↓163.2		
	妊娠 12~15 日	227.2	↓166.6		
	妊娠 15~19 日	232.6	↓181.3		
	妊娠 19~24 日	217.6	203.3		
	妊娠 24~28 日	173.2	157.5		
	妊娠 6~19 日	233.2	↓167.2		
	妊娠 0~28 日	212.8	↓182.4		
	剖検		影響なし	影響なし	
親動物	検査動物数 (生存胎児を有した検査母動物数)	15 (13)	16 (16)		
	平均黄体数*	11.9	13.3		
	平均着床数	6.9	8.6		
	生存胎児数 (平均)	83 (5.5)	119 (7.4)		
	着床所見	早期吸収 (平均)	20 (1.3)	17 (1.1)	
		後期吸収 (平均)	0 (0.0)	2 (0.1)	
		死亡胎児数 (平均)	0 (0.0)	0 (0.0)	
		子宮内死亡胚/胎児総数 (平均)	20 (1.3)	19 (1.2)	
	着床率 (%)	71.9	84.3		
	着床前胚損失率 (%) *	35.5	34.6		
	着床後胚損失率 (%)	28.1	15.7		
	胎児動物	平均体重 (g)	同腹児	254.4	271.3
			雄	41.3	↓37.7
雌			41.8	36.7	
全胎児			42.3	↓37.2	
性比 (%、雄)		48.6	50.1		

統計処理 : Bartlett、ANOVA、Dunnett、Kruskal-Wallis、Wilcoxon の統計検定/バージョン 6.04

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

\* : 生存胎児を有した母動物からのデータのみを提示、その他の着床所見は全胚吸収動物の値を含む。

結果の概要 (続) :

		投与量 (mg/kg)	0	1000		
		1 群当り動物数	18	18		
		1 群当り母動物数(検査動物数)	13	16		
胎児動物	外表・内臓異常	外表検査胎児数	83	119		
		内臓検査胎児数	83	119		
		奇形	種類	胎児数 (腹平均%)	7 (9.3)	1 (1.6)
				腹数	3	1
			種類	内水頭症 (腹平均%)	2 (2.9)	0 (0.0)
				脳形態異常 (腹平均%)	4 (4.5)	0 (0.0)
				脳退化 (腹平均%)	1 (0.6)	0 (0.0)
				無水晶体 (腹平均%)	1 (0.6)	0 (0.0)
				無顎症 (腹平均%)	1 (0.6)	0 (0.0)
				小口症 (腹平均%)	1 (0.6)	0 (0.0)
				口蓋裂 (腹平均%)	1 (1.0)	0 (0.0)
				耳の位置異常 (腹平均%)	1 (0.6)	0 (0.0)
				鼻孔閉塞 (腹平均%)	1 (0.6)	0 (0.0)
	欠指 (腹平均%)			1 (1.0)	0 (0.0)	
	曲尾 (腹平均%)	1 (1.0)	0 (0.0)			
	短尾/痕跡尾 (腹平均%)	2 (3.8)	0 (0.0)			
	索状尾 (腹平均%)	0 (0.0)	1 (1.6)			
	変異	胎児数 (腹平均%)	7 (13.5)	12 (9.7)		
		腹数	7	9		
	骨格異常	骨格検査胎児数	83	119		
奇形		種類	胎児数 (腹平均%)	9 (12.8)	6 (6.6)	
			腹数	4	4	
		種類	脊柱側弯症 (腹平均%)	1 (1.9)	0 (0.0)	
			前頭骨癒合 (腹平均%)	1 (1.0)	0 (0.0)	
			大部分の胸骨分節癒合 (腹平均%)	1 (1.9)	2 (1.4)	
			胸骨内側屈曲 (重度) (腹平均%)	0 (0.0)	1 (0.8)	
			胸骨分節奇形 (腹平均%)	1 (1.9)	0 (0.0)	
			肋骨欠損 (腹平均%)	3 (3.2)	2 (3.1)	
			肋骨分岐 (腹平均%)	2 (1.6)	0 (0.0)	
			肋骨近位の癒合 (腹平均%)	5 (7.4)	1 (1.6)	
			仙椎体奇形 (腹平均%)	1 (1.9)	0 (0.0)	
胸椎半椎 (腹平均%)	2 (2.6)		0 (0.0)			
仙椎欠損 (腹平均%)	2 (3.8)	0 (0.0)				

腹平均(%) : 母動物ごとに所見のみられた胎児の出現頻度(%)を群内で平均した値を示す。

腹数 : 所見のみられた胎児を出産した母動物の数を示す。

申請者註 : 腹平均(%)は Wilcoxon の検定、腹数は Fisher の直接確率検定を行ったが、有意差は認められなかった。

結果の概要 (続) :

		投与量 (mg/kg)	0	1000		
		1 群当り動物数	18	18		
		1 群当り母動物数(検査動物数)	13	16		
胎児動物	奇形	種類	尾椎癒合 (腹平均%)	1 (1.0)	0 (0.0)	
			尾椎欠損 (腹平均%)	2 (3.8)	1 (1.6)	
			頸椎癒合・弓形成 (腹平均%)	0 (0.0)	1 (1.3)	
			胸椎癒合 (腹平均%)	1 (1.9)	0 (0.0)	
			胸椎欠損 (腹平均%)	1 (0.6)	2 (3.1)	
			胸椎弓癒合 (腹平均%)	3 (4.5)	1 (0.8)	
			最後の腰椎弓と第1仙椎弓の癒合 (腹平均%)	1 (1.9)	0 (0.0)	
			胸椎弓欠損 (腹平均%)	1 (0.6)	1 (1.6)	
			仙椎癒合・弓形成 (腹平均%)	1 (1.9)	0 (0.0)	
	骨格異常	変異	種類	胎児数	83	119
				腹数	13	16
				第1~4 胸骨分節未骨化 (腹平均%)	0 (0.0)	1 (1.6)
				第1~4 胸骨分節不完全骨化 (腹平均%)	6 (10.5)	11 (10.7)
				第1~4 胸骨分節形態異常 (腹平均%)	10 (14.4)	20 (19.7)
				第5~6 胸骨分節未骨化 (腹平均%)	38 (46.2)	45 (38.2)
				第5~6 胸骨分節不完全骨化 (腹平均%)	37 (40.3)	63 (56.2)
				第5~6 胸骨分節形態異常 (腹平均%)	0 (0.0)	5 (5.2)
				胸骨分節形態異常 (腹平均%)	2 (2.5)	5 (4.3)
				恥骨未骨化 (腹平均%)	3 (3.5)	7 (7.2)
				恥骨不完全骨化 (腹平均%)	7 (8.0)	31 ↑(27.7)
指節骨不完全骨化 (腹平均%)				16 (25.6)	40 (40.7)	
指節骨未骨化 (腹平均%)				40 (58.1)	76 (66.2)	
中手骨不完全骨化 (腹平均%)				0 (0.0)	1 (0.6)	
中手骨未骨化 (腹平均%)				6 (5.7)	16 (11.2)	
趾節骨不完全骨化 (腹平均%)				2 (2.5)	10 (9.0)	
趾節骨未骨化 (腹平均%)				8 (9.2)	21 (22.5)	
距骨不完全骨化 (腹平均%)	9 (10.6)	42 ↑(28.8)				
距骨未骨化 (腹平均%)	8 (8.9)	16 (19.2)				
踵骨不完全骨化 (腹平均%)	1 (1.0)	2 (1.4)				
合計	総奇形胎児数 (%)		13 (17.3)	6 (6.6)		
	奇形を有した総腹数 (%)		4 (30.8)	4 (25.0)		

腹平均(%): 母動物ごとに所見のみられた胎児の出現頻度(%)を群内で平均した値を示す。

腹数: 所見のみられた胎児を出産した母動物の数を示す。

総奇形胎児数(%): 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児数(比率)を示す。

奇形を有した総腹数(%): 外表・内臓の奇形及び骨格の奇形を示した胎児を出産した母動物の数(比率)を示す  
 申請者註: 腹平均(%)は Wilcoxon の検定、腹数は Fisher の直接確率検定を実施した (↑↓: p ≤ 0.05、↑↓: p ≤ 0.01)。

(12) 変異原性

1) トリホリン原体の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 No. T-31)

試験機関：E メルク社（ドイツ）

報告書作成年：1985 年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1538 および TA1537 株) を用い、雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、および 5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の 6  
濃度で実施した。試験は溶媒対照群のみ 8 連制とし、それ以外は 4 連制として 2 回行った。

用量設定根拠：

ネズミチフス菌 *S. typh.* TA100 および TA1535 を用いて代謝活性化非存在下で 0、50、250、500、1000、2000、3000、4000、5000、7500 および 10000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の濃度で実施した用量設定試験の結果、5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上の濃度で抗菌性および 7500  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上の濃度で検体の沈澱が認められた。従って、試験菌株に対して重篤な抗菌性が認められなかった 5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  を最高用量とし、以下公比 2 (1250 ~ 5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) 又は 5 (10 ~ 1250  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) で希釈し 6 濃度を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

2 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害が認められた最高用量 (5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) を含む全適用用量において、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。

一方陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン (2-AA)、9-アミノアクリジン (9-AA)、ダウノマイシン (DAUN)、1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン (ENNG)、メタンサルホン酸メチル (MMS)、N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NP) では該当するすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

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

1回目試験 (表中の数値は4プレートの平均値)

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有無	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	TA1538	TA98	TA1537	
溶媒対照(DMSO)		-	124	12	14	22	6	
		-	115	15	12	22	7	
検 体		-	117	18	/	25	6	
		-	111	13	8	19	7	
		-	108	13	9	24	6	
		-	122	10	3	31	7	
		-	101	10	9*	29*	7	
	5000	-	121 <sup>#</sup>	10 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	14 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	
溶媒対照(DMSO)		+	163	16	8	41	10	
		+	193	17	16*	38	12	
検 体		+	157	17	13	40	9	
		+	185	19	24	39	17	
		+	172	16	15	32	7	
		+	163	15	16	42	10	
		+	243	24	18	/	8	
	5000	+	226 <sup>#</sup>	15 <sup>#</sup>	14 <sup>#</sup>	38 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	
陽性対照	DAUN	2.0	-	/	/	/	932	/
	2-NF	2.0	-	/	/	/	520	/
		5.0	-	/	/	813	/	/
	MMS	500.0	-	929	/	/	/	/
	ENNG	2.0	-	390	/	/	/	/
		10.0	-	/	1095	/	/	/
	MNNG	4.0	-	/	>2000	/	/	/
	9-AA	20.0	-	/	/	/	/	38
		50.0	-	/	/	/	/	188
	4-NP	10.0	-	/	/	633	/	/
2-AA	1.0	-	99	15	22	28	8	
		+	503	143	648	387	58	

\* : 3プレートの平均

陽性対照物質 : 2-アミノアントラセン (2-AA)、9-アミノアクリジン (9-AA)、ダウノマイシン (DAUN)、1-エチル-2-ニトロ-3-ニトログアニジン (ENNG)、メタンサルホン酸メチル (MMS)、N-メチル-N-ニトロ-N-ニトログアニジン (MNNG)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NP)

/ : 検査せず

# : 生育阻害が認められた。

2回目試験 (表中の数値は4プレートの平均値)

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有無	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	TA1538	TA98	TA1537	
溶媒対照(DMSO)		-	114	10	5	24	5	
		-	105	13	4	22	6	
検 体		-	103	16	4	24	5	
		-	124	12	2	20	5	
		-	110	12	6*	23	6	
		-	104	14	6	24	4	
		-	103	12	2	28	5	
	5000	-	116 <sup>#</sup>	13 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	22 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	
溶媒対照(DMSO)		+	146	12	15	32	7	
		+	146	14	14	37	8	
検 体		+	160	11	16	33	6	
		+	161	14	14	30	7	
		+	152	11	14	33	7	
		+	149	13	13	34	8	
		+	153	13	14	30	6	
	5000	+	163 <sup>#</sup>	13 <sup>#</sup>	7 <sup>#*</sup>	29 <sup>#</sup>	6 <sup>#</sup>	
陽性対照	DAUN	2.0	-	/	/	/	888	/
	2-NF	2.0	-	/	/	/	240	/
		5.0	-	/	/	206	/	/
	MMS	500.0	-	974	/	/	/	/
	ENNG	2.0	-	330	/	/	/	/
		10.0	-	/	385	/	/	/
	MNNG	4.0	-	/	>2000	/	/	/
	9-AA	20.0	-	/	/	/	/	32
		50.0	-	/	/	/	/	241
	4-NP	10.0	-	/	/	630	/	/
2-AA	1.0	-	113	9	10	23	5	
		+	448	84	437	418	65	

\* : 3プレートの平均

陽性対照物質 : 2-アミノアントラセン (2-AA)、9-アミノアクリジン (9-AA)、ダウノマイシン (DAUN)、1-エチル-2-ニトロ-3-ニトログアニジン (ENNG)、メタンサルホン酸メチル (MMS)、N-メチル-N-ニトロ-N-ニトログアニジン (MNNG)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NP)

/ : 検査せず

# : 生育阻害が認められた。

2) トリホリン原体の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 No. T-32-1)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1976年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1538 および TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 hcr 株を用い、雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、および 1000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲の 3 濃度で実施した。試験は 2 連制とし、1 回行った。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

本試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、最高用量 (1000  $\mu\text{g}$ /プレート) においても、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。

一方陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン (2-AA)、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸アミド (AF-2)、 $\beta$ -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン (9-AA)、2-ニトロフルオレン (2-NF) ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

試験成績

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有無	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			
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
溶媒対照 (DMSO)		-	13	12	172	6	8	25	
			25	14	128	5	12	33	
検 体		-	21	13	179	2	4	31	
			24	9	172	4	15	31	
	1000	-	24	8	146	5	5	21	
			14	10	166	5	15	18	
	1000	-	11	13	203	12	14	27	
			16	10	182	10	11	28	
溶媒対照 (DMSO)		+	10	9	149	4	15	27	
			14	/	157	4	16	18	
検 体		+	17	11	153	18	12	21	
			10	12	142	5	13	26	
	1000	+	9	12	144	7	14	24	
			18	14	165	6	22	18	
	1000	+	19	7	161	4	20	29	
			20	16	187	4	10	31	
陽 性 対 照	2-AA	20	-	/	7	237	35	24	46
			14	260	27	24	42		
	AF-2	0.05	-	/	/	1288	/	/	/
				1412	/	/	358	396	
	AF-2	0.1	-	/	/	/	/	/	358
				396	/	/	/	/	
	AF-2	0.25	-	1880	/	/	/	/	/
				2020	/	/	/	/	
	$\beta$ -プロピオ ラクトン	50	-	/	914	/	/	/	/
					1102	/	/	/	/
9-AA	200	-	/	/	/	2800	/	/	
				/	/	/	/	/	
2-NF	50	-	/	/	/	/	5060	/	
				/	/	/	4720	/	

表中の数値は実測値を示す。

陽性対照物質：2-アミノアントラセン (2-AA)、2- (2-フリル) -3- (5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸アミド (AF-2)、 $\beta$ -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン (9-AA)、2-ニトロフルオレン (2-NF)

/：検査せず

3) トリホリン原体の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 No. T-33-1)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1982年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1538 および TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 hcr (uvrA) 株を用い、雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、  
およそ 25000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の 7 濃度で実施した。試験は 2 連制とし、1 回行った。

用量設定根拠：

検体の DMSO における溶解限界は 250 mg/mL であったため、この濃度 (25000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) を最高適用用量として選択した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

本試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、最高用量 (25000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) においても、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。なお、最高用量の 25000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  では検体の高度の析出が認められた。

一方陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン (2-AA)、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸アミド (AF-2)、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン (ENNG)、9-アミノアクリジン (9-AA)、2-ニトロフルオレン (2-NF) ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

試験成績

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有無	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	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538		
溶媒対照 (DMSO)		-	113	8	10	21	5	9		
			107	4	10	28	10	21		
検 体		-	128	7	12	35	6	16		
			122	8	13	28	6	13		
		-	111	3	6	23	10	10		
			113	3	8	29	8	16		
		-	108	7	11	16	9	13		
			101	3	16	25	11	12		
		-	97	5	12	33	7	12		
			104	5	12	19	5	11		
		-	110	9	10	29	10	11		
			110	5	17	36	6	15		
		-	69	2	8	16	3	13		
			107	7	11	21	8	13		
	25000	-	91	5	8	30	3	4		
			100	2	7	21	4	7		
溶媒対照 (DMSO)		+	130	8	12	34	9	25		
			122	8	13	41	8	41		
検 体		+	86	3	8	48	13	30		
			96	6	17	40	12	33		
		+	98	2	12	49	14	34		
			110	4	13	37	18	32		
		+	113	7	12	50	8	35		
			128	5	18	51	11	34		
		+	131	8	10	40	8	38		
			116	7	24	48	7	32		
		+	114	6	16	43	5	39		
			128	4	13	49	4	34		
		+	124	6	10	29	14	24		
			128	2	13	34	4	25		
	25000	+	122	3	18	41	6	18		
			99	3	15	40	10	30		
陽 性 対 照	S9 Mix を必要 としないもの		名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA	2-NF	
			$\mu\text{g}/$ プレート	0.01	10	0.04	0.1	80	2	
			コロニー数/プレート	394	>2000	712	410	>2000	305	
				352	>2000	696	406	>2000	308	
	S9 Mix を必要 とする もの	S9 Mix の有無		名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
				$\mu\text{g}/$ プレート	0.5	2	40	0.5	2	0.5
		+		コロニー数/プレート	571	220	>1000	305	152	226
					520	194	>1000	321	131	252
		-		コロニー数/プレート	121	4	12	38	7	14
					123	12	10	34	9	17

表中の数値は実測値を示す。

陽性対照物質：2-アミノアントラセン (2-AA)、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリル酸アミド (AF-2)、*N*-エチル-*N*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン (ENNG)、9-アミノアクリジン (9-AA)、2-ニトロフルオレン (2-NF)

#### 4) DNA 損傷誘発性

トリホリン原体の細菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay)

(資料 No. T-32-2)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1976 年

検体の純度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機能保持株 (H-17、rec+) および欠損株 (M-45、rec-) を用いて DNA 損傷誘発性の有無を検定した。検体は DMSO に溶解し、  
および 2000  $\mu\text{g}$ /ディスクの 6 濃度を直径 10 mm の濾紙に 0.02 mL 染込ませ、ストリーク開始点に置いて 37°C で一晚培養後、阻止帯の長さを測定した。

試験結果：結果を下表に示した。

本試験において検体は最高用量 (2000  $\mu\text{g}$ /ディスク) においても、いずれの菌株においても全く生育阻止帯を誘起しなかった (0 mm)。

一方、陰性対照のカナマイシンでは、両菌株の生育阻止帯の差は 1 mm であった。また、陽性対照のマイトマイシン C では M-45 株に著明な生育阻止帯を誘起し、その差は 7.5 mm であった。

#### 試験成績

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}$ /ディスク)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
検 体		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		2000	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	6	5	1
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	11	3.5	7.5

表中の数値は実測値を示す。

以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有しないものと判断される。

5) DNA 損傷誘発性

トリホリン原体の細菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay)

(資料 No. T-33-2)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1982 年

検体の純度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復能保持株 (H-17, rec+) および欠損株 (M-45, rec-) を用いて DNA 損傷誘発性の有無を検定した。検体は DMSO に溶解し、  
、  
、  
、  
および 5000  $\mu\text{g}/\text{ディスク}$  の 8 濃度を直径 10 mm の濾紙に 0.02 mL 染込ませ、ストリーク開始点に置いて 37°C で一晚培養後、阻止帯の長さを測定した。判定は、H-17 株に 0~1 mm の阻止帯を示す濃度において M-45 株の阻止帯が明確に 4 mm 以上の場合を陽性とした。

用量設定根拠：

検体の DMSO における溶解限界は 250 mg/mL であったため、この濃度 (5000  $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ ) を最高適用用量として選択した。

試験結果：結果を下表に示した。

本試験において検体は最高用量 (5000  $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ ) においても、いずれの菌株においても全く生育阻止帯を誘起しなかった (0 mm)。

一方、陰性対照のカナマイシンでは、両菌株の生育阻止帯の差は 1.5 mm であった。

また、陽性対照のマイトマイシン C では M45 株に著明な生育阻止帯を誘起し、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

試験成績

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
検 体		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		0	0	0
		5000	0	0
陰性対照(カナマイシン)	10	5.5	4	1.5
陽性対照(マイタマイシンC)	0.1	8.5	<1	>7.5

表中の数値は実測値を示す。

以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有しないものと判断される。

6) 宿主経由試験

トリホリン原体の細菌を用いた宿主経由試験

(資料 No. T-32-3)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1976年

検体の純度：

供試動物：ICR系マウス（7週齢、体重 $34.3 \pm 1.7$ g）、1群雄6匹

試験方法：検体を10%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、および3000 mg/kgの投与レベルで、24時間間隔で2回強制経口投与した。なお、溶媒対照群には10%アラビアゴム水溶液を同様に投与した。2回目の検体投与直後、対数増殖期にある *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46 ( $8.7 \times 10^8$  個/mL) を2mLの投与液量でマウスの腹腔内に注入し、3時間後にマウスを屠殺して腹腔内に1/15 M リン酸緩衝液2 mLを注入後、腹腔内菌液を回収して各3枚の寒天培地を用いて2日間培養後、復帰変異コロニー数および生存菌数を計数した。また、G46株を用いて0、10、100および1000  $\mu$ g/プレートの3濃度を処理し、*in vitro*における復帰変異試験も行った。

用量設定根拠：

急性経口毒性試験のLD<sub>50</sub>値を基準にして数段階の量を経口投与して中毒症状を観察し、その結果から および3000 mg/kgを設定した。

試験結果：宿主経由試験成績を表1および復帰変異試験成績を表2に示した。

本試験において検体は最高用量（3000 mg/kgの2回投与）においても、溶媒対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照のジメチルニトロソアミン（DMN）の50 mg/kgの単回経口投与群では、対照群と比較して著明な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は宿主経由試験においても復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

表1 宿主経由試験成績

群	投与量/総投与量 (mg/kg)	復帰変異菌数/mL	生存菌数 $\times 10^8$ /mL	復帰変異菌数 / $10^8$ 生存菌数 (平均値 $\pm$ SD)
溶媒対照 (10%アラビノコーム)		20.83	38.5	0.43 $\pm$ 0.16
		17.50	41.7	
		15.00	41.8	
		20.83	48.5	
		10.00	55.5	
		33.33	50.1	
検 体	/	11.67	53.0	0.48 $\pm$ 0.20
		18.33	47.5	
		33.33	43.2	
		25.83	43.6	
		15.00	42.4	
		26.67	47.9	
	3000/6000	26.67	39.5	0.60 $\pm$ 0.24
		45.83	43.5	
		13.33	28.4	
		20.83	49.0	
		19.17	38.0	
		16.67	35.3	
陽性対照 (DMN)	50	8810.00	38.3	171.93 $\pm$ 44.40
		5606.67	39.3	
		9306.67	43.9	
		6636.67	40.8	
		7820.00	44.7	
		4786.67	43.8	

表中の数値は実測値を示す。

陽性対照物質：ジメチルニトロソアミン (DMN)

表2 復帰変異試験成績

薬 剤	濃度( $\mu$ g/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート	
		1	2
検 体	0	1	2
	10	3	1
	100	3	3
	1000	3	1
陽性対照 ( $\beta$ -プロピオラクトン)	1000	81	118

表中の数値は実測値を示す。

7) トリホリン原体のチャイニーズ・ハムスターの V79 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No. T-34)

試験機関：LMP 変異原性試験研究所（ドイツ）

報告書作成年：1985 年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：チャイニーズ・ハムスター胚由来線維芽細胞株 V79 細胞を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体はメタノールに溶解して用いた。

検体処理群および溶媒対照群では、各濃度当り各 4 枚のシャーレを用いて実施し、400 個（各シャーレ当り 100 個）の分裂中期像を観察した。陽性対照群では 200 個（各シャーレ当り 50 個）の細胞を観察した。

代謝活性化存在下および非存在下で検体を 4 時間処理し、7、18 あるいは 28 時間後に標本作製した。

用量設定根拠および曝露用量：

予備試験において、各スライド当り 1000 個の細胞を観察し、算出した分裂指数(MI)では、S9 Mix 非存在下における  $\mu\text{g/mL}$  および存在下における  $\mu\text{g/mL}$  で分裂活性の抑制が認められたため、最高用量を S9 Mix 非存在下あるいは存在下でそれぞれ  $\mu\text{g/mL}$  あるいは  $\mu\text{g/mL}$  と設定した。S9 Mix 存在下では  $\mu\text{g/mL}$  を 4 時間曝露し、曝露後 7、28 時間に標本作製を行った。また、 $\mu\text{g/mL}$  を 4 時間曝露し、標本作製を曝露後 18 時間に行った。S9 Mix 非存在下では  $\mu\text{g/mL}$  を 4 時間曝露し、曝露後 7、28 時間に標本作製を行った。また、 $\mu\text{g/mL}$  を 4 時間曝露し、標本作製を曝露後 18 時間に行った。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

S9 Mix 存在下における  $\mu\text{g/mL}$  曝露・標本作製時間 7 時間でギャップを除く異常細胞頻度が溶媒対照群 (0.25%) よりやや増加 (2.25%) し、MI が 145.83% となったが、この MI の差は溶媒対照値が他の標本作製時間の溶媒対照値と比べて非常に低値であったことによるものであり、また、その他の標本作製時間では異常細胞頻度の増加はみられなかったことから、偶発的な変化と考えられた。従って、検体は、代謝活性化の存在下および非存在下ともいずれの処理群においても染色体異常を誘発しなかったと判断された。

一方、代謝活性化非存在下での陽性対照として用いたメタンスルホン酸エチル (EMS) および代謝活性化存在下での陽性対照として用いたシクロホスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

(CPA) では、顕著な染色体異常の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

試験成績

薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	観 察 細 胞 数	S9 Mix の 有 無	染色体異常を有する細胞数										異常細胞 頻度(%)		MI (%)		
						ギ ヤ ッ プ	同 位 ギ ヤ ッ プ	切 断	同 位 切 断	断 片	同 位 断 片	欠 失	複 合 異 常	交 換	細 粉 化	ギ ヤ ッ プ を 含 む	ギ ヤ ッ プ を 除 く			
溶媒対照 (メタノール)	0	4	7	400	-	5	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.00	0.75	100
検 体		4	7	400	-	3	1	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.75	2.00	62.18
溶媒対照 (メタノール)	0	4	7	400	+	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.50	0.25	100
検 体		4	7	400	+	12	0	9	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4.50	2.25	145.83
溶媒対照 (メタノール)	0	4	18	400	-	11	0	3	0	0	0	1	0	1	0	0	0	3.75	1.25	100
検 体		4	18	400	-	6	0	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3.25	1.75	150.41
		4	18	400	-	6	0	7	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3.25	1.75	87.40
		4	18	400	-	7	2	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3.25	1.00	82.52
陰性対照		4	18	400	-	5	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.25	1.00	100
陽性対照 (EMS)	2500	4	18	200	-	5	1	9	10	0	0	2	42	259	0	0	0	55.00	54.00	30.89
溶媒対照 (メタノール)	0	4	18	400	+	5	0	3	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2.50	1.25	100
検 体		4	18	400	+	3	0	5	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2.50	1.75	81.01
		4	18	400	+	3	1	3	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1.75	0.75	93.46
		4	18	400	+	11	0	6	1	0	3	2	0	0	0	0	0	4.00	2.00	51.63
陰性対照		4	18	400	+	7	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.25	1.50	100
陽性対照 (CPA)	2.79	4	18	200	+	10	0	13	1	1	1	1	3	7	1	0	0	15.00	11.50	48.37
溶媒対照 (メタノール)	0	4	28	400	-	11	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3.75	1.25	100
検 体		4	28	400	-	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.50	0.25	82.56
溶媒対照 (メタノール)	0	4	28	400	+	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.50	0.25	100
検 体		4	28	400	+	4	0	3	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2.25	1.25	114.34

MI：分裂指数

陽性対照物質：メタンスルホン酸エチル (EMS)、シクロホスファミド (CPA)

8) トリホリン原体のチャイニーズ・ハムスターの肺線維芽細胞株 (CHL) を用いた  
*in vitro* 染色体異常試験

(資料 No.T-35)

試験機関：食品医薬品安全性評価センター  
報告書作成年：1992年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：チャイニーズ・ハムスター由来の肺線維芽細胞株 (CHL) を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

検体処理群、溶媒および陽性対照群では、各濃度当り 200 個の分裂中期像を観察した。

直接法 (S9 Mix 非存在下) では検体を 24 あるいは 48 時間処理した後、標本作製した。また、代謝活性化法 (S9 Mix 存在下) では検体を 6 時間処理し、さらに 18 時間培養後、標本作製した。培養は各 2 枚のプレートを用いて実施した。

評価は、染色体構造異常および倍数性細胞を有する細胞の出現頻度は、5%未満を陰性、5%以上 10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とし、再現性あるいは用量相関性が認められた場合に陽性と判断した。なお、統計処理は実施しなかった。

直接法の 24 時間処理において、中間用量群で倍数性の出現頻度が増加したが、高用量群では逆に低下し、疑陽性の結果が得られたため、追加試験 (直接法、24 時間処理) を実施した。

用量設定根拠：

検体の DMSO における溶解限界である  $\mu\text{g/mL}$  を代謝活性化法の最高用量とし、直接法では  $\mu\text{g/mL}$  を最高用量として実施した細胞増殖抑制試験の結果、50%細胞増殖抑制濃度は、直接法では  $\mu\text{g/mL}$  および代謝活性化法では  $\mu\text{g/mL}$  であった。また、 $\mu\text{g/mL}$  以上の用量では、被験物質添加時に被験物質の析出が観察された。以上より、 $\mu\text{g/mL}$  を最高用量とし、以下公比 2 を用いて希釈し、いずれの試験とも  $\mu\text{g/mL}$  および  $\mu\text{g/mL}$  の 4 用量とした。追加試験では、本試験の結果に基づいて、 $\mu\text{g/mL}$  および  $\mu\text{g/mL}$  の 5 用量とした。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

いずれの試験でも最高用量の  $\mu\text{g/mL}$  処理で強い細胞毒性が認められ、評価できなかった。

染色体構造異常の出現頻度は、直接法の 48 時間処理においてのみ僅かに増加する

傾向が認められたが、いずれの処理群においても陽性判定基準の 10%を越えることはなかった。倍数性細胞の出現頻度では、直接法の 24 時間処理において、 $0.1$  および  $1.0$   $\mu\text{g/mL}$  処理でそれぞれ 8.0 および 17.5%に増加したが、 $10.0$   $\mu\text{g/mL}$  処理では 1.5%と減少した。この現象は追加試験においても再現性を伴って認められた。また、直接法の 48 時間処理群において用量反応相関性の増加傾向が認められた。代謝活性化法では、いずれの処理群においても染色体異常を誘発しなかった。一方、直接法の陽性対照として用いた 1-メチル-3-ニトロ-1-ニトロソグアニジン (MNNG) および代謝活性化法の陽性対照として用いた 3,4-ベンゾピレン (B[a]P) は、染色体異常を有する細胞の割合を有意に増加させた。

以上の結果より、検体は本試験条件下の非代謝活性化条件下の高用量において、*in vitro* 試験系の CHL 細胞に対し染色体倍数性細胞特に倍数性細胞の誘発性を有するものと判断される。

本試験の試験成績

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	観 察 細 胞 数	S9 Mix の 有 無	染色体異常を有する細胞数								倍 数 性 細 胞 (%)	判 定
						染色分体型		染色体型		そ の 他	合計 (%)				
						ギ ャ ッ プ 切 断	交 換	切 断	交 換		ギ ャ ッ プ を 含 む	ギ ャ ッ プ を 除 く			
溶媒対照 (DMSO)		24	24	200	-	1	0	1	0	0	0	1.0	0.5	0.0	-
検 体		24	24	200	-	2	1	2	1	1	0	3.5	2.5	8.0	±
		24	24	200	-	2	0	0	0	2	0	2.0	1.0	17.5	+
		24	24	200	-	1	2	3	0	0	0	3.0	2.5	1.5	-
		24	24	-	-	細胞毒性のため、評価できなかった									
陽性対照 (MNNG)	0.5	24	24	200	-	7	25	69	0	2	0	42.0	40.5	0.0	+
溶媒対照 (DMSO)		48	48	200	-	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0	-
検 体		48	48	200	-	1	2	2	0	1	0	3.0	2.5	3.5	-
		48	48	200	-	2	1	1	1	3	0	3.5	3.0	33.0	+
		48	48	200	-	2	4	6	0	2	0	6.0	5.0	56.5	+
		48	48	200	-	細胞毒性のため、評価できなかった									
陽性対照 (MNNG)	0.5	48	48	200	-	14	33	96	2	2	1	54.0	54.0	0.5	+
溶媒対照 (DMSO)		6	24	200	+	0	1	0	1	1	0	1.5	1.5	0.0	-
検 体		6	24	200	+	1	2	0	0	0	0	1.0	1.0	1.0	-
		6	24	200	+	0	0	0	0	1	0	0.5	0.5	0.0	-
		6	24	200	+	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	1.0	-
		6	24	-	+	細胞毒性のため、評価できなかった									
陽性対照 (B[a]P)	30	6	24	200	+	7	14	75	2	7	0	46.5	44.0	0.0	+

陽性対照物質：1-メチル-3-ニトロ-1-ニトログアニジン (MNNG)、3,4-ベンゾピレン (B[a]P)

追加試験の試験成績

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	観 察 細 胞 数	S9 Mix の 有 無	染色体異常を有する細胞数								倍 数 性 細 胞 (%)	判 定
						ギ ャ ッ プ	染色分体型		染色体型		そ の 他	合計 (%)			
							切 断	交 換	切 断	交 換		ギ ャ ッ プ を 含 む	ギ ャ ッ プ を 除 く		
溶媒対照 (DMSO)		24	24	200	-	2	0	0	0	0	0	1.0	0.0	0.5	-
検 体		24	24	200	-	3	0	0	0	1	0	2.0	0.5	1.0	-
		24	24	200	-	1	0	2	1	4	0	4.0	3.5	20.5	+
		24	24	200	-	0	1	3	0	3	0	3.5	3.5	22.5	+
		24	24	200	-	0	1	1	0	0	0	0.5	0.5	2.0	-
		24	24	-	-	細胞毒性のため、評価できなかった									

9) トリホリン原体のチャイニーズ・ハムスターの卵巣細胞株 (CHO) を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No. T-36)

試験機関：Sittingbourne Research Centre (英国)

報告書作成年：1994 年 [GLP 対応]

検体の純度：            %

試験方法：チャイニーズ・ハムスターの継代培養した卵巣細胞株 (CHO-K1) を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

検体処理群、溶媒および陽性対照群では、各濃度当り 200 個の分裂中期像を観察した。

S9 Mix 存在下では、検体を 3 時間処理し、暴露開始 24 あるいは 48 時間後に標本作製した。また、S9 Mix 非存在下では、検体を 24 あるいは 48 時間処理し、標本作製した。各濃度当り 2 培養プレートを用いて検査を実施した。細胞毒性については、1000 個の細胞当りの分裂中期細胞の割合を算出し、分裂指数 (MI) として評価した。

用量設定根拠；

最初に検体の DMSO における試験可能な溶解限界濃度である 1500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を最高用量とし、1500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  までの 10 用量を用いて代謝活性化非存在下で 24 時間処理した結果、 $\mu\text{g}/\text{mL}$  で 85% の細胞増殖抑制がみられ、評価可能な分裂中期像は得られなかったため、この試験では、および  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 3 濃度に関して染色体異常の有無を検討した。続いて、 $\sim \mu\text{g}/\text{mL}$  の 10 用量を用いて代謝活性化非存在下で 24 時間処理した結果、 $\mu\text{g}/\text{mL}$  での細胞増殖率は 63% であったことから、および  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を染色体異常試験に使用した。48 時間連続処理では、 $\sim \mu\text{g}/\text{mL}$  の 6 用量を処理し、 $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の用量で著しい細胞増殖抑制がみられたため、および  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を染色体異常試験に使用した。代謝活性化の存在下では、 $\sim \mu\text{g}/\text{mL}$  の用量を処理した結果、対照群を含め評価可能な分裂中期像は得られなかったが、 $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の用量で細胞増殖抑制がみられたことから、続いて  $\sim \mu\text{g}/\text{mL}$  の 10 用量を 3 時間処理し、さらに 21 時間培養した試験を 2 回実施し、それぞれ および  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で評価可能な分裂中期像は得られなかったことから、最初の試験は、および  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を選択、2 回目の試験では、および  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の用量を染色体異常検査に選択した。代謝活性化の存在下で 3 時間処理および標本作製時間 48 時

間では、 $\sim$   $\mu\text{g/mL}$  の 11 用量を処理した結果、 $\mu\text{g/mL}$  以上の用量で細胞増殖抑制がみられたため、 $\mu\text{g/mL}$  を染色体異常試験に供した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示した。

代謝活性化非存在下における 24 時間処理は、いずれの濃度においても染色体異常を誘発しなかったが、48 時間処理では、最高用量の  $\mu\text{g/mL}$  でギャップを除いた染色体構造異常細胞数の僅かではあるが有意な増加および倍数細胞数の有意な増加が認められた。

代謝活性化の存在下では、24 時間標本作製時間の最初の試験で  $\mu\text{g/mL}$  処理群のみにギャップを除いた染色体構造異常を有する細胞数の有意な増加がみられ、ギャップを含んだ場合には および  $\mu\text{g/mL}$  群で有意に増加し、同位ギャップも含んだ場合には  $\mu\text{g/mL}$  に有意な増加が認められた。2 回目の試験では、 $\sim$   $\mu\text{g/mL}$  の全処理群でギャップを含むおよび除いた構造異常を有する細胞数の有意な増加がみられた。また、3 時間暴露後、45 時間培養し、標本作製した  $\mu\text{g/mL}$  では、ギャップを含むおよび除いた構造異常を有する細胞数および数的異常を示した細胞数の有意な増加もみられた。

一方、代謝活性化非存在下での陽性対照として用いたメタンスルホン酸メチル (MMS) および代謝活性化の存在下での陽性対照として用いたベンゾピレン (B[a]P) は、染色体構造異常を有する細胞の割合を有意に増加させた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において、培養 CHO 細胞に対して高用量の曝露において染色体異常誘発性を有するものと判断される。

試験成績；代謝活性化非存在下

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	観 察 細 胞 数	S9 Mix の 有 無	染色体構造異常を有する細胞数											倍 数 細 胞 (%)	MI (%)			
						染 色 分 体 ギ ャ ッ プ	同 位 ギ ャ ッ プ	染 色 分 体 型 切 断	単 一 断 片	染 色 体 断 片	交 換	二 動 原 体 染 色 体	転 座	環 状	合計 (%) <sup>#</sup>						
															ギ ャ ッ プ を 含 む	ギ ャ ッ プ を 除 く					
溶媒対照 (DMSO)		24	24	200	-	4	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3.03	1.01	1.00	100
検 体		24	24	200	-	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1.50	0.50	0.00	115	
		24	24	200	-	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1.01	0.50	0.50	81	
		24	24	200	-	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2.00	1.00	0.00	124	
陽性対照 (MMS)	20	24	24	200	-	5	6	12	6	17	20	0	3	0			28.43 ▲	24.87 ▲	1.50	/	
溶媒対照 (DMSO)		24	24	200	-	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.01	0.00	0.50	100	
検 体		24	24	200	-	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.00	0.00	/	
		24	24	200	-	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1.52	1.02	1.50	/	
		24	24	200	-	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1.50	0.50	0.00	63	
陽性対照 (MMS)	20	24	24	200	-	7	0	5	0	1	13	0	0	0			11.06 ▲	8.54 ▲	0.50	/	
溶媒対照 (DMSO)		48	48	200	-	6	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	5.53	2.51	0.50	100	
検 体		48	48	200	-	3	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2.54	1.02	1.50	223	
		48	48	200	-	9	1	2	2	9	1	1	0	0	0	0	10.99 ↑	6.81 ↑	4.50 ↑	138	
陽性対照 (MMS)	20	48	48	200	-	12	5	21	4	22	21	0	5	0			33.50 ▲	26.50 ▲	0.00	/	

Fisherの正確検定  $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.05$ 、 $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.01$ 、 $\blacktriangle\blacktriangledown$  :  $p < 0.001$

/ : 測定しなかった。MI : 分裂指数

陽性対照物質 : メタンスルホン酸メチル (MMS)

# : 倍数細胞異常を有した細胞を除いた観察細胞数に対する比率 (%) を示す

試験成績；代謝活性化存在下

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	観 察 細 胞 数	S9 Mix の 有 無	染色体構造異常を有する細胞数											倍 数 細 胞 (%)	MI (%)
						染 色 分 体 ギ ャ ン プ	同 位 ギ ャ ン プ	染 色 分 体 型 切 断	単 一 断 片	染 色 体 断 片	交 換	二 動 原 体 染 色 体	転 座	環 状	合計 (%) #			
															ギ ャ ン プ を 含 む	ギ ャ ン プ を 除 く		
溶媒対照 (DMSO)		3	24	164	+	2	0	0	1	3	5	0	0	0	6.21	5.59	1.83	100
検 体		3	24	200	+	4	1	2	1	0	5	0	0	0	5.56	4.04	1.00	/
		3	24	200	+	10	0	0	1	4	13	0	0	0	12.56 ↑	8.04	0.50	/
		3	24	200	+	16	3	13	4	9	6	0	1	0	17.95 ▲	12.31 ↑	2.50	111
		3	24	200	+	9	0	0	0	7	7	0	0	0	8.54	6.03	0.50	96
陽性対照 ( B P )	25	3	24	200	+	7	6	4	3	28	27	1	3	1	27.00 ▲	24.00 ▲	0.00	/
溶媒対照 (DMSO)		3	24	200	+	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1.01	0.51	1.00	100
検 体		3	24	200	+	4	0	3	1	0	3	0	0	0	5.15 ↑	3.61 ↑	3.00	/
		3	24	200	+	7	2	9	2	3	10	0	1	0	15.38 ▲	10.77 ▲	2.50	/
		3	24	200	+	8	3	5	1	12	12	0	1	0	17.01 ▲	13.92 ▲	3.00	76
陽性対照 ( B P )	25	3	24	150	+	3	12	7	10	26	32	0	4	3	36.24 ▲	34.90 ▲	0.67	/
溶媒対照 (DMSO)		3	48	200	+	4	2	0	0	4	0	1	0	0	5.13	2.05	2.50	100
検 体		3	48	200	+	8	4	5	2	23	10	1	3	0	21.47 ▲	19.77 ▲	11.50 ▲	120

Fisher の正確検定  $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.05$ 、 $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.01$ 、 $\blacktriangle\blacktriangledown$  :  $p < 0.001$

/ : 測定しなかった。MI : 分裂指数

陽性対照物質 : ベンゾピレン (B[a]P)

# : 倍数細胞異常を有した細胞を除いた観察細胞数に対する比率 (%) を示す

10) トリホリン原体のマウスを用いた *in vivo* 染色体異常試験

(資料 No. T-37)

試験機関：Fredrick Institute of Plant Protection  
and Toxicology (インド)

報告書作成年：1986年

検体の純度： %

供試動物： Swiss アルビノマウス、(5-6 週齢、体重雌雄；25-30 g)、1 群雌雄各 5 匹

試験方法： 検体を 2%CMC 水溶液に懸濁させ、 および 5000 mg/kg の投与レベルで単回あるいは 5 日間連続強制経口投与した。なお、溶媒対照群には 2%CMC 水溶液を同様に投与し、陽性対照群にはシクロホスファミド (CP) を 20 mg/kg の投与レベルで強制経口投与した。

単回投与群については、投与 24 時間後、5 日間連続投与群では最終投与の 6 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取してスライドグラス上に滴下、展開し風乾後、ギムザ染色し、骨髄標本を作製した。なお屠殺 2 時間前に 3 mg/kg のコルヒチンを全動物の腹腔内に投与した。

検体投与群および溶媒対照群では、動物当たり 100 個の分裂中期像を観察し、陽性対照群では、動物当たり 50 個の分裂中期像を観察し、構造異常および数的異常を評価した。

用量設定根拠；

用量設定根拠は明確に示されていないが、最高用量の 5000 mg/kg は、試験実施時に得られていた急性毒性試験成績での最大投与可能量（軽微症状の発現）であるとともに、何らかの細胞毒性が想定される（細胞分裂指数を 50%抑制すること）用量として選択されたものと考えられる。

試験結果： 結果を次表に示した。

5000 mg/kg 投与群の雌雄において、投与直後に不活発および傾眠がみられたが、その後回復した。また、同群の一部の雌動物では自発運動への影響が投与後少しの間観察された。

単回投与および連続投与群のいずれの投与群においても染色体構造異常および数的異常の出現頻度の増加はみられなかった。

陽性対照であるシクロホスファミドでは、染色体異常を有する細胞の割合を有意に増加させた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

以上の結果より、検体は本試験条件下において *in vivo* での染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

試験成績

投 与 回 数	薬 劑	投与量 (mg/kg)	動 物 数	性 別	観 察 細 胞 数	染色体構造異常を有する細胞数								構造異 常細胞 数 (%)	倍数 細胞 数	
						ギャップ		断切		断 片	環 状	交 換	そ の 他			合 計
						染 色 分 体	同 位	染 色 分 体	同 位							
単 回	溶媒対照 (2%CMC)	0	5	雄	500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	3
			5	雌	500	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)
	検 体	5000	5	雄	500	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	2
			5	雌	500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	3
			5	雄	500	11	0	1	0	0	0	0	0	1	1(0.2)	3
			5	雌	500	10	1	1	0	1	0	0	0	2	2(0.4)	3
			5	雄	500	15	1	2	0	1	0	0	0	3	3(0.6)	4
			5	雌	500	13	1	1	0	0	0	0	0	1	1(0.2)	2
	陽性対照 (CP)	20	5	雄	250	112	27	91	18	32	0	1	1	143	83(33.2)	5
			5	雌	250	101	20	87	21	20	0	2	0	130	89(35.6)	4
5 日 間 連 続	溶媒対照 (2%CMC)	0	5	雄	500	11	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	1	
			5	雌	500	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	2
	検 体	5000	5	雄	500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	2
			5	雌	500	12	0	1	0	0	0	0	0	1	1(0.2)	1
			5	雄	500	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	4
			5	雌	500	9	0	1	0	0	0	0	0	1	1(0.2)	2
			5	雄	500	14	0	1	1	1	0	0	0	3	3(0.6)	2
			5	雌	500	12	1	0	1	0	0	0	0	1	1(0.2)	3

陽性対照物質：シクロホスファミド (CP)

統計法： $\chi^2$ 検定