

## 1. 原体

### (1) 急性毒性

#### ① ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. I-1)

試験機関：

報告書作成年：1971 年

検体純度： %

供試動物：Donryu 系ラット、1 群雄 10 匹、投与時体重範囲 80~120g

観察期間：7 日間観察

試験方法：LD<sub>50</sub> 値算出 (Litchfield-Wilcoxon 法)

投与方法：オリーブ油で希釈してゾルゲにより胃内投与した。

観察項目：一般症状及び死亡を 7 日間観察した。

試験結果：

投与方法	経口
性別	雄
投与量 (mg/kg)	171, 257, 386, 482, 580, 868
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	410 (360~468)
死亡開始時間及び終了時間	1 時間~3 日
症状発現時間及び消失時間	投与後~数十分
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	171

症状；自発運動低下、振顫、流涎が認められた。

②ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. I-3)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度： %

供試動物：Wistar 系ラット、5週齢、1群雄雌各10匹、体重 雄130~170g 雌110~150g

観察期間：7日間観察

試験方法：LD<sub>50</sub>値算出 (Litchfield-Wilcoxon法)

投与方法：オリーブ油に混和してゾルゲにより胃内投与した。

観察項目：一般症状及び死亡を7日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	167, 200, 240, 288, 346, 415	
LD50 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	270 (231~316)	249 (218~284)
死亡開始時間及び終了時間	2時間~2日	
症状発現時間及び消失時間	5分~1日	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	167	

症状；自発運動低下、流涎、流涙、振顫、間代性痙攣が認められた。  
肉眼的病理検査；特記すべき変化は認められなかった。

③ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. I-4)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度： %

供試動物：Wistar 系ラット、5週齢、1群雄雌各10匹、体重 130±20g

観察期間：7日間観察

試験方法：LD<sub>50</sub> 値算出 (Litchfield-Wilcoxon 法)

投与方法：原体をそのまま背部皮膚に塗布した。

観察項目：一般症状及び死亡を7日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	4000, 5000	
LD50 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000	
死亡開始時間及び終了時間	3日～5日	
症状発現時間及び消失時間	2時間～5日	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	得られなかった	

症状；軽度の流涙、自発運動低下が認められた。

肉眼的病理検査；特記すべき変化は認められなかった。

④ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料No. I-24)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体純度： %

供試動物：SD系ラット、約8週齢、1群雄雌各5匹

暴露開始時体重範囲 雄 195~223g 雌 168~195g

観察期間：14日間観察

投与方法：検体を噴霧し、4時間全身を暴露した。対照として空気のみを通気した。

チャンバ<sup>1)</sup>-内濃度は、ガスロマトグラフ<sup>2)</sup>により測定した。

設定濃度(mg/L)	1.54	4.92	9.95
実際濃度(mg/L)	0.39	1.56	3.48
粒子径分布 (%) <sup>1)</sup>			
>5.5 μm	1.3	2.1	0.75
5.5~2.0	2.6	26.6	12.8
2.0~0.5	98.1	71.4	86.5
空気力学的質量中位径 (μm)	得られていない <sup>2)</sup>		
呼吸可能な粒子 (≤5.5 μm)の割合 (%)	98.7~ 100	97.8~ 98.1	99.0~ 99.5
チャンバ <sup>1)</sup> -容積(L)	130		
チャンバ <sup>1)</sup> -内通気量(L/分)	25		
噴射圧(p. s. i. g)	10~15		
暴露条件	ミスト 4時間 全身暴露		

1) ガスロマトグラフ<sup>2)</sup>により2回測定した平均 2) 報告書に記載されていない

試験項目：暴露中及び暴露後14日間、一般症状及び死亡を観察し、体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼病理学的検査を実施し、肺：体重比を算出した。

試験結果：

投与方法	吸入	
	雄	雌
暴露濃度(mg/L)	0, 0.39, 1.56, 3.48	
LC50(mg/L) (95%信頼限界)	3.17 (得られなかった)	
死亡開始時間及び終了時間	1日~2日	
症状発現時間及び終了時間	6分~9日	
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度(mg/L)	0.39	
死亡例の認められなかった 最大暴露濃度(mg/L)	1.56	

症状；投与量に相関して口腔内を舐める、流涎、呼吸困難、うずくまり姿勢がみられた。

さらに1.56及び3.48mg/L群のみに振顫、運動失調が認められた。

肉眼的病理検査；死亡動物のみに肺のうっ血、胃拡張がみられた。肺：体重比は死亡動物で上昇した以外いずれも正常であった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

①ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料No. II-7)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度：原体

供試動物：ニュージランドホワイト種ウサギ、体重約 2kg、1 群 6 匹

観察期間：72 時間観察

投与方法：背部を剪毛し、各ウサギが同一部分にならないように異なる背部箇所 25cm<sup>2</sup>を剃毛し、0.5ml の検体を 25cm<sup>2</sup> のガゼパッチにつけ、擦過部位と非擦過部位に貼付した。

貼付後 24 時間にガゼパッチを除去した。

観察項目：貼付開始から 8 時間は一般症状を 1 時間毎に観察し、暴露終了後 24、48 及び 72 時間に貼付部位の刺激性変化を観察し、Draize 法の基準に従って採点及び分類した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

動物 番号	項目	最高 評点	非擦過			擦過		
			暴露後時間			暴露後時間		
			24h	48h	72h	24h	48h	72h
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮		0	0	0	2	0	0
	浮腫		0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮		0	0	0	0.3	0	0
	浮腫		0	0	0	0	0	0

暴露後 24 時間に 2 匹の擦過部位に軽度な紅斑が認められたが、非擦過部位にはいずれの動物も刺激反応はみられなかった。

一般症状としては、暴露後 72 時間に軽度な下痢の徴候が 1 匹に現れた以外になにも認められなかった。

以上の結果から、原体のウサギに対する皮膚刺激性はないと考えられる。

②ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. II-1)

試験機関：

報告書作成年：1975年

検体純度：原体

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、6匹、開始時体重範囲 2.5kg、

観察期間：14日間観察

投与方法：検体 100mg を右眼の結膜嚢内に滴下し、左眼は無処理対照眼とした。

観察項目：点眼 1分、1～4時間、1～8、10、14日後に刺激性変化を観察し、Draize法の基準に従って採点及び分類した。また、1日2回死亡の有無を観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点を下表に示す（報告書には動物個体ごとの成績が添付されていないため、試験に用いた6匹の平均値を示した）。

項目			最高 採点	適用後時間				
				時間		日		
				1分	1～4時間	1～8	10	14
非洗眼群 (6匹 平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0
		分泌物*	3	0	0	0	0	0
	合計		110**	0	0	0	0	0

\*：農林水産省の指針では要求されていない

\*\*：Draize法による個体別最高評価点

観察期間中にすべてのウサギの角膜、虹彩及び結膜に刺激性変化（採点はすべて0点）は認められなかった。

また、中毒症状及び死亡も見られなかった。

以上の結果から、原体にはウサギに対する眼刺激性はないと考えられる。

(3)皮膚感作性

①モレットを用いた皮膚感作性試験

(資料No.Ⅲ-1)

試験機関： [GLP 対応]  
報告書作成年：1990年

検体純度： %

供試動物：ハ-トレ系モレット、4週齢、体重243~367g、1群雌15匹(陽性対照群は10匹)

観察期間：48時間観察

試験操作：Buehler法

投与量設定根拠；

感作；検体原液0.5mlを2×4cmのリト布に塗布して、刈毛した背部皮膚に6時間閉塞貼付した。閉塞貼付は7日間隔で3回行なった。また、陽性対照として2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)0.5%イタノール溶液を用いた。なお、非感作群として溶媒処理群を設けた。

惹起；最終感作後14日に感作群及び非感作群の刈毛した左腹側部に検体の10%7セトン溶液または検体原液0.1mlを塗布した2×2cmのリト布を6時間貼付した。陽性対照群には0.5%DNCB7セトン溶液を処理した。

観察項目；惹起後24及び48時間に紅斑及び浮腫等の皮膚反応を観察した。また、試験期間中毎日一般症状を観察した。体重を0(感作処理直前)、7、14、21及び30日に測定した。

試験結果；各観察時間における結果を下表に示す。

群			供試動物数	感作反応動物数										陽性率	
				24時間後					48時間後					24時間	48時間
				皮膚反応評点					皮膚反応評点						
感作	惹起		0	1	2	3	計	0	1	2	3	計			
検体	100% 検体	100% 検体	15	15	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0
		10% 検体	15	15	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0
	溶媒*	100% 検体	15	15	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0
		10% 検体	15	15	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0
陽性 対照	0.5% DNCB	0.5% DNCB	10	0	0	0	10	10	0	1	0	9	10	100	100
	溶媒**	0.5% DNCB	10	1	9	0	0	9	3	7	0	0	7	90	70

\*：蒸留水 \*\*：イタノール

検体の感作群及び非感作群では惹起後24及び48時間の観察において、いずれの動物にも皮膚に変化は認められず、感作率は0%であった。一方、陽性対照群では惹起後非感作群と比べ、感作群に強い皮膚反応が認められ感作率は100%であった。

また、観察期間中一般症状及び体重に異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤のモレットにおける皮膚感作性は陰性と考えられる。

②モルレットを用いた皮膚感作性試験

(資料No.Ⅲ-7)

試験機関： [GLP 対応]  
報告書作成年：2004 年

検体純度： %

供試動物：ハートレ系白色モルレット、感作開始時 6 週齢、体重範囲 312~397g

検体感作群 雌 20 匹、検体非感作群 雌 10 匹

観察期間：感作開始日から惹起終了後 48 時間までの 24 日間

試験操作：Maximization 法

用量設定根拠；

処理事質；感作及び惹起物質を下表に示す。

群	感 作		惹 起
	皮 内	経 皮	
検体 感作群	①注射用水と FCA との等量混合液 ②100%検体液 ③100%検体液と FCA との等量混合液	100%検体液	①100%検体液 ②10%検体オリーブ油液 ③オリーブ油
検体 非感作群	①注射用水と FCA との等量混合液 ②オリーブ油 ③オリーブ油と FCA との等量混合液	オリーブ油	①100%検体液 ②10%検体オリーブ油液 ③オリーブ油

FCA：フライント完全アジュバント

処理方法；皮内感作は、毛刈り・剃毛した動物の肩甲骨部に処理事質①、②及び③を 2×4cm の区画の左右各 1 箇所それぞれ 0.1ml ずつ皮内投与した。

経皮感作は、皮内感作 7 日後に処理事質の 0.2ml を 2×4cm のパッチに塗布して肩甲骨部に 48 時間閉塞貼付した。

惹起は、皮内感作 21 日後に処理事質①、②及び③を 1.5×1.5cm のパッチにそれぞれ 0.1ml 塗布し、毛刈り・剃毛した動物の左側胴部に 24 時間閉塞貼付した。

観察項目：以下に示した項目について観察及び測定を行った。

一般状態；感作開始日 (0 日) から惹起後の皮膚の観察終了日 (24 日後) まで毎日、動物の一般状態を観察した。

体重測定；感作開始日 (0 日)、経皮感作日 (7 日後)、惹起日 (21 日後) 及び観察終了日 (24 日後) に全動物の体重を測定した。



皮膚反応；皮膚反応の観察は、惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に行い、次に示す Magnusson & Kligman の基準に従って評点した。

皮膚反応の評価表

皮膚反応の程度	評点
肉眼的に変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

評価；評点 1 以上を陽性とする陽性率 (%) を算出し、感作群と非感作群の平均評点及び陽性率を比較して感作性を評価した。

試験結果：各観察時間における結果を下表に示す。

群	処理			匹数	感作反応動物数								陽性動物数	陽性率 (%)
	感作		惹起		24 時間後				48 時間後					
	皮内	経皮	経皮		皮膚反応評点				皮膚反応評点					
					0	1	2	3	0	1	2	3		
検体感作	100%	100%	100%	20	0	2	12	6	0	0	12	8	20	100
			10%	20	0	5	12	3	0	5	13	2	20	100
			溶媒*	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
検体非感作	溶媒*	溶媒*	100%	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			10%	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			溶媒*	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0

\*: 刺-ブ油

検体感作群の 100% 検体液 (原液) 及び 10% 検体刺-ブ油液の惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に評点 1~3 の紅斑及び浮腫が全匹 (20/20 匹) に認められた。平均評点は 100% 検体液の 24 時間後で 2.2、48 時間後で 2.4、10% 検体刺-ブ油液の 24 及び 48 時間後で 1.9 であり、感作率はそれぞれ 100% であった。

なお、直近に実施したモレットの陽性対照物質 (DNFB: 2,4-ジニトロクロベン) に対する感受性の確認試験 (2004 年 01 月 28 日~2004 年 04 月 16 日) では、陽性率は 100% であった。

一般状態及び体重では検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において検体は皮膚感作性を有すると判断した。

#### (4)急性神経毒性

①ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料No.IV-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度： %

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、開始時 6 週齢、

投与開始時体重範囲 雄 158.4~192.7g 雌 124.7~149.2g

観察期間：14 日間

投与方法：検体を溶媒（オリーブ油）に溶解して単回強制経口投与した。対照群には溶媒を投与した。群構成を次表に示す。

群	投与量 (mg/kg)	使用動物数 (匹)	
		雄	雌
対照群	0	10	10
検体投与群	150	10	10
	300	10	10
	600	10	10

投与量設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

### 観察・検査項目及び結果

死亡率：生死を投与前（投与0日）、投与後5、15及び30分、1、2、4、6及び8時間、投与翌日から投与後14日までは1日2回観察した。

600mg/kg 群雌1匹が投与後1日に死亡した。その他に死亡は認められなかった。

一般状態：投与前（投与0日）、投与後5、15及び30分、1、2、4、6及び8時間、投与翌日から投与後14日までは1日2回観察した。認められた所見を次表に示す。

性	雄				雌			
	0	150	300	600	0	150	300	600
投与量(mg/kg)	0	150	300	600	0	150	300	600
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10*
症状								
異常なし	10	8	7	1	5	6	9	0
軟便	0	2	3	3	5	4	1	5
活動度の低下	0	0	0	9	0	0	0	7
呼吸緩徐	0	0	0	6	0	0	0	7
縮腫	0	0	0	9	0	0	0	9
流涎	0	0	0	7	0	0	0	3
振戦	0	0	0	9	0	0	0	7
流涙	0	0	0	1	0	0	0	0
下腹部汚染	0	0	0	2	0	0	0	4
肛門周囲汚染	0	0	0	0	1	1	0	2

\*：投与後2日以降は9匹/群

600mg/kg 群の雌雄で活動度の低下、呼吸緩徐、縮腫、流涎、振戦及び下腹部汚染が、同群の雄で流涙が認められた。生存例において、これら投与日に観察された症状はほとんどの動物で投与後1日に消失する可逆的な変化であった。一部の動物で投与後1日以降も症状が継続したが、投与後5日までにいずれの例も回復した。その他に雄の対照群を除く雌雄各群で軟便、雄の全群と雌の300mg/kg 群を除く各群で軟便に伴う肛門周囲汚染が認められた。これらの症状は対照群と比較して発現頻度及び発現時間に明らかな差異が見られなかったことから検体投与に関連した変化とは考えなかった。

体重変化：投与前（投与0日）、投与後1、3、7及び14日に測定した。

体重変化は以下の通りであった。

性	雄				雌			
	0	150	300	600	0	150	300	600
投与量(mg/kg)	0	150	300	600	0	150	300	600
投与前 (投与0日)	179.4	176.1 (98)	178.2 (99)	177.5 (99)	136.4	135.2 (99)	136.3 (100)	135.9 (100)
投与後1日	206.3	201.9 (98)	201.6 (98)	187.3 $\downarrow$ (91)	156.3	154.0 (99)	155.6 (100)	148.1 (95)
投与後3日	228.9	225.6 (99)	224.9 (98)	211.1 $\downarrow$ (92)	168.8	166.1 (98)	165.8 (98)	161.6 (96)
投与後7日	270.9	267.1 (99)	265.6 (98)	254.5 (94)	187.2	182.1 (92)	184.9 (99)	180.5 (96)
投与後14日	335.0	327.9 (98)	326.6 (97)	319.2 (95)	212.7	204.1 (96)	207.3 (98)	206.4 (97)

Dunnett 又は Steel 多重比較検定

$\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.05$

$\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.01$

上段は絶対値 (g)、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

600mg/kg 群の雄で投与後1~3日まで体重の低値が認められたが、その後は回復した。雌では明らかな影響は認められなかった。

詳細な状態の観察：投与前（投与0日）、投与後4時間、投与後7及び14日に、各群雌雄各10匹（600mg/kg 群雌の投与後7及び14日は9匹）を対象として、以下の項目について行った。

(1)ホムケージでの観察

- 1)ケージ内観察；姿勢、痙攣、異常・常同行動、振戦
- 2)ケージ外観察；取り扱い易さ、異常発声、振戦、筋攣縮、痙攣、呼吸、流涎、流涙、瞳孔径、眼球突出、目・鼻の分泌物、皮膚、立毛、毛並み、可視粘膜、尿失禁、筋緊張、体温

(2)オープンフィールドでの観察；覚醒状態、歩行異常、異常・常同行動、眼瞼下垂、下痢、糞、尿

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目及び検体投与に関連した変化と考えられた項目を次表に示す。

観察項目	観察時期	評点	雄					雌				
			n	投与量 (mg/kg)				n	投与量 (mg/kg)			
				0	150	300	600		0	150	300	600
ケージ内観察 姿勢 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	1		0	0	0	0		0	0	0	1
		②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
	投与後 7 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
投与後 14 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
ケージ内観察 振戦 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	①		10	10	10	7		10	10	10	6*
		2	10	0	0	0	1	10	0	0	0	3
		3		0	0	0	2		0	0	0	1
	投与後 7 日	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
投与後 14 日	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
ケージ外観察 取扱い易さ (動物数)	投与前 (投与 0 日)	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	1		0	0	0	1		0	0	0	5*
		②	10	10	10	10	9	10	10	10	10	5
	投与後 7 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
投与後 14 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
ケージ外観察 振戦 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	①		10	10	10	7		10	10	10	6*
		2	10	0	0	0	1	10	0	0	0	3
		3		0	0	0	2		0	0	0	1
	投与後 7 日	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
投与後 14 日	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
ケージ外観察 呼吸 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	①		10	10	10	8		10	10	10	6*
		3	10	0	0	0	2	10	0	0	0	4
		①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
	投与後 14 日	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
ケージ外観察 流涎 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	①		10	10	10	9		10	10	10	10
		3	10	0	0	0	1	10	0	0	0	0
		①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
	投与後 14 日	①	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
ケージ外観察 瞳孔径 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	1		0	0	0	9**		0	0	0	9**
		②	10	10	10	10	1	10	10	10	10	1
	投与後 7 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
投与後 14 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
オープンフィールド'観察 覚醒状態 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	1		0	0	0	2		0	0	0	5*
		②	10	10	10	10	8	10	10	10	10	5
	投与後 7 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
投与後 14 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	
オープンフィールド'観察 歩行 (動物数)	投与前 (投与 0 日)	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後 4 時間	1		0	0	0	0		0	0	0	2
		②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8
	投与後 7 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
投与後 14 日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	

n : 検査動物数 (600mg/kg 群雌の投与後 7 及び 14 日は 9 匹)

Wilcoxon rank-sum test \* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (群全体の有意差を示す)

評点の丸付き数値は、正常時の評点を示す。

投与後4時間の詳細な状態の観察において、ケージ内観察で600mg/kg群の雌雄で振戦、同群の雌で姿勢異常（統計学的有意差なし）が、ケージ外観察で600mg/kg群の雌雄で動物の取扱いが容易（抵抗が少ない）となり、振戦、呼吸不全及び縮瞳、更に同群の雄で流涎（統計学的有意差なし）が認められた。オープンフィールド観察では600mg/kg群の雌雄で覚醒状態の低下が認められ、同群の雌で歩行が見られなかった（統計学的有意差なし）。

機能検査：投与前（投与0日）、投与後4時間、投与後7及び14日に、各群雌雄各10匹（600mg/kg群雌の投与後7及び14日は9匹）を対象として、以下の項目について行った。

- (1) 感覚機能検査；視覚検査、聴覚検査、触覚検査、痛覚検査、正向反射、瞳孔反射
- (2) 握力測定
- (3) 自発運動量測定

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目及び検体投与に関連した変化と考えられた項目を次表に示す。

観察項目	観察時期	評点	雄				雌					
			n	投与量 (mg/kg)				n	投与量 (mg/kg)			
				0	150	300	600		0	150	300	600
感覚機能 視覚 (動物数)	投与前 (投与0日)	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後4時間	1 ②	10	0 10	0 10	0 10	0 10	10	0 10	0 10	0 10	1 9
	投与後7日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
	投与後14日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
感覚機能 痛覚 (動物数)	投与前 (投与0日)	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	投与後4時間	1 ②	10	0 10	0 10	0 10	0 10	10	0 10	0 10	0 10	1 9
	投与後7日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
	投与後14日	②	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9
観察項目	観察時期	n	雄				n	雌				
			投与量 (mg/kg)					投与量 (mg/kg)				
			0	150	300	600		0	150	300	600	
握力 後肢 (g)	投与前 (投与0日)	10	180	177	168	185	10	193	179	179	197	
	投与後4時間	10	283	227	235	174*	10	268	245	248	152**	
	投与後7日	10	350	299	308	308	10	288	265	274	242	
	投与後14日	10	392	323	321	330	10	339	312	335	327	
自発運動量 (1時間の 総量)	投与前 (投与0日)	10	5089	4374	4401	3417	10	7654	4997	5025	6633	
	投与後4時間	10	2887	2529	2884	1765 <sup>+</sup>	10	3392	3871	2988	2622 <sup>+</sup>	
	投与後7日	10	8382	7968	7549	9288	10	4907	7838	3998	5409	
	投与後14日	10	7180	6851	6667	5635	10	8959	6645	7089	8592	

n：検査動物数（600mg/kg群雌の投与後7及び14日は9匹）

Dunnett 又は Steel 多重比較検定 \*：p<0.05、\*\*：p<0.01

+：測定開始後0～10分間の運動量で統計学的有意差が認められた（p<0.05）

感覚機能検査では、投与後4時間の測定で600mg/kg群の雌で視覚反応及び痛覚反応の低下が認められた。握力測定では、投与後4時間の測定で600mg/kg群の雌雄で後肢握力の低下が認められた。自発運動量測定では、投与後4時間の測定で600mg/kg群の雌雄で測定開始後0～10分間の運動量が低下したが、1時間合計の運動量に変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査：投与期間終了後の全生存動物及び途中死亡動物（600mg/kg 群雌 1 匹が投与後 1 日に死亡した。）について、全ての器官及び組織について異常の有無を検査した。

生存動物及び途中死亡動物では、検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：投与期間終了後、各群雌雄 5 匹の動物を対象にペントバルビタルで麻酔し灌流固定した後、次の組織を 10% 中性緩衝ホルマリン溶液に保存した。

大脳（前脳及び海馬を含む大脳中心部）、中脳、小脳、橋、延髄、視神経、眼球（網膜を含む）、脊髄の頸膨大部、脊髄の腰膨大部、脊髄神経節、神経線維の前根、神経線維の後根、近位坐骨神経、近位脛骨神経（膝部）、脛骨神経の腓腹筋分岐部、腓腹筋

病理組織学的検査は、灌流固定を行った対照群及び 600mg/kg 群雌雄各 5 匹について上記で示した組織の病理標本を作製し鏡検した。なお、脊髄と末梢神経は、その横断面と縦断面の両方を検査した。

病理組織学的検査の結果、600mg/kg 群の大脳で検体投与の影響が認められたことから、300mg/kg 群の大脳についても同様に検査した。

150mg/kg 群及び 300mg/kg 群の大脳を除く組織については、600mg/kg 群で検体投与に関連した変化が認められなかったことから、検査は実施しなかった。

認められた病理組織学的所見を次表に示す。

臓器	部位	所見	程度	雄				雌			
				投与量 (mg/kg)				投与量 (mg/kg)			
				0 (5)	150 (0)	300 (5)	600 (5)	0 (5)	150 (0)	300 (5)	600 (5)
大脳	皮質	神経細胞の壊死	-	5		5	4	5		5	5
			+	0		0	1	0		0	0
			++	0		0	0	0		0	0
			+++	0		0	0	0		0	0
	海馬	神経細胞の壊死	-	5		5	4	5		5	5
			+	0		0	1	0		0	0
			++	0		0	0	0		0	0
			+++	0		0	0	0		0	0
	視床	神経細胞の壊死	-	5		5	4	5		5	5
			+	0		0	1	0		0	0
			++	0		0	0	0		0	0
			+++	0		0	0	0		0	0

Mann-Whitney U 検定 投与量欄の「括弧付数値は検査動物数」を示す。

表中の「数値は発現動物数」及び「空欄は検査を実施しなかった」を示す。

600mg/kg 群の雄で大脳の皮質、海馬及び視床に軽度な神経細胞の壊死が認められた。その他に検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する経口投与による急性神経毒性試験における影響として、600mg/kg 群で死亡（雌）、一般状態で活動度の低下、呼吸緩徐、縮瞳、流涎、振戦及び下腹部汚染、流涙（雄）、体重の低値（雄）、詳細な状態の観察で振戦、姿勢異常（雌）、取り扱いが容易（抵抗が少ない）、呼吸不全、縮瞳、流涎（雄）、覚醒状態の低下、歩行が見られない（雌）、機能検査で視覚反応及び痛覚反応の低下（雌）、後肢握力の低下、自発運動量の低下（測定開始後 0～10 分間の運動量）、病理組織学的検査で大脳皮質、海馬及び視床に軽度な神経細胞の壊死（雄）が認められた。

従って、本実験条件下における神経毒性学的な無毒性量は雌雄とも 300mg/kg と判断された。

## (5) 急性遅発性神経毒性

### ① 雌コトリにおける急性遅発性神経毒性試験

(資料No.IV-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体純度： %

供試動物：Lohmann Brown 雌コトリ、9 ヶ月齢、投与時体重 1318-1820 g、

対照群 14 羽、投与群 25 羽

観察期間：21 日間

試験方法：投与量は、450mg/kg(有効成分表示)とした。

検体をコーン油に溶解させて 45mg/ml 濃度とし、10ml/kg の容量を投与した。陰性対照群には溶媒であるコーン油を同様に投与した。

また、陽性対照として TOCP1000mg/kg を経口投与した急性遅発性神経毒性試験を予め別途実施して期待通りの遅発性神経毒性を確認し、試験系の感受性及び遅発性神経毒性の評価法が適切であることを確認した。

投与量設定根拠；

試験項目：死亡、一般状態を毎日 21 日間観察した。体重を投与前 7 日、投与日、投与後 7、14、21 日に測定した。投与の 24 及び 48 時間後に各群の 3 羽を屠殺し、脳及び脊髄のアセチルリンエステラーゼ (AChE) 活性及び神経毒性エステラーゼ (NTE) 活性を測定した。

21 日間の観察期間終了後、各群の 6 羽を屠殺し、脳、脊髄及び末梢神経を病理組織学的に検査した。

### 試験結果

死亡；急性毒性により、検体投与群の 1 羽が殺処分された。

一般症状；急性コリン作用に一致する症状（沈鬱及びよろめき等）が検体投与群で投与後の最大 6 日間に認められたが、以後回復した。

遅発性運動失調；対照群及び検体投与群のいずれの群においても認められなかった。

体重；検体投与群で最初の 7 日間に平均体重が約 5%程度減少したが、その後回復した。

酵素活性；遅発性神経毒性の指標である NTE 活性には、検体投与の影響が認められなかった。

急性コリン作用に対応する AChE 活性阻害が検体投与群で認められ、投与 24 時間後には脳で 73%、脊髄で 59%であったが、投与 48 時間後には脳で 54%、脊髄で 43%であり、投与 48 時間後には僅かながら回復傾向が認められた。

剖検所見；検体投与による特記すべき変化は認められなかった。

病理組織学的検査；検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤は急性遅発性神経毒性(有機リン剤誘発性遅発性神経障害-OPIDN)を誘発しないと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

## (6) 90 日間反復経口投与毒性

① 伊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 (資料No.V-3)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体純度： %

供試動物：ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始時 6 ヶ月齢、

投与開始時体重範囲 雄 7.3~9.4kg 雌 6.6~8.6kg

投与期間：雄 90 日間 (2008 年 9 月 11 日~2008 年 12 月 9 日)

雌 91 日間 (2008 年 9 月 11 日~2008 年 12 月 10 日)

投与方法：検体を 0、10、30 及び 100ppm の濃度になるように飼料に混合し、90 日間にわたって 1 日 1 回、1 匹当たり 300g を摂取させた。検体を混合した飼料は投与開始当初の 8 日間は 4 日に 1 回、以降は 1 週間に 1 回の頻度で調製した。

対照群には無処理の飼料を摂取させた。

投与量設定根拠；

### 観察・検査項目及び結果

一般状態及び死亡率：投与開始前は 1 回/日、投与期間中は 2 回/日観察した。

投与期間を通して死亡あるいは瀕死例はなく、一般状態に検体投与に関連した変化は認められなかった。

体重変化：投与開始前は投与前 1 週及び 2 週、投与開始日、投与期間中は 1 回/週、解剖日に測定した。

投与期間を通して検体投与に関連した変化は認められなかった。

摂餌量：投与開始前から投与期間終了まで毎日測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた時期を示す。

性	雄				雌			
	0	10	30	100	0	10	30	100
投与 4 週	300	300 (100)	300 (100)	292 (97)	300	287 (96)	278 ↓ (93)	300 (100)
投与 8 週	300	300 (100)	300 (100)	283 (94)	300	281 (94)	251 ↓ (84)	292 (97)

Nonparametric Dunnett's 検定 ↑ ↓ : p<0.05

上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

有意な低値が雌の 30ppm 群で投与 4 及び 8 週に認められたが、用量との関連のない変化であった。これ以外には投与期間中の摂餌量に異常は見られず、対照群と差異はなかった。

検体摂取量：飼料摂取量及び体重から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		10	30	100
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.32	0.96	3.17
	雌	0.33	0.98	3.38

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

血液学的検査：投与開始前は投与前1週及び2週、投与期間中は投与4、8及び13週に全動物を対象として、16時間以上の絶食後、橈側皮静脈から採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数(RBC)、血色素量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、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)、網赤血球率(Reticulocyte)、血小板数(Platelet)、白血球数(WBC)、白血球百分率、プロトロン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、フィブリノーゲン量(FIB)

検体投与に関連した変化は認められなかった。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 群 (ppm)		雄				雌			
		0	10	30	100	0	10	30	100
MCHC	投与8週	35.5	35.2 (99)	35.0 ↓ (99)	35.5 (100)	35.5	35.5 (100)	35.3 (99)	35.0 (99)
WBC	投与前1週	144.5	120.2 (83)	107.9 (75)	101.7 ↓ (70)	105.5	102.6 (97)	98.4 (93)	128.0 (121)
	投与13週	145.6	128.1 (88)	127.6 (88)	89.7 (62)	101.0	93.7 (93)	105.9 (105)	128.7 ↑ (127)
白血球百分率 好酸球	投与4週	1.2	2.0 (167)	1.5 (125)	3.7 ↑ (308)	1.1	1.3 (118)	1.8 (164)	2.9 (264)

Dunnett's 検定 ↑ ↓ : p<0.05

上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

MCHCの有意な低値が雄の30ppm群で投与8週に認められたが、用量との関連のない変化であった。白血球数の有意な高値が雌の100ppm群で投与13週に認められたが、同群の投与前値とほぼ同等な値であり、検体投与と関連のない変化であった。好酸球比率の有意な高値が雄の100ppm群で投与4週に認められたが、他の白血球百分率に著変はみられておらず、毒性学的意義のない一過性の変化と判断した。

血液生化学的検査：投与開始前は投与前1週及び2週、投与期間中は投与4、8及び13週に全動物を対象として、16時間以上の絶食後、橈側皮静脈から採血し、以下の項目について検査した。

ALP、コレステロール、トリグリセリド、リン脂質、ビリルビン、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、塩化物、カルシウム、無機リン、総たん白質、アルブミン、A/G比、AST (GOT)、ALT (GPT)、γ-GTP、LDH、CPK、血漿コリンエステラーゼ

検体投与に関連した変化は認められなかった。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 群 (ppm)		雄				雌			
		0	10	30	100	0	10	30	100
ALP	投与前1週	390	402 (103)	446 (114)	399 (102)	313	357 (114)	325 (104)	424 企 (135)
	投与8週	332	284 (86)	322 (97)	317 (95)	240	246 (103)	234 (98)	337 ↑ (140)
ナトリウム	投与8週	149	150 (101)	149 (100)	150 (101)	149	151 ↑ (101)	150 (101)	149 (100)
γ-GTP	投与13週	3	3 (100)	3 (100)	3 (100)	4	2 ↓ (50)	3 (75)	3 (75)

Dunnett's 検定又は Nonparametric Dunnett's 検定 ↑ ↓ : p<0.05 企 ↓ : p<0.01

上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

ALPの有意な高値が雌の100ppm群で投与8週に認められたが、同群では投与前にも

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

有意な高値が認められており、検体投与と関連のない一過性の変化と判断した。

ナトリウムの有意な高値が雌の 10ppm 群で投与 8 週、 $\gamma$ -GTP の有意な低値が同群で投与 13 週に認められたが、いずれも用量との関連のない変化であった。

赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性測定：赤血球コリンエステラーゼ活性は投与開始前には投与前 1 週及び 2 週、投与期間中は投与 4、8 及び 13 週に全動物を対象として、16 時間以上の絶食後、橈側皮静脈から採血し検査した。脳コリンエステラーゼ活性は投与期間終了後に全動物を対象として、病理組織学的検査用に採取した脳組織の一部を測定用試料とした。検査結果を示す。

性		雄				雌			
群 (ppm)		0	10	30	100	0	10	30	100
赤血球	投与前 2 週	2.68	2.44 (91)	2.40 (90)	2.11 (79)	2.92	2.67 (91)	2.40 (82)	2.16 ↓ (74)
	投与前 1 週	2.57	2.41 (94)	2.20 (86)	1.86 (72)	2.56	2.29 (89)	2.23 (87)	2.08 (81)
	投与 4 週	3.10	2.87 (93)	2.16 ↓ (70)	1.21 ♀ (39)	3.44	2.71 ↓ (79)	2.35 ♀ (68)	0.82 ♀ (24)
	投与 8 週	2.20	1.74 (79)	1.40 ♀ (64)	0.83 ♀ (38)	2.41	2.01 (83)	1.54 ♀ (64)	0.78 ♀ (32)
	投与 13 週	2.38	2.21 (93)	1.60 ↓ (67)	1.03 ♀ (43)	2.69	2.31 (86)	1.72 ♀ (64)	0.80 ♀ (30)
脳	投与 13 週	17.54	28.95 (165)	27.32 (156)	20.18 (115)	19.29	23.10 (120)	21.66 (112)	18.98 (98)

Dunnett's 検定      ↑ ↓ : p<0.05      ♀ ♂ : p<0.01  
上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な低値が雌雄の 30 及び 100ppm 群で投与 4 週以降に認められ、100ppm 群における減少の程度は 30ppm 群のそれに比して明らかに大きかった。赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な低値は雌の 10ppm 群でも投与 4 週に認められた。しかしながら、この値は投与前 2 週あるいは投与前 1 週の測定値とほぼ同等（同群雌における投与前 2 週値に比した平均変化率 101%、個体動物での変化率 89~117%）あるいはやや高値（同じく投与前 1 週値に比した平均変化率 118%、個体動物での変化率 110~127%）を示しており、検体投与と関連のない偶発的な変動と判断した。

脳コリンエステラーゼ活性に検体投与の影響はみられなかった。

尿検査：投与開始前は投与前 1 週及び 2 週、投与期間中は投与 4、8 及び 13 週に全動物を対象として、以下の項目について検査した。

pH、たん白質、グルコース、ケトン体、潜血、ウビリノーゲン、ビリルビン、色調、比重、沈渣、尿量、ナトリウム、カリウム、塩化物

検体投与に関連した変化は認められなかった。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

性		雄				雌			
群 (ppm)		0	10	30	100	0	10	30	100
比重	投与前 2 週	1.017	1.018 (100)	1.022 (100)	1.029 ↑ (101)	1.021	1.030 (101)	1.021 (100)	1.025 (100)
尿量	投与 8 週	290	273 (94)	310 (107)	148 ♀ (51)	185	175 (95)	125 (68)	208 (112)

Dunnett's 検定      ↑ ↓ : p<0.05      ♀ ♂ : p<0.01  
上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

尿量の有意な低値が雄の 100ppm 群で投与 8 週に認められたが、他の尿検査項目に著変はみられておらず、毒性学的意義のない一過性の変化と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

眼科学的検査：投与開始前に1回（投与前2週）、投与期間中は投与12週に全動物を対象として検査した。

検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量：投与期間終了後に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳（大脳、小脳、延髄を含む）、下垂体、甲状腺、副腎、胸腺、脾臓、心臓、肺（気管支を含む）、顎下腺、肝臓（胆嚢を含む）、膵臓、腎臓、精巣/卵巣、子宮、前立腺

検体投与に関連した変化は認められなかった。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を示す。

性			雄				雌			
群 (ppm)			0	10	30	100	0	10	30	100
甲状腺	右	重量	411	270 ↓ (66)	447 (109)	356 (87)	311	298 (96)	345 (111)	335 (108)
		対体重比	4.02	2.64 ↓ (66)	4.21 (105)	3.56 (89)	3.19	3.41 (107)	4.10 (129)	3.58 (112)
卵巣	左	重量					299	286 (96)	362 (121)	544 ↑ (182)
		対体重比					3.10	3.25 (105)	4.14 (134)	5.64 ↑ (182)
	左右	重量					606	542 (89)	669 (110)	1147 (189)
		対体重比					6.29	6.13 (97)	7.65 (122)	11.67 ↑ (186)

Dunnett's 検定      ↑ ↓ : p<0.05

上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

甲状腺（右）の重量及び対体重比の有意な低値が雄の10ppm群で認められたが、用量との関連のない変化であった。卵巣の重量（左）及び対体重比（左及び左右合計）の有意な高値が雌の100ppm群で認められたが、卵巣の病理組織所見に異常はみらず、性成熟（発情）を反映した被験物質と関連のない変化と判断した。

肉眼病理学的検査：投与期間終了後に全動物を対象として剖検を行った。

検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：全動物を対象として以下の組織について検査した。

大脳、小脳、延髄、脊髓（頸部・胸部・腰部）、視神経、坐骨神経、眼球、涙腺、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、胸腺、脾臓、頸部リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、大動脈（大動脈弓）、気管、肺（気管支を含む）、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、顎下腺、舌下腺、肝臓、胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、精巣/卵巣、精巣上体/子宮、前立腺/膣、乳腺、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）、大腿部骨格筋、皮膚（腹部）

検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤の仮に対する飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験における影響として、30ppm以上で赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が見られたことから、無毒性量は雌雄10ppm（雄0.32mg/kg/日、雌0.33mg/kg/日）であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

②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 (資料No V-1)  
試験機関：

報告書作成年：1972 年

検体純度：原体

供試動物：Donryu 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、体重 雄 130~140g 雌 170~180g

投与期間：90 日間

投与方法：検体を 0、5、10、30、100、300 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間摂食させた。

試験項目及び結果

一般症状及び死亡率；一般症状及び死亡を毎日観察した。

特に変化は認められず、死亡例もなかった。

体重変化；毎日一定時間に測定した。

1000ppm 群雄は 2 週目以降、同群雌は 6 週目以降に増体重抑制が認められ、特に雄で著明であった。

飼料摂取量；一定時間に測定し、飼料効率を算出した。

2 週目以降雄の全投与群で、対照群より低下したが、雌では著明な差は認められなかった。

検体摂取量；飼料摂取量及び体重から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		5	10	30	100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.35	0.69	2.05	7.00	22.25	81.00
	雌	0.32	0.66	1.95	6.51	20.15	69.00

飲水量；一定時間に測定した。

1000ppm 群雄の 5、6 週目、同群雌の 1、2、3、5、6 週に若干低下したのみであった。

血液検査；投与終了後、心臓から採血し、赤血球数、ヘマトクリット値、血色素量、白血球数及び白血球百分率を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	雄						雌					
	5	10	30	100	300	1000	5	10	30	100	300	1000
白血球数						135♂						171♂
白血球百分率						77♂						58♂
リンパ球												
好酸球												
桿状球						225↑						
分葉球						148♂						

↓ ↑ : p < 0.05      ♂♂ : p < 0.01 (報告書に統計処理法の記載なし)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

統計的に有意な変化は 1000ppm 群に限られ、雄の白血球数増加、リンパ球低下、桿状球増加、分葉球増加、雌の白血球数増加、好酸球低下が認められた。

血液化学的検査；血液検査と同じ血液を用いて、GOT、GPT、アルカリホスファターゼ、尿素窒素、A/G 比、血糖、総蛋白、コレステロール、ナトリウム、カリウム、塩化物及び脳・赤血球・血漿コリンエステラーゼを測定した。対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

性別	雄						雌					
	5	10	30	100	300	1000	5	10	30	100	300	1000
GOT					85↓	80↓					87↓	58↓
GPT					76↓	66↓				84↓	69↓	58↓
尿素窒素						117↑						119↑
A/G 比					135↑	128↑			118↑	118↑	133↑	175↑
血糖					117↑	135↑				112↑		165↑
総蛋白					108↑	108↑					105↑	
コレステロール									115↑			134↑
ナトリウム						112↑						
カリウム					88↓	85↓				90↓	83↓	81↓
塩化物						96↓						93↓
赤血球コリンエステラーゼ*			65↓	60↓	50↓	55↓			63↓	58↓	53↓	58↓
血漿コリンエステラーゼ*						71↓						

↑ ↓ : p<0.05      ↓ ↑ : p<0.01 (報告書に統計処理法の記載なし)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

雄においては、GOT、GPT、カリウムが 300 及び 1000ppm 群で有意な低下、A/G 比、血糖値、総蛋白量が 300 及び 1000ppm 群で有意な増加、尿素窒素、ナトリウムが 1000ppm 群で有意な増加、塩化物が 1000ppm 群で有意な低下が認められた。

雌においては、GOT が 300 及び 1000ppm 群で有意な低下、GPT、カリウムが 100、300、1000ppm 群で有意な低下、尿素窒素が 1000ppm 群で有意な増加、A/G 比が 30、100、300、1000ppm 群で有意な増加、血糖値が 100、1000ppm 群で有意な増加、総蛋白量が 300ppm 群で有意な増加、コレステロールが 30、1000ppm 群で有意な増加、塩化物が 1000ppm 群で有意な低下を示した。

コリンエステラーゼ活性において、血漿では雄の 1000ppm 群のみに有意な低下が、赤血球では雄、雌ともに 30、100、300、1000ppm 群で有意な低下が認められた。

尿検査；投与終了後採尿し、潜血、ケトン体、尿糖、尿蛋白、ウビリンゲン、ビリルビン、ナトリウム、カリウム及び pH を測定した。

以下に統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	雄						雌					
	5	10	30	100	300	1000	5	10	30	100	300	1000
ナトリウム						163↑						84↓
pH												111↑

↑ ↓ : p<0.05      ↓ ↑ : p<0.01 (報告書に統計処理法の記載なし)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

1000ppm 群雄にナトリウムの有意な増加、同群雌にナトリウムの有意な減少、pH の有意な増加が認められた。

臓器重量；投与終了 1 日後に心臓採血により屠殺し、脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心、肺、肝、腎、脾、副腎、前立腺、精囊、精巣、卵巣及び子宮の重量を測定し、体重比を算出した。統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		5	10	30	100	300	1000	5	10	30	100	300	1000
脳	体重比						128 $\uparrow$						
	重量						70 $\downarrow$						
下垂体	重量												
	体重比						123 $\uparrow$						
甲状腺	重量						43 $\downarrow$						51 $\downarrow$
	体重比						50 $\downarrow$						56 $\downarrow$
胸腺	重量						78 $\downarrow$						90 $\downarrow$
	体重比												80 $\downarrow$
心臓	重量						64 $\downarrow$						
	体重比						78 $\downarrow$						
腎臓	重量						74 $\downarrow$						
	体重比						90 $\downarrow$						
脾臓	重量						67 $\downarrow$						
	体重比						86 $\downarrow$						
副腎	重量					83 $\downarrow$	62 $\downarrow$						58 $\downarrow$
	体重比						75 $\downarrow$						66 $\downarrow$
精囊	重量						25 $\downarrow$						
	体重比						31 $\downarrow$						
精巣	重量						86 $\downarrow$						
	体重比												
卵巣	重量												42 $\downarrow$
	体重比												48 $\downarrow$
子宮	重量											81 $\downarrow$	69 $\downarrow$
	体重比												78 $\downarrow$

$\downarrow \uparrow$  :  $p < 0.05$      $\downarrow \uparrow$  :  $p < 0.01$  (報告書に統計処理法の記載なし)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

雄の1000ppm群で下垂体、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精囊、精巣の重量が有意に低下し、対体重比では脳、甲状腺が有意に増加し、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精囊が有意に低下した。雌の1000ppm群で胸腺、心臓、肺、副腎、卵巣、子宮の重量が有意に低下し、対体重比では胸腺、副腎、卵巣、子宮が有意に低下した。300ppm群では雄の副腎重量、雌の子宮重量が有意に低下した。

肉眼病理学的検査；全動物について行なった。

特記すべき所見は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象として、脳、脳下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、筋肉、骨髄、精巣、精囊、前立腺、坐骨神経、卵巣、子宮、胃、十二指腸、小腸、大腸、膀胱、リンパ節及び縦隔洞を検査した。

主要な病変及び統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別		雄						雌							
投与量 (ppm)		0	5	10	30	100	300	1000	0	5	10	30	100	300	1000
検査動物数		10						10							
肺	気管支炎	4	1	3	1	1	1	3	3	2	2	4	1	7	4
	肺胞壁肥厚 (間質性肺炎)	0	1	0	0	0	1	0	0	3	4 $\uparrow$	3	1	0	1
肝臓	空胞化	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	精母細胞巨大化	0	0	0	1	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-
精巣	精粗細胞脱落	0	0	0	2	5 $\uparrow$	4 $\uparrow$	0	-	-	-	-	-	-	-

Fisherの直接確立法(申請者が実施した)     $\uparrow$  :  $p < 0.05$

肺の気管支炎、肺胞壁の肥厚、肝臓の小葉中心部空胞化、細精管に巨大精母細胞の存在、精粗細胞の脱落が認められた。統計学的有意差のみられた項目も高用量群で増加が見られていないことから検体の影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

以上の結果から、本剤の飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、300ppm 以上で腎臓、肝臓に影響がみられ<sup>註)</sup>、30ppm 以上に赤血球コリンエステラーゼの低下がみられたことから、無毒性量は 10ppm (雄 0.69mg/kg/日、雌 0.66mg/kg/日) であると考えられる。

申請者注)： 血液化学的及び尿検査結果で見られた変動は検体の影響とは考え難い、又は検体の影響ではないと報告書に記載されているが、総括では 300ppm 以上で腎臓、肝臓に影響が見られると記載されている。申請者は報告書の総括に基づき 300ppm 以上では検体投与の影響が見られたと判断した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

③マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料No.V-1)  
試験機関：

報告書作成年：1972 年

検体純度：原体

供試動物：ICR 系マウス、1 群雌雄各 10 匹、体重 雄 25~26g 雌 23~24g

投与期間：3 ヶ月間

投与方法：検体を 0、5、10、30、100、300 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間摂食させた。

試験項目及び結果

一般症状及び死亡率；一般症状及び死亡を毎日観察した。  
死亡例はなかった。

体重変化；毎日一定時間に測定した。

1000ppm 群雄の 1、2、3 週目、雌の 2 週目に有意な増体重の減少が認められたが、それ以降は回復した。

飼料摂取量；一定時間に測定し、飼料効率を算出した。

対照群との差は認められなかった。

検体摂取量；飼料摂取量及び体重から算出した。

投与量 (ppm)		5	10	30	100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.72	1.30	4.16	14.14	43.41	142.14
	雌	0.73	1.32	4.43	14.10	49.85	153.44

飲水量；一定時間に測定した。

対照群との差は認められなかった。

血液検査；投与終了後、心臓から採血し、赤血球数、ヘマトクリット値、血色素量、白血球数及び白血球百分率を測定した。

統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	雄						雌					
	5	10	30	100	300	1000	5	10	30	100	300	1000
赤血球数						113 ↑						
血色素量						107 ↑						
白血球数					74 ↓							
白血球百分率 好酸球						23 ↓						34 ↓

↓ ↑ : p < 0.05      ↓ ↓ ↑ : p < 0.01 (報告書に統計処理法の記載なし)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。

1000ppm 群雄で赤血球数、血色素量の有意な増加が、1000ppm 群雄、雌で好酸球の有意な低下が、300ppm 群雄で白血球の有意な低下がみられた。

血液化学的検査；血液検査と同じ血液を用いて、GOT、GPT、アルカリホスファターゼ、尿素窒素、A/G 比、血糖、総蛋白、コレステロール、ナトリウム、カリウム、塩化物及び脳・赤血球・血漿コリンエステラーゼを測定した。対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。(注)

申請者注)：血液化学的検査で見られた 10ppm 群雄及び 5ppm 群雄の尿素窒素の有意な増加については、雌雄ともに高用量群での増加が見られていないこと、尿検査、臓器重量及び病理組織学的検査でも異常が見られていないことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

性別	雄						雌						
	投与量 (ppm)	5	10	30	100	300	1000	5	10	30	100	300	1000
GOT							30↓						34↓
GPT													36↓
尿素窒素		129↑						126↑					
A/G 比													215↑
血糖							156↑						156↑
総蛋白													79↓
コレステロール													70↓
カリウム													76↓
赤血球コリンエステラーゼ				74↓	53↓	26↓					60↓	40↓	24↓
血漿コリンエステラーゼ							16↓						41↓

↓↑ : p<0.05      ↓↓ : p<0.01 (報告書に統計処理法の記載なし)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

1000ppm 群の雄で GOT の有意な低下、血糖の有意な増加、雌で GOT、GPT、総蛋白、コレステロール、カリウムの有意な低下、A/G 比、血糖の有意な増加が認められた。尿素窒素の有意な増加が 10ppm 群雄、5ppm 群雌でみられた。雄、雌とも 100ppm 群以上に赤血球コリンエステラーゼの有意な低下がみられたが、血漿コリンエステラーゼでは 1000ppm 群のみ有意な低下を示した。

尿検査；投与終了後採尿し、潜血、ケトン体、尿糖、尿蛋白、ウビリノーゲン、ビリルビン、ナトリウム、カリウム及び pH を測定した。

1000ppm 群雌に蛋白排泄が有意に増加したが、その他に対照群と比較して有意差は認められなかった。

臓器重量；投与終了 1 日後に心臓採血により屠殺し、脳、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、卵巣及び子宮の重量を測定し、体重比を算出した。

統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	投与量 (ppm)	雄						雌					
		5	10	30	100	300	1000	5	10	30	100	300	1000
胸腺	重量						46↓						66↓
	体重比						48↓						64↓
心臓	重量					111↑					83↓		80↓
	体重比					107↑					87↓		78↓
肺	重量										83↓		76↓
	体重比												75↓
肝臓	重量												84↓
	体重比												83↓
腎臓	重量												94↓
	体重比												90↓
脾臓	重量												57↓
	体重比												57↓
副腎	重量					80↓	70↓						
	体重比						76↓						
卵巣	重量												47↓
	体重比												45↓
子宮	重量												76↓
	体重比												76↓

↓↑ : p<0.05      ↓↓ : p<0.01 (報告書に統計処理法の記載なし)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

1000ppm 群雄で胸腺重量・体重比及び副腎重量・体重比の低下が、1000ppm 群雌で胸腺重量・体重比、心重量・体重比、肺重量・体重比、肝重量・体重比、腎重量・体重比、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

脾重量・体重比、卵巣重量・体重比、子宮重量・体重比の低下が認められた。  
300ppm 群雄で心臓重量・体重比の増加、副腎重量の低下、雌で心臓重量・体重比、肺重量の低下が認められた。

肉眼病理学的検査；全動物について行なった。

特記すべき所見は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象として脳、脳下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、筋肉、骨髄、精巣、精嚢、前立腺、坐骨神経、卵巣、子宮、胃、十二指腸、小腸、大腸、膀胱、リンパ節及び縦隔洞を検査した。

主要な病変及び統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別		雄							雌						
投与量 (ppm)		0	5	10	30	100	300	1000	0	5	10	30	100	300	1000
検査動物数		10							10						
肝臓	細胞核大同不同	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
副腎	空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6↑	0	5↑	4↑	0

Fisher の直接確立法 (申請者が実施)

↑ :  $p < 0.05$

全例に肝細胞核の大小不同が同程度に存在し、雌の 5、10、100、300ppm 群に副腎の空胞化が認められた。統計学的有意差のみられた項目も高用量群で増加が見られていないことから検体の影響ではないと考えられた。

以上の結果から、本剤の飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、100ppm (雄 14.14mg/kg/日、雌 14.10mg/kg/日) 以上に赤血球コリンエステラーゼの低下がみられたことから、無毒性量は 30ppm (雄 4.16mg/kg/日、雌 4.43mg/kg/日) であると考えられる。

## (7) 反復経口投与神経毒性

- ①ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与神経毒性試験 (資料No.IV-3)  
試験機関: [GLP 対応]  
報告書作成年: 2005 年

検体純度: %

供試動物: SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、開始時 6 週齢、

投与開始時体重範囲 雄 193.4~225.8g 雌 144.4~168.1g

投与期間: 90 日間 (雄 2005 年 2 月 8 日~2005 年 5 月 9 又は 10 日)

(雌 2005 年 2 月 15 日~2005 年 5 月 16 又は 17 日)

投与方法: 検体を 0、10、100 及び 1000ppm の濃度になるように飼料に混合し、90 日間にわたって自由に摂取させた。検体を混合した飼料は 2 週間に 1 回の頻度で調製した。対照群には無処理の飼料を摂取させた。

投与量設定根拠;

### 観察・検査項目及び結果

死亡率: 生死を 1 日 2 回観察した。

投与期間を通して全投与群の雌雄に死亡は認められなかった。

一般状態: 1 日 2 回観察した。

投与期間を通して検体投与に関連した変化は認められなかった。

体重変化: 投与開始前に 1 回及び投与後は毎週 1 回の頻度で測定した。

投与期間を通して検体投与に関連した変化は認められなかった。

摂餌量及び摂餌効率: 投与開始前に 1 回及び投与後は毎週 1 回の頻度で測定し、摂餌効率も算出した。

投与期間を通して検体投与に関連した変化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。

性	雄			雌		
投与量 (ppm)	10	100	1000	10	100	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	0.58	5.70	57.49	0.65	6.46	65.18

詳細な状態の観察: 投与開始前、投与 2、5、9 及び 13 週目に、各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の項目について行った。

#### (1) ホームケージでの観察

1) ケージ内観察; 姿勢、痙攣、異常・常同行動、振戦

2) ケージ外観察; 取り扱い易さ、異常発声、振戦、筋攣縮、痙攣、

呼吸、流涎、流涙、瞳孔径、眼球突出、目・鼻の分泌物、皮膚、

立毛、毛並み、可視粘膜、尿失禁、筋緊張、体温

(2) オフフィールドでの観察；覚醒状態、歩行異常、異常・常同行動、  
眼瞼下垂、下痢、糞、尿

詳細な状態の観察で検体投与に関連した変化は認められなかった。

機能検査：投与開始前、投与 2、5、9 及び 13 週目に、各群雌雄各 10 匹を対象として、  
以下の項目について行った。

(1) 感覚機能検査；視覚検査、聴覚検査、触覚検査、痛覚検査、正向反射、  
瞳孔反射

(2) 握力測定

(3) 自発運動量測定

機能検査で検体投与に関連した変化は認められなかった。なお、自発運動量測定に  
おいて、投与 13 週目の 10ppm 群の雌で測定開始後 40-50 分間の運動量の低下が認め  
られたが、用量相関性のない変化であり、1 時間での総自発運動量に変化は認めら  
れていないことから、その毒性学的意義はないと判断した。

眼科学的検査：投与開始前及び投与 13 週目に実施した。投与開始前は雌雄全群、投与  
13 週目は対照群及び 1000ppm 群の全匹について実施した。

眼科学的検査で検体投与に関連した変化は認められなかった。

血中コリンエステラーゼ測定：投与期間終了後に、各群雌雄各 10 匹を対象として、血漿及び赤血球  
コリンエステラーゼを測定した。検査結果を次表に示す。

性	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
投与量 (ppm)								
血漿コリンエステラーゼ (IU/L)	46	52 (113)	62 (135)	45 (98)	627	691 (110)	725 (116)	399 ↓ (64)
赤血球コリンエステラーゼ (nmol/min/mL)	1461	1428 (98)	1267 (87)	974 ♀ (67)	1589	1565 (98)	1297 ♀ (82)	966 ♀ (61)

Dunnett 又は Steel 多重比較検定

↑ ↓ : p<0.05

↑ ♀ : p<0.01

上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率(%)

1000ppm 群雄の赤血球コリンエステラーゼ、雌の血漿及び赤血球コリンエステラーゼ、100ppm 群雌の  
赤血球コリンエステラーゼで有意な低下が認められた。100ppm 群雄の赤血球コリンエステラーゼで  
低下傾向が認められた。

肉眼的病理検査：投与期間終了後の全生存動物について、全ての器官及び組織について  
異常の有無を検査した。

生存動物では、検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：投与期間終了後、各群雌雄 5 匹の動物を対象にペントバルビタルで  
麻酔し灌流固定した後、次の組織を 10% 中性緩衝ホルマリン溶液に保存した。

大脳（前脳及び海馬を含む大脳中心部）、中脳、小脳、橋、延髄、視神経、  
眼球（網膜を含む）、脊髄の頸膨大部、脊髄の腰膨大部、脊髄神経節、  
神経線維の前根、神経線維の後根、近位坐骨神経、近位脛骨神経（膝部）、  
脛骨神経の腓腹筋分岐部、腓腹筋

なお、上顎切歯の歯折が認められた 100ppm 群雄 1 匹 (No.327) については、上顎部  
を採取し 10% 中性緩衝ホルマリン溶液に保存した。

病理組織学的検査は、灌流固定を行った対照群及び 1000ppm 群雌雄各 5 匹について  
上記で示した組織の病理標本を作製し鏡検した。なお、脊髄と末梢神経は、その横  
断面と縦断面の両方を検査した。

病理組織学的検査の結果、1000ppm 群で検体投与に関連した変化が認められな  
かったことから、10 及び 100ppm 群の検査は実施しなかった。

病理組織学的検査で対照群及び1000ppm群雌雄に検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する90日間飼料混入投与による神経毒性試験における影響として、100ppm以上の群の雌雄で赤血球コリンエステラーゼの低下が認められた。

しかし、一般状態、詳細な状態の観察及び機能検査の各種項目並びに眼科学的検査、肉眼的及び病理組織学的検査では検体投与に関連した変化は認められず、機能神経学的及び神経病理学的双方への影響は認められなかった。

従って、本試験条件下における神経毒性学的な無毒性量は雌雄ともに1000ppm（雄57.49mg/kg/日、雌65.18mg/kg/日）、一般毒性学的な無毒性量は雌雄とも10ppm（雄0.58mg/kg/日、雌0.65mg/kg/日）と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

## (8)慢性毒性及び発がん性

### ①イを用いた飼料混入投与による 104 週間反復経口投与毒性試験

(資料No.VI-1)

試験機関：

報告書作成年：1972 年

検体純度： %

供試動物：ビ'グ'ル犬 1 群雄 4 匹、雌 4 匹

投与期間：104 週間

投与方法：検体を 10、30、100ppm の濃度で飼料に混入し 104 週間にわたって毎日 3 時間自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週 1 回調製した。対照群には無添加飼料を与えた。

投与量設定根拠；

試験項目及び結果

一般症状及び死亡率：一般症状及び死亡を毎日観察した。

いずれの濃度においても異常は認められなかった。92 週に 10ppm 群雌 1 匹が死亡したが、検体投与によるものとは考えられなかった。

体重変化：毎週 1 回全動物の体重を測定した。

いずれの濃度においても異常は認められなかった。

飼料摂取量：毎週 1 回各群の飼料摂取量を測定した。

対照群と投与群で差は認められなかった。

検体摂取量：飼料摂取量及び体重から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は、下表の通りであった。

投与量 (ppm)		10	30	100
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.29	0.93	3.16
	雌	0.33	0.86	3.03

血液検査：投与開始前、投与後 1、3、6、9、12、18、24 ヶ月に全動物を対象として、白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、白血球百分率を測定した。

対照群と投与群で差は認められなかった。

血液化学的検査：投与開始前、投与後 1、3、6、9、12、18、24 ヶ月に全動物を対象として、尿素窒素、血糖、アルカリホスファターゼ、GOT、GPT を測定した。さらに血漿・赤血球コリンエステラーゼを投与開始前、投与後 2、4、6、9、13、26、78、104 週に、脳コリンエステラーゼを 104 週に測定した。

100 及び 30ppm 群で赤血球コリンエステラーゼの低下が認められたが、その他は対照群と類似していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

	性	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	10	30	100	0	10	30	100
赤血球 コリンエステラーゼ*	投与前	7.84	6.94 (88)	4.63↓ (59)	5.68 (72)	5.82	6.04 (104)	6.14 (106)	6.14 (105)
	投与後 2 週	7.99	6.64 (83)	4.51↓ (56)	3.37↓ (42)	6.26	6.00 (95)	5.48 (88)	3.74 (60)
	投与後 4 週	7.09	5.52 (78)	2.66↓ (37)	2.08↓ (29)	5.34	4.59 (86)	3.89 (73)	2.42↓ (45)
	投与後 6 週	7.12	5.54 (78)	3.39↓ (48)	1.85↓ (26)	5.61	4.86 (87)	4.03 (72)	2.28↓ (41)
	投与後 9 週	8.07	5.97 (74)	3.60↓ (45)	1.82↓ (23)	6.54	5.05 (77)	4.01↓ (61)	2.13↓ (33)
	投与後 13 週	7.62	5.42 (71)	3.42↓ (45)	2.14↓ (28)	6.49	4.68 (72)	3.52↓ (54)	2.24↓ (35)
	投与後 26 週	6.48	4.45 (69)	2.70↓ (42)	1.73↓ (27)	5.61	4.25 (76)	3.21↓ (57)	1.98↓ (35)
	投与後 78 週	6.54	5.43 (83)	3.14↓ (48)	2.28↓ (35)	5.88	4.60 (78)	3.67↓ (62)	2.24↓ (38)
	投与後 104 週	6.06	5.28 (87)	4.02↓ (66)	2.77↓ (46)	5.61	4.94 (88)	4.49 (80)	2.74↓ (49)

Dunnett 検定      ↓ : p<0.05      ↓ : p<0.01      ↓ : p<0.001  
 上段は絶対値、下段の括弧内は対照群に対する変動率 (%)

尿検査：投与開始前、投与後 1、3、6、9、12、18、24 ヶ月に全動物を対象として、アルブミン、尿糖、pH、比重を測定し、尿沈渣を鏡検した。

いずれの濃度でも異常は認められなかった。

臓器重量：投与終了時、全動物を屠殺した後、肝臓、腎臓、心臓、脳、脾臓、精巣、卵巣、副腎、甲状腺、下垂体の重量を測定し、対体重比を算出した。

対照群と投与群で差は認められなかった。

肉眼病理学的検査：投与終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査した。

投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：投与終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、重量測定臓器を含め、胸大動脈、胸骨骨髓、盲腸、結腸、食道、胆嚢、肺、頸リパ節、腸間膜リパ節、骨格筋、脾臓、坐骨神経、前立腺、顎下唾液腺、十二指腸、空腸、回腸、脊髄、胃、気管、子宮、膀胱について組織学的に検査した。

投与に関連した変化は認められず、いずれも自然発生的であった。

以上の結果から、本剤を飼料に添加して僅に 104 週投与することにより、30ppm(雄 0.93 mg/kg/日、雌 0.86mg/kg/日)以上で赤血球コリンエステラーゼの低下がみられたので、無毒性量は 10ppm(雄 0.29mg/kg/日、雌 0.33mg/kg/日)と考えられる。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

②マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料No.VI-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系マウス、投与開始時 約 6 週齢、体重範囲 雄 25~37g 雌 18~29g

1 群雄雌各 75 匹 (最終屠殺群 1 群雄雌各 50 匹、中間屠殺群 1 群雄雌各 25 匹)

投与後 26、52 週時に各群雄 10 匹、雌 10 匹を中間屠殺した。

投与期間：78 週 (1987 年 11 月 6 日~1989 年 5 月 9 日)

投与方法：検体を 32、320 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、78 週にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠；

試験項目及び結果

一般症状及び死亡率：一般症状を毎日 1 回、死亡を毎日 2 回観察した。さらに毎週 1 回触診を含む詳細な検査を行なった。試験終了時 (最終屠殺群) の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	32	320	1000
死亡率 (%)	雄	26	18	38	30
	雌	28	20	28	18

死亡率に对照群と投与群で差は認められなかった。

立毛、脱毛及び四肢青白などが記録されたが、いずれも試験動物の週齢と系統に通常観察される所見であった。

体重変化：投与開始 1 週間前から 13 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回記録した。0~78 週間の増体重に減少がみられ、雄 320 及び 1000ppm 群で对照群と比較して 20%、雌 1000ppm 群で 10% の減少であった。78 週時の最終体重については雄、雌ともに顕著な群間差は認められなかった。

飼料摂取量及び飼料効率：動物ごとの飼料摂取量を投与開始 1 週間前から 13 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回測定した。飼料効率は投与開始から 28 週まで各群について計算した。

投与群と对照群で差は認められなかった。

飲水量：投与期間中毎週 1 回を原則として目視で観察した。

群間差は認められなかった。

検体摂取量：体重及び飼料摂取量から算出した最終屠殺群の 1 日あたりの平均検体摂取量を次表に示す。

投与量 (ppm)		32	320	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.40	54.5	171
	雌	6.70	70.1	228

血液検査：26、52 週に中間屠殺予定の雄 10 匹、雌 10 匹を、77/78 週に最終屠殺予定の雄 10 匹、雌 10 匹を対象として眼窩静脈洞から採血し、血色素量、赤血球数、白血球数、白血球百分率、ヘマトクリット値、血小板数、赤血球平均恒数 (MCH、MCV、MCHC) を測定し、パトリックテスト (無麻酔下で尾端部より採血) を実施した。その他に最終屠殺群の 54 及び 77 週に生存動物の全数について、尾端部から採血して血液塗抹標本作製し白血球百分率を測定した。

次表に对照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		32	320	1000	32	320	1000
血色素	78週	90↓	89↓	94↓			

Student's t 検定又は Kruskal-Wallis 検定 ↓ : p<0.05    ↓↑ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

78週時の雄投与群に血色素量の減少がみられたが、投与群間差もなく、変動幅も小さいことから偶発的変動と考えられた(32ppm群で10%、320ppm群で11%、1000ppm群で6%の減少)。その他の測定項目に群間差は認められなかった。

血液化学的検査：上記の血液検査における同一の検査時期・動物を対象として大静脈から採血し、その血漿を用いて GOT、GPT、アルカリホスファターゼ、血漿コリンエステラーゼ、総蛋白、アルブミン、ビリルビン、尿素窒素、血糖、ナトリウム、カリウム、クレアチニン、塩化物、カルシウム、無機リン、赤血球コリンエステラーゼ及び脳コリンエステラーゼを測定した。血液試料が少量で78週では溶血がみられたため、実際は各群雄雌10匹以上から採取した。

次表に対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		32	320	1000	32	320	1000
血漿 コリンエステラーゼ	26週		51↓	22↓		69↓	31↓
	52週		52↓	25↓		64↓	33↓
	78週		61↓	29↓	83↓	67↓	36↓
赤血球 コリンエステラーゼ	26週						
	52週						
	78週		50↓	23↓		55↓	30↓
脳 コリンエステラーゼ	26週		86↓	65↓		84↓	63↓
	52週		77↓	71↓		89↓	75↓
	78週		87↓	67↓		92↓	79↓

Student's t 検定又は Kruskal-Wallis 検定

↓ : p<0.05    ↓↑ : p<0.01    ↓↑↑ : p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

320及び1000ppm群雄雌において、全検査時に血漿・脳コリンエステラーゼの有意な低下が、78週時のみに赤血球コリンエステラーゼの有意な低下がみられた。

32ppm群では78週の雌のみに血漿コリンエステラーゼの有意な低下が認められた。

その他の測定項目に群間差は認められなかった。

臓器重量：26、52週時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び瀕死期屠殺・死亡動物を対象として副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、顎下唾液腺、脾臓、精巣、胸腺及び子宮の重量を測定した。

次表に対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (ppm)			雄			雌		
			32	320	1000	32	320	1000
肝臓	重量	26週						
		52週	80↓					
		78週						
	共分散分析	26週	111↑		109↑			
		52週						
		78週			116↑			119↑
腎臓	重量	78週					113↑	
	共分散分析	78週				106↑	106↑	113↑
心臓	重量	52週						
		78週						111↑
	共分散分析	52週	122↑	112↑	119↑			
		78週						110↑
胸腺	重量	52週				65↓	58↓	
	共分散分析	52週				65↓	58↓	
肺	重量	26週			91↓			
	共分散分析	26週						

Student's t 検定又は Kruskal-Wallis 検定

↑ ↓ : p < 0.05    ↓ ↑ : p < 0.001

共分散分析：体重を条件にいたした時の分析結果

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。

78 週時、1000ppm 群の雄雌で肝重量の有意な増加が認められた。

その他は群間差もなく、重量と共分散分析との関連性も見られていないことから偶発的な変動と考えられた。

肉眼病理学的検査：最終屠殺動物及び瀕死期屠殺・死亡動物ならびに 26、52 週中間屠殺動物を対象として検査を行なった。

26、52 週時及び途中死亡動物では剖検所見に雌雄ともに群間差は見られなかった。78 週時、雄は肝臓の腫瘍の増加（対照群 5/37 匹、32ppm 群 11/41 匹、320ppm 群 6/31 匹、1000ppm 群 11/35 匹）、雌は胃の腺上皮肥厚（対照群 1/36 匹、32ppm 群 2/40 匹、320ppm 群 1/36 匹、1000ppm 群 6/41 匹）が認められたが、群間差はなく投与には関連しないと考えられた。また、雌で腹部フィロゼ（対照群 0/50 匹、32ppm 群 1/50 匹、320ppm 群 2/50 匹、1000ppm 群 3/50 匹）、血液あるいは体液の胸腔内滲出の出現頻度が上昇（対照群 0/50 匹、32ppm 群 1/50 匹、320ppm 群 2/50 匹、1000ppm 群 3/50 匹）したが、軽度な変化であったことから偶発的と考えられた。<sup>2)</sup>

病理組織学的検査：最終屠殺動物及び瀕死期屠殺・死亡動物ならびに 26、52 週中間屠殺動物を対象として重量測定臓器の他に大動脈、膀胱、血液塗沫、胸骨、肋骨、眼、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、脊髄、胃、顎下リンパ節、乳腺、腸間膜リンパ節、大腿筋、食道、睪、前立腺、坐骨神経、精囊、皮膚、甲状腺、上皮小体、舌、気管及び肉眼的病変部について病理標本を作製し鏡検した。

次表に主要な非腫瘍性病変（表 1）及び腫瘍性病変（表 2）の一覧表を示す。

申請者注）：肝臓の腫瘍、胃の腺上皮肥厚、腹部フィロゼ、血液あるいは体液の胸腔内滲出の出現頻度について、申請者が統計学的処理（Fisher の直接確率法）を実施し、有意な差が見られないことを確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別 投与量 (ppm)	雄				傾向	雌				傾向
			0	32	320	1000		0	32	320	1000	
26週	剖検動物数		10	10	10	10		10	10	10	10	
	検査動物数		10	10	10	10		10	10	10	10	
	精巣 上体	局所性の上皮空胞化 最 小		1	9 $\uparrow$	1	$\uparrow$	-	-	-	-	
		軽 度				8 $\uparrow$	$\uparrow$	-	-	-	-	
		合 計		1	9 $\uparrow$	9 $\uparrow$	$\uparrow$	-	-	-	-	
	腎臓	炎症性細胞巣	5	5	1	2	$\downarrow$	3	1	1	3	
	肺	脈管/細気管支周囲 単核細胞浸潤						1				
		局所性間質性肺炎	1					1				
	脾臓	髓外造血	10	10	10	10		10	10	10	10	
	卵巣	卵胞嚢胞	-	-	-	-		1	2	2	2	
52週	剖検動物数		10	10	10	10		10	10	10	10	
	検査動物数		10	10	10	10		10	10	10	10	
	精巣 上体	局所性の上皮空胞化 最 小		1	5 $\uparrow$	3	$\uparrow$	-	-	-	-	
		軽 度				5 $\uparrow$	$\uparrow$	-	-	-	-	
		中等度				2	$\uparrow$	-	-	-	-	
		合 計		1	5 $\uparrow$	10 $\uparrow$	$\uparrow$	-	-	-	-	
	腎臓	炎症性細胞巣	4	2	6	3		4	0 $\downarrow$	2	4	
	肺	脈管/細気管支周囲 単核細胞浸潤						1				
		局所性間質性肺炎	1									
	脾臓	髓外造血	10	10	10	10		10	10	10	10	
卵巣	卵胞嚢胞	-	-	-	-		5	4	5	4		
胸腺	検査動物数	7	7	8	9		10	10	9	9		
	退縮	2			1							

Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定  $\uparrow \downarrow : p < 0.05$   $\uparrow \downarrow : p < 0.01$   
 -: 測定せず 空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量 (ppm)	0	32	320	1000	傾向	0	32	320	1000	傾向	
瀕死期層殺・死亡	剖検動物数		14	11	21	15		15	11	16	9		
	精巢	検査動物数	14	11	21	14							
	精巢 上体	局所性の上皮空胞化	最小			7↑	3	⇕	-	-	-	-	
			軽度			2	5↑	⇕	-	-	-	-	
			中等度				5↑	⇕	-	-	-	-	
			合計			9⇕	13⇕	⇕	-	-	-	-	
	精巢	間質性線維症				2		-	-	-	-		
		検査動物数	14	11	21	15							
		び慢性間質細胞過形成		1		1		-	-	-	-		
	腎臓	精上皮の萎縮			1	1		-	-	-	-		
		検査動物数	14	11	20	14		15	11	15	9		
		炎症性細胞巣	2	3	6	3		4	3	5	3		
	肺	系球体腎炎							3	3	1		
		検査動物数	13	11	21	15		15	11	15	9		
		脈管/細気管支周囲 単核細胞浸潤						2	1	2	1		
	胸腺	局所性間質性肺炎	1			1							
		検査動物数	11	8	19	11		15	11	14	8		
	脾臓	退縮			9⇕	6⇕	⇕		1	2	3↑	↑	
		検査動物数	13	10	20	14		15	11	14	9		
	膀胱	髓外造血	2	1	7	6	↑	4	6	5	3		
		検査動物数	14	11	21	14		14	11	14	8		
	卵巣	内腔の拡張			2	8⇕	⇕		1				
		検査動物数						15	11	16	9		
	卵巣	卵胞嚢胞	-	-	-	-		6	8	8	3		

Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定      ↑ ↓ : p < 0.05      ⇕ : p < 0.01  
 - : 測定せず      空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与量 (ppm)	0	32	320	1000	傾向	0	32	320	1000	傾向	
最終屠殺	剖検動物数		37	41	31	35		36	40	36	41		
	検査動物数		37	41	31	35		36	40	36	41		
	精巣上体	局所性の上皮空胞化	最小	2	2	19↑	8↑	↑	-	-	-	-	
			軽度				20↑	↑	-	-	-	-	
			中等度				4	↑	-	-	-	-	
			合計	2	2	19↑	32↑	↑	-	-	-	-	
			間質性線維症		1		3	↑	-	-	-	-	
	精巣	び慢性間質細胞過形成	1			8↑	↑	-	-	-	-		
		精上皮の萎縮		1	2	5↑	↑	-	-	-	-		
	腎臓	炎症性細胞巣	31	36	23	25	↓	27	20↓	21	23		
		糸球体腎炎						1	3	2	8↑	↑	
	肺	脈管/細気管支周囲 単核細胞浸潤	1	5	1	7↑	↑	9	7	5	4	↓	
		局所性間質性肺炎	1		1				4	1			
	胸腺	検査動物数	34	37	25	27		36	37	35	39		
		退縮	1		2	4	↑		1	2	2		
	脾臓	検査動物数	37	41	31	35		36	40	36	41		
		髓外造血	12	9	18↑	23↑	↑	26	24	21	31		
	膀胱	検査動物数	37	41	31	35		36	39	36	40		
		内腔の拡張			1	1							
	卵巢	検査動物数						36	40	36	41		
		卵胞嚢胞	-	-	-	-		15	28↑	27↑	33↑	↑	

Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定      ↑ ↓ : p<0.05      ↓ ↑ : p<0.01  
 -: 測定せず      空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量 (ppm)	0	32	320	1000	傾向	0	32	320	1000	傾向
全動物	剖検動物数		71	72	72	70		71	71	72	70	
	精巢上体	検査動物数	71	72	72	69						
		局所性の上皮空胞化	2	4	40↑	15↑	↑	-	-	-	-	
		最 小			2	38↑	↑	-	-	-	-	
		軽 度				11↑	↑	-	-	-	-	
		中等度	2	4	42↑	64↑	↑	-	-	-	-	
		合計										
		間質性線維症		1		5↑	↑	-	-	-	-	
	精巢	検査動物数	71	72	72	70						
		び慢性間質細胞過形成	1	1		9↑	↑	-	-	-	-	
		精上皮の萎縮		1	3	7↑	↑	-	-	-	-	
	腎臓	検査動物数	71	72	71	69		71	71	71	70	
		炎症性細胞巣	42	46	36	33	↓	38	24↓	29	33	
		糸球体腎炎						1	6	5	9↑	↑
	肺	検査動物数	70	72	72	70		71	71	71	70	
		脈管/細気管支周囲 単核細胞浸潤	1	5	1	7↑		12	9	7	5	↓
		局所性間質性肺炎	4		1	1			5↑	1		
	胸腺	検査動物数	61	62	62	57		71	68	67	66	
		退縮	3		11↑	11↑	↑		2	4	5↑	↑
	脾臓	検査動物数	70	71	71	69		71	71	70	70	
		髓外造血	34	30	45	49↑	↑	50	50	46	54	
	膀胱	検査動物数	71	72	72	69		70	70	70	68	
		内腔の拡張			3	9↑	↑		1			
卵巣	検査動物数						71	71	72	70		
	卵胞嚢胞	-	-	-	-		27	42↑	42↑	42↑	↑	

Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定      ↑ ↓ : p<0.05      ↓ ↑ : p<0.01  
 -: 測定せず      空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与群 (ppm)	0	32	320	1000	傾向	0	32	320	1000	傾向
26週	検査動物数		10	10	10	10		10	10	10	10	
	肺	肺腺腫 (B)	0	0	1	0		0	0	0	0	
52週	検査動物数		10	10	10	10		10	10	10	10	
	十二指腸	腺腫ポリープ (B)	0	0	1	0		0	0	0	0	
	肝臓	脂肪細胞腫 (B)	0	0	0	1		0	0	0	0	
		肝細胞腺腫 (B)	1	2	0	0		0	0	0	0	
		肝細胞癌 (M)	1	0	0	0		0	0	0	0	
	肺	肺腺腫 (B)	2	2	1	1		1	0	1	0	
	皮膚	乳頭腫 (B)	1	0	0	0		0	0	0	0	
	精巣	間細胞腫 (B)	0	0	1	0		-	-	-	-	
	子宮	子宮内膜ポリープ (B)	-	-	-	-		0	0	0	1	
	肋骨	骨肉腫 (M)	0	1	0	0		0	0	0	0	
皮下組織	褐色細胞腫 (B)	1	0	0	0		0	0	0	0		
瀕死期屠殺・死亡	検査動物数		14	11	21	15		15	11	16	9	
	副腎皮質	腺腫 (B)	0	0	1	0		0	0	0	0	
	副腎髄質	褐色細胞腫 (M)	0	1	0	0		0	0	0	0	
	脳	星状細胞腫 (M)	0	0	0	0		1	0	0	0	
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0		0	0	1	0	
	肝臓	血管肉腫 (M)	0	1	1	0		0	0	0	0	
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	2	↑	0	0	0	0	
		肝細胞癌 (M)	0	0	1	0		0	0	0	0	
	肺	肺腺腫 (B)	1	1	4	3		1	0	3	0	
		肺腺癌 (M)	0	0	2	1		0	0	0	0	
	胃	乳頭腫 (B)	0	0	1	0		0	0	0	0	
	精巣	間細胞腫 (B)	0	0	0	1		-	-	-	-	
	子宮	子宮内膜ポリープ (B)	-	-	-	-		0	1	1	1	
平滑筋腫 (B)		-	-	-	-		1	0	0	0		
造血器	悪性リンパ腫 (M)	2	3	2	1		4	2	4	0		
	組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0		1	0	2	1		

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 カイ二乗検定及び Fisher の直接確率法  
Cochran-Armitage 傾向検定 ↑ ↓ : p<0.05 ↕ : p<0.01



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与群 (ppm)	0	32	320	1000	傾向	0	32	320	1000	傾向	
最終屠殺	検査動物数		37	41	31	35		36	40	36	41		
	副腎皮質	腺腫 (B)	0	1	1	0		0	0	0	0		
	精巣上体	神経鞘腫 (B)	0	1	0	0		-	-	-	-		
	肝臓	血管肉腫 (M)	3	1	0	0		0	0	0	1		
		肥満細胞腫 (M)	0	0	0	0		0	1	0	0		
		肝細胞腺腫 (B)	3	10	4	9↑		0	0	0	0		
		肝細胞癌 (M)	2	1	0	0		0	0	0	0		
	肺	肺腺腫 (B)	14	15	6	4⇓	⇓	7	8	5	4		
		肺腺癌 (M)	0	0	0	0		1	0	0	0		
	卵巢	絨毛癌 (M)	-	-	-	-		0	0	0	1		
		黄体腫 (B)	-	-	-	-		0	0	0	1		
	睪臓	腺腫 (B)	1	0	0	0		0	0	0	0		
	下垂体	腺腫 (B)	0	0	0	0		0	0	0	1		
	脾臓	血管肉腫 (M)	0	0	0	0		0	1	0	0		
	精巣	間細胞腫 (B)	0	1	0	1		-	-	-	-		
	胸腺	胸腺腫 (B)	0	0	0	0		1	0	0	0		
	甲状腺	腺腫 (B)	0	0	1	0		0	0	0	0		
	子宮	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-		1	0	1	1		
		子宮内膜腺癌 (M)	-	-	-	-		0	1	0	0		
		脱落膜腫 (B)	-	-	-	-		0	1	0	0		
	造血器	悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	1		1	3	0	0		
		組織球性肉腫 (M)	1	0	0	0		0	3	0	2		
	全動物	検査動物数		71	72	72	70		71	71	72	70	
		副腎皮質	腺腫 (B)	0	1	1	0		0	0	0	0	
		副腎髓質	悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	0	0		0	0	0	0	
脳		星状細胞腫 (M)	0	0	0	0		1	0	0	0		
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0		0	0	1	0		
十二指腸		腺腫 <sup>ホリ-フ</sup> (B)	0	0	1	0		0	0	0	0		
精巣上体		神経鞘腫 (B)	0	1	0	0		-	-	-	-		
肝臓		血管肉腫 (M)	3	2	1	0		0	0	0	1		
		肥満細胞腫 (M)	0	0	0	0		0	1	0	0		
		脂肪細胞腫 (B)	0	0	0	1		0	0	0	0		
		肝細胞腺腫 (B)	4	12↑	5	11↑		0	0	0	0		
		肝細胞癌 (M)	3	1	1	0		0	0	0	0		
肺		肺腺腫 (B)	17	18	12	8↓	↓	9	8	9	4		
		肺腺癌 (M)	0	0	2	1		1	0	0	0		
卵巢		絨毛癌 (M)	-	-	-	-		0	0	0	1		
		黄体腫 (B)	-	-	-	-		0	0	0	1		

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

が二乗検定及び Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定 ↑ ↓ : p<0.05 ⇓ ⇓ : p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別		雄				雌					
		投与群 (ppm)		0	32	320	1000	傾向	0	32	320	1000	傾向
全動物	膵臓	腺腫 (B)	1	0	0	0		0	0	0	0		
	下垂体	腺腫 (B)	0	0	0	0		0	0	0	1		
	皮膚	乳頭腫 (B)	1	0	0	0		0	0	0	0		
	脾臓	血管肉腫 (M)	0	0	0	0		0	1	0	0		
	胸骨/骨髄	血管肉腫 (M)	0	0	0	0		0	1	0	0		
	胃	乳頭腫 (B)	0	0	1	0		0	0	0	0		
	精巣	間細胞腫 (B)	0	1	1	2		-	-	-	-		
	胸腺	胸腺腫 (B)	0	0	0	0		1	0	0	0		
	甲状腺	腺腫 (B)	0	0	1	0		0	0	0	0		
	子宮	子宮内膜ポリプ	(B)	-	-	-	-		0	1	1	2	
		平滑筋腫	(B)	-	-	-	-		2	0	1	1	
		子宮内膜腺癌	(M)	-	-	-	-		0	1	0	0	
		脱落膜腫	(B)	-	-	-	-		0	1	0	0	
	皮下組織	褐色細胞腫 (B)	1	0	0	0		0	0	0	0		
	肋骨	骨肉腫 (M)	0	1	0	0		0	0	0	0		
	検査動物数			71	72	72	70		71	71	72	70	
	造血器	悪性リンパ腫 (M)		2	4	2	2		5	5	4	0	
組織球性肉腫 (M)			1	0	0	0		1	3	2	3		
合計	検査動物数		71	72	72	70		71	71	72	70		
	腫瘍数	良性 (B)	24	32	18	22		11	10	11	9		
		悪性 (M)	9	9	7	3		9	11	7	5		
	腫瘍総数		33	41	25	25		20	21	18	14		
	担腫瘍動物数	良性 (B)	21	27	16	18		9	10	11	8		
		悪性 (M)	9	9	6	3		9	10	7	5		
	担腫瘍動物総数		29	36	21	20		18	18	16	12		

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

カイ二乗検定及び Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

非腫瘍性病変としては、320ppm 及び 1000ppm 群雄の全屠殺時に精巣上体で局所性の上皮空胞化が、1000ppm 群雄の最終屠殺時に精巣上体で間質性線維症が、精巣でびまん性間質細胞過形成及び精上皮の萎縮が認められた。

腫瘍性病変では投与に関連した影響はなく、いずれも試験動物の週齢と系統に通常観察される所見であった。肝で見られた腫瘍（良性肝細胞腺腫及び悪性肝細胞癌）の発生頻度は、背景データ（雄：良性 2～17%、悪性 0～32%、雌：良性 0～2.1%、悪性 0～2%）の範囲内にあり検体投与との関連はないと考えられた。

最終屠殺動物と途中死亡動物（最終屠殺群）について各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数を下表に示す。

性別	雄				雌				
	0	32	320	1000	0	32	320	1000	
投与量 (ppm)	0	32	320	1000	0	32	320	1000	
検査動物総数	50	50	50	50	50	50	50	50	
腫瘍数	良性	19	29	18	19	11	9	10	8
	悪性	8	8	6	3	8	11	7	5
腫瘍総数	27	37	24	22	19	20	17	13	
担腫瘍動物数	良性	17	25	15	16	9	9	10	7
	悪性	8	8	5	3	8	9	6	5
担腫瘍動物数	24	32	18	18	16	16	14	11	

以上の結果から、本剤を飼料に添加してマウスに 78 週間にわたって投与することにより、320ppm 及び 1000ppm 群雄に増体重減少、精巣上体の変化がみられ、1000ppm 群雌に増体重減少、320ppm 及び 1000ppm 群雄、雌に血漿・赤血球・脳コリンエステラーゼの低下がみられ、32ppm 群雌に血漿コリンエステラーゼの低下がみられたことから、無毒性量は雄 32ppm (5.40mg/kg/日) に設定されたが、雌では求められなかった。<sup>注)</sup> また、発がん性は認められなかった。

申請者注) : 1990 年に世界保健機構 (WHO) が刊行した「食品中の残留農薬における毒性評価の原則」(環境保健クイテリア 104 巻) に従い無毒性量 (NOAEL) を決定した。WHO 基準では血漿コリンエステラーゼの阻害は有害な毒性学的影響であるとはみなされない、脳コリンエステラーゼの阻害が赤血球コリンエステラーゼの阻害より安全性評価上極めて重要であるとされている。しかしながら、脳コリンエステラーゼを測定しない場合、赤血球コリンエステラーゼは血漿コリンエステラーゼよりも優れた毒性の指標として利用できることも述べている。従って、本試験においても血漿コリンエステラーゼの低下については毒性学的に意義が小さいと考えられることから、雌の無毒性量は 32ppm (6.70mg/kg/日) と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

③ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料No.VI-5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991年

検体純度: %

供試動物: SD系ラット、投与開始時約6週齢

体重範囲(最終屠殺群の50匹) 雄146~277g 雌84~150g

1群雄雌各80匹(最終屠殺群 1群雄雌各50匹、中間屠殺群 1群雄雌各10匹)

投与後26、52、78週に各群雄10匹、雌10匹を中間屠殺した。

投与期間: 104週間(1986年8月22日~1988年8月24日)

投与方法: 検体を3、10、100及び300ppmの濃度で飼料に混入し、104週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は2週間に1回調製した。

投与量設定根拠:

試験項目及び結果

一般症状及び死亡率: 一般症状を毎日1回、死亡を毎日2回観察した。さらに毎週1回触診を含む詳細な検査を行なった。最終屠殺群の死亡率を下表に示す。

投与量(ppm)		0	3	10	100	300
死亡率(%)	雄	38	26	34	40	34
	雌	36	32	30	38	34

対照群と投与群で差は認められなかった。

外陰部周囲の腫脹、眼・鼻周辺の痂皮、被毛の着色などが記録されたが、いずれも試験動物の週齢と系統に通常観察される所見であった。

体重変化: 投与開始1週間前から13週までは毎週1回、それ以降は4週間に1回記録した。78週中間屠殺予定の雌300ppm群において増体重の減少が見られたが、これは52週の間屠殺時に体重の大きな動物を偏って選別した結果、残余の動物の平均体重が小さくなったためであり検体投与による影響ではないと考えられる。

飼料摂取量及び飼料効率: ケージ当りの飼料摂取量を投与開始1週間前から13週までは毎週1回、それ以降は4週間に1回測定した。飼料効率は投与開始から28週まで各群について計算した。

投与群と対照群で差は認められなかった。

飲水量: 投与期間中目視で観察した。

群間差は認められなかった。

検体摂取量: 体重及び飼料摂取量から算出した最終屠殺群の1日あたりの平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量(ppm)		3	10	100	300
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.2	0.5	5.4	16.2
	雌	0.2	0.7	7.2	22

検眼鏡検査: 最終屠殺予定の対照群及び300ppm群の全動物を対象として、投与前、52及び102週に倒像検眼鏡を用いて検査した。

投与に関連した病変は観察されなかった。

血液検査: 25、51及び77週に中間屠殺予定の各群雄10匹、雌10匹を、103週に最終屠殺予定の各群雄10匹、雌10匹を対象として眼窩静脈洞から採血し、血色素量、赤血球数、白血球数、白血球百分率、ヘマトクリット値、血小板数、赤血球平均恒数(MCH、MCV、MCHC)を測定し、パトキックテスト(無麻酔下で尾端部より採血)を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

次表に対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		3	10	100	300	3	10	100	300
MCH	25 週								97↑
	77 週	104↑			106↑				
MCV	25 週							96↓	96↓
白血球百分率 好酸球	25 週					(0.2)↑	(0.1)↑		(0.1)↑
リンパ球	77 週			143↑					

Student's t 検定又は Kruskal-Wallis 検定 ↓↑ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01 ↓↑ : p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

好酸球：対照群の出現率が 0.0% のため有意差の見られた群は (実測値) を示した。

いずれの項目も、群間差が見られないこと、変動幅も小さいことから投与に関連した変化とは考えられなかった。

血液化学的検査：上記の血液検査における同一の検査時期、動物を対象としてその血漿を用い、尿素窒素、血糖、GOT、GPT、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩化物、総蛋白、アルブミン、アルカリホスファターゼ、A/G 比、クレアチニン、無機リン、ビリルビン、血漿コリンエステラーゼ、赤血球コリンエステラーゼを測定した。脳コリンエステラーゼのみ 26、52、78、104 週に測定した。

次表に対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		3	10	100	300	3	10	100	300
尿素窒素	103 週	120↑			120↑				
ナトリウム	51 週					101↑		101↑	101↑
	103 週					101↑			
塩化物	25 週								102↑
総蛋白	51 週								108↑
アルカリホスファターゼ	25 週			77↓	74↓				
	103 週		136↑						
血漿 コリンエステラーゼ	25 週				(82)	(94)	(94)	(80)	61↓
赤血球 コリンエステラーゼ	51 週	130↑	146↑	145↑	138↑				

Student's t 検定又は Kruskal-Wallis 検定 ↓↑ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01 ↓↑ : p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

表中の血漿コリンエステラーゼで括弧を付した値は、統計学的有意差のない低下を示す。

300ppm 群雄雌、100ppm 群雌に血漿コリンエステラーゼのわずかな低下が試験の初期にみられた。赤血球及び脳コリンエステラーゼに投与による影響はみられなかった。

その他の項目については、群間差が見られないこと、変動幅も小さいことから投与に関連した変化とは考えられなかった。

尿検査：25、51、77、103 週に 4 時間絶食後、代謝ケージから尿を採集し、尿量、pH、比重、尿蛋白、尿糖、ケトン体、血色素、ビリルビン、ウベリリゲン、尿沈渣、外観 (色調、混濁) を測定した。

25 週に 10ppm 雄で pH の有意な上昇 (14%) がみられたが、群間差が見られないことから投与に関連した変化とは考えられなかった。その他に統計学的有意差の見られた項目は無かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

臓器重量：26、52、78週時の中間屠殺動物、試験終了時の各群雄10匹、雌10匹を対象として、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、脾臓、精巣（精巣上体を含む）の重量を測定した。

次表に対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		3	10	100	300	3	10	100	300
脾臓	52週		82↓						
腎臓	104週								115↑

Student's t 検定又は Kruskal-Wallis 検定 ↓ : p<0.05    ↓↑ : p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を表す。

投与に関連した影響は認められなかった。

肉眼病理学的検査：26、52、78週中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び瀕死期屠殺・死亡動物を対象として検査を行なった。

いずれの検査時期においても群間差は認められず、試験ラットの系統と週齢から予想される剖検所見以外には特記すべき所見はなかった。

病理組織学的検査：最終屠殺動物及び瀕死期屠殺・死亡動物ならびに26、52、78週中間屠殺動物の対照群、300ppm群の全動物を対象として、重量測定臓器の他に大動脈、膀胱、胸骨、肋骨、眼、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、乳腺、腸間膜リンパ節、大腿筋、食道、脾臓、前立腺、坐骨神経、精囊、皮膚、脊髄、胃、顎下リンパ節、顎下唾液腺、胸腺、甲状腺、上皮小体、気管、子宮、膈及び肉眼的病変部について病理標本作製し、鏡検した。26、52、78週中間屠殺動物の3、10、100ppm群は腎臓、肝臓、肺についてのみ検査した。

次表に主要な非腫瘍性（表1）及び腫瘍性病変（表2）の一覧表を示す。

非腫瘍性病変では、3ppm群の雌5匹に空胞形成を伴う脳症が、また100ppm群雄の脾臓にヘジデリンと髓外造血の増加がみられたが、発生頻度が低く、投与に関連した傾向もないことから、毒性学的意義はないと考えられる。

腫瘍性病変では、300ppm群雄で副腎の良性褐色細胞腫の発生頻度が増加し、髓質増生もわずかに増加していたが、用量相関の傾向はなく、悪性腫瘍の発生頻度の増加もなかった。

さらに通常出現しない腫瘍として、300ppm群雄1匹に心臓の中皮腫、10ppm群雄2匹に前立腺腺腫、同群雄1匹に前立腺腺癌、10ppm群雌1匹及び300ppm群雌1匹に膀胱の乳頭腫、10ppm群雌1匹に虹彩の平滑筋腫が認められた。いずれも偶発所見とみなされ、検体の投与に関連した腫瘍ではないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌						
		投与量 (ppm)	0	3	10	100	300	傾向	0	3	10	100	300	傾向
26週	剖検動物数		10	10	10	10	10		10	10	10	10	10	
	肝臓	検査動物数	10	10	10	10	10		10	10	10	10	10	
		好塩基性細胞巢	1						4	2	0↓	2	4	
		明細胞性細胞巢	3	1	1	1	2		2				2	
		蒼白細胞性細胞巢				1	2	↑					1	
	腎臓	腎症	5	2	6	3	4		1				2	
	顎下リンパ節	検査動物数	10	0	0	1	10		10	0	0	0	10	
プラズマ細胞増加症		0			1	1						5		
52週	剖検動物数		10	10	9	10	10		9	9	9	9	8	
	肝臓	検査動物数	10	10	9	10	10		9	9	9	9	8	
		好塩基性細胞巢				2			4	4	4	8	4	
		明細胞性細胞巢	1	3	6↑	2	4		2	1	1		1	
		蒼白細胞性細胞巢	1			1				1	1	1		
	腎臓	腎症	7	6	4	5	2↓	↓			1	2		
	卵巣	嚢胞							3	3	1		6	
	顎下リンパ節	検査動物数	10	0	0	0	10		9	0	0	0	8	
		プラズマ細胞増加症	2				3		6				2	
	脾臓	検査動物数	10	0	1	0	10		9	1	0	0	8	
ヘジテリン増加		0						3				1		
髄外造血増加		1		1		1		1	1			2		
78週	剖検動物数		10	9	10	8	9		10	10	10	9	8	
	肝臓	検査動物数	10	9	10	8	9		10	10	10	9	8	
		好塩基性細胞巢	2	2	1	1	2		7	7	9	5	5	
		明細胞性細胞巢	2	2	3	1	3		2	4	1	1	2	
		蒼白細胞性細胞巢	1	1	2				1				1	
	腎臓	腎症	6	8	9	7	8		7	1↓	4	5	0↓	
	卵巣	嚢胞							3	2			3	
	顎下リンパ節	検査動物数	10	0	0	1	9		10	0	0	0	8	
		プラズマ細胞増加症	1			1	1							
	脾臓	検査動物数	10	0	0	0	9		10	0	0	0	8	
ヘジテリン増加														
髄外造血増加		1				1		2						

Fisherの直接確率法、Cochran-Armitageの傾向検定      ↓↑: p<0.05      ↓↓↑↑: p<0.01      空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌						
			投与量 (ppm)	0	3	10	100	300	傾向	0	3	10	100	300
瀕死期屠殺・死亡	剖検動物数		19	14	18	22	18		19	17	16	21	21	
	肝臓	検査動物数	19	13	16	22	17		19	17	16	20	21	
		好塩基性細胞巢	7	8	8	5	7		14	10	10	14	9↓	
		明細胞性細胞巢							1			1		
		蒼白細胞性細胞巢	4	4	4	4	3		2	2	2	6	2	
	腎臓	検査動物数	18	14	14	20	16		19	17	15	20	21	
		腎症	16	12	13	16	11		10	9	12	16	10	
	顎下リンパ節	検査動物数	19	13	15	20	18		19	17	15	19	20	
		プラズマ細胞増加症		1	2	1	1			1		1	4	↑
	脾臓	検査動物数	19	14	15	22	17		19	17	15	20	20	
		ヘジテリン増加	4	1	5	12↑	5	↑	11	11	11	13	10	
		髓外造血増加	4	4	2	6	3		2	5	3	5	5	
	卵巣	嚢胞	-	-	-	-	-		3	8↑	8↑	3	5	
	脳	検査動物数	19	14	16	21	17		19	17	15	21	20	
		空胞形成								1				
最終屠殺	剖検動物数		31	37	33	30	33		32	34	35	31	33	
	肝臓	検査動物数	31	37	33	30	33		32	34	35	31	33	
		好塩基性細胞巢	25	23	27	21	26		30	32	32	27	30	
		明細胞性細胞巢	2	5		1	5		4	2	2	0↓	3	
		蒼白細胞性細胞巢	21	26	26	21	24		13	14	14	11	13	
	腎臓	腎症	31	37	33	30	31	↓	24	33↑	31	29↑	27	
	顎下リンパ節	検査動物数	30	37	33	30	33		31	34	35	31	33	
		プラズマ細胞増加症	4	12	9	9	6		1	9↑	5	8↑		
	脾臓	検査動物数	31	37	33	30	33		32	34	35	31	33	
		ヘジテリン増加	1		3	4	4	↑	11	16	14	18	13	
		髓外造血増加	2	1	2	8↑	2	↑	3	4	6	6	3	
	卵巣	嚢胞	-	-	-	-	-		13	17	22	13	15	
	脳	空胞形成							4					

Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定 ↓ ↑ : p<0.05 ↓↑ : p<0.01  
空欄は「0」を示す - : 測定せず



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 1 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌						
		投与量(ppm)	0	3	10	100	300	傾向	0	3	10	100	300	傾向
全動物	剖検動物数		80	80	80	80	80		80	80	80	80	80	
	肝臓	検査動物数	80	79	78	80	80		80	80	80	79	80	
		好塩基性細胞巢	35	33	36	29	35		59	55	55	56	52	
		明細胞性細胞巢	8	11	10	5	14		11	7	4	2↓	8	
		蒼白細胞性細胞巢	27	31	32	27	29		16	17	17	18	17	
	腎臓	検査動物数	79	80	76	78	78		80	80	79	79	80	
		腎症	65	65	65	61	56	↓	41	44	48	52	39	
	顎下リンパ節	検査動物数	80	50	48	52	80		79	51	51	50	79	
		プラズマ細胞増加症	7	13↑	11↑	12↑	12		7	10	5	9	11	
	脾臓	検査動物数	80	52	49	52	79		80	52	50	51	79	
		ヘジゲリン増加	5	1	8	16↑	9	↑	25	27↑	25↑	31↑	24	
		髓外造血増加	8	5	5	14↑	6		8	10	9	11	10	
	卵巣	検査動物数	-	-	-	-	-		80	80	79	79	79	
		嚢胞	-	-	-	-	-		19	31↑	33↑	16	29↑	
	脳	検査動物数	80	51	49	51	78		80	51	50	52	79	
		空胞形成								5↑				

Fisher の直接確率法、Cochran-Armitage の傾向検定 ↓↑ : p<0.05 ↓↓↑ : p<0.01  
 空欄は「0」を示す - : 測定せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性 別 投 与 群 (ppm)	雄					雌				
			0	3	10	100	300	0	3	10	100	300
26週	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	副腎	皮質腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
52週	検査動物数		10	10	9	10	10	9	9	9	9	8
	腎臓	尿管腺腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	下垂体	腺腫 (B)	1	1	0	0	3	0	0	0	0	0
	皮膚	組織球腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
	子宮	子宮癌 (M)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
ハダ腺	癌 (M)	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	
78週	検査動物数		10	9	10	8	9	10	10	10	9	8
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	肺	腺腫 (B)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	島細胞腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	線維腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	3	1	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	下垂体	腺腫 (B)	4	3	5	3	2	4	2	6	4	3
	胸腺	胸腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮膚	乳頭腫 (B)	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 (B)	2	0	0	0	0	—	—	—	—	—
	甲状腺	C細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0
濾胞腺腫 (B)		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	
子宮	ホリブ (B)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	1	

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisherの直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別		雄					雌				
		投与群 (ppm)		0	3	10	100	300	0	3	10	100	300
死亡・ 切迫殺	検査動物数		19	14	18	22	18	19	17	16	21	21	
	腹腔	肉腫 (M)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	
		悪性腫瘍*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	副腎	褐色細胞腫 (B)	2	2	1	4	1	1	1	1	0	0	
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	
		悪性腫瘍*	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
	血管系	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	骨	骨肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	骨格筋	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	脊髄	神経膠腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	脳	顆粒膜細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
		良性腫瘍*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		細網症 (M)	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	
		神経膠腫 (M)	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	
	胸腺	胸腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	造血器	リンパ腫 (M)	2	0	1	1	1	1	0	0	0	1	
		組織球肉腫 (M)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		白血病 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		肝細胞癌 (M)	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	
	腎臓	脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	脾臓	悪性腫瘍*	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	乳腺	腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	2	0	1	
		線維腺腫 (B)	0	1	1	0	0	10	3	4	4	3	
		腺癌 (M)	0	0	2	0	0	3	2	5	3	7	
	膵臓	島細胞腺腫 (B)	3	1	0	1	1	0	0	1	1	0	
	下垂体	腺腫 (B)	12	9	8	12	11	13	11	14	15	13	
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	
中間葉腺腫 (B)		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
前立腺	腺癌 (M)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—		

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisherの直接確率法

\*: 診断がつかなかった腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与群 (ppm)	0	3	10	100	300	0	3	10	100	300
死亡・ 切迫殺	検査動物数		19	14	18	22	18	19	17	16	21	21
	皮膚	上皮腫 (B)	3	0	3	1	1	1	0	1	1	0
		乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		線維腫 (B)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	1	0	0	1	1	2	0	1	1	0
		癌肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		真皮線維腫 (M)	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 (B)	2	2	0	0	0	—	—	—	—	—
	甲状腺	C細胞腺腫 (B)	2	5	0	3	0	0	1	0	3	0
		濾胞腺腫 (B)	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0
		C細胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
	上皮小体	腺腫 (B)	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1
	子宮	ホリ-ブ (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	2	0
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	膀胱	乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	子宮頸部	間質肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	膈	ホリ-ブ (B)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	1
	尿道	乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	ジハル腺	扁平上皮癌 (M)	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
その他	肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisherの直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性 別	雄					雌				
			投 与 群 (ppm)					0	3	10	100	300
最終屠殺	検 査 動 物 数		31	37	33	30	33	32	34	35	31	33
	腎臓	尿細管腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
		尿細管腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	副腎	褐色細胞腫 (B)	5	10	8	7	12 ↑	0	0	0	2	0
		皮質腺腫 (B)	1	2	0	1	0	1	0	0	0	2
		悪性褐色細胞腫 (M)	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0
	膀胱	乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		線維腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	脳	髄膜腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		顆粒膜細胞腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
		神経膠腫 (M)	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0
	心臓	中皮腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	脊髄	神経膠腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	血管系	血管肉腫 (M)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	造血系	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	骨格筋	脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	5	2	4	1	1	2	2	2	4	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	1	3	0	1	1	0	2
	肺	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	3	1	0	1
		線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	0	8	7	14	10	16
		線維腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	2	2	1	2	3
	卵巣	顆粒膜細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
		顆粒膜莢膜腫瘍 (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
		囊腺腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
	膵臓	混合内/外分泌腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		島細胞腺腫 (B)	5	6	1	0	2	1	0	0	0	1
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		外分泌腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisher の直接確率法 ↑: p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与群 (ppm)	0	3	10	100	300	0	3	10	100	300
最終屠殺	検査動物数		31	37	33	30	33	32	34	35	31	33
	下垂体	腺腫 (B)	19	21	19	16	21	21	22	21	23	19
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
		中間葉腺腫 (B)	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0
	眼	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		上皮腫 (B)	8	6	10	5	4	1	0	0	0	0
	皮膚	基底細胞腫 (B)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
		皮脂腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		混合付属器腫瘍 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		乳頭腫 (B)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
		線維腫 (B)	2	3	5	2	2	1	0	0	4	1
		脂肪腫 (B)	2	1	1	1	3	1	1	1	1	0
		真皮線維腫 (B)	0	4	5	2	4	0	1	0	0	0
		線維肉腫 (M)	2	0	1	1	1	0	0	0	0	0
		扁平細胞癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	小腸	間細胞腫 (B)	4	6	3	5	5	—	—	—	—	—
		中皮腫 (M)	0	0	2	0	0	—	—	—	—	—
	精巣	腺腫 (B)	0	0	2	0	0	—	—	—	—	—
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—
	前立腺	腺腫 (B)	0	0	2	0	0	—	—	—	—	—
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—
	胸腺	胸腺腫 (B)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	甲状腺	C細胞腺腫 (B)	5	7	4	8	9	1	3	5	3	1
		濾胞腺腫 (B)	1	1	1	3	2	1	2	0	1	1
		C細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	2	2	0	0
		濾胞腺癌 (M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	上皮小体	腺腫 (B)	4	2	5	2	2	1	0	0	2	0
	子宮	ホリ-ブ (B)	—	—	—	—	—	3	6	4	4	2
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	—	3	0	0	0	0
	膣	ホリ-ブ (B)	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
		顆粒細胞腫瘍 (M)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
ジンハル腺	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisherの直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与群 (ppm)	0	3	10	100	300	0	3	10	100	300
	検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
全動物	副腎	褐色細胞腫 (B)	7	12 ↑	9	11 ↑	14 ↑	1	1	1	2	1
		皮質腺腫 (B)	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
		悪性腫瘍*	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	2	1	0	0	1	1	0	0	1	1
	腹腔	悪性腫瘍*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	膀胱	乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
		線維腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	血管系	血管肉腫 (M)	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
	骨	骨肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	脊髓	神経膠腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	骨格筋	脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	脳	髄膜腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		良性腫瘍*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		顆粒膜細胞腫 (B)	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1
		神経膠腫 (M)	1	2	0	1	0	1	2	0	0	0
		細網症 (M)	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0
	心臓	中皮腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	眼	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	ハ-ダ-腺	癌 (M)	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0
	造血器	リンパ腫 (M)	2	0	1	1	1	1	0	0	1	2
		組織球肉腫 (M)	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
		白血病 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	腎臓	尿細管腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
尿細管腺癌 (M)		0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	
脂肪肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	5	3	4	1	1	3	2	2	4	0	
	肝細胞癌 (M)	0	2	0	1	3	1	1	2	0	2	
脾臓	悪性腫瘍*	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
肺	腺腫 (B)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisher の直接確率法 ↑: p<0.05

\*: 診断がつかなかった腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与群 (ppm)	0	3	10	100	300	0	3	10	100	300	
	検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	
全動物	乳腺	線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	2	3	4	0	3	
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
		線維腺腫 (B)	0	2	1	0	0	18	10	21	15	20	
		線維腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
		腺癌 (M)	0	0	2	0	0	6	4	9	7	15	
	卵巢	顆粒膜細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0	
		顆粒膜莖膜細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1	
		囊胞腺腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0	
	膵臓	混合内/外分泌腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		島細胞腫 (B)	8	7	1	1	3	1	0	1	1	1	
		外分泌腺腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		島細胞癌 (M)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	
	上皮小体	腺腫 (B)	5	2	6	3	2	1	0	1	2	1	
	下垂体	腺腫 (B)	36	34	32	31	37	38	35	41	42	35	
		腺癌 (M)	0	0	0	0	1	1	1	0	1	3	
		中間葉腺腫 (B)	0	2	2	0	1	0	0	0	1	0	
	前立腺	腺腫 (B)	0	0	2	0	0	—	—	—	—	—	
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—	
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—	
	皮膚	基底細胞腫瘍 (B)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
		乳頭腫 (B)	0	1	2	0	2	0	0	0	0	0	
		皮脂腺腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		上皮腫 (B)	11	6	13	6	5	2	0	1	1	0	
		線維腫 (B)	2	4	6	2	2	1	0	0	4	1	
		真皮線維腫 (B)	2	4	6	2	4	0	1	0	0	0	
		混合付属器腫瘍 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		脂肪腫 (B)	3	1	2	2	4	1	1	1	1	0	
		組織球腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		線維肉腫 (M)	3	0	1	2	3	2	0	1	1	0	
癌肉腫 (M)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
扁平細胞癌 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
組織球肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
小腸	腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0			
精巣	間細胞腫 (B)	8	8	3	5	5	—	—	—	—	—		
	中皮腫 (M)	0	0	2	0	0	—	—	—	—	—		

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisherの直接確率法



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		投与群 (ppm)	0	3	10	100	300	0	3	10	100	300	
全動物	検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	
	胸腺	胸腺腫 (B)	1	0	0	1	0	2	0	0	0	1	
		甲状腺	C細胞腺腫 (B)	7	12	5	11	11	1	4	5	6	1
			濾胞腺腫 (B)	1	2	2	5	3	1	2	0	1	1
			C細胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	1	2	3	1	0
	子宮	濾胞腺癌 (M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
		ポリプ (B)	—	—	—	—	—	4	6	4	6	3	
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	—	3	1	0	0	0	
	膣	子宮癌 (M)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1	
		ポリプ (B)	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0	
	子宮頸管	顆粒膜細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1	
		間質肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	1	1	1	
	ジノバル腺	扁平上皮癌 (M)	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	尿道	乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
その他	肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
合計	検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80	80		
	腫瘍数	良性	99	107	104	82	97	81	69	87	89	75	
		悪性	10	15	14	13	21	19	16	17	14	30	
	腫瘍総数		109	122	118	95	118	100	85	104	103	105	
	担腫瘍動物数	良性	50	49	50	46	48	52	46	48	49	46	
		悪性	8	9	12	10	16	15	13	13	11	21	
担腫瘍動物数		54	52	54	47	52	56	50	50	55	52		

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍 Fisherの直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

最終屠殺動物及び途中死亡動物（最終屠殺群）について各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数を下表に示す。

性別	雄					雌					
投与量 (ppm)	0	3	10	100	300	0	3	10	100	300	
検査動物	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
腫瘍数	良性	92	99	91	79	88	72	66	76	83	69
	悪性	8	14	11	13	18	17	15	13	11	20
腫瘍総数	100	113	102	92	106	89	81	89	94	89	
担腫瘍動物数	良性	43	44	43	41	42	44	44	42	46	40
	悪性	8	11	11	13	16	15	13	11	9	17
担腫瘍動物数	48	45	46	43	45	47	46	43	46	44	

雄の悪性腫瘍動物数が対照群の 8/50 (16%) に対して 300ppm 群で 16/50 (32%) とやや増加した。雌にはこのような差異はなかった。出現部位に関わりない腫瘍発生頻度は、ある特定の腫瘍の発生頻度に比較して、より偶発的に変動するとも考えられるので、特に背景データ（悪性腫瘍動物数：雄 16～31%、雌：16～64%）を参照すると、悪性腫瘍動物数にみられた群間差は偶発的な変動によるとみならずことは出来る。

以上の結果から、本剤を飼料に添加してラットに 104 週間にわたって投与することにより、雄の 300ppm、雌の 100ppm 以上に血漿コリンエステラーゼの低下がみられたことから、無影響量は雄 100ppm (5.4mg/kg/日)、雌 10ppm (0.7mg/kg/日) であると考えられる。<sup>注1)、2)</sup> また、発がん性は認められなかった。

申請者注 1) : 血漿コリンエステラーゼは 25 週に 300ppm 群雌で有意な低下 (39%) が見られたのみであるが、300ppm 群雄及び 100ppm 群雌の低下 (それぞれ 18% 及び 20%) も試験責任者は検体投与による影響と考えて無影響量を判断し、3 及び 10ppm 群雌の低下 (それぞれ 6%) は変動幅が小さいことから無影響量の根拠とはしなかったと申請者は推察した。

申請者注 2) : 1990 年に世界保健機構 (WHO) が刊行した「食品中の残留農薬における毒性評価の原則」(環境保健ライブラリー 104 巻) に従い無毒性量 (NOAEL) を決定した。WHO 基準では血漿コリンエステラーゼの阻害は有害な毒性学的影響であるとはみなされない、脳コリンエステラーゼの阻害が赤血球コリンエステラーゼの阻害より安全性評価上極めて重要であるとされている。しかしながら、脳コリンエステラーゼを測定しない場合、赤血球コリンエステラーゼは血漿コリンエステラーゼよりも優れた毒性の指標として利用できることも述べている。従って、本試験においても血漿コリンエステラーゼの低下については毒性学的に意義が小さいと考えられることから、無毒性量は雄雌とも 300ppm (雄 16.2mg/kg/日、雌 22mg/kg/日) と考えられる。

### (9) 繁殖毒性及び催奇形性

#### ① ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料No.VII-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体純度： %

供試動物：SD系ラット、投与開始時 約6週齢 P世代 ; 1群雄30匹、雌30匹  
F1世代 ; 1群雄25匹、雌25匹

投与期間：P世代 ; 投与開始からF1児離乳時までの最低16週間

F1世代 ; 離乳後からF2児離乳時までの最低16週間

(1986年10月20日~1987年7月15日)

投与方法：検体を0、10、100、300ppmの濃度で飼料に混入し、自由摂取させた。

投与量設定根拠；

方法及び試験項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般症状及び死亡率；全親動物を毎日2回、児動物を毎日1回観察し異常所見を記録した。

交配及び妊娠の確認；同群の雄、雌を1対1で最高3週間同居させ、毎日の膣垢検査により

交配成立を確認した。精子を確認した日を妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、出産及び離乳時期の観察に基づき次の指標を算出した。

交配効率(日数) =	$\frac{\text{交配成立までの所要日数の総計}}{\text{交配が成立した動物数}}$	
受胎率(%) =	$\frac{\text{妊娠した動物数}}{\text{交配が成立した動物数}} \times 100$	
交尾率(%) =	$\frac{\text{交配が成立した動物数}}{\text{同居させた動物数}} \times 100$	
繁殖率(%) =	$\frac{\text{妊娠した動物数}}{\text{同居させた動物数}} \times 100$	
出産率(%) =	$\frac{\text{生存新生児を分娩した動物数}}{\text{妊娠した動物数}} \times 100$	
新生児生存率(%) =	$\frac{\text{分娩後1日の生存新生児数}}{\text{分娩時の新生児の総数}} \times 100$	
哺乳児生存率(%) =	$\frac{\text{分娩後4/7/14/21日の生存哺乳児数}}{\text{分娩後1/4/7/14日の生存哺乳児数}} \times 100$	
離乳率(%) =	$\frac{\text{分娩後21日の生存新生児数}}{\text{分娩後4日の生存哺乳児数}} \times 100$	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

$$\text{性比率 (\%)} = \frac{\text{雄の新生児数}}{\text{新生児の総数}} \times 100, \quad \frac{\text{雌の新生児数}}{\text{新生児の総数}} \times 100$$

病理組織学的検査；対照群、300ppm 群の P 及び F1 動物について、雄では下垂体、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、凝固腺を、雌は下垂体、卵巣、子宮、子宮頸、膈を  
検査した。

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	生育(10週)		一般症状を毎日2回観察。 体重、飼料摂取量を週1回測定。
	交配(3週)	雄雌1対1で交配。交尾は膈垢 検査により確認(妊娠0日)。	交配状況の観察。交配終了時、雄を剖検し、対照 群と300ppm群を病理組織学的検査。
	妊娠(3週)		体重を妊娠0、6、10、15、20日に測定。飼料摂取 量を妊娠0~6、6~10、10~15、15~20日に測定。
	出産		出産の状況の観察。 妊娠期間、生存児数、死亡児数、性別、生存児体 重を測定。
F1	哺育(3週)	出産4日後、各同腹児数を雌雄 各4匹(不可能な場合最大8匹) に調整。	親動物の体重を分娩後、1、4、7、14、21日に、飼 料摂取量を分娩1~4、4~7、7~14、14~21日に 測定。  生後1、4、7、14、21日に児動物体重測定。途中 死亡児の外表・内臓異常を検査。  各児の発育分化(耳介の展開、被毛発達、切歯萌出、 眼瞼開裂)を毎日検査。
	離乳	継代用に各腹から雄1~2匹、 雌1~3匹を選抜し、合計雌雄 各25匹とした。	各腹から雌雄各2匹を選抜し、機能検査(瞳孔反 射及び聴覚反応)を実施。
	生育(10週) 交配(3週) 妊娠(3週) 出産	} (P世代に準ずる)	継代用以外の児動物及び全親動物を屠殺し、剖検。 不妊動物を含む全雌動物の着床数を記録。
哺育(3週)	(P世代に準ずる)		
F2	離乳	(F1世代に準ずる)	(F1世代に準ずる) 離乳後屠殺し、全動物を剖検し、対照群と300ppm 群を病理組織学的検査。

結果：

世代		親：P 児：F1				親：F1 児：F2				
投与量 (ppm)		0	10	100	300	0	10	100	300	
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	-	0.7	7.1	21.2	-	0.8	8.5	25.7	
	雌	-	0.8	8.4	24.8	-	0.9	9.6	28.2	
動物数	雄	30	30	30	30	25	25	25	25	
	雌	30	30	30	30	25	25	25	25	
親動物	一般症状									
	死亡動物数	雄	0	0	0	0	0	0	0	
		雌	0	0	0	0	0	0	0	
	体重変化	雄								
		雌				授乳中体重増加抑制↓				
	飼料摂取量	雄								
		雌								
	肉眼病理学的検査									
	病理組織学的検査									
	交配効率 (日数)		3.0	2.8	2.8	3.1	2.6	2.8	3.2	2.9
交尾率 (%)		93.3	96.7	96.7	100.0	100.0	100.0	92.0	92.0	
受胎率 (%)		96.4	100.0	100.0	96.7	88.0	84.0	91.3	91.3	
繁殖率 (%)		90.0	96.7	96.7	96.7	88.0	84.0	84.0	84.0	
出産率 (%)		100.0	100.0	96.6	100.0	100.0	90.5	100.0	100.0	
妊娠期間 (日)		21.7	21.7	21.8	21.7	22.0	21.9	21.9	22.0	
児動物	生存産児数 (腹単位)		351 (13.0)	367 (12.7)	364 (12.6)	363 (12.5)	273 (12.4)	229 (12.1)	228 (10.9)	252 (12.0)
	死亡産児数 (腹単位)		19 (0.7)	7 (0.2)	21 (0.7)	26 (0.9)	13 (0.6)	5 (0.3)	6 (0.3)	14 (0.7)
	奇形産児数 (腹数)		1(1)	0(0)	2(2)	2(2)	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
	出現率 (%)		0.3	0	0.5	0.6	0	0	0.4	0.4
	性比 (雄/雌)		1.2	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	0.8	1.0
	産児体重 (g)	1日	5.8	6.0	5.8	6.1	5.8	6.2	5.9	6.1
		4日	7.3	7.6	7.5	7.6	7.2	7.6	7.2	7.5
		7日	10.4	11.5	11.7	11.4	11.2	11.7	10.9	12.3
		14日	23.0	25.7	25.8	24.8	23.6	25.0	24.3	25.3
		21日	35.2	40.5	40.2	38.7	38.6	40.9	39.5	41.5
生存率	4日 (調整前)	(%)	85.3	91.0	91.0	92.1	80.1	95.4	84.9	80.3
		産児数	304	340	340	324	222	217	196	205
		腹単位	11.3	11.7	11.7	11.2	10.1	11.4	9.3	9.8
	7日	(%)	87.9	83.6	86.6	79.0	80.5	86.2	83.7	78.8
		産児数	178	193	184	176	139	131	134	121
		腹単位	6.6	6.7	6.3	6.1	6.3	6.9	6.2	5.8
	14日	(%)	76.0	81.7	84.2	76.0	92.3	93.5	87.0	96.9
		産児数	141	160	162	140	132	123	119	119
		腹単位	5.2	5.5	5.6	4.8	6.0	6.5	5.7	5.7
	21日	(%)	91.9	91.8	97.6	85.4	100	100	98.5	100
		産児数	136	154	158	126	132	123	117	119
		腹単位	5.0	5.3	5.4	4.3	6.0	6.5	5.6	5.7
離乳率 (%)		67.1	66.8	74.0	56.6	75.9	80.9	74.2	76.5	
機能検査										
肉眼病理学的検査										
病理組織学的検査										

空欄：変化なし      Newman-Keuls 検定      ↓ ↑ : p<0.05

P 世代、F1 親世代において一般症状としては各部位の損傷が、剖検所見としては肝臓及び脾臓切断面の顆粒形成、腎盂拡張などがみられたが、いずれも用量相関性がなく検体投与には関連しないと考えられる。

300ppm 群の P 世代雌動物において、授乳期間中の体重増加の抑制、同腹児の匹数調整後(分娩 4 日)に統計学的有意差は認められないが F1 児動物の生存率及び離乳率が低下した。

300ppm 群の F1 親世代ならびに F2 哺乳児には何らの毒性も認められなかった。

F1 児動物の奇形としては、対照群及び 100ppm 群の各 1 匹に短頸、100ppm 群及び 300ppm 群の各 1 匹に眼の混濁、300ppm 群の 1 匹に脊柱前彎症が認められた。F2 児動物では、100ppm 群の 1 匹に尾の無形成、300ppm 群の 1 匹に眼の混濁及び視覚消失がみられた。F1 及び F2 児動物の剖検時に観察された奇形は、その発生頻度に統計学的な有意差が認められていないこと、各親世代の肉眼的病理検査時にも同じ所見が見られないこと、F1 及び F2 児動物の瞳孔反射検査で異常が見られていないことから検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

以上の結果から、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、300ppm 群(P 雄 21.2mg/kg/日、P 雌 24.8mg/kg/日、F1 雄 25.7mg/kg/日、F1 雌 28.2mg/kg/日)の P 世代雌動物において授乳期間中の体重増加の抑制、同腹児匹数調整後の F1 児動物の生存率及び離乳率がわずかに低下したが繁殖性及び繁殖成績全般に影響を与えなかった。

申請者注 1) : 原報告書では各世代の児動物を F1a 及び F2a と表記しているが、いずれの世代も第 1 産目の児動物を用いて試験を行っていることから、農薬抄録中では F1 及び F2 とした。

申請者注 2) : 原報告書では本試験における親及び児動物の無毒性量が記載されていないが、申請者は試験結果から次のように判断した。300ppm 群の P 世代雌動物において認められた授乳期間中の統計学的に有意な体重増加の抑制を検体投与の影響と考えたが、同群の F1 児動物の生存率及び離乳率の低下は統計学的有意差が認められないこと、F2 児動物では同様の影響が見られていないことから検体投与の影響とは考えなかった。

従って、無毒性量は P 世代の親動物の雄動物で 300ppm (21.2mg/kg/日)、雌で 100ppm (8.4mg/kg/日)、F1 世代の親動物で雌雄ともに 300ppm (雄 : 25.7mg/kg/日、雌 : 28.2mg/kg/日)、P 世代及び F1 世代の児動物 (F1 及び F2 児動物) で雌雄ともに 300ppm (P 世代 : 雄 21.2mg/kg/日、雌 24.8mg/kg/日、F1 世代 : 雄 25.7mg/kg/日、雌 28.2mg/kg/日) と判断した。

②ラットにおける催奇形性試験

(資料No.VII-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体純度： %

供試動物：SD系ラット、10週齢、1群雌25匹

投与期間：10日間(1986年7月15日～1986年8月11日)

投与方法：検体を0.5%CMC溶液で10、30、90mg/kgの投与量に調製し、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。対照群には0.5% CMCを同様に投与した。

腫栓あるいは精子の観察された日を妊娠0日とした。

投与量設定根拠；

試験項目

親動物；一般症状及び死亡を毎日観察し、体重を妊娠0、6、8、12、16、20日目に、飼料摂取量を妊娠0～6、6～8、8～12、12～16、16～20日に測定した。妊娠20日目に帝王切開した後、肉眼的異常を検査し、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数、吸収胚数を記録した。

胎児；性別、体重及び外表異常を観察した。各同腹児の約1/2の胎児については内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格異常の有無を検査した。

結果

投与量 (mg/kg/日)		0		10		30		90		
1 群当り動物数		25		25		25		25		
親	一般症状							投与期間中 振顫・流涎・眼球突出・着色尿		
	死亡数	0		0		0		2		
	体重変化							投与期間中増体重低下 ↓		
	飼料摂取量							投与期間中低下 ↓		
	妊娠数 (%)	22 (88)		22 (88)		19 (76)		19 (76)		
動物	肉眼病理学的検査									
	検査親動物数	22		22		19		17		
胎児	平均一腹当りの着床所見	黄体数	17.4		16.9		17.8		16.8	
		着床数	14.6		14.3		15.4		14.8	
		生存胎児数 (%)	13.8 (94)		13.7 (96)		14.3 (93)		14.2 (96)	
		早期吸収胚数 (%)	0.7 (6)		0.6 (4)		1.1 (7)		0.6 (4)	
		後期吸収胚数 (%)	0.1 (1)		0		0		0	
胎児動物	体重 (g)	平均	3.7		3.6		3.6		3.6	
		雄 雌	3.8 3.6	3.7 3.5	3.7 3.5	3.7 3.5				
	性比 (雄/100)	44		54		48		48		
	外表検査動物数	305		301		272		225		
	変異動物数 (%)	0 (0)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		
	腹単位 (%)	0 (0)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		
	奇形動物数 (%)	1 (0.3)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		
	腹単位 (%)	1 (4.5)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		
	内臓検査動物数	154		151		138		120		
	変異動物数 (%)	33 (21)		29 (19)		31 (22)		27 (23)		
	腹単位 (%)	13 (59)		15 (68)		14 (74)		12 (71)		
	奇形動物数 (%)	1 (0.6)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		
	腹単位 (%)	1 (4.5)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		
	骨格検査動物数	151		150		134		121		
	変異動物数 (%)	61 (40)		59 (39)		66 (49)		66 (55) ↑		
	腹単位 (%)	20 (91)		19 (86)		19 (100)		14 (82)		
	奇形動物数 (%)	1 (0.7)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		
	腹単位 (%)	1 (4.5)		0 (0)		0 (0)		0 (0)		

空欄：変化なし Dunnett's t 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher-Irwin 正確確率検定 ↓ ↑ : p<0.05

親動物の 90mg/kg 群において、投与期間中に振顫、流涎、眼球突出及び着色尿などの症状がみられ、2 例の死亡を認めた。さらに増体重低下及び平均体重変化値、飼料摂取量の低下がみられた。

胎児では 30 及び 90mg/kg 群において骨格変異率が対照群よりもわずかに高く、90mg/kg 群では統計的に有意であった。奇形は対照群 1 匹に脳へに7、肋骨異常を伴う脊椎異常及び鎖骨彎曲が認められたのみであった。

以上の結果から、本剤を SD 系妊娠ラットに投与した場合、10 及び 30mg/kg/日 で親動物に対する毒性、胎児の発育と分化の過程に及ぼす毒性の徴候はみられなかった。また最高投与量の 90mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと考えられる。

申請者注)：本試験における無毒性量は親動物及び胎児とも 30mg/kg/日 であると考えられた。



③ウサギにおける催奇形性試験

(資料No.VII-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体純度： %

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、約15～18週齢、1群雌18～33匹

投与期間：13日間(1986年8月26日～1986年11月18日)

投与方法：検体を1%CMC溶液で10、40、80mg/kgの投与濃度に調製し、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。対照群には1%CMCを同様に投与した。

交配日を妊娠0日とした。

投与用量設定根拠；

試験項目：

親動物；一般症状及び死亡を毎日2回観察し、体重を妊娠0、6、12、18、24及び28日目に、飼料摂取量を妊娠0～6、6～12、12～18、18～24、24～28日に測定した。

妊娠28日目に帝王切開した後、肉眼病理学的検査を行ない、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数、吸収胚数を検査した。

胎児；性別、体重を調べ外表異常の観察を行なった。各同腹児の全胎児について、内臓異常の有無の検査後、骨格異常の有無を検査した。

結果：結果を次表に示した。

80mg/kg群で投与期間中あるいは、それ以降に17匹が死亡し、肉眼病理学的検査では主に肝、肺での所見が明らかであった。数例に胃、腸、子宮に影響がみられた。3例にカタル性腸炎、2例に線維性心膜炎及び線維性胸膜炎あるいは、重症なカタル性腸炎、中程度の漿液線維素性腹膜炎がみられた。

着床所見としては、着床後遺失(剖検時生存胎児を有した動物から計算)は40mg/kg群で最も高いが、100%子宮内死亡動物を含めると80mg/kg群で増加した。

対照群と比較して、平均胎児体重が80mg/kg群で減少し、10及び40mg/kg群でわずかに減少した。

外表奇形では対照群2匹、40mg/kg群1匹に臍帯のヘルニアがみられ、対照群に尾の無形成、頭の奇形、無頭蓋症が各1匹に認められた。

内臓奇形では対照群2匹、10mg/kg群3匹、40mg/kg群3匹に大脳半球表面に小さな空洞がみられ、40mg/kg群3匹、80mg/kg群2匹に大脳の脳室拡張が認められた。

骨格奇形では対照群6匹、10mg/kg群1匹、40mg/kg群1匹、80mg/kg群4匹に脊柱側彎症が認められた。いずれも奇形の頻度、型から偶発的であると考えられる。

以上の結果から、本剤をニュージーランドホワイト種妊娠ウサギに投与したとき、10及び40mg/kg/日で親動物及び胎児に対する毒性、催奇形性はみられなかった。また、最高投与量の80mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断する。

申請者注)：本試験における無毒性量は親動物で40mg/kg/日、胎児動物で80mg/kg/日であると考えられた。

結果

投与量(mg/kg/日)		0		10		40		80			
1群当り動物数		18		20		18		33			
親動物	一般症状										
	死亡数		0		2		2		17		
	体重変化								投与期間中増体重低下 ↓		
	飼料摂取量								投与期間中低下		
	妊娠数(%)		17(94.4)		16(80.0)		16(88.9)		25(75.8)		
	流産数		2		1		1		1		
	100%子宮内死亡数		0		0		0		2		
	肉眼病理学的検査										
	検査動物数		15		13		14		11		
	胎児動物	平均一腹当り着床所見	黄体数		11.0		11.6		11.1		9.3
着床数			8.2		7.9		9.0		8.2		
生存胎児数(%)			7.3(91.6)		7.5(93.3)		7.6(84.8)		7.5(91.6)		
早期吸収胚数			0.6		0.2		1.0		0.5		
後期吸収胚数			0.1		0.2		0.1		0		
子宮内死亡数			0.9		0.5		1.4		0.6		
平均			38.6		37.1		36.9		35.7		
体重(g)	雄		38.5		37.9		38.9		34.5		
	雌		39.0		34.9		35.4		35.5		
性比(雄:雌)		52.3:47.7		47.4:52.6		49.5:50.5		54.2:45.8			
外表検査動物数		110		97		107		83			
奇形動物数(%)		4(3.6)		0(0)		1(0.9)		0(0)			
腹単位		4		0		1		0			
内臓検査動物数		107		97		106		83			
奇形動物数(%)		5(4.7)		3(3.1)		7(6.6)		2(2.4)			
腹単位		4		2		7		1			
変異動物数(%)		0(0)		0(0)		0(0)		0(0)			
腹単位(%)		0		0		0		0			
骨格検査動物数		107		97		106		83			
奇形動物数(%)		6(5.6)		1(1.0)		1(0.9)		4(4.8)			
腹単位		3		1		1		4			
変異動物数(%)		103(96.3)		94(96.9)		98(92.5)		81(97.6)			
腹単位(%)		15		13		14		11			
総奇形動物数(%)		15(13.6)		4(4.1)		9(8.4)		6(7.2)			
腹単位		7		2		8		5			

空欄:変化なし

↓: p<0.05 Newman-Keuls 検定

(10)変異原性

①復帰変異試験

(資料No.VIII-1)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体純度： %

試験方法：ヒスジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA1535、TA1537、TA1538、TA100、TA98 株)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli*(WP2hcr-)を用いて、ラット肝から薬物代謝酵素系の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9Mix の有無	復帰変異コロニ-数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr-	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照(DMSO)		-	16	11	172	7	14	28
			12	-	188	4	11	30
検体	500	-	21	17	159	4	10	16
			14	26	168	8	10	20
	2500	-	15	8	141	4	8	18
			16	7	128	7	14	19
	5000	-	17	16	149	7	13	23
			19	10	130	3	11	18
陽性対照	AF-2	-			832			
					1039			
	0.1	-						305
								313
	0.25	-	1784					
			2738					
$\beta$ -プロピオラクトン	50	-		1339				
				1240				
9-アミノアクリジン	200	-				>10000		
						>10000		
2-ニトロフルオレン	50	-					4380	
							3960	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9Mix の有無	復帰変異コロニ-数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr-	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)		+	13	8	179	5	11	19
			25	3	223	3	8	23
検体	10	-	18	14	165	4	10	30
			18	9	195	7	15	25
		+	11	8	153	5	14	18
			23	5	193	3	17	24
	100	-	19	10	195	3	14	27
			18	9	243	4	8	21
		+	15	6	169	6	15	19
			9	11	145	9	12	35
	1000	-	11	6	191	4	14	22
			17	12	151	2	14	25
		+	14	11	180	6	12	15
			20	8	159	7	16	20
陽性対照	2-アミノアントレン	20	-	22	277	29	22	64
			7	299	25	17	44	
	+	302	6392	397	3024	5704		
		331	8624	377	4776	5192		
	AF-2	0.05	-		911			
					880			
		0.1	-					254
	0.25	-						287
		1728						
		1672						

PAP 存在下ではいずれの変異株においても対照群と比べ、復帰変異コロニ-数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、 $\beta$ -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレン、2-アミノアントレンでは、対照と比較して著明な復帰変異コロニ-数の増加が認められた。

以上の結果から、PAP の復帰変異誘発性は認められなかった。

②宿主経由試験

(資料No.VIII-1)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体純度： %

供試動物：ICR系マウス、7週齢、1群雄6匹、体重 平均 34.9g

試験方法：PAP100、300mg/kgを24時間間隔で2回強制経口投与した。2回目投与直後、*Salmonella typhimurium*ヒスジン要求性株 G46 2mlをマウス腹腔内に注入した。マウスを屠殺後、腹腔内菌液を回収し、培養後、復帰変異コロニ-数及び生存菌数を計数した。また、G46株を用いて *in vitro* における復帰変異試験を行なった。

結果

薬物	投与量 (mg/kg)	復帰変異菌数/ml (平均値)	生存菌数( $\times 10^{-8}$ /ml) (平均値)	復帰変異菌数
				生存菌数 $\times 10^{-8}$ (平均値)
対照 (コ-ン油)		20.27 $\pm$ 4.99	56.67 $\pm$ 6.23	0.36 $\pm$ 0.07
検体	100 $\times$ 2	19.03 $\pm$ 4.93	63.75 $\pm$ 14.02	0.31 $\pm$ 0.12
	300 $\times$ 2	16.11 $\pm$ 4.85	43.03 $\pm$ 5.96	0.38 $\pm$ 0.12
陽性対照 (DMN)	50	5265.56 $\pm$ 1946.66	45.2 $\pm$ 4.41	115.96 $\pm$ 35.97 $\uparrow$

$\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.001$

G46株を用いた *in vitro* の結果は陰性であった。検体投与群は、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、陽性対照群として用いたジメチルニトロアミン(DMN)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。

以上の結果から、PAPの宿主経由試験は陰性であった。

③Rec-assay

(資料No.VIII-1)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体純度： %

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、Rec-assay法でDNA損傷の誘発性を検定した。

検体を溶解させるためDMSOを用いた。陰性対照としてカナマイシンを、陽性対照としてマイトマイシンCを用いた。

結果

薬物	濃度 (% v/v)	阻止域(mm)		差(mm)
		M-45	H-17	
対照(DMSO)	-	0	0	0
検体	1 (245.2) *	0	0	0
	5 (1226)	0	0	0
	10 (2452)	0	0	0
	20 (4904)	0	0	0
	25 (6130)	0	0	0
	50 (12260)	0	0	0
	75 (18390)	0	0	0
	100 (24520)	0	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10 $\mu$ g/disk	8	7	1
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1 $\mu$ g/disk	11	1	10

\*：検体群の濃度のカッコ内の数値は、濃度単位を $\mu$ g/diskに換算した値(申請者が算出した)

PAP存在下においては、両株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCでは両株の間に著明な生育阻止の差が生じた。

以上の結果からPAPのDNA損傷性は認められなかった。

④フェニ-ズ ハムスタ-卵巣由来の CHO 細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験

(資料No.VIII-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体純度： %

試験方法：フェニ-ズ ハムスタ-卵巣由来の CHO 細胞を用いた。濃度は代謝活性化系の有無によらずいずれも 50.2、100、151 及び 201  $\mu\text{g/ml}$  とした。

無処理群及び溶媒対照群を設けた。陽性対照として代謝活性化法によらない場合はマイトマイシン C (MMC) を、よる場合はシロオスファミド (CP) を用いた。なお、最初の代謝活性化法による試験において用量相関のない軽度の染色体異常誘起性が認められたため、100、151 及び 201  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で再試験を実施した。各濃度 200 個の分裂中期像を観察した。染色体の異常を染色分体ギャップ (chromatid gap: TG)、染色体ギャップ (chromosome gap: SG)、コイル化しなかった染色体 (uncoiled chromosome: UC)、倍数体 (polyploid cell: PP)、核内倍化 (Endoreduplication: E)、染色分体切断 (chromatid break: TB)、染色体切断 (chromosome break: SB)、1 対の染色体断片 (“double minute” fragment: DM)、中間部欠失 (Interstitial deletion: ID)、三放射状交換 (Triradial: TR)、四放射状交換 (Quadradial: QR)、複雑な再結合 (complex rearrangement: CR)、二動原体 (dicentric: D)、三動原体 (tricentric: TC)、環状 (ring: R)、腕内交換 (chromosome intrachange: IC)、10 以上の異常を有する細胞 (GT) に分類し分析した。

結果の評価は各処理群の異常を有する細胞頻度 (ギャップ 及び UC を除く) についてフィッシャーの直接確立検定法を用いて対照群と比較した。なお、対照群の値は無処理群及び溶媒対照群をまとめた値を用いた。

用量設定根拠；

結果

代謝活性化法によらない場合 S-9Mix<sup>-</sup>

処理	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	観察 細胞数	異常の型及び数													異常数 <sup>a)</sup> /細胞	異常細胞 <sup>b)</sup> (%)	>1 <sup>c)</sup> (%)	
			TG	SG	UC	TB	SB	DM	ID	TR	QR	CR	D	R	CI				GT
無処理	—	100	2			1	2			1			1	1			0.06	5.0	1.0
溶媒対照 (DMSO)	10 $\mu\text{l/ml}$	100	2	2		1	1										0.02	2.0	0.0
検体	50.2	200	8	1		3	5							3			0.06	4.5	1.0
	100	200	16	7			1							1			0.01	1.0	0.0
	151	200	21	7		2	2							3			0.04	2.5	1.0
	201	200	24	5			4							2			0.03	1.5	0.5
陽性対照 (MMC)	0.08	50	7	5		3	2			1				1	1		0.16	14.0 $\uparrow$	2.0

a) TG、SG 及び UC を除く b) TG、SG 及び UC を除く c) TG、SG 及び UC を除いた異常を >1 有する細胞の割合  
 $\uparrow$  :  $p < 0.01$

代謝活性化法による場合 S-9 Mix<sup>+</sup>

処理	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	観察 細胞数	異常の型及び数													異常数 <sup>a)</sup> /細胞	異常細胞 <sup>b)</sup> (%)	>1 <sup>c)</sup> (%)	
			TG	SG	UC	TB	SB	DM	ID	TR	QR	CR	D	R	CI				TC
無処理	—	100	5	4											1		0.01	1.0	0.0
溶媒対照 (DMSO)	10 $\mu\text{l/ml}$	100	4	3			1								2		0.03	3.0	0.0
検体	50.2	200	8	3			8			1				6	1	1	0.09	6.0 $\uparrow$	1.5
	100	200	7	2			1	1						5			0.04	3.5	0.0
	151	200	20	5			2	9						5			0.08	4.5	1.0
	201	200	27	5			2	6			1			9			0.09	7.5 $\uparrow$	1.0
陽性対照 (CP)	25.0	25	5	2		3	2			4	1			1			0.44	28.0 $\uparrow$	4.0

a) TG、SG 及び UC を除く b) TG、SG 及び UC を除く c) TG、SG 及び UC を除いた異常を >1 有する細胞の割合  
 $\uparrow$  :  $p < 0.01$

代謝活性化法による場合 (再試験)

処理	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	観察 細胞数	異常の型及び数													異常数 <sup>a)</sup> /細胞	異常細胞 <sup>b)</sup> (%)	>1 <sup>c)</sup> (%)	
			TG	SG	UC	TB	SB	DM	ID	TR	QR	CR	D	R	CI				GT
無処理	—	100	4														0.00	0.0	0.0
溶媒対照 (DMSO)	10 $\mu\text{l/ml}$	100	4														0.00	0.0	0.0
検体	100	200	8	1	1										1		0.01	0.5	0.0
	151	200	20	7			6										0.03	1.5	0.5
	201	200	25	1													0.00	0.0	0.0
陽性対照 (CP)	25.0	25	9	2			2			4	2						0.32	32.0 $\uparrow$	0.0

a) TG、SG 及び UC を除く b) TG、SG 及び UC を除く c) TG、SG 及び UC を除いた異常を >1 有する細胞の割合  
 $\uparrow$  :  $p < 0.01$



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

代謝活性化法によらない場合、細胞毒性を示したレベルの濃度を含め、いずれの処理濃度でも対照群と比べ染色体異常を有する細胞頻度の有意な増加を認めなかった。

代謝活性化法による場合、最初に行なった試験において、最小濃度  $50.2 \mu\text{g/ml}$  及び最高濃度  $201 \mu\text{g/ml}$  で染色体異常を有する細胞の有意な増加を認めたが、 $100$  及び  $151 \mu\text{g/ml}$  では認めなかった。再試験では  $100$ 、 $151$  及び  $201 \mu\text{g/ml}$  のいずれでも染色体異常を有する細胞の有意な増加を認めなかった。

なお、いずれの試験でも陽性対照群では染色体異常を有する細胞の有意な増加を認めた。

以上の結果から、本試験条件下では、代謝活性化の有無にかかわらず本検体の染色体異常誘起性は陰性であると判断される。

⑤マウスを用いた小核試験

(資料No.VIII-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系マウス、投与開始時 8 週齢、1 群雄 6 匹、投与開始時体重 32.0~36.1g

試験方法：検体をリーブ油に溶解し、75、150 及び 300mg/kg の投与量で強制的に 1 回経口投与した。陰性対照群にはリーブ油を同様に投与した。陽性対照群にはマイトシン C の 1mg/kg を 1 回腹腔内投与した。

投与後は一般状態の観察及び体重を測定した。投与後 24 時間に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取して骨髓標本を作製した。骨髓標本はメタノールで希釈したマイグリュノール染色液で固定染色した後、更に、リン酸緩衝液で希釈したギムザ染色液で染色した。

1 動物当たり 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球の出現頻度を算出した。又、全赤血球（多染性赤血球及び正染性赤血球）200 個中の多染性赤血球の割合も求めた。

投与量設定根拠：

試験結果：骨髓標本の観察結果を次表に示した。

死亡はいずれの投与群でも認められなかった。

一般状態では 300mg/kg 群で毒性兆候が認められたが、150mg/kg 群以下で異常は認められなかった。

体重はいずれの投与群でも陰性対照群との間に明らかな差は認められなかった。

骨髓標本の観察では、いずれの投与群においても、陰性対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度の統計学的に有意な増加及び用量依存的な増加も認められなかった。又、全赤血球中の多染性赤血球の割合の統計学的に有意な減少も認められなかった。

一方、陽性対照群の小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、陰性対照群に比し増加した。

観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MNPCE (%、平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) (%、平均値±SD)
24	陰性対照 (オリーブ油)	0	雄	6	0.04±0.05	56.9±5.6
	検体	75			0.03±0.04	59.7±9.3
		150			0.05±0.03	56.6±13.2
		300			0.05±0.04	53.7±8.6
	陽性対照 (マイトマイシンC)	1			1.13±0.18	60.2±8.8

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

PCE：多染性赤血球

NCE：正染性赤血球

統計学的解析：小核を有する多染性赤血球出現頻度は Kastenbaum & Bowman 検定、Cochran Armitage 傾向検定、全赤血球中多染性赤血球出現頻度は Student t 検定、Aspin-Welch t 検定を行った。  
陽性対照群の統計学的解析は行わなかった。

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

## (11) 生体機能影響

### ① 生体機能に及ぼす影響

(資料No.IX-3)

試験機関：

報告書作成年：1991年

検体純度： %

#### 1. 一般状態及び行動に及ぼす影響

##### 1) マウスの一般状態観察

供試動物：ICR系マウス、体重18.0~24.5g、1群雄雌各5匹

投与方法： $\gamma$ -HCH油で溶解させた検体を30、100、300mg/kg濃度で経口投与し、5時間後までは経時的に、更に24時間後にIrwinの方法に準じて行動を観察した。

結果：100mg/kg群で振顫、下痢が、300mg/kg群で振顫、下痢の他、喘ぎ、後肢立姿勢、つま先立ち歩行、歩行失調、警戒性減少、耳介反射消失、筋弛緩がみられ、正向反射も鈍くなり、雄1匹が死亡した。  
30mg/kg群に異常はみられなかった。

##### 2) ウサギの一般状態観察

供試動物：日本白色種ウサギ、体重2.35~2.64kg、1群雄3匹

投与方法： $\gamma$ -HCH油で溶解させた検体を10、30、100mg/kg濃度で経口投与し、4時間後までは経時的に体温、瞳孔径、筋弛緩、流涎及び流涙の有無を中心に一般状態を観察した。

結果：30及び100mg/kg群で振顫、歩行異常、自発運動減少がみられたが、体温及び瞳孔径については、有意な作用はみられなかった。  
10mg/kg群に異常はみられなかった。

#### 2. 中枢神経系に及ぼす影響

##### 1) 麻酔強化作用

供試動物：ICR系マウス、体重22.0~27.0g、1群雄10匹

投与方法： $\gamma$ -HCH油で溶解させた検体を30、100、300mg/kg濃度で経口投与後60分にヘキバルタル80mg/kgを腹腔内投与し、側臥位から自発的に腹臥位に戻るまでの時間を麻酔時間として測定した。

結果：

投与量 mg/kg	対照( $\gamma$ -HCH油)	30	100	300
麻酔時間(分)	38.2	40.3	74.9	159.2 $\uparrow$

Multiple range test  $\uparrow$  :  $p < 0.01$

300mg/kg群で対照群と比較して有意な麻酔増強作用がみられたが、30、100mg/kg群では有意な作用はみられなかった。

#### 3. 自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響

##### 1) 摘出回腸(agonist収縮に対する作用)

供試動物：ハートレ系モルモット、体重410~454g、1群雄5匹

投与方法：脱血屠殺後回腸を摘出し、筋の収縮をミコグラフに記録した。10%ジメチルスルホキシド(DMSO)で溶解させた検体を $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ g/mlの濃度で3分間作用させた後に、各agonist(acetylcholine chloride  $10^{-7}$ g/ml, histamine dihydrochloride  $10^{-6}$ g/ml, barium chloride  $10^{-4}$ g/ml)を添加して、作用を検討した。

結 果：

薬物	濃度 (g/ml)	収縮 (%)		
		ACh	Hist	BaCl <sub>2</sub>
対照 (10%DMSO)	—	102	98	101
検体	1×10 <sup>-7</sup>	101	100	103
	1×10 <sup>-6</sup>	100	99	101
	1×10 <sup>-5</sup>	70 ↓	74	30 ↓

Multiple range test ↓ : p<0.05 ↓↓ : p<0.01

単独作用では、10<sup>-6</sup>g/ml まで作用なく、10<sup>-5</sup>g/ml で15例中6例に収縮高に対して軽度の基線の上昇が認められた。agonist に対する作用では、ACh 収縮及び BaCl<sub>2</sub> 収縮に対して、10<sup>-5</sup>g/ml で収縮高抑制が認められた。

2) 摘出輸精管

供試動物：SD系ラット、体重 292~308g、1群雄 5匹

投与方法：脱血屠殺後輸精管を摘出し、筋の収縮をオログラフに記録した。10%ジメチルスルホキシド (DMSO) で溶解させた検体を 10<sup>-7</sup>、10<sup>-6</sup>、10<sup>-5</sup>g/ml の濃度で3分間作用させた後にノアドレリン 3×10<sup>-6</sup>g/ml を添加して作用を検討した。

結 果：

薬物	濃度 (g/ml)	収縮 (%)
対照 (10% DMSO)	—	97
検体	1×10 <sup>-7</sup>	99
	1×10 <sup>-6</sup>	95
	1×10 <sup>-5</sup>	90

単独での作用は認められなかった。NA 収縮に対しては、10<sup>-5</sup>g/ml で5例中3例に13~15%の収縮高の減少が認められたが、統計学的に有意ではなかった。

4. 呼吸・循環器系に及ぼす影響

1) 呼吸、血圧、心拍数、血流量及び心電図に対する作用

供試動物：ビーグル犬、体重 9.0~11.0kg、1群 3匹 (雌雄の別なし)

投与方法：ペントバルビタル麻酔下で、気管及び大腿動脈にカニューレを挿入した。

コーン油で溶解させた検体を 30、100、300mg/kg の濃度で十二指腸内投与後3時間まで呼吸、血圧、心拍数、心電図、血流量を測定した。

結 果：いずれの濃度も対照群と比較して有意な作用は認められなかった。

5. 消化器系に及ぼす影響

1) 炭末輸送能

供試動物：ICR系マウス、体重 25.0~30.0g、1群雄 10匹

投与方法：コーン油で溶解させた検体を 30、100、300mg/kg の濃度で経口投与後120分に、炭末 (10%アセチル水溶液と炭素末 5%の懸濁液) を 0.1ml/匹の容量で経口投与した。炭末投与後 30分に頸椎脱臼により屠殺し、小腸全長に対する炭末の移行率を測定した。

結 果：いずれの濃度でも、対照群と比較して炭末輸送能に対して作用は認められなかった。

6. 末梢神経系に及ぼす影響

1) 横隔神経横隔膜筋

供試動物：SD系ラット、体重 296~322g、1群雄 5匹

投与方法：脱血屠殺後開胸し横隔膜を横隔神経と共に摘出した。電気刺激装置を用いて矩形波刺激を与え、筋収縮をオログラフに記録した。測定は、筋収縮が

安定した後、10%ジメチルスルホキシド (DMSO) で溶解させた検体を  $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ g/ml 濃度の検体を累積的に添加し、それぞれ 10 分間行なった。

結果：いずれの濃度でも、神経刺激による横隔膜の収縮に対する作用は認められなかった。

## 7. 水及び電解質代謝に及ぼす影響

### 1) 尿量及び尿中電解質

供試動物：SD 系ラット、体重 163~214g、1 群雄 6 匹

投与方法：コーン油で溶解させた検体を 30、100、300mg/kg 濃度で経口投与後直ちに生理食塩液を 2.5ml/100g で経口負荷し、投与後 2~6 時間の尿を採取し測定した。

結果：

薬物	投与量 (mg/kg)	尿量 (ml/100g/4h)	Na <sup>+</sup> ( $\mu$ Eq/100g/4h)	K <sup>+</sup> ( $\mu$ Eq/100g/4h)	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> 比	Cl <sup>-</sup> ( $\mu$ Eq/100g/4h)
対照 (コーン油)		0.70	151.4	44.7	3.30	175
検体	30	0.80	173.3	36.9	4.93	192
	100	0.84	192.2	38.8	5.11	228
	300	1.28	287.1	34.4	8.40 ↑	298

Multiple range test ↑:  $p < 0.05$

300mg/kg 群の 1 匹が投与 1 時間後に平伏となり、筋弛緩、立毛、眼瞼突出を呈し、症状出現後 25 分に死亡した。他の 5 匹は Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>比の有意な上昇が認められた。30、100mg/kg 群では何ら作用は認められなかった。

## 8. 血液に及ぼす影響

### 1) 血液凝固

供試動物：SD 系ラット、体重 90~126g、1 群雄 6 匹

投与方法：コーン油で溶解させた検体を 30、100、300mg/kg 濃度で経口投与後 120 分にエーテル麻酔下で腹部大静脈より採血し、血漿を用いてプロトロン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結果：いずれの群も対照群と比較して血液凝固時間に対する作用は認められなかった。

### 2) 溶血試験

供試動物：SD 系ラット、体重 90~126g、1 群雄 6 匹

投与方法：コーン油で溶解させた検体を 30、100、300mg/kg 濃度で経口投与後 120 分にエーテル麻酔下で腹部大静脈より採血し、血漿を用いてヘマトクリット濃度を測定した。肉眼でも溶血の有無を観察した。

結果：いずれの群でも溶血はみられなかった。

以上の結果から、本剤の主な作用として、一般状態及び行動に対してはマウスの一般状態観察において 100mg/kg で振顫、下痢がみられた。300mg/kg では振顫、下痢の他、加えて喘ぎ、後肢立ち姿勢、つま先立ち歩行、歩行失調、警戒性減少、耳介反射消失及び筋弛緩がみられ、正向反射も鈍くなった。また、死亡もみられた。ウサギの一般状態観察において 30mg/kg 及び 100mg/kg で振顫、歩行異常、自発運動の減少がみられた。中枢神経系に対しては 300mg/kg で麻酔強化作用が認められた。自律神経系及び平滑筋に対しては摘出回腸において ACh 収縮及び BaCl<sub>2</sub> 収縮に対して  $10^{-5}$ g/ml で収縮高抑制が認められた。水及び電解質代謝に対しては尿中電解質において 300mg/kg で Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>比の上昇がみられた。呼吸・循環器系、消化器系、末梢神経系、血液に対して作用は認められなかった。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目		供試動物 [系統] (麻酔の有無)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 (匹/群)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般状態 ・行動	一般状態 (Irwin法)	マウス [ICR]	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	♂ : 5 ♀ : 5	30	100	100mg/kg で振戦、下痢、 300mg/kg では加えて喘ぎ、歩 行失調、筋弛緩等も見られた。 300mg/kg で1例死亡。
		ウサギ [日本白色種]	経口 (コーン油)	0, 10, 100, 300	♂ : 3	10	30	300mg/kg 以上で振戦、歩行異 常、自発運動の減少。
中枢 神経系	キハルビタル 睡眠時間	マウス [ICR]	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	♂ : 10	100	300	300mg/kg 以上で麻酔増強(対 照群の4倍に延長)。
自律 神経系	摘出回腸	モット [A-T-V]	In vitro (DMSO)	0, 10 <sup>-7</sup> , 0 <sup>-6</sup> , 10 <sup>-5</sup> (g/ml)	♂ : 5	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	10 <sup>-5</sup> (g/ml)	単独で10 <sup>-5</sup> g/ml で収縮高に対 して軽度基線の上昇。Agonist では10 <sup>-5</sup> g/ml でACh, BaCl <sub>2</sub> 収 縮に対して有意に収縮高抑制、 Hist に対しては10 <sup>-5</sup> g/ml で収縮高減少したが有意では なかった。
	摘出輸精管	ラット [SD]	In vitro (DMSO)	0, 10 <sup>-7</sup> , 0 <sup>-6</sup> , 10 <sup>-5</sup> (g/ml)	♂ : 5	10 <sup>-6</sup> (g/ml)	10 <sup>-5</sup> (g/ml)	単独では作用なし。NA 収縮に 対しては10 <sup>-6</sup> g/ml で、有意で はないが15%程度収縮高の減 少を認めた。
呼吸・ 循環器系	呼吸・血圧・ 心拍数・ 血液量・ 心電図	ビ-ガル犬 (麻酔下)	十二指腸内 (コーン油)	0, 30, 100, 300	3	300	-	影響なし。
消化器系	炭末輸送能	マウス [ICR]	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	♂ : 10	300	-	影響なし。
末梢 神経系	横隔膜 神経筋	ラット [SD]	In vitro (DMSO)	0, 10 <sup>-7</sup> , 0 <sup>-6</sup> , 10 <sup>-5</sup> (g/ml)	♂ : 5	10 <sup>-5</sup> (g/ml)	-	影響なし。
水・ 電解質	尿量・ 尿中電解質	ラット [SD]	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	♂ : 6	100	300	300mg/kg で1例死亡。生存例 でNa <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> 比の有意な上昇あり。
血液	血液凝固	ラット [SD]	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	♂ : 6	300	-	影響なし。
	溶血試験	ラット [SD]	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	♂ : 6	300	-	影響なし。

(12)解毒及び治療

①マウスにおける解毒試験

(資料No.IX-2)

試験機関：

報告書作成年：1986年

検体純度： %

供試動物：ICR系マウス、5週齢、1群雄雌各10匹、体重(平均) 雄22.1g 雌19.1g

投与方法：検体をコーン油に溶解し、16時間の絶食後、1回強制経口投与した。

対照群にはコーン油を投与した。アトピオン(解毒剤)60mg/10ml/kgを検体投与10分後に日本薬局方生理食塩液に溶解して1回腹腔内投与した。

アトピオンは有機リン系化合物の一般的な解毒剤として使用されていることから選択した。

試験項目：投与当日は数回、翌日から11日後まで毎日1回一般状態及び死亡を観察した。

投与直前、3、7、11日後に体重を測定した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を行なった。

結果：

アトピオンの有無	-		+	
	雄	雌	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 289, 347, 417, 500, 600		0, 347, 417, 500, 600, 720, 864, 1037	0, 289, 347, 417, 500, 600, 720, 864, 1037
LD50 (mg/kg)	416	403	587	547
(95%信頼限界)	(382.0~454.0)	(369.0~438.1)	(526.0~655.0)	(486.6~615.8)
死亡開始及び終了時間	1時間~2日	1時間~2日	2時間~3日	1時間~2日
症状発現及び消失時間	10分~4日	10分~3日	10分~4日	10分~4日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	289	289	347	289

一般状態としては、自発運動低下、鎮静、下痢、痙攣、呼吸困難、衰弱がみられた。

アトピオン投与群ではさらに自発運動増加が認められたが、全般的に症状が軽かった。

アトピオンの有無に関係なく雄、雌ともに投与3日後に増体重抑制がみられ、以後

回復に向かったが、11日後の観察期間終了時においても雄の検体単独投与群の

500mg/kg群とアトピオン投与群の417、600mg/kg群で、雌の検体単独投与群の500mg/kg群とアトピオン投与群の500、600mg/kg群で対照群との間に差がみられた。

剖検所見ではアトピオンの有無に関係なく、死亡例の雄、雌ともに肺のうっ血が認め

られ、胃粘膜の出血が散見された。生存例に異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤投与による毒性が一般的に有機リンの解毒剤として用いられているアトピオン投与により軽減されることが示され、アトピオンが本剤の解毒剤として有効であることが認められた。



②ラットにおける解毒剤の効果確認試験

(資料No.IX-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

試験の目的：致死量 (LD) 経口投与性時の急性中毒の解毒、救命を SD ラットを用いて、アトピ<sup>®</sup>ン単独及びアトピ<sup>®</sup>ンと PAM の併用処置を検体投与直後から 6 時間目まで 4 回実施し、解毒救命効果を非致死量、解毒剤無処置と比較し調べた。

検体純度： %

供試動物：SD 系ラット、雄、週齢：6 週齢、10 匹/群、体重範囲：156~182g

投与方法：経口投与(単回)。検体をコーン油に懸濁し、液量として体重 1kg 当たり 10ml の割合で投与した。

用量設定根拠；

投与量及び群構成；

群	群No	投与用量 (mg/kg)			性	動物数
		検体 (po, 1 回)、解毒剤 (ip, 4 回)				
		検体	アトピ <sup>®</sup> ン <sup>a)</sup>	PAM <sup>b)</sup>		
解毒剤 無処置群	1C	400	0	0	雄	10
	2C	1000	0	0		10
アトピ <sup>®</sup> ン単独 処置群	1A1	400	0.1	0		10
	1A2	400	1	0		10
	1A3	400	10	0		10
	2A1	1000	0.1	0		10
	2A2	1000	1	0		10
	2A3	1000	10	0		10
アトピ <sup>®</sup> ン+PAM 併用処置群	1AP1	400	0.1	2.5		10
	1AP2	400	1	25		10
	1AP3	400	10	250		10
	2AP1	1000	0.1	2.5		10
	2AP2	1000	1	25		10
	2AP3	1000	10	250		10

a) 硫酸アトピ<sup>®</sup>ン(1 水和物)の体重当たりの用量

po: 経口投与

b) PAM(プロパドキシムヨ化メチル)の体重当たりの用量

ip: 腹腔内投与

解毒剤及び解毒処置；アトピ<sup>®</sup>ンと PAM は滅菌生理食塩水で用時希釈し、腹腔内投与した。

なお、用量はヒト臨床量から勘案した。投与は検体投与直後、投与後 1、3、6 時間の 4 回行った。アトピ<sup>®</sup>ン及びプロパドキシムヨ化メチル(PAM)は有機リン系化合物の一般的な解毒剤として使用されていることから選択した。

アトピ<sup>®</sup>ン：硫酸アトピ<sup>®</sup>ン(1 水和物) (和光純薬工業(株))

プロパドキシムヨ化メチル(PAM)：PAM注射液 (住友製薬(株))

試験項目及び結果：結果を次表に示した。

統計学的評価法；体重については Student's t-検定を用いて対応した解毒剤無処置群と解毒剤

処置群について比較した。不等分散の場合には Aspin-Welch を用いた。死亡及び症状の出現頻度については Fisher の直接確率によった。何れの検定も片側検定とし、有意水準 1 及び 5% で検討した。

死亡率；

非致死量 (NLD) 検体 400mg/kg 投与

群	群No	解毒剤 (ip, 4 回) 投与用量 (mg/kg)		動物 数	累積死亡数							
		アトピ <sup>ン</sup>	PAM		当日			1D	2D	7D	率 (%)	
					3H	6H	7H					
解毒剤 無処置群	1C	0	0	10	0							0
アトピ <sup>ン</sup> 単独処置群	1A1	0.1	0	10	0							0
	1A2	1	0	10	0							0
	1A3	10	0	10	0							0
アトピ <sup>ン</sup> +PAM 併用処置群	1AP1	0.1	2.5	10	0							0
	1AP2	1	25	10	0							0
	1AP3	10	250	10	2							20

致死量 (LD) 検体 1000mg/kg 投与

群	群No	解毒剤 (ip, 4 回) 投与用量 (mg/kg)		動物 数	累積死亡数							
		アトピ <sup>ン</sup>	PAM		当日			1D	2D	7D	率 (%)	
					3H	6H	7H					
解毒剤 無処置群	2C	0	0	10	0	0	2	6	8			80
アトピ <sup>ン</sup> 単独処置群	2A1	0.1	0	10	0	3		8	9			90
	2A2	1	0	10	0	0	1	6	9			90
	2A3	10	0	10	0	0	2	7				70
アトピ <sup>ン</sup> +PAM 併用処置群	2AP1	0.1	2.5	10	0	2	4	8	10			100
	2AP2	1	25	10	0	0	0	7	9			90
	2AP3	10	250	10	4↑	0	0	7	10			100

↑ : p<0.05

症状；

非致死量 (NLD) 検体 400mg/kg 投与

群	群No	解毒剤 (ip, 4 回) 投与用量 (mg/kg)		動物 数	有意に減少した主な症状	
		アトピ <sup>ン</sup>	PAM		自発運動 の低下	軟便
解毒剤 無処置群	1C	0	0	10		
アトピ <sup>ン</sup> 単独処置群	1A1	0.1	0	10		
	1A2	1	0	10	↓	
	1A3	10	0	10	↓	↓
アトピ <sup>ン</sup> +PAM 併用処置群	1AP1	0.1	2.5	10	↓	↓
	1AP2	1	25	10	↓	↓
	1AP3	10	250	10		↓

↓ : p<0.05

↓ : p<0.01

致死量 (LD) 検体 1000mg/kg 投与

群	群 No	解毒剤 (ip, 4回) 投与用量 (mg/kg)		動物数	有意に減少した主な症状													
		アトピ <sup>®</sup> ン	PAM		振顫	線維束性収縮	腹臥	下腹部の汚れ	眼球突出	流涙	赤眼脂	縮眼	鼻腔周囲の汚れ	流涎	口吻周囲の汚れ	軟便	肛門周囲の汚れ	
解毒剤無処置群	2C	0	0	10														
アトピ <sup>®</sup> ン単独処置群	2A1	0.1	0	10	↓			↓	↓	↓		↓						↓
	2A2	1	0	10	↓			↓	↓	↓		↓						↓
	2A3	10	0	10	↓			↓	↓	↓		↓						↓
アトピ <sup>®</sup> ン+PAM併用処置群	2AP1	0.1	2.5	10				↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
	2AP2	1	25	10	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
	2AP3	10	250	10	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓

↓ : p<0.05      ↓ : p<0.01

体重 ;

非致死量 (NLD) 検体 400mg/kg 投与

群	無処理	アトピ <sup>®</sup> ン単独処理群			アトピ <sup>®</sup> ン+PAM併用処理群		
	1C	1A1	1A2	1A3	1AP1	1AP2	1AP3
経過日数							
投与直前	100	98.8	99.4	101.2	99.4	98.8	98.2
投与後1日	100	97.9	97.4↓	100.5	97.9	97.4	94.8↓
投与後3日	100	97.7	96.8	98.6	97.7	97.3	94.5↓
投与後7日	100	98.9	97.7	96.6	96.6	98.4	96.2↓

数字は無処理群に対する変動率(%)      ↓ : p<0.05      ↓ : p<0.01

致死量 (LD) 検体 1000mg/kg 投与

群	無処理	アトピ <sup>®</sup> ン単独処理群			アトピ <sup>®</sup> ン+PAM併用処理群		
	2C	2A1	2A2	2A3	2AP1	2AP2	2AP3
経過日数							
投与直前	100	99.4	98.2	99.4	98.2	99.4	99.4
投与後1日	100	96.4	98.8	98.8	98.2	101.8	95.9
投与後3日	100	84.9	83.2	88.6	-	100.1	-
投与後7日	100	91.3	90.8	92.6	-	102.6	-

数字は無処理群に対する変動率(%)

総括

: 死亡率については、非致死量(NLD) 400mg/kg 群のアトピ<sup>®</sup>ンと PAM 併用処置の 10+250mg/kg でみられた死亡は、PAM の大量投与によると思われる。  
致死量 1000mg/kg (LD) はアトピ<sup>®</sup>ン単独処置群、あるいはアトピ<sup>®</sup>ンと PAM の併用処置ともに死亡率が 70~100% で、解毒剤無処置群の 80% と差はなく、救命効果は認められなかった。  
臨床症状では、非致死量(NLD) 400mg/kg 群では発現頻度が低く、両解毒剤処置の効果は明らかでなかった。致死量(LD) 1000mg/kg 群でアトピ<sup>®</sup>ン単独及びアトピ<sup>®</sup>ンと PAM 併用の何れの解毒処置においても臨床症状の有意な減少が認められた。死亡率の低減に解毒剤処置の効果がみられなかったにもかかわらず、PAP 投与当日の臨床症状発現頻度が減少したことは、毒性の緩和効果が有ったものと思われる。<sup>注)</sup>

従って検体 1000mg/kg (LD: 致死量) 投与では、アトピ<sup>®</sup>ン及び PAM の単独または併用の処置を 6 時間以内に 4 回解毒処置しても、救命効果はなかった。しかし、臨床症状については両解毒剤処置群の発現が解毒剤無処置群に比べ有意に減少し、検体の毒性を緩和させる効果が有った。非致死量 (NLD) での軽度の中毒の場合、アトピ<sup>®</sup>ン 10mg+PAM250mg の大量併用処置では、解毒剤の毒性がプラスされ、致死効果となることがある。

申請者注) : 体重については、申請者が試験結果より考察した。非致死量 (NLD) 400mg/kg 群のアトピ<sup>®</sup>ン単独処置群 (アトピ<sup>®</sup>ン 1mg/kg) の投与後 1 日とアトピ<sup>®</sup>ンと PAM 併用処置群 (10+250mg/kg) の投与後 1、3、7 日で有意な低下が認められた。これらのことから解毒剤投与による毒性緩和効果は明らかではないと考えられた。

③ラットにおける解毒剤の効果確認試験(追加試験)

(資料No.IX-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1996年

試験の目的：検体の致死量 1000mg/kg (LD：70～80%の動物が死亡する量) で解毒救命効果を非致死量、解毒剤無処置と比較し調べたが、救命効果は認められなかった。そこで再度、半数致死量 (LD50) 経口投与性時の急性中毒の解毒、救命を SD ラットを用いて、アトロピン単独及びアトロピンと PAM の併用処置を検体投与直後から 6 時間目まで 5 回、翌日 24 時間後に 1 回の計 6 回実施し、解毒剤無処置と比較し調べた。

検体純度： %

供試動物：SD 系ラット、雄、週齢：6 週齢、体重範囲：142～157g

投与方法：経口投与(単回)。検体をコーン油に懸濁し、液量として体重 1kg 当たり 10ml の割合で投与した。

用量設定根拠；

投与量及び群構成；

群	群No	投与用量 (mg/kg)			性	動物数
		検体 (po, 1 回)、解毒剤 (ip, 6 回)				
		検体	アトロピン <sup>a)</sup>	PAM <sup>b)</sup>		
解毒剤無処置群	3C	780	0	0	雄	10
アトロピン単独処置群	3A1	780	0.1	0		10
	3A2	780	1	0		10
	3A3	780	10	0		10
アトロピン+PAM 併用処置群	3AP1	780	0.1	2.5		10
	3AP2	780	1	25		10
	3AP3*	780	10	250		10

a) 硫酸アトロピン(1水和物)の体重当たりの用量 po：経口投与

b) PAM(プロリトキシムヨ化メチル)の体重当たりの用量 ip：腹腔内投与

\*：3AP3 群は解毒剤の投与は 1 回のみ (検体投与後 1 時間)

解毒剤及び解毒処置；アトロピンと PAM は滅菌生理食塩水で用時希釈し、腹腔内投与した。

なお、用量はヒト臨床量から勘案した。投与は検体投与直後、投与後 1、3、6、19 時間と投与後 24 時間の 6 回行った。

アトロピン：硫酸アトロピン(1水和物)(和光純薬工業(株))

プロリトキシムヨ化メチル(PAM)：PAM注射液(住友製薬(株))

試験項目及び結果：結果を次表に示した。

統計学的評価法；体重については Student's t-検定を用いて対応した解毒剤無処置群と解毒剤処置群について比較した。不等分散の場合には Aspin-Welch を用いた。死亡及び症状の出現頻度については Fisher の直接確率によった。何れの検定も片側検定とし、有意水準 1 及び 5% で検討した。

死亡率；

半数致死量 (LD<sub>50</sub>) 検体 780mg/kg 投与

群	群No	解毒剤 (ip, 6回) 投与用量 (mg/kg)		動物数	累積死亡数							
		アトピ <sup>ン</sup>	PAM		当日		1D	2D	3D	7D	率 (%)	
					3H	9H						
解毒剤無処置群	3C	0	0	10	0	0	4					40
アトピ <sup>ン</sup> 単独処置群	3A1	0.1	0	10	0	0	1					10
	3A2	1	0	10	0	0	3					30
	3A3	10	0	10	0	0	2					20
アトピ <sup>ン</sup> +PAM併用処置群	3AP1	0.1	2.5	10	0	1	4		5			50
	3AP2	1	25	10	0	0	2					20
	3AP3*	10	250	10	1		4	8				80

\*：3AP3 群は解毒剤の投与は 1 回のみ (検体投与後 1 時間)

症状；

半数致死量 (LD<sub>50</sub>) 検体 780mg/kg 投与

群	群No	解毒剤 (ip, 6回) 投与用量 (mg/kg)		動物数	統計学的に有意ではないが、減少傾向にあった主な症状												
		アトピ <sup>ン</sup>	PAM		自発運動の低下	振顫	線維束性収縮	腹臥位	下腹部の汚れ	眼球突出	流涙	縮瞳	流涎	肛門周囲の汚れ			
解毒剤無処置群	3C	0	0	10													
アトピ <sup>ン</sup> 単独処置群	3A1	0.1	0	10							▽						
	3A2	1	0	10					▽		▽	▽					
	3A3	10	0	10	▽				▽		▽	▽					
アトピ <sup>ン</sup> +PAM併用処置群	3AP1	0.1	2.5	10		▽			▽		▽	▽					
	3AP2	1	25	10	▽	▽			▽		▽	▽					
	3AP3*	10	250	10		▽			▽		▽	▽			▽		▽

▽：減少傾向

\*：3AP3 群は解毒剤の投与は 1 回のみ (検体投与後 1 時間)

体重；

半数致死量 (LD<sub>50</sub>) 検体 780mg/kg 投与

群	無処理	アトピ <sup>ン</sup> 単独処理群			アトピ <sup>ン</sup> +PAM 併用処理群		
	3C	3A1	3A2	3A3	3AP1	3AP2	3AP3*
経過日数							
投与直前	100	99.3	98.6	98.6	99.3	99.3	99.3
投与後 1 日	100	100.7	100.7	100	99.3	100	106.1 ↑
投与後 3 日	100	100	98.8	95.1	98.8	93.9	92.7
投与後 7 日	100	101.5	100.5	97.6	101.0	97.1	98.1

数字は無処理群に対する変動率 (%) ↑：p<0.05

\*：3AP3 群は解毒剤の投与は 1 回のみ (検体投与後 1 時間)

総括 : 死亡率では、解毒剤処置群と無処置群との間に統計学的に有意とならなかったが（解毒剤投与の影響と考えられる死亡が認められたため、検体投与後1時間の1回のみ解毒剤を処置したアトピ<sup>®</sup>ン+PAMの併用処置10+250mg/kg群（3AP3）を除く）、無処置群で死亡率が40%であったのに対して、アトピ<sup>®</sup>ン単独処置のすべての群（3A1～3A3）で10～30%、0.1mg/kg処置群（3A1）が10%と最も低かった。しかし、アトピ<sup>®</sup>ン+PAMの併用処置0.1+2.5mg/kg群（3AP1）で死亡率50%と無処置群を上回った。アトピ<sup>®</sup>ン+PAMの併用処置1+25mg/kg群（3AP2）で20%と死亡率の低下傾向が認められた。一方、アトピ<sup>®</sup>ン+PAMの併用最高濃度（10+250mg群）は解毒剤の影響と考えられる致死毒作用がプラスされ、死亡率が80%となった。

臨床症状では、検体投与による症状の発現に、解毒剤無処置と処置群の間に統計学的に有意とはなかったが、アトピ<sup>®</sup>ン単独処置の全群（3A1～3A3）及びアトピ<sup>®</sup>ン+PAM併用処置の0.1+2.5mg/kg群（3AP1）及び1+25mg/kg群（3AP2）で発現頻度の低下並びに発現時間の遅れの傾向が認められた。

以上から、検体の半数致死量を単回、ラットに投与した場合の救命に検体投与直後、投与後1、3、6、9及び24時間後の計6回の解毒処置は、解毒剤としてアトピ<sup>®</sup>ンの投与は有効であった。しかし、アトピ<sup>®</sup>ンとPAMの併用処置では1+25mg/kg群（3AP2）が死亡率20%と、アトピ<sup>®</sup>ン単独処置1mg/kg群（3A2）の死亡率30%より低い値を示したが、0.1+2.5mg/kg群（3AP1）ではアトピ<sup>®</sup>ン単独処置の0.1mg/kg群（3A1）の死亡率を上回り、PAM併用効果にばらつきがあった。また併用処置10+250mg/kg群（3AP3）では解毒剤の毒性により無処置より死亡が増加した。

## 2. 原体中混在物及び代謝物

### (1) 急性毒性

#### ① 代謝物のラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. I-23)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体純度： %

供試動物：SD系ラット、1群雄雌各8匹、5週齢、体重範囲 雄117~136g 雌100~115g

観察期間：14日間観察

試験方法：LD<sub>50</sub>値算出 (Litchfield-Wilcoxon法)

投与方法：約17時間絶食させた後、検体をコーン油で希釈してゾルゲにより胃内投与した。

観察項目：一般症状及び死亡を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼病理学的検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 1976, 2173, 2391, 2630, 2893, 3182, 3500	
LD50 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	2459 (2302~2617)	2184 (1989~2325)
死亡開始時間及び終了時間	1日~3日	
症状発現時間及び消失時間	4時間~6日	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1976	得られなかった

症状；投与4~5時間後から自発運動低下、四肢の脱力、腹臥の他に流涙、うずくまり姿勢、削瘦がみられた。

肉眼的病理検査；死亡例に前胃部粘膜の剥離、前胃部の壊死、胃粘膜の出血斑が、生存例に前胃部とその周囲臓器の癒着、前胃部粘膜の粗造が認められた。



## (2) 変異原性

### ① 代謝物の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料No.VIII-4)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

試験方法：ヒスジン要求性のサモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA株) を用い、ラットの肝臓から調製した代謝活性化系 (S9mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて突然変異誘発能の有無を検討した。

検体は脱水したジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験は S9mix の存在下及び非存在下で 156、313、625、1250、2500 及び 5000 $\mu$ g/プレート の 6 用量 (公比 2) とし、プレインキュベーション法により実施した。陰性対照には 3 枚のプレートを、陽性対照及び検体処理群には用量当たり 2 枚のプレートを用いた。

結果については、復帰変異コロニー数が用量に依存して陰性対照値の 2 倍以上に増加し、かつ増加に再現性が認められた場合を陽性と判定した。

陰性対照として使用溶媒を、陽性対照として 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ )、2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン $\cdot$ 2HCl (ICR-191)、2-アミアントレン (2AA) を用いた。

用量設定根拠；

結果：結果を表 2 に示した。

S9mix の有無にかかわらず、すべての試験菌株において陰性対照値の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加、生育阻害及び検体の沈殿は観察されなかった。

一方、陽性対照の復帰変異コロニー数は陰性対照値の 2 倍以上であった。また、試験系に汚染がなかったことも確認され、試験は適正に実施されたことを確認した。

以上の結果から、本試験条件下において本剤は、代謝活性化の有無にかかわらず、突然変異誘発能を有さないものと判断された。

表1：用量設定試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9mix の有無	復帰変異コロニ-数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰性対照 (DMSO)	-	-	115	9	21	24	14
検 体	4.88	-	149	10	20	20	13
	19.5	-	139	14	18	20	13
	78.1	-	145	10	27	11	11
	313	-	146	14	18	19	11
	1250	-	151	7	16	19	18
	5000	-	170	11	21	23	7
陰性対照 (DMSO)	-	+	141	10	23	31	20
検 体	4.88	+	164	7	25	35	18
	19.5	+	158	13	18	32	27
	78.1	+	151	10	32	31	27
	313	+	128	9	27	26	19
	1250	+	154	12	21	32	28
	5000	+	159	10	28	29	16
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	666		352	
		0.1	-			518	
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-		442		
	ICR-191	0.5	-				2061
	2AA	0.5	+				423
		1	+	998			
		2	+		240		245
10		+			458		

表中の復帰変異コロニ-数は陰性対照では3枚、検体処理及び陽性対照では2枚のプレートの平均値

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN<sub>3</sub>：アジ化ナトリウム

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

2AA：2-アミノアントラセン

表 2: 本試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9mix の有無	復帰変異コロニ-数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
陰性対照 (DMSO)	-	-	138	18	25	21	11	
検 体	156	-	136	16	24	26	16	
	313	-	117	7	28	28	11	
	625	-	125	12	28	22	16	
	1250	-	122	11	21	25	7	
	2500	-	141	12	30	25	9	
	5000	-	133	16	24	28	9	
陰性対照 (DMSO)	-	+	138	12	24	40	26	
検 体	156	+	130	12	31	35	24	
	313	+	125	10	31	33	21	
	625	+	123	14	34	31	28	
	1250	+	135	8	30	37	18	
	2500	+	140	8	26	29	16	
	5000	+	152	8	34	40	14	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	714		381		
		0.1	-				523	
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-		467			
	ICR-191	0.5	-					1838
	2AA	0.5	+				390	
		1	+	1265				
		2	+		258			181
		10	+			632		

表中の復帰変異コロニ-数は陰性対照では3枚、検体処理及び陽性対照では2枚のプレートの平均値

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

NaN<sub>3</sub>: ナジ化ナトリウム

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

2AA: 2-アミノアントラセン

② 代謝物 のマウスを用いた小核試験 (資料No.VIII-5)  
試験機関： [GLP 対応]  
報告書作成年：2006 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系マウス、投与開始時 8 週齢、投与開始時体重 31.7~36.5g

1 群雄 6 匹 (1200mg/kg 群は 10 匹投与したが、骨髄標本作製は 6 匹)

試験方法：検体をコーン油に溶解し、300、600 及び 1200mg/kg の投与量で強制的に 1 回経口投与した。陰性対照群にはコーン油を同様に投与した。陽性対照群にはマイトマジン C の 1mg/kg を 1 回腹腔内投与した。投与後は一般状態の観察及び体重を測定した。投与後 24 時間に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取して骨髄標本作製した。骨髄標本はメタノールで希釈した 25%メイ・グリュニット染色液で固定染色した後、更に、リン酸緩衝液で希釈した 4%ギムザ染色液で染色した。

1 動物当たり 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球の出現頻度を算出した。又、全赤血球 (多染性赤血球及び正染性赤血球) 200 個中の多染性赤血球の割合も求めた。

用量設定根拠：

試験結果：骨髄標本の観察結果を表に示した。

死亡の発現及び一般状態の異常はいずれの投与群でも認められなかった。

体重はいずれの投与群でも陰性対照群との間に明らかな差は認められなかった。

骨髄標本の観察では、いずれの投与群においても、陰性対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度の統計学的に有意な増加及び用量依存的な増加も認められなかった。全赤血球中の多染性赤血球の割合の統計学的に有意な減少が

1200mg/kg 群で認められた。一方、陽性対照群の小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、陰性対照群に比し増加した。

観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量	性	観察動物数	MNPCE	PCE/(PCE+NCE)
		(mg/kg)			(%, 平均値±SD)	(%, 平均値±SD)
24	陰性対照 (コソ油)	0	雄	6	0.03±0.04	56.8±6.7
	検体	300			0.02±0.03	53.0±3.4
		600			0.03±0.03	55.0±4.4
		1200			0.04±0.04	45.1±4.3 ↓
		陽性対照 (マイマイシ C)			1	1.25±0.63

MNPCE：小核を有する多染性赤血球      PCE：多染性赤血球

NCE：正染性赤血球      ↓：p<0.01

統計学的解析：小核を有する多染性赤血球出現頻度は Kastenbaum & Bowman 検定、Cochran Armitage 傾向検定、全赤血球中多染性赤血球出現頻度は Student t 検定、陽性対照群の統計学的解析は行わなかった。

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

### 3. 製剤

#### (1) 50%乳剤

#### 1) 急性毒性

#### ①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No I-7)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度：50%乳剤

供試動物：Wistar系ラット、1群雄雌各10匹、5週齢、平均体重：雄134g 雌129g

観察期間：7日間観察

試験方法：LD<sub>50</sub>値算出（Litchfield-Wilcoxon法）

投与方法：精製水に溶解してゾンデにより胃内投与した。

観察項目：一般症状及び死亡を7日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	200, 260, 338, 439, 571, 742	
LD50 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	348 (285~425)	325 (254~416)
死亡開始時間及び終了時間	30分~1日	
症状発現時間及び消失時間	10分~2日	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	200	

症状；自発運動低下、振戦、間代性痙攣、流涎、流涙がみられた。

肉眼的病理検査；各臓器に特記すべき変化はなかった。

②ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. I-8)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度：50%乳剤

供試動物：Wistar系ラット、5週齢、1群雄雌各10匹、平均体重 130±20g

観察期間：7日間観察

試験方法：LD<sub>50</sub>値算出 (Litchfield-Wilcoxon法)

投与方法：原液をそのまま背部皮膚に塗布した。

観察項目：一般症状及び死亡を7日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	500, 1000, 1500, 2000, 4000, 5000	
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	1715 (1261~2332)	1900 (1386~2603)
死亡開始時間及び終了時間	1日~7日	
症状発現時間及び消失時間	1時間~7日	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	500	

症状；自発運動低下、流涙、流涎がみられた。

肉眼的病理検査；各臓器に特記すべき変化はなかった。

③ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料No. I-25)

試験機関： [GLP 対応]  
報告書作成年：1987年

検体純度：50%乳剤

供試動物：SD系ラット、約7~9週齢、1群雄雌各5匹、体重範囲 雄262~333g 雌202~240g

観察期間：14日間観察

投与方法：検体を噴霧し、4時間経鼻暴露により吸入させた。対照として空気のみを通気した。濃度は重量法及び高速液体クロマトグラフィーにより測定した。

設定濃度 (mg/L)		0	4.208	14.54	34.55
実際濃度 (mg/L)	重量法	0	0.470	1.638	5.025
	HPLC法	0	0.360	1.246	3.222
粒子径分布 (%)	得られていない <sup>2)</sup>				
空気力学的質量中位径 ( $\mu\text{m}$ ) <sup>1)</sup>	0	1.50	1.86	1.99	
呼吸可能な粒子 ( $\leq 8.0\mu\text{m}$ ) の割合 (%)	得られていない <sup>3)</sup>				
チャンバ容積 (L)	10				
チャンバ内通気量 (L/分)	10~12				
暴露条件	ミスト 4時間 経鼻暴露				

1) カゲトインパクターを用いて測定した。

2) 空気力学的質量中位径の最大値 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0  $\mu\text{m}$  ごとの測定結果は、報告書に記載されていない。

3) 空気力学的質量中位径は 1.50~1.99  $\mu\text{m}$  の範囲であったことから、呼吸可能な粒子径分布に十分収まっていたと判断できる。

試験項目：暴露中及び暴露後14日間、一般症状及び死亡を観察した。

また、暴露直前と直後、暴露8日及び15日後に体重を測定した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼病理学的検査を実施し、気道の刺激性を評価した。肺、気管支、気管の重量を測定した。

試験結果：

投与方法	吸入	
	雄	雌
暴露濃度 (mg/L)	0, 0.470, 1.638, 5.025	
LC50 (mg/L)	>5.025	
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし	
症状発現時間及び終了時間	暴露直後~12日	
死亡例の認められなかった最大暴露濃度 (mg/L)	5.025	

症状；投与に関連して立毛、嗜眠、鼻汁、喘鳴、運動失調、疲憊、体表冷感、蹠腫がみられたが、いずれも12日までに回復した。

体重；対照群を含む全群で暴露後体重が低下したが、15日までわずかに低下した高用量群を除き、8日には回復した。

肉眼的病理検査；高用量群のみに肺の軽度な変化がみられ、雌の平均肺重量は対照群の132%、対体重比は対照群の143%であった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

## 2) 皮膚及び眼に対する刺激性

### ①ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料No. II-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体純度：50%乳剤

供試動物：ニュージランドホワイト種ウサギ、1群雌6匹、体重範囲2.4~3.0kg

観察期間：168時間（7日間）観察

投与方法：検体0.5mlをリント布に塗り、剪毛した背部皮膚に貼付した。貼付4時間後、37℃の水に浸した脱脂綿でふきとった。

観察項目：暴露終了後1、24、48、72及び168時間に貼付部位の刺激性変化の有無等を観察した。評点は農林水産省「農薬の安全性評価に関する基準」(59農蚕第4200号)に従った。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は、以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高評点	暴露後時間				
			1h	24h	48h	72h	168h
72	紅斑・痂皮	4	0	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
73	紅斑・痂皮	4	1	0	0	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
74	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
75	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0	0
78	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
82	紅斑・痂皮	4	2	1	1	1	1
	浮腫	4	1	1	1	1	0
合計	紅斑・痂皮		6	1	2	3	1
	浮腫		2	1	1	1	0
平均	紅斑・痂皮		1.0	0.2	0.3	0.5	0.2
	浮腫		0.3	0.2	0.2	0.2	0

暴露終了1時間後、軽度～はっきりした紅斑が6匹中5匹に、軽度の浮腫が2匹に認められた。24時間後には6匹中1匹のみに軽度の紅斑・浮腫がみられただけであった。72時間後に軽度の紅斑が3匹にみられたが、168時間後には1匹のみに観察された。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を有すると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

②ウジ'を用いた眼刺激性試験

(資料No. II-1)

試験機関：

報告書作成年：1975年

検体純度：50%乳剤

試験動物：ニュージ'ランド'初仔種ウジ'、6匹、開始時体重範囲 約 2.5kg

試験期間：14日間観察

投与方法：検体 100mg を右眼の結膜嚢内に滴下し、左眼は無処理対照眼とした。

観察項目：点眼 1分、1~4時間、1~8、10、14日後に刺激性変化を観察し、Draize法の基準に従って採点及び分類した。また、1日2回死亡の有無を観察した。

結果：観察された刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目	最高 採点	適用後時間																
		時間				日												
		分	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	10	14		
動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	2	2	2	1	1	0	0	0	0	0
	結膜	虹彩	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		発赤	3	0	0	1	1	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	虹彩	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		発赤	3	0	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 3	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1
		面積	4	0	0	0	0	0	1	1	3	2	1	1	1	1	1	0
	結膜	虹彩	2	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1	1	1	1	1	0
		発赤	3	0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1
		浮腫	4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 4	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
	結膜	虹彩	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		発赤	3	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 5	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0
	結膜	虹彩	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
		発赤	3	0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	1	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 6	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1
		面積	4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
	結膜	虹彩	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
		発赤	3	0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1
		浮腫	4	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
合計			0	0	10	12	20	107	96	151	108	64	59	40	31	21	6	
平均'			0.0	0.0	1.7	2.0	3.3	17.8	16.0	25.2	18.0	10.7	9.8	6.7	5.2	3.5	1.0	

\*：適用後時間毎の平均値は、申請者が個体別採点表より算出した。

点眼 2~4 時間後、軽い刺激反応が現れ、2日~3日後に最大となった。

14日間の観察期間中に刺激反応が消えなかったのは6匹中2匹のみであった。

以上の結果から、検体は中程度の刺激性を有すると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

③ウサギ\* を用いた眼刺激性試験

(資料No II-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体純度：50%乳剤

供試動物：ニュージランドホワイト種ウサギ\*、非洗眼群：雌6匹 洗眼群 雌3匹、体重2.2~2.5kg

試験期間：168時間（7日間）観察

投与方法：検体0.1mlを右眼の結膜嚢に滴下し、左眼を無処理対照とした。

3匹は点眼2分後に蒸留水約40mlで洗眼したが、6匹は洗眼しなかった。

観察項目：点眼後1、24、48、72及び168時間に刺激性変化（角膜、虹彩、結膜）を観察した。評点及び判定は日本農林水産省「農薬の安全性評価に関する基準」（59農蚕第4200号）に従った。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	適用後時間							
		時間							
		1	24	48	72	168			
非洗眼群	動物 番号 159	角膜 混濁	程度	4	—	—	—	—	0
			面積*	4	—	—	—	—	0
		虹彩		2	1	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
			浮腫	4	2	1	1	0	0
	分泌物*		3	0	0	0	0	0	
	動物 番号 160	角膜 混濁	程度	4	0	—	1	1	0
			面積*	4	0	—	2	3	0
		虹彩		2	1	1	1	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	2	1	0
浮腫			4	4	4	2	2	0	
分泌物*	3		1	0	1	0	0		
動物 番号 161	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
		面積*	4	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	0	
		浮腫	4	3	3	1	0	0	
分泌物*		3	1	1	0	0	0		
動物 番号 162	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	1	—	
		面積*	4	0	3	3	3	—	
	虹彩		2	1	1	1	0	0	
	結膜	発赤	3	2	2	1	0	0	
		浮腫	4	4	2	1	0	0	
分泌物*		3	1	2	0	0	0		
動物 番号 163	角膜 混濁	程度	4	0	—	1	—	0	
		面積*	4	0	—	1	—	0	
	虹彩		2	1	1	0	0	0	
	結膜	発赤	3	2	2	1	1	0	
		浮腫	4	3	1	1	0	0	
分泌物*		3	1	1	1	0	0		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

項目				最高 評点	適用後時間					
					時間					
					1	24	48	72	168	
非 洗 眼 群	動物 番号 164	角膜 混濁	程度	4	—	1	1	1	0	
			面積*	4	—	3	2	1	0	
		虹彩			2	1	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	1	0	0	
			浮腫	4	4	3	1	1	0	
			分泌物*	3	1	2	0	0	0	
		平均	角膜 混濁	程度	4	0	0.3	0.7	0.5	0
	面積*			4	0	1.0	1.3	1.2	0	
	虹彩			2	0.8	0.8	0.3	0	0	
	結膜		発赤	3	2.0	2.0	1.3	0.7	0	
			浮腫	4	3.3	2.3	1.2	0.5	0	
			分泌物*	3	0.8	1.0	0.3	0	0	
	洗眼群** (3匹 平均)		角膜 混濁	程度	4	0	0.7	1.0	1.0	0.3
		面積*		4	0	1.3	1.7	2.0	0.3	
虹彩			2	1.0	0.3	0.3	0.3	0.3		
結膜		発赤	3	1.7	2.0	1.3	0.7	0		
		浮腫	4	4.0	2.7	1.7	0.7	0		
		分泌物*	3	—	1.0	0.3	0	0		

—：角膜の光沢の鈍り又は洗眼により評価不可能

\*：農林水産省の指針では要求されていない。

\*\*：適用後時間毎の平均値は、申請者が個体別採点表より算出した。

非洗眼群、洗眼群ともに結膜刺激性、結膜浮腫、虹彩炎が認められたが、72 時間後までにほぼ回復した。24 時間後角膜混濁がみられたが、168 時間後までにほぼ消失した。

以上の結果から、本剤はウサギ\*の眼に対して刺激性を示したが、徐々に回復した。洗眼による刺激性の改善は認められなかった。