

(3) ラットを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 No. 毒性 19)

試験実施機関：

報告書作成年： 1980 年

検体の純度： 報告書に記載なし

供試動物： Sprague-Dawley 系 CD ラット

対照群は雌雄各 90 匹、投与群は 1 群雌雄各 50 匹

投与開始時 4~6 週齢、体重雄 135~213g、雌 126~169g

投与期間： 2 年間 (1977 年 5 月 18 日~1979 年 5 月 25 日)

投与方法： 検体摂取量が 0(対照群)、25、50 及び 200 mg/kg/day となるよう検体を飼料に混入し、2 年間にわたり随時摂食させた。200 mg/kg/day 群では強い体重増加抑制が認められたため、投与 15 ヶ月後から投与用量を 150 mg/kg/day に減じた。

用量設定根拠： 用量設定試験を実施し、軽度の体重増加抑制が見られる用量として 200 mg/kg/day を最高用量に選択し、以下最高用量の 1/4 及び 1/8 を選択した。(用量設定試験の詳細は報告書に記載なし)

観察・検査項目及び結果：

1. 一般状態及び死亡率

全動物について平日は毎日 1 回(試験の後期では毎日 2 回)一般状態を観察した。週末は死亡及び瀕死状態のみ観察した。

検体投与によると考えられる一般状態の異常は観察されなかった。

試験終了時における生存率は表 1 のとおりであり、投与の影響は認められなかった。

表 1 生存率

性	雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)	0	25	50	200/150	0	25	50	200/150
生存率 (%)	58	46	50	46	63	64	66	54

2. 体重

全動物の体重を、投与 13 週までは週 1 回、投与 25 週までは 2 週間に 1 回、その後は月 1 回測定した。

体重の推移を表 2 に示す。

200/150 mg/kg/day 群の雌雄の体重は試験期間を通じて有意な低値で推移し(対照群に対し、雄 67~98%、雌 63~96%で推移)、最終体重は対照群に対し雄で 79%、雌で 67%であり投与の影響と考えられた。また、25 及び 50 mg/kg/day 群でも体重の有意な低値が雌雄ともに見られ、最大で対照群の 90%(25 mg/kg/day 群雄)、94%(50 mg/kg/day 群雄)、90%(25 mg/kg/day 群雌)、88%(50 mg/kg/day 群雌)まで低下した。しかし、これらの群の投与開始時点における対照群との体重差を考慮すれば、試験期間を通じて最大でも 10%以内の軽度の低下であったことから、これらの低体重は毒性影響とは考えられなかった。

表2 体重

性 投与量 (mg/kg/day)	雄			雌		
	25	50	200/150	25	50	200/150
0週(投与開始日)	↓97	↓96	98	99	↓97	↓96
1週	↓97	↓96	↓91	99	↓97	↓92
2週	98	↓96	↓89	99	98	↓91
3週	↓95	↓94	↓87	99	↓97	↓90
4週	↓96	↓95	↓88	99	↓97	↓90
5週	↓97	↓96	↓89	99	97	↓90
6週	97	97	↓89	98	↓97	↓89
7週	97	↓96	↓89	99	97	↓89
8週	97	↓95	↓89	99	98	↓89
9週	101	99	↓91	100	98	↓88
10週	98	97	↓88	100	98	↓88
11週	98	97	↓87	99	98	↓88
12週	98	↓96	↓86	98	98	↓87
13週	97	97	↓87	99	99	↓88
15週	97	97	↓86	101	98	↓87
17週	↓95	↓96	↓84	99	98	↓86
19週	↓96	97	↓85	99	97	↓83
21週	97	97	↓85	101	98	↓84
23週	↓96	↓96	↓83	99	98	↓83
25週	97	97	↓82	100	97	↓81
29週	↓95	97	↓82	99	98	↓82
33週	↓95	98	↓81	100	98	↓80
37週	↓95	98	↓82	99	97	↓78
41週	96	100	↓84	99	97	↓77
45週	↓95	100	↓83	97	96	↓75
49週	↓95	100	↓82	97	97	↓74
53週	↓95	99	↓76	97	96	↓73
57週	↓95	100	↓67	96	94	↓70
61週	↓94	100	↓67	95	↓94	↓67
65週	↓94	100	↓77	94	↓93	↓66
69週	↓93	99	↓76	93	↓91	↓65
73週	↓93	99	↓76	94	↓91	↓67
77週	↓92	98	↓75	95	↓91	↓68
81週	↓90	97	↓77	94	↓91	↓68
85週	↓91	98	↓75	94	↓89	↓65
89週	↓91	98	↓75	↓91	↓89	↓63
93週	↓91	98	↓75	↓92	↓89	↓65
97週	↓93	101	↓78	↓90	↓88	↓65
101週	97	100	↓79	↓90	↓88	↓67

表中の数値は対照群を100とした場合の値を示す

↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 (Student t test)

3. 摂餌量及び飼料利用効率

全動物の摂餌量を、投与 13 週までは週 1 回、投与 25 週までは 2 週間に 1 回、その後は月 1 回測定した。

200/150 mg/kg/day 群雌雄では、試験期間を通じて有意な($p < 0.01$)摂餌量の減少が認められ、試験期間全体の摂餌量は、対照群に対し雄で 15%、雌で 16%減少し、投与の影響と考えられた(投与 1 週については対照群に対し雄で 13%、雌で 16%減少)。50 mg/kg/day 群の雌でも摂餌量の減少が認められ、いくつかの時点で有意差($p < 0.01$)を伴ったが、試験期間全体の摂餌量は対照群に対して 5%のみの減少であったことから、毒性影響とは考えられなかった。その他の群では摂餌量に投与の影響は認められなかった。

飼料利用効率は、200/150 mg/kg/day 群の雌雄で試験期間を通じて有意に($p < 0.01$)低下した。その他の群では飼料利用効率に投与の影響は認められなかった。

(本項における有意差検定：Student t 検定)

4. 検体摂取量

投与期間中の平均検体摂取量を表 3 のとおり算出した。

表 3 平均検体摂取量

投与量 (mg/kg/day)		25	50	200/150
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雌雄	25	50	179 ^a

a：投与期間で按分して申請者が計算 $(200 \times 14 + 150 \times 10) / 24 = 179$

5. 眼科学的検査

対照群と 200/150mg/kg/day 群の雌雄各 10 匹について、投与開始前、投与 13、26、52、78 及び 104 週後に、眼科学的検査を実施した。

投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

6. 血液学的検査

投与 67 及び 104 週後に各群雌雄 10 匹を対象として、尾静脈より採血し、以下の項目について検査した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積(MCV)、血小板数、白血球数、白血球百分率

統計学的有意差の認められた項目を表 4 に示す。このうち、群平均値が対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲を超えた場合に、生物学的に有意な影響と判断した。

200/150mg/kg/day 群の雌雄のヘマトクリット値及び同群の雄の赤血球数が、投与 104 週後に対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲を超えて低下したが、この低下は摂餌量の減少を反映したものであり、検体投与の直接的な影響とは考えられなかった。

200/150mg/kg/day 群の雄では投与 67 週後の MCV が有意に増加したが、対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲をわずかに上回っただけであること、同群の雄の投与 104 週後の MCV の増加は生物学的変動範囲内(対照群の測定値 $\pm 2SD$)であったこと、及び同群の雌では MCV は投与 104 週後に低下していることから、200/150mg/kg/day 群の雄の MCV の増加は毒性影響とは考えられなかった。

その他に生物学的に意義のある変化は認められなかった。

表4 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性		雄			雌		
		25	50	200/150	25	50	200/150
投与量 (mg/kg/day)							
ヘマトクリット値	104週			↓67		↓72	
赤血球数	104週			↓64		(↓78)	
MCV	67週	(↑105)	(↑105)	↑108			
	104週		↑107	(↑104)		(↓93)	
白血球数	67週			(↓67)			

表中の数値は対照群を100とした場合の値を示す

↑↓ : p<0.01, ↑↑↓ : p<0.001 (Student t test、申請者による検定)

()内は、測定値が対照群の測定値±2SDの範囲内である項目

7. 臓器重量

途中死亡動物も含む全動物を対象として、下記臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、腎臓、心臓、肝臓、副腎、精巣

(申請者注)*

有意差の認められた項目を表5に示す。

脳、心臓、肝臓、腎臓、副腎及び精巣の重量は、200/150mg/kg/day 群の雌雄で(心臓は50mg/kg/day 群の雌でも)実重量が減少し、及び/又は対体重比が増加した。これらの変化はいずれも200/150mg/kg/day 群の雌雄及び50mg/kg/day 群の雌における最終体重の低値によるものであり、検体投与による毒性影響とは考えられなかった。

その他に認められた変化については、用量との関連がないことから投与による影響とは考えられなかった。

* 報告書では、途中死亡動物も含む全動物を対象とした臓器重量のデータを基にして影響を考察している。しかし、最終屠殺動物のみを対象として評価することが適切と考えられることから、最終屠殺動物のみのデータを基に、本考察を行った。

表5 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性		雄			雌		
		25	50	200/150	25	50	200/150
投与量(mg/kg/day)							
最終体重				↓79		↓88	↓67
脳	実重量	↓96					
	対体重比			↑122		↑112	↑145
心臓	実重量			↓88		↓87	↓78
	対体重比			↑110			↑116
肝臓	実重量						↓85
	対体重比			↑141			↑129
腎臓	対体重比			↑117	↑110	↑114	↑152
副腎	実重量				↑126	↑115	
	対体重比				↑133	↑127	↑153
精巣	対体重比			↑122	-	-	-

表中の数値は対照群を100とした場合の値を示す

↑↓ : p<0.05, ↑↑↓ : p<0.01, ↑↑↑↓ : p<0.001 (Student t test、申請者による検定)

8. 肉眼的病理検査

途中死亡及び計画屠殺した全動物について剖検した。

投与に関連した変化は認められなかった。

9. 病理組織学的検査

途中死亡及び計画屠殺した全動物について、下記組織について病理組織学的検査を行った。

鼻部、脳、下垂体、眼及びハーダー腺、舌、喉頭、気管、肺、胸腺、心臓、甲状腺、上皮小体、肝臓、膵臓、脾臓、副腎、腎臓、膀胱、食道、胃、小腸、大腸、唾液腺、皮膚、乳腺、リンパ節、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、脊髄、胸骨、坐骨神経、筋肉、子宮及び肉眼的異常部位

非腫瘍性病変

(申請者注)*

主要な非腫瘍性病変を表6に示す。

肝臓では、200/150mg/kg/day 群で壊死巣(雌)、再生域(雌雄)、肝細胞肥大(雄)、胆汁うっ滞(雌雄)及び変性(雌)の発生頻度が有意に増加し、投与に起因した変化と考えられた。肝細胞肥大は50mg/kg/day 群の雄でも有意な増加が認められたものの、3例のみであることから、毒性影響とは考えられなかった。また、200/150mg/kg/day 群の雄で好塩基性細胞巣の有意な増加が見られたが、同群の雌では減少していることから、偶発的な変化と考えられた。腎臓では、200/150mg/kg/day 群で間質性腎炎(雌雄)、腎変性(雌)、尿細管拡張(雄)、腎盂腎炎(雄)、髄質循環量過多(雄)、再生域(雄)及び尿細管膿瘍(雄)の発生頻度の有意な増加が認められ、投与の影響と考えられた。

また、雌の全投与群で、脾臓におけるヘモジデリン沈着の発生頻度が増加したが、用量との関連はなく、投与の影響とは考えられなかった。胃のびらんについても、雌の200/150mg/kg/day 群で増加したものの、同群の雄では減少しており、毒性影響とは考えられなかった。その他に、200/150mg/kg/day 群では、膀胱の上皮過形成(雄)、精巣の浮腫(雄)、リンパ節の髄質赤血球(雄)及び組織球増殖(雌雄)が統計学的に有意に増加したが、これらの有意な増加は自然発生性病変の生物学的な変動によるものであり、投与の影響とは考えられなかった。

* 報告書では、200/150mg/kg/day 群雌雄で投与による肝臓及び腎臓への影響(非腫瘍性病変)が見られ、各臓器における病理組織学的所見として、いくつかの所見が記載されているが、各病理組織学的所見について毒性影響か否かの判断は明確になされておらず、また死亡状況別(途中死亡、計画屠殺)の所見発生頻度は報告されていない。そこで、申請者が個別別の所見から死亡状況別の所見発生頻度を計数して統計検定を行い、本考察を行った。

腫瘍性病変

認められた腫瘍性病変を表7に示す。

いずれの投与群においても投与に関連した腫瘍の増加は認められなかった。200/150mg/kg/day 群では、摂餌量の減少の結果、自然発生性の腫瘍の発生頻度が低下し、腫瘍数及び担腫瘍動物数が減少した。

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

以上の結果から、本剤のラットに対する2年間飼料混入投与による発がん性試験の影響として、200/150mg/kg/day 群の雌雄で、低体重、摂餌量減少、飼料利用効率低下、肝臓及び腎臓の病理組織学的変化*が認められた。従って、本試験における無毒性量は雌雄ともに50 mg/kg/dayであると判断される。

また、催腫瘍性はないものと判断される。

(申請者注)

- * 200/150mg/kg/day 群では、肝臓における病理組織学的変化として、壊死巣(雌)、再生域(雌雄)、肝細胞肥大(雄)、胆汁うっ滞(雌雄)及び変性(雌)が、腎臓における病理組織学的変化として、間質性腎炎(雌雄)、腎変性(雌)、尿細管拡張(雄)、腎盂腎炎(雄)、髄質循環量過多(雄)、再生域(雄)及び尿細管膿瘍(雄)が、それぞれ認められた。

表6 主要な非腫瘍性病変

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	50	200/ 150	0	25	50	200/ 150
途中死亡	検査動物数		41	27	26	27	35	19	17	24
	肝臓	壊死巣	6	2	4	7	1	0	1	9**
		再生域	0	0	0	2	0	0	0	0
		肝細胞肥大	0	0	3	8**	0	0	1	1
		胆汁うっ滞	0	0	0	14**	0	1	1	4*
		変性	3	0	1	1	0	0	0	3
		好塩基性細胞巣	1	1	1	3	2	3	2	0
	腎臓	間質性腎炎	0	1	0	6**	0	0	1	12**
		腎変性	0	0	0	0	0	0	0	4*
		尿細管拡張	0	1	0	6**	0	0	0	1
		腎盂腎炎	0	1	0	4*	0	0	1	2
		髓質循環量過多	0	0	0	2	0	0	0	0
		再生域	0	0	0	5**	0	0	0	1
		尿細管過形成	0	0	0	2	0	0	0	0
	脾臓	ヘモジデリン沈着	5	2	5	2	5	11**	9**	8
	胃	びらん	11	6	5	5	4	4	2	9*
	膀胱	上皮過形成	2	0	0	6*	2	0	1	2
	リンパ節	髓質赤血球	0	0	1	3	1	1	0	2
		組織球増殖	0	0	1	2	0	0	0	1
最終屠殺	検査動物数		49	23	24	23	55	31	33	26
	肝臓	壊死巣	1	0	2	1	2	0	0	0
		再生域	0	0	1	5**	0	1	0	4**
		肝細胞肥大	0	0	0	2	0	0	0	0
		胆汁うっ滞	0	1	0	11**	1	1	0	2
		変性	0	0	0	2	0	0	0	0
		好塩基性細胞巣	5	3	1	6	6	5	3	1
	腎臓	間質性腎炎	0	0	0	4**	0	0	0	14**
		腎変性	0	0	0	0	0	0	0	3*
		尿細管拡張	0	0	0	2	0	0	0	1
		髓質循環量過多	0	0	0	2	0	0	0	2
		再生域	0	0	0	2	0	0	0	0
		尿細管膿瘍	0	0	0	4**	0	0	0	0
		尿細管腫瘍様過形成	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	ヘモジデリン沈着	0	0	2	0	3	10**	17**	7*
	胃	びらん	1	0	1	0	2	0	0	1
	膀胱	上皮過形成	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	浮腫	0	1	0	3*	0	0	0	0
	リンパ節	髓質赤血球	0	1	1	0	1	1	1	1
組織球増殖		0	0	0	4**	0	0	0	3*	

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による検定)

表 6 主要な非腫瘍性病変 (続き)

臓器	性	雄				雌				
	投与量(mg/kg/day)	0	25	50	200/ 150	0	25	50	200/ 150	
全動物	検査動物数	90	50	50	50	90	50	50	50	
	肝臓	壊死巣	7	2	6	8	3	0	1	9**
		再生域	0	0	1	7**	0	1	0	4*
		肝細胞肥大	0	0	3*	10**	0	0	1	1
		胆汁うっ滞	0	1	0	25**	1	2	1	6**
		変性	3	0	1	3	0	0	0	3*
		好塩基性細胞巣	6	4	2	9*	8	8	5	1
	腎臓	間質性腎炎	0	1	0	10**	0	0	1	26**
		腎変性	0	0	0	0	0	0	0	7**
		尿細管拡張	0	1	0	8**	0	0	0	2
		腎盂腎炎	0	1	0	4*	0	0	1	2
		髄質循環量過多	0	0	0	4*	0	0	0	2
		再生域	0	0	0	7**	0	0	0	1
		尿細管膿瘍	0	0	0	4*	0	0	0	0
		尿細管過形成	0	0	0	2	0	0	0	0
	尿細管腫瘍様過形成	0	0	0	0	1	0	0	0	
	脾臓	ヘモジデリン沈着	5	2	7	2	8	21**	26**	15**
	胃	びらん	12	6	6	5	6	4	2	10*
	膀胱	上皮過形成	2	0	0	6*	3	0	1	2
	精巣	浮腫	0	1	0	3*	0	0	0	0
リンパ節	髄質赤血球	0	1	2	3*	2	2	1	3	
	組織球増殖	0	0	1	6**	0	0	0	4*	

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による検定)

表7 腫瘍性病変

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	50	200/ 150	0	25	50	200/ 150
	検査動物数		41	27	26	27	35	19	17	24
血液・リンパ・網内系	赤芽球性白血病 (M)		1	0	0	0	0	0	0	1
	顆粒球性白血病 (M)		0	0	1	0	0	0	0	0
	組織球性リンパ肉腫 (M)		1	1	2	1	3	0	0	4
	リンパ肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
	線維性組織球腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性胸腺腫 (M)		0	0	1	0	1	0	0	0
血管	海綿状血管腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0
皮下	硬性線維腫 (B)		1	0	1	0	0	0	0	0
	神経線維腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	血管腫 (B)		0	0	0	2	0	0	0	0
	粘液線維腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
	骨肉腫 (M)		1	0	1	0	0	0	0	0
	悪性神経鞘腫 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0
脳	悪性星状膠細胞腫 (M)		2	1	0	0	0	0	0	0
	髄膜腫 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0
	脈絡膜癌 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0
	多形性膠腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0
下垂体	嫌色素性腺腫 (B)		14	10	4	1**	15	11	8	6
	神経腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0
	癌 (M)		1	1	4	2	10	4	4	1**
眼	扁平上皮癌 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
ハタゲ腺	腺腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0
鼻腔	扁平上皮癌 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0
	髄様癌 (M)		1	2	2	1	1	3	0	0
	管状癌 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体	腺腫 (B)		0	0	0	2	0	0	0	1
心臓	アニチコフ細胞肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓	肝細胞腺腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0
	肝細胞癌 (M)		0	0	0	1	1	0	0	0
腎臓	脂肪様過誤腫 (B)		1	0	0	1	0	0	0	0
	ポリープ (B)		0	0	1	0	0	0	0	0
	脂肪肉腫 (M)		0	0	1	0	0	0	0	0
副腎	褐色細胞腫 (B)		0	0	2	0	1	0	0	0
	皮質性腺腫 (B)		1	0	1	0	0	0	0	0
	皮質性癌 (M)		0	0	0	0	2	0	0	0
膵臓	島細胞腺腫 (B)		4	3	6	1	2	0	0	0
腸	平滑筋肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
精巣	間細胞腫 (B)		0	2	0	0	—	—	—	—

途中死亡

*: p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍

(M) : 悪性腫瘍

表7 腫瘍性病変 (続き)

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	50	200/ 150	0	25	50	200/ 150
検査動物数			41	27	26	27	35	19	17	24
途中死亡	子宮	子宮内膜ポリープ (B)	—	—	—	—	1	0	0	0
		子宮内膜間質腺腫 (B)	—	—	—	—	2	0	2	1
		子宮内膜間質肉腫 (M)	—	—	—	—	0	1	0	2
		悪性血管内皮腫 (M)	—	—	—	—	0	0	0	1
		腺癌 (M)	—	—	—	—	0	0	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	0	0	1	0
		未分化肉腫 (M)	—	—	—	—	0	1	0	0
	卵巣	顆粒膜細胞腫 (M)	—	—	—	—	1	0	0	0
	乳腺	良性線維上皮腫 (B)	0	0	1	1	7	7	3	3
		悪性上皮腫 (M)	0	0	0	2	1	0	2	0
	皮膚	毛嚢上皮腫 (B)	1	0	0	1	0	0	1	0
		線維腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		皮脂扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌 (M)		1	0	0	0	2	0	0	0	
筋肉	横紋筋肉腫 (M)	1	1	0	0	0	0	0	0	
間葉	脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
検査動物数			49	23	24	23	55	31	33	26
最終屠殺	血液・リンパ・網内系	組織球性リンパ肉腫 (M)	0	1	0	1	1	0	0	1
	皮下	硬性線維腫 (B)	0	0	1	2	0	0	0	0
		神経線維腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		軟性線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		良性神経鞘腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脳	良性星状膠細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性星状膠細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	2	0	1
		肥胖細胞性星細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		小脳顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	下垂体	嫌色素性腺腫 (B)	15	6	5	1*	40	18	18	13
		癌 (M)	1	3	5*	3	3	4	4	2
	頬	骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	嚢胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		髓様癌 (M)	4	9**	9**	3	8	6	2	2
	肺	肺胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0
腎臓	脂肪様過誤腫 (B)	1	0	0	1	1	0	0	0	
	皮質性腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍

(M) : 悪性腫瘍

表7 腫瘍性病変 (続き)

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	50	200/ 150	0	25	50	200/ 150
検査動物数			49	23	24	23	55	31	33	26
副腎	褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	2	2	1	
	皮質性腺腫 (B)	2	1	0	0	3	2	0	0	
	皮質性癌 (M)	1	0	0	0	0	1	0	1	
膵臓	島細胞腺腫 (B)	6	3	4	1	5	0	0	0	
	外分泌腺腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0	
	島細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	1	0	
膀胱	移行上皮腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
精巣	間細胞腫 (B)	2	0	1	1	—	—	—	—	
子宮	子宮内膜ポリープ (B)	—	—	—	—	1	0	0	1	
	扁平上皮乳頭腫 (B)	—	—	—	—	1	0	0	0	
	子宮内膜間質腺腫 (B)	—	—	—	—	6	6	3	4	
	子宮内膜腺腫 (B)	—	—	—	—	0	0	0	1	
	子宮内膜間質肉腫 (M)	—	—	—	—	3	2	0	0	
	未分化肉腫 (M)	—	—	—	—	0	1	0	0	
卵巣	顆粒膜細胞腫 (M)	—	—	—	—	1	0	0	0	
乳腺	良性線維上皮腫 (B)	1	0	1	1	17	13	20**	3	
	悪性上皮腫 (M)	0	0	0	0	7	0*	3	0	
	悪性間質腫瘍 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
皮膚	毛嚢上皮腫 (B)	2	2	0	1	0	1	1	0	
	線維腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	
	表皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	皮脂扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	扁平上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	1	0	0	
筋肉	横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
尾	骨腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	骨肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍

(M) : 悪性腫瘍

表7 腫瘍性病変 (続き)

臓器	性 投与量(mg/kg/day)	雄				雌			
		0	25	50	200/ 150	0	25	50	200/ 150
検査動物数		90	50	50	50	90	50	50	50
血液・ リンパ・ 網内系	赤芽球性白血病 (M)	1	0	0	0	0	0	0	1
	顆粒球性白血病 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	組織球性リンパ肉腫 (M)	1	2	2	2	4	0	0	5
	リンパ肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維性組織球腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性胸腺腫 (M)	0	0	1	0	1	0	0	0
血管	海綿状血管腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
皮下	硬性線維腫 (B)	1	0	2	2	0	0	0	0
	神経線維腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	0
	血管腫 (B)	0	0	0	2	0	0	0	0
	粘液線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	軟性線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫 (M)	2	0	0	0	0	0	0	0
	脂肪肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	骨肉腫 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0
	良性神経鞘腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
悪性神経鞘腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
脳	良性星状膠細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性星状膠細胞腫 (M)	2	1	1	0	0	2	0	1
	髄膜腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肥胖細胞性星細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	小脳顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	脈絡膜癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
多形性膠腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
下垂体	嫌色素性腺腫 (B)	29	16	9	2**	55	29	26	19*
	神経腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	癌 (M)	2	4	9**	5	13	8	8	3
眼	扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
ハタゲ腺	腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
頬	骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
鼻腔	扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	嚢胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	1	0	0
	髄様癌 (M)	5	11**	11**	4	9	9	2	2
	管状癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体	腺腫 (B)	0	0	0	2	0	0	0	1
心臓	アニチコフ細胞肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
肺	肺胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	2	0	0	0
	肝細胞癌 (M)	0	0	0	1	1	0	0	0

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍

(M) : 悪性腫瘍

表 7 腫瘍性病変 (続き)

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	50	200/ 150	0	25	50	200/ 150
検査動物数			90	50	50	50	90	50	50	50
腎臓	脂肪様過誤腫 (B)	(B)	2	0	0	2	1	0	0	0
	ポリープ (B)	(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮質性腺腫 (B)	(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	脂肪肉腫 (M)	(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
副腎	褐色細胞腫 (B)	(B)	0	0	2	0	2	2	2	1
	皮質性腺腫 (B)	(B)	3	1	1	0	3	2	0	0
	皮質性癌 (M)	(M)	1	0	0	0	2	1	0	1
膵臓	島細胞腺腫 (B)	(B)	10	6	10	2	7	0	0	0
	外分泌腺腫 (B)	(B)	2	0	0	0	0	0	0	0
	島細胞癌 (M)	(M)	0	0	1	0	0	0	1	0
腸	平滑筋肉腫 (M)	(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
膀胱	移行上皮腺腫 (B)	(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
精巣	間細胞腫 (B)	(B)	2	2	1	1	—	—	—	—
全動物 子宮	子宮内膜ポリープ (B)	(B)	—	—	—	—	2	0	0	1
	扁平上皮乳頭腫 (B)	(B)	—	—	—	—	1	0	0	0
	子宮内膜間質腺腫 (B)	(B)	—	—	—	—	8	6	5	5
	子宮内膜腺腫 (B)	(B)	—	—	—	—	0	0	0	1
	子宮内膜間質肉腫 (M)	(M)	—	—	—	—	3	3	0	2
	悪性血管内皮腫 (M)	(M)	—	—	—	—	0	0	0	1
	腺癌 (M)	(M)	—	—	—	—	0	0	0	1
	平滑筋肉腫 (M)	(M)	—	—	—	—	0	0	1	0
	未分化肉腫 (M)	(M)	—	—	—	—	0	2	0	0
卵巣	顆粒膜細胞腫 (M)	(M)	—	—	—	—	2	0	0	0
乳腺	良性線維上皮腫 (B)	(B)	1	0	2	2	24	20	23*	6
	悪性上皮腫 (M)	(M)	0	0	0	2	8	0	5	0
	悪性間質腫瘍 (M)	(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
皮膚	毛嚢上皮腫 (B)	(B)	3	2	0	2	0	1	2	0
	線維腫 (B)	(B)	1	0	1	0	0	0	0	0
	表皮乳頭腫 (B)	(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	扁平上皮乳頭腫 (B)	(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮脂扁平上皮癌 (M)	(M)	1	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮癌 (M)	(M)	1	0	1	0	2	1	0	0
筋肉	横紋筋肉腫 (M)	(M)	1	1	0	1	0	0	0	0
尾	骨腫 (B)	(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨肉腫 (M)	(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
間葉	脂肪肉腫 (M)	(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
検査動物数			90	50	50	50	90	50	50	50
腫瘍数	良性		56	32	33	17 [#]	108	62	61	36 ^{##}
	悪性		26	23	29 ^{##}	15	47	27	19	17
腫瘍総数			82	55	62	32	155	89	80	53 ^{##}
担腫瘍動物数	良性		47	26	25	13 ^{**}	73	41	40	26 ^{**}
	悪性		24	21	25 ^{**}	13	38	21	15	15
担腫瘍動物総数			63	39	39	24 [*]	85	47	45	35 ^{**}

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による)

: p<0.05, ## : p<0.01 (カイ二乗検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

(4) 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. 毒性 20)

試験実施機関：
報告書作成年： 1979 年

検体の純度： 報告書に記載なし

供試動物： Swiss-Webster CD-1 系マウス
対照群は雌雄各 90 匹、投与群は 1 群雌雄各 50 匹
投与開始時 約 6 週齢、体重雄 14~30g、雌 14~26g

投与期間： 78 週間(1977 年 6 月 17 日~1979 年 1 月 25 日)

投与方法： 検体摂取量が 0(対照群)、25、100 及び 300 mg/kg/day となるよう検体を飼料に混入し、78 週間にわたり随時摂食させた。

用量設定根拠： 用量設定試験を実施し、軽度の体重増加抑制が見られる用量として 300 mg/kg/day を最高用量に選択し、以下最高用量の 1/3 及び 1/12 を選択した。(用量設定試験の詳細は報告書に記載なし)

観察・検査項目及び結果：

1. 一般状態及び死亡率

全動物について平日は毎日 1 回(試験の後期では毎日 2 回)一般状態を観察した。週末は死亡及び瀕死状態のみ観察した。

検体投与によると考えられる一般状態の異常は観察されなかった。
投与 78 週後における生存率は表 1 のとおりであり、投与の影響は認められなかった。

表 1 生存率

性	雄				雌			
	0	25	100	300	0	25	100	300
投与量 (mg/kg/day)	0	25	100	300	0	25	100	300
生存率 (%)	88	84	72	78	76	82	70	72

2. 体重

全動物の体重を、投与 13 週までは週 1 回、その後は月 1 回測定した。

試験期間を通じて 300 mg/kg/day 群の雌の体重は対照群に比べやや低値で推移したが(対照群に対し 94~101%で推移)、軽度な低体重であり、また最終体重は対照群と同等であったことから毒性影響とは考えられなかった。その他の群において、投与の影響は認められなかった。

3. 摂餌量及び飼料利用効率

全動物の摂餌量を、投与 13 週までは週 1 回、その後は月 1 回測定した。

摂餌量及び飼料利用効率に投与の影響は認められなかった。

4. 血液学的検査

試験終了時に各群雌雄 10 匹を対象として、心臓より採血し、以下の項目について検査した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積、血小板数、白血球数、白血球百分率

統計学的有意差は認められず(Student t 検定)、検体投与の影響は認められなかった。

5. 臓器重量

途中死亡動物も含む全動物を対象として、下記臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、腎臓、心臓、肝臓、副腎、精巣

(申請者注)*

有意差の認められた項目を表 2 に示す。

雌の全投与群で、腎臓重量(実重量及び対体重比)が統計学的に有意に増加したが、雄の 300mg/kg/day 群では、腎臓重量は実重量及び対体重比ともに有意に減少し、雌雄間で一貫性が認められなかった。また、雌の投与群における重量増加に用量との関連は認められなかった。更に、報告書では平均値が対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲を超えた場合に、生物学的に有意な影響と判断しているが、各投与群の値は対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲内であった。加えて、病理組織学的検査において腎臓に投与に関連した所見は認められなかった。以上のことから、腎臓の重量変化の毒性学的意義は低いと考えられた。

300mg/kg/day 群の雄で副腎の実重量及び対体重比がともに統計学的有意に増加したが、いずれも対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲内であること、また病理組織学的検査において副腎に投与に関連した所見は認められなかったことから、副腎の重量増加の毒性学的意義は低いと考えられた。

肝臓重量は、300mg/kg/day 群の雌雄及び 100mg/kg/day 群の雌で実重量及び対体重比がともに統計学的有意に増加し、このうち 300mg/kg/day 群の雄の実重量及び対体重比は対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲を超えた。300mg/kg/day 群の雄では病理組織学的検査において肝臓に毒性所見が認められていることから、300mg/kg/day 群の雄の肝臓重量増加は毒性影響と考えられた。また、同群雌についても、病理組織学的検査において肝臓に毒性所見が認められていることから、同群雌の肝臓重量増加は対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲内ではあるものの、毒性影響と考えた。一方、100mg/kg/day 群の雌の肝臓重量増加については、対照群の測定値 $\pm 2SD$ の範囲内であることと肝臓に関連する所見が認められていないことから、毒性影響とは考えられなかった。

その他に認められた変化については、用量との関連がないか、実重量もしくは対体重比のみの変化であったことから投与による影響とは考えられなかった。

* 報告書では、途中死亡動物も含む全動物を対象とした臓器重量のデータを基にして影響を考察している。しかし、最終屠殺動物のみを対象として評価することが適切と考えられることから、最終屠殺動物のみのデータを基に、本考察を行った。

表 2 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性		雄			雌		
投与量(mg/kg/day)		25	100	300	25	100	300
脳	実重量	(↑103)	(↑104)				
	対体重比						
心臓	実重量						(↓93)
	対体重比						
肝臓	実重量			↑159		(↑116)	(↑120)
	対体重比	(↑109)		↑158		(↑112)	(↑123)
腎臓	実重量	(↑110)		(↓86)	(↑109)	(↑120)	(↑113)
	対体重比	(↑110)		(↓85)	(↑108)	(↑116)	(↑116)
副腎	実重量		(↑124)	(↑126)			
	対体重比			(↑123)			
精巣	実重量	(↑111)	(↑108)		—	—	—
	対体重比	(↑111)			—	—	—

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を示す

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、↑↓ : p<0.001 (Student t test、申請者による検定)

()内は、測定値が対照群の測定値±2SD の範囲内である項目

6. 肉眼的病理検査

途中死亡及び計画屠殺した全動物について剖検した。

投与に関連した変化は認められなかった。

7. 病理組織学的検査

途中死亡及び計画屠殺した全動物について、下記組織について病理組織学的検査を行った。

鼻部、脳、下垂体、眼及びハーダー腺、舌、喉頭、気管、肺、胸腺、心臓、甲状腺、上皮小体、肝臓、胆嚢、膵臓、脾臓、副腎、腎臓、膀胱、食道、胃、小腸、大腸、唾液腺、皮膚、乳腺、リンパ節、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、脊髄、胸骨、坐骨神経、筋肉、子宮及び肉眼的異常部位

非腫瘍性病変

(申請者注)*

肝臓では、100mg/kg/day 以上の雄で中等度の肝細胞大小不同症、300mg/kg/day 群の雄で胆管重複及び単細胞の変性/壊死、並びに 300mg/kg/day 群の雌雄で胆汁うっ滞が認められ、投与の影響と考えられた。

肝臓以外では、投与に関連した所見は認められなかった。

* 報告書では、300mg/kg/day 群雌雄で投与による肝臓への影響(非腫瘍性病変)が見られたと記載されているが、肝臓で認められた各病理組織学的所見については考察されておらず、また死亡状況別(途中死亡、計画屠殺)の所見発生頻度は報告されていない。そこで、申請者が個別別の所見から死亡状況別の所見発生頻度を計数して統計検定を行い、本考察を行った。

腫瘍性病変

認められた腫瘍性病変を表 4 に示す。

投与に関連した腫瘍の発生は認められず、腫瘍数及び担腫瘍動物数にも投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する 78 週間飼料混入投与による発がん性試験の影響として、肝臓への影響が認められ、100mg/kg/day 以上の雄で中等度の肝細胞大小不同症、300mg/kg/day 群の雄で胆管重複及び単細胞変性/壊死、並びに 300mg/kg/day 群の雌雄で肝臓重量増加及び胆汁うっ滞が認められた。従って、本試験における無毒性量は雄 25mg/kg/day、雌 100mg/kg/day であると判断される。

また、催腫瘍性はないものと判断される。

表 3 主要な非腫瘍性病変

臓器	性		雄				雌				
	投与量(mg/kg/day)		0	25	100	300	0	25	100	300	
途中死亡	検査動物数		17	10	16	14	27	10	18	16	
	肝臓	胆汁うっ滞	0	0	0	4*	2	0	2	4	
		肝細胞大小不同症	中等度	1	1	5	3	6	1	1	3
			重度	0	0	0	1	0	0	0	0
		胆管重複		0	0	0	1	0	0	0	0
単細胞変性/壊死		0	0	1	1	2	0	0	0		
最終屠殺	検査動物数		73	40	34	36	63	40	32	34	
	肝臓	胆汁うっ滞	3	4	0	16**	17	7	0**	20**	
		肝細胞大小不同症	中等度	2	1	3	12**	6	0	1	8
			重度	0	1	0	1	0	0	0	0
		胆管重複		0	1	0	5**	0	1	1	0
単細胞変性/壊死		0	2	0	9**	2	0	1	5*		
全動物	検査動物数		90	50	50	50	90	50	50	50	
	肝臓	胆汁うっ滞	3	4	0	20**	19	7	2**	24**	
		肝細胞大小不同症	中等度	3	2	8*	15**	12	1*	2	11
			重度	0	1	0	2	0	0	0	0
		胆管重複		0	1	0	6**	0	1	1	0
単細胞変性/壊死		0	2	1	10**	4	0	1	5		

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者による検定)

表4 腫瘍性病変

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	100	300	0	25	100	300
検査動物数			17	10	16	14	27	10	18	16
血液・リンパ・網内系	骨髄性白血病 (M)		0	1	1	1	2	1	1	1
	赤芽球性白血病 (M)		0	0	1	0	0	1	1	0
	リンパ球性白血病 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0
	白血病(分類されず) (M)		0	0	0	0	0	0	1	0
	非胸腺型リンパ腫 (M)		2	0	1	1	0	0	1	0
	細網細胞肉腫 (M)		2	3	2	0	3	1	1	2
皮下	脂肪肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0
	付属器の癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
	未分化癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
脳	視床神経膠腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
ハーダー腺	ハーダー腺腫瘍 (B)		1	0	0	3	0	0	0	0
唾液腺	筋上皮腫 (B)		0	0	0	1	0	0	0	0
顎	血管肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺	悪性胸腺腫 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ腫 (B)		1	1	1	0	1	0	2	1
心臓	横紋筋肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
肺	肺胞腺腫 (B)		5	0	3	4	5	0	0	0
	肺胞腺癌 (M)		1	0	0	0	1	0	0	0
肝臓	肝細胞腺腫 (B)		2	0	0	2	0	0	0	0
	肝細胞癌 (M)		0	0	1	0	0	0	0	0
腎臓	尿細管腺腫 (B)		1	0	0	0	0	0	0	0
副腎	褐色細胞腫 (B)		1	0	0	0	0	0	0	0
脾臓	血管肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
胃	平滑筋肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
十二指腸	腺癌 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
子宮	平滑筋腫 (B)		0	0	0	0	0	0	0	1
	子宮内膜ポリープ (B)		0	0	0	0	1	1	0	0
	平滑筋肉腫 (M)		0	0	0	0	2	0	0	0
	未分化肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
	未分化癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
卵巣	間質細胞腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	乳頭状腺腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	平滑筋腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
乳腺	腺癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
	腺表皮癌 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0
	嚢胞腺癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1
	明細胞癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1
腹部	骨肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0

途中死亡

* : p<0.05 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

表4 腫瘍性病変 (続き)

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	100	300	0	25	100	300
	検査動物数		73	40	34	36	63	40	32	34
最終屠物	血液・リンパ・網内系	細網細胞肉腫 (M)	4	1	0	1	2	5	1	2
		下垂体	腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0
		嫌色素性癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		好酸性腺腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	0
		嫌色素性腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0
	ハーダー腺	ハーダー腺腫瘍 (B)	3	1	1	0	0	4*	0	1
		腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	縦隔	未分化肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	肺胞腺腫 (B)	15	9	5	6	7	6	5	1
		肺胞癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		細気管支腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	5	3	1	7	0	0	1	1
	腎臓	癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		皮質性腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	十二指腸	腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		乳頭状腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	空腸	嚢胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
精巣	間細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
子宮	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	3	2	2	0	
	子宮内膜ポリープ (B)	0	0	0	0	1	2	2	0	
	線維腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	
卵巣	黄体腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	0	
	顆粒膜細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
乳腺	導管ポリープ (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
骨	骨腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	2	

* : p<0.05 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍

(M) : 悪性腫瘍

表4 腫瘍性病変 (続き)

臓器	性 投与量(mg/kg/day)	雄				雌			
		0	25	100	300	0	25	100	300
検査動物数		90	50	50	50	90	50	50	50
血液・リンパ・網内系	骨髄性白血病 (M)	0	1	1	1	2	1	1	1
	赤芽球性白血病 (M)	0	0	1	0	0	1	1	0
	リンパ球性白血病 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	白血病(分類されず) (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	非胸腺型リンパ腫 (M)	2	0	1	1	0	0	1	0
	細網細胞肉腫 (M)	6	4	2	1	5	6	2	4
皮下	脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	付属器の癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	未分化癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
脳	視床神経膠腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
下垂体	腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	嫌色素性癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	好酸性腺腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	0
	嫌色素性腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0
ハーダー腺	ハーダー腺腫瘍 (B)	4	1	1	3	0	4*	0	1
	腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
全動物	唾液腺	筋上皮腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0
	顎	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0
胸腺	悪性胸腺腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	リンパ腫 (B)	1	1	1	0	1	0	2	1
縦隔	未分化肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
心臓	横紋筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
肺	肺胞腺腫 (B)	20	9	8	10	12	6	5	1*
	肺胞癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	細気管支腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肺胞腺癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	7	3	1	9	0	0	1	1
	肝細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
腎臓	尿細管腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
副腎	褐色細胞腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
	皮質性腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
胃	平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0

* : p<0.05 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

表 4 腫瘍性病変 (続き)

臓器	性		雄				雌			
	投与量(mg/kg/day)		0	25	100	300	0	25	100	300
検査動物数			90	50	50	50	90	50	50	50
十二指腸	腺癌 (M)		2	0	0	0	0	0	0	0
	乳頭状腺癌 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0
空腸	嚢胞腺癌 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0
精巣	間細胞腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0
子宮	平滑筋腫 (B)		0	0	0	0	3	2	2	1
	子宮内膜ポリープ (B)		0	0	0	0	2	3	2	0
	線維腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	平滑筋肉腫 (M)		0	0	0	0	3	0	0	0
	癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1
	未分化肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
	未分化癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
卵巣	間質細胞腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	黄体腫 (B)		0	0	0	0	1	1	0	0
	乳頭状腺腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	平滑筋腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	顆粒膜細胞腫 (B)		0	0	0	0	1	0	0	0
乳腺	導管ポリープ (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	腺癌 (M)		0	0	0	0	2	0	0	0
	腺表皮癌 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0
	嚢胞腺癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1
	明細胞癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1
骨	骨腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	2
腹部	骨肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
検査動物数			90	50	50	50	90	50	50	50
腫瘍数	良性		36	15	12	23	23	17	20	7
	悪性		13	7	7	7	21	11	8	8
腫瘍総数			49	22	19	30	44	28	28	15
担腫瘍動物数	良性		31	13	12	20	21	15	15	7
	悪性		12	6	7	7	19	10	8	8
担腫瘍動物総数			37	18	18	25	35	25	23	14

* : p<0.05 (Fisher 検定、申請者による)

(B) : 良性腫瘍

(M) : 悪性腫瘍

7. 繁殖毒性及び催奇形性

(1) ラットを用いた3世代繁殖毒性試験

(資料 No. 毒性 21)

試験実施機関：
報告書作成年：1978年

検体純度：報告書に記載なし

供試動物：Cri:COBS:CD(SD)BR系ラット、1群雄10匹、雌20匹
週齢は報告書に記載なし
投与開始時体重 雄132~154g、雌100~124g(群平均)

投与期間：P世代； 投与開始からF1B児離乳時まで(F1B児動物を継代) (約27週間)
F1B世代； 離乳時からF2B児離乳時まで(F2B児動物を継代) (約27週間)
F2B世代； 離乳時からF3B児離乳時まで (約27週間)
(試験期間：1977年4月12日~1978年10月2日)

投与方法：検体を0(対照群)、125、500及び2000ppmの濃度で飼料に混入し、各世代に60日間摂食させた。なお、高用量群については出産児数の低下及び親動物の体重低下が認められたため、F1Bの交配前から混餌濃度を1000ppmに減量した。

用量設定根拠；報告書に記載なし

交配、調整、観察、検査項目：概要を表1にまとめた。

交配及び交尾の確認；交配は雌雄2対1で同居させ、膣垢中の精子により交尾を確認し、この日を妊娠0日として起算した。

繁殖性に関する指標；以下の繁殖に関する指標を計算した。

$$\text{妊娠率(\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交配させた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}^a} \times 100$$

$$\text{生児出生率(\%)}^b = \frac{\text{生児出生数}}{\text{総出産数}} \times 100$$

$$\text{死亡率(\%)}^c = \frac{\text{出生時から各調査時点までの死亡児数}^d}{\text{総出産数}} \times 100$$

a：妊娠中に死亡した雌を除く

b：腹毎の値を計算し、群毎に平均した(生存児を出産しなかった妊娠動物を含む)

c：腹毎の値を計算し、群毎に平均した(生存児を出産しなかった妊娠動物を除く)

d：出生時の死亡児を含む

表 1 試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(60日間)	●投与開始	●一般状態及び生死を観察 ●摂餌量及び体重を毎週測定
	1回目交配 (最長20日間)	●雌雄2対1で交配	●交配状況の観察(陰垢中精子で交尾を確認し、 交尾が確認された日を妊娠0日と定義)
	妊娠(3週)		●体重を妊娠0、7、14、20日に測定
P/F1A	出産(F1A)		●出産状況の観察 ●新生児の生死、外表異常、生存児体重を測定
	哺育(3週)		●母動物の体重を出産後0、7、14、21日に測定 ●児動物の体重を哺育4、12及び21日目に測定 ●児動物の生死及び異常を毎日観察 ●生存児の性別を哺育21日目に調査
	離乳	●F1Aを屠殺	●F1Aの1/3について剖検
P	生育(7日)		●一般状態および生死を観察
	2回目交配 (最長20日間)	(Pの1回目の交配に準じる)	(Pの1回目の交配に準じる)
	妊娠(3週)		(Pの1回目の妊娠に準じる)
P/F1B	出産(F1B)		(P/F1Aに準じる)
	哺育(3週)		(P/F1Aに準じる)
	離乳	●継代用にF1Bから雄10匹、 雌20匹を選抜 ●F1Bの残り及びPを屠殺	●選抜後の残りのF1Bのうち1/3について剖検
F1B	生育(60日間)	●高用量群の用量を1000ppm に減量	(Pの1回目の生育に準じる)
	1回目交配 (最長20日間)	(Pに準じる)	(Pに準じる)
	妊娠(3週)		(Pに準じる)
F1B/F2A	出産(F2A)		(Pに準じる)
	哺育(3週)		(Pに準じる)
	離乳	●F2Aを屠殺	●F2Aの1/3について剖検
F1B	生育(7日)		(Pの2回目の生育に準じる)
	2回目交配 (最長20日間)	(Pに準じる)	(Pに準じる)
	妊娠(3週)		(Pに準じる)
F1B/F2B	出産(F2B)		(Pに準じる)
	哺育(3週)		(Pに準じる)
	離乳	●継代用にF2Bから雄10匹、 雌20匹を選抜 ●F2Bの残り及びF1Bを屠殺	●選抜後の残りのF2Bのうち1/3について剖検
F2B	生育(60日間)		(Pの1回目の生育に準じる)
	1回目交配 (最長20日間)	(Pに準じる)	(Pに準じる)
	妊娠(3週)		(Pに準じる)
F2B/F3A	出産(F3A)		(Pに準じる)
	哺育(3週)		(Pに準じる)
	離乳	●F3Aを屠殺	●F3Aの1/3について剖検
F2B	生育(7日)		(Pの2回目の生育に準じる)
	2回目交配 (最長20日間)	(Pに準じる)	(Pに準じる)
	妊娠(3週)		(Pに準じる)
F2B/F3B	出産(F3B)		(Pに準じる)
	哺育(3週)		(Pに準じる)
	離乳	●F2B及びF3Bを屠殺	●全てのF3Bについて剖検

結果：概要を表 2 及び表 3 に示す。

【親動物】

死亡及び一般状態；500ppm 群の P 世代の雌 1 例を、F1B の妊娠期間中に事故のため屠殺した。また同群の F1B 世代の雌 1 例が、F2A の哺育期間中に死亡した(死因は報告書に記載なし)が、投与に関連したものとは考えられなかった。また、検体投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

体重； 2000/1000ppm 群の P 世代雌雄、F1B 及び F2B 世代の雄では、生育期間中の体重増加量が対照群に比べ減少し、生育期間終了時の体重は対照群に対し低値を示した(申請者注：統計学的な検定は実施できなかった)。その他の群で認められた変動は軽度であり、毒性影響とは考えられなかった。

摂餌量； 2000/1000ppm 群の P 世代雌雄、F1B 及び F2B 世代の雄で、生育期間中の摂餌量の減少が認められた(申請者注：このうち F1B 及び F2B 世代の雄の摂餌量の減少は統計学的に有意であった)。その他の群で認められた変動は軽度であり、毒性影響とは考えられなかった(申請者注：F2B 世代の雄では 500ppm 群で統計学的に有意な摂餌量の減少が見られたものの、同群では体重への毒性影響は認められていないことから、この摂餌量の減少は毒性影響とは考えられなかった)。

繁殖能力；妊娠率、出産率及び妊娠期間に投与による影響は認められなかった。

【児動物】

F1A 及び F1B 児動物；

2000/1000ppm 群では、2000ppm を投与した P 世代の児動物に関して、F1A 出産児数及び生児出生数の減少、F1B 生児出生率の低下、F1B の 12 及び 21 日死亡率の増加、F1A 及び F1B の同腹児総重量及び児動物体重の減少が認められた。

500ppm 群では F1B 児動物の哺育 21 日における体重が有意に低下したが、これは哺育 21 日の F1B 児動物数が対照群に比べ多かったことが影響したと考えられ、毒性学的意義は低いと考えられた。

(申請者注)

認められた出産児数及び生児出生数の減少、生児出生率の低下、哺育期間中の死亡率の増加及び児動物体重の減少については、母動物の毒性(体重低値)による二次的な影響と考えられた。また、同腹児総重量の減少は、生児出生率の低下及び哺育期間中の死亡率の増加による生存胎児数の減少、並びに児動物体重の減少を反映したものであることから、本パラメータの変動については、生児出生率の低下、哺育期間中の死亡率の増加及び児動物体重の減少により評価されているものと考えられる。

F2A 及び F2B 児動物；

2000/1000ppm 群では、F2A 児動物の 4 日死亡率が有意に増加したが、その後の死亡率に有意な増加は見られず、偶発的なものと考えられた。同群の F2B 児動物体重は、哺育 12 日目は有意に減少したが、哺育 21 日目では有意差は消失しており、F2B 児動物体重の一時的な低値の毒性学的意義は低いと考えられた。また、同群の F2B 児動物の哺育 12 及び 21 日同腹児総重量が有意に減少したが、同時期の同群の児動物の生存数及び体重がやや低かったことによるものと考えられ、毒性学的意義は低いと考えられた。500ppm 群において、F2A 児動物の死亡率の有意な増加が認められたが、用量との関連がなく、生物学的な変動であると考えられた。

F3A 及び F3B 児動物；

2000/1000ppm 群では F3B 児動物の哺育 21 日における体重が有意に低下したが、これは哺育 21 日の F1B 児動物数が対照群に比べやや多かったことが影響したと考えられ、毒性学的意義は低いと考えられた。500ppm 群で認められた有意な変化については、用量との関連がなく、生物学的な変動であると考えられた。

以上の結果より、3 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、2000/1000ppm 投与群で親動物に体重低値及び摂餌量減少が見られ、児動物に出産児数及び生児出生数の減少、生児出生率の低下、哺育期間中の死亡率の増加及び児動物体重の減少が認められた。従って、無毒性量は親動物、児動物とも 500ppm(P: 雄 42.5mg/kg/day、雌 45.3mg/kg/day、F1: 雄 44.2mg/kg/day、雌 43.2mg/kg/day、F2: 雄 52.6mg/kg/day、雌 50.7mg/kg/day)と判断される。繁殖性に対する影響は認められなかった。

表 2 結果の概要 (親動物)

世代			親: P、児: F1A/F1B				親: F1B、児: F2A/F2B				親: F2B、児: F3A/F3B				
投与量 (ppm)			0	125	500	2000	0	125	500	1000	0	125	500	1000	
動物数	雄		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
	雌		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20		
死亡数 ^a	雄		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	雌		0	0	(1)	0	0	0	1	0	0	0	0		
一般状態			検体投与による影響は認められなかった												
摂餌量 ^b	生育期間	0-1 週	雄	100	95	100	87	100	118	119	74	100	102	96	92
			雌	100	101	100	86	100	109	108	100	100	105	102	99
		0-8 週	雄	100	99	96	89	100	97	100	↓77	100	94	↓90	↓88
			雌	100	99	102	93	100	105	106	95	100	105	104	99
体重 (g)	1 回目交配前	雄	470	450	435	395	455	413	438	336	431	408	394	380	
		雌	271	266	276	253	241	256	241	229	252	233	238	234	
増体重 (g)	生育期間	0-1 週	雄	49	37	48	30	19	33	39	25	49	55	50	46
			雌	31	31	33	23	15	10	5	28	30	30	30	30
		0-8 週	雄	318	304	290	244	303	264	291	253	277	267	263	247
			雌	137	142	149	127	115	126	113	140	129	117	138	124
	妊娠期間	1 回目交配	雌	112	117	120	99	126	130	109	127	120	130	127	120
		2 回目交配	雌	116	109	128	98	122	123	111	112	138	128	135	129
	哺育期間	1 回目交配	雌	25	19	20	15	29	36	24	35	10	15	19	18
		2 回目交配	雌	20	17	9	4	27	24	20	30	-3	4	6	↑27
検体摂取量 ^{c,d} (mg/kg/day)			雄	0	11.1	42.5	172	0	11.3	44.2	99.2	0	12.5	52.6	107
			雌	0	11.3	45.3	179	0	10.7	43.2	86.1	0	12.3	50.7	93.4
平均妊娠期間(日)	1 回目交配		21.7	21.4	21.7	21.8	21.6	22.4	22.6	21.7	23.6	21.6	21.9	22.7	
	2 回目交配		22.4	21.5	21.6	22.2	22.9	22.8	23.0	23.0	21.6	21.6	21.5	21.5	
妊娠率(%)	1 回目交配		95	90	95	90	85	95	85	100	100	90	100	100	
	2 回目交配		90	95	95	100	80	95	100	95	100	100	100	100	
出産率(%) ^d	1 回目交配		100	100	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	
	2 回目交配		100	100	100	85	100	100	100	100	100	100	100	100	

a: () 内は事故のため屠殺した動物数

b: 対照群を 100 とした場合の値を示す

c: 投与開始～1 回目交配までの期間の平均

d: 申請者の計算による

以下の項目について検定を実施した (↓: p<0.05、↑↓: p<0.01)

- ・ 摂餌量、妊娠期間中の増体重、哺育期間中の増体重(Dunnett's test、申請者実施)
- ・ 平均妊娠期間(Student t 検定)

表 3 結果の概要 (児動物)

世代		親 : P、児 : F1A/F1B				親 : F1B、児 : F2A/F2B				親 : F2B、児 : F3A/F3B				
投与量 (ppm)		0	125	500	2000	0	125	500	1000	0	125	500	1000	
平均出産児数	FA	13.8	13.0	13.6	↓11.2	11.9	↑14.1	11.9	11.3	13.8	13.1	↓12.2	12.2	
	FB	13.2	11.9	14.7	12.3	13.5	14.9	13.5	13.1	14.0	13.6	14.3	14.8	
平均生児出生数	FA	13.6	12.9	13.6	↓11.1	11.9	↑14.1	11.4	10.3	13.6	13.1	↓11.7	12.1	
	FB	13.2	11.8	14.6	10.6	13.3	14.9	13.4	12.8	13.9	13.3	13.8	14.7	
生児出生率(%)	FA	98.5	99.6	100	99.2	100	100	96.1	88.8	98.5	99.6	95.3	99.3	
	FB	100	99.2	99.6	86.2	98.5	99.7	96.5	98.6	99.3	98.2	↓96.0	99.3	
4日死亡率(%)	FA	3.4	2.1	3.1	4.3	1.1	2.2	↑17.1	↑8.5	2.0	2.2	5.0	0.7	
	FB	1.3	0.8	2.5	4.6	2.1	3.6	9.4	4.9	1.8	5.8	5.3	1.3	
12日死亡率(%)	FA	3.4	2.1	3.1	5.0	5.1	4.3	↑26.1	15.6	3.4	2.2	5.3	0.7	
	FB	6.4	3.1	5.1	↑22.2	5.1	9.6	16.7	8.7	2.5	10.1	9.2	1.9	
21日死亡率(%)	FA	3.4	2.1	3.5	5.0	6.9	7.9	↑26.9	22.1	4.1	1.7	5.3	1.7	
	FB	8.4	3.4	4.9	↑27.0	5.1	10.8	17.4	9.3	3.6	10.4	9.5	1.9	
性別 哺育21日 (雄の比率)	FA	51.3	48.4	51.2	52.0	54.7	51.2	52.9	50.0	46.5	51.5	49.8	50.1	
	FB	51.7	50.2	48.7	42.3	52.3	47.8	48.2	45.7	49.9	48.3	53.0	43.9	
出生時同腹児 総重量 (g)	FA	84	79	83	↓67	78	90	75	73	84	79	74	74	
	FB	85	74	91	70	86	94	88	81	91	88	92	93	
哺育4日同腹児 総重量(g)	FA	132	131	134	↓101	111	125	98	99	137	128	↓122	122	
	FB	126	114	139	↓97	130	133	130	111	138	130	135	139	
哺育12日同腹児 総重量(g)	FA	294	310	304	↓224	201	224	178	186	291	283	267	260	
	FB	281	266	321	↓171	283	272	281	↓236	297	270	290	298	
哺育21日同腹児 総重量(g)	FA	564	565	556	↓339	390	419	315	328	504	495	469	447	
	FB	527	478	548	↓285	497	494	474	↓426	516	448	493	486	
体重 (g)	哺育0日目	FA	6.2	6.2	6.2	6.3	6.7	6.4	6.5	6.7	6.1	6.0	6.3	6.2
		FB	6.5	6.3	6.3	6.0	6.6	6.3	6.5	6.3	6.7	6.7	6.8	6.4
	哺育4日目	FA	10.0	11.2	10.4	10.0	9.6	9.1	10.4	9.5	10.2	10.1	10.8	10.5
		FB	10.0	10.1	9.8	↓8.6	10.2	9.3	9.8	9.0	10.2	10.5	10.1	9.6
	哺育12日目	FA	22.7	24.8	23.6	22.6	17.7	16.9	18.7	18.2	22.1	22.3	23.9	22.6
		FB	23.4	24.0	23.0	↓17.8	22.9	20.6	23.7	↓20.1	22.4	22.7	22.6	20.8
	哺育21日目	FA	43.1	45.3	43.0	↓34.5	36.9	33.2	36.6	34.3	38.8	39.0	42.5	39.9
		FB	46.4	43.8	↓40.1	↓33.5	39.8	38.3	39.6	37.1	39.7	38.3	39.6	↓33.9

FA : 1回目の交配時のデータ

FB : 2回目の交配時のデータ

↑ ↓ : p<0.05、↓ : p<0.01、↓↓ : p<0.001 (性比については Mann-Whitney U 検定、その他の項目については Student t 検定)

(2) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No. 毒性 22)

試験実施機関：
報告書作成年：1980年

検体の純度： 報告書に記載なし

供試動物： Sprague Dawley CD 妊娠雌ラット、1群当たり20匹、陽性対照群8匹
交尾開始時10～12週齢、交尾確認日の体重200～322g

投与期間： 妊娠6日から15日の10日間
(膣垢に精子が確認された日を妊娠0日とした)

投与方法： 検体を1%メチルセルローズに懸濁し、0、8、20、50及び125mg/kg/dayの投与量で、投与期間中毎日1回10mL/kgの投与容量で強制経口投与した。陽性対照群にはアスピリンを250mg/kg/dayの投与量と同様に投与した。
なお、50mg/kg/day群の20匹のうち8動物が、一時的に80mg/kg/dayを誤投与された(妊娠13～15日(妊娠動物1例)、妊娠10～15日(妊娠動物1例)、妊娠9～15日(妊娠動物1例)、妊娠8～14日(妊娠及び非妊娠動物各1例)、妊娠15日(非妊娠動物3例)に80mg/kg/dayを投与)が、全期間50mg/kg/day投与した動物との間に差異は認められなかったことから、誤投与された動物も同群の評価に含めた。

用量設定根拠： 0、25及び100mg/kg/dayの投与量で妊娠0日から20日に投与した用量設定試験では、100mg/kg/day群で投与期間中の、25mg/kg/day群で妊娠18日以降の母動物の増体重が抑制され、また25mg/kg/day以上の群で胎児体重及び頭殿長が低下したことから、最小毒性量は25mg/kg/dayと考えられた。以上の結果を基に、本試験の用量を決定した。

観察・検査項目：

母動物： 全ての動物について妊娠期間中毎日一般症状を観察した。妊娠0、3、6、9、12、15、18及び21日に体重及び摂餌量を測定した。妊娠21日に全ての生存母動物を屠殺、剖検し、以下の項目を検査した。

- ・ 黄体数
- ・ 着床痕数
- ・ 早期及び後期吸収胚数
- ・ 生存胎児及び死亡胎児数
- ・ 胎児の性別、体重及び頭殿長

胎児： 全生存胎児について外表検査を行い、屠殺した。各腹約半数の個体は Bouin 液に固定し、内部器官の検査を実施した。残りの半数は内臓を検査後、内臓を取り出しアリザリンレッドSで染色し骨格検査を行った。

結果：概要を表1に示す。

母動物；試験期間中、母動物の死亡は認められず、何れの投与群においても投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

125mg/kg/day 群で、投与初期(妊娠 6~9 日)の体重増加量が、対照群に比べ低下し、投与期間中(妊娠 6~15 日)の体重増加量も軽度に低下した(統計学的有意差なし)。その他の検体投与群では体重への影響は認められなかった。陽性対照群においては、投与初期に体重の減少が見られ、投与期間中の体重増加が抑制された。

摂餌量に検体投与の影響は認められなかった。陽性対照群では投与期間中の摂餌量の低下が認められた。

母動物の剖検で投与の影響は認められなかった。

着床所見；黄体数、着床痕数、吸収胚数、生存胎児数、性比、胎児体重及び胎児頭殿長に関して、検体投与の影響は認められなかった。8mg/kg/day 群で胎児体重及び胎児頭殿長の有意な低下が認められたが、これは同群における腹あたりの胎児数が対照群に比べ多かったためであり、また用量との関連も認められておらず、毒性影響とは考えられなかった。陽性対照群では、早期吸収胚数が有意に増加し、また胎児体重及び胎児頭殿長が有意に低下した。

胎児；

外表検査及び内臓検査；検体投与に関連した異常は観察されなかった。なお、125mg/kg/day 群で全4心腔の拡大(奇形)が見られたが、1例のみであり、投与に関連したものとは考えられなかった。陽性対照群では、奇形及び変異の増加が認められた。

骨格検査；検体投与に関連した異常は観察されなかった。陽性対照群では、奇形及び変異が増加し、骨化が遅延した。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したとき、母動物では125mg/kg/day 群で体重増加抑制が認められ、胎児では最高用量の125mg/kg/day まで毒性影響は認められなかった。従って、無毒性量は母動物50mg/kg/day、胎児125mg/kg/day と判断される。催奇形性は認められなかった。

表1 結果の概要

1. 母動物

投与量(mg/kg/day)		0	8	20	50	125	アスピリン 250
交尾雌数		20	20	20	20	20	8
妊娠雌数 (%)		18 (90)	15 (75)	14 (70)	11 (55)	16 (80)	6 (75)
死亡雌数		0	0	0	0	0	0
一般状態		投与による影響は認められなかった					
体重増加量(g)	妊娠 0-6 日	24	27	29	25	27	31
	妊娠 6-9 日	8	7	5	6	1	↓ -4
	妊娠 9-12 日	9	11	10	11	12	12
	妊娠 12-15 日	15	20	14	19	15	15
	妊娠 15-21 日	61	69	71	81	74	43
	妊娠 6-15 日	32	38	29	36	28	23
摂餌量 ^a	妊娠 0-21 日	117	134	129	142	129	97
	妊娠 6-15 日	100	99	100	100	105	92
着床 所見	検査母動物数	18	15	14	11	16	6
	黄体数	15.3	16.0	15.6	15.1	14.4	16.2
	着床痕数	11.4	15.1	13.6	13.8	12.7	14.3
	着床前胚損失率(%)	25.1	5.8	12.8	8.4	11.7	11.3
	早期吸収胚数	0.00	0.13	0.14	0.00	0.19	1.00**
	後期吸収胚数	0.06	0.07	0.07	0.00	0.06	0.00
	総吸収胚数	0.06	0.20	0.21	0.00	0.25	1.00
	生存胎児を有する腹数	18	15	14	11	16	6
	生存胎児数	11.4	14.9	13.4	13.8	12.4	13.3
	胎児性比(雌の雄に対する%)	101	101	86	103	105	116
	胎児体重(g)	5.56	5.22 [#]	5.30	5.46	5.33	3.48 ^{##}
	胎児頭殿長(mm)	45.1	43.9 [#]	44.4	44.7	44.3	37.4 ^{##}

着床所見は腹毎の平均値

a : 対照群を 100 とした場合の値を示す

** : p<0.01 (Fisher 検定 : 着床痕数、着床前胚損失率、吸収胚数)

[#] : p<0.05、^{##} : p<0.01 (Wilcoxon's test : 胎児体重、胎児頭殿長)

↓ : p<0.01 (Dunnett's test : 体重増加量、摂餌量(いずれも申請者実施))

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

2. 胎児 (外表及び内臓検査)

投与量(mg/kg/day)		0	8	20	50	125	アスピリン 250
外表及び内臓検査							
検査胎児(腹)数		205 (18)	223 (15)	188 (14)	152 (11)	199 (16)	80 (6)
奇形を有する胎児	奇形	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	1 (1) [0.5]	8* (4) [10.0]
頭蓋脊椎破裂	奇形	0	0	0	0	0	6**
外脳症		0	0	0	0	0	7**
二分脊椎		0	0	0	0	0	6**
舌突出		0	0	0	0	0	4**
臍帯ヘルニア		0	0	0	0	0	3*
右後肢の湾足		0	0	0	0	0	1
関節拘縮症		0	0	0	0	0	1
曲尾		0	0	0	0	0	3*
水頭症		0	0	0	0	0	1
側脳室の拡大		0	0	0	0	0	1
右側眼球突出		0	0	0	0	0	1
全4心腔の拡大		0	0	0	0	1	0
心臓位置異常		0	0	0	0	0	1
水腎症		0	0	0	0	0	2
皮下出血(頭部)		変異	0	0	0	0	0
腎盂腔の拡張	0		1	2	0	0	5**
両側尿管拡張	2		3	5	1	4	3
右側尿管拡張	4		4	0	3	3	0
左側尿管拡張	2		2	3	1	5	2
小腎臓	0		0	1	0	0	0

() : 腹数

[] : 奇形胎児出現率 (%)

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者の計算による)

各異常の腹数は報告書に記載がなく不明

3. 胎児 (骨格検査)

投与量(mg/kg/day)		0	8	20	50	125	アスピリン 250
骨格検査							
検査胎児(腹)数		105 (18)	116 (15)	97 (14)	78 (11)	102 (16)	41 (6)
奇形を有する胎児	奇形	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	20** (6) [48.8]
第15肋骨(両側)	奇形	0	0	0	0	0	3*
第15肋骨(片側)		0	0	0	0	0	4**
肋骨の癒合		0	0	0	0	0	2
脊椎終端部における第14肋骨の突起		0	0	0	0	0	1
胸椎の異常		0	0	0	0	0	17**
腰椎の異常		0	0	0	0	0	4**
頭頂間骨の異常	変異	0	0	0	0	0	2
後頭部骨の異常		0	0	0	0	0	10**
胸骨分節左右不对称骨化		0	0	0	0	0	11**
胸骨分節分枝		1	0	0	0	0	4*
胸骨分節の異常		0	0	0	0	0	8**
第7胸骨分節の骨化部位		0	0	0	0	0	1
第14肋骨(両側)		0	0	0	0	0	31**
第14肋骨(片側)		0	1	0	1	0	5**
第14胸椎		0	0	0	0	0	16**
第1~第9胸椎の分枝		0	0	0	0	0	26**
第10~第13胸椎の分枝	8	5	2	4	5	34**	
第14胸椎の分枝	0	0	0	0	0	14**	
腰椎の分枝	0	0	0	0	0	18**	
頭頂間骨不完全化骨/未化骨	骨化遅延	0	0	0	0	0	1
第2胸骨分節未化骨		0	0	0	0	0	1
第4胸骨分節未化骨		0	0	0	0	0	1
第5胸骨分節未化骨		1	0	0	1	0	14**
第6胸骨分節未化骨		0	0	0	0	0	12**
第5又は第6胸骨分節不完全化骨		0	0	0	0	0	11**
胸椎不完全化骨/未化骨		0	0	0	0	0	10**
中手骨不完全化骨/未化骨		0	0	0	1	0	38**
中足骨不完全化骨/未化骨		0	3	0	0	1	39**
前肢指骨不完全化骨/未化骨		28	33	18	19	31	41**
後肢指骨不完全化骨/未化骨	59	78	46	41	66	41**	

() : 腹数

[] : 奇形胎児出現率 (%)

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者の計算による)

各異常の腹数は報告書に記載がなく不明

(3) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No. 毒性 23)

試験実施機関：
報告書作成年：1979年

検体の純度： 報告書に記載なし

供試動物： Dutch Belted 妊娠雌ウサギ、1群当たり 15匹、陽性対照群 10匹
週齢は報告書に記載なし、体重 1.8~2.7kg

授精方法： 雄ウサギから精液を採取し、運動性と濃度を確認後、生理食塩水で希釈し、雌ウサギの膈内に注入した。精液注入後直ちに、絨毛性ゴナドトロピン溶液を耳介静脈から注入した。人工授精日を妊娠 0日とした。

投与期間： 妊娠 6日から 18日の 13日間

投与方法： 検体を 1%メチルセルロースに懸濁し、0、12、30 及び 75mg/kg/day の投与量で、投与期間中毎日 1回 10mL/kg の投与容量で強制経口投与した。陽性対照群には 0.5% Tween 80 を含む 2%メチルセルロースにサリドマイドを懸濁し、200mg/kg/day の投与量で同様に投与した。

用量設定根拠； 0、25 及び 100mg/kg/day の投与量で妊娠 1日から 27日に投与した予備試験(対照群 10匹、投与群各 5匹)では、100mg/kg/day 投与で明らかな母動物毒性を示し、全例に不安定歩行が見られ、うち 3例は立ち上がれなくなり屠殺した。この屠殺 3例はいずれも妊娠していたが胎児は子宮内で死亡していた。25mg/kg/day 群では母動物に毒性は認められなかったが、胎児 15例中 2例に奇形(臍帯ヘルニア、腎臓変位)が認められた。以上の結果を基に、本試験の用量を決定した。

観察・検査項目：

母動物； 全ての動物について妊娠期間中毎日一般症状を観察した。妊娠 0、3、6、9、12、15、18、21、24 及び 28日に体重及び摂餌量を測定した。妊娠 28日に全ての生存母動物を屠殺、剖検し、以下の項目を検査した。

- ・ 黄体数
- ・ 着床痕数
- ・ 早期及び後期吸収胚数
- ・ 生存胎児及び死亡胎児数
- ・ 胎児の性別、体重及び頭殿長

胎児； 全生存胎児について外表検査を行い、屠殺した。各腹約半数の個体は Bouin 液に固定し、内部器官の検査を実施した。残りの半数は内臓を検査後、内臓を取り出しアリザリンレッド S で染色し骨格検査を行った。

結果：概要を表1に示す。

母動物；対照群を含めた各群に母動物の死亡が認められたが、主に肺疾患によるものであり、用量との関連がないことから投与の影響とは考えられなかった。また、12mg/kg/day 群の1例が気管挿管のミスにより妊娠8日に死亡した。

何れの投与群においても投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

体重増加量に検体投与の影響は認められなかった。陽性対照群では、投与期間中及び妊娠期間中の体重増加量が減少した。

75mg/kg/day 群で投与期間中及び妊娠期間中の摂餌量が減少したが、減少の程度は対照群に比べて10%以内であり、また同群では体重への影響が認められていないことから、摂餌量の軽度減少は毒性影響とは考えられなかった。また30mg/kg/day 群では更に摂餌量が減少したが、用量との関連がないことから毒性影響とは考えられなかった。一方、陽性対照群では摂餌量の低下が認められた。

母動物の剖検で投与の影響は認められなかった。

着床所見；黄体数、着床痕数、吸収胚数、生存胎児数、性比、胎児体重及び胎児頭殿長に関して、検体投与の影響は認められなかった。30及び75mg/kg/day 群で着床前胚損失率が有意に減少したが、これは対照群における着床前胚損失率が高値であったためと考えられた。また、12mg/kg/day 群で早期吸収胚数の増加傾向が認められたが、これは胚の早期全吸収が1母動物で認められたためであった。各検体投与群における胎児体重及び胎児頭殿長は対照群に比べ低下し、75mg/kg/day 群の胎児体重については有意差を伴った。しかし、これらの低下は検体投与群における腹あたりの胎児数が対照群に比べ多かったためであり、また背景データの平均(胎児体重30.3g、胎児頭殿長88.5mm)*を上回っていたため、毒性影響とは考えられなかった。

陽性対照群では、早期及び後期吸収胚数が増加し、胎児体重及び胎児頭殿長が有意に低下した。

* 試験施設及び他の施設において1978年までに得られた同系ウサギの背景データ値(総胎児数11910)

胎児；75mg/kg/day 群では2腹の3胎児に奇形が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。また、変異及び骨化状態についても、検体投与群に意義のある変化は見られず、投与の影響は認められなかった。なお、75mg/kg/day 群で第13肋骨(片側)を有する胎児数が有意に増加したが、第13肋骨(両側)の発生頻度も併せて考慮すると、同群における第13肋骨(片側)の増加の毒性学的意義は低いと考えられた。

一方、陽性対照群では、奇形及び変異の増加が認められた。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したとき、母動物及び胎児とも最高用量の75mg/kg/day まで毒性影響が認められなかったため、無毒性量は母動物及び胎児ともに75mg/kg/day と判断される。催奇形性は認められなかった。

表 1 結果の概要

1. 母動物

投与量(mg/kg/day)		0	12	30	75	サトマイト [®] 200
供試雌数		15	15	15	15	10
妊娠雌数 (%)		12 (80)	11 (73)	12 (80)	13 (87)	8 (80)
死亡妊娠雌数		2	3 (1 ^a)	0	3	1
死亡不妊雌数		0	1	0	1	0
一般状態		投与による影響は認められなかった				
体重増加量(kg)	妊娠 0-6 日	0.08	0.09	0.06	0.04	0.02
	妊娠 6-9 日	-0.01	0.01	0.00	0.01	-0.03
	妊娠 9-12 日	0.01	0.02	0.00	0.01	0.02
	妊娠 12-15 日	0.02	0.01	0.03	0.06	-0.01
	妊娠 15-18 日	0.03	0.04	0.01	0.04	-0.01
	妊娠 18-28 日	0.11	0.08	0.10	0.12	0.09
	妊娠 6-18 日	0.05	0.08	0.04	0.12	-0.03
摂餌量 ^b	妊娠 6-18 日	100	106	79	90	75
	妊娠 0-28 日	100	102	82	91	82
着床所見	検査母動物数	10	8	12	10	7
	黄体数	7.40	8.50	7.17	8.20	8.14
	着床痕数	5.70	7.13	6.67	7.90	6.29
	着床前胚損失率(%)	23.0	16.2	7.0*	3.7*	22.8
	早期吸収胚数	0.70	1.38	0.33	0.40	1.57
	後期吸収胚数	0.10	0.13	0.00	0.10	0.29
	総吸収胚数	0.80	1.50	0.33	0.50	1.86
	生存胎児を有する腹数	9	7	12	10	5
	生存胎児数	4.90	5.63	6.33	7.40	4.43
	胎児性比(雌の雄に対する%)	75	80	192	85	121
	胎児体重(g)	37.5	32.6	33.2	33.7 [#]	29.2 ^{##}
	胎児頭殿長(mm)	94.8	91.7	91.6	92.9	83.7 ^{##}

着床所見は腹毎の平均値

a : 事故による死亡雌数

b : 対照群を 100 とした場合の値を示す

* : p<0.05 (Fisher 検定)

[#] : p<0.05、^{##} : p<0.01 (Wilcoxon's test)

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

2. 胎児 (外表及び内臓検査)

投与量(mg/kg/day)		0	12	30	75	サトマイト [®] 200
外表及び内臓検査						
検査胎児(腹)数		49 (9)	45 (7)	76 (12)	74 (10)	31 (5)
奇形を有する胎児	奇形	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	3 (2) [4.1]	20** (5) [64.5]
ドーム頭	奇形	0	0	0	1	2
脳瘤		0	0	0	0	1
外脳症		0	0	0	1	0
扁平な鼻		0	0	0	0	1
単鼻孔		0	0	0	0	1
片側外耳欠損		0	0	0	1	0
臍帯ヘルニア		0	0	0	1	0
無尾		0	0	0	0	1
関節拘縮症(片側前肢)		0	0	0	1	3
関節拘縮症(両側前肢)		0	0	0	1	3
後肢内反足		0	0	0	0	7**
前肢外反足		0	0	0	0	4*
欠指		0	0	0	1	1
無指		0	0	0	1	0
親指位置異常		0	0	0	0	5**
親指欠損		0	0	0	0	3
水頭症		0	0	0	0	1
中脳が背側面で結合せず		0	0	0	1	0
側脳室腫大		0	0	0	1	3
中脳水道腫大		0	0	0	1	1
小眼球症		0	0	0	1	6**
眼の欠損症		0	0	0	0	2
心室中隔欠損及び動脈管遺残		0	0	0	1	0
大動脈絞窄		0	0	0	0	1
異常脈管構造 (胸部における静脈拡張)		0	0	0	1	0
大動脈弓の腕頭及び頸動脈 洞枝の癒合		0	0	0	0	1
巨舌症		0	0	0	1	0
口蓋裂		0	0	0	2	1
直腸絞窄	0	0	0	0	1	
直腸閉鎖	0	0	0	0	2	
片側小腎臓	0	0	0	0	1	
短尾	0	0	0	0	2	
肺葉無発生	変異	0	0	0	2	7**

() : 腹数

[] : 奇形胎児出現率 (%)

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者の計算による)

各異常の腹数は報告書に記載がなく不明

3. 胎児 (骨格検査)

投与量(mg/kg/day)		0	12	30	75	サトマイト [®] 200	
骨格検査							
検査胎児(腹)数		24 (9)	23 (7)	39 (12)	37 (10)	16 (5)	
奇形を有する胎児	奇形	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	1 (1) [2.7]	6** (5) [37.5]	
前頭骨、鼻骨、前上顎骨の異常	奇形	0	0	0	0	1	
第4及び第5胸骨分節の癒合		0	0	0	0	2	
肋骨の癒合		0	0	0	1	1	
肋骨の連結異常		0	0	0	1	1	
隣接した仙椎の癒合		0	0	0	0	1	
尾椎の半椎体		0	0	0	0	1	
尾椎及び胸椎の異常及び半椎体		0	0	0	0	1	
仙椎及び尾椎の癒合及び半椎体		0	0	0	0	1	
腰椎の癒合及び半椎体		0	0	0	1	0	
尾椎の癒合及び半椎体		0	0	0	1	0	
腓骨欠損		0	0	0	0	1	
脛骨湾曲		0	0	0	0	1	
遠位中手骨欠損		0	0	0	0	1	
頭頂間骨亀裂		変異	0	0	0	0	5**
頭頂骨亀裂	0		1	2	1	0	
前頭骨亀裂	0		0	0	1	1	
第5又は第6胸骨分節 不完全化骨/未化骨/異常	2		3	2	0	1	
5胸骨分節のみ	0		0	0	0	1	
第5及び第6胸骨分節間に 骨化部位(7胸骨分節)	0		0	1	3	0	
第1胸骨分節左右不対称骨化	0		1	0	0	0	
第13肋骨(片側)	0		3	4	6*	2	
第13肋骨(両側)	7		4	6	7	2	
肋骨の湾曲	0		0	0	2	0	
第10肋骨から骨突起	0		0	0	1	0	
頭頂骨不完全化骨	骨化 遅延		1	1	6	4	4
第2胸骨分節不完全化骨/未化骨			0	1	0	0	0
中手骨不完全化骨			0	1	0	0	0
指骨不完全化骨		1	3	2	3	4	
指骨未化骨		0	1	0	0	0	

() : 腹数

[] : 奇形胎児出現率 (%)

* : p<0.05、** : p<0.01 (Fisher 検定、申請者の計算による)

各異常の腹数は報告書に記載がなく不明

8. 変異原性

(1) 細菌を用いた復帰突然変異試験-1

(資料 No. 毒性 24)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2005年

検体の純度：97.1%

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA 1535、TA 1537、TA 98 及び TA 100 株、並びにトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 uvrA/pKM101 株を用いて、薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。
試験はプレインキュベーション法(プレインキュベーション 37℃、20 分間)により 2 回実施した。検体は DMSO に溶解し、1 回目試験は 19.5、78.1、313、1250 及び 5000µg/plate の用量で、2 回目試験は 313、625、1250、2500 及び 5000µg/plate の用量で試験した。
陽性対照物質として、S9 Mix 非存在下では 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(NaN₃)及び 9-アミノアクリジン (9AA)を、S9 Mix 存在下では 2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。
各試験とも 1 濃度あたり 3 プレートで実施した。

用量設定根拠；19.5、78.1、313、1250 及び 5000µg/plate の用量で行った 1 回目の試験において、5000µg/plate でも生育阻害及び析出は認められなかったため、2 回目試験は 313、625、1250、2500 及び 5000µg/plate の用量とした。

試験結果：結果を次表に示した。
供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に係わらず、検体による復帰変異コロニー数の増加は観察されなかった。
一方、陽性対照物質では、何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

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

表 試験結果

	薬物	濃度 (µg/plate)	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
				塩基置換型			フレームシフト型		
				TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	
1 回目 試験	対照 (DMSO)		-	102	8	64	21	8	
	検体	19.5		108	8	79	18	6	
		78.1		106	8	66	20	6	
		313		104	8	69	19	7	
		1250		108	7	73	20	6	
		5000		106	7	72	20	6	
	AF-2	0.01		578		1185			
		0.1					344		
	NaN ₃	0.5			224				
	9AA	80						444	
	対照 (DMSO)			+	105	11	102	21	6
	検体	19.5			104	8	109	16	7
		78.1			104	6	115	19	7
		313			107	10	106	19	9
		1250			106	8	109	22	8
		5000			103	7	107	20	6
	2AA	0.5						143	
		1			537				
2			132		389		118		
2 回目 試験	対照 (DMSO)		-		109	8	77	27	9
	検体	313			110	8	76	30	7
		625			110	8	61	29	8
		1250			102	8	76	32	7
		2500			98	9	74	31	6
		5000			98	8	65	24	6
	AF-2	0.01			487		1541		
		0.1						416	
	NaN ₃	0.5				272			
	9AA	80						426	
	対照 (DMSO)			+	105	11	105	34	7
	検体	313			85	10	98	35	8
		625			116	10	84	31	8
		1250			102	7	88	28	8
		2500			104	9	99	35	7
		5000			108	8	91	33	7
	2AA	0.5						175	
		1			608				
2			125		324		113		

数値は3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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9AA : 9-アミノアクリジン

2AA : 2-アミノアントラセン

空欄は試験せず

(2) 細菌を用いた復帰突然変異試験-2

(資料 No. 毒性 25)

試験実施機関：
報告書作成年：1981年

検体の純度： 95%

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA 1535、TA 1537、TA 1538、TA 98 及び TA 100 株、並びにトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *hcr* 株を用いて、薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。
検体を DMSO に溶解し、10、50、100、500、1000 及び 5000 μ g/plate の用量で試験した。
陽性対照物質として、S9 Mix 非存在下では 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(ENNG)、9-アミノアクリジン(9AA)及び 2-ニトロフルオレン(NF)を、S9 Mix 存在下では 2-アミノアントラセン(2AA)を用いた。
試験は 1 濃度あたり 2 プレートで 1 回実施した。

試験結果： 結果を次表に示した。
供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に係わらず、検体による復帰変異コロニー数の増加は観察されなかった。
一方、陽性対照物質では、何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

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

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

表 試験結果

薬物	濃度 (µg/plate)	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2 <i>hcr</i>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)			19	4	95	13	20	33	
			15	6	116	10	13	42	
検体	10	-	10	9	110	15	21	55	
			13	0	108	14	17	60	
	50		16	2	143	11	25	52	
			10	8	106	11	11	59	
	100		21	7	105	11	19	40	
			13	10	112	12	12	25	
	500		17	5	102	8	14	42	
			9	7	107	6	15	46	
	1000		15	7	85	7	17	41	
			11	3	94	9	17	27	
	5000		14	1	73	5	12	22	
			10	3	78	5	6	16	
	AF-2		0.01			608 540			
			0.04	423 451					
0.1						425 392			
ENNG	10		>2000 >2000						
9AA	80				>2000				
NF	2					442 324			
対照 (DMSO)			15	9	106	13	38	36	
			14	6	99	14	36	26	
検体	10	+	12	5	93	11	35	34	
			13	5	108	7	23	35	
	50		17	9	93	4	37	38	
			25	2	101	7	25	28	
	100		13	4	93	9	32	35	
			14	7	92	7	26	34	
	500		25	10	107	3	29	39	
			13	7	113	6	27	39	
	1000		21	11	75	8	32	31	
			17	4	98	6	26	35	
	5000		11	2	85	3	29	21	
			6	2	79	3	18	26	
	2AA		0.5			500 506		230 192	270 273
			2		196 204		129 173		
40		365 376							

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

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン

NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

空欄は試験せず

(3) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No. 毒性 26)

試験実施機関：
報告書作成年：1981 年

検体の純度： 95%

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)及び欠損株(M-45)を用い、非代謝活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。
検体を DMSO に溶解し、20、50、100、200、500、1000、2000 及び 5000 μ g/disk の用量で試験した。
陰性対照物質としてカナマイシンを、陽性対照物質としてマイトマイシン C をそれぞれ用いた。

試験結果： 結果を次表に示した。
検体は最高用量 5000 μ g/disk において、陰性対照として用いたカナマイシンと同様に、両株に同程度の生育阻止を示した。
一方、陽性対照のマイトマイシン C では両株の間に明らかな生育阻止の差が見られた。

表 試験結果

薬物	濃度 (μ g/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照 (DMSO)		0	0	0
検体	20	0	0	0
	50	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	<1	0	<1
	5000	3	2.5	0.5
陰性対照 カナマイシン	10	8.5	7.5	1
陽性対照 マイトマイシン C	0.1	10	2	8

以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷の誘発性は有しないと判断される。

(4) チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. 毒性 27)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：1988年

検体の純度： 96.83%

試験方法： チャイニーズハムスターの継代した卵巣細胞を用いた。
試験前に用量設定のために実施した細胞毒性並びに細胞周期の遅延についての試験から、本試験の濃度は非活性化法で 75.1~1000 μ g/mL、活性化法で 1000~3000 μ g/mL とした。
陽性対照物質として非活性化法でマイトマイシン C(MMC)、活性化法ではシクロホスファミド(CP)を用いた。
検体処理群では非活性化法、活性化法の各 4 濃度についてそれぞれ 100 個($\times 2$ 培養)、溶媒及び陰性対照では各 100 個、陽性対照では少なくとも 25 個の分裂中期像についてそれぞれ染色体異常の観察を行った。

試験結果： 結果を次表に示した。
非活性化法では、751 μ g/mL 群で異常を持つ細胞の割合が有意に増加した。しかし、観察された異常の大部分は陰性(溶媒)対照群でも通常みられるタイプのものであり、用量との関連も認められなかったことから、この 751 μ g/mL 群における異常の増加は検体によるものとは考えられなかった。
一方、活性化法では全試験濃度で試験開始時に沈殿が見られ、2000 μ g/mL 以上では試験終了時にも沈殿が認められた。また 2000 μ g/mL 以上では細胞毒性が認められ、異常を持つ細胞の割合の有意な増加が認められた。しかし、細胞毒性を示さない最高濃度である 1500 μ g/mL 群では、染色体異常の増加は認められなかった。
陽性対照のマイトマイシン C およびシクロホスファミドは明白な染色体異常を誘発した。

以上の結果より、検体は本試験条件下において、代謝活性系非存在下では染色体異常誘発性を誘発しないが、代謝活性系存在下では細胞毒性を示す濃度で染色体異常誘発性を示す(偽陽性)ものと判断される。

表 染色体異常試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S9 mix	観察 細胞 数	異常の分類													細胞 当たり 異常数	異常を 持つ 細胞%	複数の異 常を持つ 細胞%		
				TG	SG	UC	TB	SB	DM	ID	TR	QR	CR	D	R	CI				GT	
陰性対照			100	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.01	1.0	0.0
溶媒対照			100	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.01	1.0	0.0
検体	250	-	200	8	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0.03	2.5	0.0	
	501		200	10	2	0	1	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.02	2.0	0.0	
	751		200	22	0	0	2	9	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0.08	7.0**	0.5	
	1000		200	18	2	0	4	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.05	3.0	0.5	
MMC	0.08		25	9	5	0	5	4	0	0	1	2	0	0	0	1	0	0.52	28.0**	20.0**	
陰性対照			100	1	0	0	0	8	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.09	2.0	1.0	
溶媒対照			100	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.0	0.0	
検体	1500	+	200	4	1	0	0	4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0.04	2.5	0.5	
	2000		200	43	4	0	68	79	0	3	22	46	3	0	2	16	0	1.20	47.0**	33.5**	
	2500		150	58	8	0	55	119	0	5	17	27	7	0	0	11	0	1.61	65.3**	41.3**	
	3000		100	15	7	0	38	57	0	1	3	0	0	0	0	1	0	1.00	59.0**	28.0**	
CP	17.5		25	5	3	0	1	5	0	0	1	5	0	0	0	0	0	0.48	36.0**	12.0**	

** : $p < 0.01$ (Fisher 検定)

MMC : マイトマイシン C

CP : シクロホスファミド

TG : 染色分体ギャップ

SG : 染色体ギャップ

UC : 非螺旋染色体

TB : 染色分体切断

SB : 染色体切断

DM : 二重微小断片

ID : 中間部欠失

TR : 三放射線型

QR : 四放射線型

CR : 複合型

D : 二動原体

R : 環

CI : 染色体内交換

GT : 10 個以上の異常をもつ

TG、SG、UC については異常数の計算に入れなかった。

(5) マウスにおける小核試験

(資料 No. 毒性 28)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：1991年

検体の純度：97%

供試動物：ICR系マウス、観察時間毎に1群雌雄各5匹
週齢は報告書に記載なし
試験開始時体重 雄29.0～40.9g、雌21.7～29.1g

試験方法：検体をコーンオイルに懸濁し、125、250及び500mg/kgの用量でマウスに強制経口投与した。陽性対照として、シクロホスファミドを滅菌水に溶解し、80mg/kgの用量で同様に投与した。陰性対照にはコーンオイルを同様に投与した。投与容量はいずれの場合も10mL/kg体重とした。
投与24、48及び72時間後(各対照群は24時間後のみ)に各群雌雄5匹ずつ屠殺し、各動物の大腿骨から骨髓を採取してSchmidの方法を用いて検査用の塗抹標本を作製した。標本を染色後、光学顕微鏡を用いて評価した。各動物につき1000個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球(MNPCE)を計測した。更に1000個の赤血球を観察し、正染性赤血球(NCE)に対する多染性赤血球(PCE)の比率を計測した。

用量設定根拠：検体をコーンオイルに懸濁し、100、250、400、600及び800mg/kgの用量でマウス雌雄各3匹に単回強制経口投与したところ、800mg/kg投与で雌雄の全例が死亡し、600mg/kg投与で雌1例が死亡した。雌雄合わせたLD₅₀値は622mg/kgであった。以上の結果に基づき、本試験の用量として125、250及び500mg/kgを選択した。

試験結果：結果を次表に示した。

1. 一般症状

投与約24時間後に250mg/kg群の雌1例が死亡し、500mg/kg群の雌5例が呼吸困難を伴う腹臥を示した。投与約48時間後には、500mg/kg群の雌1例に腹臥及び雌2例に粗毛が認められた。その他の動物では異常は認められなかった。

2. 染色体異常誘発性

骨髓標本の観察結果を次表に示した。

検体は、小核を有する多染性赤血球数を増加させなかった。

一方で、陽性対照のシクロホスファミドは、小核を有する多染性赤血球数を陰性対照群に比べ統計学的に有意に増加させた。

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

表 試験結果

試験群	用量 (mg/kg)	投与後 時間	観察 動物数	MNPCE% (%)			PCE/NCE	
				雄	雌	平均	雄	雌
陰性対照(コーンオイル)		24	雄 5, 雌 5	0.10	0.06	0.08	0.28	0.33
検体	125	24	雄 5, 雌 5	0.08	0.08	0.08	0.37	0.43
		48	雄 5, 雌 5	0.14	0.10	0.12	0.39	0.93
		72	雄 5, 雌 5	0.10	0.10	0.10	0.53	0.79
	250	24	雄 5, 雌 5	0.08	0.10	0.09	0.21	0.34
		48	雄 5, 雌 4	0.08	0.15	0.11	0.44	0.82
		72	雄 5, 雌 5	0.16	0.10	0.13	0.66	0.91
	500	24	雄 5, 雌 5	0.08	0.14	0.11	0.29	0.64
		48	雄 5, 雌 5	0.18	0.14	0.16	0.45	0.43
		72	雄 5, 雌 5	0.10	0.18	0.14	0.45	0.96
陽性対照 (CP)	80	24	雄 5, 雌 5	1.68*	1.36*	1.52*	0.57	0.62

MNPCE% : 多染性赤血球のうち小核を有する多染性赤血球の割合(%)

PCE/NCE : 多染性赤血球数 / 正染性赤血球数

CP : シクロホスファミド

* : p<0.05 (Tukey HSD 法)

以上の結果より、本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

(6) ラットを用いた優性致死試験

(資料 No. 毒性 29)

試験実施機関：
報告書作成年：1979年

検体の純度：報告書に記載なし

供試動物： Sprague Dawley COBS CD系ラット、1群雄10匹、雌160匹
週齢は報告書に記載なし
試験開始時体重 雄225～350g、交配時体重 雌200～275g

試験方法： 検体及び陽性対照物質 triethylenemelamine (TEM)を0.25%メチルセルロース(MC)に懸濁し、表1に示す用量で1日1回雄ラットに連続5日間強制経口投与した。投与期間終了後、連続して8週間、各雄を1週間ずつ異なる無投与の処女雌と1:2で同居交配させた。各交配期間について、中間日を受胎日として起算してその14日後に雌を帝王切開して検査した。以下の繁殖性に関する指標を算出した。

$$\begin{aligned} \text{妊娠率} &= \text{妊娠雌数} / \text{交配に用いた雌数} \\ \text{着床前損失数} &= \text{黄体数} - \text{着床数} \end{aligned}$$

表1 試験群及び投与量

試験群	投与物質	投与量(mg/kg)	投与用量(mL/kg)
陰性対照群	MC	—	20
10mg/kg群	検体	10	10
25mg/kg群		25	10
50mg/kg群		50	10
陽性対照群	TEM	0.8	2.5

用量設定根拠；50、100及び250mg/kgの用量で5日間強制経口投与した予備試験において、250mg/kg群では死亡が見られ、100mg/kg群では体重の減少が認められた。以上の結果から、本試験の最高用量を50mg/kgとし、その1/2及び1/5の用量を設定した。

試験結果： 結果を表2に示した。

試験期間中、死亡は認められず、体重への影響も認められなかった。

各検体投与群及び陽性対照群で、陰性対照群に比べ黄体数の有意な増減が散見されたが、生物学的な変動によるものと考えられた。

各検体投与群とも、各交配時の着床前胚損失数及び死胚数は陰性対照群と同等であり、検体は優性致死を示さなかった。

一方、陽性対照群では、4回目までの交配において死胚数が有意に増加し、優性致死を示した。

以上の結果より、検体は本試験条件下においてラットに対して優性致死作用を有さないものと判断される。

表 2 試験結果

試験群	観察項目	交配実施期間 (投与終了後期間)							
		第1週	第2週	第3週	第4週	第5週	第6週	第7週	第8週
陰性 対照群	妊娠率(%)	80	85	100	95	85	95	90	95
	黄体数	15.44	15.12	14.65	15.63	15.47	16.32	14.39	15.42
	着床数	13.81	13.53	13.50	14.21	13.53	13.53	12.67	14.37
	着床前胚損失数	1.63	1.59	1.15	1.42	1.94	2.79	1.72	1.05
	死胚数	1.00	1.65	0.55	0.89	1.12	1.11	0.78	1.00
10mg/kg 群	妊娠率(%)	90	95	80	85	90	100	90	100
	黄体数	16.00	15.74	15.50	14.29**	14.72	15.65	14.83	15.30
	着床数	14.28	14.53	15.19	13.47	13.72	14.25	14.22	13.85
	着床前胚損失数	1.72	1.21	0.31	0.82	1.00	1.40	0.61	1.45
	死胚数	1.17	2.16	1.75	1.18	0.67	1.00	0.56	1.30
25mg/kg 群	妊娠率(%)	95	100	70	90	95	85	90	95
	黄体数	17.16*	15.85	14.93	15.22	15.53	15.06	15.72	15.89
	着床数	15.32	13.45	14.07	13.89	13.84	13.82	13.72	14.47
	着床前胚損失数	1.84	2.40	0.86	1.33	1.68	1.24	2.00	1.42
	死胚数	2.32	0.85	0.86	1.11	0.89	0.59	0.83	0.32
50mg/kg 群	妊娠率(%)	90	90	95	95	95	95	90	95
	黄体数	15.61	15.28	16.05*	13.89**	14.79	16.63	15.50	15.37
	着床数	14.67	14.11	14.58	12.21	13.53	13.74	14.11	14.00
	着床前胚損失数	0.94	1.17	1.47	1.68	1.26	2.89	1.39	1.37
	死胚数	1.56	1.83	2.00	0.95	1.58	0.95	0.50	1.26
陽性 対照群	妊娠率(%)	90	90	95	90	90	100	80	90
	黄体数	17.83**	16.61	14.63	16.61	16.56	16.90	14.56	15.67
	着床数	14.44	15.11	13.11	14.83	13.17	14.80	13.13	14.11
	着床前胚損失数	3.39	1.50	1.53	1.78	3.39	2.10	1.44	1.56
	死胚数	2.06*	3.50*	4.58**	4.67**	1.44	1.75	0.88	1.17

黄体数、着床数、着床前胚損失数及び死胚数は腹毎の平均値

* : p<0.05、** : p<0.01 (Student t test)

9. 生体機能への影響

(1) 薬理試験

(資料 No. 毒性 30)

試験実施機関：
報告書作成年：1987年

検体純度： 91.7%

投与方法： 検体は0.5%カルボキシメチルセルロース生理食塩溶液に懸濁して投与した。投与容量は、マウス及びラットの経口投与では10mL/kg、ウサギ静脈内投与では0.5mL/kgとした。

① 中枢神経系に対する作用

1) マウスの自発行動に対する作用

供試動物： ICR系マウス 1群雄10匹、体重29.0～31.0g

試験方法： 検体を経口投与(0、30、100、300mg/kg)し、投与5、15、30分後、1、3、6及び24時間後にIrwinの多元観察法に準じて行動を観察した。

結果： 100mg/kg群では、投与15分後から半数に異常歩行、触反応の亢進が、2例にうずくまり及び自発運動の抑制が見られたが、いずれも6時間後には回復した。300mg/kg群では、全例に投与15分後からうずくまり、自発運動抑制、異常歩行及び正向反射の消失、2例に触反応の亢進、4例に腹筋緊張度の亢進がそれぞれ観察されたが、いずれも24時間後には回復した。対照群及び30mg/kg群では異常は認められなかった。

2) マウスの自発運動量に対する作用

供試動物： ICR系マウス 1群雄10匹、体重26.6～29.5g

試験方法： 検体を経口投与(0、30、100、300mg/kg)し、自発運動量への影響をIrwinの回転カゴ法で観察した。運動量は投与直後から10分間隔で200分後まで回転数を測定し、対照群と比較した。

結果： 図1に10分あたりの回転数の推移を示す。
100mg/kg以上の群における回転数は、いずれの観察期間においても対照群より低値を示し、300mg/kg群では投与30分後以降、100mg/kg群では投与60分後以降有意差を伴った(Student t検定又はAspin-Welchの近似値計算、 $p < 0.05$ 又は $p < 0.01$)。30mg/kg群では対照群との間に有意な変化は認められなかった。

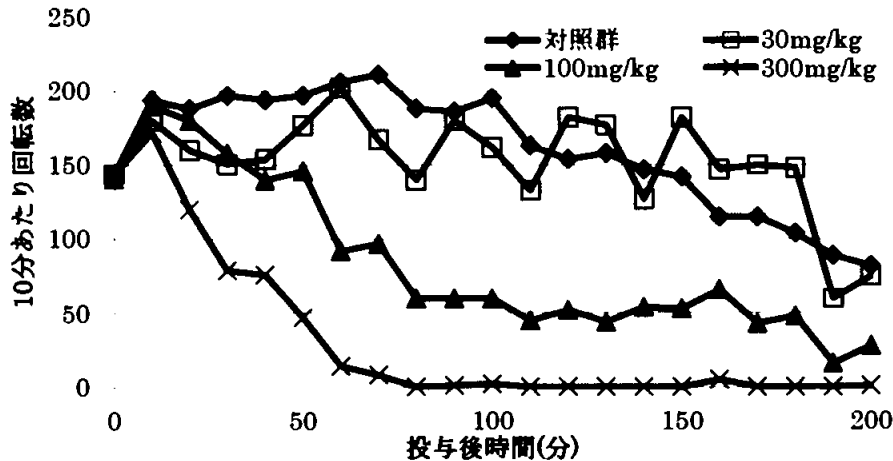


図1 投与後の回転数の推移

② 呼吸、循環器系に対する作用

1) ウサギの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ 1群雄5匹、体重3.35~3.55kg

試験方法：麻酔下において、検体を静注(0、1、5、25mg/kg)し、呼吸数、呼吸振幅、血圧、心拍数及び心電図について投与30分後まで(25mg/kg群は投与1時間後まで)観察した。

結果：5mg/kg以上の群で、呼吸数増加、呼吸振幅減少、一過性の血圧下降、一過性の心拍数減少、心電図上に徐脈に伴うR-R間隔の延長が認められた。1mg/kg群では対照群と同等であった。

③ 自律神経系に対する作用

1) モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物：Hartley系モルモット 1群雄6匹、体重365~420g

試験方法：18時間絶食させたモルモットの回腸を摘出し、マグヌス法を用いて、検体 1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 1×10^{-4} 及び 3×10^{-4} g/mLの単独作用と、アセチルコリン(3×10^{-9} 、 1×10^{-8} 、 3×10^{-8} 、 1×10^{-7} 、 3×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 1×10^{-4} M)又はヒスタミン(3×10^{-9} 、 1×10^{-8} 、 3×10^{-8} 、 1×10^{-7} 、 3×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 3×10^{-5} M)との累積処理による収縮反応への影響を検体 1×10^{-5} 及び 1×10^{-4} g/mLで試験した。

結果：検体の単独処理では、収縮反応に影響は認められなかった。また、アセチルコリンの用量反応曲線に対して、検体は影響を示さなかった。一方、ヒスタミンの用量反応曲線に対しては、検体の 1×10^{-4} g/mL処理でヒスタミンによる収縮を抑制し、ヒスタミン 3×10^{-5} Mによる最大収縮に対する抑制率は4.7%であった。

2) ラットの摘出子宮に対する作用

供試動物： Wistar 系ラット 1 群雌 5~6 匹、体重 265~295g

試験方法： 発情間期を確認したラットの子宮を摘出し、マグヌス法を用いて、検体 1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 1×10^{-4} 及び 3×10^{-4} g/mL の単独作用と、アセチルコリン (3×10^{-8} 、 1×10^{-7} 、 3×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 3×10^{-4} M) 又はオキシトシン (1×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 3×10^{-4} 、 1×10^{-3} 、 3×10^{-3} 、 1×10^{-2} 、 3×10^{-2} U/mL) との累積処理による収縮反応への影響を検体 1×10^{-5} 及び 1×10^{-4} g/mL で試験した。

結果： 検体の単独処理では、収縮反応に影響は認められなかった。また、アセチルコリンの用量反応曲線に対して、検体は影響を示さなかった。一方、オキシトシンの用量反応曲線に対しては、検体の 1×10^{-4} g/mL 処理でオキシトシンによる収縮を抑制し、オキシトシン 3×10^{-2} U/mL による最大収縮に対する抑制率は 12.1% であった。

④ 末梢神経系に対する作用

1) ラットの横隔膜神経筋に対する作用

供試動物： Wistar 系ラット 1 群雄 3 又は 5 匹、体重 280~360g

試験方法： Bulbring 及び久我の方法に準じて横隔膜神経筋標本を作製し、矩形波刺激を横隔膜神経に連続的に与え、筋収縮を記録した。検体 1×10^{-4} g/mL の単独作用 (5 例) と、d-ツボクラリン (3×10^{-6} g/mL) 又はフィゾスチグミン (3×10^{-6} g/mL) の反応に対する検体 1×10^{-4} g/mL の作用 (各 3 例) を試験した。

結果： 検体の単独処理では、神経刺激による筋収縮に影響を及ぼさなかった。また、d-ツボクラリン及びフィゾスチグミンによる反応に対して、検体 1×10^{-4} g/mL は影響を及ぼさなかった。

⑤ 消化管機能に対する作用

1) マウスの炭末輸送能に対する作用

供試動物： ICR 系マウス 1 群雄 10 匹、体重 25.8~27.8g

試験方法： 18 時間絶食させたマウスに、検体を経口投与 (0、30、100、300 mg/kg) し、投与 30 分後に 10% 炭末液 (10% アラビアゴム溶液に懸濁) を 10 mL/kg の割合で経口投与した。炭末投与 20 分間後に屠殺し、幽門より炭末先進部までの長さ、小腸の長さを測定して移行率を測定した。

結果： マウス小腸の炭末輸送能に対する検体の作用は認められなかった。

表 1 炭末の移行率

投与量 (mg/kg)	炭末の移行率 (%)
0	48.9
30	42.9
100	45.4
300	50.4

⑥ 血液系に対する作用

1) ラットの血液凝固に対する作用

供試動物： Wistar 系ラット 1 群雄 10 匹、体重 139～166g

試験方法： 検体を経口投与(0、150、300、600mg/kg)し、投与 30 分後に頸静脈より採血した。クエン酸加血漿を作製して、プロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結果： ラットの血液凝固に対する検体の作用は認められなかった。

表 2 PT 及び APTT

投与量 (mg/kg)	PT (秒)	APTT (秒)
0	10.8	31.1
150	11.1	29.8
300	11.1	29.8
600	11.1	29.3

2) ウサギの溶血試験

供試動物： 日本白色種ウサギ 1 群雄 6 匹、体重 3.38～3.48kg

試験方法： ウサギから採取した血液から、2.5%赤血球生食浮遊液を調製した。検体 1×10^{-5} 及び 1×10^{-4} g/mL 溶液を 2mL ずつ試験管にとり、同量の赤血球生食浮遊液を加えて混和し、30 分間保温後、溶血の有無を観察した。陽性対照としてサポニンを用いた。

結果： 検体の溶血作用は認められなかった。サポニン 1×10^{-4} g/mL では完全溶血を示した。

以上の結果から、検体はマウスに 100mg/kg 以上の経口投与で中枢神経系に対する作用を示し、ウサギに 5mg/kg 以上の静注で呼吸循環器系に対する作用を示した。また、モルモットの摘出回腸及びラットの摘出子宮に対するヒスタミン及びオキシトシンによる収縮作用に対して、検体は 1×10^{-4} g/mL で抑制作用を示した。末梢神経系、消化管機能、血液系に対する作用は認められなかった。

表 生体機能への影響に関する試験の総括表

試験項目	動物種	1群 当り 動物数	投与 方法 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢 神経 系	自発行動	マウス	♂10	経口 (CMC)	0、30、100、300	100	30	<ul style="list-style-type: none"> ・異常歩行 ・触反応の亢進 ・うずくまり ・自発運動抑制
	自発運動量	マウス	♂10					
呼吸 循環 器系	呼吸 呼吸振幅 血圧 心拍数 心電図	ウサギ	♂5	静注 (CMC)	0、1、5、25	5	1	<ul style="list-style-type: none"> ・呼吸数増加 ・呼吸振幅減少 ・血圧下降 ・心拍数減少 ・心電図 R-R 延長
自律 神経 系	摘出回腸	モルモット	♂6	<i>in vitro</i>	1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 3×10^{-4} g/mL	1×10^{-4} g/mL	1×10^{-5} g/mL	<ul style="list-style-type: none"> ・単独処理は作用なし ・アセチルコリンによる収縮に対して作用なし ・ヒスタミンによる収縮を抑制
	摘出子宮	ラット	♀5~6	<i>in vitro</i>	1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 3×10^{-4} g/mL	1×10^{-4} g/mL	1×10^{-5} g/mL	<ul style="list-style-type: none"> ・単独処理は作用なし ・アセチルコリンによる収縮に対して作用なし ・オキシトシンによる収縮を抑制
末梢 神経 系	横隔膜 神経筋	ラット	♂3 又は5	<i>in vitro</i>	1×10^{-4} g/mL	—	1×10^{-4} g/mL	・作用なし
消化 管	炭末輸送能	マウス	♂10	経口 (CMC)	0、30、100、300	—	300	・作用なし
血液 系	血液凝固	ラット	♂10	経口 (CMC)	0、150、300、600	—	600	・作用なし
	溶血試験	ウサギ	♂6	<i>in vitro</i>	1×10^{-5} 、 1×10^{-4} g/mL	—	1×10^{-4} g/mL	・作用なし

CMC : 0.5%カルボキシメチルセルロース生理食塩溶液

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

B. を用いた試験成績

(1)

(資料 No. 毒性 P1)

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

(2)

(資料 No. 毒性 P2)

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

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

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

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

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

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

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

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

C. 製剤を用いた試験成績

1. 急性毒性

(1) ストッポール液剤のラットを用いた急性経口毒性試験 (資料 No. 毒性製剤 1)

試験実施機関：
[GLP]
報告書作成年：1991年

検体組成： ジクロロプロップ 4.5%液剤

供試動物： Crj:CD(SD)系ラット 1群雌雄各5匹
投与時 5~6週齢、体重 雄 134~139g、雌 108~118g

観察期間： 14日間

投与方法： 検体をそのまま、投与容量 5mL/kg で単回強制経口投与した。動物は投与前 18時間絶食させた。

観察・検査項目： 一般状態及び生死を 14日間観察した。投与直前、及び投与 1、2、3、7及び 14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雄 投与後 15分から発現、投与後 3時間に消失 雌 投与後 15分から発現、投与後 1時間に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

5000mg/kg 投与群で、よろめき歩行が投与後 15分~投与後 1時間まで認められたが投与後 3時間には回復した。

体重及び剖検では、検体投与に起因すると考えられる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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) ストッポール液剤のマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 No. 毒性製剤 2)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：1991年

検体組成： ジクロロプロップ 4.5%液剤

供試動物： Crj:CD-1(ICR)系マウス 1群雌雄各5匹
投与時 5~6週齢、体重 雄 24.1~25.5 g、雌 20.2~21.8 g

観察期間： 14日間

投与方法： 検体をそのまま、投与容量 5mL/kg で単回強制経口投与した。動物は投与前 18時間絶食させた。

観察・検査項目： 一般状態及び生死を 14日間観察した。投与直前、及び投与 1、2、3、7及び 14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	毒性症状は認められず
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

一般状態、体重及び剖検に、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

(3) ストッポール液剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No. 毒性製剤 3)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：1991年

検体組成： ジクロロプロップ 4.5%液剤

供試動物： Crj:CD(SD)系ラット 1群雌雄各5匹
投与時 7~8週齢、体重 雄 281~298 g、雌 182~196 g

観察期間： 14日間

投与方法： 検体をそのままリント布(4×5cm)に塗布し、刈毛した動物の背部に24時間閉塞貼付した後、塗布部分の検体を水で除去した。

観察・検査項目： 一般状態及び生死を14日間観察した。投与直前、及び投与1、2、3、7及び14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	毒性症状は認められず
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

一般状態、体重及び剖検に、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

2. 皮膚及び眼に対する刺激性

(1) ストッポール液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 毒性製剤 4)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：1988年

検体組成： ジクロロプロップ 4.5%液剤

供試動物： New Zealand 白色種ウサギ 1群雌雄各3匹
週齢及び体重は報告書に記載なし

観察期間： 7日間

投与方法： 検体 0.5 mL を刈毛したウサギ背部の皮膚に適用し、投与部位全体をガーゼで覆い、4時間貼付した。暴露終了後、皮膚に残った検体を水で除去した。

観察項目： 暴露終了直後(暴露終了後 30~60 分)、24 時間、48 時間、72 時間及び 98 時間後、並びに 7 日後に適用部位の刺激性変化 (紅斑・痂皮、浮腫)の有無を観察し、Draize の評価基準に従って評価した。

結 果：

動物	項目	最高 評点	暴露後時間					
			直後	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	7 日
雄 1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
雄 2	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
雄 3	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
雌 4	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
雌 5	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
雌 6	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	6	1	1	1	1	0
	浮腫	24	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1	0.17	0.17	0.17	0.17	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0

暴露直後に軽度の紅斑が全例に見られた。うち 5 例は 24 時間後までに消失し、残り 1 例は 7 日後までに消失した。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して軽度刺激性を有すると判断された。

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

(2) ストッポール液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. 毒性製剤 5)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：1988年

検体組成：ジクロロプロップ 4.5%液剤

供試動物：New Zealand 白色種ウサギ 1群雌6匹
週齢及び体重は報告書に記載なし

観察期間：72時間

投与方法：検体 0.1 mL を左眼に適用し、約 1 秒間、上下の眼瞼を合わせ検体の流出を防いだ。
右眼は対照として扱った。

観察項目：適用後 1 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize の評価基準に従って採点した。

結 果：

項 目	最高 評点	適用後時間					
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間		
動物番号 1	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	1	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
動物番号 2	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	1	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
動物番号 3	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	1	0	0
動物番号 4	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
動物番号 5	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
動物番号 6	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
合 計		660	16	8	2	0	
平 均		110	2.7	1.3	0.3	0	

全動物に、過度の瞬目及び目を擦る動作が見られた。また、投与時に発声は1例に認められた。結膜発赤が投与後1時間に全例で認められ、うち1例は投与後48時間まで持続した。結膜の分泌物も3例に認められたが、いずれも投与48時間後までに消失した。角膜及び虹彩の刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対して軽度刺激性を有すると判断された。

3. 皮膚感作性

(1) ストッポール液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 毒性製剤 6)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：1988年

検体組成：ジクロロプロップ 4.5%液剤

供試動物：Hartley 系モルモット

1群雌雄各5匹(投与群及び陰性対照群)、雌雄各2匹(陽性対照群)

週齢は報告書に記載なし、投与開始時体重 雄 330~404g、雌 314~362g

観察期間：約4週間

試験方法：[Buchler 法]

投与量設定根拠；

検体を80%エタノールで25、50、75及び100%(検体原液)に希釈し、雌雄各2匹に投与して予備試験を行った。その結果、検体原液でも雌雄各1匹ずつに軽度の刺激性が認められたのみであったことから、感作及び惹起とも100%検体を選択した。

感作；検体原液0.5 mLを、刈毛した背部左上部に6時間閉塞貼付した。初回感作後7及び14日にも同様に処理した。陽性対照群には、2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)を0.15%の濃度で80%エタノールに溶解し、同様に処理した。

惹起；最終感作後14日に、検体原液0.5 mLを、刈毛した背部左下部に6時間閉塞貼付した。陽性対照群には、DNCBを0.10%の濃度でアセトンに溶解し、同様に処理した。

観察項目：一般状態を毎日観察した。惹起24及び48時間後に適用部位の皮膚反応を肉眼的に観察し、Draize法に従って評点した。

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

結果： 各観察時間において感作反応が認められた動物数を下表に示す。

群			供試 動物数	評価 項目	感作反応動物数						陽性率 (%)	
					24 時間後			48 時間後			24 時間	48 時間
感作	惹起				皮膚反応評点							
			0	1	2	0	1	2				
検体	検体原液	検体原液	10	紅斑	9	1	0	10	0	0	0	0
				浮腫	10	0	0	10	0	0		
陰性 対照	—	検体原液	10	紅斑	9	1	0	10	0	0	0	0
				浮腫	10	0	0	10	0	0		
陽性 対照	0.15% DNCB	0.10% DNCB	4	紅斑	0	0	4	0	1	3	100	75
				浮腫	1	3	0	4	0	0		

皮膚反応評点 2 以上を陽性反応とした

DNCB : 2,4-ジニトロクロロベンゼン

検体処理群及び陰性対照群において、惹起 24 時間後に軽度の紅斑が各 1 例に認められた。陽性対照群では、惹起 24 及び 48 時間後に明らかな紅斑が認められた。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

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

D. 参考資料

(1)

(資料 No. 毒性参考 1)

試験実施機関：

報告書作成年：1981年

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

(2)

(資料 No. 毒性参考 2)

試験実施機関：

報告書作成年：1981年

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

(3)

(資料 No. 毒性参考 3)

試験実施機関：

報告書作成年：1986年

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

IX. 動植物及び土壌等における代謝・動態

<代謝・動態試験一覧表>

資料番号	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代謝-1	動物代謝	ラット 1群雌雄 各3~14匹 1群雄3匹 (胆汁排泄試験)	¹⁴ C 標識 単回経口投与試験 ・投与量: 117 mg b.w./kg ・排泄及び代謝 ・血漿中動態を 含む臓器/ 組織内分布 ・胆汁排泄 ・全身オートラジ オグラフィー 反復経口投与試験 (14日間) ・投与量: 1 mg/kg b.w. ・臓器/組織内 /分布	<u>吸収/排泄 (単回経口投与試験)</u> 単回経口投与後の主排泄経路は雌雄とも尿(腎経路)であり、単回投与後 96 時間の尿中排泄放射能は 73.5%TAR (雄) ~82.1%TAR (雌)であった。 また同用量を投与した雄において、投与後 0~24 時間で 44.4%TAR の放射能が胆汁中に認められた。 <u>血漿中動態 (単回経口投与試験)</u> 雌雄とも単回経口投与の最高血漿中濃度到達時間 (Tmax) は 1.5 時間であり、最高血漿中濃度 (Cmax) は雄で 319.00 µg eq/g、雌で 372.00 µg eq/g であった。 血漿中濃度は雌雄とも投与後 3 時間で低下したが、投与後 6 時間に腸肝循環によると考えられる血漿中濃度の増加が認められた。その後は血漿中濃度が減少し、投与後 96 時間には雌雄とも 2.00 µg eq/g 未満となった。 <u>臓器/組織内分布 (単回経口投与試験)</u> 各臓器/組織内濃度は単回経口投与後初期(投与後 1.5~2 時間)で高かったが、全体では時間の経過とともに低下した。 <u>臓器/組織内分布 (反復投与試験)</u> 検査臓器/組織において低濃度の放射能が認められたが放射能の蓄積性は認められなかった。 <u>代謝 (単回経口投与試験)</u> 尿試料の _____ により、尿中代謝物として _____ 種類のスポットが認められた。そのうちの 1 種類は未変化の親化合物【P】として認められ、 _____ 処理放射能に対して 78.7~86.5%を占めていた。	(1978年)	代-6
代謝-2	動物代謝	ラット 1群:雄1	¹⁴ C 標識 単回経口投与試験 ・投与量: 117 mg/kg b.w. 血漿及び尿中代謝物の検討	投与後 1.5 時間に血漿を、投与後 0~24 時間の尿を採取した。 <u>血漿中代謝物</u> 未変化の親化合物【P】が血漿中放射能に対して 97.7~97.8%を占めていた。 _____ 種類の _____ が認められたが、その量は血漿中放射能に対して _____ %のみであった。 <u>尿中代謝物</u> 未変化の親化合物【P】が尿中放射能に対して約 93%、 _____ が _____ %を占めていた。 _____ 種類の _____ が認められたが、その量は尿中放射能に対して _____ %であった。	(1989年)	代-14

注) 下線(波線)を付けた試験成績は、残留農薬安全性評価委員会にて評価済である。

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

資料番号	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代謝-3	動物代謝					代-17

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

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代謝-4	植物代謝	りんご (一枝に有袋果実9個と無袋果実11個)	¹⁴ C 標識 標識体及び非標識体を 31ppm 含有する水溶液をりんご一枝の無袋果実、葉及び枝に塗布処理(処理回数2回、処理間隔10日)。 第1回処理後0日、5日、10日(第2回処理日)、15日、20日、25日及び31日に、処理したりんご一枝から無袋果実及び有袋果実を収穫。	<u>総残留放射能 (TRR)</u> 無袋果実の TRR は第1回処理後0日の63.8ppb(親化合物等量)から第2回処理前(第1回処理後10日)の22.2ppbへと減少し、第2回処理後(第1回処理後10日)の62.9ppbから第1回処理後25及び31日にそれぞれ48.0ppb及び47.9ppbへと減少した。 有袋果実では葉及び枝からの放射能移行が認められ、第1回処理後20日に最大値13.4ppbが認められたが、同処理後25日及び31日にはそれぞれ10.4ppb及び7.6ppbへと減少した。 <u>果実の代謝物プロファイル</u> 第1回処理後25日の有袋果実において、主要放射成分は未変化の親化合物【P】及び であり、果実 TRR の59.5%TRR を占めていた。	(1981年)	代-26
代謝-5	植物代謝	小麦	¹⁴ C 標識 標識体及び非標識体をジクロロプロップカリウム塩として64%含有処理液を水で希釈して小麦に1回茎葉散布処理。 処理後1日、25日及び49日に未成熟の小麦植物体(茎葉部)を採取。 処理後102日の収穫期に穀粒と藁を採取。	<u>総残留放射能 (TRR)</u> 処理後1日、25日及び49日の未成熟植物体では、処理後1日試料の39.11 mg eq/kgから処理後49日試料の3.46 mg eq/kgへと経時的にTRRが減少し、抽出残留は80.1%TRR(処理後49日試料)～96.6%TRR(処理後1日試料)であった。 藁及び穀粒では、それぞれ1.82 mg eq/kg及び0.126 mg eq/kgのTRRが認められ、その28.6%及び16.7%が抽出可能であった。 <u>代謝物プロファイル</u> 代謝物として、未変化の親化合物【P】の他、 が認められた。 抽出放射能において、未変化の親化合物【P】が主要代謝物であった。	(1979年)	代-29

注) 下線(波線)を付けた試験成績は、残留農薬安全性評価委員会で評価済である。

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

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁																				
動態-1	好氣的土壤中動態					代-32																				
動態-2	加水分解動態					代-37																				
動態-3	水中光分解動態					代-39																				
動態-4	水中光分解動態	滅菌自然水	^{14}C 標識 試験温度： $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 試験濃度： $0.25 \mu\text{g/mL}$ 光強度： 380 W/m^2 ($290 \sim 800 \text{ nm}$)	親化合物【P】は速やかに分解し、実験条件下及び北緯 35 度の春期太陽光下の DT50 値は、それぞれ 2.35 日及び 8.9 日であった。 親化合物【P】は広範囲に分解され、主要分解物として が認められた。 その他に認められた分解物は であった。	(2007 年) (GLP)	代-45																				
動態-5	土壤吸着性	国内 4 土壤 (高知土壤、北海道土壤、和歌山土壤、宮崎土壤)	非標識ジクロロプロップ 試験温度： 25°C (暗所) 試験濃度 (吸着等温線試験)： 0.1, 0.5, 2 及び $5 \mu\text{g/mL}$ 土壤：水比：1 : 5	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>K_f^{abs}</th> <th>oc%</th> <th>$K_f^{\text{abs}} \text{oc}$</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>高知</td> <td>0.611</td> <td>1.24</td> <td>49.3</td> </tr> <tr> <td>北海道</td> <td>3.36</td> <td>2.45</td> <td>137</td> </tr> <tr> <td>和歌山</td> <td>0.961</td> <td>2.17</td> <td>44.3</td> </tr> <tr> <td>宮崎</td> <td>0.784</td> <td>0.96</td> <td>81.7</td> </tr> </tbody> </table>		K_f^{abs}	oc%	$K_f^{\text{abs}} \text{oc}$	高知	0.611	1.24	49.3	北海道	3.36	2.45	137	和歌山	0.961	2.17	44.3	宮崎	0.784	0.96	81.7	(2001 年) (GLP)	代-50
	K_f^{abs}	oc%	$K_f^{\text{abs}} \text{oc}$																							
高知	0.611	1.24	49.3																							
北海道	3.36	2.45	137																							
和歌山	0.961	2.17	44.3																							
宮崎	0.784	0.96	81.7																							

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

1. 動物代謝試験

(1) ラットにおける代謝試験

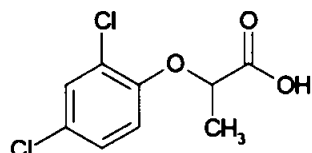
(資料 No.代謝 1)

試験機関：

報告書作成年：1978年

供試標識化合物：

構造式：



*：標識位置

化学名：(RS)-2-(2,4-dichloro[¹⁴C 標識]phenoxy)propionic acid
〔以下、標識体とする〕

比放射能：20 μ Ci/mg (740MBq/mg) 放射化学的純度： % (TLC)

標識位置の設定理由：

供試動物：CD系ラット

単回投与試験

排泄及び代謝試験群：雌雄各3匹 (体重、雄：140~170g、雌：150~160g)

臓器・組織内分布試験群：雌雄各14匹 (体重、雌雄：200~220g)

胆汁排泄試験群：雄3匹 (体重220g)

全身オートラジオグラフィ試験群：雌雄各3匹 (体重、雌雄：150~160g)

反復投与試験：雌雄各10匹 (体重、雄：220~240g、雌：180~210g)

試験方法

本試験は、単回投与後の排泄及び代謝、組織内分布及び胆汁排泄試験 (以上、単回投与試験) と標識体を最長14日間にわたって反復投与した反復投与試験で構成されている。

投与方法及び投与量：

標識体を非標識体と混合し、生理食塩水又は1%メチルセルロース水溶液で懸濁させ、投与液を調製した。投与量は単回投与試験及び反復投与試験でそれぞれ117mg/kg b.w.及び1mg/kg b.w./dayとし、単回又は最長14日間の強制経口投与を行った。

単回投与試験の投与量は、資料No.2の最低投与量(200mg/kg b.w.)で毒性兆候が認められたことから117mg/kg b.w.とし、反復投与試験の投与量は毒性兆候が無いと考えられた1mg/kg b.w.とした。

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

単回投与試験

排泄及び代謝試験

単回経口投与後のラットをガラス製代謝ケージに収納し、尿試料を投与後 6、12、24、48、72 及び 96 時間に、糞試料を 24 時間間隔で投与後 96 時間まで採取した。投与後 96 時間の終了時にケージ内壁を水で洗浄した。また、投与後 24 時間にわたって雌雄各 1 匹の呼気を捕集した。

代謝物の同定及び特徴付けのため、得られた尿試料及びその酢酸エチル又はクロロホルム抽出物を薄層プレート（シリカゲル F₂₅₄）にスポットし、

の標準品とともに

によ

る

を行った。

また尿試料に酸（2.5M 硫酸）加水分解処理、アルカリ（5M 水酸化ナトリウム）加水分解処理及び酵素（ β -glucuronidase）加水分解処理を行い、加水分解後の尿試料を に供した。

臓器・組織内分布試験

単回投与後 1.5、3、6、12、24、48 及び 96 時間に雌雄各 2 匹を屠殺し、次の臓器・組織を採取した。

採取臓器・組織

血漿、脂肪、副腎、脳、結腸（内容物を除く）、眼球、生殖腺、心臓、回腸（内容物を除く）、腎臓、肝臓、肺、骨格筋、皮膚、脾臓、胃（内容物を除く）、甲状腺及びカーカス

胆汁排泄試験

胆管カニューレ処置ラットに単回経口投与を行い、投与後 1、2、4.5、8、24 時間に胆汁試料を採取した。

全身オートラジオグラフィー試験

単回経口投与後 6、24、48 時間の時点で雌雄各 1 匹をそれぞれ屠殺した。凍結後に厚さ 2mm の凍結切片とし、この切片に X 線フィルムを感光させて全身オートラジオグラム（ARG）を作製した。

反復投与試験

連続投与 1、5、10 及び 14 日間の最終投与 24 時間後の時点で雌雄各 2 匹を屠殺し、加えて投与期間 14 日間の最終投与 96 時間後の時点で更に雌雄各 2 匹を屠殺し、次の臓器・組織を採取した。

採取臓器・組織

血漿、肝臓、腎臓、骨格筋、脂肪、副腎及び甲状腺

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

放射能測定

液体試料（尿、ケージ洗浄液及び胆汁）はシンチレーターとあわせ、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定し、糞試料は均質化後に燃焼させて測定した。
また を掻き取り、シンチレーターとあわせて LSC で測定した。

臓器・組織試料は均質化後に可溶化剤に溶解し、シンチレーターとあわせて LSC で測定した。

試験結果：

吸収・排泄

単回投与試験における排泄及び代謝試験での投与放射能排泄パターンを表1に、胆汁排泄試験での胆汁排泄パターンを表2に示す。

単回投与後24時間にわたって採取した呼気中に放射能は認められなかった。単回経口投与後の主排泄経路は雌雄とも尿であり、投与後96時間において投与放射能(TAR)の73.5%TAR(雄)～82.1%TAR(雌)が尿から回収され、雄の尿中排泄速度は雌と比較して緩やかであった。尿中排泄放射能に対して、糞中排泄放射能は10.1%TAR(雄)及び7.3%TAR(雌)であった(以上、表1)。

単回投与後24時間にわたって採取した胆汁中に、40.4～51.7%TAR(平均値44.4%TAR)の放射能が認められた。(以上、表2)

単回投与後0～24時間の糞排泄放射能(表1)、胆汁排泄試験結果(表2)及び後述する血漿中放射能濃度(表3)から、単回経口投与された親化合物【P】は腸肝循環を受けて主として尿に排泄されると考えられた。

表1：排泄及び代謝試験での投与放射能排泄パターン (n=3の平均値)

試料	採取時間 (hr)	投与放射能に対する%		投与放射能に対する% (累積値)	
		雄	雌	雄	雌
尿	0～6	10.1	9.3	10.1	9.3
	6～12	20.5	29.9	30.6	39.2
	12～24	20.3	27.7	50.9	66.9
	24～48	18.3	13.0	69.2	79.9
	48～72	2.6	1.5	71.8	81.4
	72～96	1.7	0.7	73.5	82.1
	合計	73.5	82.1	—	—
糞	0～24	6.6	5.4	6.6	5.4
	24～48	2.0	1.1	8.6	6.5
	48～72	0.6	0.4	9.2	6.9
	72～96	0.9	0.4	10.1	7.3
	合計	10.1	7.3	—	—
呼気	0～24	0	0	0	0
ケージ洗浄液	0～96	1.0	0.7	1.0	0.7
物質収支		84.8	90.1		

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

表 2：胆汁排泄試験における胆汁への排泄パターン

胆汁試料 (投与後時間)	投与放射能に対する%				投与放射能に対する% (累積値)			
	動物 No.1	動物 No.2	動物 No.3	平均 (*)	動物 No.1	動物 No.2	動物 No.3	平均 (*)
0~1 hr	0.8	1.4	0.3	0.8	0.8	1.4	0.3	0.8
1~2 hr	1.2	1.6	0.6	1.1	2.0	3.0	0.9	2.0
2~4.5 hr	2.6	5.9	2.2	3.6	4.6	8.9	3.1	5.5
4.5~8 hr	8.9	10.8	10.0	9.9	13.5	19.7	13.1	15.4
8~24 hr	26.9	21.3	38.6	28.9	40.4	41.0	51.7	44.4
合計	40.4	41.0	51.7	44.4				

(*)：申請者が算出

吸収率（申請者による計算）：

単回投与後 96 時間の体内残存放射能（投与放射能に対する%）は報告されていないが、表 1 の「尿」及び「ケージ洗浄液」の含量値に基づき吸収率は次のとおりと考えられた。

雄：74.5%以上、雌：82.8%以上

臓器・組織内分布

単回投与試験の全身オートラジオグラフィ試験

単回投与後 6 時間の全身オートラジオグラム（ARG）では、雌雄とも通常の放射能分布が認められ、特に消化管の放射能が高かった。

単回投与後 24 時間の ARG では、雄の膀胱、腎臓及び腹腔内液に及び肝臓に放射能が認められ、雌では腎臓、下部小腸、腹腔内及び皮膚に放射能が認められた。

単回投与後 48 時間の ARG では、雌の腎臓のみに放射能が認められた。

単回投与試験の臓器・組織内分布試験（表 3）

単回投与試験における臓器・組織内分布試験結果を表 3 に示す。

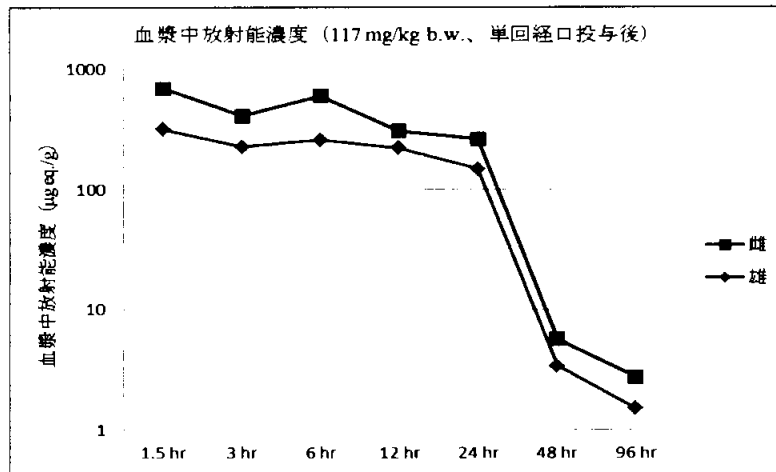
血漿中動態

雌雄とも最高血漿中濃度到達時間(Tmax)は 1.5 時間であり、それぞれ雄:319.00µg eq/g 及び雌：372.00µg eq/g の最高血漿中濃度 (Cmax) が認められた。

図 1 に示すとおり、その後は雌雄とも同じ傾向を示し、血漿中濃度は単回投与後 3 時間で極端に低下（雄：228.00µg eq/g、雌：180.00µg eq/g）したのに対して投与後 6 時間に上昇（雄：258.00µg eq/g、雌：341.00µg eq/g）し、これは腸肝循環によるものと考えられた。

単回投与後 6 時間以降の血漿中濃度は、雌の投与後 24 時間で一過性の上昇が認められたものの雌雄とも減少し、投与後 96 時間には雌雄とも 2µg eq/g 未満となった。

図 1



血漿以外の臓器・組織内分布

各臓器・組織内濃度は採取初期（投与後 1.5～12 時間）で高かったが、全体では時間の経過とともに減少の傾向が認められた。

臓器・組織内濃度は脳及び眼球で低く、胃、副腎、脂肪及び皮膚で高かった。

各臓器・組織において、投与後 24～48 時間に濃度の急速な減少が認められた。

反復投与試験の臓器・組織内分布試験（表 4）

臓器・組織内分布試験結果を表 4 に示す。

全検査臓器・組織で低濃度の放射能が認められ、明確な蓄積性は認められなかったが雌雄とも経時的な脂肪中濃度の増加がわずかに認められた。

全ての時点において、腎臓で最も高い臓器内濃度が認められたが肝臓の臓器内濃度は比較的 low、投与放射能が腎臓を介して速やかに排泄された。

表 3：臓器組織内分布試験結果（単回投与試験、単位：µg eq/g）

臓器・組織	性別	投与後経過時間 (hr)						
		1.5	3	6	12	24	48	96
血漿	雄	319.00	228.00	258.00	221.00	148.00	3.38	1.51
	雌	372.00	180.00	341.00	87.50	116.00	2.28	1.24
肝臓	雄	196.00	118.00	130.00	141.00	99.40	5.69	2.06
	雌	196.00	89.50	199.00	44.00	41.90	3.04	1.62
腎臓	雄	185.00	139.00	145.00	160.00	87.00	5.59	1.84
	雌	207.00	106.00	189.00	64.10	74.60	4.89	3.08
心臓	雄	127.00	90.00	77.80	74.10	53.90	1.87	1.15
	雌	162.00	70.30	126.00	26.70	3.06	1.50	0.64

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

表 3 (続き) : 臓器組織内分布試験結果 (単回投与試験、単位 : $\mu\text{g eq/g}$)

臓器・組織	性別	投与後経過時間 (hr)						
		1.5	3	6	12	24	48	96
肺	雄	154.00	128.00	110.00	124.00	58.90	3.09	1.26
	雌	203.00	100.00	158.00	35.30	35.10	3.63	1.83
脾臓	雄	70.90	46.70	49.00	36.60	28.70	1.39	1.11
	雌	89.70	38.70	81.80	8.23	25.40	1.37	0.78
副腎	雄	56.90	49.70	53.90	45.30	27.30	0.62	0.67
	雌	132.00	53.40	99.20	26.40	55.70	20.80	0.81
甲状腺	雄	188.00	129.00	59.60	58.00	45.80	2.85	0.56
	雌	169.00	68.20	95.90	23.70	40.20	3.18	1.27
生殖腺	雄	59.00	49.70	53.90	45.30	27.30	0.62	0.67
	雌	102.00	30.30	142.00	20.10	43.50	6.50	3.10
胃	雄	716.00	555.00	261.00	313.00	51.80	5.13	3.38
	雌	869.00	1250.00	136.00	129.00	30.40	5.80	2.28
回腸	雄	119.00	70.90	81.50	69.20	48.00	6.24	1.98
	雌	116.00	73.20	96.50	19.60	27.90	5.31	2.00
結腸	雄	67.40	60.80	79.00	54.90	45.40	6.72	5.22
	雌	65.00	33.20	91.10	25.00	35.20	9.04	8.96
脳	雄	13.00	12.40	9.09	5.91	5.09	0.42	0.31
	雌	23.40	6.28	13.30	2.01	2.59	0.43	0.40
眼球	雄	23.60	19.40	22.00	9.70	14.20	0.76	0.10
	雌	28.60	16.10	28.20	3.39	3.22	0.59	0.21
皮膚	雄	107.00	57.80	78.10	51.00	55.30	13.90	7.95
	雌	136.00	66.30	84.80	21.70	4.37	11.70	11.30
骨格筋	雄	68.50	48.80	52.70	37.30	28.00	2.76	1.65
	雌	93.90	30.70	68.60	12.50	1.55	2.32	1.75
脂肪	雄	42.90	36.00	49.50	36.10	71.00	21.50	16.90
	雌	91.70	21.90	97.90	18.10	82.00	29.60	9.59
カーカス	雄	103.00	34.00	70.30	39.30	48.80	9.04	5.65
	雌	63.50	29.10	74.60	21.20	40.30	9.09	7.55

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

表 4：臓器組織内分布試験結果（反復投与試験、単位： $\mu\text{g eq/g}$ ）

臓器・組織	雄					雌				
	投与日数（日）									
	1	5	10	14		1	5	10	14	
血漿	0.10	0.17	0.14	0.17	(0.05)	0.04	0.07	0.13	0.07	(0.06)
肝臓	0.04	0.11	0.10	0.10	(0.04)	0.01	0.03	0.06	0.03	(0.02)
腎臓	0.26	0.48	0.38	0.45	(0.10)	0.09	0.13	0.29	0.22	(0.10)
骨格筋	0.01	0.01	0.02	0.02	(0.02)	<0.01	0.01	0.01	0.01	(0.01)
甲状腺	0.01	0.02	0.04	0.05	(0.01)	<0.01	0.07	0.04	0.03	(<0.01)
副腎	0.08	0.05	0.04	0.07	(0.02)	0.01	0.07	0.04	0.03	(0.02)
脂肪	0.05	0.09	0.12	0.15	(0.07)	0.03	0.05	0.12	0.08	(0.09)

()：最終投与後 96 時間で屠殺

代 謝

尿試料の結果を表 5 に示す。

尿中放射性成分として

が認められ、そのうちの 1 成分は親化合物

【P】と一致した。

未変化の親化合物【P】は、処理放射能の 78.7~86.5% を占めていた。

また尿試料の酸、アルカリ及び酵素加水分解処理により未変化の親化合物【P】画分が増加したことから親化合物【P】の抱合体と考えられた。

表 5：尿試料の TLC 結果

尿試料（画分）	番号/ 放射性物質	処理放射能 に対する%
動物番号：雄 1 投与後 12~24 時間の採取尿	(親化合物【P】)	86.50
動物番号：雌 2 投与後 12~24 時間の採取尿	3 (親化合物【P】)	78.70
動物番号：雌 3 投与後 6~12 時間の採取尿	(親化合物【P】)	85.00
動物番号：雄 2 投与後 6~12 時間の採取尿	(親化合物【P】)	81.10

以上の結果、経口投与された親化合物【P】は主として未変化のまま尿中排泄され、また一部の親化合物【P】は抱合化反応を受けると考えられた。

I. 動物代謝試験

(2) ラットにおける代謝試験 (代謝物同定)

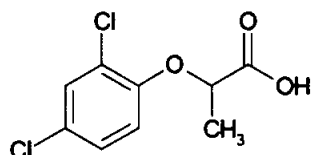
(資料 No.代謝 2)

試験機関:

報告書作成年: 1989 年

供試標識化合物:

構造式:



*: 標識位置

化学名: ^{14}C -(RS)-2-(2,4-dichlorophenoxy)propionic acid

比放射能: 1.41 MBq/mg (110 μCi /mg) 放射化学的純度: % ()

標識位置の設定理由:

供試動物: SD 系 SPF ラット雄、7 週齢、1 群 1 匹

試験方法:

投与及び試験方法: 標識体を非標識体と混合し、その後 1%メチルセルロース懸濁液に調製し、117mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与した。

代謝物同定用試料として、投与後 1.5 時間の時点で血漿を、投与後 0~24 時間にわたって尿を採取した。

血漿試料 1mL にメタノール 6mL を加えて超音波処理を 10 分間行い、遠心分離後に上清を採取した。残渣を更にメタノールで 2 回抽出し、抽出物を上清と合わせて減圧下で濃縮乾固し、薄層クロマトグラフィー (TLC) に供した。

尿試料は SEP-PAK C18 カートリッジによる精製後に減圧下で濃縮乾固し、TLC で分析した。更に尿試料に β -グルコニダーゼによる酵素加水分解処理 (37°C、24 時間) を行い、加水分解後の尿試料を TLC で分析した。

TLC は、溶媒系 1 (クロロホルム:メタノール:酢酸=9:1:1) 及び溶媒系 2 (1-ブタノール:酢酸:水=4:1:1) の 2 種類の展開溶媒を用いてシリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ 0.25mm) で行った。

TLC プレート上の放射性成分の定量として、削り取った該当部分のシリカゲルにメタノール 1mL 及びシンチレーター 10mL を添加し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。また未変化の親化合物の同定及び特徴付けは、標準物質との TLC コクロマトグラフィーで行った。

試験結果：

血漿中代謝物（表 1）

投与後 1.5 時間に採取した血漿において、未変化の親化合物【P】が血漿中放射能に対して 97.7%（溶媒系 2）～97.8%（溶媒系 1）を占めていた。

1 種類の未同定の放射性成分が認められたが、その量は血漿中放射能に対して 1.0%（溶媒系 2）～1.4%（溶媒系 1）のみであった。

表 1：血漿中の放射性成分

放射性成分	血漿中放射能に対する百分率（%）	
	溶媒系 1	溶媒系 2
親化合物【P】	97.8	97.7
未同定放射性成分	1.4	1.0
原点物質	非検出	非検出

尿中代謝物（表 2）

投与後 0～24 時間に採取した非加水分解尿試料では、未変化の親化合物が尿中放射能に対して 92.5%（溶媒系 1）～93.1%（溶媒系 2）を占め、未同定の放射成分が 2 種類認められた。未同定放射成分の量は、それぞれ尿中放射能に対して 4.1%（溶媒系 1）～4.2%（溶媒系 2）及び 1.3%（溶媒系 1）～1.6%（溶媒系 2）のみであった。

酵素加水分解処理により、非加水分解試料と比較して未変化の親化合物は尿中放射能に対して 96.5%（溶媒系 1）～97.5%（溶媒系 2）へと約 4～4.4%ほど増加した。この未変化の親化合物の増加に対して、非加水分解試料と比較して、未同定放射性成分 1 は尿中放射能に対して 0.1%（溶媒系 1）～0.7%（溶媒系 2）へと 3.5～4.0%ほど減少し、親化合物【P】の抱合体と考えられた。酵素加水分解処理後の未同定放射成分 2 は 0.9%（溶媒系 1）～1.0%（溶媒系 2）であり、ほぼ変化がなかった。

表 2：尿中の放射性成分

放射性成分	尿中放射能に対する百分率（%）			
	溶媒系 1		溶媒系 2	
	非加水分解	加水分解後	非加水分解	加水分解後
親化合物【P】	92.5	96.5	93.1	97.5

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

以上の結果、投与後 1.5 時間の血漿において主要放射性成分は血漿中放射能に対して約 98% を占めた未変化の親化合物【P】であり、 種類の 血漿中放射能に対して % 認められた。

投与後 0~24 時間にわたって採取した尿において、尿中放射能に対して未変化の親化合物【P】が約 93%、 が % を占め、 は % 前後を占めていたのみであった。

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

(3)

(資料 No.代謝 3)

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

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

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

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

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

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

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

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

II. 植物代謝試験

りんごにおける代謝試験

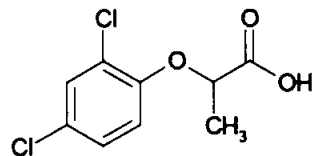
(資料 No.代謝 4)

試験機関：

報告書作成年：1981年

供試標識化合物：

構造式：



*：標識位置

化学名：(RS)-2-(2,4-dichloro[¹⁴C
[以下、標識体とする]

標識]phenoxy)propionic acid

比放射能：12.7mCi/mM

放射化学的純度：及び

標識位置の設定理由：

供試作物：りんご（品種：レッドデリシャス）

試験には、11個の無袋果実と9個のプラスチック袋で覆った果実（有袋果実）がなっている一枝を使用した。

試験方法：

標識体及び非標識体を31ppm含有する水溶液を調製し、収穫予定日の25日前及び15日前の2回にわたって上述のりんご一枝の無袋果実、葉及び枝に塗布処理を行った。

りんご果実（無袋及び有袋）は、第1回処理直後（収穫予定日の25日前、第1回処理後0日）、収穫予定日の20日前（第1回処理後5日）、15日前（同処理後10日）、10日前（同処理後15日）、5日前（同処理後20日）、収穫予定当日（同処理後25日）及び収穫予定日の6日後（同処理後31日）に、それぞれ下表に示す個数を採取した。

		果実採取日：収穫予定日前及び後の日数、括弧（ ）は第1回処理後の経過日数							
		-25日	-20日	-15日	-10日	-5日	0日 (収穫 予定日)	+6日	
		(0日)	(5日)	(10日)	(15日)	(20日)	(25日)	(31日)	
処理		第1回		第2回					
採取 個数	無袋	1	1	処理前1	処理後2	1	1	2	1
	有袋	1	1	処理前1	処理後1	1	1	2	1

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

果実の総残留放射能 (TRR) の測定

採取した果実を磨碎し、燃焼後に精製した放射性二酸化炭素をシンチレーションカクテルに吸収させ、液体シンチレーションカウンターで測定した。

抽出方法及び分析方法

収穫予定日に採取したりんご有袋果実を粉砕し、3M 塩酸酸性化で 2 時間攪拌 (60℃) し、冷却後に 3M 水酸化ナトリウムでアルカリ性溶液とした。

その後、上澄み液と固体残渣 (抽出残渣) に遠心分離し、固体残渣 (抽出残渣) は乾燥後に燃焼させて放射エネルギーを測定した。

3M 塩酸で酸性化した上澄み液にエーテル抽出 (40mL、3 回) を行い、エーテル抽出物と酸性液画分に分割し、酸性液画分の放射エネルギーを測定した。

エーテル抽出物を濃縮後にアセトニトリルを加え、放射線測定が可能な高速液体クロマトグラフィー (HPLC、C-18 BONDPAK カラム) で分取し、親化合物【P】及びその酸加水分解性抱合体画分とその他のエーテル可溶画分に分離し、放射エネルギーを測定した。

親化合物【P】の同定及び特徴付けは、標準物質との HPLC コクロマトグラフィーで行った。

試験結果：

総残留放射能 (TRR)

無袋果実及び有袋果実の TRR を表 1 に示す。

無袋果実の TRR は、第 1 回処理直後の 63.8ppb (親化合物等量、以下省略) から第 2 回処理前の 22.2ppb へと減少した。無袋果実の TRR は、第 2 回処理後の収穫予定日の 10 日前 (第 1 回処理後 15 日) に最高濃度 62.9ppb へと増加し、収穫予定日 (第 1 回処理後 25 日) の TRR は 48.0ppb であった。

処理を行わなかった有袋果実では、葉及び枝に処理された放射能の移行が認められ、有袋果実 TRR は 2 回の処理が行われた収穫予定日の 5 日前 (第 1 回処理後 20 日) に最大濃度 13.4ppb が認められた。有袋果実の収穫予定日 (同処理後 25 日) 及び収穫予定日の 6 日後 (同処理後 31 日) にはそれぞれ 10.4ppb 及び 7.6ppb へと減少した。

表 1：果実 (無袋及び有袋) TRR (値は ppb、親化合物等量)

		果実採取日：収穫予定日前及び後の日数、括弧 () は第 1 回処理後の経過日数							
		-25 日	-20 日	-15 日		-10 日	-5 日	0 日 (収穫 予定日)	+6 日
		(0 日)	(5 日)	(10 日)		(15 日)	(20 日)	(25 日)	(31 日)
処理		第 1 回		第 2 回					
TRR	無袋	63.8	27.2	処理前 22.2	処理後 44.7	62.9	38.0	48.0	47.9
	有袋	0.0	8.0	処理前 3.5	処理後 8.6	11.0	13.4	10.4	7.6

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

果実の代謝物プロファイル

収穫予定日に採取した有袋果実の代謝物プロファイルを表 2 に示す。

果実における主要放射性成分は親化合物【P】及び酸加水分解性抱合体であり、
果実 TRR の 59.5%TRR (6.19 ppb) を占めていた。及び
その他に酸性液画分、エーテル可溶画分にそれぞれ
が認められ、固体残渣 (抽出残渣) は
た。であつ

表 2 : 収穫予定日に採取した有袋果実の代謝物プロファイル

画分	%TRR	ppb (親化合物等量) (申請者が算出)
親化合物【P】及び 酸加水分解性抱合体	59.5	6.19
酸性液画分		
エーテル可溶画分		
固体残渣 (抽出残渣)		
計	100.0	10.4

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

II. 植物代謝試験

小麦（冬小麦）における代謝試験

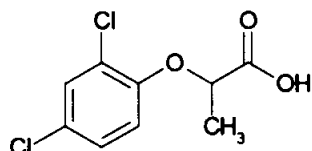
（資料 No.代謝 5）

試験機関：

報告書作成年：1979年

供試標識化合物：

構造式：



*：標識位置

化学名：(RS)-2-(2,4-dichloro[¹⁴C
[以下、標識体とする]

標識]phenoxy)propionic acid

比放射能：20 μ Ci/mg (740MBq/mg)

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試作物：小麦（品種：Flanders）

1976年10月に植壌土の圃場（プロットの大きさ：1.8m×2.2m）に小麦を播種し、最終収穫物は翌1977年8月26日に行った。

試験方法：

標識体と非標識体を混合後に水溶液に溶解し、ジクロロプロップカリウム塩として含有量64%の処理液を調製した。ヘクタール当り4.4Lの処理液を1250Lの水で希釈し、1977年5月16日に小麦へ茎葉散布した。

試料の採取

処理後1日、25日及び49日に未成熟の小麦植物体（茎葉部）を採取し、処理後102日の収穫期に穀粒と藁を採取した。

未成熟の小麦植物体をミキサーで細断し、穀粒及び藁はミルで粉碎した。

抽出及び分析

試料をメタノール/水混合液で抽出し、吸引濾過後に更にメタノールで抽出した。

抽出物を濃縮し、放射能測定及び放射性成分の検討に供した。

抽出残渣は乾燥後に燃焼させ、生成した二酸化炭素をシンチレーションカクテルに捕集し、放射能測定を行った。また、穀粒試料を直接燃焼させ、放射能測定を行った。

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

放射性成分の定量、同定及び特徴付け

未成熟植物体及び藁試料の抽出物を 1N 塩酸酸性化で 1 時間還流し、次いでエーテルで抽出して放射エネルギーを測定した。エーテル抽出物に処理を行い、放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー（ラジオ HPLC）で分離定量した。

なお、穀粒試料中の総放射能残留がわずかであったため、穀粒試料の放射性成分の定量、同定及び特徴付けは行わなかった。

更に、ラジオ HPLC で分離したメチル化代謝物の構造をガスクロマトグラフィー-質量分析（GC-MS）で確認した。

試験結果：

総残留放射能（TRR）及び放射能分布

表 1 に総残留放射能（TRR）及び放射能分布を示す。

未成熟植物体において、TRR は処理後第 1 日の 39.11 mg eq/kg（親化合物等量濃度）から処理後 49 日の 3.46mg eq/kg へと経時的に減少した。

メタノール/水混合液次いでメタノールによる抽出により、未成熟植物体 TRR の 80.1%TRR（処理後 49 日試料）～96.6%TRR（処理後 1 日試料）が抽出された。

処理後 102 日の収穫期に採取した藁及び穀粒試料の TRR は、それぞれ 1.82mg eq/kg 及び 0.126 mg eq/kg であり、その 28.6%TRR（0.52 mg eq/kg）及び 16.7%TRR（0.021 mg eq/kg）が抽出された。

表 1：総残留放射能（TRR）及び放射能分布

試料及び 試料採取日 (処理後日数)	TRR (mg eq/kg)	非抽出性残留		抽出残留		
		mg eq/kg	%TRR	mg eq/kg	%TRR	
未成熟 植物体	1 日	39.11	1.31	3.4	37.80	96.6
	25 日	4.69	0.71	15.1	3.98	84.9
	49 日	3.46	0.69	19.9	2.77	80.1
藁	102 日	1.82	1.30	71.4	0.52	28.6
穀粒		0.126	0.105	83.3	0.021	16.7

放射性成分の同定/特徴付け

GC-MS の構造検討から、として未変化
 の親化合物【P】の他、が同定された。
 また、種類のが特徴付けられた。

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

代謝物プロファイル及び代謝経路

表 2 に代謝物プロファイルを示す。

処理後 1 日～49 日に採取された未成熟植物体において、主要放射性成分は未変化の親化合物【P】であり、親化合物【P】と比較してその他に認められた放射性成分は微量であった。

処理後 120 日の藁では、未変化の親化合物【P】が 0.40 mg eq/kg 認められ、抽出可能な残留の約 89%を占めていた。

小麦において、親化合物【P】は と考えら
を受けて代謝されるが、
れた。

表 2：代謝物プロファイル

試料及び 試料採取日 (処理後日数)		エーテル 抽出物中 の放射能 (mg eq/kg)	代謝物 (mg eq/kg)	
			親化合物 【P】 [D2]	
未成熟 植物体	1 日	37.60	35.40	
	25 日	3.74	2.68	
	49 日	2.73	2.20	
藁	120 日	0.45	0.40	

括弧[]は報告書での番号

申請者による代謝物の%TRRの算出

表 1 の抽出残留 (mg eq/kg 及び%TRR) と表 2 のエーテル抽出物中の放射能 (mg eq/kg) からエーテル抽出物中の放射能 (%TRR) を算出し、各代謝物の%TRR を求めた結果は下表のとおりであった。

試料及び 試料採取日 (処理後日数)		エーテル 抽出物中 の放射能 (%TRR)	代謝物 (%TRR)	
			親化合物 【P】 [D2]	
未成熟 植物体	1 日	96.1	90.47	
	25 日	79.8	57.17	
	49 日	78.9	63.62	
藁	120 日	24.8	22.00	

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

III. 土壌中動態試験

好氣的土壌中運命試験

(資料 No.動態 1)

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

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

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

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

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

IV. 水中動態試験

1. 加水分解動態試験

(資料 No. 動態-2)

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

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

IV. 水中動態試験

2、水中光分解運命試験

(資料 No.動態-3)

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

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

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

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

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

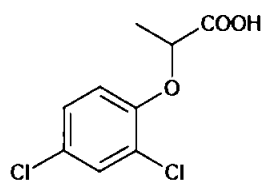
IV. 水中動態試験

3. 水中光分解動態試験（自然水）

（資料 No. 動態-4）

試験機関：（米国）
報告書作成年：2007年 [GLP]

供試標識化合物：[¹⁴C]標識ジクロロプロップ
化学名：(RS)-2-(2,4-ジクロロフェニル)プロピオン酸 (IUPAC)



放射化学的純度：、比放射能：36.38 μ Ci/ μ mol

供試水：滅菌自然水

自然水は2006年11月9日に在米国カンザス州 Stilwell の池端の表層0~6インチ深から採取し、0.22 μ mの滅菌フィルターで濾過した。

滅菌濾過前の自然水の特性は、pH 8.2、総硬度 (CaCO₃) 127mg/L 及び電気伝導度 0.42mmhos/cmであった。

試験濃度及び試験水の調製：

¹⁴C 標識被験物質のアセトニトリル溶液 900 μ L を滅菌自然水 1500mL に添加し、設定濃度 0.25 μ g/mL（共存溶媒としてアセトニトリル 0.06%を含有）の試験水を調製した。

試験温度：25 \pm 2 $^{\circ}$ C（平均温度：光照射試料 24.5 $^{\circ}$ C、暗対照試料：24.9 $^{\circ}$ C）

照射装置（光源）、光強度及び照射期間：

照射装置：Suntest 装置（キセノンランプ）

光強度：

測定波長 [nm]	光強度 [W/m ²]
300~800	380

照射期間：8日間連続照射（北緯35 $^{\circ}$ C、春期太陽光下の30日間に相当。）

試験方法：

光照射試験系

試験水 60mL を無菌的に滅菌した石英ガラス製試験容器（25mm \times 40mm \times 85mm）に計り取り、開口部をゴム隔膜で密封した。この試験容器を Suntest 装置の照射チャンバ内に設置し、290nm 未満の波長を除去した光を所定期間にわたって連続照射した。

暗対照試験系

試験水 20mL を無菌的に琥珀色瓶に計り取り、密栓して暗所の環境チャンバ内で所

定期間にわたって設置した。

試料採取及び揮発性物質の捕集：

次に示す時点で、照射区及び非照射区からそれぞれ2連の試験容器を採取した。照射試験容器の開封に先立ち、第0日試料を除く各試料容器の上部空気を窒素で置換し、(二酸化炭素を捕集する) 2N 水酸化カリウム捕集溶液に排出された上部空気を通過させた。

また採取時点毎に試験水の pH を測定し、滅菌性の確認を第0日、第4日(照射試験料のみ)及び第8日試料(試験水)を好気性生菌数測定プレートに適用後、数日間培養して行った。

採取時点 (照射開始後 の経過時間)	光分解運命		試験系の特性確認	
	照射試験系	暗対照試験系	pH	滅菌性の確認
0日(開始直後)	○	照射試験系と 同一	測定	測定
1日	○	×	測定	
2日	○	×	測定	
3日	○	×	測定	
4日	○	×	測定	測定 (照射試験料のみ)
6日	○	×	測定	
8日	○	○	測定	測定

○：採取、×：採取せず。

採取試料の放射能測定：

採取試験水及び水酸化カリウム溶液中の放射能を液体シンチレーションカウンター(LSC)で分析した。

試験水の分析及び分解物の同定/特徴付け

試験水の抽出及び濃縮を行わずに、放射能検出器付き液体クロマトグラフィー(ラジオHPLC)で分析した。

分解物の同定及び特徴付けは、認証済み標準品とのHPLCコクロマトグラフィーで行い、n-ブチルでの誘導体化後に液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)で構造を確認した。

またHPLCで認められた放射能域を薄層クロマトグラフィーで特徴付けた。

分解物同定試験(報告書ではMIDと表記)：

分解物同定用に、¹⁴C 標識被験物質のアセトニトリル溶液 420μL と非標識被験物質 0.5mg を混合後、滅菌自然水 260mL に添加して高濃度(設定試験濃度 2.7μg/mL)の試験水を調製した。

この試験水 60mL を無菌的に滅菌した石英ガラス製試験容器(25mm×40mm×85mm)

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

に計り取り、開口部をゴム隔膜で密封した。この試験容器を Suntest 装置の照射チャンバ内に設置し、290nm 未満の波長を除去した光を所定期間にわたって連続照射した。

試験結果：

試験系の特性（pH 及び滅菌生）：

試験水の平均 pH は光照射試料及び暗対照試料でそれぞれ 7.84 及び 8.03 であった。また試験期間を通じて滅菌性が維持されていた。

物質収支（表 1）：

表 1 に各試験系における物質収支を示す。光照射試験系及び暗対照試験系とも処理放射能（AR）に対する物質収支は 100%前後であり、良好であった。

また何れの採取時点でも、水酸化カリウム捕集液中の放射能は無視しうる量（< 0.1%AR）であった。

表 1：各試験系における物質収支（処理放射能に対する%、n=2 の平均値）

	光照射試料	暗対照試料
物質収支	98.1 (95.4~100.0)	100.4 (100.0~100.8)

表中の数値は試験期間を通じた平均値であり、括弧（ ）内の数値は各採取時点の物質収支の範囲を示す。

分解物の同定/特徴付け：

放射性成分として、親化合物の他に が同定
された。

また分解物同定用として高濃度の設定濃度 2.7µg/mL で行われた試験（分解物同定試験）において、が同定された。しかしながら、光照射試験系では
と一致する放射性成分は認められなかった。

親化合物及び分解物の推移（表 2）：

表 2 に、光照射試料の HPLC 分析における放射性成分の経時的推移を示す。なお暗対照試料では被験物質の分解は認められなかった。

親化合物ジクロロプロップ【P】は急速に光分解され、第 8 日には 6.8%AR となった。
主要分解物は であり、何れも第 日にそれ
ぞれ最大値 が認められた。

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

表 2：光照射試験系における放射性成分の経時的推移（処理放射能に対する％、n=2 の平均値）

	採取時点（照射開始後の経過時間）						
	第 0 日	第 1 日	第 2 日	第 3 日	第 4 日	第 6 日	第 8 日
ジクロルプロップ	100.0	71.8	53.9	43.2	33.7	17.1	6.8
物質収支	100.0	99.7	99.2	98.7	97.1	96.4	95.4

分解速度（表 3）：

一次速度式に基づいて算出した DT50 及び DT90 値を表 3 に示す。
実験条件での DT50 値は 2.35 日と算出された。

表 3：DT₅₀ 及び DT₉₀

試験系	一次速度式		DT ₅₀		DT ₉₀	
	回帰直線	R ²	days	太陽光下 days	days	太陽光下 days
光照射	$C(t)=100 \times e^{-0.2947t}$	0.9603	2.35	8.9	7.81	29.4
暗対照	分解せず	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

太陽光下：北緯 35 度、春期太陽光下での分解速度、
n/a：暗対照で被験物質の分解が認められず、測定不能。

推定光分解経路：

次頁にジクロルプロップの推定水中光分解経路を示す。

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

ジクロルプロップの自然水中光分解経路（推定）

V. その他

1. 土壌吸着性試験

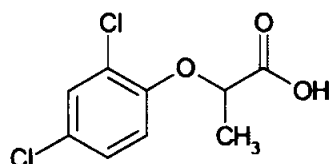
(資料No. 動態-5)

試験機関:

報告書作成年: 2001年[GLP]

供試化合物: ジクロロプロップ標準品 純度:

化学名: (RS)-2-(2,4-ジクロロフェノキシ)プロピオン酸



試験土壌: 次表に示す国内4種土壌を用いた。

土 壌 番 号	No. 8	No. 11	No. 16	No. 20	
採 取 場 所	日植防高知試験場	北海道立十勝農試	和歌山県農試	日植防宮崎試験場	
土 壌 分 類	水田土壌	畑地土壌	畑地土壌	畑地土壌	
土 壌 の 種 類	灰色低地土土壌	淡色黒ボク土土壌	灰色低地土土壌	砂丘未熟土土壌	
土 性	LIC	L	LIC	S	
砂 %	粗砂5.6, 細砂36.1	粗砂17.5, 細砂43.0	粗砂12.3, 細砂23.8	粗砂7.3, 細砂82.8	
シルト %	31.9	24.9	28.8	5.2	
粘土 %	26.4	14.6	35.1	4.7	
粘土鉱物の種類	クロライトライト	アロフェン パーミキュライト	カオリン鉱物 パーミキュライト	アロフェン ハロサイト	
有機炭素含有率%	1.24	2.45	2.17	0.96	
pH	H ₂ O	6.4	5.6	6.1	6.2
	CaCl ₂	5.2	4.7	4.7	4.6
陽イオン交換容量 (me/100g)	9.8	12.0	14.3	6.4	
リン酸吸収係数	500	1470	610	510	

試験温度: 25℃ (遮光条件下)

試験方法：本試験はOECDガイドライン106（1981年）に準拠して行った。

スクリーニング試験

50mL容遠沈管に各試験土壌5g（乾土相当量）をそれぞれ量り取り、精製水5mLを加え24時間静置して平衡化させた。ジクロロプロップ濃度 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ の0.01M塩化カルシウム溶液20mL（以下、試験溶液とする）を加え、土壌/溶液比=1：5とした。

この各遠沈管を密栓し、遮光下 25°C の低温振とう恒温水槽で16時間攪拌した後、遠心分離した。上澄み液（以下、水相とする）のジクロロプロップを定量し、各土壌への吸着率を求めた。

高次試験：平衡化試験

50mL容遠沈管にそれぞれ量り取った各試験土壌5g（乾土相当量）を、スクリーニング試験と同様に平衡化し、これに試験溶液（ジクロロプロップ濃度 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）20mLを加えて密栓し、土壌/溶液比（1：5）で4、8、16及び24時間にわたって遮光条件下で攪拌した。各攪拌時間終了後に遠心分離し、水相のジクロロプロップを定量して平衡化時間を測定した。なお、平衡化時間は、水相ジクロロプロップ濃度の変化率が10%以下となった攪拌時間とした。

高次試験：吸着等温線試験

50mL容遠沈管にそれぞれ量り取った各試験土壌5g（乾土相当量）を、スクリーニング試験と同様に平衡化し、0.1、0.5、2及び $5\mu\text{g}/\text{mL}$ の4濃度段階の試験溶液20mLを加えて密栓し、遮光条件下及び 25°C で24時間攪拌した。遠心分離後、水相のジクロロプロップを定量して土壌吸着量を求めた。

水相濃度及び土壌吸着濃度から、フロイントリッヒ吸着等温式より土壌吸着係数（ K_F^{ads} ）及び吸着指数（ $1/n$ ）を算出した。また土壌吸着係数（ K_F^{ads} ）と各土壌の有機炭素含有率から、各土壌の有機炭素吸着係数（ K_F^{adsoc} ）を求めた。

なお、試験溶液濃度 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ の試験溶液を添加した土壌固相について、ジクロロプロップを定量し、水相と固相のジクロロプロップ含量を求めて物質収支を算出した。

試験結果：

スクリーニング試験：ジクロロプロップの土壌吸着率は高知土壌で8.4%、十勝土壌で41.5%、和歌山土壌で13.1%、宮崎土壌で11.8%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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

高次試験（平衡化試験）：4土壌とも4～8時間後、8～16時間後、16～24時間後のいずれの攪拌時間においても変化率は10%以下であり、16～24時間後の変化率は1～3%であった。従って、ジクロロプロップの平衡化時間を供試4種土壌とも24時間と設定した。

高次試験（吸着等温線試験）：得られた結果は次のとおりであった。

土壌（採取地）	土壌吸着係数 (K_F^{ads})	有機炭素吸着係数 (OC%)	有機炭素吸着係数 (K_F^{adsoc})
日植防高知試験場	0.611	1.24	49.3
北海道立十勝農試	3.36	2.45	137
和歌山県農試	0.961	2.17	44.3
日植防宮崎試験場	0.784	0.96	81.7

物質収支は4土壌とも97.4～102%であった。

代謝・動態のまとめ

ジクロルプロップ及びの動物（ラット）及び植物（りんご及び小麦）での代謝、土壌及び水中における動態の要約は下記のとおりであり、結果の概要を表 1 に、代謝分解経路を図 1 にそれぞれに示す。

1) 動物代謝試験（ラット）

ラットを用いた動物代謝試験として、¹⁴C 標識ジクロルプロップを投与した 2 試験（資料 No.代謝-1 及び代謝-2）、¹⁴C 標識を投与した 1 試験（資料 No.代謝-3）が実施された。

吸収及び排泄

ジクロルプロップを 117 mg/kg b.w.の投与量で単回投与した結果、主排泄経路は雌雄とも尿（腎排泄）であり、体外への放射能排泄は投与後 48 時間でほぼ終了した。単回投与後 0～96 時間の尿排泄放射能は 73.5% TAR（雄）～82.1% TAR（雌）であった。また投与後 0～24 時間の胆汁中に 44.4% TAR の放射能が認められ、単回経口投与されたジクロルプロップは腸肝循環を受けて主として尿に排泄されると考えられた（以上、資料 No.代謝-1）。

（以上、資料 No.代謝-3）。

薬物動態

ジクロルプロップを 117 mg/kg b.w.の投与量で単回投与した結果、雌雄の血漿中濃度は投与後 1.5 時間（Tmax）に最高濃度（Cmax、雄：319.00 µg eq/g、雌：372.00 µg eq/g）に到達した。雌雄とも血漿中濃度は投与後 3 時間に極端に低下（雄：228.00 µg eq/g、雌：180.00 µg eq/g）した後に、投与後 6 時間に上昇（雄：258.00 µg eq/g、雌：341.00 µg eq/g）し、腸肝循環によるものと考えられた。単回投与後 6 時間以降の血漿中濃度は、雌の投与後 24 時間で一過性の上昇が認められたものの雌雄とも減少し、投与後 96 時間には雌雄とも 2 µg eq/g 未満となった（以上、資料 No.代謝-1）。

(以上、資料 No.代謝-3)

臓器・組織内分布

ジクロルプロップを 117 mg/kg b.w.の投与量で単回投与した結果、時間の経過とともに臓器・組織内濃度の減少が認められ、特に投与後 24~48 時間に急速な濃度減少が認められた。

ジクロルプロップを 1mg/kg b.w.の投与量でそれぞれ 1、5、10 及び 14 日間反復経口投与した結果、全検査臓器・組織で低濃度の放射能が認められ、明確な蓄積性は認められなかったが雌雄とも経時的な脂肪中濃度の増加がわずかに認められた。全ての時点において、腎臓で最も高い臓器内濃度が認められたが肝臓の臓器内濃度は比較的 low、投与放射能が腎臓を介して速やかに排泄された (以上、資料 No.代謝-1)。

(以上、

資料 No.代謝-3)。

代 謝

ジクロルプロップを 117 mg/kg b.w.の投与量で単回投与して得られた尿試料では、種類の が認められ、そのうちの一つは未変化の親化合物ジクロルプロップ【P】であった (以上、資料 No.代謝-1)。

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

資料 No.代謝-1 と同投与量 (117 mg/kg b.w.) のジクロロプロップを雄に単回投与し、投与後 1.5 時間の血液 (血漿) 試料及び投与後 0~24 時間の尿試料を用いて代謝物の検討を行った。

血漿試料では未変化のジクロロプロップ【P】が血漿中放射能の 97.7~97.8% を占めており、尿試料では尿中放射能に対して未変化のジクロロプロップ【P】及び
がそれぞれ約 93% 及び % を占めていた。

血漿及び尿試料ともそれぞれ 種類の が認められたが、その生成量は血漿中及び尿中放射能に対してそれぞれ 1.0~1.4% 及び約 1% のみであった (以上、資料 No.代謝-2)。

(以上、資料 No.代謝-3)。

これらジクロロプロップ及び について行われた動物代謝試験では、放射能の吸収及び排泄は速やかであった。両化合物とも排泄は尿経路が主 (約 70~80%) であり、大部分が投与 48 時間以内に排泄された。糞からの排泄は最大でも約 10% であった。組織中分布も両化合物で同様であり、脂肪、皮膚及び卵巣での放射能濃度が比較的高かった。両化合物とも体内で代謝分解をほとんど受けず、排泄された放射能の大部分は親化合物であり、処理放射能の 10% を超える代謝物は認められなかった。

両化合物を用いた試験を比較した結果、両化合物の動物体内における動態に本質的な差異は認められなかった。

2) 植物代謝試験 (りんご及び小麦)

ジクロロプロップの植物代謝試験は、植物群「果実 (かんきつ、うり類を除く)」の代表として「りんご」(資料 No.代謝-4)、りんご以外の試験作物として「小麦」(資料 No.代謝-5) で ^{14}C 標識ジクロロプロップを用いてそれぞれ実施された。

りんご

^{14}C 標識ジクロロプロップを 31ppm 含有する水溶液を、りんご一枝の無袋果実、葉及び枝に 2 回の塗布処理を行い、第 1 回処理後 0 日、5 日、10 日 (第 2 回処理日)、15 日、20 日、25 日及び 31 日に、処理したりんご一枝から無袋果実及び有袋果実を収穫した。

無袋果実の総残留放射能 (TRR) は第 1 回処理後 0 日の 63.8ppb (親化合物等量) から第 2 回処理前 (第 1 回処理後 10 日) の 22.2ppb へと減少し、第 2 回処理後 (第 1 回処理後 10 日) の 62.9ppb から第 1 回処理後 25 及び 31 日にそれぞれ 48.0ppb

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

及び 47.9ppb へと減少した。

有袋果実では葉及び枝からの放射能移行が認められ、第 1 回処理後 20 日に最大値 13.4ppb が認められたが、同処理後 25 日及び 31 日にはそれぞれ 10.4ppb 及び 7.6ppb へと減少した。

第 1 回処理後 25 日の有袋果実において、主要放射成分は未変化の親化合物【P】及び であり、果実 TRR の 59.5%TRR を占めていた。

小 麦

^{14}C 標識ジクロロプロップカリウム塩として 64%含有処理液を水で希釈して小麦に 1 回の茎葉散布処理を行った。処理後 1 日、25 日及び 49 日に未成熟の小麦植物体（茎葉部）を採取し、処理後 102 日の収穫期に穀粒と藁を採取した。

総残留放射能（TRR）は、処理後 1 日、25 日及び 49 日の未成熟植物体で処理後 1 日試料の 39.11 mg eq/kg から処理後 49 日試料の 3.46 mg eq/kg へと経時的に減少し、抽出残留は 80.1%TRR（処理後 49 日試料）～96.6%TRR（処理後 1 日試料）であった。藁及び穀粒では、それぞれ 1.82 mg eq/kg 及び 0.126 mg eq/kg の TRR が認められ、その 28.6%及び 16.7%が抽出可能であった。

代謝物として、未変化の親化合物【P】の他、 が認められ、抽出放射能では未変化の親化合物【P】が主要代謝物であった。

3) 土壌中動態試験（好氣的土壌中動態試験、資料 No.動態-1)

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

4) 水中動態試験（加水分解動態試験及び水中光分解動態試験）

加水分解動態（資料 No. 動態-2）

水中光分解動態（資料 No. 動態-3 及び動態-4）

（以上、動態-3）。

滅菌自然水中においてもジクロロプロップは速やかに光分解され、実験条件下及び北緯35度の春期太陽光下のDT50値は、それぞれ2.35日及び8.9日であった。ジクロロプロップは広範囲に分解され、主要分解物として
が認められ、その他の分解物は
であった（以上、動態-4）。

4) その他（土壌吸着性、資料 No. 動態-5）

国内4土壌を用いて実施したジクロロプロップの土壌吸着係数 (K_F^{ads}) は0.611~3.36、有機炭素吸着係数 (K_F^{adsoc}) は44.3~137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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1. 代謝分解物の概要

試験\代謝分解物			代謝・分解物			結合 残留	合計	
			P		CO ₂			
動物	ジクロロプロップ 117 mg/kg b.w. 血漿：投与後 1.5 時間 尿：投与後 0~24 時間	血漿	対血漿中 放射能(%)	97.7~ 97.8			98.7~99.2	
		尿	対尿中放射 能 (%)	93			約 98	
	5mg kg b.w.単回投与 尿：投与後 0~6 時間 糞：投与後 0~24 時間	雄	尿	対投与量 (%)	14.11			15.81
			糞	対投与量 (%)	2.07			3.16
		雌	尿	対投与量 (%)	32.60			33.95
			糞	対投与量 (%)	1.51			2.84
植物	りんご 31ppm 処理溶液を 2 回塗布 第 1 回処理後 25 日	果実	%TRR	59.5		14.5	100.0	
			μg/g	6.19		1.51	10.4	
	小麦 64% 処理液 1 回茎葉散布	藁 (102 日後)	mg/kg	0.40			0.45	
		未成熟植物体 (49 日後)	mg/kg	2.20			2.72	

%TRR：総残留放射能に対する%。濃度：親化合物当量濃度。空欄は非検出を示す。

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

試験\代謝分解物			代謝・分解物			結合 残留	その他	合計	
			P		CO ₂				
土 壤	好氣的土壤中動態	%TAR							
水 中	加水分解動態	%TAR							
	水中光分解動態	%TAR							
	水中光分解動態 滅菌自然水、25°C 試験濃度：0.25µg/mL 380W/m ²	%TAR	1日	71.8				24.0	99.7
			3日	43.2				44.7	98.7
6日			17.1				57.8	96.4	
8日			6.8				58.0	95.4	

%TAR：処理放射能に対する%。空欄は非検出を示す。

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

図 1 : 代謝分解経路図

動	: 動物
植	: 植物
土	: 土壌
加水	: 加水分解
水光	: 水中光分解