

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) イヌを用いた 24 ヶ月間飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料No.27)

試験機関:

報告書作成年: 1975 年

検体の純度

供試動物

純系ビーグル犬、1 群 雌雄各 4 匹、

開始時 25~26 週 (雄 11.6~17.2kg、雌 9.1~13.4kg)

投与期間

24 カ月

投与方法

検体を 0、100、400、1600ppm の濃度で飼料に混合し、24 カ月にわたって
随時摂食させた。

投与量設定根拠:

試験項目及び結果

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。

死亡個体はなく、検体投与による一般状態への影響は認められなかつた。

体重変化 : 投与開始から 12 週については週 1 回、その後は 4 週間に 1 回体重を測定した。

検体投与による影響は認められなかつた。

摂餌量 : 投与開始から 12 週については週 1 回、その後は 4 週間に 1 回摂餌量を測定した。

検体投与による影響は認められなかつた。

検体摂取量 : 摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は次表のとおりである。

| 投与量 (ppm) | | 100 | 400 | 1600 |
|----------------------|---|-----|------|------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg/日) | 雄 | 2.7 | 10.7 | 43.7 |
| | 雌 | 2.8 | 10.6 | 44.7 |

申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液学的検査： 投与開始時、12、26、52、78 及び 103 週後の全ての動物について頸静脈より採血し、赤血球沈降速度、凝固時間、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、血小板数及び白血球分画を測定した。
対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

| 投与量 (ppm) | | 100 | | 400 | | 1600 | |
|-----------|----|-------|-------|------|------|------|------|
| 項目 | 週 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 赤血球沈降速度 | 52 | ↓ 25 | ↓↓ 14 | ↓ 22 | ↓ 22 | ↓ 27 | ↓ 22 |
| 白血球数 | 13 | ↑ 139 | | | | | |
| リンパ球数 | 13 | ↓ 43 | | | | | |
| 好中球数 | 13 | ↑ 140 | | | | | |
| 好塩基球数 | 52 | | ↑ 654 | | | | |
| 凝固時間 | 52 | | ↓ 73 | | | | |

↓ ↑ : P<0.05, ↓↓ ↑↑ P<0.01 (Dunnett の多重比較検定)

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

申請者註：原報告書では雌雄の値を合算して統計処理 (Wilcoxon の検定) を実施していたため、申請者が雌雄を分離して統計処理をした。

赤血球沈降速度が 52 週時の全投与群において低下したが、一過性であること、赤血球数、アルブミン、 γ グロブリンに変化がみられないことから、この変化に毒性学的意義はなく、検体投与による影響とは考えられない。

血液生化学検査： コリンエステラーゼ活性値の測定は、血漿及び赤血球については投与開始時、13、26、52、78 及び 103 週後に、頸静脈から採取した血液で、脳については剖検時に採取した試料で行った。
グルコース及び尿素窒素は投与開始時、13、26、52、78 及び 103 週後に測定した。
血清 GOT、GPT 及びアルカリホスファターゼ (SAP) は投与開始時、13、26、52、78 及び 103 週後に測定した。総血清蛋白及びアルブミンは投与開始時、13、26、52、78 及び 103 週後に測定し、更に同時に蛋白の電気泳動を行い、デンストメータで定量した。
肝機能試験は対照群及び 1600ppm 投与群について投与後 26、52、及び 103 週に、プロモスルホフタレイン (12.5 mg/kg 体重) の静注後 1 分及び 30 分に採血し、30 分後の残存率は 1 分及び 30 分の差から計算した。
剖検時、肝臓重量を測定後、肝臓のパラニトロアニソール-O-ジメチ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ルラーゼ (PNAD)及びグルコース-6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ (G6PD)活性の測定を行った。

対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を下頁に示す。

| 投与群 (ppm) | | 100 | | 400 | | 1600 | |
|------------------------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 項目 | 週 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 血漿コリンエステラーゼ活性 (対照群との比較) | 52 | | ↑ 146 | | | | |
| | 103 | | ↑ 181 | | | | |
| 血漿コリンエステラーゼ活性 (投与前値との比較) | 52 | ↓ 79 | | | | | |
| | 103 | ↓ 88 | | | | | |
| 赤血球コリンエステラーゼ活性 (投与前値との比較) | 13 | ↑ 112 | | ↑ 119 | | | |
| | 52 | | | ↑ 123 | | | |
| 血糖 | 78 | | | ↑ 114 | | | |
| GOT | 13 | ↓ 65 | | | | | |
| | 52 | ↓ 26 | | ↓ 42 | | | |
| SAP | 13 | | | | | ↑ 186 | |
| | 26 | | | | ↑ 102 | | |
| | 52 | | | | | ↑ 192 | |
| | 78 | | | | | ↑ 207 | |
| | 103 | | | | | ↑ 325 | |
| BUN | 13 | | | | | | ↓ 65 |
| | 26 | | ↑ 131 | | | | |
| | 103 | | ↑ 124 | | ↑ 121 | | |
| 総蛋白 | 52 | | ↓ 93 | | ↓ 91 | | ↓ 90 |
| | 78 | | | | ↓ 92 | | ↓ 91 |
| | 103 | | | | | | ↓ 91 |
| αグロブリン | 13 | | | | | | ↑ 118 |
| | 52 | ↓ 84 | | ↓ 82 | | | |
| | 103 | | | | | ↑ 111 | |
| βグロブリン | 13 | | | | ↓ 77 | | |

↓ ↑ : P<0.05, ↓↑ : P<0.01 (Dunnett の多重比較検定)

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

申請者註: 原報告書では雌雄の値を合算して統計処理 (Wilcoxon の検定) を実施していたため、申請者が雌雄を分離して統計処理をした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性には群間に差はみられず、投与開始前の値との比較でも投与の影響はみられなかった。*

1600ppm 投与群雄の 13、52、78 及び 103 週目に SAP が増加し、検体投与の影響と考えられた。1600ppm 群雌の 52、78 及び 103 週目に血清総蛋白の低下がみられ、投与の影響が疑われた。

GOT は 100 及び 400ppm 投与群雄の 52 週で減少が認められたが、用量相関性がなく、検体投与による影響とは考えられない。その他に検体投与による影響はみられなかった。

* 申請者註：原報告書では「1600ppm 投与群の脳コリンエステラーゼ活性の減少(雌雄合算値: $5.4 \mu\text{mol}/\text{SH}/\text{mg}/\text{g}$)が認められた。しかし、その値は正常範囲内 ($5.2 \sim 5.9 \mu\text{mol}/\text{SH}/\text{mg}/\text{g}$) であり、検体投与による影響とは考えられない。」との記載がある。

尿検査 : 投与開始時、12、26、52、78 及び 103 週目に全動物について外観、比重、pH、グルコース、蛋白、潜血、ケトン体、沈渣及び GOT を検査した。腎機能検査は対照群と 1600ppm 投与群の全動物について 26、52 及び 103 週目に、フェノールレッド (0.05 mg/kg 体重) の筋肉注射 1 時間後に膀胱から尿を採取して、尿中の全排泄フェノールレッドを測定した。以下に、対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を示す。

| 投与群 (ppm) | | 100 | | 400 | | 1600 | |
|-----------|-----|-----|---|-----|---|------|---|
| 項目 | 週 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 比重 | 103 | | | ↓99 | | | |

↓ ↑ : $P < 0.05$ (Dunnett の多重比較検定)

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

申請者註：原報告書では雌雄の値を合算して統計処理 (Wilcoxon の検定) を実施していたため、申請者が雌雄を分離して統計処理をした。

尿中に多量の赤血球が存在するイヌが散見されたが、導尿に起因するものと考えられた。その他に投与の影響を示唆する所見は見られなかった。

臓器重量 : 試験終了時の全生存動物を解剖し、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、肺、精巣／卵巣、下垂体、甲状腺、副腎及び脳の重量を測定し、また対体重比も算出した。

100ppm 群雄で脳相対重量が低下した (↓82) 以外、検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査: 試験終了時の全生存動物を対象に、肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査： 上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、重量測定臓器及び脊髄、坐骨神経、唾液腺、骨格筋、胸部大動脈、皮膚、リンパ節（扁桃部、腋窩、頸部及び腸間膜）、膀胱、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、脾臓、気管、肛門周囲腺、眼、精巣上体、前立腺、子宮、胆のう、舌、胸腺及び骨髄塗抹（肋骨）について病理標本を作成し、検鏡した。

非腫瘍性病変のうち発生頻度の高かったものは以下の通りである。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | | |
|-----------|----------------------------------|-----|-----|------|---|-----|-----|------|---|
| | 0 | 100 | 400 | 1600 | 0 | 100 | 400 | 1600 | |
| 投与量 (ppm) | 0 | 100 | 400 | 1600 | 0 | 100 | 400 | 1600 | |
| 検査動物数 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | |
| 腎臓 | 腎盂の炎症(軽度～重度) | 3 | 2 | 1 | 3 | 3 | 4 | 0 | 3 |
| | 腎乳頭間質の小石灰沈着 | 3 | 2 | 3 | 4 | 3 | 1 | 2 | 1 |
| | 近位尿細管上皮の褐色色素顆粒沈着 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 |
| 小腸 | 細胞残屑を含んだ粘膜のう胞 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| 膀胱 | 粘膜及び粘膜下組織の単核炎症細胞の浸潤 | 2 | 1 | 0 | 4 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| 前立腺 | 主として尿道周囲の炎症(中等度) | 3 | 2 | 1 | 2 | / | | | |
| 副腎 | 束状帯におけるしばしば核濃縮を伴う明調な膨化した空胞を有する細胞 | 1 | 0 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 |

病変は対照群及び検体投与群とに同等に分布しているものであり、又供試動物に一般的にみられる病変であり、検体投与による影響とは考えられない。

以上の結果から、BPMC 原体のイヌを用いた 24 カ月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、1600ppm 群雄のアルカリホスファターゼ活性の増加、同群雌で血清総蛋白の低下が認められた。したがって、無毒性量は 400ppm (雄 10.7 mg/kg/日、雌 10.6 mg/kg/日)であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ラットを用いた 24 ヶ月間飼料混入投与による発がん性試験

(資料No.28)

試験機関:

報告書作成年: 1975 年

検体の純度

供試動物

ウイスター系ラット、1 群雌雄 50 匹

開始時 雄 41~64g、雌 39~63g

投与期間

24 ヶ月

投与方法

検体を 0、10、30 及び 100ppm の濃度で、飼料に混合し、24 ヶ月間にわたって随時摂食させた。飼料は 2 週間に 1 度調製した。

試験項目及び結果

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死は毎日観察した。

対照群と検体投与群の間には、一般状態及び行動には差が認められなかった。1 年半後以降、対照群を含む全試験群に加齢性の変化が認められた。

各群の累積死亡状況を次表に示す。

| 性別 | 投与量 (ppm) | 累積死亡数 (週) | | | | | | | | |
|----|--------------|-----------|----|----|----|----|-----|----|----|-----|
| | | 12 | 24 | 36 | 48 | 60 | 72 | 84 | 96 | 104 |
| 雄 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 11 | 23 | 32 |
| | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 13 | 27 | 35 |
| | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 14 | 19 | 25 |
| | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 8 | 15 | 26 | 31 |
| 雌 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 7 | 11 | 21 | 26 |
| | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0** | 4* | 13 | 20 |
| | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 7 | 15 | 22 |
| | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0** | 4* | 12 | 21 |

* P<0.05, **P<0.01 (χ^2 検定)

投与開始から 60 週はわずかな死亡個体がみられたのみであったが、試験期間の最後の数ヶ月には対照群を含め全群において漸次死亡個体が増加した。

死因の大部分は腫瘍又は加齢性病変によるものであった。雌の 10 及び 100ppm 投与群の 72 週及び 84 週に死亡数がやや減少したが、対照群の死亡率が高いことに起因した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

体重変化： 投与開始から4週間は週1回、5週目から12週目までは2週間に1回、その後は4週間に1回体重を測定した。
雌の30ppm投与群の104週目に体重がやや低下した以外、全試験期間を通じてほぼ同等であり、検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量： 測定しなかった。

検体摂取量：

| 投与量(ppm) | | 10 | 30 | 100 |
|----------------------|---|------|-----|-----|
| 平均検体摂取量 (mg/kg/日) | 雄 | 0.41 | 1.2 | 4.1 |
| | 雌 | 0.49 | 1.5 | 4.9 |

[申請者註] 摂餌量を測定していないため計算不能であるが、本試験は資料 No.26 と同時期に、同じ試験機関で実施されている。また、検体純度の同じ原体を使用し、投与量も0、10、30、100ppm (No.26 ではさらに300ppm) であることから、No.26 の検体摂取量と同等と考えてよいと判断される。但し、No.26 の10ppm 群は16週で試験を中止しているため計算できなかったため、100ppm 群の1/10とした。

肉眼的病理検査： 試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、肉眼的病理検査を行った。
剖検時の肉眼的病理検査で検体投与と関連付けられるような変化は認められなかった。

観察された変化は加齢性変化と関連していた。

病理組織学的検査： 上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、脳、生殖器、副腎、胸腺、肺、気管、唾液腺、胃腸管系、食道、膵臓、膀胱、骨格筋、脊髄、皮膚、腋窩リンパ節、腸間膜リンパ節、大動脈、乳腺、下垂体、甲状腺、上皮小体、眼窩涙腺、包皮腺、子宮、前立腺、精囊及び肉眼的病変部について、病理標本を作成し、検鏡した。
すべての検査動物を対象とした腫瘍性病変の発生頻度を次頁以降の表1に示す。また、腫瘍発生数のまとめを表2に示す。
表1に示される腫瘍はこの系統の動物では一般的に観察されるものであり、それらの腫瘍は対照群と検体投与群にほぼ等しく分布しており、検体投与による影響はみられなかった。また、各群における担腫瘍動物数、腫瘍総数、腫瘍数は表2の通りであり、腫瘍の発生数に関して検体投与による影響はなかった。

以上の結果から、BPMC 原体のラットを用いた24ヵ月間飼料混入投与による発癌性試験において、最高投与量の100ppmにおいても発がん性は認められなかった。

申請者註：本試験の無毒性量は100ppm(雄：4.1mg/kg/日、雌：4.9mg/kg/日)と判断される。

表1 腫瘍性病変の発生頻度<全動物>

| 臓器・病変 | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|---------------|--------------|----|----|-----|----|----|----|-----|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 肺: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| リンパ細網肉腫(M) | 15 | 22 | 20 | 15 | 10 | 8 | 8 | 8 |
| 線維肉腫(M) | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 平滑筋肉腫(B) | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 気管支腺腫(B) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 副腎: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 褐色細胞腫(B) | 14 | 23 | 18 | 16 | 4 | 1 | 1 | 2 |
| 褐色細胞腫(M) | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 下垂体: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 色素嫌性腺腫(B) | 6 | 2 | 5 | 2 | 7 | 9 | 6 | 12 |
| 甲状腺: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 濾胞細胞癌(M) | 3 | 3 | 3 | 2 | 4 | 6 | 8 | 2 |
| 細網細胞肉腫(M) | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 乳腺: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 腺癌(M) | 1 | 1 | 0 | 0 | 6 | 8 | 10 | 10 |
| 線維腺腫(B) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 |
| 線維肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 線維腫(B) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 平滑筋肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 腸間膜リンパ節: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 細網細胞肉腫(M) | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| リンパ肉腫(M) | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 脾臓: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 細網細胞肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 血液: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 単球性白血病(M) | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| リンパ球性白血病(M) | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 肝: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 線維肉腫(M) | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 間葉肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 膵臓: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 外分泌腺癌(M) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 胸腺: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 細網細胞肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 平滑筋肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

χ^2 検定: 有意差なし

(N=)検査動物数, 表中の数値は所見発生数

(B)良性腫瘍, (M)悪性腫瘍

表 1 腫瘍性病変の発生頻度<全動物、続き>

| 臓器・病変 | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|--------------|--------------|----|----|-----|----|----|----|-----|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 子宮: (N=) | / | / | / | / | 45 | 39 | 39 | 46 |
| ポリープ(B)、線維腫様 | / | / | / | / | 1 | 1 | 0 | 0 |
| ポリープ(B)、腺腫様 | / | / | / | / | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 内膜腺腫(B) | / | / | / | / | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 線維肉腫(M) | / | / | / | / | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 卵巣: (N=) | / | / | / | / | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 莢膜細胞腫(B) | / | / | / | / | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 結腸: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 細網細胞肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 皮下: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 分類不能な腫瘍 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 咽頭領域: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 分類不能な上皮性腫瘍 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 小腸: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 細網細胞肉腫(M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 腺癌(M) | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 脳: (N=) | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 分類不能な腫瘍 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

χ^2 検定: 有意差なし

(N=) 検査動物数, 表中の数値は所見発生数

(B) 良性腫瘍, (M) 悪性腫瘍

表 2. 腫瘍発生数のまとめ

| 臓器・病変 | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|------------------------|--------------|----|-----|-----|----|----|-----|-----|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 0 | 30 | 100 | 300 |
| 供試動物数 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 有効動物数 ^{a)} | 49 | 48 | 47 | 44 | 45 | 39 | 39 | 46 |
| 腫瘍総数 ^{b), c)} | 47 | 58 | 53 | 41 | 39 | 40 | 40 | 43 |
| 腫瘍を有する動物数 | 31 | 30 | 36 | 27 | 30 | 24 | 28 | 30 |

a): 死後の自己融解により検査できなかった個体があるため、供試動物数より少ない

b): 分類不能の腫瘍があったため、良性および悪性に分けての集計は実施できなかった。

c): 2種類以上の腫瘍を有する動物が数匹いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) マウスを用いた 24 ヶ月間飼料混入投与による発がん性試験

(資料No.29)

試験機関:

報告書作成年: 1982 年

試験の目的

検体の純度

供試動物

B₆C₃F₁ マウス、1 群雌雄 50 匹

開始時 6 週齢 (雄 23~29g、雌 18~23g)

投与期間

24 カ月

投与方法

検体を 0、0.3 及び 3ppm の濃度で飼料に混入し、24 カ月間にわたって随時摂食させた。飼料は 3 カ月に一度調製した。飼料中の BPMC の分析は、ガスクロマトグラフ法で行った。亜硝酸ナトリウム (NaNO₂) は 0 及び 200ppm の濃度で飲水に混入し、24 カ月にわたって随時与えた。

各試験群は以下の通りである。

| 群名 | C-1 | C-2 | T-1 | T-2 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|
| BPMC の投与量 (ppm) | 0 | 0 | 0.3 | 3 |
| 亜硝酸ナトリウムの投与量(ppm) | 0 | 200 | 200 | 200 |

投与量設定根拠:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験項目及び結果

一般状態及び死亡率： 一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間中の累積死亡数を次表に示す。

検体投与に起因すると思われる一般状態の変化は認められなかった。

| 性別 | 群名※ | 累積死亡数 (週) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|
| | | 1 | 29 | 33 | 37 | 41 | 45 | 49 | 53 | 57 | 61 | 65 | 69 | 73 | 77 | 81 | 85 | 89 | 93 | 97 | 101 |
| | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | 28 | 32 | 36 | 40 | 44 | 48 | 52 | 56 | 60 | 64 | 68 | 72 | 76 | 80 | 84 | 88 | 92 | 96 | 100 | 104 |
| 雄 | C-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 5 | 6 | 7 | 9 | 11 | 11 | 19 | 23 | 26 | 27 | |
| | C-2 | 0 | 1 | 1 | 3 | 4 | 4 | 4 | 7 | 8 | 9 | 9 | 12 | 18 | 20 | 23 | 24 | 26 | 28 | 29 | |
| | T-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 | 6 | 8 | 9 | 9 | 10 | 14 | 15 | 15 | 21 | 23 | 25 | |
| | T-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 10 | 12 | 12 | 13 | 16 | 18 | 22 | 26 | |
| 雌 | C-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 5 | 8 | 11 | 13 | 16 |
| | C-2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 5 | 7 | 8 | 11 | 12 | 15 | 18 | 21 |
| | T-1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 | 4 | 5 | 8 | 9 | 12 |
| | T-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 3 | 3 | 5 | 7 | 12 | 15 |

***: P<0.01 (Fisher の直接確率法)
(C-1 群との比較)

※ C-1 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 0ppm
 C-2 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-1 BPMC: 0.3ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-2 BPMC: 3.0ppm, NaNO₂: 200ppm

雄の C-2 群が 101 週において生存数が 20 匹以下になった為、全例屠殺、解剖をした。

雄の C-2 群の 73~84 週において死亡率に有意差が認められたが、肉眼的病理所見及び病理組織学的所見には、この有意な変化に対応する特異的な要因は認められなかったことから、この死亡率の変動は偶発的な変化であると考えられた。

体重変化: 投与開始から 13 週目までは週 1 回、その後は 4 週間に 1 回、体重を測定した。

対照群 (C-1) と比べ統計学的有意差の認められた時期を次表に示す。

雄の C-2 群の投与 140 日~392 日において有意差が認められ、全試験期間を通して体重の増加が認められた。しかし、最終屠殺時には、C-1 群と比べ全投与群の体重は同等であり、検体投与による影響は認められなかった。

群別平均体重(g)

| 性別 | 群名※ | 経過日数 | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 140 | 168 | 196 | 224 | 252 | 280 | 308 | 336 | 364 | 392 | 420 | 448 | 560 | 728 |
| 雄 | C-1 | 47.13 | 48.88 | 50.87 | 50.99 | 52.67 | 52.78 | 54.12 | 53.48 | 52.83 | 52.61 | 53.11 | 51.32 | 47.90 | - |
| | C-2 | ↑ 49.37 | ↑ 51.13 | ↑ 52.91 | ↑ 52.91 | ↑ 54.84 | ↑ 54.21 | ↑ 55.54 | ↑ 55.14 | ↑ 55.38 | ↑ 54.78 | ↑ 54.45 | ↑ 53.16 | ↑ 50.94 | - |
| | T-1 | 47.67 | 49.56 | 51.31 | 50.93 | 53.14 | 53.52 | 53.99 | 53.47 | 53.54 | 52.74 | 53.06 | 52.65 | 49.99 | - |
| | T-2 | 47.82 | 49.08 | 51.45 | 50.83 | 51.72 | 52.47 | 53.18 | 52.21 | 51.94 | 51.87 | ↓ 50.66 | 50.35 | 49.77 | - |
| 雌 | C-1 | 36.87 | 41.98 | 46.00 | 47.68 | 51.15 | 52.71 | 55.36 | 56.45 | 57.44 | 57.46 | 59.66 | 60.27 | 61.62 | 51.61 |
| | C-2 | 37.96 | 42.75 | 46.45 | 47.70 | 51.41 | 53.68 | 55.68 | 56.99 | 58.00 | 57.83 | 59.28 | 59.19 | 61.53 | 53.89 |
| | T-1 | 37.42 | 41.87 | 44.51 | 46.05 | 49.41 | 51.29 | 53.98 | 55.22 | ↓ 55.49 | ↓ 56.11 | ↓ 57.62 | 59.58 | 61.03 | 54.45 |
| | T-2 | 37.33 | 41.00 | 44.16 | 46.29 | 49.55 | 52.33 | 54.39 | 56.46 | 57.19 | 57.99 | 59.30 | 59.85 | 61.60 | ↑ 56.04 |

↓ ↑ : P<0.05, ↓ ↑ : P<0.01, ↑ ↓ : P<0.001 (Student の t 検定)

(C-1 群との比較)

- ※ C-1 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 0ppm
 C-2 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-1 BPMC: 0.3ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-2 BPMC: 3.0ppm, NaNO₂: 200ppm

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

摂餌量： 全動物の摂餌量を4週間に1回測定した。
 対照群 (C-1) と比べ、統計学的有意差の認められた時期を次表に示す。
 雄の C-2 群の摂餌量は体重に有意な増加の認められた時期とほぼ同時
 期に有意な増加が認められた。
 検体投与による影響は認められなかった。

群別平均摂餌量 (g/匹/日)

| 性別 | 群名※ | 経過日数 | | | | | | | | | | |
|----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 35 | 91 | 119 | 147 | 175 | 203 | 287 | 343 | 371 | 399 | 567 |
| 雄 | C-1 | 6.40 | 6.12 | 6.60 | 6.57 | 6.67 | 6.25 | 6.19 | 6.22 | 6.18 | 5.17 | 6.05 |
| | C-2 | 7.20 | ↑6.93 | 7.20 | 6.81 | 6.58 | 6.50 | ↑7.19 | ↑7.20 | 6.80 | ↑7.65 | 6.61 |
| | T-1 | 6.98 | ↑6.84 | 6.60 | 6.15 | ↓5.97 | 5.84 | 6.52 | 5.82 | 5.65 | 4.18 | 6.48 |
| | T-2 | 7.12 | 6.25 | ↓5.41 | ↓5.82 | 6.01 | 5.57 | 6.36 | ↓5.50 | 5.59 | 4.92 | 5.35 |
| 雌 | C-1 | 7.14 | 7.08 | 7.32 | 6.77 | 6.90 | 6.17 | 6.77 | 6.90 | 6.67 | 6.72 | 5.90 |
| | C-2 | ↓6.98 | 7.14 | 7.13 | 6.93 | 6.74 | 6.44 | 7.00 | 7.23 | 7.08 | 7.27 | 6.26 |
| | T-1 | 6.78 | 7.14 | ↓7.07 | 6.10 | ↓6.53 | ↓5.14 | 6.94 | ↓5.72 | ↓5.08 | 6.30 | 6.83 |
| | T-2 | 6.78 | 6.99 | ↓6.12 | 6.57 | 6.82 | 6.07 | 6.57 | ↓5.54 | 6.46 | 6.65 | ↓5.26 |

↓ ↑ : P<0.05, ↓↑ : P<0.01 (Student の t 検定) (C-1 群との比較)

※ C-1 BPMC: 0ppm, NaNO₂ : 0ppm
 C-2 BPMC: 0ppm, NaNO₂ : 200ppm
 T-1 BPMC: 0.3ppm, NaNO₂ : 200ppm
 T-2 BPMC: 3.0ppm, NaNO₂ : 200ppm

飲水量： 全動物の飲水量を4週間に1回測定した。
 対照群 (C-1) と比べ、統計学的有意差の認められた時期を次表(次頁)に
 示す。
 有意な変動が散見されたが、一定した傾向は認められず、検体投与によ
 る影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

群別平均飲水量 (g/匹/日)

| 性別 | 群名※ | 経過日数 | | | | | | | | | |
|----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 7 | 35 | 63 | 147 | 175 | 259 | 287 | 315 | 343 | 483 |
| 雄 | C-1 | 5.82 | 5.76 | 5.88 | 6.72 | 6.73 | 6.34 | 6.38 | 6.11 | 6.11 | 5.74 |
| | C-2 | 5.34 | 5.79 | 5.74 | 6.31 | ↓6.20 | 6.30 | 5.99 | 5.93 | 6.15 | 6.32 |
| | T-1 | 5.54 | 5.86 | 5.93 | 6.38 | 6.54 | 6.45 | 6.22 | 6.37 | 6.08 | 6.17 |
| | T-2 | 5.90 | 5.82 | 5.84 | ↓6.12 | ↓6.02 | 6.21 | 6.09 | 6.25 | 5.86 | 6.32 |
| 雌 | C-1 | 4.05 | 4.84 | 4.43 | 4.81 | 4.21 | 3.41 | 3.53 | 3.42 | 3.53 | 3.41 |
| | C-2 | ↑4.24 | 4.67 | 4.49 | 4.60 | 4.03 | 3.46 | 3.50 | 3.54 | 3.42 | ↑4.23 |
| | T-1 | 3.85 | ↓4.43 | 4.23 | 4.65 | 4.25 | ↑3.61 | ↑3.87 | 3.59 | ↓3.31 | ↑4.09 |
| | T-2 | 3.89 | ↓4.32 | ↓4.04 | 4.47 | 4.08 | ↑3.68 | ↑3.79 | ↑3.83 | 3.39 | ↑4.11 |

↓ ↑: P<0.05, ↓↑: P<0.01, ↑↓: P<0.001 (Student の t 検定) (C-1 群との比較)

※ C-1 BPMC: 0ppm, NaNO₂ : 0ppm
 C-2 BPMC: 0ppm, NaNO₂ : 200ppm
 T-1 BPMC: 0.3ppm, NaNO₂ : 200ppm
 T-2 BPMC: 3.0ppm, NaNO₂ : 200ppm

検体摂取量: 摂餌量、飲水量及び投与濃度から算出した 1 日あたりの平均摂取量は次表の通りである。

| 群名 | | C-2 | T-1 | T-2 |
|--------------------------------|------------|------|-------|------|
| BPMC 平均摂取量 (mg/kg/日) | 設定濃度 (ppm) | 0 | 0.3 | 3.0 |
| | 雄 | - | 0.037 | 0.30 |
| | 雌 | - | 0.038 | 0.27 |
| 亜硝酸ナトリウム 平均摂取量 (mg/kg/日) | 設定濃度 (ppm) | 200 | 200 | 200 |
| | 雄 | 23.6 | 20.2 | 23.3 |
| | 雌 | 14.6 | 14.6 | 14.8 |

血液学的検査: 解剖時の動物をエーテル麻酔下で心臓より採血し、赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCV、MCH、MCHC 及び網状赤血球を測定し、又白血球分画を求めた。

対照群 (C-1) と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

各群の雄において単球分画の増加がみられたが、リンパ肉腫、リンパ性白血病に起因することが病理組織学的に確認された。

その他には検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液学的検査の結果表

| 群名※ | | C-2 | | T-1 | | T-2 | |
|--------------|----|------|-----|-----|------|-----|-----|
| 項目 | 性別 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 血小板数 | | 111 | 119 | 105 | ↑122 | 116 | 113 |
| ヘマトクリット値 | | 98 | ↓92 | 107 | 95 | 99 | 95 |
| 白血球 単球分画 (%) | | ↑383 | 67 | 333 | 127 | 200 | 60 |

↓ ↑ : P<0.05 (Student の t 検定)

※ C-1 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 0ppm
 C-2 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-1 BPMC: 0.3ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-2 BPMC: 3.0ppm, NaNO₂: 200ppm

表中の数値は C-1 群(無処置対照群)を 100 とした時の相対値。

臓器重量: 解剖時の胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巣、精巣、脳、甲状腺及び下垂体の重量を測定し(絶対重量)、また対体重比も算出した(相対重量)。

対照群(C-1)と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。雄の T-2 群の脳及び精巣重量(絶対重量)に有意差が認められたが、対体重比では有意差が無く、病理組織学的に異常が認められなかったため、検体投与による影響とは考えられなかった。

| 群名※ | | C-2 | | T-1 | | T-2 | |
|---------|----|------|-----|-----|-----|------|-----|
| 項目 | 性別 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 脳 絶対重量 | | ↑102 | 104 | 102 | 101 | ↑103 | 100 |
| 精巣 絶対重量 | | 103 | | 109 | | ↑124 | |

↑: P<0.01 (Student の t 検定)

※ C-1 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 0ppm
 C-2 BPMC: 0ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-1 BPMC: 0.3ppm, NaNO₂: 200ppm
 T-2 BPMC: 3.0ppm, NaNO₂: 200ppm

表中の数値は C-1 群(無処置対照群)を 100 とした時の相対値。

肉眼的病理検査: 試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として、検査を行った。試験期間を 4 期に分けた(1~12 ヶ月、13~18 ヶ月、19~24 ヶ月、最終屠殺)。各期間における肉眼的病理検査の結果は次の通りであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

雄においては、1～12カ月の解剖例ではペニスの咬傷と、それに伴う膀胱の著しい膨満及び肺うっ血が認められ、13～18カ月の解剖例では前述の病変の他に、肝臓に腫瘤、結節が認められ、19～24カ月の解剖例では、これらの所見に加えて、脾臓やリンパ節、胸腺の腫大、腎臓の腫大や表面粗造が認められた。24カ月時の最終屠殺例では肝臓の腫瘤・結節、腎臓の腫大・表面粗造、脾臓やリンパ節、胸腺の腫大が認められ、皮膚の腫瘤も散発性にみられた。

雌においては、19～24カ月の解剖例では、肝臓の腫瘤・結節、脾臓やリンパ節の腫大、子宮の腫大が認められ、24カ月最終屠殺例では前述の病変の他に、胸腺の腫大、肺の結節、下垂体の腫瘤・腫大が認められた。

以上の肉眼的病理検査では各投与群間において有意な差はなく、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査： 上記肉眼病理検査を実施した動物を対象として、肉眼的病変部、腫瘍部組織塊及びその所属リンパ節、皮膚、乳腺、顎下リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、胸骨、胸腺、舌、喉頭気管、肺及び気管支、心臓、甲状腺、上皮小体（甲状腺のスライドに存在する場合のみ）、胃、十二指腸、大腸、直腸、腸間膜リンパ節、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢、前立腺、精巣、卵巣、子宮、膣、脳、下垂体について、病理標本を作成し、検鏡した。

すべての検査動物を対象とした腫瘍性病変の発生頻度を表1に示す。また、腫瘍発生のまとめを表2に示す。

〈非腫瘍性病変〉 非腫瘍性病変について、対照群（C-1）と比べ統計学的有意差の認められた変化を次表に示す。

| 群名※ | | C-1 | | C-2 | | T-1 | | T-2 | |
|-----------------|----|------|-------|------|-------|-------|--------|-------|--------|
| 項目 | 性別 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 尿管上皮の萎縮 | | 0/50 | 3/50 | 0/49 | 2/50 | 3/49 | 2/49 | ↑5/49 | 0/50 |
| 腸間膜リンパ節のリンパ球過形成 | | 0/50 | 1/50 | 1/48 | 0/49 | ↑5/47 | 3/48 | 0/50 | 3/49 |
| 子宮内膜嚢胞状過形成 | | — | 15/49 | — | 14/49 | — | ↑29/49 | — | ↑25/49 |
| 子宮溜水症 | | — | 18/49 | — | ↓8/49 | — | ↓8/49 | — | ↓4/49 |

↓↑:P<0.05, ↓↓:P<0.01, ↑↓:P<0.001 (Fisherの直接確率法)

※ C-1 BMPC : 0ppm , NaNO₂ : 0ppm
 C-2 BMPC : 0ppm , NaNO₂ : 200ppm
 T-1 BMPC : 0.3ppm , NaNO₂ : 200ppm
 T-2 BMPC : 3.0ppm , NaNO₂ : 200ppm

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

雄の T-2 群において尿細管上皮の萎縮が有意に増加したが、これはペニスの咬傷によると思われる膀胱の膨満による影響と考えられた。病理組織学的に尿のうっ滞に起因した腎尿細管上皮の圧迫萎縮、恐らく感染によると思われるリンパ組織の壊死、肺のうっ血を特徴とするものが多く、ペニス咬傷による排尿障害に起因した急性尿毒症と診断された。これらを除外すると C-1 群との間に有意差がなく、本病変が BPMC 及び亜硫酸ナトリウム同時投与に起因するものとは考えられない。

腸間膜リンパ節のリンパ球過形成は、雄 T-1 群では有意な差が認められたが、この変化が認められた大部分の例は、腹腔内諸器官に炎症や腫瘍を伴うものが多いことから、反応性の変化と考えられた。

子宮内膜の嚢胞状過形成は雌の T-1 及び T-2 群で有意に増加し、子宮溜水症は C-2、T-1 及び T-2 群で有意に減少したが、子宮内膜の過形成像は老齢マウスでは頻繁にみられる変化であり、このうちホルモンのアンバランスを示すものでは、過形成子宮内膜から分泌される粘液が子宮内に貯溜して子宮溜水症となる。従って、嚢胞状過形成と子宮溜水症は同一カテゴリーの変化と考えられ、これらを同一病変として扱い解析すると各投与群間に有意な差は認められなかった。

なお、非腫瘍性病変の中で、BPMC と亜硝酸ナトリウムの同時投与によると考えられる前癌性変化は認められなかった。

〈腫瘍性病変〉 腫瘍性病変について、対照群 (C-1) と比べ統計学的有意差の認められた変化及び発生頻度の高かった変化を次表に示す。

| 群名※ | C-1 | | C-2 | | T-1 | | T-2 | | |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | |
| 腫瘍発生 (全期間) | 41/50 | 45/50 | 40/50 | 46/50 | 36/49 | 41/50 | 38/49 | 45/50 | |
| 頻度 (最終屠殺時) | 19/23 | 28/31 | 16/18 | 27/29 | 20/24 | 29/37 | 20/23 | 30/34 | |
| 肝臓 | 肝芽細胞腫 | 10/50 | 1/50 | 11/49 | 2/50 | ↓ 2/49 | 1/49 | ↓ 2/49 | 3/50 |
| | 肝細胞腺腫 | 17/50 | 12/50 | 14/49 | 13/50 | 16/49 | 15/49 | 13/49 | 10/50 |
| | 肝細胞癌 | 18/50 | 7/50 | 16/49 | 5/50 | 13/49 | 4/49 | 12/49 | 3/50 |
| 肺 | 乳頭腺腫 | 4/50 | 0/50 | 3/50 | 1/50 | 4/49 | ↑ 6/50 | 5/49 | 4/49 |
| | 乳頭腺癌 | 3/50 | 3/50 | 1/50 | 4/50 | 1/49 | 2/50 | 5/49 | 1/49 |
| 皮膚 | 線維肉腫 | 2/50 | 1/50 | 1/49 | 0/50 | 3/49 | 1/49 | ↑ 8/49 | 2/50 |
| 胃 | 扁平上皮癌 | 0/48 | 0/49 | 0/46 | 0/46 | 0/44 | 0/48 | 1/44 | 1/48 |

↓ ↑ : P<0.05 (Fisher の直接確率法)

※ C-1 BPMC : 0ppm , NaNO₂ : 0ppm
 C-2 BPMC : 0ppm , NaNO₂ : 200ppm
 T-1 BPMC : 0.3ppm , NaNO₂ : 200ppm
 T-2 BPMC : 3.0ppm , NaNO₂ : 200ppm

雌雄とも腫瘍の発生頻度は全期間及び最終屠殺時においても対照群(C-1)に比較して統計学的に有意な差を認めなかった。

肝芽細胞腫が、雄 T-1 及び T-2 群において有意な減少を示したが、肝芽細胞腫を肝細胞癌(hepatocellular adenocarcinoma)の一亜型、即ち同一起源の腫瘍の分化程度の違いとしてみるものが多い。本試験においても、肝芽細胞腫発生例の大部分は、肝細胞腺腫又は肝細胞癌を併発しており、形態学的には3種に分類されるこれらの腫瘍を1つの統計単位として捉え、肝細胞腺腫、肝細胞癌及び肝芽細胞腫のいずれかをもつ動物数をまとめて集計した結果、各投与群間において有意な差は認められず、T-1、T-2 群における肝芽細胞腫の有意な減少はBPMC投与による腫瘍の発生の抑制に基づくものとは考えられない。

肺の乳頭腺腫が、雌 T-1 群において有意な増加を示した。B₆C₃F₁ マウスでは肺の乳頭腺腫が比較的頻繁に自然発生し、発生頻度は10%以上と報告¹⁾されている。本試験におけるC-1群とT-1群との有意差は、C-1群雌においてたまたま自然発生が認められなかったことに由来する偶発的事象と考えられる。また、病理形態学上腫瘍の良性と悪性の区別は重要であるが、乳頭腺腫から乳頭腺癌への移行像も多く、これらの腫瘍を1つの統計単位として捉え、いずれかの腫瘍をもつ個体を集計した結果、各投与群間において有意差は認められなかった。従って、T-1群における乳頭腺腫の有意な増加はBPMC投与による発がん作用を意味する変化ではないと考えられる。

皮膚の線維肉腫が、雄 T-2 群において有意な増加を示したが、経口投与による線維肉腫のような間葉系腫瘍の発生は知られていない。又、雌 T-2 群において増加傾向は認められず、B₆C₃F₁ マウスも含めて、マウスの皮膚線維肉腫の自然発生頻度は0~1%である^{2,3)}が、時には8%にも及ぶ例があり⁴⁾、必ずしも稀な腫瘍ではなく、従って偶発的に今回のような分布をとる可能性もあり、今回の試験におけるT-2群での皮膚線維肉腫の有意な増加は検体投与に起因するものとは考えられず、偶発的な事象と考えられる。

- 1) Vesselinovitch, S.D., Rao, K.V.N., Mihailovich, N., Rice, J.M. and Lombard, L.S.: Development of broad spectrum of tumors by ethylnitrosourea in mice and the modifying role of age, sex and strain. *Cancer Research*, Vol.34, pp.2530-2538, 1974
- 2) Benirschke, K., Garner, F.M., Jones, T.C., et. al.: Tumors. Integumentary system. *Pathology of Laboratory Animals*. Springer-Verlag New York Inc., Vol. II, 1059-1074, 1978
- 3) Ward, J.M., Goodman, D.G., Square, R.A., Chu, K.C. and Linhart, M.S.: Neoplastic and Nonneoplastic Lesions in Aging (C57BL/6N × C3H/HeN)F₁(B₆C₃F₁) Mice. *JNCI*, Vol. 63, No. 3, pp. 849-854, 1979
- 4) Philip, L.A. and Katz, D.D.: Strain incidence of spontaneous fibrosarcoma. Inbred and genetically defined strain of laboratory animals. *Biological handbooks III*. Federation of American Societies for experimental biology, U.S.A., pp. 210-211, 1979.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

胃の腫瘍について、BPMC と亜硝酸ナトリウムを同時に投与すると、胃内で N-ニトロソカーバメートの生成が予測される。N-ニトロソカーバメートは経口発がん試験で、前胃に扁平上皮癌を誘発することが知られている²⁾。B₆C₃F₁ マウスにおける前胃の扁平上皮癌の自然発生頻度は 0~1%であるが、今回の試験の T-2 群における発生頻度は、雌雄とも約 2%で若干高い発生頻度を示した。N-ニトロソ NAC の経口発がん性試験においては、扁平上皮癌の前癌病変として角化症及び乳頭腫の発生が示唆されており、これらの病変に引続き扁平上皮癌が頻発している⁵⁾。しかし、本試験ではそのような前癌病変は認められていない。以上のことから、T-2 群で発生した胃の腫瘍は BPMC と亜硝酸ナトリウムの同時投与に起因した変化であるとは考え難く、偶発的な事象と考えられる。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は表 2 のとおりであり、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。

以上の結果から、BPMC 原体を亜硝酸ナトリウムとともに投与したマウスを用いた 24 ヶ月発がん性試験において、最高投与群 (BPMC3.0ppm、NaNO₂ 200ppm) においても発がん性は認められなかった。

申請者註: 本試験における無毒性量は、雄:0.30mg/kg/日、雌:0.27mg/kg/日と判断される。

5) Eisenbrand, G., Schmahl, D. and Preussmann, R.: Carcinogenicity in rats of high oral doses of N-nitroso Carbaryl, A Nitrosated Pesticides. Cancer Letters, 1, 281-284, 1976.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表1 腫瘍性病変の発生頻度<全動物>

| 臓器・病変 | BPMC (ppm): NANO ₂ (ppm): | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|--------------------|---|--------------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 |
| | | 0 | 200 | 200 | 200 | 0 | 200 | 200 | 200 |
| 肝: | (N=) | 50 | 49 | 49 | 49 | 50 | 50 | 49 | 50 |
| 線維肉腫(M) | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 肝細胞腺腫(B) | | 17 | 14 | 16 | 13 | 12 | 12 | 15 | 10 |
| 肝芽腫(M) | | 10 | 11 | ↓ 2 | ↓ 2 | 1 | 2 | 1 | 3 |
| 肝細胞癌(M) | | 18 | 16 | 13 | 12 | 7 | 5 | 4 | 3 |
| 血管内皮肉腫(M) | | 3 | 3 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 |
| 血管内皮腫(B) | | 1 | 0 | 2 | 2 | 5 | 3 | 2 | 2 |
| リンパ性白血病(M) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 悪性リンパ腫(組織球肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 腎: | (N=) | 50 | 49 | 49 | 49 | 50 | 50 | 49 | 50 |
| リンパ性白血病(M) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 腎上皮性腫瘍(#) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 脾: | (N=) | 50 | 49 | 48 | 47 | 48 | 50 | 49 | 49 |
| 血管内皮腫(B) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(リンパ肉腫)(M) | | 2 | 4 | 2 | 2 | 11 | 9 | 11 | 16 |
| リンパ球性白血病(M) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 悪性リンパ腫(組織球肉腫)(M) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 5 | 5 | 2 |
| 血管内皮肉腫(M) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 2 | 1 |
| 悪性リンパ腫(細網細胞肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(分類不能)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 肺: | (N=) | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 49 |
| 乳頭状腺腫(B) | | 4 | 3 | 4 | 5 | 0 | 1 | ↑ 6 | 4 |
| 乳頭状腺癌(M) | | 3 | 1 | 1 | 5 | 3 | 4 | 2 | 1 |
| リンパ球性白血病(M) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 心臓: | (N=) | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 49 |
| 横紋筋肉腫(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 胸腺: | (N=) | 47 | 48 | 48 | 46 | 46 | 46 | 47 | 47 |
| 悪性リンパ腫(胸腺リンパ肉腫)(M) | | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 4 | 0 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 顎下リンパ節: | (N=) | 50 | 49 | 48 | 49 | 50 | 50 | 49 | 48 |
| リンパ管腫(B) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(リンパ球肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 血管内皮腫(B) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |

(N=) 検査動物数, 表中の数値は所見発生数

(B) 良性腫瘍, (M) 悪性腫瘍, (#) 良性/悪性は不明

Fisher の直接確率計算法 ↑ ↓: P<0.05

表 1 腫瘍性病変の発生頻度<全動物、続き>

| 臓器・病変 | BPMC (ppm): NANO ₂ (ppm): | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|-------------------|---|--------------|----|-----|-----|----|----|-----|-----|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 |
| 腸間膜リンパ節: (N=) | | 50 | 48 | 47 | 47 | 50 | 49 | 48 | 49 |
| 悪性リンパ腫(リンパ球肉腫)(M) | | 1 | 3 | 1 | 1 | 0 | 3 | 1 | 2 |
| 悪性線維性組織球腫(M) | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 悪性リンパ腫(細網細胞肉腫)(M) | | 0 | 2 | 0 | 1 | 3 | 0 | 2 | 0 |
| 悪性リンパ腫(組織球肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 血管内皮肉腫(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 腎門部リンパ節: (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 血管内皮肉腫(M) | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 悪性リンパ腫(細網細胞肉腫)(M) | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(組織球肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(リンパ球肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| リンパ節(全身): (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| リンパ球性白血病(M) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 胃: (N=) | | 48 | 46 | 44 | 44 | 49 | 46 | 48 | 48 |
| 扁平上皮癌(M) | | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 十二指腸: (N=) | | 48 | 46 | 44 | 44 | 49 | 46 | 47 | 48 |
| 悪性リンパ腫(リンパ球肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 回腸: (N=) | | 48 | 46 | 44 | 44 | 49 | 46 | 47 | 48 |
| 腺腫(B) | | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 腺癌(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(細網細胞肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(リンパ球肉腫)(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 腸間膜: (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 中皮腫(B) | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 前立腺: (N=) | | 50 | 47 | 49 | 47 | | | | |
| リンパ球性白血病(M) | | 1 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| 卵巣: (N=) | | | | | | 48 | 47 | 47 | 45 |
| 腺癌(M) | | | | | | 0 | 0 | 0 | 1 |
| のう胞腺腫、漿液性(B) | | | | | | 1 | 2 | 0 | 0 |
| のう胞腺腫、乳頭状(B) | | | | | | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 黄体腫(B) | | | | | | 0 | 0 | 1 | 0 |

(N=)検査動物数, 表中の数値は所見発生数

(B)良性腫瘍, (M)悪性腫瘍, (#):良性/悪性は不明

Fisher の直接確率計算法においていずれも有意差なし

表 1 腫瘍性病変の発生頻度<全動物、続き>

| 臓器・病変 | BPMC (ppm): NANO ₂ (ppm): | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|------------------|---|--------------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 |
| | | 0 | 200 | 200 | 200 | 0 | 200 | 200 | 200 |
| 子宮: (N=) | | / | / | / | / | 49 | 49 | 49 | 49 |
| 腺腫(B) | | / | / | / | / | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 腺癌(M) | | / | / | / | / | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 平滑筋腫(B) | | / | / | / | / | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 血管内皮肉腫 (M) | | / | / | / | / | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 血管内皮腫 (B) | | / | / | / | / | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 悪性リンパ腫(組織球肉腫)(M) | | / | / | / | / | 0 | 0 | 0 | 1 |
| リンパ球性白血病(M) | | / | / | / | / | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 膣: (N=) | | / | / | / | / | 49 | 49 | 49 | 49 |
| 扁平上皮癌(M) | | / | / | / | / | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 平滑筋腫(B) | | / | / | / | / | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 膀胱: (N=) | | 50 | 48 | 49 | 47 | 46 | 47 | 47 | 45 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 唾液腺: (N=) | | 50 | 49 | 49 | 48 | 49 | 50 | 48 | 50 |
| のう胞状腺腫(B) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 膵臓: (N=) | | 50 | 47 | 48 | 47 | 49 | 48 | 47 | 49 |
| 線維腺癌(M) | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 島細胞腺腫(B) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| 下垂体: (N=) | | 43 | 40 | 40 | 41 | 43 | 48 | 46 | 48 |
| 色素嫌性腺腫(B) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 6 | 6 | 2 |
| 色素嫌性腺癌(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| 甲状腺: (N=) | | 49 | 45 | 47 | 46 | 42 | 49 | 48 | 48 |
| 濾胞腺腫(B) | | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 血管腫、洞状型(B) | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 副腎: (N=) | | 49 | 46 | 49 | 48 | 47 | 49 | 47 | 47 |
| 褐色細胞腫(B) | | 1 | 3 | 2 | 1 | 3 | 1 | 2 | 0 |
| 皮質腫瘍 (#) | | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 脳: (N=) | | 50 | 47 | 48 | 48 | 48 | 50 | 48 | 50 |
| 髄膜腫(B) | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| リンパ球性白血病(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |

(N=)検査動物数, 表中の数値は所見発生数

(B)良性腫瘍, (M)悪性腫瘍, (#):良性/悪性は不明

Fisher の直接確率計算法においていずれも有意差なし

表 1 腫瘍性病変の発生頻度<全動物、続き>

| 臓器・病変 | BPMC (ppm) : NANO ₂ (ppm): | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|--------------|--|--------------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 |
| | | 0 | 200 | 200 | 200 | 0 | 200 | 200 | 200 |
| 皮膚: (N=) | | 50 | 49 | 49 | 49 | 50 | 50 | 49 | 50 |
| 血管腫、洞状型(B) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 皮膚線維肉腫(M) | | 2 | 1 | 3 | ↑8 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| 皮膚線維腫(B) | | 0 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 血管内皮腫(B) | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 血管内皮肉腫(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 平滑筋腫(B) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 扁平上皮癌(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 筋肉: (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 間葉腫(B) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 横紋筋肉腫(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 骨(胸骨): (N=) | | 50 | 49 | 49 | 49 | 50 | 50 | 49 | 50 |
| 骨肉腫(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 骨髓(胸骨): (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 49 | 50 |
| リンパ球性白血病(M) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| ハーダー腺: (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 乳頭状のう胞腺腫(B) | | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| 陰囊: (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | | | | |
| 脂肪腫(B) | | 0 | 2 | 1 | 3 | | | | |
| 中皮腫(B) | | 0 | 1 | 0 | 0 | | | | |
| 骨(大腿骨): (N=) | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 骨肉腫(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 乳腺: (N=) | | 50 | 49 | 49 | 49 | 50 | 50 | 49 | 50 |
| 腺腫(B) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 腺癌(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 線維腺癌(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 腺棘細胞腫(M) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

(N=) 検査動物数, 表中の数値は所見発生数

(B) 良性腫瘍, (M) 悪性腫瘍, (#): 良性/悪性は不明

Fisher の直接確率計算法 ↑: P<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変

| 臓器・病変 | BPMC(ppm): NANO ₂ (ppm): | 性別及び投与量(ppm) | | | | | | | |
|---------------------|--|--------------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 | 0 | 0 | 0.3 | 3.0 |
| | | 0 | 200 | 200 | 200 | 0 | 200 | 200 | 200 |
| 供試動物数 | | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 有効動物数 ^{a)} | | 50 | 50 | 49 | 49 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 腫瘍総数 ^{b)} | | 77 | 73 | 56 | 66 | 81 | 87 | 80 | 96 |
| 腫瘍を有する動物数 | | 41 | 40 | 36 | 38 | 45 | 46 | 41 | 45 |

統計処理未実施。

a): 死後の自己融解等により検査できなかった個体があるため、供試動物数より少ない

b): 申請者が臓器ごとの所見から集計した。良性/悪性の区別が不明な腫瘍があり、良性および悪性に分けた集計はできなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(12)繁殖毒性及び催奇形性

1)ラットを用いた繁殖毒性試験及び催奇形性試験

(資料No.30)

試験機関:

報告書作成年: 1975年

検体の純度

供試動物

ウィスター系ラット、

1群雄15匹、雌30匹(繁殖毒性試験)、離乳直後の動物を使用

1群雌雄各10匹(7週間投与毒性試験)

1群雄5匹、雌10匹(催奇形性試験)

投与期間

繁殖毒性試験:

P世代:離乳時からF1b児離乳まで投与。

F1世代:離乳時からF2b児離乳まで投与。

F2世代:離乳時からF3b児離乳まで投与。

7週間投与毒性試験:F3bの離乳時に対照群及び各投与群のできる限り多くの腹から雌雄

各10匹を選抜し、同一濃度の飼料をさらに7週間投与。

催奇形性試験:

F1b、F2b及びF3b世代の児動物の離乳時に対照群及び300ppm群

から雄5匹、雌10匹を選抜し、さらに同一濃度で投与を継続した。投与を継続したまま交配して妊娠20日目に屠殺。

投与方法

検体を0、30及び300ppmを含有した飼料を自由に摂食させた。

飼料は2週間に一度調製した。

投与量設定根拠:

方法及び試験項目

繁殖毒性試験:試験の概要を表1に示す。

一般状態及び死亡率:全動物の全検査期間に一般状態及び生死を観察した。

体重変化: 投与0、2、4、6、8、10、12及び20週時に体重を測定した。

交配及び妊娠の確認:各世代ともに生育12週及び20週に交配した。雌雄は2対1で交配した。交尾は膣スミア中の精子の存在で確認し、精子が検出された日を妊娠0日とした。妊娠の確認は出産をもって行った。

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

$$\text{妊娠率(\%)} = \frac{\text{妊娠した動物数}}{\text{交尾した動物数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

出産時の同腹児数、性比及び奇形児出産割合、及び哺育の1、10及び20日後に動物の体重を測定し、死亡数を計数した。

第2産児が離乳後、母動物を屠殺し、硫酸アンモニウムにより着床部位を観察した。

7週間投与毒性試験:

一般状態及び死亡率;試験期間中、全動物について一般状態及び生死を観察した。

体重変化; 毎週1回体重を測定した。

臓器重量; 投与7週間後の全生存動物を対象として、解剖後、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、脳、生殖器、胸腺、甲状腺及び副腎の重量を測定した。また対体重比も算出した。

肉眼的病理検査; 投与7週後の全生存動物を対象として、肉眼的病理検査を行った。

病理組織学的検査; 上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として重量測定臓器及び肺、気管、唾液腺、膀胱、骨格筋、胸部大動脈、食道、子宮、胃腸管系(6部位)、膵臓、腋窩及び腸間膜リンパ節について、病理標本を作成し、検鏡した。

催奇形性試験:

母動物: 一般状態及び生死を毎日観察した。

交尾確認の為、毎日膣スメアを採取し、膣スメア標本中に精子が検出された日を妊娠0日とした。

妊娠20日目に母動物を断頭屠殺した。卵巣及び子宮を摘出し、胎児体重、生存及び死亡胎児数、胚吸収数及び胎児吸収数、異常胎児数、性比、卵巣重量、黄体数、着床数、卵巣及び胎児を摘出した後の子宮重量(空子宮重量)を検査した。

吸収部位は胎盤のみがみられる場合は「胚吸収」、胎盤と胎児組織がみられるときは「胎児吸収」として分類した。

着床前及び着床後の死亡は、以下により求めた。

$$\text{着床前死亡率} = \frac{\text{黄色体} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100(\%)$$

$$\text{着床後死亡率} = \frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100(\%)$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

胎児動物： 子宮から摘出後、羊水を除去して重量を測定し、肉眼的異常及び性別を観察した。

胎児の 2/3 は内臓異常の有無を、1/3 は骨格標本を作成し、骨格異常の有無を観察した。

未骨化あるいは骨化不全の割合は以下により求めた。

$$\frac{\text{未骨化あるいは骨化不全を有する胎児数}}{\text{検査した総胎児数}} \times 100(\%)$$

結 果

繁殖毒性試験： 結果を表 2 に示す。

親動物では、連続 3 世代の全ての投与群において一般状態及び行動の異常は認められなかった。試験期間中に 5 匹が死亡したが、用量相関がなく、各世代を通じた変化ではないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。300ppm 投与群雄の P 世代の 2 週及び 4 週目で体重が有意に増加し、30ppm 投与群雄の F2b 世代の 4 週で有意に低下したが、他の測定時では対照群と同等であった。

妊娠率及び吸収指数は、各投与群及び各世代ともに対照群と同等であった。児動物では、死亡率が大きく変動した。F1a の 30ppm 以上の投与群で 10 日及び 20 日の死亡率が有意に低下し、F2b の 30ppm 投与群で 1 日、10 日及び 20 日の死亡率が有意に増加した。F2b の有意な死亡率の増加は 300ppm 群で死亡率の増加がみられないこと、各世代で再現性がみられないことから、検体投与による影響ではなく、偶発的なものと考えられた。

奇形児が散見されたが、検体投与による影響はみられなかった。

7 週間投与毒性試験： 結果を表 3 に示す。

一般状態及び行動の異常は認められなかった。死亡はなく、体重に群間の差はなかった。300ppm 投与群雌雄で肝臓の対体重比が若干増加し、同様な増加は 2 年間慢性毒性試験(資料 No.26)の 300ppm 投与群雄にも認められている。本試験及び 2 年間慢性毒性試験では、肝臓に対して検体投与に関係した病理組織学的変化は認められていないので、この所見が毒性学的意味をもつかどうかは疑わしい。

30ppm 以上の投与群雌で脾臓対体重比の増加が認められたが、病理組織学的変化を伴わず、2 年間慢性毒性試験(資料 No.26)では脾臓重量に変化は認められなかったので、検体投与による影響ではなく、偶発的な所見であると考えられる。

300ppm 投与群雌に左副腎に褐色細胞腫が認められたが、慢性毒性(資料 No.26)及び発癌性試験(資料 No.28)の結果では、副腎に対する毒性又は発がん性は認められなかったので、この所見が検体投与に起因するものとは考

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

えられない。

催奇形性試験:結果を表4に示す。

一般状態及び行動の異常は認められず、死亡はなく、体重に群間の差はなかった。

妊娠期間中の各世代における体重、摂餌量及び検体摂取量を下表に示す。

| 世代 | 投与量 | 体 重 (g) | | 平均体重 (g) (0日+21日)/2 | 摂餌量 (g/匹/日) | 検体摂取量* (mg/kg/日) |
|-------------------|--------|---------|-----|------------------------|----------------|---------------------|
| | | 0日 | 21日 | | | |
| F1b | 対 照 | 249 | 364 | 307 | 20.8 | - |
| | 300ppm | 249 | 362 | 307 | 19.6 | 19.3 |
| F2b | 対 照 | 217 | 316 | 267 | 17.4 | - |
| | 300ppm | 222 | 328 | 275 | 17.3 | 18.9 |
| F3b | 対 照 | 231 | 325 | 278 | 14.7 | - |
| | 300ppm | 233 | 330 | 282 | 17.2 | 18.3 |
| * 検体摂取量は申請者が算出した。 | | | | | 平均値 | 18.8 |

親動物について、F1b 世代の着床後死亡率は対照群と比較して有意に増加したが、他の世代では対照群と同等であり再現性はなかった。その他の指標はいずれも、対照群と同等であった。

胎児動物について、未骨化及び骨化不全が、300ppm 投与群の一部の骨に認められたが、これらの変異は各世代の対照群でも広い変動がみられていること、各世代を通して再現性がみられないことから、正常範囲内の変動と考えられた。

F2b の 300ppm 投与群において胸骨分節の脱臼が有意に増加したが、この増加は F1b 及び F3b の 300ppm 投与群には認められないことから、検体投与による影響とは考えられない。

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繁殖毒性試験では、最高投与濃度 300ppm (雄:21.5mg/kg/日、雌:22.0mg/kg/日)においても繁殖能に対して影響が認められなかった。また、児動物に対する影響もみられなかった。F3b 世代のラットにおける7週間投与毒性試験においても影響を認めなかった。又、本剤を3世代の妊娠ラットに投与した催奇形性試験では、最高投与群 300ppm (18.8 mg/kg/日)においても母動物に影響はなく、胎児に対する催奇形性作用はないものと判断される。

<申請者註> 以上より、繁殖毒性試験、7週間投与毒性試験及び催奇形性試験における無毒性量はいずれも 300ppm と判断される。

表 1. 試験概要

| 世代 | 期間 (週間) | 作業手順 | 試験項目 |
|---------|--|--|---|
| P | 生育 (一次交配 12 週) (二次交配 20 週) | | 一般状態、死亡率を毎日観察。試験 0、2、4、6、8、10、12 及び 20 週に体重測定。 |
| | 交配 (3 週) | F1a、F1b を得るため 12 及び 20 週目に交配 | |
| P | 妊娠 (3 週) 出産..... | 妊娠は出産にて確認 | 出産状況の観察 |
| | 哺乳 (3 週) | 出産第 1 日目に 8 匹以上の同産群は無作為に 8 匹に調整。 | 妊娠率、同腹児数、性別、異常胎児、奇形率、哺育 1、10 及び 20 日目に体重及び死亡数を測定。 |
| | 離乳..... | F1a 群は全て離乳時に廃棄。 | 第 2 産児が離乳後、母獣を屠殺し、子宮の着床部位を計数。 |
| | | 二次交配から選抜した 30ppm を除く各検体投与群の雄 5 匹、雌 10 匹を催奇形性試験に供試。 継代用の各群雄 15 匹、雌 30 匹を同産群から無作為に選抜。 | |
| F1 | 生育 (一次交配 12 週) (二次交配 20 週) 交配 (3 週) 妊娠 (3 週) | } (P 世代に準ずる) | (P 世代に準ずる) |
| | 出産..... | | (P 世代に準ずる) |
| F2 | 哺乳 (3 週) 離乳..... | (P 世代に準ずる) | (P 世代に準ずる) |
| | 生育 (一次交配 12 週) (二次交配 20 週) 交配 (3 週) 妊娠 (3 週) | } (P 世代に準ずる) | (P 世代に準ずる) |
| 出産..... | (P 世代に準ずる) | | |
| F3 | 哺乳 (3 週) 離乳 | F2b から F3a、F3b を得る。 | (P 世代に準ずる) |
| | 生育 (7 週間) | F3b の各群の各腹から雌雄各 10 匹を選抜し、7 週間投与毒性試験に供試。 | 一般状態、死亡の観察。毎週体重測定。7 週後、臓器重量を測定し、肉眼的及び病理組織学的検査。 |

表 2. 繁殖毒性試験

| 世 代 | | 親:P | | | | | | 親:F1b | | | | | | |
|-----------|---------------------|-------|------|------|--------------------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|------|
| | | 児:F1a | | | 児:F1b | | | 児:F2a | | | 児:F2b | | | |
| 投与群 (ppm) | | 対照 | 30 | 300 | 対照 | 30 | 300 | 対照 | 30 | 300 | 対照 | 30 | 300 | |
| 親動物 | 一般状態 | | | | | | | | | | | | | |
| | 検体摂取量* (mg/kg/日) | 雄 | — | 2.03 | 21.5 | — | 2.03 | 21.5 | — | 2.03 | 21.5 | — | 2.03 | 21.5 |
| | | 雌 | — | 2.24 | 22.0 | — | 2.24 | 22.0 | — | 2.24 | 22.0 | — | 2.24 | 22.0 |
| | 死亡数 | 雄 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | 雌 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | 体重 | | | | ♂ 雄 2、4 週 | | | | | | | | | |
| | 交配雌数 | | 30 | 30 | 30 | 20 | 20 | 20 | 30 | 30 | 30 | 20 | 20 | 20 |
| 妊娠率 (%) | | 83 | 100 | 97 | 85 | 95 | 90 | 92 | 92 | 97 | 95 | 90 | 100 | |
| 児動物 | 同腹児数 | | 9.0 | 10.3 | 10.3 | 11.5 | 12.6 | 12.3 | 9.4 | 9.8 | 10.2 | 10.7 | 10.6 | 11.2 |
| | 性比 | 雄 (%) | 54 | 51 | 54 | 54 | 51 | 50 | 53 | 48 | 44 | 46 | 49 | 45 |
| | | 雌 (%) | 46 | 49 | 46 | 46 | 49 | 50 | 47 | 52 | 56 | 54 | 51 | 55 |
| | 体重 (g) | 1日 | 5.7 | 5.4 | 5.6 | 6.1 | 6.0 | 6.1 | 6.0 | 5.9 | 5.8 | 6.5 | 6.7 | 6.4 |
| | | 10日 | 18.6 | 17.3 | 19.1 | 20.7 | 20.5 | 20.3 | 19.2 | 19.4 | 19.0 | 20.7 | 20.8 | 21.9 |
| | | 20日 | 32.6 | 33.5 | 36.0 | 41.2 | 37.9 | 38.2 | 37.8 | 37.8 | 37.8 | 40.5 | 42.3 | 41.2 |
| | 死亡率 (%) | 1日 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | ↑ 5 | 1 |
| | | 10日 | 31 | ♂ 20 | ↓ 11 | 13 | 6 | 4 | 5 | 5 | 3 | 1 | ♂ 7 | 3 |
| 20日 | | 42 | ↓ 24 | ↓ 14 | 13 | 8 | 9 | 5 | 5 | 3 | 1 | ♂ 7 | 3 | |
| 奇形児率 (%) | | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | |
| 吸収指数 ** | | — | — | — | 1.14 | 1.09 | 1.10 | — | — | — | 1.08 | 1.07 | 1.09 | |

↓ ↑ :P<0.05、♂♂:P<0.01、↑↓:P<0.001 (Student の t-検定)

—:検査せず 空欄:異常なし

* [申請者註] 摂餌量が測定されていなかったため算出できないが、本試験は資料 No.26 と同時期に、同一試験機関で実施され、原体純度も同じであったため、No.26 の 20 週までのデータに基づいて算出した。

着床数－生存出産児数

$$** \text{ 吸収指数} = \frac{\text{着床数} - \text{生存出産児数}}{\text{生存出産児数}}$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2. 繁殖毒性試験 (つづき)

| 世 代 | | 親:F2b | | | | | | |
|-------------|---------------------|-------|------|--------------|-------|------|------|------|
| | | 児:F3a | | | 児:F3b | | | |
| 投与群 (ppm) | | 対照 | 30 | 300 | 対照 | 30 | 300 | |
| 親 動 物 | 一般状態 | | | | | | | |
| | 検体摂取量* (mg/kg/日) | 雄 | — | 2.03 | 21.5 | — | 2.03 | 21.5 |
| | | 雌 | — | 2.24 | 22.0 | — | 2.24 | 22.0 |
| | 死亡数 | 雄 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 雌 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 体重 | | | ↓ 雄 4週 | | | | |
| | 交配雌数 | | 30 | 30 | 30 | 20 | 20 | 20 |
| 妊娠率 (%) | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 95 | |
| 児 動 物 | 同腹児数 | | 10.1 | 10.3 | 10.0 | 11.8 | 11.7 | 11.3 |
| | 性比 | 雄 (%) | 53 | 54 | 53 | 49 | 52 | 50 |
| | | 雌 (%) | 47 | 46 | 47 | 51 | 48 | 50 |
| | 体重 (g) | 1日 | 6.5 | 6.2 | 6.5 | 6.6 | 6.4 | 6.4 |
| | | 10日 | 21.2 | 20.8 | 22.0 | 22.2 | 21.2 | 23.8 |
| | | 20日 | 40.5 | 39.7 | 41.5 | 44.8 | 43.4 | 46.9 |
| | 死亡率 (%) | 1日 | <1 | <1 | <1 | 0 | <1 | 2 |
| | | 10日 | 4 | 4 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 20日 | | 5 | 6 | 3 | 4 | 3 | 2 | |
| 奇形児率 (%) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 吸収指数** | | — | — | — | 1.05 | 1.10 | 1.08 | |

↓ ↑ : P<0.05、♂ ♀ : P<0.01、↑ ↓ : P<0.001 (Student の t-検定)

— : 検査せず 空欄 : 異常なし

* [申請者註] 摂餌量が測定されていなかったため算出できないが、本試験は資料 No.26 と同時期に、同一試験期間で実施され、原体純度も同じであったため、No.26 の 20 週までのデータに基づいて算出した。

$$** \text{ 吸収指数} = \frac{\text{着床数} - \text{生存出産児数}}{\text{生存出産児数}}$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 3. 7 週間投与毒性試験

| 性 別 | | 雄 | | | 雌 | | |
|-----------|------------|-------|--------------------|-------------------|--------|---------------------|--------------------|
| 投与群 (ppm) | | 対照 | 30 | 300 | 対照 | 30 | 300 |
| 検査動物数 | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 一般状態 | | | | | | | |
| 死亡数 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 最終体重(g) | | 353 | 251 | 259 | 166 | 160 | 164 |
| 臓器重量 | 肝臓(対体重比、%) | 3.71 | 3.92 | 4.03 [♁] | 3.26 | 3.58 | 3.75 [↑] |
| | 脾臓(対体重比、%) | 0.194 | 0.239 [↑] | 0.211 | 0.213 | 0.252 [↑] | 0.268 [♁] |
| | 精巣(対体重比、%) | 0.99 | 1.11 [↑] | 1.07 | / | / | / |
| | 卵巣(対体重比、%) | / | / | / | 0.0322 | 0.0396 [♁] | 0.0348 |
| 肉眼的病理検査 | 片側性水腎症 | | | 1 | | | |
| | 左副腎の顕著な肥大 | | | | | | 1 |
| 病理組織学的検査 | 左副腎褐色細胞腫 | | | | | | 1 |

↓↑ : P<0.05, ♁♁ : P<0.01 (Student の t-検定)

空欄: 異常なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 4. 催奇形性試験

| 世 代 | | F1b | | F2b | | F3b | | |
|-------------|---------------|------------|-------------|------|------|------|-------|------|
| 投与群 (ppm) | | 対照 | 300 | 対照 | 300 | 対照 | 300 | |
| 親 | 一般状態 | | | | | | | |
| | 死亡数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 体 重 | | | | | | | |
| | 交 配 雌 数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 妊 娠 雌 数 | 10 | 10 | 9 | 10 | 9 | 9 | |
| | 卵 巢 重 量(g)* | 0.08 | 0.09 | 0.10 | 0.12 | 0.08 | ↑0.11 | |
| | 空 子 宮 重 量(g)* | 5.30 | 4.87 | 4.62 | 4.63 | 4.26 | 4.48 | |
| | 生存胎児を持つ雌数 | 10 | 10 | 9 | 10 | 9 | 9 | |
| | 生 存 胎 児 総 数 | 130 | 112 | 96 | 117 | 96 | 93 | |
| | 動 物 | 着床所見(腹当たり) | 生 存 胎 児 数 * | 13 | 11 | 11 | 12 | 11 |
| 着床前死亡率(%) | | | 5 | 12 | 5 | 5 | 11 | 13 |
| 着床後死亡率(%) | | | 2 | ⇕10 | 10 | 7 | 8 | 15 |
| 黄 体 数 * | | | 14 | 14 | 12 | 13 | 13 | 14 |
| 着 床 数 * | | | 14 | 12 | 12 | 12 | 11 | 12 |
| 吸 収 胚 数 * | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.22 | 0.11 |
| 胎 児 吸 収 数 * | | | 0 | 0 | 0.22 | 0.11 | 0.22 | 0.33 |
| 死 亡 胎 児 数 * | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.11 | | |

↓ ↑ P<0.05, ⇕⇕ :P<0.01 (Student の t-検定)

空欄:異常なし *平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 4. 催奇形性試験 (つづき)

| 世 代 | | F1b | | F2b | | F3b | | | | |
|--------------------|------------------|--------------------|------|---------|-------|--------|------|--------|------|-------|
| 投与群 (ppm) | | 対照 | 300 | 対照 | 300 | 対照 | 300 | | | |
| 胎 児 動 物 | 内 臓 異 常 | 胎児重量 (g/匹) * | | 5.12 | 5.25 | 5.20 | 5.13 | 5.09 | 4.90 | |
| | | 外表異常をもつ腹数 | | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 3 | |
| | | 外表異常をもつ胎児数 | | 2 | 0 | 0 | 4 | 1 | 7 | |
| | 骨 格 異 常 | 検 査 腹 数 | | 10 | 10 | 9 | 10 | 9 | 9 | |
| | | 検 査 胎 児 数 | | 91 | 77 | 67 | 82 | 68 | 66 | |
| | | 1 匹の異常胎児をもつ腹数 *-2 | | 4 | 4 | 3 | 2 | 3 | 2 | |
| | | 2 匹以上の異常胎児をもつ腹数*-2 | | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 | 2 | |
| | | 内臓異常をもつ胎児数 | | 6 | 4 | 8 | 7 | 5 | 6 | |
| | | 水 腎 症*-3 | | 2/1 | 3/3 | 8/5 | 3/3 | 4/3 | 3/3 | |
| | | 外 脳 症*-3 | | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 1/1 | 0/0 | |
| | | 後肢に 2 本の過剰指*-3 | | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 1/1 | 0/0 | |
| | | 検 査 腹 数 | | 10 | 10 | 9 | 10 | 9 | 9 | |
| | | 検 査 胎 児 数 | | 39 | 35 | 29 | 35 | 28 | 27 | |
| | | 未 骨 化 | 前肢 | 中手骨 (%) | 20.0 | 20.0 | 0.0 | 0.6 | 0.0 | ↑ 2.2 |
| | | | | 指節骨 (%) | 8.2 | 8.8 | 3.7 | 2.8 | 3.7 | ↑ 5.9 |
| 後肢 | 中足骨 (%) | | 1.0 | 1.1 | 3.8 | 1.7 | 4.3 | 5.6 | | |
| | 指節骨 (%) | | 21.5 | 20.4 | 20.1 | ↓ 12.8 | 18.2 | 18.6 | | |
| 頸椎椎体 (%) | | | 1.5 | ↑ 7.8 | 8.9 | 9.0 | 8.7 | ◇ 18.0 | | |
| 胸骨分節 (%) | | | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | | |
| 骨 化 不 全 | 前肢 | 中手骨 (%) | 1.5 | 2.9 | 0.7 | 0.6 | 0.0 | 0.7 | | |
| | | 指節骨 (%) | 13.2 | ◇ 9.0 | 13.4 | ↓ 8.3 | 9.6 | 9.5 | | |
| | 後肢 | 中足骨 (%) | 12.6 | 11.7 | 13.1 | 9.7 | 6.4 | 6.7 | | |
| | | 指節骨 (%) | 8.1 | 8.4 | 7.4 | ↑ 11.9 | 5.4 | ◇ 8.6 | | |
| | 頸椎椎体 (%) | | 4.4 | ◇ 11.0 | 23.2 | ◇ 13.5 | 12.2 | 18.5 | | |
| | 胸骨分節 (%) | | 0.0 | 0.5 | 1.7 | 2.4 | 0.6 | 1.2 | | |
| 1 匹の異常胎児をもつ腹数*-2 | | 4 | 2 | 3 | 6 | 3 | 2 | | | |
| 2 匹以上の異常胎児をもつ腹数*-2 | | 2 | 5 | 0 | 2 | 1 | 3 | | | |
| 骨格異常をもつ胎児数 | | 8 | 12 | 3 | 10 | 5 | 9 | | | |
| 第 1 4 肋 骨*-3 | | 5/5 | 10/6 | 3/3 | 5/4 | 5/4 | 7/4 | | | |
| 胸骨分節の位置異常*-3 | | 2/2 | 2/2 | 0/0 | ↑ 5/5 | 1/1 | 0/0 | | | |

↓ ↑: P<0.05, ◇◇: P<0.01, ↑↓: P<0.001 (X²-検定)

*: 平均値 *-2: 親動物, *-3: 胎児数/腹数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No.31)

試験機関

報告書作成年 1973年

検体の純度

供試動物 ウィスター系妊娠ラット 1群 20匹 (体重 172~223g)

試験期間 11日間投与

方法 検体を0、500、1500及び3000ppmの濃度で、飼料に混入し、妊娠6日目から16日目までの11日間投与した。
交配は雌雄4:1で同居させ、交尾はスミア中の精子の存在で確認し、精子の認められた日を妊娠0日とした。

試験項目

母動物: 一般状態及び生死を毎日観察した。交配日、検体投与開始日及び終了日、及び屠殺日に体重を測定し、飼料摂取量は検体投与開始日、投与終了日及び屠殺日に測定した。

妊娠21日目に母体を断頭により屠殺し、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、胎児吸収数、吸収胚数、着床前死亡数、着床後死亡数及び生存胎児数を検査した。

胎児は子宮から摘出し、羊水を除き重量を測定し、外表異常及び性別を観察した。

胎児動物: 対照群及び3000ppm投与群の胎児について、2/3は内臓異常の有無を、1/3は骨格標本を作成し、骨格異常の有無を検査した。

結果 結果を表1及び2に示す。

<母動物>

各投与群において20匹の交尾が確認されたが、妊娠動物数は投与濃度の増加に従い低下した。しかし、投与は交尾後の妊娠6日に開始されていることから、投与の影響とは判断されなかった。試験期間中、健康状態や行動の変化もなく、死亡例はみられなかった。

3000ppm投与群において、投与期間中の体重増加量及び飼料摂取量が対照群に比べて有意に少なかった。しかし、投与終了日から屠殺日までの飼料摂取量は全投与群において有意に増加した。

着床所見においてはいずれの指標についても対照群と同等であり、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

<胎児動物>

骨格検査では、3000ppm 投与群において頸椎椎体及び前後肢の肢骨の未骨化の発生頻度が高い傾向がみられたが、統計的に有意ではなかった。

内臓検査では内脳水腫、水腎症及び無尾がみられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したとき、最高投与濃度 3000ppm (167 mg/kg/日) においても母動物に何ら影響もなく、又胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

<申請者註> 本試験における無毒性量は、母動物については 3000ppm 投与群の投与期間中において体重増加量及び飼料摂取量の低下がみられることから、1500ppm (96.6mg/kg/日)と判断される。胎児動物に対する無毒性量は 3000ppm (167mg/kg/日)であり、催奇形性はないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1.

| 投与群 (ppm) | | 0 | 500 | 1500 | 3000 | |
|-----------|----------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|
| 交尾確認動物数 | | 20 | 20 | 20 | 20 | |
| 妊娠動物数 | | 20 | 18 | 16 | 15 | |
| 親動物 | 一般状態 | | | | | |
| | 死亡数 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 交尾日の体重*(g) | 189 | 189 | 194 | 194 | |
| | 投与開始日の体重*(g) A | 205 | 204 | 211 | 209 | |
| | 投与終了日の体重*(g) B | 226 | 229 | 230 | 222 | |
| | 投与期間中の体重増加量*(g) | 21 | 25 | 19 | ↓13 | |
| | 交配日から投与開始日までの飼料摂取量*(g/匹/日) | 16.2 | 16.5 | 16.6 | 16.8 | |
| | 投与期間中の飼料摂取量*(g/匹/日) C | 15.1 | 15.5 | 14.2 | ↓12.0 | |
| | 投与終了日から屠殺日までの飼料摂取量*(g/匹/日) | 16.3 | ↑17.3 | ↑18.1 | ↑21.7 | |
| | 着床所見(腹当たり) | 黄体数* | 12.1 | 11.6 | 13.0 | 12.1 |
| | | 着床数* | 9.0 | 7.8 | 8.6 | 10.1 |
| | | 生存胎児数* | 8.3 | 6.2 | 7.7 | 8.8 |
| | | 性比(雄/雌)* | (47/53) | (53/47) | (53/47) | (47/53) |
| 胎児吸収数* | | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | |
| 胚吸収数* | | 0.7 | 1.5 | 0.7 | 1.3 | |
| 着床前死亡数* | | 3.1 | 3.9 | 4.3 | 2.0 | |
| | 着床後死亡数* | 3.8 | 5.5 | 5.0 | 3.3 | |

↓↑:P<0.05, ↑↓:P<0.001 (Studentのt-検定)

*:平均値

空欄:異常なし

検体投与期間中の平均体重 [(A+B)/2]、検体投与期間中の飼料摂取量(C)及び投与濃度より算出した各投与群の平均検体摂取量を以下に示す。

| 投与量 (ppm) | 500 | 1500 | 3000 |
|-----------------|------|------|------|
| 検体摂取量 (mg/kg/日) | 35.8 | 96.6 | 167 |

申請者が算出した。

表 2.

| | | 投 与 群 (ppm) | | 0 | 500 | 1500 | 3000 | |
|-----------------------------|------------------|------------------|--------------|----------|------|------|------|------|
| 胎 児 動 物 | 骨 格 異 常 | 平均胎児重量 (g) | | 5.3 | 5.1 | 5.1 | 5.0 | |
| | | 検 査 腹 数 | | 18 | — | — | 14 | |
| | | 検 査 胎 児 数 | | 48 | — | — | 39 | |
| | | 未 骨 化 | 頸 椎 椎 体 (%) | | 10.4 | — | — | 13.7 |
| | | | 前 肢 | 烏口突起 (%) | 88.5 | — | — | 100 |
| | | | | 中手骨 (%) | 20.4 | — | — | 21.0 |
| | | | | 指節骨 (%) | 13.8 | — | — | 14.1 |
| | | | 後 肢 | 踵 骨 (%) | 93.8 | — | — | 100 |
| | | | | 中足骨 (%) | 4.0 | — | — | 6.7 |
| | | | | 指節骨 (%) | 26.7 | — | — | 31.8 |
| | | 骨 化 不 全 | 頸 椎 椎 体 (%) | | 8.9 | — | — | 7.8 |
| | | | 頭 骨 (%) | | 0.2 | — | — | 0.3 |
| | | | 第 13 肋 骨 (%) | | 0.0 | — | — | 5.1 |
| | | | 前 肢 | 烏口突起 (%) | 11.5 | — | — | 0.0 |
| | | | | 中手骨 (%) | 19.2 | — | — | 18.7 |
| | | | | 指節骨 (%) | 21.9 | — | — | 23.9 |
| | | | 後 肢 | 踵 骨 (%) | 6.3 | — | — | 0.0 |
| | | | | 中足骨 (%) | 15.2 | — | — | 13.8 |
| | | | | 指節骨 (%) | 26.2 | — | — | 26.2 |
| | 胸 骨 分 節 (%) | | 2.4 | — | — | 6.0 | | |
| 胸 骨 分 節 転 移 (%) | | 1.4 | — | — | 3.0 | | | |
| 胸 椎 椎 体 分 離 (%) | | 2.1 | — | — | 0.0 | | | |
| 第 14 肋 骨 (%) | | 8.3 | — | — | 1.3 | | | |
| 第 5、第 6 胸骨間の 過剰な胸骨分節 (%) | | 0.0 | — | — | 2.1 | | | |
| 内 臓 異 常 | 検 査 胎 児 数 | | 115 | — | — | 90 | | |
| | 内 脳 水 腫 | | 0 | — | — | 1 | | |
| | 水 腎 症 | | 3 | — | — | 3 | | |
| | 無 尾 | | 1 | — | — | 0 | | |

Student の t-検定、 χ^2 -検定

— 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3)ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No.32)

試験機関

「GLP」

報告書作成年

1986 年

検体の純度

供試動物

ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ (5~6 カ月齢)

1 群 17 又は 15 匹

試験期間

14 日間投与

方 法

検体を 0.5%メチルセルロース及び 0.5%Tween80 の水溶液に懸濁し、5、20 及び 80 mg/kg の投与レベルで妊娠 6 日目から 19 日目までの 14 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース及び 0.5%Tween80 の水溶液を同様に投与した。

交配は人工授精により、授精日を妊娠 0 日とした。

投与量設定の根拠:

試験項目

母動物: 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0 及び 6~28 日目に体重を測定した。また、摂餌量及び摂水量を測定した。

妊娠 29 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、早期及び後期死亡胚数、生存及び死亡胎児数を検査し、胎盤重量を測定した。

胎児動物: 性別、体重及び外表異常の観察を行った。

各同腹児群の全胎児について、内臓異常の有無を検査した後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果

<母動物>

80 mg/kg 投与群では 1 例が第 1 回投与後まもなく死亡した。

20 mg/kg 投与群の 3 例及び 80 mg/kg 投与群の全例において、一般状態(不随意咀嚼、運動失調、運動性亢進、呼吸数増加、後彎姿勢)の変化がみられ、症状の程度及び持続時間に用量依存性がみられた。5 mg/kg 投与群では 1 例に不随意咀嚼が 1 回だけみられた。投与の最初の 2 日間、20mg/kg 投与群で体重が停滞した。80mg/kg 投与群では体重が低下し、統計的に有意であった。これ以降の投与期間では両群とも対照群と比較して体重増加量が低下した。

80mg/kg 投与群では摂餌量及び摂水量の有意な低下がみられた。

5mg/kg 投与群では 1 例が妊娠後期に全同腹胎児吸収した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

20mg/kg 投与群の着床前死亡率が高かったが、対照群との間に統計的有意差はなかった。

<胎児動物>

胎児体重及び性比に群間差はみられなかった。

胎児動物の外表、内臓及び骨格検査の結果、いくつかの異常が観察されたが、これらの所見の大部分は本系統のウサギの背景データの範囲内であった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児における無毒性量はそれぞれ 5 mg/kg/日及び 80 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 80 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

母動物

| 投与群 (mg/kg/日) | | 対 照 | 5 | 20 | 80 | |
|-----------------|--|-------------|------------------|-----------------------------|-----------------|------|
| 供 試 母 動 物 数 | | 17 | 17 | 15 | 17 | |
| 母 動 物 | 一 般 状 態 | | 不随意咀嚼 (1例、1回) | 不随意咀嚼、運動失調、運動性亢進、呼吸数上昇、後彎姿勢 | | |
| | 体 重 変 化 | | | 増加抑制 | ⇓ 体重低下、 増加抑制 | |
| | 摂 餌 量 | | | | ⇓低下 | |
| | 摂 水 量 | | | | ⇓低下 | |
| | 死 亡 動 物 数 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| | 不 妊 動 物 数 | 3 | 3 | 3 | 3 | |
| | 全 同 腹 胎 児 吸 収 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| | 妊 娠 動 物 数 | 14 | 13 | 12 | 13 | |
| | 肉 眼 的 病 理 検 査 | | | | | |
| | 着 床 所 見 (腹 当 た り) | 黄 体 数 | 10.9 | 9.7 | 10.8 | 10.0 |
| | | 着 床 数 | 8.7 | 7.9 | 6.3 | 8.9 |
| | | 生 存 胎 児 数 | 8.0 | 7.5 | 5.9 | 8.2 |
| | | 早 期 吸 収 胚 数 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.2 |
| 後 期 吸 収 胚 数 | | 0.6 | 0.2 | 0.3 | 0.5 | |
| 着 床 前 死 亡 率 (%) | | 20.3 | 18.3 | 41.1 | 10.8 | |
| 着 床 後 死 亡 率 (%) | 8.2 | 5.8 | 6.6 | 7.8 | | |

空欄：異常なし、 ⇓⇓:P<0.01(多重 t-検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

胎児動物

| 投与群 (mg/kg/日) | | 対 照 | 5 | 20 | 80 | |
|------------------|-----------|-----------------|----------|----------|----------|----------|
| 供 試 母 動 物 数 | | 17 | 17 | 15 | 17 | |
| 胎 児 動 物 | 体 重*(g) | 40.2 | 42.7 | 43.4 | 39.5 | |
| | 胎盤重量*(g) | 5.0 | 6.0 | 6.5 | 5.8 | |
| | 性比*(雄/雌) | 4.0/4.0 | 3.2/4.2 | 2.8/3.2 | 4.8/3.4 | |
| | 検査胎児数(腹数) | 112(14) | 97(13) | 71(12) | 107(13) | |
| | 外表 異常 | 前肢指湾曲** | 1.8(1) | 0 | 0 | 0 |
| | | 前後肢湾曲** | 0.9(1) | 0 | 0 | 0 |
| | 内臓 異常 | 肺中葉の欠損** | 0 | 1.0(1) | 0 | 0 |
| | | 胆嚢の変異** | 24.1(10) | 10.3(6) | 12.7(6) | 10.3(6) |
| | | 左腎及び尿管の欠損** | 0.9(1) | 0 | 0 | 0 |
| | | 片側性水腎症** | 0 | 1.0(1) | 0 | 0 |
| | | 片側性水尿管症** | 0 | 1.0(1) | 0 | 0 |
| | | 矮小胎児(32.0g未満)** | 17.0(3) | 4.1(1) | 15.5(5) | 21.5(8) |
| | 骨格 異常 | 前頭縫合骨化不全** | 11.6(7) | 6.2(5) | 9.9(6) | 11.2(8) |
| | | 剣状突起の分岐** | 0 | 1.0(1) | 1.4(1) | 0 |
| 骨盤の非対称** | | 7.1(6) | 8.2(6) | 1.4(1) | 1.9(2) | |
| 仙骨前脊椎数** | | 26 | 88.4(14) | 81.4(13) | 84.5(12) | 87.9(13) |
| | 27 | 11.6(6) | 18.6(7) | 15.5(6) | 12.1(6) | |

*: 平均値, **: 発生胎児率(腹数) 多重 t-検定、 χ^2 -検定

異常の背景データ(外表及び内臓異常: 92 試験、骨格異常: 86 試験)

| | | 平均値 | 範囲 |
|----------|---------------|-------|------------|
| 外表 異常 | 前肢指湾曲 | 0.01 | 0.0 - 1.0 |
| | 前後肢湾曲 | データなし | データなし |
| 内臓 異常 | 肺中葉の欠損 | 0.15 | 0.0 - 2.0 |
| | 胆嚢の変異 | 19.28 | 1.0 - 42.7 |
| | 左腎及び尿管の欠損 | 0.02 | 0.0 - 1.1 |
| | 片側性水腎症 | 0.33 | 0.0 - 3.6 |
| | 片側性水尿管症 | 0.06 | 0.0 - 2.0 |
| | 矮小胎児(32.0g未満) | 13.64 | 0.0 - 32.3 |
| 骨格 異常 | 前頭縫合骨化不全 | 12.54 | 0.0 - 46.5 |
| | 剣状突起の分岐 | 0.10 | 0.0 - 5.1 |
| | 骨盤の非対称 | 3.54 | 0.0 - 8.9 |
| | 仙骨前脊椎数 | 26 | 80.80 |
| 27 | | 18.12 | 7.2 - 44.3 |

(13) 変異原性

(1) 細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.33)

試験機関

報告書作成年 1975年

検体の純度

試験方法 ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA1536、TA1537、TA1538 株)及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 hcr^+ 、WP2 hcr^- 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

5000 μ g/プレートを最高投与量とした。

試験は代謝活性化系非存在下では 2 回(試験-1)、代謝活性化系非存在下/存在下では 1 回(試験-2)行い、2 プレート/用量/菌株で実施した。

全ての菌株を用い、2000 μ g/プレートの用量で復帰変異コロニーの形成がみられないことを確認したうえで試験を実施した。

尚、陽性対照として以下の化合物を用いた。

| 略 称 | 化学名 |
|------|---|
| AF-2 | 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide |
| — | β -Propiolactone |
| 9-AA | 9-Aminoacridine |
| NBT | 2,4-Dinitrophenyl thiocyanate |
| 2-AA | 2-Aminoanthracene |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果

試験 -1

| 薬物 | 濃度 (μ g/プレート) | S9 Mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | | |
|--------------|-----------------------|---------------|------------------|-----------------------|----------------------------|------------|---------------------|------------------------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | | WP2 hca^+ | WP2 hca^- | TA1535 | TA1536 | TA1537 | TA1538 |
| 対照 (DMSO) | | — | 19 35 (27) | 29 29 (29) | 38 41 (40) | 1 2 (2) | 6 7 (7) | 25 26 (26) |
| 検体 (BPMC) | 200 | — | 45 53 (49) | 30 46 (38) | 39 43 (41) | 0 1 (1) | 9 13 (11) | 30 26 (28) |
| | 1000 | — | 32 45 (39) | 40 43 (42) | 64 73 (69) | 0 1 (1) | 6 15 (11) | 20 31 (26) |
| | 5000 | — | 22 29 (26) | 15 19 (17) | * | * | * | * |
| 陽性対照 | 名称 | | AF-2 | AF-2 | β -propio lactone | | 9AA | NBT |
| | μ g/プレート | | 5 | 0.25 | 50 | | 100 | 50 |
| | コロニー数/プレート | | 812 1112(962) | 1762 約2000 | 1280 1376 (1328) | | 802 896 (849) | >3000 >3000 (>3000) |
| 対照 (DMSO) | | — | 21 29 (25) | 18 32 (25) | 12 16 (14) | 0 1 (1) | 3 9 (6) | 9 — |
| 検体 (BPMC) | 200 | — | 24 31 (28) | 37 37 (37) | 18 22 (20) | 1 1 (1) | 7 8 (8) | 16 18 (17) |
| | 1000 | — | 40 41 (41) | 38 39 (39) | 18 25 (22) | 0 0 (0) | 4 4 (4) | 17 24 (21) |
| | 2500 | — | 30 32 (26) | 16 20 (18) | 19 23 (21) | 0 0 (0) | 3 4 (4) | 14 31 (23) |
| | 5000 | — | 16 21 (19) | 14 18 (16) | * | * | * | * |
| 陽性対照 | 名称 | | AF-2 | AF-2 | β -propio lactone | | 9AA | NBT |
| | μ g/プレート | | 5 | 0.25 | 50 | | 100 | 50 |
| | コロニー数/プレート | | 788 744 (741) | >2000 >2000(>2000) | 602 620 (611) | | 1006 1052 (1029) | >3000 >3000 (>3000) |

()内の数値は平均値。 * : 菌株の生育阻止 空欄: 検査せず

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、9-AA: 9-Aminoacridine

NBT: 2,4-Dinitrophenyl thiocyanate、2-AA: 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験-2

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$) | S9 Mix の有無 | 復帰変異コロニー数 / プレート | | | | | |
|-----------|-------------------------------------|---------------------------|------------------|--------------|--------------|-----------|-----------------|-----------------------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | | WP2 hcr^+ | WP2 hcr^- | TA1535 | TA1536 | TA1537 | TA1538 |
| 対照 (DMSO) | | + | 29 33(31) | 32 34(33) | 8 13(11) | 0 1(1) | 19 21(20) | 23 26(25) |
| 検体 (BPMC) | 500 | - | 38 38(38) | 28 37(33) | 36 54(45) | 0 0(0) | 12 12(12) | 20 32(26) |
| | | + | 29 35(32) | 30 31(31) | 7 8(8) | 0 0(0) | 12 24(18) | 15 27(21) |
| | 2000 | - | 22 31(27) | 24 29(27) | 6 9(8) | 0 0(0) | 8 * | 17 23(20) |
| | | + | 23 29(26) | 22 24(23) | 8 10(9) | 0 0(0) | 5 6(6) | 16 22(19) |
| | 5000 | - | 10 16(13) | 13 * | | | | |
| | | + | 16 22(19) | 3 12(8) | | | | |
| 陽性 対照 | S9 Mix の 有無 | 名称 | | | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA |
| | | $\mu\text{g}/\text{プレート}$ | | | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | + | コロニー数/プレート | | | 16 21(19) | 0 0(0) | 18 23(21) | 46 50(48) |
| | - | コロニー数/プレート | | | 125 | 1 | 442 492(467) | >3000 >3000(>3000) |

()内の数値は平均値。 * : 菌株の生育阻止 空欄: 検査せず

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 9-AA: 9-Aminoacridine

NBT: 2,4-Dinitrophenyl thiocyanate, 2-AA: 2-Aminoanthracene

検体は、代謝活性化を含め、試験-1 では生育阻害の認められない最高濃度である1000/2500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。試験-2 では TA1537 株で生育阻害の認められない最高濃度である500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、TA1535、TA1536、TA1537 株で最高濃度の2000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、WP2 hcr^- 株で生育阻害の認められない最高濃度である2000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、WP2 hcr^+ 株で最高濃度の5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、 β -Propiolactone、9AA、NBT 及び 2-AA では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

(2)細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.34)

試験機関

「GLP」

報告書作成

1986年

検体の純度

試験方法

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100)を用い、ラットの肝臓から調製した薬剤代謝酵素系 (S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Amesらの方法で変異原性を検定した。試験は2反復とし、2回実施した。

検体を溶解させるため、DMSOを用いた。

5000 μ g/プレートを最高投与量とした。

尚、陽性対照として以下の化合物を用いた。

| 略称 | 化学名 |
|------|-----------------------------------|
| AF-2 | 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ -2-フリル)アクリルアミド |
| BP | ベンゾ[a]ピレン |

この2株を選択したのは、資料33(残留農薬研究所、1975年)において、TA98及びTA100の2菌株に対して復帰変異試験が実施されていなかったためである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果

| 薬物 | 濃度 (μ g/プレート) | S 9 Mix の有 無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | |
|-------------|-----------------------|-----------------|---------------------|--------------------|------------------|------------------|
| | | | 塩基対置換型 | | フレームシフト型 | |
| | | | TA 100 | | TA 98 | |
| | | | 試験 1 | 試験 2 | 試験 1 | 試験 2 |
| 対照 (DMSO) | | — | 186 179 (183) | 161 121 (141) | 22 17 (20) | 21 28 (25) |
| 検体 (BPMC) | 1 | — | 168 173 (171) | | 18 22 (20) | |
| | 5 | — | 213 197 (205) | | 31 24 (28) | |
| | 10 | — | 173 190 (182) | | 27 23 (25) | |
| | 50 | — | 219 218 (219) | 172 205 (189) | 26 22 (24) | 24 32 (28) |
| | 100 | — | 217 239 (228) | 232 170 (201) | 22 25 (24) | 28 23 (26) |
| | 200 | — | | 191 143 (167) | | 28 21 (25) |
| | 400 | — | | 107 170 (139) | | 22 31 (27) |
| | 500 | — | 201※ 188※ (195) | 113※ 130※ (122) | 21※ 20※ (21) | 18※ 27※ (23) |
| | 1000 | — | 136※ 131※ (134) | 85※ 128※ (107) | 29※ 22※ (26) | 7※ 24※ (16) |
| | 2000 | — | | 10※ 18※ (14) | | 12※ 6※ (9) |
| 5000 | — | 0※ 0※ (0) | 0※ 0※ (0) | 0※ 0※ (0) | 0※ 0※ (0) | |
| 陽性対照 (AF-2) | 0.01 | — | 806 986 (896) | 633 615 (624) | | |
| | 0.1 | — | | | 343 328 (336) | 460 401 (431) |
| 対照 (DMSO) | | + | 169 150 (160) | 206 189 (198) | 29 49 (39) | 49 57 (53) |
| 検体 (BPMC) | 1 | + | 163 173 (168) | | 50 52 (51) | |
| | 5 | + | 164 176 (170) | | 35 40 (38) | |
| | 10 | + | 182 156 (169) | | 41 40 (41) | |
| | 50 | + | 202 163 (183) | 176 244 (201) | 46 44 (45) | 66 45 (56) |
| | 100 | + | 150 198 (174) | 145 164 (155) | 65 56 (61) | 71 46 (59) |
| | 200 | + | | 136 154 (145) | | 42 70 (56) |
| | 400 | + | | 135 112 (124) | | 52 59 (56) |
| | 500 | + | 156 159 (158) | 117 127 (122) | 50 55 (53) | 73 49 (61) |
| | 1000 | + | 138※ 129※ (134) | 115※ 74※ (95) | 43※ 33※ (38) | 36※ 32※ (34) |
| | 2000 | + | | 65※ 84※ (75) | | 35※ 35※ (35) |
| 5000 | + | 0※ 0※ (0) | 0※ 0※ (0) | 0※ 0※ (0) | 0※ 0※ (0) | |
| 陽性対照 (BP) | 5 | + | 1216 1247 (1232) | 1020 935 (978) | 405 371 (388) | 469 427 (448) |

()内の数値は平均値。※抗菌性が認められた。空欄試験せず

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ -2-フリル) アクリルアミド、BP: ベンゾ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体は、代謝活性化も含め、抗菌性を示さない最高投与濃度 400 μg /プレート (S-9 Mix 非存在下)及び 500 μg /プレート(S-9 Mix 存在下)においても、復帰コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2 及び BP は検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

(3) 宿主経由試験

(資料 No.33)

試験機関

報告書作成

1975 年

検体の純度

試験方法

検体の投与量決定の為、LD₅₀ (マウス経口 182mg/kg)を基準として、数段階の量をマウスに投与し、臨床症状を観察し、これに基づき投与量を下記のごとく定めた。

| 群 | 検体名 | 1 回投与量 (mg/kg) | 総投与量 (mg/kg) | ICR 系 雄マウス数 |
|-----------------------------|-------------|-------------------|-----------------|----------------|
| 対照群 | 1% Tween 80 | — | — | 5 |
| 検体群(1/10 LD ₅₀) | BPMC | 18.2 | 36.4 | 5 |
| 検体群(1/5 LD ₅₀) | BPMC | 36.4 | 72.8 | 5 |
| 陽性対照 | DMN | 50.0 | 50.0 | 5 |

検体は 1% Tween80 に懸濁調製し、24 時間間隔で 2 回投与した。投与は体重 10g あたり 0.2ml の割合で強制経口投与した。

陽性対照としては、Dimethyl nitrosamine (DMN) 50mg/kg を、1 回経口投与した。2 回目の検体投与直後、対数期の *Salmonella typhimurium* G-46 株 (2.0 × 10⁹ 個/ml) 2ml をマウス腹腔内に注入した。

処置 3 時間後、各群のマウスを屠殺し、1/15M リン酸緩衝液 (pH 7.0) 1ml を注入し、腹腔内溶液を出来るだけ完全に回収した。

この回収液は、1/15M リン酸緩衝液で順次希釈し、生存菌数の測定には 10⁸ 希釈液を 0.1ml、復帰変異菌数の測定には回収液 0.4ml (DMN は 0.1ml) を軟寒天液に加え、最少寒天培地上に拡げた。

37°C で 2 日間培養後、復帰変異コロニー数及び生存菌数を計数した。

又、*Salmonella typhimurium* G-46 株を用いて、*in vitro* における復帰変異試験を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果

| 群 | 総投与量 (mg/kg) | 復帰変異 菌数 / 0.4ml | 生存菌数 × 10 ⁸ / 0.4ml | 復帰変異 菌数 / 10 ⁸ 生存菌数 | 復帰変異 菌数 / 10 ⁸ 生存菌数 (平均値±SD) | |
|-------------------------------------|-----------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|-------|
| 対照群 (1% Tween) | 1 | 9.5 | 17.5 | 0.54 | 0.38±0.15 | |
| | 2 | 2 | 5.4 | 0.37 | | |
| | 3 | 2.5 | 17.9 | 0.14 | | |
| | 4 | 6 | 16.8 | 0.36 | | |
| | 5 | 7 | 14.8 | 0.47 | | |
| BPMC (1/10 LD ₅₀ × 2) | 1 | 18.2 × 2 | 19.3 | 0.21 | 0.23±0.07 | |
| | 2 | 18.2 × 2 | 23.6 | 0.13 | | |
| | 3 | 18.2 × 2 | 23.9 | 0.29 | | |
| | 4 | 18.2 × 2 | 17.9 | 0.25 | | |
| | 5 | 18.2 × 2 | 18.0 | 0.28 | | |
| BPMC (1/5 LD ₅₀ × 2) | 1 | 36.4 × 2 | 16.2 | 0.56 | 0.55±0.42 | |
| | 2 | 36.4 × 2 | 14.3 | 0.28 | | |
| | 3 | 36.4 × 2 | 19.8 | 0.38 | | |
| | 4 | 36.4 × 2 | 16.7 | 0.24 | | |
| | 5 | 36.4 × 2 | 9 | 1.27 | | |
| DMN | 1 | 50 | 28.8 | 165.3 | ↑174.7±15.0 | |
| | 2 | 50 | 19.5 | 193.8 | | |
| | 3 | 50 | 3768 | 21.4 | | 176.5 |
| | 4 | 50 | 3060 | 16.7 | | 182.7 |
| | 5 | 50 | 4016 | 25.9 | | 155.2 |

↑↓: P<0.001 (統計手法不明)

宿主経路試験において検体投与群は、対照群と比較して復帰変異菌数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた DMN では対照群と比較して復帰変異菌数の著しい増加が認められた。

In vitro における試験結果

| BPMC 濃度 mg/プレート | 0 | 0.2 | 1 | 2.5 | 5 | β-propiolactone 1mg/プレート |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------------------|
| 復帰変異 コロニー数/プレート | 2 5(4) | 1 8(5) | 2 9(6) | 4 6(5) | 1 5(3) | 178 289(234) |

()は平均値

Salmonella typhimurium G-46 株を用いた *in vitro* における復帰変異試験では、BPMC のいずれの濃度においても、対照群と比較して復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

一方、陽性対照として用いた β -propiolactone では、対照群と比較して、復帰変異コロニー数の著しい増加が認められた。

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

(4)チャイニーズハムスターの Don 細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験

(資料 No.35、36)

試験機関

「GLP」

報告書作成年

1986 年

検体の純度

試験方法

チャイニーズハムスターの雄肺由来の Don 細胞を用いた。
試験前に濃度設定のために実施した細胞毒性試験から 50%細胞増殖阻害濃度が 160mg/mlであったため、本試験の濃度は非活性化法、活性化法 (S-9mix の有無)とも 40、80 及び 160 μ g/mlとした。

各濃度で 100 個 (50 個/プレート×2)の分裂中期像を観察した。

染色体の異常を切断、ギャップ、細粉化、倍数体等に分類し、計測した。染色体の異常が 1 個でも存在する細胞を染色体異常細胞として区分し、陰性対照 (DMSO) 群との間に有意差検定を行い、その結果、検体と染色体異常出現頻度との間に有意差及び用量依存性が認められる場合にのみ、その検体は染色体異常誘発性があるものと判定した。陽性対照としてマイトマイシン C (MMC)及びシクロホスファミド (CP)を用いた。

尚、資料 No.35 の結果、検体を非活性化法で 48 時間処理したとき 160 μ g/mlの濃度で染色体異常の出現頻度に陰性対照群と比較して有意な増加が認められたが、処理濃度と染色体異常出現頻度との間に明確な用量反応性が認められなかったため、非活性化法 48 時間処理にて、120、160、及び 200 μ g/mlの濃度で、追加試験 (資料 No.36)を行った。

結 果

検体投与群は、非活性化法及び活性化法 (S-9mix)の 24 時間処理においては、染色体異常の発生頻度に有意な増加は認められなかった。非活性化法の 48 時間処理において、160 μ g/mlの濃度で染色体異常出現頻度に陰性対照群と比較して有意な増加が認められたが、用量反応性が不明確であったため (表-1)、追加試験を行ったところ、160 及び 200 μ g/ml群で染色体異常出現頻度に有意差が認められ、明確な用量反応性が認められた (表-2)。

陽性対照として用いたマイトマイシン (MMC)及びシクロホスファミド (CP)では顕著な染色体異常の増加が認められた。

以上の結果から、本検体はチャイニーズハムスター Don 細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験において弱い変異原性を示す物質であると判断される。

試験結果 (表-1)

| 代謝 活性化 の有無 | 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 時間 (hrs) | 染色体異常数 | | | | 細胞数 | | | | |
|------------------|-----------------|-----------------------------------|-------------|------------------|----------------------------|------------------|----------------------------|---------------|-------------|-------------|----------------------------|---------------------------------|
| | | | | 切断 | | ギャップ | | 異常 5 以上 | 細 粉 化 | 倍 数 化 | 染色体異常 | |
| | | | | 染 色 体 型 | 染 色 体 分 体 型 | 染 色 体 型 | 染 色 体 分 体 型 | | | | キ ャ ッ プ 含 む | キ ャ ッ プ 含 ま ず |
| 活 性 化 | 陰性対照 | | 24 | 1 | | | 1 | | | 1 | 2 | 1 |
| | B P M C | 40 | 24 | | | | 2 | | | 1 | 2 | 0 |
| | | 80 | 24 | 2 | | 1 | 2 | | | 2 | 4 | 2 |
| | | 160 | 24 | | | | 1 | | | 1 | 1 | 0 |
| | 陽性対照 (C P) | 5 | 24 | 16 | 50 | 1 | 12 | 9 | 1 | 1 | ↑ 70 | ↑ 62 |
| 非 活 性 化 | 無処理 | | 24 | | 1 | | | | | | 1 | 1 |
| | 陰性対照 | | 24 | | 1 | | 1 | | | 1 | 2 | 1 |
| | B P M C | 40 | 24 | 1 | 1 | | 1 | | | 1 | 3 | 2 |
| | | 80 | 24 | | 5 | | | | | | 4 | 4 |
| | | 160 | 24 | | 5 | 1 | 2 | | | 3 | 6 | 4 |
| | 陽性対照 (M M C) | 0.01 | 24 | 5 | 22 | | 7 | 4 | | 2 | ↑ 33 | ↑ 27 |
| | | 0.02 | 24 | 12 | 43 | 1 | 11 | 6 | 2 | 1 | ↑ 52 | ↑ 47 |
| | 無処理 | | 48 | | | | 1 | | | 2 | 1 | 0 |
| | 陰性対照 | | 48 | | 1 | | 1 | | | 1 | 2 | 1 |
| | B P M C | 40 | 48 | | 2 | | 1 | | | 1 | 3 | 2 |
| | | 80 | 48 | | 2 | 1 | 2 | | | 1 | 5 | 2 |
| | | 160 | 48 | 1 | 10 | 1 | 1 | 2 | | 2 | ↑ 14 | ↑ 12 |
| 陽性対照 (M M C) | 0.01 | 48 | 7 | 12 | 2 | 8 | | | 1 | ↑ 26 | ↑ 17 | |
| | 0.02 | 48 | 11 | 29 | 1 | 8 | 3 | 3 | 2 | ↑ 49 | ↑ 43 | |

↓↑: $P < 0.01$ 、↑↓: $P < 0.001$ (χ^2 -検定)

MMC: マイトマイシン C、CP: シクロフォスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(表-2) 追加試験

| 代謝 活性化 の有無 | 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 時間 (hrs) | 染色体異常数 | | | | 細胞数 | | | | |
|------------------|----------------------|-----------------------------------|-------------|------------------|----------------------------|------------------|----------------------------|---------------|-------------|-------------|----------------------------|---------------------------------|
| | | | | 切断 | | ギャップ | | 異常 5 以上 | 細 粉 化 | 倍 数 化 | 染色体異常 | |
| | | | | 染 色 体 型 | 染 色 体 分 体 型 | 染 色 体 型 | 染 色 体 分 体 型 | | | | キ ャ ッ プ 含 む | キ ャ ッ プ 含 ま ず |
| 非 活 性 化 | 無 処 理 | | 48 | | | | 1 | | | | 1 | 1 |
| | 陰 性 対 照 | | 48 | | 1 | | 1 | | | 1 | 2 | 1 |
| | B P M C | 120 | 48 | 3 | 1 | | 1 | | | | 5 | 4 |
| | | 160 | 48 | 3 | 5 | 1 | 1 | 1 | | 2 | ↑ 11 | ↑ 9 |
| | | 200 | 48 | 4 | 16 | 1 | 3 | 3 | | 2 | ↑ 23 | ↑ 19 |
| | 陽 性 対 照 (M M C) | 0.02 | 48 | 2 | 16 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | ↑ 21 | ↑ 19 |

↓↑: $P < 0.01$ 、↑↓: $P < 0.001$ (χ^2 -検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(5) マウスを用いた小核試験

(資料 No.37)

試験機関

「GLP」

報告書作成 1986年

検体の純度

供試動物

ICR系(Crj:CD-1)マウス 1群雄6匹
開始時9週齢(体重35.0~41.5g)

試験方法

検体を動物に強制経口投与し、小核試験を実施した。

156mg/kgを最高用量とし、39、78及び156mg/kgの用量で1回強制経口投与した。又、156mg/kgの用量では24時間間隔で2回投与する群も設け、骨髓細胞標本を最終投与24時間後に作製した。

標本は動物あたり全赤血球(多染性赤血球及び正染性赤血球)1000個に占める多染性赤血球の出現頻度を調べ、次いで1000個の多染性赤血球を観察し、そのうち小核を持つ細胞数を数えた。検体投与群における小核を持つ多染性赤血球数が陰性対照群と比較して有意に高く、しかも検体用量の増加に伴い小核を持つ多染性赤血球の有意な増加(用量反応性)が認められる場合を陽性と判定した。

陽性対照としては、シクロホスファミド(CP)を40mg/kgの用量で1回強制経口投与した。

結 果

1回投与及び2回投与の検体投与群においては、小核を有する多染性赤血球数に増加はみられず、多染性赤血球数の出現頻度にも減少はみられなかった。従って、検体投与により小核が誘発されないこと、マウスの骨髓造血機能を抑制しないことが示唆された。一方、陽性対照として用いたシクロホスファミド(CP)では顕著な小核の誘発が認められた。

以上の結果から、検体はマウスを用いた小核試験において、小核を誘発せず、*in vivo*染色体異常誘発性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果

| | 用量 (mg/kg) | 投与 回数※ | 動物数 | 多染性赤血球 出現頻度 (%±S.D.) | 多染性赤血球 観察数 | 小核を有する 多染性赤血球数 及び出現頻度 (%±S.D.) |
|------------------|---------------|-----------|-----|----------------------------|---------------|---|
| 陰性対照群 (オリーブ油) | 0 | 1 | 6 | 46.7±4.3 | 6000 | 7 (0.12±0.08) |
| 検体投与群 (BPMC) | 39 | 1 | 6 | 48.0±3.0 | 6000 | 9 (0.15±0.10) |
| | 78 | 1 | 6 | 44.7±4.8 | 6000 | 7 (0.12±0.08) |
| | 156 | 1 | 6 | 49.3±2.9 | 6000 | 10 (0.17±0.15) |
| 陽性対照群 (CP) | 40 | 1 | 6 | 48.1±5.9 | 6000 | ↑189 (3.15±1.25) |
| 陰性対照群 (オリーブ油) | 0 | 2 | 6 | 45.6±4.0 | 6000 | 4 (0.07±0.08) |
| 検体投与群 (BPMC) | 156 | 2 | 6 | ↑49.7±1.7 | 6000 | 9 (0.15±0.23) |

※ 2回投与は24時間間隔とした。

↑↓:P<0.05, ↑↓:P<0.01 (Kastenbaum and Bouman 法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(6)細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No.33)

試験機関

報告書作成年 1975 年

検体の純度

試験方法

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

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

最高投与量は 2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ した。

結 果

| 群 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$) | 阻止帯の径 (mm) | | 差 (mm) |
|--------------------|-------------------------------------|------------|------|-----------|
| | | M-45 | H-17 | |
| 対照群 (DMSO) | | 0 | 0 | 0 |
| BPMC | 200 | <1 | 0 | <1 |
| | 1000 | <1 | <1 | — |
| | 2000 | <1 | <1 | — |
| 陽性対照 (Mitomycin C) | 0.1 (力価) | 9 | 0 | 9 |
| 対照群 (DMSO) | | 0 | 0 | 0 |
| BPMC | 200 | <1 | 0 | <1 |
| | 1000 | <1 | <1 | — |
| | 2000 | <1 | <1 | — |
| 陽性対照 (Mitomycin C) | 0.1 (力価) | 9 | 0 | 9 |

検体投与群では、最高投与量 2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ においても両株に極く弱い 1.0 mm 以下の生育阻止しか認めなかった。

一方、陽性対照の Mitomycin C では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(7) BPMC の変異原性のまとめ (申請者の考察)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(14) 生体機能への影響に関する試験

(1) BPMCにおける薬理試験

(ラットの血漿、血球及び脳中コリンエステラーゼ活性に及ぼす影響)

(資料 No.38)

試験機関

報告書作成年 1982年

検体純度

供試動物

ウイスター系雄ラット、1群 6~8匹、6週齢 (体重 123~145g)

試験期間

試験方法

検体をオリーブ油に溶解し、23.1、69.3 及び 208mg/kg を強制経口投与した。

投与 0.5、2、6 及び 24 時間後に後大静脈より採血 (4ml) した後、腹大動脈より放血致死せしめ、すみやかに脳を採取した。脳は生理食塩水とともにポリロンでホモジナイズし、遠心分離した上清をサンプルとした。

このようにして得られた血液 (血漿と血球) 及び脳についてコリンエステラーゼ活性を測定した。

供試動物数

| 投与量 (mg/kg) | 投与後試料採取時間(時間) | | | | 計 |
|----------------|---------------|----|----|----|----|
| | 0.5 | 2 | 6 | 24 | |
| 23.1 | 2匹 | 2匹 | 2匹 | 0匹 | 6匹 |
| 69.3 | 2匹 | 2匹 | 2匹 | 0匹 | 6匹 |
| 208 | 2匹 | 2匹 | 2匹 | 2匹 | 8匹 |

試験結果

(μ mol/ml/min)

| 投与量 (mg/kg) | | 投与後時間 | | | | 対照群 (10匹平均) |
|----------------|------|----------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| | | 0.5 | 2 | 6 | 24 | |
| 血漿 | 23.1 | 0.722 (103) | 0.677 (97) | 0.619 (88) | — | 0.701 |
| | 69.3 | 0.745 (106) | 0.618 (88) | 0.663 (95) | — | |
| | 208 | 0.479 (68) | 0.529 (75) | 0.475 (68) | 0.760 (108) | |
| 血球 | 23.1 | 2.00 (90) | 2.24 (101) | 2.15 (97) | — | 2.21 |
| | 69.3 | 1.96 (89) | 2.27 (103) | 1.90 (86) | — | |
| | 208 | 1.42 (64) | 2.07 (103) | 1.83 (83) | 2.03 (92) | |
| 脳 | 23.1 | 3.19 (114) | 2.17 (77) | 2.18 (76) | — | 2.81 |
| | 69.3 | 2.64 (94) | 2.59 (92) | 2.00 (71) | — | |
| | 208 | 1.94 (69) | 1.55 (55) | 2.29 (87) | 2.94 (105) | |

—:測定せず

():対照群を100とした時の相対値

以上の結果より、コリンエステラーゼ活性が20%阻害された場合に毒性影響が出るかと仮定すると、血漿、血球、脳コリンエステラーゼ活性の無作用量は69.3mg/kgであると判断された。また、ラットの急性経口毒性LD₅₀値の約1/3量である208mg/kgを投与した時のコリンエステラーゼ活性の回復時間は血漿、血球及び脳中でそれぞれ、24時間、2時間及び6時間であった。

(2) BPMC における薬理試験

(資料 No.42)

試験機関 「GLP」

報告書作成 1989 年

検体の純度

① 中枢神経系に対する作用

i) 雌雄マウスの一般症状

供試動物 ICR系マウス 1群雌雄3匹
7週齢(体重:雄25.1~38.1g、雌22.7~28.3g)

試験方法 検体を1%ツィーン80生理食塩水に乳化して0、5、10、20、40、80、160及び320mg/kgを腹腔内投与し、一般症状を観察した。観察は投与前、投与後10及び30分、1、2、4及び8時間、翌日以降は1日1回、7日目まで行った。行動は、Irwinの方法に準じ、評価基準に従って採点した。

試験結果 結果を表1に示す。
雌雄マウスとも、中枢神経系、自律神経系の異常(痙攣、流涎等)を特徴とする、種々の異常症状、死亡が見られた。160mg/kg投与群では雄マウスの3例中1例と雌マウスの3例中2例が、320mg/kg投与群では雌雄マウスの全例が、投与10分以内に死亡した。
生存個体において、雌雄マウスとも40mg/kg以上の投与群で、認知力の低下、運動性の減少、中枢神経系興奮、姿勢の異常、運動失調、筋緊張の低下、反射の低下及び自律神経系の異常症状がみられた。これらの症状は、投与10分後にみられ、4時間後まで続き、その後、全てのマウスは正常に回復した。
20mg/kg以下の投与群では、雌雄マウスともに検体投与によると思われる明確な異常症状はみられなかった。

ii) 雄ウサギの一般症状

供試動物 日本白色種ウサギ 1群雄3匹
11~12週齢(体重:雄2.20~3.47kg)

試験方法 検体を1%ツィーン80生理食塩水に乳化して0、0.156、0.625、2.5、10及び40mg/kgを静脈内投与し、一般症状を多元観察した。観察は投与前、投与後2、5、10及び30分、1、2、4及び8時間、翌日以降は1日1回、7日目まで行った。行動、体性神経系、

試験結果

自立神経系について観察し、評価基準に従って採点した。

結果を表 2 に示す。

雄ウサギに行動、体性神経系及び自律神経系の種々の異常症状、死亡がみられた。

10 mg/kg以上の投与群では、投与2分後から、行動では自律運動の低下及び音反応の低下、体性神経系では筋緊張の低下、反射の低下、痙攣及び運動失調、自律神経系では瞳孔の縮小、呼吸数の変化、心拍数の低下、チアノーゼ及び流涎がみられた。40 mg/kg投与群では全例が30分以内に死亡した。10 mg/kg投与群では1時間以内にすべての異常症状は正常に回復した。2.5 mg/kg以下の投与群には検体投与によると思われる明確な異常症状はみられなかった。

iii) 雄マウスのヘキサバルビタール睡眠に対する作用

供試動物

ICR系マウス 1群雄10匹

7週齢(体重:雄25.1~38.1g)

試験方法

検体を1%ツィーン80生理食塩水に乳化して0、2.5、5、10、20、40及び80 mg/kgを腹腔内投与し、10分後に100 mg/kgのヘキサバルビタールを皮下投与し、睡眠時間を測定した。

試験結果

結果を表1に示す。

20 mg/kg以上の投与群に有意な睡眠時間の延長がみとめられた。

iv) 雄ウサギの脳波に対する作用

供試動物

日本白色種ウサギ 1群雄3匹

11~12週齢(体重:雄2.20~3.47kg)

試験方法

試験1週間前に電極装着手術を行った。検体を1%ツィーン80生理食塩水に乳化して0、0.156、0.625、2.5、10及び40 mg/kgを静脈内投与し、脳波に対する影響を調べた。

試験結果

結果を表2に示す。

2.5 mg/kg以上の投与群で投与直後から脳波は低振幅速波波型に変化し、2.5 mg/kg投与群では10分後まで、10 mg/kg投与群では30分後まで続いた。40 mg/kg投与群では投与直後から、脳波活性が減少し、投与後5分以内に消失、死亡した。

0.625 mg/kg以下の投与群には検体投与による変化はみとめられなかった。

v) 雄ウサギの体温に対する作用

| | | |
|-------------|---|----------|
| <u>供試動物</u> | 日本白色種ウサギ | 1 群雄 3 匹 |
| | 11~12 週齢 (体重:雄 2.20~3.47kg) | |
| <u>試験方法</u> | 検体を 1%ツィーン 80 生理食塩水に乳化して 0、0.156、0.625、2.5、10 及び 40 mg/kg を静脈内投与し、体温に対する影響を調べた。 | |
| | 体温は投与前、投与後 2、5、10 及び 30 分、1、2、4 及び 8 時間、翌日以降は 1 日 1 回、7 日目まで測定した。 | |
| <u>試験結果</u> | 結果を表 2 に示す。 | |
| | 40 mg/kg 投与群は 30 分以内にすべて死亡した。0.625 mg/kg 投与群の 1 時間、5、7 日目及び 2.5 mg/kg 投与群の 1 時間目に統計学的に有意な差が認められたが、毒性学的に意味のあるものとは思われなかった。その他の投与群には検体投与による変化はみとめられなかった。 | |

② 呼吸、循環器系に対する作用

i) 雄ウサギの呼吸、血圧、心電図に対する作用

| | | |
|-------------|--|----------|
| <u>供試動物</u> | 日本白色種ウサギ | 1 群雄 3 匹 |
| | 11~12 週齢 (体重:雄 2.20~3.47kg) | |
| <u>試験方法</u> | 検体を 1%ツィーン 80 生理食塩水に乳化して 0、0.156、0.625、2.5、10 及び 40 mg/kg を静脈内投与し、呼吸、血圧、心電図に対する影響を調べた。 | |
| <u>試験結果</u> | 結果を表 2 に示す。 | |
| | 40 mg/kg 投与群では 3 例とも投与直後から、血圧の低下、呼吸数の減少、心拍数の低下及び心電図波形の異常がみられ、5 分以内に呼吸、心拍の停止、心電図波形が消失、死亡した。 | |
| | 呼吸に対しては、2.5 mg/kg 投与群の投与 1 分後に呼吸数の増加が疑われ、10 mg/kg 投与群の投与 1 分後に呼吸振幅の増大を伴った呼吸数の低下がみとめられた。0.156 mg/kg 投与群の投与 2 分後に統計学的に有意な呼吸数の増加がみとめられたが、それよりも高用量群では有意差はみられず毒性学的な意味については疑わしかった。 | |
| | 血圧の低下は、2.5 mg/kg 以上の投与群では投与直後から 10 分後までみとめられた。心拍数に対しては 2.5 mg/kg 投与群の投与 5、30 分後に軽度ではあるが統計学的に有意な低下がみとめられたが、経時的な変化 | |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ではなく、偶発的なものと考えられた。また、10 mg/kg投与群の投与1分後に統計的有意差はなかったが約30%の低下がみとめられた。

心電図では異常波形が10 mg/kg投与群の投与中から投与1分後までみとめられた。

0.625 mg/kg以下の投与群では全ての項目において検体投与による変化はみとめられなかった。

③ 自律神経系に対する作用

i) モルモットの摘出輸精管に対する作用

供試動物 Hartley系モルモット

7週齢(体重:雄510~715g) 1群雄4匹

試験方法 モルモットを放血致死させ、輸精管を摘出し、マグヌス管に懸垂した。検体単独の影響、アゴニスト(ノルアドレナリン、High K^+)で惹起した収縮に対する検体の影響を調べた。

検体はマグヌス管での終濃度が0、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 及び 10^{-5} g/mlとなるように適用した。

試験結果 結果を表3に示す。

摘出輸精管に対する検体の直接作用では、検体に起因すると思われる変化はみとめられなかった。

アゴニスト収縮に対する検体の作用では、ノルアドレナリンで惹起した収縮張力は、 10^{-7} 、 10^{-6} g/mlで抑制された。High K^+ で惹起した収縮張力は 10^{-7} g/mlで、統計学的に有意な差がみとめられ、抑制作用が疑われたが、その程度は非常に軽微であり、 10^{-6} g/mlでは有意差はみられなかった。

10^{-5} g/mlの適用により、両収縮に対して10%を超える統計学的に有意な軽度の抑制がみとめられた。

④ 消化器に対する作用

i) 雄マウスの炭末輸送能に対する作用

| | | |
|-------------|--|--------|
| <u>供試動物</u> | ICR系マウス 7週齢(体重:雄25.1~38.1g) | 1群雄10匹 |
| <u>試験方法</u> | 検体を1%ツィーン80生理食塩水に乳化して0、2.5、5、10、20、40及び80mg/kgを腹腔内投与し、投与10分後に炭末懸濁液を経口投与し、炭末輸送に対する影響を調べた。 | |
| <u>試験結果</u> | 結果を表1に示す。 20mg/kg以上の投与群に炭末輸送の有意な抑制がみとめられた。 | |

ii) 雄モルモットの摘出回腸に対する作用

| | | |
|-------------|---|-------|
| <u>供試動物</u> | Hartley系モルモット 7週齢(体重:雄510~715g) | 1群雄4匹 |
| <u>試験方法</u> | モルモットを放血致死させ、回腸を摘出し、マグヌス管に懸垂した。 検体単独の影響、アゴニスト(アセチルコリン、ヒスタミン、High K ⁺)で惹起した収縮に対する検体の影響を調べた。 検体はマグヌス管での終濃度が0、10 ⁻⁸ 、10 ⁻⁷ 、10 ⁻⁶ 、10 ⁻⁵ 及び10 ⁻⁴ g/mlとなるように適用した。 | |
| <u>試験結果</u> | 結果を表3に示す。 検体の直接作用では、10 ⁻⁶ g/ml以上適用した場合に収縮を伴った自動運動の亢進がみとめられ、10 ⁻⁴ g/ml適用した場合には抑制がみられた。 アゴニスト収縮に対する検体の作用では、10 ⁻⁶ g/mlを適用した場合に低濃度のアセチルコリン(10 ⁻⁹ g/ml)の収縮が増大した。10 ⁻⁵ g/mlを適用した場合には、ヒスタミン収縮とHigh K ⁺ 収縮の抑制と高濃度のアセチルコリン(10 ⁻⁸ g/ml)の収縮の抑制がみとめられた。10 ⁻⁴ g/ml適用した場合には全てのアゴニスト収縮の抑制が観察された。 | |

⑤ 骨格筋に対する作用

i) 雄ラットの横隔膜神経筋標本に対する作用

供試動物 Fischer 344 ラット

7週齢 (体重:雄 202~222g) 1群雄 4匹

試験方法 ラットを放血致死させ、横隔膜神経筋標本を作製し、神経刺激、筋刺激用の刺激電極を取りつけ、マグヌス管に懸垂した。
神経刺激及び筋刺激によって惹起した筋収縮に対する検体の影響を調べた。

検体はマグヌス管での終濃度が 0、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/ml となるように漸増適用した。

試験結果 結果を表 3 に示す。

検体を終濃度 10^{-7} g/ml 適用した場合に、神経刺激による収縮に統計学的に有意な差がみとめられ、増強作用が疑われたが、その程度は非常に軽微であった。 10^{-6} g/ml を適用すると神経刺激による収縮の 10% を超える統計学的に有意な軽度の増強とともに、刺激をおこなっていない時にも小さな収縮がみとめられた。 10^{-5} g/ml を適用すると、神経刺激による収縮には増強がみられなくなり、 10^{-4} g/ml の適用により、筋刺激、神経刺激による両収縮とも抑制された。

⑥ 血液に対する作用

i) 雄ウサギの血液 (溶血と凝固) に対する作用

供試動物 日本白色種ウサギ 1群雄 3匹

11~12 週齢 (体重:雄 2.20~3.47kg)

試験方法 検体を 1% のツィーン 80 生理食塩水に乳化して 0、0.156、0.625、2.5 及び 10 mg/kg を静脈内投与し、血液 (溶血と凝固) に対する影響を調べた。溶血の指標として血漿ヘモグロビン濃度、凝固の指標としてプロトロンビン時間及び活性部分トロンボプラスチン時間を測定した。

試験結果 結果を表 2 に示す。

検体投与に起因すると思われる溶血作用はみとめられなかった。また、凝固に対する検体の影響もみとめられなかった。

以上より本剤は、マウスにおいて中枢神経系、自律神経系の種々の異常症状、死亡を惹起し、ヘキソバルビタール睡眠時間延長作用、炭末輸送能抑制作用がみとめられた。

ウサギでは行動、中枢及び自律神経系の種々の異常症状、死亡、脳波の低振幅速波波型への変化を惹起し、呼吸、循環器系に対する抑制作用がみとめられた。

摘出標本では、低濃度において神経刺激による骨格筋収縮の増強、回腸の収縮及び自動運動の増強作用ならびにアセチルコリン収縮の増強作用が、高濃度において骨格筋、平滑筋収縮の抑制作用がみとめられた。一部筋収縮を直接抑制する作用も示唆されたが、本剤の作用のほとんどは、コリンエステラーゼ阻害作用の関与が推測された。

従って、ヒトにおける急性中毒症発症の場合には、中枢神経系、自律神経系、呼吸、循環器系、消化器、骨格筋に対して同様の作用がみられる可能性が考えられる。

表1. マウスに対する作用

| 試験項目 | | | 投与量 (mg/kg、腹腔内投与) | | | | | | | | | |
|-----------------------|---|-------------|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-----|
| | | | 0 | 2.5 | 5 | 10 | 20 | 40 | 80 | 160 | 320 | |
| 一般症状 | 雄 | 死亡数/ 供試数 | 0/3 | a | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 3/3 |
| | | 評価 | — | a | — | — | ± | + | ++ | ++ | b | |
| | 雌 | 死亡数/ 供試数 | 0/3 | a | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 2/3 | 3/3 |
| | | 評価 | — | a | — | — | ± | + | ++ | +++ | b | |
| ヘキソバル ピタール 睡眠時間 | 雄 | 供試数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 (4°) | a | a | |
| | | 延長 | — | — | — | — | + | ++ | +++ | a | a | |
| 炭末輸送能 | 雄 | 供試数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 (9°) | a | a | |
| | | 抑制 | — | — | — | — | + | + | ++ | a | a | |

評価基準: (—)正常、(±)作用発現が疑われるもの、(+)軽度の作用発現、

(++)中程度の作用発現、(+++)高度の作用発現

inc:延長 dec:阻害

a: 試験未実施

b: 観察前に全動物が死亡

c: カッコ内は検査動物数(投与により死亡したため)

表 2. 雄ウサギに対する作用

| 試験項目 | | 投与量 (mg/kg、静脈内投与) | | | | | |
|-----------------|--|-------------------|-------|-------|-----|-----|-----|
| | | 0 | 0.156 | 0.625 | 2.5 | 10 | 40 |
| 一般症状 | 死亡数/供試数 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| | 評価 | — | — | — | ± | ++ | +++ |
| 脳波 | 死亡数/供試数 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| | 脳波変化 | — | — | — | + | + | +++ |
| 体温 | 死亡数/供試数 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| | 低体温 | — | — | — | — | — | — |
| 呼吸 血圧 心電図 | 死亡数/供試数 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| | 呼吸 | — | — | — | ± | ++ | +++ |
| | 血圧 | — | — | — | + | ++ | +++ |
| | 心拍 | — | — | — | ± | + | +++ |
| 溶血 凝固 | 死亡数/供試数 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | a |
| | ヘモグロビン濃度、 プロトロンビン時間、活 性部分トロンボプラス チン時間 | — | — | — | — | — | a |

評価基準: (—)正常、(±)作用発現が疑われるもの、(+)軽度の作用発現、

(++)中程度の作用発現、(+++)高度の作用発現

lvfp: 低振幅速波波型 dec act: 減少 inc: 増加 dec: 低下(減少)

a: 試験未実施

表 3. 摘出標本に対する作用

| 試験項目 | 指標(供試動物数) | | 濃度 (g/ml) | | | | | |
|----------------|----------------------------|-----------------------|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | | 0 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁴ |
| モルモット 摘出輸精管 | 直接作用(4) | | - | - | - | - | - | a |
| | ノルアドレナリン収縮 (4) | | - | - | ± (dec) | ± (dec) | + (dec) | a |
| | High K ⁺ 収縮 (4) | | - | - | ± (dec) | ± (dec) | + (dec) | a |
| モルモット 摘出回腸 | 自動運動 (4) | | - | - | - | + (inc) | ++ (inc) | ++ (dec) |
| | アセチルコ リン収縮 (4) | 10 ⁻⁸ g/ml | - | - | - | - | ++ (inc) | ++ (dec) |
| | | 10 ⁻⁹ g/ml | - | - | - | + (inc) | - | ++ (dec) |
| | ヒスタミン収縮 (4) | | - | - | - | - | + (dec) | +++ (dec) |
| | High K ⁺ 収縮 (4) | | - | - | - | - | + (dec) | +++ (dec) |
| ラット横隔膜神 経標本 | 筋刺激 (4) | | - | - | - | - | - | ++ (dec) |
| | 神経刺激 (4) | | - | - | ± (inc) | + (inc) | ± (inc) | +++ (dec) |

評価基準: (-)正常、(±)作用発現が疑われるもの、(+)軽度の作用発現、

(++)中程度の作用発現、(+++)高度の作用発現

inc: 亢進(増大) dec: 抑制

カッコ内は試験に使用した動物数

a: 検体が DMSO に溶解しなかったため、試験未実施

BPMC の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

| 試験項目 | 動物種 | 投与経路 (溶媒) | 投与量 (mg/kg) | 動物数 /群 | 作用量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 結果の概要 |
|-------|-----------------|--------------|--|------------|----------------|-----------------|--|
| 中枢神経系 | 一般状態 | マウス | 腹腔内 (tween 80) 0、5、10、20、 40、80、160、 320 | ♂:3 ♀:3 | 40 | 20 | 40mg/kg 以上の群で認知力低下、 運動性低下、興奮、異常姿勢、運 動失調、反射低下等が 10 分後に みられ、4 時間後まで持続した。 |
| | | ウサギ | 静脈内 (tween 80) 0、0.156、0.625 2.5、10、40 | ♂:3 | 10 | 2.5 | 10mg/kg 以上の群で自律運動低 下、筋緊張低下、痙攣、運動失 調、縮瞳、呼吸数変化、心拍数低 下、チアノーゼ、流涎等が 2 分後か らみられ、40mg/kg 群で全例が死 亡した。10mg/kg 群では 1 時間以 内に回復した。 |
| | ヘキソバルビ タール睡眠 | マウス | 腹腔内 (tween 80) 0、2.5、5、10、 20、40、80 | ♂:10 | 20 | 10 | 20mg/kg 以上の群で有意な延長が みられた。 |
| | 脳波 | ウサギ | 静脈内 (tween 80) 0、0.156、0.625 2.5、10、40 | ♂:3 | 2.5 | 0.625 | 2.5mg/kg 以上の群で投与直後か ら低振幅速波波形がみられ、 2.5mg/kg 群で 10 分後、10mg/kg 群で 30 分後まで持続した。 40mg/kg 群では 5 分以内に死亡し た。 |
| 体温 | | | | | 40 | 10 | 変化はみられなかった。40mg/kg 群では 30 分以内に死亡した。 |
| 循環器系 | 呼吸数 | ウサギ | 静脈内 (tween 80) 0、0.156、0.625 2.5、10、40 | ♂:3 | 2.5 | 0.625 | 2.5mg/kg 群では 1 分後に増加が疑 われた。10mg/kg 群では呼吸振幅 の増大を伴った低下がみられ、 40mg/kg 群では 5 分以内に死亡し た。 |
| | 血圧 | | | | 2.5 | 0.625 | 2.5mg/kg 以上の群で 10 分後まで 低下がみられた。 |
| | 心拍数 | | | | 10 | 2.5 | 10mg/kg 以上の群で低下がみられ た。 |
| | 心電図 | | | | 10 | 2.5 | 10mg/kg 以上の群で異常波形が 投与中から 1 分後までみられた。 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

| 試験項目 | | 動物種 | 投与経路 (溶媒) | 投与量 (mg/kg) | 動物数 /群 | 作用量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 結果の概要 |
|------------------|---------------------------|-------|---------------------------|---|-----------|-----------------------|-----------------------|--|
| 自律神経系 (摘出輸精管) | 直接作用 | モルモット | <i>in vitro</i> (DMSO) | 0, 10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵ g/mL | ♂:4 | — | 10 ⁻⁵ g/mL | 変化はみられなかった。 |
| | ノルアドレナリン 収縮 | | | | | 10 ⁻⁵ g/mL | 10 ⁻⁶ g/mL | 10 ⁻⁵ g/mL により軽度な収縮抑制 がみられた。 |
| | High K ⁺ 収縮 | | | | | | | |
| | 炭末輸送 | マウス | 腹腔内 (tween 80) | 0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 | ♂:10 | 20 | 10 | 20mg/kg 以上の群で有意な抑制が みられた。 |
| 消化器系 | 自動 運動 | モルモット | <i>in vitro</i> (DMSO) | 0, 10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁴ g/mL | ♂:4 | 10 ⁻⁶ g/mL | 10 ⁻⁷ g/mL | 10 ⁻⁶ g/mL 以上では収縮を伴う自動 運動亢進が、10 ⁻⁴ g/mL では抑制が みられた。 |
| | アセチルコ リン収縮 | | | | | 10 ⁻⁶ g/mL | 10 ⁻⁷ g/mL | 10 ⁻⁶ g/mL で低濃度(10 ⁻⁹ g/mL)の アセチルコリンの収縮が増大した。 10 ⁻⁵ g/mL で高濃度(10 ⁻⁸ g/mL)の アセチルコリンの収縮抑制がみ られた。10 ⁻⁵ g/mL 以上では抑制が みられた。 |
| | ヒスタミン 収縮 | | | | | 10 ⁻⁵ g/mL | 10 ⁻⁶ g/mL | 10 ⁻⁵ g/mL 以上では抑制がみられ た。 |
| | High K ⁺ 収縮 | | | | | 10 ⁻⁵ g/mL | 10 ⁻⁶ g/mL | 10 ⁻⁵ g/mL 以上では抑制がみられ た。 |
| 骨格筋(横隔膜神経標本) | 筋刺激 | ラット | <i>in vitro</i> (DMSO) | 0, 10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁴ g/mL | ♂:4 | 10 ⁻⁴ g/mL | 10 ⁻⁵ g/mL | 10 ⁻⁶ g/mL では神経刺激による収縮 の軽度増強がみられ、非刺激時に も小さな収縮がみられた。 |
| | 神経刺激 | | | | | 10 ⁻⁶ g/mL | 10 ⁻⁷ g/mL | 10 ⁻⁵ g/mL では神経刺激による収縮 に増強がみられなくなり、10 ⁻⁴ g/mL では筋刺激、神経刺激による収縮 が抑制された。 |
| 血液系 | 溶血・凝固 | ウサギ | 静脈内 (tween 80) | 0, 0.156, 0.625, 2.5, 10 | ♂:3 | — | 10 | 溶血、凝固に投与の影響はみられ なかった。 |

(15) 解毒及び治療

1) 解毒

① 薬理試験 (ネコ脳波に及ぼす影響)

(資料 No.39)

試験機関

報告書作成年 1978 年

検体の純度

供試動物

ネコ 7 匹 (体重 3~5kg)

試験期間

試験方法

エーテル麻酔下に気管カニューレを挿入し、股静脈に薬剤注入用のポリエチレンチューブを挿入した。動物を東大脳研式脳定位固定装置に固定し、頭部に脳波測定用電極を刺入した。

- 1) 検体を DMSO に溶解し、1 及び 3mg/kg を静脈内投与し、自発脳波を測定した。
- 2) アトロピン 2mg/kg を静脈内投与後、10 分後に検体 3mg/kg を投与し、自発脳波覚醒作用に及ぼす抗コリン剤の前処理の影響をしらべた。
- 3) 検体 1 及び 3mg/kg を静脈内投与し、脳に電気刺激を与え、脳波漸増反応に及ぼす影響をしらべた。

試験結果

1) 自発脳波

検体 1mg/kg 投与では、投与後約 30 分間顕著な低振幅速波化が認められたが、1 時間後に回復した。

3mg/kg 投与では、約 2 時間持続する顕著な覚醒パターンが観察され、皮質の低振幅速波化ならび海馬 θ 波が顕著であった。

2) 自発脳波覚醒作用に及ぼすアトロピン前処理の影響

アトロピン前処理下に検体 3mg/kg を投与すると、覚醒パターンは完全に抑制され、皮質の高電位徐波化及び海馬 θ 波の消失を示し、slow wave sleep pattern を示した。この結果よりアトロピンは解毒剤として有効と思われる。

3) 脳波漸増反応に及ぼす影響

検体 1 及び 3mg/kg 投与により、主として皮質に認められる漸増反応にはほとんど影響を認めず、また刺激閾値の上昇も観察されなかった。

以上の結果より、BPMC の解毒剤としてアトロピンは有効と思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(16)その他

1) ニトロソ化の解明

① カーバメート農薬のニトロソ化

—人工胃液中での反応速度に関して—(*in vitro*)

(資料 No.40)

試験機関

報告書作成

1975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日本農薬株式会社にある。

試験結果

1)水中でのニトロソ化に対する経時変化 (pH2.0)

水中では N-ニトロソ BPMC (NO-BPMC) の生成量は時間に比例して増加した。

2)水中でのニトロソ化に対する pH の影響

水中では N-ニトロソ BPMC の生成量は pH の低下に比例して増加した。

3)人工胃液中での BPMC のニトロソ化に対する亜硝酸ナトリウム濃度の影響

人工胃液中では N-ニトロソ BPMC の生成量は NaNO_2 濃度に比例して増加した。

4)人工胃液中での BPMC のニトロソ化に対する BPMC 濃度の影響

人工胃液中では N-ニトロソ BPMC の生成量は BPMC 濃度に比例して増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) 水中における BPMC のニトロソ化に対する製剤間の差

製剤間での N-ニトロソ BPMC の生成量は、50%乳剤>原体>>2%粉剤の順であった。この差は、乳剤では界面活性剤の影響、粉剤では不溶が原因と考えられた。胃の中での存在形態により NO-BPMC の生成量が異なると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② ウサギでの N-ニトロソBPMC の生成 (*in vivo*)

(資料 No.41)

試験機関

報告書作成 1975年

試験結果

N-ニトロソBPCM の生成は3匹ともに1%未満であり、N-ニトロソBPCM の生成を確認した1匹においても生成率は0.45%と少なく、資料 No.40 の3)及び4)での人工胃液を用いたモデル系で試算した生成率5.4%の1/10以下であり、生体内では非常に生成しにくいことが明らかになった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物

(1) 急性毒性

1) OSBP のマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料No.I-1)

試験機関

「GLP」

報告書作成年 1986 年

検体の純度

供試動物

ICR 系マウス、1 群雌雄各 5 匹
5 週齢 (体重: 雄 25.5~29.9g、雌 21.0~24.9g)

試験期間

14 日間観察

試験方法

固定用量法。検体をオリーブ油に懸濁し、体重 1kg 当り 10ml を、
金属製胃ゾンデを用い、強制経口投与した。

試験項目

中毒症状及び生死を 14 日間観察し、死亡動物及び試験終了時
における全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。
体重測定は投与前、投与 3、7 及び 14 日後に行った。

試験結果

| | 雄 | 雌 |
|-------------------------------------|--|---|
| 投与量 (mg/kg) | 683、888、1154、1500、1950、2535 | 525、683、888、1154、1500 |
| LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界 | 1255 1022~1582 | 910 752~1104 |
| 死亡開始時期 死亡終了時間 | 投与 30 分後 投与 5 日後 | 投与 6 時間後 投与 24 時間後 |
| 症状発現及び 消失時期 | <p>自発運動量減少が全群で認められ、それに伴ったうずくまりあるいは横たわり姿勢が全群で認められた。</p> <p>異常歩行及び流涙が全群、呼吸緩徐が 1154mg/kg 群、削瘦が 1154 及び 1950mg/kg 群で認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められたが、流涙に関しては 2535mg/kg 群の 1 例を除き投与 1 日後以降に認められた。</p> <p>すべての症状は投与 6 日後に消失した。</p> | <p>自発運動量減少が全群で認められ、それに伴ったうずくまりあるいは横たわり姿勢が全群で認められた。</p> <p>異常歩行が全群、流涙が 525~1154mg/kg 群、間代性痙攣が 1154mg/kg 群で認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められた。</p> <p>すべての症状は投与 6 日後に消失した。</p> |
| 体重変化 | 投与 3 日後の雌雄の全群で若干の増加抑制又は減少が認められたが、その後は順調に体重が増加した。 | |
| 肉眼的病理検査 | 検体投与に関連した異常所見は認められなかった。 | |
| 死亡例の認められなかった最大投与量 (mg/kg) | 雄 683、雌 525 | |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) のマウスを用いた急性経口毒性試験 (資料No.I-2)

試験機関 「GLP」
報告書作成年 1986年

検体の純度

供試動物 ICR系マウス、1群雌雄各5匹
5週齢(体重:雄26.1~29.9g、雌20.7~24.2g)

試験期間 14日間観察

試験方法 固定用量法。検体をオリーブ油に懸濁し、体重1kg当り10mlを、金属製胃ゾンテを用い、強制経口投与した。

試験項目 中毒症状及び生死を14日間観察し、死亡動物及び試験終了時における全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。
体重測定は投与前、投与3、7及び14日後に行った。

試験結果

| | 雄 | 雌 |
|---------------------------|--|--|
| 投与量 (mg/kg) | 1775、2308、3000、3900、5070 | |
| LD50 (mg/kg) | 3445 | 2350 |
| 95%信頼限界 | 2829~4372 | 1907~2785 |
| 死亡開始時間 | 投与 24 時間後 | 投与 3 時間後 |
| 死亡終了時間 | 投与 6 日後 | 投与 5 日後 |
| 症状発現及び 消失時期 | <p>自発運動量減少が全群で認められ、それに伴った横たわりが 2308mg/kg 以上の群で認められた。</p> <p>異常歩行が 3000mg/kg 以上の群、呼吸緩徐が 2308mg/kg 以上の群で認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められたが、主に投与当日に認められた。</p> <p>生存例では、すべての症状は投与 3 日後に消失したが、3900 mg/kg 群の 1 例では自発運動量減少が回復せずに投与 6 日後に死亡した。</p> | <p>自発運動量減少が全群で認められ、それに伴ったうずくまりあるいは横たわり姿勢が全群で認められた。</p> <p>異常歩行が 3000mg/kg 以上の群、呼吸緩徐が 2308mg/kg 以上の群で認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められ、主に投与当日に認められた。</p> <p>生存例では、すべての症状は投与 3 日後に消失したが、5070 mg/kg 群の 1 例では自発運動量減少及び異常歩行が回復せずに投与 5 日後に死亡した。</p> |
| 体重変化 | 投与後 3 日後に、雄の 1775mg/kg 群を除き全群で増加抑制又は減少が認められたが、その後は順調に体重が増加した。 | |
| 肉眼的病理検査 | 検体投与に関連した異常所見は認められなかった。 | |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄とも 1775 | |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) のマウスを用いた急性経口毒性試験 (資料No.I-3)

試験機関 「GLP」
報告書作成年 1986年

検体の純度

供試動物

ICR系マウス、1群雌雄各5匹
5週齢(体重:雄25.9~31.3g、雌22.0~24.9g)

試験期間

14日間観察

試験方法

固定用量法。検体をポリトンを用いオリーブ油に懸濁し、体重1kg当り10mlを、金属製胃ゾンデを用い、強制経口投与した。

試験項目

中毒症状及び生死を14日間観察し、死亡動物及び試験終了時における全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。
体重測定は投与前、投与3、7及び14日後に行った。

試験結果

| | 雄 | 雌 |
|---------------------------|---|---|
| 投与量 (mg/kg) | 888、1154、1500、1950、2535 | 888、1154、1500 |
| LD50 (mg/kg) | 1623 | 1185 |
| 95%信頼限界 | 1482~1777 | 1111~1263 |
| 死亡開始時間 | 投与 3 時間後 | 投与 6 時間後 |
| 死亡終了時間 | 投与 24 時間後 | 投与 24 時間後 |
| 症状発現及び消失時期 | <p>自発運動量減少が全群で認められ、それに伴ったうずくまりあるいは横たわり姿勢が全群で認められた。</p> <p>異常歩行が全群、流涎が 1950mg/kg 以上の群、間代性痙攣及び挙尾が 1500mg/kg 以上の群で認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められ、かつ、ほとんどが投与当日に限って認められた。一部の症状は投与 1 日後にも認められたが、投与 2 日後にはすべて消失した。</p> | <p>自発運動量減少が全群で認められ、それに伴ったうずくまりあるいは横たわり姿勢が全群で認められた。</p> <p>異常歩行が全群、流涎が 1154mg/kg 以上の群、流涎、間代性痙攣及び挙尾が全群に認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められ、かつ、ほとんどが投与当日に限って認められた。一部の症状は投与 1 日後にも認められたが、投与 2 日後にはすべて消失した。</p> |
| 体重変化 | 雄の 1950mg/kg 群で投与 3 日後に若干の体重減少が認められた以外、検体投与による影響は認められなかった。 | |
| 肉眼的病理検査 | 検体投与に関連した異常所見は認められなかった。 | |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 1154、雌 888 | |

4) のマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料No.I-4)

試験機関

「GLP」

報告書作成年 1986年

検体の純度

供試動物

ICR系マウス、1群雌雄各5匹

5週齢(体重:雄25.4~30.5g、雌20.9~25.6g)

試験期間

14日間観察

試験方法

固定用量法。検体をポリトロンを用いオリーブ油に懸濁し、体重1kg当り10mlを、金属製胃ゾンデを用い、強制経口投与した。

試験項目

中毒症状及び生死を14日間観察し、死亡動物及び試験終了時における全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

体重測定は投与前、投与3、7及び14日後に行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果

| | 雄 | 雌 |
|---------------------------|--|--|
| 投与量 (mg/kg) | 455、592、769、1000、1300 | 350、455、592、769、1000 |
| LD50 (mg/kg) | 650 | 712 |
| 95%信頼限界 | 250～905 | 604～838 |
| 死亡開始時間 | 投与後 30 分以内 | 投与後 30 分 |
| 死亡終了時間 | 投与後 30 分以内 | 投与後 3 時間 |
| 症状発現及び 消失時期 | <p>投与後 30 分以内に全例死亡した 1300mg/kg 群を除く全群で自発運動量減少が認められ、それに伴ったうずくまりあるいは横たわり姿勢が認められた。</p> <p>異常歩行が 1300mg/kg を除く全群、流涙が 592 及び 769mg/kg 群、流涎が 455 及び 1000mg/kg 群、間代性痙攣が 455～769mg/kg 群、挙尾が 455 及び 769mg/kg 群で認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められ、かつ、投与当日に限って認められた。</p> | <p>自発運動量減少が全群で認められ、それに伴ったうずくまりあるいは横たわり姿勢が全群で認められた。</p> <p>異常歩行が全群、流涙が 455 及び 592mg/kg 群、流涎が 455 mg/kg 以上の群、間代性痙攣が全群、挙尾が 455 及び 592mg/kg 群に認められた。</p> <p>これらの症状のほとんどは投与 30 分後から認められ、かつ、投与当日に限って認められた。</p> |
| 体重変化 | 投与 3 日後の雄の 769 及び 1000mg/kg 群及び雌の全群で若干の増加抑制又は減少が認められたが、その後は順調に体重が増加した。 | |
| 肉眼的病理検査 | 検体投与に関連した異常所見は認められなかった。 | |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 全群死亡例あり、雌 455 | |

(2) 変異原性

1) OSBP の細菌を用いる復帰変異試験

(資料No.I-5)

試験機関

「GLP」

報告書作成年 1986年

検体の純度

試験方法

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA* \rightarrow)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix)の存在下及び非存在下で Amesらの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSOを用いた。試験は2プレート/用量/菌株で実施した。

抗菌性効果が認められたため、抗菌性効果を示した最小濃度の 500 μ g/プレートを最高濃度とした。

試験は2プレート/濃度で実施した。

尚、陽性対照として以下の化合物を用いた。

| 略称 | 化学名 |
|------------------|---------------------------------|
| AF-2 | 2-(2-フリル)3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド |
| NaN ₃ | アジ化ナトリウム |
| ENNG | N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン |
| 9-AA | 9-アミノアクリジン |
| 2-AA | 2-アミノアントラセン |
| BP | ベンゾ[a]ピレン |

結論

OSBP の変異原性は TA1535 株の S-9Mix 非存在下において陽性を示すが、他の菌株には復帰変異性はないものと判断された。

試験結果 復帰変異試験成績

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$) | S-9Mi x の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | |
|--------------|-------------------------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------------------------|------------------|------------------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> ⁻ | TA98 | TA1537 |
| 対照 (DMSO) | | — | 152 146 (149) | 43 40 (42) | 22 21 (22) | 19 18 (19) | 18 11 (15) |
| 検体 (OSBP) | 5 | — | 166 176 (171) | 47 62 (55) | 14 22 (18) | 29 27 (28) | 16 11 (14) |
| | 10 | — | 192 207 (200) | 60 43 (52) | 19 23 (21) | 32 27 (30) | 23 14 (19) |
| | 20 | — | 185 186 (186) | 82 74 (78) | 22 22 (22) | 29 28 (29) | 20 19 (20) |
| | 50 | — | 225 216 (221) | 96 79 (88) | 17 13 (15) | 22 31 (27) | 12 21 (17) |
| | 100 | — | 182 204 (193) | 130 111 (121) | 24 19 (22) | 27 33 (30) | 18 19 (19) |
| | 200 | — | 113* 175* (144) | 0* 125* (63) | 14* 12* (13) | 20* 27* (24) | 3* 6* (5) |
| | 500 | — | 0* 0* (0) | 0* 0* (0) | 7* 0* (4) | 0* 0* (0) | 0* 0* (0) |
| 陽性対照 | 名称 | — | AF-2 | NaN ₃ | ENNG | AF-2 | 9-AA |
| | $\mu\text{g}/\text{プレート}$ | — | 0.01 | 0.5 | 2 | 0.1 | 80 |
| | コロニー数/プレート | — | 620 659 (640) | 472 499 (486) | 252 234 (243) | 671 624 (648) | 454 510 (482) |
| 対照 (DMSO) | | + | 128 110 (119) | 13 14 (14) | 16 22 (19) | 46 43 (45) | 19 28 (24) |
| 検体 (OSBP) | 5 | + | 173 155 (164) | 16 20 (18) | 13 16 (15) | 38 62 (50) | 14 13 (14) |
| | 10 | + | 155 192 (174) | 11 16 (14) | 18 12 (15) | 57 49 (53) | 20 27 (24) |
| | 20 | + | 172 168 (170) | 11 14 (13) | 18 16 (17) | 68 49 (59) | 15 17 (16) |
| | 50 | + | 172 177 (175) | 10 15 (13) | 10 16 (13) | 57 60 (59) | 17 19 (18) |
| | 100 | + | 188 174 (181) | 14 10 (12) | 24 18 (21) | 61 65 (63) | 19 19 (19) |
| | 200 | + | 158 145 (152) | 18 26 (22) | 22 17 (20) | 76 51 (64) | 21 26 (24) |
| | 500 | + | 0* 0* (0) | 7* 0* (4) | 10* 13* (12) | 0* 0* (0) | 0* 0* (0) |
| 陽性対照 | 名称 | + | BP | 2-AA | 2-AA | BP | BP |
| | $\mu\text{g}/\text{プレート}$ | + | 5 | 2 | 10 | 5 | 5 |
| | コロニー数/プレート | + | 1084 1035(1060) | 140 154 (147) | 413 348 (381) | 571 650 (611) | 349 280 (315) |

*: 抗菌性が認められた。()内は平均値。