

### 3. 皮膚感作性

#### (1) マウスを用いた局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA) (毒性資料 No.6)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

供試動物： CBA/J 系マウス 1群雌5匹 投与開始時8週齢以上

投与期間： 3日間

試験方法： [LLNA法]

検体を0.5、1、2.5および5%の濃度でジメチルホルムアミド(DMF)に溶解し、各群5匹の雌マウスの両耳介表面に50 $\mu$ Lずつ3日間(0日目から2日目)毎日処理した。DMFのみおよび25%の濃度でDMFに溶解した $\alpha$ -ヘキシル桂皮アルデヒド(HCA)をそれぞれ別の群に処理し、陰性対照および陽性対照群とした。試験5日目に、20 $\mu$ Ciの<sup>3</sup>H-メチルチミジン(TdR)を含有する0.9%食塩水250 $\mu$ Lを各動物の尾部より静注し、5時間後に屠殺し、両耳介リンパ節を採取した。各試料についてDPMを測定し、取込TdRを測定した。以下の式より各試験群の刺激指数(SI)を求めた。

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

SIが3以上の場合に、検体の感作性を疑った。

結果：

死亡および臨床症状；試験期間中、動物の死亡および臨床症状の変化は認められなかった。陰性対照物質および検体処理部位に皮膚反応は見られなかった。

体重； 試験期間中、投与による体重への影響はみられなかった。

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

群番号	薬剤	濃度(%)	DPM/リンパ節	SI
1	陰性対照 (DMF)	0	581.4	-
2	検体	0.5	543.4	0.9
3		1	591.6	1.0
4		2.5	647.5	1.1
5		5	519.0	0.9
6	陽性対照 (HCA)	25	3330.3	5.7

検体による刺激指数は何れの濃度においても3未満であった。

一方、陽性対照のHCAでは刺激指数は5.7であり、感作性を示した。

以上の結果、本試験において検体は非感作性物質と判断された。

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

#### 4. 急性神経毒性

##### (1) ラットを用いた急性神経毒性試験

(毒性資料 No.7)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2007年

検体純度： %

供試動物： HAN CRL:WI (HAN)系 Wistar ラット、1群雌雄各 12匹

投与開始時 約9週齢、体重；雄 252.2～315.3g、雌 167.0～206.9g

(追加試験)1群雌 12匹、投与開始時 約9週齢、体重；雌 166.6～214.7g

観察期間： 14日間(追加試験動物は、投与2～3日に屠殺しそれ以降の調査、観察は行わなかった)

投与方法： 検体を0(溶媒のみ)、125、500および2000mg/kgの設定用量(希釈液の化学分析に基づく実際用量：126、498および1840mg/kg)で2% Cremophor EL水溶液に希釈して10mL/kgの容量で単回強制経口投与した。投与前に動物の絶食は行わなかった。

初回試験の125mg/kg群雌で投与に関連した自発運動量および移動運動量の変化が認められたため、NOAELを確定するために雌のみ0、25、50および100mg/kgの設定用量(実際用量：25、51および100mg/kg)で追加試験を行った。

用量設定根拠；

最大影響時間の推定；

##### 観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；初回試験については投与後14日間、追加試験については投与後2または3日間、全動物について毎日一般状態及び生死を観察した。また、詳細な身体検査も毎日実施し記録した。

投与に関連する死亡は認められなかった。追加試験の対照群雌の1例が試験1日目に死亡したが、対照群であるため投与の影響とは考えられなかった。

投与に関連した一般症状の変化として、2000mg/kg群雄4例で尿の着色が認められた。この変化は投与0日目から認められ、投与2～5日後には消失した。

投与0日目に50(追加試験)、125および2000mg/kg群の雌各1匹で尿の着色が観察されたが、用量の依存性が認められず、発生率が低いことから、投与に起因するものとは考えられなかった。

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

表 初回試験において認められた一般症状

性	雄				雌				
	用量 (mg/kg)	0	125	500	2000	0	125	500	2000
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12
尿着色	0	0	0	4	0	1	0	1	

表 追加試験において認められた一般症状

性	雌				
	用量 (mg/kg)	0	25	50	100
検査動物数	11-12	12	12	12	12
尿着色	0	0	1	0	

体重；全動物の体重は FOB の一部として毎週測定した。初回試験については最終屠殺前にも測定した。追加試験については投与 0 日目のみ体重測定を実施した。投与の影響は認められなかった。

FOB；全生存動物について、初回試験については投与 1 週間前、投与日(投与 1 時間後に開始)、投与後 7 および 14 日目の 4 回、追加試験については投与 1 週間前および投与日(投与 1 時間後に開始)の 2 回実施した。FOB 検査室にて、以下の項目を検査した。

ホームケージでの観察

姿勢、立毛、不随意運動、歩行異常、発声、運動量低下、反復的頭部上下動、反応亢進

ハンドリング間の観察

取り出し時の難易、ハンドリングに対する反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、鼻汁、着色(涙、鼻、肛門周囲、尿、口)、脱毛、痩せ、噛み跡、眼球突出、歯の破折/不正咬合、爪欠損、脱水、体温(触診による)

オープンフィールド観察

立ち上がり回数、立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常行動、歩行異常、発声、覚醒レベル、排泄回数

反射/生理的観察/測定

接近反応、接触反応、聴覚反応、テイルピンチ、通常照明化での瞳孔サイズ、瞳孔反射、正向反射、握力、体重、結腸温、着地開脚幅

投与の影響として、投与 0 日目に 500 および 2000mg/kg 群雌で結腸温の低下が、2000mg/kg 群雌でケージからの取りだし時に発声する動物数の減少がそれぞれ認められた。500ppm 群雌で投与 7 日目に着地開脚幅が対照群に比べ統計学的有意に減少したが、同様の変化は同群で投与前にも認められており、用量との関連性がないことから投与に関連した変化とは考えられなかった。追加試験では投与の影響はみられなかった。

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

表 FOB 検査結果 (初回試験)

雄					
検査時期	用量(mg/kg)	0	125	500	2000
	検査動物数	12	12	12	12
投与前週	オープンフィールド：排泄回数	1.0±1.0	1.3±1.4	1.6±1.6	3.1±2.3*
14日目	ハンドリング：脱毛	1	0	0	0
雌					
検査時期	用量(mg/kg)	0	125	500	2000
	検査動物数	12	12	12	12
投与前週	ハンドリング：脱毛	0	0	2	0
	ハンドリング：痂皮	0	0	1	0
	反射／生理的観察：着地開脚幅 (mm)	84±17	84±16	66±14*	81±15
0日目	ハンドリング：取り出し時の難易				
	最低限の抵抗	6	5	9	11*
	最低限の抵抗+発声	6	7	3	1*
	ハンドリング：脱毛	1	0	2	0
	反射／生理的観察：結腸温 (°C)	37.9±0.4	37.8±0.3	37.4±0.5*	36.9±0.5*
7日目	ハンドリング：脱毛	2	0	2	0
	反射／生理的観察：着地開脚幅 (mm)	79±16	71±15	61±11*	69±14
14日目	ハンドリング：脱毛	2	0	2	0

\* : p<0.05 (Dunnett's test 又は Fisher's exact test)

自発運動量；FOB 検査と同日に FOB 検査終了後、全動物について自発運動量(ビームを横切った回数として記録)および移動運動量(ビームを横切った回数から連続して同一のビームを横切った回数を減じた回数として記録)を測定した。測定は 8 の字迷路を用いてインターバル/10 分間、セッション/60 分間で実施した。

初回試験において、投与 0 日目における 500mg/kg 以上の投与群雌雄および 125mg/kg 群雌の自発運動量および移動運動量が対照群に比べ統計学的有意に減少した(対照群に比べ 26~77%の減少)。追加試験の 100mg/kg 群雌では投与 0 日目の自発運動量および移動運動量が対照群に対しいずれも 38%減少したが、統計学的有意差は認められなかった。\*

なお、初回試験投与 7 日目の 2000mg/kg 群雄の移動運動量が対照群に比べ 22%減少し、通常の変動幅と考えられる±20%を僅かに外れたが、統計学的有意差はなく、同群の 7 日目の雌では同様の変化がみられていないことから投与の影響とは考えられなかった。また、追加試験の投与 0 日目の 25mg/kg 群雌の自発運動量が対照群に比べ 22%減少したが、統計学的有意差はなく、用量との関連性もなかったため、投与の影響とは考えられなかった。

環境への慣れに関しては投与の影響は認められなかった。

(\*申請者注)

追加試験の 100mg/kg 群雌で認められた自発運動量および移動運動量の減少は、統計学的有意差を伴わなかったこと、また、投与前においても同群では対照群より低い運動量を示していたことから毒性影響とは考えず、自発運動量および移動運動量に関する最小毒性量は、雄 500mg/kg、雌 125mg/kg と考える。

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

表 自発運動量

		用量(mg/kg)	0	125	500	2000
初回 試験	雄	投与前週	493±130	579±152 (117)	432±130 ( 88)	464±155 ( 94)
		0 日目	480±130	454±148 ( 95)	237± 91 ( 49) *	139± 55 ( 29) *
		7 日目	496±110	518±149 (104)	429±126 ( 86)	398± 94 ( 80)
		14 日目	433± 82	457±140 (106)	395±120 ( 91)	393± 91 ( 91)
	雌	投与前週	435±181	490±111 (113)	405±127 ( 93)	530±171 (122)
		0 日目	521±132	385± 79 ( 74) *	247± 68 ( 47) *	148± 66 ( 28) *
		7 日目	480±115	484± 98 (101)	426±189 ( 89)	573±114 (119)
		14 日目	447±129	475±107 (106)	525±212 (117)	484±100 (108)
追加 試験	用量(mg/kg)		0	25	50	100
	雌	投与前週	504±108	451±115 ( 89)	457±119 ( 91)	429±138 ( 85)
		0 日目	539± 92	423±185 ( 78)	430± 69 ( 80)	335± 93 ( 62)

表中の数値はセッション総自発運動量カウント平均値±標準偏差

( )は対照群の値に対する割合(%)

\* : p<0.05 (Dunnett's test)

表 移動運動量

		用量(mg/kg)	0	125	500	2000
初回 試験	雄	投与前週	325±100	415±140 (128)	299±118 ( 92)	292±121 ( 90)
		0 日目	335±112	322±120 ( 96)	171± 72 ( 51) *	92± 33 ( 27) *
		7 日目	323± 80	363±125 (112)	295±109 ( 91)	251± 68 ( 78)
		14 日目	287± 65	323±108 (113)	277± 90 ( 97)	243± 76 ( 85)
	雌	投与前週	284±131	330± 96 (116)	251± 86 ( 88)	347±114 (122)
		0 日目	362±108	251± 66 ( 69) *	151± 57 ( 42) *	82± 36 ( 23) *
		7 日目	311± 87	333± 77 (107)	261±148 ( 84)	348± 88 (112)
		14 日目	281± 87	300± 89 (107)	301±116 (107)	313± 76 (111)
追加 試験	用量(mg/kg)		0	25	50	100
	雌	投与前週	322± 89	286± 76 ( 89)	300± 86 ( 93)	256± 97 ( 80)
		0 日目	353± 94	302±142 ( 86)	289± 65 ( 82)	218± 84 ( 62)

表中の数値はセッション総移動運動量カウント平均値±標準偏差

( )は対照群の値に対する割合(%)

\* : p<0.05 (Dunnett's test)

剖検、組織採取および脳重量:初回試験について投与 14~15 日に全動物について剖検し、全臓器、体腔、切断面、開口部および外表の検査を実施した。各群雌雄各 6 匹ずつを、ペントバルビタールの腹腔内投与(50mg/kg)による深麻酔下、左心室からリン酸緩衝液中亜硝酸ナトリウムを流した後、リン酸緩衝液中Universal固定液(1%グルタルアルデヒドおよび 4%EM級ホルムアルデヒド)で灌流した。各動物から脳および脊髄全体、両眼(視神経含む)、末梢神経(坐骨、脛骨、腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、両前肢、神経組織または骨格筋の肉眼的病変部を採取し、10%緩衝ホルマリンに後固定した。脳はホルマリン固定前に重量を測定した。灌流に用いなかった生存動物はCO<sub>2</sub>窒息により屠殺した。追加試験の動物については剖検を実施しなかった。

投与の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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

神経病理学的検査；初回試験の対照群及び高用量群雌雄の灌流動物の以下の組織について顕微鏡的病理検査を実施した。

- ・脳(8 冠状断面)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、馬尾、眼、視神経、腓腹筋；パラフィンに包埋しヘマトキシリン&エオシン染色
- ・背根神経節(頸膨大および腰膨大、背後根繊維および腹根繊維を含む)、ガッセル神経節、末梢神経組織(坐骨、脛骨、腓腹神経)；メタクリル酸グリコール(GMA)に包埋し、2~3 $\mu$ m に細切後 Lee 染色変法により染色

投与に関連した影響は認められなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

	投与群	雄	雌
初回試験	2000mg/kg	・尿の着色	・ケージ取りだし時発声動物数減少
	500mg/kg 以上	・自発運動量、移動運動量減少	・結腸温低下
	125mg/kg 以上	125mg/kg 毒性所見なし	・自発運動量、移動運動量減少
追加試験	100mg/kg	—	・[自発運動量、移動運動量減少]
	50mg/kg 以下	—	毒性所見なし

—：試験せず

[ ]：申請者が毒性影響とは判断しない所見

以上より、本試験における無毒性量は雄については 125mg/kg、雌では 50mg/kg と判断された。神経組織に病理学的変化は認められなかった。

(申請者による考察)

追加試験の 100mg/kg 群の雌で認められた、統計学的有意差を伴わない自発運動量および移動運動量の減少を毒性影響とは考えず、雌の無毒性量は 100mg/kg と判断する。

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

## (2) 急性遅発性神経毒性

(毒性資料 No.8)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用について(平成13年10月10日付け13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知)の「4.試験成績の除外について(2)⑧のアおよびイ」の規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・有効成分がリン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。

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

## 5. 亜急性毒性

### (1) ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (毒性資料 No.9)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2005 年

検体純度： %

供試動物：Rj: WI(IOPS HAN)系 Wistar ラット、

投与群：1 群雌雄各 10 匹

回復群：雌雄各 10 匹(対照群および高用量群のみ)

投与開始時 約 6 週齢、体重；雄 182～221g、雌 159～190g

投与期間：90 日間(2004 年 5 月 12 日～8 月 12 日)

投与方法：検体を 0(対照群)、50、200、1000 および 3200ppm の濃度で飼料に混入し 90 日間にわたり随時摂食させた。回復群は 0 および 3200ppm の用量で 90 日間混餌投与後、28 日間検体を含まない飼料を投与した。

用量設定根拠；

#### 観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日 2 回(週末および休日は 1 回)、死亡および瀕死状態について確認し、一般状態については少なくとも毎日 1 回記録した。触診を含む詳細な身体検査は少なくとも週 1 回実施した。

検体投与に起因した臨床症状および死亡はいずれの群でも認められなかった。なお、1000ppm 群雄及び 500ppm 群雄各 1 例については、投与 37 日目及び 57 日目に切迫屠殺した。これらのうち 1000ppm 群の 1 例は、投与 22～37 日に全身の蒼白化を伴った腹部膨満がみられ、剖検では後述するとおり肝臓の腫大及び不規則な赤色斑点が観察された。500ppm 群の 1 例は、投与 57 日目に努力性呼吸ならびに喘鳴、削瘦、立毛、両眼周辺被毛の汚れおよび鼻腔の破砕が認められ、事故による外傷によるものと考えられた。上記 2 例の早期切迫屠殺例についても、検体投与の影響とは考えられなかった。



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

神経毒性評価；投与群全動物について投与 11～12 週に以下の神経毒性評価を実施した。

自発運動量(インターバル/15 分間、セッション/90 分間)

感覚反応：瞳孔反射、表面立ち直り反射、角膜反射、屈筋反射、聴覚性驚愕反射、テイルピンチ

握力(前、後肢)

自発運動量および感覚反応には投与の影響は認められなかった。テイルピンチについて 1000ppm 以上の雄で僅かな変化が認められたが、個体間変動を反映したものであり投与の影響とは考えなかった。

表 テイルピンチの反応

性	雄					雌				
用量 (ppm)	0	50	200	1000	3200	0	50	200	1000	3200
検査動物数	10	9	10	9	10	10	10	10	10	10
テイルピンチ										
通常反応	6	6	6	3	6	6	4	7	5	9
弱い反応	2	1	2	1	2	1	1	1	2	1
過剰反応	2	2	2	4	0	3	4	2	3	0
無反応	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0

3200ppm 群雌の握力が対照群に比べ前、後肢とも軽度に低下した(前肢；-16%、後肢；-23%、統計学的有意差なし)。この変化は、おそらく体重減少に起因するものと考えられ、投与による特異的な神経毒性影響とは考えられなかった。また、1000ppm 群雌でも握力が僅かに変動(前肢；-11%、後肢；-18%、統計学的有意差なし)したが、個体間変動を反映したのものであり投与の影響とは考えなかった。

他の検査項目に異常は認められなかった。

体重；全動物の体重を投与前、投与開始日および投与期間中週 1 回測定した。最終屠殺時にも前夜絶食させた動物の体重を測定し最終体重とした。

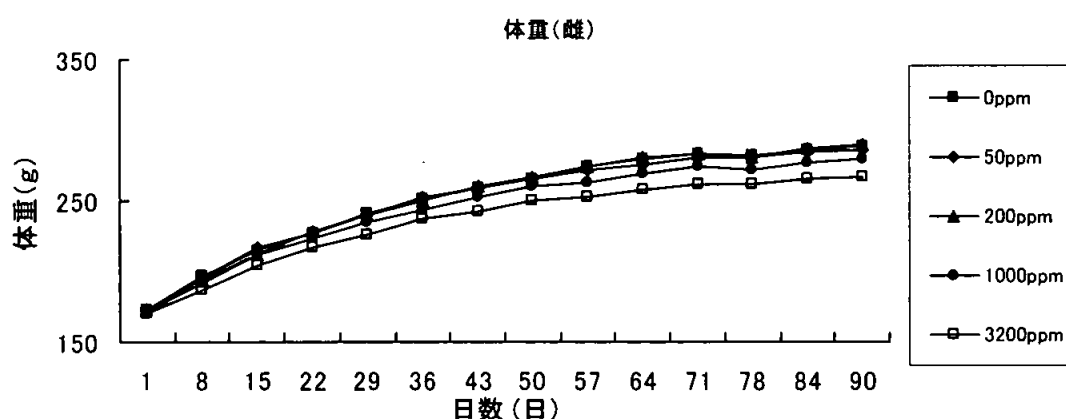
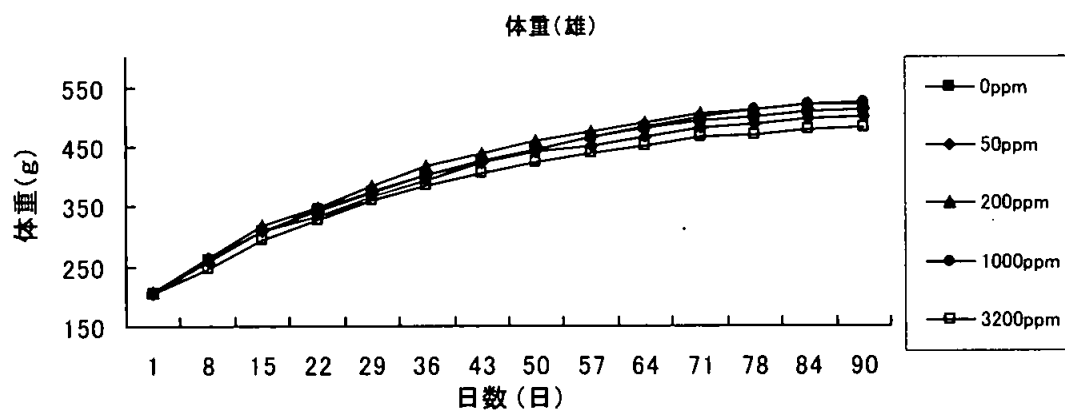
次図に体重の推移を示す。

3200ppm 群において、体重は雄では試験期間を通じて対照群に比し 4～6%低値を示し、2 週目以降全ての時点で統計学的に有意であった(Dunnett's test、 $p<0.01$  又は  $p<0.05$ )。同群雌においては試験期間を通じて対照群に比べ 4～8%体重が低値を示し、多くの時点で統計学的有意差が認められた(Dunnett's test、 $p<0.01$  又は  $p<0.05$ )。増体重は、同群雌雄で投与 1 週目に対照群に比し統計学的に有意な減少が認められた(雄-26%、雌-29%、Dunnett's test、 $p<0.01$ )。2 週目以降雌雄とも増体重は対照群と同等であったが、投与期間全体の増体重は対照群に比し雄で 9%、雌では 17%低値を示した。

1000ppm 群では、投与 1 週目の雌の増体重のみに僅かな低値傾向(-16%)がみられたが、これ以外の影響は雌雄共にみられなかった。

200ppm 以下では平均体重および増体重に投与の影響はみられなかった。

高用量群雌雄の体重への影響は回復期間終了時にも認められた。



摂餌量； 全動物の摂餌量を毎週測定した。

3200ppm 群雌で投与 29～90 日の摂餌量が対照群に比して軽度減少した(-5～-12%、多くの時点で統計学的有意差あり：Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test、 $p < 0.01$  又は  $p < 0.05$ )が、回復期間中には摂餌量に影響は認められなくなった。また、統計学的有意差はみられなかったものの 1000ppm 群雌でも多くの時点で摂餌量が対照群に比して軽度減少した(-4～-9%)。その他の群では摂餌量に対する影響は認められなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 検体摂取量

用量 (ppm)		50	200	1000	3200
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.06	12.5	60.5	204
	雌	3.63	14.6	70.1	230

眼科学的検査； 馴化期間中は全動物について、投与期間中は投与 13 週目に対照群および高用量群の全生存動物について眼科学的検査を実施した。  
投与の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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液検査；投与群については 91、92、93 または 94 日目、回復群については回復 29 または 30 日目に全生存動物について一晩絶食の後、後眼窩静脈叢より採血し、以下の血液学的検査および血液生化学的検査を実施した。

血液学的検査；赤血球数(RBC)、血色素量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、網状赤血球数(RET)、白血球総数(WBC)、白血球百分率、血小板数(PLT)、プロトロンビン時間(PT)

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。

3200ppm 群雄で平均プロトロンビン時間が延長した。

3200ppm 群雌雄および 1000ppm 群雄で血色素量が軽度に低下した。この変化に関連して、雄のヘマトクリット値の低値および同群雌の平均赤血球容積ならびに平均赤血球血色素量の低値が認められた。さらに同群雌で血小板数および網状赤血球数(絶対値および割合)が増加した。

3200ppm 群雌で認められたプロトロンビン時間の短縮については、わずかな短縮であり生物学および毒性学的意義は低いと考えられた。

他に投与に関連した変化は認められなかった。

回復期間終了時に、3200ppm 群の血色素量およびそれに付随する変化は、完全には回復しなかったものの回復傾向が認められた。投与期間終了時に認められた雄のプロトロンビン時間の延長、並びに雌の網状赤血球数および血小板数の増加は、回復期間終了時には認められなかった。

表 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性	雄					雌						
	用量 (ppm)	50	200	1000	3200	3200	50	200	1000	3200	3200	
試験群	投与群					回復群	投与群					回復群
Hb				(96)	↓94	↓96					↓96	(97)
Ht				↓96	↓95							
MCV						↓96					↓92	
MCH						↓96					↓92	↓97
MCHC						↓98						↓98
RET											↑150	
%RET											↑142	
PLT											↑124	
PT					↑174						↓86	

↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(投与期間終了時は Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test、回復期間終了時は t test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

( )内の数値は参考値

血液生化学的検査；外観、総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLUC)、尿素(UREA)、クレアチニン(CREA)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセリド(TRIG)、塩素(CL)、ナトリウム(NA)、カリウム(K)、カルシウム(CA)、無機リン(PHOS)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、アルカリホスファターゼ(AP)、総蛋白(TPRO)、アルブミン(ALB)、グロブリン(GLOB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

投与段階において、3200 および 1000ppm 群の雌雄で投与に関連する作用が広範囲に認められた。

3200ppm 群雌で認められたナトリウムの軽度の低下は生物学的には意義の低い変化であると考えられた。また、200 および 50ppm 群雌で認められた総ビリルビン濃度の軽度の低下は個体変動を反映したものであり投与の影響とは考えられなかった。

回復期間終了時において 3200ppm 群雌で総コレステロール、グロブリン濃度およびアルブミン/グロブリン比の変化は依然認められたが、その程度は投与終了時に比較し軽減した。その他、投与終了時に認められた変化は何れも回復した。3200ppm 群雌でみられたアルカリホスファターゼ活性の上昇は軽度であり、毒性学的意義の低い変化と考えられた。

表 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性	雄					雌				
	50	200	1000	3200	3200	50	200	1000	3200	3200
試験群	投与群				回復群	投与群				回復群
TBIL			↓70	↓65		↓81	↓73	↓62	↓65	
AP									↓66	↑116
GGT				↑725					↑4400	
GLUC				↓73						
UREA				↑117						
CREA			↑111	↑114						
CHOL			↑145	↑158				↑148	↑201	↑119
TRIG									↑202	
TPRO				↑108					↑108	
GLOB				↑111					↑125	↑114
A/G									↓84	↓86
NA									↓99	
CL			↓97	↓97					↓97	
CA			↑104	↑106					↑105	
PHOS			↑109	↑118					↑115	

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01

(投与期間終了時は Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test、回復期間終了時は t test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

尿検査 ; 投与群動物については投与 85~87 日目、回復群動物については回復期間 25 日目に前夜の尿を全生存動物から採取し、以下の項目について検査した。尿採取中は給餌および給水は中断した。

外観、尿量、pH、屈折率、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣(赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶)

全投与群の雄で、尿中細胞円柱の発現頻度および程度が用量に関連して増加した。この変化は、病理組織学的検査における硝子滴腎症に関連したものと考えられた。3200ppm 群におけるこの変化は回復期間終了時にも認められたが、その程度および頻度は軽減した。

他に投与に関連した変化は認められなかった。

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

表 尿中細胞円柱の頻度および程度

性	雄						雌							
	0		50		200		1000		3200		0		3200	
用量 (ppm)	0	50	200	1000	3200	0	3200	0	50	200	1000	3200	0	3200
試験群	投与群					回復群		投与群					回復群	
検査動物数	10	9	10	9	10	10	10	10	9	9	10	10	10	10
軽度	1	4	2	0	1	0	5	0	2	0	0	0	0	0
中等度	0	2	1	3	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0
強度	0	0	2	5	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	1	6*	5	8**	10**	0	8**	0	2	0	0	0	0	0

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher's exact test、申請者の計算による)

ホルモン測定；投与群動物については投与 3 および 13 週目、回復群動物については回復期間 5 週目に全生存動物について一晩絶食の後、後眼窩静脈叢より採血し、血漿中の T3、T4 および TSH 濃度を測定した。

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

投与 3 週目に 3200ppm 群雌雄で TSH、同群雌で T3 および T4 の高値が認められた。投与 13 週目では、3200ppm 群雄の T3 および TSH が有意に上昇し、1000ppm 群雄の TSH に高値傾向が認められた。投与 13 週に 1000ppm 群雄で統計学的に有意な T4 の高値が認められたが用量との関連が認められず、毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

回復群動物の回復期間 5 週目の検査において、統計学的に有意な変化は認められず、投与期間中に認められた甲状腺ホルモンの変動は回復性を有するものと考えられた。

表 血漿中ホルモン測定

性	雄				雌			
	50	200	1000	3200	50	200	1000	3200
投与期間 3 週目								
T3								↑ 124
T4								▲ 154
TSH				↑ 163				▲ 171
投与期間 13 週目								
T3				▲ 140				
T4			▲ 143					
TSH			(154)	▲ 188				

↑ : p<0.05、▲ : p<0.01(Dunnett's test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

( )内の数値は参考値

臓器重量；投与群動物については投与 91～94 日に、回復群動物については回復期間 29～30 日目に全生存動物を屠殺し剖検した。動物は屠殺前一晩絶食させた。最終計画殺に供された全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、相対重量(対体重比及び対脳重比)も算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)及び子宮(子宮頸部を含む)

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた変化を次表に示す。

投与群動物では、3200ppm 群雌雄の最終体重が対照群に比し減少ないし減少傾

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

向を示した。3200 および 1000ppm 群雌雄で肝臓重量が統計学的有意に増加した。3200 および 1000ppm 群雄で腎臓重量が統計学的有意に増加した。更に、3200ppm 群雌雄において甲状腺重量の増加ないし増加傾向が認められた。

3200ppm 群雌において腎臓重量の対体重比の増加が認められたが、これは体重減少によるものであり投与による直接的な毒性影響とは考えられなかった。他の変化についても個体変動ないしは低体重に伴う変化と考えられた。

回復群動物では、3200ppm 群雌雄の最終体重は対照群に比して低値を示した。同群雄の腎臓重量は依然対照群に比し高値を示した。3200ppm 群雌雄の肝臓重量の対体重比は依然対照群に比し高値を示していたが、これは低体重によるものであり、明らかな回復が認められた。同群雌の甲状腺重量が高値を示したが、この変化は病理組織学的所見を伴わなかったため投与に関連した変化ではないと判断した。他の臓器にみられた変化は個体変動によるものであり偶発的变化と考えられた。

表 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性		雄					雌				
用量(ppm)		50	200	1000	3200	3200	50	200	1000	3200	3200
試験群		投与群				回復群	投与群				回復群
検査動物数		9	10	9	10	10	10	10	10	10	10
最終体重					(95)	↓91				↓91	(93)
脳	実重量					↓96				↓92	
心臓	実重量					↓94					
肝臓	実重量			↑125	↑153				↑124	↑158	
	対体重比			↑120	↑161	↑108			↑127	↑174	↑113
	対脳重比			↑127	↑162				↑125	↑171	
脾臓	実重量									↓84	
腎臓	実重量			↑130	↑128	↑107					
	対体重比			↑125	↑134	↑116				↑113	
	対脳重比			↑132	↑135	↑111					
甲状腺	実重量				(110)					(111)	↑128
	対体重比				(116)					↑122	↑136
	対脳重比				(117)					(120)	
副腎	対体重比					↑117					
胸腺	対体重比										↑121

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(投与群動物 : Dunnett's test または Dunn's Rank Sum test、回復群動物 : t test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

( )内の数値は参考値

肉眼的病理検査 ; 切迫屠殺及び計画屠殺したすべての動物について剖検を行った。

切迫屠殺例の雄2例のうち50ppm群の1例では、両眼周辺の被毛の汚れおよび鼻腔の破碎が認められ、偶発的な外傷によるものと考えられた。1000ppm群の1例では全身の蒼白化、および肝臓に結節を伴う腫大、不規則な赤色斑点が認められた。

投与群の最終屠殺動物で3200ppmおよび1000ppm群雌雄で肝臓の腫大、暗調化及び小葉明瞭像が認められ、病理組織学的検査で認められた小葉中心性肝細胞肥大に関連した変化と考えられた。また、3200ppmおよび1000ppm群雄の一部で腎臓の腫大ないし退色が認められた。

他の所見は偶発的变化であり投与の影響とは考えなかった。

回復期間終了時、高用量群雄の2/10例で腎臓の腫大が認められた。

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

表 主要な肉眼的変化

性	雄					雌					
	0	50	200	1000	3200	0	50	200	1000	3200	
用量 (ppm)	0	50	200	1000	3200	0	50	200	1000	3200	
検査動物数	10	9	10	9	10	10	10	10	10	10	
肝臓	腫大	0	0	2	6**	10**	0	0	1	7**	10**
	暗調化	0	0	0	2	9**	0	0	0	0	9**
	小葉明瞭像	0	0	0	4*	6**	0	0	0	1	0
腎臓	腫大	0	1	3	4*	6**	0	0	1	0	0
	退色	1	0	1	7**	9**	0	1	0	0	0

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Fisher's exact test, 申請者の計算による)

病理組織学的検査；切迫屠殺及び計画屠殺したすべての動物について、以下の組織を採取した。

副腎、大動脈、関節面(大腿骨-脛骨)、骨(胸骨)、骨髓(胸骨)、脳、精巣上体、食道、眼窩外涙腺、眼及び視神経、ハーダー腺、心臓、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、咽頭/喉頭、肝臓、肺、リンパ節(顎下、腸間膜)、乳腺、鼻腔、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃、顎下腺(唾液腺)、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、舌、気管、膀胱、子宮(子宮頸部を含む)、膣、肉眼的病変部および腫瘍

投与群動物の対照群及び3200ppm群の全採取組織(眼窩外涙腺、喉頭/咽喉および鼻腔を除く)について、更に、肝臓、肺、腎臓、甲状腺、膵臓及び肉眼的に異常の認められた組織は50~1000ppm群についても病理組織学的検査を実施した。また、全群の雄の腎臓切片について $\alpha_2\mu$ -グロブリン蓄積について免疫組織化学的染色にて検査した。回復群動物については全動物の肝臓、肺、腎臓、甲状腺、肉眼的病変部および腫瘍を検査した。

投与群動物：投与に関連した変化が肝臓、腎臓、甲状腺および肺にみられた。

肝臓では3200および1000ppm群雌雄で軽微から中等度の小葉中心性肝細胞肥大がみられ、200ppm群雄でも同変化が軽微に認められた<sup>a)</sup>。1000ppm以上の雌ではさらに門脈周辺性から中間帯の肝細胞大空胞化が認められた。

腎臓では200ppm以上の雄で硝子滴腎症(近位尿細管内硝子滴、好塩基性尿細管、髓質内顆粒状円柱を特徴とする)が、1000ppm以上の雄で硝子円柱の発生頻度がそれぞれ増加した。雄ラット腎臓における硝子滴腎症の発生は、一般的に近位尿細管における $\alpha_2\mu$ -グロブリン蓄積に関連した変化であることが知られており、本試験の当該群においても免疫組織学染色により近位尿細管に対照群に比し高い $\alpha_2\mu$ -グロブリン蓄積が確認された。 $\alpha_2\mu$ -グロブリン腎症は、化学物質と $\alpha_2\mu$ -グロブリンとの相互作用によって発生するが、雄ラットに特有の現象である<sup>1)</sup>。ヒトにおいては $\alpha_2\mu$ -グロブリンの分泌はごく僅かであり、従って、当変化は投与に関連した所見であるが、ヒトに対する毒性学的意義は低いものと考えられる。甲状腺では1000ppm以上の雌雄および200ppm群雄の1例で軽微から軽度のびまん性濾胞上皮細胞肥大が認められた<sup>a)</sup>。

なお、1000ppm以上の雌で肺の血管周囲炎の頻度が対照群に比し減少したが、毒性影響とは判断しなかった。

a) 申請者注

200ppm群の雄の2/10例で認められた軽微な肝臓小葉中心性肝細胞肥大は、有意差が認められず、また、3200ppm回復群で回復性が認められていること

<sup>1)</sup> G. C. HARD et al., Susceptibility of the kidney to toxic substances, in MOHR U. et al., Pathobiology of the aging rat. vol., p252, ILSI Press, 1992

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

から適応性の変化と考えられ、検体による毒性影響とは判断しない。また、200ppm 群の雄の甲状腺で認められたびまん性濾胞上皮細胞肥大についても、1例のみの軽微な変化であり、3200ppm 回復群で回復性が見られていることから、検体による毒性影響とは判断しない。

回復群動物：回復期間最終時には腎臓の近位尿細管内硝子滴、好塩基性尿細管、髄質内顆粒状円柱および硝子円柱以外については回復していた。

表 主要な病理組織学的所見

性	雄					雌					
	0	50	200	1000	3200	0	50	200	1000	3200	
投与群最終屠殺動物											
検査動物数		10	9	10	9	10	10	10	10	10	
肝臓											
小葉中心性肝細胞肥大	軽微	0	0	2	5*	0	0	0	0	5*	3
	軽度	0	0	0	4*	2	0	0	0	2	5*
	中等度	0	0	0	0	8**	0	0	0	0	2
	計	0	0	2	9**	10*	0	0	0	7**	10**
門脈周辺性から中間帯肝細胞大空胞化：巣状/多巣性	軽微	0	0	0	0	0	0	0	3	6**	3
	軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	計	0	0	0	0	0	0	0	3	6**	5*
腎臓											
近位尿細管内硝子滴	軽微	1	3	7**	0	0	0	0	0	0	0
	軽度	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
	中等度	0	0	0	9**	1	0	0	0	0	0
	顕著	0	0	0	0	9**	0	0	0	0	0
	計	1	3	10**	9**	10**	0	0	0	0	0
好塩基性尿細管：巣状/多巣性	軽微	2	1	3	3	1	0	0	0	0	0
	軽度	0	1	0	6**	8**	0	0	0	0	0
	中等度	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	計	2	3	3	9**	10**	0	0	0	0	0
髄質内顆粒状円柱	軽微	0	0	1	2	6**	0	0	0	0	0
	軽度	0	0	0	6**	2	0	0	0	0	0
	中等度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	計	0	0	1	8**	9**	0	0	0	0	0
硝子円柱：巣状/多巣性	軽微	1	0	0	4	6*	0	1	1	0	2
	軽度	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	計	2	0	0	4	6	0	1	1	0	2
甲状腺											
びまん性濾胞上皮細胞肥大	軽微	0	0	1	3	5*	0	0	0	2	1
	軽度	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0
	計	0	0	1	4*	8**	0	0	0	2	1
肺											
血管周囲炎：巣状/多巣性	軽微	6	8	9	3	2	7	9	4	2*	0**
	軽度	1	0	0	1	4	0	0	1	0	0
	計	7	8	9	4	6	7	9	5	2*	0**
回復群最終屠殺動物											
検査動物数		10	—	—	—	10	10	—	—	—	10
腎臓											
近位尿細管内硝子滴		0	—	—	—	2	0	—	—	—	0
好塩基性尿細管：巣状/多巣性		0	—	—	—	10**	0	—	—	—	0
髄質内顆粒状円柱		0	—	—	—	8**	0	—	—	—	0
硝子円柱：巣状/多巣性		1	—	—	—	9**	0	—	—	—	1

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher's exact test、申請者の計算による)



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

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

用量	雄	雌
3200ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 低体重、増体重抑制</li> <li>・ PT 延長</li> <li>・ GGT、TPOR、GLOB、UREA 増加</li> <li>・ GLUC 減少</li> <li>・ T3 増加</li> <li>・ 甲状腺重量(実重量、相対重量)増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 低体重</li> <li>・ Hb、MCV、MCH 低下</li> <li>・ PLT、RET 増加</li> <li>・ GGT、TPRO、GLOB、PHOS、CA、TRIG 増加</li> <li>・ CL、AP、A/G 比減少</li> <li>・ T3、T4、TSH 増加</li> <li>・ 甲状腺重量(実重量、相対重量)増加</li> <li>・ 肝臓の暗調化</li> </ul>
1000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Hb、Ht 低下</li> <li>・ CHOL 増加</li> <li>・ CREA、PHOS、CA 増加</li> <li>・ TBIL、CL 低下</li> <li>・ TSH 増加</li> <li>・ 肝臓、腎臓重量(実重量、相対重量)増加</li> <li>・ 肝臓の腫大、暗調化、小葉明瞭像、腎臓の腫大、退色</li> <li>・ 肝臓小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・ 甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> <li>・ 腎臓硝子円柱</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 増体重抑制、摂餌量減少</li> <li>・ CHOL 増加</li> <li>・ TBIL 低下</li> <li>・ 肝臓重量(実重量、相対重量)増加</li> <li>・ 肝臓の腫大</li> <li>・ 肝臓小葉中心性肝細胞肥大および肝細胞大空胞化</li> <li>・ 甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> </ul>
200ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ [肝臓小葉中心性肝細胞肥大]</li> <li>・ [甲状腺濾胞上皮細胞肥大]</li> <li>・ (腎臓硝子滴腎症)</li> </ul>	200ppm 以下毒性所見なし
50ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ (尿中細胞円柱)</li> </ul>	

( ) : ヒトに対する毒性学的意義が低いと考えられる所見

[ ] : 申請者が毒性影響とは判断しない所見

投与による影響は主に肝臓および甲状腺で見られ、雄ではさらに腎臓に対する影響が認められた。

50ppm以上の雄で認められた尿中の細胞円柱および 200ppm以上の雄で認められた硝子滴腎症は何れも $\alpha_2\mu$ -グロブリン蓄積に関連した変化であり、投与の影響であるもののヒトに対する毒性学的意義は低い変化と考えられた。

以上より、本試験における無毒性量は雄では 50ppm (3.06mg/kg/day)、雌では 200ppm (14.6mg/kg/day)と判断された。

回復群では 1 ヶ月の回復期間の後、3200ppm 群雌雄とも対照群に対して体重は依然低値を示し、影響を受けた血液学的および血液生化学的項目は部分的に回復した。同群雄の腎臓重量(実重量および相対重量)は対照群に比べ依然高値を示し、一部の動物では尿中細胞円柱、腎臓の腫大、硝子滴腎症および硝子円柱が認められた。他の項目については全て回復した。

(申請者による考察)

200ppm 群の雄で認められた軽微な肝臓小葉中心性肝細胞肥大は適応性の変化と考えられ、毒性影響とは判断しなかった。また、同群雄で認められた甲状腺びまん性濾胞上皮細胞肥大についても、1 例のみの軽微な変化であることから毒性影響とは判断しなかった。従って、ヒトへのリスク評価に当たって考慮すべき無毒性量は雌雄とも 200ppm(雄 12.5mg/kg/day、雌 14.6mg/kg/day)と判断する。

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

(2) イヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (毒性資料 No.10)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2006 年

検体純度： %

供試動物：ビーグル犬 1 群雌雄各 4 匹

投与開始時 約 8~9 ヶ月齢、体重；雄 6.3~9.0kg、雌 4.5~7.1kg

投与期間：90 日間 (2005 年 4 月 6 日~7 月 7 日)

投与方法：検体を 0(対照群)、800、5000、20000/10000ppm の濃度で飼料に混入し 90 日間にわたり摂食させた。高用量群については投与開始から 14 日間は 20000ppm で投与したが嗜好性が悪かったため、15 日以降投与終了時まで 10000ppm に減量した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日一般状態及び生死を観察した。また、被毛・皮膚、眼、耳、歯、歯茎、粘膜、直腸温、歩行、姿勢、一般行動、心拍・呼吸数、腹部触診、外性器、乳腺等に関する詳細な身体検査を毎週行った。

投与期間中死亡例はなかった。

20000/10000ppm 群の雄 1 例および雌 2 例で消瘦が認められ、検体に対する嗜好性の低さに起因した摂餌量の低下と関連した。

5000ppm 以下では、検体投与の影響と考えられる一般状態の変化は認められなかった。

体 重；毎週および最終屠殺前に全動物の体重を給餌前に測定した。

20000/10000ppm 群で、20000ppm 投与の初期 2 週間で雌雄とも 0.9kg の体重減少が認められた。その後用量を 10000ppm に下げたものの、試験期間を通じて雌雄とも投与開始時からの増体重が対照群に比較して統計学的有意に低下した。その結果、試験期間中に対照群では雌雄とも平均 1.0kg の増体重が認められたのに対し、20000/10000ppm 群雄では 0.8kg、雌では 1.1kg 平均体重が減少し、投与終了時の平均体重は対照群に比べ雄では 18%、雌では 29%減少した。5000ppm 群雌雄および 800ppm 群雌において、試験期間中の増体重が対照群に比べわずかに低値を示した。これらの群において、投与開始時からの増体重に統計学的有意差が認められたのは 5000ppm 群の雌のみであり、全期間の増体重には統計学的有意差は認められなかった。

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

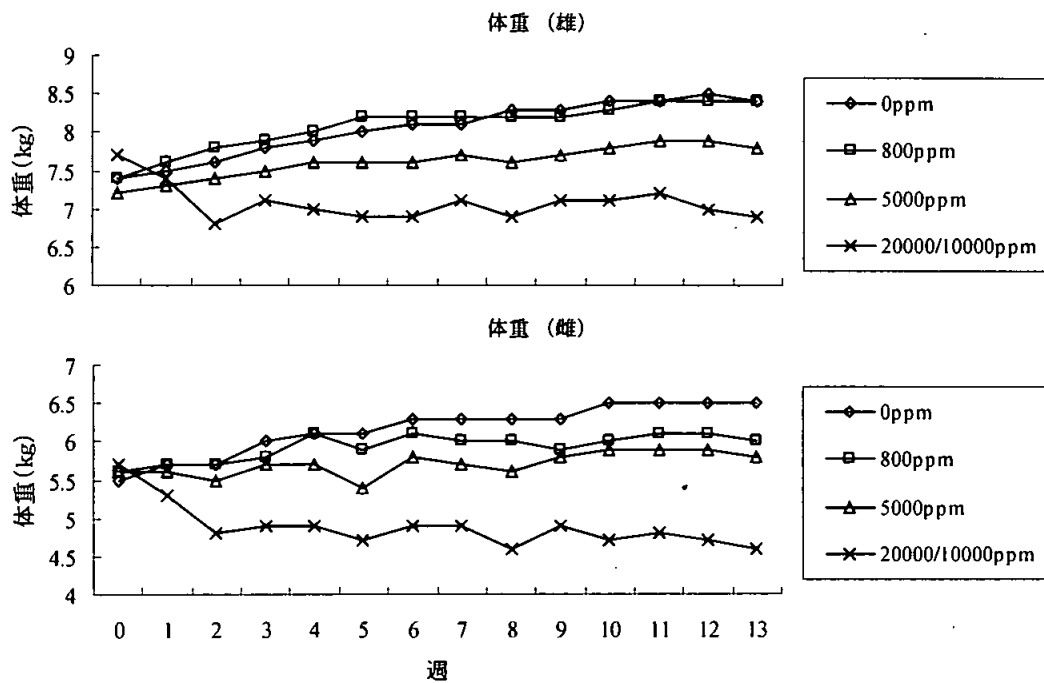


表 平均体重および増体重

用量 (ppm)		0	800	5000	20000/10000
雄					
体重	開始時(1日目)	7.4	7.4 (100)	7.2 ( 97)	7.7 (104)
	終了時(90日目)	8.4	8.4 (100)	7.8 ( 93)	6.9 ( 82)
増体重	1週目(1~8日目)	0.2	0.2	0.1	-0.3**
	1~2週目(1~15日目)	0.2	0.4	0.2	-0.9**
	1~4週目(1~29日目)	0.6	0.6	0.4	-0.7**
	1~5週目(1~36日目)	0.6	0.8	0.3	-0.8**
	1~6週目(1~43日目)	0.8	0.8	0.3	-0.8**
	1~8週目(1~57日目)	0.9	0.8	0.4	-0.8**
	1~13週目(1~90日目)	1.0	1.0	0.6	-0.8**
雌					
体重	開始時(1日目)	5.5	5.6 (102)	5.6 (102)	5.7 (104)
	終了時(90日目)	6.5	6.0 ( 92)	5.8 ( 89)	4.6 ( 71)
増体重	1週目(1~8日目)	0.3	0.1	0.1	-0.4**
	1~2週目(1~15日目)	0.3	0.1	-0.1*	-0.9**
	1~4週目(1~29日目)	0.7	0.5	0.1	-0.8**
	1~5週目(1~36日目)	0.7	0.3	-0.2*	-1.1**
	1~6週目(1~43日目)	0.8	0.5	0.2*	-0.8**
	1~8週目(1~57日目)	0.8	0.4	0.0	-1.1**
	1~13週目(1~90日目)	1.0	0.4	0.2	-1.1**

表中の数値は群平均値(kg)、( )内の数値は対照群に対する割合(%)

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnnett's test)

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

(申請者注)

800ppm 群雄以外の全ての投与群でみられた増体重抑制は摂餌量の低下に呼応しており、特に最高用量群では投与開始時から摂餌量の低下が認められていることから、本試験でみられた増体重抑制は、検体の全身的な毒性影響というよりは、むしろ検体に対する忌避作用によるものと考えられた。投与開始時から増体重は、5000ppm 群の雌および 20000/10000ppm 群雌雄でいずれも対照群に比べ統計学的な有意差が認められ、更にこれらにおいては最終体重が対照群に比べ 10%以上低値を示したことから、これらで認められた増体重抑制を毒性作用と判断した。5000ppm 群雄および 800ppm 群雌で認められた軽度な増体重抑制については検体の毒性作用とはみなさなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

20000/10000ppm 群雌雄では 20000ppm で投与した投与開始 2 週間で対照群に比べ顕著な減少が認められ、その後投与量を 10000ppm に減量した後も軽度に減少し、試験期間を通じた平均摂餌量は対照群に比し雄で 25%、雌で 46%減少した。摂餌量の減少ないし減少傾向は 5000ppm 群雌雄および 800ppm 群雌でも認められた。ただし、統計学的有意差は、20000/10000ppm 群雌では試験期間を通じて多くの時点で、同群雄および 5000ppm 群雌では数時点で認められたが、同群雄および 800ppm 群雌雄では認められなかった。

投与群における摂餌量の減少は検体濃度と関連しており、おそらく検体に対する嗜好性が低いことが原因と考えられた。20000/10000ppm 群雌雄各 1 例で摂餌量の低下ないし著しい体重減少が続いたため、数時点において市販のドックフード(100~400g)を通常の飼料の表層に添加して投与したところ摂餌量が改善された。

表 試験期間を通じた平均摂餌量(対照群に対する%)

用量 (ppm)	800	5000	20000/10000
雄	103	93	75
雌	91	78	54

(申請者注)

20000/10000ppm 群雌雄及び 5000ppm 群雌については、統計学的有意差が認められ、また、試験期間を通じた摂餌量が対照群に対して 10%を超えて減少したため検体の毒性作用と判断した。5000ppm 群雄及び 800ppm 群雌については、試験期間を通じた摂餌量の減少は対照群に対し軽度(10%以下の変動)であり、また最終体重も軽度な変化(10%以下の低値)であったことから、毒性影響とは考えなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 検体摂取量

用量 (ppm)		800	5000	20000/10000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	28.5	171	332
	雌	32.9	184	337

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

眼科学的検査；馴化期間中および投与終了時に全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与の影響は認められなかった。

血液学的検査；投与 55～57 日(8 週)目および 86～87 日(13 週)目に全生存動物について給餌前に頸静脈より採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数(RBC)、血色素量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、網状赤血球数(RET)、白血球総数(WBC)、白血球百分率、血小板数(PLT)、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)

20000/10000ppm 群雌雄において何れの検査時期とも血小板数が対照群に比し上昇し、8 週目でより顕著であった。同群雌ではさらに赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の低値が認められた。

表 血液学的検査 (投与の影響と考えられる項目)

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	800	5000	20000/ 10000	800	5000	20000/ 10000
8 週							
PLT			(152)				(156)
RBC							(90)
Hb							(88)
Ht							(89)
13 週							
PLT			(130)				(139)
RBC							(89)
Hb							(89)
Ht							(90)

表中の数値は対照群に対する割合(%) : ( )内の数値は参考値  
統計学的有意差なし(ANOVA)

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清及び血漿を用い、以下の項目について検査した。

外観、総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLUC)、尿素(UREA)、クレアチニン(CREA)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセリド(TRIG)、塩素(CL)、ナトリウム(NA)、カリウム(K)、カルシウム(CA)、無機リン(PHOS)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、アルカリホスファターゼ(AP)、総蛋白(TPRO)、アルブミン(ALB)、グロブリン(GLOB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)

20000/10000 および 5000ppm 群雌雄でアルカリホスファターゼ活性の上昇およびアルブミン、総蛋白ならびにアルブミン/グロブリン比の低下が認められ、5000ppm 以上雌および20000/10000ppm 群雄で $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ活性の上昇、20000/10000ppm 群雄でアスパラギン酸ならびにアラニンアミノトランスフェラーゼ活性の上昇傾向が認められた。

800ppm 群雌でアルカリホスファターゼ活性が僅かに上昇したが、関連した変化を伴わなかったため毒性影響とは考えなかった。

なお、総ビリルビンの統計学的に有意な低下が雄の 800ppm 以上、雌の 5000ppm

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

以上でみられたが、この項目の低下は毒性学的に意味のあるものとは考えられなかった。また、他に認められた統計学的有意な変化はその程度が僅かである、もしくは個体間の変動によるものと考えられ、偶発的な変化と判断した。(申請者注:20000/10000 および 5000ppm 群雄で認められたトリグリセリドの増加は、同試験施設でビーグル犬を用いて行った1年間慢性毒性試験(毒性資料 No.15)においてトリグリセリドの増加が認められていないことから、偶発的な変化と考えられる。)

表 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性	雄			雌		
	用量 (ppm)	800	5000	20000/ 10000	800	5000
8 週						
AP		↑335	▲475	(171)	(269)	▲338
GGT			▲1000		(200)	↑500
ASAT			(175)			
ALAT			(359)			
TBIL	▼61	▼45	▼43		↓56	↓65
ALB		↓83	▼81		▼83	▼83
TPRO		(95)	(91)		(93)	▼89
A/G		▼70	▼72		(79)	(84)
TRIG			↑174			
GLOB		↑119				
CA						↓96
13 週						
AP		↑400	▲597	(171)	(320)	↑345
GGT			▲650		(250)	▲700
ASAT			(154)			
ALAT			(694)			
TBIL	(69)	↓49	(62)		(64)	(61)
ALB		▼78	▼75		▼81	▼78
TPRO		(90)	↓88		▼91	▼86
A/G		▼66	▼68		↓77	(80)
TRIG		↑194	↑215			
K			↑111			
CA		▼94	▼93			↓95

↑ ↓ : p<0.05、▲ ▼ : p<0.01 (Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

( )内の数値は参考値

尿検査 ; 投与 49~50 日目および 84 日目に全生存動物から前夜の尿を採取し、以下の項目について検査した。採尿時に飲水の制限は行わなかった。

外観、尿量、pH、屈折率、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣(赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶)

投与の影響は認められなかった。

臓器重量 ; 投与 91~94 日に全動物を計画屠殺した。以下の臓器重量を測定し、相対重量(対体重比及び対脳重比)も算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)及び子宮(子宮頸部を含む)

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

5000ppm 以上の雌雄で肝臓重量(実重量および相対重量)が対照群に比し統計学的有意に増加した。この増加は、病理組織学的検査における肝細胞肥大と関連しており、毒性学的に意義のある変化と判断された。800ppm 群では雄で肝臓の対体重比の増加に統計学的有意差がみられたが、病理組織学的変化を伴わず、毒性作用とは考えられなかった。20000/10000ppm 群雌で胸腺重量(実重量および相対重量)が対照群に比べ減少した。この変化は病理組織学的検査における胸腺の皮質の退縮/萎縮と関連し、投与の影響と判断されたが、同群に認められた摂餌量および体重の減少に関連したストレスによる間接的影響と考えられた。20000/10000ppm 群雌雄および5000ppm 群雄で心臓重量(実重量および対脳重比)が対照群に比し減少したが、対体重比は対照群と同等であり、病理組織学的検査において関連した変化が認められなかったことから、投与に関連した変化とは考えなかった。

他に認められた僅かな臓器重量の変動は、関連した病理組織学的変化がなく個体変動によるものと考えられた。

表 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	800	5000	20000/ 10000	800	5000	20000/ 10000
最終体重			(94)	(82)	(94)	(92)	↓ 72
肝臓	実重量		↑159	↑146		↑135	↑135
	対体重比	↑126	↑169	↑178		↑149	↑185
	対脳重比		↑164	↑154		↑152	↑154
胸腺	実重量						↓29
	対体重比						↓39
	対脳重比						↓32
心臓	実重量		↓84	↓83			↓74
	対脳重比		↓87	↓87			
副腎	対体重比						↑142

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett's test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

( )内の数値は参考値

肉眼的病理検査；計画屠殺したすべての動物について剖検を行った。

肝臓の腫大が雌雄とも 20000/10000ppm 群で2例、及び5000ppm 群で1例ずつ認められた。

また、20000/10000ppm 群雌の全例で胸腺の萎縮が認められ、病理組織学的検査における胸腺の皮質の退縮/萎縮に関連した変化と考えられたが、この変化は摂餌量および体重の減少に伴うストレスによる間接的な影響と考えられた。

表 主要な肉眼的変化

性	雄				雌				
	用量(ppm)	0	800	5000	20000/ 10000	0	800	5000	20000/ 10000
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓 腫大		0	0	1	2	0	0	1	2
胸腺 萎縮		0	1	0	1	0	0	0	4*

\* : p<0.05 (Fisher's exact test、申請者の計算による)

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

病理組織学的検査；途中死亡及び計画屠殺したすべての動物について、以下の組織を採取し、病理組織学的検査を実施した。

副腎、大動脈、関節面(大腿骨-脛骨)、骨(胸骨)、骨髓(胸骨)、脳、精巣上体、食道、眼及び視神経、心臓、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、咽頭/喉頭<sup>a)</sup>、肝臓、肺、リンパ節(咽頭後、腸間膜)、乳腺、卵巣および卵管、膵臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、胆嚢、骨格筋、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃、顎下腺(唾液腺)、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、舌、気管、膀胱、子宮(子宮頸部を含む)、膈、肉眼的病変部および腫瘤

a) 組織を採取したが、スライドの作成および鏡検はしなかった。

20000/10000 および 5000ppm 群雌雄の肝臓において軽微から軽度の肝細胞肥大および細胞質内好酸性小滴が認められ、同群雄ではさらに単細胞壊死が認められ、投与に関連した毒性影響と考えられた。

20000/10000ppm 群雌雄にて胸腺退縮の程度が対照群に比べ僅かに上昇したが、これは摂餌量および体重の減少に関連したストレスによる検体投与の間接的な影響と考えられた。また、同群雌の子宮では全例が発情休止期であったが、これについても体重の減少による間接的な影響と考えられた。

表 主要な病理組織学的所見

性		雄				雌				
		0	800	5000	20000/ 10000	0	800	5000	20000/ 10000	
肝臓	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	
	びまん性肝細胞肥大	0	0	4*	4*	0	0	4*	4*	
	細胞質内好酸性小滴	0	1	3	4*	0	1	4*	2	
	単細胞壊死	0	0	2	3	0	0	1	0	
	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	3	
胸腺	皮質の退縮/萎縮	軽微	4	1	1	0	4	3	2	0
		軽度	0	2	3	2	0	0	2	1
		中等度	0	0	0	1	0	0	0	2
		重度	0	1	0	1	0	0	0	0
		計	4	4	4	4	4	3	4	3
子宮	検査動物数					4	4	4	4	
	発情周期	発情前期					1	1	4	0
		発情後期始期					1	2	0	0
		発情後期中期					1	0	0	0
		発情休止期					1	1	0	4

\* : p<0.05 (Fisher's exact test、申請者の計算による)



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

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

用量	雄	雌
20000/10000ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 増体重抑制*</li> <li>・ 摂餌量減少*</li> <li>・ 血小板数増加</li> <li>・ GGT、ASAT、ALAT 高値</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 血小板数増加</li> <li>・ RBC、Hb、Ht 減少</li> </ul>
5000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ AP 高値</li> <li>・ ALB、TPRO、A/G 減少</li> <li>・ 肝臓重量(実重量、相対重量)増加</li> <li>・ 肝臓の腫大</li> <li>・ 肝臓の肝細胞肥大、細胞質内好酸性小滴、単細胞壊死</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 増体重抑制*</li> <li>・ 摂餌量減少*</li> <li>・ AP、GGT 高値</li> <li>・ ALB、TPRO、A/G 減少</li> <li>・ 肝臓重量(実重量、相対重量)増加</li> <li>・ 肝臓の腫大</li> <li>・ 肝臓の肝細胞肥大、細胞質内好酸性小滴</li> </ul>
800ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

\* : 申請者が毒性影響と考える所見

その他、20000/10000ppm 群雌で胸腺重量の減少ならびに皮質の退縮/萎縮が、子宮にて発情周期の乱れが認められたが、それぞれ摂餌量および体重の減少に関連したストレスおよび体重の減少による間接的影響と判断された。

以上より、本試験における無毒性量は雌雄とも 800ppm(雄 28.5mg/kg/day、雌 32.9mg/kg/day)と判断された。

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

(3) ラットを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験

(毒性資料 No.11)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2007 年

検体純度： %

供試動物：Wistar Hanover CrI:WI [GLX/BRL/HAN] IGS BR 系ラット、1 群雌雄各 10 匹  
投与開始時 約 11 週齢、体重；雄 281.3～351.0g、雌 203.1～237.6g

投与期間：28 日間

投与方法：検体を 0、100、300 および 1000mg/kg の用量で動物皮膚に 6 時間/日×5 日間/  
週×4 週間、反復経皮投与した。必要量の検体を 1mL の脱イオン水で湿らせたガー  
ゼ付き絆創膏(適用部面積約 5×5cm<sup>2</sup>)に載せ、刈毛した動物の皮膚に閉塞処理  
した。処理後、残留した検体は脱イオン水で湿らせたガーゼおよび乾いたガー  
ゼを用いて各処理日に取り除いた。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般症状観察；全動物について毎日 2 回(週末は 1 回)一般状態を観察した。  
投与に関連する死亡、一般状態の変化は認められなかった。

体 重；全動物の体重を毎週測定した。最終屠殺日にも体重を測定し最終体重とした。  
投与に関連する変化は認められなかった。

摂餌量；摂餌量を毎週測定した。  
投与に関連する変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与前および最終屠殺前に全生存動物について眼科学的検査を実施した。  
投与に関連する変化は認められなかった。

血液検査；最終屠殺日に全動物から、イソフルランによる軽度の麻酔下、後眼窩静脈叢  
より採血し、以下の血液学および血液生化学的検査を実施した。動物は採血  
の前夜より絶食させた。

血液学的検査；ヘマトクリット(Ht)、血色素量(Hb)、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、  
血小板数(PLT)、活性化トロンボプラスチン時間(APTT)、プロトロンビン時  
間(PT)、白血球百分率、赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度  
(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、網状赤血球数、赤血球形態、赤血球分布  
幅(RDW)、血色素分布幅(HDW)

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

血液生化学的検査；カルシウム(CA)、塩素(CL)、無機リン(PHOS)、カリウム(K)、ナトリウム(NA)、アルカリホスファターゼ(AP)、クレアチンホスホキナーゼ(CK)、乳酸脱水素酵素(LDH)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、アルブミン(ALB)、クレアチニン(CREA)、尿素窒素(UREA)、コレステロール(CHOL)、グロブリン(GLOB)、グルコース(GLUC)、総ビリルビン(TBIL)、総タンパク(TPRO)、トリグリセリド(TRIG)、尿酸(Uric-A)、A/G比(A/G)

血液学的検査において 1000mg/kg 群の雄におけるプロトロンビン時間が対照群と比較して統計学的に有意に延長されたが、その程度は僅かであった。

1000mg/kg 群の雌において大型無染色細胞(LUC)の割合が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、背景対照データの範囲内(0.1~1.5%)であったため投与の影響とは考えなかった。

表 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

雄				
用量(mg/kg/day)	0	100	300	1000
PT (秒)	16.3	16.4	17.1	19.1*
雌				
用量(mg/kg/day)	0	100	300	1000
LUC (%)	0.8	1.0	0.7	1.3*

\* : p<0.05 (Dunnett's test)

血液生化学的検査において 1000mg/kg 群雌における総コレステロール値が対照群と比較して統計学的に有意な上昇を示した。

100mg/kg 群の雌においてカリウム値の統計学的に有意な減少が見られたが、この変化には用量との関連性がなく、背景対照データの範囲内(3.6~5.5 mmol/L)であったため投与とは無関係と考えられた。

表 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

雌				
用量(mg/kg/day)	0	100	300	1000
K (mmol/L)	4.6	4.1*	4.3	4.2
CHOL (mg/dL)	40	48	46	59*

\* : p<0.05 (Dunnett's test)

肉眼的病理検査：投与終了後全生存動物について、CO<sub>2</sub>窒息による屠殺後、剖検した。

投与に関連した肉眼的病理変化はなかった。

臓器重量：以下の臓器について重量を測定した。

肝臓、心臓、脾臓、胸腺、精巣上体、腎臓、卵巣、精巣、子宮、副腎、脳

高用量群雌雄の肝臓重量(雄；対体重比、雌；実重量および対体重比)が対照群に比べ統計学的有意に増加し、病理組織学的検査で認められた肝細胞肥大と関連するもので投与の影響と考えられた。

高用量群雄の腎臓重量(対体重比のみ)および低用量群雌の肝臓重量(実重量および対体重比)が対照群に対し統計学的有意に増加したが、用量との関連がない、実重量と対体重比の両方の変化を伴わない、あるいは病理組織学的に関連する所見がないことから投与の影響とは考えなかった。

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

表 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性		雄			雌		
用量(mg/kg/day)		100	300	1000	100	300	1000
肝臓	実重量				↑117		↑125
	対体重比			↑110	↑113		↑125
腎臓	対体重比			↑109			

表中の数値は対照群に対する割合(%), ( )内の数値は参考値

↑ : p<0.05 (Dunnett's test)

病理組織学的検査 : 対照群および 1000mg/kg 群について以下の組織について組織病理学的検査を実施した。肝臓については全群について検査した。

盲腸、結腸、十二指腸、食道、回腸、空腸、肝臓、膵臓、直腸、唾液腺、腺胃、非腺胃、歯、喉頭、肺、鼻腔内組織、鼻咽頭、口腔内組織、気管、大動脈、骨髄、心臓、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、脾臓、胸腺、精巣上体、腎臓、乳腺、卵巣、前立腺、精巣、膀胱、子宮、精嚢、副腎、甲状腺(上皮小体を含む)、脳(小脳、大脳-中脳、脳髄/脳橋)、眼、視神経、坐骨神経、下垂体、脊椎(頸部、胸部、腰部)、胸骨、肉眼的異常部位、皮膚(処理部、非処理部)

1000mg/kg 群雌雄の全例で肝細胞肥大(小葉中心性ないし小葉中間帯)がみられ投与の影響と判断された。しかし、ラットにおける 28 日間混餌投与試験において肝臓の酵素誘導が観察されたため、この肝細胞肥大は肝臓における酵素誘導に起因する適応性変化であると考えられた。

表 主要な病理組織学的所見

性	雄				雌			
用量(mg/kg/day)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
肝細胞肥大	0	0	0	10**	0	0	0	10**

\*\* : p<0.01 (Fisher's exact test, 申請者の計算による)

本試験の結果、1000mg/kg/day の投与群雄でプロトロンビン時間の軽度延長、同群雌でコレステロール値の上昇が認められた。同群雌雄で肝臓重量が増加(雄 : 対体重比、雌 : 実重量および対体重比)し、病理組織学的検査で肝細胞肥大が増加した。

以上より、本試験における無毒性量は雌雄とも 300mg/kg/day と判断された。

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

(4) 90日間反復吸入毒性

(毒性資料 No.12)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用について(平成13年10月10日付け13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知)の「4.試験成績の除外について(2)①のイ」の規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・本農薬原体の急性吸入毒性試験において、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い毒性は認められていない。

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

## 6. 亜急性神経毒性

### (1) ラットを用いた 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(毒性資料 No.13)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008 年

検体純度： %

供試動物：Wistar Han Crl:WI (HAN)系ラット、1 群雌雄各 12 匹

投与開始時 約 8 週齢、体重；雄 219.6～285.9g、雌 142.9～174.9g

投与期間：90 日間

投与方法：検体を 0、100、500 および 2500ppm の濃度で試料に混和し 90 日間混餌投与した。

用量設定根拠；

#### 観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日 2 回(週末および休日は 1 回)一般状態及び生死を観察した。また、詳細な身体検査を毎週実施し記録した。

一般症状として、2500ppm 群雌 1 匹で 74～88 日目に不正咬合、74 および 88 日目に赤色涙、74 日目に赤色鼻汁が、対照群および 2500ppm 群の雄各 1 匹で 4～88 日目に脱毛がそれぞれ観察されたが、いずれも偶発的変化であると考えられ、投与に関連した一般症状の変化は認められなかった。

また、投与に関連した死亡は認められなかった。

なお、投与 4 週目の FOB 検査時に対照群および各投与群の雌各 1 匹が別の投与群のケージに収納されていることが発見された。これらの動物は屠殺し、投与 3 週以降の観察結果、体重、摂餌量、FOB および自発運動量に関するこれらの動物に関するデータを除外した。

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

表 認められた主な一般症状

性	雄				雌				
	用量(ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
検査動物数	12	12	12	12	11-12 <sup>a</sup>	11-12 <sup>a</sup>	11-12 <sup>a</sup>	11-12 <sup>a</sup>	
脱毛(両前肢)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
脱毛(胸部-腹部)	0	0	0	1	0	0	0	0	0
赤色涙	0	0	0	0	0	0	0	0	1
赤色鼻汁	0	0	0	0	0	0	0	0	1
不正咬合	0	0	0	0	0	0	0	0	1

a : 3 週目以降の検査動物数は 11

体重 ; 全動物の体重を毎週測定した。最終屠殺日にも体重を測定し最終体重とした。

21 日目以降、2500ppm 群雄の体重は対照群に比べ低値傾向を示し、同群雌では 21 日目および 42 日目以降統計学的有意に低値を示した。500ppm 以下の雌雄の体重に投与による影響はなかった。

0~91 日までの総体重増加量は、対照群に比べ、2500ppm 群雄では減少傾向(10% 減少)、雌では統計学的有意に減少(26%減少)した。500ppm 以下では雌雄とも影響は認められなかった。

表 体重および総体重増加量

性	雄			雌			
	用量(ppm)	100	500	2500	100	500	2500
体重	0日目	100	101	101	101	98	100
	21日目	100	100	95	100	96	↓93
	28日目	99	100	95	101	97	95
	35日目	99	100	94	100	97	94
	42日目	98	99	94	99	96	↓91
	49日目	98	100	93	98	96	↓89
	56日目	98	100	94	99	97	↓92
	63日目	99	101	95	99	98	↓91
	70日目	99	101	95	99	96	↓90
	77日目	98	101	95	100	97	↓88
	84日目	99	101	96	100	97	↓90
91日目	99	101	96	99	97	↓91	
総体重増加量 (0~91日目)		98	102	90	95	97	↓74

↓ : p<0.05 (Dunnett's test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

摂餌量 ; 摂餌量を毎週測定した。

2500ppm 群雄において、21 日目の摂餌量が対照群に比べ統計学的に有意に低下した。同群雌では、21 日目以降対照群に比べ統計学的に有意に低下した。また、500ppm 群雌でも統計学的に有意な摂餌量の低下が 21 日目以降に散見された。500ppm 群雄および 100ppm 群の雌雄では摂餌量に投与の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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 摂餌量

性	雄			雌		
	用量(ppm)	100	500	2500	100	500
7日目	103	100	111	88	88	115
21日目	102	98	↓85	92	↓90	↓80
28日目	101	97	96	94	↓92	↓86
35日目	100	99	93	94	↓93	↓85
42日目	99	99	94	92	↓89	↓79
49日目	99	99	92	92	91	↓80
56日目	100	100	98	91	92	↓85
63日目	101	102	97	90	↓88	↓77
70日目	101	102	100	92	↓88	↓76
77日目	102	102	99	98	93	↓79
84日目	100	100	100	98	93	↓87
91日目	104	102	102	93	↓90	↓83

↓ : p<0.05 (Dunnett's test)

表中の数値は対照群に対する割合(%)

検体摂取量：全投与期間にわたる平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 検体摂取量

用量 (ppm)		100	500	2500
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	6.69	33.2	164.2
	雌	8.05	41.2	197.1

FOB； 全生存動物について、投与前週と投与 2、4、8 および 13 週目の 5 回実施した。FOB 検査室にて、以下の項目を検査した。

ホームケージでの観察

姿勢、立毛、不随意運動、歩行異常、発声、運動量低下、反復的頭部上下動、反応亢進

ハンドリング間の観察

取りだし時の難易、ハンドリングに対する反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、鼻汁、着色(涙、鼻、肛門周囲、尿、口)、脱毛、痩せ、噛み跡、眼球突出、歯の破折/不正咬合、爪欠損、脱水、体温(触診による)

オープンフィールド観察

立ち上がり回数、立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常行動、歩行異常、発声、覚醒レベル、排泄回数

反射/生理的観察/測定

接近反応、接触反応、聴覚反応、テイルピンチ、通常照明化での瞳孔サイズ、瞳孔反射、正向反射、握力、体重、結腸温、着地開脚幅

投与の影響として、2500ppm 群雌で 8 および 13 週目に体重が対照群に比べ統計学的有意に低下した(それぞれ 9% および 10%)。

その他、対照群の雄 1 匹(投与前の週を含む全週)および 2500ppm 群の雄 1 匹(4 および 8 週目)で脱毛が、2500ppm 群の雌 1 匹(13 週目)で歯の破折または不正咬合が認められたが、投与の影響とは判断しなかった。



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

表 FOB 検査結果

雄					
用量 (ppm)		0	100	500	2500
検査日	検査動物数	12	12	12	12
投与前週	ハンドリング：脱毛	1	0	0	0
2週目	ハンドリング：脱毛	1	0	0	0
4週目	ハンドリング：脱毛	1	0	0	1
8週目	ハンドリング：脱毛	1	0	0	1
13週目	ハンドリング：脱毛	1	0	0	0
雌					
用量 (ppm)		0	100	500	2500
検査日	検査動物数	11-12 <sup>a</sup>	11-12 <sup>a</sup>	11-12 <sup>a</sup>	11-12 <sup>a</sup>
投与前週	所見なし	12	12	12	12
2週目	所見なし	12	12	12	12
4週目	所見なし	11	11	11	11
8週目	体重 (g)	224	220	215	↓203
13週目	ハンドリング：歯の破折／不正咬合	0	0	0	1
	体重 (g)	240	238	233	↓216

a : 4 週目以降の検査動物数は 11

↓ : p<0.05 (Dunnnett's test)

自発運動量 ; FOB 検査と同日に FOB 検査終了後、全動物について自発運動量(ビームを横切った回数として記録)および移動運動量(ビームを横切った回数から連続して同一のビームを横切った回数を減じた回数として記録)を測定した。測定は 8 の字迷路を用いてインターバル/10 分間、セッション/60 分間で実施した。

投与に関連した自発運動量および移動運動量の変化は認められなかった。いくつかの測定時点で通常の変動幅と考えられる±20%を僅かに外れる測定値が認められたが、統計学的有意差はなく、用量との関連性がない、あるいは検査期間で一貫性が認められないことから投与の影響とは考えられなかった。

表 自発運動量

検査日	用量 (ppm)			
	0	100	500	2500
雄				
投与前週	542±215	605±207 (112)	640±165 (118)	626±136 (115)
2週目	547±166	672±206 (123)	653±134 (119)	698±160 (128)
4週目	558±103	670±319 (120)	586±167 (105)	552±165 ( 99)
8週目	507±136	587±173 (116)	504±133 ( 99)	521±197 (103)
13週目	414±147	447±133 (108)	452±142 (109)	491±234 (119)
雌				
投与前週	824±309	830±270 (101)	716±275 ( 87)	891±260 (108)
2週目	882±299	712±238 ( 81)	813±317 ( 92)	921±122 (104)
4週目	759±233	704±205 ( 93)	692±200 ( 91)	782±187 (103)
8週目	798±202	798±196 (100)	690±163 ( 86)	697±162 ( 87)
13週目	641±185	644±260 (101)	674±332 (105)	662±168 (103)

表中の数値はセッション総自発運動量カウント平均値±標準偏差

( )は対照群の値に対する割合(%)

統計学的有意差なし(ANOVA、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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 移動運動量

検査日	用量 (ppm)			
	0	100	500	2500
雄				
投与前週	332±137	348±142 (105)	378±108 (114)	377± 88 (114)
2週目	290±101	370±101 (128)	351± 45 (121)	362± 66 (125)
4週目	276± 62	344±144 (125)	312± 93 (113)	274± 97 ( 99)
8週目	220± 66	296± 87 (135)	244± 82 (111)	248±118 (113)
13週目	177± 72	197± 55 (111)	212± 62 (120)	229±127 (129)
雌				
投与前週	388±137	427±178 (110)	342±150 ( 88)	428±126 (110)
2週目	419±153	369±138 ( 88)	387±202 ( 92)	404± 63 ( 96)
4週目	361±117	330± 97 ( 91)	301±132 ( 83)	337± 87 ( 93)
8週目	360± 95	373± 96 (104)	302± 88 ( 84)	275± 73 ( 76)
13週目	286± 85	294±119 (103)	300±185 (105)	260± 65 ( 91)

表中の数値はセッション総移動運動量カウント平均値±標準偏差

( )は対照群の値に対する割合(%)

統計学的有意差なし(ANOVA、 $p < 0.05$ )

眼科学的検査;投与前および投与 12 週目に全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与に関連した変化は認められなかった。

血液検査;最終屠殺日に、各群の灌流動物に割り当てなかった全動物(4~6 匹/性/群)から、イソフルランによる軽度の麻酔下、後眼窩静脈叢より採血し、以下の血液学および血液生化学的検査を実施した。動物は採血の前夜より絶食させた。

血液学的検査;血小板数(PLT)、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、血色素量(Hb)、ヘマトクリット(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球血色素量(MCH)、赤血球分布幅(RDW)、血色素分布幅(HDW)、白血球百分率、赤血球形態、プロトロンビン時間(PT)、活性化トロンボプラスチン時間(APTT)

血液生化学的検査;ナトリウム(NA)、カリウム(K)、塩素(CL)、尿素窒素(UREA)、グルコース(GLUC)、クレアチニン(CREA)、トリグリセリド(TRIG)、コレステロール(CHOL)、乳酸脱水素酵素(LDH)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、アルカリホスファターゼ(AP)、総ビリルビン(TBIL)、総タンパク(TPRO)、アルブミン(ALB)、無機リン(PHOS)、カルシウム(CA)、グロブリン(GLOB)、A/G 比(A/G)

有意差の認められた項目を下表に示した。

血液学的検査で認められた統計学的有意差はいずれもわずかな変動であり、投与の影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査では、2500ppm 群雌雄でコレステロールが、同群雌でトリグリセリドが対照群に比べ上昇した。他の統計学的有意差については、いずれもわずかな変動であり投与の影響とは考えられなかった。

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

表 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性	雄			雌		
	用量(ppm)	100	500	2500	100	500
Hb						↓ 90
Ht			↓ 94			↓ 91
MCV	↓ 96	↓ 96	↓ 94	↓ 96	↓ 94	↓ 87
MCH	↓ 95		↓ 95	↓ 94	↓ 93	↓ 86
HDW		↑ 126	↑ 119			↑ 128

表中の数値は対照群に対する割合(%)

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett's test)

表 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性	雄			雌		
	用量(ppm)	100	500	2500	100	500
CL						↓ 97
UREA						↑ 127
GLUC				↓ 85		↓ 85
CHOL				↑ 144		↑ 169
TRIG						↑ 190
TBIL				↓ 50 (0.1)	↓ 50 (0.1)	↓ 50 (0.1)
TPRO				↑ 107		↑ 109
ALB				↑ 110		
GROB						↑ 116

表中の数値は対照群に対する割合(%)

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett's test または Mann-Whitney U-test)

( )内の数値は実測値 (単位 mg/dL、対照群の値 : 0.2mg/dL)

剖検、組織採取および脳重量：投与終了後全動物について剖検し、全臓器、体腔、切断面、開口部および外表の検査を実施した。各群雌雄各 6 匹ずつを、ペントバルビタールの腹腔内投与(50mg/kg)による深麻酔下、左心室から亜硝酸ナトリウムのリン酸緩衝溶液を流した後、リン酸緩衝液中Universal固定液(1%グルタルアルデヒドおよび4%EM級ホルムアルデヒド)で灌流した。各動物から脳および脊髄全体、両眼(視神経含む)、末梢神経(坐骨、脛骨、腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、両前肢、神経組織または骨格筋の肉眼的病変部を採取し、10%緩衝ホルマリンに後固定した。脳はホルマリン固定前に重量を測定した。灌流に用いなかった生存動物はCO<sub>2</sub>窒息により屠殺し、肝臓、腎臓および甲状腺を採取し重量を測定した。

灌流および非灌流の何れにおいても 2500ppm 群雌の最終体重が対照群に比べ統計学的有意に減少した。

灌流動物の脳重量に投与の影響は認められなかった。

非灌流動物において、2500ppm 群雌雄の肝臓重量(実重量および対体重比)および同群雄の腎臓重量(実重量および対体重比)が対照群に比べ有意に増加し投与の影響と考えられた。500ppm 群雌雄の肝臓重量の対体重比が統計学的有意に増加したが、実重量に統計学的有意な差は認められず投与の影響とは考えられなかった。

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

表 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性		雄			雌			
用量 (ppm)		100	500	2500	100	500	2500	
灌流	最終体重	(98)	(105)	(100)	(98)	(96)	↓ 90	
	最終体重	(98)	(105)	(94)	(97)	(93)	↓ 86	
非灌流	肝臓	実重量		↑ 143			↑ 141	
		対体重比		↑ 116	↑ 152		↑ 120	↑ 165
	腎臓	実重量			↑ 119			
		対体重比			↑ 126			

数値は対照群に対する割合(%)

( )内の数値は参考値

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett's test または Mann-Whitney U test)

神経病理学的検査；対照群及び 2500ppm 群雌雄の灌流動物の以下の組織について顕微鏡的病理検査を実施した。

- ・ 脳(8 冠状断面)、脊髓(頸部、胸部、腰部)、馬尾、眼、視神経、腓腹筋；パラフィンに包埋しヘマトキシリン-エオシン染色
- ・ 背根神経節(頸膨大および腰膨大、背後根繊維および腹根繊維を含む)、ガッセル神経節、末梢神経組織(坐骨、脛骨、腓腹神経)；メタクリル酸グリコール(GMA)に包埋し、2~3μm に細切後 Lee 染色変法により染色

投与に関連する所見は認められなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

用量	雄	雌
2500ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 増体重抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ CHOL 上昇</li> <li>・ 肝臓、腎臓重量(実重量、対体重比)増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 増体重抑制</li> <li>・ CHOL、TRIG 上昇</li> <li>・ 肝臓重量(実重量、対体重比)増加</li> </ul>
500ppm 以上	500ppm 以下毒性所見なし	・ 摂餌量減少
100ppm		毒性所見なし

以上より、本試験において神経毒性は認められず、神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 2500ppm (雄 164.2mg/kg/day、雌 197.1mg/kg/day)と判断された。

(申請者注)

一般毒性に関する無毒性量は雄では 500ppm (33.2mg/kg/day)、雌では 100 ppm (8.05mg/kg/day)と判断される。

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

## (2) 28日間反復投与遅発性神経毒性

(毒性資料 No.14)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用について(平成13年10月10日付け13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知)の「4.試験成績の除外について(2)⑬」の規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・有効成分がリン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。

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

## 7. 慢性毒性及び発がん性

### (1) イヌを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与慢性毒性試験 (毒性資料 No.15)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2007年

検体純度： %

供試動物：ビーグル犬 1群雌雄各4匹

投与開始時 約8ヶ月齢、体重；雄7.0～9.4kg、雌5.2～7.7kg

投与期間：12ヶ月 (2006年1月31日～2007年2月1日)

投与方法：検体を0(対照群)、100、400および2000ppmの濃度で飼料に混入し12ヶ月間摂食させた。

用量設定根拠；

#### 観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日一般状態及び生死を観察した。また、詳細な身体検査を毎週行った。さらに、身体検査の際には精神状態、姿勢、緊張、反射等に関する検査も実施した。

投与期間中死亡例はなかった。

雌雄いずれにも投与に関連した一般状態および詳細な身体検査における変化は認められなかった。

体重；投与前ならびに投与期間中毎週および最終屠殺前に、全動物の体重を給餌前に測定した。

投与開始1週目の平均体重が対照群では雄については0.1kg増加、雌については変化がなかったのに対し、2000ppm群では雄については0.2kg、雌については0.1kg減少した。この変化は同一期間における同群雌雄での摂餌量の減少に関連し、おそらく検体に対する嗜好性の低さに起因する変化であると考えられた。その後は試験期間を通して、投与群の雌雄の平均体重パラメータは対照群と同程度であった。400および100ppm群では、平均体重に関するパラメータに投与の影響はみられなかった。

2000ppm群雌雄および400ppm群雌のいくつかの調査時点における増体重が対照群に比べ統計学的有意に変動したが、これらの変化は週毎の変動を反映しているのみであり偶発的変動と考えられた。

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

表 平均体重および増体重

用量 (ppm)		0	100	400	2000
雄					
体重	開始時(1日目)	8.3	8.1 ( 98)	8.2 ( 99)	8.2 ( 99)
	終了時(364日目)	8.7	10.4 (120)	9.6 (110)	8.5 ( 98)
増体重	1週目(1~8日目)	0.1	0.1	0.0	-0.2
	1~13週目(1~92日目)	-0.1	1.2	0.5	0.5
	13~26週目(92~183日目)	0.0	0.3	0.4	-0.5
	26~52週目(183~364日目)	0.4	0.8	0.5	0.3
	1~52週目(1~364日目)	0.4	2.3	1.3	0.2
雌					
体重	開始時(1日目)	6.9	6.6 ( 96)	6.8 ( 99)	6.7 ( 97)
	終了時(364日目)	8.0	8.0 (100)	8.1 (101)	7.6 ( 95)
増体重	1週目(1~8日目)	0.0	0.2	0.2	-0.1
	1~13週目(1~92日目)	-0.2	0.9	0.6	0.9
	13~26週目(92~183日目)	0.1	-0.2	0.4	-0.1
	26~52週目(183~364日目)	1.1	0.7	0.3	0.2*
	1~52週目(1~364日目)	1.1	1.4	1.2	1.0

表中の数値は群平均値(kg)、( )内の数値は対照群に対する割合(%)

\* : p<0.05 (Dunnett's test)

(申請者注)

2000ppm 群雌雄で投与 1週目に増体重の抑制が認められたが、試験期間を通じた増体重は対照群に比べわずかに減少したのみであったことから、毒性影響とは考えなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

2000ppm 群では投与開始直後1週間の摂餌量が対照群に比べ雄で30%、雌で24%減少した(統計学的有意差なし)。この初期の減少は、検体に対する嗜好性の低下が原因であると考えられた。その後は、雄については対照群と同程度であったが、雌についてはほぼ試験期間を通して対照群よりもわずかに低いレベルを維持した(対照群と比較して統計学的有意差があったのは52週目のみであった)。試験期間中を通じた雌の平均摂餌量は対照群を10%下回った。

400および100ppm 群では、雄で対照群と比較し統計学的有意差が散見されたが偶発的な変動であると考えられ、雌雄ともに試験期間中の平均摂餌量に検体投与の影響は見られなかった。

表 平均摂餌量 (g/day/匹)

用量(ppm)	0	100	400	2000
雄				
1週目(1~8日目)	709	648 ( 91)	656 ( 93)	498 ( 70)
1~52週目(1~364日目)	740	730 ( 99)	745 (101)	720 ( 97)
雌				
1週目(1~8日目)	645	636 ( 99)	625 ( 97)	493 ( 76)
1~52週目(1~364日目)	688	703 (102)	693 (101)	620 ( 90)

( )内の数値は対照群に対する割合(%)

(申請者注)

2000ppm 群雌雄で投与 1週目に摂餌量の減少が認められたが、試験期間を通じ

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

た摂餌量の減少は対照群に対し軽度(10%以下の変動)であったことから、毒性影響とは考えなかった。

検体摂取量：各群の試験期間を通じた平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 検体摂取量

用量 (ppm)		100	400	2000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.0	13.2	67.6
	雌	3.8	14.4	66.1

眼科学的検査；馴化期間中および投与終了時に全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与の影響は認められなかった。

血液学的検査；投与前、投与 84～85 日目(3ヶ月目)、161～162 日目(6ヶ月目)および 357～361 日目(12ヶ月目)に全生存動物の頸静脈より採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数(RBC)、血色素量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、網状赤血球数(RET)、白血球総数(WBC)、白血球百分率、血小板数(PLT)、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)

投与に関連のある変化は認められなかった。

対照群に対し統計学的な有意差がいくつか認められたが、発生が散発的であること、明確な用量関連性が認められないこと等から投与に関連しない変化と判断された。

表 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性		雄			雌		
用量(ppm)		100	400	2000	100	400	2000
Hb	6ヶ月目				↑106		↑105
Ht	6ヶ月目				↑106		↑106
MCHC	12ヶ月目		↓99				
RET(測定値、 $10^{12}/L$ ) <sup>a</sup>	12ヶ月目	↓0.03	↓0.04	↓0.03			
好中球	6ヶ月目			↓61			
リンパ球	3ヶ月目				↑171		↑171
	6ヶ月目				↑167		↑161
好中球%	3ヶ月目				↓81		↓80
リンパ球%	3ヶ月目				↑152		↑157

RET 以外の表中の数値は対照群に対する割合(%)

↑ ↓ :  $p < 0.05$ 、↓ :  $p < 0.01$  (Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

a) 対照群雄の測定値(12ヶ月目) :  $0.07 (10^{12}/L)$

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清及び血漿を用い、以下の項目について検査した。

外観、総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLUC)、尿素(UREA)、クレアチニン(CREA)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセリド(TRIG)、塩素(CL)、



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

ナトリウム(NA)、カリウム(K)、カルシウム(CA)、無機リン(PHOS)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、アルカリホスファターゼ(AP)、総蛋白(TPRO)、アルブミン(ALB)、グロブリン(GLOB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)

投与期間を通して 2000ppm 群雌雄のアルカリホスファターゼ活性が同群の試験前の値および対照群の値と比較し高値を示した。

400ppm 群雄でもアルカリホスファターゼ活性の高値が 6 カ月目以降示されたが、この変化は 1 匹の雄の高値によるものであり、この用量では他に関連した所見が何ら認められなかったことから、毒性影響とは考えなかった。

表 アルカリホスファターゼ活性の変化

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	100	400	2000	0	100	400	2000
試験前		111	142	119	119	121	134	135	145
3 カ月目		120 (108)	107 (75)	162 (136)	↑ 256 (215)	119 (98)	123 (92)	129 (96)	↑ 229 (158)
6 カ月目		154 (139)	108 (76)	215 (181)	341 (287)	147 (121)	134 (100)	134 (99)	334 (230)
12 カ月目		117 (105)	81 (57)	176 (148)	299 (251)	140 (116)	135 (101)	161 (119)	285 (197)

表中の数値は群平均値(IU/L)、( )内の数値は試験前の値に対する割合(%)

↑ : p<0.05、↑ : p<0.01 (同時期の対照群との差についての検定結果  
: Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

アルカリホスファターゼ活性以外では、いくつかの項目で対照群に対し統計学的有意差がみられたが用量や検査時期による一貫性がないか、投与前にみられた変動であり、投与との関連が明確な変化は観察されなかった。

表 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性	用量 (ppm)	雄			雌		
		100	400	2000	100	400	2000
PHOS	試験前		↑ 121				
AP	3 ヶ月目			↑ 213			↑ 192
A/G	3 ヶ月目	↑ 121					
ASAT	6 ヶ月目	↓ 69	↓ 73				
CHOL	6 ヶ月目		↑ 127				
ALB	12 ヶ月目			↓ 88			

表中の数値は対照群に対する割合(%)

↑ ↓ : p<0.05、↑ : p<0.01 (Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

尿検査 ; 投与前、投与 101 日目、169~172 日目および 360 日目の午前中に全生存動物から前夜の尿を採取し、以下の項目について検査した。採尿時に飲水の制限は行わなかった。

外観、尿量、pH、屈折率、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血/赤血球、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣(赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶)

投与の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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

臓器重量；投与 365～368 日目に全動物をアセプロマジンの筋肉注射による沈静化後、ペントバルビタールの静注による深麻酔下で放血致死させた。以下の臓器重量を測定し、相対重量(対体重比及び対脳重比)も算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)及び子宮(子宮頸部を含む)

2000 ppm 群雌の甲状腺実重量および対脳重比が対照群に比べ統計学的に有意に増加したが、病理組織学的検査で関連する変化が認められなかったため毒性影響とは考えられなかった。

他にも統計学的有意差が散見されたが、個体毎の変動を反映したものであり投与の影響とは考えられなかった。

表 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性		雄			雌		
用量(ppm)		100	400	2000	100	400	2000
脾臓	対体重比			↓42			
心臓	対脳重比					↑121	
甲状腺	実重量						↑142
	対脳重比						↑147

表中の数値は対照群に対する割合(%), ( )内の数値は参考値

↑ ↓ : p<0.05, ↑ : p<0.01 (Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

肉眼的病理検査；計画屠殺したすべての動物について剖検を行った。

投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査；計画屠殺したすべての動物について、以下の組織を採取し、病理組織学的検査を実施した。

副腎、大動脈、関節面(大腿骨-脛骨)、骨(胸骨)、骨髓(胸骨)、脳、精巣上体、食道、眼、視神経、心臓、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、咽頭<sup>a)</sup>、喉頭<sup>a)</sup>、肝臓、肺、リンパ節(咽頭後、腸間膜)、乳腺、卵巣、卵管、脾臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、胆嚢、骨格筋、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃、顎下腺(唾液腺)、精巣、胸腺、甲状腺、上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮(子宮頸部を含む)、膣、肉眼的病変部および腫瘤

a) 組織を採取したが、スライドの作成および鏡検はしなかった。

2000ppm 群雄の 3/4 例の肝臓において、軽微な小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

2000ppm 群雄の 2/4 例の甲状腺において、濾胞上皮細胞の軽微なびまん性肥大が観察され、同様の変化が 100 ppm の雄 1 匹でも観察された。この変化は軽微であり、用量依存性がなかったため、投与とは関連性のない変化と判断した。

その他の臓器には、投与の影響を示す変化は認められなかった。

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

表：主な病理組織学的変化

性 用量(ppm)	雄				雌			
	0	100	400	2000	0	100	400	2000
検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓 小葉中心性肝細胞肥大；軽微	0	0	0	3	0	0	0	0
甲状腺 びまん性濾胞上皮細胞肥大；軽微	0	1	0	2	0	0	0	0

統計学的有意差なし(p<0.05、Fisher's exact test、申請者の計算による)

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

用量	雄	雌
2000ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ AP 上昇</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ AP 上昇</li> </ul>
400ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

その他 2000ppm 群雌雄で摂餌量の減少とそれに関連した体重の減少が投与の初期に認められた。この変化は、検体の嗜好性の低さに起因した変化と考えられた。

以上より、本試験における無毒性量は雌雄とも 400ppm (雄 13.2mg/kg/day、雌 14.4mg/kg/day) と判断された。