

(11) 一年間反復経口投与毒性及び発がん性
イミダクロプリドのラットを用いた一年間反復経口毒性/発がん性併合試験
(毒性資料 No. 原体-22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1991年1月25日

検体の純度：

試験動物：ウイスター系 (Bor: WISW) ラット

試験開始時：約4~6週齢(平均体重；雄約81g, 雌約76g)

1群 雌雄各50匹 + 雌雄各10匹(中間検査用：12ヵ月後に計画殺)

試験期間：投与期間24ヵ月間(1987年7月~1989年7月)

試験方法：

検体を0(対照群)、100、300及び900ppmとなるように粉末飼料(1%量のピーナツオイル添加)に混ぜ、24ヵ月間ラットに投与した。

試験項目及び試験結果：

1) 臨床症状

動物は毎日、最低2回(週末と休日は1回)臨床症状を記録した。個体毎の詳細な観察は週に1回実施した。

その結果、検体に起因する所見はどの群でも認められなかった。

2) 死亡数(表1)

試験中の動物の死亡数を次表に示した。死亡率に投与に起因する増加は認められなかった。

表 1. 累積死亡数

投与量 (ppm)	雄				雌			
	26 週後	51 週後	78 週後	104 週後	26 週後	51 週後	78 週後	104 週後
0	1/60	1/60	2/50	6/50	0/60	0/60	2/50	13/50
100	0/60	1/60	1/50	6/50	0/60	0/60	2/50	6/50
300	0/60	1/60	0/50	6/50	1/60	3/60	6/50	10/50
900	0/60	1/60	1/50	6/50	1/60	1/60	3/50	13/50

(累積死亡数/全動物数)

3) 体重

動物の体重は試験開始 14 週目までは毎週、以後 2 週毎に測定した。

300ppm までの雌雄の体重増加量は、毒性学的に有意な影響を受けなかった。

900ppm 群雄では、試験開始から 22 週目まで有意な体重増加抑制がいくつかの時点で散見され、13 週時では対照群に比較して 5%の抑制を示した。雌は試験 5 週目から有意な体重増加抑制を認め、102 週時では対照群に比較して 8%まで抑制された。

4) 飼料及び検体摂取量 (表 2)

試験開始 15 週目までは毎週、以後 4 週毎に飼料摂取量を測定した。

900ppm までの投与群の雌雄ラットは、動物当たり、1 日当たり及び体重に比較して対照群とほぼ同じ量の飼料を摂取し、投与の影響は認められなかった。

検体摂取量(mg/kg/日)は以下のとおりであった。

表 2. 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量(ppm)		100	300	900
検体摂取量	雄	5.7	16.9	51.3
	雌	7.6	24.9	73.0

5) 飲水量

飲水量は各群雌雄につき、14、27、40、53、66、79 及び 92 週目に測定した。

各群の雌雄ラットは動物当たり及び体重当りに比較して対照群とほぼ同じ量の水を摂取し、投与の影響はなかった。

6) 臨床検査

各群から 10 匹の動物を選抜し、血液や尿の臨床検査を試験開始後 6、12、18 及び 24 ヶ月後に実施した。

6-1) 血液学的検査 (表 3)

上記した検査時に眼窩静脈叢より血液を採取し、白血球分画、赤血球形態、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、白血球数、平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃度 (MCHC)、平均血球容積 (MCV)、血小板数、凝固時間、網状赤血球数を測定した。

2、3の項目に有意差が認められたが、検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

表 3. 血液学的検査で有意差を認めた項目

項目\ 用量 (ppm)	雄			雌		
	100	300	900	100	300	900
MCHC			↓ 99 ②			↑ 103 ①
白血球数				↓ 81 ③	↓ 69 ③	↓ 82 ②
血小板数						↓ 91 ②
ヘモグロビン		↓ 97 ③				
凝固時間						↓ 96 ④

①6ヵ月目の検査 ②12ヵ月目の検査 ③18ヵ月目の検査 ④24ヵ月目の検査
↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (U-test)
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

6-2) 血液生化学的検査 (表 4)

上記した検査時に眼窩静脈叢より血液を取り、アルカリホスファターゼ、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)、クレアチンキナーゼ、GLDH、グルコース (尾静脈より採取)、ビリルビン、コレステロール、クレアチニン、総蛋白、尿素、アルブミン、無機リン、カルシウム、カリウム、ナトリウム、塩素 (CL) を測定した。

得られた結果には用量相関性も、雌雄に共通した変化もなかった。

表 4. 血液生化学的検査で有意差を認めた項目

項目	雄			雌		
	100ppm	300ppm	900ppm	100ppm	300ppm	900ppm
ASAT				↓ 58 ②		
クレアチンキナーゼ			↓ 51 ①	↑ 223 ③		
コレステロール						↓ 86 ②
ビリルビン				↓ 82 ②		↓ 73 ↓ 83 ② ③
アルブミン					↓ 92 ②	↓ 88 ②
グルコース				↓ 92 ④		
尿素						↑ 115 ①
クレアチニン				↑ 111 ④		↑ 111 ④
CL					↑ 102 ↑ 103 ① ④	
P		↓ 89 ③	↓ 88 ↓ 83 ① ③	↓ 84 ①	↓ 79 ↓ 83 ↓ 80 ① ③ ④	↓ 86 ↓ 84 ① ③
K	↑ 109 ②					↑ 107 ③
Ca				↑ 103 ④	↓ 98 ③	↓ 97 ③
Na			↓ 99 ④			

①6 ヶ月目の検査 ②12 ヶ月目の検査 ③18 ヶ月目の検査 ④24 ヶ月目の検査

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

6-3) コリンエステラーゼ活性(表 5)

血漿と赤血球コリンエステラーゼ活性を上記した血液を用いて 6、12、18 及び 24 ヶ月後に測定した。脳コリンエステラーゼ活性は中間時の剖検と最終剖検時に 10 匹の動物を無作為に選択し採取した。

血漿、血球及び脳コリンエステラーゼ活性値は、対照群と同様であった。

表 5. コリンエステラーゼ活性で有意差を認めた項目

項目	雄			雌		
	100ppm	300ppm	900ppm	100ppm	300ppm	900ppm
血漿 ChE			↑ 134 ④			
血球 ChE						↓ 86 ①
脳 ChE						↓ 83 ②

①6 ヶ月目の検査 ②12 ヶ月目の検査 ③18 ヶ月目の検査 ④24 ヶ月目の検査

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

6-4) 尿検査 (表 6)

尿のサンプルは各動物とも血液を採取する 2, 3 日前に約 16 時間のサンプリング期間に採取した。潜血、糖、ビリルビン、ケトン体、pH、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣、比重、尿量、蛋白を測定した。

検査した項目の中で潜血陽性反応が散見されたが投与に相関はなく、検体に起因する変化は認められなかった。

表 6. 尿検査で有意差を認めた項目

項目	雄			雌		
	100ppm	300ppm	900ppm	100ppm	300ppm	900ppm
尿量					↓ 83 ②	
比重				↑ 100 ①	↑ 100 ①	

①6 ヶ月目の検査 ②12 ヶ月目の検査 ③18 ヶ月目の検査 ④24 ヶ月目の検査

↑ ↓ : p<0.05 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

7) 眼科学的検査

眼科学的検査は、試験開始時と試験 12 ヶ月後には 0ppm と 900ppm 群の中から無作為に選抜した雌雄各 10 匹について実施した。試験終了時には、0ppm と 900ppm 群の全ての生存動物について眼科学的検査を行った。

検体投与による眼毒性作用の徴候はなかった。

8) 剖検

途中死亡動物、中間屠殺動物及び最終屠殺動物の全動物を剖検した。

各動物の剖検所見では投与に起因する特異的な臓器変化は認められなかった。

9) 臓器重量 (表 7)

12 カ月後の中間屠殺時と 24 カ月後の試験終了時に動物を屠殺し以下の臓器の重量を測定した。

脳、心臓、肝臓、肺、脾臓、両側の腎臓、副腎、卵巣及び精巣

対照群の値に比し、統計的に有意な変化が散見されるが、非常に軽度で毒性的に意義のある変化はなかった。

900ppm 投与群雌では、12 カ月後の検査で、肝臓 (14%) と腎臓 (13%) の実重量が有意な低値を示したが試験終了時では、それぞれ 4% と 5% の軽度であったことから、臓器障害の徴候とは判断しなかった。この群の雄も、投与 12 カ月後では有意に低い肝重量を示した。これら臓器の対体重比は 900ppm までの投与で有意な影響はなかった。

以上の肝重量と腎重量の減少は後述する組織学的変化に影響がみられていないことから、肝毒性や腎障害に起因するものではないと判断した。

表 7. 臓器実重量及び対体重比— 有意差を示した臓器

性別	雄						雌					
	100ppm		300ppm		900ppm		100ppm		300ppm		900ppm	
投与量	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R
(12 カ月後)												
体重							↓90					↓88
肺						↑109	↓92					↑109
肝臓					↓87						↓86	
腎臓											↓87	
脳								↑108				↑112
心臓								↑120				
(24 カ月後)												
体重												↓94
肝臓											↓96	
脾臓												↓98
腎臓											↓95	
脳												↑106
心臓											↓92	

A ; 実重量 R ; 対体重比

↑ ↓ : p<0.05 , ▲ ▼ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

10) 病理組織学的検査 (表 8, 9, 10, 11, 12)

12 カ月後、24 カ月後計画屠殺動物について病理組織学的検査を行った。

異常のみられた部位、副腎、動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼／視神経、骨髄を含む大腿骨、ハーダー氏腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、

肺、リンパ節（顎下、腸間膜）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、骨格筋、前立腺、皮膚（乳腺部）、直腸、脊髄、唾液腺、脾臓、坐骨神経、胸骨、精囊、胃、精巣、胸腺、甲状腺、上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮

10-1) 12 ヶ月後の中間屠殺用動物の非腫瘍性病変（表 8）

甲状腺には、いくつかのろ胞のコロイド内に鉍質沈着を認めた。この所見は、他の群の動物よりも、雄の 300ppm と 900ppm 群雌雄により多く認められた。

表 8. 甲状腺の病理組織学所見

性別	雄				雌			
	0	100	300	900	0	100	300	900
投与量 (ppm)	0	100	300	900	0	100	300	900
検査動物数	9	10	10	10	9	10	10	10
コロイド中の鉍質沈着	3	3	6	10**	0	0	0	3

** : p<0.01 (Fisher Test)

10-2) 途中死亡動物と 24 ヶ月後に屠殺した動物の非腫瘍性病変（表 9）

主たる非腫瘍性病変を表に抜粋した。甲状腺ろ胞の内腔の拡張を伴うコロイド内の鉍質沈着を示した例が雄では 100ppm から、雌では 900ppm 群で統計的に有意に増加した。この所見は、加齢に伴う変化として知られており、雄 100ppm 群で見られたこの所見の発生頻度は背景値範囲内であった。しかし、雄 300ppm の発生頻度は背景データの範囲内の上限に分布し、雌雄 900ppm 群における発生頻度は、背景データ範囲を越えていた。背景データ範囲内にある雄の 100ppm でこの所見は検体に起因する変化ではないものと考えられた。雄 300ppm 及び雌雄 900ppm でこの所見の頻度の増加については検体投与との関連性を否定できない可能性もあるものと考えられた（以下に詳細に考察する。）。

その他の臓器ではみられた所見は自然発生的変化と考えられ、また投与群では発生頻度において低下傾向を示す所見が散見された。これらの変化は毒性的な重要性はないものと考えられた。

[申請者註] 甲状腺コロイド内の鉍質沈着の発生について

本試験においては、甲状腺ろ胞内腔の拡張を伴うコロイド内の鉍質沈着が以下のような発生頻度で認められた。

甲状腺のコロイド内の鉍質沈着の発生

性別	雄				雌			
	0	100	300	900	0	100	300	900
投与量 (ppm)	0	100	300	900	0	100	300	900
中間屠殺動物 (12 ヶ月後)	3 (30%)	3 (33%)	6 (60%)	10** (100%)	0	0	0	3 (30%)
最終屠殺動物	2 (4%)	12** (24%)	31** (62%)	44** (88%)	11 (22%)	6 (12%)	11 (22%)	27** (54%)

** : p<0.01 (Fisher Test)

本報告書では、報告者は雄 100ppm での頻度は正常範囲内の変動としているのに対して、雄での 300ppm と 900ppm 及び雌での 900ppm の頻度は、動物の加齢に伴う変化ではあるが、

投与による影響を無視できないとしている。しかし、この結論に至るのに、あまり明確なデータは示されていない。

そこで、バイエル社で実施した試験の対照群でみられた内腔の拡張を伴う甲状腺ろ胞のコロイド内鉍質沈着の発生頻度を背景データとして以下の表に示した。雄での発生率は8~63%であり、雌では0~22%の範囲であった。従って、雄の100ppmの発生頻度の24%は背景成績の頻度と比較して自然発生の頻度の範囲内であったといえる。また、最大耐量を求めるために実施した1年間反復経口発がん性併合試験(MTD試験; 毒性資料No. 原体-23)での雄の対照群の発生率は24%であり、雄100ppmの発生頻度と同じであった。従って、雄100ppmの発生率は自然発生の変動範囲であったものと考えられる。

一方、雄300ppmは、背景成績の最高の発生率63%とほぼ同じであることから、影響を受けているか否かのボーダーラインであり、900ppmは明らかに自然発生の頻度の範囲を越えている。雌では、900ppmのみが明らかな高値を示した。これらの群の変化は投与による影響を受けたものと考えられた。

背景成績：甲状腺コロイド内の鉍質沈着の発生

性	動物数	雄	動物数	雌
背景成績 I (1987)	49	4 (8%)	45	0 (0%)
背景成績 II (1988)	46	14 (30%)	48	1 (2%)
背景成績 III (1988)	46	10 (21%)	49	1 (2%)
背景成績 IV (1990)	49	31 (63%)	48	4 (8%)
本試験成績 (1991)	50	2 (4%)	50	11 (22%)

MTD試験(毒性資料No. 原体-23)の甲状腺のコロイド内の鉍質沈着の発生

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	0	1800	0	1800
中間屠殺動物 (12ヵ月後)	5 (50%)	10* (100%)	2 (20%)	5 (50%)
最終屠殺動物	12 (24%)	46** (92%)	3 (6%)	38** (76%)

* : p<0.05, ** : p<0.01

尚、C. C. Capenら(1985)らによると、鉍質沈着の見られた動物で、それに関連した疾病を惹起することもなく、そして、たとえ多くのろ胞に鉍質沈着が発生したとしても、機能障害を引き起こすようなものではないと報告されている。

実際に、上述のMTD試験での1800ppm群雄では明らかにコロイド内の鉍質沈着が増加(92%)していたが、甲状腺ホルモンのTSH、T3、T4を測定したところ、対照群に比較して有意な変化を示さず、機能障害を伴っていなかったことが示されている。

以上のことから、雄の100ppmの鉍質沈着の発生は本検体に起因する変化ではなく(背景データ範囲内)、また雄での300ppmと900ppm及び雌の900ppmで増加した甲状腺ろ胞のコロイド鉍質沈着には毒性学的な意味はないものと考えられる。

表 9. 主要な非腫瘍性病変

性別	雄				雌			
	0	100	300	900	0	100	300	900
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
副腎								
出血性変性	0	0	0	0	28	29	17a	15a
ハーダー氏腺								
粒状暗色のホルムリン症	21	11	12	6b	0	7a	3	2
腎臓								
慢性腎症	29	30	25	21	18	9	3c	5b
リンパ節 (腸間膜)								
洞組織球増殖	6	2	2	0a	0	0	1	0
肝臓								
明細胞巢	27	31	30	26	5	2	4	0
胸腺								
甲状舌管嚢胞	0	0	0	0	13	8	7	6
甲状腺								
コロイド内鉍質沈着	2	12b	31c	44c	11	6	11	27b

a=p≤ 0.05, b=p≤ 0.01, c=p≤ 0.001 (Fisher Test)

10-3) 中間屠殺動物及び 24 ヶ月後の最終屠殺動物の腫瘍性病変 (表 10, 11, 12)

観察された腫瘍の種類、発現率、良性及び悪性腫瘍の発生頻度、臓器分布に検体に起因する増加は認められなかった。また、腫瘍の経時的発現にも検体投与による変化は認められなかった。

以上の結果から 900ppm 群雌雄の体重増加量の低下、甲状腺コロイド内の鉍質沈着が雄では 300ppm 以上で、雌では 900ppm で増加した。従って記述した条件下では、無毒性量は雄 100ppm (5.7mg/kg/日)、雌 300ppm (24.9mg/kg/日) であり、本剤に発がん性は認められなかった。

申請者註：雌雄の無毒性量について

前述したとおり、申請者は甲状腺コロイド内の鉍質沈着に毒性学的な意味合いはないものとも考えるが、雄においては 300ppm 以上、雌においては 900ppm で認められたこの所見は、本検体に関連した増加と考えられることから、安全サイドをとって、上記の無毒性量を設定した。

表 10. 主群の腫瘍動物数

性別	雄				雌			
	0	100	300	900	0	100	300	900
投与量 (ppm)	0	100	300	900	0	100	300	900
途中死亡又は切迫屠殺動物								
[動物数]	6	6	6	6	13	6	10	13
担腫瘍動物数	3	2	2	4	10	5	6	10
担良性腫瘍動物数	0	0	0	0	7	5	3	8
担悪性腫瘍動物数	3	2	2	4	4	1	3	4
最終屠殺動物								
[動物数]	44	44	44	44	37	44	40	37
担腫瘍動物数	10	14	15	13	19	21	17	14
担良性腫瘍動物数	6	13	13	11	16	20	15	12
担悪性腫瘍動物数	4	1	5	2	3	2	2	4
全動物								
[動物数]	50	50	50	50	50	50	50	50
担腫瘍動物数	13	16	17	17	29	26	23	24
担良性腫瘍動物数	6	13	13	11	23	25	18	20
担悪性腫瘍動物数	7	3	7	6	7	3	5	8
総腫瘍数	16	17	24	16	34	33	24	31
良性腫瘍数	9	14	16	11	27	30	19	23
悪性腫瘍数	7	3	8	5	7	3	5	8

表 11. 腫瘍の経時発現

性別	雄				雌			
	0	100	300	900	0	100	300	900
動物数	6	6	6	6	13	6	10	13
腫瘍								
良性	0	0	0	0	8	7	3	9
悪性	3	2	4	4	4	1	3	4
総数	3	2	4	4	12	8	6	13
担腫瘍動物総数	3	2	2	4	10	5	6	10
担腫瘍動物数								
181-270日	—	—	—	1	—	—	—	—
271-360日	—	1	—	—	—	—	1	—
361-450日	—	—	—	—	—	—	1	—
451-540日	—	—	—	—	1	2	—	1
541-630日	1	—	—	1	4	1	3	3
631-屠殺	2	1	2	2	5	2	1	6

表 12-1. 腫瘍性病変(中間屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	300	900	0	100	300	900
所見/検査数		10	10	10	10	10	10	10	10
1 年 間	甲状腺	9	10	10	10	9	10	10	10
	C-細胞腺腫	b	1	0	1	0	0	1	1
	造血組織		10	10	10	10	10	10	10
	組織球肉腫	m	0	0	1	0	0	0	0

b: 良性, m: 悪性

表 12-2. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌				
投与量 (ppm)		0	100	300	900	0	100	300	900	
途中死亡・屠殺動物	所見/検査数	6	6	6	6	13	6	10	13	
	脳	6	6	6	6	13	6	10	13	
	星状膠細胞腫	m	0	0	0	1	0	0	0	
	心臓	6	6	6	6	13	6	10	13	
	神経鞘腫	b	0	0	0	0	1	0	0	
	肉腫	m	0	0	0	1	0	0	0	
	肝臓	6	6	6	6	13	6	10	13	
	肝細胞癌	m	0	1	0	0	0	0	0	
	肺	6	6	6	6	13	6	10	13	
	腺癌	m	0	0	0	1	0	0	0	
	乳腺	6	6	6	6	13	6	10	13	
	線維腺腫	b	0	0	0	0	5	4	0	1
	腺癌	m	0	0	0	0	1	0	0	0
	下垂体	6	6	6	6	12	6	10	13	
	前葉腺腫	b	0	0	0	0	2	3	3	8*
	唾液腺	6	6	6	6	13	6	10	13	
	肉腫	m	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺癌	m	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨格筋	6	6	6	6	13	6	10	13	
	肉腫	m	0	0	0	0	0	0	1	0
	皮膚	6	6	6	6	13	6	10	13	
	肉腫	m	0	0	2	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌	m	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮	-	-	-	-	-	13	6	9	13
	平滑筋肉腫	m	-	-	-	-	0	0	0	1
	扁平上皮癌	m	-	-	-	-	3	1	0	2
	胸腺	6	5	4	3	9	5	8	8	
	肉腫	m	0	1	0	0	0	0	1	0
	甲状腺	6	6	6	6	13	6	9	13	
	ろ胞細胞癌	m	0	0	1	0	0	0	0	1
	腹部	0	0	0	1	0	0	0	0	
	肉腫	m	0	0	0	1	0	0	0	0
造血組織	6	6	6	6	13	6	10	13		
リンパ腫	m	1	0	0	0	0	0	0	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

表 12-3. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	300	900	0	100	300	900
最終屠殺動物	所見/検査数	44	44	44	44	37	44	40	37
	副腎	44	44	44	44	37	44	40	37
	腺腫 b	1	1	2	3	0	0	0	0
	脳	44	44	44	44	37	44	40	37
	星状膠細胞腫 m	1	0	0	0	0	0	0	0
	髄膜腫 m	2	0	2	0	1	0	0	0
	ハーダー氏腺	44	44	44	44	37	44	40	37
	腺癌 m	0	0	0	0	0	1	0	0
	心臓	44	44	44	44	37	44	40	37
	神経鞘腫 b	0	0	0	0	0	2	0	0
	腸間膜リンパ節	44	44	44	44	37	44	40	37
	血管腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0
	血管肉腫 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	44	44	44	44	37	44	40	37
	肝細胞腺腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝細胞癌 m	1	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	44	44	44	44	37	44	40	37
	線維腺腫 b	0	0	0	0	4	2	1	3
	脾臓	44	44	44	44	37	44	40	37
	ラ氏島腺腫 b	0	1	0	0	0	1	0	0
	下垂体	44	44	44	44	37	44	40	37
	前葉腺腫 b	3	2	3	3	13	15	13	9
	中間葉腺腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0
	後葉腺腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0
	唾液腺	44	44	44	44	37	44	40	37
	肉腫 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮膚	44	44	44	44	37	44	40	37
	線維腫 b	0	0	1	0	0	0	0	1
	肉腫 m	0	0	1	0	0	0	0	0
	脾臓	44	44	44	44	37	44	40	37
	血管腫 b	0	1	0	0	0	0	0	0
	精巣	44	44	44	44	-	-	-	-
間質細胞腫 b	2	3	3	0	-	-	-	-	
胸腺	35	27	32	40	32	35	28	28	
胸腺腫 b	0	0	1	0	0	0	0	0	
肉腫 m	0	1	0	0	0	0	0	1	
甲状腺	44	44	44	44	37	44	40	37	
C-細胞腺腫 b	2	5	6	3	1	4	1	0	
ろ胞細胞腺腫 b	1	0	0	0	0	0	0	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

表 12-4. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

	性別	雄				雌			
	投与量(ppm)	0	100	300	900	0	100	300	900
最終屠殺動物	所見/検査数	44	44	44	44	37	44	40	37
	子宮	-	-	-	-	37	44	40	37
	平滑筋腫 b	-	-	-	-	0	1	0	1
	平滑筋肉腫 m	-	-	-	-	2	0	0	1
	腺癌 m	-	-	-	-	0	1	2	2
	造血組織	44	44	44	44	37	44	40	37
	リンパ腫 m	0	0	1	0	0	0	0	0
	包皮腺	0	1	0	0	-	-	-	-
	腺腫 b	0	1	0	0	-	-	-	-
	その他	0	0	0	0	0	0	1	0
耳介線維腫 b	0	0	0	0	0	0	1	0	
全動物	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎	50	50	50	49	50	50	50	50
	腺腫 b	1	1	2	3	0	0	0	0
	脳	50	50	50	50	50	50	50	50
	星状膠細胞腫 m	1	0	0	1	0	0	0	0
	髄膜腫 m	2	0	2	0	1	0	0	0
	ハーダー氏腺	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺癌 m	0	0	0	0	0	1	0	0
	心臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	神経鞘腫 b	0	0	0	0	1	2	0	0
	肉腫 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	50	50	50	50	50	50	49	50
	血管腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0
	血管肉腫 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝細胞腺腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝細胞癌 m	1	1	1	0	0	0	0	0
	肺	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺癌 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	50	50	50	50	50	50	50	50
	線維腺腫 b	0	0	0	0	9	6	1*	4*
	腺癌 m	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	50	50	50	50	49	50	50	50
	ラ氏島腺腫 b	0	1	0	0	0	1	0	0
	下垂体	50	50	50	50	49	50	50	50
前葉腺腫 b	3	2	3	3	15	18	16	17	
中間葉腺腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0	
後葉腺腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

表 12-5. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌				
投与量(ppm)		0	100	300	900	0	100	300	900	
所見/検査数		50	50	50	50	50	50	50	50	
全 動 物	唾液腺	50	50	50	50	50	50	50	50	
	肉腫	m	1	0	0	1	0	0	0	0
	腺癌	m	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨格筋	50	50	50	50	50	50	50	50	
	肉腫	m	0	0	0	0	0	0	1	0
	皮膚	50	50	50	50	50	50	50	50	
	線維腫	b	0	0	1	0	0	0	0	1
	肉腫	m	0	0	3	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌	m	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	50	50	50	50	50	50	50	50	
	血管腫	b	0	1	0	0	0	0	0	0
	精巣	50	50	50	50	-	-	-	-	
	間質細胞腫	b	2	3	3	0	-	-	-	-
	胸腺	41	32	36	43	41	40	36	36	
	胸腺腫	b	0	0	1	0	0	0	0	0
	肉腫	m	0	2	0	0	0	0	1	1
	甲状腺	50	50	50	50	50	50	49	50	
	C-細胞腺腫	b	2	5	6	3	1	4	1	0
	ろ胞細胞腺腫	b	1	0	0	0	0	0	0	0
	ろ胞細胞腺癌	m	0	0	1	0	0	0	0	1
	子宮	-	-	-	-	-	50	50	49	50
	平滑筋腫	b	-	-	-	-	0	1	0	1
	平滑筋肉腫	m	-	-	-	-	2	0	0	2
	腺癌	m	-	-	-	-	3	2	2	4
	腹部	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肉腫	m	0	0	0	1	0	0	0	0
	造血組織	50	50	50	50	50	50	50	50	
	リンパ腫	m	1	0	1	0	0	0	0	0
包皮腺	0	1	0	0	-	-	-	-		
腺腫	b	0	1	0	0	-	-	-	-	
その他	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
耳介線維腫	b	0	0	0	0	0	0	1	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

イミダクロプリドのラットを用いた一年間反復経口毒性/発がん性併合試験 (MTD 追加試験)

(毒性資料 No. 原体-23)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年月日 : 1991 年 8 月 19 日

検体の純度 :

試験動物 : ウィスター系 (Bor : WISW) ラット

試験開始時 : 約 5~6 週齢 (平均体重 ; 雄 約 90g, 雌 約 84g)

1 群 雌雄各 50 匹 + 雌雄各 10 匹 (中間検査用 : 12 ヶ月後に計画殺)

試験期間 : 投与期間 24 ヶ月間 (1988 年 9 月 ~ 1990 年 9 月)

試験方法 :

検体を 0 (対照群) 及び 1800ppm となるように粉末飼料 (1% 量のピーナツオイル 添加) に混ぜ、24 ヶ月間ラットに投与した。

試験項目及び試験結果 :

1) 臨床症状

動物は毎日、最低 2 回 (週末と休日は 1 回) 臨床症状を記録した。個体毎の精密検査は週に 1 回実施した。

その結果、1800ppm 群において雌雄ともに、検体に起因する異常所見はどの群でも認められなかった。

2) 死亡率 (表 1)

試験中の動物の死亡率を次表に示した。死亡率に投与に起因する増加は認められなかった。

表 1. 累積死亡数

投与量 (ppm)	雄				雌			
	26 週後	52 週後	78 週後	104 週後	26 週後	52 週後	78 週後	104 週後
0	1/60	1/60	1/50	10/50	0/60	1/60	2/50	13/50
1800	0/60	0/60	0/50	5/50	0/60	1/60	4/50	10/50

死亡数/動物総数

3) 体重

動物の体重は試験開始 14 週目までは 1 週間隔、16 週目から 104 週目までは 2 週間隔で測定した。

これらのデータから 1800ppm の雌雄は常に有意な増加抑制を示した。対照群に比べ、10 週で 12% (雄) と 11% (雌) と最大の低値を示した。104 週では対照群よりも雄で 5%、雌で 11% 低値となった。

4) 摂餌量及び検体摂取量 (表 2)

全ラットの飼料摂餌量は、2~15 週目までは毎週、19 週目からは 4 週間隔で個体毎に測定した。

摂餌量に検体投与群と対照群で差は雌雄共に認められなかった。

検体摂取量 (mg/kg 体重/日) は以下のとおりであった。

表 2. 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		1800
検体摂取量	雄	102.6
	雌	143.7

5) 飲水量

飲水量は各群雌雄につき、2、16、29、42、55、68、81 及び 94 週目に測定した。

1800ppm 群の雄ラットは、対照群とほぼ同じ量を飲水したが、雌ラットの動物当たりの飲水量は 13% 低下した。

6) 臨床検査

各群から 10 匹の動物を無作為に選抜し、血液や尿の臨床検査を試験開始後 6、12、18 及び 24 ヶ月後に実施した。サンプリングは全ての動物は非絶食で、グルコースのための血液採取時を除いて麻酔下で採取した。

6-1) 血液学的検査

上記した検査時に眼窩静脈叢より血液を取り、白血球分画、赤血球形態、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、白血球数、平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃度 (MCHC)、平均血球容積 (MCV)、血小板数、トロンボプラスチン時間、網状赤血球数を測定した。

1800ppm 群雌雄共に検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

6-2) 血液生化学的検査 (表 3)

上記した検査時に眼窩静脈叢より血液を取り、アルカリホスファターゼ (ALP)、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)、クレアチンキナーゼ (CK)、グルコース (尾静脈より採取; 除蛋白処理済み血液)、ビリルビン、コレステロール、クレアチニン、総蛋白、尿素、アルブミン、無機リン、カルシウム、カリウム、ナトリウム、塩素を測定した。

1800ppm 群で ALP、ASAT、CK 活性の有意な上昇がいくつかの測定時にみられた。しかし、酵素活性の上昇は比較的少なく、病的状態を示す異常な数値とは考えられなかった。また、試験終了時に 1800ppm 群で血中のコレステロールがわずかに低値であった。これらの項目いずれにおいても背景データ範囲内にあり、また肝臓に投与に関連する組織学的所見は認められなかった。

その他の項目については経時的な変化がみられないあるいは極めて軽微な変化であったため検体の影響とはみなさなかった。

表 3. 生化学的検査で有意差を認めた項目

項目	雄				雌			
	1800ppm				1800ppm			
	6 ヵ月	12 ヵ月	18 ヵ月	24 ヵ月	6 ヵ月	12 ヵ月	18 ヵ月	24 ヵ月
ALP		↑120			▲145	▲137	▲128	
ASAT				▲143				
ALAT	↓90							
クレアチンキナーゼ					▲130	↑125		▲187
コレステロール				▼62				↓77
尿素					↑114		▲124	
クレアチニン	▲110	▲111			▲119	↑102		▲114
ビリルビン			↓83		↓86			
総蛋白		↓95						
アルブミン			↑108		↓92	▼93		
Na						▲101		
K			↓91					↑112
Ca	▼97	↓98	▼97					
Cl		▼96						
P					↑117			↑114

↑ ↓ : p<0.05, ▲ ▼ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

6-3) コリンエステラーゼ (ChE) 活性 (表 4)

血漿と赤血球コリンエステラーゼ活性を上記した雌雄各 10 匹の血液を用いて 6、12、18 及び 24 ヵ月後に測定した。脳コリンエステラーゼ活性は 12 ヵ月目の剖検と最終剖検時に 10 匹の動物を無作為に選択し採取した。

1800ppm 群雄では、対照群に比べ赤血球 ChE の上昇が 12 ヵ月目と 18 ヵ月目に、また脳 ChE の上昇が 12 ヵ月目にみられたが、その差は小さくまた毒性学的に意義のある変化ではなかった。血漿 ChE については、1800ppm 群雌雄ともにいずれの検査時期においても対照群との差は認められなかった。

表 4. ChE 活性で有意差を認めた項目

項目	雄				雌			
	1800ppm				1800ppm			
	6 ヵ月	12 ヵ月	18 ヵ月	24 ヵ月	6 ヵ月	12 ヵ月	18 ヵ月	24 ヵ月
血漿 ChE								
血球 ChE		↑111	↑124					
脳 ChE	-	↑116	-		-		-	

- : 検査せず

↑ : p<0.05 (Dunnett-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

6-4) 尿検査 (表 5)

尿のサンプルは各動物とも血液を採取する前日に約16時間のサンプリング期間に採取し、以下の項目について検査した。

半定量的検査

潜血、糖、ビリルビン、ケトン体、pH、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣

定量的検査

比重、尿量、蛋白

1800ppm 群雄では12、18及び24ヵ月目の検査で蛋白質の有意な低下を認めたが、これは体重増加抑制による間接的結果と考えられ、全ての測定項目に腎障害の徴候と思われる結果は認められなかった。

表 5. 尿検査で有意差を認めた項目

項目	雄				雌			
	1800ppm				1800ppm			
	6ヵ月	12ヵ月	18ヵ月	24ヵ月	6ヵ月	12ヵ月	18ヵ月	24ヵ月
尿量	↑117	↑120	↑140					
比重					↑100			
蛋白		↓31	↓31	↓24				-

↑ : p<0.05 , ↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

6-5) TSH、T3、T4の測定

ラットの1年間反復経口投与/発がん性併合試験(毒性資料No. 原体-22)で甲状腺に組織学的変化が認められたことから、本試験では76週時に各群雌雄各10匹の血液を採取して、甲状腺ホルモンのTSH、T3、T4を測定した。

投与群のラットのホルモンは対照群に比較して有意な変化を示さなかった。

7) 眼科学的検査

眼検査は、試験開始時に各群雌雄各10匹について無作為に行ない、試験12ヵ月後と試験終了時には、全ての生存動物について眼検査を行った。

投与期間中の検査では、検体に起因する特記すべき所見を認めなかった。

試験終了時に実施した検査では、数匹の動物の眼に、自然発生的変化として光屈折媒体の限局性又はびまん性混濁や角膜表面に異物含有、又は隆起が認められた。これらはこの系統の老齢のラットに普通に起こる変化で、0ppm群と1800ppm群にほぼ同じ頻度でみられた。

8) 剖検

途中死亡動物、中間屠殺動物及び最終屠殺動物の全動物を剖検した。
各動物の剖検所見では投与に起因する特異的な臓器変化は認められなかった。

9) 臓器重量 (表 6)

12 ヶ月後の中間屠殺時と 24 ヶ月後の試験終了時に動物を屠殺し以下の臓器の重量を測定した。

脳、心臓、肝臓、肺、脾臓、腎臓、副腎、卵巣及び精巣

1800ppm 群は対照群と比較して、両検査時点の数臓器で、特に肝臓の実重量と対体重比の低下が認められた。これは、体重の低下によるものであり毒性学的な障害を意味するものではなかった。又、卵巣重量の増加が見られているが、軽微なもので毒性学的な意味はなかった。

表 6. 臓器実重量及び対体重比 — 有意差を示した臓器

性別	雄				雌			
	12 ヶ月		24 ヶ月		12 ヶ月		24 ヶ月	
投与量	1800ppm		1800ppm		1800ppm		1800ppm	
	実重量	対体重比	実重量	対体重比	実重量	対体重比	実重量	対体重比
体重	↓ 90		↓ 96				↓ 88	
脳								↑ 111
心臓							↓ 85	
肺			↓ 83					
肝臓			↓ 94		↓ 85		↓ 83	↓ 94
脾臓	↓ 83							↓ 86
腎臓							↓ 89	
副腎							↓ 83	
精巣		↑ 113						
卵巣								↑ 121

↑ ↓ : p<0.05 , ↑ ↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

10) 病理組織学的検査 (表 7、8、9、10、11)

全ての動物の組織試料は英国のライフサイエンスリサーチで病理組織学的検査を行った。以下の臓器について検査した。

異常のみられる部位、副腎、動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼／視神経、骨髄を含む大腿骨、ハーダー氏腺、心、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節(顎下、腸間膜)、食道、卵巣、膵臓、下垂体、骨格筋、前立腺、皮膚(乳腺部)、直腸、脊髄、唾液腺、脾臓、坐骨神経、胸骨、精囊、胃、精巣、胸腺、甲状腺、上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮

12 ヶ月後の中間屠殺用動物の非腫瘍性病変 (表 7)

投与群の動物の甲状腺には、対照群と比較してろ胞コロイドに鉍質沈着例の増加とコロイド凝集例の減少を認め、雄では有意であった。

その他には検体に起因する特異的な変化は認められなかった。

表 7. 甲状腺の病理組織学所見

項目	性別 投与量 (ppm)	雄		雌	
		0	1800	0	1800
検査動物数		10	10	10	10
コロイドの鉍質沈着		5	10*	2	5
コロイド凝集		6	0*	2	0

* : $p < 0.05$ (Fisher's Test)

途中死亡動物と 24 ヶ月後に屠殺した動物の非腫瘍性病変 (表 8)

主たる病理所見を表に抜粋した。

1800ppm 群雌雄で腎症を有する動物数の明らかな減少が認められ、体重増加抑制に伴う変化と考えられた。同群の雌雄の甲状腺で、ろ胞のコロイド内の鉍質沈着を示す例が統計的に有意に増加し (毒性資料 No. 原体-22 に考察)、コロイド凝集を示す動物が減少した。これらは12 ヶ月後に既に同様な傾向が見られていた。また、1800ppm で C 細胞の過形成が 1800ppm 群の雄 (対照群 8% に対して 24%) と雌 (対照群 10% に対して 16%) とわずかながら増加した。この所見は、軽微なもので、最終解剖の雄でのみ統計的に有意 ($p < 0.05$) であった。尚、C 細胞過形成は加齢の動物で、その発生率の変動幅は大きく、一般的に自然発生的なエイジング変化と解釈される。対照群の動物での背景的な調査では、この所見は、最多のケースでは 90% 以上の頻度で認められている。従って、本試験での僅かな増加は障害性の観点から投与による結果とは考えられない。

他に 1800ppm 群雌で眼に網膜萎縮とハーダー氏腺にポルフィリン沈着の増加が認められた。この網膜萎縮は、この病変の頻度と程度はこの種の試験における経験的な値と一致していることや、この病変が 12 ヶ月後に屠殺した動物では認められていないことから、投与による直接的な結果と見ることはできず、加齢によりみられる自然発生の所見と考えられた。ハーダー氏腺のポルフィリン沈着の所見は偶発的な所見と考えられた。

表 8. 主要な病理組織学所見

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	0	1800	0	1800
動物数	50	50	50	50
腎臓				
腎症	26	9c	12	1b
甲状腺				
コロイド中の鉍質沈着	12	46c	3	38c
コロイド凝集	41	20c	22	7b
C細胞過形成	4	12	5	8
眼				
網膜萎縮	29	29	27	39a
ハーダー氏腺				
ポルフィリン蓄積	33	33	17	28a

a = p<0.05 b = p<0.01 c = p<0.001 (Fisher Test)

12 ヶ月後の中間屠殺用動物の腫瘍性病変

腫瘍は認められなかった。

中間屠殺動物及び 24 ヶ月後の最終屠殺動物の腫瘍性病変 (表 9、10、11)

観察された腫瘍の総数、発現率、良性及び悪性腫瘍の発生頻度、臓器分布に検体に起因する増加は認められなかった。また、腫瘍の経時的発現にも検体投与による変化は認められなかった。

肝腫瘍は、雄では投与群のみで発生した。これらは 1 例の肝細胞腺腫、1 例の肝細胞癌、2 例の胆管細胞癌であった。胆管細胞癌は稀な腫瘍であるが、若干の対照群で同等の頻度で観察されている。これら腺腫及び腺癌の頻度は背景値を上回るものではなく、むしろ対照群雄で肝腫瘍が認められなかつたことが普通ではないものと考えられた。

表 9. 主群の腫瘍動物

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	0	1800	0	1800
途中死亡又は切迫屠殺動物				
【動物数】	10	5	13	10
担腫瘍動物数	5	3	12	6
担良性腫瘍動物数	1	0	8	5
担悪性腫瘍動物数	4	3	6	2
最終屠殺動物				
【動物数】	40	45	37	40
担腫瘍動物数	17	21	22	18
担良性腫瘍動物数	16	16	20	18
担悪性腫瘍動物数	2	6	4	2
全動物				
【動物数】	50	50	50	50
担腫瘍動物数	22	24	34	24
担良性腫瘍動物数	17	16	28	23
担悪性腫瘍動物数	6	9	10	4
総腫瘍数	25	28	43	34
良性腫瘍数	19	19	33	30
悪性腫瘍数	6	9	10	4

表 10. 腫瘍の経時発現

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	0	1800	0	1800
動物数	10	5	13	10
腫瘍数				
良性	1	0	8	5
悪性	4	3	6	2
総数	5	3	14	7
担腫瘍動物総数	5	3	12	6
担腫瘍動物数				
181-270 日	—	—	1	—
271-360 日	—	—	—	—
361-450 日	—	—	—	—
451-540 日	—	—	1	1
541-630 日	2	1	4	1
631-屠殺	3	2	6	4

以上のことから 1800ppm では体重増加量の低下、飲水量の低下（雌）、甲状腺コロイド内の鉍質沈着の増加が認められ、1800ppm（雄：102.6mg/kg 体重/日，雌：143.7mg/kg 体重/日）は MTD 量であるとみなされた。又、この用量においても発がん性は認められなかった。

表 11-1. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄		雌	
投与量(ppm)		0	1800	0	1800
途中死亡・屠殺動物	所見/検査数	10	5	13	10
	下垂体	9	5	13	10
	腺腫 b	0	0	5	4
	腺癌 m	0	0	2	0
	副腎	10	5	13	9
	腺腫(皮質) b	1	0	0	0
	クム親和性細胞腫 m	2	0	0	0
	肝臓	10	5	13	9
	胆管腫 b	0	0	0	1
	空腸	8	4	13	9
	平滑筋肉腫	1	0	0	0
	ハ-タ-氏腺	10	5	13	10
	腺癌 m	0	1	0	0
	乳腺領域	10	5	13	9
	線維腺腫* b	0	0	1	0
	子宮	/	/	13	9
	平滑筋腫 b	/	/	1	0
	腺癌 m	/	/	1	0
	平滑筋肉腫 m	/	/	0	1
	骨	0	1	0	0
	骨肉腫 m	0	1	0	0
	造血組織	1	1	0	0
	組織球肉腫 m	1	1	0	0
	乳房	0	0	4	2
	線維腺腫* b	0	0	1	1
	腺癌 m	0	0	3	1
	皮膚	1	1	4	2
	線維腫 b	1	0	0	0
造血組織	1	1	0	0	
組織球肉腫 m	1	1	0	0	
最終屠殺動物	所見/検査数	40	45	37	40
	脊髓	40	45	37	40
	乏突起神経膠腫 b	0	0	0	1
	下垂体	40	45	37	40
	腺腫 b	2	5	15	14
	腺癌 m	0	0	1	0
	副腎	40	45	37	40
クム親和性細胞腫 b	2	3	0	0	
クム親和性細胞腫 m	1	0	0	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

*: 原文では Fibroepithelial tumor と記載

表 11-2. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄		雌	
投与量(ppm)		0	1800	0	1800
所見/検査数		40	45	37	40
最終屠殺動物	甲状腺	40	45	37	40
	ろ胞細胞腺腫	b	3	0	0
	C-細胞腺腫	b	3	0	1
	C-細胞癌	m	0	0	1
	C-細胞癌	m	0	0	1
	C-細胞癌	m	0	0	0
	肝臓	40	45	37	40
	肝細胞腺腫	b	0	1	1
	肝細胞癌	m	0	1	0
	胆管腫	b	0	0	1
	胆管細胞癌	m	0	2	0
	胆管細胞癌	m	0	2	0
	上皮小体	39	41	35	39
	腺腫	b	0	1	0
	胸腺	39	44	37	39
	胸腺腫	b	1	0	2
	胃	40	45	37	40
	扁平上皮癌	m	0	1	0
	脾臓	40	45	37	40
	ランゲルハンス島腺腫	b	0	0	0
	ランゲルハンス島腺腫	b	0	0	1
	乳腺領域	40	45	37	40
	線維腺腫*	b	0	0	1
	腺癌	m	0	0	0
	腺癌	m	0	0	1
	腸間膜リンパ節	40	45	37	40
	血管腫	b	3	0	1
	子宮	/	/	37	40
	平滑筋腫	b	/	/	1
	卵巣	/	/	37	40
	黄体腫	b	/	/	1
	精巣	40	45	/	/
間質細胞腫	m	3	5	0	
造血組織	1	1	0	0	
組織球肉腫	m	1	1	0	
乳房	0	0	3	3	
線維腺腫*	b	0	0	1	
腺癌	m	0	0	2	
腺癌	m	0	0	1	
皮膚	0	3	3	4	
線維腫	b	0	1	0	
扁平上皮癌	m	0	1	0	
造血組織	1	1	0	0	
組織球肉腫	m	1	1	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test,

*: 原文では Fibroepithelial tumor と記載

表 11-3. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄		雌		
投与量 (ppm)		0	1800	0	1800	
所見/検査数		50	50	50	50	
全動物	脊髄	50	50	50	49	
	乏突起神経膠腫	b	0	0	1	
	下垂体	49	50	50	50	
	腺腫	b	2	5	20	18
	腺癌	m	0	0	3	0
	副腎	50	50	50	49	
	腺腫(皮質)	b	1	0	0	0
	クrom親和性細胞腫	b	2	3	0	0
	クrom親和性細胞腫	m	3	0	0	0
	ハ-ダ-氏腺	50	50	50	50	
	腺癌	m	0	1	0	0
	甲状腺	50	50	50	50	
	ろ胞細胞腺腫	b	3	3	0	0
	C-細胞腺腫	b	3	0	1	4
	C-細胞癌	m	0	0	1	0
	上皮小体	49	46	48	49	
	腺腫	b	0	1	0	0
	肝臓	50	50	50	49	
	肝細胞腺腫	b	0	1	1	0
	肝細胞癌	m	0	1	0	0
	胆管腫	b	0	0	1	2
	胆管細胞癌	m	0	2	0	0
	胸腺	49	49	50	47	
	胸腺腫	b	1	0	2	1
	胃	49	49	50	49	
	扁平上皮癌	m	0	1	0	0
	空腸	48	49	50	49	
	平滑筋肉腫	m	1	0	0	0
	膵臓	50	50	50	49	
	ランゲルハンス島腺腫	b	0	0	0	1
	乳腺領域	50	50	50	49	
	線維腺腫*	b	0	0	2	0
	腺癌	m	0	0	0	1
腸間膜リンパ節	50	50	50	49		
血管腫	b	3	0	1	0	
子宮	/	/	50	49		
平滑筋腫	b	/	/	2	0	
腺癌	m	/	/	1	0	
平滑筋肉腫	m	/	/	0	1	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test, *: 原文では Fibroepithelial tumor と記載

表 11-4. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄		雌		
投与量(ppm)		0	1800	0	1800	
所見/検査数		50	50	50	50	
全 動 物	卵巣	/	/	50	49	
	黄体腫	b	/	1	0	
	精巣		50	/	/	
	間質細胞腫	m	3	5	0	0
	骨		0	1	0	0
	骨肉腫	m	0	1	0	0
	造血組織		2	2	0	0
	組織球肉腫	m	2	2	0	0
	乳房		0	0	7	5
	線維腺腫*	b	0	0	2	3
	腺癌	m	0	0	5	2
	皮膚		1	4	7	6
	線維腫	b	1	1	0	0
	扁平上皮癌	m	0	1	0	0

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

*: 原文では Fibroepithelial tumor と記載

イミダクロプリドのイヌを用いた 52 週間反復経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1989 年 10 月 19 日

検体の純度：

試験動物：ビーグル犬雌雄、1 群雌雄各 4 匹（試験開始時 4～6 カ月齢）

試験期間：52 週間投与

試験方法：検体をイヌ用飼料に 0（対照群）、200、500 及び 1250/2500（試験 16 週までは 1250ppm、17 週以降に投与濃度を 2500ppm に増加）の割合で均質に混ぜ水を加えてペレット化した。この飼料 300g を毎日 52 週間イヌに投与した。

試験項目および試験結果：

1) 臨床所見及び死亡率

各動物の外観と行動及び死亡率を少なくとも 1 日 2 回観察した。

試験期間中、検体に起因する臨床症状は認められず、死亡動物も認められなかった。

2) 摂餌量及び検体摂取量

毎日摂餌量を記録した。

1250ppm の投与において、雄の第 1 週と雌の第 1 週及び 2 週で軽度で一過性の低下が認められた。その後は 16 週まで、摂餌量は対照群と比べ同様となった。そして第 17 週目に検体の飼料中の濃度を 2500ppm に増加させた時、同様の一過性の影響が雄で 17～18 週に、雌で 17～20 週に認められた。この短期間の減少後は、最高投与量群で摂餌量に投与に起因する影響は認められなかった。500ppm 群及び

200ppm 群では雌雄ともに摂餌量に影響は認められなかった。

各投与群の試験期間中の検体摂取量を下記に示した。

表 1. 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		200	500	1250/2500
検体摂取量	雄	5.7	15.3	62.5
	雌	6.4	14.8	62.5

4) 体重

週に 1 回体重を測定した。

体重増加量に投与に起因する相違は認められなかった。

表 2. 体重増加率* (%)

投与量 (ppm)	0	200	500	1250/2500
雄	31	29	28	27
雌	34	38	28	32

*投与開始前体重に比べた場合の 52 週間後の増体重 (%) 増加率

5) 聴覚検査

聴覚の損傷性をノイズ試験で、定期的 (試験前、13 週後、26 週後、52 週後) に観察した。

試験中、聴覚に影響は認められなかった。

6) 眼検査

前記聴覚検査と同時期に散瞳させた眼について検眼鏡を用いて眼検査を行った。

眼検査では検体に起因する影響は認められなかった。

7) 臨床検査

試験前、13 週後、26 週後及び 52 週後に全ての動物の頸静脈から血液を採取した。同時に尿サンプルも採取した。尚、動物はサンプル採取 16 時間前から絶食させ、その間水のみを与えた。

7-1) 血液学的検査

以下の項目について検査した。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均血球容積 (MCV)、平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、網状赤血球数、有核正赤芽球、ハインツ小体、メトヘモグロビン、総白血球数、白血球分画、赤血球形態、トロンボプラスチン時間、部分トロンボプラスチン時間を測定した。

その結果、メトヘモグロビンのみに有意差が認められたが（1250/2500ppm 群雄の 26 週目：267%）、検体に起因する変化とは考えられなかった。

7-2) 血液生化学的検査（表 2）

以下の項目について検査した。

グルコース、尿素、クレアチニン、総ビリルビン(T-BiL)、総脂質、総コレステロール(Chol)、トリグリセリド(TG)、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)、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチンキナーゼ(CK)、アルカリホスファターゼ(ALP)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ、オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ(OCT)、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム、塩素、トリヨードチロニン、チロキシン、総蛋白、蛋白電気泳動を測定した。屠殺時に肝でチトクロム P-450、N-デメチラーゼ^{**}、O-デメチラーゼ^{***}を測定した。

^{**}: 基質/アミノピリン ^{***}: 基質/4-ニトロアニソール

検体 1250/2500ppm を投与したとき、雌で血漿コレステロールが軽度に増加し、雌雄の肝チトクロム P-450 活性が軽度に増加した。その他、表に示されるような有意差が散見されたが、これらの差は毒性的に検体に起因する変化ではなかった。

表 3. 血液生化学的検査(有意差の認められた項目)

投与量	200ppm				500ppm				1250/2500ppm			
	試験前	13	26	52	試験前	13	26	52	試験前	13	26	52
性別	雄											
T-BiL									↓45			
LDH										↑198		
CK					↑157					↑143		
OCT												↑131
P									↑118			
α1-glob											↑118	
相対											↑120	
絶対												
α2-glob											↑141	
相対											↑147	
絶対												
P450	-	-	-		-	-	-		-	-	-	↑194
性別	雌											
グルコース	↓86											
T-BiL	↓53				↓66				↓63			
Chol									↑145	↑162		
TG								↓70				
LDH		↑177							↑170			
総蛋白	↓92											
P				↑149						↑152	↑162	
K									↑113	↑114		
A/G 比										↓76		
アブミン											↓87	
相対												
絶対								↑119				
α1-glob												
絶対	↓75											
β1-glob												
相対		↓87				↓78			↓89	↑120		
絶対		↓84				↓82			↓89	↑126		
Sβ-glob												
相対						↓77						
絶対						↓81						
γ-glob												
相対												
絶対	↓76											
P450	-	-	-		-	-	-		-	-	-	↑151

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (Dunnett test)

Sβ-glob : 総β-グロブリン

7-3) 尿検査

以下の項目について検査した。

比重、色、外観、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣

尿検査では検体に起因する影響の徴候を認めなかった。

8) 剖検及び臓器重量

投与終了時に全動物について剖検を行い、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、膵臓、前立腺、脾臓、精巣、甲状腺(上皮小体を含む)の重量を測定した。

剖検では、検体に起因する病的変化を認めなかった。全ての臓器の実重量及び対体重比に統計的有意差は認められなかったが、肝重量には非常に軽度の変化(増加)が認められた。

9) 病理組織学的所見 (表 3)

投与終了時に全試験動物の副腎、動脈、関節軟骨(近位大腿骨)、骨(大腿骨頭)、骨髓(胸骨)、大腿骨、脳(大脳、小脳、延髄/橋)、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節(腸間膜、咽頭後部、乳腺部)、涙腺、眼神経、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺(下顎、舌下)、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髓(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺と上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮頸部を含む子宮体、膣、頬骨腺及び肉眼的病変部について組織学的検査を行った。

最高投与群(1250/2500ppm)の2匹の雄では膀胱に軽度の上皮過形成が認められ、1例では尿石の形成を伴っていた。これらは検体投与によって尿組成が変化した結果みられる変化かもしれないが、投与した他のイヌの膀胱に異常がない事、尿石は自然発生的にも起こることから、これは検体投与によって誘発された変化ではないと判断した。同様に、中用量群(500ppm)の1匹のイヌの甲状腺ろ胞上皮に過形成がみられたが、他のイヌの甲状腺に同様の変化がないことや、この月齢の未処理の動物にも自然発生的に認められることから、投与に関連しないものと判断した。

従って、検体投与に起因する形態学的変化は認められないものと判断した。

以上のことから、1250/2500ppm群では一過性の摂餌量の低下、雌の血漿コレステロール、雌雄肝のチトクローム P-450、雌雄肝重量の軽度の増加があると判断され、500ppm(雄 15.3mg/kg/日、雌 14.8mg/kg/日)が無毒性量であった。

表 4-1. 病理組織所見総括表

臓器	性別	雄				雌			
	試験群 所見 投与量(ppm)	0	200	500	1250 /2500	0	200	500	1250 /2500
心臓	慢性動脈炎	-	-	-	-	-	-	-	1
	心膜炎	1	-	-	-	-	-	-	-
肺	単核細胞浸潤	-	-	-	-	-	-	1	1
	間質性肺炎	-	-	2	1	-	1	-	-
	リンパ過形成	-	1	-	1	-	-	-	-
腎	分化異常	-	-	-	-	-	1	-	-
	鉍質沈着	3	3	-	1	1	2	1	1
	石灰沈着	3	4	4	4	4	3	4	4
	尿細管色素沈着	1	1	2	2	-	2	1	-
	単核細胞浸潤	1	-	-	-	-	2	2	1
	間質線維化	-	-	-	-	-	-	1	-
	尿細管好塩基性化	-	-	1	-	1	1	1	1
	直尿細管空胞化	1	1	1	-	4	2	4	3
	尿路上皮過形成	2	1	1	-	1	1	-	-
膀胱	うっ血	-	-	-	-	1	1	1	-
	上皮過形成	-	-	-	2	-	-	-	-
精巣	精細管萎縮	-	-	1	-	-	-	-	
精巣上体	上皮嚢胞	-	2	-	-	-	-	-	-
	上皮萎縮	-	-	1	-	-	-	-	-
肝臓	明細胞巣	1	-	-	-	-	-	-	-
	クッパー細胞色素沈着	-	1	-	-	1	-	1	-
	単核細胞浸潤	1	2	2	3	2	3	4	1
	肝細胞空胞化	-	-	1	-	1	-	1	-
	肝細胞びまん性肥大	1	-	-	-	2	-	-	-
卵巣	黄体嚢腫	-	-	-	-	1	-	1	-
子宮	単核細胞浸潤	-	-	-	-	-	-	-	1
	慢性動脈炎	-	-	-	-	-	1	-	-
	腺増殖	-	-	-	-	-	-	1	2
膣	上皮増生	-	-	-	-	-	1	1	-
下垂体	嚢胞	-	-	3	-	2	-	1	2
	単核細胞浸潤	-	-	2	-	-	-	-	1
甲状腺	管遺残	2	-	-	1	2	-	1	-
	コロイド減少	-	-	-	1	1	-	-	-
	コロイド結石	-	2	-	-	2	-	1	1
	単核細胞浸潤	2	-	-	-	1	-	-	-
	慢性動脈炎	-	-	-	-	-	-	-	1
	リンパ球性甲状腺炎	-	-	-	-	-	1	-	-
	びまん性C細胞過形成	2	-	-	-	1	-	-	-
	限局性ろ胞上皮過形成	-	-	1	-	-	-	-	-

記載した臓器は主な変化の認められたものを抜粋
 数値は雌雄とも各4例検査したうちの異常所見動物数を示す。

表 4-2. 病理組織所見総括表(続き)

臓器	性別	雄				雌			
	試験群 所見 投与量(ppm)	0	200	500	1250 /2500	0	200	500	1250 /2500
副腎	被膜外組織	-	-	-	1	-	-	-	1
	嚢胞	-	-	-	-	-	-	1	-
	単核細胞浸潤	-	-	-	-	1	-	-	1
	球状帯空胞化	-	-	1	1	-	-	-	2
	束状帯空胞化	1	-	-	-	-	-	2	-
胸腺	奇形	-	-	-	-	-	1	-	-
	うっ血	1	-	-	-	-	-	-	-
	リンパ萎縮	3	2	4	3	1	4	4	4
リンパ節	過形成(活性化)	1/(1)	-	-	-	-	-	-	-
腸間膜	うっ血	1	-	-	1	-	-	-	1
リンパ節	色素沈着	-	2	2	1	-	-	-	-
	慢性動脈炎	-	-	-	1	-	-	-	-
咽頭後部	リンパ過形成	-	-	-	-	-	-	1	-
リンパ節	うっ血	-	-	-	-	-	1	1	-
乳腺	分泌	-	-	-	-	2	-	1	2
	腺増殖	-	-	-	-	1	2	2	2
皮膚	毛包炎	-	-	2	-	-	-	-	-
	皮膚炎	-	1	-	-	-	-	-	-

記載した臓器は主な変化の認められたものを抜粋

* 数値は雌雄とも各4例検査したうちの異常所見動物数を示す。

()内は1匹のみの検査

イミダクロプリドのマウスを用いた発がん性試験

(毒性資料 No. 原体-25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1991年1月28日

検体の純度：

試験動物：B₆C₃F₁マウス（試験開始時約5週齢、平均体重 雄20g、雌15g）
一群雌雄各50匹+雌雄各10匹（中間検査用：12ヵ月後に計画殺）

試験期間：投与期間24ヵ月間
（1987年9月21日～1989年9月28日）

試験方法：検体を0、100、330及び1000ppmとなるように粉末飼料（1%量のピーナツオイル添加）に混ぜ、24ヵ月間マウスに投与した。

試験項目及び試験結果：

1) 臨床症状

動物は毎日、最低2回（週末と休日は1回）臨床症状を記録した。個体毎の精密検査は週に1回実施した。

その結果、検体に起因する異常所見はどの群でも認められなかった。

2) 死亡率

試験中の動物の死亡率を次表に示した。

死亡率について、投与に起因する増加は認められなかった。

表1. 累積死亡率

投与量 (ppm)	雄				雌			
	26 週後	52 週後	78 週後	104 週後	26 週後	52 週後	78 週後	104 週後
0	0/60	0/60	0/50	3/50	1/60	2/60	2/50	7/50
100	0/60	0/60	1/50	6/50	1/60	2/60	2/50	9/50
330	0/60	1/60	1/50	3/50	0/60	0/60	2/50	10/50
1000	0/60	0/60	2/50	8/50	0/60	0/60	1/50	9/50

3) 体重

動物の体重は1週毎に測定した。

100ppm 群と 330ppm 群の雌雄マウスは対照群と同様の増体重を示した。尚、330ppm 群の雄では、試験開始から 68 週目まで 4~5%平均体重が低く有意差を示したが、これは試験開始前の測定でも 4%少なかった事によるものであって、検体による作用と考えられなかった。

1000ppm 群雄では、試験開始 3 週目から 99 週目まで有意に増加量が抑制され、対照群との差は最大 10%に達した。1000ppm 群雌でも平均体重は対照群より有意に低く(5%まで、72 週目)、特に試験後期に時々見られた。

4) 摂餌量および検体摂取量

試験開始から 23 週目までは各群から 10 匹を選抜し、以降は 20 匹のマウスで週に 1 回測定した。

1000ppm の雌のみにおいて摂餌量にわずかな低下が見られ、1 日の動物当たりで 10%、1 日の体重 1kg 当たり 7%対照群より少なかった。

検体摂取量 (mg/kg 体重/日) は以下のとおりであった。

表 2. 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		100	330	1000
検体摂取量	雄	20.2	65.6	208.2
	雌	30.3	103.6	274.4

5) 飲水量

試験開始から 101 週目まで飲水量を 4 週毎に測定した。

1000ppm 群の雌のみにおいて飲水量にわずかな低下がみられ、1 日の動物当たりと 1 日の体重 1kg 当りで 10%対照群より少なかった。

6) 臨床検査

各群から 10 匹の動物を選抜し、血液学的検査と生化学的検査を 12 ヶ月後と 24 ヶ月後に実施した。さらに対照群と 1000ppm 群については 18 ヶ月後に白血球分画について検査した。尚、除蛋白した全血での血糖値測定用の血液は、動物の尾静脈から非絶食、麻酔下の条件で採取し、他の項目を測定するための末梢血のサンプルは、動物の眼窩静脈叢から非絶食、エーテル麻酔下で採取した。

6-1) 血液学的検査

上記した検査時に以下の項目について検査した。

白血球分画、赤血球形態、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、白血球数、平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃度 (MCHC)、平均血球容積 (MCV)、血小板数

表に示すように、330ppm までの雄と 1000ppm までの雌の赤血球系の項目は対照群のそれと同様であった。その中でいくつか対照群との間に有意差がみられたが、その差は軽微で用量に関連していないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。1000ppm 群雄ではいくつかの測定項目 (赤血球数、ヘマトクリット値の低下、MCH と MCHC の増加) に有意差が認められたが、いずれもその差と値は生理学的範囲の変化であった。

52 週目の 1000ppm 雄で認められた血小板数の増加も、対照群との差は軽微で当該の週齢の正常変動範囲内にあり、血液凝固系への影響を認めなかった。

24 ヶ月目に白血球数の低下が 1000ppm の雌でみられたが、これは対照群 2 匹の動物が異常に高い値を示しているためであった。

白血球分画は、1000ppm 雌の 12 ヶ月目の検査で分葉核好中球が減少したため、リンパ球が代償的に増加したが、白血球の各細胞の型に病的変動の徴候はなく、全ての個体値は正常の変動範囲内にあったことから、これらの変化は、毒性的に重要性はないものと考えられた。

表 3. 血液学的検査で有意差を認めた項目

項目 用量(ppm)	雄			雌		
	100	330	1000	100	330	1000
赤血球			↓93 ③			
ヘマトクリット	↓96 ③		↓93 ③			
MCH			↑106 ③			
MCHC	↑102 ③		↑105 ③		↑105 ③	
血小板数			↑113 ①			
白血球数	↑127 ③					↓42 ③
白血球分画 リンパ球						↑109 ①
分葉核好中球						↓61 ①

①52週目の検査 ②79週目の検査(白血球分画のみ検査) ③103週目の検査

↑ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

6-2) 血液生化学的検査

上記した検査時に以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、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)、グルコース、総ビリルビン、コレステロール、クレアチニン、総蛋白、尿素

いくつかの項目に対照群との間で有意差が認められているが、その差は軽度で、毒性的な関連性はないと判断された。

表 4. 血液生化学的検査で有意差を認めた項目

項目 用量(ppm)	雄			雌		
	100	330	1000	100	330	1000
ALP	↓92 ①					
総ビリルビン			↓84 ①		↓79 ②	↓76 ②

①54週目の検査 ②104週目の検査

↓ : p<0.05 , ↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

7) 剖検

途中死亡動物、中間屠殺動物および最終屠殺動物の全動物を剖検した。

各動物の剖検所見では投与に起因する特異的な臓器変化は認められなかった。

8) 臓器重量

12ヵ月後の中間屠殺時と24ヵ月後の試験終了時に動物を屠殺し、以下の臓器の重量を測定した。

脳、肝臓、肺、脾臓、腎臓、副腎、卵巣及び精巣

表5にみられるように、対照群と検体投与群でいくつかの臓器に統計学的有意な差が認められた。これらの差はわずかであり、また経時的な変化がみられないあるいは用量に明瞭な関連性がない変化であるため、検体に起因した変化とは考えられなかった。

表5. 臓器実重量及び対体重比— 有意差を示した臓器

性別	雄						雌					
	100ppm		330ppm		1000ppm		100ppm		330ppm		1000ppm	
投与量	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A	R
(12ヵ月後)												
体重					↓94							
肝臓											↓93	
腎臓					↓92							↓97
脳						↑112						
脾臓							↓89	↓89				
精巣	↓93						/	/	/	/	/	/
(24ヵ月後)												
体重												
肝臓											↓97	↓98
脳									↓97		↓98	
腎臓					↓97	↓97	↓93	↓93	↓96			
副腎									↓91	↓89	↓91	↓95

A ; 実重量 R ; 対体重比

↑ ↓ : p<0.05 , ↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

9) 病理組織学的検査

全試験群動物の以下の組織について、病理組織学的検査を実施した。

副腎、動脈、脳、眼、精巣上体、大腿骨/骨髄、胆嚢、ハーダー氏腺、心臓、腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節(顎下、腸間膜)、骨格筋、坐骨神経、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、精嚢、皮膚/乳腺部、脊髄、脾臓、胸骨、胃、

精巣、胸腺、甲状腺／上皮小体、気管、膀胱、子宮

9-1) 非腫瘍性病変(表 11-1～11-4)

中間屠殺及び24ヵ月後の屠殺動物を含めた全動物において、1000ppmまでの投与群動物に検体投与に起因する影響は認められず、すべての変化がこの系と週齢のマウスに自然発生性の変化であった。

9-2) 腫瘍性病変(表 9, 10, 12-1～12-6)

次表に示すように観察された腫瘍の総数、良性および悪性腫瘍の発生頻度に検体に起因する増加は認められなかったまた腫瘍の発生時期別にも検体投与による変化は認められなかった。100および330ppm群雌の途中死亡又は切迫屠殺動物では、悪性腫瘍を有する動物数が他群よりも、わずかであるが多く見られた。しかし、対照群と比較して軽微であり、また用量相関性もみられなかったことから、検体投与による影響ではないものと考えられた。

表 9. 主群動物の腫瘍を持つ動物数

性別	雄				雌			
	0	100	330	1000	0	100	330	1000
用量(ppm)								
途中死亡又は切迫屠殺動物								
【動物数】	3	6	3	7	7	10	10	9
担腫瘍動物	3	5	0	3	5	7	9	5
担良性腫瘍動物	2	2	0	1	3	1	3	1
担悪性腫瘍動物	2	3	0	2	3	7	7	4
最終屠殺動物								
【動物数】	47	44	47	43	43	40	40	41
担腫瘍動物	19	25	23	21	24	17	22	23
担良性腫瘍動物	13	20	15	17	18	12	14	16
担悪性腫瘍動物	9	11	10	5	8	9	9	9
全動物								
【動物数】	50	50	50	50	50	50	50	50
担腫瘍動物	22	30	23	24	29	24	31	28
担良性腫瘍動物	15	22	15	18	21	13	17	17
担悪性腫瘍動物	11	14	10	7	11	16	16	13
総腫瘍数	35	46	34	30	37	33	36	31
良性腫瘍数	21	30	21	23	24	17	20	18
悪性腫瘍数	14	16	13	7	13	16	16	13

表 10. 腫瘍の経時発現

性別	雄				雌			
	0	100	330	1000	0	100	330	1000
用量 (ppm)								
動物数*	3	6	3	7	7	10	10	9
腫瘍をもつ動物総数	3	5	0	3	5	7	9	5
腫瘍をもつ動物数								
201-300 日	0	0	0	0	1	0	0	0
301-400 日	0	0	0	0	0	0	0	0
401-500 日	0	0	0	1	0	0	0	0
501-600 日	0	0	0	0	0	1	2	1
601-屠殺	3	5	0	2	4	6	7	4
原発腫瘍数								
良性	3	6	0	1	3	1	3	1
悪性	3	3	0	2	3	7	7	4
総数	6	9	0	3	6	8	10	5

*途中死亡又は切迫屠殺動物

以上のことから、1000ppm 群雌雄で体重増加の抑制、雌で摂餌量と飲水量のわずかな低下が認められ、無毒性量は 330ppm (雄 65.6mg/kg/日、雌 103.6mg/kg/日) であり、本剤に発がん性は認められなかった。

表 11-1. 主な非腫瘍性病変(中間屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
所見/検査数		10	10	10	10	10	10	10	10
1 年 間	副腎	10	10	10	10	10	9	10	10
	被膜下細胞浸潤	6	10	8	7	10	9	10	10
	細胞好酸性化	1	2	0	2	0	0	0	0
	ハーダー氏腺	10	10	10	10	10	9	10	10
	リンパ球浸潤	0	0	1	0	4	1	0	2
	腺炎	0	0	0	0	0	1	0	0
	腎臓	10	10	10	10	10	9	10	10
	尿細管の空胞化	3	4	4	2	0	0	0	0
	リンパ球浸潤	5	4	7	2	9	7	6	6
	尿細管の好塩基性化	4	3	4	3	2	0	1	0
	腸間膜リンパ節	10	10	10	10	10	9	10	9
	過形成	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	10	10	10	10	10	9	10	10
	リンパ球浸潤	1	0	1	1	7	4	3	4
	単細胞壊死	0	0	0	0	0	1	0	1
	膵臓	10	10	10	10	10	8	10	10
	ラ氏島過形成	0	0	1	1	0	1	1	0
	胸腺	10	8	10	10	10	9	10	9
	のう胞	1	1	1	2	0	0	0	3
	脾臓	10	10	10	10	10	9	10	10
	髓外造血	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮	/	/	/	/	10	9	10	10
	のう胞性化形成	/	/	/	/	10	9	10	10
甲状腺	10	10	10	10	10	9	10	10	
のう胞性ろ胞	1	0	2	0	2	1	0	1	

表 11-2. 主な非腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
途中死亡・屠殺動物	所見/検査数	3	6	3	7	7	10	10	9
	副腎	3	6	3	7	7	10	10	9
	被膜下細胞浸潤	3	6	3	7	7	10	10	9
	細胞好酸性化	0	1	0	2	0	0	0	0
	ハーダー氏腺	3	6	3	7	7	10	10	9
	リンパ球浸潤	0	2	0	2	3	4	8	1
	腺炎	0	3	1	3	1	0	0	4
	腎臓	3	6	3	7	7	10	10	9
	尿細管の空胞化	2	3	1	1	0	1	0	0
	リンパ球浸潤	2	2	2	5	3	6	8	5
	限局性腎症	3	4	1	2	0	1	3	2
	のう胞	1	0	0	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	3	6	3	6	4	10	9	7
	過形成	0	1	0	0	1	2	3	2
	肝臓	3	6	3	7	7	10	10	9
	リンパ球浸潤	0	0	1	3	4	4	6	5
	限局性過形成	0	0	0	1	1	0	0	1
	脾臓	3	6	3	7	7	10	10	8
	ラ氏島過形成	0	0	0	2	0	1	2	0
	胸腺	3	5	2	5	4	7	10	5
	のう胞	0	1	1	0	0	0	1	0
	脾臓	3	6	3	7	7	10	10	8
	髓外造血	2	5	1	3	6	5	8	3
	子宮	/	/	/	/	7	10	10	9
	のう胞性過形成	/	/	/	/	4	9	10	8
	乳腺	0	0	0	0	7	8	8	8
	のう胞性過形成	0	0	0	0	1	3	1	1
甲状腺	3	6	3	7	7	10	10	9	
のう胞性ろ胞	0	3	0	0	4	2	1	4	
最終屠殺動物	所見/検査数	47	44	47	43	43	40	40	41
副腎	47	44	47	43	43	38	39	41	
被膜下細胞浸潤	44	43	43	42	43	38	39	41	
細胞好酸性化	24	16	15	18	1	0	1	0	
空胞化	0	0	0	0	0	0	1	0	
ハーダー氏腺	47	44	47	43	43	40	40	41	
リンパ球浸潤	23	25	23	21	25	21	27	23	
腺炎	10	7	9	8	8	5	7	6	

表 11-3. 主な非腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
最終屠殺動物	所見/検査数	47	44	47	43	43	40	40	41
	腎臓	47	44	47	43	43	40	40	41
	尿細管の空胞化	35	39	35	29	1	1	2	1
	リンパ球浸潤	43	38	38	38	38	37	35	35
	尿細管の好塩基性化	1	0	0	0	0	0	0	0
	限局性腎症	40	38	37	31	10	7	9	12
	のう胞	3	1	6	1	0	0	1	0
	腸間膜リンパ節	42	42	46	42	40	35	37	34
	過形成	6	4	1	1	4	11	11	5
	肝臓	47	44	47	43	43	40	40	41
	リンパ球浸潤	22	31	30	24	40	37	38	36
	限局性過形成	4	6	1	3	3	1	1	2
	単細胞壊死	2	3	3	0	1	2	2	2
	膵臓	47	44	47	43	43	39	40	41
	ラ氏島過形成	7	5	4	4	2	2	4	3
	胸腺	43	31	37	34	41	32	32	31
	のう胞	7	1	4	3	4	0	1	1
	脾臓	47	44	47	43	43	40	40	41
	髓外造血	15	18	10	10	14	11	12	6
	子宮	/	/	/	/	43	40	40	41
	のう胞性過形成	/	/	/	/	42	40	39	40
	腺腫様過形成	/	/	/	/	0	0	1	0
	乳腺	4	2	2	3	40	38	38	40
	のう胞性過形成	0	0	0	0	1	2	1	1
	腺過形成	0	0	0	0	1	3	3	1
	甲状腺	47	44	47	43	42	39	40	41
のう胞性ろ胞	5	11	18	8	16	14	16	19	
ろ胞細胞過形成	0	0	0	0	0	3	0	0	
全動物	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎	50	50	50	50	50	48	49	50
	被膜下細胞浸潤	44	49	46	49	50	48	49	50
	細胞好酸性化	24	17	15	20	1	0	1	0
	空胞化	0	0	0	0	0	0	1	0
	ハーダー氏腺	50	50	50	50	50	50	50	50
	リンパ球浸潤	23	27	23	23	28	25	35	24
腺炎	10	10	10	10	9	5	7	7	

* ; p<0.05, P<0.01 [Fisher 片側検定(全動物について申請者により実施)]

表 11-4. 主な非腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別	雄				雌				
	0	100	330	1000	0	100	330	1000	
投与量 (ppm)	0	100	330	1000	0	100	330	1000	
所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50	
全動物	腎臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	尿細管の空胞化	37	42	36	30	1	2	2	1
	リンパ球浸潤	45	40	40	43	41	43	43	40
	尿細管の好塩基性化	1	0	0	0	0	0	0	0
	限局性腎症	43	42	38	33*	10	8	12	14
	のう胞	3	1	6	1	0	0	1	0
	腸間膜リンパ節	45	48	49	48	44	45	46	41
	過形成	6	5	1*	1*	5	13*	14*	7
	肝臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	リンパ球浸潤	22	31	31	27	44	41	44	41
	限局性過形成	4	6	1	4	4	1	1	3
	単細胞壊死	2	3	3	0	1	2	2	2
	脾臓	50	50	50	50	50	49	50	49
	ラ氏島過形成	7	5	4	6	2	3	6	3
	胸腺	46	36	39	39	45	39	42	36
	のう胞	7	2	5	3	4	0	2	1
	脾臓	50	50	50	50	50	50	50	49
	髓外造血	17	23	11	13	20	16	20	9*
	子宮	/	/	/	/	50	50	50	49
	のう胞性過形成	/	/	/	/	46	49	49	48
	腺腫様過形成	/	/	/	/	0	0	1	0
	乳腺	4	2	2	3	47	46	46	48
	のう胞性過形成	0	0	0	0	2	5	2	2
	腺過形成	0	0	0	0	1	3	3	1
	甲状腺	50	50	50	50	49	49	50	50
	のう胞性ろ胞	5	14*	18**	8	20	16	17	23
ろ胞細胞過形成	0	0	0	0	0	3	0	0	

* ; p<0.05, P<0.01 [Fisher 片側検定(全動物について申請者により実施)]

表 12-1. 腫瘍性病変(中間屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
所見/検査数		0	0	0	0	0	1	0	0
*	卵巣	0	0	0	0	0	1	0	0
	良性奇形腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0
所見/検査数		10	10	10	10	10	9	10	10
1 年 間	肝臓	10	10	10	10	10	9	10	10
	腺腫 b	0	0	0	2	0	1	1	0
	肺	10	10	10	10	10	9	10	10
	腺腫 b	1	0	0	0	0	0	0	0

* : 途中死亡例

b : 良性

表 12-2. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
	所見/検査数	3	6	3	7	7	10	10	9
途中死亡・屠殺動物	下垂体	3	6	3	7	7	9	9	8
	腺腫 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	3	6	3	7	7	10	10	9
	ろ胞細胞腺腫 b	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	3	6	3	7	7	10	10	9
	腺腫 b	1	2	0	0	0	0	0	0
	腺癌 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	3	6	3	7	7	10	10	9
	腺腫 b	1	1	0	1	0	0	0	0
	腺癌 m	3	0	0	1	0	1	1	0
	ハーター氏腺	3	6	3	7	7	10	10	9
	腺腫 b	1	0	0	0	0	0	0	0
	筋肉	3	6	3	7	7	9	10	9
	骨肉腫 m	0	0	0	0	0	0	1	0
	大腿骨・骨髄	3	6	3	6	7	10	10	9
	血管腫 b	0	1	0	0	0	0	0	0
	卵巣	/	/	/	/	7	8	9	9
	奇形腫 b	/	/	/	/	1	0	0	0
	子宮	/	/	/	/	7	10	10	9
	間質ポリープ b	/	/	/	/	2	0	2	0
	腺腫様ポリープ b	/	/	/	/	0	1	0	0
	腺癌 m	/	/	/	/	0	0	1	0
	骨	0	1	0	0	0	1	1	1
	血管腫 b	0	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓	3	6	3	7	7	10	10	8
	血管腫 b	0	1	0	0	0	0	0	0
	皮膚 皮下組織	3	6	3	7	7	10	10	9
	肉腫 m	0	0	0	0	0	0	0	1
	腹腔	1	1	0	0	3	6	5	1
	肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
	中皮腫 m	0	0	0	0	0	0	1	0
	頭蓋腔	0	1	0	0	0	0	0	0
神経鞘腫	0	1	0	0	0	0	0	0	
血液・リンパ・網内系組織	0	2	0	0	3	6	2	3	
リンパ性白血病 m	0	0	0	0	0	1	0	1	
リンパ腫 混合型 m	0	2	0	0	1	1	1	1	
リンパ腫 リンパ球性 m	0	0	0	0	1	2	1	1	
リンパ腫 m	0	0	0	0	1	1	0	0	
組織球性肉腫 m	0	0	0	0	0	1	0	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

表 12-3. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
最終屠殺動物	所見/検査数	47	44	47	43	43	40	40	41
	盲腸	46	43	47	43	43	38	40	40
	平滑筋腫 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	下垂体	44	44	45	43	41	36	38	39
	腺腫 b	0	0	0	0	1	5	5	1
	副腎	47	44	47	43	43	38	39	41
	腺腫 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	α親和性細胞腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0
	甲状腺	47	44	47	43	42	39	40	41
	ろ胞細胞腺腫 b	0	0	1	0	0	3	1	0
	肺	47	44	47	43	43	40	40	41
	腺腫 b	3	8	4	8	3	1	1	1
	腺癌 m	1	3	1	0	0	1	0	0
	肝臓	47	44	47	43	43	40	40	41
	腺腫 b	12	9	8	12	2	1	1	2
	血管腫 b	1	1	0	0	0	0	3	1
	腺癌 m	8	6	6	3	0	1	2	1
	ハーダー氏腺	47	44	47	43	43	40	40	41
	腺腫 b	2	2	4	2	7	3	2	5
	腎臓	47	44	47	43	43	40	40	41
	腺腫 b	0	2	1	0	0	0	0	0
	大腿骨・骨髄	47	44	47	43	41	40	40	41
	軟骨腫 b	0	0	0	0	0	0	1	0
	血管腫 b	0	0	2	0	1	0	0	0
	胃	47	44	47	43	43	40	40	41
	扁平上皮乳頭腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0
	扁平上皮癌 m	0	0	1	0	0	0	0	0
	卵巣	/	/	/	/	43	39	40	41
	顆粒膜細胞腫 b	/	/	/	/	0	0	0	1
	のう胞腺腫 b	/	/	/	/	1	0	0	0
	子宮	/	/	/	/	43	40	40	41
	血管腫 b	/	/	/	/	0	0	0	1
平滑筋腫 b	/	/	/	/	1	2	0	0	
間質ポリープ b	/	/	/	/	4	0	2	2	
腺腫様ポリープ b	/	/	/	/	0	0	0	1	
組織球肉腫 m	/	/	/	/	3	1	0	1	
平滑筋肉腫 m	/	/	/	/	1	0	0	0	
肉腫 m	/	/	/	/	0	0	0	1	
腺癌 m	/	/	/	/	0	1	2	0	

b: 良性, m: 悪性, *: P<0.05; Fisher-Test

表 12-4. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
最終屠殺動物	所見/検査数	47	44	47	43	43	40	40	41
	精巣	47	44	47	43	/	/	/	/
	ライディツヒ細胞腫 b	0	0	1	0	/	/	/	/
	脾臓	47	44	47	43	43	40	40	41
	血管腫 b	0	1	0	0	0	0	0	0
	皮膚 皮下組織	47	44	47	43	43	40	40	41
	扁平上皮癌 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	4	2	2	3	40	38	38	40
	腺癌 m	4	2	2	3	0	0	1	0
	耳	0	1	0	0	0	0	1	0
	乳頭腫 b	0	1	0	0	0	0	1	0
	血液・リンパ・網内系組織	2	3	5	2	6	5	4	6
	肥満細胞腫 m	1	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ腫 混合型 m	0	1	4	1	2	2	2	1
	リンパ腫 リンパ球性 m	1	2	1	1	3	3	2	5
	組織球性肉腫 m	0	0	0	0	1	0	0	0
全動物	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	盲腸	49	49	49	49	47	45	48	47
	平滑筋腫 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	下垂体	47	50	48	50	48	45	47	47
	腺腫 b	0	0	0	0	1	5	5	2
	副腎	50	50	50	50	50	48	49	50
	腺腫 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	α親和性細胞腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0
	甲状腺	50	50	50	50	49	49	50	50
	ろ胞細胞腺腫 b	0	0	1	0	0	3	2	0
	肺	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺腫 b	4	10	4	8	3	1	1	1
	腺癌 m	1	3	1	1	0	1	0	0
	肝臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺腫 b	13	10	8	13	2	1	1	2
	血管腫 b	1	1	0	0	0	0	3	1
	腺癌 m	11	6	6	4*	0	2	3	1
	ハーダー氏腺	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺腫 b	3	2	4	2	7	3	2	5
	腎臓	50	50	50	50	50	50	50	50
腺腫 b	0	2	1	0	0	0	0	0	
大腿骨・骨髄	50	50	50	49	48	50	50	50	
軟骨腫 b	0	0	0	0	0	0	1	0	
血管腫 b	0	1	2	0	1	0	0	0	

b : 良性, m : 悪性, * ; p<0.05, P<0.01 [Fisher 片側検定(全動物について申請者により実施)]

表 12-5. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
所見/検査数		50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	胃	50	50	50	50	50	50	50	49
	扁平上皮乳頭腫	b	0	0	0	1	0	0	0
	扁平上皮癌	m	0	0	1	0	0	0	0
	卵巣	/	/	/	/	50	47	49	50
	奇形腫	b	/	/	/	1	0	0	0
	顆粒膜細胞腫	b	/	/	/	0	0	0	1
	のう胞腺腫	b	/	/	/	1	0	0	0
	子宮	/	/	/	/	50	50	50	50
	血管腫	b	/	/	/	0	0	0	1
	平滑筋腫	b	/	/	/	1	2	0	0
	間質ポリープ	b	/	/	/	6	0*	4	2
	腺腫様ポリープ	b	/	/	/	0	1	0	1
	組織球肉腫	m	/	/	/	3	1	0	1
	平滑筋肉腫	m	/	/	/	1	0	0	0
	肉腫	m	/	/	/	0	0	0	1
	腺癌	m	/	/	/	0	1	3	0
	精巣	50	50	50	50	/	/	/	/
	ライディッヒ細胞腫	b	0	0	1	0	/	/	/
	骨	0	1	0	0	0	2	1	1
	血管腫	b	0	1	0	0	0	0	0
	脾臓	50	50	50	50	50	50	50	49
	血管腫	b	0	2	0	0	0	0	0
	皮膚 皮下組織	50	50	50	50	50	50	50	50
	肉腫	m	0	0	0	0	0	0	1
	扁平上皮癌	m	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	4	2	2	3	47	46	46	48
	腺癌	m	0	0	0	0	0	1	0
	筋肉	50	50	50	50	50	48	50	50
	骨肉腫	m	0	0	0	0	0	1	0
	腹腔	2	3	1	0	6	7	7	3
肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	
中皮腫	m	0	0	0	0	0	1	0	
頭蓋腔	0	1	0	0	0	0	0	0	
神経鞘腫	0	1	0	0	0	0	0	0	
耳	0	2	0	0	0	0	1	0	
乳頭腫	b	0	1	0	0	0	1	0	

b: 良性, m: 悪性, *; p<0.05, P<0.01 [Fisher 片側検定(全動物について申請者により実施)]

表 12-6. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	100	330	1000	0	100	330	1000
全動物	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	血液・リンパ・網内系組織	2	5	5	2	9	11	6	9
	肥満細胞腫 m	1	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ性白血病 m	0	0	0	0	0	1	0	1
	リンパ腫 混合型 m	0	3	4	1	3	3	3	2
	リンパ腫 リンパ球性 m	1	2	1	1	4	5	3	6
	リンパ腫 m	0	0	0	0	1	1	0	0
組織球性肉腫 m	0	0	0	0	1	1	0	0	

b: 良性, m: 悪性, *; p<0.05, P<0.01 [Fisher 片側検定(全動物について申請者により実施)]

イミダクロプリドのマウスを用いた発がん性試験(MTD 追加試験)

(毒性資料 No. 原体-26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 1991 年 10 月 24 日

検体の純度：

試験動物： B₆C₃F₁ マウス

(試験開始時約 7~8 週令、平均体重 雄 25g、雌 21g)

一群雌雄各 50 匹 + 雌雄各 10 匹 (中間検査用：12 ヶ月後に計画殺)

試験期間： 投与期間 24 ヶ月間

(1988 年 9 月 28 日 ~ 1990 年 9 月 28 日)

試験方法：

検体を 0 及び 2000ppm となるように粉末飼料 (1% 量のピーナツオイル添加) に混ぜ、24 ヶ月間マウスに投与した。

試験項目及び試験結果：

1) 臨床症状

動物は毎日、最低 2 回 (週末と休日は 1 回) 臨床症状を記録した。個体毎の精密検査は週に 1 回実施した。

毎日のマウスの観察で、外観、姿勢、呼吸、排泄物に検体の影響は認められなかった。2000ppm 群では試験開始時から「ひよこ様」の発声が認められた。

2) 死亡率

試験中の動物の死亡率を次表に示した。

2000ppm 群の雄は採血、入れ墨時(投与開始 6 週)のエーテル麻酔に過敏性を示し、呼吸困難や痙攣を示し死亡したり、給餌器にはさまり死亡する例があったため、対照群に比べ増加した(採血、入墨、自動給餌器事故による死亡:対照群雌 2 匹、2000ppm 群雄 11 匹、雌 8 匹)。これは検体投与による著明な体重増加の抑制による間接的な影響と考えられた。

従って、上記理由による死亡例を除外して雌雄を対照群と比較した場合、意味のある差は認められなかった。

表 1. 累積死亡数

投与量 (ppm)	雄				雌			
	26 週後	52 週後	78 週後	104 週後	26 週後	52 週後	78 週後	104 週後
0	0/60	0/60	1/50	6/50	4/60	4/60	7/50	19/50
2000	4/60	7/60	9/50	17/50	4/60	7/60	8/50	14/50

死亡動物数/供試動物数

3) 体重

動物の体重は 1 週毎に測定した。

2000ppm 群の雌雄マウスは、投与第 1 週以降統計的に有意で明らかな体重増加の抑制を示した。対照群との平均体重の差は雄で 29%、雌で 26%までの差を示した。

4) 摂餌量及び検体摂取量

試験開始から 103 週目まで各群から雌雄各 20 匹を選抜し毎週飼料摂取量を測定した。

対照群と比較して、2000ppm 群の摂餌量は雄ではわずかに(10%)、雌では明らかに(35%)減少した。

検体摂取量 (mg/kg/日) は以下のとおりであった。

表 2. 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)		2000
検体摂取量	雄	413.5
	雌	423.9

5) 飲水量

試験開始から 101 週目まで飲水量を 4 週毎に測定した。

2000ppm 群では雌雄とも明らかに飲水量の減少を示した。

6) 臨床検査

各群から 10 匹の動物を選抜し、血液学的検査と生化学的検査を 12 ヶ月後と 24 ヶ月後に実施した。さらに 18 ヶ月後に白血球分画について検査した。尚、除蛋白した全血での血糖値測定用の血液は、動物の尾静脈から非絶食、無麻酔の条件下で採取し、他の項目を測定するための末梢血のサンプルは、動物の眼窩静脈叢から非絶食、エーテル麻酔下で採取した。

6-1) 血液学的検査

上記した検査時に以下の項目について検査した。

白血球分画、赤血球形態、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、白血球数、平均血球血色素量 (MCH)、平均血球血色素濃度 (MCHC)、平均血球容積 (MCV)、血小板数

2000ppm 群雌では MCV (12 ヶ月)、MCH (12、24 ヶ月)、MCHC (12 ヶ月) の有意な低値と赤血球数 (24 ヶ月) の有意な高値がみられた。相応する対照群の平均値との差は軽微で、各動物の全ての値が生理学的範囲にあったことから毒性学的有意性は認められないものと考えられた。

2000ppm 群雄の 12 ヶ月目では血小板数の増加 (有意) を認めたが、この値も背景データ範囲内にあり、また対照群との差は軽微なものであったことから、毒性学的には意義はないものと考えられた。

雌雄の白血球数は 12 ヶ月目で統計的に有意な低下を示した。白血球分画から 2000ppm 群の雄では白血球の各細胞分布に意味のある病的な変動は認められなかった。この群の雌で 18 ヶ月以降に分葉核好中球のわずかな減少を伴うリンパ球数の増加がみられた。これもすべての個別の数値が背景データ範囲内にあったことから、毒性学的な意義はないものと考えられた。

表 3. 血液学的検査で有意差を認めた項目

項目	雄			雌		
	2000ppm			2000ppm		
	12 カ月	18 カ月	24 カ月	12 カ月	18 カ月	24 カ月
赤血球数	/			/		
MCH	/			↓96	/	↓97
MCHC	/			↓98	/	
MCV	/			/		↓96
血小板	↓83	/		/		
白血球数	↓75	/		↓63	/	
白血球分画						
リンパ球				↑108		
分葉核好中球				↓77		

↑↓ : p<0.05 , ▲▼ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

6-2) 血液生化学的検査

上記した検査時に以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、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)、グルコース、ビリルビン、コレステロール、クレアチニン、総蛋白、尿素

2000ppm 群で ALP 活性が上昇し、雌でビリルビン値の増加が認められた。これらの変化は概して比較的小さなもので、肝障害を反映したものではないと考えられた。また、血中のコレステロールが統計的に有意な低下を示したがこれは、脂質代謝への影響を示している可能性が示唆された。

対照群と有意な変動を示すその他の項目では、その差がわずかで個別の値が背景データの範囲内にあったので、毒性学的に意味のあるものではなかった。

表 3. 生化学的検査で有意差を認めた項目

項目	雄		雌	
	2000ppm		2000ppm	
	12 ヶ月	24 ヶ月	12 ヶ月	24 ヶ月
ASAT		↑144		
ALP	↑132	↑135	↑148	
グルコース	↓88			
コレステロール	↓72	↓66	↓89	
クレアチニン				↑113
尿素		↓78		
ビリルビン			↑128	
総蛋白	↓95			

↑ ↓ : p<0.05 , ↑ ↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

[申請者註] 全ての統計学的に有意差を示した項目の変動は、背景データの範囲内に入っていることから、特に有害作用を示したものではないものと考えられた。

7) 剖検

途中死亡動物、中間屠殺動物及び最終屠殺動物の全動物を剖検した。

各動物の剖検所見では投与に起因する特異的な臓器変化は認められなかった。

8) 臓器重量 (表 5)

12 ヶ月後の中間屠殺時と 24 ヶ月後の試験終了時に動物を屠殺し、以下の臓器の重量を測定した。

脳、肝臓、肺、脾臓、腎臓、副腎、卵巣及び精巣

雌雄 2000ppm 群では、両測定時点で肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎の実重量 (雄の副腎は 12 ヶ月のみ) が、さらに雌では 24 ヶ月の脳と卵巣の実重量が統計学的有意

に減少した。加えて、雄の 12 ヶ月後の肝臓及び雌の両測定時点での肝臓と脾臓の対体重比重量が有意に減少した。これらの低値は雌雄 2000ppm 群の著明な低体重によるものと考えられた。一方、雌雄 2000ppm 群の脳と雄の精巣の対体重比が有意に増加したが、これらの対体重比の増加も雌雄 2000ppm 群の著明な低体重に相関するものと考えられた。

これらたの臓器重量の差から、投与による特別な臓器の障害を示唆するものではなかった。

表 3. 臓器実重量及び対体重比 - 有意差を示した臓器

項目	雄				雌			
	2000ppm				2000ppm			
	12 ヶ月		24 ヶ月		12 ヶ月		24 ヶ月	
	A	R	A	R	A	R	A	R
体重	↓74		↓75		↓87		↓79	
脳		↑125		↑130		↑111	↓94	↑115
肺	↓83		↓84	↑114	↓83		↓87	
肝臓	↓70	↓92	↓75		↓78	↓91	↓74	↓91
脾臓	↓89	↑116	↓80		↓74	↓85	↓59	↓72
腎臓	↓77		↓78		↓88		↓80	
副腎	↓70				↓82		↓75	
精巣		↑125		↑129	/	/	/	/
卵巣	/	/	/	/			↓69	

↑ ↓ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (U-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

A: 実重量, B: 体重比

9) 病理組織学的検査

全試験群動物について以下の組織を病理組織学的検査に供した。

副腎、動脈、脳、眼、精巣上体、大腿骨／骨髄、胆嚢、ハーダー氏腺、心臓、腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（顎下、腸間膜）、骨格筋、坐骨神経、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、精嚢、皮膚／乳腺部、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺／上皮小体、気管、膀胱、子宮

9-1) 12 ヶ月後の中間屠殺用動物の非腫瘍性病変 (表 6)

対照群の生存例全例が尿細管の空胞化を示したが、2000mg/kg 群ではこの所見は 1 例にも認められなかった。この空胞化は雌ではは対照群、投与群共に認められなかった。

その他には検体に起因する特異的な変化は認められなかった。

表 6. 病理組織学所見

項目	性別 投与量 (ppm)	雄		雌	
		0	2000	0	2000
検査動物数		10	10 ¹⁾	10	10
腎臓/尿細管の空胞化		10	0 ^{***}	0	0

*** : p<0.001 (両側 Fisher 検定), 1) 途中死亡 1 例を含む

9-2) 12 ヶ月後の中間屠殺用動物の腫瘍性病変

対照群の雌 1 匹の甲状腺に良性のろ胞細胞腺腫(良性)がみられた。

10-1) 24 ヶ月後の最終屠殺用動物の非腫瘍性病変(表 9-1~9-2)

形態学的には 2000ppm 群の若干の雄で軽微な小葉中心性の肝細胞肥大が観察された。これらのわずかな変化は異物代謝における肝細胞の適応の結果と考えられ、肝障害の所見とは解釈されなかった。脳(視床)では雌雄とも鉍質沈着が増加した。

腎臓の病理組織学的検査では尿細管上皮の空胞化が、対照群の雄では 47 例であったのに対し、2000ppm 群の雄では(12 ヶ月の中間屠殺用動物と同様に)認められなかった。その他に、2000ppm 群では尿細管の好塩基性化(雄)と腎盂のリンパ球浸潤(両性)の頻度が減少した。これらの変化は 2000ppm 群の摂餌量の低下に関連するものと考えられた。Durand, A. ら(1964)によれば、ラットの進行性の腎疾患にみられるリンパ球浸潤や尿細管の好塩基性化は蛋白の摂取量の増加と関連があると報告されている。従って、本試験の 2000ppm 群の様に、長期間摂餌量が減少したマウスでこの病変の頻度が軽度ながら減少したことは蛋白摂取量の減少に関連するものと考えられた。腎臓に関連した臨床化学的検査の項目には 2000ppm 群で影響は見られていないことから、検体の腎毒性作用は認められなかった。さらに、2000ppm 群の雄では膀胱の粘膜下のリンパ球浸潤と唾液腺のリンパ球浸潤が見られなくなり、腸間膜リンパ節のうっ血性の組織球浸潤の明らかな減少及び雌では副腎の加齢による退行性の変化がほぼ完全に消失(X 帯の空胞化、副腎皮質深部の色素沈着)したことも摂餌量の減少と関連したものと考えられた。

2000ppm 群の 8 匹の途中死亡動物 (2 匹の雄と 6 匹の雌) は肺のうっ血を示したが、死亡動物では高頻度に見られるもので検体投与の関連はないものと考えられた。

10-2) 24 ヶ月後の最終屠殺用動物の非腫瘍性病変 (表 7, 8, 10-1~3)

次表に示すように観察された腫瘍の数、組織型、発生部位、発生時期及び担腫瘍動物数から検体には催腫瘍性は認められなかった。

良性腫瘍と悪性腫瘍の頻度及び担腫瘍動物数は 2000ppm 群で対照群よりも減少した。これは 2000ppm 群での摂餌量の低下と体重増加抑制の結果であるかもしれない。栄養状態により腫瘍の頻度や腫瘍のスペクトルが変化することは文献上知られていることである。

表 7. 担腫瘍動物数 (最終屠殺用動物)

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	0	2000	0	2000
途中死亡又は切迫屠殺動物				
【動物数】	6	17	19	14
担腫瘍動物数	6	0	8	2
担良性腫瘍動物数	1	0	4	0
担悪性腫瘍動物数	4	0	3	2
担良・悪性腫瘍動物数	1	0	1	0
最終屠殺動物				
【動物数】	44	33	30	36
担腫瘍動物数	21	5	13	5
担良性腫瘍動物数	14	5	9	2
担悪性腫瘍動物数	7	0	2	3
担良・悪性腫瘍動物数	0	0	2	0
全動物				
【動物数】	50	50	50	50
担腫瘍動物数	27	5	21	7
担良性腫瘍動物数	15	5	13	2
担悪性腫瘍動物数	11	0	5	5
担良・悪性腫瘍動物数	1	0	3	0
総腫瘍数	33	5	24	7
良性腫瘍数	20	5	16	2
悪性腫瘍数	13	0	8	5

表 8. 腫瘍の経時発現

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	0	2000	0	2000
動物数	6	17	19	14
腫瘍数				
良性	3	0	5	0
悪性	5	0	4	2
総数	8	0	9	2
担腫瘍動物総数	6	0	8	2
担腫瘍動物数				
350-400 日	0	0	1	0
401-500 日	0	0	0	0
501-600 日	1	0	0	1
601-屠殺	5	0	7	1

以上のことから、2000ppm 群雌雄では「ひよこ様」の発声、体重増加量の抑制、摂餌量・飲水量の低下が認められ、2000ppm は MTD 量であると見なされた。この用量で発がん性は認められなかった。

表 9-1. 主な非腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		0	2000	0	2000
途中死亡・屠殺動物	所見/検査数	6	17	19	14
	肝臓	6	16	18	13
	小葉中心性肝細胞肥大(軽度)	0	2	0	0
	腎臓	6	16	18	13
	尿細管空胞化	6	0 ^{***}	0	0
	腎盂リンパ球浸潤(重度)	0	0	2	0
	尿細管の好塩基性化	1	0	0	0
	肺	6	16	18	13
	うっ血	0	2	0	6*
	副腎	6	16	18	13
	'X帯'の空胞化	0	0	2	1
	皮質深部色素沈着	0	0	1	0
	卵巣	/	/	15	13
	化膿性卵管炎	/	/	5	0*
	脳	6	17	19	14
	視床鉍質沈着	1	6	5	3
	腸間膜リンパ節	6	14	14	12
	うっ血性組織球浸潤	1	5	3	4
	膀胱	6	16	18	13
	粘膜下リンパ球浸潤	0	0	0	1
最終屠殺動物	所見/検査数	44	33	31	36
	肝臓	44	33	31	36
	小葉中心性肝細胞肥大(軽度)	0	3	0	0
	腎臓	44	33	31	36
	尿細管空胞化	41	0 ^{***}	0	0
	腎盂リンパ球浸潤(重度)	12	3	5	2
	尿細管の好塩基性化	24	1 ^{***}	0	0
	副腎	43	32	30	36
	'X帯'の空胞化	0	0	4	0*
	皮質深部色素沈着	0	0	6	0 ^{**}
	脳	44	33	31	36
	視床鉍質沈着	16	18	9	21*
	腸間膜リンパ節	43	29	30	36
	うっ血性組織球浸潤	28	11*	7	10
	唾液腺	44	33	31	36
リンパ球浸潤(重度)	10	0*	1	2	
膀胱	44	32	31	35	
粘膜下リンパ球浸潤	9	0 ^{**}	9	5	

*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001 ; 両側 Fisher 検定

表 9-2. 主な非腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別	雄		雌	
	0	2000	0	2000
投与量(ppm)	0	2000	0	2000
所見/検査数	50	50	50	50
肝臓	50	49	49	49
小葉中心性肝細胞肥大(軽度)	0	5*	0	0
腎臓	50	49	49	49
尿細管空胞化	47	0***	0	0
腎盂リンパ球浸潤(重度)	12	3*	7	2
尿細管の好塩基性化	25	1***	0	0
肺	50	49	49	49
うっ血	0	2	0	6*
副腎	49	48	48	49
'X帯'の空胞化	0	0	6	1
皮質深部色素沈着	0	0	7	0*
卵巣	/	/	46	47
化膿性卵管炎	/	/	5	0
脳	50	50	50	50
視床鉉質沈着	17	24	14	24
腸間膜リンパ節	49	43	44	48
うっ血性組織球浸潤	29	16*	10	14
唾液腺	50	49	49	49
リンパ球浸潤(重度)	10	0*	1	2
膀胱	50	48	49	48
粘膜下リンパ球浸潤	9	0**	9	6

*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001 ; 両側 Fisher 検定

表 10-1. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		0	2000	0	2000
	所見/検査数	6	17	19	14
途中 死亡 屠殺 動物	ハーダー氏腺	6	17	19	14
	腺腫 b	0	0	1	0
	肝臓	6	16	18	13
	肝細胞腺腫 b	1	0	0	0
	肝細胞癌 m	3	0	0	0
	脾臓	5	16	17	13
	ラ氏島腺腫 b	1	0	0	0
	下垂体	6	14	18	10
	前葉腺腫 b	0	0	2	0
	精巢	6	16	/	/
	間質細胞腫 m	1	0	/	/
	甲状腺	6	17	19	9
	ろ胞細胞腺腫 b	0	0	1	0
	子宮	/	/	18	13
	平滑筋腫 b	/	/	1	0
	平滑筋肉腫 m	/	/	1	1
	造血系組織	6	17	19	14
	悪性リンパ腫 m	2	0	2	1
	皮膚	0	0	1	0
	肉腫 m	0	0	1	0
	所見/検査数	44	33	31	36
最終 屠殺 動物	ハーダー氏腺	44	33	31	36
	腺腫 b	2	1	2	2
	腎臓	44	33	31	36
	腺腫 b	1	0	0	0
	リンパ節(下顎)	41	29	27	33
	血管腫 b	1	0	0	0
	肝臓	44	33	31	36
	肝細胞腺腫 b	6	2	0	0
	肝細胞癌 m	4	0	0	0
	血管肉腫 m	1	0	0	0
	肺	44	33	31	36
	腺腫 b	3	1	2	0
	腺癌 m	3	0	0	0
	下垂体	42	33	30	32
前葉腺腫 b	0	0	5	0	

b : 良性, m : 悪性, 片側 Fisher 検定を実施

表 10-2. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別	雄		雌	
	0	2000	0	2000
投与量(ppm)				
脾臓	44	33	31	36
血管腫	b 2	0	0	0
精巣	44	33	/	/
間質細胞腫	m 1	1	/	/
甲状腺	44	31	31	33
ろ胞細胞腺腫	b 1	0	1	0
子宮	/	/	31	36
子宮内膜腺腫	b /	/	1	0
平滑筋肉腫	m /	/	2	1
造血系組織	44	33	31	36
悪性リンパ腫	m 0	0	2	1
皮膚	2	0	0	1
肉腫	m 0	0	0	1
所見/検査数	50	50	50	50
全動物				
ハーダー氏腺	50	50	50	50
腺腫	b 2	1	3	2
腎臓	50	49	49	49
腺腫	b 1	0	0	0
リンパ節(下顎)	46	43	43	45
血管腫	b 1	0	0	0
肝臓	50	49	49	49
肝細胞腺腫	b 7	2	0	0
肝細胞癌	m 7	0	0	0
血管肉腫	m 1	0	0	0
肺	50	49	49	49
腺腫	b 3	1	2	0
腺癌	m 3	0	0	0
膵臓	49	49	48	48
ラ氏島腺腫	b 1	0	0	0
下垂体	48	47	48	42
前葉腺腫	b 0	0	7	0
脾臓	50	48	49	49
血管腫	b 2	0	0	0
精巣	50	49	/	/
間質細胞腫	m 2	1	/	/
甲状腺	50	48	50	42
ろ胞細胞腺腫	b 1	0	2	0

b: 良性, m: 悪性, 片側 Fisher 検定を実施

表 10-3. 腫瘍性病変(最終屠殺用動物)

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		0	2000	0	2000
全動物	子宮	/	/	49	49
	平滑筋腫 b	/	/	1	0
	子宮内膜腺腫 b	/	/	1	0
	平滑筋肉腫 m	/	/	3	2
	造血系組織	50	50	50	50
	悪性リンパ腫 m	2	0	4	2
	皮膚	2	0	1	1
	肉腫 m	0	0	1	1

b : 良性, m : 悪性, 片側 Fisher 検定を実施

(12) 繁殖毒性および催奇形性

イミダクロプリドのラットの繁殖性に及ぼす影響

(毒性資料 No. 原体-27)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1990年6月21日

検体の純度：

試験動物：ウイスター(Kfm:WIST)系ラット，

1群雌雄各30匹(P世代)，26匹(F1世代)

投与開始時5～6週齢(体重-雄：123～169g，雌：81～137g)

投与期間*：P世代；投与開始からF1b児の離乳時までの約32週間，

F1世代；離乳時からF2b児の離乳時までの約34週間
(1987年11月～1989年2月)

*(再交配のに要した日は含まない)

継代：第2産児

投与方法：

ラット用標準飼料に検体を0、100、250および700ppmの用量になるように添加し動物に自由に摂取させた。

用量設定の根拠；

この投与用量は、本検体を0、20、100および500ppm用量で混餌投与にした一世代繁殖性予備試験(本報告書に添付)に基づいた。この試験では、500ppm群で雌親、児動物共に軽度の摂餌量の低下及び体重増加抑制が認められ、全体的なNOAELは100ppmであった。以上の結果から本試験には0、100、250および700ppmの混餌濃度を選択した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

材料および方法

[親動物]

1. 一般状態および死亡率

全試験期間に一般状態および生死を毎日観察した。

2. 体重、摂餌量及び検体摂取量

交配期間中を除き毎週雌雄共に体重を測定した。

母体については、妊娠中は妊娠0、7、14および21日に測定した。出産後はP世代については出産0、4、7、14、21日、F1世代については出産1、4、7、14、21日に測定した。

摂餌量の測定は、交配期間中を除き体重測定と合わせて週に1回記録した。哺

育期間中の摂餌量は出産 14 日後まで記録した。体重当たりの摂餌量と mg/kg/日
で表示した被験物質の摂取量を算定した。

3. 交配および妊娠の確認

雌雄 1 対 1 で同居させた翌朝、膣塗抹標本を作製し、膣栓あるいは精子を検査
することにより交尾を確認した。

4. 繁殖性に関する指標

平均妊娠期間及び以下の項目について算出した。

$$\text{交尾に要した平均日数} = \frac{\Sigma (\text{交配日数}) \times (\text{各交配日交尾した雌動物数})}{\text{交尾した雌動物数}}$$

$$\text{交尾率 (\%)} = \frac{\text{交尾した雌動物数}}{\text{雄と同居させた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{授精率 (\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{雄と同居させた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = \frac{\text{生存児を有する雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出生率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{出生時生存児数}}{\text{総新生児数}} \times 100$$

$$\text{4 日生存率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{4 日目の調整前の生存児数}}{\text{出生時生存児数}} \times 100$$

$$\text{哺育率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{3 週間後における生存児数}}{\text{4 日目の生存児数(調整後)}} \times 100$$

[§] 各群の指標の算出は各群の新生児総数に基づく。

5. 臨床検査；

F1 親動物について雌雄各群 10 匹を無作為に選抜し、非絶食条件で解剖前にエー
テル麻酔下で後眼窩静脈叢より血液を採取し、以下の血液学的検査、血液性化学
検査に供した。また剖検時に肝臓を採取し、肝薬物代謝酵素の測定に供した。

5.1. 血液学的検査

以下の項目について測定した。

赤血球数, ヘモグロビン量(Hb), ヘマトクリット値(HCT), 平均赤血球血色素量(MCH), 平均赤血球血色素濃度(MCHC), 平均赤血球容積(MCV), 血小板数, 有核赤血球(正赤芽球), 網状赤血球数, 白血球数, 白血球分画, トロンボプラスチン時間(TP), 部分トロンボプラスチン時間(PTT), 赤血球形態

5.2. 血液生化学的検査

以下の項目について測定した。

糖, 尿素, クレアチニン(CREA), 総ビリルビン, 総脂質, 総コレステロール, トリグリセリド, リン脂質, 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), 乳酸脱水素酵素(LDH), クレアチンキナーゼ, アルカリホスファターゼ(ALP), γ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT), カルシウム(Ca), リン(P), ナトリウム(Na), カリウム(K), 塩素(CL), 総蛋白, 蛋白電気泳動,

5.3. 肝薬物代謝酵素測定

肝臓のホモジネート液を用いて、以下の項目について測定した。

トリグリセリド, チトクロム P450, N-デメチラーゼ*, O-デメチラーゼ**

※: 基質/アミノピリン ※※: 基質/4-ニトロアニソール

6. 臓器重量の測定

P 及び F1 世代親動物の全例について、解剖時に、肝臓、精巣、卵巣を測定し、それぞれ対体重比も算出した。

7. 剖検;

P および F1 世代の動物については、それぞれ F1b 又は F2b 新生児を離乳後、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与で麻酔し放血屠殺後、肉眼的に剖検した。

8. 病理組織学的検査

P 及び F1 親動物共に 0ppm および 700ppm 群について、以下の臓器を病理組織学的検査に供した。

肝臓、下垂体、甲状腺、精巣、凝固腺、精巣上体、前立腺、精のう、卵巣、子宮、膣および肉眼的異常部位

[児動物]

1. 児動物の記録

出生時、産児数、死産児数、生存児数、外表異常の有無について調べ、その後一般観察、生死の確認は毎日行った。

性の確認は生後0日及び21日に行い、性比を算出した。

体重はF1a、F1b児については生後0日、4日、7日、14日、21日に測定し、F2a、F2b児については生後1日、4日、7日、14日、21日に測定した。

2. 臓器重量の測定

F1a、F1b、F2a、F2b児動物については用量群ごとに一腹あたり雌雄各1例について離乳時に、肝臓、精巣、卵巣を測定し、それぞれ対体重比も算出した。

3. 剖検

腹児数を削減するために選択した児動物は、生後4日目に屠殺し剖検した。継代用として選択された以外の児動物は、生後21日目に屠殺し剖検した。

4. 病理組織学的検査

0ppm および 700ppm 群の F2b 児動物 (一腹につき雌雄各 1 例) について、以下の臓器を病理組織学的検査に供した。

肝臓、下垂体、甲状腺、精巣、凝固腺、精巣上体、前立腺、精のう、卵巣、子宮、膣および肉眼的異常部位

表 1. 概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(84日間) (交配前)		症状観察(毎日), 体重及び摂餌量の測定(毎週), 発情周期の観察
	交配 (最長 22 日間)	雌雄 1 対 1 で交配, 膣栓又は膣塗抹による精子の確認(妊娠 0 日)	交配状況の観察(交配期間)
	妊娠(21日間)		症状の観察(毎日), 体重(妊娠 0, 4, 7, 14, 21 日)及び摂餌量の測定(妊娠 0, 7, 14, 21 日)
	出産(F1a)...	出産状況の観察 新生児数, 死亡児数, 性比の算定、新生児の体重測定と外表の観察
	哺乳(21日間)	出産後 4 日目各同腹児数を雄 4 匹、雌 4 匹に調整	親動物 症状観察(毎日), 雌体重測定(出産 0, 4, 7, 14, 21 日), 摂餌量(0, 7, 14 日)
			新生児 一般状態の観察(毎日), 生存数及び死亡数(毎日), 性比(生後 21 日), 体重測定(0, 4, 7, 14, 21 日) 生後 4 日目に淘汰された新生児の異常の観察, 剖検 死産児; 剖検, 内臓と脳の検査(Wilson の薄切法),
 離乳	一腹当たり雌雄各 1 匹について臓器重量測定(肝臓, 精巣, 卵巣)及び病理組織検査用として組織を保存
	休養(14日間)		
	交配 (最長 22 日間)	(先に準ずる)	交配状況の観察(交配期間)
	妊娠(21日間)		症状の観察(毎日), 体重(妊娠 0, 4, 7, 14, 21 日)及び摂餌量の測定(妊娠 0, 7, 14, 21 日)
F1	出産(F1b)...	(F1a 児の時に準ずる)
	哺乳(21日間)	(F1a 児に準ずる)	親動物 症状観察(毎日), 雌体重測定(出産 0, 4, 7, 14, 21 日), 摂餌量(出産 0, 7, 14 日)
 離乳	F2b 児について各群雌雄 26 匹ずつ 26 腹から無作為に選抜	新生児 (F1a 児に準ずる) P 世代親動物及び一腹当たり雌雄各 1 匹について臓器重量測定(肝臓, 精巣, 卵巣), 親動物の対照群と最高用量群及び死亡動物について病理組織検査 (P 世代に準ずる)
	生育 (105 日間) (交配前)		
	交配 (最長 21 日間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠(21日間)		(P 世代に準ずる)

表 1. 概要 (続き)

F1	出産 (F2a) …	……………	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	哺育 (21 日間)		(P 世代に準ずる)	親動物 症状観察 (毎日), 雌体重測定 (出産 1, 4, 7, 14, 21 日), 摂餌量 (出産 1, 7, 14 日)
	離乳	……………		新生児 体重測定 (0, 1, 4, 7, 14, 21 日) (その他 F1a 児に準ずる)
	休養 (10 日間)			(F1a 児に準ずる)
	交配 (最長 22 日間)		(P 世代に準ずる)	交配状況の観察 (交配期間)
F2	妊娠 (21 日間)	……………		(P 世代に準ずる)
	出産 (F2b) …	……………		(P 世代に準ずる)
	哺育 (21 日間)		(P 世代に準ずる)	親動物 症状観察 (毎日), 雌体重測定 (出産 1, 4, 7, 14, 21 日), 摂餌量 (1, 7, 14 日)
	離乳	……………		新生児 (F2a 児に準ずる)
				F1 世代親動物各群雌雄 10 匹について血液検査、血液性科学検査、肝組織中での薬物代謝酵素測定 F1 世代親動物及び F2b 動物一腹当たり雌雄各 1 匹について臓器重量測定 (肝臓, 精巣, 卵巣), 親動物の対照群と最高用量群及び死亡動物について病理組織検査

結果

概要を表 10-1、10-2、10-3 に示した。

[親動物に対する影響]

1. 臨床所見および死亡率

検体投与に起因すると考えられる中毒症状はいずれの世代においても認められなかった。

検体投与に起因するとは考えられない死亡例や切迫屠殺例が以下のようにみられた。

P 世代では、交配前期間に 0ppm 群と 100ppm 群でそれぞれ雌 1 例に死亡がみられた。この 2 例は共に一般状態不良となり、そのうち 0ppm の 1 例は体重減少もみられた。更に、0ppm 群の雌 1 例は、F1b 妊娠 3 週目に体重減少が認められ、一般状態の不良が著しかったため、妊娠 21 日目に切迫屠殺した。

F1 世代では 250ppm 群雄 1 例で F2b 児動物を得るための交尾後 14 日目に体重減少がみられ状態が悪かったため切迫屠殺した。100ppm 群の雄 1 例は血液採取後死亡した。

P 世代、F1 世代共に 700ppm では死亡は認められなかった。

上記の死亡は偶発的で検体投与によるものではないと判断された。

2. 体重

雄では以下の通りであった。

P 世代では交配前期間中に、700ppm で増体重の抑制が認められた。交配期間後(交 F1a 児動物のための交配後～F1b のための交配前までの 56 日間)の体重増加量は対照群の体重増加量と同等となったが、交配前期間中に発現した平均体重の減少はそのまま残っていた。250ppm 以下の用量では交配期間及び交配後期間を通じて、対照群の平均体重と体重増加量と同等であった。

F1 世代では 700ppm 群において F1b 児動物の離乳時の平均体重が少なかったために、交配前期間の最初の 22 日目までは、統計的に有意な平均体重の減少が認められた。残りの交配前期間では、その値は対照群と比較した時わずかに減少していたのみであった。体重増加率を 700ppm 群と対照群で比べた時、700ppm のほうが、対照群よりわずかに高く、交配後期間は同様であった。従って F1 雄の体重に対する検体の影響は、700ppm では試験期間を通じて影響がないと判断された。250ppm 以下の用量では、F1 世代雄の体重に検体投与の影響はなかった。

雌では以下の通りであった。

P 世代では 700ppm 群において投与第 4 週目まで増体重の抑制が明らかであった。この 4 週間に生じた平均体重の低下は試験を通して持続した。

F1 世代では 700ppm 群において平均体重の低下を認めた。しかしながら 0ppm 群と比較して体重増加量は同様であった。この試験全期間中の統計的に有意な体重平均値の低下は、F1b 児動物における離乳時までの低体重が原因していると考えられた。250ppm 以下では体重増加に対する検体の影響は P 世代でも F1 世代でも認められなかった。

3. 摂餌量および検体摂取量(表 2)

雄では P 世代の 700ppm 群で摂餌量の減少が、交配前期間中特に 22~57 日目に観察された。F1 世代の 700ppm 群では摂餌量に对照群との差はみられなかった。100ppm と 250ppm の P と F1 両世代では、摂餌量は時に有意な差が認められたが、对照群のそれと同様であった。

雌では P 世代、F1 世代共に 700ppm 群で摂餌量が交配前期間から全期間を通して減少した。P 世代 100ppm と 250ppm 群の摂餌量には影響がなかった。F1 世代 250ppm 群において、F2b 児動物を妊娠及び哺育期間中にわずかながら对照群に比べ摂餌量の減少がみられたが、これは主にこの群の児動物平均数がわずかに減少した事に起因しており、検体の投与による特異的作用ではないと判断された。尚、同群において交配前期間及び F2a 児動物の妊娠と哺育期間中の摂餌量は对照群のそれと同様であった。F1 世代 100ppm 群の摂餌量は全期間とも検体の影響は認められなかった。

表 2 検体摂取量(mg/kg 体重/日)[交配前期間]

用量(ppm)	雄			雌		
	100	250	700	100	250	700
P 世代	8.08	20.08	56.50	8.83	22.08	62.75
F1 世代	8.00	20.58	59.08	9.00	23.58	63.30

4. 繁殖能

P 世代、F1 世代共に交尾率、授精率、受胎率、出産率、交尾までの平均期間、平均妊娠期間に関して、对照群と 700ppm 群を含む全ての検体投与群の間に毒性学的に意味のある差は認められなかった。

5. 臨床検査

血液学的検査と生化学的検査の血液試料は、F1 親動物の中から各群雌雄当り、それぞれ 10 匹を無作為に選抜し剖検前に後眼窩静脈叢から血液を採取した。採取時、動物は非絶食でエーテルで麻酔されていた。肝臓試料はこれらの動物から採取した。

5.1. 血液学的検査

以下の項目について検査した。

赤血球数, ヘモグロビン量(Hb), ヘマトクリット値(HCT), 平均赤血球血色素量(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, 有核赤血球数(正赤芽球), 赤血球形態, 白血球数, 白血球分画, 血小板, トロンボプラスチン時間(TP), 部分トロンボプラスチン時間(PTT)

表 3 に示すようにいくつか統計学的に有意な差が認められたが、全ての値は背景データ範囲内*にあった。従って、いずれの血液学的検査項目においても本検体の影響は認められなかった。

表 3 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄			雌		
	100	250	700	100	250	700
網状赤血球						↑ 118
白血球			↑ 129			
白血球分画 好酸球		↓ 50				
分葉核球						↓ 66
リンパ球						↑ 115
PT	↓ 96					
PTT				↑ 117		

↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (Dunnett),

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

[背景データ]

網状赤血球; ♀0.013~0.037, 白血球; ♂4.4~9.8 g/L, 好酸球; ♂0.00~0.05,

分葉核; ♀0.11~0.36, リンパ球; ♀1.69~5.30, PT; ♂12.4~14.6 sec, PTT; ♀15.0~23.3 sec

5-2. 生化学的検査

以下の項目について検査した。

グルコース(GLUC), 尿素, クレアチニン(CREA), 総ビリルビン(BIL-t), 総脂質, 総コレステロール(CHOL), トリグリセリド(TRIGL), リン脂質, 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), 乳酸脱水素酵素(LDH), クレアチンキナーゼ(CK), アルカリホスファターゼ(ALP), γ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT), カルシウム(Ca), リン(P), ナトリウム(Na), カリウム(K), 塩素(CL), 総蛋白(TP), 蛋白電気泳動

表 4 に示すようにいくつか統計学的に有意な差が認められたが、背景データ範囲内にあり(一部は対照群も背景データ外の数値を示す)、従って、いずれの生化学的検査項目においても本検体の影響は認められなかった。

表 4 生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄			雌		
	用量 (ppm)	100	250	700	100	250
ALAT					↓69	
ALP					↓53	
CK				↓63	↓38	↓65
CREA		↑113		↑113		
塩素				↓98		
GLUC				↑109		
K				↑114		
蛋白電気泳動						
α1-GLOB(相対)						↓95
総β-GLOB(相対)						↑116
γ-GLOB(相対)				↑134		
γ-GLOB(実測値)				↑132	↑147	

↑ ↓ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (Dunnett)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

[背景データ]

ALAT ; ♀0.32~2.29 μkat/L, ALP ; ♀0.43~1.51 μkat/L,
 CK ; ♀0.98±0.49 μkat/L(平均値±SD), GLUC ; ♀5.13~8.35 mmol/L, CREA ; ♂36~81 μmol/L,
 K ; ♀2.82~4.18 mmol/L, 塩素 ; ♂103.9~118.5 mmol/L, α1-GLOB(相対) ; ♀0.090~0.142,
 総β-GLOB(相対) ; ♀0.165~0.239, γ-GLOB(相対) ; ♂0.033~0.091,
 γ-GLOB(実測値) ; ♂2.3~7.0, ♀2.8~7.9 g/L

5-3. 肝臓試料の検査(表 5)

以下の項目について検査した。

トリグリセリド, チトクローム P-450, N-デメチラーゼ(N-DEM), O-デメチラーゼ(O-DEM)

700ppm 群の雄では、肝臓のチトクローム P-450 と N-DEM 活性の軽度で統計的に有意な増加が、また同群雌雄と 250ppm 群の雌に O-DEM 活性の軽度の増加が認められた事から、異物代謝反応としての混合機能オキシダーゼ活性の軽度の誘導を反映している可能性があったものと考えられた。しかしながら肝臓由来の血漿酸素、血漿ビリルビン、肝臓のトリグリセリドの増加や肝毒性を示唆するような肝臓の形態学的変化は認められなかったため、ここでみられた薬物代謝酵素の増加は異物代謝に伴う適応性反応とみなされた。

表 5 肝臓試料中の検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄			雌		
	用量 (ppm)	100	250	700	100	250
P450				↑126		
N-DEM**				↑118	↓75	
O-DEM***				↑136	↑123	↑137

↑ ↓ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (Dunnett) ,

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

※ : 基質/アミノピリン ※※ : 基質/4-ニトロアニソール

6. 臓器重量(表 6)

P 世代及び F1 世代の雌雄について、剖検時に肝臓、精巣、卵巢重量を測定した。また対体重比を算出するため、体重も測定した。

P 世代では、肝臓、精巣、卵巢の実重量、対体重比について、対照群と検体投与群で統計学的に有意な差は認められなかった。

F1 世代雄では、肝臓と精巣の実重量及び対体重比重量は、全群において同様であった。F1 世代雌では 250ppm 群以下では肝臓、卵巢に対照群との差は認められなかった。700ppm で卵巢実重量が 0ppm 群と比較して統計的に減少した。卵巢は、肉眼的及び組織学的に異常を示さず、対体重比は、対照群雌のそれと同様であったことから、この所見は体重平均値の減少と関連があるものと判断された。また同群雌では肝臓重量に検体投与に起因した差は認められなかった。

表 6 臓器重量 (有意差の認められた項目)

世代		F1 世代					
性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	250	700	100	250	700
体重							↓93
卵巢	実重量	-	-	-			↓87
	対体重比	-	-	-			
精巣	実重量				-	-	-
	対体重比	↓91			-	-	-

↑ ↓ : p<0.05 , ↓ : p<0.01,

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

7. 剖検

P 世代及び F1 世代共に、検体に起因すると考えられる所見は全群を通じて認められなかった。

8. 病理組織学的検査(表 7)

対照群と最高投与群及び途中死亡動物について、凝固腺、精巣上体、肝臓、卵巢、下垂体、前立腺、精のう、精巣、甲状腺、子宮及び膈を検査した。更に第 2 回目の交配で妊娠に失敗した親の雄の生殖器官も検査した。

表に示したように、P 世代、F1 世代共に検体投与に起因すると考えられる形態的な異常の発生頻度の増加は認められなかった。本試験で認められた全ての病理所見は、この系のラットの齢に自然発生的にみられる変化で正常範囲内の変化と考えられた。

表 7. 主な病理組織学的所見

	用量 (ppm)	P 世代				F1 世代			
		雄		雌		雄		雌	
所見		0	700	0	700	0	700	0	700
肝臓	検査数	30	30	30	30	26	26	26	26
グリコーゲン貯留		12	8	0	4	12	6	8	2
限局性脂肪化		1	1	1	1	1	2	0	0
単核細胞浸潤		8	10	6	3	9	7	6	2
精巣	検査数	30	30	-	-	26	26	-	-
精細管鉍質沈着		1	2	-	-	0	1	-	-
精細管萎縮		1	2	-	-	0	1	-	-
精巣上体	検査数	30	30	-	-	26	26	-	-
精子の減少		11	9	-	-	11	4	-	-
精巣上体管萎縮		0	0	-	-	0	1	-	-
前立腺	検査数	30	30	-	-	26	26	-	-
単核細胞浸潤		1	0	-	-	4	1	-	-
上皮過形成		0	0	-	-	1	1	-	-
卵巣	検査数	-	-	30	30	-	-	26	26
のう胞		-	-	1	0	-	-	0	0
限局性鉍質沈着		-	-	0	1	-	-	0	1
子宮	検査数	-	-	29	30	-	-	26	26
胎盤形成部位		-	-	20	13	-	-	19	19
甲状腺	検査数	30	30	30	30	26	26	26	26
舌管遺残		3	3	2	1	4	4	2	1
胸腺遺残		0	0	0	2	1	0	1	0
単核細胞浸潤		0	2	0	0	0	0	0	0
C-細胞限局性過形成		1	0	0	1	1	0	0	1
下垂体	検査数	30	30	30	28	26	26	26	25
のう胞		5	6	1	1	1	0	0	0
限局性過形成		3	1	2	0	3	3	0	0
腺腫		0	0	0	0	0	0	1	0

[児動物に対する影響]

1. 出生時のデータ

新生児数、死亡児数、出生率、性比、同腹児数(生存児のみ)について、F1 児動物、F2 児動物共に 700ppm まで何ら影響は認められなかった。

2. 新生児の臨床観察

児動物の外表検査では、700ppm の最高濃度まで、投与に起因すると判断される異常所見を認めなかった。また 3 週間の哺育期間中においても、F1 および F2 児動物共に 700ppm まで特記すべき臨床症状は認められなかった。

哺育 21 日目において、性比にも検体投与群に影響はみられなかった。

3. 新生児の体重

F1a の児動物の出生 0 日目の平均体重は、全群で同様であった。哺育期間中において 700ppm 群で出生 4 日後から統計学的に有意な増体重抑制(雌雄動物の合算値)がみられ、出生 21 日後の平均体重は 0ppm 群よりも 13.4%低かった。100ppm で出生 21 日後に対照値との差が有意に認められた (-3.4%) が、250ppm 群では対照群との差はみられておらず、差もわずかなことからこの所見は偶発的なものと判断された。

F1b 児動物では、全投与群の出生当日の平均体重は、対照群に比べ 3.6%まで増加した。この差は統計的に有意であったが検体の投与に起因するとは考えられなかった。哺育期間において、700ppm 群で出生後 7 日目から 21 日目まで、対照群に比べ平均体重の減少がみられたが、100 及び 250ppm 群では、検体投与に起因する影響は認められなかった。

F2a 児動物の出生 0 日目又は 1 日目の平均体重は、全群で同様であった。700ppm 群では、哺育期間の 7 日目から 21 日目の平均体重が、0ppm 群と比較して有意に減少した。250ppm 群では平均体重の有意な低下が、対照群のそれと比較した時、出生 7 日目に認められた。この差は非常に小さく、出生 7 日目のみで認められているので、偶発的で検体の投与には関連しない所見であると判断した。100ppm 群において体重に対する検体投与の影響は認められなかった。

F2b 児動物では、700pp 群では、平均体重の有意な低下と増体重の抑制が認められた。250ppm 群では、平均体重が出生 21 日目にわずかだが有意に減少した。この所見は、2 例の親の児動物の体重が比較的少なかった事に起因しており、偶発的で検体に起因するものではないと判断された。100ppm 群では出生 1 日目の平均体重が 6.3g となり対照群(平均;6.5g)との比較では、統計的に有意な減少となった。しかしながら 250ppm 群で減少が認められていないこと、また出生 1 日目のみであることから、検体の影響ではないものと判断した。

以上のことから、700ppm の F1a、F1b、F2a 及び F2b 児動物でみられた平均体重の低下と増体重の抑制は、検体に起因するものと判断された。

4. 新生児の生存率および哺育率

4日後生存率、哺育率に関して、F1児、F2児共に、投与群と対照群との間に差は認められなかった。

5. 新生児の臓器重量(表8)

生後21日目に腹毎雌雄各1例について、肝臓、精巣、卵巣重量を測定した。対体重比も算出した。

F1a児動物では700ppmで肝臓、精巣、卵巣の実重量の統計学的に有意な低下、F1b児動物では肝臓実重量の減少、精巣の対体重比の増加が認められたが、これは平均体重の低下に関連した変化と考えられた。F2b児動物の700ppm群の雄で認められた肝臓実重量の軽度な減少も体重減少に関連した変化と考えられた。更にF2a児動物250ppm群雌で卵巣の実重量及び対体重比の増加がみられたが、用量相関性が明らかでなく、F2b世代雌の児動物には同様の所見がないので偶発的に起ったものと判断された。全ての世代の児動物において検体100ppm群では、肝臓、精巣又は卵巣重量に、0ppm群と比べて有意な差を認めなかった。

表8 臓器重量(有意差の認められた項目)

世代	F1a						F1b					
	雄			雌			雄			雌		
用量(ppm)	100	250	700	100	250	700	100	250	700	100	250	700
体重			↓85			↓85			↓88			↓92
A			↓83			↓85			↓87			↓91
R												
-	A		↓88	-		-				-	-	-
-	R			-		-			↑106	-	-	-
	A	-	-	-		↓75	-	-	-			
	R	-	-	-			-	-	-			
世代	F2a						F2b					
性別	雄			雌			雄			雌		
用量(ppm)	100	250	700	100	250	700	100	250	700	100	250	700
体重			↓91						↓91			↓91
肝臓	A								↓90			
	R											
精巣	A			-	-	-				-	-	-
	R			-	-	-				-	-	-
卵巣	A	-	-	-		↑124						
	R	-	-	-		↑123						

A:実重量, R:対体重比

↑ ↓ : p<0.05, ↓ : p<0.01 (Dunnett 検定),

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

6. 新生児又は離乳児の剖検

出生 4 日後に淘汰された余剰の児動物について剖検した。また F1a、F1b、F2a、F2b 児動物は、離乳時に各腹雌雄 1 例について剖検した。

F1 および F2 児動物共に 700ppm まで検体に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。

7. F2b 児動物の病理組織学的検査

対照群と最高投与群の各腹毎雌雄 1 例について、凝固腺、精巣上体、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、精のう、精巣、甲状腺、子宮及び膈を検査した。

F2b 児動物の 700ppm 群で検体に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

表 9. 主な病理組織学的所見

		F2b 児動物			
		雄		雌	
所見	用量 (ppm)	0	700	0	700
肝臓	検査数	24	25	24	26
グリコーゲン貯留		12	5	6	7
髄外造血		16	12	15	9
単核細胞浸潤		3	2	0	1
前立腺	検査数	22	24	-	-
単核細胞浸潤		3	0	-	-
甲状腺	検査数	24	25	24	26
舌管遺残		3	5	6	7
胸腺遺残		1	0	1	0
下垂体	検査数	24	24	24	26
のう胞		1	0	0	0
髄外造血		1	0	0	0

結果は以下のとおりであった。

親動物に対する毒性

P 世代、F1 世代共に、700ppm 群で体重及び摂餌量の低下が認められた。以上のことから、親に対する無毒性量 (NOAEL) は雌雄共に 250ppm とした。

繁殖性に対する毒性

交尾率、授精率、受胎率、出産率、妊娠期間、出生時体重、総新生児数、死亡児数、出生率、性比、平均同腹児数、交尾達成期間には 700ppm まで、両世代共に影響は認められなかった。

以上のことから、繁殖性に対する無毒性量 (NOAEL) は雌雄共に 700ppm とした。

児動物に対する毒性

F1a、F1b、F2a、F2b 児動物共に、700ppm で体重増加抑制が認められた。一方、最高用量である 700ppm においても、検体に関連した臨床症状は認められず、生存率、哺育率に変化はみられず、また剖検所見、病理組織学的検査においても異常はみられなかった。

以上のことから、児動物に対する無毒性量 (NOAEL) は雌雄共に 250ppm であった。

以上の結果から無毒性量は親動物、児動物に対する影響をもとに、250ppm (雄 : 20.1mg/kg/日、雌 : 22.1mg/kg/日) を設定した。

表 10-1 総括表(親動物)

世代 投与用量(ppm)	親 : P					親 : F ₁			
	*	0	100	250	700	0	100	250	700
動物数 ♂		30	30	30	30	26	26	26	26
♀		30	30	30	30	26	26	26	26
摂餌量 [∞] ♂		23.6	23.5	22.8	22.0	23.8	24.9	24.2	23.6
(g/kg 体重/日) ♀		16.7	16.5	16.9	15.9	17.4	16.8	17.2	16.0
検体摂取量 [∞] ♂			8.1	20.1	56.5		8.00	20.6	59.1
(mg/kg 体重/日) ♀			8.8	22.1	62.8		9.00	23.6	63.3
死亡/屠殺動物		2(♀)	1(♀)	0	0	0	1(♂)*	1(♂)	0
一般観察		検体投与に関連した所見なし				検体投与に関連した所見なし			
体重					↓♂♀				↓♀
摂餌量					↓♂♀				↓♂♀
妊娠期間(日)	a	22.2	22.1	22.3	22.1	22.4	22.3	22.3	22.3
	b	22.0	22.1	22.1	22.1	21.9	21.9	22.0	21.8
交尾達成期間(日)	a	3.4	2.8	2.2	3.8	3.7	2.8	2.8	2.0
	b	2.8	2.7	2.9	4.0	2.6	4.4	2.9	3.4
交尾率(%) [§]	a	100	96.0	100	100	100	100	100	100
	b	100	100	100	100	96.2	100	100	100
授精率(%) [§]	a	100	96.3	93.3	96.7	84.6	88.5	84.6	96.2
	b	93.1	93.1	93.3	90.0	92.3	76.9	100	100
受胎率(%) [§]	a	100	100	93.3	96.7	84.6	88.5	84.6	96.2
	b	93.1	93.1	93.3	90.0	96.0	76.9	100	100
出産率(%) [△]	a	100	100	100	100	100	100	100	100
	b	100	100	100	100	100	100	100	100
血液学的検査		/	/	/	/	検体投与に関連した変動なし			
血液生化学的検査		/	/	/	/	検体投与に関連した変動なし			
肝薬物代謝酵素		/	/	/	/	毒性学的に意味のある誘導なし			
剖検		検体投与に関連した所見なし				検体投与に関連した所見なし			
体重(剖検時)									↓♀
卵巣重量									↓A
精巣重量							↓R		
病理組織学的検査			/	/	*		/	/	*

/ : 検査せず

∞: 交配前期間の平均摂取量

A : 臓器実重量, R : 対体重比,

↓ ; P<0.05, ↓↓ ; P<0.01 (Dunnett 検定),

* ; 採血後の事故死

a ; F1a 産児/F2a 産児のため, b ; F1b 産児/F2b 産児のため

* ; 検体投与に関連した所見なし

表 10-2 総括表(児動物)

世代 投与用量(ppm)		児 : F ₁				児 : F ₂			
		0	100	250	700	0	100	250	700
総新生児数 (出生時)	a	315	298	331	312	228	256	202	239
	b	320	304	318	284	265	204	237	279
生存児数(出生時)	a	310	294	325	310	222	254	197	239
	b	320	303	313	283	260	202	229	278
死亡児数(出生時)	a	5	4	6	2	6	2	5	0
	b	0	1	5	1	5	2	8	1
出生率(%)	a	98.4	98.7	98.2	99.4	97.4	99.2	97.5	100
	b	100	98.7	98.4	99.6	98.1	99.0	96.6	99.6
性比(%) 雄	a	51.3	49.7	49.5	51.0	50.9	53.1	46.2	47.7
	b	44.7	44.9	45.4	46.3	48.1	52.0	46.3	50.4
出生時同腹児数 ¹⁾	a	10.7	10.5	11.6	10.7	10.1	11.0	9.0	9.6
	b	11.9	11.2	11.2	10.5	10.8	10.1	8.8	10.7
4日生存率(%)	a	96.5	94.2	96.3	96.5	91.0	95.7	95.9	97.9
	b	98.4	98.0	97.8	97.2	97.7	98.0	96.9	98.2
哺育率(%)	a	92.0	93.6	95.5	89.4	99.3	99.4	95.3	99.4
	b	94.8	99.1	97.3	90.2	97.8	97.3	96.6	94.4
体重(剖検時)	a				↓♂♀				↓♂
	b				↓♂♀				↓♂♀
肝臓重量	a				A↓♂♀				
	b				A↓♂↓♀				A↓♀
精巣重量	a				A↓				
	b				R↑				
卵巣重量	a				A↓			AR↑	
	b								
剖検	a	検体投与に関連した所見なし				検体投与に関連した所見なし			
	b	検体投与に関連した所見なし				検体投与に関連した所見なし			
病理組織学的検査	a	/	/	/	/	/	/	/	/
	b	/	/	/	/	/	/	/	*

A:臓器実重量, R:対体重比,

/: 検査せず

↑↓; P<0.05, ↓; P<0.01 (Dunnett 検定)

*: 検体投与に関連した所見なし

表 10-3 総括表(児動物)

世代 投与用量(ppm)		児 : F ₁				児 : F ₂				
		0	100	250	700	0	100	250	700	
体重 0 日	♂	a	5.7	5.7	5.7	5.8	5.9	6.0	5.9	5.8
		b	5.8	5.9	5.9	6.1	6.0	6.2	5.5	5.4
	♀	a	5.4	5.5	5.4	5.4	5.7	5.3	5.6	5.6
		b	5.4	5.6	5.7	5.6	5.8	5.6	5.4	5.1
	♂+♀	a	5.5	5.6	5.6↑	5.6↑	5.8	5.6	5.7	5.7
		b	5.6	5.8↑	5.8↑	5.8↑	5.9	5.8	5.5	5.3
1 日	♂	a	/	/	/	/	6.4	6.3	6.2	6.2
		b	/	/	/	/	6.6	6.5	6.7	6.2
	♀	a	/	/	/	/	6.1	6.0	6.0	6.0
		b	/	/	/	/	6.3	6.1	6.3	6.0
	♂+♀	a	/	/	/	/	6.2	6.1	6.1	6.1
		b	/	/	/	/	6.5	6.3↓	6.5	6.1↓
4 日(選抜後)♂	♂	a	9.0	9.0	9.2	8.5	9.4	9.3	9.2	9.1
		b	9.0	9.3	9.5	9.4	10.0	9.7	9.9	8.9
	♀	a	8.8	8.9	8.9	8.1	9.3	9.2	8.9	8.8
		b	8.7	9.0	9.5	8.9	9.5	9.3	9.4	8.9
	♂+♀	a	8.9	8.9	9.0	8.3↓	9.3	9.3	9.1	9.0
		b	8.9	9.2↑	9.5↑	9.1	9.7	9.5	9.6	8.9↓
7 日	♂	a	13.8	13.7	14.3	12.6	15.2	15.1	14.6	14.4
		b	15.0	15.5	15.3	14.2	15.9	15.7	15.3	14.2
	♀	a	13.8	13.4	14.0	12.4	14.7	14.7	14.2	13.8
		b	14.2	14.9	15.3	13.9	15.3	15.2	14.9	14.2
	♂+♀	a	13.8	13.6	14.1	12.5↓	15.0	14.9	14.4↓	14.1↓
		b	14.6	15.2↑	15.3↑	14.0↓	15.6	15.5	15.1	14.2↓
14 日	♂	a	28.0	28.0	28.8	25.3	29.5	29.5	28.9	27.5
		b	31.2	31.2	30.9	28.6	31.6	31.9	30.8	28.9
	♀	a	28.7	27.5	28.5	24.8	29.4	29.2	29.0	26.8
		b	30.2	30.2	30.9	28.1	31.0	31.0	30.3	28.4
	♂+♀	a	28.3	27.8	28.6	25.0↓	29.5	29.3	28.9	27.1↓
		b	30.7	30.7	30.9	28.3↓	31.3	31.4	30.6	28.6↓
21 日	♂	a	47.4	46.2	47.1	41.4	44.5	44.6	44.1	40.6
		b	51.0	51.6	50.2	45.8	51.6	51.3	49.6	46.7
	♀	a	46.8	44.8	45.8	40.2	44.1	43.9	43.1	39.9
		b	48.8	49.1	49.2	44.3	49.8	49.7	47.8	45.4
	♂+♀	a	47.1	45.5↓	46.4	40.8↓	44.3	44.3	43.6	40.3↓
		b	49.8	50.2	49.7	45.0↓	50.7	50.5	48.7↓	46.0↓

↑ ↓ ; P<0.05 (Dunnett 検定)