

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 T-17)

検体の純度:

供試動物: 日本在来種白色ウサギ、8~12 週齢、体重; 2.0~2.5kg、
非洗眼群雄 6 匹、洗眼群雄 3 匹

観察期間: 72 時間

投与方法: 乳鉢で磨砕した検体 0.1g を片側の眼に適用し、3 匹(洗眼群)は 3 分後に、6 匹(非洗眼群)は 24 時間後に洗眼した。

観察項目: 適用 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、EPAガイドライン(1982 年)に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。
非洗眼群で結膜の発赤が全例に、浮腫が 2 例にみられたが、これらの症状は適用 72 時間後に消失した。洗眼群で結膜に発赤が 2 例に認められたが、適用 24 時間後に消失した。

以上の結果から、イソプロチオラン原体はウサギの眼に対して、わずかな刺激性があるものと考えられる。洗眼により、刺激性は軽減された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

群	動物 番号	項目	** 最高 評点	暴露後時間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非 洗 眼 群	1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物	3	1	0	0	0
	2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物	3	1	0	0	0
	3	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物	3	1	0	0	0
	4	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	1	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物	3	2	0	0	0
5	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物	3	1	0	0	0	
6	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌物	3	2	0	0	0	
合計			660	34	10	2	0	
平均*			110	5.7	1.7	0.3	0	
洗 眼 群 (3 匹 平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	2	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	
	平均*			110	2.3	0	0	0

*: Draize 法による評価点(最高 110 点)

** : 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4)ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料T-77)

[GLP 対応]

検体の純度:

供試動物 : 日本白色種雌ウサギ、15 週齢、体重; 2.47~2.70kg、非洗眼群・洗眼群各 3 匹

観察期間 : 96 時間

投与方法 : 検体 0.1g を左眼に適用し、洗眼群の 3 匹は 30 秒後に洗眼した。非洗眼群の 3 匹は洗眼しなかった。

観察項目 : 適用 1、24、48、72 および 96 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は次表(次頁)の通りである。
非洗眼群および洗眼群ともに、角膜および虹彩の刺激性変化は観察されなかった。結膜の発赤が両群に観察され、非洗眼群では適用 96 時間後までに、洗眼群では適用 24 時間後にそれぞれ消失した。結膜の浮腫および分泌物は両群とも適用 1 時間後にのみ観察された。

以上の結果から、Kay and Calandra の分類基準に従って、イソプロチオラン原体はウサギの眼に対して「ごく軽度の刺激性あり」に分類された。また、洗眼効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

項 目				最高 評点	適用後時間					
					1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	
非洗眼群	動物 番号 1101	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	0	
			混濁面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	1	1	1	0	
			浮 腫	4	1	0	0	0	0	
			分 泌 物	3	2	0	0	0	0	
	動物 番号 1102	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	0	
			混濁面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	1	0	0	0	
			浮 腫	4	1	0	0	0	0	
			分 泌 物	3	2	0	0	0	0	
	動物 番号 1103	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	0	
			混濁面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	1	1	1	0	
			浮 腫	4	1	0	0	0	0	
			分 泌 物	3	1	0	0	0	0	
3 匹の Draize 法による評価点の合計				330	22	6	4	4	0	
3 匹の Draize 法による評価点の平均				110	7.3	2.0	1.3	1.3	0	
洗眼群 (3 匹平均)	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	0		
		混濁面積	4	0	0	0	0	0		
	虹彩			2	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	1	0	0	0	0		
		浮 腫	4	1	0	0	0	0		
		分 泌 物	3	0.3	0	0	0	0		
3 匹の Draize 法による評価点の平均				110	4.7	0	0	0	0	

(3) 皮膚感作性

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-25)

検体の純度:

供試動物: ハートレー系モルモット、体重;264~356g、1群雌 20匹、
陽性対照群雌 10匹、刺激性対照群各雌 10匹

観察期間: 48時間

試験操作: [Maximization法]

感作 I (皮内投与); 肩甲骨間を電気バリカンで刈毛し、更に脱毛クリームで脱毛した(4×6 cm)。検体をトリ-n-カプリリンで10%に溶解したもの、および同様に20%に溶解した検体溶液に Freund's Complete Adjuvant(FCA)を1:1で混合したもの、各0.05mLずつを皮内注射した。なお、対照として蒸留水で希釈した50%FCAを同様に皮内投与した。陽性対照のDNCBは適用濃度をトリ-n-カプリリンで溶解し0.05%とし、検体群と同様に皮内投与した。

感作 II (局所塗布); 1週間後、10%検体トリ-n-カプリリン懸濁液の0.5mLを48時間閉塞貼付した。なお感作IIの処理24時間前に感作増強剤として、10%ラウリル硫酸ナトリウムを塗布した。一方、陽性対照群には、0.05%のDNCB溶液0.5mLを同様に閉鎖貼付した。

惹起; 感作IIの2週間後、左側腹部を感作時と同様に除毛し、10%検体トリ-n-カプリリン懸濁液を24時間閉塞貼付した。また、貼付除去3日後に右側腹部を用いて同様の方法で再惹起した。陽性対照群には、0.05%DNCBを用いて同様に処理した(2回目の惹起処理は行わなかった)。またそれぞれの刺激性対照として、惹起時のみ検体または陽性対照物質を貼付した群を設けた。

観察項目: 惹起および再惹起の閉塞貼付除去24および48時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、下表の基準に従い採点した。

皮膚反応	評点
紅斑なし	0
弱い散在性の紅斑	1
中等度のびまん性紅斑	2
強度の紅斑および浮腫	3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果： 各観察時間における感作性変化が認められた動物数は下表のとおりである。

	群		供試動物数	感作反応動物数								陽性率(%)			
				24 時間後				48 時間後				24 時間	48 時間		
	感作	惹起		皮膚反応評点				計	皮膚反応評点					計	
0			1	2	3	0	1		2	3					
検体	10% 検体	10% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	無処置	10% 検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性対照	0.05% DNCB	0.05% DNCB	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100
	無処置	0.05% DNCB	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0

検体処理群において、いずれの観察時間にも陽性反応を示さなかった。陽性対照群では、極度の感作性が認められた。また、検体群および DNCB 群のいずれの刺激性対照群においても皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、イソプロチオラン原体はモルモットの皮膚に対して、感作性を示さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-78)

検体の純度 :

供試動物 : Hartley 系雌モルモット、6 週齢、体重: 349~430g、検体処理群 20 匹、検体非処理群 10 匹

観察期間 : 惹起後 48 時間

試験操作 : Maximization 法

投与量設定根拠 :

感 作 ; 肩甲骨部を刈毛および剃毛し、検体の 5%オリーブ油懸濁液および 5%オリーブ油-FCA 混合液を皮内注射した。その 1 週間後、検体の 50%オリーブ油懸濁液を 48 時間閉塞貼付した。なお、検体非処理群の感作時には、オリーブ油およびオリーブ油-FCA 混合液の皮内注射ならびにオリーブ油の閉塞貼付を行った。

惹 起 ; 最終感作の 2 週間後に、刈毛および剃毛した左側胴部に検体の 25%アセトン懸濁液を 24 時間閉塞貼付した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

観察項目 : 惹起 24 および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に従い採点した。

肉眼的変化なし	0
散在性または斑状の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

結 果 : 惹起後の各観察時間における結果を次表(次頁)に示す。
検体非処理群においては、惹起後のいずれの観察時間においても皮膚反応がみられなかったのに対し、検体処理群では 24 および 48 時間後ともに全 20 例に皮膚反応が認められた。陽性率は 100%であり、検体は皮膚感作性を示すと判断された。一方、背景データでは、陽性対照処理群において全動物に明瞭な皮膚反応が認められ、本試験施設における試験系の妥当性が確認された。

以上の結果から、Magnusson & Kligman の分類基準に従い、イソプロチオラン原体はモルモットを用いた Maximization 法による皮膚感作性試験において感作性を示すと判断された。

モルモット皮膚感作性試験の結果表

群		感作 ^a	惹起	供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)			
					24 時間後				48 時間後				陽性率 (%)			
					皮膚反応評点				皮膚反応評点							
					0	1	2	3	計 ^b	0	1	2	3	計 ^b	24 時間後	48 時間後
検体	処理	5%検体 50%検体	25%検体	20	0	3	7	10	20/20	0	5	3	12	20/20	100	100
	非処理	オリーブ油 オリーブ油	25%検体	10	10	0	0	0	/	10	0	0	0	/	/	/
陽性 対照 物質。	処理	0.1%DNCB ^d	0.1%DNCB	10	0	1	1	8	10/10	0	2	2	6	10/10	100	100
		0.1%DNCB	アセトン	10	10	0	0	0	/	10	0	0	0	/	/	/
	非処理	オリーブ油	0.1%DNCB	5	5	0	0	0	/	5	0	0	0	/	/	/
		オリーブ油	アセトン	5	5	0	0	0	/	5	0	0	0	/	/	/

a: 上段は皮内感作、下段は経皮感作

b: 感作反応動物数/有効動物数

c: (株)ボゾリサーチセンターで2010年3月16日から2010年5月27日に実施した試験

d: 2,4-ジニトロクロロベンゼン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4). 急性神経毒性

試験省略

試験省略理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

試験省略

試験省略理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(6). 90日間反復経口投与毒性

1) ラットを用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験

(資料 T-29)

検体の純度:

供試動物: SD系ラット、体重;雄 100~130g 雌 90~115g、1群雌雄各 10匹

投与期間: 雄 112日間 (1971年5月12日~1971年9月1日)

雌 113日間 (1971年5月12日~1971年9月2日)

投与方法: 検体を 0、20、100、300、900 および 2700ppm の濃度で飼料に混入し、112~113 日間にわたって随時摂取させた。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日観察した。

一般状態に異常は認められなかった。急性肺炎で 20ppm 群の雄 1 匹が死亡した。

体重変化: 毎週 1 回、生存動物の体重を測定した。

2700ppm 群の雌で、体重増加量が 21 日目以降、統計学的に有意に減少した。

摂餌量および食餌効率: 3~4 日毎に摂餌量を測定し、食餌効率を算出した。

食餌効率が全投与群で、2ヵ月後まで減少傾向を示した。摂餌量に変化はなかった。

検体摂取量: 検体摂取量を下表に示した。

投与量(ppm)		20	100	300	900	2700
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.17	5.92	17.28	53.04	157.61
	雌	0.69	7.27	21.56	61.67	182.48

血液学的検査: 投与終了時の生存動物を対象に、心臓穿刺で採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、全血比重

対照群と比べ統計学的有意差が認められた項目を次頁の表に示した。

変化は雌にみられ、900ppm 以上の群で赤血球数が増加し、2700ppm 群でヘマトクリット値が減少した。しかし、赤血球数の測定で誤操作が多少あったことより、検体投与の影響かどうかは判断できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

性別	雄					雌					
	投与量(ppm)	20	100	300	900	2700	20	100	300	900	2700
赤血球数											
ヘマトクリット値											

↓↑: $p < 0.05$ (検定法: 記載なし)

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。

血液生化学的検査; 血液学的検査で使用した血液から得た血漿を用いて、以下の項目を測定した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アルカリホスファターゼ(ALP)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示した。

性別	雄					雌					
	投与量(ppm)	20	100	300	900	2700	20	100	300	900	2700
AST											
ALT											
ALP											

↑: $p < 0.05$ 、↓: $p < 0.01$ (検定法: 記載なし)

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。

変化は雄にみられ、AST、ALT および ALP が有意に減少した。しかし、投与群では全て正常値を示しているのに対し、対照群では正常値よりやや増加しており、偶発的な有意差と考えられた。

臓器重量; 投与終了時の生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、副腎および精巣/卵巣以外の臓器については、対体重比を算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣/卵巣

対照群と比べ統計学的有意差が認められた項目を次頁の表に示した。

2700ppm 群の雌雄で肝臓の対体重比が増加し、同群の雄では絶対重量にも有意な増加が認められ、検体投与によるものと考えた。300ppm 以上の群の雌で腎臓の対体重比が増加したが、雄では逆の傾向であり、また病理組織学的にも特異な所見は認められないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。2700ppm 群の雌のその他の臓器にも、絶対重量の減少、あるいは対体重比の増加がみられるが、これら変化は体重増加量の減少による二次的な影響と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

性別		雄					雌				
投与量(ppm)		20	100	300	900	2700	20	100	300	900	2700
体重											
脳	対体重比										
	絶対重量										
肝臓	対体重比										
	絶対重量										
腎臓	対体重比										
	絶対重量										
脾臓	対体重比										
心臓	絶対重量										
副腎	絶対重量										

↓↑: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$ (検定法: 記載なし)。

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の。

病理組織学的検査; 投与終了時の生存動物を対象に、以下の臓器の病理標本を作成し、検鏡した。

脳、胸腺、甲状腺、副腎、脾臓、骨髄、心臓、肝臓、消化管、腎臓、肺、膀胱、精巣、卵巢

認められた主な病変を次頁の表に示した。

認められた所見はいずれも少数例、程度が軽度であることより、検体投与に関連したものと
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日本農業株式会社にある。

性別		雄					雌						
投与量(ppm)		0	20	100	300	900	2700	0	20	100	300	900	2700
臓器	検査動物数												
	所見												
肝臓	脂肪沈着												
	グリソン氏鞘 細胞浸潤												
腎臓	間質細胞浸潤												
	硝子滴変性												
	空胞形成												
肺	囊瘍形成												
	気管支囊状拡張												
心臓	筋層間質 細胞浸潤												
腺胃	腺腔拡大												
卵巣	囊腫												

検体の臓器残留；投与終了時に900ppm以上の群の雌雄は個体別に、その他は群別に以下の臓器をブールし、臓器中の検体濃度を測定した。

脳、肝臓、腎臓、大腿筋、腹腔内脂肪

2700ppm群の雌雄の肝臓にそれぞれ検体が0.055および0.028ppm、また同群の雄の腹腔内脂肪に0.070ppm検出された。その他の臓器には検出されなかった。

以上のように、検体をラットに112～113日間にわたって、0、20、100、300、900および2700ppmの濃度で飼料に混入して投与した結果、2700ppm群雌で体重増加量が減少し、同群雌雄で肝臓の重量が増加した。したがって、無毒性量は雌雄で900ppm(雄 53.04mg/kg/日、雌 61.67mg/kg/日)であると判断される。

2) ラットを用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験

(資料 T-30)

検体の純度:

供試動物: SD系ラット、5週齢、平均体重;雄 121g 雌 105g、1群雌雄各 10匹

投与期間: 3ヵ月間 (1974年3月29日~1974年7月1日)

投与方法: 検体を0、40、100、400、1000および4000ppmの濃度で飼料に混入し、3ヵ月間にわたって
随時摂食させた。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日観察した。

一般状態に変化はみられなかった。対照群、100、400および4000ppm群の雄各1匹の計
4匹が、肺炎により死亡した。

体重変化: 毎週1回、全生存動物の体重を測定した。

4000ppm群の雌雄で試験期間を通じて有意な体重増加量の減少がみられた。1000ppm群
の雌雄では、一過性の減少がみられた。

摂餌量: 毎週2回、摂餌量を測定し、1匹当りの平均摂取量を算出した。

4000ppm群の雌雄で摂餌量の軽度な減少が認められた。

検体摂取量: 投与期間中の平均検体摂取量を下表に示した。

投与量 (ppm)		40	100	400	1000	4000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.4	5.9	22.9	61.4	254
	雌	2.8	6.8	26.5	67.9	266

血液学的検査: 投与終了時の生存動物を対象として採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、白血球百分比
いずれの項目にも検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

血液生化学的検査: 血液学的検査で使用した血液から得た血漿を用いて、以下の項目を測定した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスフ
ァターゼ

いずれの項目にも投与量に関連した一定の傾向はみられなかった。

尿検査: 投与終了時の生存動物を対象に、以下の項目を測定した。

pH、タンパク、グルコース、ウロビリノーゲン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

尿が採取できなかった動物が多かったが、異常値を示す例はなかった。

臓器重量：投与終了時の生存動物を対象に、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、下垂体、精巣/卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示した。

性別		雄					雌				
投与量(ppm)		40	100	400	1000	4000	40	100	400	1000	4000
最終体重											
心臓	絶対重量										
	対体重比										
肺	絶対重量										
	対体重比										
肝臓	絶対重量										
	対体重比										
腎臓	絶対重量										
脾臓	絶対重量										
	対体重比										
副腎	絶対重量										
	対体重比										
胸腺	絶対重量										
	対体重比										
下垂体	絶対重量										
	対体重比										
精巣	絶対重量										
	対体重比										

↓ ↑ : $p < 0.05$, ◊ ◊ : $p < 0.01$ (絶対重量の検定法: 記載なし)、対体重比の検定: t 検定 (申請者による統計計算)
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。

4000ppm 群の雌雄で肝臓の絶対重量が増加し、検体投与の影響と考えられた。

肉眼的病理検査：投与終了時の生存動物を対象に、以下の臓器を肉眼的に検索した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、下垂体、精巣/卵巣

数例に肺炎が観察されたが、検体投与の影響と考えられる所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象に、以下の臓器の標本を作製し、検鏡した。

大脳、心臓、肺、骨髄、脾臓、胸腺、顎下腺、肝臓、膵臓、胃、小腸、大腸、下垂体、
甲状腺、副甲状腺、副腎、腎臓、骨髄、前立腺、精のう腺、精巣、卵巣、子宮
認められた主な病変を下表に示した。

検体投与の影響と考えられる所見は認められなかった。

性別		雄						雌					
投与量(ppm)		0	40	100	400	1000	4000	0	40	100	400	1000	4000
臓器	所見\検査動物数												
肝臓	軽度胆管増生												
	腺腫様増殖												
腎臓	炎症細胞浸潤												
心臓	肉芽性炎症												
肺	炎症												
	泡沫細胞出現												

検体の臓器残留；投与終了時に、各群雌雄毎に以下の臓器をプールし、臓器中に残留している検体濃度を測定した。

大脳(雌のみ)、肝臓、腎臓、脂肪

いずれの群のどの臓器にも、検体は検出されなかった。

以上のように、検体をマウスに3カ月間にわたって0、40、100、400、1000 および 4000ppm の濃度で飼料に混入して投与した結果、4000ppm 群の雌雄に体重増加量および摂餌量の減少、ならびに肝臓重量の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも1000ppm(雄 61.4mg/kg/日、雌 67.9mg/kg/日)であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

3) ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 T-63)

検体の純度:

供試動物: CrI:CD(SD)系ラット、5 週齢、体重;雄 124~140g 雌 107~134g、1 群雌雄各 12 匹

投与期間: 90 日間 (雄 2005 年 5 月 17 日~2006 年 8 月 16 日)
(雌 2005 年 5 月 18 日~2005 年 8 月 17 日)

投与方法: 検体を 0、50、300 および 3000ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は 5~8 日間隔で調製し、給餌まで室温保存した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 生死、外観、行動等を午前、午後の計 2 回毎日観察した。

検体投与に関連した変化は認められなかった。3000ppm 群の雌 1 例に、投与 89 日から骨折による右前脚の腫脹がみられ、偶発的事故が考えられた。

詳細な状態観察: 投与開始前および投与期間中に週 1 回、全動物について以下の項目を観察した。

ケージの外から観察: 体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動/回転・旋回、異常行動/自咬

ケージから取り出して観察: 取り出し易さ、取扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、皮膚、眼・眼球および粘膜の外観、瞳孔径、流涙、流涎、その他分泌物の有無

オープンフィールド内で観察: 歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動、排泄状態/排尿・排糞、常同行動/身づくろい・くびふり、異常行動/後ずさり・異常発声、攻撃性
各項目に対照群に比べて有意な差は認められず、鎮静、興奮あるいは行動異常等の神経行動学的な異常も認められなかった。

機能検査: 投与 13 週(投与 89 日)に、全動物について以下の項目を測定した。

視覚刺激(接近反応)、感覚刺激(接触反応)、聴覚刺激(音に対する反応)、痛覚刺激(尾根部を挟む)、固有受容器刺激(強制姿勢からの復帰)、空中正向反射、握力(前および後

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

肢)、後肢の開脚幅、自発運動量

各項目に対照群と比べて統計学的有意差は認められなかった。前脚の腫脹がみられた3000ppm 群の雌1例は前脚の握力が低値であり、前脚の握力のデータを統計学的処理から除外した。

体重変化: 投与1、4、8日、以後は毎週1回、全動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次の表に示した。

性別	雄			雌			
	投与量(ppm)	50	300	3000	50	300	3000
体重	4日						
	8日						
	15日						
	22日						
	50日						
	64日						
	91日						

↑ ↓ : p < 0.05 ↓ : p < 0.01, 検定法: Dunnett の方法または Mann-Whitney の U-検定。

矢印を付していないものは統計学的に有意ではないが、減少傾向を示した数値。

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の。

3000ppm 群の雌雄に対照群に比べ体重が有意に減少する期間がみられ、同群の雌では剖検時にも体重が対照群に比べて有意な低値が認められた。

摂餌量: 体重の測定日に摂餌量を測定した。

3000ppm 群の雌でほぼ投与期間を通じて摂餌量が有意に減少し、同群の雄では一過性の減少が認められた。

検体摂取量: 検体摂取量を下表に示した。

投与量(ppm)		50	300	3000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	3.4	20.5	200.9
	雌	4.0	23.4	223.2

血液学的検査: 16~23 時間絶食後、全動物をエーテル麻酔して腹部大動脈より血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球血色素量(MCH)、網赤血球数、血小板数、白血球数、白血球百分比、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)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

性別	雄			雌		
	50	300	3000	50	300	3000
赤血球数						
ヘモグロビン量						
ヘマトクリット値						
MCH						
網赤血球数						
血小板数						
PT						
APTT						

↓: $p < 0.05$ ↑: $p < 0.01$ 、検定法: Dunnett の方法または Mann-Whitney の U-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の。

全投与群の雄で、対照群と比べて血小板数に有意な減少がみられたが、以下の理由から偶発的な有意差と考えられた。

1. 対照群の雄の血小板数(平均 123.20、標準偏差 10.05、範囲 107.0~142.4、単位 $10^4/\mu\text{L}$)が実施機関の背景データ(平均 115.0、標準偏差 12.07、範囲 90~139.2、単位 $10^4/\mu\text{L}$)より若干高値であった。
2. 各投与群の雄の血小板数は同程度であり、投与量との関連性が明確でない。
3. 雌には血小板数に変化がみられない。

一方、3000ppm 群の雌で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の有意な減少、ならびに網赤血球数の有意な増加を伴う貧血が認められた。病理組織学的検査で脾臓にヘモジデリン沈着の増加がみられていることから、上記項目の変化は検体投与に関連したものと考えられた。また、同群の雌でPTの有意な短縮およびAPTTの有意な延長が認められた。50ppm 群の雌でみられたMCHの減少は投与量との関連がなく、検体の影響ではないと考えた。

血液生化学検査: 血液学的検査で使用した血液から得られた血漿あるいは血清を用い、以下の項目を測定した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アルカリホスファターゼ、 γ -グルタミルトランスぺプチターゼ(γ -GTP)、総タンパク、タンパク分画、アルブミン、A/G比、グルコース、トリグリセリド、総コレステロール、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、リン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		50	300	3000	50	300	3000
ALT							
AST							
γ-GTP							
総タンパク							
アルブミン							
グロブリン分画	α ₂						
	β						
	γ						
総コレステロール							
カルシウム							

↑ ↓ : p<0.05 ↑ ↓ : p<0.01、検定法: Dunnett または Mann-Whitney の U-検定。

矢印を付していないものは統計学的に有意ではないが、傾向を示した数値または参考値。
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。

肝機能の指標項目に有意な増加が、300ppm 以上の群の雄および 3000ppm 群の雌で γ-GTP、3000ppm 群の雌雄で総コレステロール、同群の雄で ALT、総タンパクおよびアルブミンに認められた。3000ppm 群の雄で AST が有意ではないが増加傾向を示した。3000ppm 群の雄でみられた α₂-グロブリン分画比の有意な減少は、アルブミン等の変動によるものと考えられた。また、同群の雄でカルシウムが有意に増加した。一方、300ppm 群の雌で β-グロブリンの減少は用量依存的でないことで、また 3000ppm 群の雌で γ-グロブリン分画比の減少がみられたことは総タンパクに有意な変化がみられないことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

尿 検 査: 投与 13 週に、非絶食下で各群 5 匹から採尿した。投与後 3 時間までの蓄尿を用いて、以下の項目を測定した。尿量および比重の測定は投与後 24 時間までの蓄尿を用いた。pH、タンパク、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、沈渣、尿量、比重
検体投与に関連のある変化は認められなかった。

眼科学的検査: 投与開始前は全動物を、投与 13 週は対照群および 3000ppm 群の雌雄を対象に検査した。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓 器 重 量: 剖検時に全動物を対象に、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、胸腺、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、前立腺、精巢、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		50	300	3000	50	300	3000
体重							
脳	対体重比						
肝臓	絶対重量						
	対体重比						
腎臓	対体重比						
脾臓	対体重比						
精巣	対体重比						
卵巣	対体重比						

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ : p < 0.01、検定法: Dunnett または Mann-Whitney の U-検定。
 矢印を付していないものは統計学的には有意ではないが、減少傾向を示した数値。
 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。

300ppm 以上の群の雄で肝臓および腎臓の対体重比が、雌で肝臓の絶対重量が有意に増加した。3000ppm 群の雄で肝臓の絶対重量および同群の雌で肝臓、腎臓、脾臓の対体重比が増加した。以上の変化は検体投与の影響と考えた。一方、3000ppm 群の雄あるいは雌でみられた精巣や脳の対体重比の増加については、絶対重量や病理所見に変化がみられなく、また 50ppm 群の雌でみられた卵巣の対体重比の減少については、用量依存的でないことから、ともに検体投与との関連はないと考えられた。

肉眼的病理検査; 投与終了時の全動物について、剖検を行った。

認められた全ての所見を下表に示した。

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
臓器	所見\検査動物数								
腎臓	腎盂拡張								
甲状腺	白色腫瘍								
前肢	腫脹(片側性)								

検体投与に関連した変化は認められなかった。3000ppm 群の雄 1 例に、甲状腺の白色腫瘍がみられ、病理組織学的に C 細胞腺腫と確認されたが、この 1 例のみであることから、偶発的な変化と考えられた。

病理組織学的検査; 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、対照群および 3000ppm 群の全動物について検鏡した。3000ppm 群で検体投与の影響がみられた雌雄の肝臓および雌の脾臓については、50 および 300ppm 群についても検鏡した。

脳、下垂体、脊髄(頸部、胸部、腰部)、胸腺、甲状腺、上皮小体、脾臓、心臓、胸部大動脈、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、脾臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢(凝固腺を含む)、卵巣、子宮(角部および頸部)、膣、眼球、ハーダー腺、乳腺(右腹部、雌のみ)、皮膚(腹部)、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、唾液腺、坐骨神経、骨格筋(外側広筋)および肉眼的異常部位(正常組織との境界部を含む)として一般状態と剖検所見で右前脚に腫脹が認められた 3000ppm 群の雄 1 例の前脚(左右)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を含め、主要な所見を下表に示した。

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
臓器	所見\検査動物数								
肺	動脈の鉍質沈着		/				/		
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大								
	小肉芽腫								
脾臓	ヘモジデリン沈着		/						

↑: p<0.05、検定法: X²あるいは Fisher の直接確率検定。

3000ppm 群の雌で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大および脾臓のヘモジデリン沈着が対照群と比較して有意に増加した。小葉中心性肝細胞肥大は 3000ppm 群の雄でも増加傾向であり、これら所見は検体投与の影響と考えられた。他に、肺の鉍質沈着や肝臓の小肉芽腫等が認められたが、対照群の範囲内あるいは用量依存性がないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

以上のように、検体をラットに 90 日間にわたって、0、50、300 および 3000ppm の濃度で飼料に混入して投与した結果、3000ppm 群の雌雄で摂餌量の減少を伴う体重増加抑制、 γ -GTP と総コレステロールの増加、肝臓と腎臓の重量の増加および肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。同群の雄で ALT、AST および総タンパクの増加、雌で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少、ならびに脾臓のヘモジデリン沈着が認められた。また、300ppm 群において、雄で肝臓と腎臓の対体重比および γ -GTP の増加、雌で肝臓の絶対重量の増加が認められた。

したがって、無毒性量は雌雄で 50ppm (雄 3.4mg/kg/日、雌 4.0mg/kg/日) であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

4) マウスを用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験

(資料 T-31)

検体の純度:

供試動物: ICR系マウス、体重;雄 23~52g 雌 21~56g、1群雌雄各 10匹

投与期間: 雄 114日間 (1971年5月12日~1971年9月3日)
雌 115日間 (1971年5月12日~1971年9月4日)

投与方法: 検体を0、20、100、300、900および2700ppmの濃度で飼料に混入し、114~115日間にわたって随時摂取させた。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日観察した。

検体投与によると考えられる一般状態の変化は観察されなかった。対照群の雄および300ppm群の雌で各1匹が肺炎で死亡した。

体重変化; 毎週1回、全生存動物の体重を測定した。

体重変化に検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量および食餌効率; 3~4日毎に摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量および食餌効率に検体投与の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を下表に示した。

投与量(ppm)		20	100	300	900	2700
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	3.32	14.77	47.99	132.31	472.29
	雌	2.81	14.27	47.18	140.26	444.35

血液学的検査; 投与終了時の生存動物を対象として、エーテルで微麻酔下に開胸して、心臓穿刺で採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、全血比重

対照群と比べ統計学的有意差が認められた項目を次頁の表に示した。

900ppm群の雄で、全ての検査項目が統計学的に有意に増加し、100ppm群の雄でも赤血球数以外の項目が増加した。しかし、これらの変化は2700ppm群では認められないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

性別	雄					雌				
	20	100	300	900	2700	20	100	300	900	2700
投与量(ppm)										
赤血球数										
ヘモグロビン量										
ヘマトクリット値										
全血比重										

↑: $p < 0.05$ 、◇: $p < 0.01$ (検定法: 記載なし)

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。

血液生化学的検査: 血液学的検査で使用した血液から得た血漿を用い、以下の項目を測定した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示した。

性別	雄					雌				
	20	100	300	900	2700	20	100	300	900	2700
AST										
ALT										

↑: $p < 0.05$ 検定法: 記載なし。

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。

雄で AST および ALT の増加が認められたが、雌では認められなく、投与量との関連がみられないことより、検体投与の影響ではないと考えられた。

臓器重量: 投与終了時の生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定した。副腎および精巣/卵巣以外の臓器は対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣/卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

2700ppm 群の雌雄で肝臓の絶対重量および対体重比が増加し、検体投与の影響と考えた。また、900ppm 以上の群の雌で卵巣の絶対重量が減少し、検体投与の影響と考えられるが、病理組織学的に特異な所見を認めないことより、軽度の変化であると考えられる。一方、脳、心臓、腎臓および副腎にみられた有意な変化は、雌雄の両方にみられないこと、病理組織学的に特異な所見が認められないこと、および用量依存的でないことより、検体投与の影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		20	100	300	900	2700	20	100	300	900	2700
体重											
脳	絶対重量										
	対体重比										
心臓	絶対重量										
	対体重比										
肝臓	絶対重量										
	対体重比										
腎臓	絶対重量										
	対体重比										
脾臓	絶対重量										
	対体重比										
副腎	絶対重量										
卵巣	絶対重量										

↓ ↑ : $p < 0.05$, ♂ ♀ : $p < 0.01$ (検定法: 記載なし)、矢印を付していないものは統計学的には有意ではないが、減少傾向を示した数値。
 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。

病理組織学的検査: 投与終了時の生存動物を対象に、以下の臓器を組織学的に検索した。

脳、心臓、肺、骨髄、脾臓、胸腺、肝臓、胃腸、甲状腺、副腎、腎臓、膀胱、精巣、卵巣

認められた主な病変を次頁の表に示した。

対照群と比較して、検体投与群でのみ認められた所見は、雄で顎下腺の顆粒減少および肺の限局性肉変、雌で副腎皮質細胞侵潤および肺の限局性肉変であった。これら所見はいずれも少数例で軽度なため、検体による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日本農業株式会社にある。

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		0	20	100	300	900	2700	0	20	100	300	900	2700
臓器	検査動物数												
	所見												
肝臓	脂肪沈着												
	グリソン氏鞘 細胞浸潤												
腎臓	間質細胞浸潤												
	腎盂粘膜下 細胞浸潤												
肺	限局性肉変												
心臓	筋層間質 細胞浸潤												
	筋層間質 線維化												
胃	腺胃腺腔拡大												
副腎	皮質細胞浸潤												
顎下 腺	顆粒減少												

検体の臓器残留；投与終了時に、300、900 および 2700ppm 群について、各群雌雄毎に以下の臓器をブールし、臓器中の検体濃度を測定した。

脳、肝臓、腎臓、大腿筋、腹腔内脂肪

脳を除く臓器に検体の残留が認められ、2700ppm 群の雄の腹腔内脂肪に 0.827ppm が検出された。

以上のように、検体をマウスに 114～115 日間にわたって、0、20、100、300、900 および 2700ppm の濃度で飼料に混入して投与した結果、2700ppm 群の雌雄において肝臓重量の増加、900ppm 群以上の雌に卵巣重量の減少が認められた。したがって、無毒性量は雄が 900ppm (132.31mg/kg/日) および雌が 300ppm (47.18mg/kg/日) であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

5) マウスを用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験

(資料 T-32)

検体の純度:

供試動物: ICR系マウス、5週齢、平均体重;雄 22.9g 雌 20.2g、1群雌雄各 10匹

投与期間: 3ヵ月間 (1974年3月22日~1974年6月24日)

投与方法: 検体を0、40、100、400、1000および4000ppmの濃度で飼料に混入し、3ヵ月間にわたって随時摂食させた。後述の通り10匹のマウスが逃亡したため、試験から除外した。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日観察した。

一般状態に検体投与による症状は観察されなかった。死亡例はなく、対照群の雌4匹、40ppm群の雌3匹、100ppm群の雄1匹および4000ppm群の雌2匹が逃亡した。

体重変化: 毎週1回、全生存動物の体重を測定した。

1000ppm以上の群の雌で、試験開始初期に一過性に体重増加量が減少した。

摂餌量: 試験期間中の飼料摂取量を測定し、1匹当りの平均摂取量を算出した。

検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

検体摂取量: 平均検体摂取量を下表に示した。

投与量(ppm)		40	100	400	1000	4000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.5	13.2	53.9	145	581
	雌	6.3	16.3	66.6	177	738

血液学的検査: 投与終了時の生存動物を対象として採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、白血球百分比
4000ppm群の雌雄でヘマトクリット値が対照群と比べ減少する傾向が示された。

血液生化学的検査: 投与終了時の生存動物を対象に、以下の項目を測定した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ

検査例数が少なかったが、検体投与と思われる一定の傾向はみられなかった。

尿検査: 投与終了時の生存動物を対象に、可能な限り採尿して、以下の項目を測定した。

pH、タンパク、グルコース、ウロビリノーゲン

尿の採取が不可能な動物が多かったが、タンパクは対照群および検体投与群に検出さ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

れた。

臓器重量；投与終了時の生存動物を対象に、以下の臓器重量を測定して、体重比を算出した。対体重比の統計学的検定は実施していない。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示した。

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		40	100	400	1000	4000	40	100	400	1000	4000
脳	絶対重量										
肝臓	絶対重量										
脾臓	絶対重量										
腎臓	絶対重量										
精巣	絶対重量										

↓ ↑ : $p < 0.05$ 、↑↓ : $p < 0.01$ (検定法: 記載なし)。

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。

4000ppm 群の雌雄で肝の絶対重量の増加が認められた。同群の雄では脾臓および精巣重量も増加した。その他の臓器重量にも統計学的有意差がみられたが、投与量との関連がなく、また雄と雌で変化が逆転することなどから、検体による影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；投与終了時の生存動物を対象として、以下の臓器について肉眼的に検索した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣

検体投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象に、以下の臓器について病理組織を作成し、検鏡した。

大脳、下垂体、胸腺、甲状腺(副甲状腺)、副腎、脾臓、骨髄、心臓、顎下腺、膵臓、胃、小腸、大腸、肝臓、肺、腎臓、精巣、前立腺、精嚢腺、卵巣、子宮

認められた全ての所見を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別		雄					雌						
投与量(mg/kg/日)		0	40	100	400	1000	4000	0	40	100	400	1000	4000
臓器	所見\検査動物数												
肝臓	再生像												
腎臓	嚢胞形成												
	尿細管上皮の変性												
肺	肺炎												
	腺腫												

検体投与によると思われる所見はみられなかった。4000ppm 群の雄で腎臓に尿細管上皮の変性とみられる所見が2例にみられたが、糸球体および尿細管ともに著変はみられなかった。

検体の臓器残留；投与終了時に、各群雌雄毎に以下の臓器をプールし、臓器中に残留している検体の濃度を測定した。

大脳、肝臓、腎臓

400ppm 以上の雄の肝に最高 0.25ppm の検体が検出された。

以上のように、検体をマウスに3ヶ月にわたって0、40、100、400、1000 および 4000ppm の濃度で飼料に混入投与した結果、4000ppm 群の雌雄に肝臓重量の増加が認められた。したがって、無毒性量は雌雄とも1000ppm(雄 145mg/kg/日、雌 177mg/kg/日)であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) イヌの 90 日間反復経口投与毒性試験

イソプロチオラン原体について、下記の理由からイヌ 28 日間反復経口投与毒性試験成績をもって、90 日間反復経口投与毒性試験成績(非げっ歯類動物)に替えた。なお、本試験における無毒性量は、1 年間および 2 年間のイヌの反復経口投与毒性試験結果より推定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

したがって、以上のことからイヌの90日間反復経口投与毒性試験の無毒性量として、雌雄とも10～15 mg/kg/dayと推定することができる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

イヌを用いた飼料混入投与による4週間反復経口投与毒性試験

(資料 T-64)

検体の純度:

供試動物: ビーグル犬、約6ヶ月齢、体重;雄 5.1~6.8kg 雌 4.6~5.3kg、1群雌雄各1匹

投与期間: 4週間

投与方法: 検体を0、10、100、1000および10000ppmの濃度で飼料に混入し、4週間にわたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は毎週1回調製した。10000ppm群雌雄は著しい体重減少のため投与を2週間で中止した。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および毒性症状を毎日観察した。

死亡は認められず10000ppmを除いて一般状態に異常はみられなかった。

体重変化: 投与開始時およびその後は週1回測定した。

10000ppm群雌雄で著しい体重減少がみられ、この群の投与は2週間で中止した。

1000ppm群雌で体重増加量の僅かな減少がみられた。

摂餌量: 毎日測定した。

10000ppm群雌雄で著しい摂餌量の減少がみられた。他の投与群では対照群に比べ摂餌量が僅かに減少したが、1000ppm群雌を除きいずれの群も正常な範囲内であると考えられた。

検体摂取量: 投与期間中の平均検体摂取量を下表に示した。

投与量 (ppm)		10	100	1000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.34	3.80	36.36	235.57*
	雌	0.38	4.10	35.75	74.57*

*: 2週間の投与期間における平均値

血液学的検査: 投与前および投与終了時に全ての動物を対象として血液を採取し、以下の項目を測定した。10000ppm群の雌雄は投与終了時の検査は実施していない。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、白血球分画

いずれの投与群においても、対照群と比べて有意な異常は認められなかった。

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を用い、以下の項目を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、尿素窒素、グルコース、総タンパク、タンパク分画、ビリルビン、ナトリウム、カリウム、塩素、総およびエステル型コレステロール

いずれの投与群においても、対照群と比べ有意な異常は認められなかった。

尿 検 査； 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。10000ppm 群の雌雄は投与終了時の検査は実施していない。

比重、pH、アルブミン、グルコース、沈渣(白血球、赤血球、結晶)

いずれの投与群においても、対照群と比べ有意な異常は認められなかった。

眼科学的検査； 投与開始時および投与終了時に全ての動物についての眼科学的検査を実施した。

10000ppm 群の雌雄は投与終了時の検査は実施していない。

いずれの投与群においても、対照群と比べ有意な異常は認められなかった。

臓器重量； 投与終了時に10000ppm 群の雌雄を除いた全ての動物を対象として、以下の臓器の重量を測定し、絶対重量、対体重比および対脳重比を算出した。

肝臓、肺、腎臓、心臓、脳、脾臓、生殖腺、副腎、甲状腺、下垂体

いずれの投与群においても、対照群と比べ有意な異常は認められなかった。

肉眼的病理検査； 試験終了時に10000ppm 群を除いた全ての動物を対象として、肉眼的病理検査をおこなった。

いずれの投与群においても、対照群と比べ有意な異常は認められなかった。

病理組織学的検査； 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、検鏡した。

心臓、肝臓、肺、脾臓、腎臓、膀胱、精巣、卵巣、子宮、副腎、甲状腺

いずれの投与群においても、対照群と比べ有意な異常は認められなかった。

検体をイヌに4週間にわたって0、10、100、1000 および10000ppm の濃度で経口投与した結果、10000ppm 群雌雄では摂餌量および体重の著しい減少がみられ、投与を2週間で中止した。1000ppm 群雌で、摂餌量および体重増加量が僅かに減少した。

したがって、無毒性量は雄で1000ppm(36.36mg/kg/日)および雌で100ppm(4.10mg/kg/日)と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(7). 21日間反復経皮投与毒性

試験省略

試験省略理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(8). 90日間反復吸入毒性

試験省略

試験省略理由：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(9). 反復経口投与神経毒性

試験省略

試験省略理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(10). 28日間反復投与遅発性神経毒性

試験省略

試験省略理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

(11). 慢性毒性および発がん性

1) イヌを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性試験

(資料 T-33)

検体の純度:

供試動物: ビーグル犬、約6ヶ月齢、体重;雄 5.1~10.1kg 雌 4.7~8.0kg、1群雌雄各4匹

投与期間: 24ヵ月間 (1975年2月12日~1977年2月18日)

投与方法: 検体を0、80、400および2000ppmの濃度で飼料に混入し、24ヵ月間わたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は毎週1回調製した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 毎日一般状態および神経毒性の症状を観察した。

試験期間中いずれの投与群において、異常は認められず、死亡例はなかった。

体重変化: 投与開始時およびその後は投与終了時まで毎週1回測定した。

2000ppm群雌雄の体重増加量が対照群と比べ減少した。

摂餌量: 各群の摂餌量を週1回測定した。

検体投与によ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を下表に示した。

投与量 (ppm)		80	400	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	3.1	15.2	72.7
	雌	2.8	15.9	74.7

血液学的検査: 投与開始時、1.5、3、6、12、18 および 24ヵ月目に全ての動物を対象として血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球色素濃度(MCHC)、白血球数、白血球分画
検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

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を用い、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、尿素窒素、グルコース

統計学的検定を実施していないが、明らかに増加が認められた項目を下表に示した。

項目	検査月	投与量(ppm)					
		雄			雌		
		80	400	2000	80	400	2000
ALP	1.5						
	3						
	6						
	12						
	18						
	24						
GPT	1.5						
	3						
	6						
	12						
	18						
	24						

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の。

2000ppm 群雌雄において、全検査時期でALPおよびGPTが対照群と比べ増加した。

尿検査；血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

比重、pH、アルブミン、グルコース、沈渣(白血球、赤血球、結晶)。

検体投与による影響は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始時、1、3、6、12 および 24 ヶ月目に全ての動物を対象として、肉眼的な眼科学的検査を実施した。

2000ppm 群雄の1例で、右眼の角膜に小さな癍痕が認められた。また同群雌の1例で、ハーダー腺に過形成がみられた。その他に肉眼で識別可能な変化は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に全ての動物を対象として、以下の臓器の重量を測定し、対体重比および対脳重比を算出した。

脳、肺、心臓、脾臓、胸腺、肝臓、下垂体、甲状腺、腎臓、生殖腺

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	80	400	2000	80	400	2000
最終体重						
体重増加量						
肝臓	絶対重量					
	対体重比					
	対脳重比					
腎臓	絶対重量					
	対体重比					
	対脳重比					

↑: $p < 0.05$, 検定法: 臓器の絶対重量は Tukey あるいは Scheffe 多重比較法、対体重比および対脳重比は Kruskal-Wallis 多重検定法(矢印なし: 有意差はないが増減傾向がみられる項目)。体重・体重増加量は統計検定が実施されていない。
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の。

2000ppm 群雄の腎臓の対体重比が対照群に比較して有意に増加した。統計学的には有意ではないが、2000ppm 群雌雄で肝臓の重量が増加し、検体投与の影響と考えられた。

肉眼的病理検査; 試験終了時に全ての動物について剖検を行った。

検体投与による思われる肉眼的病理所見は認められなかった。

病理組織学的検査; 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

気管、肺、心臓、大動脈(胸部)、骨髄(胸骨)、脾臓、胸腺、リンパ節(頸部、腸間膜)、唾液腺(顎下腺)、肝臓、膵臓、食道、胃(噴門、胃底、幽門)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、下垂体、甲状腺、副甲状腺、腎臓、膀胱、生殖腺、前立腺、子宮、脳、(大脳、小脳、脳橋)、脊髄、末梢神経(坐骨)、眼、胆嚢、骨格筋

半数以上の動物に認められた病変を次頁の表に示した。

検体投与に関連すると考えられる病変を下表に示した。

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	80	400	2000	0	80	400	2000
臓器	所見\検査動物数								
肝臓	びまん性肝細胞肥大								
	限局性肝細胞好酸性変化								

2000ppm 群雌雄の肝臓にびまん性肝細胞肥大および限局性肝細胞好酸性変化が観察された。びまん性肝細胞肥大は 400ppm 群雄にも観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上のように、検体を 0、80、400 および 2000ppm の濃度で 2 年間反復経口投与した結果、2000ppm 群雌雄で ALP および GPT の増加、肝臓の絶対重量、対体重比および対脳重比の増加、雄で腎臓の対体重比の増加が認められた。肝臓重量の増加は統計学的に有意ではなかったが、組織病理学的検査において、同群雌雄の肝臓にびまん性肝細胞肥大および門脈域周辺の限局性肝細胞好酸性変化が観察された。肝細胞肥大は 400ppm 群雄にも観察された。したがって、本試験における無毒性量は雄が 80ppm(3.1mg/kg/日)、雌が 400ppm(15.9mg/kg/日)であると判断される。

表 1. 2例以上の動物に認められた組織病変

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	80	400	2000	0	80	400	2000
臓器	所見\検査動物数								
肝臓	限局性肝細胞好酸性変化								
	びまん性肝細胞肥大								
	びまん性類洞うっ血*								
	限局性類洞単核球浸潤								
腎臓	限局性の腎盂を含む上皮内および上皮下单核球細胞浸潤								
	びまん性の腎盂を含む上皮内および上皮下单核球細胞浸潤								
	限局性の髓質性尿細管腎盂に鈣質沈着小結石								
	限局性の腎盂を含む上皮下单核球細胞浸潤								
	近位尿細管曲部上皮細胞の細胞質多発生性黄褐色色素沈着								
肺	肺胸腔寄生虫(線虫)								
	限局性の気管支周囲リンパ球浸潤								
腸間膜リンパ節	限局性被膜好酸球浸潤								
脾臓	赤脾髄鉄線維性結節								
	びまん性類洞うっ血*								
甲状腺	限局性傍濾胞細胞過形成								
前立腺	限局性慢性前立腺炎								
精巣	少数の精細管精子形成欠損								
精巣上体	限局性間質性精巣上体炎								
子宮	びまん性内膜過形成(発情期)								
	びまん性内膜過形成(発情前期)								

* 死戦期の所見

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

2) イヌを用いたカプセル投与による1年間反復経口投与毒性試験

(資料 T-65)

検体の純度:

供試動物: ビーグル犬、5~6ヵ月齢、体重 雄 5.1~8.7kg 雌 5.0~7.6kg、1群雌雄各4匹

投与期間: 52週間(1987年12月9日~1989年2月17日)

投与方法: 検体をゼラチンカプセルに入れ0、2、10および50mg/kg/日の投与量で52週間にわたって1日1回経口投与した。

用量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日少なくとも2回観察した。

嘔吐、軟便および軽度の皮膚病変等が、対照群も含め全投与群にみられたが、いずれも検体投与に起因するものとは考えられなかった。動物の死亡はなかった。

体重変化: 週1回全ての動物の体重を測定した。

50mg/kg/日群雌の体重増加量は、対照群と比較して統計学的に有意な減少が認められた(下表)。雄ではいずれの投与群も対照群と同等の体重増加を示した。

性別	雄			雌		
投与量(mg/kg)	2	10	50	2	10	50
体重増加量 0-52週						

↓: $p < 0.05$ 、検定法: Student の t 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。

摂餌量: 毎日、個体別に測定し、1週間の群平均摂餌量として示した。

統計学的に有意な変化が散発的に認められたが、雌雄とも検体投与に関連すると考えられる一貫性のある変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液学的検査：投与前、投与後 12、25、37 および 51 週に、全動物を一夜絶食させ、頸静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、白血球数、白血球百分率、プロトロンビン時間(P.T.)

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を下表に示した。

項目	検査週	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		2	10	50	2	10	50
赤血球数	12						
ヘモグロビン量	0						
	12						
ヘマトクリット値	37						
	0						
	12						
MCHC	37						
	0						
血小板数	12						
	25						
	37						
	51						
P.T.	25						
	51						

↑ ↓ : p < 0.05、↑ ↓ ↓ : p < 0.01 検定法: Student の t 検定。0 週は投与開始前を示す。
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。

50mg/kg/日群雄で、赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少が認められたが、これらの変化は一時的で一貫性がなく、偶発性のものと考えられた。また、同群雄で血小板数の増加が全検査期間で、さらに 37 および 51 週には 2 および 10mg/kg/日群でもみられた。しかし、その値は投与開始前の値と比べると、同等かあるいは減少しており、毒性学的意義はないものと判断した。P.T が 10mg/kg/日群雌で 25 および 51 週に減少したが、一時的であり、投与量との関連もないことから、検体投与の影響ではないと考えた。

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を用い、以下の項目を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

測定した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチニンホスホキナーゼ(CPK)、総タンパク、アルブミン、グロブリン、A/G 比、グルコース、コレステロール、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比べ統計学的に有意差が認められた項目を下表に示した。

50mg/kg/日群雄でALPが12週を除き、いずれの検査時期でも有意に増加した。同群雌でも有意ではないが同様の傾向を示し、検体投与に関連した変化と考えた。その他の項目に認められた有意な変化は、一時的であり検体投与に関連した変化ではないと考えられる。

項目	検査週	投与量(mg/kg/日)					
		雄			雌		
		2	10	50	2	10	50
ALP	0						
	12						
	25						
	37						
	51						
GOT	12						
LDH	37						
CPK	37						
総タンパク	12						
アルブミン	12						
	25						
	37						
A/G	37						
	51						
グルコース	0						
	51						
コレステロール	12						
	25						
尿素窒素	25						
	51						

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

項目	検査週	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		2	10	50	2	10	50
カルシウム	12						
	25						
	51						
リン	51						
ナトリウム	25						
	37						
塩素	25						

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01、検定法: Student の t 検定 (矢印を付していないものは統計学的に有意ではないが、増加傾向を示した数値)。0 週は投与前を示す。

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の。

尿 検 査: 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

外観、比重、pH、タンパク、ビリルビン、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、
潜血、亜硝酸、オスモル濃度、尿沈査

統計学的有意差のみられた項目を下表に示した。

項目	検査週	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		2	10	50	2	10	50
オスモル濃度	0						
	37						

↑ : p < 0.05、検定法: Student の t 検定。0 週は投与開始前を示す。

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の。

50mg/kg/日群雌で 37 週に尿オスモル濃度の増加が認められたが、一時的な変化であり、検体投与による影響ではないと考えた。

眼科学的検査: 投与開始前および投与後 51 週に、全動物を検査した。

雌雄とも、検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量: 試験終了時に全動物の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、精巣、卵巣
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別		雄			雌		
投与量(mg/kg/日)		2	10	50	2	10	50
体重							
肝臓	対体重比						
腎臓	絶対重量						
脾臓	絶対重量						
副腎	対体重比						
下垂体	絶対重量						
甲状腺/ 上皮小体	絶対重量						
	対体重比						

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ : p < 0.01, 検定法: Student の t 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。

50mg/kg/日群雄で肝臓の対体重比、雌で甲状腺/上皮小体の絶対重量と対体重比、および副腎の対体重比が増加した。肝臓の対体重比の増加は、ALP の増加と関連があると推察される。これらの変化は検体投与に起因するものと考えられた。その他の変化は検体投与に関連がないものと考えられた。

肉眼的病理検査：試験終了時に全動物について、剖検を行った。

2 匹以上の動物にみられた病変を下表に示した。

性別		雄				雌			
投与量(mg/kg/日)		0	2	10	50	0	2	10	50
臓器	所見\検査動物数								
肺	暗色部位								
腎臓	暗色部位								

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。

組織病理学的検査：全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

脳、脊髄(頸部、腰部)、末梢神経、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、骨および骨髓(胸骨)、リンパ節(下顎、腸間膜)、心臓、大動脈(胸部)、舌、唾液腺、食道、胃、肝臓、膵臓、胆嚢、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮(角部、体部)、眼球、視神経、坐骨神経、骨格筋、皮膚、乳腺

認められた全ての病変を次頁からの表 1-1 および表 1-2 に示した。

検体投与に起因すると考えられる病変は認められなかった。軽度の肺の変化(肺虫の寄

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

生によると思われる)、脳室の軽度の拡張、胸腺の軽度～中程度の萎縮等が対照群を含む全群で散発的に認められたが、どれもビーグル犬で通常に見られる変化であり、毒性的意義はないものと考えられた。

以上のように、検体をイヌに52週間にわたって0、2、10および50mg/kg/日でカプセル投与した結果、50mg/kg/日群の雌雄でALP活性の増加、雄で肝臓の対体重比の増加、雌で体重増加量の減少および甲状腺の絶対重量と対体重比の増加が認められた。したがって、無毒性量は雌雄とも10mg/kg/日と判断される。

表 1-1. 認められた全病変

		性 別		雄				雌			
		投与量 (mg/kg/日)		0	2	10	50	0	2	10	50
臓 器	所見\検査動物数										
脳	単核細胞浸潤										
	脳室拡張										
下垂体	類洞拡張										
	嚢胞										
胸 腺	萎縮										
甲状腺	単核細胞浸潤										
上皮小体	嚢胞										
副 腎	束状帯単核細胞浸潤										
脾 臓	鉄ブランク										
	夾膜線維症										
リンパ節 (縦郭)	うっ血										
リンパ節 (下顎)	好酸球浸潤										
心 臓	線維症										
舌	好中球浸潤										
唾液腺	単核細胞浸潤										
食 道	複合細胞浸潤										
胃	胃炎										
腎 臓	腎盂炎										
	うっ血										
	糸球体形成不全										
	糸球体リポドーシス										
	腎盂腎炎										

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1-2. 認められた全病変

性 別		雄				雌			
投与量(mg/kg/日)		0	2	10	50	0	2	10	50
臓 器	所見\検査動物数								
肝 臓	単核および好酸球浸潤								
	夾膜線維症								
	クッパー細胞色素沈着								
	局所性肝細胞萎縮および線維症								
胆 嚢	単核細胞浸潤								
十二指腸	異所性腺臓								
盲 腸	単核および好酸球細胞筋層浸潤								
	好中球浸潤								
結 腸	単核および好酸球細胞浸潤								
肺	間質性肺炎								
	肉芽腫								
	胸膜線維症								
	血管および/あるいは気管周囲 単核細胞浸潤								
	細気管支過形成								
	胸膜炎								
	肺炎								
前立腺	単核細胞浸潤								
	壊死								
子 宮	単核細胞浸潤								
	好中球浸潤								
骨格筋	フラグメント化								
坐骨神経	疎結合組織								
皮 膚	皮膚炎								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性試験

(資料 T-34)

検体の純度:

供試動物: チャールスリバー系ラット、約6週齢、体重:雄 115g~172g 雌 103~149g、
12ヵ月間の中間屠殺群を設け、下表のようにラットを配分した。

投与量(ppm)	12ヵ月中間屠殺		24ヵ月最終屠殺	
	雄	雌	雄	雌
対照	10	10	40	40
40	10	10	40	40
200	10	10	40	40
1000	10	10	40	40
5000	10	10	40	40

投与期間: 24ヵ月間 (1974年9月19日~1976年9月28日)

投与方法: 検体を0、40、200、1000および5000ppmの濃度で混入した飼料を24ヵ月間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週1回調製した。

用量設定根拠:

試験項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日観察した。

対照群も含め全群に一般状態の異常は認められなかった。

試験終了時の死亡率を次頁の表に示した。

検体投与による死亡率へ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日本農薬株式会社にある。

投与量 (ppm)		0	40	200	1000	5000
死亡率 (%)	雄					
	雌					

体重変化: 試験開始から最初の3ヵ月間は毎週1回、その後は試験終了時まで1ヵ月に1回生存動物の体重を測定した。また3、12および24ヵ月までの体重増加量を算出した。

5000ppm群雌雄で3および12ヶ月目、ならびに5000ppm群雌で24ヵ月目に体重増加量が対照群と比較し統計学的に有意に減少した。

摂餌量: 各群雌雄各10匹について、最初の3ヶ月間は1週間毎に、その後は試験終了時まで毎月1回、1週間の摂餌量を測定した。

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		40	200	1000	5000	40	200	1000	5000
摂餌量 ²⁾	3								
	12								
	24								

統計検定は実施していない。

1): 3週目は測定されていない。

2): 3ヶ月; 総摂餌量 (g/匹)、12および24ヶ月; 平均摂餌量 (g/匹/週)

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である。

1000ppm群雄および5000ppm群雌雄で試験開始後3および12ヶ月間、および5000ppm群雌で全試験期間を通じて摂餌量の減少がみられた。

検体摂取量: 投与期間中の平均検体摂取量を下表に示した。

投与量 (ppm)		40	200	1000	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.6	8.2	39.5	215.4
	雌	2.1	10.0	54.4	273.0

血液学的検査: 試験開始後3および6ヵ月目に対照群および5000ppm群の雌雄各10匹、12および24ヵ月目に全群の雌雄各10匹を対象として、眼窩静脈叢穿刺により採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、白血球分画

本試験実施機関の正常値範囲と比較して低かった項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		40	200	1000	5000	40	200	1000	5000
ヘモグロビン量	3								
	6								
	12								
	24								
ヘマトクリット値	3								
	6								
	12								
	24								

↓ : p<0.05, ↓↓ : p<0.01 2 群 : Student t 検定、多群 : Dunnett 型多重検定 (申請者による統計計算)

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を。

矢印の表示がないのは、統計学的有意差のないもの (参考値)

ヘモグロビン量が 5000ppm 群雌で試験開始 6 および 12 カ月目で有意に減少し、また 200ppm 群における雌の 12 カ月目の値は試験実施機関の正常値範囲より低値を示した。しかし、この雌の 200ppm 群の値は対照群に比べ統計学的に有意ではなく、また 1000ppm 群では対照群と同等であった。5000ppm 群の雌雄ではヘマトクリット値も 12 カ月目に減少した。しかし、試験終了時の 24 カ月目にはこれら項目に対照群との差は見られなくなった。その他の項目には変化は認められなかった。

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を用い、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ*、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、尿素窒素、グルコース、コレステロール* (総、遊離型およびエステル型)、ビリルビン* (直接および遊離型)、ナトリウム*、カリウム*、塩素*

*印の項目は、試験開始後 12 および 24 カ月目にのみ検査した。

検体投与に関連のある変化はいずれの検査項目についても認められなかった。

尿 検 査：血液学的検査と同時期に同一動物から採取した尿について以下の項目を検査した。

pH、比重、アルブミン、グルコース、ウロビリノーゲン、沈渣

検体投与に関連ある変化は認められなかった。

臓 器 重 量：試験開始後 12 カ月目の中間屠殺動物および試験終了時の全生存動物を対象に剖検し、以下の臓器重量を測定し、対体重比および対脳重比を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

脳、肺、心臓、脾臓、肝臓、甲状腺、副腎、腎臓、生殖腺

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を下表に示した。

項目	検査月	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		40	200	1000	5000	40	200	1000	5000
体重増加量	3								
	12								
	24								
脳	対体重比	12							
		24							
心臓	絶対重量	12							
		24							
	対脳重比	12							
		24							
脾臓	対体重比	12							
肝臓	絶対重量	12							
		24							
	対体重比	12							
		24							
	対脳重比	12							
		24							
副腎	対脳重比	12							
		24							
腎臓	絶対重量	24							
	対体重比	12							
		24							

↓ ↑ : p < 0.05, ◐ ◑ : p < 0.01, 矢印なし: 統計学的に有意ではないが、減少傾向を示した数値。
 検定法: 体重増加量および臓器の絶対重量は Tukey あるいは Scheffe 多重比較法、対体重比
 および対脳重比は Kruskal-Wallis 多重検定法。
 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。

5000ppm 群雄で肝臓の絶対重量、対体重比および対脳重量比が増加し、検体投与の影響と考えられる。その他、5000ppm 群雌で脳の対体重比の増加、心臓の絶対重量と対脳重比の減少、および副腎の対脳重比の減少等が認められたが、いずれも体重増加量の減少によるものであり、検体投与の直接的な影響ではないと考えられる。

肉眼的病理検査; 切迫屠殺、中間屠殺(12 ヶ月)および試験終了時(24 ヶ月)の全生存動物について剖検を行った。また途中死亡動物についても、可能な限り検査した。

いずれの検査時期にも、対照群と投与群の間に検体投与によると思われる、肉眼所見の違いはみられなかった。

病理組織学的検査; 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器について病理標本作製し、検鏡した。

肺、気管、唾液腺、胃、小腸および大腸、脾臓、肝臓、心臓、腎臓、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮角、脳、末梢神経、骨髄、リンパ節、脾臓、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、眼球、視神経、骨格筋

[非腫瘍性病変]

発生頻度が高かった病変を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

対照群を含む全群で気管、肺、腎臓および副腎に発生頻度が高い病変が認められたが、検体投与の影響と考えられる所見はみられなかった。

性別		雄					雌				
投与量(ppm)		0	40	200	1000	5000	0	40	200	1000	5000
臓器	所見\検査動物数										
気管	限局性慢性気管炎										
	びまん性慢性気管炎										
肺	慢性肺炎										
	限局性気管支周囲リンパ球浸潤										
	限局性細気管支周囲リンパ球浸潤										
	限局性亜急性性肺炎										
	浮腫										
	肺気腫										
副腎	限局性皮質脂肪腫状変性										
	血液嚢胞										
腎臓	慢性腎炎(加齢性)										
	限局性間質性リンパ球浸潤										
	尿細管硝子円柱										

[腫瘍性病変] 全ての腫瘍性病変を次頁からの表に示した。

多発した主な腫瘍性病変を下表に示した。

性別		雄					雌				
投与量(ppm)		0	40	200	1000	5000	0	40	200	1000	5000
臓器	所見\検査動物数										
下垂体	色素嫌性腺腫(B)										
乳腺	線維腺腫(B)										

B: 良性腫瘍

対照群を含む全ての群の雌雄で下垂体の色素嫌性腺腫が、雌で乳腺の線維腺腫が多く認められたが、投与量との関連が認められず、検体投与の影響とは考えられなかった。その他にみられた腫瘍も、本試験機関において本系統ラットに通常にみられるものであった。また、良性および悪性腫瘍数、腫瘍総数、ならびに腫瘍発生動物数のいずれについても検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性試験における影響として、5000ppm群雌雄および1000ppm群雄で摂餌量の減少、5000ppm群雌雄で体重増加量の減少および同群雄で肝重量の増加が認められたので、無毒性量は雄200ppm(8.2mg/kg/日)および雌1000ppm(54.4mg/kg/日)であると判断される。

表 1-1 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄					雌					
	投与量(ppm)		0	40	200	1000	5000	0	40	200	1000	5000	
12 ヵ月 中間 屠殺	臓器	所見\検査動物数											
	下垂体	色素嫌性腺腫(B)											
	副腎	褐色細胞腫(B)											
	皮下	線維肉腫(M)											
	乳腺	線維腺腫(B)											
死亡・ 切迫 屠殺	臓器	所見\検査動物数											
	脾臓	腺房腺腫(B)											
	肝臓	線維肉腫(M)											
		肝細胞腺腫(B)											
	腎臓	線維腫(B)											
	子宮	平滑筋腫(B)	/										
	胸腺	線維肉腫(M)											
	下垂体	色素嫌性腺腫(B)											
	副腎	褐色細胞腫(B)											
		皮質腺腫(B)											
	眼	扁平上皮癌(M)											
	皮下	線維肉腫(M)											
		未分化癌(M)											
		線維腫(B)											
乳腺	線維腺腫(B)												
	腺癌(M)												
24 ヵ月 最終 屠殺	臓器	所見\検査動物数											
	消化管	平滑筋腫(B)											
	脾臓	脾島細胞腺腫(B)											
	心臓	腺癌(M)(転移)											
	腎臓	明細胞腺腫(B)											
		脂肪腫(B)											
	下垂体	色素嫌性腺腫(B)											
		好塩基性細胞腺腫(B)											
	精巣	間細胞腺腫(B)											
	子宮	腺腫様ポリープ(B)	/										
内膜腺腫(B)													
腺癌(M)		/											

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

表 1-2 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	40	200	1000	5000	0	40	200	1000	5000
24 カ 月 最 終 屠 殺	臓器	所見\検査動物数										
	甲状腺	腺癌(M)(原発)										
		腺癌(M)										
		傍濾胞細胞腺腫(B)										
		濾胞上皮細胞腺腫(B)										
		血管肉腫(M)(転移)										
	上皮小体	腺腫(B)										
	副腎	褐色細胞腫(B)										
		血管肉腫(M)(転移)										
	皮下	線維腫(B)										
		腺癌(M)(転移)										
		扁平上皮癌(M)										
		線維肉腫(M)										
		脂肪腫(B)										
乳腺	線維腺腫(B)											
部位不明	平滑筋腫(B)											
全 動 物	臓器	所見\検査動物数 ^{*1)}										
	消化管	平滑筋腫(B)										
	脾臓	脾島細胞腺腫(B)										
		腺房腺癌(M)										
	肝臓	肝細胞腺腫(B)										
		線維肉腫(M)										
	心臓	腺癌(M)(転移)										
	腎臓	線維腫(B)										
		明細胞腺腫										
		脂肪腫(B)										
	精巣	間細胞腺腫(B)										
	子宮	平滑筋腫(B)										
		腺腫様ポリープ(B)										
		内膜腺腫(B)										
腺癌(M)												

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

*1: 全例数は 50 匹/群であるが、死亡動物のうち死後変化の激しい動物は病理観察から除かれた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1-3 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	40	200	1000	5000	0	40	200	1000	5000
全 動 物	臓器	所見\検査動物数										
	胸 腺	線維肉腫(B)										
	下垂体	色素嫌性腺腫(B)										
		好塩基性細胞腺腫(B)										
	甲状腺	傍濾胞細胞腺腫(B)										
		濾胞上皮細胞腺腫(B)										
		腺癌(M) 原発性										
		腺癌(M)										
	上皮 小体	血管肉腫(M)(転移)										
		腺腫(B)										
	副 腎	褐色細胞腫(B)										
		皮質腺腫(B)										
		血管肉腫(M)(転移)										
	眼	扁平上皮癌(M)										
	皮 下	線維腫(B)										
		脂肪腫(B)										
		線維肉腫(M)										
		腺癌(M)(転移)										
		扁平上皮癌(M)										
	乳 腺	未分化癌(M)										
		線維腺腫(B)										
	部位 不明	腺癌(M)										
		平滑筋腫(B)										
合 計	腫瘍数	良性										
		悪性										
	総腫瘍数											
	担腫瘍動物数	良性										
		悪性										
担腫瘍動物総数												

B: 良性腫瘍 M: 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

4) ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 T-66)

検体の純度:

供試動物: CD(SD)系ラット、雄5および雌6週齢、体重;雄130~161g 雌120~148g、
1群雌雄各80匹

26、52および78週間の計画屠殺群を設け、下表のようにラットを配分した。

投与量 (ppm)	計画屠殺群						最終屠殺群	
	26週		52週		78週		104週	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照	10	10	10	10	10	10	50	50
50	10	10	10	10	10	10	50	50
300	10	10	10	10	10	10	50	50
3000	10	10	10	10	10	10	50	50

投与期間: 24ヵ月間 (1988年5月19日~1990年5月18日)

投与方法: 検体を0、50、300および3000ppmの濃度で飼料に混入し、24ヵ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1~2ヵ月間に1回調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日観察し、触診を含む詳細な臨床観察を週1回実施した。

統計学的有意差のみられた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
部位	所見\検査動物数								
外観	削瘦								
	鼻吻部の汚れ								
皮膚	胼胝形成								
	腫瘤								

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

3000ppm 群雄で皮膚の胼胝形成および雌で皮膚の腫瘤が減少した。前者は体重増加が抑制され、後肢蹠部への負荷が少なかったことに原因したものと思われた。一方、雌で皮膚腫瘤の減少は主に乳腺腫瘤の発生頻度の減少によるもので、体重増加抑制による二次的変化と解釈した。300ppm 以下の投与群における変動は、いずれも投与量との関連がみられないことから、偶発的変化と考えた。

試験終了時の死亡率を下表に示した。

投与量 (ppm)		0	50	300	3000
死亡率 (%)	雄				
	雌				

↓ ↑ : p < 0.05 検定法: Life table analysis

()内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の。

3000ppm 群雄で有意に死亡率が減少したが、検体投与による死亡率の増加はみられなかった。

体重変化: 投与開始から 13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

試験期間中の体重変化を抜粋して以下の表に示した。3000ppm 群雌雄で対照群に比べ統計学的に有意な体重増加抑制が投与期間を通じて観察された。試験終了時の 3000ppm 群の体重は、雄で対照群の 88% および雌で 70% に減少した。300 および 500ppm 群雌雄は、対照群とほぼ同様に推移した。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		50	300	3000	50	300	3000
体重	13 週						
	52 週						
	104 週						

↓ : p < 0.01、検定法: Dunnett または Scheffe の多重比較法。

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の。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

摂餌量および食餌効率； 摂餌量は投与開始後 13 週目までは週 1 回、その後は 4 週間に 1 回測定した。

食餌効率は 13 週目まで算出した。

3000ppm 群雌雄で全期間の平均摂餌量は、雄が対照群の 96%および雌が 82%、食餌効率は雄が 93%および雌が 85%に減少した。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量を以下の表に示した。

投与量 (ppm)		50	300	3000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.820	10.85	114.6
	雌	2.056	12.62	138.9

血液学的検査； 投与後 26、52、78 および 104 週に、各群雌雄それぞれ 10 匹の動物を一晩絶食後、エーテルの軽麻酔下で開腹し、後大静脈より血液を採取し、以下の項目について測定した。赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、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)、血小板数、白血球数、白血球百分率 対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を下表に示した。

項目	検査週	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		50	300	3000	50	300	3000
赤血球数	26						
MCV	26						
MCH	26						
MCHC	78						
血小板数	26						
白血球数	52						

↓ ↑ : p < 0.05 ♂ ♀ : p < 0.01、検定法: Dunnett または Scheffe の多重比較法。

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。

3000ppm 群雌で投与後 26 週に赤血球数の減少、MCV、MCH および血小板数の増加がみられた。本試験の 28 日間予備試験において、5000ppm 群の雌雄で同様の変化が観察されたことから、検体投与の影響と考えられた。しかし、52 週以降はこれらの項目に有意な変化は消失した。3000ppm 群雄で投与後 52 週に白血球が増加したが、一時的変動であり関連する病理組織学的所見も認められないことから、偶発性のものと判断した。50 および 3000ppm 群の雌で 78 週に MCHC が増加したが、その程度は軽微であり、他の検査時期にみられないことから、偶発性のものと考えた。

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漿を用い、以下の項目を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

アルカリホスファターゼ(ALP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、総タンパク、アルブミン、グロブリン、A/G比、血糖、総コレステロール、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム、塩素

統計学的有意差のみられた項目を下表に示した。

項目	検査週	投与量(ppm)					
		雄			雌		
		50	300	3000	50	300	3000
GOT	26						
総ビリルビン	26						
	52						
	78						
	104						
総タンパク	26						
グロブリン	26						
血糖	26						
尿素窒素	26						
	52						
	104						
クレアチニン	26						
	78						
総コレステロール	26						
	78						
カルシウム	26						
リン	104						
カリウム	26						
	104						
塩素	26						

↑ ↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01、検定法: Dunnett または Scheffe の多重比較法。
 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。
 矢印の表示がないのは、統計学的有意差のないもの(参考値)

検体投与の影響として総コレステロールの増加が、300ppm 群以上の雄で投与後 26 週に、また 3000ppm 群雄で 78 週および雌で 26 週に認められた。50ppm 群雄でも投与後 78 週に有意な増加がみられたが、これは投与量との関連がみられないことから偶発的変化と解釈した。3000ppm 群の雌で尿素窒素の増加および総ビリルビンの減少がみられた。前者からは腎機能に対する検体の影響が示唆されたが、後

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

者についてはその生物学的意義は不明である。3000ppm 群雌で投与後 26 週にみられた GOT、血糖およびクレアチニンの減少は検体投与によって体重増加抑制を示した動物の生理機能の低下を反映したものと考えられた。その他の変動は一時的で一貫性がみられないか、あるいは投与量との関連がみられないことより、偶発性のものと考えた。

尿 検 査： 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

比重、pH、タンパク、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、尿量、尿色、尿沈査

統計学的有意差のみられた項目を下表に示した。

項目	検査週	投与群 (ppm)					
		雄			雌		
		50	300	3000	50	300	3000
比重	26						
pH ¹⁾	52						
タンパク ¹⁾	26						
	52						
ウロビリノーゲン ¹⁾	78						
尿量	26						
尿沈査(白血球) ¹⁾	52						

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01、

検定法: Dunnett または Scheffe の多重比較法、数値の表示のないものは Mann-Whitney U 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。

¹⁾: 試験紙法あるいは鏡検による分類データのため対照群に対する比率は計算できない。

3000ppm 群雄で投与後 26 週に尿量の増加、78 週にウロビリノーゲンの増加が、また雌で 52 週にタンパクの減少がみられた。これらの変動は一時的なものであり、泌尿器系の病理学的検査で関連する著変は観察されなかったことより、いずれも偶発性のものと考えた。

眼科学的検査： 投与開始前に全動物、投与 104 週時に対照群および 3000ppm 群の全生存動物について検査した。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓器重量： 投与後 26、52、78 および 104 週に各群雌雄 10 匹の以下に示す臓器の重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

3000ppm 群雌雄の肝臓の対体重比が全検査時期で有意に増加し、雄では絶対重量に一時的に有意な増加がみられた。同群雄で腎臓の対体重比の増加が投与後 26 と 52 週に、雌で 26、52 および 78 週に認められた。これらの変化は検体投与の影響と考えられる。一方、同群の雄における副腎の絶対重量の減少および精巣の対体重比の増加、雌における脳の対体重比の増加および副腎の絶対重量の減少は、体重の低下に起因する二次的は変動と考えた。300ppm 群雌の卵巣の対体重比減少は投与量との関連がなく、検体投与とは考えられない。

性別		検査週	雄			雌		
			50	300	3000	50	300	3000
屠殺時最終体重		26						
		52						
		78						
		104						
脳	対体重比	26						
	対体重比	52						
	対体重比	78						
肝臓	絶対重量	26						
	対体重比							
	対体重比	52						
	対体重比	78						
	対体重比	104						
腎臓	対体重比	26						
	対体重比	52						
	対体重比	78						
副腎	絶対重量	26						
	絶対重量	52						
精巣	対体重比	52						
卵巣	対体重比	104						

↑ ↓ : p < 0.05 ◊ ◊ : p < 0.01、矢印なし: 統計学的には有意ではないが、減少傾向を示した数値。検定法: Dunnett または Scheffe の多重比較法。
 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。

肉眼的病理検査; 途中死亡動物、切迫屠殺動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。
 病変の総発生頻度が、対照群と比較し統計学的に有意差のみられた項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

3000ppm 群雌雄の肝臓に暗調化、同群の雄に肝臓の腫大および雌に体型小型化の発生頻度が増加した。一方、副腎および皮膚にみられた減少方向の所見は毒性学的意義のないものと考えた。他の所見は投与量との関連がみられず、検体投与によるものではなかった。

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
全 動 物	臓器	所見\検査動物数								
	外 観	削瘦								
		体型小型化								
		鼻吻部よごれ								
	肝 臓	暗調化								
		腫大								
	副 腎	腫瘤								
	皮 膚	脱毛								
		後脚蹠部胼胝形成								
		腫瘤								

↓: p<0.05 ↑↓: p<0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

組織病理学的検査; 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、末梢神経、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体、副腎、脾臓、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部・腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺、食道、胃(前胃・腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊および凝固腺、卵巣、子宮(角部・体部、頸管部)、眼球およびハーダー腺、骨格筋、皮膚、乳腺(腹部: 雌のみ)、肉眼的異常部位(正常組織との境界部、腫瘍の場合には近傍のリンパ節を含む)

[非腫瘍性病変]

対照群と比べ統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を表 1-1~表 1-2(p.141~142)に示した。

3000ppm 群で統計学的に有意に多発した非腫瘍性病変を次頁の表に示した。

検体投与に起因する所見は、3000ppm 群雌雄で肝臓および脾臓に、同群雄で肺、同群雌で胸腺および甲状腺に認められた。すなわち、肝臓には雌雄で肝細胞小増殖巣(好酸性細胞)、雄で小葉周辺性肝細胞脂肪化、肝海綿状変性、肝細胞の細胞質内に好酸性封入体、および雌で小葉中心性肝細胞腫大が有意に増加した。さらに同群雌雄で脾臓に褐色色素沈着、雄で肺に泡沫細胞集簇、雌で胸腺に上皮性細網細胞過形成および甲状腺に鰓嚢遺残が有意に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検査 時期	性別		雄				雌				
	投与量 (ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000	
全 動 物	臓器	所見\検査動物数									
	胸腺	上皮性細網細胞過形成									
	脾臓	褐色色素沈着増加									
	肺	泡沫細胞集簇									
	肝臓	小葉周辺性肝細胞脂肪化									
		小葉中心性肝細胞腫大									
		肝細胞小増殖巣(好酸性細胞)									
		肝海綿状変性									
		肝細胞細胞質内好酸性封入体									
	甲状腺	嚢嚢遺残									

↑ : p<0.05 ♂ : p<0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 2-1～表 2-7(p.143～149)に示した。

対照群と比較して、統計学的に有意に増減した腫瘍性病変を下表に示した。

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
全 動 物	臓器	所見\検査動物数								
	子宮角	内膜間質ポリープ(B)								
	下垂体	前葉腺腫(B)								
	甲状腺	C細胞腺腫(B)								
	皮膚	角化棘細胞腫(B)								
	乳腺	線維腺腫(B)								

B: 良性腫瘍

↓ : p<0.05 ♂ : p<0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

3000ppm 群雄で皮膚の角化棘細胞腫の発生頻度が有意に増加し、その発生頻度は本系統の背景データ(0～6.8%)と比較すると、対照群(3.8%)はその範囲内にあるが、3000ppm 群の頻度(16.3%)は背景の変動幅を逸脱していた。

その他の腫瘍性病変の発生頻度は、対照群に比べ減少しており、毒性学的意義はないものであった。

雌の 300ppm 以上の群で悪性腫瘍数および担悪性腫瘍動物数が見かけ上増加したが、特定の悪性腫瘍の発生増加が認められないことから偶発的な変化と考えられた。

以上のように、検体をラットに 24 ヶ月間にわたって 0、50、300 および 3000ppm の濃度で飼料混入投与

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

した結果、3000ppm 群雌雄において、摂餌量と体重増加量の減少、総コレステロールの増加、肝臓の暗調化の増加、および肝臓と腎臓の重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、3000ppm 群雌雄の脾臓に褐色色素沈着および肝臓に肝細胞小増殖巣(好酸性細胞)の発生頻度が増加した。また、肝臓には雄で肝細胞細胞質内好酸性封入体、小葉周辺性肝細胞腫大および肝海綿状変性が、雌で小葉中心性細胞腫大が増加した。さらに、雄で肺に肺泡沫細胞集簇および雌で甲状腺に鰓嚢遺残の発生頻度が増加した。腫瘍の発生数においては、3000ppm 群の雄で皮膚角化棘細胞腫が増加した。300ppm 群では雄にのみ総コレステロールが増加した。

したがって、無毒性量は雄で 50ppm(1.820mg/kg/日)、雌で 300ppm(12.62mg/kg/日)と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1-1 [非腫瘍性病変]

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
26 週 計 画	臓 器	所見\検査動物数								
	脾 臓	褐色色素沈着増加								
	肝 臓	小葉中心性肝細胞腫大								
		肝細胞細胞質内好酸性封入体								
腎 臓	初期慢性腎症									
52 週 計 画	臓 器	所見\検査動物数								
	心 臓	心筋萎縮・線維化								
	脾 臓	褐色色素沈着増加								
	肺	泡沫細胞集簇								
	肝 臓	小葉周辺性肝細胞脂肪化								
		肝細胞細胞質内好酸性封入体								
		胆管増生								
	腎 臓	初期慢性腎症								
下垂体	前葉過形成									
乳 腺	腺嚢胞化									
78 週 計 画	臓 器	所見\検査動物数								
	心 臓	心筋萎縮・線維化								
	脾 臓	褐色色素沈着増加								
	肝 臓	小葉中心性肝細胞腫大								
		肝海綿状変性								
		肝細胞細胞質内好酸性封入体								
		クッパ ^o -細胞褐色色素沈着増加								
副 腎	皮質過形成									
脊 髓	(腰部)神経根神経線維変性									
104 週 最 終	臓 器	所見\検査動物数								
	心 臓	心筋萎縮・線維化								
		心筋炎								
	脾 臓	褐色色素沈着増加								
	肺	泡沫細胞集簇								
	胃	粘膜下水腫								
	肝 臓	小葉中心性肝細胞腫大								
肝細胞細胞質内好酸性封入体										
胆管増生										

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 1-2 [非腫瘍性病変]

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
104 週 最 終	臓 器	所見\検査動物数								
	腎 臓	初期慢性腎症								
		石灰沈着								
	副 腎	皮質過形成								
		類洞拡張								
	脊 髓	(腰部)神経根神経線維変性								
皮 膚	後肢蹠部肉芽腫									
死 亡 ・ 切 迫 殺	臓 器	所見\検査動物数								
	心 臓	心筋萎縮・線維化								
	胸 腺	上皮性細網細胞過形成								
	肝 臓	胆管増生								
	腎 臓	尿細管細胞変性・壊死								
	甲状腺	鰓嚢遺残								
全 動 物	臓 器	所見\検査動物数								
	心 臓	心筋萎縮・線維化								
	胸 腺	上皮性細網細胞過形成								
	脾 臓	褐色色素沈着増加								
	肺	泡沫細胞集簇								
	肝 臓	小葉周辺性肝細胞脂肪化								
		小葉中心性肝細胞腫大								
		好酸性細胞小増殖巣								
		好塩基性細胞小増殖巣								
		肝海綿状変性								
		肝細胞細胞質内好酸性封入体								
	卵 巢	嚢胞								
	甲状腺	鰓嚢遺残								
副 腎	皮質過形成									
	類洞拡張									
皮 膚	後肢蹠部肉芽腫									

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

表 2-1 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌				
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000	
26 週 計 画	臓器	所見\検査動物数									
	腫瘍性病変を有する動物はいなかった。										
52 週 計 画	臓器	所見\検査動物数									
	肝臓	肝細胞腺腫(B)									
	精巣	間細胞腫(B)									
	子宮角	子宮内膜間質ポリープ(B)									
	下垂体	前葉腺腫(B)									
	大脳	悪性膠腫(M)									
	皮膚	基底細胞上皮腫(B)									
		線維腫(B)									
	乳腺	線維腺腫(B)									
78 週 計 画	臓器	所見\検査動物数									
	脾臓	血管腫(B)									
	全身	悪性リンパ腫(M)									
	肺	腺腫(B)									
	唇	乳頭腫(B)									
	大腸	乳頭状腺腫(B)									
	肝臓	肝細胞腺腫(B)									
	精巣	間細胞腫(B)									
	子宮角	子宮内膜間質ポリープ(B)									
	下垂体	前葉腺腫(B)									
	甲状腺	濾胞細胞腺腫(B)									
		C-細胞腺腫(B)									
	副腎	皮質腺腫(B)									
	眼瞼	乳頭腫(B)									
	皮膚	角化棘細胞腫(B)									
		線維腫(B)									
	乳腺	腺腫(B)									
線維腺腫(B)											
腺癌(M)											

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-2 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
死亡・ 切迫 殺	臓器	所見\検査動物数								
	心臓	シュワン細胞腫(B)								
		腺癌(M)(転移)								
	全身	骨髄性白血病(M)								
		悪性リンパ腫(M)								
	脾臓	血管肉腫(B)								
	肺	腺腫(B)								
		腺癌(M)(転移)								
	大腸	腺癌(M)								
		平滑筋肉腫(M)								
	肝臓	肝細胞腺腫(B)								
		肝細胞癌(M)								
	膵臓	膵島細胞腺腫(B)								
	腎臓	腎芽腫(M)								
	膀胱	移行上皮癌(M)								
	精巣	間細胞腫(B)								
	子宮角	子宮内膜間質ポリープ(B)								
	子宮頸	顆粒細胞腫(B)								
	下垂体	前葉腺腫(B)								
	甲状腺	乳頭状腺腫(B)								
		濾胞細胞腺腫(B)								
		C-細胞腺腫(B)								
		C-細胞癌(M)								
	副腎	褐色細胞腫(B)								
	大脳	悪性髄膜腫(M)								
	脳幹	悪性膠腫(M)								
	眼瞼	基底細胞上皮腫(B)								
	耳	ジンバル腺扁平上皮癌(M)								
ジンバル線癌(M)										

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-3 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
死亡・ 切迫殺	臓器	所見\検査動物数								
	皮膚	角化棘細胞腫(B)								
		線維腫(B)								
		横紋筋肉腫(M)								
		軟骨肉腫(M)								
		悪性シュワン細胞腫(M)								
	乳腺	腺腫(B)								
		線維腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	胸腔	骨肉腫(M)								
腹腔	悪性シュワン細胞腫(M)									
104 週 最終	臓器	所見\検査動物数								
	全身	悪性リンパ腫(M)								
	心臓	シュワン細胞腫(B)								
	脾臓	血管腫(B)								
		血管肉腫(M)								
	副鼻腔	扁平上皮癌(M)								
	肺	腺腫(B)								
	小腸	未分化癌(M)								
	肝臓	肝細胞腺腫(B)								
	脾臓	脾島細胞腺腫(B)								
	腎臓	中皮腫(B)								
	膀胱	乳頭腫(B)								
		血管肉腫(M)								
	精巣	間細胞(B)								
	子宮角	子宮内膜間質ポリープ(B)								
		平滑筋腫(B)								
		血管肉腫(M)								
平滑筋肉腫(M)										
膣	扁平上皮癌(M)									
下垂体	前葉腺腫(B)									
	前葉線癌(M)									

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

↓: p<0.05、検定法: Fisher の直接確率計算法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-4 [腫瘍性病変]

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
104 週 最 終	臓 器	所見\検査動物数								
	甲状腺	濾胞細胞腺腫(B)								
		C-細胞腺腫(B)								
		濾胞細胞腺癌(M)								
		C-細胞癌(M)								
	副 腎	褐色細胞腫(B)								
		皮質腺癌(M)								
		悪性褐色細胞腫(M)								
	大 脳	悪性膠腫(M)								
		悪性髄膜腫(M)								
	小 脳	顆粒細胞腫(B)								
		悪性膠腫(M)								
	脊 髄	顆粒細胞腫(B)								
	骨	血管肉腫(M)								
		骨肉腫(M)								
	骨格筋	血管肉腫(M)								
	耳	ジンバル腺扁平上皮癌(M)								
	耳 介	シュワン細胞腫(B)								
	ハーダー腺	扁平上皮癌(M)								
	皮 膚	乳頭腫(B)								
		角化棘細胞腫(B)								
		基底細胞上皮腫(B)								
		線維腫(B)								
		脂肪腫(B)								
		扁平上皮癌(M)								
		悪性線維性組織球腫(M)								
	乳 腺	腺腫(B)								
		線維線腫(B)								
		腺癌(M)								

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

↑: p<0.05 ↓: p<0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

表 2-5 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
全 動 物	臓器	所見\検査動物数								
	心臓	シュワン細胞腫(B)								
		腺癌(M) (転移)								
	全身	骨髄性白血病(M)								
		悪性リンパ腫(M)								
	脾臓	血管腫(B)								
		血管肉腫(M)								
	副鼻腔	扁平上皮癌(M)								
	肺	腺腫(B)								
		腺癌(M) (転移)								
	唇	乳頭腫(B)								
	小腸	未分化癌(M)								
	大腸	乳頭状腺腫(B)								
		腺癌(M)								
		平滑筋肉腫(M)								
	肝臓	肝細胞腺腫(B)								
		肝細胞癌(M)								
	膵臓	膵島細胞腺腫(B)								
	腎臓	中皮腫(B)								
		腎芽腫(M)								
	膀胱	乳頭腫(B)								
		移行上皮癌(M)								
		血管肉腫(M)								
	精巣	間細胞腫(M)								
	子宮角	子宮内膜間質ポリープ(B)								
		平滑筋腫(B)								
		血管肉腫(M)								
		平滑筋肉腫(M)								
子宮頸	顆粒細胞腫(B)									
膣	扁平上皮癌(M)									
下垂体	前葉腺腫(B)									
	前葉腺癌(M)									

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

↓: p<0.05、検定法: Fisher の直接確率計算法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-6 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000
	臓器	所見\検査動物数								
全 動 物	甲状腺	乳頭状腺腫(B)								
		濾胞細胞腺腫(B)								
		C-細胞腺腫(B)								
		濾胞細胞腺癌(M)								
		C-細胞癌(M)								
	副腎	皮質腺腫(B)								
		褐色細胞腫(B)								
		皮質腺癌(M)								
		悪性褐色細胞腫(M)								
	大脳	悪性膠腫(M)								
		悪性髄膜腫(M)								
	小脳	顆粒細胞腫(B)								
		悪性膠腫(M)								
	脳幹	悪性膠腫(M)								
	骨髄	顆粒細胞腫(B)								
	骨	血管肉腫(M)								
		骨肉腫(M)								
	骨格筋	血管肉腫(M)								
	ハート腺	扁平上皮癌(M)								
	眼瞼	乳頭腫(B)								
基底細胞上皮腫(B)										
耳	ジンバル腺扁平上皮癌(M)									
	ジンバル腺癌(M)									
耳介	シュワン細胞腫(B)									

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

↓: p<0.05 ↑: p<0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-7 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌				
	投与量(ppm)		0	50	300	3000	0	50	300	3000	
全 動 物	臓器	所見\検査動物数									
	皮膚	乳頭腫(B)									
		角化棘細胞腫(B)									
		基底細胞上皮腫(B)									
		線維腫(B)									
		脂肪腫(B)									
		扁平上皮癌(M)									
		横紋筋肉腫(M)									
		軟骨肉腫(M)									
		悪性シュワン細胞腫(M)									
		悪性線維性組織球腫(M)									
	乳腺	腺腫(B)									
		線維腺腫(B)									
		腺癌(M)									
	胸腔	骨肉腫(M)									
	腹腔	悪性シュワン細胞腫(M)									
合 計	検査動物数										
	腫瘍数	良 性									
		悪 性									
	腫瘍総数										
	担腫瘍動物数	良 性									
		悪 性									
	担腫瘍動物総数										
ラットあたりの腫瘍数											

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

↓: p<0.05 ↑: p<0.01、検定法: Fisher の直接確率計算法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) マウスを用いた飼料混入投与による 18 カ月間反復経口投与発がん性試験

(資料 T-42)

検体の純度:

供試動物: ICR系マウス、5 週齢、体重;雄 25.0~31.8g 雌 20.8~28.3g、1 群雌雄各 60 匹

投与期間: 18 カ月間

(雄;1987 年 2 月 5 日~1988 年 8 月 5 日)

(雌;1987 年 2 月 9 日~1988 年 8 月 9 日)

投与方法: 検体を 0、200、1000 および 5000ppm の濃度で飼料に混入して、18 カ月間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日観察し、さらに詳細な観察を週 1 回実施した。

1000 および 5000ppm 群雄で、体表部の腫張および皮膚の痂皮形成が観察されたが、剖検および病理組織学的検査において、腫張を示唆する所見は認められないことから、検体投与に関連しない非特異的変化と考えた。

試験終了時の死亡率を下表に示した。

投与量 (ppm)	0	200	1000	5000
死亡率 (%)	雄			
	雌			

検定法: Life table analysis

検体投与による死亡率の増加はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

体重変化；全ての生存動物について、投与開始後13週目までは毎週1回、以後は投与終了時まで、4週間に1回測定した。

体重変化を変化の見られた週を抜粋して以下の表に示した。

性別	雄			雌		
投与量(ppm)	200	1000	5000	200	1000	5000
体重						
4週						
13週						
52週						
78週						

∩: p<0.01、検定法: Dunnett または Scheffe の多重比較法

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。

5000ppm 群雌雄において対照群に比べ統計学的に有意な体重増加抑制が投与期間を通じて観察された。同時に摂餌量と食餌効率が減少したことから検体投与の影響と判断した。雄の1000ppm 群で12~72週時に、200ppm 群では8~40、60および64週時に統計学的な有意な体重増加抑制が認められた。これら動物の摂餌量は対照群とほぼ同様であったことから、検体投与の関連性が示唆された。しかし、最終体重においては対照群と比べ統計学的有意差は認められなかった。

摂餌量および食餌効率；全てのケージについて投与開始後13週目までは毎週1回、以後は投与終了時まで、4週間に1回測定した。食餌効率は13週目まで算出した。

5000ppm 群雌雄で、対照群に比べ有意な摂餌量の減少が認められ、全期間の摂餌量は対照群に比べ雄が10.4%、雌が5.0%の減少を示した。1000および200ppm 群雌雄では摂餌量は一時的に増減が認められたが、全期間では対照群とほぼ同等であった。食餌効率は対照群を含め全投与群で増減したが、総平均で5000ppm 群雄は23.8%、雌で45.5%の減少を示した。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を下表に示した。

投与量(ppm)		200	1000	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	20.0	103.8	501.4
	雌	18.2	95.6	557.6

血液学的検査；投与後52週および投与終了時(78週)に、各群10匹を対象にして尾端部から採血し、血液塗抹標本を作成した。白血球は以下の項目に分画計数した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

リンパ球、好中球(桿状、分節)、単球、好酸球、好塩基球、その他の分類不能な細胞測定は対照群と 5000ppm 群について実施し、統計学的有意差が認められた場合は、他の投与群についても実施した。

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を下表に示した。

投与開始後 52 週時の雄で、単球の増加、好中球の減少およびその他の細胞(分類不能)の増加が認められたが、これら変化は試験終了時にはみられなかった。投与終了 78 週時の雌で、全投与群に単球の減少が認められた。しかし、これらの変化を示す動物の病理組織学的検査では、特定疾患の増加ないし重篤化は認められないことから、これら変動は検体投与の影響ではなく、偶発的なものと判断した。

項目	検査週	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		200	1000	5000	200	1000	5000
好中球(桿状核)	52						
	78						
単球	52						
	78						
その他細胞	52						
	78						

↑ ↓ : p < 0.05 ◊ : p < 0.01、検定法: Mann-Whitney の U 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の。

臓器重量: 投与終了時の全生存動物を対象にして、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示した。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		200	1000	5000	200	1000	5000
最終体重							
脳	絶対重量						
	対体重比						
肝臓	絶対重量						
	対体重比						
腎臓	絶対重量						
	対体重比						
副腎	絶対重量						
	対体重比						

↑ ↓ : p < 0.05 ◊ ◊ : p < 0.01、検定法: Dunnett または Scheffe の多重比較法。

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の。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

統計学的に有意な臓器重量の変化は 5000ppm 群雌雄に認められた。雌雄の肝臓の対体重比および雌の絶対重量の増加は、検体投与の影響と考えられた。雌雄の副腎の対体重比の増加が認められたが、雄では絶対重量の増加傾向と、組織検査でもアミロイド沈着が認められたことから検体投与によるものと考えられたが、雌では絶対重量の変化を伴っておらず、また病理組織学的変化を認めなかったことから体重の減少による二次的な変化と解釈した。雌雄の脳および腎臓の絶対重量および/あるいは対体重比の変化は、体重の低下に起因したものと推察した。

肉眼的病理検査：途中死亡・切迫屠殺動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を表 1(p.156)に示した。

5000ppm 群で発生頻度が有意に増加した肉眼的病理所見を下表に示した。

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
全 動 物	臓器	所見\検査動物数								
	外観	体型小型化								
	肝臓	暗調化								
		腫大								

↑: p<0.01、検定法:Fisher の直接確率法。

5000ppm 群雌で、著しい体重増加抑制によるものと考えられる体型の小型化が有意に増加した。また、同群雌雄に肝臓の暗調化と腫大の発生頻度の増加がみられた。これら変化は検体投与に起因するものと考えた。発生頻度が対照群と比べ有意に変動した病変を表 1(p.156)に示したが、上記所見を除き、いずれも投与量との関連が認められず、偶発性のものと判断した。

組織病理学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、検鏡した。

脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体(両側)、副腎(両側)、脾臓、骨・骨髄(胸骨、大腿骨)および膝関節、リンパ節(頸部/腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺、舌、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部(鼻腔、副鼻腔、口腔および中耳を含む)、咽頭、喉頭、気管、肺、腎臓(両側)、膀胱、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、精嚢および凝固腺、卵巣(両側)、子宮、眼球およびハーダー腺(両側)、骨格筋(下腿三頭筋、片側)、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部:雌のみ)、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

[非腫瘍性病変]

対照群と比べ統計学的に有意差が認められた非腫瘍性病変を表 2-1~2-2 に示した (p.157~158)。

5000ppm 群で発生頻度が統計学的に有意に変動し、検体投与に関連すると考えられた非腫瘍性病変を以下の表に示した。

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
全 動 物	臓器	所見 \ 検査動物数								
	心臓	アミロイド沈着								
	リンパ節 (腸管膜)	アミロイド沈着								
	脾臓	アミロイド沈着								
	肺	アミロイド沈着								
	腺胃	アミロイド沈着								
	小腸	アミロイド沈着								
	肝臓	小葉中心性肝細胞脂肪化								
		小葉周辺性肝細胞腫大								
		アミロイド沈着								
	腎臓	糸球体アミロイド沈着								
	子宮角	アミロイド沈着								
	甲状腺	アミロイド沈着								
副腎	アミロイド沈着									

↑ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01、検定法: Fisher の直接確率法。

5000ppm 群の雌雄および 1000ppm 群の雄において、肝臓の小葉周辺性肝細胞腫大の発生頻度が増加し、5000ppm 群の雄で小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度が減少した。また、同群雄の心臓、腸肝膜リンパ節、脾臓、肺、胃(腺胃)、小腸、肝臓、腎臓、甲状腺および副腎に、ならびに雌の心臓、腸肝膜リンパ節、小腸および子宮角にアミロイド沈着の発生頻度が増加した。小腸のアミロイド沈着は、200 および 1000ppm 群雌雄でも増加した。この全身性アミロイド症は老齢 ICR マウスに頻発することが知られており、背景データは 18 ヶ月発がん性試験で雄:0~2.0%(平均 0.6%)、雌:0~1.9%(平均 0.6%)および 24 ヶ月慢性・発がん性試験では雄:0~24.2%(平均 6.5%)、雌:0~22.8%(平均 8.1%)であった。本試験における 5000ppm 群の発生頻度(雄 20%、雌 13.3%)は背景データに比べ明らかに高頻度であり、検体投与の影響が考えられる。一方、1000ppm 以下の投与群でみられたアミロイド沈着は、検体投与の影響と断定できるほど高頻度ではなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

対照群と比べて統計学的に有意差の認められた病変を表 2-1～2-2 に示した(p.148～149)。上記病変を除き、いずれも偶発的なものと判断した。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 3-1～3-4 に示した(p.159～163)。

200ppm 群雌雄で、ハーダー腺腫および雌で悪性リンパ腫の発生頻度が増加したが、投与量との関連が認められないことから、偶発的な変動と判断された。5000ppm 群雌の最終計画殺例における下垂体前葉腫瘍の減少も偶発的な変動と解釈した。本試験で認められた他の腫瘍性病変も、いずれも本系統のマウスに通常みられるものであり、投与との関連は認められなかった。

以上のように、検体をマウスに 18 ヶ月間にわたって 0、200、1000 および 5000ppm の濃度で飼料混入投与した結果、5000ppm 群の雌雄において投与期間を通じた明らかな体重増加抑制が認められ、摂餌量および食餌効率も減少し、同群雌で体型の小型化の発生頻度が増加した。剖検所見では同群雌雄で肝臓の暗調化と腫大の発生頻度が増加し、肝臓重量が増加した。病理組織学的検査において同群雌雄の肝臓に小葉周辺性肝細胞腫大の発生頻度が増加し、雄では小葉中心部の肝細胞脂肪化が減少した。さらに、雌雄ともに全身性アミロイド症が増加し、その結果雄の副腎重量が増加した。1000ppm 群では雄の肝臓に小葉周辺性肝細胞腫大が認められた。1000 および 200ppm 群の雄に体重増加抑制が認められ、検体投与の関与を否定できなかった。以上の結果から、イソプロチオランは、最大耐量である 5000 ppm をマウスに 18 ヶ月間投与しても発がん性を示さないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 1 [肉眼的病理所見]

検査 時期	性別		雄				雌				
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	
死亡 切迫 屠殺	臓器	所見\検査動物数									
	腎臓	退色									
	リンパ節 (その他部位)	腫大									
	皮膚	痂皮形成									
18 ヵ月 最終	臓器	所見\検査動物数									
	外観	体型小型化									
		触毛脱毛									
	肝臓	暗調化									
		腫大									
	精嚢	肥大									
	凝固腺	肥大									
下垂体	結節・腫瘤										
リンパ節 (その他部位)	腫大										
全 動物	臓器	所見\検査動物数									
	外観	体型小型化									
	リンパ節 (その他部位)	腫大									
	肺	結節・腫瘤									
	肝臓	暗調化									
		腫大									
		結節・腫瘤									
	膀胱	尿うっ滞									
精嚢	肥大										
凝固腺	肥大										

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01、検定法: Fisher の直接確率法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 2-1 [非腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌				
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	
死亡 ・ 切迫 屠殺	臓器	所見\検査動物数									
	心臓	アミロイド沈着									
	リンパ節 (腸間膜)	アミロイド沈着									
	小腸	アミロイド沈着									
	肝臓	小葉周辺性肝細胞腫大									
		肝細胞小増殖巣									
	腎臓	糸球体アミロイド沈着									
	膀胱	腔拡張(尿うっ滞)									
	甲状腺	アミロイド沈着									
皮膚	皮膚炎										
18 ヵ 月 最 終	臓器	所見\検査動物数									
	心臓	アミロイド沈着									
	リンパ節 (腸間膜)	アミロイド沈着									
	小腸	アミロイド沈着									
	肝臓	小葉中心性肝細胞脂肪化									
		巣状肝細胞壊死									
		小葉周辺性肝細胞腫大									
		びまん性肝細胞腫大									
		小肉芽腫									
	腎臓	ボーマン囊拡張									
		糸球体アミロイド沈着									
	精囊	分泌物うっ滞									
	凝固腺	分泌物うっ滞									
大脳	鉍質沈着										
脊髄 (胸部)	神経線維変性										

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01、検定法: Fisher の直接確率法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2-2 [非腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌				
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	
全 動 物	臓器	所見\検査動物数									
	心臓	アミロイド沈着									
	リンパ節 (腸間膜)	アミロイド沈着									
	脾臓	アミロイド沈着									
	肺	アミロイド沈着									
	胃(腺胃)	粘膜上皮過形成									
		アミロイド沈着									
	小腸	アミロイド沈着									
	肝臓	小葉中心性肝細胞脂肪化									
		巣状肝細胞壊死									
		小葉周辺性肝細胞腫大									
		びまん性肝細胞腫大									
		小肉芽腫									
		アミロイド沈着									
	腎臓	糸球体硬化症									
		糸球体アミロイド沈着									
	精囊	分泌物うっ滞									
	凝固腺	分泌物うっ滞									
	子宮角	アミロイド沈着									
	甲状腺	アミロイド沈着									
	副腎	被膜下細胞増生									
		アミロイド沈着									
	大脳	鉍質沈着									
皮膚	皮膚炎										

↑↓: p<0.05 ↑↓: p<0.01、検定法: Fisher の直接確率法。

表 3-1 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
死亡 ・ 切迫 屠殺	臓器	所見\検査動物数								
	血液およびリンパ組織	骨髄性白血病(M)								
		悪性リンパ腫(M)								
		白血病 ¹⁾ (M)								
	肺	腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	小腸	腺癌(M)								
	大腸	腺腫(B)								
	肝臓	肝細胞腺腫(B)								
		肝細胞癌(M)								
		血管肉腫(M)								
	脾臓	腺房細胞腺腫(B)								
	精巣上体	間細胞腫(B)								
	卵巣	顆粒膜細胞腫(B)								
	ハーダー腺	腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	皮膚	扁平上皮癌(M)								
		線維肉腫(M)								
		軟骨肉腫(M)								
		組織球肉腫(M)								
骨肉腫(M)										
乳腺	腺癌(M)									
腹腔	組織球肉腫(M)									
18 カ 月 最 終	臓器	所見\検査動物数								
	血液およびリンパ組織	悪性リンパ腫(M)								
		全身性肥満細胞腫(M)								
	脾臓	血管腫(B)								
	肺	腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	胃	乳頭腫(B)								
		扁平上皮(M)								
大腸	平滑筋腫(B)									
小腸	腺腫(B)									

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

1): 自己融解のため白血病の細分類は不可能。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 3-2 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
18 カ 月 最 終	臓器	所見\検査動物数								
	肝臓	肝細胞腺腫(B)								
		血管腫(B)								
		肝細胞癌(M)								
		肝細胞芽腫(M)								
		血管肉腫(M)								
	腎臓	腺癌(M)								
	膀胱	乳頭腫(B)								
		平滑筋肉腫(M)								
	精巣	腺腫(B)								
		間細胞腫(B)								
	卵巢	乳頭腫(B)								
		腺腫(B)								
	子宮角	平滑筋腫(B)								
		平滑筋肉腫(M)								
	子宮頸部	血管肉腫(M)								
		平滑筋肉腫(M)								
	膺	乳頭腫(B)								
	下垂体	前葉腺腫(B)								
	甲状腺	濾胞腺腫(B)								
	副腎	皮質腺腫(B)								
		皮膜下細胞腺腫(B)								
	骨	骨腫(B)								
	ハータ腺	腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	皮膚	毛嚢上皮腫(B)								
		横紋筋肉腫(M)								
		角化棘細胞腫(B)								
		線維肉腫(M)								
		悪性線維性組織球腫(M)								

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

↑ ↓ : p<0.05、検定法: Fisher の直接確率法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 3-3 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000
18 カ 月 最 終	臓器	所見\検査動物数								
	乳 腺	腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	腹 腔	組織球肉腫(M)								
		血管肉腫(M)								
全 動 物	臓器	所見\検査動物数								
	血液およびリ ンパ組織	骨髄性白血病(M)								
		悪性リンパ腫(M)								
		全身性肥満細胞腫(M)								
		白血病 ¹⁾ (M)								
	脾 臓	血管腫(B)								
	肺	腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	胃	乳頭腫(B)								
		扁平上皮癌(M)								
	小 腸	腺腫(B)								
		腺癌(M)								
	大 腸	腺腫(B)								
		平滑筋腫(B)								
	肝 臓	肝細胞腺腫(B)								
		血管腫(B)								
		肝細胞癌(M)								
		肝細胞芽腫(M)								
		血管肉腫(M)								
	膵 臓	腺房細胞腺腫(B)								
	腎 臓	腺癌(M)								
	膀 胱	乳頭腫(B)								
		平滑筋肉腫(M)								
	精 巢	腺腫(B)								
		間細胞腫(B)								
	精巢上体	間細胞腫(B)								

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

1): 自己融解のため細分類は不可能。

†: p<0.05、Fisher の直接確率法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 3-4 [腫瘍性病変]

検査 時期	性別		雄				雌					
	投与群(ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000		
全 動 物	臓器	所見\検査動物数										
	卵巣	乳頭腫 (B)	/									
		顆粒膜細胞腫 (B)										
		腺腫 (B)										
	子宮角	平滑筋腫 (B)										
		平滑筋肉腫 (M)										
	子宮頸部	血管肉腫 (M)										
		平滑筋肉腫 (M)										
	膣	乳頭腫 (B)										
	下垂体	前葉腺腫 (B)										
	甲状腺	濾胞腺腫 (B)										
	副腎	皮質腺腫 (B)										
		被膜下細胞腺腫 (B)										
	骨	骨腫 (B)										
	ハタゲ腺	腺腫 (B)										
		腺癌 (M)										
	皮膚	毛嚢上皮腫 (B)										
		扁平上皮癌 (M)										
		横紋筋肉腫 (M)										
		骨肉腫 (M)										
		悪性線維性組織球腫 (M)										
		角化棘細胞腫 (B)										
		線維肉腫 (M)										
		軟骨肉腫 (M)										
	乳房	組織球肉腫 (M)										
		腺腫 (B)										
	腹腔	腺癌 (M)										
		血管肉腫 (M)										
				組織球肉腫 (M)								

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍。

↑: p<0.05、検定法: Fisher の直接確率法。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

合 計	検査動物数									
	腫瘍数	良性								
		悪性								
	腫瘍総数									
	担腫瘍動物数	良性								
		悪性								
	担腫瘍動物総数									