

1. 急性毒性

(資料 毒-1)

(1) モリネート原体のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関：Stauffer Chemical Richmond Research Center (米国)

報告書作成年：1965年

検 体：原体 (純度 %)

試験動物：SD系ラット、1群雄5匹 (体重180~224 g)

試験期間：14日間観察

方 法：検体はコーン油で溶解し、胃管を用いて1回強制経口投与した。

試験項目：一般症状および生死を14日間観察した。試験終了時に生存動物について体重測定を行った。

結 果：次表に示した。

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雄100、215、464、1000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄584 (430~794)
死亡開始時間および 終了時間	24時間後 2日後
症状発現時期および 消失時期	(記載なし) 4日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	215
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	215

一般状態の変化としては、464、1000 mg/kg投与群において、鎮静、頻尿がみられた。生存動物では、これらの症状は投与3~4日以内に回復した。
体重変化としては、100、215 mg/kg投与群の体重増加量は正常範囲内であった。464 mg/kg投与群の生存動物の体重は100 mg/kg投与群の67%であり、体重増加抑制がみられた。

(資料 毒-2)

(2) モリネート原体のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関：Stauffer Chemical Richmond Research Center (米国)

報告書作成年：1964年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：SD系ラット、1群雌7匹(体重170~210 g)

試験期間：14日間観察

方 法：検体はコーン油で10%溶液とし、一夜絶食動物に1回強制経口投与した。

試験項目：一般症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法で算出した。

結 果：次表に示した。

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌200、400、600、800、 1000、1200
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌660 (534~815)
死亡開始時間および 終了時間	24時間後 2日後
症状発現時期および 消失時期	1時間以内 72時間
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	なし

一般症状の変化としては、投与1時間以内に、全動物でわずかながら運動量の低下がみられた。200、400 mg/kg投与群では、投与24時間以内に回復した。1000~1200 mg/kg投与群では鎮静、流涎、流涙、呼吸困難、頻尿、体温低下などの症状が24時間後最も強くなり、その後の症状に程度の軽減はあったが72時間まで継続してみられた。投与後72時間以降は生存動物の一般症状に異常は認められなかった。

肉眼的病理検査では、死亡動物では肺にわずかなうっ血ないし出血がみられた。生存動物では終了時検査で異常は認められなかった。

(資料 毒-3)

(3) モリネート原体のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関：Hazleton Nuclear Science (米国)

報告書作成年：1961年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：SD系ラット、1群雄5匹(体重232~299 g)

試験期間：14日間観察

方 法：検体はWesson油の10または20%(W/V)溶液とし、胃管を用いて1回強制経口投与した。

試験項目：一般症状および生死を14日間観察した。死亡動物については肉眼的病理検査を行った。試験終了時に生存動物については体重測定し、頸椎脱臼により屠殺後、肉眼的病理検査を行った。LD₅₀値はMoving average法により算出した。

結 果：次表に示した。

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雄228 ^a 、492 ^a 、1060 ^a 、2279 ^a (215、464、1000、2150 μL/kg)
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄722 ^a (681 μL/kg)
死亡開始時間および 終了時間	24時間後 3日後
症状発現時期および 消失時期	数分後 (10分以内) (記載なし)
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	492 ^a (464 μL/kg)
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	228 ^a (215 μL/kg)

a：比重1.06として申請者計算

一般状態の変化としては、464 μL/kg投与群において、投与後ほぼ10分までに鎮静を呈し、流涎および過度のそしゃく運動を呈した。これらの動物は、投与24時間後には正常な状態に回復した。215および464 μL/kg投与群では動物死亡はみられなかった。1000および2150 μL/kg投与群では、投与後数分以内に鎮静および運動機能の低下がみられ、さらに流涎、過度のそしゃく運動、流涙がみ

られた。2150 $\mu\text{L}/\text{kg}$ 投与群では、投与後3日までに全例の死亡がみられたが、死に至るまでの症状の変化は特にみられなかった。1000 $\mu\text{L}/\text{kg}$ 投与群の24時間後の生存例(1例)では、運動失調、間欠性の振戦、眼周囲の血液滲出および頻尿を呈し、体温が低下した。これらの症状は、死に至るまで継続した。

肉眼的病理検査では、死亡動物において、肺にうっ血ないし出血が、また、消化管の黄色変化がみられた。生存動物では異常は認められなかった。

(資料 毒-4)

(4) モリネート原体の Maus および ラット における 急性経口毒性試験

- ① ラット における 急性経口毒性試験
- ② Maus における 急性経口毒性試験

試験機関：日本農村医学研究所
報告書作成年：(記載なし)

検 体：原体(純度 %)

試験動物：①ウイスター系ラット、1群雄雌各8匹(体重 雄85~125 g、雌85~108 g)
②dd系 Maus、1群雄雌各10匹(体重 雄19~27 g、雌18~25 g)

試験期間：10日間観察

方 法：検体はオリーブ油に混合溶解し、30倍として金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与を行った。

試験項目：一般症状および生死を10日間観察した。

結 果：次表に示した。

動 物	①ラット	② Maus
投与方法	経 口	経 口
投与量 (mg/kg)	雄雌288、346、416、 500、600、720、864、 1036、1243、1491	雄雌319、383、460、 552、662、795、954、 1145、1374、1649
LD ₅₀ (mg/kg)	雄613.7 雌560.2	雄522.3 雌587.7
死亡開始時間および 終了時間	(記載なし) 1日後	(記載なし) 1日後
症状発現時期および 消失時期	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄500 雌416	雄460 雌319
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	(記載なし)	(記載なし)

一般症状の変化：

- ①ラット：死亡時、間代性痙攣または振戦が現れ、多くの個体で後肢の痙攣、眼脂分泌がみられた。
- ② Maus：1649 mg/kg投与群では投与1日後に全動物が死亡した。

(資料 毒-5)

(5) モリネート原体のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：東京歯科大学

報告書作成年：1968年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：dd系マウス、1群雄10匹(体重18~22 g)

試験期間：7日間観察

方 法：検体に乳化剤Sorpil (No. 2020) を5%の割合で加え、水にて乳濁液としてマウスの体重20 g当たり0.1 mLの割合で胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。

試験項目：一般症状および生死を7日間観察し、Litchfield-Wilcoxonの方法でLD₅₀値を算定した。

結 果：次表に示した。

投与方法	経 口
投与量(mg/kg)	雄 267、400、600、900、1350
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 550 (440~690)
死亡開始時間および 終了時間	1日後 1日後
症状発現時期および 消失時期	20分後 (記載なし)
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄267
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	(記載なし)

一般状態の変化としては、投与20~30分後に鎮静、うずくまりがみられ、その後軽度の間代性痙攣を起こしながら、衰弱して死亡した。

(資料 毒-6)

(6) モリネート原体のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：Stauffer Chemical Biological Research Center (米国)

報告書作成年：1963年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：スイス—ウェブスター系マウス、1群雄7匹(体重23~40 g)

試験期間：14日間観察

方 法：検体は0.5%水性メチルセルロース懸濁液として胃管を用いて1回強制経口投与した。

試験項目：生死を14日間観察し、Litchfield-Wilcoxonの方法でLD₅₀値を算定した。

結 果：次表に示した。

投与方法	経 口
投与量(mg/kg)	雄 600、700、750、800、850、900、1000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 795 (736~859)
死亡開始時間および 終了時間	4時間後 5日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄600
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	(記載なし)

申請者注：一般状態の変化は報告書に記載なし。

(資料 毒-7)

(7) モリネート原体の Maus における急性経皮毒性試験

試験機関：東京歯科大学
報告書作成年：1968年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：dd系 Maus、1群雄10匹(体重18~22 g)

試験期間：7日間観察

方 法：検体に乳化剤 Sorpol (No. 2020) を5%の割合で加え、水で乳濁液とし、Maus の背部肩甲骨中間部を2×3 cmにわたって剪毛した部位に体重20 g当たり0.1 mL 塗布し、ドライヤーで乾燥した。

試験項目：一般症状および生死を7日間観察した。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法で算出した。

結 果：次表に示した。

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄592、887、1333、2000、3000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄1220 (950~1560)
死亡開始時間および 終了時間	1日後 3日後
症状発現時期および 消失時期	2時間後 (記載なし)
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄592
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	(記載なし)

一般状態の変化としては、塗布直後は活動がみられるが、1~2時間後には鎮静化し、衰弱状態のまま死亡した。

(資料 毒-8)

(8)ウサギにおける急性経皮毒性試験

試験機関：Woodard Research (米国)

報告書作成年：1963年

検 体：(記載なし)

試験動物：白色ウサギ、1群2匹(体重2~3 kg)、性別記載なし

試験期間：14日間観察

方 法：液状の検体を刈毛した背部皮膚に塗布し、ガラス棒で延展した。投与後はゴムシートで覆い、飼育ケージへ戻した。検体は、24時間後に清拭し、皮膚刺激性の症状を観察した。

試験項目：適用部位の皮膚反応および生死を14日間観察した。観察終了時の生存動物のうち高用量群についてのみ剖検を行った。

結 果：次表に示した。

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	200、632、2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>2000
死亡開始時間および 終了時間	(死亡例なし)
症状発現時期および 消失時期	1日後 3日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし

刺激性変化としては、全ての用量で、塗布後1~2日に極軽度の紅斑がみられたが、塗布後3日目には正常に回復した。

(資料 毒-9)

(9) モリネート原体の Maus における急性皮下毒性試験

試験機関：東京歯科大学
報告書作成年：1971年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ICR-JCL系 Maus、1群雄10匹(体重23±1 g)

試験期間：7日間観察

方 法：検体はトラガントゴムで所定濃度に調製し、Mausの体重10 g当り0.05 mLの割合で皮下注射した。

試験項目：一般症状および生死を7日間観察した。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法で算定した。

結 果：次表に示した。

投与方法	皮下注射
投与量 (mg/kg)	雄482、579、695、832、900、1000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄730 (630~840)
死亡開始時間および 終了時間	1日後 4日後
症状発現時期および 消失時期	1時間後 5日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄482
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	(記載なし)

一般状態の変化としては、注射直後は症状はみられなかったが、1時間後から歩行困難になり腹臥する個体がみられた。1日後には眼を閉じ、うずくまる個体も多く、軽度の後肢麻痺、鼻出血、眼出血、眼球突出が認められた。後肢麻痺や眼を閉じうずくまる傾向は投与後5日目まで残るが、他の症状は3日目には回復する個体が多くなった。何れの死亡例も死亡直前に痙攣をおこした。

(資料 毒-10)

(10) モリネート原体の Maus および ラット における急性皮下毒性試験

- ① Maus における急性皮下毒性試験
- ② ラット における急性皮下毒性試験

試験機関 : Stauffer Chemical Western Research Center (米国)

報告書作成年 : 1971年

検 体 : 原体 (純度 %)

試験動物 : ① スイスーウェブスター系 Maus、1群雄5匹 (平均体重30 g)

② SD系ラット、1群雄雌各5匹 (平均体重200 g)

試験期間 : 4日間観察

方 法 : 検体は左後肢に皮下注射した。

試験項目 : 一般症状および生死を4日間観察した。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法で算出した。

結 果 : 次表に示した。

動 物	① Maus	② ラット	
投与方法	皮下注射	皮下注射	
投与量 (mg/kg)	雄464、1000、2150、4640	雄雌215、464、1000、2150	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄1080 (741~1570)	雄422 (253~702)	雌794 (584~1080)
死亡開始時間および 終了時間	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)	
症状発現時期および 消失時期	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄464	雄215	雌464
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄464	雄215	雌464

一般状態の変化 ;

① Maus : 1000、2150、4640 mg/kg投与群で投与直後に鎮静化、運動失調、あえぎ呼吸および振戦がみられた。

② ラット ; 雄では464、1000、2150 mg/kg投与群では、投与直後に鎮静化、運動失調、あえぎ呼吸および振戦がみられた。雌では1000、2150 mg/kg投与群では、投与直後に鎮静化、運動失調、あえぎ呼吸および振戦がみられた。

(資料 毒-11)

(11) モリネート原体の Maus および ラット における 急性腹腔内毒性試験

① Maus における 急性腹腔内毒性試験

② ラット における 急性腹腔内毒性試験

試験機関 : Stauffer Chemical Western Research Center (米国)

報告書作成年 : 1971年

検 体 : 原体 (純度 %)

試験動物 : ① スイスーウェブスター系 Maus, 1群雄5匹 (平均体重30 g)

② SD系ラット, 1群雄雌各5匹 (平均体重200 g)

試験期間 : 4日間観察

方 法 : 検体は、腹腔内に1回注射投与した。

試験項目 : 一般症状および生死を4日間観察した。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法で算出した。

結 果 : 次表に示した。

動 物	① Maus	② ラット
投与方法	腹腔内注射	腹腔内注射
投与量 (mg/kg)	雄100, 215, 464, 1000	雄雌100, 215, 464, 1000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄501 (344~730)	雄雌316 (216~463)
死亡開始時間および 終了時間	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)
症状発現時期および 消失時期	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	215	215
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	215	215

一般状態の変化 :

① Maus ; 464, 1000 mg/kg投与群で投与直後の鎮静化、あえぎ呼吸、振戦がみられた。

② ラット ; 464, 1000 mg/kg投与群で投与直後の鎮静化、あえぎ呼吸、振戦、運動失調がみられた。

(資料 毒-12)

(12) モリネート原体の Maus における急性皮下毒性、ラットにおける急性静注毒性および Maus における急性腹腔内毒性試験

- ① Maus における急性皮下毒性試験
- ② Maus における急性腹腔内毒性試験
- ③ ラットにおける急性静注毒性試験

試験機関：Stauffer Chemical Western Research Center (米国)

報告書作成年：1971年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：① スイスーウェブスター系 Maus、1群雌5匹(体重20 g)
② スイスーウェブスター系 Maus、1群雌5匹(体重20 g)
③ SD系ラット、1群雄雌各5匹(体重200 g)

試験期間：4日間観察

方 法：検体は、左後肢皮下、静脈または腹腔内に注射した。

試験項目：一般症状および生死を4日間観察した。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法で算出した。

結 果：次表に示した。

動 物	① Maus	② Maus	③ ラット
投与方法	皮下注射	腹腔内注射	静脈内注射
投与量(mg/kg)	雌464、1000、 2150、4640	雌 215、464、 1000、2150	雄雌100、215、 464
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌1260 (926~1710)	雌501 (344~730)	雄雌233 (160~339)
死亡開始時間および 終了時間	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)
症状発現時期および 消失時期	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)	(記載なし) (記載なし)
死亡例の認められなかった最 高投与量(mg/kg)	464	215	100
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	464	215	なし

一般状態の変化：

- ①マウス 皮下投与:1000、2150、4640 mg/kg投与群で投与直後の鎮静化がみられた。
- ②マウス 腹腔内:464、1000、2150 mg/kg投与群で投与直後に鎮静化がみられた。
- ③ラット 静注投与:全投与群で投与直後に鎮静化がみられたが、生存動物では軽快した。

(資料 毒-13)

(13) モリネート原体のラットにおける急性皮下毒性試験

試験機関：東京歯科大学
報告書作成年：1971年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ラット(ドンリュウ)、1群雄10匹(体重120±10 g)

試験期間：7日間観察

方 法：検体はトラガントゴム溶液を用いて所定濃度に調製し、体重100 g当り0.5 mLの割合で皮下注射した。

試験項目：一般症状および生死を7日間観察した。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法により算定した。

結 果：次表に示した。

投与方法	皮下注射
投与量(mg/kg)	雄402、482、530、579、695、832
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄540 (480~600)
死亡開始時間および 終了時間	1日後 6日後
症状発現時期および 消失時期	30分後 5日後
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雄402
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	なし

一般状態の変化としては、注射後30分程で脱力状態に陥り、腹臥がみられた。1日後には、鼻出血、眼出血、眼球突出、流涎、流涙、下痢がみられた。579 mg/kg以上の投与群で眼球突出および眼球混濁が数例にみられた。402 mg/kg投与群では後肢麻痺、軽度の眼球突出が認められたが、5日目には回復した。482 mg/kg以上の投与群では一週間後にも後肢麻痺、眼球突出が継続してみられ、579 mg/kg以上の投与群では、鼻出血、流涎もみられた。

(資料 毒-14)

(14) モリネート原体の Maus および ラット における急性腹腔内毒性試験

- ① Maus における急性腹腔内毒性試験
- ② ラット における急性腹腔内毒性試験

試験機関：東京歯科大学
報告書作成年：1971年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：① ICR-JCL系 Maus、1群雄10匹(体重23±1 g)
② ドンリュウ系ラット、1群雄10匹(平均体重120±10 g)

試験期間：7日間観察

方 法：検体はトラガントゴム溶液を用いて所定濃度に調製し、体重100 g 当たり0.5 mL の割合で腹腔内注射した。

試験項目：一般症状および生死を7日間観察した。LD₅₀値はLitchfield-Wilcoxonの方法により算出した。

結 果：次表に示した。

動 物	① Maus	② ラット
投与方法	腹腔内注射	腹腔内注射
投与量 (mg/kg)	雄385、423、440、 465、512	雄289、318、350、 385、423、465、512
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄440 (430~450)	雄385 (350~420)
死亡開始時間および 終了時間	2時間後 5日後	1日後 4日後
症状発現時期および 消失時期	1分後 3日後	(記載なし) 一週間後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄385	雄289
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし	なし

一般状態の変化：

- ① Maus；各投与群で注射1~2分後に歩行困難となり、5分後には腹臥し、脱力状態に至った。閉眼が多く、呼吸困難を生じ、2~3時間後には間代性痙攣を起し、動物死亡がみられた。1~2分後には少数の動物に眼球突出、

鼻出血、眼出血が認められた。3日目からは回復する動物が多いが閉眼の傾向が続いた。

②ラット：注射後、脱力状態に陥り間代性痙攣がみられ、悲鳴をあげる個体もみられた。1日後には鼻出血、眼出血、眼球突出、流涎、流涙、下痢がみられた。特異な症状として後肢麻痺および腹部のガス貯留が認められた。350 mg/kg以下の投与量では3日後から回復がみられたが、465 mg/kg以上では鼻出血、流涎、後肢麻痺が一週間後まで継続してみられた。289 mg/kgでは後肢麻痺、眼球突出が認められた。

(資料 毒-15)

(15) モリネート原体のラットにおける急性吸入毒性試験

試験機関：ICI Central Toxicological Laboratory (英国)

[GLP対応]

報告書作成年：1989年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：Alpk:APfSD(Wistar由来)系ラット(約7週齢)、1群雄雌各5匹

暴露前日体重範囲：雄231~268 g、雌199~229 g

試験期間：4時間暴露後14日間観察

方 法：検体をアトマイザーを用いてエアロゾルとし、4時間にわたり鼻部暴露吸入させた。対照群には空気のみを吸入させた。

暴露条件：次表に示した。

実測平均 暴露濃度 (mg/L)	目標暴露 濃 度 (mg/L)	質量中位径 D ₅₀ (μ m)	幾何学的 標準偏差	粒子重量%	
				$\leq 2.5 \mu$ mAED	$\leq 15 \mu$ mAED
0.41	0.4	3.00	2.39	41.5	95.6
1.09	1.4	3.80	2.13	28.5	95.4
2.59	2.5	4.04	1.90	22.5	96.7
4.03	4.0	5.35	2.10	15.5	90.9

試験項目：暴露終了時および暴露後14日間にわたって毎日詳細な一般状態の観察を行った。

体重は暴露前、暴露日、暴露後2、3、8および15日に測定した。

14日間の観察期間終了時に生存例の全例について剖検した。

肺および肝の重量を測定した。全例について肝、脳、脊髄、坐骨神経を、また2.59および4.03 mg/L暴露群については、精巣、精巣上体および精囊を採取し、病理組織学的検査を実施した。

結 果：次頁の表に示した。

投与方法	4時間1回鼻腔暴露	
	雄	雌
暴露量 (mg/L)	0.41 (雌のみ)、1.09、2.59、4.03	
LD ₅₀ 値 (mg/L) (95%信頼限界)	2.91 (1.92~4.68)	1.39 (0.99~1.96)
死亡開始時間および 終了時間 ^a	2日 3日	1日 2日
症状発現時期および 消失時期	30分 14日	30分 14日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	1.09	0.41
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし	なし

a : 切迫屠殺

一般状態の変化としては、暴露開始後30分目までに検体暴露群のいずれにおいても流涎がみられ、2.59 mg/L暴露群では流涎がみられ、1.09、2.59および4.03 mg/L暴露群では鼻漏が認められた。いずれの群においても音に対する反応性の低下が認められた。

2.59および4.03 mg/L暴露群では呼吸深度が増加し、呼吸回数の減少が認められた。暴露直後の観察では、反射反応の低下、行動の沈静化、運動量の低下、呼吸速度の低下および呼吸深度の増加、振戦、歩巾拡大、蹲り姿勢が認められた。

その後の観察期間中では2.59および4.03 mg/L暴露群で運動機能の低下、歩巾の拡大などが遅延して発現したが、第2週目から軽快した。

1.09 mg/L暴露群の雄の数例では、観察期間を通じて異常呼吸音が認められ、上気道に対する軽微な刺激が示唆された。

終了時検査では、2.59および4.03 mg/L暴露群の雄で、精巢の退色および形状の縮小、4.03 mg/L暴露群でも同様の所見がみられ、かつ腎の肥大および淡色化が認められた。雌では、いずれにおいても肉眼的病理所見に異常は認められなかった。2.59 mg/L暴露群の生存例の3例および4.03 mg/L暴露群の雄の生存例の全例で精巢に両側性の梗塞が認められ、精巢上体の精子数の減少もあわせて認められた。病理組織学的検査では、神経系における変化は認められなかった。

2. 皮膚および眼に対する刺激性

(資料 毒-16)

(1) モリネート原体のウサギを用いた皮膚刺激性試験

試験機関：Stauffer Chemical Richmond Toxicology Laboratory (米国)

報告書作成年：1981年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、1群雌6匹

試験期間：72時間観察

方 法：検体0.5 mLを2.45×2.45 cmのガーゼパッチに展開し、このパッチを刈毛した無傷および有傷皮膚のウサギに密着させ、粘着テープで固定し、ゴムシートで24時間覆った。適用後24、48および72時間目に有傷および無傷皮膚に生じた反応(発赤、痂皮形成、浮腫)をDraize(1965年)の方法により採点し評価した。

観察項目：24時間暴露後、このパッチを除去し、発現した刺激の症状を観察し、採点した。採点は48および72時間後にも実施した。

認められた刺激性変化を次表に示した。

刺激性変化

動物 番号	項目	最高 評点	観察時間（時間）					
			無傷皮膚			有傷皮膚		
			24	48	72	24	48	72
43	紅斑・痂皮	4	2	1	0	2	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
44	紅斑・痂皮	4	2	0	0	2	0	0
	浮腫	4	2	0	0	1	0	0
45	紅斑・痂皮	4	2	1	1	2	1	1
	浮腫	4	1	0	0	1	0	0
46	紅斑・痂皮	4	1	0	0	1	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0	0	0
47	紅斑・痂皮	4	2	1	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
48	紅斑・痂皮	4	2	1	1	2	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	11	4	2	10	4	1
	浮腫	24	4	0	0	2	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.8	0.7	0.3	1.7	0.7	0.2
	浮腫	4	0.7	0	0	0.3	0	0

[刺激性反応]（記載なし）

結 論：以上の結果から、ニュージーランドホワイト種ウサギの無傷および有傷皮膚に対する24時間暴露による皮膚刺激性は、軽度であると判断された。

(資料 毒-17)

(2) モリネート原体のウサギを用いた皮膚刺激性試験

試験機関：Stauffer Chemical Richmond Toxicology Laboratory (米国)

報告書作成年：1981年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、1群雌6匹

試験期間：72時間観察

方 法：検体0.5 mLを2.45×2.45 cmのガーゼパッチに展開し、このパッチを刈毛した無傷および有傷皮膚のウサギに密着させ、粘着テープで固定し、ゴムシートで24時間覆った。24時間暴露の後、このパッチを除去し、生じた反応を採点した。適用後24、48および72時間目に有傷および無傷皮膚に生じた反応(発赤、痂皮形成、浮腫)をDraize(1965年)の方法により採点し評価した。

観察項目：24時間暴露後、このパッチを除去し、発現した刺激の症状を観察し、採点した。採点は48および72時間後にも実施した。

結 果：次表に示した。

刺激性変化

動物 番号	項目	最高 評点	観察時間（時間）					
			無傷皮膚			有傷皮膚		
			24	48	72	24	48	72
55	紅斑・痂皮	4	2	1	1	2	1	1
	浮腫	4	2	1	1	2	1	1
56	紅斑・痂皮	4	2	2	2	2	2	2
	浮腫	4	0	0	0	0	1	1
57	紅斑・痂皮	4	2	2	2	2	2	2
	浮腫	4	2	1	1	2	1	1
58	紅斑・痂皮	4	2	0	0	2	0	0
	浮腫	4	1	0	0	1	0	0
13	紅斑・痂皮	4	1	0	0	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
14	紅斑・痂皮	4	1	1	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	10	6	5	10	6	5
	浮腫	24	5	2	2	5	3	3
平均	紅斑・痂皮	4	1.7	1.0	0.8	1.7	1.0	0.8
	浮腫	4	0.8	0.3	0.3	0.8	0.5	0.5

[刺激性反応]（記載なし）

結論：以上の結果から、ニュージーランドホワイト種ウサギの無傷および有傷皮膚に対する24時間暴露による皮膚刺激性は、軽度であると判断された。

(資料 毒-18)

(3) モリネート原体のウサギにおける眼刺激性試験

試験機関：Stauffer Chemical Richmond toxicology Laboratory (米国)

報告書作成年：1981年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ニュージーランドホワイトウサギ、非洗眼群6匹、洗眼群3匹

試験期間：11日間観察

方 法：各々のウサギの片眼に検体0.1 mLを適用し、他眼は陰性対照とした。洗眼群3匹については、検体適用後水で20~30秒間洗眼した。

観察項目：適用後24、48、72時間、4および7日に刺激症状および程度を観察し、採点した。刺激性変化が7適用7日後以降もみられた場合は、刺激性変化が消失するか、不可逆性と判断されるまでさらに観察を行った。刺激性変化はDraize(1965年)の基準に従って、採点記録した。

結 果：次表に示した。

群	動物 番号	合計評点					
		24 h	48 h	72 h	4日	7日	11日
非 洗 眼 群	23	24	22	2	2	0	-
	24	4	2	0	0	0	-
	25	4	6	6	4	0	-
	68	37	41	8	2	2	0
	54	28	26	4	0	0	-
	67	39	57	40	9	2	0
	平均	22.7	25.7	10.0	2.8	0.7	0
洗 眼 群	32	24	2	0	0	0	-
	33	2	0	0	0	0	-
	34	4	4	5	0	0	-
	平均	10.0	2.0	1.7	0	0	-

刺激性反応としては、初期の角膜混濁がみられたが、適用7日後には消失した。これらの症状は48~72時間後に回復した。

全動物に中等度から強度の刺激性変化がみられたが、適用11日後に消失した。

結 論：以上の結果から、本検体はウサギの眼に対して中等度から強度の刺激性を有すると判断される。また、これらの刺激性反応は可逆性変化であった。

3. 皮膚感作性

(資料 毒-19)

モリネート原体のモルモットにおける皮膚感作性試験

試験機関：Stauffer Chemical Richmond Toxicology Laboratory (米国)

報告書作成年：1985年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ハートレー系モルモット、32～40日齢、1群雄10匹

体重300～425 g(32～40日齢時)

試験期間：45日間観察(26日間感作暴露、29日目より3日間惹起、43日目より3日間再惹起、初日には一次刺激性試験も行った。)

方 法：Open Epicutaneous test (OET法)

皮膚一次刺激性；検体濃度1、10、30、100%のアセトン溶液を腹部1 cm²に25 μL塗布した。

感作暴露；検体濃度1、10、30、100%のアセトン溶液、陽性対照として0.4% 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン(DNCB)の70%エタノール水溶液、および溶媒対照として70%エタノール水溶液、以上6種類の供試薬液をモルモットの右腹部2 cm²に100 μLずつ1週5日の割合で毎日塗布した。

惹起暴露；試験開始後29日目、43日目に、検体群および溶媒対照群については検体の10、30、100%の各濃度のアセトン溶液および溶媒であるアセトンの計4種類の供試薬液で惹起した。陽性対照群については0.4%DNCB-アセトン溶液とアセトンとで惹起した。

惹起時の塗布部位は左腹部1 cm²塗布量は25 μLとした。

観察項目：一般症状および死亡の有無を毎日観察した。体重は週毎に測定した。

一次刺激性試験の24時間後、感作期間(4週間)に週一度、2回の惹起後3日間ずつ毎日、適用部位の発赤および浮腫の有無、体重、他の皮膚変化等を観察した。

結 果：次表以降の表に示した。

一般症状および死亡；試験期間中死亡はなく、特異な症状はみられなかった。

体 重；各投与群の体重平均は46日間で58%の増加がみられた。各群間に有意差はなかった。

皮膚一次刺激性；皮膚刺激性反応はみられなかった。

感作暴露期間中の観察；検体の100%液投与群では2週目の終わりにわずかな発赤がみられた。検体の30、100%アセトン溶液投与群では2週目以降皮膚剥離が全ての動物でみられた。溶媒対照群では皮膚剥離はみられなかった。また、陽性対照群では多くの動物に軽度の発赤を認めた。

惹起/再惹起暴露期間中の観察；検体暴露群の40例中3例のみに極軽度の発赤がみられた。ただし、この発赤は検体濃度10、30、100%の各濃度で感作暴露した群を、検体100%で惹起暴露した時にのみ出現したが、1日で消失した。したがって、この反応は検体の感作性によるものではないと判断された。
惹起、再惹起暴露後、溶媒対照は全く皮膚反応を示さず、陽性対照では全ての動物で発赤または浮腫が生じた。皮膚反応の採点を次表に示した。

暴露相	惹起暴露物質	処理後 日数 週 または 日	感作暴露物質											
			検 体								70%エタノール溶液		0.4%DNCB	
			1%		10%		30%		100%		発赤	浮腫	発赤	浮腫
			発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫				
感作暴露		1週	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		2週	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		3週	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		4週	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
惹起暴露	検体 10%	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	30%	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	100%	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	アセトン	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.4% DNCB	1日後											1.7	1.8	
	2日後											1.1	0.4	
	3日後											0.4	0.5	

暴露相	惹起暴露物質	処理後 日数 週 または 日	感作暴露物質													
			検 体								70%エタノール溶液		0.4%DNCB			
			1%		10%		30%		100%		発赤	浮腫	発赤	浮腫		
			発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫						
再惹起暴露	検体 10%	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	30%	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	100%	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	アセトン	1日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		2日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		3日後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.4%DNCB	1日後													2.0	1.7
		2日後													1.5	1.8
		3日後													1.0	0.8

結 論：以上から、本検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

4. 急性神経毒性

(資料 毒-20)

モリネート原体のラットを用いた急性神経毒性試験

試験機関：Zeneca CTL (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：Alpk:APfSD ラット(Wistar 由来)、約7週齢、1群雌雄各12匹

開始時体重 雄：153~199 g、雌：127~153 g

観察期間：14日間観察

投与方法：検体をコーン油で溶解し、0、25、100 および 350 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。

試験項目および結果：

死亡率：全動物について生死を毎日観察した。

投与に関連した死亡はなかった。

体重変化：投与開始前、投与直前(1日)と投与後4時間、試験8日および試験終了時(試験15日あるいは16日)に全動物の体重を測定した。

結果を次表に示す。

体重測定結果

性別	雄			雌			
	用量(mg/kg)	25	100	350	25	100	350
測定日	1						
	8	↓98	↓↓96	↓↓88			↓↓92
	15			↓↓93			↓↓95

数値は対照群に対する変動率(%)

↑↓：p<0.01、↑↓：p<0.05 Student's t-test

350 mg/kg 群では、雌雄とも試験8日の体重は対照群に比べて有意な低値を示した。この群では、体重に回復がみられたものの、試験15日の体重は、雌雄

とも対照群に比べて低値を示し統計学的に有意であった。

25 および 100 mg/kg 群の雄では、試験 8 日に軽度な低値を示したが、試験 15 日の体重は対照群と同程度であった。

25 および 100 mg/kg 群の雌では、投与に関連した体重変化は認められなかった。

摂餌量：摂餌量はケージごとに試験期間を通して測定し、週毎の摂餌量を算出した。

結果を次表に示す。

摂餌量

性別		雄			雌		
用量 (mg/kg)		25	100	350	25	100	350
測定週	1	↓93	↓88	↓69		↓93	↓76
	2			↓94			

数値は対照群に対する変動率(%)

↑↓ : p<0.01、↑↓ : p<0.05 Student' s t-test

350 mg/kg 群雌雄では、対照群に比して平均摂餌量の有意な低下が試験 1 週に認められた。この群の試験 2 週における摂餌量は、雌は明らかな回復がみられ対照群と同等であったが、雄では回復がみられたものの対照群に比して有意な低下を示した。

25 mg/kg 群の雄および 100 mg/kg 群の雌雄では、試験 1 週の摂餌量が軽度低下したが、2 週の摂餌量は回復した。

25 mg/kg 群の雌では、投与による影響は認められなかった。

一般状態および詳細な状態の観察：投与開始前に全動物について一般状態および行動が正常であることを確認した。一般状態および行動の変化については毎日観察し、ハンドリングに対する反応、アリーナ内観察を投与前、投与後約 4 時間(試験 1 日)、試験 8 日および 15 日に全動物を対象として、実施した。

以下に詳細な状態の観察項目を示した。

自律神経機能(流涙、流涎、立毛、眼球突出、排尿、脱糞、瞳孔反射および眼瞼下垂)、痙攣、振戦、運動機能の異常および異常行動などの発現頻度と程度、刺激に対する反応の程度、覚醒度の変化、感覚運動反応、呼吸の変化、その他に観察される全ての症状

表 1 に一般状態の観察でみられた変化、表 2 に詳細な状態の観察でみられた変

化を示した。

表 1. 一般状態の観察(ケージ脇からの観察)

性別	雄				雌			
	0	25	100	350	0	25	100	350
投与量(mg/kg)	0	25	100	350	0	25	100	350
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
活動性低下	0	0	↑7	↑11	0	1	↑7	↑12
うずくまり姿勢	0	0	0	2	0	0	0	1
流涙	0	0	0	1	0	0	0	1
尿失禁の兆候	0	0	0	0	0	0	1	↑4
脊椎の上方への湾曲	0	0	2	2	0	1	0	2

Fisherの直接確率検定 ↑↓: p<0.05; ↑↑: p<0.01(申請者実施)

表 2: 投与に関連した機能観察検査所見

検査時期	性別	雄				雌				
		0	25	100	350	0	25	100	350	
	投与量(mg/kg)	0	25	100	350	0	25	100	350	
	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	
4 時 間 後	ケージ内/アリーナ内観察									
	活動性低下	軽度	0	0	↑7	↑11	0	1	↑7	↑12
	うずくまり姿勢	軽度	0	0	0	1	0	0	0	1
	脊椎の上方湾曲	軽度	0	0	2	2	0	1	0	2
	手に持ったの観察									
	接触に対する反応亢進		0	0	0	0	0	1	0	1
	流涙		0	0	0	1	0	0	0	1
	尿失禁の兆候	軽度	0	0	0	0	0	0	1	2

Fisherの直接確率検定 ↑↓: p<0.05、↑↑: p<0.01(申請者実施)

投与に関連した変化として 350 mg/kg 群では、試験 1 日(投与後 4 時間)に雄 11 例、雌 12 例で活動性低下が観察された。その他の症状として、うずくまり姿勢、流涙、尿失禁の兆候(雌のみ)および脊椎の上方湾曲が数例観察された。これらの変化は概ね試験 3 日までに回復した。

100 mg/kg 群では、試験 1 日に雌雄各 7 例に活動性低下が観察された。その他の症状として尿失禁の兆候(雌 1 例)や脊椎の上方湾曲(雄 2 例)が観察されたが、試験 2 日には回復した。

25 mg/kg 群では、雌 1 例に活動性低下、接触に対する反応亢進および脊椎の上方湾曲が観察された。これらの症状は試験 2 日には回復した。

機能検査: 投与開始前、投与後約 4 時間(試験 1 日)、試験 8 日および 15 日に全動物を対象として、以下の検査を実施した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

着地開脚幅測定、感覚機能試験(Tail-Flick 潜時)、筋力試験(前-後肢の握力測定)

次表に有意差が認められた機能検査項目を示した。

機能検査結果

性別		雄			雌		
投与量(mg/kg)		25	100	350	25	100	350
着地開脚幅	試験 1 日			↑117			
	試験 15 日			↑111			
Tail-Flick 潜時	試験 1 日	↑161	↑209	↑239	↑184	↑236	↑319
	試験 15 日				↓72		

試験 1 日：投与後 4 時間に観察。

Student の t 検定 ↑↓；p<0.05、↑↓；p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

着地開脚幅測定：投与に関連した影響は認められなかった。

350 mg/kg 群の雄では、試験 1 日および 15 日に対照群に比して平均着地開脚幅の有意な増加が認められたが、経時的一貫性がないこと、雌で同様な変化が認められていないことから投与に関連した変化ではないと考えられた。

感覚機能試験(Tail-Flick 潜時)：試験 1 日(投与後 4 時間)に、雌雄の全ての投与群で Tail-Flick(尾刺激回避反応)潜時が用量に関連して有意に延長した。この変化は試験 8 日には明らかに回復した。

筋力試験(前-後肢の握力測定)：前肢および後肢の握力に投与の影響は認められなかった。

自発運動量測定：投与開始前、投与後約 4 時間(試験 1 日)、試験 8 日および 15 日に全動物を対象として、自動測定装置を用いて自発運動量(5 分単位で 50 分)を測定した。

次表に対照群に比べて有意差のみられた測定時間を示した。

自発運動量測定

性別		雄			雌			
		25	100	350	25	100	350	
自発運動量	試験 1 日	投与量 (ppm)						
		1- 5 分					↓45	
		6-10 分		↓65	↓29		↓62	↓35
		11-15 分		↓40	↓29	↓52	↓53	↓25
		16-20 分						↓19
		21-25 分					↓25	↓25
		26-30 分	↓2	↓2	↓21		↓30	↓18
		31-35 分	↓12	↓13	↓2	↓33	↓38	↓23
		36-40 分					↓24	↓11
		41-45 分		↓7	↓4		↓14	↓3
		46-50 分			↓17		↓29	↓19
		1-50 分	↓69	↓48	↓36	↓61	↓47	↓27
	試験 15 日	16-20 分	↓40					
		21-25 分	↓23					
		26-30 分	↓36	↓16	↓20			
		36-40 分		↓10	↓8			
		41-45 分	↓17		↓15			
		46-50 分	↓3					
		1-50 分	↓63	↓68				

統計：Student の t 検定 ↑↓；p<0.05、↑↓；p<0.01.

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

試験 1 日(投与後 4 時間)では、雌雄の全投与群で総自発運動量(1~50 分)が用量と関連して有意に低下した。この変化は試験 8 日には明らかに回復した。雄では、試験 15 日の検査で総自発運動量が再び低下した。しかし、この低下には用量との関連がみられず、試験 8 日に影響が認められなかったこと、また雌では試験 15 日にこれに相当する変化が認められなかったことから、雄の試験 15 日にみられた自発運動量低下は投与に関連したものではないと考えられた。

コリンエステラーゼ活性測定；試験終了時に各群雌雄 6 匹を対象として、血液を採取して血漿および赤血球中のコリンエステラーゼ活性を測定し、さらに、摘出した脳の左半分を用いて脳コリンエステラーゼ活性(Ellman らの方法、1961 年)を測定した。

次表に対照群と比べ有意差のみられた項目を示した。

コリンエステラーゼ (ChE) 活性—試験 15 日

性 別	雄			雌		
	25	100	350	25	100	350
投与量 (mg/kg)						
脳 ChE 活性		↓91	↓84		↓93	↓77
赤血球 ChE 活性			↓79			
血漿 ChE 活性			↑111		↓85	

統計：Student の t 検定 ↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

脳コリンエステラーゼ活性は、350 mg/kg および 100 mg/kg 群の雌雄で対照群に比べて 9~23%の低下を示した。350 mg/kg 群の雌の脳コリンエステラーゼ活性は、対照群に比べて 23%の低下を示し、投与の影響と考えられた。

一方、100 mg/kg 群の雌雄および 350 mg/kg 群の雄では、脳コリンエステラーゼ阻害の程度は対照群と比べ 16%以下の低下であり、生物学的に重要とは考えられなかった。25 mg/kg 群の雌雄では、脳コリンエステラーゼ活性に影響はなかった。

赤血球コリンエステラーゼ活性は、350 mg/kg 群の雄で対照群に比べて 21%低下した。

350 mg/kg 群の雌、25 および 100 mg/kg 群の雌雄では、赤血球コリンエステラーゼ活性に影響はなかった。

血漿中コリンエステラーゼ活性については、いずれの投与群とも投与に関連した影響はなかった。

350 mg/kg 群の雄では、血漿中コリンエステラーゼ活性がごくわずかに上昇したが、偶発的なものであり、毒性学的に重要でないと考えられた。

ニューロパシー標的エステラーゼ活性 (NTE) 測定：試験終了時に各群雌雄 3 匹を対象として、摘出した脳の右半分を用いて Johnson の方法およびその変法(1977 年、1982 年)に従ってニューロパシー標的エステラーゼの濃度を測定した。

NTE 活性に投与の影響はなかった。

グリア線維酸性蛋白 (GFAP) 測定：試験終了時に各群雌雄 3 匹を対象として、摘出した脳の右半分を用いて O' Callaghan の方法(1991 年)に従ってグリア線維酸性蛋白量を測定した。また、脳中の総タンパク量も Pierce BCA キットを用いて測定した。

GFAP 量に投与の影響は認められなかった。

脳の重量、長さ、幅の測定：試験終了時に雌雄各群、灌流固定した 6 匹と灌流固定し

なかった6匹それぞれについて脳重量を測定し、長さと幅を計測した。

次表に対照群と比べ有意差のみられた項目を示した。

脳の重量、長さおよび幅

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		25	100	350	25	100	350
重量	絶対値			↓95			
長さ	絶対値			↓97			
幅	絶対値	↓95					

統計：Studentのt検定 ↑↓；p<0.05、↑↓；p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

脳の重量、長さおよび幅に投与の影響は認められなかった。

雄の350 mg/kg 群では、脳の絶対重量および長さが対照群に比べて低値であった。この変化は、体重について補正した脳重量および長さが対照群と同程度であったことから、体重が低値であったことに起因するものと考えられた。

肉眼的病理検査；死亡動物ならびに投与終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

検体投与の影響と思われる影響を次表に示す。

肉眼的病理検査成績

臓器	所見	雄				雌			
		0	25	100	350	0	25	100	350
	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
精巣	萎縮	0	0	0	↑6				
	白色域	0	0	0	1				
	白色斑	0	0	0	2				

Fisherの直接確率検定 ↑↓；p<0.05、↑↓；p<0.01 (申請者実施)

350 mg/kg 群の雄では精巣萎縮の発生頻度が統計学的に有意に増加した。また統計学的有意差はみられなかったものの、精巣表面に白色域あるいは白色斑が認められた。

神経病理学的検査；灌流固定した各群雌雄6匹について、以下の如く組織標本を作製し検査した。

脳(大脳皮質、海馬、小脳、橋および延髄を含む)、脊髄の背根神経節(頸部第

3-6 および腰部第 1-4)、脊髓神経根(頸部および腰部)、脊髓(頸部第 3-6 および腰部第 1-4)、腓腹筋についてはパラフィン包埋後 H/E 染色を、ガッセル神経節、坐骨神経、脊髓根(頸部第 3-6 および腰部第 1-4)、腓腹神経および脛骨神経については樹脂包埋後、トルイジンブルー染色を施した。

組織標本はすべて横断面で作製したが、坐骨神経については横断面と縦断面の切片を作製した。

脳(大脳皮質、海馬、小脳、橋および延髄を含む)の鏡検については、最初に 350 mg/kg 群の雌雄各 1 例について脳横断面の 12 標本を検査した。これらに変化が認められなかったことから、350 mg/kg 群の残りの雌雄各 5 例と対照群雌雄各 6 例は、脳の横断面 6 標本を検査した。対照群と最高用量の 350 mg/kg 群については、全ての神経系組織を、低・中用量の 25 と 100 mg/kg 群については脳および坐骨神経を鏡検した。

次表に認められた神経病理組織所見を示した。

神経病理組織学的所見

性 別	雄				雌			
	0	25	100	350	0	25	100	350
投与量 (ppm)	0	25	100	350	0	25	100	350
検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
脳(梨状皮質/歯状回): 神経細胞壊死(軽微)	0	0	0	0	0	0	0	1
坐骨神経 : 神経線維の変性(軽微)	2	1	1	2	0	0	0	3
脊髓 : 神経線維の変性(軽微)	1	/	/	1	0	/	/	1
脊髓神経根: ワーラー変性(軽微)	2	/	/	3	4	/	/	3
腓腹神経 : 神経線維の変性(軽微)	1	/	/	0	0	/	/	0

Fisherの直接確率検定 ↑↓: p<0.05、↑↑: p<0.01(申請者実施)

中枢神経系については、350 mg/kg 群の雌 1/6 例で梨状皮質/歯状回の神経細胞に壊死(軽微)が認められた。

末梢神経系については、350 mg/kg 群の雌 3/6 例で坐骨神経の神経線維変性(軽微)が認められたが、坐骨神経の神経線維変性は試験実施機関の同系統、同日齢の雌ラットによく認められる変化であることから、毒性学的に重要ではないと判断した。

350 mg/kg 群の雄、25 および 100 mg/kg 群の雌雄では、中枢および末梢神経に投与の関連した変化は認められなかった。

以上の結果、モリネートをラットに 25、100 および 350 mg/kg の用量で単回経口投与した

影響として、350 mg/kg 群では、試験 1 日に体重および摂餌量への影響、投与関連性の臨床症状(うずくまり姿勢および脊柱の上方への湾曲)、Tail-Flick(尾回避反応)潜時の延長および自発運動量の低下が認められたが、これらは検体に対する薬理学的反応を反映したものであった。25 または 100 mg/kg 群でも同様の臨床症状、体重および摂餌量に対する影響、Tail-Flick 潜時の延長および自発運動量の低下が認められた。これらの変化はいずれも、まもなく回復した。350 mg/kg 群の雌では、脳内コリンエステラーゼ活性がわずかに抑制された。病理組織学的変化としては、350 mg/kg 群の雌 1 匹の脳で、梨状皮質/歯状回の神経細胞に軽微な壊死が認められた。肉眼的所見として、350 mg/kg 群の雄では精巣の萎縮が認められたが、これは以前に実施した試験の結果を裏付けるものであった。これらのことから、モリネートを単回経口投与した場合の神経毒性に対する無毒性量は、雌雄とも 100 mg/kg であると判断された。

5. 急性遅発性神経毒性

(資料 毒-21)

モリネート原体のニワトリにおける急性遅発性神経毒性試験

試験機関：Stauffer Chemical Richmond Toxicology Laboratory (米国)

報告書作成年：1983年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：白色レグホン種ニワトリ雌(産卵盛期のもの)、投与開始時12~14ヶ月齢、

体重：1.2~2.5 kg。

1群雌5羽(急性LD₅₀値の測定)あるいは10~30羽(神経毒性試験)。

雌ニワトリは検体投与前に17~20時間絶食させた。

1) 急性毒性：雌ニワトリにおける検体のLD₅₀値の測定および血漿コリンエステラーゼ活性の測定

方 法；検体をコーン油に溶解するか、あるいは未希釈の状態では1群5羽のニワトリ(6群)に経口投与した。3群には検体投与前に硫酸アトロピン(10 mg/kg)を皮下投与し、残りの3群にはアトロピン投与を行わなかった。検体投与後28~30日間動物を観察し、各個体のLD₅₀値を測定し、アトロピンを投与した防護群および非投与群のLD₅₀値を算出した。また、LD₅₀値の測定に用いたニワトリに、検体を0.00028~2.82 g/kgの用量で1回経口投与し、投与24時間後に翼下静脈から血液を採取して血漿コリンエステラーゼ活性および血漿タンパク濃度を測定した。検体投与群とコーン油投与群のコリンエステラーゼ活性を比較した。

結 果；アトロピン非投与群の急性経口LD₅₀値は1.93 g/kg(95%信頼限界；0.56~3.30 g/kg)であり、アトロピンの前処理投与群の急性経口LD₅₀値は2.30 g/kg(95%信頼限界；0.86~3.74 g/kg)であった。これらの値に有意差はみられなかった。いずれの群においても類似した毒性症状がみられた。投与直後の死亡はみられず、大部分の死亡例は投与3~11日以内にみられたが、2羽は投与22および26日目に死亡した。主な毒性症状は下痢、運動失調および体重減少であった。下痢の多数例は重篤であり、投与後約2週間継続した例もみられた。運動失調の一症状である安定性の欠如も継続的にみられ、4週間継続した例もあった。投与後の体重は投与時の体重より10~30%減少した。体重減少は投与1~3週間後に明白にみられた。血漿コリンエステラーゼ活性阻害は検体の3.5 mg/kg以上の用量でみられ用量との関連がみられた。

2) 神経毒性試験：本試験は、第1部試験(急性遅発性神経毒性の評価)および第2部試験(遅発性神経毒性の補足および再現性、用量との関連および可逆性の確認)より構成された。

方 法；第1部試験では、検体を0.02および2.0 g/kg(0.02 g/kgではコーン油に溶解し、2.0 g/kgでは希釈せずに投与した)の用量で経口投与した。コーン油およびトリーオークレシルホスフェート(TOCP)をそれぞれ陰性対照および陽性対照として9.8 g/kg(コーン油)あるいは0.5 g/kg(TOCP)の用量で投与した。第1回目の投与後21日目に同量を経口投与した。一般状態を毎日観察・記録し、体重、飼料摂取量、歩行行動および産卵成績を少なくとも1週間に1回観察した。43日目にニワトリを屠殺し、脳、脊髄および坐骨神経を摘出し、病理組織学的検査を実施した。

第2部試験では、検体を0.063、0.20、0.63および2.0 g/kg(2.0 g/kgは未希釈で、他の用量ではコーン油に希釈した)の用量で経口投与した。

コーン油およびトリーオークレシルホスフェート(TOCP)をそれぞれ、陰性対照および陽性対照としてそれぞれ、コーン油(10.0 g/kg)あるいはTOCP(0.5 g/kg)を投与した。第1回目の投与後21日目に同量を経口投与した。2回目の投与の3週間後に生存ニワトリを屠殺したが、陰性対照群、陽性対照群、0.63 g/kgおよび2 g/kg投与群の各5匹を観察用としてさらに120日間観察した。一般状態を1~42日までは毎日観察し残りの期間は1週間に5回観察した。また、飼料摂取量、体重、産卵成績および歩行異常を1週間に1回測定した。観察期間終了時(43および163日目)に、ニワトリを屠殺し、脳、脊髄および坐骨神経を摘出し、病理組織学的検査を実施した。

結 果：

一般状態：第1部試験では、2.0 g/kg投与群25羽のうち14羽が43日目まで生存した。

第2部試験では、同用量投与群で30羽中23羽が死亡するかあるいは43日より前に屠殺された。2.0 g/kg投与群の第1部および第2部試験を併せた平均死亡率は67%であった。より低用量の0.63 g/kg投与群ではより低い毒性作用がみられ、15羽中13羽が43日目まで生存した。さらに低用量(0.20、0.063あるいは0.02 g/kg)の群では死亡はみられなかった。第1部試験でコーン油投与群では死亡はみられなかったが、第2部試験ではコーン油投与群の1例が死亡した。第1部および第2部試験ではTOCP投与群の数羽に進行麻痺がみられ、試験43日目に早期屠殺された。

2.0 g/kg投与群の全身性毒性症状は、第1部および第2部試験で類似していた。2.0 g/kg投与群で下痢、運動失調(不安定)、挙動の鎮静化(無気力、無発音)がみられた。また、全身性衰弱が、通常死亡が起こる数日前にみられた。0.63 g/kg投与群では、2.0 g/kg投与群と類似した毒性症状がより軽度でみられた。0.20 g/kg投与群で投与に関連する唯一の毒性症状として下痢がやや高頻度のみ

られた。コーン油投与群あるいは0.063あるいは0.02 g/kg投与群では顕著な変化はみられなかった。TOCP投与群では全例で不全麻痺がみられ、数羽では完全麻痺に進行した。生存例では検体投与後にみられた全ての毒性症状から回復し、観察期間終了時(163日目)にはコーン油投与群と実質上区別できなかった。これに対して、TOCP投与群では数羽で回復が認められていたものの、遅発性神経毒性症状が存続していた。

歩行行動；検体投与による歩行行動への障害がみられたが、2.0 g/kg投与群以外では測定可能な障害はみられなかった。2.0 g/kg投与群が引き起こした障害は第1部試験では各回の投与後に軽減したが、第2部試験では軽減しなかった。2.0 g/kg投与群ではいずれの試験でも2回目投与後の障害の増加はみられなかった。これに対してTOCP投与群では投与3週間後に障害の劇的な上昇がみられ、その後もこの傾向は継続した。検体の0.63 g/kg以下の投与群では、歩行行動に対する有意な障害はみられなかった。

体重および飼料摂取量；検体の高用量群(2.0および0.63 g/kg)で、投与後に体重および飼料摂取量の減少がみられた。この用量より下の0.20あるいは0.063 g/kg投与群では軽度の一過性の飼料摂取量の減少がみられた。この減少は、投与前の絶食によるものと考えられた。TOCP投与群で、顕著な体重減少がみられ、試験期間終了時まで継続した。23、35および39日目には統計学的に有意な飼料摂取量の有意な減少がみられた。回復期間まで延長して飼育した4群のニワトリでは体重に有意な変化はみられなかった。しかし、コーン油投与群および検体の0.63 g/kg投与群では回復期間中に飼料摂取量の増加がみられた。

産卵成績；検体の2.0 g/kg投与群で、第1部および第2部試験のいずれにおいても対照群と比較して産卵成績の低下がみられた。他のより低用量の投与群では投与による恒常的な産卵成績の低下はみられなかった。陽性対照群で1回目の投与の翌週に産卵成績の低下がみられ、その後の2週間は産卵を再開したものの、試験最後の3週間は完全な産卵成績の低下がみられた。

陽性対照群を除くと、全群で劇的な産卵成績の回復がみられた。対照群あるいは検体投与群で、回復期間の半ば以降に産卵成績の回復がみられた(産卵数:5個/鳥/週)。陽性対照群でも回復期間中にある程度の産卵成績の回復がみられたが、その程度は他の3群よりやや低下していた。

病理組織学的検査；結果を表1～表3に示した。

表1:急性遅発性神経毒性試験の病理組織学的所見(第1部試験)

組織	病理組織学的所見	病変を示すニワトリの割合(%)			
		供試薬剤			
		モリネート(g/kg)		コーン油	TOCP
0.02	2.0				
脳	小脳脚における軸索変性	0	100(2.9)	0	100(2.7)
	血管周囲性リンパ球浸潤	60(1.0)	71(1.4)	80(1.1)	80(1.5)
	限局性神経膠症	50(1.0)	100(2.1)	50(1.0)	100(1.8)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	0	21(1.0)	10(1.0)	10(1.0)
頸髄	軸索変性(後索)	10(1.0)	100(1.9)	0	100(2.6)
	軸索変性(散在性)	20(1.0)	20(1.0)	0	90(1.0)
	血管周囲性リンパ球浸潤	60(1.0)	60(1.0)	20(1.5)	30(1.7)
	限局性神経膠症	70(1.0)	70(1.0)	20(1.5)	90(1.7)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	30(1.0)	30(1.0)	30(1.3)	30(1.0)
胸髄	腹索および側索における軸索変性	10(1.0)	36(1.0)	0	100(2.6)
	軸索変性(散在性)	20(1.0)	36(1.0)	10(1.0)	60(1.0)
	血管周囲性リンパ球浸潤	30(1.0)	50(1.1)	50(1.0)	20(1.5)
	限局性神経膠症	40(1.0)	100(1.0)	30(1.0)	90(1.3)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	40(1.0)	57(1.1)	70(1.1)	20(1.0)
腰仙髄	側中心索における軸索変性	20(1.0)	21(1.3)	10(1.0)	100(2.0)
	軸索変性(散在性)	10(1.0)	14(1.3)	10(1.0)	30(1.0)
	血管周囲性リンパ球浸潤	10(1.0)	21(1.0)	30(1.0)	20(1.0)
	限局性神経膠症	20(1.0)	79(1.2)	0	90(1.4)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	70(1.0)	79(1.4)	40(1.0)	80(1.5)
坐骨神経	両側性神経線維変性	30(1.5)	93(1.7)	0	100(2.6)
	片側性神経線維変性	50(1.0)	7(1.0)	30(1.3)	0
	軸索腫大 ^{a)}	0	0	0	60(1.2)
	神経細胞周囲または間質のリンパ球巣 ^{a)}	90(1.4)	86(1.8)	70(1.5)	85(1.5)
	シュワン細胞過形成 ^{a)}	80(1.2)	100(2.0)	75(1.3)	100(2.0)

カッコ内の数字は、影響がみられた雌ニワトリにおける当該所見の平均重篤度を示す。

病変は、0(変化なし)~4(重篤および/または所見多数)にグレードを付けた。

a):左右両方の神経標本の重篤度のデータを含む。

表2: 急性遅発性神経毒性試験の病理組織学的所見 (第2部試験)

組織	病理組織学的所見	病変を示すニワトリの割合 (%)					
		供試薬剤					
		モリネート (g/kg)				コーン油	TOCP
		0.063	0.20	0.63	2.0		
脳	小脳脚における軸索変性	0	10(1)	100(2.5)	100(2.5)	0	100(3.3)
	血管周囲性リンパ球浸潤	40(1.2)	50(2.4)	88(2.0)	100(1.8)	67(1.3)	33(1.5)
	限局性神経膠症	50(1)	50(1.2)	100(2.5)	100(2)	22(2)	100(3.2)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	10(1)	20(1)	25(1)	25(1)	33(1)	0
頸髄	軸索変性(後索)	0	20(1)	100(2.4)	100(2.8)	0	100(4)
	軸索変性(散在性)	0	20(1)	25(1.5)	100(1)	33(1)	100(1.5)
	血管周囲性リンパ球浸潤	30(1)	50(1)	75(1.8)	50(2.5)	67(1.3)	50(1.3)
	限局性神経膠症	20(1)	70(1.3)	100(2.2)	100(1.8)	33(1.3)	100(3)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	20(1)	50(1)	62(1.2)	25(2)	56(1)	50(1)
胸髄	腹索および側索における軸索変性	10(1)	20(1)	50(1.2)	100(1)	22(1.5)	100(3.7)
	軸索変性(散在性)	30(1)	30(1)	62(1.6)	25(1)	22(1)	100(2.2)
	血管周囲性リンパ球浸潤	10(1)	50(1)	62(1.8)	50(1.5)	44(1.2)	50(1.3)
	限局性神経膠症	30(1)	60(1)	75(1.8)	75(1.3)	56(1)	100(3)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	30(1)	80(1)	62(1)	50(1)	33(1)	67(1)
腰仙髄	側中心索における軸索変性	10(1)	20(1)	50(2.3)	50(1)	44(1)	100(2.7)
	軸索変性(散在性)	20(1)	10(1)	12(4)	50(1)	11(1)	17(1)
	血管周囲性リンパ球浸潤	10(2)	30(1)	50(2)	50(1)	67(1.2)	0
	限局性神経膠症	20(1.5)	20(1)	88(1.8)	50(1)	22(1.5)	100(2)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	80(1.1)	100(1.2)	88(1.3)	75(1)	75(1)	87(1)
坐骨神経	両側性神経線維変性	10(1)	20(1.8)	38(2.2)	75(1.4)	20(1.8)	100(3.3)
	片側性神経線維変性	20(1)	20(1)	62(1.6)	25(1.0)	25(1.0)	0
	軸索腫大	0	5(2)	6(2)	0	0	100(2.7)
	神経細胞周囲または間質のリンパ球集 ^{a)}	75(1.2)	95(1.7)	69(2)	75(1.8)	75(1.8)	100(1.8)
	シュワン細胞過形成 ^{a)}	90(1)	85(1.0)	94(1.9)	75(1.3)	75(1.3)	100(2.8)

カッコ内の数字は、影響がみられた雌ニワトリにおける当該所見の平均重篤度を示す。

病変は、0(変化なし)~4(重篤および/または所見多数)にグレードを付けた。

a): 左右両方の神経標本の重篤度のデータを含む。

表3:急性遅発性神経毒性試験の病理組織学的所見(第2部試験一回復期間)

組織	病理組織学的所見	病変を示すニワトリの割合(%)			
		供試薬剤			
		モリネート(g/kg)		コーン油	TOCP
		0.63	2.0		
脳	小脳脚における軸索変性	20(1) ^b	60(1)	0	100(1.2)
	血管周囲性リンパ球浸潤	80(1.2)	100(1.4)	100(1.2)	80(1.2)
	限局性神経膠症	20(1)	20(1)	20(1)	40(1.0)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	20(1)	80(1)	0	100(2.4)
頸髄	軸索変性(後索)	0	60(1)	0	100(2.0)
	軸索変性(散在性)	40(1)	20(1)	20(1)	0
	血管周囲性リンパ球浸潤	20(1)	20(3)	40(1.5)	20(2)
	限局性神経膠症	60(1)	20(1.3)	0	100(1.4)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	60(1)	60(1)	20(1)	100(1.8)
胸髄	腹索および側索における軸索変性	20(1)	0	20(1)	100(2.4)
	軸索変性(散在性)	20(1)	60(1)	60(1)	100(1.2)
	血管周囲性リンパ球浸潤	40(1)	60(1)	40(1)	40(1)
	限局性神経膠症	20(1)	60(1)	20(1)	100(2)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	40(1)	100(1)	40(1)	100(2.2)
腰仙髄	側中心索における軸索変性	0	0	0	100(1.2)
	軸索変性(散在性)	0	0	0	40(1)
	血管周囲性リンパ球浸潤	20(1)	20(1)	20(1)	20(1)
	限局性神経膠症	20(1)	40(1)	40(1)	100(1.2)
	神経細胞腫大/ニッスル小体融解	80(1)	80(1)	60(1)	100(2.6)
坐骨神経	両側性神経線維変性	0	0	0	20(1.5)
	片側性神経線維変性	40(1)	60(1)	40(1)	40(1)
	軸索腫大	0	0	0	0
	神経細胞周囲または間質のリンパ球巢 ^{a)}	60(1.7)	90(2.1)	80(1)	80(1.9)
	シュワン細胞過形成 ^{a)}	90(1.3)	80(1.2)	60(1.2)	100(1.7)

カッコ内の数字は、影響がみられた雌ニワトリにおける当該所見の平均重篤度を示す。

病変は、0(変化なし)~4(重篤および/または所見多数)にグレードを付けた。

a):左右両方の神経標本の重篤度のデータを含む。

陰性対照群で、脳および脊髄に血管周囲性リンパ球浸潤および限局性のグリア細胞増殖がみられた。また、末梢神経の孤立性の軸索変性およびこれに伴う空胞状のミエリン変性等の背景的变化が低頻度でみられた。また、限局性リンパ球巢およびシュワン細胞過形成が多数の神経標本でみられた。これらの背景的な変化は通常の家禽でみられる病変に類似しており、これらの原因は野外における感染症およびワクチンウイルス感染症であると考えられた。

陽性対照群で、脳および脊髄の白質伝導路にミエリン鞘分断(溶解)を伴う軸索腫大あるいは破壊が明白にみられた。これらの程度は軽微から中等度で、これらに伴って反応性神経膠症がみられた。陽性対照群でみられた軸索損傷は、コーン油投与群で散見された軸索腫大とは明らかに異なる変化であった。

陽性対照群では、より重篤で単一の伝導策中の軸索の数本に影響がみられた。陽性対照群では末梢神経にも軸索変性が明白にみられた。影響がみられた軸索には軸索を覆うミエリン鞘の空砲状変性だけでなく、軸索腫大および分断もみられた。この軸索変性の重篤度は様々で、陽性対照群の全ニワトリで両側性に発生がみられた。検体の低用量(0.020、0.063および0.20 g/kg)投与群で、脳および脊髄に神経組織学的な変化がみられたが、これらは陰性対照群でみられた変化と類似のものであり、これらの変化のうち血管周囲性リンパ球浸潤、神経細胞膨化および背景的な軸索変性は、陰性対照群および検体投与群の脳および脊髄の同一部位に同様な発生頻度および重篤度でみられた。限局性神経膠症については、検体投与群と対照群で重篤度に差がみられなかったが、発生部位は異なっており、発生率にも差がみられた。0.020、0.063および0.20 g/kg投与群で末梢神経の変化がみられ、0.20 g/kg投与群では3羽に左右の両神経に軽い変性がみられた。しかし、この変化がみられたのは少数の神経線維であり、重篤度および発生率の増加が0.063および0.20 g/kg投与群でみられなかったことからこの変化は背景的なものと考えられた。

検体の高用量(0.63および2.0 g/kg)群の全ニワトリで、脳、脊髄および末梢神経に変性変化がみられた。これらの群でみられた髄質および頸髄の著明な軸索およびミエリン鞘変性は、陽性対照群でみられた変化と類似した部位に認められた。しかし、胸髄および腰仙髄の病変は陽性対照群の病変よりも軽度であった。0.63および2.0 g/kg投与群で、末梢神経に融解室形成を伴う軸索変性およびシュワン細胞過形成が恒常的にみられた。これらの変化は陽性対照群の末梢神経にみられた病変よりも軽度であり、数羽では左右両方の神経に病変がみられた。

高用量(0.63および2.0 g/kg投与群)では回復期間中に有意な回復がみられた。2.0 g/kg投与群では脊髄の特定部位に限局した軸索変性が比較的高率に発生していたが、重篤度は非常に低く、ほぼ完全な回復が可能であった。同群では他に異常な組織学的変化がみられなかった。

0.63 g/kg投与群では中枢および末梢神経に有意な病変が起らなかったため、完全な回復がみられた。

陽性対照群で誘発された病変は完全に可逆的ではなく、回復期間終了後も脳および脊髄の特定の有髄伝導路に軸索損傷が明白に認められたが、その重篤度はある程度低下していた。末梢神経の軸索変性はほとんど消滅していたが、脳および脊髄の神経細胞膨化は回復期周に増強していた。

結 論：急性毒性試験では、検体を単回経口投与すると低レベルの経口毒性作用(LD₅₀値は1.93 g/kg)がみられ、コリンエステラーゼ活性の阻害もみられた。アトロ

ピン投与による前処理は検体の急性毒性を軽減しなかった。

急性遅発性神経毒性試験では、検体を2回投与したニワトリで遅発性の脚弱あるいは運動失調はみられなかった。しかし、0.63および2.0 g/kg投与群で、脳、脊髄および末梢神経に病理組織学的変化がみられた。しかしながら、検体投与による病変は、脳および脊髄上位で高度に発生したにも関わらず、一般状態の変化はみられなかった。また運動を司る神経にも影響はみられなかった。これに対して、陽性対照群では遅発性神経毒性の症状および脊髄の全部位に重篤な神経病変がみられた。検体が誘発した病変は120日間の回復期間に可逆的であったが、陽性対照群の脳および脊髄の病変は回復期間終了時にも明白にみられた。検体の0.020、0.063あるいは0.20 g/kg投与群では投与に関連する病理組織学的変化はみられなかった。

したがって、本試験におけるモリネートの無毒性量は0.20 g/kgであると判断される。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

6. 90日間反復経口投与毒性

(資料 毒-22)

(1) モリネート原体のイヌを用いた飼料混入投与による13週間反復経口投与毒性試験

試験機関：Woodard Research (米国)

報告書作成年：1964年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各2匹(30 mg/kg/日群雌のみ3匹)

試験期間：13週間

方 法：検体のアセトン溶液を乾燥飼料に混合し、アセトンを蒸発させた後、この200 gに45 gの缶詰肉を混入し、自由摂食させた。投与量は0(対照)、15、30、60 mg/kg/日(飼料中濃度0、450、900、1800 ppm)とした。

試験項目および結果：

一般症状および死亡例：毎日観察を行った。

検体投与群では対照群に比べ、鎮静傾向がみられたが、健康状態は良好で、死亡はみられなかった。

体 重：週1回測定した。

対照群と各検体投与群間に差はなかった。

摂餌量：毎日測定した。

60 mg/kg/日投与群の雌1例で10週間にわたる低下がみられた。30 mg/kg/日投与群の雄1例、雌2例および15 mg/kg/日投与群の雌2例で一時的な減少がみられた。

眼検査：0、4、8および13週目に直接検眼鏡検査を行った。

対照群および各検体投与群とも異常はみられなかった。

血圧および心電図：0、4、8および13週目に行った。脈拍は心電計の間隔をもとに測定した。

血圧は30および60 mg/kg/日投与群各1例で心臓の収縮値が低下した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

心電図では正常な動物にも観察される一時的な不整脈がみられた以外異常はなかった。脈拍では値の幅が大きく、30および60 mg/kg/日投与群各1例では著しく低い値であった。

血液学的検査；ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、沈降速度、白血球数および白血球百分比を0、4、8および13週目に測定した。血小板数は試験終了時に測定した。

15 mg/kg/日投与群雌1例でヘモグロビン量が8および13週目に減少した。30 mg/kg/日投与群で白血球数が全5例中3例でわずかに増加し、ヘモグロビン量が雄1例で8週目に減少した。60 mg/kg/日投与群では雌雄全例で白血球数の増加がみられた。ヘモグロビン量が雌1例で4、8および13週目に減少した。

血液生化学的検査；血糖値、尿素窒素、アルカリホスファターゼ(ALP)、グルタミン酸オキサ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)、プロトロンビン時間を0、4、8および13週目に測定した。

尿素窒素は30 mg/kg/日投与群雌1例で13週目および雄1例で8週目、および60 mg/kg/日投与群雄1例で8および13週目に各々増加がみられた。GPTについては60 mg/kg/日投与群雄1例で4週目、雌1例で13週目に各々増加がみられた。

尿検査；0、4、8および13週目に行った。

対照群および各検体投与群とも異常はみられなかった。

臓器重量；13週後全動物をペントバルビタール麻酔下で屠殺後、心、肺、肝、腎、脾、副腎、精巣または卵巣、前立腺または子宮、脳、下垂体、甲状腺の重量を測定した。さらに相対重量を算定した。

絶対重量；60 mg/kg/日投与群4例中3例で甲状腺重量が対照群より増加しており、残りの1例では減少していた。

相対重量；60 mg/kg/日投与群の1例の腎で対照群と比べ増加がみられた。

その他の動物では、対照群との間に差は認められなかった。

肉眼的病理検査；13週後全動物をペントバルビタール麻酔下で屠殺後、検査を行った。

対照群の雄1例で臍ヘルニア、30 mg/kg/日投与群雌1例で発情、60 mg/kg/日投与群雄1例で甲状腺萎縮、雌1例で発情がみられた。

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に行った。

検査対象臓器は心*、肺*、肝*、腎*、脾*、精巣*または卵巣*、前立腺または子宮、

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

副腎*、脳、下垂体、骨髄、腸間膜リンパ節、末梢神経、皮膚、気管、脊髓*、骨格筋、唾液腺*、小腸*、胆のう*、脾、大腸、胃、食道、膀胱、胸腺、甲状腺*、眼とし、対照群および60 mg/kg/日投与群では以上の全臓器について、15および30 mg/kg/日投与群では*印を付した臓器について検査を実施した。

対照群および各検体投与群とも異常はみられなかった。

結 論：以上の結果、本検体をビーグル犬に13週間飼料混入投与した場合の無毒性量は、60 mg/kg/日の生化学検査における尿素窒素の増加および甲状腺の絶対重量に増加がみられることから、雌雄とも30 mg/kg/日(飼料中濃度900 ppm)と判断される。

(資料 毒-23)

(2) モリネート原体のラットを用いた飼料混入投与による13週間経口投与毒性試験

試験機関：Woodard Research (米国)

報告書作成年：1964年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：白色ラット、1群雌雄各15匹

試験期間：13週間

方 法：検体を粉末飼料中に混入し、13週間にわたり自由摂取させた。飼料中濃度は、検体摂取量が0、35、70、140 mg/kg/日となるように計算して調製した。試験期間を通して単位体重あたりの検体摂取量を一定にするため、4週目に飼料中の濃度を調整した。

試験項目および結果：

一般症状および死亡例：毎日観察を行った。

3週間後に140 mg/kg/日投与群の雄1例が死亡した(呼吸器系感染症によると思われる)。他の動物は試験期間中生存し、健康状態は良好であった。

体重変化：毎週1回測定した。

試験終了時、平均体重の対照群に対する割合(%)は次表の通りであった。

性 別	雄			雌		
	35	70	140	35	70	140
投与量(mg/kg/日)						
体重 ^a	↓93	↓81	↓54	↓92	↓88	↓64

↓↓：p<0.01 Dunnett's test (片側、申請者実施)

a: 対照群に対する割合(%)

試験終了時の平均体重は、対照群に比べ、何れの投与群でも低下がみられ、140 mg/kg/日投与群で特に顕著であった。さらに、70および140 mg/kg/日投与群では試験開始直後から試験終了時まで、体重の増加抑制が継続して認められた。

摂餌量：毎週1回測定した。

試験期間の総摂餌量は次表の通りであった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

性別	雄			雌		
	35	70	140	35	70	140
投与量(mg/kg/日)	35	70	140	35	70	140
対照群に対する割合(%)	98	90	77	93	99	84

申請者注：報告書に生データの記載がないため、有意差検定未実施

140 mg/kg/日投与群雌雄および70 mg/kg/日投与群雄では顕著な減少がみられた。

血液学的検査：4、8および13週目に対照群および140 mg/kg/日投与群の雌雄各5例についてヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数を測定し、白血球百分比を算定した。13週目の試験終了時には上記以外にプロトロンビン時間も測定した。8週目には35および70 mg/kg/日投与群についても同様な血液学的検査を行った。

統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

血液学的検査項目

検査項目	検査週	性別・投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		35	70	140	35	70	140
ヘモグロビン量	8		↓89	↓82			
ヘマトクリット値	8			↓90			
白血球数	4	/	/	↑155	/	/	
好酸球	4			↓0			↓0

数値は対照群に対する変動率 (%)

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 Student's t-testまたはDunnett's test(申請者実施)

8週目に70および140 mg/kg/日投与群の雄でヘモグロビン量およびヘマトクリット値の極軽微な低下が認められたが、13週目では対照群との間に差はなかった。雌では何れの投与群でも対照群との間に差はなかった。

140 mg/kg/日投与群の雌雄ともに4および8週目に白血球数の軽微な増加がみられたが、13週目では対照群と同等であった。

白血球百分比は何れの検査時期でも、何れの検体投与群でも雌雄とも対照群に比べリンパ球比に極軽微な増加がみられたが、これらの変化は極軽微であり、また用量との関連もみられず検体投与との関連性はないと考えられた。

プロトロンビン時間は対照群と各検体投与群との間に差がなかった。

臓器重量：13~14週目の試験終了時に全生存動物について心、肝、腎、脾、肺、精巣/

卵巣、副腎、甲状腺、下垂体の絶対重量を測定し、相対重量を算定した。

次表に臓器重量において統計学的な有意差がみられた臓器についてその増加または減少を示した。

臓器重量結果

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		35	70	140	35	70	140
体重		93	81	54	92	88	64
心	絶対重量			62			
	相対重量			↑116			
肝	絶対重量		91	62		97	73
	相対重量		↑112	↑116		↑109	↑115
腎	絶対重量		84	61			72
	相対重量		↑103	↑117			↑112
精巣	絶対重量			33			
	相対重量			↓63			
卵巣	絶対重量				110		49
	相対重量				↑120		↓77
副腎	絶対重量		102	99	131	111	80
	相対重量		↑126	↑194	↑141	↑125	↑124
甲状腺	絶対重量	120	100	83	188	119	120
	相対重量	↑128	↑122	↑162	↑203	↑133	↑187
下垂体	絶対重量				147		
	相対重量				↑159		

数値は対照群に対する変動率(%)

↑↓: p<0.05 ↑↑: p<0.01 (Wilcoxon' s Rank Sum Test、相対重量)

絶対重量は統計検定未実施のため、相対重量に有意差の付いた項目に申請者が変動率のみを示した。

140 mg/kg/日投与群の雄では副腎の絶対重量は対照群とほぼ同等であったが、体重が極端に減少したため、相対重量は2倍近い数値まで増加した。また、140 mg/kg/日投与群雌では副腎の絶対重量は対照群より減少していたが、体重も減少したため、相対重量は増加した。

35および70 mg/kg/日投与群の雌雄ともに、絶対および相対重量ともに概して増加傾向がみられた。

病理組織学的検査；13～14週目の試験終了時に全生存動物について心、肝、腎、脾、肺、

精巣/卵巣、副腎、甲状腺、下垂体、膵臓、胃、神経、腸、リンパ節、眼球、膀胱、脳、骨髄、筋肉について、病理組織学的検査を実施した。

肝：140 mg/kg/日投与群雌雄では肝細胞質内グリコーゲン消失および細胞の大きさ不整がみられ、対照群または他の検体投与群よりも発生頻度が高かった。

腎：対照群および全ての検体投与群の雄で細胞肥大を伴う尿細管細胞変性がみられ、投与量に依存した傾向がみられた。雌では何れの投与群でも異常はなかった。

精巣：140 mg/kg/日投与群では6/6例で精子未形成を伴う高度の精細管の退行性変化がみられた。他の投与群では異常はなかった。

卵巣：140 mg/kg/日投与群では5/5例で高度の卵巣萎縮がみられた。他の投与群でも認められたが、程度は軽度であった。

副腎：140 mg/kg/日投与群の全ての雄および少数の雌および70 mg/kg/日投与群の雄で皮質の細胞空胞化がみられた。70 mg/kg/日投与群の雌および35 mg/kg/日投与群の雌雄では異常はなかった。

結論：以上の結果、本検体のラットに対する13週間飼料混入投与において、70および140 mg/kg/日投与群ともに体重の増加抑制、摂餌量の低下、肝、腎の相対重量の増加がみられ、また肝、副腎、精巣、卵巣でみられた病理組織学的所見等により、無毒性量は雌雄ともに35 mg/kg/日と判断される。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-70)

(3) モリネート原体のラットを用いた 2 回目の 13 週間投与による安全性評価試験

試験機関：Stauffer Chemical Company (米国)

報告書作成年：1967 年

検 体：モリネート原体（純度 %、Lot No. ）

供試動物：アルビノラット

各群雌雄各 15 匹、但し 4 群は雄 16 匹、雌 14 匹

開始時週齢：離乳後、投与開始時体重範囲（雄 77~122 g、雌 64~124 g）

投与期間：13 週間（90 日間）

投与方法：検体をアセトンで希釈し、飼料に混合した。0、8、16、および 32 mg/kg/日の 4 群を設けた。飼料は 3-4 週間隔で調製した。

用量設定根拠：報告書に記載なし。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死について観察を毎日少なくとも 1 回行った。

32 mg/kg 群の雄ラット 1 匹は、5 週間目に死亡した。その他のすべてのラットは良好な状態であった。

体重変化；投与期間中全動物の体重を毎週測定した。

雄および雌の体重変化を次表に示す。

体重変化

測定週	性別・投与量 (mg/kg/日)					
	雄			雌		
	8	16	32	8	16	32
1			↓90			
2			↓86			
3			↓89			
4			↓89			
5			↓89			
6			↓89			
7			↓88			
8			↓86			↓88
9			↓85			↓91
10	(94)	(94)	↓84			↓89
11	(94)	↓93	↓86			↓88
12	(94)	↓92	↓84			↓90
13	(94)	↓92	↓83			↓87

数値は対照群に対する比率 (%)

5週間目に死亡した32mg/kg/日の1匹は集計より外した。

↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01 (Dunnettの多重比較検定 両側、申請者実施)。

() は、有意差はないが参考のために示した。

雌雄ともに投与期間とともに体重の増加が抑制され(用量*投与期間の交互作用が高度に有意(p<0.01))、雄は対照群に比して投与の全期間を通じて、また雌では8週以降が有意に低い体重を示した。16 mg/kg/日投与群では雄の11週以降に有意な抑制がみられた。雌においても抑制傾向がみられたが有意差は認められなかった。8 mg/kg/日投与群でも投与後半に雄に抑制傾向がみられたが対照群との間に有意差は認められなかった。

摂餌量および食餌効率：飼料摂取量を毎週測定をした。

測定週	性別・投与量 (mg/kg/日)					
	雄			雌		
	8	16	32	8	16	32
11週		↓89	↓89			(88)
12週		(94)	↓87			(91)
13週			↓88			(95)

数値は対照群に対する比率 (%)

↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01 (Dunnettの多重比較検定 両側、申請者実施)

() は、有意差はないが参考のために示した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

32 mg/kg/日群において雌雄ともに投与の後半において軽度に低値を示し、雄では11週より有意差がみられた。16 mg/kg/日群においても軽度ながら抑制の傾向がみられ、11週の雄で有意差がみられた。

検体摂取量：1匹のラットの体重に対してほぼ一定の化合物の投与が行われるように、一定期間毎に飼料濃度を調製した。

検体摂取量を次表に示す。

検体摂取量

期間 (週)	混餌濃度 (ppm)	用量 (mg/kg/day)
0-3	192	32
	96	16
	48	8
4-6	320	32
	160	16
	80	8
7-10	448	32
	224	16
	112	8
11-最終屠殺	594	32
	272	16
	136	8

血液学的検査：13週間後に各投与群の雌雄各5匹について以下の血液学的検査を行った：ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、総白血球数、白血球分画、血小板数、凝固時間。

13週時の平均白血球分画百分率 (%)

項目	性別・投与量 (mg/kg/日)							
	雄				雌			
	0	8	16	32	0	8	16	32
非分葉核					15	9	6	5
分葉核					15	15	12	7
好酸球					2	0	0	1

32 mg/kg/日群の雌ラットの一連の顆粒球において分葉核球と非分葉核球の比率が減少し、16 mg/kg/日群の雌では非分画細胞の減少がみられたが、供試動物が少数であることから、これらの変化は偶発的と考えられた。

上記以外の検査項目には各投与群と対照群間で大きな差はみられなかった。

臓器重量：試験中に死んだラットおよび13週間後に屠殺されたラットを剖検した。各ラ

ットの心臓、肝臓、腎臓、脾臓、肺、生殖腺、副腎、甲状腺、下垂体の重量を測定した。

統計学的有意差のみられた臓器重量を次表に示した。

項目		性別・投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		8	16	32	8	16	32
体重			↓90	↓82			↓87
心臓	絶対			↓83	↓87	↓86	↓86
	相対				↓88		
肝臓	絶対		↓89	↓82			
	相対						
腎臓	絶対						
	相対				108*	↑109*	↑113*
脾臓	絶対	↓79	↓79	↓75			
	相対						
精巣	絶対		↓90				
	相対			↑113*			
卵巢	絶対				128*		
	相対						
副腎	絶対						↑141
	相対			119*	153*	120*	↑161*
甲状腺	絶対						
	相対		119*	121*			
下垂体	絶対		↓78	↓76			↓80
	相対						

数値は対照群に対する比率 (%)

* : p<0.02/0.05 (Wilcoxon の順位和検定)

↑↓ : p<0.05、↑↑↓ : p<0.01 (Dunnett の多重比較検定 両側、申請者実施)

副腎および腎臓の相対重量が雌のすべての投与群において有意に高値を示した。これらの変化については 32 mg/kg/日群では検体投与との関連性が認められたが、8 及び 16 mg/kg/日群間には投与用量との間に明確な関連性ないことから、毒性学的な意義は認められなかった。さらに、副腎、精巣、甲状腺の相対重量が 32 mg/kg/日群の雄において有意に増加した。

上記以外にも有意な変化が観察されたが、投与用量との間に関連性がみられないことから、毒性学的な意義は認められなかった。

(申請者注: 有意差検定は報告書中では Wilcoxon の順位和検定が用いられてい

たが、より適切な統計解析を実施するため、分散分析および Dunnett の多重比較検定を申請者が追加した。

その結果、副腎重量の絶対及び相対重量が 32 mg/kg/日群の雌において、有意に増加した。本変化は病理組織学的検査において対応する変化が観察されたことから、検体投与との影響と判断された。さらに、腎臓の相対重量が 16 及び 32 mg/kg/日群の雌において有意に増加し、精巣の相対重量が 32 mg/kg/日群の雄において有意に増加した。上記以外にも、各検体投与群の絶対及び相対重量において対照群に比べ有意な減少が観察されたが、投与量との関連性がない変化あるいは絶対重量のみの変化であることから毒性学的に意義のない変化であろうと判断された。）

肉眼的病理変化：剖検時に観察した。

いずれの試験群においても肉眼的異常は殆ど観察されなかった。

組織病理学的検査：心臓、肝臓、腎臓、脾臓、肺、生殖腺、副腎、甲状腺、下垂体、十二指腸、肋間筋、膀胱、膵臓、腸間膜リンパ節、骨髄、胃、脳の一部分を 10%ホルマリンに保存した。眼はツェンカー固定液に保存した。また各群の雌雄各 5 匹の肝臓、腎臓、生殖腺の組織切片は顕微鏡で病理検査した。また対照群と 32 mg/kg/日群の雄各 1 匹を除くすべての副腎の組織切片を顕微鏡によって病理検査した。すべてのラットの残された組織は、将来の検査の必要のために、保存した。

主な病変を次表に示す。

主要病変（病理検査結果より申請者が作成）

臓器・病変		群		投与量 (mg/kg/日)							
				雄				雌			
		0	8	16	32	0	8	16	32		
副腎	検査動物数	14	15	15	13	15	15	15	15		
	皮質細胞空胞形成	3	↑9	7	↑9	0	↑8	↑5	↑8		
	軽微	2	6	3	6	0	5	↑4	2		
	軽度	1	3	4	3	0	3	1	4		
	中程度	0	0	0	0	0	0	0	2		
卵巣	検査動物数	/	/	/	/	15	14	15	15		
	間質細胞泡沫空胞形成	/	/	/	/	0	0	↑4	↑5		
	軽微	/	/	/	/	0	0	1	3		
	軽度	/	/	/	/	0	0	2	0		
	中程度	/	/	/	/	0	0	1	2		

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Fisher の直接確率検定、申請者実施)

32 および 16 mg/kg/日群雌で卵巣間質細胞の泡沫空胞形成がみられた。

検体投与群の雌雄における副腎皮質細胞空胞形成の増加がみられ、程度は軽微から中程度の範囲であった。副腎の変化の総発生頻度は対照群よりも検体投与群において高値を示したが、投与量との関連性はなかった。中程度の発生例は 32 mg/kg/日群においてのみみられた。

副腎および卵巣にみられた空胞形成はいずれも本質的には変性ではなく、正常な脂質成分の蓄積増加を示していると考えられた。

結論：32 および 16 mg/kg/日を投与したラットにおいて、雄あるいは雌に体重増加抑制がみられ、さらに、副腎及び腎臓の臓器重量が高値を示し、卵巣間質細胞の空胞形成および雌雄両性のラットの副腎皮質細胞の空胞形成がみられた。16 mg/kg/日を投与したラットにおいて、雄に体重増加抑制がみられ、さらに卵巣間質細胞の空胞形成がみられた。従って、本試験において 8 mg/kg/日が 13 週間投与されたラットに対する無影響量および無毒性量と結論された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-24)

- (4) モリネート原体のラットを用いた飼料混入投与における3ヶ月間反復経口投与毒性試験
試験機関：日本農村医学研究所
報告書作成年：(記載なし)

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ウイスター系ラット、1群雌雄各15匹、開始時4週齢、平均体重98.1 g

試験期間：3ヶ月(試験開始1ヶ月後に1群雌雄各5匹を中間屠殺した)

方 法：検体を馬鈴薯澱粉に吸着させ、飼料原料粉末と混合した後、固形飼料に成型し、自由に摂食させた。飼料中の検体濃度は0(対照)、450、900、1800 ppmとした。

試験項目および結果：

一般症状および死亡例：毎日観察を行った。

試験期間を通じて死亡例はなく、何れの動物も健康状態を維持した(投与5週間後に雌450 ppm投与群中に雄1匹の混入が確認されたので、この動物を屠殺した)。

体重変化：週毎1回測定した。

全ての検体投与群で雌雄とも試験開始1週間後、体重の増加抑制がみられたが、450 ppm投与群では回復し、対照群と同様の上昇曲線となった。900および1800 ppm投与群では試験終了まで抑制がみられた。この抑制は特に雄で顕著であった。

摂餌量：週毎1回測定した。

摂餌量は雌雄とも900および1800 ppm各投与群において4週目ごろから、対照群および450 ppm投与群に比べ、若干の低下がみられた。

摂餌効率：週毎に算出した。

対照群と各検体投与群間に顕著な差異はみられなかった。

摂水量：週毎1回測定した。

対照群と各投与群間に差はなく、一定の傾向はみられなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

検体摂取量；摂餌量および投与量から算出した1日当たりの平均検体摂取量は次表の通りであった。

飼料中濃度 (ppm)	検体摂取量 (mg/kg/日) ^a	
	雄	雌
450	32.9	39.9
900	68.7	81.2
1800	163.2	194.8

a：週ごとの値を基に申請者が計算

血液学的検査；試験開始1ヶ月後および3ヶ月後の試験終了時に実施した。赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値を測定した。

次表に増加または減少を示した検査項目を示した。

血液学的検査結果

項目	検査時期(月)	性別および投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		450	900	1800	450	900	1800
赤血球数	1			↓80			
	3						↓90
ヘモグロビン量	3						↓90

数値は対照群に対する変動率 (%)

↑↓：報告書中で統計検定未実施かつ生データ未記載のため、報告書中に記載のある項目について申請者が増減傾向を示した。

1ヶ月後では1800 ppm投与群の雄に赤血球数の若干の減少がみられ、3ヶ月後では1800 ppm投与群雌にヘモグロビン量および赤血球数の若干の減少がみられたが、有意な変化とは考えられなかった。

以下に増加または減少傾向が認められた検査項目を示した。

血液生化学的検査；1ヶ月後および3ヶ月後に実施した。総蛋白、アルブミン/グロブリン比 (A/G比)、コレステロール、尿素窒素、グルタミン酸ピルビン酸転移酵素 (GPT)、グルコースを測定した。

次表に増加または減少を示した検査項目を示した。

血液生化学的検査結果

項目	検査 時期 (月)	性別および投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		450	900	1800	450	900	1800
グルコース	1	↑120	↑121		↑121	↑124	↓86
A/G比	1	↓56	↓42	↓46			
	3	↑133	↑261	↑183		↑163	
GPT	3						↓80
尿素窒素	3						↑130

数値は対照群に対する変動率 (%)

↑↓：報告書中で統計検定未実施かつ生データ未記載のため、報告書中に記載のある項目について申請者が増減傾向を示した。

1ヶ月後：総蛋白、尿素窒素では雌雄とも対照群と各検体投与群との間に差はみられなかった。

A/G比は、雄が各検体投与群において対照群より若干低い傾向を示した。コレステロールについては全般に雌が雄に比して低かったが、対照群と検体投与群との間に差はみられなかった。血糖値は雌雄とも各検体投与群が対照群より多い傾向にあったが、投与量との関係は明確ではなかった。

3ヶ月後：総蛋白量、血糖値では雌雄とも対照群と各検体投与群との間に差はみられなかった。

A/G比は全ての検体投与群の雄で対照群より若干高かったが、雌においては各検体投与群との間に差はみられなかった。

コレステロールは雌の方が雄よりも若干多い傾向にあったが、対照群と各検体投与群との間に差はみられなかった。

GPTについては1800 ppm投与群の雌でやや低下がみられ、尿素窒素では1800 ppm投与群の雌でやや増加傾向がみられたが、いずれも投与量との関係は明確ではなかった。

臓器重量：1ヶ月後および3ヶ月後に実施した。脳、心、肺、肝、腎、脾、副腎、精巣および卵巣の重量を測定し、各々相対重量を算定した。

次表に増加または減少を示した検査項目を示した。

臓器重量

項目		検査時期(月)	性別および投与量(ppm)					
			雄			雌		
			450	900	1800	450	900	1800
肺	絶対重量	1		↓74	↓61			
	相対重量	1			↑116			↑121
脳	相対重量	3			↑181			↑138
	相対重量	1			↑130			↑129
肝	相対重量	3			↑135			↑138
	絶対重量	3		↓88	↓79			
腎	相対重量	1			↑114			↑142
	絶対重量	3		↓82	↓83			↓74
心	相対重量	3						↑103
	絶対重量	1		↓93				
精巣	絶対重量	3		↓65	↓58			
	相対重量	3		↓83	↓86			
	相対重量	3						

数値は対照群に対する変動率(%)

↑↓: 報告書中で統計検定未実施かつ生データ未記載のため、報告書中に記載のある項目について申請者が増減傾向を示した。

1ヶ月;

<絶対重量> 900、1800 ppm各投与群雄では肺に若干減少の傾向がみられた。

<相対重量> 雌雄とも1800 ppm投与群で脳、肝、腎に増加傾向がみられた。

3ヶ月;

<絶対重量> 雄の心、腎、精巣が900、1800 ppmの各投与群とも対照群に比して減少しており、投与量が多いほど著しかった。特に精巣重量の減少は900および1800 ppm投与群において顕著であった。雌では1800 ppm投与群において心重量がやや減少している他に、差はみられなかった。

<相対重量> 雄では1800 ppm投与群の脳、肝に増加がみられたが、900および1800 ppm投与群の精巣は減少していた。雌では1800 ppm投与群の脳、肝、心に増加がみられた。

病理組織学的検査; 1ヶ月後および3ヶ月後に、心、肺、肝、腎、副腎、脾、甲状腺、リンパ腺、精巣、卵巣、胃について実施した。

3ヶ月の900および1800 ppm投与群に精巣萎縮がみられ、特に1800 ppm投与群では顕著であった。また、1ヶ月および3ヶ月とも各検体投与群で軽度の甲状腺機能亢進像がみられたが、特に病的変化であるとは判断されなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

結 論：以上の結果、本検体のラットに対する3ヶ月間飼料混入投与における影響として、900 ppm以上の投与群で体重の増加抑制、摂餌量の低下、病理組織学的検査における精巣萎縮がみられた。
従って本試験における無毒性量は、雌雄とも450 ppm(雄：32.9、雌：39.9 mg/kg/日)と判断される。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 毒-25)

(5) モリネート原体のマウスを用いた飼料混入投与における3ヶ月間反復経口投与毒性試験

試験機関：日本農村医学研究所

報告書作成年：(記載なし)

検 体：原体(純度 %)

試験動物：ddy系マウス、1群雄16匹、雌15匹、開始時4週齢

開始時平均体重 雄22.5 g、雌20.5 g

試験期間：3ヶ月(試験開始1ヶ月後に1群雄雌各5匹を中間屠殺した)

方 法：検体を馬鈴薯澱粉に吸着させ、飼料原料粉末と混合した後、固型飼料に成型し、自由に摂食させた。飼料中の検体濃度は0(対照)、450、900、1800 ppmとした。

試験項目および結果：

一般症状および死亡例：一般症状および死亡の有無を毎日観察した。

全ての動物は試験終了時まで健康を維持した。対照群の雄1例が4週間後に事故死した以外死亡例はなかった。

体重変化：毎週1回測定した。

雄の1800 ppm投与群のみに3週以降体重増加抑制がみられたが、他の検体投与群には対照群との間に顕著な差はみられなかった。

摂餌量：1週間に1回測定した。

対照群と検体投与群との間に著明な差はみられなかった。

摂餌効率：週毎に算定した。

対照群と検体投与群との間に差はみられなかった。

検体摂取量：摂餌量および投与量から算出した1日当りの平均検体摂取量は次表の通りであった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

飼料中濃度 (ppm)	検体摂取量 (mg/kg/日) a	
	雄	雌
450	72.8	65.6
900	155.6	121.8
1800	241.2	251.6

a : 週ごとの値を基に申請者が計算

血液学的検査；試験開始1ヶ月後および3ヶ月後の試験終了時に、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球百分比(3ヶ月のみ)を測定した。

1ヶ月後および3ヶ月後の検査において雌雄とも対照群と検体投与群との間に差はみられなかった。

血液生化学的検査；試験開始3ヶ月後の試験終了時に、アルブミン/グロブリン比 (A/G比) およびコレステロール値を測定した。

次表に増加または減少を示した検査項目を示した。

血液生化学的検査結果

項目	検査 時期 (月)	性別および投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		450	900	1800	450	900	1800
A/G比	3						↓51

数値は対照群に対する変動率 (%)

↑↓：報告書中で統計検定未実施かつ生データ未記載のため、報告書中に記載のある項目について申請者が増減傾向を示した。

1800 ppm群の雌において、A/G比の低下が認められた。

臓器重量；1ヶ月後各投与群の雌雄各5匹、3ヶ月後の試験終了時に全生存動物について実施した。脳、心、肺、肝、腎、脾、副腎、精巣および卵巣の重量を測定し、各々相対重量を算定した。

次表に増加または減少を示した検査項目を示した。

臓器重量結果

性 別		検査時 期(月)	雄			雌		
投与量 (ppm)			450	900	1800	450	900	1800
脳	相対重量	3			↑162			↑137
肺	相対重量	3			↑193			
脾	絶対重量	3			↑167			↑145
	相対重量	3			↑218			↑153
肝	相対重量	3						↑129
精巣	相対重量	3			↑147			

数値は対照群に対する変動率 (%)

↑↓：報告書中で統計検定未実施かつ生データ未記載のため、報告書中に記載のある項目について申請者が増減傾向を示した。

1ヶ月後：

絶対および相対重量とも対照群と検体投与群との間に差はみられなかった。

3ヶ月後：

<絶対重量> 1800 ppm投与群の雌雄の脾で若干の増加がみられた。

<相対重量> 1800 ppm投与群の雄で脳、肺、脾、精巣、また、雌で脳、肝、脾に増加がみられた。

肉眼的病理検査：1ヶ月後および3ヶ月後に実施した。

(結果の記載なし)

病理組織学的検査：1ヶ月後および3ヶ月後に実施した。

3ヶ月後、1800 ppm投与群雄に極軽度の精巣萎縮がみられた。

結 論：以上の結果、本検体のマウスに対する3ヶ月間飼料混入投与における影響として、1800 ppm投与群雄で体重増加抑制、また同群の雌で3ヶ月後の臓器重量で脾に増加が認められた。従って、本検体のマウスに対する3ヶ月間飼料混入投与における無毒性量は、雌雄とも900 ppm(雄：155.6、雌：121.8 mg/kg/日)と判断される。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

7. 21日間反復経皮毒性

(資料 毒-26)

モリネート原体のラットにおける21日間亜急性経皮毒性試験

試験機関：ICI Central Toxicology Laboratory (英国)

[GLP対応]

報告書作成年：1989年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：wistar由来 (Alpk: APfSD系) アルビノラット

体重 雄：192～225 g、雌：185～227 g、1群雌雄各5匹

投与期間：21日間

方 法：未希釈の検体を10、25および50 mg/kg/dayの用量で剃毛した動物の背面部皮膚に、閉塞包帯下で反復塗布した。塗布時間は1日6時間とし、21日間連続して行い、皮膚に残った検体は塗布後、毎日微温湯に浸した清浄な脱脂綿で拭き取った。また、検体を塗布しない他は投与群と同様に閉塞包帯を適用する群を設け対照群とした。

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2回観察した。

いずれの投与群においても死亡あるいは全身性の影響はみられなかった。全群で軽度の一般状態の変化がみられたが、この変化は包帯装着によるもので検体投与に関連するものとは考えられなかった。

25および50 mg/kg/日投与群で、軽度から中等度の皮膚刺激症状がみられ、組織学には炎症性細胞浸潤を伴わない表皮肥厚症がみられた。これは低レベルの慢性刺激に対して通例みられる反応である。10 mg/kg/日投与群で、軽度の皮膚刺激症状がみられたが、同群では対照群を上回る頻度の表皮肥厚の発現がみられなかったため、毎日の閉塞性包帯適用が与えた機械的刺激が引き起こした症状と思われた。

体 重：投与前に全動物の体重を毎日測定した。

いずれの群においても検体投与に関連する体重増加の抑制はみられなかった。ケージ・ラック交換時の飲料水奪取により、15日目の全群雄および14日目の全群雌の体重低下がみられた。対照群雌で、1匹が投与1週目に上歯欠損のために体重減少がみられた。また、10 mg/kg/day投与群雌で、投与1週目に、体重増加がみられなかったが、この原因は不明であった。

飼料摂取量；-1～1日、6～7日、13～14日および20～21日目に各ケージの24時間当たりの飼料摂取量を測定した。

いずれの投与群においても検体投与に関連する変化はみられなかった。

臓器重量；投与期間終了時に全動物を対象として、副腎(両側)、腎(両側)、脳、肝、精巣および卵巣(両側)を摘出して重量を測定した。

対照群と比較して、統計学的に有意な差がみられた臓器を次表に示した。

臓器重量検査成績

臓器	検査項目	性別・用量(mg/kg)					
		雄			雌		
		10	25	50	10	25	50
副腎	絶対重量		↑125				
	相対重量		↑125	↑122			
脳	相対重量	↑103					
腎	相対重量					↑112	

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

Student's t-test ↑↓: P<0.05

50 mg/kg/day投与群雄で、1匹に腎重量の50%の低下がみられたが、一般状態あるいは病理組織学的所見に異常はみられず、その原因は不明であった。25 mg/kg/day投与群雌で、対照群と比較して腎相対重量の軽度の増加がみられたが、毒性学的に有意であるとは考えられなかった。50あるいは25 mg/kg/day投与群雄で、対照群と比較して副腎重量の増加がみられたが、これに伴う病理組織学的変化はみられず、この変化は毒性学的に有意であるとは考えられなかった。

血液生化学的検査；投与期間終了時に屠殺直後の動物を対象として、心臓穿刺により採血し、血漿中の尿素、クレアチニン、グルコース、アルブミン、総タンパク、コレステロール、ビリルビン、カルシウム、リン、アラニントランスアミナー

ゼ(GPT、ALT)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ(GOT、AST)、クレアチンキナーゼ(CK)、アルカリホスファターゼ(ALP)、トリグリセリド、赤血球/血漿コリンエステラーゼ、ナトリウムおよびカリウムについて検査した。

対照群と比較して、統計学的に有意な差がみられた検査項目を次表に示した。

血液生化学的検査成績

検査項目	性別・用量 (mg/kg/日)					
	雄			雌		
	10	25	50	10	25	50
総タンパク	↓95		↓95			
ALP		↓76	↓80			
ナトリウム		↓98	↓98			
クレアチニン		↑123				
赤血球コリンエステラーゼ	↓89	↓91	↓84	↓80	↓85	↓83

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

Student's t-test ↑↓: P<0.05、↓↓↑: P<0.01

25および50 mg/kg/日群雄で、血漿アルカリホスファターゼの明白な減少がみられたが、これは対照群で高い値が孤立してみられたためであり、用量との関連もみられなかったことから、検体投与に関連するものとは考えられなかった。全投与群で、赤血球コリンエステラーゼの減少がみられたが、この変化に用量との関連はみられず、また、血漿コリンエステラーゼに変化がみられなかったことから、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

他に散見された変化は軽度あるいは孤立性のものであり、毒性学的に有意であるとは考えられなかった。

血液学的検査：投与期間終了時に、屠殺直後の動物を対象として、心臓穿刺により採血し、ヘモグロビン量、赤血球数、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、白血球数、血小板数および白血球百分率について検査した。また、赤血球の形態検査を行い、プロトロンビン時間およびカオリン-セファリン時間を測定または算定した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次表に示した。

血液学的検査成績

検査項目	性別・用量 (mg/kg)					
	雄			雌		
	10	25	50	10	25	50
ヘモグロビン量	↓94					
ヘマトクリット値	↓95					
MCV	↓96	↓97	↓94			
MCH	↓96		↓95	↓96		
MCHC				↓97		
血小板数						↓82
白血球数	↓75					
好中球数	↓52					
単球数		↓33				
カオリンセファリン時間	↓50					

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

Student's t-test ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

散見された変化はいずれも検体投与に関連するものとは考えられなかった。

肉眼的病理検査：投与期間終了時に各動物を対象として、腹部および胸部の主要臓器の肉眼的病理検査を実施した。

みられた変化は、いずれも本試験の供試ラットで通常みられる偶発性の病理所見であり、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

病理組織学的検査：投与全動物を対象として、肝、腎、副腎、脳、心、卵巢、坐骨神経、大動脈、膀胱、骨(大腿骨)、頸部リンパ節、結腸、十二指腸、回腸、空腸、肺、甲状腺/上皮小体、脊髄、喉頭、膵、下垂体、前立腺、唾液腺、精囊、脾、胸腺、子宮、盲腸、胃、直腸、肉眼的病変部、精巢、精巢上体、塗布部位以外の皮膚、塗布部位の皮膚、眼および肉眼的病変部を採取した。全動物の肝、腎、副腎、脳、心、坐骨神経、脊髄、脾、塗布部位以外の皮膚および肉眼的病変部について、病理組織標本を作製し鏡検した。他の残りの組織は保存した。

病理組織学的検査成績を次表に示した。

病理組織学的検査成績

臓器	所見	雄				雌			
		0	10	25	50	0	10	25	50
	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
腎	水腎症(片側性)	0	0	2	3	0	0	1	1
	移行上皮過形成	0	0	1	1	0	0	0	0
	好塩基性尿細管	0	0	1	0	0	0	0	0
	尿細管微石症	0	0	0	0	3	4	4	5
	慢性進行性糸球体腎症	0	0	0	1	0	0	0	0
	被膜下尿細管萎縮	0	0	1	0	1	3	0	2
	嚢胞	0	1	0	0	0	0	0	0
	皮質尿細管萎縮	0	2	0	0	0	0	0	0
肝	リンパ球浸潤	1	0	1	1	0	3	3	0
頸部リンパ節	リンパ球増加症	1	1	0	0	1	3	3	4
坐骨神経	脱髄	3	2	0	1	3	3	3	4
皮膚(対照部)	表皮肥厚	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚(適用部)	表皮肥厚	4	3	4	5	0	1	2	3
胸腺	検査動物数	1	/	/	/	5	5	5	5
	出血(髄質)	0	/	/	/	0	0	1	0

数値は当該所見が得られた動物数(匹)。

Fisherの直接確率検定 ↑↓: p<0.05、↑↑↓: p<0.01(申請者実施)

全投与群および対照群雄で、塗布部位の皮膚に軽微あるいは軽度の表皮肥厚がみられた。25あるいは50 mg/kg/day投与群では、この変化の発生頻度および重篤度の用量に関連した軽度の増加がみられた。50および25 mg/kg投与群雌雄で、片側性の水腎症がみられた。この病変は、本試験の供試ラットで通常みられる自然発生性の所見であり、偶発的で検体投与に関連する変化であるとは考えられなかった。他にみられた変化は通常みられる病変であり、投与に関連するものとは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

結 論：モリネートのラットにおける21日間経皮投与による影響として、25および50 mg/kg/日投与群で、軽度から中等度の皮膚刺激症状、炎症性細胞浸潤を伴わない表皮肥厚がみられた。したがって、本試験条件における無毒性量は10 mg/kg/dayであると考えられる。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

8. 反復経口投与神経毒性

(資料 毒-27)

モリネート原体のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与神経毒性試験

試験機関：Zeneca CTL (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検 体：原体(純度 %)

試験動物：Alpk:AP_fSD ラット(Wistar 由来)、7 週齢、1 群雌雄各 12 匹

開始時体重 雄：168~203g、雌：138~165g

投与期間：90 日間 (1993 年 5 月 11~13 日に投与開始)

投与方法：検体を飼料中に 0、50、150 および 450 ppm の濃度で混和し、90 日間にわたって随時摂食させた。検体含有飼料は各投与量とも 30 kg 単位で作製した。

試験項目および結果：

死亡率：生死を毎日観察した。

投与に関連した死亡はなかった。

50 ppm 群雄 1 匹は、鼻損傷による呼吸困難と体重減少が認められたことから試験 7 週に人道的理由より屠殺した。

体重変化：投与開始直前および投与期間中は毎週 1 回、全動物の体重を測定した。

次表に体重および体重増加量を示した。

体重および体重増加量 (g)

性別	投与量 (ppm)	雄				雌			
		0	50	150	450	0	50	150	450
体 重	1 週	183.2	182.9	182.0	180.2	152.3	151.3	151.9	153.0
	2 週	232.4	229.3	↓222.4	↓207.5	175.9	↓168.5	↓165.1	↓162.2
	4 週	311.8	306.8	↓301.2	↓272.6	211.8	↓197.9	↓191.1	↓182.3
	7 週	386.8	376.3	372.7	↓334.8	241.6	↓228.9	↓225.1	↓207.3
	14 週	483.8 (100)	471.7 (97)	463.4 (96)	↓414.5 (86)	276.5 (100)	↓261.1 (94)	↓256.8 (93)	↓233.4 (84)
体重増加量		300.6 (100)	288.8 (96)	281.4 (94)	234.3 (78)	124.2 (100)	109.8 (88)	104.9 (84)	80.4 (65)

()内は対照群に対する変動率(%)

↑↓: p<0.05, ↑↑: p<0.01 Student の t 検定

体重増加量は申請者が算出

450 ppm 群の雌雄および 150 と 50 ppm 群の雌では、体重が対照群に比較して低値であった。

雄の 150 ppm 群の体重は、投与開始 1 週後（試験 2 週）にわずかな低値を示したが、これ以降の体重は対照群とほぼ同等であった。

雄の 50 ppm 群の体重は、試験期間を通して対照群と同程度であり、投与の影響は認められなかった。

摂餌量および食餌効率；摂餌量はケージごとに投与期間を通して測定し、週毎の摂餌量を算出し、また、摂餌量と体重変化から食餌効率（体重変化量 g/100g 飼料）を求めた。

次表に摂取量および食餌効率を示した。

摂餌量および食餌効率

性別	投与量 (ppm)	雄				雌			
		0	50	150	450	0	50	150	450
摂餌量 (g)	1 週	25.2	25.3	23.9	↓22.1	20.8	↓18.9	19.3	↓19.0
	2 週	27.7	27.0	26.1	↓24.6	21.2	19.8	↓19.0	↓18.6
	3 週	28.0	27.9	27.2	↓24.4	21.6	↓20.3	↓19.5	↓18.1
	7 週	28.3	27.1	27.0	↓24.6	20.5	20.2	20.3	↓18.5
	13 週	28.2	28.3	27.5	↓25.2	20.2	19.3	19.6	↓17.8
食餌効率 (g growth /100g food)	(1-4 週)	20.72 (100)	19.94 (96)	20.07 (97)	↓17.30 (83)	11.70 (100)	10.47 (89)	↓9.12 (78)	↓7.53 (64)
	(1-13 週)	11.83 (100)	11.41 (96)	11.46 (96)	↓10.44 (88)	6.59 (100)	6.12 (93)	↓5.81 (88)	↓4.84 (73)

↑↓: p<0.05, ↑↑: p<0.01 Student の t 検定

()内は対照群に対する変動率(%)

摂餌量については、450 ppm 群の雌雄で、試験期間を通して対照群に比べて摂餌量の低下がみられた。150 ppm 群の雌雄および 50 ppm 群の雌では、投与開始後数週間にわたり、摂餌量のわずかな低下がみられた。

雄の 50 ppm 群では、摂餌量への影響はなかった。

食餌効率については、450 ppm 群雌雄で、対照群と比較して有意な食餌効率の低下が認められた。150 ppm 群の雌では、1~4 週と 1~13 週の食餌効率が低下した。

50 ppm 群雌雄および 150 ppm 群の雄の食餌効率には、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は次表のとおりであった。

検体摂取量

投与量 (ppm)		50	150	450
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	4.0	11.7	35.5
	雌	4.5	13.9	41.0

一般状態の観察および詳細な状態の観察：投与開始前に全動物について一般状態および行動が正常であることを確認した。雌雄各群 12 匹を対象として、一般状態および行動の変化を毎日観察し、ハンドリングに対する反応、アリーナ内観察を試験開始前、投与 5、9 および 14 週時に実施した。

以下に詳細な状態の観察項目を示した。

自律神経機能（流涙、流涎、立毛、眼球突出、排尿、脱糞、瞳孔反射および眼瞼下垂）、痙攣、振戦あるいは運動機能の異常および異常行動などの発現頻度と程度、刺激に対する反応の程度、覚醒度の変化、感覚運動反応、呼吸の変化、その他に観察される全ての症状

詳細な状態の観察では、投与に関連した影響は認められなかった。

機能検査：投与開始前、投与 5、9 および 14 週時に雌雄各群 12 匹を対象として、以下の検査を実施した。

着地開脚幅測定、感覚機能試験（Tail-Flick 潜時）、筋力試験（前-後肢の握力測定）

次表に統計学的有意差が認められた機能検査項目を示した。

機能検査

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		50	150	450	50	150	450
着地開脚幅	試験 5 週						↑117
Tail-Flick 潜時	試験 5 週	↓75	↓82	↓78	↓75		
	試験 9 週					↓78	
	試験 14 週			↑165			
握力測定	前肢	試験 9 週		↓90			↓82
	後肢	試験 5 週					↓85
		試験 14 週			↓88		

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 Student の t 検定

着地開脚幅測定；投与に関連した影響はなかった。

450 ppm 群の雌では、試験 5 週時に着地開脚幅の増加がみられたが、散発的所見であったことから投与に関連したものとは考えられなかった。

感覚機能試験 (Tail-Flick 潜時)；雌雄とも投与に関連した影響はなかった。

450 ppm 群の雄では、試験 14 週に Tail-Flick (尾刺激回避反応) 潜時が延長したが、この延長は試験 14 週に雄 1 例が高値であったことに起因したものであったため、投与に関連した変化ではないと考えられた。

試験 5 週時に全投与群で Tail-Flick 潜時がわずかに短縮した (有意な短縮がみられたのは雄の投与群と雌の 50 ppm 群) が、これらの変化は小さいものであり、用量との関連性がないことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。

筋力試験 (前-後肢の握力測定)；450 ppm 群の雌雄では、試験期間を通して前肢および後肢の握力が低い傾向が認められた、統計学的有意差がみられたのは、雄では前肢の試験 9 週時、後肢の 14 週時、雌では前肢の 9 週時、後肢の 5 週時であった。しかし、神経系に投与に関連した病理組織学的所見 (後述) を伴うものではなかった。

その他の用量群では、雌雄とも前肢・後肢の握力に投与の影響はなかった。

自発運動量測定；投与開始前、投与 5、9 および 14 週時に雌雄各群 12 匹を対象として、自動測定装置を用いて自発運動量 (5 分単位で 50 分) を測定した。

次表に対照群と比べ有意差のみられた測定時間を示した。

自発運動量測定

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		50	150	450	50	150	450
5週	1-5分			↓77			
9週	1-5分	↑121					
14週	31-35分						↓77
	36-40分						↓76
	1-50分						↓86

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

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

自発運動量に投与の影響は認められなかった。

450 ppm 群の雌では、試験 14 週に総自発運動量 (1-50 分) が有意に低下した。しかし、神経系に投与に関連した病理組織学的所見 (後述) を伴うものではなかった。

コリンエステラーゼ活性測定: 試験終了時に各群雌雄 6 匹 (50ppm 群雄は 5 匹) を対象として、血液を採取して血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性を測定し、さらに、摘出した脳の左半分を用いて脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

次表に対照群と比べ有意差のみられた項目を示した。

コリンエステラーゼ (ChE) 活性—試験 14 週時

性別	雄			雌		
投与量 (mg/kg)	50	150	450	50	150	450
脳 ChE 活性		↓84	↓58	↓93	↓77	↓53
赤血球 ChE 活性			↓73		↓78	↓68

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

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

脳コリンエステラーゼ活性は、450 ppm 群の雌雄で対照群に比べ 42~47%まで低下し、また 150 ppm 群の雌では 23%低下した。

雄の 150 ppm 群と 50 ppm 群の雌では、有意な脳コリンエステラーゼ活性阻害がみられたが、阻害の程度は 16%以下であり、生物学的に重大とは考えられなかった。

雄の 50 ppm 群では脳コリンエステラーゼ活性に投与の影響はなかった。

赤血球コリンエステラーゼ活性は、450 ppm 群の雌雄および 150 ppm 群の雌では対照群と比べ 22~32%まで低下した。

150 ppm 群の雄および 50 ppm 群の雌でも活性の低下が認められたが、阻害の程度は 11%以下であり、生物学的に重大とは考えられなかった。雄の 50 ppm 群で

は赤血球コリンエステラーゼ活性に影響はなかった。

血漿中コリンエステラーゼ活性については、いずれの投与群とも投与に関連した影響はなかった。

ニューロパシー標的エステラーゼ活性 (NTE) 測定 ; 試験終了時に各群雌雄 3 匹 (50 ppm 群雄は 2 匹) を対象として、摘出した脳の右半分を用いて Johnson の方法およびその変法 (1977 年、1982 年) に従ってニューロパシー標的エステラーゼの濃度を測定した。

次表に結果を示した。

ニューロパシー標的エステラーゼ活性—試験 14 週時

性 別	雄			雌			
	投与量 (mg/kg)	50	150	450	50	150	450
NTE 活性		↓80	↓63	↓41	↓67	↓53	↓35

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

↓ : p<0.05、↓↓ : p<0.01 Student の t 検定

投与群雌雄で、用量に関連した NTE 活性の低下がみられた。

グリア線維酸性蛋白 (GFAP) 測定 ; 試験終了時に各群雌雄 3 匹を対象として、摘出した脳の右半分を用いて O' Callaghan の方法 (1991 年) に従ってグリア線維酸性蛋白量を測定した。また、脳中の総タンパク量も Pierce BCA キットを用いて測定した。

GFAP 量に投与の影響は認められなかった。

脳の重量、長さ、幅の測定 ; 試験終了時に雌雄各群、灌流固定した 6 匹と灌流固定しなかった 6 匹それぞれについて脳重量を測定し、長さと幅を計測した。

次表に対照群と比べ有意差のみられた項目を示した。

脳の重量および幅

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		50	150	450	50	150	450
重量	絶対値			↓95			↓96
	体重補正重量			↓96			
幅	絶対値	↓94	↓96			↓93	
	体重補正幅	↓95				↓93	

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

↑↓ : p<0.05、↑↑↓ : p<0.01 Student の t 検定

脳重量については、雄の 450 ppm 群で脳の絶対重量および体重補正脳重量が低値であった。雌の 450 ppm 群では脳の絶対重量が低値を示したが、体重補正脳重量は、対照群の値とほぼ同じであった。

50 および 150 ppm 群雌雄では、脳重量に投与の影響は認められなかった。

脳の長さおよび幅に対する投与の影響は認められなかった。

50 ppm あるいは 150 ppm 群の雄または雌では、脳の幅に対照群と比べて統計学的有意差がみられたが、450 ppm 群で影響が認められていないため投与に関連した変化ではないと判断した。

肉眼的病理検査：投与途中で屠殺した 50 ppm 群の雄 1 例および投与終了時に屠殺した動物について肉眼的病理検査を実施した。

投与に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。試験 7 週時に屠殺した 50 ppm 群の雄 1 例では、肉眼的所見として鼻梁の破損が認められた。

神経病理学的検査：灌流固定した各群雌雄 6 匹について、以下の如く組織標本作製し検査した。脳（大脳皮質、海馬、小脳、橋および延髄を含む）、脊髄の背根神経節（頸部第 3-6 および腰部第 1-4）、脊髄神経根（頸部および腰部）、脊髄（頸部第 3-6 および腰部第 1-4）、腓腹筋についてはパラフィン包埋後 H/E 染色を、ガッセル神経節、坐骨神経、脊髄根（頸部第 3-6 および腰部第 1-4）、腓腹神経および脛骨神経については樹脂包埋後、トルイジンブルー染色を施した。組織標本はすべて横断面で作製したが、坐骨神経については横断面と縦断面の切片を作製した。脳（大脳皮質、海馬、小脳、橋および延髄を含む）の鏡検については、最初に 450 ppm 投与群の雌雄各 1 例について脳横断面の 12 標本を検査した。これらに変化が認められなかったことから、450 ppm 投与群の残りの雌雄各 5 例と対照群雌雄各 6 例は、脳については横断面 6 標本を検査した。

対照群と最高用量の 450 ppm 群は全ての神経系組織を、低・中用量の 50・150 ppm 群は脳および坐骨神経を鏡検した。

次表に認められた神経病理組織所見を示した。

神経病理組織学的所見

性 別	雄				雌			
	0	50	150	450	0	50	150	450
投与量 (ppm)	0	50	150	450	0	50	150	450
検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
坐骨神経：神経線維の変性(軽微)	1	0	0	4	1	0	0	0
腓腹神経：神経線維の変性(軽微)	1	/	/	4	1	/	/	0

Fisherの直接確率検定 ↑↓：p<0.05；↑↑↓：p<0.01(申請者実施)

雄の 450 ppm 群における坐骨神経の神経線維変性（軽微）の発現は、雄の対照群よりも高頻度にみられたが、坐骨神経の神経線維変性は試験実施機関の同系統、同日齢の雄ラットによく認められる所見であることから、投与の影響ではないと考えられた。

以上の結果、モリネートの 90 日間反復経口投与の影響として、450 ppm 群雌雄では体重増加抑制および摂餌量低下がみられ、これに伴い 1~4 週の食餌効率は低値であった。150 ppm 群雌でも同様の変化がみられた。

450 ppm 群の雌では、試験 14 週時に自発運動量のわずかな低下がみられ、450 ppm 群雌雄では試験期間を通して握力低下が認められた。しかしながら、神経学的機能低下を示すような一貫した所見はみられなかった。

中枢および末梢神経系の病理組織学的検査では、雌雄とも高投与の 450 ppm 群においても投与の影響は認められなかった。また、グリア線維酸性蛋白濃度への影響もなかった。

450 ppm 群雄では、脳重量が低値を示したが、脳の長さや幅への影響はなく、病理組織所見もみられなかったため重要性は明らかでなかった。

コリンエステラーゼ活性については、450 ppm 群雌雄および 150 ppm 群雌で脳コリンエステラーゼ活性が低下し、これらの群では赤血球中コリンエステラーゼ活性も有意な低下がみられた。血漿中コリンエステラーゼ活性への影響はなかった。

450 ppm を投与した雌雄および 150 ppm 投与の雌で脳コリンエステラーゼ活性が低下したが、これらのラットでは投与と関連したコリン作動性の臨床症状や神経病理学的変化が認められなかったことから、脳コリンエステラーゼ活性の低下はモリネートの薬理作用を反映したものと考えられる。また、赤血球中コリンエステラーゼ活性が低下（450 ppm 群雌雄および 150 ppm 群雌）したが、これはモリネートの吸収を示す明らかな所見であった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

ニューロパシー標的エステラーゼ活性は、雌雄とも用量と関連して低下し、モリネートが本酵素を阻害する可能性が示唆された。しかし、神経毒性に関する機能観察総合検査、グリア線維酸性蛋白量ならびに神経系の病理組織学的検査での変化を伴っていないことからその重要性は明らかでなかった。

これらのことから、モリネートを 90 日間反復経口投与した場合の神経毒性に対する無毒性量は 雌雄とも 450 ppm (雄 : 35.5 mg/kg/day、雌 : 41.0 mg/kg/day) であると判断された。本検体には反復経口投与神経毒性はないと考えられた。

9. 1年間反復経口投与毒性および発がん性

(資料 毒-28)

(1) モリネート原体のイヌにおける1年間経口投与毒性試験

試験機関：Ciba-Geigy Environmental Health Center (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1990年

検体：原体（純度 % ）

試験動物：ビーグル犬(投与開始時20～24週齢、体重：雄6.8～9.9 kg、雌5.4～7.9 kg)
1群雌雄各4匹

投与期間：52週間(1988年8月～1989年8月)

投与方法：検体をゼラチンカプセルに充填し、0、1、10、50および100 mg/kg/dayの用量で52週間にわたり毎日1回強制経口投与した。ただし、最高用量投与群で重篤な毒性作用がみられたため、投与開始106日目に投与を中止し、その後の期間は空のカプセルを与え、回復群とした。

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；投与開始前および投与期間を通じて、一般状態、挙動、毒性症状および生死を毎日2回以上観察した。

統計学的有意差のみられた一般状態の変化を次表に示す。

主な一般状態の変化

性別	雄					雌				
	0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
用量 (mg/kg/day)	0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
運動失調	0	0	0	↑4	↑4	0	0	0	↑4	↑4
呼吸困難	0	0	0	1	↑4	0	0	0	0	2
運動性の低下	0	0	0	↑4	↑4	0	0	0	↑4	↑4
後肢開帳	0	0	0	↑4	↑4	0	0	0	↑4	↑4

a：回復群

↑↓：p<0.05 Fisherの直接確率検定(申請者計算)

全投与群雌雄とも、死亡例は認められなかった。

100および50 mg/kg/day投与群で、運動失調、呼吸困難、運動性の低下、後肢開脚を含む神経系への障害がみられた。

100 mg/kg/day投与群の6例で、投与2~3ヶ月目に吠えないあるいは弱く吠えるなどの症状がみられたが、投与7~8ヶ月目には回復した。

50 mg/kg/day投与群の5例でも投与7~8ヶ月目に同様の変化がみられた。この他の変化はこの年齢のイヌに典型的な変化であり、検体投与に関連したものではなかった。

体重：投与前および投与開始後は試験期間を通して毎週1回全動物の個体体重を測定した。

統計学的有意差がみられた用量群を次表に示す。

体重 (kg)

性別	雄				雌			
	1	10	50	100a	1	10	50	100a
測定週	5		↓85	↓88				
	6			↓79				
	7			↓79				
	8			↓75				
	9			↓77				
	10			↓83	↓72			
	11			↓81	↓73			
	12			↓82	↓71			
	13			↓77	↓67			↓80
	14			↓77	↓66			↓78
	15			↓78	↓66			↓77
	16			↓77	↓66			
	17			↓77	↓68			↓78
	18			↓77	↓69			
	19			↓76	↓69			
	20			↓78	↓68			
	21			↓78	↓69			

数値は対照群に対する変動率(%)

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

a : 回復群

体重(つづき)

性別	雄				雌			
	1	10	50	100a	1	10	50	100a
測定週	22		↓79	↓69				
	23		↓77	↓70				
	24		↓78	↓70				
	25		↓77	↓69				
	26		↓78	↓70				
	27		↓76	↓73				
	28		↓76					
	29		↓75	↓73				
	30		↓76	↓74				
	31		↓77	↓74				
	32		↓75	↓77				
	33		↓76	↓77				
	34		↓76	↓76				
	35		↓76	↓78				
	36		↓76	↓79			↓76	
	37		↓76	↓78			↓76	
	38		↓73	↓77			↓76	
	39		↓74	↓77			↓75	
	40		↓74	↓76	↓78			
	41		↓75	↓78			↓76	
	42		↓74	↓76			↓75	
	43		↓74				↓76	
	44		↓75				↓75	
	45		↓76				↓76	
	46		↓78	↓79			↓79	
	47		↓77					
	48		↓74	↓78			↓75	
	49		↓75					
	50		↓74					
	51		↓76					
	52		↓74	↓77				
	53		↓73	↓75				

数値は対照群に対する変動率(%)

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

a : 回復群

100および50 mg/kg/day投与群雌雄で、体重の統計学的に有意な減少がみられた。10および1 mg/kg/day投与群雌雄で、試験期間を通し、対照群と比較して体重の減少がみられたが、検体投与の影響ではないと考えられた。

体重増加量 (g)

投与週	性別・用量 (mg/kg/day)									
	雄					雌				
	0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
0~4	1.7	1.5	1.6	1.1	↓0.8	1.4	1.1	1.2	1.4	1.1
0~7	2.3	1.9	2.0	↓1.3	↓0.6	1.9	1.0	1.4	1.3	1.2
0~13	3.9	↓2.8	3.0	↓1.6	↓0.4	3.0	2.0	2.0	1.8	↓1.4
0~26	5.1	3.8	3.7	↓2.5	↓1.6	4.0	2.5	2.5	2.4	2.8
0~53	6.4	4.0	4.2	↓2.9	↓3.3	5.2	3.2	2.8	2.8	3.8

↑↓ : p<0.01, ↓ : p<0.05 Dunnett' s test

a : 回復群

100および50 mg/kg/day投与群雌雄で、体重増加量の統計学的に有意な減少がみられた。100 mg/kg/day投与群雌雄で、投与中止後に明白な体重増加量の回復がみられた。

飼料摂取量 ; 試験期間を通して350 g/dayの制限給餌を行った。

週ごとの飼料摂取量は、対照群および投与群においても試験期間を通して概して同様であったが、100 mg/kg/day投与群で、投与4~11週目まで対照群を下回る傾向がみられた。

精子検査 ; 投与6および12ヶ月目に全動物雄から精液を採取し、精液量、運動能力のある精子の割合、精子濃度、異常精子率および精子生存率を検査した。

投与6ヶ月目では検体投与による統計学的に有意な影響はみられなかった。投与12ヶ月目では、50 mg/kg/day投与群で精液の量および運動能力のある精子の割合に統計学的に有意な減少がみられた。

他には検体投与に関連する統計学的に有意な変化はみられなかった。

神経学的検査 ; 検疫期間および3、6、9および12ヶ月目にDeLahuntaの末梢および中枢神経系機能検査法(1983年)に準拠した手順で神経学的検査を行った。

神経学的検査の結果を次表に示した。

神経学的検査成績－異常所見がみられた動物数

検査項目	検査 時期 (月)	性別・用量(mg/kg/day)									
		雄					雌				
		0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
精神的態度/行動	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
歩行および 体位	P	4	4	3	4	3	4	4	4	4	3
	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
	6	2	4	4	4	4	3	4	4	4	4
	9	1	3	4	4	4	1	2	4	4	4
	12	1	2	4	4	4	1	2	2	4	4
姿勢反応	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	↑4	↑4	0	0	0	2	↑4
	6	0	0	0	↑4	↑4	0	0	0	↑4	↑4
	9	0	0	0	3	↑4	0	0	0	↑4	↑4
	12	0	0	0	3	↑4	0	0	0	2	↑4
姿勢 反応	前肢跳躍	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	3	0	0	0	1
		6	0	0	0	1	3	0	0	0	1
		9	0	0	0	0	2	0	0	0	1
		12	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	後肢跳躍	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	↑4	↑4	0	0	0	1
		6	0	0	0	3	↑4	0	0	0	2
		9	0	0	0	3	↑4	0	0	0	4
		12	0	0	0	3	↑4	0	0	0	4
	半身直立 および 半身歩行	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	↑4	0	0	0	3
		6	0	0	0	1	3	0	0	0	2
		9	0	0	0	1	↑4	0	0	0	1
		12	0	0	0	2	↑4	0	0	0	1

a : 回復群

P = 投与開始前の所見

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 (申請者実施)

神経学的検査成績－異常所見がみられた動物数（つづき）

検査項目		検査 時期 (月)	性別・用量 (mg/kg/day)										
			雄					雌					
			0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a	
検査動物数			4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
姿勢 反応	伸筋衝動	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	1	↑4	0	0	0	1	↑4	
		6	0	0	0	2	↑4	0	0	0	2	↑4	
		9	0	0	0	3	↑4	0	0	0	3	↑4	
		12	0	0	0	3	↑4	0	0	0	3	↑4	
	前肢固有 位置調整	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
		6	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
		9	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		12	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	後肢固有 位置調整	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	↑4	↑4	0	0	0	2	↑4	
		6	0	0	0	↑4	3	0	0	0	↑4	↑4	
		9	0	0	0	3	↑4	0	0	0	↑4	↑4	
		12	0	0	0	3	3	0	0	0	2	↑4	
	前肢の 手押車 歩行	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	
		6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		12	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
頭蓋神経	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0		
	6	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0		
	9	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0		
	12	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1		

a : 回復群

P = 投与開始前の所見

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : p<0.05、↑↑↓ : p<0.01 (申請者実施)

神経学的検査成績－異常所見がみられた動物数(つづき)

検査項目	検査時期 (月)	性別・用量(mg/kg/day)										
		雄					雌					
		0	1	10	50	100*	0	1	10	50	100*	
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
興奮	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
脊髓反射	P	2	1	2	3	1	2	1	0	1	1	
	3	1	1	1	2	0	0	0	1	1	1	
	6	2	1	1	4	3	1	0	0	2	1	
	9	0	0	0	2	2	1	0	1	3	2	
	12	2	1	1	4	4	1	1	1	3	4	
脊髓反射	膝蓋骨反射	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		6	0	0	0	↑4	3	0	0	0	1	1
		9	0	0	0	2	2	0	0	0	2	2
		12	0	0	0	4	3	0	0	0	2	2
	くるぶし反射	P	1c	1c	1c	3a	0c	2a	1c	0c	1c	1c
		3	1c	0d	0d	2b	0c	0d	0d	1c	1c	1c
		6	1c	0d	0d	1c	0d	0d	0d	0d	1c	0d
		9	0d	0d	0d	0d	0c	0c	0d	1c	1b	1a
		12	0d	1c	0d	0d	0c	1b	0d	0d	3a	2b
	上腕二頭筋反射	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		6	0	0	0	0	0a	0	0	0	0	0
		9	0	0a	0	0a	0b	0	0a	0	0	0
		12	0	0	0	0	0b	0	1	0	0	0
	上腕三頭筋反射	P	1c	0d	1c	0d	1b	0b	0c	0d	0c	0c
		3	0c	1c	1c	0b	0a	1b	0d	0d	0c	0b
		6	1b	1c	1c	0a	1b	1b	0d	0c	1b	0b
		9	0b	0c	0c	0b	0b	1a	0d	1c	0	0a
		12	2a	1c	1c	1a	2	1a	0d	1c	0a	2

* : 回復群

P = 投与開始前の所見

a = 1動物が非協調的であったため、評価不能であった。

b = 2動物が非協調的であったため、評価不能であった。

c = 3動物が非協調的であったため、評価不能であった。

d = 4動物が非協調的であったため、評価不能であった。

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : p<0.05 ; ↑↑ : p<0.01 (申請者実施)

神経学的検査成績－異常所見がみられた動物数(つづき)

検査項目	検査 時期 (月)	性別・用量(mg/kg/day)									
		雄					雌				
		0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
脊髓 反射	前肢の 屈筋反射	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		6	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	後肢の 屈筋反射	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		6	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
筋緊張	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3	0	0	0	3	3	0	0	0	2	
	6	0	0	0	↑4	3	0	0	0	↑4	
	9	0	0	0	2	3	0	0	0	0	
	12	0	0	0	3	3	0	0	0	2	

a : 回復群

P = 投与開始前の所見

Fisherの直接確率検定 ↑↓ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 (申請者実施)

投与に関連した神経学的変化は全ての検査時点でみられたが、50 mg/kg/day投与群および100 mg/kg/day投与回復群の動物に限定していた。

この検査における所見としては、前肢跳躍の軽度の減少、後肢跳躍の軽度～中等度の減少、半身直立および半身歩行の軽度の減少および後肢の自己受容性位置の軽度の減少、中等度の減少あるいは消失および後肢立ちの軽度の減少が認められた。一般に、これらの重篤度の変化は50 mg/kg/day投与群の動物では経時的に増加したが、100 mg/kg/day投与回復群の動物では変わらなかった。これらの変化は、100 mg/kg/day投与回復群では50 mg/kg/day投与群より重篤であった。

雄の変化は雌より重篤であった。脊髓反射への唯一の影響は、50 mg/kg/day投与群および100 mg/kg/day投与回復群における反射亢進性膝蓋骨反射を示す動物の発生頻度の増加であった。この影響が最初に認められたのは雄では3ヶ月目、雌では6ヶ月目であった。雌雄間で全発生頻度を比較すると、雌より雄が高かったが、6、9および12ヶ月目には同程度であった。ぎごちない跳躍、運動失調(後肢開張を伴う例と伴わない例)、ぎごちない歩行、硬直/誇張歩行、誤歩行、測定障害性歩行および後肢の滑走等の歩行異常の発生頻度の増加がみら

れた。50 mg/kg/day投与群および100 mg/kg投与回復群の全動物に3ヶ月目以降このような種類の歩行異常がみられた。対照群、1および10 mg/kg/day投与群の多数の動物に跳躍またはうさぎ跳びがみられたが、これらの動物には上記の50 mg/kg/day投与群および100 mg/kg/day投与回復群の動物にみられた歩行異常はみられなかった。発生および吠える能力の異常は、臨床所見と関連があり、またこれらの変化は50 mg/kg/day投与群および100 mg/kg/day投与回復群の動物に限定的に発生していることが確認された。筋肉塊退縮/萎縮が3、6、9および12ヶ月目の検査で50 mg/kg/day投与群雄にそれぞれ0、3、0および0例みられた。同様に雌では0、1、0および0例みられた。100 mg/kg/day投与～回復群雄の発生頻度は3、6、9および12カ月目の検査でそれぞれ3、3、1および1例であった。

眼科学的検査：投与開始前および試験終了時に眼科学的検査を実施した。

いずれの投与群においても異常はみられなかった。

血液学的検査：投与前(2回)、投与3、6および12ヶ月目に全生存動物を対象として、頸静脈より血液を採取し、ヘマトクリット(Ht)値、ヘモグロビン(Hb)量、赤血球数、総白血球数、白血球百分率、血小板数、網赤血球数^a、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、赤血球浸透圧脆弱性(12ヶ月目のみ測定)、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間について検査した。

a：投与開始前、投与3および6ヶ月目の検査ではヘマトクリット値が<32.0%であった動物についてのみ検査し、12ヶ月目では全動物について検査した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次表に示した。

血液学的検査成績

検査項目	検査月	性別・投与量 (mg/kg/day)							
		雄				雌			
		1	10	50	100a	1	10	50	100a
Ht値	3		↓87	↓85	↓74				↓80
	6		↓88	↓84					
Hb値	3			↓87	↓77	↓80			↓80
赤血球数	3			↓84	↓74	↓78			↓78
有核赤血球数	3					↑NA			↑NA
血小板数	3			↑151					
	6			↑160				↑142	
	12			↑162				↑162	
網赤血球数	12							↑213	
MCH	3				↑104				
MCHC	3				↑104				
分節核好中球数	3				↑189				
赤血球浸透圧脆弱性	12			↓89				↓87	

a : 回復群

↑↓ : P<0.05、↑↓ : P<0.01 Dunnett's test

表中の数値は対照群に対する変動率(%)。

NA : 算出不能(対照群値が0のため)。

雄では100、50および10 mg/kg/day投与群で、投与3ヶ月目に赤血球数、Hb量およびHt値の減少がみられた。また、50および10 mg/kg/day投与群で投与6ヶ月目に、対照群と比較して統計学的に有意なHt値の減少がみられた。投与105日目に投与を中止した100 mg/kg/day投与群では、6および12ヶ月目に有意な影響はみられず、検体投与中止後に回復がみられたことが示唆された。50 mg/kg/day投与群で、投与3、6および12ヶ月目に対照群と比較して統計学的に有意な血小板数の増加がみられた。また、同群で投与12ヶ月目に対照群と比較して統計学的に有意な赤血球浸透圧脆弱性の増加がみられた。

雌では100 mg/kg/day投与群で、投与3ヶ月目に対照群と比較して統計学的に有意な赤血球数、Hb量およびHt値の減少がみられたが、その後の検査時期には明白な回復がみられた。50 mg/kg/day投与群で、投与3、6および12ヶ月目に赤血球数、Hb量およびHt値の減少傾向がみられたが、統計学的に有意な差はみられなかった。また、50 mg/kg/day投与群で、投与6および12ヶ月目に対照群を統計学的に有意に上回る血小板数の増加がみられ、投与12ヶ月目に対照群を統計学的に有意に上回る網赤血球数の増加および対照群と比較して統計学的に有意な赤血球浸透圧脆弱性の増加がみられた。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

血液生化学的検査:投与前(2回)、投与3、6および12ヶ月目に全生存動物を対象として、頸静脈より血液を採取し、カルシウム(Ca)、無機リン酸塩(P)、グルコース、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、直接ビリルビン(総ビリルビン値が >0.4 mg/dLの時のみ測定)、血清コレステロール(CHL)、トリグリセリド、アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ、アラントランスアミナーゼ(SGPT)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ、クレアチンホスフォキナーゼ、ソルビトールデヒドロゲナーゼ、血清コリンエステラーゼ(ChE)、グロブリン、赤血球コリンエステラーゼ、脳コリンエステラーゼ(12ヶ月目のみ測定)、アルブミン/グロブリン(A/G)比、ナトリウム(Na)、カリウムおよび塩素について検査した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた検査項目を次表に示した。

血液生化学的検査成績

検査項目	検査月	性別・投与量 (mg/kg/day)							
		雄				雌			
		1	10	50	100a	1	10	50	100a
Ca	3				↓94				
	6			↓94		↓93	↓95	↓94	
P	3				↑120				
	6				↑118				
	12								↑129
BUN	3				↓63				↓56
	12							↓67	
クレアチニン	3				↓70			↓78	↓78
	12						↓80	↓80	↓80
アルブミン	3			↓89	↓86				
血清CHL	3			↑168	↑161			↑154	
	6			↑163					
	12			↑155					
SGPT	3							↓59	
血清ChE	3							↓73	↓80
	6							↓73	
	12							↓74	
グロブリン	3								↑130
ALP	6			↑197					
	12			↑219					
A/G比	3							↓79	↓71
	6			↓77					
Na	3							↓99	↓99
	6			↓98					
カリウム	6						↓91	↓89	
	12						↓88	↓88	

a : 回復群

↑↓ : P<0.05、↑↓ : P<0.01 Dunnett's test

表中の数値は対照群に対する変動率(%)。

100 mg/kg/day投与群雌で投与3ヶ月目に、また50 mg/kg/day投与群雌で投与3、6および12ヶ月目に、対照群と比較して統計学的に有意な血清ChEの減少がみられた。50 mg/kg/day投与群雄で、3、6および12ヶ月目に血清ChEの減少がみられたが、対照群と比較して統計学的に有意な差ではなかった。

100および50 mg/kg/day投与群雄で、3ヶ月目に対照群と比較して統計学的に有

意な血清CHLの増加がみられた。

50 mg/kg/day投与群雌雄で、3ヶ月目に対照群と比較して統計学的に有意な血清CHLの増加がみられ、50 mg/kg/day投与群雄でも6および12ヶ月目に同様な増加がみられた。

50 mg/kg/day投与群雄で、6および12ヶ月目に対照群と比較して統計学的に有意なALPの増加がみられた。

他に散見された変化は毒性学的に有意でなく、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

臓器重量：投与期間終了時の全動物を対象として、肝、腎、脳、下垂体、心、卵巢、精巢(精巢上体を除く)、副腎および甲状腺(上皮小体を含む)を摘出し、臓器重量を測定し、臓器重量対体重比および臓器重量対脳重量比を算出した。両側性の臓器は左右合わせて測定し、左右の臓器の大きさに肉眼的な差がみられる場合は別々に測定した。

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた臓器を次表に示した。

臓器重量検査成績

臓器	検査項目	性別・用量 (mg/kg/day)							
		雄				雌			
		1	10	50	100a	1	10	50	100a
副腎	対体重比							↑175	
	対脳重量比			↑163				↑152	
脳	絶対重量			↓80			↓92	↓86	
心	絶対重量			↓77					
	対体重比						↑130		
腎	対体重比					↑131	↑144	↑155	
肝	対体重比			↑150			↑127	↑154	↑122
	対脳重量比			↑138					
甲状腺	絶対重量	↓74		↓74	↓68				

a：回復群

↑↓：P<0.05、↑↓↓：P<0.01 Dunnett's test

表中の数値は対照群に対する変動率(%)。

50 mg/kg/day投与群雌雄および10 mg/kg/day投与群雌で、対照群と比較して統計学的に有意な肝重量対体重比の増加がみられた。100 mg/kg/day投与群雌でも同様な増加がみられたが、その差は50 mg/kg/day投与群雌でみられた差よりも小さかった。

50 mg/kg/day投与群雌雄で、副腎対体重比および副腎対脳重量比の対照群と比

較して統計学的に有意な差がみられた。

50、10および1 mg/kg/day投与群雌で、対照群と比較して統計学的に有意な腎重量対体重比の増加がみられた。

投与群雄あるいは雌で、対照群と比較して統計学的に有意な脳、心、および甲状腺の重量の変化がみられたが、これらは対照群との体重差に起因するものと考えられた。これらの臓器重量を対体重比で表すと統計学的に有意な差はみられなかった。

尿検査：投与前(2回)、投与3、6および12ヶ月目に全動物を対象として、尿サンプルを採取し、尿量、色調、透明度、比重、pHおよび沈渣について検査し、尿蛋白、糖、ケトン体、ビリルビンおよびウロビリノーゲンについて半定量的に検査した。また、投与前および投与12ヶ月目に糞サンプルを採取し、潜血および寄生虫の有無について検査した。

対照群と比較して、統計学的に有意な差がみられた検査項目を次表に示した。

尿検査成績

検査項目	検査時期(月)	性別・用量(mg/kg/day)							
		雄				雌			
		1	10	50	100a	1	10	50	100a
尿比重	3			↓98	↓98				
	12						↓94	↓96	↓97

a：回復群

↑↓：P<0.05、↑↑↓：P<0.01 Dunnett's test

表中の数値は対照群に対する変動率(%)。

いずれの投与群においても、検体投与に関連する変化はみられなかった。

肉眼的病理検査：投与終了時に全動物を対象として、外表異常、内臓および体腔異常の有無を含む肉眼的病理検査を実施した。

いずれの投与群においても検体投与に関連する異常所見はみられなかった。

病理組織学的検査：投与終了時に全動物を対象として、皮膚(鼠径部)、乳腺(雌のみ)、骨(大腿骨)、筋(半膜様筋、深指屈筋、咽頭筋)、喉頭、鼻腔、気管、肺(右肺中葉および左尾状葉)、心、胸大動脈、胸腺、胸骨、脾、リンパ節(咽頭後リンパ節)、下顎唾液腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膵、肝(左右両側葉)、胆嚢、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、膣、子宮(子宮角、子宮体および子宮頸部)、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、脳、

脊髄、坐骨神経、脛骨神経(筋肉分枝)、腓腹神経、迷走神経、反回咽頭神経、舌咽神経、眼球および肉眼的病変部を摘出して鏡検した。

検査成績を次々頁以降の表に示した。

100 mg/kg/day投与群の3/8匹および50 mg/kg/day投与群の5/8匹に脳の左右の髄質に多病巣性で小型の好酸性小体がみられた。髄質の外側部および前側部に影響がみられた。多病巣性で小型の空胞がみられ、これらは通常小型の好酸性小体と共に認められた。

50 mg/kg/day投与群で、多病巣性で小型の好酸性小体(2/8匹)および空胞(1/8匹)が脳橋の左右の限局域にみられた。脳橋では前側部に影響がみられた。グリア細胞の反応は好酸性小体には関連がなく、好酸性小体は軸索神経のフィラメントの蓄積を示していると考えられた。

50 mg/kg/day投与群の1/8匹に脳の大脳軟化症が脳室周囲の領域にみられた。100 mg/kg/day投与群および50 mg/kg/day投与群で、軽度の脱髄が脊髄の種々の部位にみられたが、この変化は対照群の数匹でもみられたため、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

100 mg/kg/day (1/8匹)、50 mg/kg/day (8/8匹)および10 mg/kg/day (4/8匹)および1 mg/kg/day(1/8匹)投与群で、脾に軽度のヘモジリン沈着がみられ、100 mg/kg/day(3/8匹)、50 mg/kg/day (5/8匹)、10 mg/kg/day (1/8匹)および1 mg/kg/day(2/8匹)投与群で、肝に些少～軽度のヘモジリン沈着がみられるクッパー細胞の出現がみられた。これらの変化は対照群の動物にはみられなかったが、赤血球の検査項目にこれらの病変に関連する変化がみられなかったため、1 mg/kg/day投与群でみられた脾および肝のヘモジリン色素の沈着は毒性学的に有意であるとは考えられなかった。

50 mg/kg/day投与群の4/8匹で脾臓に軽度の髄外造血がみられ、雄(3/4匹)では雌(1/4匹)より大きな影響がみられた。

対照群を含む全群で、腎の皮質尿細管にリポフスチン沈着がみられ、100 mg/kg/day(1/8匹)および50 mg/kg/day(1/8匹)投与群でみられた変化は他の群よりもわずかであるがより重篤であった。しかし、これら2匹でみられた変化は毒性学的に有意であるとは考えられなかった。

神経系における病理組織学的変化は脳、脊髄およびいくつかの末梢神経に発生した些細～軽度の変性様変化を特徴としていた。投与に関連した神経病理学的変化は、50 mg/kg/day投与群の動物において100 mg/kg/day投与回復群より高頻度で発生していたことから、後者においては休薬後は進行しなかったことが示唆された。

他に散見された変化は、いずれも偶発性のものであり、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

結 論：モリネートのイヌにおける1年間の経口投与による影響として、100

mg/kg/day投与群で、14週間の投与期間中に神経系への障害を含む重篤な毒性作用がみられた。このため投与を中断し、残りの期間は空のカプセルを投与したところ、投与中止後に回復がみられた。

50 mg/kg/day投与群で、体重減少、体重増加の抑制、神経系への障害を示す臨床症状および神経系における病理組織学的変化の発生頻度および重篤度の増加がみられた。また、軽度の代償性造血が起こったことを裏付ける病理組織学的な徴候もみられた。

10 mg/kg/day投与群では軽度の溶血性貧血がみられた。

従って、本試験における無毒性量は1 mg/kg/dayであると考えられる。

非腫瘍性病変

臓器	所見	性別・投与量 (mg/kg/day)									
		雄					雌				
		0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
副腎	皮質空胞化	1	3	1	1	0	3	3	2	1	4
	皮質セロイド蓄積	0	1	0	0	0	1	1	0	2	1
	皮質単核細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
胸大動脈	内膜鈣質化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
脳	髄質限局性好酸性小体	0	0	0	2	1	0	0	0	3	2
	髄質限局性空胞化	0	0	1	2	1	1	0	0	2	1
	橋限局性好酸性小体	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
	橋限局性空胞化	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	大脳軟化症	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	髄膜慢性動脈炎	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	脈管周囲部慢性炎症性細胞浸潤	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1
十二指腸	陰窩拡張	3	0	3	2	2	3	2	1	0	0
精巣上体	上皮嚢胞変性	1	1	2	3	1	/	/	/	/	/
	慢性精巣上体炎	2	2	0	1	0	/	/	/	/	/
	上皮石灰化	0	1	0	0	0	/	/	/	/	/
眼	網膜ひだ	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	網膜鋸状縁部の嚢胞状変性	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	虹彩嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胆嚢	慢性炎症性細胞浸潤	3	1	2	2	1	0	1	2	2	2
心	心房中皮増殖	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1
	心外膜慢性炎症性細胞浸潤	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	心筋慢性炎症性細胞浸潤	0	3	1	1	0	0	0	0	0	1
	血液嚢腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	冠動脈炎	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

a : 回復群

数値は当該所見がみられた動物数

Fisherの直接確率検定 \uparrow : $p < 0.05$ 、 $\uparrow\uparrow$: $p < 0.01$ (申請者実施)

非腫瘍性病変（つづき）

臓器	所見	性別・投与量(mg/kg/day)									
		雄					雌				
		0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
腎	皮質尿細管リポフスチン沈着	4	3	2	3	3	0	2	2	3	2
	微小結石	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	皮質慢性炎症性細胞浸潤	1	0	0	1	0	0	1	1	↑4	1
	硝子様円柱	1	1	0	1	1	1	0	1	2	1
	腎盂周囲部慢性炎症性細胞浸潤	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1
	水腎症	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮質好塩基性尿細管	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
	皮質尿細管拡張	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮髄部ヘモジデリンを含む大食細胞出現	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
喉頭	筋線維変性	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
肝	ヘモジデリンを含むクッパー細胞出現	0	1	1	3	1	0	1	0	2	2
	単核細胞浸潤	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	伊東細胞空胞化	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	急性炎症性細胞浸潤	1	0	1	2	0	1	0	0	0	0
	肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	被膜線維化	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
肺	血管/気管支周囲部の慢性炎症性細胞浸潤	2	1	1	3	3	3	1	0	1	2
	胸膜線維化	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	肺胞マクロファージ	0	2	1	3	2	3	1	0	2	0
	肉芽腫	0	0	1	1	2	0	0	0	0	1
	慢性肺炎	0	2	0	1	0	0	2	2	2	0
	ヘモジデリンを含む大食細胞出現	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1
咽頭後リンパ節	出血	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
乳腺	慢性炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
	ヘモジデリンを含む大食細胞出現	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

a：回復群

数値は当該所見がみられた動物数

Fisherの直接確率検定 ↑↓：p<0.05、↑↑↓：p<0.01（申請者実施）

非腫瘍性病変（つづき）

臓器	所見	性別・投与量(mg/kg/day)									
		雄					雌				
		0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
輪状咽頭筋	単核細胞浸潤	1	0	1	1	0	1	1	0	3	1
	筋線維変性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
深指屈筋	単核細胞浸潤	1	0	0	0	0	1	0	0	3	0
半膜様筋	単核細胞浸潤	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
茎突咽頭筋	単核細胞浸潤	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
鼻腔	リンパ球増殖	1	2	2	1	3	0	3	2	2	2
迷走神経(頸部)	脱髄	0	0	0	0	2	0	0	1	1	1
腓腹神経(仙骨皮下)	脱髄	0/3	1	0	1	0	0	0/3	0	2	0
頭蓋喉頭神経	脱髄	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
舌咽神経	単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	筋線維変性	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
半回喉頭神経	脱髄	0	0	0	2	0	0	0	0	3	0
坐骨神経	脱髄	0	3	3	↑4	2	2	1	0	2	4
脛骨神経	脱髄	2	2	0	4	1	1	0	1	3	3
迷走神経	慢性炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	グングリオ細胞空胞化	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
食道	慢性炎症性細胞浸潤	1	0	2	0	1	1	0	1	1	2
卵巣	一次卵胞石灰化	/	/	/	/	/	2	1	1	1	1
	セロイド沈着	/	/	/	/	/	0	0	0	0	3
	卵胞嚢胞	/	/	/	/	/	0	0	2	0	0
	黄体嚢胞	/	/	/	/	/	0	1	0	0	0
下垂体	色素嫌性細胞過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腺房拡張	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
前立腺	腺房拡張	0	2	1	1	0	/	/	/	/	/
	慢性炎症性細胞浸潤	0	0	3	0	0	/	/	/	/	/
直腸	陰窩拡張	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	粘膜慢性炎症性細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
顎下腺	慢性唾液腺炎	3	2	1	1	0	2	2	3	2	1

a：回復群

数値は当該所見がみられた動物数(/検査動物数)

Fisherの直接確率検定 ↑↓：p<0.05、↑↑：p<0.01（申請者実施）

非腫瘍性病変 (つづき)

臓器	所見	性別・投与量(mg/kg/day)									
		雄					雌				
		0	1	10	50	100a	0	1	10	50	100a
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
皮膚	慢性皮膚炎	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肉芽腫	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
	急性皮膚炎	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	表皮肥厚症	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	液体貯留嚢胞	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脊髓頭部	脱髄	1	3	3	4	3	1	1	0	4	3
	髄質慢性動脈炎	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脊髓腰部	脱髄	0	1	2	↑4	2	0	1	2	↑4	1
	髄質慢性動脈炎	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脊髓仙部	脱髄	0	0	0	3	0	0	0	1	3	0
脊髓胸部	脱髄	0	2	3	↑4	3	0	3	1	↑4	3
	髄質慢性動脈炎	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
脾	ヘモジリン沈着	3	4	4	4	2	1	4	4	4	4
	髄外造血	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0
	被膜/脾柱鉄線維症	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0
	死戦期鬱血	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
胃	慢性炎症性細胞浸潤	4	4	3	4	4	4	4	4	4	3
	粘膜微小結石	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
精巣	精細管萎縮	0	2	0	1	2	/	/	/	/	/
	精細管石灰化	0	1	0	0	0	/	/	/	/	/
甲状腺	濾胞石灰化	2	0	1	0	2	0	1	0	0	3
	濾胞嚢胞	1	1	2	0	0	0	0	0	1	1
	慢性甲状腺炎	0	0	3	1	0	0	0	0	2	0
	旁濾胞細胞過形成	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	嚢嚢嚢胞	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
気管	慢性炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
尿管	水尿管症	0	0	0	0	0	1/1	0	0	0	0
膀胱	筋壁結石	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	慢性炎症性細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
子宮	慢性炎症性細胞浸潤	/	/	/	/	/	1	0	0	0	1
	腺嚢胞化	/	/	/	/	/	0	0	0	1	1
	腔拡張	/	/	/	/	/	0	1	0	0	0
	色素を含むマクロファージ	/	/	/	/	/	0	1	0	0	0
膣	嚢胞	/	/	/	/	/	1	0	0	0	0

a: 回復群

数値は当該所見がみられた動物数(/検査動物数)

Fisherの直接確率検定 ↑↓: p<0.05、↑↑: p<0.01 (申請者実施)