

(5) ペンシクロンのマウスを用いた 13 週間亜急性毒性試験 (毒性資料 No. 原体-13)

試験機関：

報告年月日：1978 年 2 月

検体の純度：

試験動物： マウス (Jc1-ICR 系) (開始時 5 週齢) 体重 雄 25~31g, 雌 20~28g  
1 群雌雄各 20 匹

試験期間： 13 週間 (1977 年 9 月~12 月)

試験方法：

ペンシクロンをクレーで 5 倍に希釈したのち 0、80、400、2000、10000ppm になるよう粉末飼料に添加し、5 匹ずつケージに収容した動物に 13 週間にわたって自由に摂取させた。飼料は週 1 回調製した

試験項目および結果：

一般観察および死亡率；

試験期間中、毎日一般行動、中毒症状の有無などの観察を行なった。

試験期間中、動物の健康状態は良好であり、対照群と比較して一般行動上にも変化は認められなかった。

試験期間中の死亡例は、検体投与 71 日目の雌 100ppm 群 1 例に認めた。

体重変化；

体重の測定は毎週 1 回行なった。

その結果、雌雄とも全投与群で対照群と比較して有意な差はなかった。

摂餌量；

飼料摂取量は週 3 回測定した。

その結果、いずれの投与群においても検体投与に起因する摂取量の減少は認められなかった。

検体摂取量；

各投与群の試験期間中の検体摂取量(mg/kg/日)を下表に示す。

用量 (ppm)	雄	雌
80	9.7	12.6
400	49.98	64.71
2,000	263.86	315.08
10,000	1344.78	1551.88

血液学的検査；

試験終了時に生存全動物について、開胸して心臓より採血し、ヘマトクリット値 (Ht)、ヘモグロビン量 (Hb)、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血小板数および平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC) を検査した。

その結果、雌マウスでは検体投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。雄では赤血球が 2000ppm と 10000ppm 投与群で有意に減少したが、これらの変動はいずれも小さく検体に起因した変化とは考えられなかった。

その他、雄 10000ppm 投与群の白血球数および血小板数が増加したが、白血球分画に差が認められない事や、血小板の場合、全ての値が正常値を下まわっており偶発的又は技術的要因に基づく変動であった。

対照群と比べ有意差のみられた項目を下表に示す。

性別	雄				雌					
	項目	ppm	80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
ヘモグロビン			↓97							
赤血球					↓97	↓93	↓95			
白血球					↑142					
血小板					↑213		↓77			
MCH					↑109					
MCV					↑107					

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの  
 ↑↓ : p<0.05、 ↑↓ : p<0.01 (Student t 検定)

血液生化学的検査；

試験終了時に生存全動物の血漿について、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、グルコース、乳酸脱水素酵素 (LDH) および血液尿素窒素 (BUN) を測定した。

主な変化として 10000ppm 群雌雄の血糖の低下および雄の LDH と GPT の増加があった。この LDH と GPT の増加は肝重量の増加に関連したものと考えられ、

検体に起因した変動が疑われた。又、血糖の低下については体重の減少傾向（有意差なし）に起因したものとも考えられ、検体との明確な関係には疑問が残った。

対照群と比べ有意差のみられた項目を下表に示す。

項目	性別 ppm	雄				雌			
		80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
グルコース				↓90	↓91	↓91	↓93		↓81
LDH				↑138	↑143				
BUN				↓91					
GPT				↑141	↑115		↑113		

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの  
 ↑↓ : p<0.05、 ↑↓ : p<0.01 (Student t 検定)

#### 剖検；

試験終了時に、生存動物全例について、開胸・開腹して各臓器の位置、形状、色沢等の異常の有無を観察した結果、特記すべき変化は認められなかった。

#### 臓器重量；

剖検後直ちに脳、顎下腺、胸腺、心、肺、肝、腎、脾、副腎および生殖腺（精巣、卵巣）を摘出し、重量の測定および体重比重量の算出をした。

その結果、各臓器における実重量、比重量の対照群との比較において、検体投与群に有意な差での変動が散見された。

肝については雄で10000ppm、雌で400ppm以上の投与群で実重量又は対体重比に増加がみられ検体投与に起因していたが、対照群に比し10%以内の変動であった。

その他では、10000ppm 群雄で胸腺の実重量・対体重比の低下、雌では80ppm 群以上の顎下腺の実重量・対体重比の低下、肺の2000ppm 群以上で対体重比の低下、腎の10000ppm 群での実重量、2000ppm 群以上での対体重比の低下等が認められた。

このうち腎重量の低下は、BUN や病理組織学的結果に影響がないことから、又、その他にみられた臓器重量の変動は、薬量との関係も明確ではなく、また、形態学的に関連した変化が認められていないことから、検体の影響とは判断されなかった。

対照群と比べ有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
項目	ppm	80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
胸腺	実重量				↓81	↓79	↓83	↓81	
	対体重比				↓78	↓78	↓88	↓77	
肝臓	実重量				↑103			↑110	
	対体重比				↑111		↑108	↑107	↑110
顎下腺	実重量					↓83	↓86	↓75	↓74
	対体重比					↓85	↓87	↓72	↓76
腎	実重量								↓87
	対体重比							↓92	↓90
副腎	実重量			↓93					
脾臓	対体重比			↑116					
肺	対体重比							↓92	↓94
精巣	実重量			↓90		-	-	-	-
卵巢	対体重比	-	-	-	-			↓87	

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

↑ ↓ : p<0.05,    ↑↓ : p<0.01 (Student t 検定)

#### 病理組織学的検査；

雌雄各群 10 匹について、脳、顎下腺、胸腺、心、肺、肝、腎、脾、副腎、生殖腺（精巣、卵巢）、下垂体、甲状腺、膵、胃、腸管（十二指腸、空腸）、腸間膜リンパ節、膀胱（前立腺）、筋肉（大腿筋）、骨（大腿骨）をそれぞれ摘出し、病理組織学的検査に供した。検査の結果から、肝において、雌雄の最高投与群で軽度の核の大小不同とクロマチン分布異常が少数例にみられた。これは投与に起因した変化と考えられるが器質的な変化ではなく、従って本検体のマウスの肝への影響は、軽微で無視できる程度と言える。

その他、腎、脾、副腎、心臓、顎下腺で所見が散見されたが、いずれも通常のマウスに認められる変化であり検体投与に起因した変化ではなかった。

認められた病理組織学的所見を下表に示す。

項目	雄					雌				
	0	80	400	2000	10000	0	80	400	2000	10000
【検査数】	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓										
・クロマチンの分布異常					4*				1	5*
・核の大小不同					4*					5*
心										
・肉芽			4*					4*		
・脂肪滴				3					1	
腎										
・尿細管/ヒアリン様物質	8	7	8	8	8	9	8	7	9	8
・細胞浸潤	4	3		1			1			
顎下腺										
・細胞浸潤				1	1		1			
副腎										
・脂肪変性						8	4	4	4	6
・細胞結節				1						
脾臓										
・色素沈着	7	8	8	8	8	9	9	7	9	6
精巣										
・間質増生				1		-	-	-	-	-

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

空欄は所見を認めない

#### まとめ：

本試験における諸検査の結果、検体起因と考えられる変化は、雌の 400ppm 群以上および雄の 10,000ppm 群における肝の重量の増加、同群雄の LDH、GPT の増加および病理組織学的変化のみで、他に特記すべき変化はみられなかった。

以上の結果より、雄では 10,000ppm、雌では 400ppm を最小中毒量と判断した。したがってマウスに対するペンシクロンの無毒性量は、雄では 2000ppm、雌では 80ppm である。

その時の平均検体摂取量は雄で 263.9mg/kg/日、雌で 12.6mg/kg/日であった<sup>1)</sup>。

<sup>1)</sup> 食品安全委員会第 42 回農薬専門調査会幹事会での審議の結果、400 および 2000ppm 群雌の肝絶対重量ないし比重量の増加は毒性影響とみなされず、また、2000ppm 群雄では LDH および ALT の増加を毒性影響とみなしたことから、無毒性量は雄 400ppm (50.0mg/kg/日)、雌 2000ppm (315mg/kg/日) とされた。

(6) ペンシクロンのウサギでの亜急性経皮毒性試験 (毒性資料 No. 原体-14)

試験機関：

報告年月日： 1981年1月7日

検体の純度：

試験動物： ウサギ ニュージーランドホワイト系 雌雄 1群各6匹

体重 2.55～2.93kg、4ヶ月齢

試験期間： 3週間 (1980年6月～7月)

試験方法：

投与前 48 時間にすべてのウサギの背部と横腹部の毛を剪毛し、1 群雌雄各 3 匹の動物を正常皮膚群とし、残りの雌雄各 3 匹には投与前 24 時間に紙やすりで損傷皮膚を作り、皮膚の発赤とわずかな腫脹を引き起こした損傷皮膚群を設けた。試験中に、その後生えてくる毛は、週あたり 2 回、注意深く剃った。

検体は蒸留水と Cremophor EL (10mL 中に 5 滴) で用時調製とし、3 週で 15 回、背部皮膚と横腹部に塗布し、6 時間暴露した。投与用量は、0.5mL/kg とした。投与量は 0、50、250mg/kg とした。ゾンデ針で薬液を約 5×7cm の面積に塗布した。

塗布終了時には毎回、水と石けんで皮膚を洗浄した。

投与前と投与 6 時間の終了時に毎回、皮膚の炎症 (発赤、浮腫) を Draize の評価表にもとづき判定した。

試験項目および結果：

一般症状および死亡率；

試験期間中は毎日動物を観察し、一般症状と死亡を記録した。

すべての動物において、投与期間中一般症状の変化はみられず、また、死亡例もみられなかった。

体重；

体重の測定は毎週 1 回行なった。

各投与群の平均体重に、有意な差はみられなかった。すべての投与群の個別の動物で、一時的にわずかな体重の減少がみられたが、これらは、投与期間中の処置、拘束、6 時間の絶食と絶水の影響に起因するものと思われた。

#### 皮膚の局所所見；

投与開始前と毎回の6時間暴露の終了時に皮膚を観察し、発赤、浮腫の有無を判定した。

正常皮膚群動物では発赤はみられず、皮膚厚の測定でも、検体に起因する変化はみられなかった。

損傷皮膚群動物では、損傷による発赤と肥厚がみられたが、検体投与群と対照群との間に本質的な差はみられなかった。

#### 血液学的検査；

実験開始前と試験終了時に全動物について耳静脈から血液を採取し、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、血小板数、網状赤血球数、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)、ハインツ小体、白血球百分率について検査した。

いずれも正常値の範囲内で、投与に起因する変化はみられなかった。

#### 血液生化学的検査；

実験開始前と試験終了時に全動物について耳静脈から血液を採取し、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)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、尿素、血糖、ビリルビン、クレアチニンについて検査した。

いずれも検体に起因する変化は認められなかった。

#### 尿検査；

実験開始前と試験終了時に全動物について夜間の16時間の蓄尿を用い、pH、蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣について検査した。

検体起因の特異的变化はみられなかった。

#### 剖検および臓器重量；

終了時に全動物について剖検し、心、肺、肝、脾、腎、副腎、甲状腺、精巣/卵巣の臓器重量の測定を行った。

剖検所見において、各群の数例で屠殺時の変化として、肺の水腫と気腫がみられたものの検体起因の変化はみられなかった。

臓器重量において、各投与群の肺で水腫に由来する大きなバラツキが見られたが、その他の臓器も含め、いずれも特異的、または用量相関性のある変化は認められなかった。

病理組織学的検査:

心、肺、肝、脾、腎、副腎、精巣、卵巣、甲状腺、精巣上体、子宮および無処理部、塗布部両皮膚について対照群と 250mg/kg 投与群の動物で、病理組織学的検査を行った。

投与部位の背部皮膚には、極軽度から軽度の炎症性細胞浸潤がみられた。無処理の背部皮膚でも、極軽度から軽度の細胞浸潤と炎症性細胞浸潤がみられた。他に、特記すべき臓器の変化は認められなかった。

背部皮膚の投与部位と各臓器にみられた変化は、対照群と 250mg/kg 投与群とで同等であり、またこれらの程度と頻度から偶発的なものであると考えられた。

ま と め:

以上の結果から、正常皮膚にも損傷皮膚にも、皮膚刺激性はみられなかった。

また、一般症状、体重、血液学的所見、血液生化学的所見、尿所見、臓器重量、剖検、病理組織学的には、検体に起因する変化はみられなかった。

無毒性量は、250mg/kg 以上であった。



(7) ペンシクロンのウサギでの亜急性経皮毒性試験 (毒性資料 No. 原体-15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告年月日： 1992年3月10日

検体の純度：

試験動物： ウサギ ニュージーランドホワイト(HC:NZW)系

雌雄 1群各5匹

体重 雄 2.74~3.21kg、雌 2.39~3.38kg、約10~16週齢

試験期間： 3週間(1989年9月~10月)

試験方法：

投与開始の前日にウサギの背部と横腹部の毛を剪毛した。その後、試験中に生えてくる毛は、週あたり2回、剪毛した。

投与量は250、500及び1000mg/kgとし、対照として0mg/kgを設けた。また、対照及び1000mg/kg群では回復群を設け、3週間の投与期間終了後、さらに14日間観察した。

検体は用時調製とし、Cremophor EL (2% v/v) 生理食塩水で濃度12.5、25及び50%の懸濁液を調製した。対照にはCremophor EL (2% v/v) 生理食塩水のみを用いた。投与容量は2ml/kg体重とした。

投与は3週で18(雄)ないし19(雌)回実施し、各日1回、11×12cmのガーゼパッチに、調製した薬液をシリンジで均一に塗布して皮膚に貼付し、伸縮性包帯で固定して6時間暴露した。暴露終了後、水と石けんで皮膚を洗浄した。

試験項目および結果：

各試験項目とも、対照及び1000mg/kg群については投与終了時の検査まで、回復群の各5匹を含め10匹として処理した。

一般症状および死亡率

試験期間中毎日、動物を観察した。

すべての動物において、投与期間中一般症状の変化はみられず、また、死亡例もみられなかった。

## 体重

投与開始前、投与 7、14 及び 22 または 23 日に体重を測定した。また、回復群は 21、28 及び 36 日にも測定した。

各投与群と対照群の間に違いは認めなかった。

## 皮膚の局所所見

投与開始前及び各投与の 24 時間後皮膚を観察し、発赤について Draize の基準に従い、評点した。浮腫については、投与開始前、投与 2、6、9、13、16、20 日及び雌のみ 23 日に、投与部位の中心の皮下脂肪厚を測定して評価した。

対照群を含むいずれの投与群においても、投与に関連した発赤、浮腫、その他の皮膚反応を認めなかった。

## 血液学的検査

投与開始前、3 週間後（全群）及び投与終了 2 週間後（回復群）に、絶食したウサギの耳静脈から採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン、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、白血球百分率、網状赤血球数、ハインツ小体

いずれも薬剤に起因する変化は認められなかった。

## 血液生化学的検査

血液学的検査と同様の血液試料について、以下の項目について検査した。

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）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、尿素、グルコース、クレアチニン、ビリルビン、総蛋白、アルブミン、無機りん、Na、K、Ca、Cl

いずれも薬剤に起因する変化は認められなかった。

## 肝組織酵素測定

投与終了時（主群）及び投与終了 2 週間後（回復群）に剖検した動物の

肝臓から、以下の酵素を測定した。

*N*-デメチラーゼ、*O*-デメチラーゼ、チトクローム P-450、トリグリセリド

投与終了時の測定では、雄の 500 及び 1000mg/kg 群でトリグリセリドの増加、雌 1000mg/kg で P-450 の減少が、いずれも有意に認められた。

しかし、いずれも雄または雌のみにみられ、その変動も少ないことから、毒性的な関連はないものと思われた。

また、投与終了 2 週間後の回復群においては雌雄とも P-450 が軽度上昇し、雌では *O*-デメチラーゼもわずかに増加したが、いずれも投与終了時の検査においては認められず、毒性学的に意味のあるものではないものと考えられた。

対照群と比べ有意差のみられた項目を下表に示す。

項目 ppm	雄				雌			
	250	500	1000	(1000)回復群	250	500	1000	(1000)回復群
P-450				↑137			↓90	↑133
トリグリセリド*		↑123	↑136					
<i>O</i> -デメチラーゼ*								↑123

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

↑ ↓ :  $p < 0.05$ , ↑ :  $p < 0.01$  (U-test)

#### 剖検および臓器重量

主群は最終投与の翌日、回復群については観察期間終了時にバルビツール酸塩による深麻酔下で放血して屠殺し、肉眼的に剖検した。以下の臓器については臓器重量（実重量及び対体重比）を測定した。

脳、甲状腺、心、肺、肝、腎、副腎、脾、精巣及び卵巣

いずれの投与群においても、投与に関連した肉眼的変化を認めなかった。臓器重量においては、雌の肝重量が有意に減少（250mg/kg 群の実重量及び対体重比、500 及び 1000mg/kg の対体重比）した。また、雌の 1000mg/kg では腎の対体重比の減少も認めた。この臓器重量の変化は用量に相関しないか、有意な変動を認めなかった雄での数値と比しても大きな差を認めないことから毒性的に関連するものとは考えなかった。なお、回復群における臓器重量には対照群と比して違いは認めなかった。

対照群と比べ有意差のみられた項目を下表に示す。

臓器名	ppm	雄				雌			
		250	500	1000	(1000) 回復群	250	500	1000	(1000) 回復群
肝 実重量 対体重比						↓86 ↓87	↓84	↓87	
腎 対体重比								↓86	

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの  
↓ : p<0.05 (U-test)

### 病理組織学的検査

剖検した全ての動物について、皮膚、甲状腺、心、肺、肝、腎、脾、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、胸骨及び肉眼的に異常を認められた部位をブアン液で固定して、病理標本を作成し、組織学的に検査した。

雌雄の投与群で肝に微細な褐色色素の沈着を認めたが、染色法に由来するものであり、投与との関連性はないものと考えられた。また、雄の精巣で精細管の部分的な拡張を認めたが、

毒性学的に意義のあるものではないものと考えられた。なお、回復群ではこの所見は認められなかった。

主な病理組織学的所見を下表に示す。

項目	ppm	雄				雌			
		0	250	500	1000	0	250	500	1000
【検査数】		5	5	5	5	5	5	5	5
肝臓									
微細顆粒状褐色色素沈着	a	0	1	0	1	0	2	3	2
	b	2	-	-	3	4	-	-	4
精巣									
限局性精細管拡張	a	0	2	2	3	-	-	-	-

a:主群

b:回復群

(Fisher 検定)

### まとめ:

最高投与用量を1000mg/kgとして3週間にわたり経皮投与をした結果、投与による一般症状や皮膚への影響は認められず、すべての検査項目において、薬剤投与に起因する影響はみられなかった。

以上のことから、本試験による無毒性量は、1000mg/kg/日であった。

(8) ラットを用いた90日間反復吸入毒性試験

(毒性資料No. 原体-16)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）の運用についての「4. 試験成績の提出の除外について」(2)⑪イの規定により下記の理由が該当することから試験を省略した。

急性吸入毒性試験の結果から、著しく強い吸入毒性が認められない。

## 7. 反復経口投与神経毒性

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

(毒性資料No.原体-17)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

検体の純度 :

試験動物 : ラット ウィスター系 (HsdCpb:WU)、1 群雌雄各 12 匹

試験開始時; 雌雄 7 週齢 (体重 雄 167~201g, 雌 113~153g)

投与期間 : 13 週間 (2004 年 4 月 5 日~7 月 6 日)

投与方法 : 検体を 0 (対照群)、500、2500 及び 15000ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

観察・検査項目及び結果:

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。死亡および病状の有無は少なくとも 1 日 2 回 (休日及び週末は 1 日 1 回) 行い、一般状態の観察は 1 日 1 回行った。アリーナにおけるケージ外の詳細な一般状態の観察は FOB を実施しない週に 1 回/週の割合で行った。

試験期間を通じて死亡は認められなかった。

全投与群で5～10週に歩行の変化が認められた。この所見についてはFOBにまとめて記載した。

### 体重変化：

投与直前、その後は毎週、個体毎に体重の測定を行った。灌流固定する動物については屠殺日にも体重を測定した。

雄では、対照群と比較すると、15000および2500ppm群の1週目に体重増加量の抑制が認められ、15000ppm群では2～4週の平均体重が統計学的に有意に低下したが、その後は順調に体重が増加し、平均体重に有意差は認められなくなった。

雌では、対照群と比較して15000および2500ppm群の1週目に体重増加量の抑制が認められたが、平均体重に統計学的な有意差は認められなかった。500ppm群では体重増加量に有意差は認められなかったが、試験期間を通じて平均体重が対照群より統計学的に有意に増加した。これらの変化は試験開始時における対照群の平均体重が投与群と比較して低値であったためと考えられた。

以上、雌雄ともに2500ppm群以上で体重増加抑制が認められたが、第一週目のみか、第2～4週と初期にのみ認められた変化であることから有害な影響と考えるよりは、偶発的ないし、餌に対する忌避作用などの影響の可能性が考えられ、体重において、いずれの投与群も投与による有害な影響は認められなかったものと考えられた。

体重変化を図1、図2に示す。

図1. 雄の体重

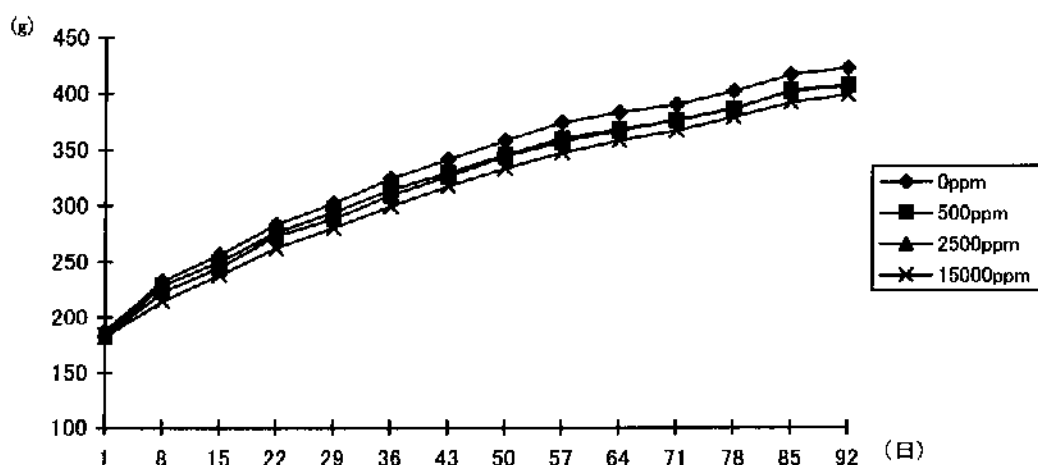
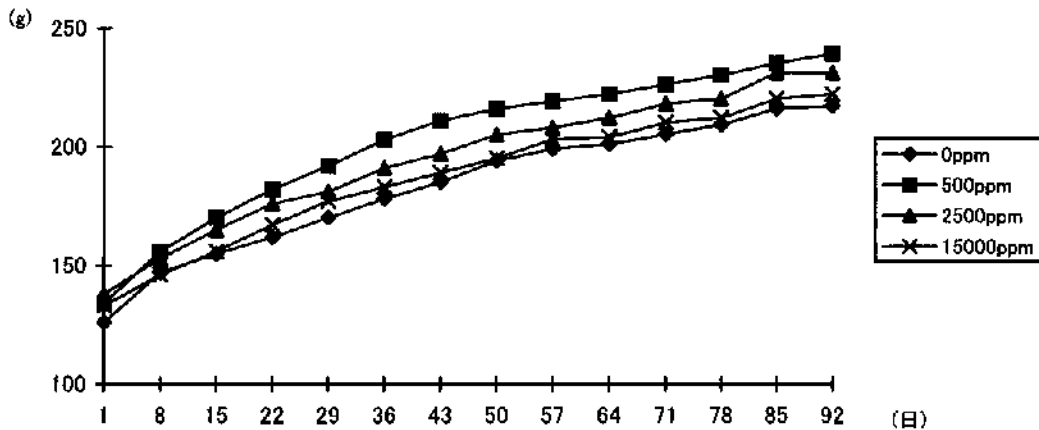


図 2. 雌の体重



摂餌量；毎週個体毎に摂餌量を測定した。

体重 1 kgあたりの週毎の平均摂餌量は、15000ppm群雌雄共にほとんどの週で対照群と比較して統計学的に有意に増加したが、その他の用量群では雌雄共に変化はみられなかった。体重1kgあたりの総摂餌量は、対照群と比較して15000ppm群雄で15%、雌で30%および2500ppm群雌で17%増加した。本試験で認められたこの摂餌量の増加は、その他の反復経口投与毒性試験では認められていないことから、これらの変化は毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 1. 検体摂取量 (mg/kg /日)

用量	500ppm	2500ppm	15000ppm
雄	34.94	180.64	1167.60
雌	51.16	274.80	1835.54

飲水量；毎週個体毎に飲水量を測定した。

雄ではいずれの投与群でも、投与による影響は認められなかった。雌では15000ppm群および2500ppmにおいて、対照群と比較してそれぞれ18%、31%増加したが、その他の反復経口毒性試験において関連する項目（尿検査、腎臓）に投与による影響が認められていないことから、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。



機能総合観察検査：

投与前1週、投与2、4、8及び13週の4回、全動物について以下の項目について行った。

ホームケージ：姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動、異常発声、その他。

ハンドリング：取り出し易さ、取り扱い時の反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、鼻汁、汚れ、その他。

オープンフィールド：立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動、常同行動、異常行動、歩行異常、異常発声、興奮、立ち上がり、排便、排尿、その他。

機能試験：瞳孔反応、接近反応、接触反応、瞳孔サイズ、聴覚反応、尾はさみ反応、正向反射、前肢および後肢握力、着地開脚幅、体重、体温

全投与群に歩行の変化が認められた。一般状態の観察で認められた所見も併せて歩行の変化を以下に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	500	2500	15000	0	500	2500	15000
所見/検査動物数	週*	12	12	12	12	12	12	12	12
痙性歩行	5	0	1	3	5	0	2	3	9
	6	0	1	0	0	0	0	0	0
後肢の棒状歩行	4	0	1	0	0	0	1	0	0
	8	0	4	3	2	0	8*	3	5
	13	0	0	1	0	0	0	0	1
足を高く上げる歩行	6	0	1	2	1	0	2	0	5
	7	0	1	1	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	1	0	0
	9	0	0	0	0	0	1	0	0
	10	0	1	0	0	0	2	1	1
失調歩行	9	0	0	1	0	0	1	0	0
	10	0	1	1	3	0	0	0	0
爪先歩行	13	0	1	0	0	0	0	0	0

\*：斜体字はFOBを実施した週      \*： $p \leq 0.05$  (統計はFOBでのみ実施)

全投与群雌雄において、痙性歩行が5週目に認められたが、6週目には500ppm群雄

1匹のみであった。6週から10週にかけて足を高く上げる歩行が認められた。雄の全投与群に失調歩行が認められた。後肢の棒状歩行は8週目の各投与群雌雄に認められたが、このほかの時点では、4週目の500ppm群雌雄各1匹、13週目の15000群雌1匹および2500ppm群雄1匹に認められたのみであった。

一部の同一の動物で、これらの所見が連続して観察された。これらの所見は、以下に示す理由から毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。

- 1) 認められた所見は一過性であった。
- 2) 投与量が増加するほどには、発生頻度が増加しなかった。
- 3) 時間の経過に伴って、所見の発生頻度の増加ないし重症度の進行は認められなかった。
- 4) 他の関連する所見（握力および着地開脚幅）に投与による変化は認められなかった。
- 5) 病理組織学的検査において、雌雄共に投与に関連すると考えられる神経病変は認められなかった。

反射反応において、投与に起因する影響は認められなかった。

握力、着地開脚幅および体温の測定値は対照群と同等であった。

その他投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

#### 運動能及び移動運動能試験；

投与前1週、投与後2、4、8及び13週の5回、全動物について行った。

運動能及び移動運動能は、8の字型迷路法を用い、60分間のセッション及び各々10分間のインターバルで自動化運動能測定装置によって評価した。

#### 運動能 雄

用量 (ppm)	投与前	%	2週	%	4週	%	8週	%	13週	%
0	589±173	-	503±197	-	415±128	-	361±132	-	269±99	-
500	573±182	97	478±126	95	475±93	114	416±104	115	322±88	120
2500	547±135	93	561±150	112	509±115	123	401±68	111	298±67	111
15000	437±88	74	561±187	112	473±147	114	397±116	110	308±91	114

ANOVA検定実施，試験セッションにおける遮光回数：平均値±標準偏差 動物数；12  
表中の%値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたものの（平均値の比較）。

運動能 雌

用量 (ppm)	投与前	%	2週	%	4週	%	8週	%	13週	%
0	635 ± 190	-	656 ± 249	-	570 ± 182	-	416 ± 134	-	428 ± 133	-
500	629 ± 177	99	728 ± 140	111	641 ± 219	112	482 ± 132	116	438 ± 138	102
2500	587 ± 177	92	691 ± 188	105	668 ± 225	117	577 ± 142	139	393 ± 119	92
15000	577 ± 166	91	906* ± 294	138	645 ± 189	113	604 ± 164	145	543 ± 136	127

ANOVA検定実施，試験セッションにおける遮光回数：平均値 ± 標準偏差 動物数；12  
 表中の%値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたもの(平均値の比較)。

移動運動能 雄

用量 (ppm)	投与前	%	2週	%	4週	%	8週	%	13週	%
0	255 ± 80	-	255 ± 91	-	236 ± 81	-	184 ± 69	-	150 ± 50	-
500	271 ± 87	106	259 ± 43	102	257 ± 53	109	240 ± 69	130	183 ± 46	122
2500	279 ± 76	109	284 ± 63	111	264 ± 62	112	237 ± 55	129	168 ± 51	112
15000	235 ± 57	92	292 ± 99	115	245 ± 77	104	221 ± 65	120	167 ± 30	111

移動運動能 雌

用量 (ppm)	投与前	%	2週	%	4週	%	8週	%	13週	%
0	281 ± 79	-	298 ± 119	-	264 ± 89	-	201 ± 49	-	192 ± 65	-
500	274 ± 98	98	376 ± 57	126	331 ± 97	125	242 ± 72	120	238 ± 67	124
2500	247 ± 68	88	356 ± 96	119	347 ± 110	131	263 ± 89	131	209 ± 77	109
15000	245 ± 65	87	407 ± 139	137	342 ± 96	130	295* ± 75	147	257 ± 73	134

ANOVA検定実施，試験セッションにおける遮光回数：平均値 ± 標準偏差 動物数；12  
 表中の%値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたもの(平均値の比較)。

雄では、運動能および移動運動能とも、いずれの投与群でも対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。雌では、15000ppm群において、2週目の運動能と8週目の移動運動能が統計学的に有意に増加したが、一時期に限られ、また、投与量の増加ほど運動量が著明に増加していないことから、検体投与による影響と考えられるものの、その関与は低いと考えられた。

各インターバルにおける対照群との比較では、雄の15000および2500ppm群の運動能の4週に、インターバル1で有意な増加(対照群を100とした時、それぞれ131、136)が認められたが、その後のインターバルでは対照群とほぼ同等であつ

た。その他、雄の移動運動能および雌の運動能、移動運動能ではいずれの投与群においても統計学的に有意な差は認められなかった。以上のことから、順応性については投与による影響はないものと考えられた。

#### 眼科学的検査；

投与開始前に全動物を対象に、投与終了時には対照群と高用量群を対象として検査した。

投与に関連する影響は認められなかった。

#### 脳重量の測定；

灌流固定を行った動物 6 例について、最終体重及び脳重量を測定した。最終体重は剖検前に測定した。脳については、灌流固定後、後固定前に重量を測定した。また体重比重量も求めた。

最終体重および脳の実重量および対体重比ともにいずれの投与群でも投与による変化は認められなかった。

#### 剖検；

全動物について投与終了後に剖検(全臓器、体腔、剖面、開口部及び体表)を行った。組織採取用の動物(各群番号の最初の 6 匹)はペントバルビタールを腹腔内投与して麻酔し、左心室より亜硝酸ナトリウムで灌流後、リン酸緩衝液に溶解させた汎用固定液(グルタルアルデヒド 1%および EM 用ホルムアルデヒド 3%)で灌流固定した。脳、ガッセル神経節、脊髄(頸部および腰部後根神経節と脊髄神経根を含む)、両眼球と視神経、両後肢(筋肉および神経を含む)、肉眼病変部位および個体標識部位を採取し、10%リン酸緩衝ホルムアルデヒドで後固定した。

15000ppm群雌に肝臓の小葉構造の明瞭化(5/12例)が認められた。

その他、検体投与に起因すると考えられる剖検所見は認められなかった。

#### 病理組織学的検査；

灌流固定した対照群と最高投与群の雌雄より採取した神経系組織について、鏡検検索を実施した。中低用量群については、最高投与群に検体投与に起因した病変が見られなかったことから評価しなかった。

以下の組織を検査した：脳、脊髄（頸部、胸部、腰部及び馬尾）、ガッセル神経節、後根神経節、脊髄神経根、坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経、視神経、眼球および腓腹筋

以下の組織はパラフィン包埋し、H. E. 染色した。

脳の冠状切片

眼球および視神経

脊髄（頸部、胸部、腰部および馬尾）

腓腹筋

以下の組織はメタクリル酸グリコール（GMA）に包埋し、Lee の変法によって染色した。

脊髄後根神経節（頸部/腰部、脊髄神経根を含む）

ガッセル神経節

末梢神経（坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経）

病理組織学的検査の結果、検体に関連した所見は15000ppm群の雌雄共に認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において 15000ppm 群雌に剖検所見として肝臓に小葉構造の明瞭化が認められたことから、無毒性量は雄 15000ppm、雌 2500ppm（雄：1167.6mg/kg /日、雌：274.8mg/kg /日）であると判断した。なお、本検体の 15000ppm までの投与では神経毒性はないものと考えられた。

8. 28日間反復投与遅発性神経毒性

ニワトリを用いた28日間反復投与遅発性神経毒性試験

(毒性資料No. 原体-18)

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）の運用についての「4. 試験成績の提出の除外について」(2)⑬の規定により下記の理由が該当することから試験を省略した。

急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと認められる場合であっては、本試験成績の提出を必要としないものとする。

## 9. 慢性毒性

### (1) ペンシクロンのラットにおける 24 ヶ月慢性/発がん性毒性試験

(毒性資料 No. 原体-19)

試験機関：

報告年月日： 1981年11月26日

検体の純度：

試験動物： ラット Fischer 系 雌雄 開始時 5 週齢 各群各 80 匹

(内 24 匹は途中検査動物として 27, 52 および 78 週時に中間屠殺)

試験期間： 2 年間 (1978 年 11 月～1980 年 11 月)

試験方法：

ペンシクロンを 0、50、500、5000ppm になるよう、粉末飼料に添加し、1 ケージあたり 5 匹ずつ収容した動物に 104 週にわたり自由に摂取させた。飼料は週 2 回調製した。

試験項目および結果：

一般観察；

試験期間中毎日症状を観察した。

各投与量の雌雄において、検体に起因すると思われる一般症状の変化は認められなかった。

死亡率；

検体投与群の死亡率は、対照群と同様であった。

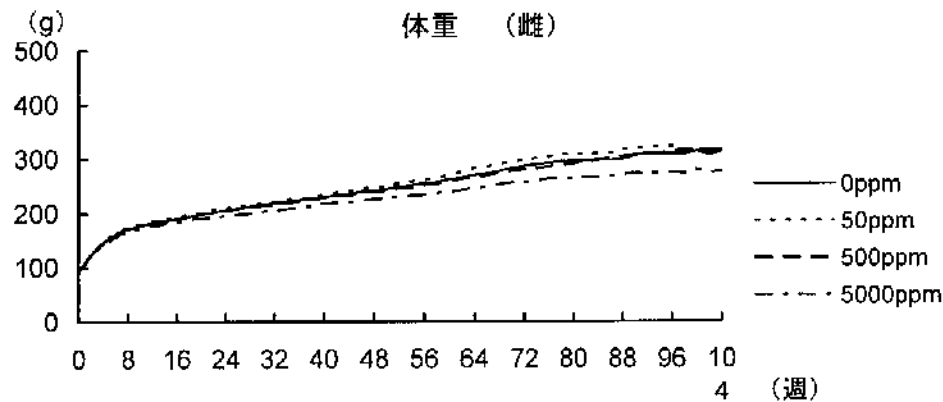
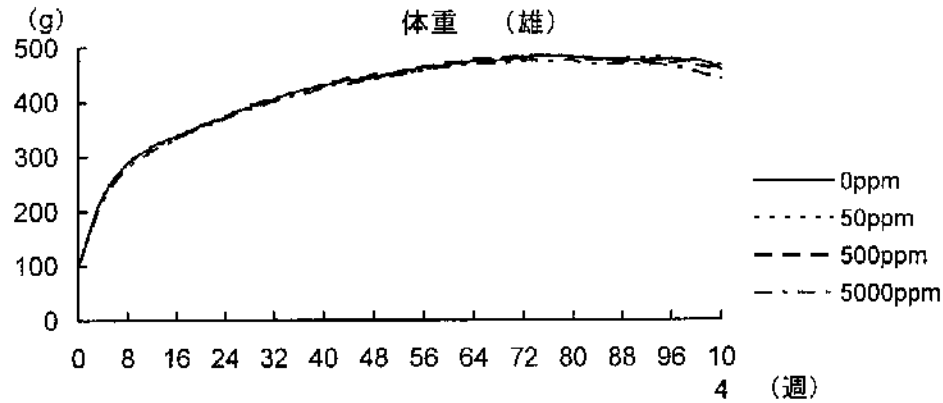
試験期間中の累積死亡動物数と死亡率を以下に示す。

投与群 (ppm)		0	50	500	5000
死亡数 (%)	雄	16 (29)	13 (23)	13 (23)	9 (16)
	雌	13 (23)	7 (13)	9 (16)	13 (23)

体重変化；

体重を試験開始後 26 週までは週 1 回、以後は隔週に 1 回測定した。

5000ppm 群の雄では、試験開始後 1 週目より 16 週目まで、軽度ではあるが統計学的に有意な体重増加抑制が認められた。しかし、その後同群の体重は回復した。5000ppm 群の雌では試験全期間にわたり、軽度ながら有意な体重増加抑制が持続した。500ppm 以下の投与群と対照群との間に差は認められなかった。又 50ppm 投与群の雌では試験全期間にわたり、体重の増加傾向が認められた。



摂餌量、食餌効率および飲水量；

いずれの項目においても、検体投与群と対照群との間に著明な差は認められなかった。

検体摂取量；

各投与群の試験期間中の検体摂取量(mg/kg/日)を下表に示す。

投与薬量 (ppm)		50	500	5,000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.79	18.4	186
	雌	2.20	21.9	229

尿検査；

27、52 (雌は 53) および 78 週の各途中検査時に途中検査動物雌雄各 8 匹について、又試験終了時には生存動物について尿を腰背部圧迫法により採取し、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血および比重について検査をした。

その結果、検体投与群において、対照群との間に差は認められず検体に起因すると思われる変化は観察されなかった。

血液学的検査；

27、52 (雌は 53) および 78 週の各途中検査時に途中検査動物雌雄各 8 匹について、104 週には生存動物雌雄各 10 匹について、後大静脈より採血し、



ヘマトクリット値 (Ht) 、ヘモグロビン量 (Hb) 、赤血球数、白血球数、血小板数、白血球百分率および平均赤血球容積 (MCV) 、平均赤血球血色素量 (MCH) 、平均赤血球血色素量 (MCHC) について検査を行なった。

その結果、検体投与群において、投与用量および投与期間に相関した変化は認められなかった。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄														
	検査週			27 週			52 週			78 週			104 週		
項目	ppm			50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
Hb				↑102											
赤血球				↑103 ↑103											
血小板				↑122 ↑117											
白血球				↑107 ↑121 ↑109											
ヘマトクリット							↓97								

性別	雌														
	検査週			27 週			53 週			78 週			104 週		
項目	ppm			50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
血小板										↑125					
白血球										↓83					

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの  
 ↑ ↓ : p < 0.05, ↑ ↓ : p < 0.01 (Student t-検定)

#### 血液生化学的検査：

血液生化学的検査は、血液学的検査と同じ動物からの血清を用い、途中検査時には、総蛋白、アルカリフォスファターゼ (ALP) 、グルコース、血液尿素窒素 (BUN) 、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) 、総コレステロール、乳酸脱水素酵素 (LDH) 、総ビリルビン、γ-グルタミルトランスぺプチターゼ (γ-GTP) 、クレアチニン、Ca、Na、K および A/C 比を検査した。

その結果、GOT、LDH、Ca 等種々の項目において変動が認められたが、投与検体に関連する変化として、総コレステロールが 5000ppm 群の雌で、53 週検査時以降に有意に増加した。この変化は、後述する組織学的検査において同時期に慢性腎症の発生頻度が有意に増加したことに対応するものと考えられた。

一方、5,000ppm 群の雄では、総蛋白の有意な増加が 27、52 および 78 週時に認められ、さらに 27 週時には、500 および 50ppm 群においても同様の増加

が認められた。しかし、これらの投与群における変動値は、対照群に比して10%以内の軽度な変動であり、また、各蛋白分画においても、一定した変動を示した分画が認められなかったことから、本検体に特異的な中毒性変化とは考え難い。また、カルシウムが5000ppm群の雄の27および52週時と、500ppm群の雄の27および78週時に有意に増加した。一般に血清中のカルシウムは、極めて変動の少ない項目であり、それゆえカルシウム値の変動は、生理学的に極めて重要な意味を持つといわれている。しかし、血清中のカルシウムはイオン化分画のほかに、血清蛋白との結合状態にあるものが多く、血清蛋白が高値を示す場合には、カルシウムもみかけ上の高値を示すことが知られている。従って500および5,000ppm群の雄で認められたカルシウムの増加は、上述の非特異的な血清蛋白の増加期間にほぼ一致していることから、蛋白の増加に基づく二次的な変化と考えられた。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄											
	27週			52週			78週			104週		
検査週	ppm											
項目	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
ALP	↑110			↓73						↓76 ↓73		
LDH	↓80	↓78	↓↓44	↓85	↓↓73	↓↓64						
BUN	↓89		↓89	↑110						↑108		
グルコース				↑112								
総コレステロール				↑↑110								
GOT				↓↓78			↓85			↓68		
GPT				↓70			↓69			↓77		
総ビリルビン	↓67	↓67	↓67				↓↓33					
直接ビリルビン							↓↓50			↑150		
GCTP										↑150		
クレアチニン				↑109						↓93		
Ca	↑102 ↑↑107			↑102			↑103					
総蛋白	↑103	↑103	↑↑110	↑↑104						↑103		
α <sub>1</sub> -グロブリン				↑↑111								
α <sub>2</sub> -グロブリン				↑113			↑125					
γ-グロブリン				↑150								
A/G				↓80								

表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの  
 ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01, ↑↑ ↓↓ : p<0.001 (Student t-検定)

性別	雌														
	検査週			27 週			53 週			78 週			104 週		
項目	ppm			50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
ALP										↓72					
LDH										↓86					
BUN	↓90 ↓90						↓91			↓87					
総コレステロール							↑115			↑↑158			↑120		
GOT							↓↓83			↓85					
GPT							↓82								
総ビリルビン				↑150									↓68		
直接ビリルビン				↑150									↓69 ↓63		
GGTP										↑125					
クレアチニン	↑113						↓93								
Ca													↑106		
Na	↓97														
K							↑121								
総蛋白	↓95									↑106 ↑↑112					
アルブミン							↑105			↑111 ↑↑119					
α <sub>1</sub> -グロブリン	↓80 ↓80									↑125					
γ-グロブリン										↓↓80					
A/G										↑119					

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01, ↑↑ ↓↓ : p<0.001 (Student t-検定)

#### 剖検；

途中死亡動物および屠殺動物の剖検の結果、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

#### 臓器重量；

途中検査動物、試験終了時の全生存動物および試験期間中の死亡・切迫屠殺動物について脳、脳下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、心、肺、胸腺（27 週時のみ）、肝、腎、脾、副腎、生殖腺（精巣・卵巣）、骨格筋（下腿三頭筋）について重量の測定および対体重比の算出を実施した。

肝：5000ppm 群の雄で 27、52 および 78 週時の実重量および対体重比が有意に増加し同群の雌では、各途中検査時において、対体重比の有意な増加が認められた。500ppm 群の雄では、実重量および対体重比が、27 および 78 週時に有意に増加し、また 52 週時においても統計学的に有意差はなかったが、対照群に比し、増加傾向を示した。これら一連の変化は本検体による変化と考えられる。

腎：5000ppm 群の雌において、78 および 104 週時の対体重比が有意に増加

した。この変化は、後述する慢性腎症の発生頻度の増加に対応し、本薬剤投与に関連したものと考えられた。

副腎：5,000ppm 群および 500ppm 群の雄において、27 週時の実重量及び対体重比が有意に増加したが、以後の途中検査では対照群との間に差は認められず本薬剤との関連性は確認できなかった。

その他の臓器重量においても、有意な変動が認められたが、投与薬量および投与期間に相関した変化は認められなかった。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄											
		27 週			52 週			78 週			104 週		
検査週		50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
項目 ppm													
甲状腺	実重量	↑119	▲129	↑117	↓88								
	対体重比	↑120	↑↑130	↑118	↓88								↓71
脳	実重量							↑↑103					
	対体重比												↑104
心	実重量			▲105									
	対体重比			▲104									
肝	実重量		▲111	↑↑124		↑↑119		▲115	↑↑122				
	対体重比		↑↑109	↑↑124		↑↑121		↑111	↑↑121				
腎	実重量			↑108		▲109		↑106					
	対体重比			↑108		▲111							▲108
副腎	実重量		▲116	↑↑124									↑107
	対体重比		▲111	↑↑122									▲115
肺	実重量				↓89								
	対体重比												↑109
精巣	実重量								↑118			▲116	
	対体重比								↑118			▲115	↑109
骨格筋	対体重比				↑107								

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

↑ ↓ :  $p < 0.05$ , ▲ ▼ :  $p < 0.01$ , ↑↑ ↓↓ :  $p < 0.001$  (Student t-検定)

性別		雌											
検査週		27週			53週			78週			104週		
項目	ppm	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
甲状腺	実重量					▲126	↑125						
	対体重比				↑119	↑129	▲135				↑139		
脳	対体重比			▲106							↑111		
心	実重量											↓96	↓↓95
	対体重比												↑107
肝	対体重比	↓91		↑110			↑↑112				▲114		↑↑115
腎	対体重比										▲118		↑↑115
脾	実重量			↓85		↓91							
	対体重比	↓86				↓89							
胸腺	実重量			↑119									
	対体重比			↑118									
副腎	実重量										↓90		
	対体重比										↑↑109		
骨格筋	実重量					↑108							
	対体重比										▲114		▲107

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

↑↓ : p<0.05, ▲▼ : p<0.01, ↑↑ ↓↓ : p<0.001 (Student t-検定)

#### 病理組織学的検査；

試験に用いた全動物について病理組織学的検査を行なった。検査対象として、重量測定を行なった臓器および組織に加えて、唾液腺、食道、胃、脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、膀胱、精巣上体、前立腺、精囊・凝固腺、子宮、眼球、内涙腺、骨・骨髄（胸骨、大腿骨）、坐骨神経および肉眼的異常部位を採取した。口腔（頬部粘膜）、舌、咽頭、喉頭、気管、胸大動脈、乳腺（下腹部）、皮膚（腰背部）、リンパ節（頸部、腸間膜）、頭部（鼻腔、副鼻腔および中耳を含む）、膝関節および脊髄（頸部、胸部、腰部）を可能なかぎり採取した。

#### 非腫瘍性病変

途中検査動物を含めた病理組織学的検査結果から、5000ppm 投与群において試験初期に雌雄で、肝細胞肥大が発生頻度において有意に増加し、雄ではさらに肝のうっ血も有意に増加した。試験後期には同群雌雄に、変異肝細胞巢およびびまん性肝細胞脂肪化の発生頻度が有意に増加し検体投与の影響が示唆された。

その他の臓器では、試験後期に 5000ppm 群の雌で慢性腎症が、発生頻度において有意に増加し、本剤の影響と認められた。また、同群雄で試験初期に

副腎皮質びまん性脂肪化の増加が認められ、前述した副腎重量の増加との相関が示唆されたが本剤との関連は明らかではなかった。

認められた主な非腫瘍性病変を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与期間(週)		27	52	78	104	27	53	78	104
検査動物数		8	8	8	39-47	8	8	8	43-49
所見	ppm								
肝うっ血	0	2	0	0	0	1	0	0	0
	50	2	0	0	1	0	0	0	0
	500	4	0	0	0	0	0	0	1
	5000	** 8	1	1	1	3	1	1	0
肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	2
	500	1	0	0	1	0	0	0	0
	5000	*** 8	* 4	* 4	3	*** 7	* 4	0	** 7
変異肝細胞巣	0	0	0	1	7	0	0	1	7
	50	0	0	0	9	0	0	0	2
	500	0	0	2	12	0	0	2	11
	5000	0	0	2	** 22	0	0	4	*** 28
びまん性肝細胞脂肪化	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	50	0	0	0	3	0	0	0	4
	500	0	0	0	3	0	0	0	3
	5000	0	2	5	* 7	0	0	3	*** 24
副腎びまん性 皮質脂肪化	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	50	2	0	0	0	0	0	0	1
	500	2	0	0	1	0	0	0	0
	5000	* 6	0	0	0	0	0	0	0
慢性腎症	0	0	0	0	20	0	0	0	6
	50	0	0	0	19	0	0	1	10
	500	0	0	0	21	0	0	2	5
	5000	0	0	0	30	0	1	2	*** 22

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001 (Fisher 検定)

## 腫瘍性病変

各投与群で発生した腫瘍性病変の種類、発生時期および発生頻度は、対照群の成績と同様であり、また当該試験機関で実施された他の毒性試験における対照群の成績ならびに文献上での Fischer 系ラットの成績と比較しても、著しい差異は認められなかった。

本薬剤による腫瘍発生頻度を下表に示す。

	濃度群 ppm	雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
検査動物数		56	56	56	56	56	56	56	56
腫瘍数	良性	89	80	76	79	34	41	28	21
	悪性	13	11	10	12	20	11	9	8
	合計	102	91	86	91	54	52	37	29
担腫瘍動物数	良性	53	52	56	54	24	27	18	16
	悪性	13	10	10	11	17	11	9	8
担腫瘍動物数		54	54	56	55	39	33	25	23

最終屠殺動物及び死亡・切迫殺動物

以上の結果から、5000ppm 群で体重増加抑制、コレステロール増加(雌)、肝および腎の臓器重量増加(雌)や病理組織学的変化があり、500ppm 群の雄では肝重量の増加があったことから、ペンシクロンの Fischer 系ラットの雄に対する無毒性量を 50ppm (1.79mg/kg/日)、雌に対する無毒性量を 500ppm (21.9mg/kg/日)、と判定した<sup>1</sup>。本検体に発がん性は認められなかった。

<sup>1</sup> 食品安全委員会第 42 回農薬専門調査会幹事会での審議の結果、500ppm 群雄の肝の絶対重量および比重量の増加は毒性影響とみなされず、無毒性量は雌雄とも 500ppm (雄 18.4mg/kg/日、雌 21.9mg/kg/日) とされた。

表 1-1 主な非腫瘍性病変 (中間屠殺動物・27 週) (ラット 1-1)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		8	8	8	8	8	8	8	8
中間屠殺動物 27 W	心:								
	心筋萎縮・繊維化	1	4	5	2			1	1
	心筋炎・化膿性心筋炎		2	2	1				
	肝:								
	うっ血	2	2	4	8**	1			3
	肝細胞肥大			1	8**				7**
	腎:								
	限局性尿細管萎縮	6	6	4	5	3	2		1
	石灰沈着					4	2	2	2
	副腎:								
うっ血							1	1	
びまん性皮質脂肪化	1	2	2	6*					

\*:  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$  (Fisher 検定)

表 1-2 主な非腫瘍性病変 (中間屠殺動物・52/53 週) (ラット 1-2)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		8	8	8	8	8	8	8	8
中間屠殺動物 52 ・ 53 W	心:								
	心筋萎縮・繊維化	3	4	4	5	1	2		1
	心筋炎・化膿性心筋炎	3	1	2				1	
	肺:								
	細気管支炎・気管支炎		1		4*	1	1	1	
	肝:								
	うっ血				1				1
	肝細胞肥大				4*				3
	限局性肝細胞過形成						1	2	
	びまん性肝細胞脂肪化				2				
	肝細胞淡明化巣		1	1		2			
	胆管増生	5	4	6	6		1	4*	2
	小肉芽腫	1		1		4	1	1	3
	小造血巣					1		2	1
	腎:								
	限局性尿細管萎縮	3	4	5	7	4	5	3	2
尿門柱		3	1	6**	3	3	2		
石灰沈着					7	7	5	8	
脳下垂体:									
前葉のう胞形成					1			1	
前葉過形成					1	3		1	

\*:  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$  (Fisher 検定)



表 1-3 主な非腫瘍性病変 (中間屠殺動物・78週) (ラット 1-3)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		8	8	8	8	8	8	8	8
中間屠殺動物 78W	心:								
	心筋萎縮・繊維化	5	3	6	5	1	1	1	3
	肝:								
	うっ血				1				1
	肝細胞肥大				4*				
	限局性肝細胞過形成		1	4*	1	4	6	4	1
	変異肝細胞巢	1			2	1		2	4
	びまん性肝細胞脂肪化	1			5				2
	肝細胞淡明化巢	4	2	3	3				
	スポンジ様のう胞	1	1	1					
	胆管増生	8	8	8	8	1	2	1	4
	小肉芽腫		1			2	3		1
	小造血巢						3	1	2
	腎:								
	限局性尿細管萎縮	8	8	6	8	4	5	6	5
	慢性腎症						1	2	2
	尿円柱	8	7	5	8	5	4	5	4
	石灰沈着					2	6	6	6
	脾:								
	褐色色素沈着増加					2	2	1	
	髓外造血亢進	1				2	3	2	1
	膵:								
	外分泌腺細胞萎縮	2	2	3	4	1	1	2	4
	精巣:								
	精子形成低減	1	2	1	1				
	精細管萎縮	3	1	1	2				
	間細胞過形成	5	6	3	7				
子宮:									
腺増生						2		1	
腺のう胞化					1	1			
ポリープ					1			1	
脳下垂体:									
前葉過形成	2	1			2	1	2	1	
前葉類洞拡張					1			1	
副腎:									
皮質過形成		1		1				1	
洞拡張					2	1	3	2	
褐色色素沈着増加					1	2	3		

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 1-4 主な非腫瘍性病変 (死亡・切迫屠殺動物) (ラット 1-4)

性別	雄				雌				
	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
所見/検査動物数	16	13	13	9	13	7	9	13	
死・切迫屠殺動物	肝:								
	うっ血					1		1	2
	肝細胞肥大				3*				1
	限局性肝細胞過形成	2	3	1	1			1	
	変異肝細胞巢		2		3*				3
	限局性肝細胞脂肪化	1	1	3	1		1	1	1
	びまん性肝細胞脂肪化	3	1	2	3	6	3	3	1*
	肝細胞淡明化巢		1	1	2	1	1		1
	胆管増生	15	13	13	8	5	3	5	6
	腎:								
	近位尿細管上皮内褐色色素沈着増加	1		1	2	1			
	限局性尿細管萎縮	13	10	9	9	10	4	4	10
	慢性腎症	2	1	3		2	1	2	2
	尿円柱	10	6	9	7	10	3	3	8
	石灰沈着					7	5	3	11
	脾:								
	うっ血	2	1						
	褐色色素沈着増加	2	2	4		6	4	2	9
	髓外造血亢進	1	4	3	6**	3		2	2
	精巣:								
	精子形成低減	1	1	3		-	-	-	-
	精細管萎縮		4*	4*	1	-	-	-	-
	間細胞過形成	5	7	5	1	-	-	-	-
	子宮:								
	腔拡張					3			1
	腺増生					2			4
	腺のう胞化						1	1	3
	ポリープ							2	1
	乳腺								
	腺増生	3	2	2	1	3	4	1	1
甲状腺:									
明細胞過形成	2	3		2					
副腎:									
洞拡張	1	1	1		2	1		4	
限局性皮質脂肪化	2	1	2	1				1	
びまん性皮質脂肪化	1	2	3	3	3	1			
坐骨神経・三叉神経									
神経線維変性・繊維化	11	5	11	4	2	1	1	7*	

\*:  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$  (Fisher 検定)

表 1-5 主な非腫瘍性病変 (最終屠殺動物) (ラット 1-5)

性別	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数	40	43	43	47	43	49	47	43	
最終屠殺動物	肝:								
	うっ血		1		1			1	
	肝細胞肥大			1	3		2		8**
	限局性肝細胞過形成	17	20	23	9*	25	26	35	14
	変異肝細胞巣	7	9	14	22**	7	2	11	28**
	限局性肝細胞脂肪化	11	4*	3*	7	7	4	2	2
	びまん性肝細胞脂肪化	1	3	3	7*	1	4	3	25**
	肝細胞淡明化巣	10	18	12	14	5	4	3	3
	胆管増生	36	40	42	44	19	38**	34**	26
	腎:								
	近位尿細管上皮内褐色色素沈着増加			1			1	1	
	限局性尿細管萎縮	21	25	22	20	35	38	45*	25*
	慢性腎症	20	19	21	30	6	10	5	22**
	尿円柱	19	21	18	20	33	31	37	23*
	石灰沈着	1	1		1	18	26	23	36**
	脾:								
	うっ血	2	1	2	2	1	1	1	2
	褐色色素沈着増加	4	1	2	3	14	14	17	17
	髓外造血亢進	7		3	3	10	10	9	11
	精巣:								
	精子形成低減	2	1		1				
	精細管萎縮	8	3	6	4				
	間細胞過形成	1	1	2	2				
	子宮:								
	腔拡張					5	6	2	5
	腺増生					5	3	4	2
	腺のう胞化					9	5	13	9
	ポリープ					6	4	9	5
	乳腺								
	腺増生					14	23	13	8
甲状腺:									
明細胞過形成	15	11	8*	8*	3	6	4	4	
副腎:									
洞拡張	7	16*	12	10	11	17	20	16	
限局性皮質脂肪化		4	5*	4	7	3	5	4	
びまん性皮質脂肪化			1			1			
坐骨神経・三叉神経									
神経線維変性・繊維化	22	22	24	24	17	18	21	16	

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 1-6 主な非腫瘍性病変 (全動物) (ラット 1-6)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		56	56	56	56	56	56	56	56
全動物	肝:								
	うっ血		1		1	1		2	2
	肝細胞肥大			1	6*		2		9**
	限局性肝細胞過形成	19	23	24	10*	25	26	36*	14*
	変異肝細胞巢	7	11	14	25**	7	2	11	31**
	限局性肝細胞脂肪化	12	5	6	8	7	5	3	3
	びまん性肝細胞脂肪化	4	4	5	10	7	7	6	26**
	肝細胞淡明化巢	10	19*	13	16	6	5	3	4
	胆管増生	51	53	55	52	24	41**	39**	32
	腎:								
	近位尿細管上皮内褐色色素沈着増加	1		2	2	1	1	1	
	限局性尿細管萎縮	34	35	31	29	45	42	49	35*
	慢性腎症	22	20	24	30	8	11	7	24**
	尿円柱	29	27	27	27	43	34	40	31*
	石灰沈着	1	1		1	25	31	26	47**
	脾:								
	うっ血	4	2	2	2	1	1	1	2
	褐色色素沈着増加	6	3	6	3	20	18	19	26
	髓外造血亢進	8	4	6	9	13	10	11	13
	精巣:								
	精子形成低減	3	2	3	1				
	精細管萎縮	8	7	10	5				
	間細胞過形成	6	8	7	3				
	子宮:								
	腔拡張					8	6	2*	6
	腺増生					7	3	4	6
	腺のう胞化					9	6	14	12
	ポリープ					6	4	11	6
	乳腺								
	腺増生	3	2	2	1	17	27*	14	9
	甲状腺:								
	明細胞過形成	17	14	8*	10	3	6	4	4
副腎:									
洞拡張	8	17*	13	10	13	18	20	20	
限局性皮質脂肪化	2	5	7	5	7	3	5	5	
びまん性皮質脂肪化	1	2	4	3	3	2			
坐骨神経・三叉神経									
神経線維変性・繊維化	33	27	35	28	19	19	22	23	

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-1 腫瘍性病変 (中間屠殺動物) (ラット 2-1)

	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000
	所見/検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8
中間屠殺動物	27 W	所見を認めなかった							
	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000
	所見/検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8
	52/53 W	脳下垂体: 前葉 腺腫 (良)			1				1
	甲状腺: 乳頭腺腫 (良)				1				
	性別	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000
	所見/検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8
	72 W	肝: 肝細胞腺腫 (良)	1						
		肺: 腺腫 (良)							1
		脳下垂体: 前葉 腺腫 (良)	1		1		1	1	
		副腎: 褐色細胞腫 (良)			1				
		皮質腺腫 (良)						1	
		甲状腺: 濾胞腺腫 (良)			1				
		明細胞腺腫 (良)			1				
		膵: 島細胞腺腫 (良)						1	
		腹腔: 中皮腫 (良)	1						
		悪性中皮腫 (悪)	1						
		精巣: 間細胞腫 (良)	3	3	6	8*			
		鼠径部結節: (皮下) 脂肪腫 (良)	1						

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-2 腫瘍性病変 (死亡・切迫屠殺動物) (ラット 2-2)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		16	13	13	9	13	7	9	13
死 亡 ・ 切 迫 屠 殺 動 物	血液及び造血器系								
	白血病 (悪)	10	3*	2*	2	4	3	2	2
	泌尿生殖器系								
	精巣:								
	肝細胞腫 (良)	13	7	13	7				
	包皮腺:								
	腺腫 (良)		1		3				
	子宮:								
	平滑筋腫 (良)					1			
	子宮内膜肉腫 (悪)					1			1
	腫:								
	平滑筋肉腫 (悪)					1			
	陰核腺								
	腺腫 (良)					1			
	内分泌系								
	下垂体:								
	前葉腺腫 (良)		1	2		1	5**	2	1
	甲状腺:								
	明細胞腺腫 (良)	1			1				
	副腎:								
	褐色細胞腫 (良)	1	1	1	1				
	悪性褐色細胞腫 (悪)	1							
	神経系								
	悪性神経鞘腫 (悪)			1					
	悪性神経膠腫 (悪)							2	
	皮膚・皮下・乳腺								
	乳頭腫 (良)				1				
線維腫 (良)	2	3							
平滑筋 (良)	1								
扁平上皮癌 (悪)		1	2		1				
線維肉腫 (悪)		1	1						
血管肉腫 (悪)		1							
未分化肉腫 (悪)				1					
運動器系									
骨肉腫 (悪)							1		
その他									
腹腔:									
悪性中皮腫 (悪)			1	2					
未分化肉腫 (悪)				1					

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-3 腫瘍性病変 (最終屠殺動物)

(ラット 2-3)

性別		雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		40	43	43	47	43	49	47	43
最 終 屠 殺 動 物	血液及び造血器系								
	白血病 (悪)					5	5	3	1
	胸腺:								
	リンパ腫 (悪)				1				
	腺腫 (良)					1			
	呼吸器系								
	肺:								
	腺腫 (良)	2	1	2		1	2	1	1
	扁平上皮癌 (悪)				1				
	消化器系								
	回腸:								
	腺癌 (悪)				1				
	肝:								
	肝細胞腺腫 (良)	2	1		1	1	1		
	膵:								
	島細胞腺腫 (良)		3						1
	島細胞腺癌 (悪)		1						
	泌尿生殖器系								
	腎:								
	明細胞腺癌 (悪)		1						
	膀胱:								
	乳頭腫 (良)	1			1				
	精巣:								
間細胞腫 (良)	38	43	42	46					
包皮腺:									
腺腫 (良)	2		1	3					
卵巣:									
腺癌 (悪)					1				
平滑筋肉腫 (悪)					1				
子宮:									
腺腫 (良)					1	1			
腺癌 (悪)					1				
平滑筋肉腫 (悪)						1			
陰核腺									
腺腫 (良)						1			
内分泌系									
下垂体:									
前葉腺腫 (良)	7	4	1*	2*	11	19	11	12	
前葉腺癌 (悪)					1				

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-3 続き 腫瘍性病変 (最終屠殺動物) (ラット 2-3)

性別	雄				雌			
	0	50	500	5000	0	50	500	5000
用量 (ppm)								
所見/検査動物数	40	43	43	47	43	49	47	43
甲状腺:								
乳頭状腺腫 (良)		1		2				
明細胞腺腫 (良)	9	5	6	4	4	5	1	2
明細胞腺癌 (悪)				2	1			2
副腎:								
皮質腺腫 (良)					1	1	1	
褐色細胞腫 (良)	4	3	4	4	4	1	1	1
悪性褐色細胞腫 (悪)							1	
神経節神経腫 (良)	1							
神経系								
脳室上衣腫 (良)		1						
悪性神経鞘腫 (悪)					1			
神経膠腫 (良)								1
皮膚・皮下・乳腺								
乳腺: 線維腺腫 (良)	1		2	1	4	4	3	
腺腫 (良)					1	1	2	2
腺癌 (悪)						1		1
乳頭腫 (良)					1			
線維腫 (良)	5	4	2	2	1			
脂肪腫 (良)		1						
扁平上皮癌 (悪)	2	2			1	1		
線維肉腫 (悪)		1	1					
基底細胞癌 (悪)					1			
悪性組織球腫 (悪)								1
その他								
腹腔:								
中皮腫 (良)	1							
悪性中皮腫 (悪)			1					

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)



表 2-4 腫瘍性病変 (全動物)

(ラット 2-4)

性別		雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		56	56	56	56	56	56	56	56
全 動 物	血液及び造血器系								
	白血病 (悪)	10	3*	2*	2*	9	8	5	3
	胸腺:								
	リンパ腫 (悪)				1				
	腺腫 (良)					1			
	呼吸器系								
	肺:								
	腺腫 (良)	2	1	2		1	2	1	1
	扁平上皮癌 (悪)				1				
	消化器系								
	回腸:								
	腺癌 (悪)				1				
	肝:								
	肝細胞腺腫 (良)	2	1		1	1	1		
	膵:								
	島細胞腺腫 (良)		3						1
	島細胞腺癌 (悪)		1						
	泌尿生殖器系								
	腎:								
	明細胞腺癌 (悪)		1						
	膀胱:								
	乳頭腫 (良)	1			1				
	精巣:								
	間細胞腫 (良)	51	50	55	53				
	包皮腺:								
	腺腫 (良)	2	1	1	6				
	卵巢:								
腺癌 (悪)					1				
平滑筋肉腫 (悪)					1				
子宮:									
腺腫 (良)					1	1			
腺癌 (悪)					1				
平滑筋腫 (良)					1				
平滑筋肉腫 (悪)						1			
子宮内膜肉腫 (悪)					1			1	
膣:									
平滑筋肉腫 (悪)					1				
陰核腺:									
腺腫 (良)					1	1			

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-4 続き 腫瘍性病変 (全動物) (ラット 2-4)

性別	雄				雌				
	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
用量(ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
所見/検査動物数	56	56	56	56	56	56	56	56	
全動物	内分泌系								
	下垂体:								
	前葉腺腫 (良)	7	5	3	2	12	24*	13	13
	前葉腺癌 (悪)					1			
	甲状腺:								
	乳頭状腺腫 (良)		1		2				
	明細胞腺腫 (良)	10	5	6	5	4	5	1	2
	明細胞腺癌 (悪)				2	1			2
	副腎:								
	皮質腺腫 (良)					1	1	1	
	褐色細胞腫 (良)	5	4	5	5	4	1	1	1
	悪性褐色細胞腫 (悪)	1						1	
	神経節神経腫 (良)	1							
	神経系								
	脳室上衣腫 (良)		1						
	悪性神経鞘腫 (悪)			1		1			
	神経膠腫 (良)								1
	悪性神経膠腫 (悪)							2	
	皮膚・皮下・乳腺								
	乳腺: 線維腺腫 (良)	1		2	1	4	4	3	
	腺腫 (良)					1	1	2	2
	腺癌 (悪)						1		1
	乳頭腫 (良)				1	1			
	線維腫 (良)	7	7	2	2	1			
	脂肪腫 (良)		1						
	平滑筋	1							
	扁平上皮癌 (悪)	2	3	2		2	1		
	線維肉腫 (悪)		2	2					
	基底細胞癌 (悪)					1			
	悪性組織球腫 (悪)								1
	血管肉腫 (悪)		1						
	未分化肉腫 (悪)				1				
運動器系									
骨肉腫 (悪)							1		
その他									
腹腔:									
中皮腫 (良)	1								
悪性中皮腫 (悪)			2	2					
未分化肉腫 (悪)				1					

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

(2) ペンシクロンのマウスにおける 24 ヶ月慢性/発がん性毒性試験

(毒性資料 No. 原体-20)

試験機関：

報告年月日： 1981年11月26日

検体の純度：

試験動物： マウス Crj-ICR系 雌雄 開始時5週齢 各群各80匹

(内10匹は52週に中間屠殺)

試験期間： 2年間 (1978年11月～1980年12月)

試験方法：

ペンシクロンを 0、50、500、5000ppm になる様粉末飼料に混合添加し、1 ケージあたり 4 匹ずつ収容した動物に、24 ヶ月にわたり自由に摂取させた。飼料は週 2 回調製した。

試験項目および結果：

一般観察：

試験期間中毎日、動物の健康状態の観察を行なった。

試験期間を通して検体起因の症状の発現は、いずれの投与群でも認められなかった。

死亡率：

試験期間中の累積死亡動物数を以下に示す。

投与群 (ppm)		0	50	500	5000
死亡数 (%)	雄	51 (73)	59 (84)	57 (23)	53 (81)
	雌	51 (73)	46 (66)	54 (77)	44 (63)

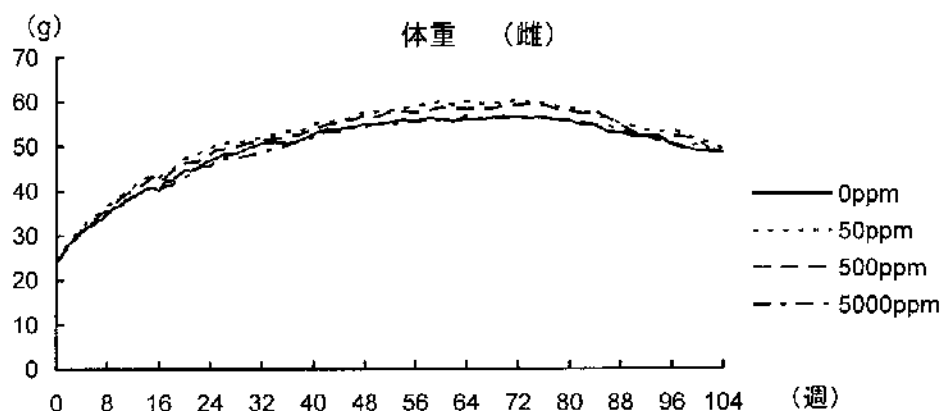
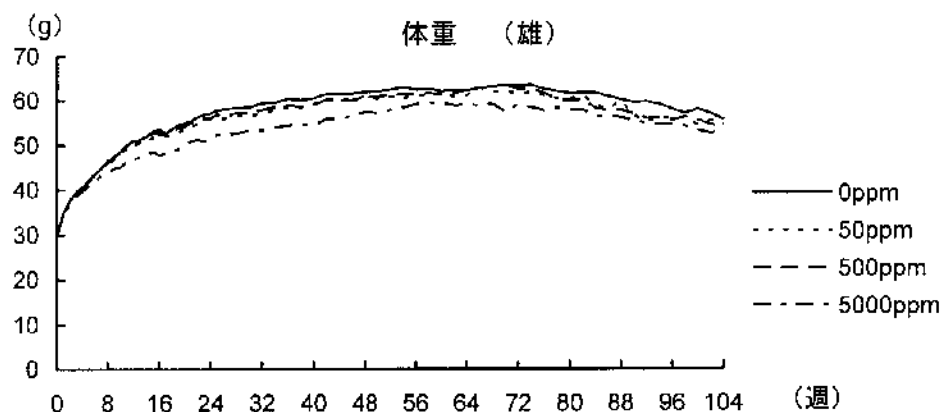
この結果より、検体投与に起因した死亡率の変動は認められなかった。

体重変化：

体重を試験開始後 26 週までは週 1 回、以後は隔週に 1 回測定した。

5000ppm 投与群の雄の体重が、投与開始後 3 週目から試験終了時までの期間、対照群と比較して軽度ではあるが継続的に低値を示した。

その他の投与群では、検体投与に関連づけられる体重の変化を認めなかった。



摂餌量および食餌効率；

飼料摂取量および食餌効率においては試験期間を通して、投与群と対照群との間に検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

検体摂取量；

各投与群の試験期間中の検体摂取量 (mg/kg/日) を下表に示す。

投与薬量 (ppm)		50	500	5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.42	42.9	468
	雌	4.23	44.1	465

飲水量；

週2回測定した。

ほぼ全試験期間を通じて、5000ppm 投与群の雌雄で対照群に比して軽度により高い値を示した。

尿検査；

中間屠殺動物で 51 週、主群動物で 103 週に下腹部圧迫法により採尿し、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血および比重の検査をした。

その結果、いずれの項目においても、検体投与に起因した変動は認められなかった。

血液学的検査；

試験開始後 52 および 104 週時に各群雌雄各 10 匹を用い、後大静脈よりヘパリン処理をした注射筒を用いて採血し、ヘマトクリット値 (Ht)、ヘモグロビン量 (Hb)、赤血球数、白血球数、血小板数、白血球百分率を、さらに 104 週時に平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC) の検査を行なった。

その結果、雄では、104 週時の検査で、500 および 5000ppm 投与群の MCHC が投与薬量と相関して有意に高い値を示した。また雌でも、5000ppm 投与群において、104 週間投与後に MCHC の上昇を認めた。しかし、対照群との差は有意ながら軽度なものであり、他の検査項目で異常を裏付ける結果が得られなかったことから、偶発的所見と考えられた。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄						雌					
	52 週			104 週			52 週			104 週		
検査週	ppm			ppm			ppm			ppm		
項目	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
ヘマトクリット					↓ 84							
赤血球					↓ 81							
ヘモグロビン										↑ 114		↑ 109
MCH					↑ 110	↑ 107						
MCHC					↑ 106	↑ 107						↑ 104
血小板									↓ 76			

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

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

血液生化学的検査；

血液学的検査と同様の動物の血漿を用い総蛋白、アルカリフォスファターゼ (ALP)、グルコース、血液尿素窒素 (BUN)、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)、総コレステロール、Ca を測定した。

その結果、52 週時の検査で、雄の 5000ppm 投与群にグルコースの上昇、雌

で 500ppm 以上の投与群で総蛋白量の低下を認めた。

しかしこの結果は、対照群との差も小さく、経時的な関連性もみられず、また、他の検査でも異常を裏付ける結果が得られなかったことから偶発的所見とみなされた。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄						雌						
	検査週		52 週		104 週		52 週		104 週				
項目	ppm	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
グルコース				↑ 117									
総蛋白								↓ 91	↓ 89				
BUN								↑ 117					
Ca								↓ 91				↓ 94	
ALP												↑ 158	
T-CHO													↑ 146

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

↑ ↓ : p < 0.05, ↑ ↓ : p < 0.01, ↑ ↑ ↓ ↓ : p < 0.001 (Student t-検定)

剖検；

試験開始後 52 週の途中検査動物、主群動物、途中死亡・切迫殺動物のいずれにも、検体投与に関連する肉眼的な異常は認められなかった。

臓器重量；

途中検査動物と試験終了時の生存全動物、および一部を除く切迫殺動物について、脳、脳下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、心、肺、肝（胆嚢を含む）、腎、脾、副腎、生殖腺（卵巣・精巣）、骨格筋（下腿三頭筋）の重量を測定した。

さらに、投与開始 58 週時までに切迫殺された動物については、可能な限り、胸腺の重量も測定した。

その結果、5000ppm 群で体重増加抑制に伴った変動として雄の腎の重量低下（104 週時）および精巣の対体重比増加（52 週時）がみられた。又 5000ppm 群の雌では卵巣の重量および対体重比の低下（52 週時）がみられ、この変化は、組織学的検査で検体の作用を疑う所見が得られなかった事と生理学的に重量増減の著しい臓器であるという点から偶発的なものとみなされた。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄						雌					
検査週		52週			104週			52週			104週		
項目	ppm	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000	50	500	5000
心	実重量		↓85										
	対体重比		↓88										
肺	実重量		↓↓83	↓87									
	対体重比		↓87										
腎	実重量						↓90						
精巣	対体重比			↑113									
卵巢	実重量											↓66	
	対体重比							↓67		↓66			

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

↑ ↓ : p < 0.05, ↑ ↓ : p < 0.01, ↑ ↑ ↓ ↓ : p < 0.001 (Student t-検定)

#### 病理組織学的検査；

試験に供した全動物について、病理組織学的検査を前記の重量測定を行なった臓器・組織に加え、唾液腺、食道、胃、十二指腸、脾、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、精巣上体・前立腺・精囊・凝固腺（雄）、子宮（雌）、眼球、内涙腺、骨、骨髄（胸骨、大腿骨）および肉眼的異常部位を採取し、さらに口腔（頬部粘膜、歯槽）、舌、咽頭、喉頭、気管、胸大動脈、乳腺（下腹部）、皮膚（腰背部）、リンパ節（頸部、腸間膜）、頭部（鼻腔、副鼻腔、中耳を含む）、膝関節、脊髄（頸、胸、腰部）および坐骨神経も可能な限り採取して病理組織学的に検査した。

病理組織学的検査の結果、5000ppm 投与群の雄において、びまん性肝細胞腫大・変性像の発生頻度と程度が軽度ながら上昇した。臓器重量では肝に異常は認められなかったが、本試験と平行して行なった本検体のラットを用いた慢性毒性試験（毒性資料 No. 原体-19）でも、肝において形態学的変化がみられており、マウスにおいても肝に対して本検体がこの系統のマウスに散発的にみられる背景病変をより増強したものと推察した。

本試験において観察された腫瘍性病変に関しては、文献<sup>1)</sup>上報告されている本系統のマウスの自然発生腫瘍と比較して差異はなく、その種類および発生頻度に検体の影響は認められなかった。

本薬剤による腫瘍発生頻度を表に示すと以下の通りである。

	濃度群 ppm	雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
	検査 動物数	70	70	70	70	69	70	70	70
腫瘍数	良性	54	30	38	26	26	27	16	25
	悪性	33	43	46	39	54	47	40	45
	合計	87	73	84	65	80	74	56	70
担腫瘍 動物数	良性	41	25	29	20	19	20	15	19
	悪性	27	34	33	31	41	35	32	38
担腫瘍動物数		52	48	51	43	49	47	38	49

死亡、切迫殺動物を含む

以上の結果より、雄では 5000ppm 群で体重増加抑制、肝における病理組織学的変化がみられ、雌では本剤に起因する所見は認められなかった事から、本試験における無毒性量を雄 500ppm (42.9mg/kg/日)、雌 5000ppm (465mg/kg/日) と判定した。本検体に発がん性は認められなかった。

<sup>1)</sup> Percy D. H. and A. M. Jonas: Incidence of spontaneous tumors in CD-1 Ham/ICR mice. Journal of the National Cancer Institute, Vol. 46, pp. 1045-1065, 1971



(補足説明)

ラットおよびマウスを用いた亜急性、慢性毒性試験の結果、その無毒性量および中毒量に動物種間で、また試験期間により差が認められたので考察を加える。ラットとマウスを用いた亜急性毒性と慢性毒性試験での無毒性量と中毒量を表に要約する。

試験	性	無毒性量	最小中毒量	確実中毒量
ラット亜急性 (毒性資料 No. 原体-12)	♂	400	2,000	10,000
	♀	400	2,000	10,000
ラット慢性 (毒性資料 No. 原体-17)	♂	50	500	5000
	♀	500	5000	—
マウス亜急性 (毒性資料 No. 原体-13)	♂	2,000	10,000	—
	♀	80	400	10,000
マウス慢性 (毒性資料 No. 原体-18)	♂	500	5000	—
	♀	5000	—	—

単位は ppm

上表のように、ラットでの無毒性量は 50～500ppm、マウスでは 80～5000ppm と、試験により大きな差異が示されているが、その差異を詳細に解析してみると、結論的には、体重の増加量と肝重量の増加の 2 点が無毒性量決定の重要な因子となっている。一方、血液学的検査、血液生化学的検査または病理組織学的検査の結果は、マウスとラットの種間および雌雄間には大きな差異は認められていないといえる。

ところで、最大無毒性量が試験毎に変動する因子として ①明らかな標的臓器や薬理作用を有するか否か、②薬剤の作用として判断する時の客観性、③用量段階での公比の大きさ等が考えられる。たとえば、有機リン剤であれば、コリンエステラーゼ活性の阻害という薬理作用を有し、その無毒性量等の判定根拠もほぼ客観的に示されうる。さらに、用量－作用の相関性も比較的高く再現性も高い。しかし、本剤では上表のように、用量設定の公比の範囲を越えて変動している。このことは、ペンシクロンの作用が急性毒性を含め比較的緩いもので、各試験でみられた肝に対する作用も特異的作用によるものとはいえず、従って明らかな標的臓器とはいえず、影響を決定する根拠も明らかな用量相関性から導き出されているとはいえず。また、公比も 5～10 と比較的大きく設定されて用量段階の違いにより数値に大きな開きが出てくる。これらのことが、無毒性量が試験によって大きく変動している要因であると考えられる。

そこで、これらを考慮して個々の試験について見た場合、

- 1) ラットの亜急性毒性試験では、体重増加量の抑制と肝重量の増加が無毒性

量決定の要因となっている。体重増加抑制は、雌の 2,000ppm 群以上でみられるが、雄では 10,000ppm 群でもみられていない。一方肝重量の増加は雌で 10,000ppm 群で、雄で 2,000ppm 群以上でみられるが、病理組織学的には 2,000ppm 群でいずれも質的変化を示唆する所見は得られておらず、薬剤に対する感受性が雌雄で本質的に異なるとは考え難い。

- 2) ラット慢性毒性試験では、体重増加量に雌雄間の差はみられず、肝重量についてのみ若干の差異をみている。この差の程度も、中間検査と最終検査の 4 回の検査結果に一致した変化ではなく、最高投与量群 (5000ppm) では常に増加傾向を示しているが、500ppm 群では雄のみにある時期に増加傾向がみられる程度であり、また病理組織学的にも変化が認められていないことから、本試験においても敢えて性差について言及するほどの差異があるものとは判断できない。これら 2 つの試験からラットでは性差はないものと考えられ、また試験期間の長短による毒性発現の質的・量的変化もないものと考えられる。
- 3) マウスの亜急性毒性試験では、その無毒性量は雄で 2000ppm、雌で 80ppm と大きな差を示しているが、これは肝重量の増加が決定要因になっている。しかし、肝重量増加の傾向は 400ppm から雌雄で認められており、無毒性量の差は統計学的有意性判定に基づくもので、400ppm 群の雌の体重がやや少ないことに起因し、雌では 400ppm でも肝重量に有意な増加がみられたものである。本試験結果をみる限り、雌雄間に若干の差はあるものと判断されるが、本薬剤の肝への影響は雌雄の共通の所見であり、作用性に質的差があるものでなく、雌の 400ppm の評価そのものは偶発的なものと考えた方が良いと思われる。
- 4) マウス慢性毒性試験では、主として体重増加量の差異により無毒性量が決定されて、雄で 500ppm、雌で 5000ppm となっている。本試験では試験開始早期より雄で体重増加の抑制がみられているが、マウス亜急性試験では 10000ppm でも体重の変化は認められず、不一致がみられる。これは別個の試験であり、この両試験間での比較は困難である。  
本試験のみ考察すれば、結論としては性差は認められないといえる。なぜなら、雌雄ともに 5000ppm 群は他の群よりも体重増加量は劣っており、雌では対照群の体重増加量が雄の場合よりやや低かったため (グラフ上で) 有意差を示さなかったと考えた方が良く、雌雄とも同じ傾向を示しているといえる。また、臓器重量や病理学的検査結果から雌雄間に本薬剤の作用性の質的差異を示す結果は得られていない。

以上のように、マウス並急性毒性試験で雌にやや薬剤に対する強い感受性が示唆されるものの他の試験からは性差は認められず、結論として性差はないものと判断される。また、ラットとマウスの間には種差があると判断できる具体的な検査結果や所見はなく、種差に関しても差はないものと考えられる。

同様に試験期間により、ペンシクロンの作用性に質的变化を示す結果は得られておらず、冒頭に述べた如く、本薬剤の毒性学的作用性は緩やかで、高用量の連続投与により、体重の抑制や肝重量の増加は認められるものの、ラット、マウスの違い、雌雄を問わず、各種臓器に対し、重大な影響を生じせしめることはないものと考えられる。

表 1-1 主な非腫瘍性病変 (中間屠殺動物・52/53 週) (マウス 1-1)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
中 間 屠 殺 動 物  52 ・ 53 W	腎:								
	糸球体硬化症	9	9	10	7	10	5*	9	5*
	尿細管拡張	1		2	4	2	2		
	腎盂拡張	1		2	1				1
	肝:								
	グリソン氏鞘アミロイド沈着	2	2				1	1	1
	小葉中心性肝細胞脂肪化	5	7	8	6				
	肝細胞巣状壊死			1	1	8	2*	5	2*
	肝細胞結節性増生		1	1	1				
	褐色色素沈着細胞集簇					2		2	
	小円形細胞集簇					1	1	2	
	甲状腺:								
	限局性小胞拡張	1	3	2	1	2	2		2
	間質アミロイド沈着	4	2	*	2	1	4	2	4
	副腎:								
	皮質繊維性細胞増生	4	3	2	3	10	9	8	9
	皮髄境界部アミロイド沈着	2	1				2	3	2
	皮髄境界部褐色色素沈着	3	6	3	2	3	1	1	1
	胸腺:								
	リンパ球過形成		2	1		3	3	4	4
	胃:								
	腺胃粘膜上皮過形成	9	7	10	8	7	6	7	5
	粘膜固有層アミロイド沈着	2	1		3	2	4	2	4
	小腸:								
	粘膜固有層アミロイド沈着	6	3	1*	5	2	6	3	4
	精のう:								
	腺腔拡張	2	2	1	3				
	卵巣:								
アミロイド沈着					1	4	1	3	
子宮:									
腺腔拡張					5	4	2	3	
アミロイド沈着						2	2	3	
膀胱:									
粘膜固有層小円形細胞集簇					2	3	3	3	

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 1-2 主な非腫瘍性病変 (死亡・切迫屠殺動物)

(マウス 1-2)

性別		雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		51	59	57	53	50	46	54	44
死 亡 ・ 切 迫 屠 殺 動 物	腎:								
	糸球体硬化症	24	31	37*	32	30	24	28	25
	肝:								
	小葉中心性肝細胞脂肪化	6	4	2	3				4
	ビマン性肝細胞腫大・変性	1		3	6				
	肝細胞巣状壊死		2	2	2	8	4	3	**
	肝細胞結節性増生	3	5	6	4	4	2	1	5
	褐色色素沈着細胞集簇		2	1		6	1	2	2
	小円形細胞集簇		1	2	1	7	6	8	1*
	脾:								
	髓外性造血亢進	9	16	20*	7	13	14	15	9
	リンパ球過形成	5	6	6	2	3	4	10*	5
	甲状腺:								
	限局性小胞拡張	22	28	31	22	23	16	24	16
	副腎:								
	皮質繊維性細胞増生	27	28	33	25	37	34	38	30
	皮髄境界部褐色色素沈着	20	27	19	8**	7	4	6	3
	胸腺:								
	リンパ球過形成	7	5	5	1*	5	7	6	5
	唾液腺:								
	小円形細胞集簇	15	10	19	8	19	17	25	17
	胃:								
	腺胃粘膜上皮過形成	26	38	37	26	21	26	25	15
	膵:								
	膵島細胞過形成	12	10	6	1*		1	2	1
	精巣:								
	精子形成低減	13	19	20	14				
	限局性精細管壊死	7	12	9	7				
精のう:									
腺腔拡張	35	39	38	36					
凝固腺:									
腺腔拡張	28	32	22	20					
卵巢:									
のう胞形成					18	16	26	15	
萎縮					14	9	12	12	
子宮:									
腺腔拡張					35	29	34	22*	
膀胱:									
拡張	32	32	36	40	1	1			

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 1-3 主な非腫瘍性病変 (最終屠殺動物) (マウス 1-3)

性別	雄				雌				
	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
所見/検査動物数	19	11	13	17	19	24	16	26	
最終屠殺動物	脊髄:								
	神経線維変性	11	4	6	9	8	16	7	16
	末梢神経:								
	神経線維変性	9	8*	8	12*	9	13	10	16
	腎:								
	糸球体硬化症	12	3	9	14	12	15	15*	15
	肝:								
	小葉中心性肝細胞脂肪化	3	1	5	3				
	ビマン性肝細胞腫大・変性	1	1	3	4	1	2	1	
	肝細胞巢状壊死		1			1	2	1	3
	肝細胞結節性増生	1	1		2	1	1	2	2
	褐色色素沈着細胞集簇				1	1	2	1	
	小円形細胞集簇	2	2			5	5	2	3
	脾:								
	髄外性造血亢進	1	1	1		1	4	4	4
	リンパ球過形成	2	1	1	3	3	8	5	8
	下垂体:								
	前葉腺細胞過形成								4
	甲状腺:								
	限局性小胞拡張	8	7	6	10	12	12	9	11
	副腎:								
	皮質繊維性細胞増生	9	6	9	6	15	20	14	23
	胸腺:								
	のう胞形成	2	4	2	3	3	5	4	4
	リンパ球過形成	2		1	1	5	2	1	5
	胃:								
	腺胃粘膜上皮過形成	16	11	9	14	10	6	6	10
	精巣:								
精子形成低減	6	1	4	4					
卵巢:									
のう胞形成					8	16	10	10	
萎縮					7	5	8	10	
子宮:									
腺腔拡張					16	21	26	25	
膀胱:									
粘膜固有層小円形細胞集簇			1	1	9	14	9	10	
骨髓:									
造血亢進	13	6	7	11	3	5	3	4	
造血低減					8	8	4	9	

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 1-4 主な非腫瘍性病変 (全動物)

(マウス 1-4)

	性別	雄				雌			
		用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500
所見/検査動物数		70	70	70	70	69	70	70	70
全動物	脊髄:								
	神経線維変性	27	13**	14*	17	23	27	26	27
	脱髄	10	6	9	14	4	1	2	4
	末梢神経:								
	神経線維変性	15	12	12	13	18	15	16	26
	腎:								
	糸球体アミロイド症	8	10	7	6	3	4	5	3
	アミロイド腎症	13	14	11	11	18	18	14	14
	糸球体硬化症	36	34	46	46	42	39	43	40
	尿細管拡張	20	20	19	13	5	7	3	10
	腎盂拡張	17	13	17	11	14	7	11	10
	心:								
	間質アミロイド沈着	17	13	11	13	20	19	14	13
	肝:								
	グリソン氏鞘アミロイド沈着	15	15	13	10*	14	14	15	10
	小葉中心性肝細胞脂肪化	9	5	7	6				4
	ビマン性肝細胞腫大・変性	2	1	6	10	1	2	1	
	肝細胞巣状壊死		3	2	2	9	6	4	3
	肝細胞結節性増生	4	6	6	6	5	3	3	7
	髓外性造血	5	4	5	4	9	10	5	7
	褐色色素沈着細胞集簇		2	1	1	7	3	3	2
	小円形細胞集簇	2	3	2	1	12	11	10	4*
	脾:								
	赤皮髄アミロイド沈着	11	11	6	7	8	9	4	4
	髓外性造血亢進	10	17	21*	7	14	18	19	13
	リンパ球過形成	7	7	7	5	6	12	15*	13
	肺:								
肺胞壁アミロイド沈着	9	12	9	7	6	4	3	2	
甲状腺:									
限局性小胞拡張	30	35	37	32	35	28	33	27	
間質アミロイド沈着	14	14	6*	10	20	18	15	13	
副腎:									
皮質繊維性細胞増生	36	34	42	31	52	54	52	53	
皮髄境界部アミロイド沈着	16	15	9	10	18	14	14	11	
皮髄境界部褐色色素沈着	30	30	22	11**	13	11	9	4*	
胸腺:									
リンパ球過形成	9	5	6	2*	10	9	7	10	

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 1-4 続き 主な非腫瘍性病変 (全動物) (マウス 1-4)

性別	雄				雌				
	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
所見/検査動物数	70	70	70	70	69	70	70	70	
全動物	唾液腺:								
	小円形細胞集簇	24	12*	21	14*	29	26	33	25
	胃:								
	腺胃粘膜上皮過形成	42	49	46	40	31	32	31	25
	膵:								
	膵島細胞過形成	13	11	6	2**	1	1	3	1
	小円形細胞集簇	1	1		1	3	6	6	6
	精巣:								
	精子形成低減	19	20	24	18				
	限局性精細管壊死	9	13	10	10				
	間質細胞増生	1	4	6	6				
	精のう:								
	腺腔拡張	53	50	50	52				
	凝固腺:								
	腺腔拡張	41	41	31	32				
	卵巣:								
	アミロイド沈着					14	15	17	11
	のう胞形成					26	32	36	25
	萎縮					21	14	20	22
	子宮:								
	腺腔拡張					51	50	60	47
	アミロイド沈着					16	16	15	13
	膀胱:								
	粘膜固有層小円形細胞集簇		3	2	1	17	24	23	18
	拡張	36	34	39	43	1	1		
	リンパ節:								
	アミロイド沈着	13	11	12	10	9	13	14	9
	リンパ球過形成	7	2	3	3	1	2	1	1
細網細胞過形成	1	1	3	1	2			3	
形質細胞過形成		3	3		1			1	
リンパ節炎	2	1	1	1		1	2	1	
洞拡張	2	5		1	3	4	5	1	
動脈炎	1	2			4	2	2	3	
骨髄:									
造血亢進	28	29	33	31	20	23	17	18	
造血低減		1			9	8	4	10	

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)



表 2-1 腫瘍性病変（中間屠殺動物・52/53 週）

（マウス 2-1）

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
中間屠殺動物	肝：								
	肝細胞腺腫（良）	3		2					
	肺：								
	腺癌（悪）	2	3		1	1			
	内涙腺：								
	腺腫（良）	1	1		1				
	全身性：								
	細網肉腫（悪）								1

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-2 腫瘍性病変 (死亡・切迫屠殺動物)

(マウス 2-2)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		51	59	57	53	50	46	54	44
死 亡 ・ 切 迫 屠 殺 動 物	胸腺:								
	胸腺腫 (良)	1							
	リンパ肉腫 (悪)		1	1					1
	細網肉腫 (悪)		1				1		
	脾:								
	血管腫 (良)	1		1		3	1		1
	血管肉腫 (悪)				1				
	細網肉腫 (悪)					1	1	1	
	リンパ節:								
	血管腫 (良)		1						
	細網肉腫 (悪)		1	1	1			1	
	造血器系腫瘍 (分類不能)								
	(悪)				1				
	骨髓:								
	細網肉腫 (悪)							1	
	全身性:								
	リンパ肉腫 (悪)	3	7	9	4	5	4	7	9
	細網肉腫 (悪)		4	3	6*	14	8	4**	11
	骨髓性白血病 (悪)	1		1	5	4	4	1	3
	肥満細胞腫 (悪)							3	
	造血器系腫瘍 (分類不能)			1					
	肺:								
	腺腫 (良)	7	1*	6	4	2		3	4
	血管腫 (良)					1			
	腺癌 (悪)	11	13	15	10	9	5	8	4
	小腸:								
	腺腫 (良)	1					1		
	腺癌 (悪)		1		1				
	膵:								
	膵島細胞腺腫 (良)			1					
肝:									
肝細胞腺腫 (良)	11	14	10	8	2			1	
血管腫 (良)	3		2	1	1	1		2	
肝細胞腺癌 (悪)	4	2	4						
肝芽細胞腫 (悪)	1	2	2						
腎:									
腺癌 (悪)		2							
膀胱:									
移行上皮癌 (悪)		1							

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-2 続き 腫瘍性病変 (死亡・切迫屠殺動物)

(マウス 2-2)

	性別	雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
	用量 (ppm)	0	50	500	5000	0	50	500	5000
	所見/検査動物数	51	59	57	53	50	46	54	44
死 亡 ・ 切 迫 屠 殺 動 物	精巣:								
	血管腫 (良)		1						
	間細胞腫 (良)	2	1						
	凝固腺:								
	腺腫 (良)	1		1					
	尿道球腺:								
	腺腫 (良)			1					
	卵巣:								
	血管腫 (良)					1		1	
	腺腫 (良)						1		1
	顆粒膜細胞腫 (良)							1	
	莖膜細胞腫 (良)								1
	のう腫 (良)						1		
	子宮:								
	腺腫 (良)					1	1	1	
	平滑筋肉腫 (悪)					1			
	内膜肉腫 (悪)						1		1
	乳腺:								
	腺癌 (悪)					4	3	1	4
	下垂体:								
	前葉腺腫 (良)					2		2	2
	甲状腺:								
	腺腫 (良)	1					1		
	副腎:								
	褐色細胞腫 (良)				1				
	皮質腺腫 (良)						1		
	骨格筋:								
	血管腫 (良)	1							
	皮膚:								
血管腫 (良)			1		1	2			
基底細胞癌 (悪)					1	1	1		
線維肉腫 (悪)						1		1	
平滑筋肉腫 (悪)					1				
線維性組織球腫 (良)				1					
悪性線維性組織球腫 (悪)							1		
腹膜:									
血管腫 (良)					1				
血管肉腫 (悪)					1				
内涙腺:									
腺腫 (良)	5	5	7	5	2		2	4	

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-3 腫瘍性病変 (最終屠殺動物)

(マウス 2-3)

性別		雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		19	11	13	17	19	24	16	26
最 終 屠 殺 動 物	胸腺:								
	細網肉腫 (悪)						1		
	脾:								
	血管腫 (良)	1	1				1		
	細網肉腫 (悪)			1		2	2		
	リンパ節:								
	リンパ肉腫 (悪)					1			
	血管腫 (良)	1	1						
	細網肉腫 (悪)	1	2	1			1		
	骨髓:								
	血管腫 (良)			1					
	全身性:								
	リンパ肉腫 (悪)	2			1	2			
	細網肉腫 (悪)	1			1		3	3	2
	肥満細胞腫 (悪)	1							
	肺:								
	腺腫 (良)	1			2	2	2	1	
	血管腫 (良)						1		
	腺癌 (悪)	8	4	6	5	6	9	6	6
	小腸:								
	パイエル氏板細網肉腫 (悪)				1			1	
	肝:								
	肝細胞腺腫 (良)	7	3	2	1*		3	2	1
	血管腫 (良)						1		
	肝細胞腺癌 (悪)				2		1		
	腎:								
腎盂移行上皮癌 (悪)		1							
腎芽腫 (悪)								1	
膀胱:									
移行上皮癌 (悪)		1	1						
精巣:									
血管腫 (良)			1						
卵巣:									
血管腫 (良)						1		1	
腺腫 (良)						1		1	
卵巣:									
顆粒膜細胞腫 (良)						1			
のう腫 (良)								1	

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-3 続き 腫瘍性病変 (最終屠殺動物)

(マウス 2-3)

性別		雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		19	11	13	17	19	24	16	26
最 終 屠 殺 動 物	子宮:								
	血管腫 (良)					1	1		
	平滑筋腫 (良)					2	1		2
	平滑筋肉腫 (悪)							1	
	乳腺:								
	腺癌 (悪)						1		
	下垂体:								
	前葉腺腫 (良)							1	
	前葉腺癌 (悪)					1			
	甲状腺:								
	腺腫 (良)	1				1			1
	副腎:								
	褐色細胞腫 (良)	1			1				
	皮質腺腫 (良)	1							
	未分化肉腫 (悪)					1			1
	心:								
	血管腫 (良)			1					
	皮膚:								
	平滑筋腫 (良)						1		
	血管腫 (良)	1				1		1	
汗腺腺腫 (良)								1	
線維肉腫 (悪)								1	
内涙腺:									
腺腫 (良)	6	2	3	2	2	3	1	1	

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-4 腫瘍性病変 (全動物)

(マウス 2-4)

性別	雄				雌				
	0	50	500	5000	0	50	500	5000	
用量 (ppm)	70	70	70	70	69	70	70	70	
所見/検査動物数	70	70	70	70	69	70	70	70	
全動物	胸腺:								
	胸腺腫 (良)	1							
	リンパ肉腫 (悪)		1	1				1	
	細網肉腫 (悪)		1			2			
	脾:								
	血管腫 (良)	2	1	1		3	2	1	
	血管肉腫 (悪)				1				
	細網肉腫 (悪)			1		3	3	1	
	リンパ節:								
	リンパ肉腫 (悪)					1			
	血管腫 (良)	1	2						
	細網肉腫 (悪)	1	3	2	1		1	1	
	造血器系腫瘍 (分類不能) (悪)				1				
	骨髓:								
	血管腫 (良)			1					
	細網肉腫 (悪)						1		
	全身性:								
	リンパ肉腫 (悪)	5	7	9	5	7	4	7	9
	細網肉腫 (悪)	1	4	3	7*	14	11	7	13
	骨髓性白血病 (悪)	1		1	5	4	4	1	3
	肥満細胞腫 (悪)	1						3	
	造血器系腫瘍 (分類不能) (悪)			1					
	肺:								
	腺腫 (良)	8	1*	6	6	4	2	4	4
	血管腫 (良)					1	1		
	腺癌 (悪)	19	17	21	15	15	14	14	10
	小腸:								
	腺腫 (良)	1					1		
	腺癌 (悪)		1		1				
	パイエル氏板細網肉腫 (悪)				1			1	
膵:									
膵島細胞腺腫 (良)			1						
肝:									
肝細胞腺腫 (良)	18	17	12	9*	2	3	2	2	
血管腫 (良)	3		2	1	1	2		2	
肝細胞腺癌 (悪)	4	2	4	2		1			
肝芽細胞腫 (悪)	1	2	2						

\*: p<0.05、 \*\*: p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-4 続き 腫瘍性病変 (全動物)

(マウス 2-4)

性別	雄				雌			
	0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数	70	70	70	70	69	70	70	70
全動物	腎:							
	腺癌 (悪)		2					
	腎盂移行上皮癌 (悪)		1					
	腎芽腫 (悪)							1
	膀胱:							
	移行上皮癌 (悪)		2	1				
	精巣:							
	血管腫 (良)		1	1				
	間細胞腫 (良)	2	1					
	凝固腺:							
	腺腫 (良)	1		1				
	尿道球腺:							
	腺腫 (良)			1				
	卵巢:							
	血管腫 (良)					1	1	1
	腺腫 (良)						2	2
	顆粒膜細胞腫 (良)					1	1	
	莢膜細胞腫 (良)							1
	のう腫 (良)						1	1
	子宮:							
	腺腫 (良)					1	1	1
	血管腫 (良)					1	1	
	平滑筋腫 (良)					2	1	2
	平滑筋肉腫 (悪)					1		1
	内膜肉腫 (悪)						1	1
	乳腺:							
	腺癌 (悪)					4	4	1
	下垂体:							
	前葉腺腫 (良)					2		3
	前葉腺癌 (悪)					1		
甲状腺:								
腺腫 (良)	2				1	1	1	
副腎:								
褐色細胞腫 (良)	1			2				
皮質腺腫 (良)	1					1		
副腎:								
未分化肉腫 (悪)					1		1	
心:								
血管腫 (良)			1					

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

表 2-4 続き 腫瘍性病変 (全動物)

(マウス 2-4)

性別		雄				雌			
		0	50	500	5000	0	50	500	5000
用量 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
所見/検査動物数		70	70	70	70	69	70	70	70
全 動 物	骨格筋:								
	血管腫 (良)	1							
	皮膚:								
	平滑筋腫 (良)						1		
	血管腫 (良)	1		1		2	2	1	
	汗腺腫 (良)								1
	基底細胞癌 (悪)					1	1	1	
	線維肉腫 (悪)						1		2
	平滑筋肉腫 (悪)					1			
	線維性組織球腫 (良)				1				
	悪性線維性組織球腫 (悪)							1	
	腹膜:								
	血管腫 (良)					1			
	血管肉腫 (悪)					1			
内涙腺:									
腺腫 (良)	11	7	10	7	4	3	3	5	

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)



(3) ペンシクロンのビーグル犬を用いた 12 ヶ月間給餌試験 (毒性資料 No. 原体-21)

試験機関 :

報告書作成年月日 : 1983 年 4 月 11 日

検体の純度 :

試験動物 : ビーグル犬雌雄 (試験開始時 17~34 週令、体重 雄 2.9~6.6kg、  
雌 3.9~6.6kg) 1 群雌雄各 6 匹

試験期間 : 12 ヶ月間 (投与期間 : 1981 年 5 月~1982 年 5 月)

試験方法 :

検体を 0 (対照群)、100、1000 及び 10000ppm となるように飼料に添加し、ペレット化したものを 1 日あたり 250g、12 ヶ月間投与した。飼料は 2 週間毎に調製した。

又、肝臓のチトクローム P-450 量、N-デメチラーゼ活性及びトリグリセライド濃度を投与終了時に測定した。

試験項目及び結果 :

一般観察 :

毎日午前中と午後に局所及び全身症状を検査したが、検体に起因する中毒症状は認められなかった。

死亡率 :

試験期間中、死亡例は認められなかった。

摂餌量及び検体摂取量 :

毎日測定し週毎に集計した。

各群の雄と 100ppm 群の雌の飼料摂取量は対照群と同様であったが、1000ppm 群と 10000ppm 群の雌の摂取量はわずかに減少した。

各群の検体摂取量(mg/kg/日)を下表に示す。

投与量(ppm)	雄	雌
0	-	-
100	3.15	3.23
1000	32.9	33.9
10000	324.0	354.5

体重；

週に1回測定した。

各群の体重増加量は対照群と同様であった。

眼検査及び聴覚検査；

試験開始前、3、6、9および12ヵ月後に検査した。

検体に起因する所見は各群共に認められなかった。

血液学的検査；

試験開始前、1、2、3、4、5、6、8、10及び12ヵ月に頸静脈から採血し、赤血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数、白血球百分率、網状赤血球数、血小板数、プロトロンビン時間 (PT) 部分トロンボプラスチン時間 (PTT) を測定した。

その結果、統計学的に有意な値の変化が散見されたが、投与薬量および投与期間に相関は認められず、検体に起因する変化は認められなかった。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄									
検査月		1	2	3	4	5	6	8	10	12	
項目	ppm										
赤血球	100		↑107								
	1000		▲111								
	10000	↑110	↑107	↑109						↑111	
Hb	10000	↑111		↑109		↑109				↑110	
	1000		↑109								
Ht	1000		↑109								
	10000					▲111				↑109	
MCHC	100	↑103									
	1000	▲104				↓98					
	10000	▲104					↑103				
血小板	100								↓71		
	1000		↑145					↑132			
網状赤血球	1000					▲256	↑193	↑225		↑286	
PT	100	↑109									
	1000		↓95	↓90						↓93	
	10000						↑107	↑106			
PTT	100						↓88			↓93	
	1000					↓91	↓88			↓90	
	10000	↓89		↓94		↓92	↓84			↓89	

表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの

↑↓ :  $p < 0.05$ , ▲▼ :  $p < 0.01$  (Student t-検定)

性別		雌									
検査月		1	2	3	4	5	6	8	10	12	
項目	ppm										
白血球	10000								↑166		
Hb	100			↑108							
	1000			↑107							
	10000						↑109				
Ht	100			↑107							
	1000			↑106							
MCHC	10000			↑102			↑102				
網状赤血球	100								↓50		
	1000								↓38		
PTT	100					↓94	↑115		↑109		
	1000	↓95				↓89					
	10000				↑108	↓92					

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

↑ ↓ : p<0.05, ▲ ▼ : p<0.01 (Student t-検定)

#### 血液生化学検査；

試験開始前、1、2、3、4、5、6、8、10 及び 12 ヶ月後に頸静脈から採血し、血糖、尿素、クレアチニン、総コレステロール量、総ビリルビン量、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)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、総蛋白、蛋白電気泳動、Na、K、Cl を測定した。試験終了時には肝のチトクローム P-450、N-デメチラーゼ、肝トリグリセリドも測定した。チトクローム P-450 の測定において、1000ppm 群と 10000ppm 群の雌雄動物に有意なわずかの増加を認めたが、肝の体重比重量に有意な変化がなかったことと組織学的な変化を伴わなかったことから、毒性学的な変化と考えなかった。

その他、各群のいくつかの検査項目に統計学的有意差が認められたが、毒性学的関連性のない変化と考えられた。

対照群と比べ有意差の認められた項目を次頁から示す。

性別		雄									
検査月		1	2	3	4	5	6	8	10	12	
項目	ppm										
血糖	100				↑107			↑106		▲111	
	1000	↑114		▲111	▲109		↑108	↑107	↑108	▲116	
	10000	↑113	▲110	▲120	▲109	↑110	▲110	▲111	▲111	▲111	
尿素	100		↓81				↓84				
クレアチニン	10000		▲119								
総ビリルビン	1000				↑140	↑168					
LDH	100						↑150				
	1000		↑142				↑154				
	10000						↑157				
GOT	100									↑127	
	1000									↑126	
GPT	100				↑185						
	10000					↑133					
ALP	10000							↑193	↑221	▲262	
Na	1000		▲103								
	10000				↑101				↑102		
K	10000			▼85		↓91		↓91			
Cl	100				▲105	▲104					
	1000				▲104						
	10000			↓98	▲103					↓98	
P-450	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	↑131	
	10000	-	-	-	-	-	-	-	-	▲251	
N-デメチラーゼ	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	↓73	
肝トリグリセリド	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	▲144	

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  
 - 検査せず

↑ ↓ : p < 0.05, ▲ ▼ : p < 0.01 (Student t-検定)

性別		雌									
検査月		1	2	3	4	5	6	8	10	12	
項目	ppm										
血糖	100			↑114							
尿素	100				↑126						
クレアチニン	100	↑115			↑118	↑112	↑117	▲121	↑123		
	10000			↑124							
総ビリルビン	100		↓63							↑128	
	1000		↓73								
	10000	↓55	↓69								
総蛋白	100					↓95	▲108				
	10000		↓94			↓93					
LDH	100	↓56					↑156			▲221	
	1000									▲225	
	10000						↑164			▲188	
GOT	100		▲129	↑124						↑137	
	1000		▲128								
GPT	100	↑142	↑165	↑190							
ALP	10000			▲182	↑179	↑173	▲206	▲244	▲219	▲247	
Na	100		↓97		↑101			▲102			
	1000		↓98		▲102			▲102	↑102		
	10000		↓98			↓99					
K	100				↑106		↑107	▲109			
	1000		↓93								
	10000	↑126			▲109			▲109			
Cl	100				▲105			↓97			
	1000				▲105	▲105	↓98				
	10000				▲104		↓99				
P-450	1000	-	-	-	-	-	-	-	-	↑138	
	10000	-	-	-	-	-	-	-	-	▲233	

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

- 検査せず

↑ ↓ :  $p < 0.05$ , ▲ ▼ :  $p < 0.01$  (Student t-検定)

尿検査：

試験開始前、1、2、3、4、5、6、8、10 及び 12 ヶ月に比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣について測定した。

各群とも検体に起因する異常所見は認められなかった。

剖検及び臓器重量：

試験終了時に動物を麻酔下で屠殺し、剖検し、脳、心、肝、腎、肺、下垂体、副腎、甲状腺（上皮小体を含む）、精巣及び卵巣の重量を測定し、対体重比、対脳重量比も求めた。

その結果、剖検によって検体に起因する所見は認められなかった。

雄の肝、心、甲状腺重量の有意な増加が認められたが、いずれも軽度の変動であり、生理的な変動と考えられ、検体投与に起因するものではないと思われた。

対照群と比べ有意差の認められた項目を下表に示す。

項目	ppm	雄			雌		
		実重量	対体重比	対脳重量比	実重量	対体重比	対脳重量比
心	100	↑116					
	1000	↑117				↑124	
	10000						
肝	100						
	1000	↑114				▲122	
	10000	▲117				↑121	
肺	100						
	1000					↑124	
	10000						
腎：右	100						
	1000					↑119	
	10000						
腎：左	100						
	1000					↑124	
	10000						
精巣：右	100						
	1000					↑119	
	10000						
甲状腺：右	100						
	1000					↑136	
	10000	↑150	▲133			▲154	
甲状腺：左	100					↑144	
	1000	↑143				▲157	
	10000	▲167	▲133			▲175	

有意差を認めなかった

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの  
 ↑ : p<0.05, ▲ : p<0.01 (Student t-検定)

組織学的検査；

試験終了時に、心、動脈、肺、気管、肝、腎、脾、胸腺、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、唾液腺、食道、胃、膵、胆嚢、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、乳腺、皮膚、骨格筋、大脳、小脳、延髄、脊髄、坐骨神経、眼、骨髄、膀胱、下垂体、肉眼的病変、舌を摘出し、組織学的に検査した。

いずれの組織にも検体投与に起因する所見は認められなかった。

以下に認められた主な病理組織学的所見を示す。

性別		雄				雌			
		0	100	1000	10000	0	100	1000	10000
用量(ppm)		0	100	1000	10000	0	100	1000	10000
所見/検査動物数		6	6	6	6	6	6	6	6
全動物	肺：								
	泡沫細胞集簇					1		1	1
	線虫			1				2	
	線維化	1	2		2	1	1		
	肝：								
	炎症巣	3	1	2	2	2	4		2
	グリコーゲン蓄積	5	5	4	5	5	6	5	5
	腎：								
	円形細胞浸潤	3	2	1	3	3	5	2	2
	尿細管脂肪化	1				6	6	6	6
	脾：								
	硬性鉄沈着巣	2	1	1		1	3	1	
	髄外造血			2	2	1	1		
	胃：								
	粘膜出血				1				
	リンパ小節	2	6*	4	4	4	5	5	5
出血性びらん				1					
急性炎症		1		1		1			
胆のう：									
円形細胞浸潤	2	1	4	2	4	4	1	2	

\* : p<0.05、 \*\* : p<0.01 (Fisher 検定)

以上の検査した項目に、検体に起因する異常所見は認められず、無毒性量は10000ppm (雄 324.0mg/kg/日、雌 354.5mg/kg/日) であった。

## 10. 次世代に及ぼす影響

### (1) ペンシクロンのラットを用いた繁殖毒性試験 (毒性資料 No. 原体-22)

試験機関：

報告年月日：1981年8月4日

検体の純度：

試験動物：ラット SD系(Crj-CD) 1群雄30匹、雌30匹 (開始5週齢)

試験期間：1978年3月～1979年8月

投与期間

F0世代；投与開始からF1児離乳時までの約22週間

F1世代；離乳時からF2児離乳時までの約22週間

F2世代；離乳時から約13または14週間

試験方法：0、100、1000および10000ppm含有(添加)した飼料を3世代にわたって給餌した。なお、飼料は週1回、調製した。

試験項目：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

体重変化；週1回測定した。

摂餌量；1回目交配前まで、週2回測定した。

検体摂取量；交配前期間の1日当りの検体摂取量を計算した。

交配及び妊娠の確認；繁殖ケージに雌雄1対1で20日間同居させ、この間にトレイ上に落下した膣栓で交尾を確認し、妊娠0日とした。

なお、各2回交配し、出産3週間後の離乳時に第1産児(F1A, F2A)については屠殺し、検査対象とはせず、第2産児(F1B, F2B)の新生児を検査対象とした。

催奇形検査；F0世代では各群5匹、F1B世代では各群10匹について、交配させ、妊娠20日目にエーテル麻酔下で屠殺・開腹し、子宮及び卵巣を摘出して催奇形成検査に供した。



生後発育試験として F1B では離乳 13 週後に雌雄各 20 匹、F2B では 4 及び 8 週に雌雄各 5 匹、14 週後に全生存動物を、エーテル麻酔下で採血・屠殺して以下の項目について検査した。

血液学的検査；ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数

血清生化学的検査；アルカリフォスファターゼ (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)、血液尿素窒素 (BUN)、血糖、コレステロール、総蛋白質、乳酸脱水素酵素 (LDH)、総ビリルビン等 (検査時期により異なる)

臓器重量；以下の臓器重量を測定した。

脳、顎下腺、胸腺、心、肺、肝、腎、副腎、脾臓、生殖腺及び下垂体

病理組織学的検査；上記の臓器重量測定臓器に加え、甲状腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、骨髄、筋肉、膀胱、膝、腸間膜リンパ節及び食道を 10% 中性緩衝ホルマリンに固定し、病理組織学的検査を行った。

尿検査；新鮮尿について、ウロビリノーゲン、ケトン体、潜血、糖、蛋白質を測定した。

繁殖性に関する指標：

$$\text{交尾率 (\%)} = \frac{\text{交尾雌数}}{\text{使用雌数}} \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = \frac{\text{出産雌数}}{\text{交尾雌数}} \times 100$$

$$\text{哺育率 (\%)} = \frac{\text{離乳児数}}{\text{同腹生存児数}} \times 100$$

試験の概要を下表に示す。

世代	期 間	作業手順	試験項目
P 雄 30  雌 30	生育期(13週間)		一般状態を毎日観察し、体重及び摂餌量を毎週測定。
	交 配(3週間)	雌雄 1:1 で同居、交配。	交配状況の観察
	妊 娠(3週間)	膣栓で、交尾を確認した日を妊娠 0 日とした。	
	出 産 哺 育(3週間)		2 回目交配後、雌 5 匹について催奇形成検査  交尾・出生率、同腹生存児数、哺育率を記録 出生時体重、奇形の有無を記録 哺育期間体重
	離 乳	1 産目動物を殺処分 2 産目の児、雌雄 50 匹を F1 に選抜	2 産目の離乳後雌を殺処分
F1  雄 30  雌 30	生 育(13週間)		F0 世代に準ずる。 13 週後雌雄 20 匹を生後発育検査
	交 配(3週間)	雌雄 30 匹を 1:1 で同居、交配。	F0 世代に準ずる。
	妊 娠		2 回目交配後、雌 10 匹について催奇形性検査
	出 産 哺 育 離 乳	F0 世代に準ずる。  2 産目の児、雌雄 40 匹を F2 に選抜	2 産目の離乳後雌を殺処分
F2  雄 40  雌 40	生 育(14週間)		4 及び 8 週日に雌雄各 5 匹を中間屠殺  生後発育検査

試験結果：

一般および繁殖検査

世代		親：F0				親：F1b				
投与量(ppm)		0	100	1000	10000	0	100	1000	10000	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
親動物	中毒症状	—	—	—	—	—	—	—	—	
	死亡率 <sup>1)</sup>	雄	0/30	0/30	0/30	0/30	11/30 <sup>2)</sup>	13/30 <sup>2)</sup>	9/30 <sup>2)</sup>	2/30 <sup>2)</sup>
		雌	1/30	0/30	2/30	0/30	1/30 <sup>2)</sup>	3/30 <sup>2)</sup>	12/30 <sup>2)</sup>	3/30 <sup>2)</sup>
	体重	雄	—	—	—	有意な増加抑制	—	—	—	有意な増加抑制
		雌	—	—	—	有意な増加抑制	—	—	—	—
	摂餌量	雄	—	—	—	—	—	—	—	—
		雌	—	—	—	—	—	—	—	—
	交尾率	a	90	90	97	97	87	77	90	97
		b	90	93	87	83	90	77	93	93
	出産率	a	78	89	83	89	85	78	85	93
b		81	86	92	100	89	78	86	93	
妊娠期間(日)	a	22.1 (21~26)	21.9 (21~25)	21.9 (21~22)	21.8 (21~23)	22.0 (21~24)	21.9 (20~24)	21.9 (20~24)	22.0 (19~23)	
	b	22.1 (22~23)	22.2 (22~23)	22.1 (22~23)	22.0 (22)	21.8 (21~23)	22.0 (22)	22.1 (22~23)	22.2 (22~25)	
同腹生存 児数	a	11.9	12.5	12.1	12.2	11.0	10.4	10.4	11.5	
	b	10.9	11.9	12.7	12.9*	11.1	12.7	12.5	11.4	
死産児数	a	0	0	0	0	0	1	2	8	
	b	0	1	0	0	0	0	0	0	
性比 ♂/♀	a	1.02	1.09	1.15	1.01	0.80	0.85	1.21	0.80	
	b	1.36	1.05	0.82	1.05	0.95	1.02	1.30	0.96	
哺育率 (%)	a	92.8	97.7	97.6	97.4	94.2	84.5	89.5	85.5	
	b	88.0	96.0	95.8	99.6**	41.7	77.2	85.7	84.3	
哺育期 体重	a	—	—	—	有意な増加抑制	—	—	—	—	
	b	—	—	—	有意な増加抑制	—	—	—	—	
外表奇形	a	—	—	—	無尾 1	—	—	—	—	
	b	—	尾椎弯曲 2	尾椎弯曲 1	—	—	—	—	—	

\* : P<0.05    \*\* : P<0.01 (Student t-検定)

交尾率= (交尾雌数/使用雌数) ×100

出産率= (出産雌数/交尾雌数) ×100

哺育率= (離乳児数/同腹生存児数) ×100

1) 最終屠殺時まで

2) F1b 親動物の死亡は離乳後 9 週目に空調機の故障によるものであった。しかし、別の飼育室にいた生後発育試験用の動物を、この死亡動物の代わりに交配用に使用した。

F0/F1、F1b/F2 世代の各 2 回の交尾・出産率、出生児数、性比、哺育率には、全投与群で対照群に比較して有意な低値を認めなかった。F1b/F2b の新生児の哺育率は対照群では 41.7%と低値を示したが、投与群では F1b/F2a と同等の数値を示し、哺育率には検体に起因した変化は認められなかった。哺育期間中の新生児の体重では F0/F1 世代の 2 回共 10000ppm 投与群で有意な増加抑制が認められた。

### 催奇形性検査

世代	親：F0				親：F1b			
	0	100	1000	10000	0	100	1000	10000
投与量 (ppm)	0	100	1000	10000	0	100	1000	10000
妊娠動物数	5	5	5	6	11	8	10	12
黄体数	17.4	15.2	15.6	15.5	14.2	14.6	15.3	15.2
着床数	14.4	13.2	13.6	13.8	13.0	13.5	13.6	13.0
着床率 (%)	82.8	86.8	87.2	89.2	91.7	92.3	88.9	85.7
生存胎児数	13.8	12.4	12.0	12.8	12.6	12.3	13.1	12.0
性比 (♂/♀)	1.2	0.8	0.9	1.2	0.9	0.9	1.1	1.3
胎児体重 (g)	3.18	3.23	3.35	3.23	3.25	3.18	3.36	3.45
胎盤重量 (g)	0.48	0.52	0.51	0.48	0.51	0.51	0.49	0.52
死胎率 (胎芽+胎児) (%)	4.2	4.5	11.8	7.2	3.5	9.3	3.7	9.0
外表奇形	0	0	0	0	0	1	0	0
皮下血腫						1		
内臓異常	1	1	4	1	2	1	0	1
腎盂拡張 脳室拡張	1	1	3 1	1	2	1		1
骨格異常	0	0	0	0	5	2	0	1
波状肋骨 肋骨付着位置異常 頭蓋骨骨化不全					4 1	1 1		1

着床率(%)=(着床数/黄体数)×100

死胎率(%)=[(死胎率+死胎児数)/着床数]×100

F0/F1b、F1b/F2b 世代での催奇形性検査で着床数、生存胎児数、胎児体重、死胎率には全投与群とも対照群に比較して有意な変化は認められなかった。また外表奇形、内臓および骨格検査で検体投与に起因した変化は認められなかった。

## 生後発育検査

F1b 世代では各群雌雄 20 匹について 13 週間飼育し、飼育期間中、一般症状、体重、飼料摂取量、食餌効率、検体摂取量を測定し、飼育後に血液学的検査（Ht 値、Hb 量、赤血球数、白血球数、血小板数、MCH、MCV、MCC、白血球百分率）、尿検査（ウロビリノーゲン、潜血、糖、蛋白、ケトン体）、血液生化学的検査（総蛋白質、アルブミン、カルシウム、クレアチニン、コレステロール、糖、BUN、尿酸、ALP、LDH、GPT、GOT、A/G 比）、臓器重量（脳、顎下腺、胸腺、心、肺、肝、腎、副腎、脾、精巣/卵巣、下垂体）を測定した。

F2b 世代では各群雌雄 40 匹（ただし、対照群♂26、♀34）について 14 週間飼育し上記検査を実施した。このうち雌雄各 5 匹を 4 週と 8 週後に中間屠殺して、上記と同様の検査をした。さらに 14 週間飼育したものについては病理組織学的検査を実施した。

試験結果を要約して記載すると以下の通りであった。

一般症状：

F1b、F2b 世代ともに一般症状に変化は認められなかった

体重及び摂餌量・食餌効率：

F1b 世代では、体重を指標とした場合に雄 10000ppm で対照群と有意差が認められ検体の影響が示唆された。又、1000ppm の雌雄と 10000ppm 雌の離乳後の初期にも低値を認めたが、これは哺育期の体重増加の抑制と離乳時の動物の選抜によるものであって、離乳後に検体の影響を受けたものとは考えられなかった。飼料摂取量は、10000ppm 群の雄で 3 週目まで有意な低値を示したが雌では増加傾向にあり、食餌効率は 10000ppm 群の雄のみ低値を示した。

F2b では、体重、飼料摂取量には、本剤による明らかな影響はなく、食餌効率は 4 週目屠殺の 10000ppm 群の雌雄で対照群より有意な低値を示し、8 週目の 1000ppm と 10000ppm 群の雄と最終屠殺の 10000ppm 群の雌雄でも対照群より有意な低値を示し検体投与との相関が窺われた。

付記すると、4 週目屠殺の雌の全投与群で増体重、平均体重、飼料摂取量が対照群よりも有意な低値を示したが、これは対照群が特に発育良好であった為と考えられた。

#### 検体摂取量：

P 世代、F1b 及び F2b 世代の生育期間 13 又は 14 週間の検体摂取量 (mg/kg/日) を示すと以下の通りであった。

世代 投与量	P		F1b		F2b	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
100 ppm	5.8	6.7	6.9	8.0	5.3	6.9
1000 ppm	58.4	70.8	71.7	87.6	56.5	69.9
10000 ppm	596.3	739.2	746.2	911.4	572.8	722.2

#### 血液学的検査：

F1b 世代と F2b 世代の 13 週と 14 週での血液検査では、両世代を通じて毒性学的に意義のある変化を認めず、F1b の 10000ppm 雌の Hb 量の低下、血小板数の増加、F2b の主として 10000ppm 群で、Ht 値、Hb 量、赤血球数の有意な低下等認められたが、いずれも対照群と比して 10%以内の変化であり生理学的な変動と考えられた。また、白血球百分率においても、各細胞の出現頻度にも検体の影響を認めなかった。

#### 尿検査：

F1b 世代で尿検査の結果、10000ppm 群雌雄でウロビリノーゲンの軽度の陽性を示す傾向を認め、F2b 世代の 14 週時の検査では 10000ppm 群雌雄でケトン体の軽度の増加傾向を認めた。

これらの増加傾向は、両世代で再現性がない事、この傾向が F2b 世代の途中検査で認められなかった事から、検体の影響とは考えられなかった。

#### 血液生化学的検査：

F1b 世代の 13 週と F2b 世代の 14 週での検査で、BUN は両世代とも高薬量群で、軽度の低下傾向を認めたが、毒性学的に意味は少なく、偶発的所見と考えられた。又、LDH、ALP、GOT、GPT の酵素活性の測定では、最高投与群で有意な低下傾向を認める項目もあったが、いずれも肝細胞、その他の細胞の障害作用を反映するものではなく毒性学的に意味は少なく、偶発的所見と考えられた。

#### 臓器重量：

F1b 世代の 13 週と F2b 世代の 14 週の臓器重量の測定の結果から、雌雄とも肝重量の増加を 1000ppm と 10000ppm 群で認めた (F1b 世代雄の実重量及び F2b 世代雌 1000ppm の実重量を除く)。肝重量の統計学的に有意な増加は 100ppm 群の F1b 世代雌 (実重量) と F2b 世代雄 (実重量および比重量) でも認めているが、前者では体重が対照群に比し有意な高値であったことから (体重比重量では有意差を認めていない)、又、後者の増加は比重量で 104%にとどまっていること

から、生理的な変動と考えられた。従って、100ppm 群の肝重量の増加は検体に起因した変化とは考え難い。

#### 肝臓重量

世代	肝臓重量	雄			雌		
		100	1000	10000	100	1000	10000
F1b	実重量				↑112	↑111	↑115
	比重量		↑109	↑112		↑111	↑116
F2b	実重量	↑109	↑108	↑123			↑112
	比重量	↑104	↑107	↑120		↑106	↑110

↑:P<0.05、↑:P<0.01 Student の t-検定

また F1b 世代では 10000ppm 群の雌雄で心、腎、下垂体、脾（雌）、肺（雌）の実重量又は体重比重量の増加を認めている。F2b 世代では 10000ppm 群の雌雄で腎重量の増加、10000ppm 群の雌では心、脾、下垂体重量の増加、さらに 1000ppm 群の雌では腎と下垂体の重量の増加を認めている。F1b 世代と F2b 世代の両世代で有意な増加を示した臓器について列記したが、これらの重量増加が検体に起因したものであるかの判定は困難である。

#### 病理組織学的検査：

F2b 世代の 14 週間飼育後に屠殺した全動物の心、肝、腎、生殖腺（精巣、卵巣）、脾、胃、肺、胸腺、腸管（十二指腸、空腸、回腸）、甲状腺、気管、下垂体、副腎、顎下腺、大腿筋、脾、膀胱、腸間膜リンパ節、食道、大脳、小脳、大腿骨髄について病理組織学的に検索した。

この病理組織学的検査の結果の要約は、本検査が次世代試験の一部として行なわれているので、イ、生殖器官と ロ、その他器官とに分けて行う。

#### イ、生殖器官

前述してきたように、ペンシクロンの繁殖性については、F0/F1 世代の新生児の体重の増加抑制が 10000ppm 群だけでみられている。この哺育期の体重増加抑制は離乳後に、これに関連した生育障害がみられないことから、生殖器官への機能的な障害は認められないと判断し、おそらく形態的な障害も起きていないことが推察できる。

組織学的には、生殖器官として精巣と卵巣が検索されている。所見として得られたのは、10000ppm 群の 1 例でみられた精巣の萎縮のみであった。ペンシクロンは、10000ppm の投与量まで、精巣と卵巣への作用は有しなかったことを示し、また繁殖機能への障害性も示さなかったと結論することができるものと考えられた。

## ロ. 生殖器以外の器官

組織学的検査の結果から、腎、脾、肺、下垂体、副腎、膵で散発的に所見が得られたが、その頻度と変化の性質からペンシクロンに起因する変化ではなかった。肝では、肝細胞索の乱れ、肝細胞腫脹、グ氏鞘内細胞浸潤、肝細胞の空胞化が認められたが、ペンシクロンに起因する変化としては、10000ppm 群雌雄で認められた肝細胞索の乱れと肝細胞腫脹であった。この変化は程度も軽く、出現率も低いことから、質的な変化とは考えられないが、二次的な肝細胞の変化と思われる。

## まとめ

本試験の結果、最高投与量の 10000ppm(雄;596.3mg/kg/日、雌;739.2mg/kg/日)でも繁殖能力への障害作用及び催奇形性作用を認めなかった。

また、親動物 (F0) においては 10000ppm の雌雄で軽度の体重増加抑制が認められたこと、児動物 (F1, 2) の生後発育に対しては雄 10000ppm 投与群で軽度の体重増加の抑制、雌雄の 1000ppm 以上で肝重量増加、雌雄の 10000ppm で肝細胞索の乱れと肝細胞腫脹などが認められたことから、無毒性量<sup>1</sup>は親動物では雌雄 1000ppm(雄;58.4mg/kg/日、雌;70.8mg/kg/日)、児動物では雌雄 100ppm(雄;5.3mg/kg/日、雌;6.9mg/kg/日)と判断された。

<sup>1</sup> 食品安全委員会第 42 回農薬専門調査会幹事会において、無毒性量は親動物の雌雄が 100ppm、児動物の雌雄が 1000ppm とされた。



(2) ペンシクロンのラットを用いた繁殖毒性試験 (毒性資料 No. 原体-23)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 1990年7月19日

検体の純度:

試験動物: ラット (Wistar-Imamichi 系)、5週齢、1群当り雌雄 27 匹

試験期間: 1988年9月~1989年11月

投与期間

P 世代; 同居・交配前 11 週間から F1 児離乳時まで

F1 世代; 離乳時から同居・交配前 13 週間及び F2 児離乳時まで

試験方法: ペンシクロンを 0 (対照群)、50、500 及び 10000ppm 含む飼料をラットの 2 世代にわたって給餌した。なお、飼料は 2 週に 1 回、調製した。

試験項目:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

体重変化; 各世代とも全期間、週 1 回測定した。また、妊娠動物については妊娠 0, 7, 14, 21 日、哺育動物は 0 (分娩日), 4, 7, 14, 21 日に測定した。

摂餌量; 各世代とも交配期間を除き毎週測定した。

検体摂取量; 摂餌量から個体別に 1 日当りの検体摂取量を計算した。

交配及び妊娠の確認; 交配 2 週間前から膣垢を採取し性周期を検査して雌雄 1 対 1 で 3 週間を限度として同居させた。また、膣栓あるいは膣垢中に精子を認めた日を、妊娠 0 日とした。P 及び F1 世代でそれぞれに 2 度交配し、F1a 及び F1b、F2a 及び F2b を得た。

剖検; 全ての親動物及び離乳児について、剖検し肉眼的に検査した。

臓器重量; P 及び F1 親動物の全例について、以下の臓器重量を測定した。

肝臓、腎臓、脾臓、卵巣、精巣

病理組織学的検査; P 及び F1 親動物の全例について、以下の臓器を 10%中性ホルマリンで固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して検査した。

肝臓、腎臓、脾臓、脳、下垂体、膣、子宮、乳腺、卵巣、精巣上体、精囊、前立腺、精巣、肉眼的病変部

繁殖性に関する指標; 交配、妊娠及び哺育期の観察結果から以下の指標を算出した。

妊娠率=(妊娠動物数/使用動物数)×100

出産率=(出産動物数/妊娠動物数)×100

5 日目生存率=(5 日目生存児数/出産時生存児数)×100

28 日目生存率=(28 日目生存児数/5 日目調整後生存児数)×100

試験の概要を下表に示す。

世代	期 間	作業手順	試験項目
P 雄 27 雌 27	交配前(11週間)		一般状態を毎日観察し、体重及び摂餌量を毎週測定。  臃垢像の観察
	交 配(3週間)	雌雄 1:1 で同居、交配。 臃栓、精子を確認した日を妊娠 0 日とした。	交配状況の観察
	妊 娠(3週間)		妊娠 0, 7, 14, 21 日目体重測定
	出 産 (F1a)	(F1a) 出産 4 日後 1 腹あたり 8 匹に調整	母体重測定週 1 回 新生児体重 0, 4, 7, 14, 21 日目測定
	哺 育(3週間)		
	離 乳	屠殺・剖検 (F1a)	
	休養 (2週間)		
	交 配(3週間)	雌雄 1:1 で同居、交配。 臃栓、精子を確認した日を妊娠 0 日とした。	
	妊 娠(3週間)		妊娠 0, 7, 14, 21 日目体重測定
	出 産 (F1b)	(F1b) 親雄屠殺剖検 出産 4 日後 1 腹あたり 8 匹に調整	母体重測定週 1 回 新生児体重 0, 4, 7, 14, 21 日目測定
哺 育(3週間)			
離 乳	F1 親動物として雌雄各 27 匹選抜 親雌屠殺剖検	親動物屠殺時に臓器重量測定、病理検査	
F1 雄 27 雌 27	(P 世代と同じ)	(P 世代と同じ)	(P 世代と同じ)
	交配前(13週間)		
	交 配		
	妊 娠		
	出 産 (F2a)	(F2a)	
	哺 育		
	離 乳		
休養	屠殺・剖検 (F2a)		
F2	交 配		
	妊 娠		
	出 産 (F2b)	親雄屠殺剖検 出産 4 日後 1 腹あたり 8 匹に調整	(P 世代と同じ)
哺 育			
離 乳	全児、親雌屠殺剖検		

試験結果：

世代		親：P、 児：F1				親：F1、 児：F2						
投与量(ppm)		0	50	500	10000	0	50	500	10000			
(mg/kg)	♂	0	3.2	32.7	676	0	3.4	34.0	704			
	♀	0	4.6	48.7	998	0	4.9	48.7	1000			
動物数	♂	27	27	27	27	27	27	27	27			
	♀	27	27	27	27	27	27	27	27			
親動物	一般観察											
	死亡率	♂										
		♀				1匹*						
	体重	♂		↓	↓				↓			
		♀		↓	↓				↓			
	摂餌量	♂		↓	↓				↓			
		♀			↓			↓	↓			
	妊娠率	①	100	100	100	100	93	100	96	100		
		②	100	93	89	96	96	93	96	100		
	出産率	①	96	100	100	100	100	100	100	100		
		②	100	100	100	100	85	92	100	96		
	全胚死亡	①	1	0	0	0	0	0	0	0		
		②	0	0	0	0	4	2	0	1		
	剖検	臓器重量	♂									
		♀										
		♂			肝↑AR	肝↑AR 脾↓AR			肝↑AR 脾↓AR			
		♀			肝↑R	肝↑AR 脾↓AR		肝↑AR	肝↑AR 脾↓AR			
肝細胞腫大	♂	0	0	0	18↑	0	0	0	11↑			
	♀	0	0	0	21↑	0	0	0	15↑			
児動物	出生時	①	12.1	11.6	12.7	12.8	10.3	10.7	12.4↑	12.1		
	生産児	②	12.6	11.4	11.6	12.2	12.5	11.1	11.8	12.1		
	死産児	①	3	4	0	4	12	7	5	0		
		②	0	7	1	4	0	2	3	1		
	4日目	①	91.0	88.9	95.1	87.4	98.0	92.7↓	88.0	89.6↓		
	生存率	②	85.3	71.5	95.2	91.8	95.0	95.7	98.6	97.1		
	21日目	①	93.1	95.7	93.1	95.5	93.5	97.6	96.5	85.5		
	生存率	②	82.5	68.8	82.3	82.4	92.0	96.0	95.6	93.3		
	性比	①	0.93	0.85	0.93	1.18	1.05	1.07	0.98	0.98		
	♂/♀	②	0.98	1.04	0.85	1.23	0.90	0.93	0.97	1.02		
	新生児体重	出生時	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
			①	6 7	6 6	6 7	6↓ 6↓	6 7	6 7	6↓ 6↓	6↓ 6↓	
			②	6 7	6 7	6 7	6 6	6 7	6 7	7 7	6 7	
		4日目	①	9 10	10 10	9 10	8↓ 9↓	10 11	10 10	9↓ 10↓	8↓ 9↓	
		②	9 9	8 9	9 10	8 9	10 10	10 10	9 10	9 10		
7日目		①	14 15	15 15	14 15	13↓ 13↓	15 16	15 15	14↓ 15↓	13↓ 14↓		
		②	12 13	13 13	12 13	12 13	15 15	14 15	13↓ 15	13↓ 14		
14日目		①	27 29	28 28	27 29	25↓ 26↓	29 31	29 30	28 29	25↓ 27↓		
		②	24 27	25 26	25 26	25 26	30 31	28 30	27↓ 30	26↓ 27↓		
21日目		①	45 48	46 46	43 46	37↓ 39↓	50 53	49 51	46↓ 49	37↓ 41↓		
	②	42 46	43 45	41 43	39 40↓	50 52	48 51	45↓ 50	39↓ 42↓			
剖検所見												

\*飼料・巣材の誤嚥による異物性肺炎による死亡

空欄は所見を認めない

(t-検定) : 体重 (母動物及び新生児) , 摂餌量, 臓器重量, 分娩児数

( $X^2$ 検定) : 性比, 交尾率, 妊娠率, 出産率, 妊娠期間

(順位和検定) : 哺育4及び21日の哺育児生存率

↑ : 統計的に有意な増加

↓ : 統計的に有意な抑制

③ : 1回日の交配

⑥ : 2回日の交配

性比 : 出産時の生産児による

死産児 : 出生時の総数

生産児 = 妊娠動物の1腹あたりの同腹生存児数

全死亡 : 全吸収胚の母動物数

空欄 : 変化なし

臓器重量の A, R : A は絶対重量, R は対体重比を示す。

一般症状 :

各世代の親動物に検体に起因した一般症状の変化は認められなかった。

体重 (親動物) :

10000ppm 群では P 及び F1 世代の雌雄ともに有意な体重増加の抑制がみられた。

500ppm 群では P 世代の雌雄で有意な体重増加の抑制がみられた。50ppm 群で検体に起因した体重の変化は認められなかった。

摂餌量 (親動物) :

10000ppm 群では P 及び F1 世代の雌雄ともに有意な飼料摂取量の低下がみられた。

500ppm 群では P 世代の雄で投与後 0~2 週に、F1 世代の雌で妊娠期間中に飼料摂取量の有意な低下がみられた。50ppm 群では検体に起因した飼料摂取量の変動はみられなかった。

繁殖成績 :

性周期、妊娠率、出産率、全吸収胚数、死産児数、妊娠期間、出産児数、性比には各世代の各投与群ともに検体に起因した有意な変化は認められなかった。新生児の4日生存率に F1 世代の1産次 (F2a) で 50ppm 群と 10000ppm 群で有意な低下がみられたが、P 世代及び F1 世代の2産次で有意な変化がなかったことから、偶発的な変化と考えられた。出生から離乳までの新生児の体重増加の抑制が 10000ppm 群の各世代と 500ppm 群の F1 世代の2回の産次でみられた。50ppm 群でこの変化はみられなかった。

臓器重量 (親動物) :

10000ppm 群で各世代の雌雄とも肝重量の増加と脾重量の低下がみられた。500ppm 群においても P 世代の雌雄と F1 世代の雌で肝重量の増加が認められた。50ppm 群では検体に起因した臓器重量の変化は認められなかった。

剖検：

親動物及び 3 週令の新生児の屠殺時の剖検で、検体に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査：

対照群と 10000ppm 群の全臓器を病理組織学的に検索し、さらに組織学的に変化のあった肝については 50ppm と 500ppm 群でも検索した。

10000ppm 群で P と F1 世代の雌雄の親動物の肝に小葉中心性の細胞腫大が有意に増加した。しかし、50ppm 群と 500ppm 群ではこの変化はみられなかった。その他の臓器では検体に起因した組織学的な異常は認められなかった。

以上、本試験の結果、最高投与量の 10000ppm(雄;676mg/kg/日、雌;998mg/kg/日)でも繁殖能力への障害作用を認めなかった。

また、親動物 (P) においては、10000 及び 500ppm の雌雄で軽度の体重増加抑制、摂餌量の低下、肝重量の増加が認められ、10000ppm では、肝細胞腫大も認められた。

児動物 (F1, 2) においては、10000ppm の雌雄で軽度の体重増加の抑制、肝重量の増加、肝細胞腫大を認め、雌では摂餌量の低下も認められた。また、雌の 500ppm 群でも肝重量の増加を認めた。

これらのことから、無毒性量は親動物では雌雄 50ppm(雄;3.2mg/kg/日、雌;4.6mg/kg/日)、児動物<sup>1</sup>では雄 500ppm(雄;34.0mg/kg/日)、雌 50ppm(雌;4.9mg/kg/日)と判断された。

---

<sup>1</sup> 食品安全委員会第 42 回農薬専門調査会幹事会において、児動物の 500ppm 群雌雄に体重増加抑制が認められていることから、児動物の無毒性量は雌雄とも 50ppm とされた。

(3) ペンシクロンのラットを用いた催奇形性試験 (毒性資料 No. 原体-24)

試験機関 :

報告年月日 : 1978年9月

検体の純度 :

試験動物 : ラットSD系 (試験開始時12週令) 1群雌25~28匹

試験期間 : 1977年7月~11月

試験方法 : 別に実施した急性毒性試験の結果、LD50値が1000mg/kg以上であった事から、最高投与量を1000mg/kgとし、以下200、40 mg/kg及び対照群を設定した。本薬剤をポリエチレングリコール#400に懸濁して調製し、妊娠7日目から14日目までの8日間、毎日1回強制経口投与した。対照群動物にはポリエチレングリコール#400のみを投与した。交配を膣栓により確認した日を妊娠0日とした。

試験項目 :

親動物 ; 投与期間中、中毒症状および体重を記録し、妊娠20日目に動物をエーテル深麻酔により致死せしめ、帝王切開後、卵巢の黄体数、子宮内の着床数、生存胎児数、死胚数について測定した。なお死胚は胚芽期死亡と胎児期死亡に分けた。

生存胎児 ; 性別、体重、外表奇形を観察後、骨格検査および内臓検査用に二分し、各検査を行なった。

骨格検査用胎児は90%アルコールで固定し、JenshとBrentの変法により骨格標本作製した。また、内臓検査用胎児はBouin液で固定し、Wilsonのferr-hand razar法により観察した。

試験結果：

投与量 (mg/kg/日)		対照	40	200	1000
試験動物数		25	25	25	28
*死亡動物数		2*	2*	3*	7*
不妊動物数		0	0	3	3
検査動物数		23	23	19	16 [2]
親動物	中毒症状	—	—	—	—
	体重	—	—	—	低下傾向
動物所見	** 黄体数	16.1	16.8	16.7	15.9
	着床数	13.1	13.9	13.4	13.9
	生存胎児数	12.2	12.8	12.2	12.4
	死亡胎芽総数 (率)	20 (6.6)	23 (7.2)	22 (8.7)	21 (9.5)
	死亡胎児総数 (率)	0	2 (0.6)	1 (0.4)	2 (0.9)
胎児動物	性比 (♂/♀)	0.8	1.2	0.8	0.7
	出生時体重 (g)	3.24	3.30	3.43	3.35
	胎盤重量 (g)	0.46	0.44	0.43	0.42
	外表奇形・検査胎児数	280	294	231	199
	水腫	1	0	0	0
	外脳症	1	0	0	0
	骨格異常・検査胎児数	123	132	121	103
	頭蓋欠損	1	0	0	0
	肋骨付着部位異常	1	0	0	0
	内臓異常・検査胎児数	134	134	110	96
腎盂拡張	6	4	1	7	
小眼症	0	0	2	0	

Student t-検定 (平均値の差の検定) X<sup>2</sup>-検定 (出現頻度の差の検定)

\*: いずれも投与ミスによる死亡

\*\* : 母体あたりの着床所見

— : 著変なし

[ ] : 全死胚又はこれに近い場合全ての計算から除外

親動物においては 1000mg/kg 群で投与期間中、統計学的に有意な差は認めなかったが、一過性の体重の軽度な低下と体重増加抑制傾向が認められ、投与の軽度な影響が示唆された。

胎児動物においては、増加黄体数、着床数、生存胎児数、性比、胎児体重、胎盤重量について、対照群と各薬剤投与群の間に有意な差は認められなかった。死胚率には用量相関的な増加傾向がみられているが、死胚数の総数は各群でほぼ同じであったことと、平均同腹児数と生存胎児体重が対照群と同等であったので、薬剤に起因したものとは考えられない。

外表奇形は対照群に 2 例認められ、骨格検査においても対照群のみに 2 例認められた。化骨の進行の遅延は、1000mg/kg 投与群までの全群で認められなかった。

内臓検査では対照群を含む全投与群で腎盂の拡張が出現したが、対照群と各薬剤投与群との間で有意な差は認められなかった。

以上の結果から、無毒性量は親動物では 200mg/kg/日、胎児動物に対しては 1000mg/kg/日であった。また最高投与用量の 1000mg/kg/日投与においても催奇形性作用を認めなかった。



(4) NTN19701(ペンシクロン)のウサギを用いた胎芽毒性及び催奇形性試験

(毒性資料 No. 原体-25)

試験機関：

報告書作成年月日： 1983年5月20日

検体の純度：

試験動物： ウサギ チンチラ系 1群 雌 16匹

試験期間： 妊娠6～18日(1982年8月～10月)

試験方法： 予め100, 300及び1000mg/kgで予備試験を実施し、親及び児のいずれにも影響が全くみとめられなかったことから、本試験での投与量は倍量の200、600、2,000mg/kgを設定した。

検体は0.25%クレモホアに懸濁し、動物には8ml/kgの容量で0(対照群)、200、600、2000mg/kgの投与量を、妊娠6日目から18日目までの13日間毎日1回経口投与した。妊娠29日目に動物を屠殺し、検査した。交尾を確認した日を妊娠0日とした。

試験項目：

親動物： 交尾後から屠殺までの間、母動物について一般症状は1日2回観察し、体重は毎日測定した。

動物の屠殺時には、着床数、死亡胚・死亡胎児数、生存胎児数について検査した。母動物は胎児摘出後、肉眼的異常の有無を記録した。

生存胎児： 生存胎児については、摘出時に性別、体重、外表奇形を観察し、胸・腹部の内臓を観察し、摘出後ブアン液に固定し、カミソリにより脳の奇形の検査の実施後、アリザリンレッドで染色、標本作成後骨格検査に供した。

試験結果：

		投与量 (mg/kg)	0	200	600	2000
		交尾動物数	16	16	16	16
		受胎動物数	15	14	16	16
		妊娠動物数	15	14	16	16
母動物	一般症状					
	死亡率					*
	流産					
	体重					
	剖検所見					
	着床所見	着床数 ★	9.60	8.86	10.00	7.50
		早期死亡 ★	0.53	0.14	0.38	0.25
	後期死亡 ★	0.73	0.71	0.44	0.31	
	死亡胎児 ★	0	0	0	0	
	生存胎児数 ★	8.3	8.0	9.2	6.9	
	雄/雌	53/72	50/62	70/77	49/62	
胎児	体重 (g)		33.10	35.00	33.30	38.30
	外表奇形・検査胎児数		125	112	147	111
	皮膚充血				1	
	骨格異常・検査胎児数		125	112	146**	111
		肋骨癒合	1			1
		肋骨変形	1			
		重複肋骨		1		
		第9又は第12肋骨化骨遅延				3
		第8肋骨欠損				1
		胸骨癒合	1			
		第6胸椎分裂				1
		第9胸椎部分欠損				1
		内臓異常	125	112	147	111
	肺褪色	3				
	肝褪色	1				
	左卵巣発育不全				1	

( ) : 胎児数      ★ : 1匹の妊娠動物あたり      空欄 : 異常なし

\* : 1例の死亡がみられたが、肉眼的検査において、死亡の原因となる変化を認めず、偶発的なものと考え、別動物で補充して、全てのデータについて置き換えた。

\*\* : 固定時のミスにより1例紛失

母動物の一般症状には検体に起因した変化は観察されなかった。母動物の体重にはいずれの投与群とも有意な抑制は認められなかった。

胎児動物においても、着床数、早期死亡、後期死亡、生存胎児数、生存胎児体重には各投与群とも有意な変動は認められなかった。

外表奇形、骨格異常、内臓異常には散発的な異常はみられたが、検体に起因するものではなかった。

以上の結果、いずれの投与群においても母動物及び胎児動物に対する毒性は認められず、母動物及び胎児動物に対する無毒性量は、いずれも 2000mg/kg/日と判断された。また、催奇形性は認められなかった。

## 11. 変異原性

### (1) ペンシクロンの細菌を用いた変異原性試験 (毒性資料 No. 原体-26)

試験期間：

報告年月日： 1981年5月8日

検体の純度：

試験方法：

#### (i) Rec-assay

DNA への損傷の誘起性を調べるために、*B. subtilis* の DNA 組換え修復機構野性株 (H17) と欠損株 (M45) を用いた。この両株の  $-80^{\circ}\text{C}$  保存株を融解後、小型ピペットを用いて B-2 寒天培地上に出発点が接触しないようにストリークした。直径 10mm の濾紙に供試薬物の溶液 0.02ml を染ませ、ストリークの開始点を被うように置き、 $37^{\circ}\text{C}$  で一夜培養後、阻止帯の長さを測定した。

検体は DMSO に溶解し、 $20\sim 5000\ \mu\text{g}/\text{disk}$  の範囲で濃度設定した。

陰性対照として Kanamycin、陽性対照として Mitomycin C を用いた。

#### (ii) 復帰変異原性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 5 株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98 及び TA100) およびトリプトファン要求性大腸菌 1 株 (WP2hcr) を用い、ラット肝を用い調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames の方法により変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、 $10\sim 5000\ \mu\text{g}/\text{プレート}$  の範囲で濃度設定した。

陽性対照として、AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、9-AA : 9-aminoacridine、

2-NF : 2-nitrofluorene、2-AA : 2-aminoanthracene を用いた。

結 果：

(i) Rec-assay

薬 物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
ペンシクロン	20	0	0	0
	50	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1,000	0	0	0
	2,000	0	0	0
	5,000	0	0	0
Kanamycin	10	7	6	1
Mitomycin C	0.1	10	2	8

表に示す様に、供試薬物は最高濃度 (5,000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ ) においても両株に全く生育阻止帯を誘起しなかった。

一方、陰性対照として用いた Kanamycin では両株に同程度の生育阻止帯を示し、陽性対照として用いた Mitomycin C では組換修復機構野性株 (H17) に比べ、修復機構欠損株 (M45) に著明な生育阻止帯を生じた。

(ii) 復帰変異性試験

(平均値; n=2)

薬物	濃度 µg/プレート	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)		—	118	8	18	53	10	12
ベンゾクロン	10	—	112	6	17	43	7	15
	50	—	111	9	22	47	8	13
	100	—	121	10	15	38	12	13
	500	—	122	9	20	39	10	16
	1,000	—	121	9	24	42	9	18
	5,000	—	116	13	12	43	8	23
溶媒対照 (DMSO)		+	116	11	23	42	7	24
ベンゾクロン	10	+	115	9	21	36	7	24
	50	+	152	14	22	51	5	30
	100	+	145	10	19	45	9	33
	500	+	146	12	21	40	5	23
	1,000	+	136	13	24	40	7	23
	5,000	+	131	10	23	32	5	11
陽性対照								
AF-2	0.01	—	492	>2000	419	450	>2000	495
ENNG	10	—						
AF-2	0.04	—						
AF-2	0.1	—						
9-AA	80	—						
2-NF	2	—						
2-AA	0.5	—	118	13	20	52	12	17
	2	—						
	40	—						
	0.5	—						
	2	—						
	0.5	—						
2-AA	0.5	+	423	356	512	259	155	258
	2	+						
	40	+						
	0.5	+						
	2	+						
	0.5	+						

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9 AA : 9 aminoacridine

2-NF : 2-nitrofluorene

2-AA : 2-aminoanthracene

供試薬物では S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの株においても対照群に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群として用いた AF-2、ENNG、9-AA、2-NF では S-9Mix の添加なしで、2-AA では S-9Mix の添加により復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本被験物質は変異原性を有しないものと判断される。

(2) ペンシクロンの培養細胞における in vitro 染色体異常試験

(毒性資料 No. 原体-27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1987年5月11日

検体の純度：

供試生物：チャイニーズハムスター肺由来の継代培養細胞株 (CHL 細胞)

試験方法：直接法及び薬物代謝酵素系を添加した代謝活性化法により、染色体異常誘発性を検定した。

いずれの方法も CHL 細胞を 10cm のシャーレに  $1 \times 10^6$  の CHL 細胞を植え、24 時間培養後、以下の方法で薬液を添加し、各濃度各標本作製時とも 2 枚のプレート標本作製し、観察した。

① 直接法

24 時間培養後のプレートに各濃度 ( $3.3 \times 10^{-4}$ 、 $1.0 \times 10^{-4}$ 、 $3.3 \times 10^{-5}$ 、 $1.0 \times 10^{-5}$  及び  $3.3 \times 10^{-6}$  M の 5 濃度) に調製した薬液を添加し、薬液添加 24 時間と 48 時間後に通常の空気乾燥法により染色体標本作製した。なお、陽性対照としてマイトマイシン C (MMC) 群 ( $6.0 \times 10^{-7}$  M) を設けた。

② 代謝活性化法

24 時間培養後のプレートに各濃度 ( $1.0 \times 10^{-3}$ 、 $3.3 \times 10^{-4}$ 、 $1.0 \times 10^{-4}$ 、 $3.3 \times 10^{-5}$ 、 $1.0 \times 10^{-5}$  M の 5 濃度) に調製した薬液とともに S-9 Mix\* を同時にプレートに添加し、6 時間後に培地を新鮮なものに交換した。その 12 時間と 18 時間後に通常の空気乾燥法により染色体標本作製した。なお、代謝活性化の陽性対照としてベンツピレン (B(a)P) 群 ( $1.5 \times 10^{-4}$  M) を設けた。

(\* S-9 分画は PCB (Aroclor 1254) の 500mg/kg を 1 回腹腔内投与したラットの肝から調製した。)

染色体分析：顕微鏡下で各プレートあたり 50 個、また各濃度各標本作製時間につき 100 以上の中期分裂像を観察した。染色体異常の出現頻度の計測にあたって何らかの異常が 1 個でも存在する細胞を異常細胞とした。異常細胞出現率 5%未満を陰性、5%以上 10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とした。なお、細胞 1,000 個に占める中期分裂像の出現頻度を算出し、分裂頻度とした。



試験結果：

① 染色体異常試験—直接法

薬剤	濃度 (M)	観察細胞数	出現頻度 %		分裂頻度 (%)	染色分体型			染色体型異常				断片	細粉化	その他	
			異常分裂像	ギャップの除去を除外した異常分裂像		ギャップ	切断	交換	ギャップ	切断	多動原体	環				
24 時間																
ペンシクロン	3.3×10 <sup>-6</sup>	100	0 (0)	0 (0)	3.5(3.1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.0×10 <sup>-5</sup>	100	2 (1.5)	1 (0.5)	2.1(2.4)	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		100	1	0	2.6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3.3×10 <sup>-5</sup>	100	0 (0.5)	0 (0)	2.1(2.0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	1	0	1.8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1.0×10 <sup>-4</sup>	68	0 (0)	0 (0)	0.6(0.5)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100	0	0	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3.3×10 <sup>-4</sup>	細胞が死滅したため染色体標本の作製ができなかった。															
MMC	6.0×10 <sup>-7</sup>	50	38 (38)	36	0.5(0.7)	8	24	16	0	0	0	2	4	0	0	
		50	38	30	0.8	8	16	18	0	0	0	0	2	0	0	
溶媒対照	0	100	2 (1.5)	1 (0.5)	2.9(3.4)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	1	0	3.8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
無処理	0	100	1 (1.0)	1 (0.5)	4.6(4.7)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	1	0	4.8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
48 時間																
ペンシクロン	3.3×10 <sup>-6</sup>	100	0 (0)	0 (0)	1.6(1.4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	0	0	1.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1.0×10 <sup>-5</sup>	100	0 (0)	0 (0)	1.0(1.0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	0	0	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3.3×10 <sup>-5</sup>	100	1 (1.0)	0 (0)	0.3(0.4)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100	1	0	0.5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1.0×10 <sup>-4</sup>	著しい分裂抑制のため、分裂期細胞の観察ができなかった。															
3.3×10 <sup>-4</sup>	細胞が死滅したため染色体標本の作製ができなかった。															
MMC	6.0×10 <sup>-7</sup>	50	48 (50)	44(46)	2.2(2.1)	12	18	26	0	0	0	4	10	0	0	
		50	52	48	2.0	8	22	32	0	0	2	0	16	2	0	
溶媒対照	0	100	0 (0)	0 (0)	2.2(2.4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	0	0	2.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
無処理	0	100	0 (0)	0 (0)	2.4(2.6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	0	0	2.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

( ) : 平均値

MMC : マイトマイシン C

②染色体異常試験—代謝活性化法

薬剤	濃度 (M)	観察細胞数	出現頻度 (%)		分裂頻度 (%)	染色分体型異常			染色体型異常				断片	細粉化	その他	
			異常分裂像	ギャップのみに除いた異常分裂像		ギャップ	切断	交換	ギャップ	切断	多動原体	環				
1 2 時 間																
ペンシクロン	1.0×10 <sup>-5</sup>	100	1 (0.5)	0 (0)	1.3(1.9)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3.3×10 <sup>-5</sup>	100	0 (0)	0 (0)	2.6(2.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	1.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.0×10 <sup>-4</sup>	100	1 (0.5)	1 (0.5)	2.7(2.3)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	1.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B(a)P	1.0×10 <sup>-3</sup>	56	1.8(1.6)	0 (0.7)	0.3(0.5)	1.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		80	1.3	1.3	0.6	0	1.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒対照	1.5×10 <sup>-4</sup>	50	52 (51)	50 (49)	0.9(0.7)	2	10	42	0	0	0	0	8	0	0	0
		50	50	48	0.5	4	14	38	0	0	0	4	2	0	0	0
無処理	0	100	0 (0)	0 (0)	2.0(2.0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	1.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理	0	100	0 (0.5)	0 (0)	1.8(1.9)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	1	0	1.9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 8 時 間																
ペンシクロン	1.0×10 <sup>-5</sup>	100	0 (0)	0 (0)	3.5(3.2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3.3×10 <sup>-5</sup>	100	2 (1.0)	1 (0.5)	3.2(2.9)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.0×10 <sup>-4</sup>	100	0 (0)	0 (0)	2.0(2.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B(a)P	3.3×10 <sup>-4</sup>	100	1 (2.0)	0 (0)	3.1(3.5)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	3	0	3.9	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒対照	1.0×10 <sup>-3</sup>	100	0 (0)	0 (0)	0.6(0.7)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B(a)P	1.5×10 <sup>-4</sup>	50	38 (38)	34 (35)	1.2(1.3)	8	8	24	0	0	2	0	8	0	0	0
		50	38	36	1.4	8	10	22	0	0	2	8	8	0	0	0
溶媒対照	0	100	1 (1.0)	1 (1.0)	3.7(4.1)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		100	1	1	4.5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理	0	100	0 (0)	0 (0)	3.6(3.2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	2.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

( ) : 平均値

B(a)P : ベンツピレン

直接法のうち培地中の検体の濃度が  $3.3 \times 10^{-4} \text{M}$  では細胞が死滅したため染色体標本の作製が出来なかった。また、培地中の検体の濃度が  $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$  では著しい分裂抑制が認められた。そのため 24 時間後に一方のプレートから作製した標本について、100 個の良好な分裂期細胞の観察ができなかった。また、48 時間後に作製した標本については分裂期細胞の観察ができなかった。しかし、その他の濃度のいずれの標本作製時間においても、染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5% を越えなかった。

また、代謝活性化法において、 $1.0 \times 10^{-8} \text{M}$  において被験物質除去 12 時間後に作製した標本では、分裂抑制のため、各プレートにつき 100 個の分裂細胞を観察することが出来なかった。しかし、いずれの濃度、いずれの標本作製時においても、染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5% を越えなかった。

直接法での MMC と代謝活性化法での B(a)P のいずれの陽性対照とも染色体異常誘発性が確認された。

従って、本検体は染色体異常誘発性を有しないものと判断された。