

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. T-17)

試験機関：バイエル社毒性研究所（ドイツ）

報告書作成年：1966年

検体純度：

供試動物：FB30系、30日齢（雄49.9g、雌48.5g）

1群当り雄8匹、雌16匹（F2bのみ雄10、雌20）

投与期間：P世代；投与開始からF1b児離乳時まで、F1世代；離乳時からF2児離乳時まで、F2世代；離乳時からF3児離乳時まで

投与方法：検体を0（対照群）、10、25、60、150及び500ppmを含有した飼料を自由に摂食させた。

検体摂取量：報告書に摂餌量および平均体重の記載が無く、平均検体摂取量を算出することはできなかったため、JMPRの評価書中のラットにおける試料中の検体濃度12ppmは、検体摂取量0.6mg/kg/日に等しいとの記載に基づき10、25、60、150、500ppmから換算した値を下記に示した。

投与量 (ppm)		10	25	60	150	500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雌雄	0.5	1.2	3.0	7.5	25

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；♂：♀=1：2で交尾させた。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び哺育期の観察に基づき、以下の指標を算出した。

交尾率 = (交尾動物数 / 交配動物数) × 100

受精率 = (受精動物数 / 交尾動物数) × 100

妊娠率 = (妊娠動物数 / 受精動物数) × 100

病理組織学的検査；児動物は肉眼的観察で奇形の有無を判別した。

世代数：3世代、第2産児で継代

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (72 日)	♂ : ♀ = 1 : 2 で交配。	飼料摂取量と体重を測定。 体重を 7 日ごとに測定。
	交配 (19 日)		
	妊娠 (21 日)		
	出産		
F <sub>1a</sub>	哺育 (100 日)	出産後 5 日目に原則として 1 腹あたり 10 匹に調整。4 週間の離乳時に哺育児を屠殺。 ♂♀ 2 : 1 で交配。	出産後週に 1 回母体重を測定。新生児の体重を出産後 0、5、7、14、21、28 日目に測定。 体重を 7 日ごとに測定。
	交配 (20 日)		
	妊娠 (19 日)		
	出産		
F <sub>1b</sub>	哺育 (86 日)	出産後 5 日目に原則として 1 腹あたり雌雄各 10 匹に調整。4 週間の離乳後雌雄にわけ、8 週齢で次世代への継代用に雄 10 匹、雌 20 匹を選抜。親動物は離乳後殺処分。	出産後週に 1 回母体重を測定。新生児の体重を出産後 0、5、7、14、21、28 日目に測定。
	生育 (100 日)		
	交配 (19 日)		
	妊娠 (21 日)		
F <sub>2a</sub>	哺育 (38 日)	♂♀ 1 : 2 で交配した。	飼料摂取量と体重を測定。個別飼育。 体重を 7 日ごとに測定。  (P 世代に準ずる)
	交配 (19 日)		
	妊娠 (22 日)		
	出産		
F <sub>2b</sub>	哺育 (84 日)		
	生育 (84 日)		
	交配 (19 日)		
	妊娠 (21 日)		
F <sub>3a</sub>	哺育 (38 日)		
	交配 (19 日)		
	妊娠 (21 日)		
	出産		
F <sub>3b</sub>	哺育 (21 日)	出産後 4 日目に原則として 1 腹あたり 10 匹に調整。	出産後週 1 回に母体重を測定。新生児の体重を出産後 0、5、7、14、21 日目に測定。出産後 3 週に新生児を屠殺し、各群 10 匹の母動物から雌雄各 2 匹の新生児から摘出した肝、腎、副腎、胸腺及び精巣重量を測定した。これらの臓器に卵巣を加え計 18~39 匹の児動物の組織学的検索

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

## 結果

次表に示す様に 60 ppm 投与群までは、親動物の体重、飼料摂取量、妊娠率、児動物の出生児数、哺育率、出生児平均体重、哺育期体重、奇形の有無、臓器重量及び組織所見に検体に起因する変化は全く認められなかった。150 ppm 投与群では、出生児数が軽度に減少し (F<sub>1a</sub>、F<sub>2b</sub>、F<sub>3a</sub>)、P 世代では哺育率がやや低下した。又 F<sub>2a</sub> では哺育期体重が著しく抑制された。その他、各群共に奇形がみられたが使用した系統の自然発生的なもので検体に起因するものではなかった。

500 ppm 投与群では、体重増加が有意に抑制され、全く妊娠しなかった。そこで原因調査の追加試験を行い次の結果を得た。

交配は、非投与雄と投与雌、非投与雌と投与雄について行った。

- 1) 非投与雄 (8 匹) × 投与雌 (15 匹) 妊娠率 14/15、93.3%
- 2) 非投与雌 (16 匹) × 投与雄 (8 匹) 妊娠率 0/16、0 %

1) の場合は妊娠率は正常であったが、哺育期間において雌 2 匹の児動物が合計 3 匹しか成育出来なかった。

2) の場合は全く妊娠しなかった。従って P 世代の 2 回目の交配で、500 ppm 投与群において雄ラットにおける交尾行動の低下が認められた。

以上の結果より、3 世代にわたって本剤を試料中に混入して投与した場合、150ppm 投与群で出生児の数や児動物の体重、哺育率に僅かな低下が認められた。

繁殖に関する無作用量は親動物及び児動物に対して 60ppm と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

世代		親：F0 児：F1a, F1b						親：F1b 児：F2a, F2b					親：F2b 児：F3a, F3b					
投与量 (ppm)		0	10	25	60	150	500	0	10	25	60	150	0	10	25	60	150	
動物数	雄	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	10	10	10	10	
	雌	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	20	20	20	20	20	
親動物	体重	—	—	—	—	—	減少	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	飼料摂取量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	妊娠率	a	16/16	15/16	15/16	15/16	13/16	0/16	15/16	15/16	16/16	14/16	15/16	18/20	15/20	18/20	18/20	18/20
	b	16/16	15/16	15/16	15/16	14/16	/	16/16	15/16	15/16	15/16	16/16	20/20	18/20	19/20	20/20	19/19	
児動物	出生児数 (平均)	a	11.4	9.8	10.0	9.9	8.9	/	12.1	11.2	10.7	11.5	11.4	10.3	11.3	10.2	10.6	7.9
		b	11.1	10.1	11.3	10.7	10.4	/	14.3	11.4	12.1	11.8	9.8	11.2	10.9	11.1	10.7	10.3
	出生児数 (10匹に間引き後)	a	9.9	8.4	8.8	8.9	8.4	/	9.5	9.4	9.2	9.7	9.9	9.2	9.5	9.1	9.6	7.5
		b	9.7	8.6	9.5	9.3	9.3	/	9.3	8.7	9.6	9.2	7.9	9.5	8.1	9.0	9.0	9.0
	哺育率 (%) (4週後)	a	72.3	70.7	74.2	61.2	47.7	/	97.2	91.5	91.9	97.8	97.3	90.3	95.8	92.7	93.1	92.6
		b	69.7	63.6	84.6	76.8	58.5	/	93.9	95.4	97.2	87.7	88.9	81.7	89.7	93.6	94.5	94.7
	出生児平均体重	a	5.4	5.7	8.9	5.7	5.9	/	5.7	6.1	5.7	5.9	6.1	6.1	6.1	6.0	5.8	6.3
		b	5.7	5.9	5.6	5.6	5.9	/	5.9	6.1	6.1	5.7	6.7	5.8	5.9	5.6	5.7	6.1
	出生児平均体重 (間引き後)	a	5.5	5.7	5.9	5.7	5.9	/	5.8	6.2	5.8	6.0	6.1	6.1	6.1	6.1	5.9	6.4
		b	5.8	6.0	5.7	5.7	5.9	/	6.0	6.1	6.1	5.8	6.4	5.9	6.0	5.7	5.7	6.1
	哺育期体重	a	—	—	—	—	—	/	—	—	—	—	抑制	—	—	—	—	—
		b	—	—	—	—	—	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
奇形の有無	a	—	—	門歯 (3)	門歯 (1)	門歯 (2)	/	無眼球 (1)	無眼球 (1)	無眼球 (1)	無眼球 (1)	—	—	門歯 (1)	無眼球 (1)	—	—	
	b	—	—	—	無毛 (1)	無毛 (1)	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
臓器重量 (F3b) (母体当り♂2, ♀2)													—	—	—	—	—	
組織所見 (計 18~39匹)													—	—	—	—	—	

空欄：検査せず —：異常所見なし  
統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

2) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. T-18)

試験機関：バイエル社毒性研究所（ドイツ）  
Experimental pathology Services  
（スイス）（病理）

報告書作成年：1984年

検体の純度：

供試動物：WISW(SPF/Cpb)ラット、1群雄10匹 雌20匹、  
試験開始時5～6週齢（雄95g、雌88g）

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳時までの24週間、F1世代；離乳時からF2児  
離乳児までの20週間、F2世代；離乳後から約12週間  
（1981年11月～1983年3月）

投与方法：検体を0、15、60及び240 ppmの濃度で1%ピーナツ油添加の粉末飼料に混  
ぜラットに2世代にわたり給餌した。

投与用量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は♂♀1つのゲージに同居させ、雌の膣塗抹標本をとり精子  
の有無を確認した。精子を認めた日を妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；妊娠率、生存率、保育率、授精率を算出した。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した雌の数}}{\text{交尾した雌の数}} \times 100$$

$$\text{生存率} = \frac{\text{5日後の生存児動物の数}}{\text{出生児動物数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

$$\text{哺育率} = \frac{\text{4週間後の生存児動物の数}}{\text{10匹への間引き5日後の生存児動物数}} \times 100$$

$$\text{受精率} = \frac{\text{受精した雌の数}}{\text{交配した雌の数}} \times 100$$

病理組織学的検査；F<sub>1B</sub>—親世代の全ラットで脳、心、肺、胃、小腸、大腸、肝、膵、腎、膀胱、精巣、精巣上部、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、下垂体、甲状腺、副腎、脾、その他肉眼的異常部位について鏡検した。F<sub>2B</sub>—児動物の全ラットでは大腸、前立腺、精嚢、膣、下垂体を除く胸腺とF<sub>1B</sub>—親世代と同じ部位について鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (100 日)	個別飼育 雌と雄 2 : 1 で交配した。雄は 3 回替えた。交配は雌の膣塗抹標本の精子で確認。 (妊娠 0 日)	一般症状を観察し、飼料摂取量と体重を測定。体重を 3 日ごとに測定。
	交配 (20 日)		
	妊娠 (21 日)		
	出産		
	F <sub>1a</sub>		
F <sub>1b</sub>	生育 (14 日)	個別飼育	出産後、週に 1 回母体重を測定。新生児の体重を出産後 0、5、7、14、21、28 日目に測定。4 週間の離乳後雌雄にわけ、8 週齢で次世代への継代用に雄 10 匹、雌 20 匹を選抜。親動物は離乳後約 1~3 週間で屠殺、剖検。
	交配 (20 日)		
	妊娠 (21 日)		
	出産		
	哺育 (8 週)		
F <sub>2a</sub>	生育 (100 日)	(P 世代に準ずる)	体重を雄は週 1 回測定、雌は 3 日ごとに測定。
	交配 (20 日)		
	妊娠 (21 日)		
	出産		
	哺育 (28 日)		
F <sub>2b</sub>	生育 (14 日)	(P 世代に準ずる)	出産後週 1 回に母体重を測定。新生児の体重を出産後 0、5、7、14、21、28 日目に測定。出産後 4 週に新生児を屠殺し、剖検し雌雄各 10 匹の組織学的検査を行った。
	交配 (20 日)		
	妊娠 (21 日)		
	出産		
F <sub>2b</sub>	哺育 (28 日)		

世代数 : 2 世代、第 2 産児で継代

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

試験結果：概要を次頁の表に示した。

検体を飼料中濃度 0、15、60 及び 240 ppm の濃度で 2 世代にわたる試験を行なったところ、次頁表に示すように 15 ppm 投与群までは、親動物の一般症状、死亡率、体重増加、飼料摂取量、検体摂取量、受精率、妊娠率、妊娠期間、剖検及び臓器重量所見に異常は認められなかった。児動物の検査でも性比、死亡胎児数、出生児数、出生児平均体重、5 日後平均生存数、哺育率、哺育期体重、奇形の有無、剖検所見で異常は認められなかった。

60 ppm 投与群では親動物 (P) の体重がやや低下し、F<sub>2b</sub> 児動物の哺育期体重が有意に低下した。

240 ppm 投与群では、一般行動に何ら変化は認められなかったが、被毛が黄色化し、体重増加抑制、児動物の 5 日後生存率、同腹児数や哺育期体重が低下し、雌の腎比重量に有意な増加がみられた。

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合の無毒性量は、親動物及び児動物に対して 15ppm (P: 雄 1.14 mg/kg/日、雌 1.51 mg/kg/日) と判断される。繁殖については 60ppm までは影響はなかった。

申請者註) 投与については「連続した 2 世代の各 2 回の交配後における投与群ラット」とレポート内に記載があるが、検体摂取量は P 世代しか記載がないため親動物、児動物毎に雄雌の無毒性量を記載していない。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

世代		親 : P 児 : F1a, F1b				親 : F1b 児 : F2a, F2b				
投与量 (ppm)		0 (対照)	15	60	240	0 (対照)	15	60	240	
動物数	雄	10	10	10	10	10	10	10	10	
	雌	20	20	20	20	20	20	20	20	
親動物	一般症状	—	—	—	被毛の黄色化	—	—	—	被毛の黄色化	
	死亡率	雄	—	—	—	—	—	—	—	—
		雌	—	1/20	—	—	1/20	—	—	—
	体重増加	雄	—	—	—	—	—	—	—	有意な低下
		雌	—	—	やや低下	有意な低下	—	—	—	有意な低下
	飼料摂取量	雄	—	—	—	—	—	—	—	—
		雌	—	—	—	—	—	—	—	—
	検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	—	1.14	4.32	18.33	—	—	—	—
		雌	—	1.51	6.17	25.16	—	—	—	—
	受精率	a	20/20	20/20	19/20	20/20	18/20	19/20	18/20	20/20
		b	18/20	19/20	20/20	19/20	14/19	19/20	19/20	20/20
	妊娠率	a	19/20	20/20	19/20	20/20	18/20	19/20	18/20	19/20
		b	18/20	19/20	20/20	19/20	14/19	19/20	19/20	20/20
妊娠期間 (F1b のみ)	a	—	—	—	—	22.2	22.2	21.9	22.3	
	b	—	—	—	—	22.1	22.2	22.0	22.1	
剖検及び臓器重量 (F1b 全動物)	—	—	—	—	—	—	—	—	♀腎重量 有意な増加	
病理組織 (F1b 全動物)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
児動物	出生児数総数	a	197	185	186	175	211	191	206	185
		b	197	188	204	188	165	211	212	215
	性比	a	—	—	—	—	—	—	—	—
		b	—	—	—	—	—	—	—	—
	死亡胎児総数	a	7	0	0	1	1	1	2	1
		b	4	6	13	2	1	1	2	1
	出生児数平均	a	9.6	9.2	9.8	8.7	11.7	10.0*	11.3	9.2**
		b	10.7	9.6	9.5	9.8	11.7	11.1	11.1	10.7
	出生児平均体重 (g)	a	5.8	6.1	5.7	6.1	5.6	5.9	5.4	5.6
		b	5.9	5.8	5.8	5.9	5.6	5.6	5.5	5.6
	5日後平均生存数	a	9.2	8.9	9.3	7.6	11.5	9.5*	10.9	8.5**
		b	10.5	9.0	8.9	9.5	11.1	10.5	10.3	8.6*
	5日後生存率 (%)	a	95.9	96.8	95.2	87.9**	98.1	94.7	96.1	92.4*
		b	97.9	94.0	93.7	96.8	95.1	95.2	92.9	80.4**
	哺育率 (%) (4週後生存率)	a	99.4	97.1	96.3	95.9	98.2	94.4	87.6**	95.6
		b	99.4	95.8	97.0	97.6	93.1	98.3*	91.7	88.9
哺育期体重	a	—	—	—	—	—	—	—	有意な低下	
	b	—	—	—	有意な低下	—	—	有意な低下	有意な低下	
奇形発生	a	—	—	—	—	—	—	—	—	
	b	—	—	—	—	—	—	—	—	
剖検 (F2b, 雌雄各10匹)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
病理組織 F2b 児	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Mann and Whitney 及び Wilcoxon の U 検定

— : 異常なし \* : P < 0.05  
空欄 : 検査せず \*\* : P < 0.01

$$\text{受精率} = \frac{\text{受精動物数}}{\text{交尾動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{胎児を有する動物数}}{\text{受精動物数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

### 3) ラットを用いた1世代繁殖毒性試験

(資料 No.T-34)

試験機関 株式会社 化合物安全性研究所

[G L P 対応]

報告書作成年 2013 年

検体の純度 :

供試動物 : BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)ラット (日本クレア株式会社), 1 群雌雄各 24 匹, 投与開始時 5 週齢、投与開始時平均体重 雄 130.5g (115~146g) ♀112.6g (104~121g)

投与期間 : F0 世代 : 投与開始から F1 児哺育 4 日まで, 雄は約 16 週間, 雌は約 13~15 週間。  
(2013 年 1 月 30 日~2013 年 5 月 24 日)

投与方法 : 被験物質を 0, 250, 500 ppm の濃度で基礎飼料 (CRF-1) に混合して, 動物に給与した。

投与用量設定根拠 :

観察・検査項目 : 概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡 ; 投与期間中 1 日 2 回, 全動物の一般状態及び生死を観察した。体重測定時は動物を手に取り, 詳細に観察した。衰弱の著しい動物は発見時に安楽死させて肉眼的病理検査を実施した。

体重 ; 雄の体重を毎週測定した。雌の体重は, 育成期間中は毎週, 妊娠期間中は妊娠 0, 7, 14 及び 20 日, 哺育期間中は哺育 0 及び 4 日にそれぞれ測定した。また, 雄では投与開始日, 雌では投与開始日, 妊娠 0 日および哺育 0 日の体重値を基準に体重増加量を算出した。

摂餌量 ; 交配期間中を除き, 体重測定日に測定した。

検体摂取量 ; 週ごと及び全体を通じた平均検体摂取量(mg/kg/日)を算出した。

交配及び妊娠の確認 ; 雌を夕刻に雄のケージに移し, 1:1 で連続同居方式で交配させた。翌日から毎日, 午前中に膣栓及び膣垢中の精子の有無により交尾を確認し, その日を妊娠 0 日とした。交配期間の限度を 9 日間とした。

妊娠は, 出産の有無及び肉眼的病理検査時に着床痕の有無を調べること

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

により確認した。

繁殖に関する指標；親動物の繁殖期間中における観察結果に基づき、次の指標を算出した。

交尾率 $=$ (交尾成立動物数 $\div$ 交配動物数) $\times$ 100

授(受)胎率 $=$ (妊娠動物数 $\div$ 交尾成立動物数) $\times$ 100

出産率 $=$ (正常出産雌数 $\div$ 妊娠雌数) $\times$ 100

分娩率 $=$ (出産児数 $\div$ 着床数) $\times$ 100

着床数：子宮内の着床痕の数

妊娠期間(日) $=$ 交尾成立日(妊娠0日)から分娩完了日(哺育0日)迄の期間

追加交配； 500 ppm 群で授(受)胎率が0%であったため、500 ppm 群の雄親動物について無処置の雌と追加交配を実施した。無処置雌は妊娠15日に開腹して妊娠の有無を検査した。

精子検査； 精巣及び精巣上体の精子の数、運動能並びに形態を調べた。精子の数は精巣及び精巣上体1g当たり並びに臓器当たりの数で表した。運動能は、精子運動能解析装置 (TOX IVOS, Hamilton Thorne Biosciences 社) を用いて調べ、自動性を示す精子の百分率 (運動率)、良好精子の百分率で表した。精子の形態は精子200個当たりの異常形態精子の百分率で表した。

産児数・児動物の性比；哺育0日に各腹の生存児と死亡児を数えその合計を産児数とし、性比は腹毎に雄産児数 $\div$ 産児数を算出した。

児動物の一般状態；哺育期間中毎日観察した。

児動物の体重； 生後0及び4日に個体別に測定した。

児動物の生存率；生後0日生存率 $=$ 生後0日の生存児数 $\div$ 出産児数

生後4日生存率 $=$ 生後4日の生存児数 $\div$ 生後0日の生存児数

肉眼的病理検査；全ての親動物、哺育期間中に死亡した哺育児、哺育4日に安楽死させた哺育児について肉眼的病理検査を実施した。

臓器重量； 全ての親動物について、脳、下垂体、甲状腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺含む)、前立腺、卵巣及び子宮の重量を測定し、相対重量(対体重比)も算出した。臓器重量の統計学的検定は、非妊娠例、途中安楽死例を除外して評価した。500 ppm 群の雌では、妊娠動物が得られなかったため評価から除外した。

病理組織学的検査；対照群及び高用量群の全ての親動物について、精巣、精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺、卵巣、子宮及び膈の病理組織学的検査を実施した。250 ppm 群の雄親動物の肉眼的病理検査において腎臓の暗褐色化が高頻度 (8/24) で観察され、検体投与との関連性が示唆された。したがって、全ての試験群について雄親動物全例の腎臓 (左右) の病理組織学的検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

を実施した。

500 ppm 群の雄親動物の肉眼的病理検査において精巣および精巣上体に異常所見が観察され、検体投与の影響と考えられた。したがって、250 ppm 群について雄親動物全例の精巣および精巣上体の病理組織学的検査を実施した。

臓器重量の変化として、雄親動物において 250 および 500 ppm 群の肝臓の絶対および相対重量に有意な高値が認められた。雌親動物では、250 ppm 群の肝臓および腎臓の絶対および相対重量に有意な高値が認められた。したがって、全ての試験群について雄親動物全例の肝臓、雌親動物全例の肝臓および腎臓 (左右) の病理組織学的検査を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 1 : 試験項目概要

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
F0	育成 (10)		動物の一般状態を毎日観察。 体重及び摂餌量を週 1 回測定。 交配前 2 週間雌の性周期を観察。
	交配 (2)	雌雄を 1:1 で同居させた。膣栓または膣垢中の精子の有無により交尾を確認。交尾確認日を妊娠 0 日とした。	交配状況の観察(交尾率)。
	妊娠 (3)		体重(妊娠 0, 7, 14 及び 20 日)及び摂餌量(妊娠 0-7, 7-14 及び 14-20 日)を測定。
F0/F1	出産	出産確認日を哺育 0 日とした。	出産状況の観察。 産児数, 生存児数, 死産児数, 性別, 授(受)胎率, 出産率, 妊娠期間。
	追加交配	児の得られなかった 500 ppm 群の雄動物全例を無処置雌と追加交配した。	無処置雌は妊娠 15 日に開腹して妊娠の有無を検査。
	哺育 (1)	哺育 4 日に, 全ての哺育児を安楽死させた。	体重(哺育 0 及び 4 日)及び摂餌量(哺育 0-4 日)を測定。 哺育児の一般状態を毎日観察し, 体重を生後 0 及び 4 日に測定。 哺育児の肉眼的病理検査。
全ての親動物を安楽死させた。		親動物の肉眼的病理検査及び脳, 下垂体, 甲状腺, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣, 精巣上体, 精囊(凝固腺含む), 前立腺, 卵巣及び子宮の重量測定。 雄親動物の精子検査。 対照群及び高用量群の精囊, 凝固腺, 前立腺, 卵巣, 子宮及び膣の病理組織学的検査。 全群の雌雄の肝臓, 腎臓, 雄の精巣, 精巣上体の病理組織学的検査。	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

結果：概要を以下の表に示す。

世 代			親：F0			児：F1					
投与量 (ppm)			0			250			500		
動物数			雄	24	24	24	24	24	24	24	
			雌	24	24	24	24	24	24	24	
親	検体摂取量(mg/kg/日)		雄	*	18.5	38.8					
	(試験期間中の平均)		雌	*	22.6	47.6					
一般状態	雄	脱毛		—	—	—					
			雌	0/24	0/24	5/24 ↑					
死亡			雄	0/24	0/24	0/24					
			雌	1/24	0/24	0/24					
動物	体重 (g)	雄	投与開始日	100	100.0	100.2					
			投与第2週	100	98.3	95.9 ↓					
			投与第3週	100	97.3	94.0 ↓					
			投与第4週	100	95.4 ↓	92.3 ↓					
			投与第5週	100	94.0 ↓	91.5 ↓					
			投与第6週	100	94.5 ↓	91.7 ↓					
			投与第7週	100	93.8 ↓	91.5 ↓					
			投与第8週	100	93.1 ↓	90.3 ↓					
			投与第9週	100	92.2 ↓	88.7 ↓					
			投与第10週	100	91.4 ↓	87.6 ↓					
			投与第11週	100	91.8 ↓	87.7 ↓					
			投与第12週	100	91.7 ↓	87.6 ↓					
			投与第13週	100	91.9 ↓	87.5 ↓					
			投与第14週	100	92.4 ↓	88.8 ↓					
			投与第15週	100	92.3 ↓	89.1 ↓					
	最終体重	100	92.9 ↓	89.3 ↓							
	動物	雌	投与開始日	100	99.6	99.8					
			投与第2週	100	99.7	90.4 ↓					
			投与第3週	100	98.3	87.6 ↓					
			投与第4週	100	96.1	84.9 ↓					
			投与第5週	100	94.7 ↓	85.6 ↓					
			投与第6週	100	94.3 ↓	85.1 ↓					
			投与第7週	100	92.8 ↓	85.8 ↓					
			投与第8週	100	92.0 ↓	84.4 ↓					
			投与第9週	100	92.1 ↓	83.9 ↓					
			投与第10週	100	91.7 ↓	83.7 ↓					
			妊娠0日	100	90.3 ↓	*					
妊娠7日			100	89.4 ↓	*						
妊娠14日	100	89.3 ↓	*								
妊娠20日	100	90.5 ↓	*								
哺育0日	100	87.8 ↓	*								
哺育4日	100	90.8 ↓	*								

多重比較法 (Dunnett または Steel 法) : 体重, Fisher の正確確率検定法 : 一般状態

Student の t 検定 : 雌の妊娠・哺育期間の体重,

↑ ↓ :  $p < 0.05$ , ↓ :  $p < 0.01$ , \* : 空欄または不妊のためデータなし, — : 異常なし.

a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

(続き-1)

世 代			親：F 0 児：F 1			
投与量 (ppm)			0	250	500	
動物数			雄	24	24	
			雌	24	24	
親 動物	体重増加量 (g) a	雄	投与 0-2 週	100	96.2	90.8 ↓
		雄	投与 0-3 週	100	95.2	89.1 ↓
		雄	投与 0-4 週	100	92.4 ↓	87.3 ↓
		雄	投与 0-5 週	100	90.6 ↓	86.6 ↓
		雄	投与 0-6 週	100	91.6 ↓	87.4 ↓
		雄	投与 0-7 週	100	90.8 ↓	87.4 ↓
		雄	投与 0-8 週	100	90.0 ↓	85.9 ↓
		雄	投与 0-9 週	100	88.9 ↓	83.9 ↓
		雄	投与 0-10 週	100	87.9 ↓	82.5 ↓
		雄	投与 0-11 週	100	88.6 ↓	82.8 ↓
		雄	投与 0-12 週	100	88.6 ↓	82.8 ↓
		雄	投与 0-13 週	100	89.0 ↓	82.8 ↓
		雄	投与 0-14 週	100	89.6 ↓	84.5 ↓
		雄	投与 0-15 週	100	89.5 ↓	85.0 ↓
		雄	投与 0-最終日	100	90.5 ↓	85.5 ↓
		雌	投与 0-2 週	100	99.8	67.9 ↓
		雌	投与 0-3 週	100	95.8	66.7 ↓
		雌	投与 0-4 週	100	91.1	64.5 ↓
		雌	投与 0-5 週	100	88.8 ↓	68.8 ↓
		雌	投与 0-6 週	100	88.5 ↓	69.2 ↓
		雌	投与 0-7 週	100	86.0 ↓	71.7 ↓
		雌	投与 0-8 週	100	85.0 ↓	70.2 ↓
		雌	投与 0-9 週	100	85.2 ↓	69.5 ↓
		雌	投与 0-10 週	100	84.9 ↓	70.1 ↓
		雌	妊娠 0-7 日	100	80.4 ↓	*
		雌	妊娠 0-14 日	100	84.7 ↓	*
		雌	妊娠 0-20 日	100	90.9	*
		雌	哺育 0-4 日	100	176.5 ↑	*

多重比較法 (Dunnett または Steel 法) : 体重増加量,

Student の t 検定 : 雌の妊娠・哺育期間の体重増加量,

↓ :  $p < 0.05$ , ↑↓ :  $p < 0.01$ , \* : 不妊のためデータなし.

a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

(続き-2)

世 代			親 : F 0 児 : F 1			
投与量 (ppm)			0	250	500	
動物数			雄	24	24	
			雌	24	24	
親	摂餌量 (g/日) a	雄	投与第1週	100	95.8	94.5 ↓
		雄	投与第2週	100	98.0	97.5
		雄	投与第3週	100	96.8	97.6
		雄	投与第4週	100	96.5	96.7
		雄	投与第5週	100	93.4 ↓	98.5
		雄	投与第6週	100	95.6	97.0
		雄	投与第7週	100	90.3 ↓	96.8
		雄	投与第8週	100	94.6 ↓	94.9
		雄	投与第9週	100	92.3 ↓	94.4 ↓
		雄	投与第10週	100	94.4 ↓	94.4 ↓
		雄	投与第12週	100	94.9 ↓	99.5
		雄	投与第13週	100	95.6	98.9
		雄	投与第14週	100	96.9	101.5
		動物	摂餌量 (g/日) a	雌	投与第1週	100
雌	投与第2週			100	97.3	82.7 ↓
雌	投与第3週			100	96.2	86.4 ↓
雌	投与第4週			100	96.2	85.6 ↓
雌	投与第5週			100	93.6 ↓	91.1 ↓
雌	投与第6週			100	93.1 ↓	88.0 ↓
雌	投与第7週			100	93.7 ↓	92.0 ↓
雌	投与第8週			100	94.7	92.0 ↓
雌	投与第9週			100	96.8	92.4 ↓
雌	投与第10週			100	96.7	96.7
雌	妊娠 0-7 日			100	91.9 ↓	*
雌	妊娠 7-14 日			100	88.1 ↓	*
雌	妊娠 14-20 日			100	95.4	*
雌	哺育 0-4 日			100	107.0	*

多重比較法 (Dunnnett または Steel 法) : 摂餌量,

Student の t 検定 : 雌の妊娠・哺育期間の摂餌量,

↓ : p<0.05, ↓↓ : p<0.01, \* : 不妊のためデータなし.

a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した.



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

(続き-3)

世 代				親 : F 0			児 : F 1		
投与量 (ppm)				0	250	500			
動物数				雄	24	24	24		
				雌	24	24	24		
親	繁殖成績	正常性周期(%)		91.7	100.0	91.7			
		発情期間隔(日)		4.07	4.12	4.88 ↑			
		交尾率(%)	雄	100.0	100.0	100.0			
			雌	100.0	100.0	100.0			
		授(受)胎率(%)	雄	95.8	100.0	0 ↓			
			雌	95.8	100.0	0 ↓			
		出産率(%)		95.7	100.0	*			
		妊娠期間(日)		22.2	22.2	*			
		分娩率(%)		93.83	92.57	*			
		着床数		13.4	13.2	*			
産児数		12.4	12.2	*					
動物	精子検査	精子数	精巢	×10 <sup>6</sup>	193.36	195.70	185.29		
				×10 <sup>6</sup> /g	108.15	105.63	103.31		
		精巢上体	×10 <sup>6</sup>	197.81	206.65	91.25 ↓			
			×10 <sup>6</sup> /g	750.48	761.25	378.66 ↓			
		精子運動率(%)		90.22	93.48	0.00 ↓			
	良好運動精子率(%)		65.98	68.82	0.00 ↓				
	異常形態精子率(%)		2.54	2.54	58.06 ↑				
	肉眼的病理所見	雄	腎盂拡張		2/24	3/24	6/24		
			腎臓：暗褐色		0/24	8/24 ↑	0/24		
			精巢：小型		0/24	0/24	1/24		
精巢：軟化			0/24	0/24	2/24				
精巢上体：小型			0/24	0/24	13/24 ↑				
精巢上体：黄白色/黄緑色腫瘍			0/24	0/24	8/24 ↑				
雌		精巢上体：黄白色斑		0/24	0/24	1/24			
		腺胃粘膜の多巣性黒色点		1/24	0/24	0/24			
		腎盂拡張		1/24	1/24	1/24			
		腎臓：黄褐色化		1/24	0/24	0/24			
		腎臓：多巣性黄褐色斑		1/24	0/24	0/24			
		腎臓：表面粗造		1/24	0/24	0/24			
		脾臓：大型		1/24	0/24	0/24			
物	胸腺：小型		1/24	0/24	0/24				
	副腎：大型		1/24	0/24	0/24				
	脱毛		0/24	0/24	4/24				
	灰白色皮下腫瘍		0/24	0/24	1/24				

多重比較法 (Dunnett または Steel 法) : 発情期間隔, 精巢または精巢上体の精子数, 精子運動率, 異常形態精子率,

Fisher の正確確率検定法 : 正常性周期, 交尾率, 受胎率, 出産率, 肉眼的病理所見,

Student の t 検定または Welch の検定 : 妊娠期間, 着床数, 分娩率, 産児数,

↑↓ : p<0.01, \* : 不妊のためデータなし.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

(続き-4)

世 代				親 : F 0 児 : F 1		
投与量 (ppm)				0	250	500
動物数		雄		24	24	24
		雌		22	24	0
親	臓器重量 (絶対重量) a	雄	最終体重	100	92.9 ↓	89.3 ↓
			肝臓	100	109.3 ↑	116.2 ↑
			腎臓(左右)	100	102.6	109.5 ↑
		雌	最終体重	100	90.8 ↓	*
			肝臓	100	109.9 ↑	*
			腎臓(左右)	100	113.3 ↑	*
動物	臓器重量 (相対重量) a	雄	脳	100	105.8 ↑	110.6 ↑
			下垂体	100	103.1	111.3 ↑
			甲状腺(左右)	100	113.0 ↑	112.0 ↑
			肝臓	100	117.6 ↑	130.2 ↑
			腎臓(左右)	100	110.0 ↑	122.4 ↑
			脾臓	100	107.4	111.7 ↑
			精巣(左右)	100	110.8 ↑	109.1 ↑
			精巣上体(左右)	100	108.3 ↑	113.1
		精囊(+凝固腺)	100	109.1 ↑	118.9 ↑	
		雌	脳	100	110.6 ↑	*
			肝臓	100	120.4 ↑	*
			腎臓(左右)	100	124.3 ↑	*
			脾臓	100	119.9 ↑	*
			副腎(左右)	100	112.1 ↑	*
卵巢(左右)	100		111.0 ↑	*		

多重比較法 (Dunnett または Steel 法) : 雄の臓器重量, 体重,  
Student の t 検定または Welch の検定 : 雌の臓器重量, 体重,  
↑ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01, \* : 不妊のため評価から除外.  
a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した.



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

(続き-6)

世 代			親 : F 0      児 : F 1			
投与量 (ppm)			0	250	500	
動物数			雄	24	24	0
			雌	22	24	0
動物	児		性比 (雄/雄+雌)	0.447	0.433	*
	一般状態 (%)	雄	後肢の欠落	0.00	0.60	*
			死亡(哺育0日)	2.73	3.02	*
			死亡(哺育1-4日)	0.57	3.37	*
		雌	死亡(哺育0日)	0.91	0.52	*
			死亡(哺育1-4日)	2.55	2.17	*
			生存率	哺育0日	98.41	98.38
	(%)	哺育4日	98.43	97.61	*	
	体重 (g <sub>a</sub> )	雄	哺育0日	100	94.9↓	*
			哺育4日	100	90.9↓	*
		雌	哺育0日	100	93.3↓	*
			哺育4日	100	90.7↓	*
	肉眼的 病理所見	雄	頭部外傷/眼瞼開存	0.00	0.52	*
			小眼球/口蓋裂/口唇裂	0.00	0.83	*
			無眼球	0.00	2.19	*
			小耳/小顎	0.00	1.67	*
			脳室拡張	0.00	0.83	*
			脳の低形成	0.00	0.83	*
			肝臓の黄褐色化	0.76	1.39	*
腎盂拡張			0.00	0.60	*	
後肢の欠落			0.00	0.60	*	
雌		無眼球/小耳/小顎	0.00	0.52	*	

Student の t 検定または Welch の検定 : 体重, 生存率, 性比

Wilcoxon の順位和検定 : 一般状態, 肉眼的病理所見

↓ : p<0.05,    ↓↓ : p<0.01,    \* : データなし.

a : 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表した.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

#### 親動物

一般状態および死亡率；親動物の一般状態の観察において、250 ppm群の雌雄では、検体投与に関連する変化は認められなかった。500 ppm群の雌では妊娠期間中に脱毛が有意に高い頻度で認められたが、自然発生性の変化であり、肉眼的病理検査時には発生頻度が低下して有意な差は認められなかったことから、検体投与と関連はないと考えられた。なお、対照群において難産による安楽死処分動物が1例みられたが、その他には死亡は認められなかった。

体重変化； 親動物の体重および体重増加量では、250および500 ppm群で雌雄とも投与期間中有意な低値が認められ、検体投与に起因する増加抑制と考えられた。なお、500 ppm群の雌では妊娠動物が得られなかったため妊娠・哺育期間のデータは採取できなかった。

摂餌量； 親動物の摂餌量では、250および500 ppm群で雌雄とも有意な低値が認められ、検体投与の影響と考えられた。

肉眼的病理検査；腎臓では、肉眼的病理検査で雄の250 ppm群で暗褐色化が認められ、その発生頻度は対照群と比較して有意に高かった。500 ppm群では、精巣上体の小型、黄白色または黄緑色腫瘍が認められ、それらの発生頻度は有意に高かった。これらの腎臓および精巣上体の変化はいずれも検体投与の影響と考えられた。その他に検体投与群の雄または雌で腎盂拡張、精巣の小型、精巣の軟化、精巣上体の黄白色斑、脱毛または灰白色皮下腫瘍がみられたが、発生頻度が低く、検体投与と関連のない変化と考えられた。

臓器重量； 肝臓では、雌雄の250 ppm群および雄の500 ppm群で絶対および相対重量の有意な高値が認められた。腎臓では、雌の250 ppm群および雄の500 ppm群で絶対および相対重量の有意な高値が認められ、いずれも検体投与に関連した変化と考えられた。

また、相対重量の高値が雄の250 ppm群で脳、甲状腺、精巣、精巣上体および精嚢に、500 ppm群で脳、下垂体、甲状腺、脾臓、精巣および精嚢に、雌の250 ppm群で脳、脾臓、副腎および卵巣に認められたが、肉眼的病理検査時の体重の有意な低値による二次的な変化と考えられた。

病理組織学的検査；肝臓では、雌雄の500 ppm群で小葉中心性あるいはびまん性の肝細胞肥大が認められ、検体投与に起因する代謝機能の亢進による変化と考えられた。

腎臓では、雌雄の250 ppm群および雄の500 ppm群で尿細管上皮の褐色色素および皮質尿細管上皮の巨大核が認められ、巨大核は雌の500 ppm群でも認められた。これらの変化は、尿細管上皮の代謝異常によるものと考

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

えられ、500 ppm群よりも250 ppm群で発生頻度が高かったが、いずれの変化も検体投与の影響と考えられた。雄の対照群を含む全群で近位尿管上皮の硝子滴が認められ、500 ppm群では発生頻度の有意な低下が認められたが、この低下には検体投与との関連性はないと考えられた。

精巣上体では、体部および尾部の精子減少が認められた。しかし、精細管の萎縮が認められた2例以外では、精巣上体頭部の精子減少は認められなかった。精巣の精子数には対照群と比較して有意な差はみられなかったが、精巣上体の精子数に有意な低値がみられること、異常形態精子率が高頻度であること、尾部では管腔内細胞残屑が多く例で認められていることから、精巣上体の精子成熟に関わる機能、あるいは精巣上体管内に貯蔵された成熟過程にある精子が障害されたことが示唆された。尾部では精子肉芽腫が高頻度で認められ、精子運動能検査では運動率が0%であったことから、運動能の獲得が出来なかった精子の過剰な貯留によって精巣上体管が破綻したと推察された。また、間質の水腫、精巣上体管上皮の篩状化および間質の線維化も有意に高い頻度で認められ、いずれも検体投与の影響と考えられた。

精巣では、500 ppm群の肉眼的に軟化のみられた2例で精細管の萎縮が認められたが、他の例では異常所見は認められず、精巣精子数および精巣重量にも検体投与の影響は認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

#### 親動物の繁殖能力

発情周期； 正常性周期を示す雌の出現率には、検体投与群と対照群の間で有意な差は認められなかった。発情期間隔には、250 ppm群で対照群と比較して有意な差は認められなかったが、500 ppm群で有意な延長が認められ、検体投与との関連性が示唆された。

交尾率； 250および500 ppm群とも、検体投与の影響は認められなかった。

授(受)胎率； 500 ppmでは、授(受)胎率は0%であった。さらに、500 ppm群の雄を無処置雌と交配した結果、妊娠動物は得られず、雄性不妊が確認された。

出産率、着床数、分娩率および妊娠期間；250 ppm群では、対照群との間に有意な差は認められなかった。

精子検査； 250 ppm群では、精巣および精巣上体の精子数、精子運動率、良好精子率および精子の形態に検体投与の影響は認められなかった。

500 ppm群では、精巣の精子数には対照群と比較して有意な差は認められなかったが、精巣上体の精子数に有意な低値が認められ、精子運動率は0%であった。精子の形態検査では、異常形態精子率に有意な高値が認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

られ、検体投与の影響と考えられた。

#### 児動物

一般状態および生存率；500 ppm群では児動物が得られなかったため児動物のデータは採取できなかった。250 ppm群における哺育期間中の一般状態および生存率には対照群と比較して有意な差は認められなかった。

産児数および性比；250 ppm群の産児数および性比に有意な差は認められなかった。

体重； 250 ppm群の体重では生後0および4日に雌雄とも有意な低値が認められ、検体投与により児動物の発育が抑制されたと考えられた。

肉眼的病理検査；250 ppm群の肉眼的病理所見の発生頻度に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、本剤の250 ppm (雄で18.5 mg/kg/day, 雌で22.6 mg/kg/day相当) は親動物の一般毒性および児動物の発育に対して影響を及ぼすが、繁殖能力には影響を及ぼさない用量であると考えられた。

一方、500 ppm (雄で38.8 mg/kg/day, 雌で47.6 mg/kg/day相当) は、親動物の一般毒性影響に加えて、雄の精巣上体の精子成熟過程 (精子数, 精子運動能および精子形態) に影響を及ぼし、雄性不妊を引き起こす用量であると結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

#### 4) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No.T-19)

試験機関：バイエル社毒性研究所（ドイツ）

報告書作成年月日：1970年11月16日

検体の純度：

試験動物：FB30系ラット（雌 2.5～3.5 ヲ月齡、体重 200～250g）

1群交尾雌 9～11 匹

投与期間：妊娠 0～19 日

投与方法：検体を 0（対照群）、100、250 及び 750ppm の割合で粉末飼料中に混合し、ラットの全妊娠期間中に混餌投与した。

検体摂取量：報告書中に平均体重の記載が無く、平均検体摂取量を算出することができなかったため、JMPR の評価書中の「ラットにおける試料中の検体濃度 12ppm は、検体摂取量 0.6mg/kg/日に等しい」との記述に基づき 100、250、750ppm から換算した参考値を下記に示した。

投与量 (ppm)		100	250	750
検体摂取量 (mg/kg/日)	雌雄	5.0	12.5	37.5

試験項目：

親動物：一般症状、死亡、飼料摂取量、体重増加の観察と妊娠 20 日目に帝王切開し、妊娠率、着床数、生存胎児数、吸収胚数を検査した。

胎児：体重、発育遅延胎児数、胎盤重量、外表検査、骨格検査及び内臓検査を行なった。

結果：

次表に示すように、250ppm 以上の投与群では鎮静状態を呈し、被毛が粗剛となり、飼料摂取量が減少した。又 250ppm 投与群では有意ではないが、体重増加量の低下が認められ、750ppm 投与群では著しい体重減少を示した。

750ppm 投与群では、9 匹の母体のうち 8 匹の母体が全吸収胚を示し、残りの 1 母体の胎児体重も少なく、発育遅延胎児を 4 匹認めた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの無作用量は母動物において



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

100ppm、児動物において 250ppm であった。また、最高投与量の 750ppm でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表：ラットにおける催奇形性試験結果

投与量 (ppm)		0	100	250	750
1 群当りの交尾動物数		11	9	11	9
母動物	一般症状	—	—	軽度の鎮静 被毛粗剛	鎮静 被毛粗剛
	死亡数	—	—	—	—
	1 日当りの飼料摂取量 (g)	20.5	20.3	18.8 <sup>*</sup>	13.9 <sup>*</sup>
	平均体重増加量 (g)	95.0	97.4	77.5	25.0 <sup>a)</sup>
	受精数 (%) (授精雌/交尾雌)	11 (100)	9 (81.8)	11 (100)	9 (81.8)
	妊娠動物数 (妊娠動物/受精雌)	11	9	11	1
	着床所見	平均着床数	12.4	12.4	12.3
平均胎児数		11.4	12.0	11.0	1.1 <sup>b)</sup>
平均吸収数		1.0	0.4	1.3	10.4 <sup>*</sup>
胎児	平均胎児体重 (g)	3.73	3.78	3.70	3.04
	平均発育遅延胎児数 (<3g)	0.5	0.2	0.9	4.0 <sup>b)</sup>
	平均胎盤重量 (g)	0.526	0.506	0.536	0.456
	平均骨格異常胎児数	2.7	4.9	3.1	10.0 <sup>b)</sup>
	奇形胎児数	0	0	0	0

※ Wilcoxon の検定 P<0.05

a) 全吸収胚を示した 8 匹の動物は含まれてない。

b) 1 匹だけ 10 匹の胎児を有しており、残りは全吸収胚を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

5) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No. T - 20)

試験機関：バイエル社毒性研究所（ドイツ）

報告書作成年月日：1986年8月11日

検体の純度：

試験動物：WISW (SPF/Cpb) ラット雌（体重 180～222g）、1群 25匹

投与期間：妊娠 6～15日

試験方法：検体を 0.5%クレモホアに懸濁し、0（対照群）、10、25 及び 62.5mg/kg の投与量で妊娠 6～15日目に毎日 1回強制経口投与した。対照群には、体重 1kg 当りクレモホア 10ml を同一期間に毎日強制経口投与した。  
投与用量は T-19 で、750ppm において著しい母体毒性と胎児毒性を示したことから最高濃度を 62.5mg/kg に設定した。

試験項目：

母動物：一般症状、死亡、体重増加の観察と妊娠 20日目（膣垢塗抹で精子を認めた日を妊娠 0日）に帝王切開し、着床数、生存胎児数、吸収胚数（早期吸収と後期吸収）を調査した。

胎児動物：体重、発育遅延胎児数、胎盤重量、外表検査、骨格検査および内臓検査を行った。

試験結果：

次表に結果を示す様にラットにおける胎児毒性試験において検体は、25 mg/kg の投与量まで母体に対し影響を与えなかった。

62.5 mg/kg では、投与期間中、体重増加量の抑制を認め母体毒性の徴候を示した。胎児毒性及び催奇形性の徴候は、投与群と対照群間の各検査項目に差はなく影響は認められなかった。

10 及び 25 mg/kg 群の胎児体重と胎盤重量に減少が認められているが用量相関性がなく、偶発的なものであった。各群にわずかの奇形が認められたが、自発発生的なものであった。

以上のことから、検体は 62.5mg/kg までの投与量で、催奇形性及び胎児毒性は認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

られず、母体に対する無毒性量は 25mg/kg で、胎児への無毒性量は 62.5mg/kg であった。

表：経口投与によるラット母体及び胎児における影響

投与量 (mg/kg/day)		0 (対照群)	10	25	62.5		
1 群当り交尾動物数 (♀)		25	25	25	25		
1 群当り妊娠動物数		21	18	18	21		
母動物	一般症状		—	—	—	—	
	死亡動物		—	—	—	—	
	体重増加 (g)	全妊娠期間	82.0	89.5	89.2	78.8	
		投与期間	22.4	24.7	23.4	14.1*	
	着床所見	検査動物数		21	18	18	21
		平均着床数		10.3	11.3	11.2	10.2
		平均生存胎児数	雄	4.7	5.4	5.8	4.1
雌			4.9	5.2	4.8	5.2	
平均吸収胚数		0.7	0.8	0.5	1.0		
胎児	性比 雄/雌		4.7/4.9	5.4/5.2	5.8/4.8	4.1/5.2	
	平均体重 (g)		3.64	3.46*	3.44*	3.44	
	平均発育遅延胎児数 (< 2.94g)		0.24	0.72	0.78	0.43	
	平均胎盤重量 (g)		0.63	0.56*	0.56*	0.59	
	平均骨格異常胎児数		2.24	2.61	2.67	1.67	
	平均奇形胎児数 (胎児数/母体)		0.0 (0/0)	0.11 (2/2)	0.06 (1/1)	0.05 (1/1)	

Wilcoxon の U 検定 \* P < 0.05

表：奇形の種類

試験群	奇形胎児を持つ母体数	奇形胎児数	奇形の種類
対照群	—	—	—
10mg/kg	2	1 1	脊椎湾曲 小眼球 (左側)
25mg/kg	1	1	全身浮腫 右前肢の形成障害 尾椎湾曲
62.5mg/kg	1	1	小眼球 (左側)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

6) ウサギを用いた胎児毒性及び催奇形性試験

(資料 No. T-21)

試験機関：バイエル社毒性研究所

報告書作成年：1981年

検体の純度：

試験動物：ヒマラヤ種ウサギ（体重2～2.5kg）1群交尾雌15匹

試験期間：器官形成期投与（1980年3月10日～4月25日）

試験方法：検体は0.5%クレモホア水溶液で懸濁し、動物には5 ml/kgの容量で0（対照群）、10、30、100 mg/kgの投与量を、妊娠6日目から18日目まで（計13回）毎日1回経口投与した。2回の交尾を確認した日を妊娠0日とした。母動物については外観、行動、投与期間及び妊娠期間の平均体重増加量を調べ、妊娠29日目に帝王切開して胎盤重量、着床数、同腹児数、吸収胚数及び胎児の外形異常、体重、性比、内臓異常、骨格変異について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

試験結果：

投与量		0	10	30	100	
母動物	一般症状	—	—	—	下痢及び飼料摂取量低下	
	死亡数	1匹死亡	—	—	1匹死亡	
	平均体重増加 (g)	投与期間	56.8	49.6	26.0	-62.9**
		妊娠期間	193.9	186.1	273.7	112.0
	交尾雌数	15	15	15	15	
	受精雌数	14	14	15	14	
	妊娠雌数	14	14	15	5**	
	着床所見	検査動物数	14	14	15	14
		平均胎盤重量 (g)	4.53	4.39	4.03*	4.22
		平均着床数	6.5	7.2	8.5**	6.6
平均吸収胚数		0.8	1.0	0.8	4.9**	
平均胎児数		5.7	6.2	7.7	1.7**	
性比 (雄/雌)		2.6/3.1	3.4/2.8	4.3**/3.5	0.6**/1.1**	
胎児	体重 (g)	38.87	37.36	36.56	35.64	
	平均奇形数	0.07	0.07	0.13	0.20	
	平均骨格異常数	0.00	0.00	0.00	0.00	
	平均発育遅延児数 (体重 25g 以下)	0.00	0.29	0.20	0.60*	

Wilcoxon のU検定

\* P < 0.05 有意差あり    \*\* P < 0.01 有意差あり    — : 異常なし

表に示したように、100 mg/kg 投与群では母動物への顕著な影響が見られ、多くの雌ウサギが投与期間中にかなりの体重減少を示し、増体重への影響が顕著であった。また、同用量群では生存胎児数の減少、発育遅延児数の増加が認められ、胎児毒性の徴候を示したが、奇形胎児の増加はなかった。これらの変化は、検体による直接の影響ではなく、母動物への影響の結果生じたものと思われた。

その他の投与群では、検体の影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児動物における無毒性量は 30 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 100 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

7) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No.T-35)

試験機関 株式会社 化合物安全性研究所

[G L P 対応]

報告書作成年 2014 年

検体の純度：

供試動物：SPF 日本白色種ウサギ (Kbl:JW, 北山ラベス株式会社), 1 群雌 25 匹, 交配時 19  
～20 週齢

投与期間：妊娠 6 日から妊娠 27 日まで投与 (2013 年 9 月 8 日～2013 年 10 月 10 日)

投与方法：被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ, 3, 10, 30 mg/kg/day の投  
与量で, 投与日に最も近い測定日の体重に基づいて, 妊娠 6 日から妊娠 27 日 (膈  
垢中に精子を認めた日を妊娠 0 日とした) まで 1 日 1 回強制経口投与した。

投与用量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物； 一般状態及び生死を, 投与期間中は投与前および投与後に, その他の期  
間は 1 日 1 回観察した。妊娠 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 26, 28  
日に体重および摂餌量を測定した。各測定日の体重値から妊娠 0 日の体  
重値を減じて体重増加量を求めた。妊娠 28 日の体重から子宮重量を減じ  
て補正体重を算出した。妊娠 28 日に母動物を安楽死させて剖検し, 妊娠  
子宮重量, 黄体数, 着床数, 生存胎児数, 死亡胚・胎児数, 生存胎児の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

胎盤重量を記録した。

胎児； 生存胎児の性別判定, 体重測定, 外表, 内臓および骨格検査を実施した。

結果：概要を以下の表に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	30
動物数*		24 (1)	22 (3)	24 (1)	24 (1)
母動物	一般状態				
	軟便	0/24	0/22	2/24	1/24
	糞便少量	0/24	2/22	8/24 ↑	10/24 ↑
	無便	0/24	0/22	3/24	4/24
	乏尿	0/24	0/22	1/24	1/24
	無尿	0/24	0/22	6/24 ↑	3/24
	着色尿 (黄色)	0/24	0/22	5/24 ↑	11/24 ↑
	膣口出血	0/24	1/22	2/24	0/24
	流産	0/24	0/22	0/24	4/24
	横臥位	0/24	0/22	1/24	0/24
	衰弱	0/24	0/22	1/24	0/24
	死亡	0/24	0/22	1/24	0/24
	体重(g)		有意差なし	妊娠期間後半, 低値傾向(有意差なし), 妊娠26,28日 ↓	妊娠期間後半, 低値傾向(有意差なし)
補正体重(g)		有意差なし	有意差なし	有意差なし	
体重増加量(g)		有意差なし	妊娠 18,26,28日 ↓, 妊娠 21, 24日 ↓	妊娠 15,18, 21,24,26,28日 ↓	
摂餌量(g)		妊娠 21日 ↓	妊娠 18,21,24日 ↓	妊娠 15,18, 21,24日 ↓, 妊娠 26日 ↓	
肉眼的病理所見*1,*2					
	脾臓: 大型	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	1/24 (0/1)	2/24 (1/1)
	肝臓: 表面粗造	0/24 (0/1)	1/22 (0/3)	0/24 (0/1)	1/24 (0/1)
	微細黄白色点	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	0/24 (0/1)	1/24 (0/1)
	胃: 毛充滿	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	2/24 (0/1)	1/24 (0/1)
	粘膜暗赤色陥凹部	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	1/24 (0/1)	0/24 (0/1)
	盲腸: 水様内容物	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	1/24 (0/1)	2/24 (0/1)
	腎臓: 大型	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	1/24 (0/1)	1/24 (0/1)
	褪色	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	4/24 (0/1)	3/24 (0/1)
	白色巢	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	2/24 (0/1)	1/24 (0/1)
	卵管: 嚢胞	0/24 (0/1)	1/22 (0/3)	1/24 (0/1)	1/24 (0/1)
	子宮角部: 裂口	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	1/24 (0/1)	0/24 (0/1)
	腹腔内: 血性腹水	0/24 (0/1)	0/22 (0/3)	1/24 (0/1)	0/24 (0/1)
着床所見	検査母動物数	24	22	23	20
	妊娠子宮重量(g)	461.8	415.7	409.0	400.3
	黄体数	10.5	10.5	10.6	11.0
	着床数	8.8	8.6	9.0	9.2
	着床前死亡率(%)	15.20	16.87	16.58	17.87
	着床率(%)	84.80	83.13	83.42	82.14

多重比較法 (Dunnett または Steel 法): 体重, 補正体重, 体重増加量, 摂餌量, 妊娠子宮重量, 黄体数, 着床数

多重比較法 (Steel 法): 着床前死亡率, 着床率

Fisher の正確確率検定法: 一般状態, 剖検

↑: p<0.05, ↑↓: p<0.01 で統計学的に有意差あり

着床前死亡率(%)=[(妊娠黄体数-着床数)/妊娠黄体数]×100

着床率(%)=(着床数/妊娠黄体数)×100

\*1: 括弧内は不妊例 \*2: 流産例および死亡例を含む

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

(続き-2)

		投与量 (mg/kg/day)	0	3	10	30
母動物 着床所見	死亡胚・胎児数:早期		0.1	0.4	0.2	1.2↑
	:後期		0.2	0.5	0.0	0.1
	:合計		0.3	1.0↑	0.3	1.3
	着床後死亡率(%)					
	:早期		0.93	8.73	2.46	9.88↑
	:後期		1.72	6.18	0.43	0.80
	:合計		2.65	14.90↑	2.89	10.68
	生存胎児数 :雄		3.5	4.0	4.5	4.0
	:雌		5.0	3.7	4.2	4.0
	:合計		8.5	7.6	8.7	8.0
	生存胎児体重(g) :雄		38.9955	38.1066	33.8889↓	35.8863
	:雌		38.1476	37.4025	32.9478↓	35.4754
	:合計		38.4667	37.7261	33.4045↓	35.2675
	胎盤重量(g) :雄		5.3625	5.1611	4.7822	5.0640
	:雌		5.1181	4.9457	4.5072	4.9237
:合計		5.1948	5.0361	4.6390	4.9501	
胎盤 :						
検査胎盤(腹)数:		204(24)	168(21)	200(23)	159(20)	
異常胎盤(腹)数		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	
胎児性比		0.403	0.499	0.488	0.495	
胎児	外表検査 :					
	検査胎児(腹)数:		204(24)	168(21)	200(23)	159(20)
	外表異常胎児(腹)数		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	内臓検査 :					
	頭部固定標本:					
	検査胎児(腹)数		97(24)	78(21)	95(22)	74(20)
	内臓変異胎児(腹)数		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	内臓異常胎児(腹)数		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	頭部新鮮標本:					
	検査胎児(腹)数		107(24)	90(21)	105(23)	85(20)
	内臓変異胎児(腹)数		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	内臓異常胎児(腹)数		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	体幹部:					
	検査胎児(腹)数		204(24)	168(21)	200(23)	159(20)
	内臓変異胎児(腹)数		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
内臓異常胎児(腹)数		6(3)	0(0)	4(3)	2(2)	
心室中隔欠損		0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	
肺動脈狭窄		0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	
肺の分葉異常		6(3)	0(0)	3(2)	0(0)	
卵巣小型		0(0)	0(0)	1(1)	1(1)	

多重比較法 (Dunnett または Steel 法) : 死亡胚・胎児数, 生存胎児数, 生存胎児体重, 胎盤重量

多重比較法 (Steel 法) : 着床後死亡率, 胎児性比, 異常または変異を認めた胎児および異常胎盤の出現率

Fisher の正確確率検定法 : 異常または変異のみられた胎児および異常胎盤を持つ腹の頻度

↑↓ : p<0.05, ↑↓↓ : p<0.01

着床後死亡率 (%) = (死亡胚および死亡胎児数 / 着床数) × 100

性比 = 雄生存胎児数 / 生存胎児数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

(続き-3)

投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	30
胎児	骨格検査:				
	頭部:				
	検査胎児(腹)数	107(24)	90(21)	105(23)	85(20)
	骨格変異胎児(腹)数	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	骨格異常胎児(腹)数	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	体幹部:				
	検査胎児(腹)数	204(24)	168(21)	200(23)	159(20)
	骨格変異胎児(腹)数	97(21)	82(20)	92(19)	61(18)
	胸骨分節未骨化	36(12)	32(11)	36(12)	26(12)
	胸骨分節二分骨化	0(0)	1(1)	1(1)	1(1)
	胸骨過剰骨化部位	3(1)	5(5)	2(2)	1(1)
	頸部過剰肋骨	1(1)	1(1)	0(0)	4(2)
	胸腰部短小過剰肋骨	43(17)	33(13)	33(11)	21(11)
	胸腰部完全過剰肋骨	27(13)	24(11)	33(11)	14(10)
	仙椎前椎骨 27	18(6)	6(4)	11(5)	8(6)
	胸椎体ダンベル状骨化	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
	仙椎の腰椎化	1(1)	0(0)	2(2)	0(0)
	骨格異常胎児(腹)数	1(1)	2(2)	0(0)	3(2)
	胸骨分節過剰	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)
	胸骨分節の癒合	0(0)	1(1)	0(0)	3(2)
肋軟骨分岐	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	
骨化進行度:		有意差なし	有意差なし	有意差なし	

多重比較法 (Dunnett または Steel 法): 骨化進行度

多重比較法 (Steel 法): 異常または変異を認めた胎児の出現率

Fisher の正確確率検定法: 異常または変異のみられた胎児を持つ腹の頻度

↑↓: p<0.05, ↑↓↓: p<0.01

母動物に対する影響; 3 mg/kg 群では被験物質投与の影響はみられなかった。

10 mg/kg 群では排糞, 排尿の減少および着色尿がみられた。母動物の体重, 体重増加量および摂餌量に有意な低値または低値傾向がみられ, 剖検では脾臓の大型および腎臓の褪色, 大型, 白色巣がみられた。

30 mg/kg 群では, 排糞, 排尿の減少および着色尿がみられ, 4 例に流産がみられた。母動物の体重, 体重増加量および摂餌量には有意な低値または低値傾向がみられ, 剖検では脾臓の大型および腎臓の褪色, 大型, 白色巣がみられた。

その他, 3 mg/kg 群で妊娠 21 日の摂餌量に有意な低値がみられたが, 一過性の変化であり体重および体重増加量に有意な差がみられないことから毒性学的意義のない変化と考えられた。3 mg/kg 群の死亡胚・胎児数 (着床後全期間) および着床後死亡率 (着床後全期間) に有意な高値がみられたが, 用量相関性がみられないことから被験物質投与とは関連がないと考えられた。30 mg/kg 群の着床後早期の死亡胚数および着床後死亡率に有意な高値がみられたが, 着床後早期の死亡胚数は対照群の値が背景

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

データ (0.3 ~ 1.0 : 平均 0.7) より低いいため有意差が付いたと考えられた。30 mg/kg 群の着床後死亡率は背景データ (5.2 ~ 15.7 % : 平均 9.4 %) の範囲内の値であることから、これらは被験物質投与との関連はないと考えられた。

胎児に対する影響 ; 3, 10および30 mg/kg群で被験物質投与の影響はみられなかった。10 mg/kg群の胎児体重に有意な低値がみられたが、用量相関性がみられないことから被験物質投与とは関連がないと考えられた。

以上のように、母動物に対しては 10 mg/kg/day 以上の用量で体重、体重増加量、摂餌量の低値、排糞、排尿の減少、着色尿、脾臓の大型および腎臓の褪色、大型、白色巣がみられ、30 mg/kg/day で流産がみられた。一方、胎児の発生に対する影響は 30 mg/kg/day の用量まで認められなかった。従って、本試験条件下におけるキノキサリン系 (キノメチオナート) の母動物に対する無毒性量は 3 mg/kg/day、胎児に対する無毒性量は 30 mg/kg/day と考えられた。

また、キノキサリン系 (キノメチオナート) は30 mg/kg/dayの用量まで催奇形性を示さないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

### (13) 変異原性

#### 1) 細菌を用いた変異原性試験

(試料 No. T - 22)

試験機関：残留農薬研究所毒性部

報告書作成年：1979年

検体の純度：

試験方法：

##### ①Rec-assay

枯草菌の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用いた。この両株の-80℃保存株を融解後、小型ピペットを用いて B-II 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。検体はジメチルスルホキシドに懸濁した。

直径 10mm のろ紙に検体の溶液 0.02ml を染ませ、ストリークの開始点をおおう様に置き、37℃で一夜培養後、阻止帯の長さを測定した。陰性対照として Kanamycin、陽性対照として Mitomycin C を用いた。

##### ②復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (5 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌を用い、PCB 500mg/kg、1 回の腹腔内投与で酵素誘導したラット肝から調製した薬物代謝酵素系の存在下、及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

試験結果：

①Rec-assay 試験結果

表：Rec-Assay 試験成績

検体	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照 (DMSO)		0	0	0
検体	20	0	0	0
	50	<1	<1	<1
	100	<1	<1	<1
	200	<1	<1	<1
	500	<1	<1	<1
	1000	<1	<1	<1
	2000	<1	<1	<1
Kanamycin	10	5	5	0
Mitomycin C	0.1	8	1	7

表に示したように検体は H-17 株と M-45 株の間に殆ど生育阻止の差を認めなかった。一方、陽性対照として用いた Mitomycin C では両株の間に著明な生育阻止の差を生じ、陰性対照として用いた Kanamycin では両株に同程度の生育阻止を認めた。

②復帰変異試験の結果

表に示したように陽性対照として用いた AF-2 (Furylfuramide)、 $\beta$ -propiolactone、9-aminoacridine、2-nitrofluorene では対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また、2-aminoanthracene は S-9 Mix を加える事により活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。しかし、供試薬物ではいずれの場合においても対照に比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

結論

試験成績より明らかな様に、供試薬物は Rec-assay、代謝活性化を含む復帰変異試験において陰性であり、本実験条件下における検体の突然変異誘起性は陰性であると結論できる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

表：復帰変異試験成績

薬物	濃度 ( $\mu$ g/plate)	S-9Mix	復帰変異 colony 数/plate					
			base-change 型			frameshift 型		
			WP2 hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		-	9	5	139	7	7	9
			16	8	110	2	9	15
検 体	1	-	13	7	116	5	8	10
			25	7	112	5	13	20
	5	-	15	8	127	4	8	14
			16	5	138	5	8	16
	10	-	15	6	114	0	13	15
			12	11	141	4	14	17
	50	-	5	7	135	7	7	14
			15	11	148	5	13	18
	100	-	13	7	121	7	10	17
			11	12	128	4	14	15
	500	-	18	8	89	*	18	10
			17	0	60	*	3	11
	1000	-	13	1	60	*	5	8
			13	7	18	*	8	6
5000	-	16	3	*	*	*	*	
		13	0	*	*	*	*	
対照 (DMSO)		+	13	9	138	9	12	19
			5	15	139	8	18	19
検 体	1	+	13	8	112	4	23	21
			12	8	145	4	9	21
	5	+	9	8	148	6	12	15
			10	10	148	9	9	19
	10	+	8	10	156	7	13	27
			14	11	114	10	18	14
	50	+	9	10	157	9	21	18
			18	7	148	10	15	19
	100	+	21	14	162	7	10	17
			15	14	153	2	11	20
	500	+	8	5	4	1	2	3
			11	1	12	0	4	1
	1000	+	8	0	2	0	0	0
			11	1	18	1	1	1
5000	+	3	5	*	*	5	2	
		3	1	*	*	2	3	
2-amino-anthracene	10	-	18	11	189	7	24	35
			16	16	193	15	22	23
	10	+	95	430	> 3000	382	> 3000	> 3000
			70	495	> 3000	401	> 3000	> 3000
陽性対照		-	> 2000 <sup>a</sup>	1090 <sup>b</sup>	880 <sup>c</sup>	> 10000 <sup>d</sup>	> 3000 <sup>e</sup>	333 <sup>f</sup>
			> 2000	1094	1164	> 10000	> 3000	359

\* 菌株の生育阻止を認める

a) 0.25  $\mu$ g/plate AF-2

b) 50  $\mu$ g/plate  $\beta$ -propiolactone

c) 0.05  $\mu$ g/plate AF-2

d) 200  $\mu$ g/plate 9-aminoacridine

e) 50  $\mu$ g/plate 2-nitrofluorene

f) 0.1  $\mu$ g/plate AF-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

2) チャイニーズハムスターの卵巣細胞 (CHO) における染色体異常

(資料 No. T - 23)

試験機関: MICROBIOLOGICAL ASSOCIATES, INC. (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 1989年7月27日

検体の純度:

供試生物: チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞)

試験方法:

・ 検体の調製

検体はアセトンに、陽性対照の Triethylenmelamine (TEM) 及び Cyclophosphamide (CP) は蒸留水に溶解した。

・ 染色体異常試験

①直接法 (代謝活性化系非存在)

CHO 細胞を約  $5 \times 10^5$  個/25cm<sup>2</sup> フラスコの割合で播き、培養 16~24 時間目にフラスコから培地を除いた後、検体溶液 5  $\mu$ l を加えた培地 5ml を添加し、細胞を 20 時間培養した (培養終了 2 時間前にコルセミドを 0.1  $\mu$ g/ml になるよう培地に加えた)。

培養終了後トリプシン処理により採集した細胞は低張処理及び固定を行った後、細胞浮游液を作成しスライドグラスに滴下後、空気乾燥法により染色体標本を作成した。

試験濃度は検体の細胞分裂抑制と培地での溶解性に関する予備試験から 0.65、1.3、2.5 及び 5  $\mu$ g/ml の 4 濃度で行い、染色体異常の観察を実施した。

陰性対照として溶媒対照及び無処理対照群、陽性対照として TEM を 0.5  $\mu$ g/ml 加えた群を設けた。試験は各群とも 1 対のフラスコで行った。

②代謝活性化法

S-9 分画は SD 系ラット雄に誘導剤として Aroclor 1254 を投与した肝から調製した。CHO 細胞を約  $5 \times 10^5$  個/25 cm<sup>2</sup> フラスコの割合で播き、培養 16~24 時間目にフラスコから培地を除いた後、検体及び S-9Mix を加えた 5ml の培地を添加して 2 時間処理した。2 時間後に培地を新鮮なものに交換し更に 18 時間培養した (培養終了 2 時間前にコルセミドを 0.1  $\mu$ g/ml になるよう培地に加えた)。培養終了後、①と同様にして染色体標本を作成した。試験濃度は①と同様な予備試験での結果により、1.3、2.5、5 及び 10  $\mu$ g/ml の 4 濃度で行い、染色



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

体異常の観察を実施した。この試験で最高濃度の  $10\mu\text{g/ml}$  で染色体異常の割合が統計的に増加したので、確認の再試験を  $5.9$ 、 $7.7$ 、 $10$ 、 $13$  及び  $17\mu\text{g/ml}$  の  $5$  濃度で行い、染色体異常の観察はその内  $4$  高濃度で実施した。

陰性対照として溶媒対照及び無処理対照群、陽性対照として CP を  $50\mu\text{g/ml}$  加えた群を設けた。試験は各群とも  $1$  対のフラスコで行った。

・染色体分析と判定

$1$  フラスコにつき  $100$  個の細胞の分裂中期像を観察し、染色体又は染色分体にみられる構造的異常（ギャップ、切断、交換型異常など）を調べた。各群  $2$  フラスコ計  $200$  個の細胞を観察して異常細胞の出現率を求めた。構造的異常の出現率については、ギャップを含まない場合について算出した。

結果の判定は、ギャップ以外の異常を有する細胞数について溶媒対照群と検体処理群の間で Fisher の直接確率検定を行い、更に Cochran-Armitage 検定により用量相関性を検討した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

試験結果：

処理	試験濃度 ( $\mu$ g/ml)	S-9Mix 有無	観察 細胞数	細胞当り 染色体異常数 <sup>1)</sup> (Mean $\pm$ SD)	染色体異 常を有す る細胞割 合 (%)	主な染色体異常の型 <sup>2)</sup> と数				
						ctb	cte	csb	cse	sdc
無処理	0	-	200	0.020 $\pm$ 0.140	2	3	-	1	-	-
溶媒 (アセトン)	0		200	0.015 $\pm$ 0.158	1	-	-	2	1	-
被験物質	0.65		200	0.025 $\pm$ 0.157	3	2	-	1	2	-
	1.3		200	0.020 $\pm$ 0.140	2	2	-	1	1	-
	2.5		200	0.025 $\pm$ 0.186	2	1	-	3	1	-
	5		7	0.143 $\pm$ 0.378	14 <sup>3)</sup>	1	-	-	-	-
陽性対照 (TEM)	0.5	200	0.810 $\pm$ 1.305	47**	83	47	11	1	2	
無処理	0	+	200	0.025 $\pm$ 0.157	3	2	1	2	-	-
溶媒 (アセトン)	0		200	0.045 $\pm$ 0.231	4	3	-	4	2	-
被験物質	1.3		200	0.020 $\pm$ 0.140	2	2	-	1	1	-
	2.5		200	0.030 $\pm$ 0.171	3	1	-	2	3	-
	5		200	0.055 $\pm$ 0.229	6	7	2	1	1	-
	10		200	0.935 $\pm$ 1.152	58**	80	24	70	3	1
陽性対照 (CP)	50	200	0.130 $\pm$ 0.429	11**	11	-	12	3	-	
確認試験										
無処理	0	+	200	0.010 $\pm$ 0.100	1	-	-	1	1	-
溶媒 (アセトン)	0		200	0.020 $\pm$ 0.140	2	2	-	1	1	-
被験物質	7.7		200	0.070 $\pm$ 0.325	5	7	1	5	1	-
	10		200	0.150 $\pm$ 0.509	12**	12	8	7	3	-
	13		200	0.650 $\pm$ 1.074	42**	40	32	45	3	1
	17		100	2.050 $\pm$ 2.359	83**	54	22	68	1	6
陽性対照 (CP)	50	200	0.485 $\pm$ 0.750	35**	46	28	22	1	-	

\*  $p \leq 0.05$     \*\*  $p \leq 0.01$  (Fisher の直接確率検定)

1) 重篤損傷細胞は 10 個の染色体異常として計算した。

2) ctb : 染色体型切断    cte : 染色体型交換    csb : 染色体型切断  
cse : 染色体型交換    sdc : 重篤損傷細胞

3) 染色体異常評価用の細胞が充分得られなかったため、統計評価は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表に示すように直接法では、評価用の細胞が充分得られず統計評価を実施しなかった  $5\mu\text{g/ml}$  を除き、他の濃度では溶媒対照での割合を越えた染色体異常の有意な増加は認められなかった。

S-9 添加代謝活性化法の最初の試験では最高濃度の  $10\mu\text{g/ml}$  でのみ染色体異常の有意な増加が認められ、再試験では 10, 13 及び  $17\mu\text{g/ml}$  の濃度で用量相関的に染色体異常の有意な増加が認められた。

陽性対照の TEM と CP は明らかな染色体異常を誘発した。

以上の結果から、本試験条件下では検体は S-9 添加代謝活性化系でのみ染色体異常誘発作用を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

3) マウスを用いた小核試験

(資料 No. T - 24)

試験機関：バイエル社毒性研究所（ドイツ）

報告書作成年月日：1982年2月5日

検体の純度：

試験期間：1981年10月～12月

試験動物：Bor系NMRIマウス、8～12週齢、1群雌雄各5匹

試験方法：検体を0.5%クレモホア液で乳化しマウスに下記薬量を24時間間隔で、2回強制経口投与した。対照群として、陽性対照群（エンドキサン）は、脱イオン水に溶解し、又、陰性対照群は0.5%クレモホア液のみをそれぞれ同様に投与した。投与容量は各群とも10ml/kgであり、各薬液を投与後6時間目に動物を屠殺し、大腿骨の骨髓標本をSchmidの方法で作成し、光顕下で各種の赤血球数を算定した。

群	投与量 (mg/kg)	投与経路
陰性対照群	2×0	経口
検体	2×500	経口
	2×1000	
エンドキサン（陽性対照）	2×145*	経口

\* 活性成分シクロホスファミド 100mg/kg 相当量

試験項目：一般症状、顕微鏡的所見

試験結果：

①一般症状

検体を1000mg/kgまで投与した動物には、中毒症状は認められず、死亡例もなかった。

②顕微鏡的所見

雌雄の差は認められなかったので両性を合わせて評価した。結果は以下の通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

表：経口投与後のマウス赤血球数及び小核を有する細胞数

試験群	計測した多染性赤血球数平均値	多染性赤血球 1000 個に対する正染赤血球数平均値	正染性赤血球 1000 個当りの小核を有する細胞数	多染性赤血球 1000 個当りの小核を有する細胞数
陰性対照	1000	971.8	0.2	0.6
検体 2×500mg/kg	1000	900.6	0.8	2.1*
検体 2×1000mg/kg	1000	753.7	0.8	0.5
エンドキサン (陽性対照) 2×145mg/kg	1000	2637.4	0.5	22.0

Nemenity の検定 \* P < 0.05

500 mg/kg 群では、多染性赤血球の小核を有する細胞数に統計的有意差が認められたが、これは対照群の小核を有する細胞数が通常と異なり、非常に低かった為で、一般には 1.5～3% の頻度で見られる。従って 500 mg/kg 群の 2.1% の有意差は毒性学的に意義のあるものではなかった。又高用量の 1000 mg/kg では、用量相関を示す有意差もなく小核を有する細胞の増加はなかった。比較のため用いた既知の変異原のエンドキサンは 2×145 mg/kg 経口投与で著明な突然変異誘発作用を示し多染性赤血球 1000 個当りの小核を有する細胞数は 22% であった。

正染赤血球数の小核を有する細胞の頻度は本実験系においては突然変異誘発作用の評価には無関係であり、そのため陽性対照群と同様に小核を有する正染性赤血球の数は増加しなかった。

多染性赤血球の正染性赤血球に対する割合から薬剤が骨髓に、特に赤血球産生に一般的な作用を持つかどうかを判定した。表に示したデータから検体投与群の多染性赤血球の正染性赤血球に対する割合は陰性対照群と比較して生物学的に著明に変化しなかった。エンドキサンは逆に赤血球産生を抑制し、そのため多染性赤血球は正染性赤血球に比べ減少した。

以上の結果を要約すると、本剤の小核試験で、2×1000 mg/kg までの経口投与では突然変異誘発作用を示す所見は得られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

## (14) 生体機能への影響に関する試験

### 一般薬理試験

(資料 No. T - 25)

試験機関：日本特殊農薬製造(株)日野研究所

報告書作成年：1990年

検体の純度：

供試動物：ウサギ（日本白色種）、ラット（SD系）、マウス（ICR系）

試験期間：1989年1月26日～1989年12月22日

試験方法：検体は乳化剤クレモホア EL を5%含む蒸留水にて懸濁して調製した。

投与方法は経口投与とし、投与容量は各動物とも体重1kg当り10mlとした。

また、投与前は前夜より絶食させた。

### 試験項目及び結果

#### ①中枢神経系に対する作用

##### ①-1 マウスの一般行動

方法：1群雌雄各3匹からなるマウスを用い、経口投与前及び投与後30分、1、3、6時間、1日及び2日にIrwin法に従い一般行動観察を行なった。

結果：150 mg/kg 投与群では作用を示さなかった。500 mg/kg 投与群雄では作用を示さなかったが、雌で反応性の低下や不安性を示す例を認めた。1500 mg/kg 投与群は雌雄共に反応性の低下や痛覚反応の過敏を示すものが認められ、雄では受動態、雌では不安性も加わって見られた。しかし、いずれも投与翌日には消失していた。

一方、5000 mg/kg 投与群では認知力、筋緊張低下もあらわれ、時間経過とともに増悪した。そして雄3例中2例が投与翌日に死亡し、雄の残り1例と雌3例が投与2～4日後に衰弱死した。

##### ①-2 ウサギの一般行動

方法：1群雄3匹からなるウサギを用い、経口投与前及び投与後30分、1、3、6時間、1日及び2日に一般行動観察を行った。

結果：150mg/kg 投与群は作用を示さなかった。500mg/kg 投与群では行動性や

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

運動性の低下を認めた。1500mg/kg 投与群ではこれらの所見が明らかとなり、投与翌日には反射性の低下もみられ、下痢など全身の衰弱傾向を示し、投与2日後に3例中2例が死亡した。

### ①-3 ウサギの体温

方法：1群雄3匹からなるウサギを用い、経口投与前及び投与後30分、1、3、6時間、1日及び2日にサーミスタ型直腸体温計で直腸温を測定した。

結果：150 mg/kg 投与群は作用を示さなかった。500 mg/kg 投与群では一過性の体温の下降傾向を認めた。1500 mg/kg 投与群では著明な下降を示した。

## ②呼吸・循環器系に対する作用

### ②-1 無麻酔のウサギの呼吸数・心拍数

方法：1群雄3匹からなるウサギを用い、経口投与前及び投与後30分、1、3、6時間、1日及び2日に胸部の動きから呼吸数を、聴診にて心拍数を測定した。

結果：ウサギの呼吸数・心拍数に対して、150 mg/kg 投与群は作用を示さなかった。500 mg/kg 投与群では心拍数に明らかな変化は認められなかったが、呼吸数の減少を認めた。1500 mg/kg 投与群では呼吸数の明らかな減少と心拍数の増加を認めた。

### ②-2 麻酔ウサギの呼吸・血圧・心拍数

方法：1群雄4匹からなるウサギを用い、ウレタン麻酔下(1.5g/kg s.c.)で胸部に呼吸ピックアップを取り付け呼吸運動を、頸動脈に装着した圧トランスデューサーを介して血圧を、また、第I誘導心電図をポリグラフに記録した。経口投与後6時間にわたり観察した。

結果：500 mg/kg 投与群では血圧の下降を示す例が見られた。1500 mg/kg 投与群では呼吸・心拍では明らかな変化は認められなかったが、血圧に関しては明らかな下降と時間経過に伴う回復も見られた。

## ③自律神経系に対する作用

### ・ウサギの瞳孔

方法：1群雄3匹からなるウサギを用い、経口投与前及び投与後30分、1、3、6時間、1日及び2日に瞳孔径をノギスにて測定した。

結果：150及び500 mg/kg 投与群は明らかな作用を示さなかった。1500 mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

投与群では軽微な縮腫を示す例を認めた。

#### ④骨格筋に対する作用

##### ・ラットの腓腹筋収縮

方法：1群雄4匹からなるラットを用い、ウレタン麻酔下(1.0g/kg i.v.)で大腿部で坐骨神経を剥離し、中枢側を切断して刺激電極を装着、次に腓腹筋を半ばまで剥離し、間接刺激による収縮を張力トランスデューサーを介しポリグラフに記録した。そして、経口投与後3時間にわたって被験物質の作用を観察した。

結果：1500 mg/kg 投与群は明らかな作用を示さなかった。

#### ⑤消化管に対する作用

##### ⑤-1 ウサギの生体位腸管

方法：1群雄3匹からなるウサギを用い、ウレタン麻酔下(1.5g/kg s.c.)において腸管内に小バルーン装着したカニューレを挿入し、圧トランスデューサーに接続して腸管運動をポリグラフに記録した。経口投与後6時間にわたり観察した。

結果：500 mg/kg 投与群で3例中1例、1500 mg/kg 投与群で3例中2例に軽度の運動亢進を認めた。

##### ⑤-2 ラットの小腸輸送能

方法：1群雄5匹からなるラットを用い、経口投与3時間及び24時間後に10%炭末液(1 ml/100g 体重)を経口投与し、その30分後に動物を屠殺し、全小腸を摘出して、その全長と炭末の移動距離を測定し、輸送率を求めた。

結果：150及び500 mg/kg 投与群は明らかな作用を示さなかった。致死量である1500 mg/kg 投与群では輸送能の亢進を認めた。

#### ⑥腎機能に及ぼす影響

##### ・ラットの尿排泄

方法：1群雄5匹からなるラットを用い、採尿前に25 ml/kgの生理食塩水を投与し、被験物質の経口投与後4時間と投与1日、2日、3日及び6日後の4時間の尿を各々採取した。そして、尿量、色調を観察し、尿試験紙を用いてpH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、亜硝酸塩、ビリルビン及びウロビリノーゲンを定性的に測定した。また、尿中の $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ を電解質分析装置を用い、尿比重を屈折計を用いて測定した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

結果：150 mg/kg 投与群は尿中電解質値に軽微な変動を、500 mg/kg 投与群は尿中電解質値の変動に加えて、比重の増加傾向を示した。更に、1500 mg/kg 投与群では尿量、比重、電解質への影響が明らかであり、糖や潜血の陽性例も見られた。これらの作用は、投与後数日にわたり認められた。

#### ⑦血液に対する作用

##### ⑦-1 ウサギ血液凝固

方法：1群雄3匹からなるウサギを用い、経口投与の3時間及び24時間後に耳静脈より採血し、クエン酸ソーダ加血漿を分離してプロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結果：150 mg/kg 投与群は明らかな作用を示さなかった。500 mg/kg 以上投与群ではプロトロンビン時間に変化は認められなかったが、活性化部分トロンボプラスチン時間では延長傾向が認められた。

##### ⑦-2 ウサギの溶血

方法：ウサギ5匹よりヘパリン処理の注射筒で採血し10%赤血球浮遊液を調製、これに被験物質溶液を添加し、吸光度法を用いて溶血率を測定した。

結果：ウサギ血液に対して、被験物質 $3 \times 10^{-5} \text{M} \sim 10^{-3} \text{M}$ の存在によっても溶血作用は認められなかった。

以上の結果より、本剤は1500～5000 mg/kg と高用量の経口投与で致死作用を有すること、観察されたいくつかの生体機能への影響が比較的致死量に近い用量で明らかとなること、さらに特異的な作用も認められなかったことから、本剤の急性毒性中毒の可能性は低いことが示唆された。また、死亡動物の剖検時及び炭末輸送能の検査時における消化管において粘膜の発赤やびらん等、本剤の直接の刺激作用を示唆する所見が得られたことから、観察されたいくつかの生体機能への影響が、この消化管の変化に伴った二次的なものであることが考察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

キノキサリン系（キノメチオナート）の「生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	1群当り動物数	投与方法	投与量 mg/kg	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	一般状態 (Irwin)	マウス	雄3 雌3	経口	0、150、500、1500、5000	雄1500 雌500	雄500 雌150	5000mg 投与群で認知力、筋緊張の低下
	一般状態	ウサギ	雄3	経口	0、150、500、1500	500	雄150	500mg 以上投与群で運動性の低下
	体温	ウサギ	雄3	経口	0、150、500、1500	500	雄150	500mg 以上投与群で低下
呼吸循環系	呼吸数	無麻酔ウサギ	雄3	経口	0、150、500、1500	500	雄150	1500mg 以上投与群で呼吸数、心拍数の低下
	心拍数					500	雄150	
	呼吸数、 血圧、 心拍数	麻酔ウサギ	雄4	経口	0、150、500、1500	500	雄150	500mg 以上投与群で血圧の低下
自律神経系	瞳孔径	ウサギ	雄3	経口	0、150、500、1500	1500	雄500	1500mg 以上投与群で縮瞳
体性神経系	腓腹筋収縮	ラット	雄4	経口	0、150、500、1500	—	雄1500	影響なし
消化器系	腸管輸送	麻酔ウサギ	雄3	経口	0、150、500、1500	500	雄150	1500mg 投与群で運動亢進
	炭末輸送能	ラット	雄5	経口	0、150、500、1500	1500	雄500	1500mg 投与群で輸送能の亢進
腎機能	尿量、尿中電解質、定性分析	ラット	雄5	経口	0、150、500、1500	150	雄<150	500mg 以上投与群で比重の増加傾向
血液系	血液凝固	ウサギ	雄3	経口	0、150、500、1500	500	雄150	500mg 以上投与群で тромбоプラスチン時間の延長傾向
	溶血作用	ウサギ血液	in vitro		$3 \times 10^{-5}$ 、 $3 \times 10^{-4}$ 、 $3 \times 10^{-3}$ M	—	$> 3 \times 10^{-3}$	影響なし