

4) マウスを用いた飼料混入投与による 78 週間反復経口投与毒性/発がん性試験

(資料 T-25)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1988 年

検体純度：

供試動物：B6C3F₁系マウス 1群雌雄各 70 匹、開始時 5 週齢、体重 雄 17.2~21.2g、雌 15.2~18.6g
投与後 26 週及び 52 週に各群雌雄 10 匹を中間屠殺した。

投与期間：78 週 (1985 年 7 月 29 日~1987 年 1 月 30 日)

投与方法：検体を飼料に 0、50、300、1800 ppm になるように混入し、粉立ちを押さえるためオリーブ油を飼料に対して 2% (W/W) 添加し、リボンミキサーで 20 分間混合して調製し、78 週間にわたって随時摂餌させた。飼料は、毎週 1 回調製した。

観察・検査項目及び結果：

申請者注：本試験成績は体重、摂餌量、食餌効率、血液検査、血液生化学検査及び臓器重量検査値の統計が全て Student の t 検定で行われていた。しかし、何らの補正なく単に t 検定繰り返し使用することは不適切と判断されたため、上記の試験機関で多重比較を用いて再検定された。本抄録はその結果に基づき作成した。

一般状態及び死亡率； 一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化は雌雄とも認められなかった。投与終了時の死亡率は対照群、50、300 及び 1800 ppm 群の雄で、それぞれ 4.0、4.0、5.4 及び 4.0%、雌でそれぞれ 0、4.0、0 及び 0%であった。いずれの群においても死亡は少なく、検体投与による影響は認められなかった。

体重変化； 投与開始から投与後 26 週までは毎週 1 回、投与後 26 週から投与終了時までには隔週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

投与期間の体重増加量を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	50	300	1800	0	50	300	1800
投与量 (ppm)								
累積体重増加量(g)								
投与 0~13 週	9.8	9.4	9.4	↓ 9.1	8.1	8.0	8.2	8.1
投与 0~26 週	14.2	14.4	13.8	↓ 12.9	11.2	11.4	11.8	11.9
投与 0~52 週	20.2	19.7	18.8	↓ 17.7	14.2	15.7	14.8	14.7
投与 0~78 週	20.9	21.5	20.1	19.9	17.1	18.0	17.5	17.7

↓ ↑ : P<0.05、↓ : P<0.01、↓ ↓ : P<0.001 (Dunnett あるいは Steel の検定)

雄の 1800 ppm 群ではほぼ全投与期間を通して僅かな体重増加量の減少が認められ、検体投与による変化と考えられた。一方、各投与群の雌では明らかな体重変化は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率； 全動物の摂餌量を毎週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

投与期間の摂餌量を次表 (次頁) に示す。

雄の 1800 ppm 群では投与初期に、雌の 300 及び 1800 ppm 群ではほぼ全投与期間を通して摂餌量の減少が認められ、検体投与による変化と考えられた。その他、検体投与に伴う変化は認められなかった。

食餌効率は雄の 1800 ppm 群で低値、雌の同群で高値がみられた。

摂餌量の推移

性別	雄				雌			
	0	50	300	1800	0	50	300	1800
摂餌量(g/累積週)								
投与 0~13 週	461.1	459.2	456.6	↓449.7	498.6	490.9	↓487.1	↓471.0
投与 0~26 週	940.0	927.6	932.6	922.7	1023.9	1007.8	↓1001.7	↓976.8
投与 0~52 週	1921.8	1897.4	1916.1	1900.8	2080.6	2059.8	↓2044.2	↓2006.9
投与 0~78 週	2909.8	2898.7	2917.8	2883.7	3153.2	3113.2	↓3087.2	↓3057.4

↓ : P<0.05、↓ : P<0.01、↓ : P<0.001 (Dunnett あるいは Steel の検定)

検体摂取量； 体重、摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日当りの平均検体摂取量は、50、300 及び 1800 ppm 群で、雄が 8.13、50.3 及び 300 mg/kg/日、雌が 10.2、61.1 及び 361 mg/kg/日であった。

血液学的検査； 投与 26 週時に各群雌雄各 9~10 匹、52 週時に各群雌雄各 9~10 匹及び 78 週時に各群雌雄各 10 匹を対象として、約 16 時間絶食させた動物の腹部大動脈から採血し、白血球、赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、血小板及び白血球百分率を測定した。

対照群と比べ、統計学的有意差の認められた項目を次頁に示す。

各投与群及び各検査時期において、有意な変化がみられたが検体投与に関連した変化は認められなかった。ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度及び赤血球数の低下が雌の 300ppm 群又は 300 及び 1800ppm 群でみられた。しかし、これらは変化の程度が小さく、経時的な一貫性に乏しく、さらには病理組織学的にも関連する変化が認められない。したがって、これらの赤血球関連項目の変化に毒性学的な意義はないと考えられた。平均赤血球容積及び平均赤血球色素濃度の低下が雄の 300ppm 群又は 300 及び 1800ppm 群でみられたが、変化の程度が小さく、同時期の雄にヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度及び赤血球数の変動がみられず、経時的な一貫性も乏しい変化であることから、これら赤血球恒数の変動には毒性学的な意義はないと考えられた。血小板数の増加が 52 週時に 1800ppm 群の雄で観察されたが、経時的な一貫性に乏しい変化であることから検体投与による変化とは考えられなかった。白血球数の低下が 78 週の雄の検体投与群でみられたが、雄の当該時期のみの用量相関性に乏しい変動であり、白血球百分率に変化も認められなかったことから、対照群値が高かったことに基づく偶発的な変化と考えられた。

血液学的検査の結果表

性別	雄			雌			
	50	300	1800	50	300	1800	
投与量 (ppm)							
ヘマトクリット	52 週	101	102	102	97	95	↓95
ヘモグロビン	26 週	99	99	98	99	99	↓98
	52 週	99	100	101	97	↓96	↓96
赤血球数	52 週	101	102	102	95	↓94	↓93
平均赤血球容積	26 週	99	100	↓98	100	100	99
平均赤血球色素濃度	52 週	↓98	↓98	↓98	100	101	100
血小板数	52 週	108	99	↑117	91	98	99
白血球数	78 週	↓64	↓56	↓60	113	94	94

表中の数値は対照群値を 100 とした時の値

↑ ↓ : P<0.05、↓ : P<0.01、↓ : P<0.001 (Dunnett あるいは Steel の検定)

血液生化学検査； 上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて、血糖、尿素窒素、総コレステロール、総タンパク、アルブミン、ALP、GOT、GPT を測定した。

対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を次頁に示す。

各投与群及び各検査時期において、種々の有意な変化がみられたがいずれも検体投与に関連した変化とは考えられなかった。血糖、尿素窒素及び総コレステロールの増加、総タンパクの低下が雄または雌の 1800ppm 群または 300 及び 1800ppm 群にみられたが、いずれの変化も 1 検査時期のみにみられた経時的な一貫性に乏しい変化であった。総蛋白及びアルブミンの低下が全検体投与群にみられた時期があったが、それらの変動には用量相関性がないことから偶発的な変動と考えられた。GOT、GPT 及び ALP の増加が 300 及び 1800ppm の両群または 1800ppm 群にみられる時期があったが、経時的に一貫性のある変化ではないこと、他の関連項目や病理組織学的所見に影響が認められなかったことから、毒性学的な意義はないと考えられた。その他にも種々の変化がみられたが、いずれも用量相関性のない変動であり、偶発的なものと考えられた。

血液生化学検査の結果表

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		50	300	1800	50	300	1800
血糖	26 週	91	90	94	91	102	↑120
	78 週	↑114	↑115	94	↓75	↓84	97
尿素窒素	26 週	102	↑132	↑139	90	76	83
	52 週	94	113	106	90	↓80	99
	78 週	91	101	96	89	↓82	86
総コレステロール	78 週	101	94	86	100	100	↑110
総タンパク	26 週	98	96	↓94	95	100	94
	78 週	100	104	95	↓98	↓94	↓96
アルブミン	26 週	95	101	95	↓88	↓87	↓86
	52 週	96	108	104	↓77	↓78	↓83
GOT	26 週	117	102	107	105	118	↑146
	52 週	97	↑119	↑122	112	109	145
GPT	52 週	100	↑125	↑131	67	67	88
ALP	26 週	95	↓79	95	115	↑129	↑130
	78 週	100	104	111	98	121	↑151

表中の数値は対照群値を 100 とした時の値

↑ ↓ : P<0.05、↑↓ : P<0.01、↑↓ : P<0.001 (Dunnett あるいは Steel の検定)

尿検査； 投与 26、52 週時及び 78 週時に雌雄各 10 匹を対象として、新鮮尿を用いて pH、潜血、ケトン体、糖、タンパク、ウロビリノーゲン及びビリルビンを検査した。

各検査時期を通し、各投与群及び対照群において雌雄とも検体に起因すると考えられる変化は認められなかった。

眼科学的検査； 投与開始前及び投与 78 週時に対照群及び 1800 ppm 群の全生存動物を対象として、検眼鏡を用いて角膜、結膜、強膜及び虹彩を検査した。

投与開始前及び投与 78 週時の検査において、対照群及び 1800 ppm 群の雌雄ともに検査した動物に異常は認められなかった。

臓器重量； 投与 26 週時に雌雄各 10 匹、52 週時に雌雄各 9~10 匹及び 78 週時に雌雄各 10 匹について、脳、肝臓、腎臓、副腎及び精巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表（次頁）に示す。

52 週の検査で、1800 ppm 群の雄の腎臓の絶対重量の低値がみられたが、低体重による影響と考えられた。その他、腎臓の対体重比の低下が 52 週の 300 ppm 群の雄及び 50 ppm 群の雄でみられたが用量相関性のない変化であり、偶発的な変化と考えられた。

臓器重量の結果表

性別		雄			雌			
		50	300	1800	50	300	1800	
投与量 (ppm)		50	300	1800	50	300	1800	
最終体重	52 週	98	105	↓93	104	100	99	
	78 週	↑113	102	103	102	102	104	
腎臓	52 週	絶対重量	95	95	↓92	100	102	100
		対体重比	97	↓91	100	95	101	98
	78 週	対体重比	↓87	97	95	92	92	93

表中の数値は対照群値を 100 とした時の値

↑↓ : P<0.05, ↓ : P<0.01 (Dunnett あるいは Steel の検定)

肉眼的病理検査； 投与後 26 週、52 週及び 78 週の計画屠殺動物、切迫屠殺動物及び死亡動物を対象として、検査を行った。

各検査時期を通し、各投与群及び対照群において雌雄とも検体に起因すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査； 投与 52 週時及び 78 週時の計画屠殺動物、切迫屠殺動物及び死亡動物を対象として、次に示す組織器官の病理標本を作製し、鏡検した。

肉眼的病変部、腫瘍、肝臓、腎臓、心臓、肺及び気管支、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、脳、脊髄、眼（ハーダー腺を含む）、唾液腺、胸腺、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、膵臓、胆嚢、膀胱、精巣、精囊、卵巣、前立腺、子宮（体部及び頸部）、脾臓、リンパ節、坐骨神経、皮膚、乳腺、骨（胸骨及び大腿骨骨髄を含む）、骨格筋及び大動脈

病理組織学的検査の結果は以下の通りである。

非腫瘍性病変 主な臓器・組織における非腫瘍性病変を次頁以降に表示する。

雌雄の 1800 ppm 群の投与 78 週時計画屠殺動物において、小腸特に十二指腸の粘膜上皮の増生（表中では再生上皮と記載）と同部位に異形成が認められた。また、骨の局所性の線維化が同群の特に雌で高率に観察された。これらの変化は検体投与に関連した変化と考えられた。それ以外に種々の変化が少数例で、又は単発性に認められたが、いずれの変化も検体投与に関連するものとは考えられなかった。

腫瘍性病変 主な臓器・組織における腫瘍性病変及び 78 週時計画屠殺動物の腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数を後ろの頁に表示する。

種々の腫瘍が少数例又は単発性に認められたが、いずれの腫瘍も検体投与に関連するものとは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

以上、有機銅原体の78週間飼料混入投与によるマウスの慢性毒性/発がん性試験における影響として、1800 ppm 群の雌雄に十二指腸の粘膜の増生或いは異形成、雌の骨線維化、また、1800 ppm 群の雄に体重増加抑制、300 ppm 群の雌及び1800 ppm 群の雌雄に摂餌量の低下、1800 ppm 群の雌雄に食餌効率の変動がみられた。従って、無毒性量は雄300 ppm (雄50.3 mg/kg/日)*、雌50 ppm (10.2 mg/kg/日)であると判断される。また、発がん性はないと考えられる。

*申請者注：原報の雄の無毒性量は50 ppm (8.13 mg/kg/日)である。しかし、統計処理の再実施の結果、有意な体重増加量の低下が300ppm 群の雄では認められなかったことから、雄の無毒性量は雄300 ppm (雄50.3 mg/kg/日)と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変 (1/5)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
			投与量 (ppm)				0	50	300	800
52 週	脳	硝子体	3/10	1/10	2/9	1/10	2/10	2/10	2/10	4/10
		脂肪変性	1/10	1/10	1/9		1/10		1/10	
	肝臓	小肉芽巢	2/10	2/10			1/10	3/10	1/10	2/10
		尿管管脂肪変性	10/10	10/10	8/9	8/10				
	腎臓	好塩基性上皮出現	1/10	1/10	2/9	2/10	1/10	1/10		
		胃	角化亢進			1/9		1/10		
	脾臓	固有腺の拡張	2/10	1/10	1/9	1/10	1/10	2/10	1/10	1/10
		色素沈着				1/10	8/10	10/10	10/10	9/10
	胸腺	萎縮	2/10	4/10	2/9	4/10	3/10	2/10	1/10	2/10
		嚢胞		1/10			2/10	1/10	1/10	
	膵臓 (外分泌部)	萎縮	1/10			1/10				
		空胞化	1/10					2/10	1/10	
	唾液腺	リンパ球浸潤	1/10	2/10	2/9	2/10	1/10	3/10	2/10	1/10
	副腎	皮質表層の紡錘細胞増生	5/10	7/10	6/9	5/10	10/10	10/10	10/10	10/10
骨髄	色素沈着	6/10	5/10	2/9	3/10	3/10	4/10	2/10	1/10	
包皮腺	腺腔拡張		1/10		1/10	-	-	-	-	
前立腺	リンパ球浸潤	1/10		1/9		-	-	-	-	
子宮	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	9/10	9/10	8/10	9/10	
78 週	脳	視床下部の石灰沈着	2/48	6/48	4/48	6/48	12/50	9/48	12/50	20/50
		延髄上部の硝子体沈着	35/48	24/48	26/48	21/48 ^b	20/50	22/48	27/50	25/50
	肺	リンパ球集簇		1/48				1/48	2/50	
		泡沫細胞集簇	1/48		1/48	1/48	1/50	1/48		1/50
肺	肺胞上皮増生		3/48				1/48			
	細気管支/肺胞上皮増生	1/48		1/48	1/48	1/50		1/50	1/50	

表中の数値は、分母が検査動物数、分子が陽性動物数を示す。

a: p<0.05、 b: p<0.01、 c: p<0.001 (Fisher 正確確率検定法)

非腫瘍性病変 (2/5)

検査時期	臓器	性別	雄				雌						
			投与量 (ppm)				0	50	300	1800	0	50	300
78 週	甲状腺	嚢胞								1/48	1/50	2/50	
	上皮小体	クエルスタイナー嚢胞	3/48	2/48	1/48	1/48	4/50	2/48	2/50	2/50			
		色素沈着											1/50
	肝臓	壊死									1/48	1/50	1/50
		肝細胞脂肪変性	10/48	7/48	7/48	2/48a	5/50	6/48	6/50	2/50			
		色素沈着	2/48	1/48	1/48		1/50	1/48	1/50				
		リンパ球集簇	2/48	1/48			4/50	1/48	6/50	9/50			
		小肉芽巢	9/48	7/48	5/48	5/48	14/50	15/48	13/50	16/50			
		肝細胞増殖巢	3/48	5/48	2/48	1/48	3/50	1/48	3/50	3/50			
		肝細胞核の大小不同	6/48	5/48	4/48	7/48	9/50	11/48	9/50	9/50			
	腎臓	脂肪変性	44/48	46/48	44/48	30/48c							
		好塩基性上皮出現	15/48	15/48	19/48	15/48	6/50	1/48	1/50	4/50			
		リンパ球集簇	2/48			1/48	2/50	5/48	2/50	3/50			
		嚢胞	3/48	2/48	1/48	2/48	1/50	1/48					
		蛋白円柱	5/48	3/48	3/48	3/48	1/50		1/50				
		局所性骨化	1/48						1/50	1/50			
	胃	浮腫		1/48		1/48	2/50	1/48	1/50				
		潰瘍	1/48	1/48	4/48	2/48	4/50	2/48	1/50				
		角化亢進	1/48			1/48	7/50	5/48	2/50	1/50a			
		びらん	1/48		1/48					1/50			
固有腺の拡張		7/48	7/48	3/48	6/48	6/50	4/48	2/50	3/50				
上皮増生		1/48		1/48	1/48			1/50					
小腸	腺腔拡張				5/48a				2/50				
	再生上皮				13/48b				34/50c				
	異形成				3				2				
膀胱	リンパ球集簇					2/50		2/50	3/50				

表中の数値は、分母が検査動物数、分子が陽性動物数を示す。

a: p<0.05、 b: p<0.01、 c: p<0.001 (Fisher 正確確率検定法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変 (3/5)

検査 時期	臓器	性 別	雄				雌			
			投与量 (ppm)	0	50	300	1800	0	50	300
78 週	脾臓	萎縮		1/48	1/48			1/48		
		色素沈着	2/48	1/48		3/48	28/50	34/48	33/50	29/50
		髄外造血の増加	4/48	2/48			4/50		1/50	
		濾胞増生	1/48				2/50	1/48	3/50	3/50
	胸腺	萎縮	46/48	48/48	45/48	46/48	38/50	41/48	47/50a	41/50
		嚢胞	3/48	4/48	3/48	2/48	3/50	4/48	4/50	7/50
	リンパ節	萎縮			1/48		1/50	2/48	1/50	
		色素沈着	2/48	3/48	2/48	2/48	2/50	2/48	1/50	3/50
		リンパ球増生	1/48	3/48	2/48			2/48	2/50	
	脾臓 (外分 泌腺)	萎縮	1/48	2/48		1/48	1/50		2/50	
		空胞化	7/48	4/48	4/48	6/48	8/50	2/48	3/50	10/50
		色素沈着	1/48	1/48						
		リンパ球集簇		2/48			1/50			
		嚢胞	1/48	1/48	1/48					2/50
		腺管増生				3/48		1/50		
	唾液腺	リンパ球浸潤	4/48	5/48	5/48	7/48	5/50	6/48	5/50	7/50
	下垂体	嚢胞	4/48	2/48		2/48	1/50	2/48	3/50	2/50
血管拡張								2/50	1/50	
増生						1/50	3/48			
副腎	皮質表層の紡錘細胞増生	39/48	40/48	38/48	42/48	50/50	48/48	49/50	49/50	
ハーダー腺	増生		1/48			1/50	1/48		1/50	
骨髄	色素沈着	23/48	16/48	22/48	30/48	21/50	17/48	27/50	8/50b	
	増生	5/48	1/48	2/48	0a	4/50		2/50		

表中の数値は、分母が検査動物数、分子が陽性動物数を示す。

a: p<0.05、 b: p<0.01、 c: p<0.001 (Fisher 正確確率検定法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変 (4/5)

検査 時期	臓器	性 別	雄				雌			
			投与量 (ppm)				0	50	300	1800
78 週	包皮腺	腺腔拡張	7/48	4/48	3/48	4/48	-	-	-	-
	精巣	精子形成低下	2/48		1/48		-	-	-	-
	子宮	色素沈着	-	-	-	-	1/50	1/48	1/50	
		嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	49/50	46/48	49/50	47/50
	卵巣	萎縮	-	-	-	-	4/50		2/50	1/50
		嚢胞	-	-	-	-	8/50	5/48	7/50	5/50
	骨	線維化				2	6	5	10	24c

表中の数値は、分母が検査動物数、分子が陽性動物数を示す。

a: p<0.05、 b: p<0.01、 c: p<0.001 (Fisher 正確確率検定法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変 (5/5)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	300	1800	0	50	300	1800
死亡及び切迫屠殺	肺	うっ血		1/2	2/3	1/2				
	肝臓	出血	1/2			1/2				
		肝細胞の壊死	1/2	1/2		1/2				
	腎臓	脂肪変性	2/2	2/2	2/3	1/2				
		好塩基性上皮出現	1/2		1/3					
	胃	角化亢進						2/2		
	脾臓	髓外造血	2/2	2/2		1/2				
	胸腺	萎縮	2/2	2/2	2/3	2/2		2/2		
	リンパ節	萎縮	1/2	1/2						
		洞内組織球集簇			1/3	1/2				
	副腎	皮質表層の紡錘細胞増生	2/2	1/2	2/3			2/2		
	骨髄	増生	2/2	1/2		1/2				
造血亢進			1/2							

表中の数値は、分母が検査動物数、分子が陽性動物数を示す。

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

腫瘍性病変 (1/3)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	300	1800	0	50	300	1800
死亡 及び 切迫 屠殺	肝臓	血管内皮腫(B)		1/2						
		肝細胞腺腫(B)	1/2		1/3	1/2				
		肝細胞癌(M)		1/2	1/3					
		悪性組織球増生症(M)				1/2				
	脾臓	血管内皮腫(B)		1/2						
	リンパ節	悪性リンパ腫(M)						1/2		
	下垂体	腺腫(B)						1/2		
	骨髄	血管内皮腫(B)		1/2						

表中の数値は、分母が検査動物数、分子が陽性動物数を示す。

(B):良性、(M):悪性

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

腫瘍性病変 (2/3)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	300	1800	0	50	300	1800
52 週	肺	細気管支/肺胞上皮腺腫(B)	1/10							
	甲状腺	濾胞上皮腺腫 (B)							1/10	
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	1/10		1/9		1/10			
	胃	乳頭腫 (B)					1/10			
	皮膚	毛嚢上皮腫 (B)					1/10			
78 週	脳	類皮嚢胞 (B)								1/50
	肺	細気管支 / 肺胞上皮腺腫 (B)	1/48	1/48	5/48	5/48	3/50	2/48	1/50	2/50
		細気管支 / 肺胞上皮癌(M)	1/48							
	甲状腺	濾胞上皮腺腫(B)	1/48	1/48						1/50
	肝臓	肝細胞腺腫(B)	9/48	11/48	6/48	4/18	2/50	3/48	8/50a	2/50
		血管腫(B)						1/48		
		肝細胞癌(M)	2/48		1/48		2/50		1/50	
	胃	乳頭腫(B)	1/48	2/48				2/48		
		腺腫(B)				1/48				
	精巣	腺腫(B)	1/48							
		間細胞腫(B)			1/48					
	膀胱	血管腫(B)						1/48		
	子宮	子宮内膜の間質性ポリープ (B)					1/50	1/48	4/50	2/50
		平滑筋腫(B)					1/50			
	脾臓	悪性リンパ腫(M)						1/48		
リンパ節	悪性リンパ腫(M)	1/48				2/50		2/50		
筋肉	横紋筋肉腫(M)			1/48						
副腎髄質	褐色細胞腫(B)						2/48			
ハタゲ腺	腺腫(B)	2/48	1/48	2/48				1/50	1/50	

表中の数値は、分母が検査動物数、分子が陽性動物数を示す。

a: p<0.05 (Fisher 正確確率検定法)、(B):良性、(M):悪性

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

腫瘍性病変 (3/3)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	50	300	1800	0	50	300	1800
検査動物数		48	48	48	48	50	48	50	50
腫瘍数	良性	14	16	14	10	8	13	14	9
	悪性	4	0	2	0	4	1	3	0
腫瘍総数		18	16	16	10	12	14	17	9
腫瘍動物数		17	13	14	10	12	12	16	8

(Fisher 正確確率検定法で有意差なし)

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 カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

5) マウスを用いた 80 週間飼料混入投与による発がん性試験

(資料 T-26)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年

検体純度:

試験動物: Crl:CD-1 (ICR) BR (VAF plus) 系マウス、投与開始時 6 週齢

1 群雌雄各 50 匹 (対照群及び最高用量群は雌雄各 60 匹とし、雌雄各 10 匹を投与 53 週時に中間屠殺)、投与開始時体重範囲 雄 23~36 g、雌 19~28g

投与期間: 80 週間 (1990 年 7 月 16 日~1992 年 2 月 7 日)

投与方法: 検体を 100、400、1500 及び 6000 ppm の濃度になるように基礎飼料に混入し、80 週間にわたって自由摂取させた。対照群には基礎飼料を摂取させた。試験飼料は毎週調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般状態及死亡率; 全動物について、死亡の有無を 1 日 2 回、一般状態及び行動の変化を 1 日 1 回毎日観察した。さらに、投与 27 週以降生存例全例について毎週 1 回触診を行った。

本試験における各群の死亡率は下表に示した通りであり、検体投与による死亡率の有意な変化は認められなかった。

性別	雄					雌				
	0	100	400	1500	6000	0	100	400	1500	6000
試験動物数	60	50	50	50	60	60	50	50	50	60
0~52 週死亡数	4	9	5	3	3	7	2	0	3	2
53 週中間屠殺数	9	0	0	0	10	9	0	0	0	10
53~80 週死亡数	10	15	14	11	13	10	12	8	4	9
計画屠殺動物数	36	25	31	35	33	32	36	41	43	39
(剖検期間中の死亡数)	1	1	0	1	1	2	0	1	0	0

(Peto らの方法に従って統計解析したが、有意差なし)

被毛着色、脱毛、痂皮形成、粗毛などが対照群及び投与群に認められたが、これらの所見は正常な加齢マウスにみられるものであり、毒性学的意義はないと考えられた。また、体表腫瘤発現率及び発現時期にも検体投与の影響は認められなかった。

体重推移： 全生存動物の体重を投与開始時に測定し、その後 16 週間は毎週、以後 4 週間隔で測定した。また、剖検時にも測定した。

各群の投与開始から 3 週、13 週及び 80 週までの平均体重増加量 (g) を次表に示す。

1500 及び 6000 ppm 群の雄において、投与開始から 3 週間の体重増加量の有意差が認められたが、ごく僅かな低値であり、その後はいずれの検体投与群にも統計学的に有意な体重増加量の低下が認められなかったことから偶発的な変動と考えられた。

性別	雄					雌				
	0	100	400	1500	6000	0	100	400	1500	6000
1～3 週	3	4	3	3 b	2 c	3	3	3	2	2
1～13 週	10	11	10	10	9	9	9	9	10	9
1～80 週	12	12	14	12	12	16	18	15	17	16

b : p<0.01、 c : p<0.001 (多重比較検定)

摂餌量： 投与開始から 16 週間は毎週、その後は 4 週間隔で各ケージの摂餌量を測定し、1 匹 1 週間当たりの摂餌量を算出した。

投与初期に検体投与群の雌において軽度な摂餌量の増加が認められたが、雌雄ともに、投与期間を通して検体投与による摂餌量に対する悪影響は認められなかった。

食餌効率； 投与開始から 16 週間の摂餌量及び体重増加量から食餌効率を週単位で算出した。

いずれの投与群にも、検体投与による統計学的に有意な食餌効率の変動は認められなかった。

検体摂取量； 各群の動物の体重、摂餌量及び飼料中検体濃度から算出した検体摂取量 (mg/kg/日) は以下の通りであった。

性別	雄				雌			
	100	400	1500	6000	100	400	1500	6000
1～80 週	14.49	57.15	207.7	855.8	16.13	66.18	246.2	1051.7

血液学的検査； 投与 53 週時の中間屠殺動物の全例及び投与終了時の屠殺動物から 1 群雌雄各 10 匹について、剖検時に腹大静脈より採血し、以下の項目について検査を行った。

ヘモグロビン濃度、赤血球数、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、白血球型別百分率、網状赤血球数

また、投与終了時屠殺の全例について血液塗抹標本を作製し、雄全例及び雌の対照群及び最高用量群について、白血球百分率の測定を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁に示す。

6000 ppm 群において、投与 52 週時では赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下ならびに血小板数の増加が雄で認められ、投与終了時ではヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下ならびに血小板数の増加が雌雄で認められた。さらに投与終了時では 1500 ppm 群の雌でもヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下が認められた。また、6000 ppm 群の雄では白血球数の低下も認められた。これらの変化は検体投与に関連すると考えられた。

血液学的検査の結果表

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		100	400	1500	6000	100	400	1500	6000
第 53 週	赤血球数	-	-	-	↓ 87	-	-	-	101
	ヘモグロビン濃度	-	-	-	↓ 89	-	-	-	96
	ヘマトクリット値	-	-	-	↓ 91	-	-	-	97
	血小板数	-	-	-	↑ 147	-	-	-	126
終 了 時	ヘモグロビン濃度	94	94	93	↓ 87	99	95	↓ 93	↓ 88
	ヘマトクリット値	95	96	93	↓ 87	100	95	↓ 93	↓ 87
	血小板数	114	104	116	↑ 130	96	116	97	↑ 131
	白血球数	74	87	89	↓ 64	102	73	153	66

表中の数値は対照群値を 100 とした時の値、- : 検査未実施

↑ ↓ : $p < 0.05$ 、↓ ; $p < 0.01$ 、↓ ; $p < 0.001$ (多重比較検定)

血液生化学的検査 ; 血液学的検査用の血液採取時に血漿を採取し、尿素窒素、ALP、GOT、GPT について検査を行った。

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		100	400	1500	6000	100	400	1500	6000
53 週	GOT	-	-	-	↓ 59	-	-	-	103
終 了 時	ALP	87	113	77	87	112	96	131	↑ 164
	GPT	↑ 505	↑ 208	↑ 286	↑ 141	143	39	69	208
	GOT	↑ 212	↑ 152	↑ 223	↑ 114	59	53	69	109

表中の数値は対照群値を 100 とした時の値、- : 検査未実施

↑ : $p < 0.05$ 、↑ ↓ ; $p < 0.01$ 、↑ ; $p < 0.001$ (多重比較検定)

中間屠殺動物の 6000 ppm 群の雄で GOT の低値がみられたが、診断的意義はないと考えられた。投与終了時屠殺動物の ALP、GOT 及び GPT に大きな変動が認められたが、いずれも用量相関性に乏しいことから検体投与とは関係しないと考えられた。ALP の高値が 6000 ppm 群の雌でみられ、1500 ppm 群の雌でも同様な傾向がみられたが、いずれも変化の程度がわずかであり、検体投与との関連性は明らかではなかった。

申請者注 : 雌の投与群みられた ALP の高値ないし高値傾向は、関連する病理組織学的変化は認められないことから、毒性学的意義に乏しい変動と考える。

臓器重量 ; 投与 53 週時の中間屠殺動物の全例及び投与終了時の屠殺例から 1 群雌雄各 10 匹について、以下の臓器の重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、胸腺、脾臓、精巣

対照群と比べて統計学的有意差の認められた臓器を次頁に示す。

投与 53 週時中間屠殺例において、6000 ppm 群の雌で腎臓重量の増加がみられ、検体投与に関連する変化と考えられた。一方、6000 ppm 群の雄の心臓重量増加、同群雌の脳重量増加が

認められたが、わずかな変化であり、毒性学的意義はないものと考えられた。投与終了時の屠殺例では臓器重量の有意な変化が認められなかった。

臓器重量の結果表

性別		雄				雌				
投与量 (ppm)		100	400	1500	6000	100	400	1500	6000	
第 53 週	最終体重	-	-	-	98	-	-	-	95	
	脳	絶対重量	-	-	-	100	-	-	-	↑106
	心臓	対体重比	-	-	-	↑115	-	-	-	111
	腎臓	絶対重量	-	-	-	104	-	-	-	↑110
		対体重比	-	-	-	104	-	-	-	↑115

表中の数値は対照群値を 100 とした時の値、- : 検査未実施

↑ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 (多重比較検定)

肉眼的病理検査； 途中死亡例、切迫屠殺例、中間屠殺例及び投与終了時計画屠殺例全例について詳細な肉眼的病理検査を行った。

投与 53 週時中間屠殺例では以下の変化が認められ、検体投与に関連すると考えられた。

胃	6000 ppm 群の雌雄で辺縁部の白色化、腺胃粘膜の退色及び肥厚の発現率の増加
十二指腸	6000 ppm 群の雌雄で内腔拡張
回腸・盲腸・結腸	6000 ppm 群の雄で暗色内容物
皮膚	6000 ppm 群の雄 10 例中 8 例で被毛黄色化

投与終了時屠殺例では胃粘膜の退色及び肥厚が 6000 ppm 群の雌雄に認められ、検体投与に関連すると考えられた。

病理組織学的検査； 途中死亡例、切迫屠殺例、中間屠殺例及び投与終了時計画屠殺例全例を対象に以下の臓器組織について常法に従って病理標本を作製し、鏡検した。なお、統計学的解析は病変の発生が 3 個体をこえる場合に実施された。

副腎、大動脈、脳、盲腸、子宮頸部、結腸、十二指腸、精巢上体、眼球 (含視神経)、大腿骨 (含骨髓)、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、(含主気管支)、乳腺 (雌のみ)、腸間膜リンパ節、食道、卵巣、脾、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精嚢、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、胃、下顎リンパ節、精巢、胸腺、甲状腺 (含上皮小体)、気管、膀胱、子宮、膣、その他の肉眼的異常部位

病理組織学的検査の結果は以下の通りである。

非腫瘍性病変 主な臓器・組織における非腫瘍性病変を後ろの頁に表示する。

6000 ppm 群の雌雄の胃において、粘膜上皮の角化亢進、上皮過形成及び潰瘍化が認められ、1500 ppm 群の雄にも潰瘍化が認められ、検体投与に関連すると考えられた。その他に観察された所見は用量相関性、背景データにおける発現率などから、いずれも検体投与に関連しない変化であると考えられた。また、1500 ppm および 6000 ppm 群の雌で黄

体突出の発生頻度が僅かに高かったが、加齢進行のわずかな遅延を反映した変化と考えられた。

申請者注：雄の脾臓のリンパ組織過形成及び雌の脾臓の髓外造血については、対照群に比べて統計学的に有意な発生頻度の増加が 6000 ppm 群で認められた。脾臓のリンパ組織過形成は原報に掲載されている背景データによれば発生頻度が 0/50～2/50 (4%) であり、本試験の 6000 ppm 群雄の頻度 14% を下回る。また、6000 ppm 群の雌における脾臓の髓外造血の発生頻度増加は前述の赤血球系項目の低値に関連した変化と考える。以上のことから申請者は脾臓でみられた 6000 ppm 群雄のリンパ組織過形成及び同群雌の髓外造血の増加は検体投与に関連した変化であると考ええる。

腫瘍性病変 主な臓器・組織における腫瘍性病変及び 78 週時計画屠殺動物の腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数を後ろの頁に表示する。

観察された腫瘍はいずれも自然発生することの知られているものであった。また、いずれの腫瘍の発現頻度にも統計学的有意差が認められなかった。最終屠殺動物の 6000 ppm 群の雌 50 例中 3 例に子宮内膜肉腫が観察された。試験施設の背景データによればこの腫瘍は 50 例中 0～2 例の発生が認められることから、本試験で観察されたわずかな発生増加は偶発的な変動と考えられた。

以上、有機銅原体の 80 週間飼料混入投与によるマウスの発癌性試験における影響として、6000 ppm 群において、雌雄の赤血球系項目（赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値）の低下、雌雄の血小板数の増加、雄の白血球数の低下、雌の腎臓重量増加、消化管の肉眼的病理変化（雌雄の胃：辺縁部の白色化、腺胃粘膜の退色及び肥厚、雌雄の十二指腸：内腔拡張、雄の回腸・盲腸・結腸：暗色内容物、雄の皮膚：被毛黄色化）、胃の雌雄の病理組織学的変化（粘膜上皮の角化亢進、上皮過形成、潰瘍化）、脾臓のリンパ組織過形成（雄）及び髓外造血（雌）が認められ、1500 ppm 群でも雌の赤血球系項目（ヘモグロビン量及びヘマトクリット値）の低下及び雄の胃の潰瘍化が認められた。従って、無毒性量は雌雄とも 400 ppm（雄 57.15 mg/kg/日、雌 66.18 mg/kg/日）であると判断された。発がん性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロ カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（1/6）

性別	投与量 (ppm)	雄																			
		0 (対照)				100				400				1500				6000			
動物の運命		D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統
副腎	検査動物数	10	4	36		17	8			15	4	2		7	8	1		10	7	33	
	褐色萎縮			1											1					1	
	紡錘細胞過形成		2	11		3	2			2	1	1		2	2			2	2	13	
	アミロイド変性	1	1	6		3	1			4	3	1		3	2			2	1	5	
	皮質過形成			1		1				1		1								2	
盲腸	検査動物数	10	4	36		17	8	1		15	4	2		7	8	3		10	7	33	
	浮腫			1			1			1	1	1				1			2		
十二指腸	検査動物数	10	4	36		17	8			15	4			7	8	3		10	7	33	
	アミロイド変性			6		1	1			1	2			2	1	1		1		2	
精巣上体	検査動物数	10	4	36		17	8			15	4			7	8	2		10	7	33	
	精細胞減少			2															2	2	
	精細胞欠如		1	1		2	2			3				2	1			2		2	
眼球	検査動物数	10	4	36		17	8			15	4			7	8	1		10	7	33	
	崩壊																	1	1	1	
心臓	検査動物数	10	4	36		17	8	1		15	4	4		7	7	1		10	7	33	
	アミロイド変性	1		6		3				2	3	1			1			1	1	4	
	心筋線維化	1		5		1	1				1	3			3			1		5	
	心房血栓症	1		2		1		1		3	1	3		1	1	1		2			
肝門リンパ節	検査動物数	3	2	1		2		1		2		1		2	1	4		2	2	5	
回腸	検査動物数	10	4	36		16	8	1		15	4			7	8	2		10	7	33	
	アミロイド変性	1	1	14		4	1	1		3	2			4	4	1		2	2	4	
鼠径部リンパ節	検査動物数	2	1	2		3	1	3		6	2	1		2	2	3		1	3	2	
	リンパ組織過形成			2			1	1		2		1			1	1				1	
	反応性過形成									2	1			1	1	1			1	1	
空腸	検査動物数	10	4	36		16	8	1		15	4			7	8	2		10	7	33	
	アミロイド変性		1	8		3	1			2	2			2	3	1				4	
腎臓	検査動物数	10	4	36		17	8	25		15	4	31		7	8	35		10	7	33	
	皮質嚢胞	1		6				6				7			1	5			1	8	
	水腎症	3	1	7		5	1	1		4		2		1	2	3		3	1	6	
	腎症			8		3	2	2		2	2	3		3	1	7		1	2	5	
	アミロイド変性	1		7		3	1	2		4	2	4		1	2	1		3	1	2	
	皮質癒痕	1		2		1		6				3			1	3		1		1	
	尿管拡張	1				1				2				2	2			2			
肝臓	検査動物数	10	4	36		17	8	25		15	4	31		7	8	25		10	7	33	
	肝細胞空胞変性			7				6		1		10				13		1		4	
	慢性炎症			6			1	4		1	1	2				11		1	1	4	
	肝細胞腫大	1		9		2		4				7		1	2	10		3	1	3	
	髓外造血		1	1			1				1			1		1			1		
	アミロイド変性			3		3	1	1		4		2		1				2	1	1	
肺	検査動物数	10	4	36		17	8	25		15	4	30		7	8	35		10	7	33	
	肺胞マクロファージ集簇	1		2		1	1	2		2	2	4		4	3	2		2		1	
	血管周囲リンパ球			4			2	2			1	1				2		1		2	
	うっ血	7		3		9		1		7				2	1	1		4	1	3	
	出血			2						1				1							
	肺胞上皮化			3				3			1	1		1						2	
	線維化			1			1	1		1		4		1	1	2		1		1	

D: 死亡例、K: 切迫屠殺例、T: 投与終了時屠殺例、統: 統計学的有意差 (↑↓: p<0.05、◇▽: p<0.01、↑↓: p<0.001 Petoの検定。各群 50 匹中の総発生数について検定された。) (対照群の記号は用量相関性を示す)

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 カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（2/6）

性別	投与量 (ppm)	雄																			
		0 (対照)				100				400				1500				6000			
動物の運命		D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統
腸間膜リンパ節	検査動物数	10	4	34		17	8	2		14	4	10		6	7	4		9	7	30	
	うっ血	4	2	11		4	1	2		7	2	10			4	3		4	2	10	
	アミロイド変性		1	7		4	1			2	2			1	1			1	1	4	
	浮腫			2								3			1					3	
	リンパ組織過形成			1																3	
	組織球症			1						1				1						3	
大動脈付属リンパ節	検査動物数	5	1	1		4	3			1	1	1		1	2	2		4	2	3	
	浮腫				↑		1														
	組織球症	1									1	1			2			1			
上皮小体	検査動物数	7	4	27		9	6			9				2	6			10	6	28	
	アミロイド変性	1		3						1				1	1				1	1	
肛門腺	検査動物数					5	1	2		3		2		2	1				2	1	
	拡張					3	1	1		1				2	1				1	1	
包皮腺	検査動物数			1		2		2		3	1	2			1	1			2		
	拡張			1		1				2		1							2		
前立腺	検査動物数	10	4	36		17	8	2		14	4			7	8			10	7	33	
	慢性炎症	2				2	2	1			1			2	1					2	
	化膿性浸出液	1				2	1				1			1	1			2			
精囊	検査動物数	10	4	36		17	8	13		15	4	18		7	8	22		10	7	33	
	コロイド拡張	5	1	16		7	1	9		3	3	16		4	5	16		1	3	15	
	コロイド減少	1		1			1			2				1	1	1		1		1	
	膿瘍化		1			2	2			1	1							1			
	慢性炎症	1								1				2	1	2				1	
	出血			1		2				4				1				1			
皮膚	検査動物数	10	4	36		17	8	8		15	4	7		7	8	7		10	7	33	
	痂皮形成			1		1		1		1	1				1	1		2		1	
	表皮過形成			3		2		4		2		1			2	2		1		3	
体表腫瘍	検査動物数	5	4	12		9	7	13		9	4	11		4	7	13		6	5	10	
	表皮過形成	1	3	8		4	5	9		2	3	10		2	2	8		4	2	2	
	痂皮形成	1	1	6		1		7			2	2		1	2	3		2	1	2	
	潰瘍化		1	2		2	1	6		4	3	1		1	4	3		1	3		
	付属器官萎縮			1		3						1									
	慢性炎症	1	1					2		1	2	1			1	1		1	1		
	急性炎症	1		3						1					1				1		
	壊死	1		3				1			1				1				2	1	
	線維化		1							1	1	1		1	1						
脾臓	検査動物数	10	4	36		17	8	25		14	4	31		7	8	35		10	7	33	
	リンパ組織過形成				↑			3											1	6	↑
	髄外造血	1	2	3		2	3	3		3	3	2		4	3	7		1	2	4	
	ヘモジデリン沈着															1					
	うっ血				↑													1		2	
	アミロイド変性			2		2	1	1		3	2	4		1	1	1			1	1	
リンパ組織低形成			1		3	1	1				3		3	3			1				
膝関節	検査動物数	1	2	7		4	2	1			2	3		2	2	1		1	1	7	
	関節症	1	2	7		4	2	1			2	3		2	2	1		1	1	7	

D: 死亡例、K: 切迫屠殺例、T: 投与終了時屠殺例、統: 統計学的有意差 (↑↓: p<0.05、↑↑: p<0.01、↑↑↑: p<0.001 Petoの検定。各群 50 匹中の総発生数について検定された。) (対照群の記号は用量相関性を示す)

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（3/6）

性別	投与量 (ppm)	雄																			
		0 (対照)				100				400				1500				6000			
動物の運命		D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統
胃	検査動物数	10	4	36		17	8	25		15	4	31		7	8	35		10	7	33	
	角化亢進	2	1	8	↑	2		3		1	1	4		2	1	5		4	4	16	↑
	上皮過形成		4	20	↑	6	3	15		2	2	13		2	5	10		5	5	22	
	粘液腺拡張		3	13		4	2	11		2	1	9			3	6		2	3	10	
	憩室			2	↑			1										1		4	
	潰瘍化				↑									1		3		1	1	4	↑
	慢性炎症		3	11		1		12			1	10			3	20		1	2	14	
	アミロイド変性			3						1	1	2								1	
皮下組織	検査動物数	3		1		3	2	3		2	2	4		1	3	1		1	1	1	
	膿瘍化	2			↓	1	2				1	2				1					
	浮腫	1				1				1				1	1	1					
精巣	検査動物数	10	4	36		17	8			15	4	1		7	8	2		10	7	33	
	萎縮		2	11		2	2			3		1		1	2	2		4	2	11	
	アミロイド変性		1	4		2	1			3				1	1			1	1		
	間質細胞過形成		1	6		1								1	1			1		4	
	異所性石灰化			3			1									2		2		3	
胸腺	検査動物数	10	4	36		17	8	1		14	4	2		7	7	1		10	7	33	
	胸腺組織欠如		1	3		2				1					3					1	
	退縮	9	2	32		11	8	1		11	4	2		6	4	1		7	5	32	
	リンパ組織過形成	1		3						1								1	1	3	
甲状腺	検査動物数	10	4	36		15	8			15	4	1		7	8			10	7	33	
	濾胞拡張	2	1	8		2	2			3				2	4			1		7	
	アミロイド変性	1		5		1	1			3	2			1	1			2	1	2	
尿管	検査動物数			1		1	1			1		1			2						
	拡張			1		1	1			1		1			2						
尿道	検査動物数	4	1	18		9	2	16		5	1	17		2	5	18		5	4	19	
	好酸性物質栓	4	1	15		2	1	15		1	1	16			4	16		3	4	16	
	出血					6	1		↑	4				2	1			2			
膀胱	検査動物数	10	4	36		17	8	13		15	4	14		7	8	21		10	7	33	
	拡張	6	1	14	↓	12	2	7		6	1	9		2	2	11		4	2	7	
	慢性炎症	1	2	2		1	2	1		1	1	1		2	2	2		2	1	4	
	好酸性物質栓		1	11			1	5				4				9		1		12	
	上皮過形成		2	4			5	2		1	1	1			1	2		1	1	4	
	出血	1				2				4				1							

D: 死亡例、K: 切迫屠殺例、T: 投与終了時屠殺例、統: 統計学的有意差 (↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、↑↓↑ : p<0.001 Petoの検定。各群 50 匹中の総発生数について検定された。) (対照群の記号は用量相関性を示す)

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 カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（4/6）

性別	投与量 (ppm)	雌																			
		0 (対照)				100				400				1500				6000			
動物の運命		D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統
副腎	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	4		4	3	43		6	5	39	
	褐色萎縮	1		7	↓		1	3			1	6				6				1	↓
	付属結節							2				3				1				1	
	紡錘細胞過形成	5	5	26		5	1	28		3	1	30		3	2	34		5	4	33	
	アミロイド変性	2	1	1		4	2	5		3		9		3		3		1		5	
盲腸	検査動物数	11	6	32		10	4			4	2	2		4	3	2		5	5	39	
	浮腫		2	5								3				1		1	3		
子宮頸	検査動物数	11	3	32		9	4	36		5	2	40		4	3	40		6	5	37	
	上皮過形成	4	2	14		2		13		1	1	21		1		16		2	2	23	
	粘液分泌			7	↓	2	2	8				1	↓	1	2					1	↓
	血管周囲炎	1		2		1		1		1		1				1					
結腸	検査動物数	11	6	32		10	4			5	2	1		4	3	1		6	5	39	
	浮腫		2	1								1				1		1	1		
十二指腸	検査動物数	11	6	32		10	4			5	2	1		4	3	1		6	5	39	
	アミロイド変性	3	1	1			1					1				1				3	
	浮腫			2								1				1		1	1	1	
胆嚢	検査動物数	11	6	32		10	4	3		5	2	1		4	2	3		6	5	39	
	拡張		2	4				3		1	2	1		1		3		1	1	6	
心臓	検査動物数	11	6	32		10	4			5	2	1		4	3			6	5	39	
	アミロイド変性					2	1			2								1			
肝門リンパ節	検査動物数	2				1	2	1		1		1			3	5		2	2	7	
	リンパ組織過形成				↑		1					1				1				4	
回腸	検査動物数	11	6	32		9	4	1		5	2	3		4	3	1		6	5	39	
	アミロイド変性	2	1	3		2	2			2		2			1			2		12	
	浮腫				↑							1				1		1	2		
空腸	検査動物数	11	6	32		9	4			5	2	1		4	3	1		6	5	39	
	アミロイド変性		1	1		1	1			1		1						1		3	
腎臓	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	41		4	3	43		6	5	39	
	皮質嚢胞		1	3				1		1		3				2			1	4	
	腎症	4	2	1		6	1	8		2		6		1	1	4		3	2	4	
	アミロイド変性	3	1	1		5	1	5		3		11				5		1		4	
	皮質癒痕			3				3				3				3				1	
肝臓	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	41		4	3	43		6	5	39	
	慢性炎症	1	4	12				13		1		17				12		2	2	19	
	肝細胞空胞変性			4	↓			6				3				7					
	褐色色素沈着	1	1	2		1		4		1		9				4				2	
	髓外造血		1				2												3		
	アミロイド変性	2				3	1	1		3		3				2				1	
壊死	1	1	1		1	1	3		1		1				4		1	1	4		
肺	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	41		4	3	43		6	5	39	
	気管支周囲リンパ組織過形成		1	12			1	10				9				11		1	2	12	
	肺胞マクロファージ集簇	1	1	4		4		5		1		2				4			1	3	
	血管周囲リンパ球		1	9	↓	2		9				12				6				5	
	うっ血	4		2	↓	6		1		2				1		1					↓
	出血	1			↓	1		3													

D: 死亡例, K: 切迫屠殺例, T: 投与終了時屠殺例, 統: 統計学的有意差 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01, ↑↓: p<0.001 Petoの検定。各群 50 匹中の総発生数について検定された。) (対照群の記号は用量相関性を示す)

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（5/6）

性別	投与量 (ppm)	雌																			
		0 (対照)				100				400				1500				6000			
動物の運命		D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統
乳 腺	検査動物数	11	6	32		10	4			5	2			4	3	1		6	5	39	
	過形成	3	1	7		3	2			2				1				1	1	9	
	乳汁分泌	1		6		1	2			2								1	1	6	
腸間膜リンパ節	検査動物数	11	6	32		7	3	4		5	2	7		4	3	4		6	5	39	
	うっ血	1	1	7		1	1	2		2		3		1		2		2	1	10	
	アミロイド変性	1				3	1	1		1		3				3				8	
	浮腫		1	4			1			1		2		1		1		1	1	3	
	リンパ組織過形成			4				1				2		2		1				4	
卵 巢	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	41		4	3	43		6	5	39	
	卵胞嚢胞	5	2	22	↓	4	2	26	↓	3	1	21		3	2	27		4	2	27	↓
	卵巣嚢拡張	1	5	14		2		12		1	1	22			2	20			4	8	
	出血	2		5		2		6				7		1	1	6		1	1	6	
	アミロイド変性	2	1	1		4	1	4		1		8				3		1		2	
	黄体突出	1		3	↑			2				2			1	7		2	1	7	
膵 臓	検査動物数	11	6	32		10	4	1		5	2	3		4	3	3		6	5	39	
	浮腫		1	2		1						2						2	2		
上皮小体	検査動物数	6	6	22		8	3			4	1			3	2			6	4	32	
	アミロイド変性	2				2	1			2											
坐骨神経	検査動物数	11	6	31		10	4			5	2			4	3			5	5	38	
	神経線維変性	2	3	6		1				1				1					1	8	
体表腫瘤	検査動物数	3	6	7		6	3	7		2	1	13		3	2	4		3	3	4	
	表皮過形成	1	2	2			1	5				2							1	1	
	痂皮形成		1	1			1	1				1							1	1	
	潰瘍化		1	1			2	2				1		1		1			1	1	
脾	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	41		4	3	43		6	5	39	
	リンパ組織過形成			3				4				5				5				5	
	髓外造血	2	2	3	↑	1	3	4		2		7		2	1			1	4	11	↑
	アミロイド変性	1				4	1	1		2		4				1				1	
	ヘモジデリン沈着	3		5				2		1	1	5					↓	2		5	
胃	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	41		4	3	43		6	5	39	
	角化亢進	5	2	14	↑	2	2	10				8	↓		1	12		3	4	26	
	上皮過形成	1	3	18	↑	1	2	13		3	1	15				15		3	4	33	↑
	粘液腺拡張		3	12		1	2	13			1	14				7	↓	2	2	11	
	慢性炎症		3	15			1	14				15				14				16	
	憩室			1	↑														1	2	
	潰瘍化				↑															5	
胸 腺	検査動物数	11	6	32		10	4	6		5	2	10		4	3	13		6	5	39	
	胸腺組織欠如					1				1	1							2		2	
	退縮	7	3	28		8	4	5		3	1	7		1		7		2	2	30	
甲状腺	検査動物数	11	6	32		10	4			5	2	2		4	3			6	5	39	
	濾胞拡張		1	11						1				2	1				2	15	
	アミロイド変性	1				4	1			2		1						1			

D: 死亡例、K: 切迫屠殺例、T: 投与終了時剖検例、統: 統計学的有意差 (↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01、↑↓↑ : p<0.001 Petoの検定。各群 50 匹中の総発生数について検定された。) (対照群の記号は用量相関性を示す)

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 カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

非腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（6/6）

性別	雄																				
	0 (対照)				100				400				1500				6000				
投与量 (ppm)	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	
動物の運命	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	D	K	T	統	
膀胱	検査動物数	11	6	32		10	4			5	2			4	3			6	5	39	
	慢性炎症		2	15		1								1				1	1	15	
子宮	検査動物数	11	6	32		10	4	36		5	2	41		4	3	43		6	5	39	
	子宮内膜ポリープ	2		2				2			1	9				7		1	1	2	
	子宮内膜過形成	4	5	27		1	2	28		3	1	35		2	1	33		3	2	33	
	血管周囲炎	1	1				1	1		2		1						1			
	子宮内膜増殖症 出血	1		6	↓			4				3				2					♯
陰	検査動物数	11	6	32		10	4			5	2			4	3			6	5	39	
	上皮過形成	4	2	16		2				1				1						28	
	粘液分泌		2	10		3	2			1	1			2	3			1	2	7	

D: 死亡例、K: 切迫屠殺例、T: 投与終了時屠殺例、統: 統計学的有意差 (↑↓: p<0.05、↑♯: p<0.01、↑↓♯: p<0.001 Petoの検定。各群 50 匹中の総発生数について検定された。) (対照群の記号は用量相関性を示す)

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（1/5）

性別		雄														
		0 (対照)			100			400			1500			6000		
投与量 (ppm)		D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T
動物の運命		D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T
副腎	検査動物数	10	4	36	17	8		15	4	2	7	8	1	10	7	33
	皮質腺腫	1		2	1											1
	褐色細胞腫			1	1					1						
骨	検査動物数										1					
	骨肉腫										1					
脳	検査動物数	10	4	36	17	8		15	4		7	8		10	7	33
	髄膜腫			1												
十二指腸	検査動物数	10	4	36	17	8		15	4		7	8	3	10	7	33
	間質乳頭腫												1			
精巣上体	検査動物数	10	4	36	17	8		15	4		7	8	2	10	7	33
	間質細胞腺腫															1
ハーダー腺	検査動物数		1	1			1						1			1
	ハーダー腺腺腫												1			
腎臓	検査動物数	10	4	36	17	8	25	15	4	31	7	8	35	10	7	33
	腺腫			1									1			
肝臓	検査動物数	10	4	36	17	8	25	15	4	31	7	8	35	10	7	33
	肝細胞癌 M	1		2	1		1	1		1			1			2
	肝細胞腺腫		1	1	3	1	2	1		5	1		3	1		5
	血管肉腫 M	1											1			
肺	検査動物数	10	4	36	17	8	25	15	4	31	7	8	35	10	7	33
	肺腺腫	3		4	3		3	3		4		2	5		1	5
	肺癌 M			3			2	1		3		2	3	2		2
体表腫瘤	検査動物数	5	4	12	9	7	13	9	4	11	4	7	13	6	5	10
	線維肉腫 M									1					2	
胃	検査動物数	10	4	36	17	8	25	15	4	31	7	8	35	10	7	33
	扁平上皮乳頭腫			1												
	腺癌 M											1				
皮下組織	検査動物数	3		1	3	2	3	2	2	4	1	3	1	1	1	1
	線維肉腫 M						1		1			2			1	1
	褐色脂肪腺腫			1												
	扁平上表皮癌 M						1									
全身	単球性白血病 M	1			1			1						2	1	
	悪性リンパ腫 M	1	1	1							1			1	1	
	骨髄性白血病 M				1	1										

D：途中死亡例、K：切迫屠殺例、T：投与終了時屠殺例、M：悪性腫瘍（それ以外は良性腫瘍）
 （統計処理を行ったが有意差なし。なお、各群 50 匹中の総発生数について検定した。）

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（2/5）

性別		雌														
		0(対照)			100			400			1500			6000		
動物の運命		D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T
副腎	検査動物数	11	6	32	10	4	36	5	2	41	4	3	43	6	5	39
	皮質腺癌 M															1
子宮頸	検査動物数	11	3	32	9	4	36	5	2	40	4	3	40	6	5	37
	平滑筋腫							1								
四肢	検査動物数				1											
	骨腫				1											
大腿骨	検査動物数	11	6	32	10	4		5	2		4	3		6	5	39
	骨腫															1
ハーダー腺	検査動物数	1														
	ハーダー腺腺腫	1														
腎臓	検査動物数	11	6	32	10	4	36	5	2	41	4	3	43	6	5	39
	悪性間葉腫瘍 M												1			
口唇	検査動物数						1									
	扁平上皮乳頭腫						1									
肝臓	検査動物数	11	6	32	10	4	36	5	2	41	4	3	43	6	5	39
	肝細胞腺腫									1						1
	血管肉腫 M									1						
肺	検査動物数	11	6	32	10	4	36	5	2	41	4	3	43	6	5	39
	肺腺腫		1	4			3		1	8			5		1	7
	肺癌 M			4		1	3			3			2	1		4
	悪性中皮腫 M													1		
卵巣	検査動物数	11	6	32	10	4	36	5	2	41	4	3	43	6	5	39
	乳頭嚢胞腺腫						2							1		
	卵管腺腫						2									
	黄体腫						1									2
	平滑筋腫						1									
下垂体	検査動物数	11	6	32	10	4		5	2		4	3		6	5	38
	下垂体腫瘍														1	
骨格筋	検査動物数	11	6	32	10	4		5	2		4	3		6	5	39
	線維肉腫 M														1	
体表腫瘤	検査動物数	3	6	7	6	3	7	2	1	13	3	2	4	3	3	4
	線維肉腫 M						1				1					
	基底細胞癌 M									1						
胃	検査動物数	11	6	32	10	4	36	5	2	41	4	3	43	6	5	39
	平滑筋肉腫 M															1

D：途中死亡例、K：切迫屠殺例、T：投与終了時屠殺例、M：悪性腫瘍（それ以外は良性腫瘍）
 （統計処理を行ったが有意差なし。なお、各群 50 匹中の総発生数について検定した。）

腫瘍性病変（最終屠殺対象動物）（3/5）

性別		雌														
投与量 (ppm)		0 (対照)			100			400			1500			6000		
動物の運命		D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T	D	K	T
皮下組織	検査動物数		2	2	1	2	2	2	1	2	2		2		1	
	線維肉腫 M		1		1		2				1		1			
	褐色脂肪腺腫			1												
	乳腺線維癌 M			1		1										
	基底細胞癌 M					1										
	血管肉腫 M							1								
	筋上皮腫瘍 M									1						
甲状腺	検査動物数	11	6	32	10	4		5	2	2	4	3		6	5	39
	旁濾胞細胞腺腫			1												
	濾胞細胞腺腫													1		
子宮	検査動物数	11	6	32	10	4	36	5	2	41	4	3	43	6	5	39
	平滑筋腫			1			3						2			3
	脱落膜腫	1								1			2			
	血管腫															1
	子宮内膜肉腫 M														1	3 #
	子宮腺腫															
	子宮腺癌 M															1
全身	単球性白血病 M	1			1						2		15	1		
	悪性リンパ腫 M	2	1	3			6	1	1	3		3	15	1		5
	骨髄性白血病 M	1														
	組織球肉腫 M					1									1	

D：途中死亡例、K：切迫屠殺例、T：投与終了時屠殺例、M：悪性腫瘍（それ以外は良性腫瘍）
#：増加傾向あり（ $p < 0.05$ 、Petoの検定）

腫瘍性病変（中間屠殺動物）（4/5）

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		0 (対照)	6000	対照	6000
全身	検査動物数	10	10	10	10
	悪性リンパ腫 M	1			
肺	検査動物数	10	10	10	10
	肺癌 M	1			1

M：悪性腫瘍（統計処理は非実施）

総腫瘍発生頻度（5/5）

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0 (対照)	100	400	1500	6000	0 (対照)	100	400	1500	6000
対象動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍発現動物数	良 性	14	12	12	12	12	8	11	11	8	18
	悪 性	11	8	9	12	12	12	16	11	24	18
	合 計	22	20	21	21	23	18	22	19	28	28

（Petoの検定を行ったが、群間差ないし傾向なし）

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性

①ラットを用いた飼料混入投与による2世代繁殖毒性試験

(資料 T-27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体純度：

供試動物：OFA-SD (IOPS-Caw) 系ラット、投与開始時約5～6週齢

開始時体重範囲：雄 177～226g、雌 136～176g、1群雌雄各 25 匹

投与期間：P 世代；投与開始から F₁ 児離乳時までの約 18 週間

F₁ 世代；F₁ 離乳時から F₂ 児離乳時までの約 21 週間

F₂ 世代；F₂ 離乳後から約 3 週間

(1989年11月6日～1990年8月10日)

投与方法：検体を 0、100、400 及び 1600ppm の濃度になるように飼料に混入し、自由摂取させた。検体混入飼料は、毎週 1 回調製した。

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。

【親動物】

一般状態及び死亡；全ての動物について、一般状態及び死亡の有無を毎日観察した。

体重変化；雄は試験期間を通じて週 1 回の割合で体重を測定した。雌は交配まで週 1 回の割合で、また妊娠 0、7、14 及び 20 日に、分娩 0、7、14 及び 21 日に体重を測定した。

摂餌量；雄は交配期間を除き、毎週測定した。雌は、交配及び授乳期間の最終週を除き、毎週測定した。

交配及び交尾・妊娠の確認；交配は同群の雌雄を 1 対 1 で同居させ、腔スメア一中に精子の確認された日を妊娠 0 日とした。7 日間の同居期間中に交尾が成立しなかった場合には、すでに交尾能力の確認されている同群の雄、また、雄は再交配用に用意した未処置の雌とさらに 14 日間同居させた。

試験方法の概要

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
P	生育 (11 週)		一般状態、生死を毎日観察。 体重、摂餌量を週 1 回測定。
	交配 (1 週)	雌雄 1 対 1 で交配。交配は 腔スメアール中の精子で確認 (妊娠 0 日)。	交配状況の観察。雄動物の体重を週 1 回測定。
	妊娠 (3 週)		雄動物の体重、摂餌量を週 1 回測定。雌動物は妊娠 0、7、14、20 日に体重及び 0~7、7~14、14~20 日の摂餌量を測定。
	F ₁ 出産		出産状況の観察。 死産児数、生産児数、外表異常性別及び生存児体重測定。
F ₁	哺育 (3 週)	出産後 4 日に各同腹児数を 出来るだけ雌雄各 4 匹に調整 (不可能な場合は雌雄計 8 匹)。	雄動物の体重、摂餌量を週 1 回測定。 雌動物は、出産後 4、7、14 及び 21 日に体重及び 0~7、7~14 日の摂餌量を測定。 生後 4、7、14 及び 21 日に生存児の体重を測定、また、一般状態、生死も毎日観察。 生存児の機能的発育について次の検査を行なった。 耳介展開、眼瞼開裂、正向反射、 耳介反射及び瞳孔反射 途中死亡児及び 4 日目の屠殺児の剖検。
	離乳	継代用の各群雌雄 25 匹を各 同腹児から無作為に選抜。 再交配用に対照群から雄動物 30 匹を選抜。	親動物及び継代用以外の児動物の剖検。親動物の臓器重量を測定。 対照群、最高用量群及び交尾の成立しなかった親動物の病理組織学的検査。
	生育 (14 週)	} (P 世代に準ずる)	} (P 世代に準ずる)
	交配 (1 週)		
妊娠 (3 週)			
F ₂ 出産	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)	
哺育 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)	
F ₂	離乳		親動物及び児動物の剖検 (F ₁ 世代に準ずる)

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、分娩及び離乳期の観察結果に基づき、次の指標を算出した。

交 配 率 = (交尾した動物数 / 交配した動物数) × 100

交 配 期 間 = 性周期を 5 日と仮定した場合の交尾までの平均発情回数

妊 娠 率 = (妊娠動物数 / 交尾雌動物数) × 100

妊娠動物数 = 雌は妊娠が確認された雌動物数
雄の場合は雌を妊娠させた雌動物数

出 産 率 = (生存児を出産した妊娠動物数 / 妊娠動物数) × 100

生 産 児 率 = (生産児数 / 総産児数) × 100

産 児 生 存 率 = (生後 4 日の生存児数 / 生産児数) × 100

離 乳 率 = (生後 21 日の生存児数 / 生後 4 日の選抜後の生児数) × 100

累 積 生 存 率 = [(離乳率 × 生後 4 日の生存児数) / 総産児数] × 100

妊 娠 期 間 = 交尾確認日から分娩完了日までの日数

病理学的検査；交尾能力確認用雌を除く P 世代及び F₁ 世代の全動物について、肉眼的病理検査を行った。下垂体、精巣及び卵巣重量を測定した。以下の臓器を摘出し、固定保存した後に対照群及び高用量群の全例及び交尾の成立しなかった動物について、病理組織学的検査を行った。

雄 = 下垂体、精巣、精巣上部、精嚢、前立腺、凝固腺、肉眼的病変部

雌 = 下垂体、膈、子宮、卵巣、肉眼的病変部

【児動物】

一般状態及び死亡；出生直後及び生後 21 日の離乳時まで毎日、同腹児数、性比を記録するとともに一般状態の変化を毎日観察した。また、死亡、瀕死の有無を毎日観察した。

体重変化；雄は試験期間を通じて週 1 回の割合で体重を測定した。雌は生後 4、7、14、21 日に測定した。次世代として選抜された児動物は交配まで週 1 回の頻度で測定した。

身体の発育程度の観察；新生児について、次の指標を検査した。

耳介展開 = 生後 3 日における耳介展開動物の割合

正向反射 = 生後 5 日に正向反射を示す動物の割合

耳介反射 = 生後 15 日に耳介反射を示す動物の割合

眼瞼開裂 = 生後 15 日における眼瞼開裂動物の割合

瞳孔反射 = 生後 21 日に瞳孔反射を示す動物の割合

病理学的検査；すべての死亡、切迫屠殺児について肉眼的病理検査を行った。また、生後 4 日の間引き児、F₁ 世代選抜後の余剰児についても肉眼的病理検査を行った。

試験結果： 各群各世代の親及び児動物の結果を次頁以降に表示する。また、体重、摂餌量及び検体設定濃度に基づいて算出した検体摂取量を次表に示す。

検体摂取量 (mg/kg/day)		100 ppm 群		400 ppm 群		1600 ppm 群	
		平均#	変動範囲	平均#	変動範囲	平均#	変動範囲
P 雄	交配前	7.9	5.9~12.0	30.5	22.8~47.4	128.4	95.7~209.9
	交配後	4.8	4.8~4.9	19.1	18.8~19.6	80.3	79.1~82.5
	平均	7.2		28.1		118.1	
F ₁ 雄	交配前	8.1	5.7~13.1	32.9	22.2~55.1	132.4	92.2~209.1
	交配後	4.5	4.4~4.6	18.2	18.0~18.5	75.5	74.2~77.0
	平均	7.4		30.0		120.2	
雄の平均		7.3		29.1		119.2	
P 雌	交配前	10.0	7.5~13.6	41.5	30.5~56.3	163.9	118.1~240.2
	妊娠	6.9	6.4~7.4	27.9	25.8~29.2	113.3	108.5~118.3
	哺育	12.8	9.9~15.7	60.0	39.4~62.5	201.3	161.4~241.1
	平均	9.8		40.0		157.8	
F ₁ 雌	交配前	9.4	7.4~13.0	38.9	29.3~54.5	149.8	114.4~209.7
	妊娠	6.7	6.3~7.0	26.6	25.2~27.8	102.2	99.8~104.8
	哺育	12.4	9.9~14.8	50.7	41.8~59.2	193.9	151.8~236.0
	平均	9.3		38.1		146.4	
雌の平均		9.6		39.1		152.1	

#: 申請者が算出

【親動物への影響】

P 及び F₁ の両世代の雌雄ともに検体投与に関連する死亡、一般状態の変化及び体重への影響はみられなかった。P 世代の雌の妊娠期間において、400 及び 1600 ppm 群に体重の有意な低値が妊娠 7 及び 14 日にみられた。また、哺育 0 日では 400 ppm 群で低体重がみられた。しかし、それらの変動には用量依存性が乏しく、妊娠 20 日及び哺育 0 日以外の哺育期間では各群の体重が同程度であることから、上記の低値は検体投与に関連する変化ではないと考えられた。交尾率、妊娠率、妊娠期間及び出産にも検体投与の影響は認められなかった。精巣の対体重比の低値が F₁ 世代の 400 及び 1600 ppm 群にみられたが、用量依存性に乏しい変化であり、最終体重の変動に関連した変化と考えられた。1600 ppm 群において、両世代で卵巣重量の低下がみられたが、病理組織学的検査で異常が認められず、繁殖能力にも変化が認められなかったため、毒性学的な意義に乏しい変化と考えられた。交尾不成立動物及び対照群と高用量群の下垂体及び生殖器の病理組織学的検査について、両世代で検体投与による変化は観察されなかった。

【児動物への影響】

F₁ 及び F₂ 児の平均産児数及び性比には検体投与の影響はみられなかった。また、離乳時までの生存率にも影響はなく、検体投与に関連した一般状態の変化も観察されなかった。F₁ 及び F₂ 児とも出生時の体重には影響がみられなかったが、その後 1600 ppm 群の F₁ 及び F₂ 児ともに体重増加抑制がみられ、特に F₂ 児であきらかであった。1600 ppm 群の F₁ 及び F₂ 児において眼瞼開裂の遅延が観察され、特に F₂ 児で顕著であった。これらの変化は低体重に関連していると考えられた。肉眼的病理検査において検体投与に関連した変化は観察されなかった。

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 カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

以上、有機銅原体をラットに2世代にわたって飼料中に混入して投与した場合、1600ppm群の児動物に体重の増加抑制及び眼瞼開裂の遅延が認められた。一方、親動物に対して一般毒性学的影響ならびに繁殖機能に対する影響はみられなかった。従って、無毒性量は400ppm (62.5mg/kg/日) であると判断される#。

#:申請者注:申請者は親動物に対する無毒性量はP及びF₁世代ともに1600ppm (P世代 雄118.1 mg/kg/日 雌157.8 mg/kg/日、F₁世代 雄120.2 mg/kg/日 雌146.4 mg/kg/日)、児動物に対する無毒性量はF₁及びF₂世代ともに400ppm (F₁世代 雄28.1 mg/kg/日 雌40.0 mg/kg/日、F₂世代 雄30.0 mg/kg/日 雌38.1 mg/kg/日) であると考える。

結果概要表(1/2)

世代		親 : P				児 : F ₁					
投与量 (ppm)		0 (対照)		100		400		1600			
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌		
供試動物数		25	25	25	25	25	25	25	25		
死亡動物数		0	1	0	0	0	0	0	0		
一般状態の変化		検体投与に関連する異常なし									
親動物	体重 (g)	1週	212	157	211	157	211	155	207	157	
		5週	387	242	392	239	389	234	376	235	
		11週	482	295	497	287	482	283	470	280	
		18週	548		568		557		539		
	妊娠	0週		308		298		293		289	
		7週		336		324		317**		317**	
		14週		370		357		349**		353*	
		20週		437		429		425		440	
		哺育	0週		320		318		299**		330
			7週		348		338		331		346
			14週		358		351		341		356
	21週		348		345		340		345		
	摂餌量	1週	28.6	23.6	28.6	23.2	28.2	23.5	30.7	25.3	
		5週	30.8	24.1	30.9	23.3	29.4	24.4	30.3	24.1	
11週		29.3	22.9	29.6	22.9	28.3	22.2	28.4	21.6		
17週		26.9		27.3		26.1		26.4			
妊娠 0~7日			23.2		23.0		22.1		22.4		
妊娠 7~14日			25.0		23.7		23.9		23.7		
妊娠 14~20日			25.5		25.2		25.1		26.9		
哺育 0~7日			33.0		32.6		31.0		34.1		
哺育 7~14日			53.5		54.0		52.2		52.9		
交配動物数		25	25	25	25	25	25	25	25		
交尾動物数 (%) #	25 (100)	25 (100)	25 (100)	24 (96)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	24 (96)			
交配期間	1.5		1.3		1.4		1.1				
妊娠動物数 (%)	25 (100)	25 (100)	23 (92)	20 (83)	25 (100)	23 (92)	25 (100)	24 (100)			
分娩動物数 (%)	24 (96)		20 (100)		23 (100)		24 (100)				
妊娠期間 (日)	22.0		22.1		22.0		21.8				
臓器重量 対体重比	最終体重 (g)	539	342	562	337	548	330	534	333		
	下垂体 (g/kg)	0.027	0.050	0.028	0.053	0.029	0.050	0.027	0.050		
	精巣/卵巣 (g/kg)	7.47	0.424	7.19	0.420	7.53	0.438	7.64	0.409		
肉眼的病理検査	検体投与に関連する異常なし										
病理組織学的検査	検体投与に関連する異常なし										
児動物	平均産児数	14.0		13.9		14.8		14.3			
	生産児率	88.0		84.8		91.1		98.8			
	産児生存率	82.3		91.3		81.4		95.2			
	雌乳率	96.7		94.4		96.4		99.5			
	累積生存率	75.6		74.5		75.2		93.6			
	性比 (雄/雌)	0.85		0.89		0.79		1.13			
	体重 (g)	生後 0日	6.0	5.7	6.2	6.0	6.1	5.7	6.5	6.2*	
		生後 4日	9.4	9.0	9.6	9.3	9.0	8.5	9.6	9.3	
		生後 7日	15.4	14.6	15.6	15.0	15.0	14.3	15.8	15.3	
		生後 14日	32.7	31.5	32.7	31.3	31.2	30.4	31.8	31.1	
		生後 21日	56.5	53.6	57.4	54.9	54.9	53.2	53.9	51.8	
体重増加量 (g)	生後 0~21日	50.4	47.8	51.1	48.8	48.7	47.4	47.4	45.7		
機能発達	耳介展開	92.1		93.3		91.6		82.6			
	正向反射	87.4		72.8		76.2		67.9			
	耳介反射	97.1		96.2		95.0		94.2			
	眼瞼開裂	82.3		89.6		87.7		69.9			
	瞳孔反射	98.2		100		98.0		98.4			
肉眼的病理検査	検体投与に関連する異常なし										

* : p<0.05. ** : p<0.01 (Student の t 検定)

: 雌雄とも再交配の成績を含む

S : 交配期間中に 1 例死亡

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

結果概要表(2/2)

世 代		親 : F ₁				児 : F ₂				
投与量 (ppm)		0 (対照)		100		400		1600		
性 別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
親 動 物	供 試 動 物 数	25	25	25	25	25	25	25	25	
	死 亡 動 物 数	0	1	0	1	0	1	0	0	
	一 般 状 態 の 変 化		検体投与に関連する異常なし							
	体 重 (g)	1 週	128	110	122	115	125	113	123	113
		5 週	344	222	331	221	332	217	331	221
		11 週	478	282	463	273	460	268	455	278
		18 週	543		529		524		519	
		妊 娠 0 週		299		290		283		287
		妊 娠 7 週		324		314		306		309
		妊 娠 14 週		352		343		333		335
		妊 娠 20 週		434		408		407		408
		哺 育 0 週		307		296		294		301
		哺 育 7 週		334		323		326		320
		哺 育 14 週		344		341		335		328
		哺 育 21 週		329		324		322		321
	摂 餌 量	1 週	20.2	17.4	19.5	17.6	21.0	18.0	19.6	17.3
		5 週	28.3	21.2	27.4	20.9	27.2	21.4	27.3	20.7
		11 週	27.1	20.9	26.7	20.4	25.9	19.9	26.6	20.1
		17 週	23.9		24.2		23.6		24.3	
		妊 娠 0~7 日		20.7		21.0		19.9		19.0**
妊 娠 7~14 日			23.0		22.8		22.2		21.1**	
妊 娠 14~20 日			24.2		23.8		23.3		23.2	
哺 育 0~7 日			31.8		30.6		32.4		29.5	
哺 育 7~14 日		47.9		49.2		49.2		47.8		
交 配 動 物 数		25	25	25	25 S	25	25	25	25	
交尾動物数 (%) #		25 (100)	25 (100)	24 (96)	22 (88)	24 (96)	25 (100)	24 (96)	24 (96)	
交 配 期 間		1.2		1.3		1.2		1.2		
妊 娠 動 物 数 (%)		25 (100)	25 (100)	24 (100)	21 (95)	24 (100)	25 (100)	24 (100)	24 (100)	
分 娩 動 物 数 (%)		24 (96)		21 (100)		24 (96)		23 (96)		
妊 娠 期 間 (日)		22.1		22.0		22.0		21.8		
臓器重量 対体重比	最終体重 (g)	543	322	535	318	524	315	519	321	
	下垂体 (g/kg)	0.027	0.046	0.026	0.049	0.029	0.047	0.029	0.047	
	精巣/卵巣 (g/kg)	7.34	0.444	7.60	0.458	8.03**	0.452	7.88*	0.395**	
肉眼的病理検査		検体投与に関連する異常なし								
病理組織学的検査		検体投与に関連する異常なし								
児 動 物	平 均 産 児 数		13.8		13.2		13.5		13.3	
	生 産 児 率		93.4		93.3		94.8		98.3	
	産 児 生 存 率		86.9		86.9		88.8		97.2	
	離 乳 率		100		88.7		98.0		98.4	
	累 積 生 存 率		83.7		83.7		95.3		94.0	
	性 比 (雄/雌)		0.79		1.04		0.98		1.00	
	体 重 (g)	生後 0 日	6.2	5.8	6.0	5.7	6.1	5.8	6.3	6.0
		生後 4 日	9.8	9.5	9.4	8.9	9.9	9.5	9.8	9.4
		生後 7 日	15.9	14.1	15.1	15.6	16.3	15.4	15.4	14.7
		生後 14 日	32.6	32.0	32.2	30.7	33.0	31.9	30.6*	29.5*
		生後 21 日	56.8	55.6	56.5	53.8	57.6	55.0	51.9**	50.1**
	体重増加量(g)	生後 0~21 日	50.5	48.9	50.4	47.9	51.4	49.0	45.6++	44.1++
機 能 発 達	耳介展開	84.5		74.9		91.5		83.6		
	正向反射	95.8		97.4		96.7		97.3		
	耳介反射	91.7		97.3		93.3		96.1		
	眼瞼開裂	91.7		85.9		92.6		71.4**		
	瞳孔反射	100		98.6		97.3		98.4		
肉眼的病理検査		検体投与に関連する異常なし								

*: p<0.05. **: p<0.01 (Student の t 検定), ++: p<0.01 (Dunn の多重比較検定)

#: 雌雄とも再交配の成績を含む

S: 交配期間中に 1 例死亡

②ラットを用いた飼料混入投与による2世代繁殖毒性試験

(資料 T-28)

試験機関：
報告書作成年：1975年

検体純度：

供試動物：SD系ラット、1群雌雄各25匹、体重 雄110～129g、雌76～107g

投与期間：P世代；投与開始からF₁b児の離乳時まで

F₁世代；F₁児離乳時からF₂b児の離乳時まで

(1973年9月11日～1975年2月11日)

投与方法：検体を20、100及び500ppm含有した飼料を自由に摂取させた。

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。

一般状況、体重、摂餌量及び死亡率；一般状況及び生死をP世代では試験前、4、9及び13週時に、F₁世代では試験前（離乳時）、4及び9週時に観察した。

検体摂取量；P世代及びF₁世代の交配前期間における体重、摂餌量及び飼料中の検体濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量は下表のとおりであった。

投与量 (ppm)		20	100	500	
検体摂取量 (mg/kg/日)	P	雄	1.59	6.49	33.18
		雌	1.54	7.73	38.19
	F ₁	雄	1.44	6.84	34.36
		雌	1.62	8.07	39.92

(申請者が計算)

交配及び交尾・妊娠の確認；交配は同群の雌雄を1対1で同居させ、腔スミアー中に精子の確認された日を妊娠0日とした。7日間の同居期間中に交尾が成立しなかった場合には、他の同群の雄と交換した。交配は最長3週間行った。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、出産時期及び生後の児動物の観察に基づき、次の指標を算出した。

妊 娠 率 = (妊娠した雌動物数 / 交配に用いた雌動物数) × 100

出 産 率 = (生存児を出産した母動物数 / 妊娠動物数) × 100

哺育期間中の母動物の生存率 = (離乳時の生存母動物数 / 生存児を出産した母動物数)

産 児 生 存 率 = (生後4日の生存児数 / 生産児数) × 100

離 乳 率 = (生後21日の生存児数 / 生後4日の選抜後の生児数) × 100

性 比 = (雄児 / 雌児) × 100

児動物の肉眼的病理検査；F₁b及びF₂b児動物を対象にして、腎臓、肝臓、肺及び胃について肉眼的病理検査を行った。

試験方法の概要

世代	期間 (週)	作業手順	試験項目
P	生育 (13 週)		体重、摂餌量を 4、9 及び 13 週時に測定 交配状況の観察。
	1 回目交配 (3 週)	雌雄 1 対 1 で交配 交尾は膣垢中の精子の有無で確認 (妊娠 0 日)	交配終了時、雄を雌より離し、群別に飼育。
	妊娠 (3 週)		
	出産-----	-----	出産状況の観察 (出産児 : F _{1a} 児)
	哺育 (3 週)	生後 24 時間の測定後に各同腹児数を雌雄各 4 匹に調整 (不可能な場合、雌雄合計 8 匹)	生存産児数、死産児数、性比、生存産児体重及び外表異常を生後 24 時間に測定。
F ₁	F _{1a} 児離乳-----	母動物を別のケージに移す。	同腹児の一般状態及び生死を週 2~3 回観察。 児動物数、児動物体重を測定。 児動物を 1 週間飼育し、発育状況を検査後、屠殺廃棄。
	生育 2 回目交配 (3 週)	(1 回目交配に準ずる)	(1 回目交配に準ずる)
	妊娠 (3 週)		妊娠 19 日に母動物の 5 匹を帝王切開し、催奇形性を検査。
	出産-----	-----	残りの母動物出産 (出産児 : F _{1b} 児)。出産状況の観察 (F _{1a} 児に準ずる)
	哺育 (3 週)	(F _{1a} に準ずる) 継代用の各群雌雄 25 匹ずつ 15 腹から無作為に選抜	(F _{1a} 児に準ずる) 親動物屠殺廃棄。 20 腹の児動物について F _{1a} 児と同様発育検査。 5 腹の児動物を 5 週間飼育し、発育検査後屠殺。 児動物の 1/3 について内臓検査。残りを屠殺廃棄。
	生育 (9 週)		体重、摂餌量を 4 及び 9 週時に測定。
	1 回目交配 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)		(F _{1a} 児に準ずる)
	出産-----	-----	(F _{1a} 児に準ずる) (出産児 : F _{2a} 児)
	哺育 (3 週)	(F _{1a} に準ずる)	(F _{1a} に準ずる)
F ₂	離乳-----	(F _{1a} に準ずる) -----	(F _{1a} に準ずる)
	生育 2 回目交配 (3 週)	交配後母動物数を各群 20 匹に調整	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)		妊娠 19 日に母動物 10 匹を帝王切開し、催奇形性の検査。
	出産-----	-----	(F _{1b} に準ずる) (出産児 : F _{2b} 児)
	哺育 (3 週)	(F _{1a} に準ずる)	(F _{1b} に準ずる) 親動物屠殺廃棄。 児動物は離乳後 3 カ月間飼育し、発育状況、外表及び内臓異常の検査。
	F _{2b} 離乳		

試験結果：

世 代		親：P 児：F1				親：F1 児：F2				
投与量 (ppm)		0 (対照)	20	100	500	0 (対照)	20	100	500	
親 動 物	動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	
		雌	25	25	25	25	25	25	25	
	一般状態									
	死亡率 (%)		0	0	0	0	0	0	0	
	生育期間中の 体重増加量 (g)	雄	350	359	358	375	280	290	281	305
		雌	174	176	176	166	136	144	129	141
	生育期間中の平均摂餌量 (g/匹/週)	雄	170	176	173	181	188	198	184	192
		雌	125	126	126	121	146	142	139	138
	妊娠率 (%)	a	100	96.0	100	100	88.0	96.0	96.0	96.0
		b	96.0	92.0	96.0	96.0	100	100	100	100
出産率 (%)	a	100	100	100	100	100	100	95.8	100	
	b	100	10	100	100	100	100	100	100	
哺育期間中の生存率 (%)	a	100	100	100	100	100	100	100	100	
	b	100	100	100	100	100	100	100	100	
児 動 物	生存産児数	a	296	279	294	315	254	282	291	269
		b	264	221	236	243	134	106	141	121
	生存産児率 (%)	a	100	98.9	100	100	98.8	97.6	97.7	100
		b	100	100	100	98.8	95.0	99.1	100	98.4
	出生時の性比 (雄%)	a	93.5	93.0	107.0	129.9	93.9	102.9	96.6	111.8
		b	103.1	85.7	80.2	99.2	81.1	107.8	95.8	120.0
	離乳時生存率 (%)	a	98.5	99.5	99.5	98.0	98.8	94.6	85.1	97.8
		b	87.5	90.4	93.8	92.0	97.5	98.6	97.5	90.0
	離乳時の性比 (雄%)	a	93.5	93.0	107.0	129.9	88.9	113.4	98.9	97.8
		b	103.1	85.7	98.6	80.2	108.1	92.1	105.3	100.0
生存児の 生時体重 (g)	a	雄	6.6	7.1	6.8	6.8	6.5	6.0	6.1	6.1
		雌	6.6	6.9	6.5	6.5	6.2	5.7	5.9	5.8
	b	雄	6.6	7.6	6.5	6.5	6.2	6.6	5.8	6.3
		雌	6.1	5.9	6.1	6.0	5.9	6.4	5.6	5.8
生存児の 離乳時体重 (g)	a	雄	50.9	49.6	46.6	44.4	48.2	47.8	47.1	46.8
		雌	49.6	48.9	44.7	42.3	46.9	43.8	43.2	43.2
	b	雄	50.3	52.6	49.4	50.3	45.8	48.3	43.8	47.3
		雌	47.2	48.1	47.2	48.1	41.3	45.2	42.2	46.2
主 な 肉 眼 的 病 理 所 見	腎皮質緑色化						3	1		
	腎髄質暗赤色化						1			
	腎盂拡張								2	
	肝小葉肥厚/辺縁部の鈍化								3	
	肺暗赤色化/硬化						1		1	
	肺のう胞								4	
	肺多灰色巣								5	
	胃壁肥厚								3	9

空欄は異常なしを意味する。

(統計処理は未実施)

a：一次交配・妊娠時の成績、b：二次交配・妊娠時の成績

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

親動物の繁殖能力及び児動物の発育及び生存率に、各世代、各交配で変化がみられず、検体投与による影響はないと考えられる。児動物の肉眼的病理検査では、F₁b 児動物に異常は認められなかった。F₂b 児動物では種々の変化が対照群を含め観察されたが、用量相関性が認められず検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

申請者注：F₂b 児の肉眼的病理検査において、肺ののう胞、多灰色巣及び胃壁肥厚は、対照群及び20 ppm 群には認められず、高用量の500 ppm 群に（胃壁肥厚は中用量100ppmにも）認められることから、検体投与との関連が疑われる。しかし、より高い用量の1600 ppm まで投与した繁殖毒性試験（資料 T-27）の児動物において同様の肉眼的病理変化が観察されていないことから、本試験でみられた肺ののう胞、多灰色巣及び胃壁肥厚は検体投与と関係のない変化と考えた。その他、腎皮質緑色化等の種々の変化が観察されたが、対照群で観察された変化であったり、用量相関性が認められない変化であることから検体投与に起因する変化とは考えられない。

以上、2 世代にわたって有機銅原体を飼料中に混入してラットに投与した結果、500 ppm 群においても、繁殖への影響を含め何ら影響が認められなかった。従って、無毒性量は親動物及び児動物ともに500 ppm（親動物及び児動物ともに、P 世代 雄33.18 mg/kg/日 雌38.19 mg/kg/日、F₁ 世代 雄34.36 mg/kg/日 雌39.92 mg/kg/日）であると判断される。

2) 催奇形性

①ラットを用いた催奇形性試験

(資料 T-29)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体純度:

供試動物: OFA-SD (IOPS)系妊娠ラット (11~12 週齢)、体重 218 g~271 g、1 群 24 匹

投与期間: 妊娠 6~15 日の 10 日間 (投与開始 1989 年 11 月 20 日、最終剖検 1989 年 12 月 6 日)

投与方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液で懸濁し、10、50 及び 150 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、投与容量 10mL/kg で毎日一回強制経口投与した。対照群には 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。なお、交配期間中毎朝、膣スメア中の精子の有無を検査し、精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠:

観察・検査項目:

親動物; 一般状態、生死の観察を毎日実施した。体重は、投与期間中毎日及び妊娠 0 日、20 日に、摂餌量は妊娠 0~6、6~11、11~15 及び 15~20 日の期間毎に測定した。

妊娠 20 日に帝王切開し、子宮重量、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、肉眼的病理検査も実施した。

生存胎児; 体重を測定し、性別、外表異常及び内臓異常の検査を行なった。各同腹児の約 1/2 は、アリザリンレッド S 染色法により骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。なお、胎児の生存性や生育を損なう又は損なう可能性のある先天異常を「重度の異常」、その他は「軽度の異常」とした。妊娠 20 日の胎児に通常観察される化骨度のバラツキは「変異」とした。変異、軽度の異常、重度の異常を示した胎児それぞれについて、1 腹毎に平均値を算出した。外表/内臓の両方及び骨格で 1 つ又は 1 つ以上の軽度の異常、又は 1 つ又は 1 つ以上の重度の異常を示した胎児について、1 腹毎の平均値を算出した。群の平均値は 1 腹毎の平均値から算出した。

結果表 (1/2) : 母動物

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)	10	50	150	
1 群当り交尾確認雌数	24	24	24	24	
妊娠動物数	22	23	23	24	
死亡数	0	0	0	2	
一般状態	異常なし	異常なし	異常なし	活動性低下等 (死亡例)	
体重(g)	妊娠 0 日	245	244	245	245
	妊娠 6 日	273	272	273	273
	妊娠 8 日	279	280	282	272*
	妊娠 15 日	324	326	328	321
	妊娠 20 日	396	397	402	397
摂餌量 (g/匹/日)	妊娠 0~6 日	21.8	22.1	22.2	22.3
	妊娠 6~11 日	24.3	24.3	24.8	20.3***
	妊娠 11~15 日	26.7	27.7	27.5	26.3
	妊娠 15~20 日	27.4	27.7	28.2	28.8
妊娠数 (率)	22 (92%)	23 (96%)	23 (96%)	24 (100%)	
肉眼的病理検査	異常なし	異常なし	異常なし	胃拡張等 (死亡例)	
着床 所見	検査動物数	22	23	23	22
	黄体数	16.4	16.1	17.5	16.7
	着床数 (率)	13.9 (85%)	14.1 (88%)	14.1 (88%)	14.5 (87%)
	生存胎児数 (率)	13.5 (97%)	13.7 (97%)	13.9 (99%)	13.9 (96%)
	着床前死亡率 ²⁾	13.2%	12.0%	18.3%	11.4%
	着床後死亡率 ³⁾	2.7%	3.0%	1.8%	4.2%
	子宮重量 (g)	88.1	89.5	91.0	90.1

1) 1 腹当りの平均数として表示。

2) 着床前死亡率 = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] × 100

3) 着床後死亡率 = [(着床数 - 生存胎児数) / 着床数] × 100

* : p<0.05, ***: p<0.001 (Student t-検定)

結果表 (2/2) : 胎児動物

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)	10	50	150
体重(g) 雄/雌	3.97 / 3.75	3.99 / 3.80	3.98 / 3.83	4.02 / 3.85
性比 (雄/雌)	1.00	0.92	0.92	0.96
外表及び内臓異常				
検査腹数/胎児数	22/297	23/314	23/319	22/306
重度の異常				
平均発生率(%)	0.4	0.3	0.3	0
臍帯ヘルニア(%)	0.4	0	0	0
一側性腎転位(%)	0	0.3	0	0
重複異常(%)	0	0	0.3 ¹⁾	0
軽度の異常				
平均発生率(%)	48.9	48.8	46.6	49.3
腎盂拡張(%)	46.2	45.4	41.7	41.2
尿管拡張(%)	23.4	23.5	29.0	23.8
骨格異常				
検査腹数/胎児数	22/149	23/157	23/160	22/153
重度異常				
平均発生率(%)	0	0.6	0.6	0
重複胸椎(%)	0	0.6	0	0
重複異常(%)	0	0	0.6 ¹⁾	0
軽度の異常、変異				
平均発生率(%)	24.3	17.8	17.4	20.5
前肢指化骨(%) ²⁾	24.0	41.2	43.1 #	45.6 ##
頭頂骨化骨遅延(%)	26.8	25.5	21.1	18.9
胸椎骨化骨遅延(%)	15.4	9.1	8.5	9.0

#: p<0.05, ##: p<0.01 (Kruskal-Wallis 順位和検定)

¹⁾ 同一胎児に次の異常が重複した。外形及び内臓異常として、頭蓋脊椎裂、小眼球症、舌突出、動脈弓断裂、胃壁破裂、腫大・球状の腎、後肢の異常捻転が観察され、骨格異常として、後頭骨、頭頂骨間、頭頂骨、前頭骨、鼻骨、上顎骨の化骨不全、頸椎椎弓の癒合、化骨不全及び変形、頸椎、胸椎、腰椎、仙椎の二分裂、重複胸椎、上腕骨の短縮及び変形、前肢の頭骨及び尺骨の変形及び化骨遅延が観察された。

²⁾ 前肢の指骨が1箇所以上化骨した胎児。

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

母動物の 150 mg/kg 群において、投与期間前半で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。同群において、妊娠 8 日及び 9 日にそれぞれ 1 例の母動物が状態悪化のため切迫屠殺された。これらの切迫屠殺例では、死亡前に活動性減少、円背位、毛づくろい消失、立毛、削瘦、軟便、水様便、流涎過多、呼吸困難、眼瞼下垂、口及び鼻周囲に褐色汚れ、嗜眠及び低体温を示し、剖検所見では、胃拡張、黄色液貯溜、腺胃部粘膜に白色顆粒の付着、食道粘膜の潰瘍、盲腸出血、暗赤色液体貯溜、小腸の拡張、黄/緑色液貯溜が認められた。生存例には、一般状態及び剖検所見に検体投与の影響は認められなかった。また、他の投与群には検体投与の影響は認められなかった。

胎児動物の検査では、50 及び 150 mg/kg 群で前肢の指骨が 1 箇所以上化骨した胎児数の増加が認められたが（それぞれの発生率は 43.1%、45.6%）、他の化骨指標に同様な化骨が進行しているような傾向が認められず、用量相関性もやや乏しく、且つ背景データ（9.4~51.0%）の範囲内の変動であることから、検体投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果より、有機銅原体を妊娠ラットに投与したときの影響として、150 mg/kg 群で母動物の死亡、体重及び摂餌量の低値が認められ、死亡例では種々の毒性症状及び肉眼的病理変化が認められた。従って、母体及び胎児における無毒性量はそれぞれ 50 および 150 mg/kg/日と判断された。また、最高投与量の 150 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

②ラットを用いた催奇形性試験

(資料 T-28)

試験機関：

報告書作成年：1975年

検体純度：

供試動物及び方法：資料 T-28 の「ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験」で実施された催奇形性評価を抜粋して記載する。検体を 0、20、100、500 ppm の濃度で飼料に混入させ、2 世代にわたり SD 系雌雄ラットに投与した。P 世代親動物は交配前 13 週間、F₁ 世代には同 9 週間投与後に交配し、得られた妊娠雌に引き続き投与し妊娠 19 日に帝王切開して子宮内の諸検査を行った。交配期間中、膈垢中にはじめて精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

観察・検査項目：

親動物；一般状態、生死、体重、摂餌量を P 世代では 4、9 及び 13 週目に、F₁ 世代では 4 及び 9 週目に測定した。妊娠 19 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重、体長及び外表異常の観察を行った。各同腹児の 1/3 については開腹し内臓観察を行ったのち 95%エタノールで固定した。その後、アリザリンレッド S 染色法による骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。残りの胎児についてはブアン液に固定保存した。申請者注：原報に腹単位の胎児データが掲載されていないことから、次頁の結果表に腹単位の数値を記載できなかった。

結果：概要を次頁に表示する。

母動物の着床所見及び児動物の検査結果から、各投与群に対照群と比べて変化が認められず、検体投与に起因する影響は認められなかった。母動物の検体摂取量は次表の通りであった。

投与量 (ppm)		20	100	500
検体摂取量 (mg/kg/日)	P 雌	1.54	7.73	38.19
	F ₁ 雌	1.62	8.07	39.92

(申請者が算出)

以上、有機銅原体を生育期間から交配・妊娠期間にわたってラットに投与したとき影響は認められなかった。従って、母体及び胎児における無毒性量は、母体及び胎児とも 500 ppm (P 雌 38.19 mg/kg/日、F₁ 雌 39.92 mg/kg/日) と判断された。また、最高投与量の 500 ppm でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

世代 (胎児の世代)		P (F ₁ b)				F ₁ b (F ₂ b)				
投与量 (ppm)		0 (対照)	20	100	500	0 (対照)	20	100	500	
1 群当り動物数		5	5	5	5	10	10	10	10	
親動物	一般状態	検体投与による異常なし								
	死亡率	0	0	0	0	0	0	0	0	
	着床所見	黄体数	19.4	21.6	17.4	20.4	19.8	19.6	20.9	19.3
		着床数	13.2	16.2	12.6	15.0	12.4	12.5	13.8	13.6
		着床率(%) ¹⁾	68.0	75.0	72.4	73.5	62.6	63.8	66.0	70.5
		吸収胚数	0.2	0.8	1.8	0.8	2.6	1.2	0.8	1.4
		吸収胚率(%) ²⁾	1.5	4.9	14.3	5.3	21.0	9.6	5.8	10.3
		死亡胎児数	0	0	0	0.2*	0	0	0	0
		生存胎児数	13.0	15.4	10.8	14.0	9.8	11.3	13.0	12.2
		胎児生存率(%) ³⁾	98.5	95.1	85.7	93.3	79.0	90.4	94.2	89.7
		雄胎児数(生存+死亡)	6.0	7.8	3.8	8.6	5.2	5.7	4.9	6.1
		雌胎児数(生存+死亡)	7.0	7.6	7.0	5.4	4.6	5.6	8.1	6.1
	胎児動物	体重 (g)	2.23	2.19	2.31	2.29	2.25	2.27	2.02	2.45
		体長 (頭殿長) (cm)	3.25	3.15	3.18	3.25	3.15	3.11	3.00	3.29
性比 (雄/雌×100)		85.7	102.6	54.3	159.3	113.0	101.8	60.5	100.0	
骨格検査		検査児数	21	22	16	21	31	42	40	43
		頭頂骨未化骨	0	0	0	0	3	4	0	0
		頭頂間骨未化骨	0	0	0	0	1	0	1	0
		後頭骨未化骨	1	2	0	0	0	9	1	0
		第1 胸骨未化骨	1	3	1	2	8	7	15	3
		第2 胸骨未化骨	10	14	7	8	22	11	30	17
		第3 胸骨未化骨	0	3	0	2	5	7	16	1
		第4 胸骨未化骨	4	7	0	6	13	12	26	4
		第1~6 胸骨化骨遅延	6	4	5	7	5	11	5	4
		胸椎未化骨	9	4	6	9	5	20	25	0
		仙椎未化骨	5	1	1	3	5	19	14	2
		仙椎弓未化骨	2	7	2	10	19	14	23	12
		恥骨未化骨	6	3	5	9	9	8	14	0
		第5~10 前中手骨未化骨	0	3	0	2	4	6	14	1
		第1~2 前中手骨未化骨	6	3	6	3	3	12	7	11
		第14 肋骨	1	0	0	1	2	0	1	0
		頭頂骨奇形	0	0	1	0	6	2	0	0
頭頂間骨奇形	0	0	2	0	1	13	0	0		
胸骨分枝	1	2	0	1	1	0	0	1		

(統計処理は未実施)

1): 着床率(%)=[着床数/黄体数] × 100

2): 胚吸収率(%)=[胚吸収数/着床数] × 100

3): 胎児生存率(%)=[生存胎児数/着床数] × 100

*: 1 死亡胎児は小型で性別不明であった。

③ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 T-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ 1群 18 匹、妊娠 0 日の平均体重 3.5 kg

投与期間：妊娠 6～18 日の 13 日間 (1988 年 10 月 31 日～1988 年 11 月 21 日)

投与方法：検体を 1%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁し、0、2、10 及び 50 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間、投与容量 10mL/kg で 1 日 1 回強制経口投与した。対照群には、1%CMC 水溶液のみを投与した。雌動物は自然交尾により受精させ、交尾後黄体ホルモンを投与し排卵を促した。交配日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死は 1 日 2 回観察し、体重は妊娠 0、6、9、12、15、19、24 及び 28 日に測定した。妊娠 28 日に母動物を屠殺、開腹して、黄体数、着床数、吸収胚数 (前期吸収胚数及び後期吸収胚数)、生存及び死亡胎児数を調べた。

生存胎児；全ての生存胎児について、性比を調べ、体重を測定した。外表を観察した後、解剖して内臓異常を調べた。さらに約半数の胎児から頭部を切断し、ブアン固定ののちウイルソンの方法を用いて調べた。全ての胎児について、エタノール固定後、アリザリンレッド S 染色による骨格標本作製し骨格異常を観察した。なお、以下の検査項目については、1 腹当りの値を算出し、その後各群の平均値を求めた。

$$\text{着床前死亡率 (\%)} = [(\text{黄体数} - \text{着床数}) / \text{黄体数}] \times 100$$

$$\text{着床後死亡率 (\%)} = [(\text{黄体数} - \text{生存胎児数}) / \text{着床数}] \times 100$$

$$\text{性 比 (\%)} = [\text{雄胎児数} / \text{総胎児数}] \times 100$$

異常は次のように分類した。

奇形：発生が稀であり、恐らく致死性の変化

変異：対照動物でもしばしば観察され、機能に重篤な影響を及ぼさない変化

結 果：結果概要を次頁に表示する。

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

親動物の結果表

投与量 (mg/kg/日)	0	2	10	50	
交尾確認雌数	18	18	18	18	
一般状態	飲水量の減少 (7例)	飲水量の減少 (9例)	飲水量の減少 (11例)	飲水量の減少 (16例) 下痢 (3例)	
体重増加量 (kg)	妊娠 6~19日 0.29 妊娠 0~28日 0.87	0.27 0.83	0.26 0.72	-0.01** 0.56**	
摂餌量 (g/日)	妊娠 6~19日 208.4 妊娠 0~28日 201.6	221.9 216.4	188.0 190.3	115.1* 156.0*	
妊娠動物数 (%)	16 (88.9)	16 (88.9)	17 (94.4)	16 (88.9)	
死亡動物数	1	2	0	0	
流産	0	0	1	0	
全胚胎児死亡	2	1	3	2	
剖検所見	検体に起因する異常所見なし				
着床所見 (一腹当たり)	検査動物数 ¹⁾	13	13	13	14
	黄体数	11.9	11.8	11.7	12.6
	着床数 (%)	8.0 (89.1)	6.2 (92.2)	7.1 (87.2)	7.2 (91.5)
	着床前死亡率	33.4	47.6	36.0	39.4
	着床後死亡率	10.9	7.8	12.8	8.5
	前期吸収胚 (%)	0.6 (7.5)	0.6 (9.7)	0.7 (9.9)	0.6 (8.3)
	後期吸収胚 (%)	0 (0)	0 (0)	0.2 (2.8)	0.1 (1.4)
	死亡胎児数 (%)	0.2 (2.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	生存胎児数 (%)	7.2 (90)	5.6 (90)	6.2 (87)	6.5 (90)

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Newman-Keuls 検定)

¹⁾ 生存児を有する親動物を検査対象とした。

胎児動物の結果表

投与量 (mg/kg/日)		0	2	10	50
1 群当りの腹数		13	13	13	14
体重 (g)	雄	37.7	41.6	41.4	37.7
	雌	37.4	41.5	38.1	37.7
性比		47.5	50.1	55.5	50.5
外表・内臓検査					
検査胎児数		94/92 ¹⁾	73/73	81/80	91/91
奇形の出現数 (%) ²⁾					
関節拘縮		0	1 (7.7%)	1 (7.7%)	0
脳ヘルニア		0	0	1 (7.7%)	0
開眼		0	0	1 (7.7%)	0
小耳		0	0	1 (7.7%)	0
短指		0	0	1 (7.7%)	0
臍帯ヘルニア		0	0	1 (7.7%)	0
網膜異形成		0	0	2 (7.7%)	1 (7.1%)
無水晶体		0	0	1 (7.7%)	0
眼の出血		0	0	0	1 (7.1%)
無尾		0	0	1 (7.7%)	0
変異の出現数 (%) ²⁾					
側脳室の拡張		3 (23.1%)	1 (7.7%)	2 (15.4%)	1 (7.1%)
頭骨の短縮		1 (7.7%)	0	0	0
骨格検査					
検査胎児数		92	73	80	91
奇形の出現数 (%) ²⁾					
脊柱側弯		2 (15.4%)	1 (7.7%)	4 (30.8%)	0
胸椎肋骨間の過剰肋骨				1 (7.7%)	
変異の出現数 (%) ²⁾					
頸肋		1 (7.7%)	0	0	0
こん棒状肋骨		7 (46.2%)	14 (61.5%)	8 (53.8%)	9 (57.1%)
へら状肋骨		12 (30.8%)	10 (38.5%)	10 (46.2%)	12 (50.0%)
波状肋骨		0	0	1 (7.7%)	0
中足骨未化骨		5 (38.5%)	4 (23.1%)	4 (30.8%)	11 (35.7%)

¹⁾ 左側の数値は外表検査胎児数、右側は内臓検査胎児数を示す。
 対照群の外表検査数の 94 匹には、2 匹の死亡胎児を含めた。

²⁾ 奇形・変異胎児を有する腹単位の出現率(%)を示した。
 (統計処理は未実施)

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 カネシヨウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

対照群の1例、2 mg/kg 群の2例がそれぞれ妊娠13日、19日及び20日に死亡した。これらの死亡は検体投与とは関連がないと考えられた。また、流産が10 mg/kg 群の1例に妊娠28日に観察されたが検体投与とは無関係であった。母動物の飲水量は、対照群を含む全群で減少した。この飲水量の減少は50 mg/kg 群で顕著であり、検体投与に関連すると考えられた。母動物の体重は50 mg/kg 群で有意に抑制され、10 mg/kg 以上の群では、摂餌量も減少した。これらの変化は検体投与に関連すると考えられた。着床前死亡率は、対照群を含み全群で高値を示したが、着床後死亡率及び生存胎児数に影響はみられず、さらに胎児体重や性比も対照群と同等であった。

胎児の外表・内臓及び骨格検査では、種々の変化が多数観察されたが、検体投与に関連する変化はなかった。

以上の結果から、原体を妊娠ウサギに投与した時の母動物及び胎児における無毒性量は、それぞれ2 mg/kg/日及び50 mg/kg/日と判断する*。また、最高投与量の50 mg/kg/日においても催奇形性はないものと判断された。

*申請者注：原報に無毒性量の記述が無かったので、申請者が判断した。

④ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 T-31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987 年

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ（4 カ月齢）、1 群 16 匹

投与期間：妊娠 7～19 日の 13 日間（1986 年 12 月 19 日～1987 年 2 月 5 日）

投与方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）水溶液に懸濁し、0、7、15、30 mg/kg の投与量で妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間、投与容量 2mL/kg で毎日 1 回経口投与した。対照群に 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。なお、雌動物は自然交尾により受精させ、交尾後絨毛性性腺刺激ホルモンを投与し排卵を促した。交配日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、3、7～19、22、25 及び 28 日に体重を測定した。

妊娠 28 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。また、解剖の後、内臓異常の有無を検査後、アリザリンレッド染色による骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

なお、以下の検査項目については、1 腹当りの値を算出し、その後各群の平均値を求めた。

$$\text{着床前死亡率 (\%)} = [(\text{黄体数} - \text{着床数}) / \text{黄体数}] \times 100$$

$$\text{着床後死亡率 (\%)} = [(\text{黄体数} - \text{生存胎児数}) / \text{着床数}] \times 100$$

異常は次のように分類した。

重度の異常：胎児の生存や生育を損なう又は損なう可能性のある先天異常

軽度の異常：重度以外の形態異常

変異：妊娠 28 日の胎児に通常みられる化骨度のバラツキ

結果：結果概要を次頁に表示する。

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

母動物の結果表

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	7	15	30
1 群当り動物数		16	16	16	16
妊娠動物数		16	15	14	16
死亡数		1	1	1	1
一般状態		検体投与に関連する異常なし			
体重増加量 (kg)	妊娠 7~11 日	0.02	0.05	0.03	0.02
	妊娠 11~15 日	0.15	0.13	0.14	0.14
	妊娠 15~19 日	0.02	0.03	0.05	0.01
摂餌量 (g/匹/日)	妊娠 7~11 日	168	176	163	133**
	妊娠 11~15 日	165	172	164	144
	妊娠 15~19 日	148	155	163	154
着床所見	検査動物数	15	14	13	15
	黄体数	12.3	11.2	11.6	12.1
	着床数	9.1	7.6	7.8	9.8
	生存胎児数	7.5	6.6	6.2	8.4
	早期吸収胚率(%)	24.5	30.4	32.7	18.0
	後期吸収胚率(%)	16.6	15.5	19.7	13.2
	性比 (雄 : 雌)	51 : 49	46 : 54	57 : 43	51 : 49
肉眼的病理検査		検体投与に関連する異常なし			

** : p<0.01 (Student t-検定)

胎児動物の結果表

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)	7	15	30
検査腹数	15	14	13	15
体重 (g)				
雄	39.2	40.9	38.8	37.8
雌	38.7	39.9	37.0	37.2
外表及び内臓検査				
検査腹数/胎児数	15/113	14/92	13/81	15/127
軽度異常の出現率 (%)	7.7	2.0	2.7	1.3
軽度異常の種類 (%)				
側脳室の軽度拡張	1.3	1.4	0.9	0
右総頸動脈の起始異常 [#]	3.0	2.0	0.9	0.7
重度異常の出現率 (%)	3.1	4.1	4.5	4.2
重度異常の種類 (%)				
水頭	1.0	0	0	0
口蓋裂	0.7	0	0	0
関節のわん曲	0.7	0	0	1.5
腹壁破裂	0.8	0	0	0
短尾	0	0	0	1.3
骨格検査				
検査腹数/胎児数	15/113	14/92	13/81	15/126
軽度異常の出現率 (%)	31.7	29.6	37.9	28.6
軽度異常の種類 (%)				
第6胸椎化骨遅延	2.7	7.8	3.7	87.2
第5胸椎未化骨	10.8	4.8	9.4	11.1
変異: 第5胸椎化骨遅延 (%)	21.0	13.7	27.6	5.9*
重度異常の出現率 (%)	4.4	3.1	0	0.7
重度異常の種類 (%)				
頸椎椎弓の二分と位置異常	0	1.4	0	0
複数胸椎の半椎、位置異常、癒合	1.3	0	0	0
肋骨の欠損	1.0	0	0	0

*: $p < 0.01$ (Kruskal-Wallis test)

[#]申請者注: 原文では" abnormal left common carotid artery" とあるが、右総頸動脈の起始異常と考えられる。

母動物の投与期間中に合計4例の死亡がみられたが、いずれも投与過誤が原因と考えられた。30 mg/kg 群において、投与期間の摂餌量の減少が認められ、検体投与による変化と考えられた。その他、体重、着床所見及び剖検において、検体投与に関連する変化は観察されなかった。

胎児動物に関して、吸収胚数、同腹胎児数、胎児の体重、胎児の性比、胎児の奇形・変異のいずれについても検体投与の影響は認められなかった。骨格変異として第5胸椎化骨遅延が30 mg/kg 群で有意な低値を示したが問題となる変化とは考えられなかった。

以上、有機銅原体を妊娠ウサギに投与したときの影響として、30 mg/kg 群で摂餌量の低値が認められた。従って、母動物及び胎児における無毒性量は各々15 mg/kg/日及び30 mg/kg/日と判断された。また、最高投与量の30 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

(13) 変異原性

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T-32)

試験機関：

報告書作成年：1977年

検体純度：

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 の 5 菌株) とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *hcr* 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、0.1~10 µg/plate の範囲の 5 濃度で行った。試験は 2 連制で 1 回行った。

結果：結果を次頁以降に表示する。

検体は代謝活性化を含め、投与限界である 10 µg/plate の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2、β-propiolactone、9-aminoacridine、2-nitrofluorene では、明らか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 を加えることにより活性化され、TA 系 5 菌株に明らかな復帰変異を誘起した。

以上の結果より、有機銅原体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断された。

結果表

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 <u>hcr</u>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 1538	TA 98
溶媒対照 (DMSO)		—	14	7	111	6	9	22
検体	0.1	—	17	5	127	7	12	29
	0.5	—	12	14	112	9	12	35
	1	—	17	7	145	6	10	38
	5	—	20	2	92	3	8	7
	10	—	21	*	60	*	*	*
溶媒対照 (DMSO)		+	15	7	123	1	11	24
検体	0.1	+	13	7	98	8	13	41
	0.5	+	10	7	123	5	13	29
	1	+	20	7	111	7	15	26
	5	+	16	7	131	7	12	33
	10	+	9	5	164	8	14	26
陽性対照 2-amino- anthracene	10	—		11	148	18	14	62
	10	+		395	>3000	366	>3000	>3000
陽性対照 #		—	1511 ^{a)}	792 ^{b)}	1406 ^{c)}	>10000 ^{d)}	>3000 ^{e)}	339 ^{f)}

表中の数値は2反復の平均値を示す。

* : 菌株の生育阻止を認める。

: 陽性対照の薬剤名と濃度

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

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

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

b) 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ β -propiolactone

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

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

2) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T-33)

試験機関：

報告書作成年：1978年

目的・経緯：前回の試験（資料 T-32）において、TA 100 株で復帰変異コロニー数の増加傾向がみられたので、確認試験が行われた。

検体純度：

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 100 株) を用い、ラットの肝臓代謝酵素系 (S-9) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体を溶解させるために溶媒は DMSO を用いた。なお、試験は 4 回繰り返して行い、陽性対照としては、2-aminoanthracene (代謝酵素系存在下) 及び AF-2 (代謝酵素系非存在下) を使用した。

結果：結果を次表に示す。

検体処理では S-9 Mix の存在下で復帰変異コロニー数の非常に弱い増加が認められたが、その非存在下では復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate			
			塩基置換型 (TA 100 株)			
			1 回目	2 回目	3 回目	4 回目
溶媒対照 (DMSO)		—	140	124	137	112
検体	1	—	130	128	120	133
	5	—	100	84	118	94
	10	—	81	86	112	88
	20	—	*	40	56	57
	50	—	*	*	62	*
	100	—	*	*	*	*
溶媒対照 (DMSO)		+	130	123	148	97
検体	1	+	130	132	140	114
	5	+	138	130	153	109
	10	+	216	156	186	151
	20	+	188	174	204	189
	50	+	118	140	146	140
	100	+	*	90	50	*
2-amino- anthracene	10	—	180	182	208	156
	10	+	>3000	>3000	>3000	>3000
AF-2	0.05	—	1010	1014	1205	919

*菌株の生育阻止を認めた。表中の数字は 2 反復の平均値を示す。

3) 細菌を用いた復帰突然変異試験 (宿主經由)

(資料 T-32)

試験機関 :

報告書作成年 : 1977 年

検体純度 :

供試動物 : ICR 系雄マウス (7 週齢) 、1 群 5~6 匹

供試菌株 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (G46 株)

方 法 : 予備試験の結果に基づき検体の 1 回当りの投与量を 200 及び 600 mg/kg に設定した。胃ゾンデを用いて 24 時間間隔で 2 回経口投与した。陽性対照群では、DMN (dimethylnitrosoamine) 50 mg/kg を 1 回経口投与した。2 回目の投与直後、対数期の G46 株を腹腔内に注入し、3 時間後に屠殺し、腹腔内菌液を回収し、Ames らの方法で変異原性を検定した。また、G46 株を用いてラットの肝臓代謝酵素系 (S-9) の非存在下で Ames らの方法で復帰変異原性を検定した。

結 果 :

復帰変異試験成績 (G46 株、S-9 非存在下)

濃 度 µg/plate	検 体						陽性対照 β-propiolactone
	0	0.1	0.5	1	5	10	1000
復帰変異 コロニー数/plate	1	2	3	3	4	3	168

表中の数字は 2 反復の平均値を示す。

宿主經由試験成績

投与群	投与量 mg/kg	復帰変異菌数 /mℓ	生存菌数 × 10 ⁸ /mℓ	復帰変異菌数 / 10 ⁸ 生 存菌数 (平均値 ± S.D.)
対照 (5%アラビアゴム)	-	21.5	47.5	0.45 ± 0.19
検 体	200 × 2 回	12.8	30.5	0.42 ± 0.14
	600 × 2 回	22.1	56.8	0.39 ± 0.14
陽性対照 DMN	50	5643	49.5	116 ± 30***

表中の数字は 5~6 反復の平均値を示す。

*** : p < 0.001

G46 株を用いた本検体の *in vitro* における復帰変異性試験の結果は陰性であった。宿主經由試験でも、対照群と比較して有意な差は認められなかった。一方、陽性対照の DMN 投与群では明らかな復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果より、有機銅原体は本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断された。

4) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 T-32)

試験機関：

報告書作成年：1977 年

検体純度：

方 法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、DNA の損傷の誘発性を検定した。検体を溶解させるために溶媒は DMSO を用いた。

結 果：

薬 物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
検 体	1	0	0	0
	2	<1	0	<1
	5	1	0	1
	10	2	<1	
	20	3	1	2
	50	3	1	2
陰性対照 (カナマイシン)	10	6	4	2
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1	12	1	11

検体群では、溶解限界である 50 $\mu\text{g}/\text{disk}$ においても両株に生育阻止の差を認めなかった。
一方、陽性対照のマイトマイシンCでは、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、有機銅原体は本試験条件下において DNA 損傷の誘発性がないものと判断された。

5) チャイニーズハムスターの肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 T-34)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1985 年

検体純度：

方 法：チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺線維芽細胞 (CHL) 株を用い、代謝活性化及び非活性化によって染色体異常誘発性の有無を検定した。

検体は 0.25%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁して用いた。検体処理時間は代謝活性化の場合は 6 時間、非活性化では 24 時間及び 48 時間とした。また、代謝活性化及び非活性化いずれの条件においても陽性対照及び溶媒対照群を設けた。各濃度で、200 個 (plate 2 枚使用、各 plate 100 個) の分裂中期像を観察した。

異常を有する細胞の出現頻度*は、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。

用量設定根拠：

結 果：次頁以降に結果を表示する。

検体群は、細胞増殖が抑制された濃度を含めすべての濃度で、染色体異常の誘発は認められなかった。一方、陽性対照として用いた MNNG (非代謝活性化)、B(a)P (代謝活性化) では顕著な染色体異常の増加が認められた。

以上の結果から、有機原体は代謝活性化を含む本試験条件下において *in vitro* 染色体異常誘発性を有しないものと判断された。

*申請者注：本試験では、ギャップ(gap)も含めて染色体の構造異常を集計し、異常を有する細胞の出現頻度を評価しているが、最新のテストガイドラインにおいては、ギャップは総異常出現頻度には含めない。

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 カネショウ株式会社、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

<非代謝活性化、24 時間処理>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	構造異常を有する細胞数						構造異常 細胞の出現率 (%)	評 価	数的異常 細胞の出現率 (%)	評 価	総合 評価
		Gap	Bre	Exc	Rin	Fra	Oth					
溶媒対照	—	0	0	0	0	0	1	0.5	—	0.0	—	—
検 体	0.017	0	0	0	0	0	0	0.0	—	0.0	—	—
	0.034	0	0	1	0	0	0	0.5	—	1.0	—	—
	0.068	1	0	0	0	0	1	1.0	—	0.0	—	—
	0.136	1	1	1	0	0	0	1.5	—	0.0	—	—

観察細胞数は 200 個/濃度である。

<非代謝活性化、48 時間処理>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	構造異常を有する細胞数						構造異常 細胞の出現率 (%)	評 価	数的異常 細胞の出現率 (%)	評 価	総合 評価
		Gap	Bre	Exc	Rin	Fra	Oth					
溶媒対照	—	0	0	0	0	0	0	0.0	—	0.5	—	—
検 体	0.01	0	0	0	0	0	0	0.0	—	1.0	—	—
	0.02	2	0	0	0	0	0	1.0	—	0.0	—	—
	0.04	0	0	0	0	0	0	0.0	—	0.0	—	—
	0.08	0	1	0	0	0	0	0.5	—	0.0	—	—
MNNG	2	25	135	158	10	5	10	89.0	+	4.0	—	+

観察細胞数は 200 個/濃度である。

<代謝活性化、6 時間処理>

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	構造異常を有する細胞数						構造異常 細胞の出現率 (%)	評 価	数的異常 細胞の出現率 (%)	評 価	総合 評価
		Gap	Bre	Exc	Rin	Fra	Oth					
溶媒対照	—	0	0	0	0	0	0	0.0	—	0.0	—	—
検 体	1.2	1	0	0	0	0	0	0.5	—	1.0	—	—
	2.4	2	1	0	0	0	1	2.0	—	0.0	—	—
	4.8	2	0	0	0	0	0	1.0	—	0.5	—	—
	9.6	2	4	1	0	0	0	3.0	—	0.5	—	—
B(a)P	30	11	25	76	8	0	4	49.0	+	0.0	—	+

観察細胞数は 200 個/濃度である。

注)

溶媒対照 : 0.25%CMC 水溶液

Gap : ギャップ、Bre : 切断、Exc : 交換、Rin : 環状形成、Fra : 細片化、Oth : その他 (多動原体など)

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

B(a)P : 1,2-ベンゾピレン

6) チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 T-35)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1989 年

検体純度:

方 法: チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣細胞 (CHO 細胞) を用いて、代謝活性化及び非活性化によって検体の染色体異常誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。検体の処理時間は代謝活性化では 2.5 時間、非活性化では 17.25 時間とした。また、代謝活性化及び非活性化いずれの条件においても陽性対照及び溶媒対照群を設けた。陽性対照としては mitomycin C (非活性化) 及び cyclophosphamide (活性化) を使用した。

染色体の観察は分裂中期細胞の得られた高い処理濃度から 3 (代謝非活性化) ~4 (代謝活性化) 濃度についてそれぞれ 100 個の分裂中期像を観察した。ただし、陽性対照については 25 個の分裂中期像を観察した。また、陽性対照を除く全ての処理は 2 回反復して実施するとともに、代謝非活性化における試験では、さらに検体処理濃度範囲を狭めて、確認試験を実施した。なお、結果表に示したとおり、ギャップは染色体の構造異常の評価には含めていない。

用量設定根拠:

結 果: 次頁以降に結果を表示する。

代謝非活性化では、0.746 及び 0.994 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で細胞毒性が認められた。従って、染色体異常の観察は 0.099、0.249 及び 0.497 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の検体処理濃度について行われた。その結果、検体処理で染色体異常細胞発現率の処理濃度と相関した有意な増加が認められた。染色体異常細胞発現率の有意な増加は確認試験においても確認された。

代謝活性化では、2.25 及び 3.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で細胞毒性の徴候が観察されたが、染色体異常の観察はそれらの濃度も含めて行われた。染色体異常細胞の発現率において、検体の処理濃度と相関した変化または対照と比べて有意な変化は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた代謝非活性化における mitomycin C (MMC) 及び代謝活性化における cyclophosphamide (CP) では顕著な染色体異常細胞の発現率の増加が認められた。

以上の結果から、有機原体は代謝非活性化で弱い *in vitro* 染色体異常誘発性があると判断されるが、代謝活性化では、染色体異常誘発性は陰性であると判断された。

本試験

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (µg/ml)	観察細胞数	異常染色体数											細胞当り染色体異常発現数	染色体異常細胞発現率 (%)	複数の染色体異常を有する細胞の発現率 (%)	評価		
				TG	SG	UC	TB	SB	ID	TR	QR	CR	D	R					CI	
-	対照 ^{a)}	0	200	4	3												0.00	0.0	0.0	-
	検体	0.099	200	6	1			1							1		0.01	1.0	0.0	+
		0.249	200	10	1		1	1	1	4						3	0.05	2.5	1.0	
		0.497	200	39	15		11	5	2	5	3				1	3	0.15	10.5*	3.0	
陽性対照 (MMC) ^{b)}	0.080	25	6	1		2	4	1	4	5				1		0.68	48.0*	12.0*	+	
+	対照 ^{a)}	0	200	9				1							1		0.01	1.0	0.0	-
	検体	0.75	200	4											1		0.01	0.5	0.0	-
		1.50	200	5	2		3								1		0.02	2.0	0.0	
		2.25	200	23	2		5	1									0.03	3.0	0.0	
		3.00	200	27	3		1	2							1		0.02	2.0	0.0	
陽性対照 (CP) ^{b)}	25.0	25	4					1	3					1	1	0.24	24.0*	0.0	+	

a) 対照に示した数値は溶媒対照 (DMSO) と陰性対照の成績を合計した成績である。

b) 陽性対照の (MMC) は mitomycin C、(CP) は cyclophosphamide の略である。

*: p<0.01 (フィッシャーの直接確率法)

確認試験

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (µg/ml)	観察細胞数	異常染色体数											細胞当り染色体異常発現数	染色体異常細胞発現率 (%)	複数の染色体異常を有する細胞の発現率 (%)	評価		
				TG	SG	UC	TB	SB	ID	TR	QR	CR	D	R					CI	
-	対照 ^{a)}	0	200	5	2			2									0.01	1.0	0.0	-
	検体	0.247	200	6	2					2				2	1		0.03	2.0	0.5	+
		0.370	200	7	7		5	1		7	1		3		1		0.09	6.0*	2.0	
		0.493	200	23	7	1	8	7		12	6	1			1		0.18	11.0*	4.0	
陽性対照 (MMC) ^{b)}	0.080	50	5	1		2	1	2	1	1		1				0.16	16.0*	0.0	+	

a) 対照に示した数値は溶媒対照 (DMSO) と陰性対照の成績を合計した成績である。

b) 陽性対照の (MMC) は mitomycin C、(CP) は cyclophosphamide の略である。

*: p<0.01 (フィッシャーの直接確率法)

注) 観察した染色体異常の分類

- TG (染色体ギャップ)、SG (染色体ギャップ) 及び UC (非螺旋染色体) は染色体異常に含めなかった。
- TB (染色体切断) 及び SB (染色体切断) は単純切断型染色体異常を示している。
- ID (腕内欠失)、TR (3放射状染色体)、QR (4放射状染色体)、CR (染色体転移)、D (二動原体染色体)、R (環状染色体) 及び CI (染色体交換) は交換型染色体異常を示している

7) マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験

(資料 T-36)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体純度：

供試動物：ICR 系マウス（約 8.5 週齢）、1 群雌雄各 15 匹、体重範囲 雄 29.5～42.7 g、雌 20.5～32.8 g

方 法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）水溶液に懸濁し、0、563、1125 及び 2250 mg/kg の投与量でマウスに 1 回強制経口投与した。検体投与後 6、18 及び 30 時間後に動物を屠殺（陰性対照群は 30 時間のみ）、脛骨から骨髄を採取した。なお、動物には屠殺の 2 時間前に 2 mg/kg の Colchicine を腹腔内投与した。採取した骨髄を用いて塗抹標本作製し、1 匹当たり 50 個の $2n \pm 2$ の染色体を有する細胞を選んで染色体の観察を行った。

陽性対照群には 80 mg/kg の Cyclophosphamide を強制経口投与し、18 時間後に屠殺して骨髄細胞の塗抹標本作製した。

検体投与群における染色体異常発現率を Kruskal-Wallis の検定で対照群と比較した。

用量設定根拠；

結 果：観察された染色体異常の発現率を次頁に表示する。

検体群では、いずれの屠殺時期においても投与量に依存した染色体異常発現率の変化が認められず、特定のタイプの染色体異常の増加も認められなかった。また、分裂指数の変化も認められなかった。一方、陽性対照群では、有意な染色体異常発現率の増加が認められた。

以上の結果から、有機銅原体はマウスの骨髄細胞に対して、*in vivo* 染色体異常誘発性がないものと判断された。

結果表

性別	薬物	投与量 mg/kg	屠殺時間	観察動物 数	総観察細 胞数	異常染色 体数 a)	異常染色 体発現率 (%) b)	平均分裂 指数 (%)
雄	溶媒対照 (0.5%CMC)	—	30	5	250	0.004	0.4	4.6
	検 体	563	6	5	250	0.012	1.2	3.3
			18	5	250	0.000	0.0	4.1
			30	5	250	0.000	0.0	4.0
		1125	6	5	250	0.000	0.0	2.4
			18	5	250	0.000	0.0	5.0
			30	5	250	0.016	1.6	5.2
		2250	6	5	250	0.008	0.8	5.4
			18	5	250	0.000	0.0	4.3
			30	5	250	0.000	0.0	6.4
陽性対照 (Cyclophos- phamide)	80	18	5	250	0.700	25.6*	2.0	
雌	溶媒対照 (0.5%CMC)	—	30	5	250	0.004	0.4	4.3
	検 体	563	6	5	250	0.000	0.0	5.2
			18	5	250	0.000	0.0	2.9
			30	5	250	0.000	0.0	2.9
		1125	6	5	250	0.004	0.4	4.4
			18	5	250	0.000	0.0	4.5
			30	5	250	0.016	0.0	3.7
		2250	6	5	250	0.008	0.0	4.0
			18	5	250	0.000	0.0	2.9
			30	5	250	0.000	0.0	4.6
陽性対照 (Cyclophos- phamide)	80	18	5	250	1.020	26.0*	2.0	

* : $p < 0.05$ (Kruskal-Wallis の検定)

a) 異常染色体数 : 1 匹当りの構造異常細胞数

b) 異常染色体発現率(%) : 1 匹当りの構造異常細胞数の発現率 (%)

注) 観察した染色体異常の分類

- TG (染色分体ギャップ)、SG (染色体ギャップ) 及び UC (非螺旋染色体) は異常染色体に含めなかった。
- TB (染色分体切断)、SB (染色体切断)、DM (微小染色体対) は単純切断型染色体異常を示している。
- ID (腕内欠失)、TR (3 放射状染色体)、QR (4 放射状染色体)、CR (染色体転移)、D (二動原体染色体)、R (環状染色体) 及び CI (染色体交換) は交換型染色体異常を示している。

8) ラットを用いた小核試験

(資料 T-37)

試験機関：

報告書作成年：1978年

供試動物：CFY系ラット（体重80～90g）、1群雌雄各5匹

方法：検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、2800、5600又は11200 mg/kgの用量を24時間間隔で2回半量ずつ分けてラットに強制経口投与し、2回目の投与後6時間に各動物から大腿骨髄を採取して塗抹標本を作製した。対照群には1%メチルセルロース水溶液を同様に経口投与した。陽性対照群には生理食塩液に溶解したMitomycin Cを1回当たり7 mg/kgの投与量で同様に2回腹腔内投与した。作製した各塗抹標本についてはギムザ染色後、多染性赤血球2000個中の小核を有する赤血球数を計数した。

用量設定根拠；

結果：一般状態の変化として、2800 mg/kg及び5600 mg/kgを投与した群では嗜眠、下痢及び緑色糞が観察された。また、11200 mg/kgを投与した群では過剰行動、嗜眠、下痢、緑色糞、立毛、口腔や鼻粘膜の炎症、被毛の汚れ、削瘦が観察された。この群では雄2匹が死亡した。多染性赤血球2000個中の小核を有する多染性赤血球数の平均値を次表に示す。

性別		薬物及び投与量 (mg/kg)				
		溶媒対照	検体			陽性対照*
		0	2800 (1400 x 2)	5600 (2800 x 2)	11200 (5600 x 2)	14 (7 x 2)
雄	検査動物数	5	5	5	3+	5
	小核赤血球数	2.8	1.4	2.6	3.0	77.4
雌	検査動物数	5	5	5	5	5
	小核赤血球数	2.0	2.6	2.0	1.6	71.6

*：Mitomycin C

+：雄2匹が死亡

検体群における小核を有する多染性赤血球数は溶媒対照群と差が認められず、用量依存的な増加も認められなかった。一方、Mitomycin Cを投与した群では小核を有する多染性赤血球数の著しい増加が認められた。

以上の結果から、有機銅原体はマウスを用いた骨髓小核試験において小核を誘発せず、*in vivo* 染色体異常誘発能を有しないものと判断された。

(14) 生体機能影響

1) 生体機能に及ぼす影響

(資料 T-38)

試験機関：

報告書作成年：1989年

検体純度：

①ウサギの中樞神経系に対する作用

i) ウサギの脳液に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ 体重約 3.5 kg 1群雄 3匹

方法：麻酔下のウサギを固定後、脳に電極を挿入した。検体を1%カルボキシメチルセルロース (CMC) で懸濁して 1000 mg/kg の用量を経口投与し脳液を測定した。また、1時間後に 30 mg/kg を静注し脳液を測定した。

結果：1000 mg/kg の経口投与では、影響は認められなかった。

30 mg/kg の静注では、5分後に扁桃核及び海馬における低振幅化が始まり、25分後には皮質脳波、深部脳波ともに低振幅化の後平坦化し、約 30分後に動物は死亡したが、異常な脳波は認められなかった。

ii) ウサギの体温に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ 体重約 2.5 kg 1群雄 3匹

方法：検体を1%CMCで懸濁し、1及び5 mg/kg の用量で静注した。

体温の測定は直腸温を投与前、投与後1、2及び3時間に測定した。

また、対照群には1%CMCを投与した。

結果：

	直腸温 (°C)			
	投与前	投与後 1 時間	投与後 2 時間	投与後 3 時間
対照群	38.73	38.77	38.87	38.90
1 mg/kg 投与群	38.37	38.40	38.50	38.83
5 mg/kg 投与群	38.73	38.73	38.83	38.77

各投与群とも、検体投与による体温の変化は認められなかった。

②ウサギの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ 体重約 2.7 kg 1群雄 3匹

方法：検体を1%CMCで懸濁し、100、300及び1000 mg/kg の用量を1時間間隔で皮下投与し、呼吸、血圧、心電図及び心拍数を記録した。試験はウレタン麻酔下で行われた。

結果：100及び300 mg/kg 投与では、影響は認められなかった。1000 mg/kg の投与では、呼吸振幅、心拍数の減少及び血圧の低下が認められた。

③モルモットの自律神経系（摘出回腸）に対する作用

供試動物：ハートレー系雄モルモット 体重約 400 g

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

方 法：モルモットの回腸（約 1 cm）を摘出し、マグヌス管（Tyrod 液中）に懸垂した。検体を 1%CMC で懸濁後、最終濃度が $2.5 \times 10^{-4} \sim 10^{-3} \text{g/ml}$ となるように Tyrod 液に添加し、回腸の収縮を検査した。また、回腸のアセチルコリン及びヒスタミンによる収縮に対する影響も検討した。

結 果： $2.5 \times 10^{-4} \sim 10^{-3} \text{g/ml}$ の濃度では、摘出回腸に変化は認められなかった。また、ヒスタミン及びアセチルコリンによる収縮にも影響を与えなかった。

④ラットの摘出子宮に対する作用

供試動物：ウィスター系雌ラット 体重約 150 g

方 法：ラットの子宮を摘出し、マグヌス管（modified Locke-Ringer 液中）に懸垂した。

検体を 1%CMC 懸濁後、最終濃度が 5×10^{-4} 及び 10^{-3}g/ml となるように modified Locke-Ringer 液に添加し、子宮運動を記録した。また、子宮のオキシトシンによる収縮に対する影響も検討した。

結 果： 10^{-3}g/ml までの濃度では、摘出子宮に変化は認められなかった。また、子宮のオキシトシンによる収縮にも影響を与えなかった。

⑤ラットの消化器系（小腸輸送能）に対する作用

供試動物：SD 系ラット 体重約 250 g 1 群雄 6 匹

方 法：検体を 1%CMC で懸濁し、10、30、100、300、及び 1000 mg/kg の用量で皮下投与した。対照群には 1%CMC を皮下投与した。検体投与 30 分後に炭末・アラビアゴムの各 10%懸濁液を胃内に投与した。懸濁液投与 30 分後に小腸を摘出し、胃の幽門部から炭末先端迄の長さを測定し、小腸長に対する比率を算出した。

結 果：

群	比率 (%)
対照群	84.3
10 mg/kg	86.8
30 mg/kg	84.7
100 mg/kg	81.2
300 mg/kg	87.8
1000 mg/kg	74.6*

* $P < 0.05$ (t 検定)

1000 mg/kg 投与群で小腸輸送能の有意な低下が認められたが、他の投与群では検体投与の影響は認められなかった。

⑥ウサギの運動・知覚神経系（前脛骨筋収縮）に対する作用

供試動物：日本白色種ウサギ 体重約 3.7 kg 1 群雄 3 匹

方 法：麻酔下のウサギを固定後、右側坐骨神経を大腿部で露出し、上部で切断したのち、総腓骨神経を分離した。同側の前脛骨筋を剥離し、その末端腱部に糸をつけてストレンゲ

ージにつないだ。検体は1%CMCで懸濁し、1000 mg/kgの用量で経口投与し、1時間後に10及び40 mg/kgの用量を15分間隔で静注した。間接刺激は総腓骨神経に接続した双極白金電極を介して、また、直接刺激は筋に接触させた白金電極を用いてそれぞれ交互に行った。

間接刺激 -0.1 Hz、0.1 msec

直接刺激 -0.1 Hz、0.1 msec

結果：いずれの投与量においても、前脛骨筋の収縮に対する検体投与の影響は認められなかった。

⑦ウサギの血液（溶血性）に対する作用

供試動物：日本白色種雄ウサギ 体重約3 kg

方法：ヘパリン処理した注射筒を用いて心臓より採血し、赤血球を分離後、10倍量の生理食塩水に浮遊させた。検体は生理食塩水に懸濁し、最終濃度が0、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 、 5×10^{-4} 及び 10^{-3} g/mlとなるように赤血球浮遊液と混和した。混和2時間後に上清の溶血度を次の基準に従って肉眼的観察により判定した。また、陽性対照としてサポニン（最終濃度 10^{-3} g/ml）を用いた。

- : 溶血なし
- ± : 微弱な溶血
- + : 軽度の溶血
- ++ : 中等度の溶血
- +++ : 強度の溶血

結果：いずれの濃度においても溶血性に対する検体投与の影響は認められなかった。一方、陽性対照として用いたサポニンでは強度の溶血が認められた。

以上の試験結果より、検体投与により脳波及び呼吸の低振幅化、血圧及び心拍数の低下、小腸輸送能の低下が認められたが、これらの変化は致死量又は致死量に近い用量で認められたことから、検体による特異的な変化であるとは考えられなかった。

2) 生体機能に及ぼす影響

(資料 T-39) *

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989～1990 年

検体純度：

①中枢神経系に及ぼす作用

i) ラットの一般症状に及ぼす作用

供試動物：Wistar 系ラット（約 10 週齢）、体重 165～193 g、1 群雄 4 匹

方法：0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）に懸濁した検体を 0（溶媒）、100、300 または 1000 mg/kg の投与量で経口投与（投与容量 10mL/kg）した。投与後 0.5、1.5、2.5 及び 5 時間に Irwin の方法にしたがって一般症状を観察した。また、24 時間後に同用量の検体を再度経口投与し、0.5、1.5、2.5、5、24、48、72、96 及び 120 時間に一般症状を観察した。

結果：1000 mg/kg の検体を投与した 5 時間後及び 2 回目の投与後 48 時間まで、軽度な歩行異常及び立毛、眼球突出、散瞳及び下痢が認められた。2 回目の投与後 48 時間以降は一般症状の変化がみられなかった。100 及び 300 mg/kg 群では一般症状の変化がみられなかった。

ii) マウスにおける Hexobarbital 誘発睡眠時間に及ぼす作用

供試動物：ICR（CD-1）系マウス（4～6 週齢）、体重 18～25 g、1 群雌雄各 5 匹

方法：0.5%CMC に懸濁した検体を 0（溶媒）、100、300 または 1000 mg/kg の投与量で経口投与（投与容量 10mL/kg）した。検体投与後 30 分に 100 mg/kg の Hexobarbital-Na を腹腔内投与した。その後動物を 32℃のプレート上に置き、正向反射の消失及び回復時刻から睡眠時間を測定した。

結果：各群の睡眠時間は次表の通りであった。

対照群と較べていずれの投与群にも統計学的に有意差がみられず、用量依存的な変化も認められなかった。

投与薬物	投与量 (mg/kg)	睡眠時間		
		雄	雌	雌雄平均
溶媒	—	33.0	32.7	32.8
検体	100	27.4	24.7	26.0
検体	300	34.6	28.2	31.4
検体	1000	37.1	26.5	31.8

(分散分析で有意差なし)

*申請者注：試験成績は検査毎に計 11 報に分かれているが一つの試験成績として抄録に記載する。

②呼吸・循環器系に及ぼす作用

i) 麻酔イヌにおける呼吸・循環器系に及ぼす作用

供試動物：ビーグル犬（約 10 カ月齢）、体重 11.8～12.5 kg、雌 3 匹

方 法：検体を 0.5%CMC に懸濁し、0（溶媒）、100、300 または 1000 mg/kg の投与量で麻酔下のイヌの十二指腸内に投与した。検体投与後 90 分間の血圧、心拍数、大腿血流量、呼吸数、呼吸量及び心電図を麻酔下で測定した。

結 果：いずれの項目にも、検体の投与量に関わらず、検体投与による変化がみられなかった。

③自律神経系に及ぼす作用

i) 麻酔ネコにおける血圧、心拍、頸動脈閉塞、神経節伝達及びノルアドレナリン反応性に及ぼす作用

供試動物：ネコ（7～9 カ月齢）、体重 2～2.4 kg、雌 3 匹

方 法：検体を 0.5%CMC に懸濁し、0（溶媒）、100、300 または 1000 mg/kg の投与量で麻酔下のネコの十二指腸内に投与した。検体投与による収縮期血圧の変化、頸動脈閉塞及びノルアドレナリン投与による血圧の変化、及び交感神経節刺激による瞬膜の反応性の変化について検討した。

結 果：いずれの項目にも、検体の投与量に関わらず、検体投与による変化がみられなかった。

④知覚・運動神経系に及ぼす作用

i) ラットにおける傾斜板法による運動神経への作用

供試動物：Wistar 系ラット（約 9 週齢）、体重 170～205 g、1 群雌雄各 5 匹

方 法：検体を 0.5%CMC に懸濁し、0（溶媒）、100、300 または 1000 mg/kg の投与量で試験開始日及びその 24 時間後に経口投与した（投与容量 10mL/kg）。最初の検体投与後 4 日から 16 日まで 2 日間隔で、以下の試行を実施した。動物をステンレス製のプレート上に置き、毎秒 7.5° の割合でプレートを傾斜させ、動物が滑り落ちるときの角度を測定した。この試行を 4 回連続して行い、その平均値を落下角度とした。

結 果：各群の平均落下角度は次表（次頁）の通りであった。

対照群と比較して、主として雄の検体投与群で落下角度の有意な低下がみられたが、体重増加抑制及び下痢が観察されていることから、検体の神経系に対する作用ではなく、むしろ全身的な毒性に伴う変化であると判断された。

傾斜板法による運動神経への作用に関する結果表

投与薬物及び投与量	性別	落下角度						
		4日	6日	8日	10日	12日	14日	16日
溶媒 1 mg/kg	雄	47.3	41.7	47.6	46.5	47.2	48.7	45.2
	雌	48.9	44.6	45.9	45.2	46.2	46.2	45.6
	雌雄	48.1	43.2	46.7	45.8	46.7	47.5	45.4
検体 100 mg/kg	雄	42.2b	42.1	47.3	46.2	45.4	47.9	44.9
	雌	47.0	42.7	47.8	45.6	46.3	47.2	47.2
	雌雄	44.6a	42.4	47.5	45.9	45.8	47.5	46.0
検体 300 mg/kg	雄	48.1	42.5	47.7	44.1	45.2	43.8a	47.5
	雌	48.0	42.6	46.3	47.9	44.4	44.7	45.5
	雌雄	48.1	42.5	47.0	46.0	44.8	44.3a	46.5
検体 1000 mg/kg	雄	43.8	42.0	45.2	43.2a	39.9c	42.6b	45.9
	雌	47.9	43.0	47.9	45.5	43.5	47.4	47.1
	雌雄	45.9	42.5	46.6	44.4	41.7c	45.0	46.5

a : $p < 0.05$, b : $p < 0.01$, c : $p < 0.001$ (t検定)

ii) マウスの加速回転棒における協調運動に及ぼす作用

供試動物：ICR (CD-1) 系マウス (約5週齢)、体重16~20g、1群雄10匹

方法：加速回転棒での歩行訓練を行い、その翌日、検体投与前に加速回転棒での歩行時間を個体別に測定した上で、0.5%CMCに懸濁した検体または陽性対照物質であるMephenesinを経口投与した(投与容量10mL/kg)。検体投与後45分に各動物の加速回転棒上での歩行時間を測定した。

結果：各投与群の平均歩行時間は下表の通りであった。

各投与群の平均歩行時間には検体投与による影響がみられなかった。一方、Mephenesinを投与した陽性対照群では有意な歩行時間の短縮がみられた。

薬物	投与量 (mg/kg)	歩行時間 (秒)	
		投与前	投与後
溶媒	—	133.7	>253.5
検体	100	130.6	>272.9
検体	300	133.6	>257.6
検体	1000	131.7	>263.5
Mephenesin	400	131.7	36.9c

c : $p < 0.001$ (t検定)

⑤消化管に及ぼす影響

i) マウスにおける炭末腸管輸送に及ぼす作用

供試動物：ICR (CD-1) 系マウス (約 6 週齢)、体重 18~22 g、1 群雄 10 匹

方 法：0.5%CMC に懸濁した検体を経口投与 (投与容量 10mL/kg) し、その 30 分後に、水に 0.5% の濃度で懸濁した炭末を 0.25 mL 経口投与した。さらに 30 分後、動物を屠殺し、腸管を摘出して、炭末の幽門からの移動距離を測定した。

結 果：小腸全体に対する炭末移動距離 (%) は次表の通りであった。

炭末検体投与による腸管の炭末輸送速度の変化はいずれの検体投与群にもみられなかった。

薬 物	投与量 (mg/kg)	炭末移動距離 (全長に対する%)
溶 媒	—	56.5
検 体	100	57.1
検 体	300	55.5
検 体	1000	61.0

ii) 幽門結紮ラットにおける胃液分泌に及ぼす作用

供試動物：Wistar 系ラット (約 9 週齢)、体重 216~240 g、1 群雄 8 匹

方 法：麻酔下で幽門を結紮し、溶媒 (0.5%CMC) または溶媒に懸濁した検体を十二指腸内に投与した (投与容量 10mL/kg)。検体投与の 6 時間後に胃内に貯溜した胃液を採取し、胃液量を測定するとともに胃液の H⁺、Na⁺、K⁺、Cl⁻ 及びペプシン活性を測定した。

結 果：胃液量、胃液の H⁺、Na⁺、K⁺、Cl⁻ 及びペプシン活性は次表の通りであった。

300 及び 1000 mg/kg の検体を投与した動物では水素イオン濃度の有意な低下がみられたが、その他の測定項目については、いずれの投与群においても変化がみられなかった。

薬 物	投与量 (mg/kg)	胃液量 mℓ	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	H ⁺	ペプシン活性 U/vol
			mEq/vol				
溶 媒	—	12.6	0.61	0.12	1.71	1.01	39.4
検 体	100	11.8	0.56	0.11	1.61	1.03	43.7
検 体	300	9.4	0.46	0.10	1.22	0.66a	36.4
検 体	1000	10.3	0.56	0.12	1.29	0.66a	30.9

a : p < 0.05 (Student の t 検定)

⑥尿排泄に及ぼす作用

i) ラットにおける尿排泄に及ぼす作用

供試動物：Wistar系ラット（約7週齢）、体重235～268g、1群雄10匹

方法：0.5%CMCに懸濁した検体を経口投与した（投与容量10mL/kg）。その直後に20mL/kgの生理食塩液を経口投与し、直ちに代謝ケージに動物を収容した。尿は検体投与後1、2、3、4、5及び24時間に採集し、尿量を測定した。また、検体投与後5時間の尿を用いてNa⁺、K⁺、Cl⁻及び蛋白排泄量を測定した。

結果：経時的尿排泄量及び、検体投与後5時間のNa⁺、K⁺、Cl⁻及び蛋白排泄量を次表に示す。検体投与群ではいずれの用量においても用量依存的な尿排泄量の減少及び蛋白排泄量の増加がみられ、300mg/kg以上の用量ではNa⁺及びCl⁻排泄量の減少もみられた。また、K⁺排泄量にも用量依存的な減少傾向がみられた。

薬物	投与量 (mg/kg)	尿累積排泄量 (mL)					
		0-1h	0-2h	0-3h	0-4h	0-5h	0-24h
溶媒	—	1.97	2.66	3.42	3.84	3.90	13.1
検体	100	0.93a	1.27b	1.64b	2.36b	2.48b	10.1b
検体	300	1.23	1.37b	1.46c	1.80c	1.80c	5.48c
検体	1000	0.25c	0.49c	0.64c	1.12c	1.22c	2.34c

a : p<0.05、b : p<0.01、c : p<0.001 (Studentのt検定)

薬物	投与量 (mg/kg)	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	蛋白
		mEq/vol			mg/dl
溶媒	—	0.429	0.199	0.471	62.4
検体	100	0.367	0.194	0.337	94.8b
検体	300	0.176c	0.121a	0.116c	152a
検体	1000	0.119c	0.131	0.088c	204c

a : p<0.05、b : p<0.01、c : p<0.001 (Studentのt検定)

⑦血液に及ぼす作用

i) ラットの血液凝固に及ぼす作用

供試動物：Wistar系ラット（約9週齢）、体重195～226g、1群雄10匹

方法：0.5%CMCに懸濁した検体を経口投与した（投与容量10mL/kg）。その60分後に尾部より採血し、Dale and Laidlawの方法で全血凝固時間（WBCT）を測定した。その後麻酔下で眼窩血管叢から採血した血漿を用い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：各投与群のWBCT、PT及びAPTTの平均値は次表（次頁）の通りであった。検体1000mg/kg群で統計学的に有意なPTの短縮がみられたが、その変動はごくわずかであり、また、正常値範囲（7.2～13.7）内の変化であった*。

*申請者注：他の血液凝固パラメータにも影響が認められないことも考慮し、申請者は軽微なPTの短縮は検体投与に関連した作用とは考えない。

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、サンケイ化学株式会社及び日本農薬株式会社にある。

血液凝固への影響に関する結果表

投与薬物	投与量 (mg/kg)	凝固時間 (秒)		
		WBCT	PT	APTT
溶媒	—	83.0	10.4	12.8
検体	100	82.5	10.3	12.6
検体	300	79.7	10.1	12.9
検体	1000	87.9	9.9a	14.2

a : $p < 0.05$ (t検定)

ii) ヒト血液を用いた *in vitro* における溶血作用

供試動物：3人の健常人から血液を採取し、赤血球を洗浄した後、赤血球3%浮遊液を作成し、試験に使用した。

試験方法：最終濃度が0.03、0.1、0.3または1.0 mg/mlになるように検体を生理食塩液に溶解し、それぞれの検体溶液3 mlを赤血球浮遊液1 mlと混合し、37℃で2時間放置した。その後、遠心分離し、上清の540 nmでの吸光度を測定し、陽性対照（検体溶液の代わりに蒸留水を使用）及び陰性対照（検体溶液の代わりに生理食塩液を使用）の吸光度の差から、溶血度を測定した。

試験結果：各検体濃度における溶血度は次表の通りであった。

検体濃度と相関した軽度な溶血作用がみられた。

薬物	最終濃度 (mg/ml)	溶血度 (%)
蒸留水	—	100.0
生理食塩液	—	0.0
検体	0.03	0.5
検体	0.1	1.0
検体	0.3	2.9
検体	1.0	11.9

申請者注：0.03mg/ml (30 µg/ml)の濃度でごく僅かな溶血度(0.5%)が観察されたが、10mg/kgの用量で単回経口投与されたラットの血中最高濃度が約0.6 µg/mlであることから、経口暴露量が増え血中濃度が上昇することを仮定しても、さほど溶血の影響を受けることはないと思察する。

以上、有機銅原体の投与による影響として、歩行異常、眼球突出、散瞳及び下痢、溶血作用が高用量で認められた。一方、尿量の低下、尿蛋白排泄量の増加、尿中 $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{Cl}^-$ 排泄量の低下及び胃液の水素イオン濃度の低下を有することが明らかになった。

3) ウサギの脳波に及ぼす影響

(資料 T-40)

試験機関：

報告書作成年：1989年

検体純度：

①中枢神経系に及ぼす作用

i) ウサギの脳波に及ぼす作用

供試動物：日本白色種、体重約 3.5 kg、雄 3 匹

試験方法：2 匹のウサギには 1%CMC に懸濁した検体 1000 mg/kg を皮下投与した。

1 匹のウサギには同懸濁液 1000 mg/kg を腹腔内投与し、約 1 時間後に 1500 mg/kg を再度腹腔内投与した。検体の投与及び脳波導出はウレタン麻酔下で行った。皮質脳波は前頭部、頭頂部及び後頭部に植え込んだ電極を介して、深部脳波は扁桃核、海馬及び中脳網様体に挿入した電極を介して導出し、ポリグラフを用いて記録した。

試験結果：1000 mg/kg を皮下投与した 2 例のウサギでは、投与後 30 分頃より皮質脳波及び海馬の低振幅化及び徐波化傾向がみられ、60 分後には低振幅化が明白に認められた。1000 mg/kg を腹腔内投与したウサギにおいても、皮下投与の場合と同様な低振幅化及び徐波化がみられた。このウサギに 1500 mg/kg の検体を追加投与したところ、5 分後には皮質脳波、扁桃核及び海馬の著明な低振幅化がみられ、30 分後には平坦化が認められた。しかし、その他の異常は認められなかった。同時に記録した心電図では追加投与後に心拍数の低下（投与前に比べて約 30%減少）が認められたので、これらの脳波の低振幅化は虚血性的変化である可能性が考えられた。

以上、脳波の低振幅化及び徐波化が誘発されたが、異常脳波は検出されず、致死量近傍の大量投与による心拍数低下条件下で観察された変化であることから、原体は中枢神経に対して特異的な影響をもたらすものではないと考えられた。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 (1/2)

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物 数/群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 ・一般症状 [Irwin 法] (ラット)	経口 (CMC 水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂4	1000	300	1000 mg/kg で歩行異常、 立毛、眼球突出、散瞳、 下痢
・ヘキサバルビタール 睡眠時間 (マウス)			♂♀ 5	—	♂♀とも 1000	影響なし
・脳波 (ウサギ)	1000 を経口、次いで 30 を静 注 (CMC 水溶液)		♂3	経口：— 静注：30	経口：1000 静注：—	経口：影響なし 静注：低振幅化を示し動 物死亡
・脳波 (ウサギ)	2 匹に 1000 を皮下 1 匹に 1000 を腹腔内、その 1 時間後に再度腹腔内 (CMC 水溶液)		♂3	皮下:1000 腹腔:1000 + 1500	皮下：— 静注：—	皮下・腹腔ともに低振幅 化を示した。
・体温 (ウサギ)	静注 (CMC 水溶 液)	1, 5	♂3	—	5	影響なし
呼吸・循環器系 ・呼吸 ・血圧 ・心電図 ・心拍数 (ウサギ、麻酔下)	皮下 (CMC 水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂3	1000	300	1000 mg/kg で呼吸振幅、 心拍数の減少、血圧の低 下
・血圧 ・心拍数 ・血流量 ・呼吸数 ・呼吸量 ・心電図 (イヌ、麻酔下)	十二指腸内 (CMC 水溶液)		♀3	—	1000	影響なし
自律神経系・平滑筋に対する作用						
・摘出回腸 (モルモット)	マグヌス管内	2.5×10 ⁻⁴ ~ 10 ⁻³ g/mL	—	—	10 ⁻³ g/mL	影響なし。ヒスタミン及 びアセチルコリンによ る収縮にも影響なし。
・摘出子宮 (ラット)			5×10 ⁻⁴ ~ 10 ⁻³ g/mL	—	—	10 ⁻³ g/mL
・収縮期血圧 ・頸動脈閉塞 ・瞬膜反射によ る作用 (ネコ、麻酔下)	十二指腸内 (CMC 水溶液)	0, 100, 300, 1000	♀3	—	1000	影響なし

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 (2/2)

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物 数/群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
知覚・運動系 ・傾斜板 (ラット)	経口 (CMC 水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂♀ 5	—	♂♀とも 1000	投与群で落下角度の有 意な低下がみられたが、 体重増加抑制等の影響 による作用と判断
・回転棒 (マウス)			♂10	—	1000	
・前脛骨筋収縮 (ウサギ)	1000を経口、次いで10, 40 を静注 (CMC 水溶液)		♂3	—	1000	影響なし
消化器系 ・小腸輸送能 (マウス)	経口 (CMC 水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂10	—	1000	影響なし
・小腸輸送能 (ラット)	皮下 (CMC 水溶液)	0, 10, 30, 100, 300, 1000	♂6	1000	300	低下
・胃液分泌 胃液量、胃液 のH ⁺ 、Na ⁺ 、 K ⁺ 、Cl ⁻ 、ペプ シン活性 (ラット)	十二指腸内 (CMC 水溶液)		♂8	300	100	H ⁺ 濃度の低下
泌尿器系 ・尿量 ・Na ⁺ ・K ⁺ ・Cl ⁻ ・蛋白 (ラット)	経口 (CMC 水溶液)	0, 100, 300, 1000	♂10	100	—	尿量の低下と蛋白排泄 量の増加が100 mg/kg 以 上、Na ⁺ とCl ⁻ の低下が 300 mg/kg 以上、K ⁺ の低 下傾向が300 mg/kg 以上 で発現。
血液系 ・血液凝固 (ラット)				—	1000	
・溶血 (ウサギ)	試験管内	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻³ g/mL	—	—	10 ⁻³ g/mL	影響なし
・溶血 (ヒト)		0.03, 0.1, 0.3, 1.0 mg/mL	—	0.03 mg/mL	—	軽度の影響

2. 製剤

(1) 80%水和剤

1) 急性毒性

①ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-41)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1989 年*

検体純度: 80%水和剤

[組成] 8-ヒドロキシキノリン銅 : 80.0%

鉱物質微粉・界面活性剤等: 20.0%

供試動物: SD CFY 系ラット (6~8 週齢)、体重 雄 120~147 g 雌 120~150 g

1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁し投与前一晚絶食させた動物に投与容量 10mL/kg で単回強制経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。体重を投与前 (0 日)、7 日、14 日及び死亡時に測定した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	1000、1316、1732、2280、3000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄; 2749 (1720~4391) 雌; 1982 (1521~2582)
死亡開始時間 及び終了時間	(開始) 雌雄とも投与 24 時間後 (終了) 雄投与 2 日後、雌投与 4 日後
症状発現 及び消失時間	(発現) 雌雄とも投与 1 時間後 (消失) 雌雄とも投与 6 日後
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	雄; 1316 雌; 1000
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	雄; 1732 雌; 1000

中毒症状として、1732mg/kg 以上の群に円背位、立毛、嗜眠、呼吸緩徐、眼瞼下垂、鼻の周囲の着色及び四肢蒼白が観察された。1732mg/kg 以上の群で投与後 7 日に体重の減少又は増加抑制がみられたが、14 日では順調な増加が認められた。

解剖所見では、死亡動物に赤色肺、黒色肝臓及び腺胃上皮の出血/潰瘍が認められた。

生存動物では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

*申請者注: 報告書の表紙に 1988 年 10 月報告と記載されてあるが、同書 2 頁に報告書検閲日が 1989 年 2 月と記載されてあることから、報告年を 1989 年と判断した。

②ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-42)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年*

検体純度: 80%水和剤

[組成] 8-ヒドロキシキノリン銅 : 80.0%

鋳物質微粉・界面活性剤等 : 20.0%

供試動物: Cr1 SD CD-1 BR 系ラット (6~7 週齢) 1 群雌雄各 10 匹

体重 雄 189~400 g、雌 146~258 g

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 0.25% トラガントゴム水溶液に懸濁させ、投与前 1 夜絶食させた動物に投与容量 20mL/kg で単回強制経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について胸腔及び腹腔の切開を含む肉眼的病理検査を行った。体重を投与 1 (投与前)、3、8、15 日に測定した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共に 3000、5000、6000、7000、9000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 4100 (3100~5800) 雌 2000 (1100~3600)
死亡開始時間及び 終了時間	(開始) 雌雄ともに投与 1 日後 (終了) 雄投与 5 日後、雌投与 4 日後
症状発現及び 消失時期	(発現) 雌雄共に 4 時間後 (消失) 雄投与 4 日後、雌投与 2 日後

中毒症状としては、6000 mg/kg 以上の群で自発運動の低下及び立毛が観察された。

肉眼的病理検査では、3000 mg/kg 群の雄 1 匹で肝の小結節、5000 mg/kg 群の雄 1 匹で泌尿生殖器の変色、5000 mg/kg 群の雌 5 匹及び 6000 mg/kg 群の雌 6 匹で頬及び鼻の周囲の変色が認められた。生存例で 5000mg/kg 群の雄 1 例で体重の低下がみられたものの、他の個体は増加が認められた。死亡例では体重低下がみられる個体が多かった。

*申請者注: 報告書の表紙に 1986 年 8 月報告と記載されてあるが、同書 2 頁に報告書検閲日が 1987 年 5 月 29 日と記載されてあることから、報告年を 1987 年と判断した。

③マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-43)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1989 年

検体純度: 80%水和剤

[組成] 8-ヒドロキシキノリン銅 : 80.0%

鉍物質微粉・界面活性剤等 : 20.0%

供試動物: CFLP 系マウス (6~8 週齢)、体重 雄 28~30 g 雌 25~30 g

1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁し、投与前 3~4 時間絶食させた動物に投与容量 10mL/kg で単回強制経口投与した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。体重を投与前 (0 日)、7 日、14 日及び死亡時に測定した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	1000、1316、1732、2280、3000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄; 2558 (1769~3699) 雌; 2214 (1748~2806)
死亡開始時間 及び終了時間	(開始及び終了) 雌雄ともに投与 24 時間後
症状発現 及び消失時間	(発現) 雌雄ともに投与 1 時間後 (消失) 雌雄ともに投与 3 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄; 1732 雌; 1316

中毒症状として、1732mg/kg 以上の群に円背位、立毛、嗜眠、呼吸緩徐、眼瞼下垂、鼻の周囲の着色、四肢蒼白及び運動失調が観察された。雌で投与 7 日に体重増加量の低値を示す個体が見られたが、14 日には順調な増加が認められた。

解剖所見では、死亡動物に赤色肺、黒色肝臓及び小腸、大腸の出血が認められた。

生存動物では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

④マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 T-44)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年*

検体純度: 80%水和剤

[組成] 8-ヒドロキシキノリン銅 : 80.0%

鉍物質微粉・界面活性剤等 : 20.0%

供試動物: Cr1: CD-1 (ICR) BR 系マウス (5 週齢)、1 群雌雄各 10 匹

体重 雄 18~23 g、雌 17~23 g

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 0.25% トラガントゴム水溶液に懸濁させ、投与前 1 夜絶食させた動物に投与容量 20mL/kg で単回強制経口投与した。体重を投与 1 (投与前)、3、8、15 日に測定した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について頭蓋腔、胸腔及び腹腔の切開を含む肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共に 3000、5000、6000、7000、9000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 6000 (5800~6200) 雌 5800 (4500~7600)
死亡開始時間及び 終了時間	(開始) 雄投与 1 時間後、雌投与 2 日後 (終了) 雄投与 9 日後、雌投与 6 日後
症状発現及び 消失時期	(発現) 雌雄とも投与 3 時間後 (消失) 雄投与 9 日後、雌投与 5 日後
死亡例の認められ なかった最高投与 量 (mg/kg)	雌雄共に 3000

中毒症状としては、自発運動の低下及び立毛が観察された。生存例の体重に影響はみられなかった。

肉眼的病理検査では、6000 mg/kg 群の雄 1 匹に皮膚の変色が認められた。

*申請者注: 報告書の表紙に 1986 年 8 月報告と記載されてあるが、同書 2 頁に報告書検閲日が 1987 年 5 月 29 日と記載されてあることから、報告年を 1987 年と判断した。

⑤ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 T-45)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1989 年

検体純度: 80%水和剤

[組成] 8-ヒドロキシキノリン銅 : 80.0%

鉱物質微粉・界面活性剤等: 20.0%

供試動物: SD CFY 系ラット (10~14 週齢)、体重 雄 271~290 g 雌 238~260 g

1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 蒸留水で湿らせた刈毛部 (7×4 cm) に検体を塗布し、ガーゼで被覆した。24 時間後に検体の残部を除去した。体重を投与前 (0 日)、7 日、14 日に測定した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現 及び消失時間	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

中毒症状及び解剖所見において、特記すべき変化は認められなかった。

⑥ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 T-46)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年*

検体純度: 80%水和剤

[組成] 8-ヒドロキシキノリン銅 : 80.0%

鉱物質微粉・界面活性剤等 : 20.0%

供試動物: Cr1 SD CD-1 BR 系ラット、1 群雌雄各 10 匹

体重 雄 237~270g 雌 200~213g

観察期間: 14 日間

投与方法: 背部を刈毛し、検体を蒸留水で湿らせ、2000 mg/kg の用量で 24 時間塗布した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について胸腔及び腹腔の切開を含む肉眼的病理検査を行った。体重を投与 1 (投与前)、3、8、15 日に測定した。

試験結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	症状発現なし
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共に 2000
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共に 2000

中毒症状及び肉眼的病理検査においても特記すべき変化は雌雄共に認められなかった。また、検体投与に関連した体重への影響も観察されなかった。

*申請者注: 報告書の表紙に 1986 年 8 月報告と記載されてあるが、同書 2 頁に報告書検閲日が 1987 年 5 月 29 日と記載されてあることから、報告年を 1987 年と判断した。