

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) マウスを用いた発がん性試験

(資料 T-22)

試験機関:

報告書作成年: 1999 年 [GLP 対応]

検体純度:

供試動物: C57BL/10J_{AP}/Alpk マウス、開始時 6~7 週齢、
開始時体重: 雄 18.9~25.0 g、雌 15.8~20.7 g、1 群雌雄各 50 匹

投与期間: 80 週間

投与方法: 検体を 0、50、200 及び 800 ppm の濃度で粉末飼料に混入し、80 週間にわたって自由摂食させた。

投与量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。また、詳細な観察を毎週実施した。

投与 80 週における死亡動物数(切迫屠殺例を含む)及び死亡率を表 T-22-1 に示す。検体投与に関連する死亡率の増加はみられなかった。また、検体投与に関連する一般状態の異常は認められなかった。

表 T-22-1. 死亡率(80 週)

投与量 (ppm)		0	50	200	800
死亡動物数/供試動物数 (死亡率%)	雄	3/50 (6)	7/50 (14)	9/50 (18)	6/50 (12)
	雌	4/50 (8)	5/50 (10)	8/50 (16)	3/50 (6)

Logrank test: 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日本農薬株式会社にある。

体重： 投与開始から 14 週までは毎週 1 回、以降は 4 週間に 1 回の頻度で体重を測定した。投与開始日の体重を共変量とした共分散分析を行い、補正体重を算出した。また投与開始日の体重から各体重測定時点までの累積体重増加量を算出した。統計学的有意差が認められた検査時期の補正体重及び累積体重増加量を表 T-22-2 及び T-22-3 に示す。

800 ppm 群雌雄で試験期間を通して体重及び体重増加量の低値がみられた。その他、体重に対する検体投与の影響はみられなかった。

表 T-22-2. 補正体重

検査時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	200	800	50	200	800
2						↓97
3			↓98			↓96
4						↓96
5			↓98			
6			↓98			↓96
7			↓97			↓97
8			↓97			↓97
9			↓97			
10			↓97			↓98
11			↓97			↓98
12			↓97			
13			↓97			↓98
14			↓97			↓98
16			↓97			↓98
20			↓97			↓97
24			↓97			↓98
28			↓97	↑102		
32			↓97			↓98
36			↓98			↓98
40			↓97			
44			↓96			
48			↓97			↓97
52			↓97			
56			↓97			
60			↓97	↑102		
64				↑102		
68				↑102		
72						↓97
76			↓96	↑102		
80				↑104		
81/82			↓96	↑103		

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

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-22-3. 体重増加量(累積)

検査時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	200	800	50	200	800
2						↓60
3			↓71			↓58
4						↓71
5			↓81			
6			↓87			↓83
7			↓82			↓87
8			↓83			↓90
9			↓82			
10			↓86			↓93
11			↓87			↓90
12			↓86			
13			↓87			↓90
14			↓86			↓91
16			↓87			↓94
20			↓88			↓91
24			↓88			↓94
28			↓90	↑106		
32			↓92			↓95
36			↓93			↓94
40			↓91			
44			↓90			
48			↓90			↓93
52			↓91			
56			↓91			
60			↓91	↑107		
64				↑107		
68				↑107		
72						↓94
76			↓90	↑106		
80				↑110		
81/82			↓89	↑108		

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

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

摂餌量及び食餌効率: 投与開始から 14 週までは毎週 1 回、16 週以降は 4 週間に 1 回の頻度で摂餌量を測定した。また、投与開始後 12 週間にわたって食餌効率を算出した。

統計学的有意差が認められた検査時期の摂餌量及び食餌効率を表 T-22-4 及び T-22-5 に示す。

摂餌量に検体投与による影響はみられなかった。800 ppm 群の雄で 1~4 週及び 1~12 週において食餌効率の低値がみられ、検体投与による影響と考えられた。その他の投与群で食餌効率に対する検体投与の影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-22-4. 摂餌量

検査時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	200	800	50	200	800
11						↓94
14				↓94		
28				↓91		

↓: $p < 0.05$ (Student の t-検定)

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

表 T-22-5. 食餌効率

検査時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	200	800	50	200	800
1~4			↓81			
1~12			↓84			

↓: $p < 0.05$, ↓: $p < 0.01$ (Student の t-検定)

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

検体摂取量: 投与期間中の平均検体摂取量は表 T-22-6 のとおりである。

表 T-22-6. 検体摂取量

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	50	200	800	50	200	800
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	6.6	26.2	108.8	8.8	35.9	144.7

血液学的検査: 最終屠殺時に全生存動物を対象に、心臓から血液を採取し、以下の項目について検査を行った。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球色素濃度、赤血球分布幅(RDW)、血小板数、総白血球数、型別白血球数、血液塗抹標本の観察

統計学的有意差の認められた項目を表 T-22-7 に示す。

800 ppm 群雄で MCH の低下、RDW の増加がみられたが、他に赤血球関連の検査項目で変動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。その他の検査項目に検体投与による影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-22-7. 血液学的検査値

検査項目	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	200	800	50	200	800
MCH			↓98			
RDW			↑103			

↑↓: $p < 0.05$ (Student の t-検定)

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

臓器重量: 最終屠殺時の全生存動物を対象に、以下の臓器重量を測定した。最終体重を共変量とした共分散分析を行い、補正重量を算出した。

脳、副腎、肝臓、腎臓、精巣

統計学的有意差の認められた項目を表 T-22-8 に示す。

800 ppm 群の雄で肝臓の補正重量が増加したが、検体投与との関係を完全に否定できないものの、重量増加に関連する病理組織学的変化が観察されなかったことから、毒性学的意義のない変動と考えられた。また、同群雄の精巣で絶対重量の有意な低下がみられたが、最終体重で補正した重量に有意な変化がみられなかったことから、低体重に起因した検体投与に関連のない偶発的变化と考えられた。その他の臓器重量に変化はみられなかった。

表 T-22-8. 臓器重量

臓器	性別及び投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	50	200	800	50	200	800
最終体重			(96)			
肝臓 補正重量			↑108			
精巣 絶対重量			↓95			

↓: $p < 0.05$ 、↑: $p < 0.01$ (Student の t-検定)

表中の数値は対照群を 100 とした時の値。括弧付きの数値は変動傾向が認められたものを示す。

肉眼的病理検査: 途中死亡及び切迫屠殺動物、並びに最終屠殺時の全生存動物を対象に肉眼的病理検査を行った。

表 T-22-9 に示すように、800 ppm 群雌で胃潰瘍の発生頻度が増加した。その他、検体投与に関連する異常所見はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-22-9. 肉眼的病理所見の発生頻度

臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	50	200	800	0	50	200	800
胃	検査動物数	50	50	50	50	50	49	50	50
	前胃潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	1
	腺胃潰瘍	1	0	0	1	0	0	0	4

申請者注)申請者が有意差検定を行った。Fisher の直接確率検定で有意差なし。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器及び組織について病理標本を作製した。途中死亡及び切迫屠殺動物、並びに対照群及び800 ppm群の全動物については、下記の臓器及び組織について鏡検した。また、全動物を対象に肉眼的異常部位、肺、肝臓及び腎臓を鏡検し、50及び200 ppm群では雄の包皮腺、唾液腺及び坐骨神経、雌の卵巣、脾臓、胃及び子宮を検査した。

脳(大脳、小脳、脳幹)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、骨(大腿骨及び後膝関節)、骨髓(胸骨)、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、心臓、大動脈、唾液腺、食道、胃、肝臓及び胆嚢、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、ハーダー腺、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊腺、包皮腺、卵巣及び卵管、子宮体、子宮頸部、眼球、骨格筋、皮膚(右腹側部)、乳腺(鼠径部、雌のみ)、肉眼的異常部位、腫瘍/腫瘍が疑われる組織及びその周辺組織¹⁾

〔非腫瘍性病変〕

表 T-22-10 に示すように、800 ppm 群雌で胃の炎症及び糜爛の発生頻度が増加し、検体投与に関連する変化と考えられた。その他に認められた所見は、自然発生性の変化で、検体投与に関連のない変化と考えられた²⁾。

1) 申請者注: 原本では tumor と記載されているが、mass(腫瘍)と考えられる。

2) 申請者注: 申請者が各非腫瘍性病変について有意差検定を行った結果、800 ppm 群雌で卵巣の黄体数減少の発生頻度が対照群に比べて統計学的に有意に増加した(表 T-22-10 参照)。しかし、対照マウスにも認められる自然発生病変であり、この変化に関連する組織学的な変化が本試験では認められず、さらに、より高用量で追加実施されたマウス発がん性試験(資料 T-23)において同様の変化は観察されなかった。以上のことから、800 ppm 群雌で観察された黄体数減少の発生頻度増加は偶発的な変化であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-22-10. 胃及び卵巣に認められた非腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)								
			雄				雌				
			0	50	200	800	0	50	200	800	
全動物	検査動物数		50	9 ¹⁾	9 ¹⁾	50	50	49	50	50	
	前胃	炎症	軽微	1	0	0	2	0	1	2	3
			軽度	2	0	0	3	2	1	2	4
			中等度	0	0	0	0	2	0	0	1
	前胃	糜爛	軽微	0	0	0	0	0	1	0	1
			軽度	1	0	0	2	2	0	2	4
			中等度	2	0	0	0	1	0	0	2
	腺胃	炎症	軽微	0	0	0	2	1	0	0	0
	卵巣	黄体数の減少						19	27	24	31*

1) 途中死亡/切迫屠殺動物を対象に検査を実施。

申請者注) 申請者が有意差検定を行った。*: $p < 0.05$ (Fisher の直接確率検定)

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変の発生頻度を表 T-22-11 に示す。

担腫瘍動物数に検体投与に関連した変化はみられなかった。また、検体投与に関連して特定の腫瘍の発生頻度が増加することはなかった。

以上のように、ピコキシストロビン原体をマウスに 80 週間混餌経口投与したところ、800 ppm 群雌雄で体重及び体重増加量、雄で食餌効率の低値がみられた。病理組織学的検査において、800 ppm 群雌雄で、前胃の炎症及び糜爛の発生頻度が増加した。従って、本試験における無毒性量 (NOAEL) は、雌雄ともに 200 ppm (雄 26.2 mg/kg/日、雌 35.9 mg/kg/日) と判断された。また、マウスにおける発がん性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-22-11. 腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)							
			雄				雌			
			0	50	200	800	0	50	200	800
死亡／切迫屠殺	ハート線	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	4	8	9	7	5	5	9	3
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	リンパ細網系	検査動物数	1	5	6	3	4	3	5	3
		リンパ肉腫 (M)	1	5	6	3	3	3	4	3
		組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	1	0
	脊髄	検査動物数	4	8	9	7	5	5	9	3
		良性神経膠腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	子宮	検査動物数					5	5	9	3
		内膜間質ポリープ (B)					1	0	0	0
	血管系	検査動物数	0	0	0	2	0	0	1	0
血管肉腫 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0	
副腎	検査動物数	46	1	0	43	43	1	0	47	
	皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
眼球	検査動物数	46	2	2	43	45	3	2	47	
	ハート腺腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	1	
ハート腺	検査動物数	0	0	1	0	0	0	1	0	
	腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	1	0	
肝臓	検査動物数	46	42	41	43	45	44	41	47	
	肝細胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
肺	検査動物数	46	42	41	43	45	44	41	47	
	腺腫 (B)	1	1	2	1	0	0	1	0	
	腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
リンパ細網系	検査動物数	9	8	6	8	9	13	13	5	
	リンパ肉腫 (M)	7	5	6	7	6	9	11	4	
	組織球肉腫 (M)	2	3	0	1	3	4	2	1	
下垂体	検査動物数	46	0	0	39	45	1	0	47	
	腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1	
皮膚	検査動物数	46	1	0	43	45	4	8	47	
	血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
皮下組織	検査動物数	0	0	1	0	1	1	2	0	
	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
精巣	検査動物数	44	1	0	43					
	間細胞腫 (B)	1	0	0	0					

Fisher の直接確率検定、Cochran-Armitage の傾向検定：有意差なし

(B)： 良性腫瘍、(M)： 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 T-22-11. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)							
			雄				雌			
			0	50	200	800	0	50	200	800
最終屠殺	甲状腺	検査動物数	42	0	0	35	43	0	0	41
		濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮	検査動物数	/				45	44	41	47
		血管腫 (B)					0	0	1	0
		血管肉腫 (M)					0	1	0	0
		脱落膜腫 (B)					0	0	0	1
	内膜間質ポリープ (B)	1	0	0	0					
全動物	副腎	検査動物数	50	9	9	50	48	6	9	50
		皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	眼球	検査動物数	50	10	11	50	50	8	11	50
		ハート腺腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	1
	ハート腺	検査動物数	0	0	1	1	0	0	1	0
		腺腫 (B)	0	0	1	1	0	0	1	0
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	49	50	50
		肝細胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	1
	肺	検査動物数	50	50	50	50	50	49	50	50
		腺腫 (B)	1	1	2	1	0	0	1	0
		腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ細網系	検査動物数	10	13	12	11	13	16	18	8
		リンパ肉腫 (M)	8	10	12	10	9	12	15	7
		組織球肉腫 (M)	2	3	0	1	4	4	3	1
	下垂体	検査動物数	46	6	7	42	46	6	7	50
		腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1
	皮膚	検査動物数	50	9	9	50	50	9	17	50
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脊髄	検査動物数	50	8	9	50	50	5	9	50
		良性神経膠腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮下組織	検査動物数	0	0	2	0	2	1	3	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	検査動物数	48	9	9	50	/			
間細胞腫 (B)		1	0	0	0					

Fisher の直接確率検定、Cochran-Armitage の傾向検定: 有意差なし

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-22-11. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)							
			雄				雌			
			0	50	200	800	0	50	200	800
全動物	甲状腺	検査動物数	46	6	7	42	48	5	7	44
		濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮	検査動物数	/				50	49	50	50
		血管腫 (B)					0	0	1	0
		血管肉腫 (M)					0	1	0	0
		脱落膜腫 (B)					0	0	0	1
		内膜間質ポリープ (B)					2	0	0	0
	血管系	検査動物数	0	0	0	2	0	0	1	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	合計	担腫瘍動物数	検査動物数	50	50	50	50	50	49	50
総数			12	14	15	16	16	16	22	11
良性腫瘍			2	1	4	4	4	0	3	3
悪性腫瘍			11	13	12	12	14	16	19	8
単一腫瘍			11	14	14	15	14	15	22	10
複数腫瘍			1	0	1	1	2	1	0	1
複数良性腫瘍			1	0	0	0	0	0	0	0
複数悪性腫瘍			0	0	0	1	0	1	0	1

Fisher の直接確率検定、Cochran-Armitage の傾向検定：有意差なし

(B)： 良性腫瘍、(M)： 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) マウスを用いた発がん性試験

(資料 T-23)

試験機関:

報告書作成年: 2011 年 [GLP 対応]

検体純度:

供試動物: ICR 系 [Crj: CD1] マウス、開始時 6 週齢、開始時体重; 雄 28.6~38.6 g、
雌 22.2~30.0 g、1 群雌雄各 60 匹

投与期間: 78 週間

投与方法: 検体を 0、100、600、2400 及び 4800 ppm の濃度で粉末飼料に混入し、78 週間にわたって自由摂食させた。混餌飼料は 2 週間ごとに調製した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日 2 回観察し、詳細な観察を毎週実施した。

投与終了時における生存率を表 T-23-1 に示す。

2400 及び 4800 ppm 群雄の生存率が対照群に比べ有意に高かったが、生存率の上昇は偶発的な変化と考えられた。

一般状態観察において、雌雄ともにいずれの投与群においても検体投与の影響と考えられる所見はみられなかった。触診可能な腫瘤が少数例にみられたが、その発生に投与量との関連がみられず、検体投与に関連のない偶発的な発生と考えられた。

表 T-23-1. 生存率

性別	雄					雌				
	0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
投与量 (ppm)	0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
生存率 (%)	72	68	78	83 [#]	93 ^{#b}	78	85	80	72	75

b : p<0.05 (logrank and multiple Mann-Whitney test)

: p<0.05 (Cochran-Armitage の傾向検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

体重： 全ての動物の体重を投与開始から 13 週までは毎週 1 回、それ以降は 2 週間に 1 回測定した。また、体重増加量を算出した。
 対照群と比較して統計学的有意差がみられた検査時期の体重を表 T-23-2 に示す。
 また、統計学的有意差はみられなかったが、投与 77 週の体重ならびに投与 0~77 週の体重増加量を同表に示す。

表 T-23-2. 体重及び体重増加量

検査項目	検査時期 (週)	性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		100	600	2400	4800	100	600	2400	4800
体重	5							↑105	↑104
	31				↓95				
	37			↓95	↓95				
	41				↓95				
	77	97	103	97	97	94	95	95	94
体重 増加量	0~77	93	109	96	92	83	85	88	86

↑↓ : p<0.05、↑ : p<0.01 (Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

2400 及び 4800 ppm 群の雌雄で投与 5、31、37 あるいは 41 週に体重の低値又は高値がみられたが、持続性のない変化であり検体投与に関連した変化ではないと考えられた。雌雄ともに全ての投与群で多くの測定期間に体重増加量の低値又は高値がみられたが、いずれも投与量との関連がなく、持続性がなかったため、検体投与に関連のない偶発的な変化と考えられた。

摂餌量及び食餌効率： 投与開始から 13 週までは毎週 1 回、それ以降は 2 週間に 1 回摂餌量を測定した。また、食餌効率も算出した。

対照群と比較して有意差がみられた検査時期の摂餌量を表 T-23-3 に示す。また、統計学的有意差はみられなかったが、投与 0~77 週の食餌効率を同表に示す。
 全ての投与群で多くの測定期間に摂餌量あるいは食餌効率の低値又は高値がみられたが、いずれも投与量との関連がなく、持続性がなかったため、検体投与に関連のない偶発的な変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-3. 摂餌量及び食餌効率

検査項目	検査時期(週)	性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		100	600	2400	4800	100	600	2400	4800
摂餌量	0~1	↓96	↓94	↓94	↓93				
	1~2		↓94	↓94	↓93		↑106	↑106	↑106
	4~5					↓93	↓84	↓93	
	11~12				↓94				↓93
	12~13			↓96	↓94				
	15~17						↑107	↑115	↑115
	17~19					↓95			
	21~23							↑109	↑107
	27~29								↑107
	29~31							↑107	↑105
	31~33								↑108
	33~35							↑108	↑109
	37~39							↑106	↑108
	45~47							↑112	
	51~53					↑108		↑110	
	63~65								↓93
	67~69							↑111	
	69~71					↑107		↑113	
71~73							↑111		
73~75							↑109		
0~77		98	100	100	100	100	100	↑104	102
食餌効率	0~77	100	114	100	100	86	86	86	86

↑↓ : $p < 0.05$, ↑↓ : $p < 0.01$ (Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

検体摂取量: 投与期間中の平均検体摂取量は表 T-23-4 のとおりである。

表 T-23-4. 検体摂取量

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	100	600	2400	4800	100	600	2400	4800
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	12.1	70.8	293.3	583.2	16.4	98.6	411.5	799.3

血液学的検査: 全ての動物について投与 53 週に尾静脈から、投与 78 週に後大静脈から血液を採取して血液塗抹標本を作製し、対照群及び 4800 ppm 群について 78 週の標本を鏡検し白血球百分率を求めた。

投与 78 週時において 4800 ppm 群雌の好中球及びリンパ球の比率に統計学的に有意な変動がみられた(表 T-23-5)。加齢マウスの白血球百分率は変動しやすいことが知られており、本試験においても対照群及び 4800 ppm 群の好中球及びリン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

パ球的比率に個体値のばらつきがみられ、標準偏差はいずれも大きかった。4800 ppm 群雌の好中球の比率は、平均値で対照群に比べ低かったが、個体値の上限では対照群より高かった。また、4800 ppm 群のリンパ球の比率は、平均値で対照群に比べ高かったが、個体値の下限では対照群より低かった。したがって、4800 ppm 群雌の好中球及びリンパ球の比率の変動は、加齢に伴う正常な範囲内にあり、検体投与に関連した影響ではないと考えられた。

表 T-23-5. 雌動物の好中球及びリンパ球の比率(投与 78 週時)

投与量 (ppm)		0	4800
検査動物数		47	45
好中球の比率 (%)	平均値 ± 標準偏差	44.2 ± 15.0	↓36.6 ± 15.0
	個体値範囲	23~74	9~80
リンパ球の比率 (%)	平均値 ± 標準偏差	53.1 ± 14.7	↑61.1 ± 14.5
	個体値範囲	24~76	19~87

↑↓: $p < 0.05$ (Dunnett's test 又は Dunn's Rank Sum test)

眼科学的検査: 投与開始前の全動物及び投与終了時の全生存動物について検査した。
検体投与に関連する変化はみられなかった。

臓器重量: 全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比、対脳重量比を算出した。

脳、副腎、肝臓/胆嚢、腎臓、心臓、脾臓、副腎、甲状腺、精巣、精巣上体、卵巣、子宮

対照群と比較して統計学的有意差のみられた項目を表 T-23-6 に示す。

4800 ppm 群の雌雄で肝臓重量及び対体重比、雌で脳重量比の有意な増加が認められ、2400 ppm 群雌で肝臓の対体重比が有意に高かった。雄では肝臓重量増加に関連した病理組織学的変化はみられなかったが、4800 ppm 群の雌で肝細胞肥大の発生頻度が高かった。肝細胞肥大の発生頻度増加は、検体投与に起因した薬物代謝酵素誘導に伴った変化を示唆するものと考えられ、肝臓重量の増加は検体投与に関連した毒性影響ではなく、適応性の変化と判断された。

全ての投与群の雌で心臓の対体重比、2400 及び 4800 ppm 群の雌で腎臓の対体重比、さらには 100、2400 及び 4800 ppm 群の雌で副腎の対体重比がそれぞれ有意に増加した。しかしながら、絶対重量及び脳重量比に変化がなく、重量増加に投与量との関係がみられず、病理組織学的変化を伴わない変化であり、さらには雄ではこれらの変化がみられないことから、検体投与に関連のない変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-6. 臓器重量

臓器		性別及び投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		100	600	2400	4800	100	600	2400	4800
肝臓	絶対重量				↑120				↑125
	対体重比				↑122			↑126	↑131
	対脳重量比								↑126
心臓	対体重比		↓94			↑110	↑110	↑111	↑107
腎臓	対体重比							↑110	↑109
副腎	対体重比					↑119		↑116	↑117

↑↓: p<0.05, ↑: p<0.01 (Dunnett's test, Dunn's Rank Sum test)

表中の数値は対照群を 100 とした時の値

肉眼的病理検査: 死亡及び切迫屠殺動物、並びに投与終了時の全生存動物について剖検を行った。発生頻度が増加した肉眼的病理所見を表 T-23-7 に示す。

2400 及び 4800 ppm 群の雄で肝臓の腫瘤又は結節の発生頻度が高かった。その多くが肝細胞腺腫/癌に相当しており、これら腫瘍の発生に関しては後で考察する。

その他、腎臓の嚢胞、精嚢の腫大及び子宮頸部の拡張の発生頻度増加については、用量相関性を伴わず、臓器重量の変動又は病理組織学的検査で対応する病変が認められなかったことから、検体投与に関連のない偶発的な変化と考えられた。その他、検体投与に関連する異常所見は認められなかった。

表 T-23-7. 肉眼的病理所見の発生頻度

臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
		雄					雌				
		0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
肝臓	腫瘤 ¹⁾	11	10	13	20	16	1	1	2	1	0
	結節 ¹⁾	3	2	7	5	9	0	1	2	2	2
腎臓	嚢胞	6	11	12	10	13	1	4	10	1	2
精嚢	腫大	14	25	27	24	22					
子宮頸部	拡張						19	25	20	27	27

統計処理未実施

1) 肝臓に腫瘤あるいは結節が観察された動物数は申請者が集計した。

病理組織学的検査: 肉眼的病理検査を実施後、途中死亡動物、切迫屠殺動物ならびに対照群及び 4800 ppm 群の全動物を対象に、以下の臓器及び組織について病理標本を作製し鏡検した。100、600 及び 2400 ppm 群は、雌雄全動物の肉眼的異常部位、雄の肝臓、十二指腸及び胃、ならびに雌の肝臓について病理標本を作製し鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

脳(大脳、小脳、延髄／橋)、脊髓(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、胸腺、骨格筋、骨(大腿骨及び膝関節)、胸骨、骨髓(大腿骨、胸骨)、パイル板、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、心臓、大動脈、唾液腺、食道、胃、肝臓／胆嚢、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、鼻(3 部位)、咽頭／喉頭、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣及び卵管、子宮(頸部含む)、膺、眼球(網膜及び視神経)、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

対照群と比較して発生頻度が統計学的に有意に増加した非腫瘍性病変を表 T-23-8 に示す。

2400 及び 4800 ppm 群の雄で十二指腸の粘膜過形成の発生頻度が増加した(4800 ppm 群のみ Cochran-Armitage の傾向検定で有意)。Fisher の直接確率検定及び生存率で補正した検定(Poly-3 及び Peto の検定)では統計学的有意差はみられなかったが、本所見の重症度に用量相関性がみられることから、検体投与に関連した影響と考えられた。また、2400 及び 4800 ppm 群の雄で粘膜過形成に伴って粘液腺の拡張が観察され(4800 ppm 群のみ Cochran-Armitage の傾向検定で発生頻度の有意な増加)、検体投与による影響と考えられた。

4800 ppm 群雌で小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が有意に増加し(Cochran-Armitage の傾向検定及び Fisher の直接確率検定)、検体投与に起因した変化と考えられた。雄ではいずれの投与群でも肝細胞肥大の発生頻度に変化はみられなかった。肥大した肝細胞では細胞質が増えており、核の大きさに変化はなかった。肝臓毒性を示す病理組織学的変化は観察されず、肝細胞肥大の発生頻度及び重症度の増加は生体異物暴露に対する薬物代謝酵素誘導を伴った適応性の変化と考えられた。

4800 ppm 群雄の肝臓で混合型変異肝細胞巣の発生頻度が有意に増加した(Cochran Armitage 傾向検定)が、Fisher の直接確率検定及び生存率で補正した検定(Poly-3 又は Peto の検定)で有意でなかったことから、高い生存率に起因した二次的な変化と考えられた。

2400 ppm 群雄で認められた腺胃粘膜過形成及び精巣上体の精子減少症の発生頻度の変動は、投与量との関連がみられないあるいは発生頻度の減少であり、検体投与に関連のない偶発的な変化と考えられた。

T-23-8. 非腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
全動物	十二指腸	検査動物数	50	58	54	59	58	56	7 ¹⁾	12 ¹⁾	13 ¹⁾	58
		粘膜過形成	3	3	1	6	10 [#]	5	0	2	5	7
		軽微	2	1	0	1	1	1	0	1	1	1
		軽度	1	1	0	2	4	4	0	0	4	6
		中等度	0	1	1	3	2	0	0	1	0	0
		重度	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
		粘液腺拡張	2	2	0	5	7 [#]	2	0	2	3	5
		軽微	2	0	0	4	5	2	0	0	2	3
		軽度	0	2	0	1	2	0	0	2	1	2
		検査動物数	58	59	60	60	60	60	60	60	60	60
	肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	2	2	1	2	2	2	0	3	5	28 ^{*#}
		軽微	0	2	0	2	2	2	0	3	5	26
		軽度	2	0	1	0	0	0	0	0	0	2
	混合型変異肝細胞巣	1	0	3	1	7 [#]	0	0	0	0	1	
	胃	検査動物数	53	58	58	59	58	57	11 ¹⁾	13 ¹⁾	14 ¹⁾	60
		腺胃粘膜過形成	10	22	22	26 [*]	18	10	2	5	5	4
		軽微	4	8	6	11	4	3	0	1	0	1
		軽度	3	9	6	5	9	3	0	2	5	3
		中等度	3	5	7	8	4	2	1	2	0	0
		重度	0	0	3	2	1	2	1	0	0	0
精巣 上体	検査動物数	58	21 ¹⁾	15 ¹⁾	15 ¹⁾	60	/	/	/	/	/	
	精子減少症(両側性)	11	1	1	3	3 [*]	/	/	/	/	/	
	軽微	1	0	0	0	0	/	/	/	/	/	
	軽度	0	0	0	0	1	/	/	/	/	/	
	中等度	4	0	0	1	0	/	/	/	/	/	
	重度	6	1	1	2	2	/	/	/	/	/	

*: p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

#: p<0.05 (Cochran-Armitage の傾向検定)

生存率で補正した検定(Poly-3 test 及び Peto の検定): 有意差なし

1) 途中死亡/切迫屠殺動物ならびに肉眼的異常がみられた最終生存動物について検査を実施。

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変の発生頻度を T-23-10 に示す。また、発生頻度の有意な増加が認められた雄の肝細胞腫瘍の発生頻度を表 T-23-9 に示す。

4800 ppm 群の雄で肝細胞腺腫の発生頻度が増加し、担肝細胞腫瘍動物数が高かった(いずれも Cochran-Armitage の傾向検定で有意)。しかしながら、Fisher の直接確率検定及び生存率で補正した検定(Poly-3 又は Peto の検定)で統計学的有意差はみられず、肝細胞腺腫の multiplicity(複数の肝細胞腺腫がみられた動物数)に明らかな増加はみられなかった。また、肝細胞癌の発生頻度には変化がなく、検体投与による肝細胞腺腫から肝細胞癌への進行の促進は認められなかった。通常、マウスにおける自然発生性の肝細胞腫瘍は加齢に伴い発生頻度が高くなる

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

と考えられており、本試験でも肝細胞腫瘍の多くが最終屠殺動物で観察された。したがって、肝細胞腫瘍の発生頻度の増加は投与終了時点における高い生存率に起因した二次的な変化と考えられた。

表 T-23-9. 雄の肝細胞腫瘍の発生頻度

検査時期	全動物					最終屠殺動物				
	0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
投与量(ppm)										
動物数	60	60	60	60	60	43	41	47	50	56
生存率(%)	72	68	78	83 [#]	93 ^{#b}					
検査動物数	58	59	60	60	60	43	41	47	50	56
肝細胞腺腫	6	5	9	9	13 [#]	6	3	8	7	13
肝細胞癌	6	6	6	12	9	5	5	4	10	9
担肝細胞腫瘍動物	12	11	15	20	19 [#]	11	8	12	17	19

#: $p < 0.05$ (Cochran-Armitage の傾向検定)

b: $p < 0.05$ (logrank and multiple Mann-Whitney test)

Fisher の直接確率検定、生存率で補正した検定(Poly-3 test 及び Peto の検定): 有意差なし

以上のように、ピコキシストロビン原体をマウスに78週間混餌経口投与したところ、2400及び4800 ppm 群雄で十二指腸の粘膜過形成及び粘液腺拡張の発生頻度が増加した。4800 ppm 群の雌で肝臓重量の増加及び小葉中心性肝細胞肥大の発生増加が認められたものの、これらの変化は悪影響とは考えられなかった。従って、本試験における無毒性量(NOEL)は、雄で600 ppm(70.8 mg/kg/日)、雌で4800 ppm(799.3 mg/kg/日)と判断された。また、マウスにおける発がん性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
死亡/切迫屠殺	副腎	検査動物数	14	17	12	10	4	12	9	12	17	15
		皮質腺腫 (B)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	脳	検査動物数	15	19	12	10	4	11	9	12	17	15
		髄膜肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	大腿骨	検査動物数	17	19	13	10	4	12	9	12	17	15
		骨腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	検査動物数	17	19	13	10	4	12	9	12	17	15
		肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	15	18	13	10	4	12	9	12	17	15
		肝細胞腺腫 (B)	0	2	1	2	0	0	0	0	1	0
		肝細胞癌 (M)	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1
	肺	検査動物数	15	19	13	10	4	12	9	12	17	15
		細気管支肺胞腺腫 (B)	0	2	2	1	0	0	0	2	0	1
		細気管支肺胞癌 (M)	0	3	1	0	1	1	2	0	1	0
	乳腺	検査動物数	/					11	9	12	17	15
		腺癌 (M)						1	1	0	1	3
	卵巢	検査動物数	/					11	9	11	16	14
		悪性顆粒膜細胞腫 (M)						0	0	0	1	0
	咽頭/喉頭	検査動物数	13	19	13	10	4	12	9	12	17	15
		骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚	検査動物数	15	18	13	10	4	12	9	12	17	15
		線維性組織球腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
骨肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
脾臓	検査動物数	12	19	13	10	4	11	9	12	17	15	
	血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	

Fisher の直接確率検定: 有意差なし(申請者が有意差検定を行った)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

検査動物数及び腫瘍性病変の発生頻度は申請者が集計した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
死亡 / 切 迫 屠 殺	胃	検査動物数	10	17	11	9	2	9	9	12	14	15
		前胃乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	子宮 体	検査動物数	/					11	9	12	17	15
		平滑筋腫 (B)						0	0	0	1	0
		内膜間質癌 (M)						0	1	0	0	0
	膀胱	検査動物数	14	18	11	10	4	11	9	12	16	14
		移行上皮癌 (M)	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	全身 性	検査動物数	17	19	13	10	4	12	9	12	17	15
		組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
		悪性リンパ腫 (M)	8	4	1	3	1	5	2	3	7	7
	肛 門	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	尾	検査動物数	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0
		線維性組織球腫(B)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率検定: 有意差なし(申請者が有意差検定を行った)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

検査動物数及び腫瘍性病変の発生頻度は申請者が集計した。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
最終屠殺	副腎	検査動物数	43	0	0	2	56	48	0	1	0	45
		被膜下細胞腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		良性褐色細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	脳	検査動物数	43	0	0	0	56	48	0	0	0	45
		髄膜肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	子宮頸部	検査動物数						48	1	2	2	45
		平滑筋腫 (B)						1	0	1	1	0
	十二指腸	検査動物数	43	41	47	50	56	48	0	0	1	45
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巢上体	検査動物数	43	2	3	5	56					
		間細胞腫 (B)	1	0	0	0	0					
	腎臓	検査動物数	43	41	47	50	56	48	5	8	2	45
		尿細管腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		尿細管癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	43	41	47	50	56	48	51	48	43	45
		肝細胞腺腫 (B)	6	3	8	7	13	0	0	1	0	0
		肝細胞癌 (M)	5	5	4	10	9	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
		血管肉腫 (M)	2	1	1	2	2	0	1	1	0	0
	肺	検査動物数	43	13	18	16	56	48	6	13	9	45
		細気管支肺胞腺腫(B)	9	9	10	8	8	3	3	7	9	3
		細気管支肺胞癌 (M)	4	2	5	4	3	1	0	3	2	1
	乳腺	検査動物数						48	0	0	2	45
		腺癌 (M)						2	0	0	2	0

Fisher の直接確率検定: 有意差なし(申請者が有意差検定を行った)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

検査動物数及び腫瘍性病変の発生頻度は申請者が集計した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
最終屠殺	卵巣	検査動物数	/					48	36	36	35	45
		良性顆粒膜細胞腫(B)						1	0	0	0	0
		悪性顆粒膜細胞腫(M)						1	0	0	0	1
		黄体腫 (B)						2	0	0	1	2
		管状間質腺癌 (M)						0	0	1	0	0
	皮膚	検査動物数	43	5	3	3	56	48	7	3	3	45
		線維性組織球腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		乳頭腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	脾臓	検査動物数	43	4	4	2	56	48	9	6	8	45
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
	胃	検査動物数	43	41	47	50	56	48	2	1	0	45
		前胃乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	検査動物数	43	4	1	2	56	/				
		間細胞腫 (B)	0	2	0	0	1					
	子宮体	検査動物数	/					48	27	27	26	45
		血管腫 (B)						0	0	1	0	0
		平滑筋腫 (B)						0	2	2	1	2
		平滑筋肉腫 (M)						1	4	0	1	1
		内膜間質ホリ-ブ (B)						3	2	3	1	3
		内膜間質癌 (M)						0	0	1	0	1
膣	検査動物数	/					48	0	0	0	45	
	線維腫 (B)						1	0	0	0	0	
膀胱	検査動物数	43	0	4	3	56	48	0	0	0	45	
	平滑筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	

Fisher の直接確率検定: 有意差なし(申請者が有意差検定を行った)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

検査動物数及び腫瘍性病変の発生頻度は申請者が集計した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
最終屠殺	全身性	検査動物数	43	2	2	0	56	48	1	1	2	45
		組織球肉腫 (M)	0	0	1	0	0	1	1	0	1	2
		悪性リンパ腫 (M)	0	2	1	0	1	2	0	1	1	2
	凝固腺	検査動物数	1	0	0	2	0					
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0					
	ハート腺	検査動物数	0	0	2	1	3	2	0	1	1	0
		腺腫 (B)	0	0	1	1	2	1	0	0	0	0
	尾	検査動物数	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
		線維性組織球腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率検定: 有意差なし(申請者が有意差検定を行った)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

検査動物数及び腫瘍性病変の発生頻度は申請者が集計した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
全動物	副腎	検査動物数	57	17	12	12	60	60	9	13	17	60
		皮膜下細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		皮質腺腫 (B)	0	0	1	1	3	0	0	0	0	0
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		良性褐色細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	脳	検査動物数	58	19	12	10	60	59	9	12	17	60
		髄膜肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	十二指腸	検査動物数	50	58	54	59	58	56	7	12	13	58
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣上体	検査動物数	58	21	15	15	60					
		間細胞腫 (B)	1	0	0	0	0					
	子宮頸部	検査動物数						59	10	14	19	60
		平滑筋腫 (B)						1	0	1	1	0
	大腿骨	検査動物数	60	19	14	10	60	60	9	13	17	60
		骨腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	検査動物数	60	19	13	10	60	60	9	12	17	60
		肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	58	30	24	23	60	60	14	20	19	60
		尿細管腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		尿細管癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	58	59	60	60	60	60	60	60	60	60
		肝細胞腺腫 (B)	6	5	9	9	13 [#]	0	0	1	1	0
		肝細胞癌 (M)	6	6	6	12	9	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
		血管肉腫 (M)	2	2	2	4	2	0	1	1	0	1

#: p<0.05 (Cochran-Armitage の傾向検定)

Fisher の直接確率検定: 有意差なし

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
全動物	肺	検査動物数	58	32	31	26	60	60	15	25	26	60
		細気管支肺胞腺腫 (B)	9	11	12	9	8	3	3	9	9	4
		細気管支肺胞癌 (M)	4	5	6	4	4	2	2	3	3	1
	乳腺	検査動物数	/					59	9	12	19	60
		腺癌 (M)						3	1	0	3	3
	卵巢	検査動物数	/					59	45	47	51	59
		良性顆粒膜細胞腫 (B)						1	0	0	0	0
		悪性顆粒膜細胞腫 (M)						1	0	0	1	1
		黄体腫 (B)						2	0	0	1	2
		管状間質腺癌 (M)						0	0	1	0	0
	咽頭/	検査動物数	56	19	13	10	60	60	9	12	17	60
	喉頭	骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚	検査動物数	58	23	16	13	60	60	16	15	20	60
		線維性組織球腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		乳頭腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	脾臓	検査動物数	55	23	17	12	60	59	18	18	25	60
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	1	2	0	0	1
胃	検査動物数	53	58	58	59	58	57	11	13	14	60	
	前胃乳頭腫 (B)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
	腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
精巣	検査動物数	56	23	13	12	60	/					
	間細胞腫 (B)	0	2	0	0	1						

Cochran-Armitage の傾向検定、Fisher の直接確率検定：有意差なし

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-23-10. 腫瘍性病変の発生頻度(つづき)

検査時期	臓器	所見	性別及び投与量 (ppm)									
			雄					雌				
			0	100	600	2400	4800	0	100	600	2400	4800
全動物	子宮体	検査動物数	/					59	36	39	43	60
		血管腫 (B)						0	0	1	0	0
		平滑筋腫 (B)						0	2	2	2	2
		平滑筋肉腫 (M)						1	4	0	1	1
		内膜間質ホリープ (B)						3	2	3	1	3
		内膜間質癌 (M)						0	1	1	0	1
	膣	検査動物数	/					60	9	12	17	59
		線維腫 (B)						1	0	0	0	0
	膀胱	検査動物数	57	18	15	13	60	59	9	12	16	59
		平滑筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		移行上皮癌 (M)	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	全身性	検査動物数	60	21	15	10	60	60	10	13	19	60
		組織球肉腫 (M)	0	0	1	0	0	2	1	1	2	2
		悪性リンパ腫 (M)	8	6	2	3	2	7	2	4	8	9
	肛門	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	凝固腺	検査動物数	1	0	1	3	0	/				
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0					
	ハタゲ腺	検査動物数	0	0	2	1	3	2	0	1	1	0
		腺腫 (B)	0	0	1	1	2	1	0	0	0	0
	尾	検査動物数	1	0	1	3	0	0	0	1	1	0
		線維性組織球腫 (B)	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	合計	担腫瘍動物数 ¹⁾	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60
			総数	35	31	31	37	36	27	20	25	31
良性腫瘍			18	18	20	23	25	12	7	17	16	11
悪性腫瘍			23	18	17	20	19	17	13	11	19	20
単一腫瘍			25	22	23	25	25	23	19	19	22	22
複数腫瘍			10	9	8	12	11	4	1	6	9	7

Cochran-Armitage の傾向検定、Fisher の直接確率検定：有意差なし

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

1) 担腫瘍動物数は申請者が集計した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性

① ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 T-24)

試験機関:

報告書作成年: 1998 年 [GLP 対応]

検体純度:

供試動物: Wistar 系 [Alpk: AP_rSD] ラット、開始時 5 週齢、
開始時体重: 雄 102~153 g、雌 87~133 g、1 群雌雄各 26 匹

投与期間: P 世代: 交配前育成期間 10 週間ならびに交配、妊娠及び哺育期間
F1 世代: 交配前育成期間 10 週間ならびに交配、妊娠及び哺育期間

投与方法: 検体を 50、200 及び 750 ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂取させた。
なお、対照群には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与量設定根拠:

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を表 T-24-1 にまとめて示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-24-1. 交配・調整・選抜及び観察・検査の概要

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成 (10)		一般状態、生死を毎日観察 体重、摂餌量を週 1 回測定
	交配	雌雄 1 対 1 で 1 交配。交配は 腔垢中の精子で確認 (妊娠 1 日)	交配状況の観察 (交尾に要する期間、交尾 率)
	妊娠 (3)		妊娠 1、8、15、22 日に体重を測定
	出産 ………	……………	出産状況の観察 (哺育 1 日) 生存産児数、死産児数、外表異常、性別
	哺育 (4)		哺育 1、5、8、11、15、22、29 日に母動物の 体重測定 児動物の一般状態、生死を毎日観察 哺育 1、5、8、11、15、22、29 日に児動物の 体重測定、死亡児の肉眼的病理検査
…… F1	離乳 ………	哺育 29 日 …………… 継代用動物として、各群雌 雄 26 匹を選抜 (可能な限り 最初の 1 週間に出産がみら れた腹から雌雄 1 又は 2 匹ず つ)	親動物の臓器重量測定及び肉眼的・病理組 織学的検査。 継代用以外の児動物を屠殺して肉眼的病理 検査、各性 5 匹を対象に臓器重量測定及び 病理組織学的検査。
	育成 (10)		(P 世代に準ずる)
	交配	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3)		(P 世代に準ずる)
	出産 ………	……………	(P 世代に準ずる)
	哺育 (4)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
…… F2	離乳 ………	(F1 世代に準ずる)	(F1 世代に準ずる) 離乳後に屠殺して肉眼的病理検査、各性 10 匹を対象に臓器重量測定及び病理組織学 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日本農薬株式会社にある。

親動物

一般状態及び生死：投与期間中、全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。体重測定の際には動物を手に取り、詳細に観察した。

体重：雄親動物では、育成期間中、体重を毎週測定した。雌親動物では、育成期間は毎週、繁殖期間中は妊娠 1、8、15 及び 22 日、哺育 1、5、8、11、15、22 及び 29 日に測定した。育成期間の体重について、開始時の体重を共変量とした共分散分析を行い、補正体重を算出した。また、娠期間及び哺育期間の体重について、それぞれ妊娠 1 日及び哺育 1 日の体重を共変量とした共分散分析を行い、補正体重を算出した。

摂餌量：育成期間を通じて摂餌量を測定し、週ごとに 1 日当たりの摂餌量を算出した。また、1～4、5～7、8～10 及び 1～10 週の食餌効率を算出した。

交配及び妊娠の確認：同群の雌と雄を 1 対 1 で同居させ交配を行った。F1 世代については兄妹交配を避けた。同居開始の翌朝から膣垢中の精子の有無で交尾を確認し、精子の認められた日を妊娠 1 日とした。

繁殖性に関する指標：交配、妊娠及び哺育の各期間に以下の指標について調べた。

交尾所要日数(日)：同居開始から交尾までに要した日数

正常出産率(%) = 正常出産雌数 / 交配に用いた雌数 × 100

妊娠期間(日)：交尾成立日から分娩完了までの期間

平均生存児数：1 腹当たりの平均生存児数

全同腹児損失率(%) = 哺育期間中に全ての児動物が死亡した雌数 / 正常出産雌数 × 100

肉眼的病理検査：死亡動物及び切迫屠殺動物について肉眼的病理検査を行った。また、児動物の離乳後、全生存親動物について肉眼的病理検査を行った。

臓器重量：全生存親動物について、肝臓、精巣及び精巣上体の重量を測定した。最終体重を変量とした共分散分析を行い、補正重量を算出した。

病理組織学的検査：対照群及び 750 ppm 群の全ての親動物並びに交尾が成立しなかった 50 及び 200 ppm 群の親動物を対象に、以下の組織について病理標本作製し、検鏡した。また、全ての親動物を対象に、肉眼的異常部位について同様に検鏡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

精巢、精巢上体、精囊・凝固腺、前立腺、卵巣、子宮(体部及び頸部)、陰、下垂体、
肝臓、乳腺

児動物

一般状態及び生死： 哺育期間を通じて全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

産児数： 出産日(哺育1日)に腹ごとに生存児数と死亡児数を数え、各児動物の性別を記録した。

生存率： 哺育1日及び22日の生存率(%)を算出した。

$$\text{生存率(哺育1日)}(\%) = \frac{\text{生存児数}}{\text{生存児数} + \text{死亡児数}} \times 100$$

$$\text{生存率(哺育22日)}(\%) = \frac{\text{哺育22日の生存児数}}{\text{哺育1日の生存児数}} \times 100$$

体重： 哺育1、5、8、11、15、22及び29日に全ての児動物の体重を個体別に測定し、性別及び腹別にまとめた。個体別の体重について、哺育1日の体重を共変量とした共分散分析を行い、補正体重を算出した。

肉眼的病理検査： 生後29日にF1親動物として選抜されなかった児動物について、臓器重量測定を実施した児動物に加えて各腹の雌雄各2匹を肉眼的病理検査した。また、哺育期間中に死亡又は切迫屠殺した動物についても肉眼的病理検査を実施した。

臓器重量： F1世代は各群雌雄5匹、F2世代は各群雌雄10匹の児動物について、肝臓、精巢及び精巢上体の重量を測定した。最終体重を共変量とした共分散分析を行い、補正重量を算出した。

病理組織学的検査： 臓器重量を測定した児動物を対象に、以下の組織について病理標本を作製し、対照群及び750 ppm群について検鏡した。また、生後18日齢以上の児動物で肉眼的に異常がみられた臓器について検鏡した。

精巢、精巢上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮(体部及び頸部)、陰、下垂体、肝臓、
肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果： 概要を表 T-24-2 に示す。

《親動物への一般毒性学的影響》

検体投与群で1ないしは2例の死亡あるいは切迫屠殺が散見されたが、いずれも検体投与の影響ではないと考えられ、P及びF1世代ともに検体投与に関連する死亡はないと判断された。また、一般状態の変化も観察されなかった。750 ppm 群のP及びF1世代の雌雄で育成期間の体重及び摂餌量に低値がみられ、同群P世代の雌雄で食餌効率が低下した。また、P及びF1世代ともに雌の妊娠期間及び哺育期間中の体重に低値がみられた。200 ppm 群ではF1世代の雄で育成期間の体重及び摂餌量に低値がみられた。これらの体重及び摂餌量の変化は検体投与の影響と考えられた。臓器重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査ではP及びF1世代のいずれの投与群においても、検体投与に関連した変化は認められなかった。

なお、750 ppm 群のP世代の雌雄及びF1世代の雄で肝臓の補正重量が有意な高値を示したが、病理組織学的検査で変化が認められなかったことから毒性学的意義はないと考えられた。また、200 ppm 群のP世代の雄でも肝臓の補正重量が高値であったが、同群のF1世代の雄、P及びF1世代の雌で同様の変化がみられなかったことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

《親動物の繁殖指標への影響》

繁殖に関する指標について、P及びF1世代のすべての投与群で検体投与による影響はみられなかった。

《児動物への影響》

児動物では、F1及びF2世代ともに検体投与群の生存児数及び生存率に有意な変化は認められなかった。また、検体投与に関連する一般状態の変化も観察されなかった。体重については、750 ppm 群の雌雄でF1世代は哺育29日、F2世代は哺育22及び29日に有意な低値がみられ、検体投与の影響と考えられた。臓器重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査ではF1及びF2世代のいずれの投与群においても、検体投与に関連した変化は認められなかった。

なお、50及び200 ppm 群のF2世代雄で肝臓の絶対重量及び補正重量に高値がみられたが、対照群1例の異常な低値に起因するもので、検体投与による変化ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上、ピコキシストロビン原体をラットに2世代にわたって投与した結果、親動物に対する影響として750 ppm群のP及びF1世代の雌雄で体重及び摂餌量の低値、P世代の雌雄で食餌効率の低値がみられた。また、200 ppm群のF1世代の雄で体重及び摂餌量の低値がみられたことから、親動物に対する無毒性量(NOEL)は50 ppm(雄 P世代:5.3 mg/kg/日、F1世代:5.4 mg/kg/日; 雌 P世代:5.8 mg/kg/日、F1世代:5.8 mg/kg/日)と判断された²⁾。繁殖能力について、いずれの投与量でも影響がみられなかったことから、無毒性量は750 ppm(P世代:雄 78.2 mg/kg/日、雌 85.5 mg/kg/日、F1世代:雄 81.8 mg/kg/日、雌 88.8 mg/kg/日)と判断された。また、児動物に対する影響として、750 ppm群のF1及びF2世代の雌雄で体重の低値がみられたことから、児動物に対する無毒性量は200 ppmと判断された。

2)申請者注:報告書では親動物の一般毒性に対するNOELを50 ppmとしている。しかしながら、影響がみられたのはP及びF1世代の雌雄の750 ppm群、F1世代雄の200 ppm群における体重及び摂餌量の低下であり、200 ppm群の雌では影響はみられていない。従って、申請者は、親動物の一般毒性に対するNOELは雄が50 ppm (P世代:5.3 mg/kg/日、F1世代:5.4 mg/kg/日)、雌が200 ppm (P世代:23.3 mg/kg/日、F1世代:23.5 mg/kg/日)と判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-24-2. 結果の概要

世代		親:P、児:F1				親:F1、児:F2					
投与量 (ppm)		0	50	200	750	0	50	200	750		
動物数	雄	26	26	26	26	26	26	26	26		
	雌	26	26	26	26	26	26	26	26		
一般状態	雄	検体投与に起因する異常所見なし									
	雌	検体投与に起因する異常所見なし									
死亡数 ¹⁾	雄	0	0	(1)	0	(1)	0	0	0		
	雌	0	(2)	0	1	0	0	0	(1)		
親動物	雄	投与 1 週 ^{a)}				↓96				↓96	
		投与 2 週 ^{a)}				↓95				↓96	
		投与 3 週 ^{a)}				↓95				↓95	
		投与 4 週 ^{a)}				↓95			↓97	↓94	
		投与 5 週 ^{a)}				↓94			↓96	↓93	
		投与 6 週 ^{a)}				↓93			↓95	↓92	
		投与 7 週 ^{a)}				↓93			↓95	↓93	
		投与 8 週 ^{a)}				↓93			↓94	↓93	
		投与 9 週 ^{a)}				↓92			↓94	↓93	
		投与 10 週 ^{a)}				↓91			↓94	↓93	
	補正体重 ²⁾	雌	育成 1 週 ^{a)}		↑102						
			育成 2 週 ^{a)}		↑103						
			育成 4 週 ^{a)}				↓96				↓95
			育成 5 週 ^{a)}				↓95				↓93
			育成 6 週 ^{a)}				↓95				↓93
			育成 7 週 ^{a)}				↓94				↓93
			育成 8 週 ^{a)}				↓95				↓94
			育成 9 週 ^{a)}				↓94				↓94
			育成 10 週 ^{a)}				↓94				↓95
			妊娠 1 日 ^{b)}				↓94				↓93
		妊娠 15 日 ^{a)}								↓98	
		哺育 1 日 ^{b)}				↓93				↓90	
		哺育 5 日 ^{a)}						↑102			
		哺育 15 日 ^{a)}				↓96		↑103	↑103		
		哺育 22 日 ^{a)}							↑103		
		哺育 29 日 ^{a)}								↑104	

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

a) 投与開始時、妊娠 1 日又は哺育 1 日の体重を共変量とした共分散分析、Student の t-検定。

b) 絶対重量を用いた分散分析、Student の t-検定。

1) 括弧内の数値は切迫屠殺動物数を示す。

2) 対照群を 100 としたときの値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-24-2. 結果の概要(続き)

世代		親:P、児:F1				親:F1、児:F2				
投与量 (ppm)		0	50	200	750	0	50	200	750	
動物数		雄	26	26	26	26	26	26	26	
		雌	26	26	26	26	26	26	26	
親動物	摂餌量 ¹⁾	雄	投与1週 ^{a)}			↓89			↓93	
			投与2週 ^{a)}			↓97	↓94		↓93	
			投与3週 ^{a)}			↓97	↓92		↓95	
			投与4週 ^{a)}				↓95		↓94	
			投与5週 ^{a)}				↓93		↓92	
			投与6週 ^{a)}				↓93		↓90	
			投与7週 ^{a)}				↓92		↓93	↓91
			投与8週 ^{a)}				↓94		↓93	↓93
			投与9週 ^{a)}				↓93		↓94	↓93
			投与10週 ^{a)}				↓89		↓93	
	雌	育成3週 ^{a)}				↓93			↓92	
		育成4週 ^{a)}				↓92			↓92	
		育成5週 ^{a)}				↓93			↓92	
		育成6週 ^{a)}				↓92			↓94	
		育成7週 ^{a)}				↓95			↓93	
		育成8週 ^{a)}							↓94	
		育成9週 ^{a)}				↓94				
		育成10週 ^{a)}				↓93				
食餌効率 ¹⁾	雄	投与1~4週 ^{a)}						↓97		
		投与8~10週 ^{a)}				↓88				
		投与1~10週 ^{a)}				↓95		↓97		
	雌	育成8~10週 ^{a)}					↑135			
		育成1~10週 ^{a)}				↓95				
検体摂取量(育成期間)		雄	—	5.3	21.2	78.2	—	5.4	21.8	81.8
(mg/kg/日)		雌	—	5.8	23.3	85.5	—	5.8	23.5	88.8

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

a) 分散分析、Student の t-検定。

1) 対照群を 100 とした時の値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-24-2. 結果の概要(続き)

世代			親:P、児:F1				親:F1、児:F2				
投与量 (ppm)			0	50	200	750	0	50	200	750	
親動物	交尾所要日数(日) ^{a)}		3.83	3.73	3.69	3.92	3.42	3.27	2.77	2.77	
	正常出産雌動物数 ^{b)} (出産率%)		21 (80.8)	21 (80.8)	26 (100.0)	22 (84.6)	22 (84.6)	24 (92.3)	23 (88.5)	24 (92.3)	
	妊娠期間(日) ^{b)}		22.7	22.5	22.7	22.8	22.7	22.8	22.7	22.6	
	全同腹児 損失 ^{b)}	腹数	0	2	2	0	0	1	0	0	
		損失率(%)	0.0	9.5	7.7	0.0	0.0	4.2	0.0	0.0	
	肉眼的病理検査			雌雄共に検体投与に起因する異常所見なし							
	肝臓 重量 ¹⁾	雄	補正重量 ^{c)}			↑106	↑112				↑111
		雌	補正重量 ^{c)}				↑108				
	病理組織学的検査 ^{b)}			雌雄共に検体投与に起因する異常所見なし							
	児動物	一般状態		検体投与に起因する異常所見なし							
生存児数		哺育1日	11.0	11.2	12.1	10.1	10.9	11.0	11.2	12.0	
		哺育5日	9.9	9.3	10.9	9.0	10.4	10.1	10.4	11.3	
		哺育8日	9.9	9.3	10.9	9.0	10.4	10.1	10.3	11.3	
		哺育11日	9.9	9.3	10.9	9.0	10.4	10.1	10.3	11.3	
		哺育15日	9.8	9.3	10.9	9.0	10.4	10.1	10.3	11.3	
		哺育22日	9.8	9.3	10.9	9.0	10.4	10.1	10.3	11.3	
		哺育29日	9.7	9.3	10.9	9.0	10.4	10.1	10.3	11.3	
生存率(%)		哺育1日 ^{b)}	98.1	97.3	97.1	94.5	97.3	94.7	93.5	98.1	
		哺育22日 ^{b)}	91.1	86.9	90.2	90.1	95.6	91.7	92.2	94.3	
補正 体重 ¹⁾		雄	哺育1日 ^{a)}					↓94			
			哺育22日 ^{d)}							↓89	
			哺育29日 ^{d)}				↓94			↓89	
		雌	哺育22日 ^{d)}							↓91	
			哺育29日 ^{d)}				↓95			↓91	
肉眼的病理検査			雌雄共に検体投与に起因する異常所見なし								
肝臓 重量 ¹⁾	雄	絶対重量 ^{a)}					↑123				
		補正重量 ^{c)}					↑117	↑110			
	雌	絶対重量 ^{a)}				↓89					
病理組織学的検査			雌雄共に検体投与に起因する異常所見なし								

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

a) 分散分析、Student の t-検定。

b) Fisher の直接確率検定。

c) 最終体重を共変量とした共分散分析、Student の t-検定。

d) 哺育1日の体重を共変量とした共分散分析、Student の t-検定。

1) 対照群を100とした時の値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 T-25)

試験機関:

報告書作成年: 2010 年 [GLP 対応]

検体純度:

供試動物: Sprague-Dawley 系 [CrI: CD (SD)] ラット、開始時 11~12 週齢、
体重: 雄 324~390 g、雌 205~238 g、1 群雌雄各 30 匹

投与期間: P 世代: 交配前育成期間 10 週間ならびに交配、妊娠及び哺育期間
F1 世代: 交配前育成期間 8~10 週間ならびに交配、妊娠及び哺育期間

投与方法: 検体を 75、300、1000 及び 2500 ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂取させた。な
お、対照群には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与量設定根拠:

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を表 T-25-1 にまとめて示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-25-1. 交配・調整・選抜及び観察・検査の概要

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成(10)		一般状態、生死を毎日観察 体重、摂餌量を週1回測定 8週時より発情周期を検査
	交配(3)	雌雄1対1で1交配。交配は 腔栓/腔垢中の精子で確認 (妊娠1日)	交配状況の観察(交尾に要する期間、交尾 率)
	妊娠(3)		妊娠 1、8、15、22 日に体重を測定 妊娠 1、8、11、15、19、22 日に摂餌量を測定
	出産 ………	……………	出産状況の観察(哺育1日) 生存産児数、死産児数、外表異常、性別、 受胎率
	哺育(3)	哺育5日、各同腹児数を8匹 (可能であれば雄4匹、雌4 匹)に調整	哺育 1、5、8、15、22 日に母動物の体重測 定、哺育 1、5、8、11、15 日に母動物の摂餌 量測定 児動物の一般状態、生死を毎日観察 哺育 1、5、8、15、22 日に児体重測定
	…… F1	離乳 ………	哺育22日…………… 継代用動物として、各群雌 雄30匹を無作為に選抜(可 能な限り各腹から雌雄1匹 ずつ)
	育成(8~10)		雄の包皮分離、雌の腔開口の観察
	交配(3)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	妊娠(3)		(P世代に準ずる)
	出産 ………	……………	(P世代に準ずる)
	哺育(3)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
…… F2	離乳 ………	(F1世代に準ずる)	(F1世代に準ずる) 離乳後に屠殺し、臓器重量測定及び病理学 的検査(肉眼+組織)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

親動物

一般状態及び死亡：投与期間中、全動物の生死を毎日 2 回、一般状態を少なくとも週 1 回観察した。
体重測定の際には動物を手に取り、詳細に観察した。

体重：全ての雄親動物の体重を毎週測定した。雌親動物では、育成期間は毎週、繁殖期間中は妊娠 1、8、15 及び 22 日、哺育 1、5、8、15 及び 22 日に体重を測定した。

摂餌量：育成期間は毎週、妊娠期間は妊娠 1、8、11、15、19 及び 22 日、ならびに哺育期間は哺育 1、5、8、11 及び 15 日に摂餌量を測定し、1 日当たりの摂餌量を個体別に算出した。さらに、体重増加量と摂餌量から食餌効率を算出した。

交配及び妊娠の確認：同群の雌と雄を 1 対 1 で同居させて交配を行い、毎日膣栓及び膣垢中の精子の有無を調べた。同居 2 週間で交尾の確認されなかった雌は、同一群内の交尾経験のある雄と 1 週間同居させた。F1 動物については兄妹交配を避けた。膣栓及び膣垢中の精子で交尾を確認し、いずれかが認められた日を妊娠 1 日とした。妊娠については、分娩、又は肉眼的病理検査時に子宮内の着床痕を調べることで確認した。

繁殖性に関する指標：育成、交配、妊娠及び哺育の各期間と肉眼的病理検査時に以下の指標について調べた。

性成熟完了日齢及び完了日体重：雄は包皮分離、雌は膣開口の完了日と完了日の体重(F1 世代について検査)

発情周期：交配開始前の 3 週間、膣垢像を観察し、認められた発情期の数

交尾所要日数(日)：同居開始から交尾までに要した日数

交尾率(%) = 交尾が認められた雄(雌)数 / 交配に用いた雄(雌)数 × 100

受精率(%) = 妊娠雌数 / 交尾を認めた雄数 × 100

受胎率(%) = 妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数 × 100

正常出産率(%) = 生存出産雌数 / 妊娠雌数 × 100

妊娠期間(日)：交尾が認められた日(妊娠 1 日)から分娩日(最初の児が確認された日)までの期間

着床数：子宮内の着床痕の数

精子濃度：精巢上体尾部及び精巢 1 g 当りの精子数

精子運動率(%)：自動性を示す精子の割合

正常形態精子数：精子 200 個当りの正常形態精子数

肉眼的病理検査：死亡動物及び切迫屠殺動物について肉眼的病理検査を行った。また、児動物の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

離乳後、全生存親動物について肉眼的病理検査を行った。

臓器重量： 全ての生存動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重量比を算出した。両側性臓器は片側ずつ、左側の精巣上体は尾部を単離し重量を測定した。

脳、甲状腺(固定後、上皮小体含む)、下垂体、卵巣、子宮(頸部及び卵管含む)、精巣、精巣上体、前立腺、精囊・凝固腺(分泌物含む/除去後)、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、胸腺

病理組織学的検査： 対照群及び 2500 ppm 群から無作為に雌雄各 10 匹を選抜し、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。また、交配、妊娠または出産がみられなかった、あるいは性周期ないしは精子の形態に異常がみられた全ての雌雄動物を対象に生殖器を検査した。また、P 世代雌動物は、全ての動物を対象に生殖器及び胸腺の検査を実施した。肉眼的異常部位は全ての動物を対象に検査を実施した。

脳、甲状腺(上皮小体含む)、副腎、下垂体、卵巣、子宮(頸部及び卵管含む)、腺、乳腺、精巣、精囊・凝固腺、精巣上体、前立腺、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、肉眼的異常部位

児動物

一般状態及び生死： 哺育期間を通じて全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

産児数及び性比： 出産日(哺育 1 日)に腹ごとに生存産児数と死産児数を数え、その合計を産児数とした。また、腹ごとの性比(%)を雄産児数/産児数×100として算出した。

生存率： 哺育 1 日の生存率(%) = 生存産児数 / 産児数 × 100
哺育 5 日の生存率(%) = 哺育 5 日の生存児数 / 生存産児数 × 100

離乳率： 離乳率(%) = 哺育 22 日の生存児数 / 哺育 5 日(調整後)の生存児数 × 100

体重： 哺育 1 日に雌雄別に 1 腹分まとめて、哺育 5、8、15 及び 22 日に個体別に体重を測定し、腹別の平均体重を求めた。

肉眼的病理検査： 死亡動物は発見後、瀕死動物は切迫屠殺後速やかに肉眼的病理検査を行った。また、哺育 5 日の間引き児、F1 親動物として選抜されなかった F1 離乳児及び全ての F2 離乳児について肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

臓器重量： 各腹で雌雄 1 匹の離乳児について、脳、脾臓、胸腺、副腎、甲状腺及び子宮の重量を測定し、対脳重量比を求めた。

結果： 概要を表 T-25-2 に示す。

《親動物への一般毒性学的影響》

P 世代の 300 及び 1000 ppm 群の雌各 1 例と F1 世代の 2500 ppm 群の雄 1 例が死亡し、2500 ppm 群の P 世代の雄 1 例及び F1 世代の雌 1 例が一般状態の悪化によって切迫屠殺された。いずれも同群の他の動物に死亡はみられず、検体投与による影響ではないと考えられ、P 及び F1 世代ともに検体投与に関連する死亡はないと判断された。

一般状態観察においては、F1 世代の 2500 ppm 群の雄で脱水症状を示す動物数が増加した。これは、体重低下に起因した二次的な影響と考えられた。

体重及び摂餌量は、P 及び F1 世代ともに 2500 ppm 群の雌雄で試験期間を通じてほぼ全ての測定時期で有意に低下した。1000 ppm 群では、F1 世代の雌で育成開始時及び育成 1 週に体重の低下が認められ、P 又は F1 世代の雌で育成、妊娠及び哺育期間に摂餌量の低下が散見された。体重増加量は、育成期間では P 及び F1 世代ともに 2500 ppm 群の雌雄で有意に低下した。一方、雌の哺育期間では、1000 及び 2500 ppm 群で有意に増加した。食餌効率は、P 世代では 2500 ppm 群の雌雄の育成期間で有意に低下し、F1 世代では 1000 ppm 群の雌の哺育期間及び 2500 ppm 群の雌雄の育成期間と雌の哺育期間で有意に増加した。これらの体重、体重増加量、摂餌量及び食餌効率の変化は検体投与の影響と考えられた。その他、検体投与群の P 及び F1 世代の雌雄で散見された体重、体重増加量、摂餌量及び食餌効率の有意な変動は、投与量との関係のないあるいは持続性のない変化であり、検体投与に関連した影響ではないと考えられた。

F1 世代親動物の性成熟は、雄の包皮分離日及び雌の膣開口日ともに 2500 ppm 群で有意に遅延した。同群の完了日体重については、雄は有意に低下し、雌は対照群と同等であった。2500 ppm 群の雄の包皮分離日(46.4 日)は背景値(平均 46.2 日、範囲 41.3~49.7 日)の範囲内にあったが、雌の膣開口日(36.4 日)は背景値(平均 32.7 日、範囲 30.1~35.3 日)の上限を僅かに上回っていた。しかし、各々の完了日体重を共変量とした包皮分離日及び膣開口日の共分散分析において統計学的有意差はみられず、包皮分離日及び膣開口日の遅延は低体重に起因した二次的な変化と考えられた。

肉眼的病理検査では、P 及び F1 世代の雌雄ともに検体投与に関連した異常所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

臓器重量では、2500 ppm 群の P ないしは F1 世代の雌雄で脳の絶対重量が低下し、F1 世代の雌雄で甲状腺の絶対重量あるいは体重比が低下した。雄では F1 世代で精巣及び脾臓の絶対重量の低下ならびに精巣上体(左側全体及び尾部)及び精囊・凝固腺(内容物含む)の体重比の増加がみられた。また、雌では、P 及び F1 世代で卵巣(右側)の絶対重量の低下がみられ、P 世代で下垂体、子宮及び胸腺の絶対重量、体重比及び脳重比の低下、卵巣(右側)の体重比の低下、F1 世代で卵巣(左側)の絶対重量、体重比の低下がみられた。これらの重量変化は最終屠殺時やそれ以前の投与期間に認められた体重の低値に伴う二次的な影響と考えられた¹⁾。一方、1000 及び 2500 ppm 群の P 又は F1 世代の雌雄で認められた肝臓の絶対重量、体重比あるいは脳重比の増加は、病理組織学的変化がみられず、薬物代謝の亢進に伴う薬理学的変化と考えられた。また、その他、75、300、1000 ppm 投与群の P 及び F1 世代の雌雄で認められた甲状腺、肝臓、腎臓、副腎あるいは卵巣の臓器重量の変動、ならびに 2500 ppm 群の F1 世代の雌で認められた子宮重量(脳重量比)の増加は、投与量との関係のないあるいは絶対重量の変動を伴わない変化であり、検体投与に関連した影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査では、2500 ppm 群の P 世代の雌で胸腺のリンパ組織萎縮が認められ、検体投与の影響と考えられた。その他、P 及び F1 世代の雄ならびに F1 世代の雌で検体投与に関連した異常所見は認められなかった。

《親動物の繁殖指標への影響》

繁殖に関する指標について、P 及び F1 世代ともに検体投与に関連した影響はみられなかった。なお、F1 世代の雄のすべての投与群で認められた正常形態精子数の有意な高値は、対照群の値が偶発的に低かったことによるものであり、検体投与に関連した影響ではないと考えられた。また、P 世代の雌の受胎率が 75 ppm 群で有意に低下し、300 及び 1000 ppm 群で有意に増加したが、投与量との関連がみられず検体投与との関連のない変化と考えられた。

《児動物への影響》

F1 及び F2 世代ともに産児数、生存産児数、性比、哺育 5 日の生存率及び一般状態に検体投与の影響は認められなかった。離乳率は、F1 世代の 2500 ppm 群で有意に低下した(98.6%)が、背景値(85.5~100%、27 試験)の範囲内にあり、死亡は 3 匹のみ

1) 申請者注: 2500 ppm 群の P 世代の雌の胸腺重量の低下は、病理組織学的変化として胸腺のリンパ組織の萎縮が随伴して観察されることから、申請者は検体投与に関連する変化と考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

であったことから、検体投与に関連しない変化と考えられ、離乳率にも検体投与の影響はないと判断された。なお、F1 世代の 1000 ppm 群における産児数、生存産児数（哺育 1 日の生存児数）及び哺育 5 日（調整前）の生存児数の低値及び F2 世代の 75、300 及び 1000 ppm 群における哺育 5 日の生存率の低値は、投与量との関連がみられず、検体投与との関連のない変化と考えられた。

肉眼的病理検査では、F1 及び F2 世代ともに検体投与に関連した異常所見は認められなかった。

臓器重量では、2500 ppm 群の F1 及び F2 世代で雌雄の胸腺、脾臓、甲状腺、F1 世代で雄の副腎の絶対重量及び脳重量比が有意に低下した。また、F1 世代の雌で脳の絶対重量が有意に低下した。さらに、1000 ppm 群の F1 世代で雌の脾臓の絶対重量及び脳重量比が有意に低下した。これらの重量変化は体重低下に伴う二次的な影響と考えられた。一方、F2 世代の雄の 75、300、1000 ppm 群における甲状腺の絶対重量及び脳重量比の有意な低値は、投与量との関連がみられず、雌で同様の変化が認められないことから、検体投与に関連した影響ではないと判断された。また、その他、F1 世代の雌の 75 および 300 ppm 群で認められた臓器重量の変動は、投与量との関連がみられず、検体投与との関連のない変化と考えられた。

以上、ピコキシストロピン原体をラットに 2 世代にわたって投与した結果、親動物では 1000 ppm 群の F1 世代の雌及び 2500 ppm 群の P 及び F1 世代の雌雄で体重が低下し、P 及び F1 世代ともに 1000 ppm 群の雌及び 2500 ppm 群の雌雄で摂餌量が低下した。また、1000 及び 2500 ppm 群の雌雄で体重増加量及び食餌効率の増減が認められた。さらに、2500 ppm 群の P 世代の雌では胸腺の重量低下¹⁾とともにリンパ組織萎縮が観察された。児動物では、1000 ppm 群の F1 世代ならびに 2500 ppm 群の F1 及び F2 世代で体重の低値がみられた。繁殖能力に対しては投与に起因する影響はみられなかった。

したがって本試験における無毒性量 (NOAEL) は、一般毒性について親動物では、300 ppm (雄 P 世代 15.8 mg/kg/日、F1 世代 21.2 mg/kg/日; 雌 P 世代 21.7 mg/kg/日、F1 世代 31.6 mg/kg/日)、児動物では 300 ppm と判断された²⁾。繁殖能力については 2500 ppm (P 世代 雄 130.0 mg/kg/日、雌 173.4mg/kg/日、F1 世代 雄 187.7 mg/kg/日、雌 273.1mg/kg/日)であると判断された。

1) 申請者注: 申請者による判断。

2) 申請者注: 報告書では親動物の一般毒性に対する NOAEL を 300 ppm としている。しかし、雄親動物に関しては P 及び F1 世代ともに 1000 ppm で毒性影響が認められなかった。従って、申請者は親動物の一般毒性に対する NOAEL は雄が 1000 ppm (P 世代 52.2 mg/kg/日、F1 世代 71.0 mg/kg/日)、雌が 300 ppm (P 世代 21.7 mg/kg/日、F1 世代 31.6 mg/kg/日)と判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表T-25-2. 結果の概要

世代		親:P、児:F1					親:F1、児:F2					
投与量 (ppm)		0	75	300	1000	2500	0	75	300	1000	2500	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
死亡数 ¹⁾	雄	0	0	0	0	(1)	0	0	0	0	1	
	雌	0	0	1	1	0	0	0	0	0	(1)	
一般状態	雄	検体投与に起因する異常所見なし									脱水 症状 ^{a)}	
	雌	検体投与に起因する異常所見なし										
親動物	雄	投与開始時										↓74
		投与1週					↓96					↓78
		投与2週					↓96					↓80
		投与3週					↓96					↓83
		投与4週					↓95					↓84
		投与5週					↓95					↓86
		投与6週					↓94					↓87
		投与7週					↓95					↓88
		投与8週					↓95					↓89
		投与9週					↓93					↓90
		投与10週					↓94					
		投与11週										↓91
		投与12週										↓90
		投与13週										↓90
		投与14週										↓91
		投与15週										↓91
	投与16週										↓91	
	雌	育成開始時							↑109		↓92	↓73
		育成1週					↓95				↓94	↓75
		育成2週					↓95					↓81
		育成3週			↑104		↓95					↓87
		育成4週			↑104		↓94					↓89
		育成5週			↑104		↓93					↓89
		育成6週			↑104		↓93					↓90
		育成7週					↓94					↓91
		育成8週					↓93					↓91
		育成9週					↓94					↓90
		育成10週					↓93					
		妊娠1日		↑105			↓93					↓92
		妊娠8日					↓92					↓92
		妊娠15日		↑105			↓93					↓92
		妊娠22日					↓92					↓92
哺育1日						↓92					↓90	
哺育5日					↓92					↓92		
哺育8日					↓92					↓94		
哺育15日					↓93					↓94		
哺育22日								↑105				

↑↓: p<0.05, ∩: p<0.01 (Dunnett 検定、Dunn 検定又は Fisher 直接確率検定)

- 1) 括弧内の数値は切迫屠殺数を示す。
- 2) 対照群を 100 とした時の値。
- a) 6/30 例で観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表T-25-2. 結果の概要(続き)

世代		親:P、児:F1					親:F1、児:F2						
投与量 (ppm)		0	75	300	1000	2500	0	75	300	1000	2500		
体重増加量 ¹⁾	雄	投与1週				↓54					↓83		
		投与2週								↓93	↓84		
		投与3週									↓89		
		投与4週									↓89		
		投与9週					↓38						
		投与開始～9週										↓92	
	雌	投与開始～10週					↓82						
		投与開始～屠殺前					↓88					↓93	
		育成1週					↓34					↓78	
		育成2週			↑179								
		育成3週		↑204								↑116	
		育成7週					↑163						
	親動物	雄	育成8週		↓29	↓27	↓40						
			育成開始～10週					↓74					
			妊娠期間	検体投与に起因する影響なし									
			哺育5～8日 ²⁾	-1.8	↑7.7		↑7.5					↑221	↑268
			哺育15～22日 ²⁾	-16.3				↑12.6	-15.7				↑2.8
			哺育1～22日				↑188	↑323				↑227	↑404
摂餌量 ¹⁾	雄	投与1週				↓85					↓74		
		投与2週								↓92	↓80		
		投与3週					↓94				↓88		
		投与4週					↓93				↓90		
		投与6週					↓92						
		投与13週						↑108					
	雌	投与開始～9週										↓91	
		投与開始～10週					↓93						
		投与開始～16週					↓94					↓95	
		育成1週					↓77			↓93	↓72		
		育成2週					↓89					↓84	
		育成3週			↑109		↓91					↓92	
	親動物	雄	育成4週				↓90					↓93	
			育成5週									↓92	
			育成6週					↓91					
			育成開始～9週										↓91
			育成開始～10週					↓92					
			妊娠1～8日				↓94	↓87					↓92
雌	妊娠8～11日										↓91		
	妊娠8～15日					↓87							
	妊娠11～15日										↓91		
	妊娠19～22日										↓90		
	妊娠1～22日					↓90					↓92		

↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01 (Dunnett 検定、Dunn 検定又は Fisher 直接確率検定)

1) 対照群を 100 とした時の値

2) 対照群の値がマイナスだったため、実数値を記載(単位は 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日本農薬株式会社にある。

表T-25-2. 結果の概要(続き)

世代		親:P、児:F1					親:F1、児:F2						
投与量 (ppm)		0	75	300	1000	2500	0	75	300	1000	2500		
親動物	摂餌量 ¹⁾	雌	哺育1~5日			↓82							
		雌	哺育5~8日				↓92						
		雌	哺育8~11日				↓80		↑108				
		雌	哺育11~15日				↓82					↓88	
		雌	哺育1~15日				↓84						
	食餌効率 ¹⁾	雄	投与1週				↓64					↑111	
			投与3週					↓95					
			投与9週					↓34					
			投与14週			↑152							
			投与開始~10週					↓89					
		雌	育成1週					↓39					↑107
			育成2週			↑169							↑113
			育成3週		↑215								↑128
			育成8週			↓24	↓20	↓39					
			育成開始~9週										↑105
			育成開始~10週					↓81					
			妊娠期間	検体投与に起因する影響なし									
			哺育1~5日			↓2							
			哺育5~8日 ²⁾	-2.6	↓5.8		↓6.0					↑227	↑285
			哺育1~15日										↑165
検体摂取量	雄	投与期間	—	4.0	15.8	52.2	130.0	—	5.3	21.2	71.0	187.7	
		育成期間	—	5.4	21.7	70.3	173.4	—	7.9	31.6	106.3	273.1	
	雌	妊娠期間	—	5.1	19.7	66.5	163.1	—	5.7	22.6	74.9	189.9	
		哺育期間	—	10.1	39.6	127.3	297.2	—	10.1	42.5	139.5	353.9	

↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01 (Dunnett 検定、Dunn 検定、又は Fisher 直接確率検定)

1) 対照群を 100 とした時の値

2) 対照群の値がマイナスだったため、実数値を記載 (単位は%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表T-25-2. 結果の概要(続き)

世代			親:P、児:F1					親:F1、児:F2				
投与量 (ppm)			0	75	300	1000	2500	0	75	300	1000	2500
動物数	雄		30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	雌		30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
性成熟	雄	包皮分離日						44.4	44.3	44.9	45.3	46.4
		同体重						235.5	239.7	239.2	235.4	210.7
	雌	膣開口日						32.8	33.9	32.7	33.4	36.4
		同体重						114.1	127.3	115.9	113.7	111.0
親動物	雄	交尾所要日数(日)	3.2	3.2	3.0	3.0	2.5	4.0	2.9	4.5	3.6	3.5
		交尾数 (交尾率%)	29 (96.7)	28 (93.3)	29 (96.7)	29 (96.7)	30 (100.0)	28 (93.3)	30 (100.0)	28 (93.3)	28 (93.3)	28 ^{b)} (96.6)
		受精数 (受精率%)	25 (86.2)	23 (82.1)	29 (100.0)	28 (96.6)	27 (90.0)	26 (92.8)	28 (93.3)	22 (78.6)	27 (96.4)	26 (92.8)
		精子運動率(%)	94.2	91.8	92.3	94.2	94.0	81.8	87.7	85.6	84.2	86.1
		正常形態精子数 ¹⁾	187.5	183.3	190.9	191.0	188.9	182.9	191.8	192.7	195.1	195.9
		精子濃度 ²⁾	精巢上体尾部	873.2	995.9	880.6	958.8	796.6	920.5	1065.7	971.6	1187.0
	精巢		148.8	155.6	155.7	170.4	157.3	142.4	137.4	132.7	113.5	208.0
	雌	発情周期(発情期数)	4.1	4.3	4.7	4.3	3.7	4.5	4.3	5.1	4.4	4.9
		交尾所要日数(日)	3.2	3.3	3.1	3.1	2.5	4.3	2.9	4.7	3.7	3.6
		交尾数 (交尾率%)	30 (100.0)	30 (100.0)	30 (100.0)	30 (100.0)	30 (100.0)	29 (96.7)	30 (100.0)	30 (100.0)	30 (100.0)	29 ^{b)} (93.1)
		受胎数 (受胎率%)	26 (86.7)	23 (76.7)	30 (100.0)	29 (96.7)	27 (90.0)	27 (93.1)	28 (93.3)	24 (80.0)	28 (93.3)	27 (93.1)
		出産数 (出産率%)	26 (100.0)	23 (100.0)	29 ^{a)} (100.0)	28 ^{a)} (100.0)	27 (100.0)	27 (100.0)	28 (100.0)	24 (100.0)	28 (100.0)	27 (100.0)
妊娠期間(日)		22.5	22.6	22.7	22.7	22.7	22.8	22.8	22.8	22.8	23.2	
着床数		15.8	16.0	16.6	15.6	15.6	16.2	16.0	16.6	16.0	16.0	
肉眼的病理検査	雄	検体投与に起因する異常所見なし										
	雌	検体投与に起因する異常所見なし										

↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01 (Dunnett 検定、Dunn 検定又は Fisher 直接確率検定)

- 1) 精子 200 個当りの正常形態精子数。
- 2) 臓器 1 g 当りの精子数。
- a) 妊娠期間中に死亡した 1 匹を除く。
- b) 育成期間中に切迫屠殺した 1 匹を除く。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表T-25-2. 結果の概要(続き)

世代		親:P、児:F1					親:F1、児:F2					
投与量 (ppm)		0	75	300	1000	2500	0	75	300	1000	2500	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
親動物 臓器重量 ¹⁾	最終体重						(95)				↓92	
	精巣 L	絶対重量										↓93
		精巣 R	絶対重量									↓95
	精巣上体 L	体重比										↑109
		精巣上体 尾部 L	体重比									↑111
	雄	精囊・凝固腺	体重比									↑116
		脳	絶対重量									↓95
	甲状腺	絶対重量		↓88					↑111			↓91
		体重比		↓85					↑110			
		脳重量比		↓86					↑111			
	肝臓	体重比				↑106	↑110					↑111
	脾臓	絶対重量										↓93
	最終体重								↑105			
	卵巣 L	絶対重量		↑114						↓90		↓84
		体重比		↑113					↓89	↓89		↓84
		脳重量比										↓85
	卵巣 R	絶対重量					↓87					↓90
		体重比					↓87		↓88			
	子宮	絶対重量					↓68					
		体重比					↓68					
		脳重量比					↓70					↑119
	下垂体	絶対重量					↓82					
		体重比					↓80					
		脳重量比					↓88					
	雌	脳	絶対重量				↓97					
		甲状腺	絶対重量							↓89		↓88
	肝臓	絶対重量					↑106					
		体重比					↑106		↓94			↑106
		脳重量比					↑110					↑108
	腎臓 R	絶対重量						↑106	↑105			
	副腎 R	絶対重量		↑110	↑108							
		体重比		↑109								
		脳重量比		↑105	↑105							
	胸腺	絶対重量					↓68					
		体重比					↓70					
		脳重量比					↓71					
	病理組織学的検査	雄	検体投与に起因する異常所見なし									
		雌	検体投与に起因する異常所見なし				胸腺 リンパ 組織 萎縮 ^{a)}	検体投与に起因する異常所見なし				

↑↓:p<0.05, ↑↓:p<0.01 (Dunnett 検定、Dunn 検定又は Fisher 直接確率検定)

1) 対照群を 100 とした時の値。L は左側、R は右側の臓器重量を示す。

a) 11/30 例で観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表T-25-2. 結果の概要(続き)

世代		親:P、児:F1					親:F1、児:F2					
投与量 (ppm)		0	75	300	1000	2500	0	75	300	1000	2500	
児動物	一般状態	検体投与に起因する異常所見なし										
	産児数 ¹⁾	14.8	14.4	15.1	↓13.2	14.2	15.3	14.6	15.4	14.6	14.6	
	性比(%)	49.2	52.7	53.0	54.4	49.7	47.2	52.8	50.4	51.0	50.4	
	生存 児数	哺育1日	14.7	14.4	15.1	↓13.0	14.1	15.2	14.5	15.3	14.5	14.6
		哺育5日(調整前)	14.5	14.1	14.7	↓12.8	14.0	15.2	14.1	15.1	14.2	14.4
		哺育5日(調整後)	7.8	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	7.8	8.0	8.0	7.8
		哺育8日	7.8	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	7.8	8.0	8.0	7.7
		哺育15日	7.8	8.0	8.0	8.0	7.9	8.0	7.8	8.0	8.0	7.7
		哺育22日	7.8	8.0	8.0	8.0	7.9	7.9	7.8	8.0	7.9	7.7
	生存率(%) (哺育5日)	98.7	98.2	97.7	98.9	99.0	100.0	↓97.3	↓98.6	↓98.5	99.2	
	離乳率(%)	100.0	100.0	100.0	100.0	↓98.6	99.5	100.0	99.5	100.0	99.5	
	体重 (g)	哺育1日	6.8	7.0	6.8	7.0	6.8	6.4	6.6	6.8	6.8	6.8
		哺育5日(調整前)	10.5	10.9	10.3	10.6	10.0	9.8	10.6	10.6	10.4	10.3
		哺育5日(調整後)	10.8	11.2	10.6	10.8	10.2	10.2	10.9	11.0	10.7	10.6
		哺育8日	17.5	18.3	16.8	16.6	↓15.2	17.2	17.5	18.1	17.4	16.6
哺育15日		33.6	36.2	33.9	31.2	↓25.8	34.4	35.1	35.5	34.0	↓30.4	
哺育22日		54.6	↑58.7	54.7	↓50.6	↓42.3	53.0	53.4	55.0	51.8	↓45.7	
肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常所見なし										
臓器重量 ²⁾	雄	胸腺	絶対重量				↓70					↓72
			脳重量比				↓72					↓74
		脾臓	絶対重量				↓68					↓75
			脳重量比				↓70					↓79
		副腎	絶対重量				↓68					
			脳重量比				↓70					
	甲状腺	絶対重量				↓82		↓75	↓83	↓75	↓67	
		脳重量比				↓88		↓81	↓81	↓75	↓66	
	雌	胸腺	絶対重量				↓64					↓72
			脳重量比				↓68					↓73
		脾臓	絶対重量			↓86	↓68					↓74
			脳重量比			↓87	↓74					↓78
脳		絶対重量		↑105		↓95						
甲状腺		絶対重量			↓85	↓77					↓80	
	脳重量比				↓83					↓88		

↑↓: p<0.05、↓: p<0.01 (Dunnett 検定、Dunn 検定又は Fisher 直接確率検定)

1) 哺育1日の体重測定前の生存児及び死亡児の合計。

2) 対照群を100とした時の値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 催奇形性

① ラットを用いた催奇形性試験

(資料 T-26)

試験機関:

報告書作成年: 1998 年 [GLP 対応]

検体純度:

供試動物: Wistar 系 [Alpk: AP, SD] 妊娠雌ラット、10~12 週齢、体重: 212~307 g、
1 群各 24 匹

投与期間: 10 日間

投与方法: 検体をコーン油に懸濁し、10、30 及び 100 mg/kg/日の投与量で妊娠 7 日から 16 日までの 10 日間、1 日 1 回強制経口投与した。なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。臍垢に精子が認められた日を妊娠 1 日とした。

投与量設定根拠:

観察・検査項目:

母動物: 母動物の一般状態を毎日観察し、妊娠 1、4、7~16、19 及び 22 日に体重を測定した。妊娠 1~22 日に 3 日間隔で摂餌量を測定し、それぞれの期間の 1 日当りの摂餌量を算出した。妊娠 22 日に母動物を安楽死させ帝王切開し、妊娠子宮を摘出して重量を測定するとともに、黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胚・胎児数を調べた。また、黄体数、着床数及び胚・胎児死亡数から、着床前胚死亡率、着床後胚死亡率、早期胚死亡率(%)及び後期胚・胎児死亡率(%)を算出した。

生存胎児: 全生存胎児について、性別確認及び体重測定を行い、外表(口腔を含む)及び内臓の奇形学的検査を行った。内臓除去後、70%メチルアルコール液で約 24 時間固定し、前頭頭頂骨縫合に沿って切開し脳を肉眼的に観察した。その後、アリザリン・レッド S で染色し、骨格の異常の有無を検査した。

1) 申請者注: 催奇形性試験において妊娠末期の胎児観察で検出される形態異常(奇形)は、器官形成期(妊娠確認日を妊娠 0 日として妊娠 6~15 日)の投与で全て検出されるため、当該試験の評価結果は妥当と考える。器官形成期以降では既に器官の形態形成は完了しており、この期間における投与で生じうる児の生存、発育、機能に対する影響は、ラット繁殖毒性試験における新生児の観察で十分に評価されていると考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

奇形学的検査で認められた所見は、重大な異常(生存と両立しない、又は発生頻度の低い不可逆的な構造又は機能異常)、もしくは軽微な異常又は変異(生存と両立可能で、発育遅延の表れと考えられる軽度で一時的な異常)に分類した。また、次に示す評価基準に従って前肢及び後肢の骨化の進行度を評価した。

骨化進行度の評価基準

1. (良好) 中手骨／中足骨は完全に骨化。第1及び第3指骨は完全に骨化。
2. 中手骨／中足骨は完全に骨化。第1及び第3指骨は完全に骨化。但し、ところどころ指骨(2つ以下)の骨化が不完全である場合もある。
3. 中手骨／中足骨は完全に骨化。第1及び第3指骨の複数の指骨の骨化が不完全又は骨化していない場合があるが、その他は完全に骨化。
4. 一部のの中手骨／中足骨の骨化は不完全であるが、その他は完全に骨化。第1及び第3指骨の複数の指骨(6つ以下)の骨化が不完全又は骨化していない場合がある。
5. 一部のの中手骨／中足骨の骨化は不完全であるが、その他は完全に骨化。第1及び第3指骨の大部分(即ち、6つ以上)は骨化が不完全又は骨化しておらず、完全に骨化した指骨が散見される場合もある。
6. (不良) 一部のの中手骨／中足骨の骨化は不完全又は骨化していないが、その他は完全に骨化。通常、第1指骨は骨化せず、第3指骨の骨化は不完全であるか、又は骨化していない。

結果: 概要を表 T-26-1 に示す。

検体投与に関係なく、30 mg/kg/日群の1例が事故で負傷したため切迫屠殺された。その他、検体投与に関連する母動物の死亡はみられなかった。100 mg/kg/日群で投与期間中に下痢又は下痢徴候及び尿による被毛汚染が高い頻度で観察され、検体投与の影響と考えられた。また、100 mg/kg/日群の3例及び30 mg/kg/日群の1例で妊娠15から17日にかけて流産が観察され、30 mg/kg/日群の別の1例でも妊娠22日に観察された。しかしながら、投与後にみられる軽微な変化で、投与操作に対する生理的反応であり、毒性学的意義のない所見と考えられた。100 mg/kg/日群で、妊娠8から19日の体重に低値がみられ、妊娠7から16日の摂餌量に低値がみられた。10及び30 mg/kg/日群では体重及び摂餌量に影響はみられなかった。妊娠22日の肉眼的病理検査において、検体投与に関連した異常所見はみられなかった。10及び100 mg/kg/日群で妊娠子宮重量に高値がみられたが、対照群に比べ偶発的に着床数が多く、また、着床後胚死亡率が低かったことに起因した変化で、検体投与による影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

生存胎児数及び胎児体重に対し、検体投与の影響はみられなかった。10 及び 100 mg/kg/日群で腹合計胎児体重に高値がみられたが、偶発的な着床数の増加及び着床後胚死亡率の低下に起因した変化であり、検体投与に関連する影響ではないと考えられた。

奇形学的検査において、何らかの重大な異常を有した胎児数は、0、10、30 及び 100 mg/kg/日群でそれぞれ 0、3、0 及び 2 匹で、発生頻度に有意な変化はなく、各異常の発生数も 1 ないしは 2 匹であり、検体投与による特定の異常の発生増加もみられなかった。

軽微な外表／内臓異常又は骨格異常を有した胎児の割合は、いずれも各投与群ともに対照群と同等であった。

100 mg/kg/日群で第 3 頸椎椎体中心未骨化を有した胎児の発生頻度及び第 5 胸骨分節位置異常を有する胎児が認められた腹の発生頻度が増加した。骨格検査で他に顕著な変化がみられなかったことから、これら骨格異常の発生頻度のわずかな変動は検体投与に起因する影響ではないと判断された。10mg/kg/日群において、骨格変異を有した胎児の発生頻度が統計学的に有意に高かった。これは部分的に骨化した歯突起及び第 5 胸骨分節、ならびに踵骨の未骨化を有した胎児の発生頻度が増加したことに起因していた。しかし、100 及び 30mg/kg/日群ではそれらの変異を有した胎児の発生頻度及び骨格変異を有した胎児の発生頻度は対照群と同等で統計学的に有意な増加がなかったため、検体投与に起因する影響ではないと判断された。10 mg/kg/日群で、前肢及び後肢の骨化進行度のスコア 5 を示す胎児が多く観察され、後肢ではスコア 4 の頻度が低下した。しかしながら、その変化に投与量との関連がみられず、検体投与に関連する影響ではないと考えられた。

以上、ピコキシストロビン原体を妊娠ラットに投与したときの影響として、母動物に対して 100 mg/kg/日群で下痢、下痢徴候及び尿による汚染がみられ、体重及び摂餌量の低値がみられた。胎児に対しては、いずれの投与量でも検体投与に関連する影響はみられなかった。したがって、母動物に対する無毒性量(NOAEL)は 30 mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と判断された。また、本試験条件下ではラット胎児に対し催奇形性を及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 T-26-1. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	10	30	100	
1 群当り動物数		24	24	24	24	
母動物	妊娠雌数 ^{a)}	24	24	23	24	
	死亡雌数 ^{a)}	0	0	1	0	
	生存胎児の得られた雌数 ^{a)}	24	24	22	24	
	一般状態	検体投与に起因する異常所見なし			下痢、下痢の徴候、尿による被毛の汚染	
	体重 ^{1)b)}	妊娠 8 日				↓97
		妊娠 9 日				↓96
		妊娠 10 日				↓97
		妊娠 11 日				↓97
		妊娠 12 日				↓96
		妊娠 13 日				↓97
		妊娠 14 日				↓96
		妊娠 15 日				↓97
		妊娠 16 日				↓96
		妊娠 19 日				↓96
摂餌量 ^{1)c)}	妊娠 7-10 日				↓65	
	妊娠 10-13 日				↓80	
	妊娠 13-16 日			↑103	↓87	
肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常所見なし				
着床所見	検査腹数	23 ⁴⁾	23 ⁴⁾	21 ⁴⁾	24	
	妊娠子宮重量 ^{1)c)}		↑112		↑111	
	黄体数	15.9	16.3	15.7	16.1	
	着床数 ^{c)}	13.5	↑15.3	13.8	14.6	
	着床前胚死亡率(%) ^{2)c)}	14.5	↓6.3	11.8	9.1	
	着床後胚死亡率(%) ^{3)c)}	5.6	2.6	5.5	4.1	
	生存胎児数 ^{c)}	12.7	↑14.9	13.0	14.0	

↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01 (Student の t-検定、Fisher 直接確率検定)

a) Fisher 直接確率検定。

b) 投与開始時の体重を共変量とした共分散分析、Student の t-検定。

c) 分散分析、Student の t-検定。

1) 対照群を 100 としたときの値。

2) 着床前胚死亡率(%) = (黄体数 - 着床数) / 黄体数 × 100

3) 着床後胚死亡率(%) = (着床数 - 生存胎児数) / 着床数 × 100

4) 各群 1 例について、データ収集用コンピュータのトラブルによりデータ欠落。

表 T-26-1. 結果の概要(続き)

		投与量 (mg/kg/日)	0	10	30	100		
胎児	胎児 体重 (g)	検査腹数	23 ¹⁾	23 ¹⁾	21 ¹⁾	24		
		腹合計 ^{a)}	60.7	↑68.2	63.6	↑68.0		
		胎児平均 ^{a)}	4.81	↓4.60	4.93	4.89		
	性比	検査腹数	23 ¹⁾	23 ¹⁾	21 ¹⁾	23 ¹⁾		
		雄生存胎児数/生存胎児数(%) ^{a)}	50.3	46.9	52.9	53.0		
	外表／内臓所見 ²⁾	検査腹数	24	24	22	24		
		検査胎児数	309	352	278	331		
		重大な異常	重大な異常を有する胎児が認められた腹数 ^{b)}	0	1	0	0	
			重大な異常を有した胎児数 ^{b)c)}	0	2 (0.6)	0	0	
			口蓋裂	腹数 ^{b)} 胎児数 ^{b)}	0 0	1 2	0 0	0 0
		軽微な異常	軽微な異常を有する胎児が認められた腹数 ^{b)}	3	6	3	2	
			軽微な異常を有した胎児数 ^{b)c)}	3 (0.8)	7 (2.1)	3 (1.3)	2 (0.7)	
		変異	変異を有する胎児が認められた腹数 ^{b)}	8	12	4	12	
			変異を有した胎児数 ^{b)c)}	19 (5.6)	36 (10.1)	13 (3.9)	28 (9.0)	
		骨格所見 ²⁾	検査腹数	24	24	22	24	
	検査胎児数		309	356	287	335		
	重大な異常		重大な異常を有する胎児が認められた腹数 ^{b)}	0	1	0	2	
			重大な異常を有した胎児数 ^{b)c)}	0	1 (0.3)	0	2 (0.6)	
			左後肢6指	腹数 ^{b)} 胎児数 ^{b)}	0 0	1 1	0 0	0 0
				第5、6腰椎中心癒合	腹数 ^{b)} 胎児数 ^{b)}	0 0	0 0	0 0
第13右胸椎椎弓欠損			腹数 ^{b)} 胎児数 ^{b)}		0 0	0 0	0 0	1 1
			軽微な異常	軽微な異常を有する胎児が認められた腹数	22	23	21	23
軽微な異常を有した胎児数 ^{b)c)}	73 (23.7)			87 (24.3)	64 (22.0)	91 (27.7)		
第3頸椎椎体中心未骨化	腹数 ^{b)} 胎児数 ^{b)}			8 16	11 30	5 11	12 ↑32	
	第5胸骨分節位置異常			腹数 ^{b)} 胎児数 ^{b)}	0 0	0 0	1 1	↑5 5

↑: p<0.01, ↑↓: p<0.05 (Student の t-検定, Fisher 直接確率検定)

a) 分散分析、Student の t-検定。

b) Fisher 直接確率検定。

c) 腹毎の発生頻度: 分散分析、Student の t-検定。

1) 各群 1 例について、データ収集用コンピュータのトラブルによりデータ欠落。

2) 括弧内は腹毎の発生頻度の平均値(%)。

表T-26-1. 結果の概要(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	10	30	100			
検査腹数		24	24	22	24			
検査胎児数		309	356	287	335			
骨格所見 ¹⁾	変異	変異を有する胎児が認められた腹数	24	24	22	24		
		変異を有した胎児数 ^{a)b)}	225 (70.3)	↑296 (↑81.6)	213 (73.3)	245 (72.7)		
		歯突起の部分骨化	腹数 ^{a)}	16	↑23	14	18	
			胎児数 ^{a)}	59	↑116	42	63	
		第5胸骨部分骨化	腹数 ^{a)}	20	22	18	21	
			胎児数 ^{a)}	67	↑110	64	79	
	踵骨未骨化	腹数 ^{a)}	19	21	17	22		
		胎児数 ^{a)}	118	↑184	112	143		
	胎児	骨化進行度 ²⁾	前肢 ^{a)c)}	スコア 1	0	0	0	0
				スコア 2	0	0	0	1
スコア 3				39	31	30	47	
スコア 4				258	292	238	260	
スコア 5				12	↑33	19	26	
スコア 6				0	0	0	1	
平均スコア				3.91	4.01	3.97	3.94	
後肢 ^{a)c)}		スコア 1	0	0	0	0		
		スコア 2	0	0	0	0		
		スコア 3	14	14	14	29		
		スコア 4	215	↓205	197	217		
		スコア 5	80	↑137	76	87		
		スコア 6	0	0	0	2		
		平均スコア	4.20	4.34	4.22	4.18		
検査腹数		24	24	22	24			
重大な異常を有する胎児が認められた腹数		0	2	0	2			
重大な異常を有した胎児数		0	3	0	2			

↑↓: p<0.01 (Student の t-検定)

a) Fisher 直接確率検定。

b) 腹毎の発生頻度: 分散分析、Student の t-検定。

c) 平均スコア: 分散分析、Student の t-検定。

1) 括弧内は腹毎の発生頻度の平均値(%)。

2) 数値は各スコアを示した胎児数。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 T-27)

試験機関:

報告書作成年: 1999年 [GLP 対応]

検体純度:

供試動物: ニュージーランドホワイト種 [Interfauna 系統] 妊娠雌ウサギ、
開始時体重: 3.27~4.25 kg、1 群各 20 匹

投与期間: 13 日間

投与方法: 検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、8、25 及び 100 mg/kg/日の
投与量で妊娠 8 日から 20 日までの 13 日間、1 日 1 回強制経口投与した。なお、対
照群には、1%カルボキシメチルセルロース水溶液を同様に投与した。交尾の確認さ
れた日を妊娠 1 日とした。

投与量設定根拠:

観察・検査項目:

母動物: 母動物の一般状態を毎日観察し、妊娠 4、8~20、23、26 及び 30 日に体重を測定し
た。妊娠 4~30 日に 3 又は 4 日間隔で摂餌量を測定し、各期間の 1 日当たりの摂餌
量を算出した。妊娠 30 日に母動物を安楽死させ帝王切開し、妊娠子宮を摘出して
重量を測定するとともに、黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胚・胎児数を調べ
た。また、母動物の肉眼的病理検査を行うとともに、黄体数、着床数及び胚・胎児死
亡数から、着床前胚死亡率及び着床後胚死亡率を算出した。

生存胎児: 全生存胎児について、性別確認及び体重測定を行い、外表(口腔を含む)及び内臓
の奇形学的検査を行った後、骨格異常について検査した。

1) 申請者注: 催奇形性試験において妊娠末期の胎児観察で検出される形態異常(奇形)は、器官形成
期(妊娠確認日を妊娠0日として妊娠7~19日)の投与で全て検出されるため、当該試験の評価結果
は妥当と考える。器官形成期以降では既に器官の形態形成は完了しており、この期間における投与
で生じうる児の生存、発育、機能に対する影響については、動物種特異性は想定し難いため、ラット
繁殖毒性試験における新生児の観察で評価されていると考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

胎児の観察所見は、重大な異常(生存と両立しない、又は発生頻度の低い不可逆的な構造又は機能異常)、もしくは軽微な異常又は変異(生存と両立可能で、発育遅延の表れと考えられる軽度で一時的な異常)に分類した。

また、次に示す評価基準に従って前肢及び後肢の骨化の進行度を評価した。

骨化進行度の評価基準

1. (良好) 中手骨/中足骨は完全に骨化。第1及び第3指骨は完全に骨化。
2. 中手骨/中足骨は完全に骨化。第1及び第3指骨は完全に骨化。但し、ところどころ指骨(2つ以下)の骨化が不完全である場合もある。
3. 中手骨/中足骨は完全に骨化。第1及び第3指骨の複数の指骨の骨化が不完全又は骨化していない場合があるが、その他は完全に骨化。
4. 一部のの中手骨/中足骨の骨化は不完全であるが、その他は完全に骨化。第1及び第3指骨の複数の指骨(6つ以下)の骨化が不完全又は骨化していない場合がある。
5. 一部のの中手骨/中足骨の骨化は不完全であるが、その他は完全に骨化。第1及び第3指骨の大部分(即ち、6つ以上)は骨化が不完全又は骨化しておらず、完全に骨化した指骨が散見される場合もある。
6. (不良) 一部のの中手骨/中足骨の骨化は不完全又は骨化していないが、その他は完全に骨化。通常、第1指骨は骨化せず、第3指骨の骨化は不完全であるか、又は骨化していない。

結果: 概要を表 T-27-1 に示す。

100 mg/kg/日群で、排糞量の減少又は下痢徴候を示す動物の発生頻度が増加し、検体投与による影響と考えられた。また、妊娠 9~13 日の体重、妊娠 8~11 及び妊娠 14~17 日の摂餌量に有意な低値がみられた。妊娠 14 日以降の体重は対照群と同等の値であった。25 mg/kg/日群でも同様の一般状態の変化が観察され、妊娠 9 日の体重及び妊娠 8~11 日の摂餌量に低値がみられた。しかしながら、いずれの変化も軽微で一過性の発現であったことから毒性学的意義はないと考えられた。

いずれの投与群においても肉眼的病理検査で検体投与に関連する異常はみられなかった。100 mg/kg/日群で妊娠子宮重量及び着床数の低値がみられたが、黄体数がやや少なく着床前死亡率が高かったことに起因しており、検体投与による影響ではないと判断された。

生存胎児数、胎児体重及び性比に対し、検体投与の影響はみられなかった。

奇形学的検査において、何らかの重大な異常を有した胎児数は 0、8、25 及び 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日本農薬株式会社にある。

mg/kg/日群でそれぞれ7、3、2及び1匹であった。投与群で重大な異常が散見されたが、その種類及び発生頻度が対照群と同等、あるいは1例のみの発生であったことから、偶発的な変化と考えられた。

軽微な異常及び変異については、外表/内臓検査では、異常及び変異を有する胎児の発生頻度は対照群と同等あるいは対照群よりも低く、また、各所見の発生頻度の増加もなく、検体投与の影響はみられなかった。

骨格検査では、検体投与群の軽微な異常を有する胎児の発生頻度は対照群と同等であったが、100 mg/kg/日群で歯突起の不完全骨化の発生頻度が有意に増加した。また、同群では骨格変異を有した胎児の発生頻度が有意に増加し、27 仙椎前椎骨の胎児発生頻度及び長い第13 肋骨の腹ならびに胎児発生頻度が有意に増加した。歯突起の不完全骨化については、100 mg/kg/日群の発生頻度(胎児発生率9.0%)は背景値(胎児発生率0.9~8.0%)をわずかに上回っていたが、他に骨化遅延を示す変化はなく、偶発的な変化と判断された。一方、27 仙椎前椎骨及び長い第13 肋骨については、同群の発生頻度(27 仙椎前椎骨:胎児発生率39.6%、長い第13 肋骨:胎児発生率53.2%、腹発生率87.5%)は背景値(27 仙椎前椎骨:胎児発生率14.6~36.5%、長い第13 肋骨:胎児発生率17.1~55.2%、腹発生率50.0~100%)と同等あるいはわずかに上回る程度であったが、これらの変化の発生頻度の増加が同時に認められており、検体投与との関係は否定できなかった。しかし、これらの変異は、ニュージーランドホワイト種では一般的に高頻度で観察される変化であり、その発生頻度のわずかな増加に毒性学的意義はないと判断された。なお、長い第13 肋骨の発生頻度は25 mg/kg/日群においても有意な高値(胎児発生率50.0%、腹発生率100.0%)を示したが、背景値の範囲内にあり、他の骨格変異の増加を伴わなかったことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

以上、ピコキシストロビン原体を妊娠ウサギに投与した結果、母動物に対する影響として100 mg/kg/日群で排便量の減少、下痢徴候がみられ、有意な体重及び摂餌量の低値が認められた。胎児に対しては、いずれの投与量でも毒性学的意義のある影響はみられなかった。したがって、母動物に対する無毒性量(NOEL)は25 mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は100 mg/kg/日と判断された。また、本試験条件下ではウサギ胎児に対し催奇形性を及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-27-1. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	8	25	100	
1 群当り動物数		20	20	20	20	
母動物	妊娠雌数 ^{a)}	17	17	18	16	
	生存胎児の得られた雌数 ^{a)}	17	16 ¹⁾	18	16	
	一般状態	検体投与に起因する異常所見なし			排糞量減少、 下痢徴候	
	体重 ^{2)b)}	妊娠 9 日			↓99	↓98
		妊娠 10 日				↓98
		妊娠 11 日				↓98
		妊娠 12 日		↑101		↓98
		妊娠 13 日		↑101		↓98
		妊娠 14 日		↑102		
		妊娠 15 日		↑102		
		妊娠 16 日		↑102		
		妊娠 18 日		↑102		
	妊娠 26 日		↑102			
	摂餌量 ^{2)c)}	妊娠 8-11 日			↓72	↓37
		妊娠 14-17 日				↓71
妊娠 23-26 日					↑114	
肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常所見なし				
妊娠子宮重量 ^{2)c)}					↓84	
着床所見	黄体数	11.1	11.3	11.6	10.2	
	着床数 ^{c)}	9.82	9.63	10.83	↓ 8.13	
	着床前胚死亡率(%) ^{3)c)}	12.0	14.2	5.9	↑ 21.0	
	着床後胚死亡率(%) ^{4)c)}	14.4	↓ 7.0	11.8	14.5	
	生存胎児数 ^{c)}	8.35	9.00	9.56	6.94	
胎児	胎児体重 ^{c)}	検体投与に起因する影響なし				
	性比(雄生存胎児数/生存胎児数)(%) ^{c)}	49.5	54.2	51.9	51.6	

↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01 (Student の t-検定、Fisher の直接確率検定)

a) Fisher 直接確率検定。

b) 投与開始時の体重を共変量とした共分散分析、Student の t-検定。

c) 分散分析、Student の t-検定。

1) 1 匹で帝王切開時に全胚吸収が確認された。

2) 対照群を 100 としたときの値。

3) 着床前胚死亡率(%) = (黄体数 - 着床数) / 黄体数 × 100

4) 着床後胚死亡率(%) = (着床数 - 生存胎児数) / 着床数 × 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日本農薬株式会社にある。

表 T-27-1. 結果の概要(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	8	25	100		
検査腹数		17	16	18	16		
検査胎児数		142	144	172	111		
胎児	外表／内臓所見 ¹⁾	重大な異常を有する胎児が認められた腹数 ^{a)}	2	1	2	1	
		重大な異常を有した胎児数 ^{a)b)}	2 ²⁾ (1.1)	1(0.8)	2 ²⁾ (1.2)	1(3.1)	
		無脳症	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
		臍帯ヘルニア	腹数 ^{a)}	1	0	1	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	1	0
		無眼球症	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
		短上顎症	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
		上顎裂	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
		大動脈拡張	腹数 ^{a)}	1	1	0	1
			胎児数 ^{a)}	1	1	0	1
肺動脈狭窄	腹数 ^{a)}	1	1	0	1		
	胎児数 ^{a)}	1	1	0	1		
食道後方鎖骨下動脈	腹数 ^{a)}	1	0	0	0		
	胎児数 ^{a)}	1	0	0	0		
腎臓小型化	腹数 ^{a)}	0	0	1	0		
	胎児数 ^{a)}	0	0	1	0		
軽微な異常	軽微な異常を有する胎児が認められた腹数 ^{a)}	4	8	9	6		
	軽微な異常を有した胎児数 ^{a)b)}	11(10.3)	16(11.1)	15(8.0)	9(7.4)		
変異	変異を有する胎児が認められた腹数 ^{a)}	0	0	0	0		
	変異を有した胎児数	0	0	0	0		
胎児	骨格所見 ¹⁾	重大な異常を有する胎児が認められた腹数 ^{a)}	4	2	1	0	
		重大な異常を有した胎児数 ^{a)b)}	6 ²⁾ (4.8)	2(1.0)	1 ²⁾ (↓0.6)	0	
		上後頭骨欠損	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
		頭蓋骨の全体的奇形	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
		第2頸椎椎体椎弓融合	腹数 ^{a)}	0	0	1	0
			胎児数 ^{a)}	0	0	1	0
		第3、4頸椎椎体融合	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
			胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
第4、5頸椎椎体融合	腹数 ^{a)}	1	0	0	0		
	胎児数 ^{a)}	1	0	0	0		

↓: p<0.05 (Student の t-検定)

a) Fisher 直接確率検定。

b) 腹毎の発生頻度:分散分析、Student の t-検定。

1) 括弧内は腹毎の発生頻度の平均(%)。

2) 1匹は重大な外表／内臓異常及び骨格異常の両方を有した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-27-1. 結果の概要(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	8	25	100	
検査腹数		17	16	18	16	
検査胎児数		142	144	172	111	
胎児 骨格所見 重大な異常	頸椎位置異常	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
	過剰胸椎半椎体	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
	第9胸椎半椎体	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
	第11胸椎半椎体	腹数 ^{a)}	0	1	0	0
		胎児数 ^{a)}	0	1	0	0
	第8、9胸椎椎体融合	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
	第10、11胸椎椎体融合	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
	第9胸椎椎弓欠損	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
	第11胸椎椎弓欠損	腹数 ^{a)}	0	1	0	0
		胎児数 ^{a)}	0	1	0	0
	第7頸椎第1胸椎間過剰肋骨	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
	片側性過剰椎弓	腹数 ^{a)}	1	1	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	1	0	0
	第9、10胸椎間過剰肋骨	腹数 ^{a)}	0	1	0	0
		胎児数 ^{a)}	0	1	0	0
	第9肋骨欠損	腹数 ^{a)}	1	0	0	0
		胎児数 ^{a)}	1	0	0	0
第11肋骨欠損	腹数 ^{a)}	0	1	0	0	
	胎児数 ^{a)}	0	1	0	0	
第5、6肋骨融合	腹数 ^{a)}	1	0	0	0	
	胎児数 ^{a)}	1	0	0	0	
第6、7肋骨融合	腹数 ^{a)}	1	0	0	0	
	胎児数 ^{a)}	1	0	0	0	
第7、8肋骨融合	腹数 ^{a)}	1	0	0	0	
	胎児数 ^{a)}	1	0	0	0	
前肢第一指短縮	腹数 ^{a)}	0	1	0	0	
	胎児数 ^{a)}	0	1	0	0	
多発性の軽微な骨格異常	腹数 ^{a)}	1	0	0	0	
	胎児数 ^{a)}	1	0	0	0	

a) Fisher 直接確率検定で有意差無し。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表T-27-1. 結果の概要(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	8	25	100		
検査腹数		17	16	18	16		
検査胎児数		142	144	172	111		
胎児	骨格所見 ¹⁾	軽微な異常を有する胎児が認められた腹数 ^{a)}	15	14	18	15	
		軽微な異常を有した胎児数 ^{a)b)}	44(31.5)	↑63(42.0)	67(39.1)	43(39.2)	
		歯突起の不完全骨化	腹数 ^{a)}	1	1	4	3
			胎児数 ^{a)}	1	2	6	↑10
		第6胸骨分節の不完全骨化	腹数 ^{a)}	1	3	3	2
			胎児数 ^{a)}	1	↑8	3	2
	変異	変異を有する胎児が認められた腹数 ^{a)}	17	16	18	16	
		変異を有した胎児数 ^{a)b)}	108(74.3)	109(73.9)	144(84.4)	96(↑88.9)	
		舌骨大角の異常骨化	腹数 ^{a)}	8	7	5	7
			胎児数 ^{a)}	19	15	↓8	12
		長い第13肋骨	腹数 ^{a)}	15	11	18	14
			胎児数 ^{a)}	46	52	↑86	↑59
	27 仙椎前椎骨	腹数 ^{a)}	10	9	13	↑15	
		胎児数 ^{a)}	24	30	32	↑44	
	骨化進行度 ²⁾	前肢 ^{a)c)}	スコア 1	10	↓2	↓0	3
スコア 2			41	32	38	30	
スコア 3			85	103	120	72	
スコア 4			5	5	12	6	
スコア 5			1	2	2	0	
平均スコア			2.62	2.75	↑2.86	2.69	
後肢 ^{a)c)}		スコア 1	136	137	162	106	
		スコア 2	6	7	10	5	
		平均スコア	1.05	1.04	1.06	1.05	
		検査腹数	17	16	18	16	
重大な異常を有する胎児が認められた腹数		4	3	2	1		
重大な異常を有した胎児数		7	3	2	1		

↑↓: p<0.05, ↓↑: p<0.01 (Student の t-検定、Fisher直接確率検定)

a) Fisher 直接確率検定。

b) 腹毎の発生頻度:分散分析、Student の t-検定。

c) 平均スコア:分散分析、Student の t-検定。

1) 括弧内は腹毎の発生頻度の平均(%)。

2) 数値は各スコアを示した胎児数。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(13) 変異原性

1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料T-28)

試験機関:

報告書作成年: 1996年 [GLP 対応]

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2P, WP2PuvrA 株) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9mix) の存在下及び非存在下でプレインキュベーション法によって突然変異誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、100~5000 µg/プレート の範囲の 6 濃度で 3 連制で評価した。陽性対照については 2 連制で評価した。試験は 2 回行った。

復帰変異コロニー数が、処理濃度に依存して統計学的に有意に増加した場合、あるいは溶媒対照に比べて 1 濃度以上において統計学的に有意に 2 倍以上増加した場合に陽性と判断した。

用量設定根拠:

結果: 結果を表 T-28-1 及び T-28-2 に示す。いずれの試験においても、検体は S9mix の有無に関わらず、溶媒対照と比較して処理濃度に依存した、あるいは 2 倍以上の復帰変異コロニー数増加を示さなかった。一方、陽性対照として用いたアクリジン変異原 ICR191、2-アミノアントラセン、ダウノマイシン HCl、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、マイトマイシン C 及びアジ化ナトリウムは検定菌株の復帰変異コロニー数を明らかに増加させた。

以上の結果より、ピコキシストロビン原体は代謝活性化を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-28-1. 1 回目試験の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型				フレームシフト型	
			WP2P	WP2P _{uvrA}	TA100	TA1535	TA98	TA1537
溶媒対照(DMSO)		-	31.6	107.2	76.8	8.4	19.0	4.0
検体	100	-	32.3	103.3	83.7	8.3	20.7	3.3
	200	-	34.7	108.7	↑89.3	↑11.7	18.7	3.7
	500	-	33.3	103.3	81.7	6.0	17.0	3.7
	1000	-	33.7	104.3	85.3	9.0	14.0	3.3
	2500	-	24.3	76.0	81.0	12.0	15.0	3.0
	5000	-	37.3	93.7	80.7	6.3	17.0	2.3
溶媒対照(DMSO)		+	48.0	136.6	86.6	12.8	20.4	3.0
検体	100	+	45.0	143.7	90.7	13.7	20.3	4.3
	200	+	46.3	150.3	96.5	10.0	18.3	5.0
	500	+	47.0	136.3	↑99.3	14.0	18.3	↑5.0
	1000	+	48.0	147.3	85.0	13.7	17.3	3.0
	2500	+	34.7	109.7	77.0	10.0	20.7	2.3
	5000	+	45.7	149.7	↑104.0	↑15.3	11.7	3.3

表中の数値は 3 連の平均値

↑: $p < 0.05$ 、 \uparrow : $p < 0.01$ (Student の t-検定: 片側)

DMSO: ジメチルスルホキシド

表 T-28-1. 1 回目試験の結果(続き)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型				フレームシフト型	
			WP2P	WP2P _{uvrA}	TA100	TA1535	TA98	TA1537
陽 性 対 照	NaN ₃	0.5	—	—	↑356.5	↑127.5	—	—
		1.0	—	—	↑1069.5	↑686.0	—	—
		2.0	—	—	↑1547.5	↑1125.0	—	—
	ICR 191	0.5	—	—	—	—	—	↑7.5
		1.0	—	—	—	—	—	↑23.0
		2.0	—	—	—	—	—	↑44.5
	DR	0.2	—	—	—	—	↑267.0	—
		0.5	—	—	—	—	↑1192.5	—
		1.0	—	—	—	—	↑1538.5	—
	MMC	0.2	—	—	—	—	—	—
		0.5	—	—	—	—	—	—
		1.0	—	—	—	—	—	—
	ENNG	0.2	—	↑1176.5	—	—	—	—
		0.5	—	↑2548.0	—	—	—	—
		1.0	—	↑4403.0	—	—	—	—
	2-AA	0.2	—	—	↑245.5	—	↑112.5	—
		0.5	—	—	↑548.5	↑27.5	↑195.0	↑6.5
		1.0	—	↑295.5	↑1394.5	↑55.0	↑976.0	↑24.0
		2.0	+	—	↑1210.5	—	↑85.0	—
		5.0	—	↑67.5	↑2289.5	—	—	—
		10	—	↑114.0	—	—	—	—
20		—	↑177.5	—	—	—	—	

表中の数値は 2 連の平均値、—: 試験を実施せず

↑: $p < 0.05$ 、 \uparrow : $p < 0.01$ (Student の t -検定: 片側)

NaN₃: アジ化ナトリウム

ICR 191: アクリジン変異原 ICR191

DR: ダウノマイシン HCl

MMC: マイトマイシン C

ENNG: *N*-エチル-*N*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-28-2. 2 回目試験の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型				フレームシフト型	
			WP2P	WP2P _{uvrA}	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照(DMSO)		-	28.0	125.8	76.2	10.4	26.6	2.2
検体	100	-	28.3	127.7	74.3	9.0	24.7	2.3
	200	-	28.0	127.3	66.3	9.3	20.7	2.3
	500	-	30.0	108.3	65.3	9.0	23.3	2.7
	1000	-	27.7	121.7	66.3	13.0	24.3	2.7
	2500	-	27.3	111.3	72.3	11.7	18.7	2.0
	5000	-	34.7	133.7	70.3	14.0	14.7	2.3
対照(DMSO)		+	53.0	147.8	86.6	12.6	24.6	3.0
検体	100	+	50.0	147.3	84.0	↑18.3	22.0	2.3
	200	+	56.0	160.0	85.7	8.7	19.0	↑4.3
	500	+	53.0	↑157.3	73.3	13.7	21.7	3.7
	1000	+	48.0	150.0	80.7	14.0	18.3	3.7
	2500	+	49.3	156.0	82.7	↑18.0	20.7	3.3
	5000	+	50.7	155.7	76.3	11.0	20.3	3.0

表中の数値は 3 連の平均値

↑: $p < 0.05$ 、 $\hat{\uparrow}$: $p < 0.01$ (Student の t-検定: 片側)

DMSO: ジメチルスルホキシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-28-2. 2 回目試験の結果(続き)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型				フレームシフト型		
			WP2P	WP2P _{uvrA}	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
陽 性 対 照	NaN ₃	0.5	—	—	↑296.5	↑142.0	—	—	
		1.0	—	—	↑775.0	↑577.0	—	—	
		2.0	—	—	↑1077.0	↑925.0	—	—	
	ICR 191	0.5	—	—	—	—	—	↑16.0	
		1.0	—	—	—	—	—	↑41.0	
		2.0	—	—	—	—	—	↑110.5	
	DR	0.2	—	—	—	—	↑128.5	—	
		0.5	—	—	—	—	↑321.5	—	
		1.0	—	—	—	—	↑846.5	—	
	MMC	0.2	—	↑93.5	—	—	—	—	
		0.5	—	↑134.5	—	—	—	—	
		1.0	—	↑174.5	—	—	—	—	
	ENNG	0.2	—	—	↑468.0	—	—	—	
		0.5	—	—	↑1849.0	—	—	—	
		1.0	—	—	↑3306.0	—	—	—	
	2-AA	0.2	—	—	↑139.5	—	↑111.0	—	
		0.5	—	—	↑285.5	↑45.5	↑261.5	↑14.5	
		1.0	—	↑430.0	↑755.5	↑97.0	↑804.0	↑36.0	
		2.0	+	—	↑1385.5	—	↑148.0	—	
		5.0	—	↑73.0	↑2280.5	—	—	—	
		10	—	↑94.0	—	—	—	—	
20		—	↑107.5	—	—	—	—		

表中の数値は 2 連の平均値、—: 試験を実施せず

↑: $p < 0.05$ 、↑↑: $p < 0.01$ (Student の t -検定: 片側)

NaN₃: アジ化ナトリウム

ICR 191: アクリジン変異原 ICR191

DR: ダウノマイシン HCl

MMC: マイトマイシン C

ENNG: *N*-エチル-*N*'-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ほ乳類培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験

(資料 T-29)

試験機関:

報告書作成年: 1996 年 [GLP 対応]

検体純度:

試験方法: マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK^{+/+}(-3.7.2c)株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9mix)の存在下及び非存在下で、マイクロプレート法を用いてトリフルオロチミジン(TFT)抵抗性細胞の出現頻度を測定し、突然変異誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。試験は2回行い、それぞれ表 T-29-1 に示した濃度で実施した。

S9mix 存在下及び非存在下で対数増殖期の細胞に検体を4時間処理した。処理後、細胞を洗浄し、その一部をマイクロウェルプレートに播種して培養し、処理直後の生存率を算出した。残りの細胞は48時間の突然変異発現期間中に、増殖率を維持しながら毎日継代した。その後マイクロウェルプレートにTFT存在下及び非存在下で播種して10~13日間培養し、それぞれコロニーを含まないウェルを計数して、突然変異頻度を算出した。試験は2回行った。

表 T-29-1. 試験濃度

試験	濃度(μg/ml)
1	4、8、16、32、64
2	24、32、42、56、75

結果の判定: 突然変異頻度が検体処理濃度に依存して統計学的に有意に増加し、さらに、その増加に再現性が認められた場合を陽性と判断した。

結果: 結果の概要を表 T-29-2 に示す。

細胞毒性: 試験1の最高濃度(64 μg/ml)における細胞生存率は、S9mix 非存在下及び存在下でそれぞれ62及び71%であった。試験2の最高濃度(75 μg/ml)における細胞生存率は、S9mix 非存在下及び存在下でそれぞれ61及び33%であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

突然変異頻度： 試験 1 において、S9mix 非存在下で 16 及び 32 $\mu\text{g/ml}$ の処理濃度で統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められたが、試験 2 において再現性は認められなかった。一方、試験 1 及び試験 2 において、軽微(対照群の 2~3 倍)ではあるが、S9mix 存在下で検体処理濃度に依存して統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められた。

陽性対照として用いたメタンスルホン酸エチル(EMS)及び *N*-ニトロソジメチルアミン(NDMA)では明らかな突然変異頻度の増加が認められた。

以上の結果より、ピコキシストロピン原体は本試験条件下で、S9mix 存在下で遺伝子突然変異誘発性を有すると判断された。

表 T-29-2. 試験結果

	薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	S9mixの有無	生存率 (%)	突然変異頻度 ($\times 10^{-4}$)	
試験 1	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{l/ml}$	-	93	1.1	
	検体	4	-	58	2.6	
		8	-	79	2.3	
		16	-	75	$\uparrow 4.7$	
		32	-	63	$\uparrow 3.6$	
		64 [#]	-	62	— ¹⁾	
	陽性対照(EMS)	750	-	20	$\uparrow 12.6$	
	試験 1	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{l/ml}$	+	97	0.9
		検体	4	+	94	1.3
			8	+	94	$\uparrow 1.9$
			16	+	96	$\uparrow 2.5$
			32	+	91	$\uparrow 1.9$
			64 [#]	+	71	$\uparrow 2.0$
		陽性対照(NDMA)	600	+	84	$\uparrow 4.3$
試験 2	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{l/ml}$	-	89	3.2	
	検体	24	-	55	3.1	
		32	-	89	2.7	
		42	-	70	1.9	
		56	-	55	— ¹⁾	
		75 [#]	-	61	— ¹⁾	
	陽性対照(EMS)	750	-	34	$\uparrow 15.9$	
	試験 2	溶媒対照(DMSO)	10 $\mu\text{l/ml}$	+	99	1.7
		検体	24	+	82	1.9
			32	+	89	2.0
			42	+	69	2.7
			56	+	59	2.2
			75 [#]	+	33	$\uparrow 4.2$
		陽性対照(NDMA)	600	+	75	$\uparrow 6.1$

表中の数値は2連の平均値、[#]:結晶析出
 \uparrow : $p < 0.05$ 、 \uparrow : $p < 0.01$ (ロジスティック解析)

1) 突然変異コロニーなし。

EMS:メタンサルホン酸エチル

NDMA:N-ニトロソジメチルアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験

(資料T-30)

試験機関:

報告書作成年: 1996年 [GLP 対応]

検体純度:

試験方法: 二人のドナーから血液を採取し、リンパ球を分離してそれぞれドナー1及びドナー2として試験に用いた。ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9mix)の存在下及び非存在下で検体を68時間及び92時間(ドナー2の最高濃度のみ)処理し、標本を作製して染色体異常誘発性を検討した。本試験の濃度は、S9mix存在下では、5、30及び60 µg/ml(ドナー1)ならびに5、30、50 µg/ml(ドナー2)とし、S9mix非存在下ではいずれも0.5、2.5、5 µg/mlの3濃度とした。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、DMSOの培地中最終濃度は5.0 µl/mlとした。陽性対照にはシクロホスファミド(CP: S9mix存在下)及びマイトマイシンC(MMC: S9mix非存在下)を用いた。溶媒対照及び検体の標本について、スライド1枚あたり100個、2連反復で計200個の分裂中期細胞を観察し、染色体の異常をギャップ、切断、断片・細片、交換、複合異常及びその他に分類して計数した。また、陽性対照の標本については、スライド1枚の25個又は50個の分裂中期細胞を同様に観察した。ギャップを除いた異常を有する細胞の割合(%)について、Fisherの直接確率検定を用いて統計学的解析を行った。染色体異常を有する細胞の出現頻度が、1濃度以上において統計学的に有意に増加し、背景値を上回る場合に陽性と判断した。

濃度設定根拠:

結果: 結果の概要を表T-30-1(68時間処理)及びT-30-2(92時間処理)に示す。検体処理群では、S9mix非存在下でドナー1及びドナー2のいずれにおいても染色体異常を有する細胞の出現頻度増加は認められなかった。一方、S9mix存在下でドナー2において、処理濃度30 µg/mlで染色体異常を有する細胞の出現頻度が僅かながらも統計学的に有意に増加した。しかしながら、その増加に検体処理濃度との関連がみられず、ドナー1では再現されなかったことから、ドナー2でみられた染色

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

体異常を有する細胞の出現頻度増加に生物学的意義はないと判断された。培養時間を92時間に延長したドナー2では、S9mix存在下及び非存在下ともに染色体異常を有する細胞の出現頻度は対照群と同等であった。一方、陽性対照のCP及びMMCでは染色体異常を有する細胞の出現頻度の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、ピコキシストロビン原体は代謝活性化を含む本試験条件下で、染色体異常誘発性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-30-1. 試験結果(68 時間処理)

S9mix の有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	検査 細胞数	染色体異常数						染色体異常を 有する細胞の出 現頻度(%) (ギャップを除く)	平均有糸 分裂指数 (%)
				ギャップ	切 断	断片・ 細片	交 換	複合 異常	その他		
-	溶媒対照 (DMSO)	5.0 $\mu\text{l/ml}$	200	1	3	0	0	0	0	1.50	12.6
			200	0	2	1	0	0	0	1.50	8.1
	検体	0.5	200	2	2	0	0	0	0	1.00	11.7
			200	0	0	0	0	0	0	0.00	8.5
		2.5	200	2	5	1	0	0	0	2.50	6.4
			200	1	3	1	0	0	0	2.00	4.3
		5.0	200	0	1	0	0	0	0	0.50	5.3
			200	2	2	2	0	0	0	2.00	3.7
	陽性対照 (MMC)	0.2	25	3	8	2	0	0	0	\uparrow 40.00	7.4
			25	4	10	6	0	0	0	\uparrow 52.00	4.9
+	溶媒対照 (DMSO)	5.0 $\mu\text{l/ml}$	200	1	1	1	0	0	1	1.50	11.0
			200	3	1	0	0	0	0	0.50	8.0
	検体	5.0	200	4	2	0	0	0	0	1.00	10.1
			200	0	3	1	0	0	0	2.00	8.8
		30	200	2	0	1	0	0	0	0.50	6.3
			200	8	9	3	0	0	0	\uparrow 6.00	4.3
		60	200	8	2	0	0	0	0	1.00	4.7
			200	3	1	2	0	0	0	1.50	3.9
	陽性対照 (CP)	50	50	5	8	5	1	0	1	\uparrow 26.00	5.3
			50	6	15	2	1	0	1	\uparrow 36.00	3.8

結果を2段に記載(上段:ドナー1、下段:ドナー2)。

\uparrow : $p < 0.01$ (Fisher 直接確率検定、片側)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 T-30-2. 試験結果(92 時間処理)

S9mix の有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	検査 細胞数	染色体異常数						染色体異常を 有する細胞の出 現頻度(%) (ギャップを除く)	平均有糸 分裂指数 (%)
				ギャップ	切 断	断片・ 細片	交 換	複合 異常	その他		
-	溶媒対照 (DMSO)	5.0 $\mu\text{l/ml}$	200	3	2	3	2	0	1	3.00	10.1
	検 体	5.0	200	4	0	2	0	0	0	1.00	11.2
+	溶媒対照 (DMSO)	5.0 $\mu\text{l/ml}$	200	7	5	4	2	0	0	4.00	9.0
	検 体	50	200	3	1	0	0	0	0	0.50	7.2

Fisher 直接確率検定(片側)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日本農薬株式会社にある。

4) マウスを用いた小核試験

(資料T-31)

試験機関:

報告書作成年: 1996年 [GLP 対応]

検体純度:

供試動物: CD-1 マウス、開始時 4~7 週齢、開始時体重; 雄 26.4~40.6 g、雌 22.6~32.7 g、1 群雌雄各 5 匹

試験方法: 検体をコーン油に懸濁し、2000、3200 及び 5000 mg/kg の投与量で、単回経口投与した。なお、溶媒対照群にはコーン油を同様に経口投与し、陽性対照群には生理的食塩水に溶解したシクロホスファミドを 65 mg/kg の投与量で単回経口投与した。2000 及び 3200 mg/kg 検体投与群は投与 24 時間後に、5000 mg/kg 検体投与群及び溶媒対照群は投与 24 及び 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取して骨髓塗抹標本作製し、ポリクロムメチレンブルー及びエオジンにより染色した。陽性対照群は投与 24 時間後に屠殺し、上記と同様に骨髓塗抹標本作製した。各動物について 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球を計数した。また、骨髓細胞毒性を調べるために、観察中に認められる正染性赤血球数も計数し、全赤血球中に対する多染性赤血球の比率を求めた。投与期間中は毒性徴候を観察した。判定は、小核を有する多染性赤血球数が溶媒対照群の 3 倍以上に増加した場合に陽性と判断した。

投与量設定根拠:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果：

骨髓標本の観察結果を表 T-31-1 に示す。

検体投与による毒性徴候として、閉眼、下痢、鎮静、うずくまり、毛づくろいの減少や腹部の膨満が認められたが、全投与群において死亡例はなかった。

雄では、24 及び 48 時間後ともに、溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、統計学的有意な増加は認められなかった。一方、雌では、24 時間後に小核を有する多染性赤血球の有意な増加は認められなかったが、48 時間後に 5000 mg/kg 投与群で僅かではあるが有意な増加が認められた。しかし、各動物について 2000 個の多染性赤血球を追加で調べた結果、小核を有する多染性赤血球の出現頻度は対照群と同等であり、合計 4000 個で評価した場合にも有意な増加は認められなかった。したがって、最初の観察で認められた小核を有する多染性赤血球の出現頻度増加に生物学的意義はないと考えられた。また、多染性赤血球比率が、雄の 5000 mg/kg 投与群の 48 時間後及び雌の 2000 mg/kg 投与群の 24 時間後で有意に減少したが、本試験において観察された値の範囲を考慮するとその変動は僅かであり、生物学的意義のない変化と考えられた。陽性対照のシクロホスファミドでは小核を有する多染性赤血球数の出現頻度が有意に増加した。

以上の結果より、ピコキシストロビン原体は本試験条件下で、マウスの骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性を有しないと判断された。

表 T-31-1. 観察結果

性別	採取時間	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNPCE(%) (平均値±標準偏差)	PCE/(PCE+NCE)(%) (平均値±標準偏差)
雄	24	溶媒対照 (コーン油)	20 ml/kg	5	2.1 ± 0.8	42.6 ± 9.3
		検体	2000	5	2.7 ± 1.2	35.5 ± 6.8
			3200	5	2.4 ± 1.5	36.7 ± 4.5
			5000	5	2.3 ± 2.2	41.7 ± 7.9
		陽性対照 (シクロスファミド [*])	65	5	↑26.0 ± 9.4	34.9 ± 7.8
	48	溶媒対照 (コーン油)	20 ml/kg	5	1.7 ± 0.3	51.2 ± 8.5
		検体	5000	5	2.3 ± 1.4	↓38.7 ± 7.6
	雌	24	溶媒対照 (コーン油)	20 ml/kg	5	1.6 ± 0.8
検体			2000	5	2.3 ± 0.8	↓30.5 ± 8.7
			3200	5	2.9 ± 2.2	40.5 ± 2.5
			5000	5	2.5 ± 1.4	36.2 ± 9.4
陽性対照 (シクロスファミド [*])			65	5	↑31.0 ± 12.4	43.4 ± 10.1
48		溶媒対照 (コーン油)	20 ml/kg	5	0.8 ± 0.8	50.4 ± 9.7
		検体	5000	5	↑2.7 ± 1.7	48.5 ± 7.1
48 ¹⁾		溶媒対照 (コーン油)	20 ml/kg	5	2.6 ± 1.2	
		検体	5000	5	1.5 ± 1.3	
48 ²⁾		溶媒対照 (コーン油)	20 ml/kg	5	1.7 ± 0.6	
		検体	5000	5	2.1 ± 1.3	

↑↓:p<0.05 ↑:p<0.01 (Student の t-検定、片側)

MNPCE:小核を有する多染性赤血球数、PCE:多染性赤血球数、NCE:正染性赤血球数

1) 追加観察の結果。

2) 最初の観察と追加観察の合計 4000 個/匹の結果。