

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

8) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

8-1) ピラクロストロビンのラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 24)

試験機関: BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体純度:

試験動物: Wistar 系 (Chbb=THOM (SPF)) ラット, 1 群雄 25 匹, 雌 25 匹, 投与開始時 5 週齢

投与期間: F0 世代; 投与開始から F1 児離乳後の剖検までの約 23 週間

F1 世代; 離乳時から F2 児離乳後の剖検までの約 22 週間

(動物試験期間, 1998 年 6 月 3 日 ~ 1999 年 3 月 10 日)

投与方法: 検体を 0, 25, 75 及び 300ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。尚, 対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与用量設定根拠:

試験方法及び試験項目: 概要を 158 頁の表にまとめた。

親動物:

一般状態及び死亡;

全動物の一般状態と死亡の有無を試験期間中毎日観察した。死亡動物は、発見後できるだけ早く剖検して所見を記録した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

体 重 ;

雌雄とも試験開始時と交配前期間中の毎週及び剖検時に測定した。雌については更に妊娠 0 日, 7 日, 14 日, 20 日と哺育 1 日, 4 日, 7 日, 14 日, 21 日, また離乳時から剖検までの期間中も週 1 回測定した。

体重増加量 ;

雄は体重測定の各間隔ならびに投与開始時から終了時まで (F0:0~21 週, F1:0~20 週), 雌は交配前, 妊娠, 哺育及び離乳後の期間中における体重測定の各間隔ならびに妊娠 0~20 日と哺育 0~21 日について求めた。

摂 餌 量 ;

雌雄とも交配前期間中の毎週, 更に雌は妊娠 0~7 日, 7~14 日, 14~20 日, 0~20 日及び哺育 1~4 日, 4~7 日, 7~14 日, 1~14 日について算出した。

検体摂取量 ;

雌雄とも交配前期間中に, また雌は妊娠及び哺育期間中について, 体重, 摂餌量及び飼料中の設定検体濃度から 1 日当り, 体重 1 kg 当りの検体摂取量 (mg/kg/日) を算出した。

試験の概要

世代	期間(週)	作業手順	試験項目
F0	生育(10)	一般状態及び死亡の有無の観察(投与期間中毎日) 体重及び摂餌量測定(投与期間中原則として毎週)	一般状態, 死亡 体重, 体重増加量, 摂餌量, 検体摂取量 性周期
	交配(1)	性周期観察(交配前少なくとも3週間及び交尾の確認まで)	交尾率
	妊娠(3)	雌雄1対1で1晩同居交配, 翌朝腔垢中の精子で交尾を確認(妊娠0日)	授精率, 妊娠率
	出産 哺育(3)	出産状況の観察(哺育0日) 出産児の生死, 性, 外表所見, 生存(哺育0, 4, 7, 14, 21日)の観察, 体重測定(哺育1, 4, 7, 14, 21日), 死亡児の剖検	出産率, 妊娠期間 児の一般状態, 死亡, 産児数, 生存児出産率, 性 比, 生存率, 体重, 体重増加量, 剖検所見, 哺育率
F1	離乳	同腹児数調整(哺育4日, 原則として雌雄各4匹) 選抜されなかった哺育4日齢児の剖検 哺育21日 F1親動物の選抜(各腹各性1匹または2匹を選抜) 選抜されなかったF1離乳児の剖検 F0親動物の精子検査, 剖検, 臓器重量測定, 病理組織学的検査(卵胞と黄体の計数を含む)	剖検所見, 臓器重量 精子の数, 運動率及び 形態, 着床数, 着床後 胚死亡率, 剖検所見, 臓器重量, 病理組織学的所 見(卵胞数, 黄体数) 性成熟
	生育(10)	性成熟(雄, 包皮分離; 雌, 腔開口)の観察 (兄妹交配は避けた) (F0親動物及びF1児動物に準ずる)	(F0親動物及びF1児 動物に準ずる)
	交配(2)		
	妊娠(3)		
	出産 哺育(3) 離乳		
F2			

交配及び妊娠の確認;

雌を同群の雄と1対1で一晩同居させて交配を行なった。F1動物については、兄妹交配を避けた。同居の翌朝、腔垢中の精子の有無を調べ、精子を認めた場合に交尾が成立したものと判断した。妊娠は、分娩によって、また剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることによって確認した。

繁殖性に関する指標;

生育, 交配, 妊娠及び哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

性成熟；雄の包皮分離と雌の腔開口の日齢(F1動物についてのみ)

性周期；交配前に少なくとも3週間及び交尾が確認されるまで性周期を観察し、
性周期の平均日数を算出

交尾成立までの期間；雌雄を同居後、雌の腔垢中に精子が確認されるまでの日数

交尾率(%) = (交尾を認めた雄(雌)数 / 交配に用いた雄(雌)数) × 100

授精率(%) = (雌を妊娠させた雄数 / 交配に用いた雄数) × 100

精子；運動率(自動性を示す精子の百分率)、形態(正常及び異常形態精子の百分率)及び数(精巣及び精巣上体尾部における精子頭部の数)(形態と数は対照群と高用量群のみ)

妊娠率(%) = (妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数) × 100

出産率(%) = (生存児を出産した雌数 / 妊娠雌数) × 100

妊娠期間；交尾を認めた日(妊娠0日)から分娩完了日(哺育0日)までの日数

着床数；子宮内の着床痕の数

類別卵胞数及び黄体数；対照群と高用量群のF0及びF1雌親動物について、卵巣の連続組織切片を顕微鏡で観察し、原始卵胞、発育卵胞、原始卵胞と発育卵胞の合計、グラフ卵胞及び黄体を計数した。

病理学的検査；

剖検所見；すべてのF0及びF1親動物の外表及び内臓・組織の肉眼による病理学的変化を記録した。

臓器重量；最終剖検時まで生存したすべてのF0及びF1親動物の脳、下垂体、胸腺、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、卵巣、子宮(頸部と卵管を含む)、精巣、精巣上体(全体及び尾部)、精のう(凝固腺と分泌物を含む)及び前立腺の重量を測定した。又、対体重比を算出した。

病理組織学的所見；対照群と高用量群のすべてのF0及びF1親動物ならびに低用量群と中間用量群における児の得られなかった雌雄の生殖器官(卵巣、卵管、子宮、子宮頸、腔または左精巣、左精巣上体、精のう、凝固腺、前立腺)と下垂体、胸腺、肝臓、副腎及び腎臓(全群のF0及びF1親動物)、更に死亡動物の肉眼的異常部位について、それぞれ病理組織学的変化を記録した。

児動物；

一般状態及び死亡；

全動物の一般状態と死亡の有無を哺育期間中毎日観察した。死亡児は、発見後速やかに剖検して所見を記録した。

着床後胚死亡率(%) = (着床数 - 産児数) / 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BASFアグロ株式会社にある。

産 児 数 ;

出産日(哺育0日)における生存児と死亡児の合計

平均産児数 = 総産児数 / 出産母動物数

生存児出産率(%) = (出産時生存児数 / 産児数) × 100

性 比 ;

哺育0日と21日における生存児に対する雄または雌の割合(%)

生 存 率(%) = (哺育4日の哺育児数調整前の生存児数 / 哺育0日の生存児数) × 100

哺 育 率(%) = (哺育21日の生存児数 / 哺育4日の哺育児数調整後の生存児数) × 100

体 重 ;

哺育1日, 4日(数調整前), 7日, 14日及び21日に個体別に測定して雌雄ごとの平均体重を求めた。各腹の雌雄ごとの平均体重を基にして, 各群の雌雄ごとの平均体重を求めた。

体重増加量 ;

哺育1~4日, 4~7日, 7~14日, 14~21日及び4~21日について, 雌雄ごとの平均体重増加量を求めた。各腹の雌雄ごとの値を基にして, 各群の雌雄ごとの平均体重増加量を求めた。

剖検所見 ;

すべてのF1及びF2児動物の外表及び内臓・組織の肉眼による病理学的変化を記録した。異常所見のある児動物については, 更にWilson法(Wilson, J.G. and Warkany, J., 1965)に従って詳細に検査した。

臓器重量 ;

離乳後の剖検時まで生存したF1及びF2児動物の中から, 各腹雌雄それぞれ1または2匹を選抜して脳, 胸腺及び脾臓の重量を測定した。又対体重比(哺育21日の体重に対する比)を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結 果：

概要を以下の表に示す。

世 代			親：F0 児：F1				親：F1 児：F2				
投与量 (ppm)			0	25	75	300	0	25	75	300	
動 物 数	雄		25	25	25	25	25	25	25	25	
	雌		25	25	25	25	25	25	25	25	
死亡数	雄		0	0	0	0	0	0	0	0	
	雌		0	0	0	1 ¹⁾	0	0	0	0	
一 般 状 態			検体投与に起因する異常は認められなかった								
体 重 (g)	雄	生育時*									
		10 週	416.8	421.1	424.9	402.9	412.4	410.1	↑439.6	↓388.4	
	雌	21 (20) 週	487.3	505.1	501.4	474.1	499.6	501.4	↑540.7	482.2	
		生育第 10 週	263.1	263.9	265.0	252.3	250.1	259.9	262.0	246.5	
妊娠第 20 日目		396.6	395.8	391.0	↓378.4	381.5	384.6	378.7	373.6		
体 重 増加 (g)	雄	哺育第 21 日目	325.2	321.3	324.5	310.8	322.4	322.6	321.8	315.2	
		生育時 ^a	357.7	376.3	372.6	345.3	413.9	409.0	↑451.1	404.1	
		生育時 ^a	144.6	145.0	147.1	134.1	169.2	174.2	179.5	173.1	
	雌	妊娠時	130.6	132.1	125.0	125.9	128.6	122.2	115.0	125.3	
哺育時		24.3	20.7	21.0	24.1	23.8	20.1	27.7	27.0		
親 動物	摂 餌 量 (g)	雄	生育時 ^b	26.0	26.5	26.6	25.3	26.6	26.8	27.9	25.4
			0-1 週	22.9			↓21.9	19.4			↓17.2
			1-2 週					23.8			↓22.3
			2-3 週	27.2			↓26.0	26.7		↑28.1	↓25.2
			3-4 週	27.1			↓25.8				
			4-5 週					29.0		↑30.9	28.2
			5-6 週					28.6		↑30.3	27.7
			6-7 週					27.9		↑29.6	27.4
			7-8 週	25.9		↑27.2	26.3	27.1		↑28.6	26.1
			8-9 週					26.9		↑28.4	26.0
	9-10 週					27.2		↑28.8	26.6		
	雌	生育時 ^b	19.9	19.9	20.0	18.8	20.2	20.6	20.5	19.1	
		0-1 週	19.1			↓17.6	17.0			↓15.4	
		5-6 週	19.9			↓18.8	20.4			↓19.1	
		6-7 週					21.0			↓19.7	
		7-8 週	20.8			↓19.3					
		8-9 週	20.5			↓19.3	21.6			↓20.3	
		9-10 週	20.4			↓18.8	21.5			↓20.4	
		妊娠時 ^c	25.3	25.6	26.0	24.5	25.9	25.8	25.7	24.6	
		7-14 日					26.4			↓24.5	
14-20 日						27.7			↓26.1		
哺育時 ^d			46.3	45.6	45.0	45.9	45.2	45.5	42.5	44.5	

*：生育時（ ）内は F1 の週

¹⁾ 哺育第 1 日に死亡

^a 雄：F0 は試験 0～21 週、F1 は試験 0～20 週、雌：試験 0～10 週の体重増加

^b 試験 0～10 週の平均

^c 妊娠 0～20 日の平均

^d 哺育 1～14 日の平均

矢印のない値は有意差なし。なお、空欄には有意差は認められなかった。

Dunnett 検定：体重，体重増加，摂餌量の各時点(週)，↑↓：P≤0.05，↑↓：P≤0.01

(摂餌量の生育時、妊娠時及び哺育時それぞれの全期間中を通しての平均については統計処理を行っていない。)

結 果 (続き) :

世 代				親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)				0	25	75	300	0	25	75	300	
親動物	検体 摂取量 (mg/kg/ 日)	雄	生育時 0-10w	—	2.5	7.4	29.0	—	2.8	8.6	35.0	
			生育時 0-10w	—	2.6	7.8	30.4	—	3.0	9.0	36.0	
		雌	妊娠時 0-20日	—	2.2	6.7	26.3	—	2.2	6.6	26.7	
			哺育時 0-14日	—	3.7	10.8	45.9	—	3.7	10.5	45.3	
			剖 検 所 見			検体投与に起因する異常は認められなかった						
	剖検時体重 (g)		雄	468.6	482.1	475.9	452.1	470.3	471.5	↑510.3	453.2	
			雌	281.2	278.5	282.8	↓266.6	283.8	285.2	284.5	↓268.7	
	臓器重量 a	脳	雄	A(g)	2.121	2.123	2.096	2.069	2.110	2.092	2.149	2.078
				R(%)	0.454	0.443	0.442	0.460	0.452	0.446	↓0.424	0.461
			雌	A(g)	1.975	1.972	1.973	1.961	1.974	2.008	1.984	1.976
				R(%)	0.704	0.713	0.701	0.739	0.698	0.706	0.699	↑0.737
		下垂体	雄	A(mg)	12.24	12.08	12.48	14.12	11.36	11.32	12.28	11.56
				R(%)	0.003	0.003	0.003	0.003	0.002	0.002	0.002	0.003
			雌	A(mg)	15.48	15.28	14.958	14.542	14.88	14.80	15.60	15.80
				R(%)	0.006	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	↑0.006
		胸腺	雄	A(mg)	205.3	224.8	202.8	213.6	245.8	255.2	263.9	236.1
				R(%)	0.044	0.047	0.043	0.047	0.052	0.054	0.052	0.052
			雌	A(mg)	251.3	236.8	241.2	250.3	234.9	232.1	230.5	234.0
				R(%)	0.089	0.085	0.085	0.094	0.083	0.082	0.081	0.087

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値

Kruskal-Wallis H検定及びWilcoxon検定: 臓器重量, 剖検時体重

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

結 果(続き) :

世 代					親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)					0	25	75	300	0	25	75	300
親 動物	臓 器 重 量 a	肝	雄	A (g)	15.12	15.49	14.93	15.03	14.84	14.76	↑16.09	14.54
				R (%)	3.222	3.212	3.133	3.319	3.156	3.128	3.151	3.207
			雌	A (g)	8.676	8.509	8.616	8.266	8.908	8.812	8.880	8.554
				R (%)	3.090	3.059	3.047	3.102	3.137	3.092	3.120	3.186
		脾	雄	A (g)	0.883	0.912	0.882	0.835	0.886	0.912	0.924	0.837
				R (%)	0.189	0.190	0.186	0.185	0.189	0.193	0.181	0.184
			雌	A (g)	0.660	0.641	0.612	0.658	0.593	0.642	0.618	0.656
				R (%)	0.235	0.231	0.217	0.247	0.209	0.226	0.217	↑0.244
		腎	雄	A (g)	3.097	2.996	2.966	3.154	2.905	2.938	3.075	2.99
				R (%)	0.662	↓0.623	↓0.624	↑0.699	0.618	0.625	0.604	↑0.661
			雌	A (g)	1.948	1.959	1.966	1.942	1.965	2.007	2.007	1.983
				R (%)	0.694	0.706	0.696	0.729	0.693	0.704	0.706	↑0.739
		副 腎	雄	A (mg)	74.08	↑81.48	79.20	72.96	77.84	75.92	78.80	74.64
				R (%)	0.016	0.017	0.017	0.016	0.017	0.016	0.016	0.016
			雌	A (mg)	110.5	109.8	109.6	104.5	99.2	102.5	104.2	95.3
				R (%)	0.039	0.040	0.039	0.039	0.035	0.036	0.037	0.036

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値

Kruskal-Wallis H検定及びWilcoxon検定: 臓器重量

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結 果(続き) :

世 代				親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2					
投与量 (ppm)				0	25	75	300	0	25	75	300		
親動物	臓器重量 a	精巢	雄	A (g)	3.895	3.911	3.859	3.809	3.822	3.978	3.984	3.867	
				R (%)	0.834	0.818	0.814	0.847	0.816	0.845	0.785	0.858	
		精巢上体	雄	A (g)	1.383	1.374	1.357	1.358	1.319	1.333	1.364	1.358	
				R (%)	0.296	0.287	0.286	0.302	0.282	0.283	↓0.269	↑0.301	
		精巢上体尾部	雄	A (g)	0.574	0.574	0.570	0.568	0.533	0.535	0.533	0.552	
				R (%)	0.123	0.120	0.120	0.126	0.114	0.114	↓0.105	0.123	
		精のう	雄	A (g)	1.423	1.306	1.329	1.345	1.207	1.218	1.230	1.249	
				R (%)	0.305	↓0.272	0.280	0.298	0.258	0.259	0.243	0.277	
		前立腺	雄	A (g)	1.228	1.286	1.355	1.355	1.158	1.183	1.196	1.223	
				R (%)	0.263	0.269	0.286	0.301	0.248	0.252	0.237	0.271	
		卵巣	雌	A (mg)	136.6	↓122.6	↓111.6	↓120.3	123.7	126.6	122.00	117.9	
				R (%)	0.049	0.044	↓0.040	0.045	0.043	0.044	0.043	0.044	
		子宮	雌	A (g)	0.846	0.827	0.844	0.847	0.827	0.910	0.850	0.865	
				R (%)	0.302	0.299	0.300	0.317	0.294	0.320	0.298	0.324	
		原始卵胞 ^b				105	—	—	123	102	—	—	105
		発育卵胞 ^b				45	—	—	50	55	—	—	52
		原始卵胞＋ 発育卵胞 ^b				150	—	—	173	157	—	—	157
		グラーフ卵胞 ^b				2.9	—	—	2.8	2.3	—	—	2.8
	黄 体 ^b				41	—	—	40	37	—	—	37	
	病理組織学的所見				検体投与に起因する異常は認められなかった								

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値, b: 平均数

Kruskal-Wallis H検定及びWilcoxon検定: 臓器重量

Wilcoxon検定: 卵胞及び黄体数

Fisherの直接確率計算法: 病理組織学的所見

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300
親動物	繁殖能力								
	雄	包皮分離 (日齢) ^a	—	—	—	43.8	43.4	43.6	43.7
		交尾率	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25
		授精率	25/25	25/25	24/25	25/25	24/25	24/25	25/25
		精子数 ($\times 10^6$) ^{a, b}	105	—	—	98	—	—	97
			472	—	—	660	—	—	667
		精子運動率 (%) ^a	90	89	90	92	89	90	92
		正常形態精子 (%) ^a	98.2	—	—	98.5	—	—	98.8
		異常形態精子 (%) ^a	1.8	—	—	1.5	—	—	1.2
	雌	腔開口 (日齢) ^a	—	—	—	31.7	32.1	32.4	↑33.3
		性周期 (日数) ^a	4.0	4.1	4.0	4.2	4.1	4.0	4.0
		交尾成立までの日数 ^a	2.8	↓2.0	↓2.2	1.9	2.0	2.0	↑2.8
		交尾率	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25
		妊娠率	25/25	25/25	24/25	25/25	24/25	24/25	25/25
		出産率	25/25	25/25	24/24	25/25	23/24	23/24	25/25
		妊娠期間 (日) ^a	21.9	22.0	21.9	22.0	22.0	22.0	22.0
		着床数 ^a	16.7	16.2	↓14.5	14.5	14.3	13.8	15.4
		着床後胚死亡率 (%) ^a	13.3	12.6	15.6	10.1	13.9	14.3	9.0

a: 平均値

b: 上段は精巣 1 g 当りの総精子細胞数, 下段は精巣上体尾部 1 g 当りの総精子数

Dunnett 検定: 包皮分離, 腔開口, 性周期, 交尾成立までの日数, 妊娠期間, 着床数, 着床後胚死亡率

Fisher の直接確率計算法: 交尾率, 授精率, 妊娠率, 出産率

Wilcoxon 検定: 精子数, 精子運動率, 正常形態精子, 異常形態精子

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300
児 動 物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった							
	産 児 数 ^a	14.5	14.0	12.5	13.1	13.1	13.0	12.5	14.0
	生存児出産率 (%)	98	96	98	98	98	99	99	99
	性 比 (%) (雄/生存児数)								
	哺 育 0 日	49.7	47.9	51.9	54.7	49.4	49.8	46.6	53.2
	哺 育 21 日	48.9	48.6	50.3	51.9	49.2	50.0	50.3	50.3
	生 存 率 (%)	93	↓87	100	93	97	98	95	96
	哺 育 率 (%)	96	100	99	99	100	100	↓94	99
	体 重 (g) ^a								
	雄	哺 育 1 日	6.6	6.5	6.7	6.8	6.6	6.6	6.5
		哺 育 4 日 (数調整前)	9.5	9.4	9.7	9.7	9.5	9.5	8.9
		哺 育 7 日	15.2	15.0	15.5	14.9	15.2	14.9	↓13.5
		哺 育 14 日	31.6	32.5	32.1	30.2	31.6	31.4	↓28.6
		哺 育 21 日	52.8	53.7	52.8	↓47.4	52.0	52.6	↓45.0
	雌	哺 育 1 日	6.2	6.2	6.5	6.4	6.2	6.3	6.2
		哺 育 4 日 (数調整前)	8.9	9.0	9.4	9.2	9.0	9.1	8.5
		哺 育 7 日	14.7	14.5	15.0	14.3	14.5	14.6	↓13.1
		哺 育 14 日	31.5	31.5	31.1	↓29.3	30.7	30.7	↓28.0
		哺 育 21 日	51.4	51.3	50.3	↓45.2	49.8	50.2	↓43.5

a: 平均値

Dunnett 検定: 産児数, 体重

Fisher の直接確率計算法: 一般状態, 生存児出産率, 性比, 生存率, 離乳率

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結 果(続き) :

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)		0	25	75	300	0	25	75	300
児動物	体重増加量 (g) ^a								
	雄								
	哺 育 1~ 4 日	2.8	2.9	3.0	2.9	2.9	2.9	2.6	2.4
	哺 育 4~ 7 日	5.6	5.6	5.7	5.2	5.6	5.5	5.3	↓4.7
	哺 育 7~14 日	16.4	17.5	16.7	15.3	16.4	16.5	16.4	↓15.1
	哺 育 14~21 日	21.2	21.3	20.7	↓17.2	20.4	21.2	20.2	↓16.3
	哺 育 4~21 日	43.3	44.4	43.1	↓37.7	42.6	43.1	42.0	↓36.1
	雌								
	哺 育 1~ 4 日	2.7	2.7	2.9	2.8	2.8	2.8	2.6	2.4
	哺 育 4~ 7 日	5.6	5.5	5.5	↓5.0	5.4	5.4	5.2	↓4.5
	哺 育 7~14 日	16.8	16.9	16.1	↓15.0	16.1	16.1	16.6	↓14.9
	哺 育 14~21 日	19.8	19.8	19.2	↓16.0	19.1	19.6	18.1	↓15.4
	哺 育 4~21 日	42.3	42.3	40.9	↓36.0	40.8	41.1	40.0	↓34.9

a: 平均値

Dunnett 検定: 体重増加量

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり.

結 果(続き) :

世 代					親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)					0	25	75	300	0	25	75	300
児動物	臓器重量 ^a	脳	雄	A (g)	1.495	1.505	1.485	1.469	1.501	1.492	1.478	↓1.444
				R (%)	2.725	2.793	↑2.846	↑3.136	2.876	2.842	2.884	↑3.200
			雌	A (g)	1.435	1.444	1.461	1.420	1.451	1.440	1.425	↓1.389
				R (%)	2.846	2.875	2.869	↑3.142	2.920	2.850	2.911	↑3.258
		胸腺	雄	A (g)	0.192	0.184	↓0.172	↓0.157	0.174	0.177	0.171	↓0.143
				R (%)	0.346	0.340	0.327	0.332	0.332	0.333	0.331	0.314
			雌	A (g)	0.193	0.179	0.182	↓0.160	0.176	0.180	0.174	↓0.150
				R (%)	0.378	0.354	0.355	0.352	0.352	0.355	0.354	0.348
		脾臓	雄	A (g)	0.259	0.257	0.248	↓0.211	0.234	0.243	0.237	0.203
				R (%)	0.464	0.471	0.469	0.445	0.442	0.454	0.458	0.447
			雌	A (g)	0.241	0.239	0.243	↓0.210	0.229	0.238	0.229	↓0.183
				R (%)	0.470	0.470	0.471	0.459	0.457	0.467	0.465	0.425
	剖検所見 ^b 傾きのある切歯					0.3	0.5	1.7↑	2.1	1.0	1.4	1.3

a: A, 絶対重量; R, 相対重量(体重比); 平均値±標準偏差

b: 腹当りの所見児動物の発生頻度(%); 平均値±標準偏差

Kruskal-Wallis 検定及び Wilcoxon 検定: 臓器重量

Wilcoxon 検定: 剖検所見

↑↓: $P \leq 0.05$, ↑↑↓↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり。

親動物

300ppm群雄において、F0は生育初期に有意な摂餌量の低値が認められ、その後も対照群より低値が継続してみられ、体重には有意差は認められなかったが、対照群より僅かに低体重であった。F1もF0と同様に摂餌量の低値が認められたが、体重は離乳時の低体重を反映してほぼ一貫して有意な低値が認められた。

300ppm群雌において、F0の摂餌量は一貫して対照群より低値で、多くの時期で有意な低値が生育時に認められ、生育期間を通した体重には有意差は認められなかったが、一貫して低体重で、対照群との差は経時的に大きくなる傾向にあった。妊娠及び哺育期間とも摂餌量に有意差は認められなかったが、体重は生育時の低体重を反映して、対照群との初期の体重差がそのまま持続していた。F1の生育時の摂餌量は一貫して対照群より低値で、多くの時期で有意な低値が認められた。体重には離乳時の低体重を反映して、生育初期の2週間

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

のみ有意差が認められたが、その後有意差は認められなかった。妊娠2及び3週目に有意な摂餌量の低値が認められた。体重は生育時の低値を反映して、対照群との初期の体重差がそのまま持続していた。哺育時の摂餌量及び体重に有意差はなかったが、出産直後の低体重を反映して、その体重差がそのまま持続していた。

300ppm群雌雄とも生育時の摂餌量の減少傾向を伴い、体重の低値が認められることから、生育時の体重は投与による影響と考えられる。しかし、妊娠時及び哺育時には生育時あるいは出産時の低体重がそのまま持続しており、体重は対照群と同様の傾向で増加していることから投与の影響はないものと判断される。

75ppm群ではF0雌雄及びF1雌は摂餌量及び体重ともに生育時から哺育まで対照群と差は認められなかったが、F1雄のみ摂餌量の有意な増加を伴い体重及び体重増加も有意に増加した。しかし、この体重増加には用量に依存した変化がみられなかった。又、F1雌の体重増加は妊娠7～14日に75及び300ppm群ともに有意に低かったが、妊娠期間中の体重には有意差がないこと、1週間ごとの体重増加には一貫した変化も、用量に依存した変化も認められていないことから、これらの変化はいずれも検体の毒性影響とは考えなかった。

25ppm群では対照群との差は全く認められなかった。

臓器重量は、300ppm群においてF1雌の脳、下垂体、脾臓、腎臓(F0及びF1雄も)及びF1雄の精巣上体の相対重量に統計学的に有意な高値が認められた。これら相対重量の変化は、絶対重量に有意差もなく、剖検時体重の有意な低値のためと考えられた。F0雌の25、75及び300ppm群において、卵巣の絶対重量に統計学的に有意な低値がみられ、75ppm群では相対重量も有意な低下を示した。しかし、これらには用量相関性がないこと、F1雌には同様の変化が認められないことより、被検物質投与によるものではなく、毒性学的に意味のない変化であると考えられた。その他、25及び75ppm群で認められた臓器重量(絶対または相対重量)の統計学的に有意な変化は300ppm群では変化がみられなかったり、F0世代だけでの変化であってF1世代では変化がないことから、いずれも毒性学的または生物学的には意味のない偶発的なものと考えられた。

肉眼的及び病理組織学的所見には検体投与に起因する特記すべき異常は認められなかった。

F0及びF1親動物の繁殖能力に関して、殆どの雌雄で妊性が確認された。精子の数、運動率及び形態、性周期、交尾行動、受胎、妊娠、出産及び哺育並びに卵胞数及び黄体数に検体投与群と対照群間に差は認められなかった。

300ppm群のF1雌の腔開口に遅延がみられたが、体重低下の結果であり、身体発育における全般的な遅滞のためと考えられた。交尾成立までの日数は、25及び75ppm群のF0動物(それぞれ2.0及び2.2)で統計学的に有意に短く、300ppm群のF1動物(2.8)で有意に長かった。しかし、対照群(F0: 2.8, F1: 1.9)との差はわずかで、また背景対照データの範囲内(1.8～3.3)にあることから、これらの変化は本試験に用いたラットの系統本来の正常な生物学的変動範囲を反映していて、検体投与との関連は考えられなかった。75ppm群と300ppm群のF0雌の平均着床数に軽微ながら統計学的に有意な低値がみられた(それぞれ14.5及び14.4)。しかし着床数は変動が大きく、文献に発表されているデータ(11.4～18.8, Hood R.D., 1997)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

の範囲内にあった。又、F1雌では平均着床数及び着床後胚死亡データには影響がみられていないこと、さらに、母動物当りの平均F1出産児数に投与の影響がないことから、F0雌の平均着床数の低値は偶発的であると考えられる。

児動物

300ppm群のF1及びF2児雌雄の平均体重及び体重増加量に統計学的に有意な低値がみられ、離乳時点では対照群よりF1児で約10～15%、F2児で約13～15%と有意に減少しており、検体の影響と考えられた。この群においてF1及びF2児の胸腺、脾臓及び脳の絶対重量が有意に減少し、脳の相対重量が有意に増加した。これら臓器重量への影響は、児動物の体重減少と関連していた。75ppm群で雄のF1児に相対脳重量の有意な高値と絶対胸腺重量の有意な低値が、また傾きのある切歯を示すF1児の腹当りの発生率に有意な高値がみられた。しかし、これらの変化はこの群のF2児ではみられていないことから、毒性学的には意味のない偶発的なものと考えられた。又、この群におけるF2児の哺育率(94%)は統計学的に有意に低かったが、300ppm群(99%)では有意差がないこと、背景対照データの範囲(93～99%)内にあることから、この変化も偶発的なものと考えられた。このように、児動物への影響は親動物にも毒性を示す300ppmの用量でのみ認められ、25及び75ppm群では、検体投与によると考えられる発生毒性のいかなる兆候も誘発されなかった。

以上のように、2世代にわたってラットに混餌投与した場合、300ppm投与群でF0及びF1親動物において、特に生育時に摂餌量、体重及び体重増加の減少が認められた。繁殖能力に関しては、いずれの世代においても最高投与量まで検体投与による影響は認められなかった。F1及びF2児動物に体重低下及び体重増加の減少が認められ、低体重に起因する臓器の絶対重量の低値、相対重量の増加、あるいは膣開口の遅延がみられた。

従って、無毒性量は親及び児動物に対して75ppm(F0:雄7.4mg/kg体重/日、雌7.8mg/kg体重/日; F1:8.6mg/kg体重/日、雌9.0mg/kg体重/日)と判断される。繁殖については最高投与量の300ppm(F0:雄29.0mg/kg体重/日、雌30.4mg/kg体重/日; F1:35.0mg/kg体重/日、雌36.0mg/kg体重/日)でも影響がなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

8-2) ピラクロストロビンのラットを用いた催奇形性試験 (資料 25)

試験機関：BASF 毒性研究所(ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体純度：

試験動物：Wistar 系ラット [Chbb:THOM(SPF)], 1 群当り雌 25 匹

妊娠 0 日；11～12 週齢，平均体重 218 g

試験期間：23 日間(1998 年 6 月 30 日～1998 年 7 月 22 日)

投与方法：検体を 0.5% Tylose CB 30.000 (再蒸留水中)に懸濁し，0, 10, 25 及び 50 mg/kg/日の投与量で，妊娠 6～19 日まで(着床から出産予定日の 1 日前まで)の 14 日間毎日 1 回ほぼ同時刻に，10mL/kg 体重の容量で強制経口投与した(陰垢中に精子を確認した日を妊娠 0 日とした)。なお，対照群の動物には媒体のみを同様に投与した。

投与量の選定理由

試験項目：

母動物；

一般状態，妊娠状態及び生死を毎日観察し，体重は妊娠 0, 1, 3, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 19 及び 20 日に，摂餌量は妊娠 0 日を除き体重測定日と同日に測定した。妊娠 20 日に帝王切開して，妊娠子宮重量を測定し，黄体数，着床数，生存及び死亡・吸収胎児数及び胎盤重量を記録した。

胎児；

性別を判定し，体重を測定し，外表異常の観察を行った。

各腹の約半数の胎児について内臓異常を，残りの胎児については骨格標本作製して骨格異常の有無について検査した。

試験結果：概要を「表 1. 母動物」及び「表 2. 胎児」に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

母動物

50mg/kg群において、妊娠20日の平均体重は対照群より有意に低く(約5%)、体重増加も全投与期間(妊娠6~19日)を通して有意に減少し(対照群より16%低い)、多くの時期で摂餌量の有意な減少(対照群より約11%)を伴っていた。妊娠子宮重量に有意差はなく、カーカス重量及び補正体重増加も有意に低く(それぞれ対照群より6%及び45%低い)、投与に関連した明らかな母体毒性を示していた。

25mg/kg群でも、50mg/kg群より軽度であるが同様な母体毒性がみられた。すなわち、対照群に比し摂餌量は妊娠6~13日に有意に減少し、全投与期間では有意ではないが約7%少なかった。補正体重増加は明らかに対照群より低かった(約22%低い)。後期胚吸収数(率)に有意な高値が認められたが、50mg/kg群で認められないことから偶発的と考えられた。

10mg/kg群では、検体投与に起因する母体毒性は何ら認められなかった。

胎児

外表、内臓及び骨格奇形ともに散発的で、対照群と投与群の間に有意な差はなかった。

内臓変異として、50及び10mg/kg群において、腎盂拡張及び/または尿管拡張の発生率がそれぞれ有意に高く、その結果、これらの群における内臓変異を有する胎児数/腹数及び腹当り内臓変異を有する胎児の平均発生率が有意に高くなった。妊娠18~20日におけるラット胎児の腎臓の正常発生には、これら腎盂及び尿管の拡張のような一過性の変動がみられる(Woo及びHoar, 1972)こと、又、これらの投与群における発生率は次表のように背景データの範囲内にあり、本試験の対照群が背景データの発生率より低かった。これらのことから、これらの変化が検体投与に関連しているとは考えられなかった。

(申請者注) これらの内臓変異は検体投与の影響ではないとも考えられるが、用量相関的に増加傾向がみられることから検体投与による影響が疑われる。

内臓変異の背景データとの比較

所見	対照群	50ppm	背景データ
内臓変異を有する胎児			
胎児総数に対する発生率	8	31	16.8(9.4~28.8)
腹の発生率	6	15↑	56.2(30.4~79.2)
腹あたり変異を有する胎児の発生率	5.0	19.0↑	17.4(8.9~29.8)
腎盂拡張を有する胎児			
胎児総数に対する発生率	8	31	16.7(8.8~28.8)
腹の発生率	6	15↑	55.9(30.4~79.2)
腹あたり変異を有する胎児の発生率	5.0	19.0↑	17.4(8.3~29.8)
尿管拡張を有する胎児			
胎児総数に対する発生率	0	5	2.4(0.6~6.7)
腹の発生率	0	3	11.3(4.0~25.0)
腹あたり変異を有する胎児の発生率	0.0	3.0↑	2.5(0.5~6.2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

骨格変異として、10mg/kg群で軟骨には変化のない胸骨分節過剰骨化部と短小第13肋骨、50mg/kg群で軟骨には変化のない胸骨分節骨化不全と軟骨のない頸肋の発生率ならびに腹当り骨格変異を有する胎児の平均発生率にそれぞれ有意な高値がみられた。しかし、これらの変化は用量との明瞭な関連がなく、背景データの範囲内(次表参照)にあることから、偶発的なものと考えられる。

出現頻度と背景対照との対比

変異	腹当りの当該胎児の平均百分率(%)		
	対 照 群	投 与 群	背景データ
50mg/kg群：軟骨には変化のない胸骨分節の骨化不全	17.9	32.7	0.0~33.9
10mg/kg群：軟骨には変化のない過剰胸骨分節骨化部	0.0	1.7	0.0~2.1
50mg/kg群：軟骨のない頸肋	1.1	4.4	0.5~26.4
10mg/kg群：軟骨のない短小第13肋骨	10.7	22.8	3.0~26.4

外表、内臓及び骨格の全変異についてみた場合、腹当りの全変異を有する胎児の平均発生率にすべての投与群で統計学的に有意な高値がみられたが、いずれも背景データ(範囲0.0~65.3%、平均47.3%)の範囲内にあることから、本試験の対照群の値(44.9%)が通常より低かったことによる偶発的なものと考えられた。

以上の結果より、本剤をラットの妊娠6~19日に投与したとき、母動物に対し25mg/kg体重/日以上では摂餌量の低下を伴う体重増加の抑制が認められる。胎児動物に対し内臓変異(腎盂拡張)及び骨格変異(軟骨のない頸肋)を有する胎児の発生率の増加傾向がみられるが、いずれも背景データの範囲内にあるので検体投与の影響はないと判断されている。しかし、申請者は胎児の変異の発生率の増加傾向がみられることから、検体投与の影響が疑われるので、無毒性量(NOEL)は母動物に対し10mg/kg体重/日、胎児動物に対し10mg/kg体重/日以下と考える。しかし、催奇形性は試験した最高用量の50mg/kg体重/日でもないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

表 1. 母 動 物

投与量(mg/kg/日)	対 照 (0)	10	25	50	
1 群当り雌動物数	25	25	25	25	
死亡雌動物数	0	0	0	0	
一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった				
体 重	—	有意差なし	有意差なし	妊娠 20 日に 有意に減少	
体重増加 ^a (g)					
妊娠 0～6 日	30.7±5.47	29.5±6.58	28.7±3.65	31.9±6.94	
妊娠 6～8 日	8.1±3.02	7.5±4.23	6.3±3.49	2.2±3.36↓	
妊娠 6～19 日	103.7±9.74	107.1±11.32	96.0±13.81	87.6±22.33↓	
妊娠 19～20 日	16.3±3.80	16.8±3.72	13.3±4.69	12.7±6.12↓	
妊娠 0～20 日	150.7±14.26	153.3±14.56	137.9±19.30	132.2±28.59↓	
摂 餌 量 ^a (g)					
妊娠 0～6 日	21.9±2.25	21.4±2.38	21.3±2.38	22.0±2.19	
妊娠 6～8 日	24.6±1.92	23.6±1.74	21.2±1.89↓	17.9±2.32↓	
妊娠 10～13 日	25.2±2.07	25.6±1.61	23.4±2.22↓	23.4±2.69↓	
妊娠 13～15 日	27.1±2.08	26.2±2.70	24.9±3.57	23.4±4.32↓	
妊娠 15～17 日	28.1±2.31	27.2±2.83	26.6±2.34	26.0±2.76↓	
妊娠 6～19 日	26.3±1.86	26.1±1.91	24.5±2.29	23.3±3.06	
妊娠 19～20 日	26.2±2.97	26.1±2.58	24.8±3.31	23.3±4.42↓	
妊娠 0～20 日	25.0±2.76	24.7±2.90	23.6±2.59	22.9±2.58	
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
妊娠子宮重量 ^a (g)	79.4±12.47	83.0±13.45	77.4±17.01	78.0±20.16	
補正体重増加 ^a	40.7±9.30	40.9±10.61	31.9±7.43↓	22.3±11.85↓	
カーカス重量 ^a	289.7±18.94	289.8±17.22	277.1±17.11	272.2±19.16↓	
妊娠雌動物数 (%)	22/25 (88)	20/25 (80)	21/25 (84)	25/25 (100)	
着床所見	黄体数 ^a	15.8±1.47	16.1±1.76	16.1±1.34	15.8±2.55
	着床数 ^a	14.9±2.42	15.8±2.79	14.9±3.35	14.5±3.72
	着床前胚損失率 (%) ^b	6.5	3.0	7.5	9.4
	着床後胚損失率 (%) ^b	6.2	7.4	9.3	5.7
	総胚吸収数 (%) ^b	1.0 (6.2)	1.2 (7.4)	1.4 (9.3)	0.8 (5.7)
	早期胚吸収数 (%) ^b	1.0 (6.2)	1.2 (7.4)	1.2 (7.9)	0.8 (5.7)
	後期胚吸収数 (%) ^b	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.2↑ (1.4↑)	0.0 (0.0)
	死亡胎児数	0	0	0	0
	全胚吸収の腹数	0	0	0	0
	生存胎児の腹数	22	20	21	25

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

表 2. 胎 児

投与量 (mg/kg/日)	対 照 (0)	10	25	50
生存胎児のある腹数	22	20	21	25
生存胎児数 ^a				
雄雌合計	13.9±2.24	14.6±2.72	13.5±3.20	13.7±3.81
雄	7.4±2.30	6.8±2.01	6.4±2.20	7.2±2.99
雌	6.5±1.63	7.7±2.62	7.0±2.56	6.5±2.60
性 比 (%)				
雄	53.3	47.1	47.7	52.5
雌	46.7	52.9	52.3	47.5
体 重 ^a (g)				
雄	3.8±0.17	3.8±0.20	3.8±0.27	3.8±0.26
雌	3.6±0.20	3.6±0.15	3.7±0.24	3.6±0.16
胎盤重量 ^a (g)	0.45±0.041	0.46±0.044	0.48±0.049	0.48±0.085
検査胎児(腹)数	306(22)	291(20)	283(21)	343(25)
外表奇形				
胎児数(腹数)	1(1)	1(1)	0(0)	2(2)
腹当り平均発生率 (%)	0.3	0.4	0.0	4.3
外表変異				
胎児数(腹数)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	0.0	0.0	4.0
検査胎児(腹)数	148(22)	140(20)	136(21)	165(24)
内臓奇形				
胎児数(腹数)	2(2)	0(0)	0(0)	1(1)
腹当り平均発生率 (%)	1.3	0.0	0.0	0.5
内臓変異				
胎児数(腹数)	8(6)	18(12↑)	21(9)	31(15↑)
腹当り平均発生率 (%)	5.0	12.1↑	17.9	19.0↑
腎盂拡張				
胎児数(腹数)	8(6)	16(10)	20(9)	31(15↑)
腹当り平均発生率 (%)	5.0	10.6	17.1	19.0↑
尿管拡張				
胎児数(腹数)	0(0)	4(4↑)	1(1)	5(3)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	2.7↑	0.6	3.0↑
検査胎児(腹)数	158(22)	151(20)	147(21)	178(25)
骨格奇形				
胎児数(腹数)	4(3)	2(2)	0(0)	4(3)
腹当り平均発生率 (%)	2.8	1.3	0.0	2.2
骨格変異				
胎児数(腹数)	129(22)	135(20)	121(21)	162(25)
腹当り平均発生率 (%)	82.0	89.4	81.4	90.8↑

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

(つづき)

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	10	25	50
検査胎児 (腹) 数	158 (22)	151 (20)	147 (21)	178 (24)
骨格変異				
胸骨分節骨化不全				
胎児数 (腹数)	29 (15)	39 (14)	43 (16)	61 (22)
腹当り平均発生率 (%)	17.9	24.4	28.5	32.7↑
過剰胸骨分節骨化部				
胎児数 (腹数)	0 (0)	3 (3)	1 (1)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	1.7↑	0.6	0.0
短小第 13 肋骨				
胎児数 (腹数)	17 (8)	36 (12)	13 (7)	29 (11)
腹当り平均発生率 (%)	10.7	22.8↑	9.0	15.2
軟骨のない頸肋				
胎児数 (腹数)	1 (1)	2 (2)	2 (2)	9 (8↑)
腹当り平均発生率 (%)	1.1	1.2	1.3	4.4↑
全 奇 形				
胎児数 (腹数)	6 (4)	2 (2)	0 (0)	6 (5)
腹当り平均発生率 (%)	2.1	0.7	0.0	5.4
全 変 異				
胎児数 (腹数)	137 (22)	153 (20)	142 (21)	193 (25)
腹当り平均発生率 (%)	44.9	52.2↑	51.0↑	57.9↑

^a 平均±標準偏差

^b 平均

↑↓↑↓: $p \leq 0.05$ (↑↓), $p \leq 0.01$ (↑↓) で対照群と比較して統計学的に有意差あり

Dunnett 検定:

体重, 体重増加, 摂餌量, 補正体重増加, カークス重量, 妊娠子宮重量, 黄体数, 着床数, 着床前(後)胚損失率, 胚吸収数(率), 生存胎児数, 胎児体重, 胎盤重量

Fisher の直接確率計算法: 母動物の死亡率, 妊娠率, 胎児所見のある腹数

Wilcoxon 検定:

腹当りの奇形及び(または)変異胎児の発生率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

8-3) ピラクロストロビンのウサギを用いた催奇形性試験

(資料 26)

試験機関：BASF 毒性研究所(ドイツ)
〔GLP 対応〕

報告書作成年：1999 年

検体純度：

試験動物：Himalayan ウサギ[Chbb:HM(異系交配)], 1 群当り雌 25 匹
妊娠 0 日；24～29 週齢，平均体重 2657 g

試験期間：39 日間(1998 年 1 月 5 日～1998 年 2 月 12 日)

投与方法：検体を 0.5% Tylose CB 30.000(再蒸留水中)に懸濁し，0，5，10 及び 20mg/kg/日の投与レベルで，妊娠 7 日から 28 日まで(着床から出産予定日の 1 日前まで)の 22 日間毎日 1 回ほぼ同時刻に，10mL/kg 体重の容量で強制経口投与した(人工授精を行った日を妊娠 0 日とした)。なお，対照群の動物には媒体のみを同様に投与した。

投与量の設定根拠

試験項目：

母動物：

一般状態，妊娠状態及び生死を毎日観察し，体重は妊娠 0，2，4，7，9，11，14，16，19，21，23，25，28 及び 29 日に，摂餌量は毎日測定した。妊娠 29 日に帝王切開して，妊娠子宮重量を測定し，黄体数，着床数，生存及び死亡・吸収胎児数及び胎盤重量を記録した。

胎児：

性別を判定し，体重を測定し，外表異常の観察を行った。

全胎児の内臓異常(頭部は約半数の胎児)について検査し，さらに骨格標本作製して骨格異常の有無について検査した。

試験結果：概要を「表 1. 母動物」及び「表 2. 胎児」に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

母動物

20mg/kg群において4匹の床敷に血液が投与期間中数日観察された(これらの内3匹では早期吸収胚のみであった)。

脱糞量の減少が10匹の妊娠10～14日観察され、これは摂餌量の有意な減少を伴っていた。

投与期間中の平均体重及び体重増加は対照群より有意に低く、妊娠29日で体重は対照群より7%、体重増加は対照群より77%低かった。この低下の主因は母体毒性に起因する早期吸収胚の増加を伴う妊娠子宮重量の低下(対照群より41%低下)と考えられた。

3匹で全胚吸収が、7匹では50%以上の早期胚吸収がみられ、着床後胚損失率は有意に増加し、腹あたり生存胎児数の低下をきたした。

10mg/kg群において、20mg/kg群より軽度であるが同様な母体毒性がみられた。脱糞量の減少(1匹)、床敷の血液(2匹)、投与初期(妊娠7～12日)の摂餌量の減少、投与期間中の体重増加の低下(対照群より39%低下)、統計学的には有意ではないが早期吸収胚のわずかな増加を伴い妊娠子宮重量の低下(対照群より23%低下)が認められた。2匹に全胚吸収があったため、総胚吸収率が軽度増加し、着床後胚損失率がやや増加したが有意差は認められなかった。

5mg/kg群では、妊娠7～9日の摂餌量及び体重、妊娠16～18日の摂餌量が対照群に比し有意に低下したが、一過性であった。試験期間中あるいは投与期間中の体重及び摂餌量に有意な差がみられないことから、生物学的変動を反映した偶発的なもので、検体投与による影響とは考えられなかった。

着床所見に検体投与の影響は認められなかった。

胎児動物

生存胎児数の低下が20mg/kg群でのみみられた。いずれの投与群とも性比、体重及び胎盤重量には検体投与の影響は認められなかった。

10mg/kg群において、中隔欠損を有する胎児数及び腹当り平均発生率、並びに内臓奇形を有する胎児(腹)数及び腹当り平均発生率に有意な高値がみられたが、20mg/kg群では対照群と有意な差がないことから偶発的発生と考えられた。

これ以外の個別所見において特記すべき外表、内臓及び骨格異常は認められなかった。

個別の奇形を見た場合、検体投与の影響と考えられるものはみられなかった。しかし、腹あたり骨格奇形を有する胎児及び奇形胎児(全奇形)を見た場合、統計学的有意差はないが、用量関連性のある増加がみられ、20mg/kg群では背景データを若干越えていた(背景データとの比較は次表に示す)。これは、この群におけるきわめて強い母体毒性に起因する早期吸収胚の増加を伴う妊娠子宮重量の低下(対照群より41%低下)及び高い着床後胚損失率に起因する生存胎児数の減少の結果と判断され、真の生物学的影響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BASFアグロ株式会社にある。

奇形を有する胎児の発生率の背景データとの比較

試験群 (mg/kg)		検査胎児数	検査腹数	奇形胎児数(%)		奇形を有する 腹数(%)		奇形胎児 発生率/腹
本試験	対照	166	24	7	4.2	7	29	4.3
	5	145	24	5	3.4	5	21	2.7
	10	123	20	9	7.3	7	35	8.6
	20	107	22	10	9.3	8	36	12.6
背景データ ^a		92~121	14~20	4~10	0.0~8.8	0~7	0~41	0.0~10.0

^a 背景データ: 1996~1988年に実施した7試験の奇形発生率の範囲を示した。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギの妊娠7~28日に投与したときの母動物に対して、10mg/kg/日以上では摂餌量の減少を伴う体重の低下及び妊娠子宮重量の低下が認められることから、無毒性量(NOEL)は親及び胎児ともに5mg/kg/日、催奇形性は20mg/kg/日でもないと判断している。

表 1. 母 動 物

投与量 (mg/kg/日)	対 照 (0)	5	10	20	
1 群当り雌動物数	25	25	25	25	
死亡雌動物数	1 (投与中の 事故死)	1 (投与開始前 の事故死)	1 (投与の誤りに よる事故死)	0	
一般状態					
床敷の血液	0	0	2	4	
糞量の減少	0	0	1	10	
体 重	—	有意差なし	有意差なし	妊娠 9～29 日 に有意に減少	
体重増加 ^a (g)					
妊娠 0～7 日	32.4±49.05	46.0±41.46	47.2±36.88	52.3±44.23	
妊娠 7～9 日	-3.8±24.63	-43.8±33.34↓	-85.5±61.59↓	-146.3±51.49↓	
妊娠 11～14 日	23.4±21.09	15.7±31.11	25.8±25.44	46.8±47.02↑	
妊娠 7～28 日	191.5±87.37	131.7±96.76	116.0±82.83↓	44.1±116.55↓	
妊娠 0～29 日	249.3±113.73	206.2±117.98	185.7±120.24	115.0±139.54↓	
摂 餌 量 ^a (g)					
妊娠 0～7 日	117.1±5.03	113.6±4.88	118.3±2.67	117.6±3.68	
妊娠 7～8 日	98.1±25.22	35.7±21.09↓	20.4±15.05↓	10.5±5.87↓	
妊娠 8～9 日	101.6±29.21	65.5±19.43↓	37.3±23.04↓	11.2±12.60↓	
妊娠 9～10 日	96.9±32.01	83.6±14.08	57.7±26.01↓	19.1±20.35↓	
妊娠 10～11 日	96.4±31.07	90.4±12.80	74.8±18.60↓	35.1±26.45↓	
妊娠 11～12 日	96.9±25.00	86.6±16.00	79.6±19.87↓	48.6±26.29↓	
妊娠 12～13 日	94.8±24.20	87.4±18.22	83.3±14.69	62.7±24.63↓	
妊娠 13～14 日	90.9±25.51	84.0±21.28	87.6±14.17	73.2±22.13↓	
妊娠 16～17 日	92.6±24.15	77.7±21.23↓	83.3±20.25	81.5±18.45	
妊娠 17～18 日	93.8±23.25	79.5±19.48↓	82.4±19.72	80.8±18.50	
妊娠 7～28 日	89.8±6.31	78.2±11.02	77.5±17.59	67.6±26.06	
妊娠 0～29 日	96.2±13.41	87.1±18.07	87.6±23.14	80.3±30.93	
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
妊娠子宮重量 ^a (g)	352.6±72.92	302.6±103.11	271. ±110.11↓	209. ±129.60↓	
補正体重増加 ^a	-135.7±62.92	-142.4±85.77	-132.9±84.46	-146.8±84.20	
カーカス重量 ^a	2607.9±196.75	2504.2±169.62	2579.5±225.99	2538.5±187.78	
妊娠雌動物数 (%)	24/25 (96)	24/24 (100)	23/25 (92)	25/25 (100)	
着床 所見	黄体数 ^a	8.0±1.63	7.9±2.21	7.8±1.51	7.7±1.57
	着床数 ^a	7.4±1.35	6.6±2.28	6.9±1.72	7.0±1.70
	着床前胚損失率 (%) ^b	7.0	15.7	10.6	10.1
	着床後胚損失率 (%) ^b	6.2	10.2	17.8	38.6↑
	総胚吸収数 (%) ^b	0.5 (6.2)	0.6 (10.2)	1.3 (17.8)	2.7↑ (38.6↑)
	早期胚吸収数 (%) ^b	0.4 (5.5)	0.5 (9.6)	1.2 (15.9)	2.6↑ (37.6↑)
	後期胚吸収数 (%) ^b	0.04 (0.7)	0.04 (0.6)	0.14 (1.9)	0.08 (1.0)
	死亡胎児数	0	0	0	0
	全胚吸収の腹数	0	0	2	3
	生存胎児の腹数	24	24	20	22

表 2. 胎 児

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	5	10	20
生存胎児のある腹数	24	24	20	22
生存胎児数 ^a				
雄雌合計	6.9±1.50	6.0±2.33	6.2±1.79	4.9±2.57↓
雄	3.5±1.50	3.2±1.82	3.3±1.94	2.5±1.90
雌	3.5±1.64	2.8±1.52	2.9±1.29	2.3±1.62↓
性 比 (%)				
雄	50.0	53.1	52.8	52.3
雌	50.0	46.9	47.2	47.7
体 重 ^a (g)				
雄	37.0±3.04	37.7±3.89	35.7±4.37	34.2±4.27
雌	37.0±3.42	36.4±3.27	35.0±3.58	35.7±4.35
胎盤重量 ^a (g)	4.5±0.58	4.3±0.61	4.1±0.51	4.2±0.61
検査胎児 (腹) 数	166 (24)	145 (24)	123 (20)	107 (22)
外表奇形				
胎児数 (腹数)	1 (1)	1 (1)	2 (2)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.8	0.6	2.9	0.0
外表変異				
胎児数 (腹数)	1 (1)	1 (1)	2 (2)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.5	0.5	2.9	0.0
内臓奇形				
胎児数 (腹数)	1 (1)	3 (3)	6 (6個)	1 (1)
腹当り平均発生率 (%)	0.4	1.6	6.1↑	0.6
中隔欠損				
胎児数 (腹数)	0 (0)	1 (1)	3 (3)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)	0.0	0.5	3.6↑	0.0
内臓変異				
胎児数 (腹数)	19 (14)	4 (4)	12 (7)	7 (7)
腹当り平均発生率 (%)	11.5	2.5	10.3	9.9
骨格奇形				
胎児数 (腹数)	6 (6)	4 (4)	5 (4)	9 (7)
腹当り平均発生率 (%)	3.8	2.2	5.3	12.1
骨格変異				
胎児数 (腹数)	107 (24)	90 (23)	82 (20)	71 (21)
腹当り平均発生率 (%)	65.7	63.1	62.4	67.8
全 奇 形				
胎児数 (腹数)	7 (7)	5 (5)	9 (7)	10 (8)
腹当り平均発生率 (%)	4.3	2.7	8.6	12.6
全 変 異				
胎児数 (腹数)	111 (24)	92 (23)	86 (20)	74 (21)
腹当り平均発生率 (%)	68.2	64.1	66.7	71.1

^a 平均±標準偏差

^b 平 均

↑↓↑↓: $p \leq 0.05$ (↑↓), $p \leq 0.01$ (↑↓) で対照群と比較して統計学的に有意差あり

Dunnett 検定:

体重, 体重増加, 摂餌量, 補正体重増加, カークス重量, 妊娠子宮重量, 黄体数, 着床数, 着床前(後)胚損失率, 胚吸収数(率), 生存胎児数, 胎児体重, 胎盤重量

Fisher の直接確率計算法: 母動物の死亡率, 妊娠率, 胎児所見のある腹数,

Wilcoxon 検定:

腹当りの奇形及び(または)変異胎児の発生率