

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

(資料 T-19)

試験機関: (財)残留農薬研究所

報告書作成年: 2004 年[GLP 対応]

検体の純度: %

試験動物: Wistar Hannover 系ラット、1 群雌雄各 24 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間: P 世代; 投与開始から F1 児離乳時まで。F1 世代; 離乳時から F2 児離乳時まで。P 及び F1 世代共に、雄で約 16 週間、雌では約 18 週間(交配に要する期間が長い場合は約 19 週間)。ただし、F1 世代親動物において交尾の証拠が得られなかった雄あるいは児の得られなかった雌雄の組については、妊娠確認試験終了まで。(2002 年 1 月 29 日~2002 年 11 月 17 日)

投与方法: 検体を 0、20、50、2000 及び 20000 ppm の濃度含有する飼料を、自由に摂取させた。飼料は 2 から 4 週に 1 回調製した。

用量設定根拠;

交配、調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率: 投与期間中毎日、全動物の一般状態及び生死を観察した。体重測定時は動物を手に取り、詳細に観察した。雌親動物では、妊娠及び分娩状態も観察した。死亡動物は速やかに剖検した。

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。

世代	期間 (週)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成 (10 週)	雌雄 1 対 1 で交配。 交配は腔栓/腔垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)	一般状態・死亡を毎日観察 体重・飼料を週 1 回測定 8 週時より発情周期を検査
	交配 (2~3 週)		交配状況の観察(交尾率)
	妊娠 (3 週)		妊娠 0、7、14、20 日に体重、飼料を週 1 回測定
	…出産…		出産状況の観察(哺育 0 日) 新生児数、死産児数、外表異常、性別、受胎率、出産率、妊娠期間、同腹生存児体重測定
	哺育 (3 週)		母動物の出産後 0、7、14、21 日に体重、飼料測定 哺育 0、4、21 日に生存児数、児体重測定 途中死亡及び 4 日目屠殺新生児の異常の検査
……	…離乳…	出産後 21 日目	親動物の臓器重量測定及び病理学的検査(肉眼+組織)。雄親動物の精子検査。 継代用以外の児動物を屠殺し、臓器重量測定及び病理学的検査(肉眼+組織)。
F1	育成 (10 週)	継代用動物として、原則各腹雌雄 1 匹に加え、各群の雌雄が 24 匹ずつとなるよう無作為に選抜	雄の包皮分離、雌の腔開口の観察
	交配 (2~3 週)	(P 世代に準ずる) 交配できない雄及び児の得られない雌雄の親動物を無処置動物と交配	(P 世代に準ずる) 妊性の確認
	妊娠 (3 週)		(P 世代に準ずる)
……	…出産…		(P 世代に準ずる)
	哺育 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる) F2 児肛門生殖突起間距離の測定
……	…離乳…	…(F1 世代に準ずる)……	(F1 世代に準ずる) 離乳後に屠殺し、各腹雌雄 1 匹ずつを病理組織学的検査

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業株式会社にある。

体重 ; 投与期間中毎週、全親動物の体重を測定した。児動物の体重は、哺育 0 日(出産日)は雌雄別に 1 腹分まとめて、哺育 4、7、14 及び 21 日は個体別に測定し、腹ごとに各性の平均体重を求めた。また、雄では投与開始日、雌では投与開始日、妊娠 0 日及び哺育 0 日の体重値を基準に体重増加量を算出した。

申請者注:試験ガイドラインでは、妊娠 0、7、14、21 日の母動物の体重測定が求められている。しかし、本試験に用いた試験動物は、正常状態において、妊娠 21 日に分娩を開始する例があるため、最終の体重測定を 20 日に実施した。

摂餌量 ; 交配期間中を除き、毎週摂餌量を測定した。

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

交配及び妊娠の確認 ; 交配は雌の発情を膣垢像の観察により確認し、雌雄 1 対 1 で同居させた。翌朝膣栓及び精子の有無により交尾を確認し、妊娠 0 日とした。

妊娠の有無は、分娩又は肉眼的病理検査時における子宮の着床痕の有無を調べることにより確認した。

F1 世代で交尾不成立や不妊の理由により児の得られなかった動物については、無処置動物と交配して、受胎産物の有無あるいは出産の有無により妊性を確認した。

親動物の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。

正常発情周期を示した雌の頻度＝発情前期又は発情期を示した雌数／発情周期を観察した雌数

交尾率＝交尾が認められた雄(雌)数／交配に用いた雄(雌)数

受胎率＝妊娠雌数／交尾を認めた雌数

出産率＝出産雌数／妊娠雌数

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

着床数: 子宮内の着床痕の数

精子数・精子頭部数: 精巢上体尾及び精巢の 1g あたり並びに臓器あたりの数

精子の運動性: 自動性を示す精子の百分率

精子の形態: 精子 200 個当りの正常形態精子の百分率

産児数・児動物の性比 ; 哺育 0 日に各腹ごとの生存児と死亡児の合計値を算出し、群の平均値として示した。性比は総雄産児数／総産児数として示した。

児動物の生存率 ; 哺育 0 日の生存率(%)＝(哺育 0 日の生存児数／産児数)×100

哺育 4 日の生存率(%)＝(哺育 4 日の生存児数／哺育 0 日の生存児数)×100

哺育 7 日の生存率(%)＝(哺育 7 日の生存児数／哺育 4 日の生存児数)×100

哺育 14 日の生存率(%)＝(哺育 14 日の生存児数／哺育 4 日の生存児数)×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。

哺育 21 日の生存率(離乳率、%)=(哺育 21 日の生存児数/哺育 4 日に選抜した児数)X100

児動物の性成熟の観察 ;F1 児動物について、雄は包皮分離、雌は膣開口を指標に観察し、完了日齢及び当該日の体重を測定した。F2 児動物については、哺育 4 日の肛門生殖突起間距離(AGD)を測定し、AGD の相対値を次式により算出した。

$$\text{AGD の相対値} = \frac{\text{肛門生殖突起間距離 (mm)}}{(\text{体重 (g)} \times 1000)^{1/3}}$$

肉眼的病理検査 ; 全ての生存親動物について剖検し、肉眼的病理検査を実施した。哺育 4 日に選抜されなかった哺育児、F1 世代の親動物を選抜した残りの F1 離乳児、全ての F2 離乳児、及び死亡児についても本検査を実施した。

臓器重量 ; 全ての生存親動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。臓器重量の統計学的検定は、非妊娠例、妊性確認を実施した例、妊娠中死亡例、死産例及び出産後に全ての児動物が死亡・食殺となった例を除外して評価した。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、卵巣、子宮(頸部と卵管を含む)、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺とともに分泌物を含む)及び前立腺(腹側葉)

児動物については、離乳児のうち、各腹で雌雄それぞれ 1 匹(片方の性がない場合は、他方の性のみ 1 匹)を対象に以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、甲状腺、胸腺、脾臓、肝臓及び子宮

なお、本試験で用いた系統の動物では小胞上皮細胞内空胞局在(小胞上皮細胞水腫変性)を伴う甲状腺の重量増加が自然発生すると報告されていることから、病理組織学的検査で小胞上皮細胞水腫変性が見られた甲状腺の重量は平均値計算から除外した。

病理組織学的検査 ; 対照群及び 20000 ppm 群の親動物の以下の組織を対象に病理組織学的検査を実施した。

生殖器官(精巣、精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺、卵巣、卵管、子宮及び膣)、下垂体、副腎、肝臓、甲状腺、重量に変化の見られた臓器及び肉眼的異常部位

肝臓、甲状腺、卵巣及び 20000 ppm 群で検体投与に関連すると考えられる所見を認めた組織については、他投与群についても検査を行った。F1 雌の卵巣では、Pederson & Peters の分類に従って原始卵胞(Types 1-3b)の数も数えた。

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。

児動物については、臓器重量測定に供した離乳児の以下の組織を対象に病理組織学的検査を実施した。

甲状腺、胸腺、脾臓、肝臓及び子宮

F1 離乳児の胸腺については、TUNEL 法を用いた免疫染色を行い、皮質細胞の TUNEL 陽性細胞出現頻度 (TUNEL index、%) を求めた。

結果 : 概要を以下の各表に示した。

世代			P					F1				
投与量 (ppm)			0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000
動物数	雄		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	雌		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
親動物	一般状態		検体投与に起因する異常所見なし									
			検体投与に起因する異常所見なし									
	死亡数		雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			雌	0	0	0	1*	1*	0	0	0	0
	体重 (g) ^a	雄	最終	434	418	432	437	449	434	433	424	450
		雌	最終	264	265	269	280	272	262	266	273	↑285
	体重増加量 (g) ^a	雄	開始～16 週	263	248	262	266	279	371	368	361	387
		雌	開始～18 週	138	139	143	154	145	202	204	212	↑224
	摂餌量 ^b		雄					↑13 週 ↑14, 15 週				↑14 週
			雌				↑育成 3, 6 週				↑妊娠 14-20 日	↑妊娠 14-20 日
	検体摂取量 ^c (mg/kg/日)		雄	—	1.30	3.30	131	1307	—	1.64	4.05	162
			雌	—	1.59	3.95	159	1577	—	1.84	4.59	176
	肉 眼 的 病 理 検 査 ^d	検査動物数		24	24	24	24	24	24	24	24	24
		雄	甲状腺	腫大	1	2	3	2	↑15	1	1	0
				褐色化	0	0	0	0	↑12	0	0	0
			腎臓	腎盂拡張	1	2	2	1	2	8	↓2	4
		検査動物数		24	24	24	24	24	24	24	24	24
		雌	肝臓	腫大	0	0	0	↑8	↑16	0	0	0
				暗調化	0	0	0	↑20	↑19	0	1	0
			甲状腺	腫大	0	0	1	2	↑6	1	1	1

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法): 体重、体重増加量、摂餌量。

Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的の病理所見。

↑↓: $p < 0.05$, ↑: $p < 0.01$ 。

a: 平均値。

b: 統計学的に有意な変動が認められた週を示す。空欄は、いずれの週も対照群との間に有意差なし。

c: 育成期間を通した全投与期間の平均値。

d: 死亡例を含む検査全動物数 24 匹の中で所見が見られた動物数。

e: 死亡は妊娠期間 (分娩時) に認められた。

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。

(続き)

世代			P					F1					
投与量(ppm)			0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000	
雄	臓器重量。	供試動物数	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
		検定対象外動物数	1 ^a	0	0	0	0	4 ^b	1 ^b	2 ^b	4 ^b	5 ^b	
		検定対象動物数	23	24	24	24	24	20	23	22	20	19	
		最終体重。	100	96	100	101	103	100	100	98	104	103	
		下垂体	重量	100	104	103	99	108	100	98	98	↓86	92
			対体重比	100	108	104	98	104	100	99	100	↓82	↓88
		肝臓	重量	100	95	102	108	↑125	100	98	96	104	↑115
			対体重比	100	99	103	↑108	↑121	100	98	98	100	↑111
		副腎	重量	100	97	102	101	↑114	100	96	99	95	101
			対体重比	100	111	109	119	↑171	100	102	100	109	↑148
	甲状腺 ^d	重量	100	107	109	↑119	↑174	100	101	97	112	↑153	
		対体重比	100	111	109	119	↑171	100	102	100	109	↑148	
	雌	臓器重量。	供試(出産)動物数 ^e	24	23	22	23	22	19	23	23	20	20
			検定対象外動物数	0	0	0	0	3 ^f	0	0	0	2 ^f	0
			検定対象動物数	24	23	22	23	19	19	23	23	18	20
			最終体重。	100	100	102	106	103	100	102	104	↑109	105
脳			対体重比	100	100	99	95	98	100	99	97	↓93	95
			下垂体	対体重比	100	100	93	↓89	98	100	105	97	↓83
肝臓			重量	100	101	99	↑144	↑153	100	115	113	↑147	↑163
			対体重比	100	101	98	↑135	↑149	100	113	108	↑135	↑156
副腎			重量	100	101	105	↑114	↑114	100	101	103	109	104
			対体重比	100	101	103	108	↑111	100	99	99	101	99
腎臓		重量	100	103	103	↑116	↑119	100	108	104	↑119	↑113	
		対体重比	100	102	101	↑109	↑115	100	106	100	↑109	↑108	
子宮		重量	100	106	115	↑122	↑126	100	118	106	119	↑125	
		対体重比	100	105	113	↑116	↑122	100	117	103	110	119	
卵巣		重量	100	109	↑115	↑119	↑124	100	104	106	↑121	111	
		対体重比	100	109	113	113	↑121	100	103	103	112	107	
脾臓		重量	100	100	93	93	91	100	108	98	↓88	↓84	
		対体重比	100	99	91	↓88	↓88	100	106	94	↓81	↓81	
甲状腺 ^d		重量	100	104	105	↑142	↑184	100	113	104	↑136	↑173	
		対体重比	100	104	103	↑134	↑180	100	112	100	125	↑164	

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法)。↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01。

- a: 巨大な腎腫瘍による二次的影響が顕著にみられたため除外。
- b: 妊性確認のため屠殺時期が異なるため除外。
- c: 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。
- d: 病理組織学的検査で水腫様変性を認めた場合、その甲状腺重量は統計検定の対象外とした。
- e: 次々頁記載の出産した雌動物数。
- f: 出産後の死亡・食殺により生存児がないため除外。

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。

(続き)

世代				P					F1				
投与量 (ppm)				0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000
親動物	雄	肝臓	対象動物数	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
			肝細胞脂肪化	0	0	0	0	4	0	0	0	0	↑7
			肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	↑8
			褐色色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	↑16	↑23
		甲状腺	小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑14	↑21	0	0	0	↑22	↑22
			対象動物数	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
		肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	↑10	↑12	0	0	0	↑12	↑13
			肝細胞肥大	0	0	0	↑8	↑16	0	0	0	↑5	↑15
			褐色色素沈着	0	0	0	↑6	↑18	0	0	0	↑17	↑24
			胆管増生	0	0	0	0	↑8	0	0	0	1	↑11
			多核肝細胞増加	0	0	0	0	↑5	0	0	0	0	0
		雌	甲状腺	小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑22	↑21	0	0	0	↑23
	卵巣			間質細胞空胞化	0	0	0	4	↑6	0	0	0	0
	卵巣の原始卵胞数(個) ^a		-	-	-	-	-	384	-	-	-	440	
	対象動物数		24	24	24	24	24	24	1	1	6	24	
	副腎		皮質細胞肥大	0	0	0	0	↑16	0	0	0	0	0
			対象動物数	24	24	24	24	24	24	3	3	6	24
	腎		好塩基性尿細管	2	2	2	↑10	↑11	3	0	0	1	2
			尿円柱	1	1	2	↑9	↑9	2	0	0	1	3

Fisher の直接確率計算法: 病理組織学的所見、t 検定: 原始卵胞数。

↑: $p < 0.05$ 、↑↑: $p < 0.01$ 。-: 測定せず。

a: 死亡例を含む検査全動物(各群 24 匹)の中で所見がみられた動物数。

b: 各群の平均値。

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。

(続き)

世代				P					F1				
投与量 (ppm)				0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000
動物数		雄		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
		雌		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
親動物	繁殖能力	雄	交尾数		24/24	24/24	24/24	23/24	24/24	24/24	24/24	23/24	24/24
			精子数 ^a	精巢 ^b × 10 ⁶ ^b	215	205	217	218	217	239	239	226	223 ↓213
				精巢 × 10 ⁶ /g ^c	131	122	128	129	127	146	145	137	137
				精巢上体 ^b × 10 ⁶ ^b	155	171	183	171	191	146	162	150	151
				精巢上体 × 10 ⁶ /g ^c	632	683	704	662	704	648	693	701	668
		雌	精子運動率(%) ^a		72.8	75.2	74.0	72.6	74.4	76.7	75.8	80.0	76.6
			正常形態精子(%) ^a		97.4	98.3	97.7	98.2	98.3	98.5	97.9	98.4	98.7
			正常発情周期		24/24	23/24	23/24	23/24	24/24	23/24	24/24	23/24	23/24
			発情周期長(日) ^a		4.1	4.0	4.0	4.0	4.0	4.2	4.1	4.1	4.1 ↓4.0
			交尾率		24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24
			受胎率		24/24	23/24	23/24	24/24	23/24	20/24	23/24	23/24	20/24
			出産率		24/24	23/23	22/23	23/24	22/23	19/20	23/23	23/23	20/20
			妊娠期間(日) ^a		22.3	22.1	22.1	22.3	22.5	22.2	22.2	22.1	22.3
			着床数 ^a		13.8	13.9	12.3	13.5	14.0	11.3	12.0	12.3	12.6

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 体重、体重増加量、摂餌量、精子数、着床数。

Fisher の直接確率計算法: 正常発情周期、交尾率、受胎率、出産率。

Mann-Whitney U検定法: 精子運動率、正常形態精子、発情周期長、妊娠期間。

↓: p<0.05。

a: 平均値。

b: 精巢あるいは精巢上体尾当りの精子数の平均値。

c: 精巢あるいは精巢上体尾 1g当りの精子数の平均値。

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。

(続き)

世代			F1					F2						
投与量 (ppm)			0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000		
児動物	一般状態 (15-21日)	対象動物数	190	181	175	180	143	141	174	177	130	157		
		眼球腫大	0	0	0	16	3	0	0	0	4	5		
	1腹あたりの産児数*		12.9	13.0	12.0	12.3	12.1	10.7	11.2	11.4	11.4	11.3		
	性比(雄/産児数)		0.484	0.482	0.445	0.486	0.461	0.443	0.416	0.510	0.480	0.473		
	生存率 (%)	哺育0日	99.7	99.0	100.0	99.7	90.0	96.3	99.7	99.7	98.2	98.8		
		哺育4日	98.9	100.0	98.2	99.7	84.3	99.1	99.6	99.7	88.0	98.6		
		哺育7日	99.5	99.5	100.0	99.5	99.3	100.0	100.0	99.3	100.0	100.0		
		哺育14日	99.5	98.4	99.4	97.8	98.0	100.0	100.0	99.3	99.3	100.0		
		哺育21日 ^b	99.5	98.4	99.4	97.8	98.0	100.0	100.0	99.3	98.6	100.0		
	体重 (g) ^a	雄	哺育0日	5.8	5.7	5.9	↑6.3	6.1	6.2	6.3	6.3	6.3	6.4	
			哺育4日	10.3	10.4	10.7	11.2	11.3	11.1	11.7	11.3	11.8	12.1	
			哺育7日	17.0	17.3	17.4	17.8	17.7	18.1	18.8	18.3	18.5	18.9	
			哺育14日	36.1	36.4	35.7	36.0	34.7	36.8	36.9	36.9	36.9	36.9	
			哺育21日	56.6	57.2	56.1	55.5	↓51.4	57.5	57.9	57.1	56.7	↓52.9	
		雌	哺育0日	5.4	5.4	5.6	↑6.0	5.7	6.0	6.0	5.9	6.1	6.0	
			哺育4日	9.9	10.1	10.5	10.9	10.8	11.0	11.3	11.0	11.5	11.6	
			哺育7日	16.4	16.9	17.0	17.4	17.1	17.9	18.2	17.6	17.8	18.2	
			哺育14日	34.9	35.5	34.9	35.2	34.1	36.4	35.9	36.0	35.6	35.9	
			哺育21日	54.3	55.1	54.2	53.5	↓50.2	55.8	55.6	55.0	54.8	↓51.4	
	性成熟	包皮分離 ^c	雄	包皮分離日 ^a	41.3	41.5	↑42.5	↑43.0	↑43.7					
			雌	同体重(g) ^a	176.2	175.0	178.3	↑188.9	↑185.5					
陰開口		雄	陰開口日 ^a	31.8	31.4	31.5	31.8	32.2						
		雌	同体重(g) ^a	102.1	97.2	97.0	100.2	101.0						
AGD ^d		雄	絶対値						4.91	5.17	5.08	5.23	5.29	
			相対値 ^e						0.221	0.229	0.228	0.231	0.232	
		雌	絶対値						2.38	2.45	2.40	2.48	2.48	
			相対値 ^e						0.108	0.110	0.109	0.111	0.111	
肉眼的 病理検査	哺育4日 ^d	対象動物数	114	112	82	98	71	56	81	83	61	63		
		所見	検体投与に起因する異常所見なし					検体投与に起因する異常所見なし						
	哺育21日 ^e	対象動物数	142	133	127	132	95	141	174	177	129	157		
		肝臓/暗調化	0	0	0	↑34	↑32	0	0	0	↑34	↑77		
		眼球/腫大	0	0	0	17	3	0	0	0	4	6		

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 産児数、体重、AGD。

Fisher の直接確率計算法: 性比。

Mann-Whitney の U 検定: 一般状態、生存率、性成熟日齢、肉眼的病理検査。

↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$ 。

a: 平均値。 b: 離乳率。 c: 相対値 = 絶対値 / (体重)^{1/3}。

d: 哺育4日までの死亡動物を含む。 e: 哺育5日以後の死亡動物を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代			F1					F2						
投与量 (ppm)			0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000		
児動物	雄	臓器重量・	対応する親の出産(腹)数		24	23	22	23	22	20	23	23	20	20
			該当する性の児がない腹数		0	0	1	0	4 ^b	3 ^c	0	0	3 ^d	0
			検査動物(腹)数		24	23	21	23	18	17	23	23	17	20
			最終体重(g)		100	103	101	99	↓90	100	100	98	100	93
		臓器重量・	脳	対体重比	100	99	100	102	↑110	100	101	103	99	↑107
			甲状腺	対体重比	100	98	104	103	↑124	100	108	111	109	120
			胸腺	重量	100	1000	97	↓86	↓80	100	108	97	90	↓84
				対体重比	100	98	97	↓88	90	100	108	98	89	90
			脾臓	重量	100	101	95	↓80	↓69	100	101	91	87	↓73
				対体重比	100	99	94	↓82	↓77	100	100	92	↓86	↓78
			肝臓	重量	100	106	102	↑114	↑119	100	99	99	↑115	↑122
				対体重比	100	104	102	↑117	↑133	100	99	100	↑114	↑131
	雌	臓器重量・	対応する親の出産(腹)数		24	23	22	23	22	20	23	23	20	20
			該当する性の児がない腹数		0	0	0	0	4 ^b	1 ^c	0	1	2 ^d	0
			検査動物(腹)数		24	23	22	23	18	19	23	22	18	20
			最終体重(g)		100	101	100	99	↓89	100	100	99	97	↓92
		臓器重量・	脳	対体重比	100	99	102	102	↑111	100	101	102	102	↑108
			胸腺	重量	100	105	98	89	↓82	100	104	89	↓83	↓79
				対体重比	100	102	98	↓90	93	100	103	91	↓85	↓85
			脾臓	重量	100	105	95	↓85	↓71	100	100	90	↓83	↓75
				対体重比	100	103	94	↓86	↓80	100	99	90	↓85	↓81
			肝臓	重量	100	105	102	↑121	↑123	100	102	100	↑119	↑128
				対体重比	100	103	102	↑122	↑138	100	101	101	↑121	↑138
			子宮	重量	100	108	107	↑137	109	100	106	105	119	107
		対体重比		100	106	106	↑139	↑123	100	106	107	↑122	116	

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法)。↑↓: $p < 0.05$ 、↑↓: $p < 0.01$ 。

a: 変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

b: 全ての児が死亡あるいは母動物に食殺された 3 例を含む。

c: 死産の 1 例を含む。

d: 全ての児が死亡あるいは母動物に食殺された 2 例を含む。

(続き)

世代				F1					F2							
投与量 (ppm)				0	20	50	2000	20000	0	20	50	2000	20000			
児動物	病理組織学的検査・	雄	対象動物数		24	23	21	23	18	17	23	23	17	20		
			肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	↑12	↑13	0	0	0	↑11	↑14		
				肝細胞肥大	0	0	0	↑9	↑18	0	0	0	↑9	↑20		
				褐色色素沈着	0	0	0	↑16	↑18	0	0	0	↑16	↑20		
				胆管増生	0	0	0	3	↑14	0	0	0	4	↑15		
			甲状腺	小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑8	↑18	0	0	0	↑8	↑20		
			対象動物数		24	23	22	23	18	19	23	22	18	20		
		雌	肝臓	肝細胞脂肪化	0	0	0	↑10	↑12	0	0	0	↑8	↑13		
				肝細胞肥大	0	0	0	↑9	↑17	0	0	0	↑10	↑20		
				褐色色素沈着	0	0	0	↑18	↑18	0	0	0	↑14	↑20		
				胆管増生	0	0	0	↑4	↑17	0	0	0	↑7	↑19		
			甲状腺	小胞上皮細胞肥大	0	0	0	↑11	↑18	0	0	0	↑9	↑18		
			胸腺 TUNEL index (%) ^b		雄	0.32	-	-	-	0.25						
					雌	0.25	-	-	-	0.28						

Fisher の直接確率計算法: 病理組織学的検査、Mann-Whitney の *U* 検定: 胸腺 TUNEL index。

↑: $p < 0.05$ 、↑↑: $p < 0.01$ 。-: 検査せず。

a: 検査全動物数の中で所見が見られた動物。

b: 平均値。

親動物

一般状態及び死亡率 ; P 及び F1 両世代の雌雄親動物ともに、検体投与に関係する症状はみられなかった。P 世代 2000 ppm 及び 20000 ppm 群の雌各 1 匹が妊娠 22 日あるいは 23 日の分娩時に臨床症状を呈することなく死亡し、F1 世代で妊性確認に供した動物のうち、20000 ppm 群の 2 例の雌も分娩時に死亡した。追加実施した一世代繁殖試験(資料 T-20)において、分娩時死亡は 20000 ppm 群のみで認められたことから、本用量における死亡は検体投与に関連すると考えられたが、2000 ppm 群での死亡は本試験のみで認められ、偶発的なものである可能性が高いと考えられた。

体重変化 ; P 及び F1 世代の雄の体重は、各投与群とも投与期間を通じて対照群とほぼ同じであった。P 世代の雌でも、体重には各投与群と対照群との間で差を認めなかったが、F1 世代の雌では、2000 ppm 群の体重及び体重増加量に散発的な高値がみられた。一方、F1 世代の雌の 20000 ppm 群では、育成期間中の第 7 週に一時的に高値を示したのみであった。

摂餌量 ; P 及び F1 世代の雄の摂餌量は、各投与群とも投与期間を通じて対照群とほぼ同じか、むしろ上回る傾向を示し、2000 ppm 及び 20000 ppm 群では、投与 13 週

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。

から 15 週の期間に高値を認めた。雌においても、散発的な高値を 2000 ppm 及び 20000 ppm 群に認めた。

肉眼的病理検査：肝臓の腫大と暗調化の発生頻度が P 及び F1 世代雌動物の 2000 ppm 以上の群で増加した。また、甲状腺の腫大と褐色化の増加が雌雄の P 及び F1 世代の 20000 ppm 群で認められ、褐色化については雌の P 及び F1 世代の 2000 ppm 群でも増加した。雄 F1 世代の 20 ppm 群で腎臓の腎盂拡張の発生頻度低下が認められたが、より高い用量群に同様の変化はみられず、偶発的な変動と考えられた。

臓器重量：2000 ppm 以上、あるいは 20000 ppm 群で対照群に比べ統計学的に有意な変動が認められた。雌雄における肝臓、甲状腺及び副腎重量の増加ならびに雌における腎臓及び子宮重量の増加は検体投与の影響と考えられた。卵巣の重量増加も認められたが、2000 ppm 以上の群の変化を検体投与の影響と考えた。P 世代 50 ppm 群でも卵巣重量が増加したが、対体重比に変化がなく病理組織学的検査においてもこの群に影響が認められなかったこと(後述)、F1 世代においては再現されていないこと、さらには雌親動物の繁殖成績に異常を認めなかったことより、偶発的な変動であった可能性が高く、仮に検体投与の影響であったとしても、悪影響ではないと判断された。

雌の 2000 ppm 以上の群で脾臓が、F1 世代雌雄の 2000 ppm 以上の群で下垂体重量が、それぞれ減少し検体投与の影響と考えられた。P 世代雌の 2000 ppm 群でも下垂体の対体重比の減少がみられたが、より高用量の 20000 ppm 群で影響がなかったことから、検体投与との関連は考えられなかった。また、F1 世代雌の 2000 ppm 群でみられた脳の対体重比の減少は、重量で対照群と差がなかったため、同群の臓器重量測定時の平均体重が高値を示したことに伴う変動と考えられ、検体の影響ではないと判断した。

病理組織学的検査：雌雄の 2000 ppm 以上あるいは 20000 ppm 群で肝臓及び甲状腺に病変を認めた。肝臓においては、肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び門脈域の褐色色素沈着に加え、雌のみの所見であるが、胆管増生及び多核肝細胞増加の所見の発生頻度上昇も認められた。甲状腺においては、小胞上皮細胞肥大の頻度増加を認めた。他に P 世代雌の 2000 ppm 以上の群で腎尿管好塩基性化及び尿管柱の増加が、20000 ppm 群で副腎のびまん性皮質細胞肥大及び卵巣間質細胞の空胞化が認められた。他の臓器では、検体に関連する所見はみられず、F1 雌の卵巣で計測した原始卵胞数は、対照群と 20000 ppm 群との間に差はなかった。

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。

また、出産時死亡した 20000 ppm 群の1例では、重度の肝細胞脂肪化及び塊状肝細胞壊死が認められたことから、肝臓障害が死亡に至らせる要因の一つであったと考えられた。

親動物の繁殖能力

発情周期 ; 連続して発情休止期像を呈し、発情期の陰垢像が観察されない雌が、P 及び F1 世代ともに対照群を含むいくつかの群で1例ずつ散見されたが、検体の影響は認められなかった。平均発情周期長は、20000 ppm 群の F1 世代の雌で低値であったが、各個体の発情周期長は正常な周期長と考えられる 4 又は 5 日であり、特に短縮したと考えられる個体がないことから、生物学的に意味のない偶発的変動と考えられた。

交尾率 ; P 及び F1 世代ともに、交尾率及び同居開始から交尾までの日数は検体投与群と対照群との間に有意差はなかった。

受胎率 ; P 及び F1 世代ともに、検体投与群と対照群との間に有意差は認められなかったが、F1 世代の対照群、2000 ppm 以上の群でやや低値を示した。児が得られなかったか交配できなかった合計 16 匹の F1 世代雄を無処置雌と交配した結果、対照群、20 及び 2000 ppm 群の各 1 匹ずつを除く 13 匹の F1 世代雄に妊性が確認された。無処置雄と交配した合計 14 匹の F1 世代雌は、すべて交尾と妊娠が成立した。以上から受胎率の低値は検体投与とは関係ない変動と考えられた。

出産率 ; P 世代雌の出産率は、対照群と 20 ppm 群はともに 100%であった。50 ppm 群の雌 1 匹に出産が認められなかったが、剖検時の子宮内には着床痕が確認された。2000 ppm 以上の群では分娩時死亡が各 1 例認められたが、出産率は対照群との間に有意差を認めなかった。F1 世代の雌の出産率は、いずれの投与群においても 100%であった。

妊娠期間 ; P 及び F1 世代ともに妊娠期間は、検体投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

着床数 ; 各投与群の P 及び F1 世代の雌における平均着床数は、いずれも対照群の値とほぼ同じであった。

精巣の精子頭部数及び精巣上体の精子数、運動性ならびに形態 ; P 及び F1 世代の精巣精子頭部数、精巣上体の精子数、運動率及び正常形態精子出現率は、いずれの群でも対照群と差はなかった。F1 世代の精巣当たりの精子頭部数は、20000 ppm 群で対照群に比較して有意な低値を示した。その低下は、精巣 1 g 当たりの精子頭部数で換算した場合には対照群との間の統計学的に有意な差はなくなる程度で、繁殖成績、生殖器官の病理組織学的検査結果、さらには F2 哺育児における肝

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。

門生殖突起間距離に検体投与に関連する変化もみられなかったが、検体投与との関連は否定できないと考えられた。

児動物

一般状態 ; 対照群を含む各群でいくつかの所見がみられたが、これらのうち 2000 ppm 以上の群の F1 及び F2 哺育児 3~16 匹に認められた眼球腫大は、検体投与との関連が考えられた。

産児数 ; 各群の 1 腹あたりの平均産児数に有意な差は認められなかった。

性比 ; 各群の性比に差は認められなかった。

生存率(含離乳率) ; 各群における哺育児の生存率に差は認められなかった。

体重 ; 20000 ppm 群では、哺育 21 日の体重が F1 及び F2 いずれの世代の雌雄においても有意な低値を示し、検体投与の影響と考えられた。哺育 0 日に、雌雄 2000 ppm 群の F1 世代で増加がみられたが、20000 ppm では F1 及び F2 世代の雌雄のいずれも対照群との間に有意な差がなく、影響とは考えられなかった。

性成熟 ; F1 雄動物の包皮分離完了日齢は、20 ppm 群と対照群の間に差はなかったが、50 ppm 以上の各群で有意差が認められ、2000 ppm 以上の各群では包皮分離時の平均体重も有意な高値であった。しかし、50 及び 2000 ppm 群の平均完了日齢(42.5 及び 43.0 日)は試験施設における同系統ラットの背景値(40.9-43.4 日)の範囲内にあり、第一種の過誤を犯す危険性が少ない多重比較検定で解析した場合、平均完了日齢の有意な遅延は 2000 ppm 以上で認められ、50 ppm 群に有意差はなかった。また、F2 世代児動物で測定した肛門生殖突起間距離(AGD)はいずれの用量、性でも影響は認められなかったこと、他の繁殖能力に関するパラメータ及び病理組織学的検査において、20000 ppm 群では精巢精子頭部数の低下が認められたが、2000 ppm 以下の群では検体に関連する変化はなかったこと、さらには、追加実施した一世代繁殖毒性試験(資料 T-20)において 200 ppm でも包皮分離完了日齢に変動がみられなかったことを総合して、50 ppm 群での有意な変動は偶発的であり、2000 ppm 群での変動も検体との関連が考えられるものの毒性学的意義は低いと考えられた。

F1 世代の雌親動物の性成熟(膣開口)には、影響はみられなかった。

肛門生殖突起間距離 ; F2 世代の児動物の哺育 4 日における肛門生殖突起間距離は、絶対値及び相対値ともに差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。

肉眼的病理検査 ; 哺育 4 日に淘汰した哺育児では、いずれの群でも検体に関連する異常は認められなかった。離乳した F1 及び F2 世代の児動物では、2000 ppm 以上の群で肝臓の暗調化が高頻度で観察され、また、眼球の腫大が 3~17 匹で認められた。

臓器重量 ; 各種臓器重量が 2000 ppm 以上の群、あるいは 20000 ppm 群で対照群に比べて統計学的に有意な変動を示した。F1 及び F2 世代の雌雄ともに認められた肝臓の重量増加及び脾臓ならびに胸腺の重量減少、さらに雄の F1 の甲状腺及び雌の子宮でみられた対体重比も含む重量の増加は、検体投与の影響と考えられた。一方、脳の対体重比の増加が 20000 ppm 群の雌雄ともに F1 及び F2 世代を通じて認められたが、重量には変化がないことから、低体重による、みかけ上の変動と考えられた。

病理組織学的検査 ; 2000 ppm 以上の群で、肝臓の肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、褐色色素沈着、胆管増生及び甲状腺の小胞上皮細胞肥大が認められた。また、F1 及び F2 世代の 2000 ppm 以上の群で剖検時に腫大が認められた離乳児の眼球では、ほぼ全例に虹彩癒着が認められ、眼房水の流出阻害が眼球腫大に至ったと考えられた。またこれら眼球では出血、角膜上皮基底細胞の水腫様変性、角膜上皮細胞の空胞化、角膜炎、虹彩炎及び白内障も観察された。

F1 離乳児の胸腺において計測した TUNEL index には、対照群と 20000 ppm 群との間で差は認められなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は、親動物に対する一般毒性的影響に関しては 50 ppm(雄 P:3.30 - F1:4.05 mg/kg/日、雌 P:3.95 - F1:4.59 mg/kg/日)、親動物の繁殖能力に対しては 2000 ppm(P:131 - 159mg/kg/日、F1:162 - 176 mg/kg/日)であると考えられた。また、F1 及び F2 児動物に対する無毒性量は 50 ppm であると考えられた。

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。

2) 繁殖毒性(追加一世代試験)

① 追加一世代試験

(資料 T-20)

試験機関: (財)残留農薬研究所

報告書作成年: 2004 年[GLP 対応]

検体の純度 : %

試験動物 : Wistar Hannover 系ラット、1 群雌雄各 24 匹、投与開始時 5 週齢

試験期間 : P 世代の雄親動物は約 16 週間、雌親動物は約 18 週間(交配に要する期間が長い場合は約 19 週間)。F1 世代親動物は、離乳後剖検終了までの雄約 10 週間雌約 5 週間。(2003 年 6 月 10 日～2003 年 12 月 11 日)

目的 : 2 世代にわたる繁殖毒性試験(資料 T-19)において、50 ppm以上の用量群の雄 F1 児動物の性成熟(包皮分離完了日)が、対照群に比較して統計学的に有意に遅延した。一方、背景値との比較及び第一種の過誤の危険性が少ない多重比較法による検定結果から、50 ppm群に見られた統計学的有意差は偶発的である可能性が考えられた。本試験では、上記性成熟の指標に関する検体の無作用濃度を確認するとともに、既実施試験で見られた各種変動の再現性を検討し、検体の影響を的確に把握することを目的とした。

投与方法 : 検体を 0、50、200、2000 及び 20000 ppm の濃度含有する飼料を、自由に摂取させた。飼料は 2-4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠 :

交配、調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡 : 投与期間中毎日、全動物の一般状態及び生死を観察した。体重測定時は動物を手に取り、詳細に観察した。雌親動物では、妊娠及び分娩状態も観察した。死亡動物は速やかに剖検した。

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。

世代	期間(週)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成 (10 週)	雌雄 1 対 1 で交配。 交配は腔栓/腔垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)	一般状態・死亡を毎日観察 体重・飼料を週 1 回測定 (体重増加量、摂餌量、検体摂取量) 8 週時より発情周期を検査 交配状況の観察(交尾率)
	交配 (2~3 週)		
	妊娠 (3 週) …出産…		妊娠 0、7、14、20 日に体重、飼料を週 1 回測定 出産状況の観察(哺育 0 日) 新生児数、死産児数、外表異常、性別、受胎率、出産率、妊娠期間、同腹生存児体重測定
	哺育 (3 週)		F1 児肛門生殖突起間距離の測定 母動物の出産後 0、7、14、21 日に体重及び飼料測定 哺育 0、4、14、21 日に生存児数、児体重測定、途中死亡及び 4 日目屠殺新生児についての肉眼的異常の検査
…… F1	…離乳……	出産後 21 日目	親動物の臓器重量測定及び病理検査(肉眼+組織)
	育成 (雄:約 10 週) (雌:約 5 週)	原則各腹雌雄 1 匹に加え、各群の雌雄が 24 匹ずつとなるよう無作為に選抜	選抜しなかった児動物の屠殺、臓器重量測定及び病理検査(肉眼+組織) 雄の包皮分離、雌の腔開口の観察 選抜動物の屠殺、臓器重量測定及び肉眼的病理検査

体重 ; 投与期間中毎週、全親動物の体重を測定した。児動物の体重は、哺育 0 日(出産日)は雌雄別に 1 腹分まとめて、哺育 4、7、14 及び 21 日は個体別に測定し、腹ごとに各性の平均体重を求めた。また、雄では投与開始日、雌では投与開始日、妊娠 0 日及び哺育 0 日の体重値を基準に体重増加量を算出した。

申請者注:試験ガイドラインでは、妊娠 0、7、14、21 日の母動物の体重測定が求められている。

しかし、本試験に用いた試験動物は、正常状態において、妊娠 21 日に分娩を開始する例があるため、最終の体重測定を 20 日に実施した。

摂餌量 ; 交配期間中を除き、毎週摂餌量を測定した。

検体摂取量 ; 投与期間ごと及び全投与期間を通じた平均の検体摂取量(mg/kg/日)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日本農薬株式会社にある。

交配及び妊娠の確認 ; 交配は雌の発情を膣垢像の観察により確かめ、雌雄 1 対 1 で同居させた。

翌朝膣栓及び精子の有無により交尾を確認し、妊娠 0 日とした。

妊娠の有無は、分娩又は肉眼的病理検査時における子宮の着床痕の有無を調べることで確認した。

親動物の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。

正常発情周期を示した雌の頻度＝発情前期又は発情期を示した雌数／発情周期を観察した雌数

交尾率＝交尾が認められた雄(雌)数／交配に用いた雄(雌)数

受胎率＝妊娠雌数／交尾を認めた雌数

出産率＝正常出産雌数／妊娠雌数

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

着床数：子宮内の着床痕の数

産児数・児動物の性比 ; 哺育 0 日に各腹ごとの生存児と死亡児の合計値を算出し、群の平均値として示した。性比は総雄産児数／総産児数として示した。

児動物の生存率 ; 哺育 0 日の生存率(%)＝(哺育 0 日の生存児数／産児数)×100

哺育 4 日の生存率(%)＝(哺育 4 日の生存児数／哺育 0 日の生存児数)×100

哺育 7 日の生存率(%)＝(哺育 7 日の生存児数／哺育 4 日の生存児数)×100

哺育 14 日の生存率(%)＝(哺育 14 日の生存児数／哺育 4 日の生存児数)×100

哺育 21 日の生存率(離乳率、%)＝(哺育 21 日の生存児数／哺育 4 日に選抜した児数)×100

児動物の性成熟の観察 ; F1 児動物について、哺育 4 日の肛門生殖突起間距離(AGD)を測定し、AGD の相対値を次式により算出するとともに、雄は包皮分離、雌は膣開口を指標に観察し、完了日齢及び当該日の体重を測定した。

$$*: AGD \text{ の相対値} = \frac{\text{肛門生殖突起間距離(mm)}}{(\text{体重(g)} \times 1000)^{1/3}}$$

肉眼的病理検査 ; 全ての生存親動物について剖検し、肉眼的病理検査を実施した。哺育 4 日に選抜されなかった哺育児、F1 世代の親動物を選抜した残りの F1 離乳児及び死亡児についても本検査を実施した。

臓器重量 ; 全ての生存親動物について、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。臓器重量の統計学的検定は、非妊娠例、妊娠中死亡例及び出産後に全ての児動物が死亡・食殺となった例を除外して評価した。

脳、下垂体、甲状腺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、卵巣、子宮(頸部と卵管を含む)、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺とともに分泌物を含む)及び前立腺

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。

児動物については、離乳児のうち、各腹で雌雄それぞれ1匹(片方の性がない場合は、他方の性のみ1匹)を対象に以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、甲状腺、胸腺、脾臓、肝臓及び子宮

結果：概要を以下の各表に示した。

世代			P					F1				
投与量 (ppm)			0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000
動物数	雄		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	雌		24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
親動物	一般状態 ^a (眼球腫大)	雄	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
		雌	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		雌	0	0	0	0	2 ^f	0	0	0	0	0
	体重(g) ^b	雄 最終	424	421	417	421	431	366	370	364	376	378
		雌 最終	265	265	269	273	275	166	168	167	168	172
	体重増加量(g) ^b	雄 試験期間	267	264	260	264	274	302	306	298	312	314
		雌 試験期間	138	138	143	146	148	106	107	104	108	112
	摂餌量 ^c	雄										
		雌							育成 ↑1週 ↑2週	育成 ↑1週 ↑2週		育成 1-2週 ↑
	検体摂取量 ^d (mg/kg/日)	雄		3.25	12.9	127	1287		4.05	15.9	160	1608
		雌		3.84	15.0	149	1490		5.28	21.0	206	2088
肉眼的病理検査 ^a	雄	動物数	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
		肝臓	腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			暗調化	0	0	0	0	0	0	0	0	↑17
		甲状腺	腫大	2	2	5	1	↑8	2	4	0	0
			褐色化	0	0	0	0	↑21	0	0	0	1
		甲状腺	褐色化	0	0	0	0	↑21	0	0	0	1
			褐色化	0	0	0	0	↑21	0	0	0	1
		動物数 ^e	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	雌	肝臓	腫大	0	0	0	↑11	↑20	0	0	0	0
			暗調化	0	0	↑8	↑22	↑22	0	0	0	↑22
		甲状腺	腫大	1	3	0	2	0	1	1	1	0
			褐色化	0	0	0	↑20	↑22	0	0	0	0
		甲状腺	褐色化	0	0	0	↑20	↑22	0	0	0	0
			褐色化	0	0	0	↑20	↑22	0	0	0	0
		甲状腺	褐色化	0	0	0	↑20	↑22	0	0	0	0
			褐色化	0	0	0	↑20	↑22	0	0	0	0

↑: p<0.05、↑↑: p<0.01。

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 体重、体重増加量、摂餌量。

Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理検査。

a: 所見がみられた動物数。

b: 平均値。

c: 対照群に対して有意差が認められた週を示す。空欄は、いずれの週も対照群との間に有意差なし。

d: 育成期間を通した平均値。

e: 検査対象は死亡例及び出産しなかった例も含む全動物。

f: 死亡は妊娠期間(分娩時)に認められた。

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。

(続き)

世代				P					F1					
投与量(ppm)				0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000	
親動物	雄	臓器重量・	対象動物数 ^b	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
			肝臓	重量	100	99	101	103	↑113	100	101	101	107	↑116
				対体重比	100	100	103	104	↑111	100	100	101	104	↑113
			甲状腺	重量	100	102	120	91	118	100	107	↓82	89	106
				対体重比	100	104	122	93	116	100	105	↓83	87	102
			下垂体	重量	100	97	98	99	101	100	98	94	↓91	↓89
				対体重比	100	97	99	99	99	100	97	93	↓89	↓87
			精巣	対体重比	100	104	101	104	105	100	96	98	95	↓93
			精囊	対体重比	100	108	106	109	110	100	99	97	↓90	↓90
			脾臓	対体重比	100	103	105	98	100	100	98	96	↓89	94
		雌	対象動物数 ^c	23	23 ^d	22	24	21	24	24	24	24	24	24
			肝臓	重量	100	100	107	↑140	↑153	100	101	104	↑126	↑149
				対体重比	100	100	105	↑136	↑148	100	100	103	↑124	↑143
			甲状腺	重量	100	106	89	128	↑121	100	117	112	112	124
				対体重比	100	106	88	125	↑117	100	116	112	111	↑119
			下垂体	重量	100	105	104	99	99	100	94	92	↓77	↓81
				対体重比	100	105	102	95	95	100	93	↓92	↓76	↓78
			腎臓	重量	100	99	106	↑112	↑110	100	105	↑109	↑110	↑116
	対体重比			100	99	104	↑109	106	100	104	↑109	↑109	↑112	
	子宮		重量	100	102	103	↑116	↑121	100	109	113	106	111	
		対体重比	100	102	102	113	↑117	100	108	113	104	107		
	卵巢	重量	100	105	↑114	↑115	↑116	100	↑114	108	↑120	↑121		
		対体重比	100	105	113	111	112	100	↑112	108	↑119	↑116		
	脾臓	対体重比	100	101	93	90	92	100	101	98	↓90	99		

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法)。

↑↓: $p<0.05$ 、↑↓: $p<0.01$ 。

a: 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

b: 臓器重量の統計検定対象は、全ての雄親動物。

c: 臓器重量の統計検定対象は、妊娠し正常出産した P 世代雌全例及び F1 雌全例。

d: 出産後の死亡・食殺により生存児なしとなった 1 例を除外したため、出産数より 1 例少ない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代				P					F1				
投与量 (ppm)				0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000
動物数		雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
		雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
親動物	繁殖能力	雄	交尾数	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24					
			精子数	計測せず									
		雌	正常発情周期	23/24	22/24	23/24	22/24	24/24					
			発情周期長(日) ^a	4.2	4.0	4.1	4.1	4.2					
			交尾率	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24					
			受胎率	23/24	24/24	22/24	24/24	23/24					
			出産率	23/23	24/24	22/22	24/24	21 ^b /23					
			妊娠期間 (日) ^a	22.3	22.4	22.3	22.3	22.5					
			着床数 ^a	12.9	12.5	13.5	14.3	14.0					

Fisher の直接確率計算法: 正常発情周期、交尾率、受胎率、出産率。

Mann-Whitney U検定法: 発情周期長、妊娠期間。

多重比較法(Dunnett 又は Scheffé 法): 着床数。

a: 平均値。

b: 分娩時死亡例が認められたため、受胎数より2例少ない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

世代			F1					F2				
投与量 (ppm)			0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000
児動物	一般状態 (15-21 日)	対象動物数	182	174	173	191	154					
		眼球腫大	0	0	0	7	↑ 24					
	産児数 ^a		12.3	11.6	12.5	13.2	12.2					
	性比 (雄/産児数)		0.477	0.455	0.473	0.491	0.455					
	生存率 (%)	哺育 0 日	100	97.2	98.3	98.2	95.0					
		哺育 4 日	100	95.8	98.0	98.8	95.8					
		哺育 7 日	100	99.5	100.0	99.5	99.4					
		哺育 14 日	100	98.9	99.4	99.5	96.4					
		哺育 21 日 ^b	100	98.9	99.4	99.5	96.4					
	体重 (g) ^a	雄	哺育 0 日	6.0	6.0	6.0	6.2	6.3				
			哺育 4 日	11.0	10.8	11.2	11.0	11.5				
			哺育 7 日	18.1	17.9	18.2	17.5	18.0				
			哺育 14 日	36.8	37.2	37.1	35.2	35.9				
			哺育 21 日	57.8	58.7	58.4	54.3	↓ 52.7				
		雌	哺育 0 日	5.7	5.8	5.8	5.9	6.0				
			哺育 4 日	10.5	10.5	10.9	10.7	11.3				
			哺育 7 日	17.4	17.1	17.8	17.1	17.6				
			哺育 14 日	35.8	35.3	36.4	34.3	35.1				
			哺育 21 日	55.4	55.3	55.9	51.9	↓ 50.5				
	肛門生殖突起間距離 (AGD) ^a	雄	絶対値	5.02	5.14	5.20	↑5.23	↑ 5.31				
			相対値 ^c	0.228	0.234	0.234	↑0.238	↑ 0.237				
		雌	絶対値	2.47	2.50	2.55	2.55	2.57				
			相対値 ^c	0.114	0.115	0.116	0.118	0.116				
	性成熟 ^a	雄	包皮分離日	41.0	40.9	41.1	↑ 42.2	↑ 43.1				
			同体重(g)	175.8	175.8	173.5	183.0	↑189.4				
		雌	膈開口日	30.4	30.4	30.2	31.3	↑ 32.3				
			同体重(g)	92.8	94.0	93.2	98.2	↑103.7				
	肉眼的病理検査 ^d	対象動物数		134	126	125	142	105				
		眼球腫大		0	0	0	9	↑ 26				
肝臓暗調化		0	0	0	↑ 37	↑ 40						
腎盂拡張		4	↑21	↑25	13	14						

↑: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$ 。

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法): 産児数、体重。 Fisher の直接確率計算法: 性比。

Mann-Whitney の U 検定: 一般状態、生存率、性成熟日齢、肉眼的病理検査。

a: 平均値。 b: 離乳率。 c: 相対値 = 絶対値 / (体重)^{1/3}。 d: 該当個体数。

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。

(続き)

世代			F1					F2				
投与量 (ppm)			0	50	200	2000	20000	0	50	200	2000	20000
児動物	臓器重量・	雄	動物数		23	21 ^{bc}	21 ^b	23 ^b	21			
			体重・		100	102	102	95	↓ 91			
			脳	対体重比	100	99	93	105	↑107			
			肝臓	重量	100	104	104	↑116	↑125			
				対体重比	100	101	102	↑122	↑137			
			甲状腺	重量	100	86	89	↓ 80	↓ 81			
			胸腺	重量	100	101	95	91	↓ 82			
			脾臓	重量	100	99	98	↓ 83	↓ 73			
				対体重比	100	97	95	↓ 87	↓ 79			
			動物数		23	23 ^c	21 ^b	24	19 ^b			
			体重・		100	100	101	93	↓ 89			
			脳	対体重比	100	101	98	↑108	↑110			
		雌	肝臓	重量	100	99	105	↑115	↑122			
				対体重比	100	99	104	↑124	↑137			
			甲状腺	重量	100	91	93	87	↓ 82			
			胸腺	重量	100	94	90	↓ 84	↓ 77			
				対体重比	100	95	90	↓ 89	↓ 86			
			脾臓	重量	100	98	101	↓ 82	↓ 79			
				対体重比	100	98	100	↓ 87	↓ 88			

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法): 臓器重量、Fisher の直接確率計算法: 病理組織学的検査。

↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$ 。

a: 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

b: 該当する性の児がない腹があるため、検査動物数は出産した腹数より少ない。

c: 出産後に全児が死亡・食殺された 1 腹についてデータなし。

親動物

一般状態及び死亡：P世代の雌雄親動物ともに検体投与に関係する症状は見られなかったが、後述のF1児動物で眼球腫大が認められたことに関連して、F1世代では同所見が雄の20000 ppm群及び雌の2000 ppm以上の各群で各1例ずつ認められた。P世代の20000 ppm群では、分娩時に2例の死亡が認められた。

体重変化：P及びF1世代における雄の各投与群では、投与期間を通じて検体による影響は認められなかった。雌では、2000 ppm以上の各群で一時的に体重増加量が対照群に比較して統計学的に有意な増加を示したが、低下は認められず、体重にも変化は認められなかった。

摂餌量：P及びF1世代の雄並びにP世代の雌では、投与期間を通じて検体による影響は認められなかった。雌のF1世代で、育成第1及び2週に対照群に比較して統計学的に有意な増加を示す投与群がみられたが、一時的なものであった。

肉眼的病理所見：検体投与に関連した影響は、雄では20000 ppm群に認められ、肝臓の暗調化の発生頻度がF1世代で、甲状腺の腫大がP世代で、甲状腺の褐色化が両世代で、それぞれ有意に増加した。一方、雌では検体投与に関連した影響は200 ppm以上の投与群に認められ、肝臓の腫大あるいは暗調化の頻度がP及びF1世代を通じて増加し、甲状腺の褐色化がP世代で認められた。

臓器重量：雄においては、P及びF1世代の20000 ppm群で肝臓重量が増加し、F1世代では2000 ppm以上の群で下垂体重量の低下、2000 ppm群で脾臓の重量あるいは対体重比が低下し、検体投与の影響と考えられた。F1世代の200 ppm群で甲状腺重量低下が認められたが、2000 ppm以上の群では有意な変動はなかった。また、精巣あるいは精嚢の対体重比の低下がF1世代の2000 ppm以上の群でみられたが、先の試験(資料 T-19)では認められず、試験間で一致しないことから、偶発的な可能性が高いと考えられた。

雌のP及びF1世代において、200 ppm以上の群で腎臓、2000 ppm以上の群で肝臓及び卵巣、20000 ppm群では甲状腺の重量が増加し、検体投与の影響と考えられた。F1世代の50 ppm群でも卵巣の重量に有意な増加が認められたが、より高用量である200 ppmでは変動が見られなかったことから、検体に関連しない偶発的な所見である可能性が考えられた。仮に検体の影響としても、先の試験でこの群では卵巣の重量及び病理組織学的検査をはじめ繁殖成績にも検体の影響は認められていないことから、悪影響ではないと考えられた。他に、雌のP世代で2000 ppm以上の群における子宮重量増加、F1世代では200 ppm以

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。

上の群で下垂体重量低下、2000 ppm の群では脾臓の対体重比の低下が認められた。

親動物の繁殖能力

- 発情周期 ; 連続して発情休止期像を呈し、発情期の膣垢像が観察されない雌が、対照群を含むいくつかの群で散見されたが、対照群と投与群間で差はなく、平均発情周期長にも検体の影響は認められなかった。
- 交尾率 ; 交尾率及び同居開始から交尾までの日数に対照群との差はなかった。
- 受胎率 ; 対照群と投与群間で差はみられなかった。
- 出産率 ; P 世代雌の出産率は、対照群と 2000 ppm までの各投与群はともに 100%であった。20000 ppm 群では分娩時に雌 2 匹が死亡し、生存児を出産しなかったために 91% (21/23)であったが、対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。
- 妊娠期間 ; 対照群と投与群間で差はみられなかった。
- 着床数 ; 対照群と投与群間で差はみられなかった。

児動物

- 一般状態 ; F1 児動物の哺育 15-21 日に、2000 ppm 以上の群の哺育児で眼球腫大が認められ、20000 ppm 群における発生頻度是对照群に対して有意な高値であった。この所見は検体投与との関連が考えられた。
- 産児数 ; 平均産児数に、検体投与群と対照群の間で有意な差を認めなかった。
- 性比 ; 性比に、検体投与群と対照群の間で有意な差を認めなかった。
- 生存率 ; 生存率に、検体投与群と対照群の間で有意な差を認めなかった。
- 体重 ; 雌雄ともに 20000 ppm 群の哺育 21 日の平均体重が対照群に比べ有意な低値を示した。
- 肛門生殖突起間距離 ; F1 児動物の哺育 4 日における肛門生殖突起間距離は、雄の 2000 ppm 以上の投与群で絶対値及び相対値ともに対照群に比べ有意に増加したが、雌では絶対値及び相対値のいずれにも有意な差は認められなかった。
- 性成熟 ; F1 雄児動物の包皮分離完了日齢は、2000 ppm 以上の各投与群で対照群に比較して有意な遅延が認められ、20000 ppm 群では包皮分離時の平均体重も有意な高値を示した。しかし、同世代雄児動物で測定した肛門生殖突起間距離 (AGD) の短縮がなく、むしろこれらの群では大きい値を示しており、少なくとも検体が抗アンドロゲン作用によって性成熟を遅延させているの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。

F1 世代の雌親動物の性成熟(陰開口)は、20000 ppm 群でのみ有意な遅延が認められた。先の二世世代繁殖毒性試験ではこの項目に検体の影響は認められていないことから、偶発的な変動の可能性が考えられた。

肉眼的病理検査 ; 哺育 4 日に淘汰した哺育児では、いずれの投与群でも検体投与に関連する異常を認めなかった。離乳児では一般状態の所見と同様に眼球の腫大が認められ、20000 ppm 群における発生頻度は対照群に対して有意な高値であった。また、2000 ppm 以上の群で肝臓の暗調化の頻度が増加した。これらの所見は検体投与との関連が考えられた。一方、腎盂拡張が 50 及び 200 ppm 群で有意な増加を示したが、より高用量である 2000 ppm 以上の群では明らかな増加が認められないことから、偶発的な変動と考えられた。

臓器重量 ; 検体の影響は 2000 ppm 以上の群で認められた。雌雄ともに肝臓の重量が増加し、甲状腺、脾臓及び胸腺の重量が減少した。雄の 20000 ppm 群及び雌の 2000 ppm 以上の群における脳の対体重比の増加は、体重低下に伴った二次的変動と考えられた。

以上の結果から、本試験における無毒性量は、親動物に対する一般毒性的影響に関しては 50 ppm(雄 P:3.25 - F1:4.05 mg/kg/日、雌 P:3.84 - F1:5.28 mg/kg/日)と考えられた。親動物の繁殖能力に対しては、今回の試験での検査項目には 20000 ppm でも影響は認められなかったが、先の二世世代繁殖毒性試験(資料 T-19)の結果を参考に、無毒性量は 2000 ppm(雄 P: 127 mg/kg/日、雌 P:149 mg/kg/日)であると考えられた。また、F1 児動物に対する無毒性量は 200 ppm であると考えられた。

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。

② 追加一世代試験における児動物の眼球の病理組織学的検査 (資料 T-20-1)

試験機関: (財)残留農薬研究所

報告書作成年: 2005 年[GLP 対応]

目的: 二世代繁殖毒性試験(資料 T-19)および追加実施した一世代繁殖毒性試験(資料 T-20)において、F1児動物に眼球腫大を認めた。その詳細を検討するため、異常所見のある眼球について病理組織学的検査を行うとともに、その前駆病変の有無を検索するために肉眼的異常を認めなかった眼球についても検査した。

検査項目:

病理組織学的検査: 検査対象動物は、一世代繁殖毒性試験(資料 T-20)の F1 児動物とした。離乳時の剖検で、眼球に肉眼的異常を示す個体の両側の眼球(片側のみ異常を示す場合は異常を示さない側も含む)を採取・固定保存した。眼球に肉眼的異常を示す児がない腹については、原則として雌雄 1 例ずつ(両性の児がない腹では片性のみ)の児動物より正常な眼球(両側)を採取・固定した。これら眼球について、病理組織学的検査を実施した。

眼球は左右両方を検査したが、結果の集計は個体を単位として行った。

結果: 一世代繁殖毒性試験で有意差が認められた、児動物の離乳時における眼球の肉眼的病理所見を、抄録より抜粋して次表に再掲した。

(抄録 T-20 より再掲データ)

世代			F1				
投与量 (ppm)			0	50	200	2000	20000
児動物	肉眼的病理検査 ^a	対象動物数 ^a	134	126	125	142	105
		眼球腫大 ^a	0	0	0	9	↑ 26

Mann-Whitney の U 検定: 肉眼的病理検査。↑: $p < 0.01$ 。

a: 該当個体数。

病理組織学的検査: 次頁以下に F1 児動物の病理組織学的検査結果を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

世代				F1				
投与量 (ppm)				0	50	200	2000	20000
眼球の 病理組織学的 検査	肉眼的に 眼球の 異常所見 を示した 離乳児	雄	検査例数	0	0	0	8	15 [#]
			虹彩癒着	-	-	-	7	15
			出血	-	-	-	7	15
			角膜炎	-	-	-	6	11
			虹彩炎	-	-	-	4	7
			白内障	-	-	-	3	9
			角膜上皮基底細胞の 水腫様変性	-	-	-	6	13
			角膜上皮細胞の 空胞化	-	-	-	1	1
		雌	検査例数	0	0	0	1	13 [#]
			虹彩癒着	-	-	-	1	12
			出血	-	-	-	1	13
			角膜炎	-	-	-	0	8
			虹彩炎	-	-	-	1	7
			白内障	-	-	-	1	10
			角膜上皮基底細胞の 水腫様変性	-	-	-	0	6
			角膜上皮細胞の 空胞化	-	-	-	0	1

表中の数値は該当する離乳児例数を表す(眼は左右両方を検査したが、結果の集計は個体を単位として行った)。- は該当なし。

#: 眼球白濁のみを示した雌雄各1例を含むため、これら雌雄の合計数は前頁掲載の表中の肉眼的病理検査における眼球腫大例数よりも2例多い。

対照群では眼球の異常所見を有する離乳児がないため、統計学的検定は実施せず。

2000 および 20000 ppm 群で眼球に肉眼的異常を示した離乳児では、眼球に虹彩癒着、出血、角膜炎、虹彩炎、白内障、角膜上皮基底細胞の水腫様変性および角膜上皮空胞化が認められた。異常を示した多くの眼球では、虹彩癒着、出血、角膜炎、虹彩炎および白内障を伴っていた。これらの形態学的変化は、二世代繁殖毒性試験で認められた変化と同じであった。ラットの児動物では、生後も眼球は成長を続けることから、虹彩癒着による眼房水の排泄障害による眼圧増加が、眼球腫大の原因となった可能性が考えられた。

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。

世代				F1				
投与量 (ppm)				0	50	200	2000	20000
眼球の病理組織学的検査	肉眼的に眼球の異常所見がない離乳児	雄	検査例数	23	0	21	22	14
			虹彩癒着	2	-	1	3	0
			角膜上皮基底細胞の水腫様変性	5	-	5	7	2
	雌		検査例数	23	0	21	23	16
			虹彩癒着	2	-	2	3	3
			出血	2	-	0	1	1
			角膜炎	0	-	0	0	1
			角膜上皮基底細胞の水腫様変性	3	-	2	7	5

表中の数値は該当する離乳児例数を表す。50ppm群は検査せず。- : 該当なし。
Fisher 直接確率法により各所見とも対照群との有意差なし。

肉眼的異常のない離乳児の眼球に関しては、0、200、2000 および 20000 ppm の各群、それぞれ雌雄とも検査例の約 10-30%の離乳児において、虹彩癒着、出血、角膜炎および角膜上皮基底細胞の水腫様変性がみられた。しかしその発生頻度に関し、対照群と検体投与群間で統計学的に有意な差はみられず、検体の投与に関連した影響はないことが示唆された。これら動物で認められた所見の程度は、特に虹彩癒着および出血に関しては、肉眼的異常のある眼球でみられた変化に比較して明らかに軽度であった。

50ppm群では肉眼的に眼球の腫大例がなかったこと、さらに 200 ppm以上の各群において肉眼的な異常のない眼球では検体投与と関連付けられる組織学的変化が特に認められなかったことから、50 ppm 群の眼球に関して病理組織学的検査は行わなかった。

以上の結果から、眼球腫大を生じた例では、虹彩癒着、出血、角膜炎、虹彩炎、白内障、角膜上皮基底細胞の水腫様変性および角膜上皮空胞化という種々の組織学的変化があり、虹彩癒着による眼房水の排泄障害による眼圧増加が眼球腫大の原因である可能性が考えられた。肉眼的異常のない離乳児の眼球では検体の投与に関連した影響はみられず、本試験における眼球への影響に関する無毒性量は、200 ppm であると考えられた。

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。

申請者注：ほとんどの例で眼球腫大は片側性であり、上述の各種眼球病変の多くは、腫大した側の眼球のみに認められた。肉眼的に正常な眼球では角膜上皮基底細胞の水腫様変性が時に認められる程度であった。両側の眼球が腫大した例は 20000 ppm 群で雌雄各1例あり、これらでの例では腫大した眼球の全てにおいて虹彩癒着が認められ、上記病変のいくつかも認められていた。肉眼的に眼球白濁だけが認められていた 20000 ppm 群の雌雄各1例では、ともに出血、白内障および角膜上皮基底細胞の水腫様変性が認められ、1例には虹彩癒着も認められた。眼球白濁だけを示したこの2例を除いても、上記の考察は変わらないと考えられた。

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。

3) 催奇形性

① ラットにおける催奇形性試験

(資料T-21)

試験機関: (財)残留農薬研究所

報告書作成年: 2003 年 [GLP 対応]

検体の純度 : %

供試動物 : Wistar Hannover 系妊娠雌ラット(13 週齢)、1 群 24 匹

投与期間 : 妊娠期間 14 日間 (2002 年 7 月 22 日～2002 年 8 月 8 日)

投与方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁させ、0、10、100 及び 1000 mg/kg の投与量で妊娠 6 日目から 19 日目(交尾が認められた日を妊娠 0 日とした)までの 14 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には、1%CMC 水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠 :

検査項目 :

親動物 : 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、20 日目に体重を測定した。妊娠 9 日以降の体重から妊娠 6 日の体重を減じて、体重増加量を求めた。また、妊娠期間中の摂餌量を測定した。
妊娠 20 日目に帝王切開し、妊娠子宮重量を測定すると共に、黄体数、着床数、生存及び死亡胚・胎児数を検査した。また、剖検を実施し、肝臓重量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

生存胎児 ; 全生存胎児につき性別、体重、胎盤重量及び外表の観察を行った。各同腹児群の胎児に番号を付した後、奇数番号の胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。偶数番号の胎児については内臓異常の有無を検査した。

結果 : 概要を次頁の表に示した。

親動物、100 及び 1000 mg/kg 群の肝臓重量及び対体重比が、対照群と比べ統計学的に有意に増加した。体重増加量、摂餌量に検体投与の影響は認められず、死亡を含む一般状態及び剖検所見にも検体投与に起因する異常は観察されなかった。妊娠 20 日の帝王切開時の検査では、妊娠子宮重量、黄体数及び着床数いずれにおいても検体投与の影響を認めなかった。

検体の胎児に対する影響に関しても、各投与群の着床前胚死亡率、生存胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比、体重及び胎盤重量の各指標に、対照群との間で有意な差は観察されなかった。

外表、内臓及び骨格の奇形学的検査において、検体投与に起因すると考えられる奇形や変異は認められなかった。骨格の検査において、10 mg/kg 群で過剰肋骨の発生頻度が対照群に比べ有意に増加した。しかし、本用量群のみでの増加であり、より用量の高い群では変化がなく、また各投与群におけるこの所見のみられた胎児を持つ腹の頻度はいずれも対照群の値とほぼ同じであった。したがって、用量設定試験の高用量群と今回の試験の低用量群でみられた見かけ上の出現率の差は、この系統のラットで比較的高頻度に自然発生する過剰肋骨が偶然ある群に偏って出現したために引き起こされたものであり、検体投与により過剰肋骨が誘発されるものではないと判断された。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児における無毒性量は、それぞれ 10 mg/kg/日 及び 1000 mg/kg/日 であった。また、最高用量の 1000 mg/kg/日 でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

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。

投与量(mg/kg/日)			0	10	100	1000	
1 群当たり動物数			24	24	24	24	
親動物	一般状態		検体投与に起因する異常所見なし				
	死亡数(率、%)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	交配数(率、%)		24(100)	24(100)	24(100)	24(100)	
	妊娠数(率、%)		23(95.8)	24(100)	24(100)	24(100)	
	生存胎児の得られた雌数		23	24	24	24	
	体重増加量		検体投与による影響なし				
	摂餌量(g/day)		検体投与による影響なし				
	剖検所見		検体投与に起因する異常所見なし				
	肝臓重量(mg)		12998	13589	↑ 14043	↑ 15087	
	肝対体重比		4.92	5.04	↑ 5.29	↑ 5.64	
	妊娠子宮重量(g)		64	63	66	67	
	着床所見	黄体数	14.4	14.5	14.7	14.4	
		着床数	13.3	12.4	13.3	13.0	
		着床前胚死亡率(%)	8.0	14.5	9.6	9.7	
		生存胎児数	12.0	11.8	12.4	12.3	
		胚・胎児死亡数	1.2	0.6	0.8	0.8	
		胚・胎児死亡率(%)	8.9	4.9	6.1	6.7	
胎児	胎児体重(mg)		雄	3544	3455	3559	3528
			雌	3376	3339	3336	3445
	胎盤重量(mg/kg)		416	421	408	429	
	性比(雄数/雌数)		133/144	139/144	143/155	151/144	
	奇形学的検査	検査腹数	23	24	24	24	
		奇形胎児の認められた母動物数(%)	0(0)	2(8.3)	1(4.2)	1(4.2)	
		変異胎児の認められた母動物数(%)	22(95.7)	24(100)	24(100)	24(100)	
	外表所見	奇形	検査胎児数	277	283	298	295
			奇形胎児数(%)	0(0)	4(1.4)	1(0.3)	2(0.7)
			口蓋裂	0	0	0	2
			小下顎	0	0	0	1
			軸前性多指	0	3	0	0
			欠手	0	0	0	1
			欠指	0	0	0	2
			臍帯ヘルニア	0	1	1	0
鎖肛			0	0	0	1	
短尾			0	0	0	2	
水腫			0	0	0	1	

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法): 親動物の体重増加量、摂餌量、肝臓重量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量。

χ^2 検定法又はFisherの直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理検査、奇形及び変異のみられた胎児を持つ親動物の頻度、奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度及び生存胎児の性比。

Mann-Whitney の U 検定法: 着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率。

↑: $P < 0.05$, ↑↑: $P < 0.01$ 。

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。

投与量 (mg/kg/日)				0	10	100	1000
1 群当たり動物数				24	24	24	24
胎児	内臓所見	奇形	検査胎児数	134	137	145	140
			奇形胎児数 (%)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.7)
			口蓋裂	0	0	0	1
			心室中隔欠損	0	0	0	1
			停留精巣	0	0	0	1
		変異	変異胎児数 (%)	23(17.2)	33(24.1)	30(20.7)	29(20.7)
			胸腺頸部残留	1	2	4	1
			食道背方右鎖骨下動脈	0	0	0	1
			左側臍動脈	22	32	26	28
			腎盂拡張	0	1	1	0
	骨格所見	奇形	検査胎児数	143	146	153	155
			奇形胎児数 (%)	0(0)	2(1.4)	0(0)	1(0.6)
			胸椎弓過剰骨化	0	0	0	1
			肋骨癒合	0	0	0	1
			軸前性多指	0	2	0	0
			尺骨欠損	0	0	0	1
			指関節先端欠損	0	0	0	1
			仙骨欠損	0	0	0	1
		変異	変異胎児数 (%)	64(44.8)	74(50.7)	63(41.2)	78(50.3)
			頸肋	10	↓ 2	↓ 3	5
			胸骨分節配列異常	3	1	2	6
			胸骨肋骨間関節の尾方偏位	0	0	0	3
			波状肋骨(骨化)	3	2	0	0
			波状肋骨(軟骨)	0	1	0	1
			過剰肋骨	51	↑ 68	59	68
			胸椎ダンベル状骨化	2	0	0	0
			腰仙移行椎	4	1	0	5
			仙椎前椎骨 27	1	0	4	0

χ^2 検定法又はFisherの直接確率計算法: 奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度。

↑↓: $P < 0.05$ 。

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 ウサギにおける催奇形性試験

(資料T-22)

試験機関: (財)残留農薬研究所

報告書作成年: 2002 年[GLP 対応]

検体の純度 : %

供試動物 : 日本白色種妊娠雌ウサギ、18 週齢、1 群各 25 匹

投与期間 : 妊娠期間; 22 日間(2002 年 1 月 27 日～2002 年 2 月 21 日)

投与方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁させ、0、20、100 及び 1000 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 27 日(人工授精を行った日を妊娠 0 日とした)までの 22 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には、1%CMC水溶液のみを同様に投与した。

投与量設定根拠 :

観察・検査項目 :

親動物 : 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日に体重を測定した。妊娠 9 日以降の体重から妊娠 6 日の体重値を減じて体重増加量を求めた。また、妊娠期間中の摂餌量を求めた。妊娠 28 日に帝王切開し、妊娠子宮重量を測定すると共に黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胚・胎児数を調べた。黄体数と着床数から着床前胚死亡率を、着床数及び死亡胚・胎児数から胚・胎児死亡率を、また妊娠 28 日の体重から妊娠子宮重量を減じ補正体重を求めた。帝王切開終了後には親動物の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。

生存胎児 : 全ての胎児について個体識別を行った後、体重と胎盤の重量を測定し、性別と外表、骨格及び内臓観察を行った。頭部内臓観察は未固定及び固定組織について実施した。

結果 : 概要を次頁表に示した。

親動物の死亡は、検体投与群及び対照群いずれにおいてもみられなかった。体重及び妊娠中の体重増加量につき、対照群と検体投与群との間で、統計学的な有意差は認められなかったが、1000 mg/kg 群においては、妊娠末期(妊娠 27-28 日)の摂餌量が有意に低下し、一般状態の観察で軟便がみられた。これらの変化は検体投与の影響と考えられた。妊娠 28 日の帝王切開時の検査では、妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率いずれにおいても検体投与の影響を認めなかった。

胎児に関して、生存胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比、胎児体重及び胎盤重量はいずれも対照群と各投与群との間で差は認められなかった。

奇形学的検査の結果、各投与群の外表及び内臓に奇形を認めた胎児数は対照群との間に有意な差はなかった。骨格奇形を有する胎児数は 100 mg/kg 群で統計学的に有意に増加した。骨格奇形別の出現頻度は胸骨分節癒合が2例、その他はいずれも最小例数であり、統計学的な有意差を対照群との間に認めなかった。また、胸骨分節癒合出現頻度は対照群の背景データ(16 試験中 10 試験の対照群において 1~3 匹)の範囲内にあった。高用量の 1000 mg/kg 群では有意な増加を認めなかったこととも合わせ、100 mg/kg 群でみられた上記の統計学的有意差は偶発的であると考えられた。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児に対する無毒性量は 100 mg/kg/日、及び 1000 mg/kg/日であった。また、最高用量の 1000 mg/kg/日でも胎児動物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。

投与量 (mg/kg/日)			0	20	100	1000		
1 群当たり動物数			25	25	25	25		
親動物	一般状態							
	軟便		0	1	0	↑ 7		
	死亡数 (%)		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)		
	妊娠数 (%)		25(100)	25(100)	24(96)	24(96)		
	流産数 (%)		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)		
	肉眼的に着床が認められた雌数		25	25	24	24		
	生存胎児の得られた雌数		22	24	23	24		
	体重増加量 (g) (妊娠 6-28 日)		223	203	231	173		
	摂餌量 (g/day) (妊娠 27-28 日)		117	109	111	↓76		
	肉眼的の病理所見		検体投与による影響なし					
	検査腹数		22	24	24	24		
	妊娠子宮重量 (g)		390	393	396	427		
	補正体重 (g)		3724	3657	3686	3624		
	着床所見	黄体数		10.8	10.5	10.8	10.3	
		着床数		7.8	7.5	7.8	8.2	
		着床前胚死亡率 (%)		28.0	28.2	26.1	19.9	
		生存胎児数		7.2	6.8	7.1	7.5	
		胚・胎児死亡数		0.6	0.7	0.7	0.8	
		胚・胎児死亡率 (%)		8.8	10.0	11.5	8.6	
胎児	胎児体重 (g)		雄	37.8	40.3	38.6	38.8	
			雌	38.1	39.3	38.0	38.4	
	胎盤重量 (mg)			5333	5577	5196	5583	
	性比 (雄数/雌数)			74/84	81/82	82/88	90/89	
	奇形学的検査	検査腹数		22	24	23	24	
		奇形胎児の認められた親動物数 (%)		2(9.1)	4(16.7)	5(21.7)	7(29.2)	
		変異胎児の認められた親動物数 (%)		19(86.4)	23(95.8)	20(87.0)	21(87.5)	
	外表所見	奇形	検査胎児数		158	163	170	179
			奇形胎児数 (%)		0(0)	1(0.6)	0(0)	1(0.6)
			局所性浮腫 (%)		0(0)	1(0.6)	0(0)	1(0.6)
	内臓所見	奇形	検査胎児数 (固定頭部)		85	88	91	95
			奇形胎児数 (%)		0(0)	1(1.1)	0(0)	0(0)
			小脳小型化		0	1	0	0
			検査胎児数 (新鮮頭部)		73	75	79	84
			奇形胎児数 (%)		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

多重比較法 (Dunnett 又は Scheffé 法): 親動物の体重増加量、摂餌量、肝臓重量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量

χ^2 検定法又はFisherの直接確率計算法: 一般状態、肉眼的の病理検査、奇形及び変異のみられた胎児を持つ親動物の頻度、奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度及び生存胎児の性比

Mann-Whitney の U 検定法: 着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率

↓: P<0.05、↑: P<0.01。

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。

投与量(mg/kg/日)			0	20	100	1000			
胎児	内臓所見	奇形	検査胎児数	158	163	170	179		
			奇形胎児数(%)	2(1.3)	2(1.8)	1(0.6)	4(2.2)		
			心室中隔膜性部欠損	0	1	0	0		
			大動脈弓狭窄	0	1	0	0		
			左側総頸動脈狭窄	2	0	1	1		
			食道背方鎖骨下動脈	0	1	0	0		
			脾臓小型化	0	0	0	1		
			精巣位置異常	0	1	0	1		
			甲状腺大型化	0	0	0	1		
		変異	検査胎児数	158	163	170	179		
			変異胎児数(%)	15(9.5)	17(10.4)	20(11.8)	16(8.9)		
			左総頸動脈の起始異常	12	13	15	13		
			胸腺頸部残留	3	3	5	3		
			大動脈弓から分岐する過剰動脈	0	1	0	0		
			骨格所見	奇形	検査胎児数	158	163	170	179
					奇形胎児数(%)	0(0)	1(0.6)	↑5(2.9)	3(1.7)
					胸骨分節癒合	0	1	2	2
					肋骨欠損	0	0	0	1
	肋骨分岐	0			0	1	0		
	肋骨癒合	0			0	1	0		
	肋骨短小	0			0	0	1		
	胸椎弓小型	0			0	1	0		
	胸椎体癒合	0			0	1	0		
	胸椎体形態異常	0			0	1	0		
	腰椎弓欠損	0	0		1	0			
	腰椎体欠損	0	0		1	0			
	変異	変異胎児数(%)	60(38.0)	74(45.4)	67(39.4)	57(31.8)			
		胸骨分節分配異常	0	0	0	1			
頸肋		0	1	4	0				
過剰肋骨		55	73	60	51				
頸椎体二分骨化		0	0	2	0				
仙椎前椎骨 25		0	0	2	1				
仙椎前椎骨 27		14	23	12	16				
腰仙移行椎	5	3	3	3					

χ^2 検定法又はFisherの直接確率計算法：奇形又は変異を認めた胎児の出現頻度。

↑:P<0.05。