

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) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 17)

試験機関：BASF毒性研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年：2001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19週間

F1世代：離乳時からF2児離乳後の剖検までの約21週間

(動物試験期間，1998年9月8日～1999年6月7日)

投与方法：検体を0，100，1000または10000ppmの濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお，対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

用量設定根拠：

方法及び試験項目：概要を次頁の表にまとめた。

試験の概要

世代	期間(週)	作業手順	試験項目
F0	育成(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, 摂餌量, 検体摂取量
	交配(1)	性周期観察(交配前少なくとも3週間) 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)	性周期 交尾率
	妊娠(3)		授精率, 妊娠率
	出産 哺育(3)	出産状況の観察(出産後0日) 出産児の生死, 性, 外表所見, 生存(生後0, 4, 7, 14, 21日)の観察, 体重測定(生後1, 4, 7, 14, 21 日), 死亡児の剖検 同腹児数調整(生後4日, 原則として雌雄各4匹) 選抜しなかった4日齢児の剖検	出産率, 妊娠期間 児の一般状態, 生死, 産児数, 生存児出産率, 性比, 生存率, 体重, 体 重増加, 剖検所見, 哺育 率
	離乳	生後21日 F1親動物の選抜(各腹各性1匹または2匹を選抜) 選抜しなかった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(卵胞数を含む)
F1	育成(10)	(兄妹交配は避けた)  (F0親動物及びF1児動物に準ずる)	性成熟   (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			

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。

体重: 雄は投与開始時とそれ以降毎週, 雌は投与開始時とそれ以降交配前期間中毎週及び妊娠0日, 7日, 14日, 20日と出産後1日, 4日, 7日, 14日, 21日に測定した。

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

摂餌量；雌雄とも交配前期間中毎週，さらに雌は妊娠後 0～7 日，7～14 日，14～20 日及び出産後 1～4 日，4～7 日，7～14 日について測定した。

検体摂取量；雌雄とも交配前期間中，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 1kg 当りの検体摂取量 (mg/kg/日) を算出した。

交配及び妊娠の確認；交配は雌雄 1 対 1 で同居させ，翌日膣垢中の精子により交尾を確認し，妊娠 0 日とした。妊娠は出産及び剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べて確認した。兄妹交配を避けた。

繁殖性に関する指標；育成，交配，妊娠及び哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

性成熟；雄の包皮分離と雌の膣開口の日齢 (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，雌の膣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

(精巢の精子細胞数及び精巢上体尾部の精子頭部数) (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) から出産完了日までの日数

着床数；子宮内の着床痕の数

着床後胚損失率 (%) = [(着床数 - 産児数) / 着床数] × 100

類別卵胞数；対照群と高用量群の全 F1 雌親動物ならびに妊娠しなかった 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，Plow-chalk らによる定義に従って，原始卵胞，発育卵胞，原始卵胞と発育卵胞の合計及びグラフ卵胞を計数した。

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。

#### 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），精嚢（凝固腺と分泌物を含む）及び前立腺の重量を測定した。臓器重量は，絶対重量と相対重量（最終体重に対する比，%）で表わした。

病理組織学的検査；対照群と高用量群の全 F0 及び F1 親動物ならびに低用量群と中間用量群において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，陰または左精巣，左精巣上体，精嚢，凝固腺，前立腺），下垂体及び副腎，全群の全 F0 及び F1 親動物の肝臓，対照群と高用量群の全 F0 及び F1 親動物の腎臓，全群の全 F0 雄親動物及び対照群と高用量群の全 F1 親動物の脾臓，さらにすべての肉眼的異常部位について，それぞれ病理組織学的に検査した。

#### 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。

産児数；出生日（生後 0 日）における生存児と死亡児の合計

$$\text{平均産児数} = \text{総産児数} / \text{生存児を出産した母動物数}$$

$$\text{生存児出産率}(\%) = (\text{出産時生存児数} / \text{産児数}) \times 100$$

性比；生後 0 日と 21 日における生存児（雄＋雌）に対する雄または雌の割合（%）

$$\text{生存率}(\%) = (\text{調整前生後 4 日の生存児数} / \text{出生日の生存児数}) \times 100$$

$$\text{哺育率}(\%) = (\text{生後 21 日の生存児数} / \text{調整後生後 4 日の生存児数}) \times 100$$

体重；生後 1 日，4 日（調整前），7 日，14 日及び 21 日に個体別に測定し，各腹の雌雄別平均体重を基にして，各群の雌雄別平均体重を求めた。

体重増加；生後 1-4 日，4-7 日，7-14 日，14-21 日及び 4-21 日について，各腹の雌雄別平均体重増加を基にして，各群の雌雄別平均体重増加を求めた。

剖検所見；計画殺した全ての F1 児（生後 4 日の調整時の屠殺児，次世代として選抜しなかった児）及び F2 児動物の外表及び内臓の肉眼的検査を行った。異常所見のある児動物については，Dawson 法に従って詳細に検査した。

死産児及び離乳までの死亡児も外表及び内臓の肉眼的検査を行った。

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

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、対体重比を算出した。

結果：概要をに示す。

世 代		親：F0 児：F1				親：F1 児：F2				
投与量 (ppm)		0	100	1000	10000	0	100	1000	10000	
動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25	
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25	
親動物	一般状態		検体投与に起因する異常は認められなかった							
	死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0
		雌	0	0	0	0	0	0	0	0
	体重 <sup>a</sup>	雄：生育時								91↓
		雌：生育時								
		妊娠時								
		哺育時								
	体重増加 <sup>a</sup>	雄：生育時								91↓
		雌：生育時								
		妊娠時				89↓				
		哺育時			154↑	162↑			187↑	204↑
	摂餌量 <sup>a</sup>	雄：生育時								
雌：生育時										
妊娠時										
哺育時										
検体摂取量	雄：生育時 <sup>b</sup>	0	10.1	101.2	1034.5	0	12.3	123.9	1295.4	
	雌：生育時 <sup>b</sup>	0	10.7	106.8	1062.0	0	12.5	124.7	1299.6	
	妊娠時	0	8.7	88.7	907.4	0	9.2	94.2	952.9	
	哺育時	0	14.8	149.4	1456.7	0	14.8	155.2	1456.1	

<sup>a</sup>：表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値である。統計学的に有意な場合のみ示した。

<sup>b</sup>：交配前第0-10週の平均mg/kg/日

Dunnett検定：体重、体重増加、摂餌量

↑↓：P≤0.05, ↑↓：P≤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	100	1000	10000	0	100	1000	10000		
親 動 物	臓 器 重 量 <sup>b</sup>	肝 臓	雄 A (g)	16.638	16.237	16.586	17.127	17.768	18.338	17.732	18.093
			R (%)	3.613	3.495	3.657	3.756	3.526	3.787	3.683	↑3.97
			雌 A (g)	9.857	9.748	10.082	↑11.459	10.405	10.48	10.514	↑12.61
			R (%)	3.602	3.649	3.787	↑4.354	3.682	3.773	3.827	↑4.47
		脾 臓	雄 A (g)	0.872	0.856	↓0.774	↓0.714	0.901	0.866	↓0.757	↓0.708
			R (%)	0.19	0.185	↓0.172	↓0.157	0.18	0.179	↓0.158	↓0.155
			雌 A (g)	0.608	0.585	0.563	0.546	0.633	0.61	↓0.578	↓0.57
			R (%)	0.222	0.219	0.212	0.209	0.224	0.22	0.211	↓0.202
		腎 臓	雄 A (g)	2.988	2.942	2.847	2.868	3.056	3.005	2.958	↓2.738
			R (%)	0.651	0.637	0.632	0.632	0.61	0.624	0.613	0.602
			雌 A (g)	2.08	↓1.978	2.01	↓1.927	1.993	1.926	1.942	↓1.855
			R (%)	0.762	0.742	0.755	0.732	0.705	0.693	0.707	↓0.657
	卵 巢	雌 A (mg)	141.6	134.52	142.4	143.24	151.24	↓135.12	140.64	137.76	
		R (%)	0.052	0.05	0.054	0.055	0.053	↓0.049	0.051	0.049	
	脳	雄 A (g)	2.095	2.087	2.072	2.073	2.123	2.131	2.114	↓2.063	
		R (%)	0.459	0.453	0.46	0.459	0.428	0.443	0.442	0.455	
		雌 A (g)	1.932	1.936	1.974	1.9	1.948	1.934	↑2.006	1.963	
		R (%)	0.709	0.728	0.743	0.724	0.691	0.697	↑0.733	0.698	
	原始卵胞 <sup>c</sup>		—	—	—	—	100	—	—	118	
	発育卵胞 <sup>c</sup>		—	—	—	—	49	—	—	48	
	原始卵胞 + 発育卵胞 <sup>c</sup>		—	—	—	—	149	—	—	166	
	グラフ卵胞 <sup>c</sup>		—	—	—	—	6.8	—	—	7.4	
	剖検所見		検体投与に起因する異常は認められなかった								
	病理組織学的所見										
肝細胞肥大(小葉中心性)											
	雄	0/25	0/25	↑9/25	↑25/25	1/25	0/25	↑10/25	↑25/25		
	雌	0/25	0/25	↑6/25	↑25/25	0/25	0/25	↑8/25	↑25/25		
肝細胞脂肪変性(小葉中心性)											
	雄	0/25	1/25	0/25	3/25	0/25	0/25	0/25	↑8/25		
	雌	0/25	0/25	0/25	1/25	0/25	0/25	0/25	0/25		

b: A 平均絶対重量, R 平均相対重量(体重比), c: 平均数

Kruskal-Wallis H 検定及び Wilcoxon 検定: 臓器重量

Wilcoxon 検定: 卵胞数, 剖検所見

Fisher の直接確率計算法: 病理組織学的所見

↑↓: P ≤ 0.05, ↑↓: P ≤ 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	100	1000	10000	0	100	1000	10000	
親 動物	繁殖能力									
	雄	交尾率	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	23/25
		授精率	25/25	25/25	22/25	25/25	25/25	25/25	23/25	22/25
		精子数 ( $\times 10^6$ ) <sup>a, b</sup>	100 671	— —	— —	98 662	87 705	— —	— —	85 679
		運動精子率 (%) <sup>a</sup>	89	86	83	89	89	88	87	↓ 83
		正常形態 精子 (%) <sup>a</sup>	95.6	—	—	96.0	97.3	95.7	95.8	94.7
	異常形態 精子 (%) <sup>a</sup>	4.4	—	—	4.0	2.7	4.3	4.2	5.3	
	雌	性周期 <sup>a</sup> (発情日数)	5.2	5.2	5.2	5.3	5.6	5.2	5.4	5.5
		交尾成立 までの日数 <sup>a</sup>	2.8	2.2	2.4	2.5	2.3	2.1	2.7	2.9
		交尾率	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	23/25
		妊娠率	25/25	25/25	22/25	25/25	25/25	25/25	23/25	22/23
		出産率	24/25	25/25	22/22	24/25	25/25	25/25	23/23	22/22
		妊娠期間 (日) <sup>a</sup>	21.8	21.8	21.9	21.8	22.0	22.0	↓ 21.7	21.8
		着床数 <sup>a</sup>	17.4	↓ 15.6	16.3	↓ 15.2	15.4	15.1	17.1	15.2
着床後胚 損失率 (%) <sup>a</sup>	12.8	14.7	13.7	18.6	7.0	10.8	9.1	↑ 15.4		

a: 平均, b: 上段は精巢 1 g 当りの総精子細胞数, 下段は精巢上体尾部 1 g 当りの総精子数

Dunnett 検定: 性周期, 交尾成立までの日数, 妊娠期間, 着床数, 着床後胚損失率

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, 正常形態精子, 異常形態精子

Wilcoxon 検定 (Bonferroni-Holm の補正付): 運動精子率

↑ ↓:  $P \leq 0.05$ , ↑ ↓:  $P \leq 0.01$  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	100	1000	10000	0	100	1000	10000
一般状態		検体投与に起因する異常は認められなかった							
出産児数 <sup>a</sup>		15.8	↓13.2	14.2	↓13.0	14.2	13.4	15.5	13.0
生存児出産率(%)		96	99	96	99	97	99	97	97
性比%(雄/雄+雌)									
哺育0日		48.9	51.1	50.2	47.2	47.7	53.3	50.9	47.5
哺育21日		49.5	51.8	50.0	47.2	49.2	53.0	48.9	50.6
生存率(%)		95	93	92	94	93	91	97	↓86
哺育率(%)		99	100	99	99	100	100	100	99
包皮分離(日齢)		44.5	44.1	44.0	44.5	—	—	—	—
腔開口(日齢)		30.6	31.0	30.7	31.6	—	—	—	—
体 重(g) <sup>a</sup>									
雄	生後1日	6.2	6.4	6.3	6.4	6.5	6.4	6.2	6.3
	生後4日 <sup>b</sup>	8.7	9.0	8.8	8.8	9.5	9.3	↓8.6	9.1
	生後7日	14.2	14.7	14.5	13.7	15.4	14.7	↓13.9	↓13.9
	生後14日	30.5	30.8	31.0	29.0	32.7	31.6	30.9	↓29.1
	生後21日	50.3	50.6	51.8	↓46.7	54.6	52.4	↓50.8	↓47.0
雌	生後1日	5.9	6.0	6.0	6.1	6.2	6.2	5.9	6.0
	生後4日 <sup>b</sup>	8.3	8.5	8.7	8.6	9.0	9.0	8.3	8.7
	生後7日	13.7	13.9	14.1	13.4	14.7	14.7	13.6	13.5
	生後14日	30.0	29.7	30.5	28.4	31.5	31.1	30.4	↓28.4
	生後21日	48.7	48.0	49.3	↓45.2	51.6	50.8	49.3	↓45.5
体重増加(g) <sup>a</sup>									
雄	生後1-4日	2.5	2.6	2.5	2.3	2.9	2.9	2.4	2.7
	生後4-7日	5.4	5.5	5.5	4.9	5.9	5.4	↓5.2	↓4.8
	生後7-14日	16.4	16.1	16.5	↓15.4	17.3	16.8	17.0	↓15.2
	生後14-21日	19.8	19.8	20.8	17.6	21.9	20.9	↓19.8	↓17.9
	生後4-21日	41.7	41.6	43.0	↓37.9	45.2	43.1	↓42.2	↓37.9
雌	生後1-4日	2.3	2.5	2.6	2.5	2.9	2.8	2.4	2.7
	生後4-7日	5.3	5.2	5.3	↓4.8	5.6	5.5	5.1	↓4.7
	生後7-14日	16.3	15.8	16.2	↓15.1	16.9	16.4	16.8	↓14.9
	生後14-21日	18.7	18.3	18.7	↓16.7	20.0	19.7	19.0	↓17.1
	生後4-21日	40.4	39.4	40.5	↓36.6	42.5	41.6	41.0	↓36.8
臓器重量	雄 A(g)	1.459	1.464	1.461	1.430	1.489	1.461	1.469	1.462
	R(%)	2.899	2.888	2.784	↑3.048	2.710	2.837	↑2.970	↑3.123
	雌 A(g)	1.409	1.423	1.433	1.410	1.435	1.426	1.430	1.413
	R(%)	2.848	2.924	2.956	↑3.095	2.838	2.772	2.942	↑3.107
	雄 A(g)	0.175	0.175	0.179	0.164	0.200	↓0.166	↓0.176	↓0.162
	R(%)	0.343	0.342	0.343	0.348	0.363	↓0.316	0.353	0.345
	雌 A(g)	0.180	0.174	0.193	↓0.162	0.193	0.181	0.195	0.175
	R(%)	0.362	0.353	0.394	0.355	0.382	↓0.349	0.398	0.380
雄 A(g)	0.222	0.213	0.222	0.201	0.260	0.242	↓0.215	↓0.189	
R(%)	0.431	0.409	0.424	0.423	0.467	0.459	0.429	↓0.397	
雌 A(g)	0.232	0.211	0.220	0.199	0.238	0.237	0.218	↓0.196	
R(%)	0.461	0.426	0.448	0.436	0.468	0.456	0.443	0.422	
剖検所見		検体投与に起因する異常は認められなかった							

a: 平均, b: 児数調整前, c: A 平均絶対重量, R 平均相対重量(体重比) - : 検査せず

Dunnett 検定: 産児数, 体重, 体重増加, 包皮分離, 腔開口

Fisher の直接確率計算法: 生存児出産率, 性比, 生存率, 哺育率

Kruskal-Wallis 検定及び Wilcoxon 検定: 臓器重量 Wilcoxon 検定: 剖検所見

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



## 親動物

10000ppm群で、F0雌の体重増加は一過性の低値が散見され、生育6~7週と妊娠期間中に有意に減少したが、哺育期間中に体重が増加し、対照群と同等になった。F1雌で体重増加に対照群との差はほとんどなかったが、哺育期間中に増加が認められた。雄ではF1のみ体重の有意な減少が認められた。

摂餌量に有意な差は認められなかった。

肝臓重量(F0及びF1雌、雄はF1の相対重量のみ)が有意に増加し、これに関連して、小葉中心性肝細胞肥大が全例に、さらに小葉中心性肝細胞脂肪変性も雄で増加傾向(F0)あるいは増加(F1)が認められた。これら体重及び肝臓の変化は検体の投与に起因する変化と考えられる。一方、脾臓、腎臓及び脳の絶対あるいは相対重量に有意な低値がみられたが、いずれも病理組織学的に異常が認められなかったことから、検体投与との関連はないと考えられる。

1000ppm群では、F0及びF1雌雄とも体重及び体重増加に一過性の低値または高値が散見され、哺育期間中に体重の増加がみられた。

摂餌量は対照とほぼ同じであった。

脾臓及び脳の絶対あるいは相対重量の増加あるいは減少がみられたが、いずれも病理組織学的に異常が認められない、または高用量では変化がみられていないことから、検体投与とは関連のない偶発的なものと考えられる。一方、肝臓重量の変化はみられなかったが、小葉中心性肝細胞肥大がF0及びF1の多数例で認められた。

100ppm群では、体重増加または摂餌量に有意な一過性の低値または高値が散見されたが、検体投与とは関連のない偶発的なものと考えられる。また、F0雌の腎臓の絶対重量及びF1雌の卵巣重量に有意な低値がみられたが、病理組織学的に異常が認められない、または高用量では変化がみられていないことから、検体投与との関連はないと考えられる。

繁殖能力については、F0及びF1とも検査したいずれの指標にも検体投与に関連すると思われる影響は何ら認められなかった。100ppm群と10000ppm群でF0雌の着床数(対照の17.4に対してそれぞれ15.6と15.2)、1000ppm群でF1雌の妊娠期間(対照の22.0に対し21.7)にそれぞれ統計学的に有意な低値がみられたが、いずれも背景対照データの範囲内(着床数：11.1~16.4、妊娠期間：21.1~22.5)にあることから、検体投与に関連のない偶発的なものと考えられる。また、10000ppm群のF1雌で着床後胚損失率(15.4%)が有意に高かったが、産児数は背景データの範囲内にあることから偶発的な変動と考えられる。

また、10000ppm群でF1雄の運動精子率の有意な低下がみられた。異常精子率および正常精子率に有意な差はみられなかった。次表に示すように、これらのいずれも背景データの範囲内にあることから検体投与に関連のない偶発的なものと考えられる。

### 背景データとの比較

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)		0	100	1000	10000	0	100	1000	10000
運動精子率	本試験	89	86	83	89	89	88	87	183
	背景データ, 平均(範囲)	90 (65~99)							
正常形態精子	本試験	95.6	—	—	96.0	97.3	95.7	95.8	94.7
	背景データ, 平均(範囲)	97.3 (81.5~100.0)							
異常形態精子	本試験	4.4	—	—	4.0	2.7	4.3	4.2	5.3
	背景データ, 平均(範囲)	2.7 (0.0~18.5)							

### 児動物

10000ppm群において、F0産児数に有意な低値(対照の15.8に対して13.0)がみられたが、背景データの範囲内(11.1~16.4)にあることから、検体投与との関連は考えられなかった。F1及びF2児の雌雄とも体重及び体重増加が統計学的に有意に減少した。F2児では生後0~4日の生存率が有意に減少したが、背景データの範囲(83~99%)内にあるものの、F1親への影響があることから投与に関連がある可能性がある。

臓器重量において、絶対あるいは相対重量の両方に同じ影響があり、また用量反応関係がある場合に投与の関連が考えられることから、F1及びF2児動物でみられた臓器重量の変化のうち、F2児雄の脾臓重量の有意な減少のみに投与の影響が考えられた。これは体重の減少の直接的影響と考えられ、その他の変動は他の投与群を含め偶発的で毒性学的に関連がないものと考えられた。

1000ppm群では、F1児に検体投与の影響はみられなかったが、F2雄児の体重が有意に減少した。

100ppm群では、F1及びF2児とも検体投与に関連のある影響は何ら認められなかった。F0産児数の有意な低値は、上記のように背景データの範囲内にあることから、検体投与との関連は考えられなかった。

以上の結果から、2世代にわたって本剤を飼料に混入して投与した場合、10000ppm群では親動物に体重の変動、小葉中心性肝細胞肥大及び肝細胞脂肪変性を伴う肝臓重量の増加が、児動物において体重の減少が認められた。

1000ppm群において、親動物で小葉中心性肝細胞肥大が、児動物でF2児に体重の減少が認められた。

100ppm群では親及び児動物とも本剤の投与の影響は認められなかった。

従って、無毒性量は親及び児動物とも100ppm(F0:雄10.1mg/kg/日,雌10.7mg/kg/日, F1:雄12.3mg/kg/日,雌12.5mg/kg/日)と判断される。繁殖については10000ppmでも影響は認められなかった。

8-2) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 18)

試験機関：BASF毒性研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体純度：

供試動物：Wistarラット [Chbb:THOM(SPF)], 1群当り交尾確認雌25匹、

妊娠0日：10~11週齢, 平均体重 215g

なお, 100及び1000mg/kg群は誤投与により, 妊娠7~9日にそれぞれ3匹死亡した  
ので, 妊娠動物を20匹以上得るために, 3匹ずつ追加した。

試験期間：30日間(1998年10月27日~1998年11月25日)

投与方法：検体を賦形剤(再蒸留水中の0.5% Tylose CB 30.000)に懸濁し, 0, 100, 300  
及び1000 mg/kg/日の投与用量で, 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(午前中)に, 10mL/kg体重の容量で強制経口投与し  
た(腔垢中に精子を確認した日を妊娠0日とした)。なお, 対照群の動物には賦形剤の  
み同様に投与した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察した。体重は妊娠0, 1, 3, 6, 8, 10, 13, 15,  
17, 19及び20日, 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, 肉眼的病理検査を行い, ついで黄体数, 妊娠子宮重量, 着床数, 死亡胚(早  
期吸収胚, 後期吸収胚, 死亡胎児)数, 生存胎児数及び胎盤重量を検査した。

胎児：性別, 体重及び外表の観察を行った。各同腹児群の1/2の胎児については骨格  
標本を作製し, 骨格異常の有無を検査し, 残りの胎児については内臓異常の有無を検  
査した。

試験結果：結果の概要を以下の表に示す。

母動物：

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	100	300	1000	
1群当り雌動物数	25	28 <sup>c</sup>	25	28 <sup>c</sup>	
死亡動物数 (誤投与)	0	3	0	3	
不妊動物数	3	5	3	4	
妊娠雌動物数 (%)	22/25 (88)	23/28 (82)	22/25 (88)	24/28 (86)	
妊娠雌動物数	22	20	22	21	
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	—	影響なし	影響なし	影響なし	
体重増加	—	影響なし	影響なし	影響なし	
摂餌量	—	影響なし	影響なし	影響なし	
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 <sup>a</sup> (g)	83.8 ± 14.24	70.1 ± 26.75	84.8 ± 16.74	78.8 ± 17.39	
補正体重増加 <sup>a, d</sup>	38.1 ± 9.67	36.2 ± 10.83	39.5 ± 8.30	39.6 ± 7.83	
カーカス重量 <sup>a, e</sup>	282.1 ± 17.74	279.9 ± 11.48	287.0 ± 16.93	284.4 ± 12.97	
着床所見	黄体数 <sup>a</sup>	16.8 ± 1.77	15.4 ± 2.39	17.0 ± 1.65	15.9 ± 2.10
	着床数 <sup>a</sup>	16.1 ± 2.52	13.9 ± 4.15	16.0 ± 3.19	14.6 ± 3.53
	着床前胚死亡率 (%) <sup>b</sup>	4.1	9.6	6.5	8.6
	着床後胚損失率 (%) <sup>b</sup>	9.7	17.8	5.3	6.2
	総胚吸収数 (%) <sup>b</sup>	1.6 (9.7)	1.6 (17.8)	0.9 (5.3)	0.9 (6.2)
	早期胚吸収数 (%) <sup>b</sup>	1.5 (9.4)	1.4 (16.4)	0.9 (5.3)	0.8 (5.6)
	後期胚吸収数 (%) <sup>b</sup>	0.0 (0.3)	0.3 (1.4)	0.0 (0.0)	0.1 (0.6)
	死亡胎児数	0	0	0	0
	全胚吸収の腹数	0	2	0	0
生存胎児を有する腹数	22	18	22	21	

a : 平均 ± 標準偏差

b : 平均

c : 誤投与により各3匹が100mg/kg群では妊娠7および8日, 1000mg/kg群では妊娠8, 9日に死亡したため, さらに交尾確認雌各3匹を追加

d : 補正体重増加 = 最終体重 - (妊娠子宮重量 + 妊娠6日の体重)

e : カーカス重量 = 最終体重 - 妊娠子宮重量

Dunnett検定 : 体重, 体重増加, 摂餌量, 妊娠子宮重量, 補正体重増加, カーカス重量, 黄体数, 着床数, 着床前(後)胚死亡率, 胚吸収数(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。

胎 児；

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	100	300	1000
生存胎児のある腹数	22	18	22	21
生存胎児数 <sup>a</sup> 雄雌合計	14.5±2.61	13.7±2.22	15.1±3.18	13.7±3.45
雄	8.0±2.50	7.1±2.45	7.6±2.75	6.8±2.02
雌	6.5±2.46	6.6±2.15	7.5±2.20	6.9±2.99
性 比(%) 雄	55.5	52.0	50.5	49.8
雌	44.5	48.0	49.5	50.2
体 重 <sup>a</sup> (g) 雄	4.0±0.20	3.9±0.39	3.8±0.20	4.0±0.26
雌	3.8±0.26	3.7±0.30	3.6±0.22	3.8±0.26
胎盤重量 <sup>a</sup> (g)	0.45±0.06 2	0.45±0.077	0.44±0.049	0.44±0.03 6
検査胎児(腹)数	319(22)	246(18)	333(22)	287(21)
全 奇 形				
胎 児 数(腹数)	4(4)	4(1)	1(1)	0(0)
腹当り平均発生率(%)	1.6	1.7	0.3	0.0
全 変 異				
胎 児 数(腹数)	163(22)	132(18)	182(22)	160(21)
腹当り平均発生率(%)	51.2	53.7	54.9↑	56.2↑
外表異常				
検査胎児(腹)数	319(22)	246(18)	333(22)	287(21)
奇形:無眼球症		2(1)		
未分類異常:胎盤癒合	2(2)	2(1)		
内臓異常				
検査胎児(腹)数	155(22)	118(18)	159(22)	139(21)
奇形:食道背側大動脈弓	1(1)	1(1)		
心室肥大	1(1)			
変異:腎盂拡張	18(12)	20(10)	22(12)	27(15)
脳室拡張		1(1)		1(1)
尿管拡張	2(2)	1(1)	6(5)	3(3)
骨格異常				
検査胎児(腹)数	164(22)	128(18)	174(22)	148(21)
奇形:胸骨分節位置異常/二分	2(2)			
変異:上後頭骨有窓	85(21)	60(18)	93(21)	75(20)
胸椎体不完全骨化 (軟骨異常なし)	5(3)	4(3)	3(2)	14(10)↑
発生率%(腹あたり)	3	3.4	1.6	9.2↑
仙骨弓不完全骨化 (軟骨異常なし)	16(9)	10(5)	15(8)	21(10)
胸骨未骨化(軟骨異常なし)	14(10)	14(8)	21(10)	8(4)
胸骨不完全骨化 (軟骨異常なし)	52(17)	38(16)	50(17)	39(15)
胸骨変形(軟骨異常なし)	94(22)	63(18)	86(20)	62(18)
13肋骨短小(軟骨なし)	23(10)	23(10)	23(12)	25(12)
変異合計	145(22)	111(18)	160(22)	132(21)
その他軟骨の未分類異常				
肋軟骨分岐	2(1)	3(3)	8(5)	3(3)
発生率%(腹あたり)	1.1	2.3	4.6↑	2.2
未分類異常合計	57(19)	54(17)	61(18)	56(17)

↑: p ≤ 0.05で対照群と比較して統計学的に有意差あり

空欄は0(0)である

Dunnett検定: 生存胎児数, 胎児体重, 胎盤重量

Fisherの直接確立検定: 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

#### 母動物

検体投与の影響は1000mg/kgの用量まで着床所見を含めいずれの指標についてもみられなかった(統計学的有意差は、低用量群における妊娠15~17日にみられた摂餌量の低値のみであった)。

#### 胎児動物

外表異常及び内臓異常に検体投与の影響は認められなかった。

骨格異状において、検体投与による奇形は認められなかった。

変異において、胸椎体不完全骨化が1000mg/kg群で、また全ての変異を有する胎児の腹あたり発生率が300(発生率54.9%)及び1000mg/kg(発生率56.2%)で有意に増加したが、下表に示すようにいずれも背景データの範囲内にあった。この胸椎体不完全骨化の軟骨部分には変化が認められず、また他の脊柱の部分にも骨化障害を示す所見は認められず、全ての骨化変異を有する胎児の発生率にも対照群との差がなかった。従って、これらの変異の統計学的有意差は検体投与に関連のない偶発的なものと判断される。

胸椎体不完全骨化及び全ての変異を有する胎児の発生率(%)の背景データとの比較

骨格変異/全変異所見	本試験		背景データ <sup>a</sup>	
	対照(0)	1000 mg/kg	平均	範囲
胸椎体不完全骨化(軟骨異常なし)				
胎児あたり発生率	5/164(3.0)	14/148(9.5)	35/876(4.0)	1.3~9.8
腹あたり発生率	3/22(14)	10/21(48) ↑	26/122(21.3)	9.5~40.0
腹あたり異常を有する胎児の発生率	3.0	9.2 ↑	4.1	1.4~9.7
全ての変異を有する胎児の発生率				
胎児あたり発生率	163/319(51)	160/287(56)	860/1693(50.8)	44.7~58.0
腹あたり発生率	22/22(100)	21/21(100)	122/122(100)	100
腹あたり異常を有する胎児の発生率	51.2	56.2 ↑	50.9	44.9~57.4

<sup>a</sup>: 6試験, 腹数122, 検査胎児数1693のデータ

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児に対する無毒性量は1000mg/kg/日であった。また、最高用量の1000mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

8-3) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 19)

試験機関：BASF毒性研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体純度：

供試動物：Himalayanウサギ[Chbb:HM(アウトブレッド)], 1群当り人工授精雌25匹  
授精後0日：34~36週齢, 平均体重 2713g

試験期間：39日間(1998年9月14日~1998年10月22日)

投与方法：検体を賦形剤(再蒸留水中の0.5% Tylose GB 30.000)に懸濁し, 0, 100, 300及び1000mg/kg/日の投与用量で, 妊娠7~28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, 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, 対照群の動物には賦形剤のみ同様に投与した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察した。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, 肉眼的病理検査を行い, ついで黄体数, 妊娠子宮重量, 着床数, 死亡胚(早期吸収胚, 後期吸収胚, 死亡胎児)数, 生存胎児数及び胎盤重量を検査した。

胎児：性別, 体重及び外表の観察を行った。全胎児の胸腔及び腹腔内臓器の異常(各腹約半数の胎児の頭部をWilson法に従って頭部断面を検査した)の有無を検査した。さらに, 残りの胎児の頭部を含む全胎児の骨格異常の有無を検査した。

試験結果：結果の概要を次頁の表に示す。

母動物：

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	100	300	1000	
1群当り雌動物数	25	25	25	25	
妊娠雌動物数(%)	25/25(100)	24/25(96)	25/25(100)	25/25(100)	
死亡動物数(誤投与)	1(妊娠22日)	0	1(妊娠19日)	0	
流産	0	0	1(妊娠26日)	3(妊娠27, 29日)	
早産	0	0	0	1(妊娠29日)	
終了時妊娠雌動物数	24	24	23	21	
一般状態					
変色便	0	0	0	1	
排便の減少	0	0	1	1	
体重 <sup>a</sup> (g)					
妊娠28日	2873±206.4	2878±173.7	2880±216.5	2734±146.1↓	
妊娠29日	2889±203.8	2891±170.0	2895±219.2	2752±141.7↓	
体重増加 <sup>a</sup> (g)					
妊娠0~7日	11.0±60.18	53.9±58.94↑	31.6±57.74	41.5±49.42	
妊娠7~28日	146.8±120.93	125.5±96.34	115.0±114.67	27.8±182.27↓	
妊娠0~29日	174.7±139.83	193.0±129.00	170.4±131.45	96.1±147.99	
摂餌量 <sup>a</sup> (g)					
妊娠7~8日	85.1±19.37	89.5±24.21	76.1±25.60	50.6±20.68↓	
妊娠8~9日	86.0±21.35	88.0±19.78	81.7±21.43	66.8±20.67↓	
妊娠11~12日	86.2±11.99	86.1±19.12	77.5±28.80	70.3±17.42↓	
妊娠12~13日	83.1±14.42	81.6±19.40	76.4±31.58	68.2±16.25↓	
妊娠14~15日	67.9±24.47	58.3±29.35	62.7±38.03	43.9±30.01↓	
妊娠15~16日	67.1±23.61	52.3±28.32	59.4±38.89	35.0±30.88↓	
妊娠16~17日	73.6±21.76	55.8±30.68	60.1±36.02	40.7±29.78↓	
妊娠17~18日	78.6±16.86	61.0±29.09	59.1±31.56↓	50.5±32.03↓	
妊娠18~19日	76.3±22.72	60.8±28.78	63.7±37.58	54.9±27.46↓	
妊娠21~22日	72.3±17.78	54.3±21.43↓	60.0±23.09	46.9±25.49↓	
妊娠22~23日	69.8±14.40	56.8±18.62	55.1±21.96	49.7±27.19↓	
妊娠23~24日	68.2±17.58	59.4±17.45	53.0±25.25	50.6±28.04↓	
妊娠27~28日	75.5±21.04	72.3±16.83	77.2±19.50	59.9±25.19↓	
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 <sup>a</sup> (g)	288.1±117.90	359.7±63.88↑	320.5±110.21	298.4±87.87	
補正体重増加 <sup>a, c</sup>	-125.3±91.57	-220.6±88.89↓	-190.3±100.93	-233.3±141.90↓	
カーカス重量 <sup>a, d</sup>	2601.1±194.63	2531.6±153.30	2574.4±232.93	2453.8±138.15↓	
着床所見	黄体数 <sup>a</sup>	8.7±1.68	9.2±1.58	8.6±2.00	9.1±1.49
	着床数 <sup>a</sup>	6.8±2.28	8.3±1.65↑	7.7±2.22	7.3±2.10
	着床前胚死亡率(%) <sup>b</sup>	22.5	9.5↓	9.9↓	20.2
	着床後胚損失率(%) <sup>b</sup>	19.9	7.7	16.8	14.2
	総胚吸収数(%) <sup>b</sup>	1.2(19.9)	0.7(7.7)	1.4(16.8)	0.8(14.2)
	早期胚吸収数(%) <sup>b</sup>	0.9(16.7)	0.6(6.8)	1.1(13.5)	0.5(9.6)
	後期胚吸収数(%) <sup>b</sup>	0.3(3.3)	0.1(0.9)	0.3(3.4)	0.3(4.6)
	死亡胎児数	0	0	0	0
	全胚吸収の腹数	1	0	1	0
生存胎児を有する腹数	23	24	22	21	

a 平均±標準偏差

b 平均

c: 補正体重増加=最終体重-(妊娠子宮重量+妊娠6日の体重)

d: カーカス重量=最終体重-妊娠子宮重量

↑↓: p≤0.05, ↓: p≤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, 妊娠子宮重量, 補正体重増加, カーカス重量

Fisherの直接確立検定: 妊娠率



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。

胎 児 :

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	100	300	1000
生存胎児を有する腹数	23	24	22	21
生存胎児数 <sup>a</sup>				
雄雌合計	5.9±2.26	7.6±1.56 <sup>↑</sup>	6.6±2.13	6.5±2.46
雄	2.7±1.76	4.0±1.10 <sup>↑</sup>	3.0±1.45	2.8±1.25
雌	3.1±1.63	3.6±1.61	3.6±1.92	3.7±1.98
性 比 (%)				
雄	46.7	52.5	45.5	43.4
雌	53.3	47.5	54.5	56.6
体 重 <sup>a</sup> (g)				
雄	36.2±3.94	34.8±3.72	37.2±3.93	34.9±6.54
雌	36.4±3.88	35.0±4.73	36.6±3.98	34.4±6.19
胎盤重量 <sup>a</sup> (g)	4.2±0.92	4.1±0.52	4.3±0.70	4.0±0.99
検査胎児(腹)数	135(23)	183(24)	145(22)	136(21)
全 奇 形				
胎 児 数(腹数)	7(6)	11(7)	7(5)	2(2)
腹当り平均発生率 (%)	4.5	6.5	3.8	1.9
全 変 異				
胎 児 数(腹数)	86(21)	134(24)	92(22)	89(19)
腹当り平均発生率 (%)	62.2	71.6	63.9	59.6

<sup>a</sup> 平均±標準偏差

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

Dunnett検定 : 生存胎児数, 胎児体重, 胎盤重量

Fisherの直接確立検定 : 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。

胎児（数値は、括弧外は検査/異常発生胎児数、括弧内は検査/異常胎児を有する腹数、空欄は発生なし）

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	100	300	1000
検査胎児 (腹) 数	135 (23)	183 (24)	145 (22)	136 (21)
外表異常				
奇形：胎児数 (腹数)		1 (1)	2 (2)	
腹当り平均発生率 (%)		0.7	1.0	
髄膜脳瘤			1 (1)	
小頭症			1 (1)	
二分脊椎		1 (1)		
糸状尾			1 (1)	
変異：胎児数 (腹数)	5 (4)	4 (3)	4 (4)	2 (2)
腹当り平均発生率 (%)	3.2	2.2	2.5	1.0
内臓異常				
奇形：胎児数 (腹数)	5 (4)	5 (5)	3 (2)	
腹当り平均発生率 (%)	3.3	3.5	1.8	
動脈幹遺残	1 (1)			
肺動脈位置異常	1 (1)		1 (1)	
肺動脈幹狭小			1 (1)	
大動脈位置異常	1 (1)			
筋性心室中隔欠損	4 (3)	3 (3)	1 (1)	
膜性心室中隔欠損	1 (1)		1 (1)	
心臓：小型心室	1 (1)			
胆嚢欠損		1 (1)	1 (1)	
腎臓欠損		1 (1)		
尿管欠損		1 (1)		
卵巣欠損		1 (1)	1 (1)	
子宮角欠損		1 (1)		
変異：胎児数 (腹数)	7 (6)	15 (9)	9 (4)	12 (9)
腹当り平均発生率 (%)	5.3	7.3	6.1	7.5
骨格異常				
奇形：胎児数 (腹数)	2 (2)	5 (3)	5 (4)	2 (2)
腹当り平均発生率 (%)	1.2	2.3	2.6	1.9
重度奇形頭蓋			1 (1)	
胸椎体、椎弓と対応する肋骨の欠損	1 (1)			
重度奇形頸椎			1 (1)	
奇形頸椎		1 (1)		
奇形胸椎	1 (1)			
腰椎欠損		2 (2)		1 (1)
尾椎欠損			1 (1)	
奇形尾椎			1 (1)	
奇形肩甲骨		1 (1)	1 (1)	1 (1)
骨板 (胸骨分節重度癒合)	1 (1)		2 (2)	
胸骨分節配列不整		1 (1)		
肋骨癒合		1 (1)	1 (1)	
変異：胎児数 (腹数)	82 (21)	127 (24)	86 (21)	84 (19)
腹当り平均発生率 (%)	59.7	68.2	59.8	56.5
舌骨不完全骨化：胎児数 (腹数)	18 (13)	38 (20↑)	30 (12)	21 (12)
腹当り平均発生率 (%)	11.6	20.7	17.9	15.1
頭頂骨有窓：胎児数 (腹数)		2 (2)	4 (4↑)	1 (1)
腹当り平均発生率 (%)		1.1	2.5↑	0.6
胸椎椎体不完全骨化：胎児数 (腹数)	1 (1)	4 (4)	6 (3)	16 (7↑)
腹当り平均発生率 (%)	0.7	1.8	2.9	8.3↑

変異については、統計学的に有意差のみられたものだけを示した。

↑：p ≤ 0.05, ↑↑：p ≤ 0.01で対照群と比較して統計学的に有意差あり

Fisherの直接確立検定：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。

## 母動物

1000mg/kg群では4例が流産/早産し、その1例には流産前の数日間変色便及び脱糞の減少が観察された。投与期間の殆どの時期で有意な摂餌量の減少を伴い、体重及び体重増加の明らかな低下が認められた。着床所見に検体投与の影響は認められなかった。

300mg/kg群では流産1例と、この雌には流産前の数日間に脱糞の減少が認められた。

100mg/kg群では、検体投与の影響は何ら認められなかった。

## 胎児動物

外表異常及び内臓異常に検体投与の影響は認められなかった。

骨格異状において、検体投与による奇形は認められなかったが、変異を有する胎児の発生率に有意な増加がみられた。

変異である胸椎体不完全骨化の発生率が1000mg/kg群で有意に増加したが、脊柱の他の部分に関連の所見がみられないこと、また骨格変異胎児を有する腹の発生率(1000mg/kg群90%対対照群91%)及び腹当りの骨格変異胎児の平均発生率(1000mg/kg群56.5%対対照群59.7%)とも対照群より低かった。また、次表に示すように、胸椎体不完全骨化の腹あたり発生率及び腹あたり異常を有する胎児の発生率も背景データの範囲内にあるので、この所見は偶発的なものと判断される。

300mg/kg群で頭頂骨有窓及び100mg/kg群で舌骨不完全骨化が有意に増加していたが、いずれも高用量で認められず、用量関連性がないことから検体投与とは関連のない偶発的なものと判断される。

### 胸椎体不完全骨化の発生率(%)の背景データとの比較

骨格変異/全変異所見	本試験		背景データ <sup>a</sup>	
	対照(0)	1000 mg/kg	平均	範囲
胸椎体不完全骨化(軟骨異常なし)				
胎児あたり発生率	1/135(0.7)	16/136(12)	28/1353(2.1)	0.0~18.3
腹あたり発生率	1/23(4.3)	7/21(33)↑	19/204(9.3)	0.0~73.3
腹あたり異常を有する胎児の発生率	0.7	8.3↑	1.8	0.0~17.3

<sup>a</sup>: 骨化異常を奇形、変異、遅延に分類した13試験、腹数204、検査胎児数1353のデータである。本試験の胸椎体不完全骨化は旧用語の「胸椎体骨化遅延」に相当するので、これを引用した。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児に対する無毒性量はそれぞれ100及び1000mg/kg/日であった。また、最高用量の1000mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

9) 変異原性に関する試験

9-1) 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 20)

試験機関：BASF毒性研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度：

試験方法：ヒステジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株 (TA100, TA1535, TA98, TA1537) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*株を用い、代謝活性化系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法を用いてプレート法及びプレインキュベーション法で変異原性を検索した。

検体は水に不溶であったため、DMSOを溶媒として用いた。

1回目の実験はプレート法を用いて22, 110, 550, 2750及び5500  $\mu\text{g}$ /プレートの5用量、2回目の実験はプレインキュベーション法を用いて20, 100, 500, 2500及び5000  $\mu\text{g}$ /プレートの5用量で、各用量3枚のプレートを用いて、37°Cで48~72時間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。

陽性対照試験及び溶媒対照試験も同時に実施した。

結果：結果を次頁以降の表に示した。

検体の析出が、S9 Mixの有無に係らず500  $\mu\text{g}$ /プレート以上の用量で認められた。また、抗菌性は大腸菌を除き、プレート法では5000  $\mu\text{g}$ /プレートの用量で、プレインキュベーション法ではS-9 Mixの非存在下で2500  $\mu\text{g}$ /プレート以上、S-9 Mixの存在下で5000  $\mu\text{g}$ /プレートの用量で認められた。(申請者注：抗菌性について報告書に誤記があり、表に基づいて記載した。)

検体処理群において、S9 Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群として用いたMNNG (N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン)、ENNG (N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン)、NOPD (4-ニトロ-o-フェニレンジアミン)、AAG (9-アミノアクリジン) 及び2-AA (2-アミノアントラセン) ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

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

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. 復帰変異試験成績 (1回目の実験 ; プレート法)

薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	113	20	28	28	9
検 体	22	-	114	18	30	29	9
	110	-	118	17	29	25	8
	550	-	124 P	12 P	30 P	18 P	8 P
	2750	-	118 P	11 P	22 P	8 P	4 P
	5500	-	98 BP	6 BP	26 P	4 BP	5 BP
陽性対照	MNNG 5.0	-	1104	973	NT	NT	NT
	ENNG 10	-	NT	NT	900	NT	NT
	NOPD 10	-	NT	NT	NT	961	NT
	AAC 100	-	NT	NT	NT	NT	777
対照 (DMSO)		+	128	20	40	39	10
検 体	22	+	129	17	36	39	10
	110	+	125	17	32	35	8
	550	+	116 P	15 P	33 P	22 P	8 P
	2750	+	95 P	12 P	28 P	11 P	6 P
	5500	+	79 BP	10 BP	29 P	9 BP	4 BP
陽性対照	2-AA 2.5	+	1303	170	NT	955	142
	2-AA 60	+	NT	NT	195	NT	NT

数値は3枚のプレートの平均値

B : 菌株に対する生育阻害を認める.

P : 検体の析出を認める.

NT : 試験を行っていない.

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

NOPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

AAC : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

陽性対照物質は全てDMSOに溶解して使用.

表2. 復帰変異試験成績 (2回目の実験; プレインキューベーション法)

薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		—	106	19	23	25	9
検 体	20	—	100	18	24	21	8
	100	—	102	18	23	21	8
	500	—	101 P	10 P	27 P	18 P	6 P
	2500	—	27 BP	2 BP	18 P	10 BP	3 BP
	5000	—	19 BP	0 BP	14 P	4 BP	1 BP
陽性対照	MNNG 5.0	—	1338	1177	NT	NT	NT
	ENNG 10	—	NT	NT	775	NT	NT
	NOPD 10	—	NT	NT	NT	725	NT
	AAC 100	—	NT	NT	NT	NT	682
対照 (DMSO)		+	113	20	30	35	11
検 体	20	+	107	21	32	34	12
	100	+	103	18	32	25	9
	500	+	114 P	12 P	29 P	26 P	5 P
	2500	+	88 P	6 P	22 P	10 P	4 P
	5000	+	26 BP	3 BP	13 P	8 BP	0 BP
陽性対照	2-AA 2.5	+	1139	285	NT	1328	114
	2-AA 60	+	NT	NT	187	NT	NT

数値は3枚のプレートの平均値

B: 菌株に対する生育阻害を認める.

P: 検体の析出を認める.

NT: 試験を行っていない.

MNNG: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

NOPD: 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

AAC: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

陽性対照物質は全てDMSOに溶解して使用.

9-2) チャイニーズハムスターV79細胞を用いた *in vitro* 染色体異常誘発性試験 (資料21)

試験機関：BASF毒性研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年：1999年

検体の純度：

試験方法：

チャイニーズハムスターV79細胞を用いて、代謝活性化系(S9 mix)の存在下及び非存在下で染色体異常誘発性を検索した。検体はDMSOに溶解して用いた。試験は各濃度あたり2反復で、2回行った。

実験1では細胞播種約24~30時間後に血清を無添加の新培地と交換し、S9 mixの存在下及び非存在下で培地に検体を添加し、4時間処理した。4時間後に血清を添加した新培地と交換し、14時間培養後に染色体標本作製した。

実験2ではS9 mixの非存在下で、血清添加培地中で18あるいは28時間連続検体処理し、検体処理後標本作製する方法及びS9 mixの非存在下で実験1と同様に血清無添加培地中で4時間検体処理後、血清添加培地と交換し、24時間培養後に染色体標本作製した。

陽性対照として、S9 mixの非存在下ではエチルメタンスルホネート(EMS)を350  $\mu$ g/mlの濃度で、S9 mixの存在下ではシクロホスファミド(CPP)を0.5  $\mu$ g/mlの濃度で用いた。また、溶媒対照を設け、同様に試験した。

観察は、検体処理群及び溶媒対照群では各反復あたり100個(各濃度あたり合計200個)、陽性対照群では各反復あたり50個(各濃度あたり100個)のよく広がった中期分裂像について行った。

用量設定根拠：

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

結 果：

結果を次頁の表に示した。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

陽性対照物質であるEMS(エチルメタンスルホネート)及びCPP(シクロホスファミド)では、明らかな染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本実験条件下において染色体異常誘発性を有し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. 染色体異常試験結果 (実験1)

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. 染色体異常試験結果 (実験2)

9-3) マウス骨髄における小核試験

(資料 22)

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：雄のNMRI系マウス，平均体重29.1g，1群 雄5匹

試験方法：検体を0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して0、500、1000及び2000mg/kgの用量で、1群雄マウス5匹に24時間間隔で2回腹腔内投与した。なお、対照群には賦形剤のみを同様に投与した。陽性対照としてシクロホスファミド20mg/kg及びピンクリスチン(紡錘体毒作用物質として)0.15mg/kgの用量で単回腹腔内投与した。

最終投与24時間後に屠殺して各動物から大腿骨の骨髄を採取してスライドグラス上に固定後、エオジン及びメチレンブルー溶液で5分間染色後すすぎ、最後に7.5%ギムザ溶液で染色した。

各標本について2000個の多染性赤血球を観察し、小核の有無及び小核の大(小核の半径<細胞の半径の1/4)小(小核の半径 $\geq$ 細胞の半径の1/4)を検査した。また同時に、小核を有するあるいは有しない正染性赤血球数についても検査した。この結果から、全赤血球に対する多染性赤血球の割合及び多染性赤血球に対する小核を有する多染性赤血球の割合を算出した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示した。

小核の出現頻度

薬 剤	用 量 (mg/kg)	MNPCE/PCE (%)			PCE/ (PCE+NCE) (%) 平均±SD	
		小 型 <sup>a</sup> 平均	大 型 <sup>b</sup> 平均	合 計 平均±SD		
陰性対照 (0.5%CMC)		0.11	0.01	0.12±0.06	80.5±4.3	
検 体	500	0.13	0.01	0.14±0.07	71.1±5.3	
	1000	0.13	0.00	0.13±0.08	64.1±8.9	
	2000	0.12	0.00	0.12±0.08	65.3±10.6	
陽性対照	CPP	20	1.50**	0.00	1.50± 0.49**	73.5±5.5
	VCR	0.15	5.21**	0.87**	6.08± 1.19**	47.5±7.7

Wilcoxon test (片側) : \*\* ;  $p \leq 0.01$

PCE : 多染性赤血球

NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球

小型<sup>a</sup> : 小核の半径 < 細胞の半径/4, 大型<sup>b</sup> : 小核の半径 ≥ 細胞の半径/4

CMC : カルボキシメチルセルロース

CPP : シクロホスファミド

VCR : ビンクリスチン

検体投与により、すべての投与群でうずくまり姿勢及び立毛が観察された。溶媒対照群及び陽性対照群の動物には毒性症状は認められなかった。

検体投与群では、陰性対照群に比し、いずれの用量においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群であるシクロホスファミドあるいはビンクリスチンでは小核を有する多染性赤血球の出現頻度に明らかな増加が認められた。シクロホスファミドは小型の小核のみを誘発した。一方、ビンクリスチンは大型及び小型の両小核を誘発し、大型小核の占める割合は14%であった。

結論：以上の結果より、本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

9-4) ラット初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 不定期DNA合成 (UDS) 試験

(資料 23)

試験機関：BASF 毒性研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体純度：

試験方法：ラット初代培養肝細胞を用いて不定期DNA合成誘発能をオートラジオグラフィにより検索した。検体はDMSOに溶解した。

細胞附着期間(約2時間)経過後、培養液を捨て、未附着細胞を除き、各濃度の検体溶液及び<sup>3</sup>H-チミジン加(最終濃度10 $\mu$ Ci/ml)血清無添加培地と交換し、18~20時間処理後、<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みを測定した。実験は下記の濃度で2回行なった。

各処理群から正常形態細胞25~50個/スライドを無作為に選択し、合計100個の細胞を観察し、核上銀粒子数(NG)及び細胞質銀粒子数(CG)を計数した。これらの値から平均核上銀粒子数(NG)、平均細胞質銀粒子数(CG)、平均正味核上銀粒子数(NNG; NG-CG)、修復細胞(正味核上銀粒子数が0個以上及び正味核上銀粒子数が5個以上)の割合を算出した。

陰性対照群(無処理対照及び溶媒対照)及び陽性対照群(2-アセチルアミノフルオレン)を設け、同様に試験した。

同時に、培養液中の乳酸脱水素酵素(LDH)活性、乳酸塩濃度を測定すると共に検体処理後の細胞の形態学的変化の有無を観察し、細胞毒性試験を検査した。この結果からUDSを評価する4濃度を選択した。

実験濃度及びUDS評価濃度

実験	実験濃度( $\mu$ g/ml)	UDS評価濃度( $\mu$ g/ml)
1(再試験)	0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0, 100.0, 250.0, 500.0	0, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0
2	0, 1.563, 3.125, 6.250, 12.500, 25.000, 50.000	0, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0

用量設定根拠：

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

試験結果：結果を次頁以降の表に示した。

LDH 活性は25  $\mu$ g/ml以上で増加し、乳酸塩濃度は25  $\mu$ g/ml以上で減少した。また細胞形態は10  $\mu$ g/ml以上で影響がみられた。これらの結果から、細胞毒性はおおよそ10  $\mu$ g/ml以上の用量で認められると判断される。

検体はいずれの用量においても有意な平均核上銀粒子数の増加を誘発しなかった。

また、陰性対照群のUDS活性は予想される範囲内であり、陽性対照物質(2-アセチルアミノフルオレン)は平均核上銀粒子数及び正味の核上銀粒子数の明らかな増加を誘発した。

以上の結果より、本試験条件下で、本検体はラット初代培養肝細胞を用いた不定期DNA合成試験において陰性であると判断される。

表-1. UDS試験成績(実験1再試験)

試験群用量	NG数 平均 <sup>1)</sup> ±SD	CG数 平均 <sup>1)</sup> ±SD	NNG数 平均 <sup>1)</sup> ±SD	修復細胞 (%)		細胞毒性 (%)	
				NNG≥0	NNG≥5	LDH活性	乳酸塩濃度
無処理対照	10.49±4.80	15.36±4.75	-4.87±4.27	10	0	-	-
溶媒対照(DMSO)	10.88±5.14	16.62±4.75	-5.74±4.44	8	0	100.0	100.0
検体(μg/mL)							
0.5	-	-	-	-	-	94.8	109.9
1.0	9.75±4.02	16.19±4.27	-6.44±3.83	4	0	102.8	107.9
5.0	14.14±4.73	20.41±6.64	-6.27±4.86	9	2	105.7	100.5
10.0	11.89±6.00	19.14±7.14	-7.25±5.55	2	1	105.3	96.3
50.0	14.26±6.75	19.46±6.76	-5.20±4.13	9	0	151.7	100.5
100.0 *	-	-	-	-	-	156.7	65.4
250.0 *	-	-	-	-	-	140.9	51.3
500.0 *	-	-	-	-	-	133.7	47.1
陽性対照(2-AAF) 1.0 μg/mL	54.92±21.26	25.91±11.38	29.01±15.00	96	89	-	-

NG = 核上銀粒子数,

CG = 細胞質銀粒子数,

NNG = 正味核上銀粒子数,

<sup>1)</sup> = 100個の細胞の平均,

SD = 標準偏差,

LDH = 乳酸脱水素酵素,

\* = 細胞毒性のために評価できない(形態的変化が著しいため評価可能な細胞がない/あるいはほとんどない).

表-2. UDS試験成績(実験2)

試験群用量	NG数 平均 <sup>1)</sup> ±SD	CG数 平均 <sup>1)</sup> ±SD	NNG数 平均 <sup>1)</sup> ±SD	修復細胞 (%)		細胞毒性 (%)	
				NNG≥0	NNG≥5	LDH活性	乳酸塩濃度
無処理対照	10.26±4.49	15.02±4.00	-4.76±4.30	11	0	-	-
溶媒対照(DMSO)	11.70±3.69	16.10±3.64	-4.40±3.62	9	0	100.0	100.0
検体(μg/mL)							
1.563	-	-	-	-	-	87.3	94.2
3.125	-	-	-	-	-	99.8	105.8
6.250	10.91±4.88	15.50±4.15	-4.59±4.30	11	1	108.2	105.8
12.500	10.84±3.15	14.37±3.00	-3.53±3.37	10	1	113.6	102.6
25.000	11.13±4.22	14.45±3.39	-3.32±3.14	9	1	149.2	74.3
50.000	10.77±4.80	15.38±4.49	-4.61±4.27	14	0	187.0	60.7
陽性対照(2-AAF) 1.000 μg/mL	27.36±11.74	17.13±4.81	10.24±10.45	84	69	-	-

NG = 核上銀粒子数,

CG = 細胞質銀粒子数,

NNG = 正味核上銀粒子数,

<sup>1)</sup> = 100個の細胞の平均,

SD = 標準偏差,

LDH = 乳酸脱水素酵素,

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。

9-5) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞(CHO)を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験  
(HPRT遺伝子突然変異試験) (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：2000年

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター卵巣由来の細胞(CHO)のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ(HPRT)遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系(S-9 mix)の存在下及び非存在下で、2回行なった。溶媒としてDMSOを用いた。

陽性対照として、S-9 mix非存在下ではエチルメタンスルホネート(EMS)を300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S-9 mix存在下ではメチルコラントレン(MCA)を10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で用いた。また、無処理対照及び溶媒対照(DMSO)を設け、いずれも同様に試験した。

用量設定根拠：



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

試験結果：結果を表1～4に示した。

本検体はS-9 mixの有無にかかわらず、突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いたEMS及びMCA処理群では突然変異頻度の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、本検体はチャイニーズ・ハムスター卵巣細胞(CHO)を用いた*in vitro* HPRT遺伝子突然変異試験において、代謝活性化系の有無に係らず突然変異誘発性を有しないと判断される。

表1. 突然変異頻度 - 1回目の実験, S-9 mix非存在下

試験群用量	コロニー形成率1 (%) <sup>a</sup>		コロニー形成率2 (%) <sup>b</sup>		突然変異頻度 ( / 10 <sup>6</sup> 細胞)	
	生存率		細胞毒性		無補正	補正 <sup>c</sup>
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	99.8	-	86.3	-	3.89	4.45
溶媒対照 (DMSO)	95.5	100.0	95.1	100.0	2.22	2.65
15.625 μg/mL	107.0	112.0	99.1	104.2	1.39	1.38
31.250 μg/mL*	97.1	101.7	94.1	98.9	2.22	2.04
62.500 μg/mL*	76.3	79.8	89.8	94.3	0.56	0.63
125.000 μg/mL*	56.9	59.6	83.1	87.4	2.78	3.34
250.000 μg/mL*	58.1	60.9	88.8	93.3	1.11	1.15
500.000 μg/mL*	57.9	60.6	109.1	114.7	0.00	0.00
300.0 μg/mL EMS	72.3	75.7	85.9	90.3	279.45	325.65

<sup>a</sup> = 検体処理終了後17-24時間培養後のコロニー形成率 (検体処理後17-24時間培養後, 各試験群につき約200個の細胞を2反復播種し, 1週間培養してコロニーを形成させた)

<sup>b</sup> = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して, 各試験群につき約200個の細胞を2反復播種し, 1週間培養してコロニーを形成させた)

<sup>c</sup> = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性2) を基に補正

\* 培地中に検体の析出が認められた

EMS: エチルメタンサルホネート

表2. 突然変異頻度 - 1回目の実験, S-9 mix存在下<sup>1)</sup>

試験群用量	コロニー形成率1 (%) <sup>a</sup>		コロニー形成率2 (%) <sup>b</sup>		突然変異頻度 ( / 10 <sup>6</sup> 細胞)	
	生存率		細胞毒性		無補正	補正 <sup>c</sup>
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	83.1	-	94.5	-	1.95	2.07
溶媒対照 (DMSO)	91.8	100.0	82.0	100.0	6.39	7.84
15.625 μg/mL*	80.6	87.9	76.4	93.1	5.56	7.25
31.250 μg/mL*	85.8	93.5	86.6	105.6	3.89	4.42
62.500 μg/mL*	82.9	90.3	86.3	105.2	1.12	1.50
125.000 μg/mL*	83.5	91.0	85.9	104.7	0.56	0.65
250.000 μg/mL*	89.3	97.3	91.1	111.1	5.00	5.64
500.000 μg/mL*	78.3	85.3	82.0	100.0	0.84	1.02
10.0 μg/mL MCA	81.1	88.4	94.1	114.8	267.50	287.80

<sup>1)</sup> = S-9分画: コファクター = 3:7, \* = 同上, <sup>b</sup> = 同上, <sup>c</sup> = 同上

MCA: メチルコラントレン,

\* : S-9 mix析出のため, 培地中の検体の析出については評価できなかった。

表3. 突然変異頻度 - 2回目の実験, S-9 mix非存在下

試験群用量	コロニー形成率1 (%) <sup>a</sup>		コロニー形成率2 (%) <sup>b</sup>		突然変異頻度 (／10 <sup>6</sup> 細胞)	
	生存率		細胞毒性		無補正	補正 <sup>c</sup>
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	85.7	-	89.7	-	5.84	6.11
溶媒対照 (DMSO)	103.3	100.0	95.9	100.0	6.11	5.96
3.125 μg/mL	82.9	80.3	101.8	106.2	1.39	1.39
6.250 μg/mL	90.3	87.4	107.7	112.3	2.78	2.56
12.500 μg/mL	93.8	90.8	112.3	117.1	1.95	1.73
25.000 μg/mL	88.3	85.5	89.0	92.8	4.72	4.83
50.000 μg/mL*	94.4	91.4	92.2	96.1	2.50	2.71
100.000 μg/mL*	83.4	80.7	98.5	102.7	3.34	3.39
300.0 μg/mL EMS	73.8	71.4	80.5	83.9	346.95	431.97

<sup>a</sup> = 検体処理終了後17-24時間培養後のコロニー形成率 (検体処理後17-24時間培養後に各試験群につき約200個の細胞を2反復播種し, 1週間培養してコロニーを形成させた)

<sup>b</sup> = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して, 各試験群につき約200個の細胞を2反復播種し, 1週間培養してコロニーを形成させた)

<sup>c</sup> = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性2) を基に補正

\* 培地中に検体の析出が認められた

EMS: エチルメタンサルホネート

表4. 突然変異頻度 - 2回目の実験, S-9 mix存在下<sup>2)</sup>

試験群用量	コロニー形成率1 (%) <sup>a</sup>		コロニー形成率2 (%) <sup>b</sup>		突然変異頻度 (／10 <sup>6</sup> 細胞)	
	生存率		細胞毒性		無補正	補正 <sup>c</sup>
	絶対	相対	絶対	相対		
無処理対照	88.8	-	98.2	-	3.34	3.18
溶媒対照 (DMSO)	84.2	100.0	96.3	100.0	1.11	1.27
10.24 μg/mL	92.3	109.6	93.7	97.3	2.50	2.77
25.60 μg/mL	93.7	111.3	87.2	90.6	5.56	6.61
64.00 μg/mL	76.9	91.3	92.7	96.3	3.33	3.54
160.00 μg/mL	63.4	75.3	89.9	93.4	5.83	6.52
400.00 μg/mL	57.7	68.5	95.7	99.4	5.84	6.19
1000.00 μg/mL	42.5	50.5	94.0	97.6	2.50	2.67
10.0 μg/mL MCA	77.8	92.4	100.3	104.2	83.61	84.06

<sup>2)</sup> =S-9分画: コファクター = 1:9, <sup>a</sup> =同上, <sup>b</sup> =同上, <sup>c</sup> =同上

MCA: メチルコラントレン,

\* : S-9 mix析出のため, 培地中の検体の析出については評価できなかった。

10) 生体機能への影響に関する試験

生体機能影響試験

(資料 25)

試験機関：財団法人残留農薬研究所

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度：

1) マウス及びラットの中樞神経に対する作用

①雌雄マウスの状態及び体重

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重；雄29.1～34.3g、雌22.0～27.5g、一群雌雄各3匹

試験方法：検体を溶媒(1%ツィーン80水溶液)に懸濁し、0(溶媒のみ)、320、800、2000及び5000mg/kgの用量で腹腔内投与した。行動を投与直前、投与後1及び6時間、1、2、3及び7日目にIrwinの方法に従って多元観察した。体重は、投与直前、投与後1、2、3及び7日目に測定した。

試験結果：800mg/kg以上の用量で投与1時間目に極軽微な自発運動の低下がみられた以外に明確な異常状態は認められなかった。

体重には、雌雄とも検体投与によると思われる明確な変化は認められなかった。

②雄ラットの状態及び体重

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット、6週齢、体重；232～248g、一群5匹

試験方法：検体を溶媒(1%ツィーン80水溶液)に懸濁し、0(溶媒のみ)、2000及び5000mg/kgの用量で経口投与した。急性毒性状態の有無を投与1日前、投与後1及び6時間、1、2、3及び7日目にケージサイドから観察した。体重は、投与直前、投与後1、2、3及び7日目に測定した。

試験結果：5000mg/kgの用量まで検体投与によると思われる異常状態及び体重変化は認められなかった。

### ③雄マウスのヘキソバルピタール睡眠に対する作用

供試動物：ICR系雄マウス，6週齢，体重：29.2～37.6g，一群8匹

試験方法：検体を溶媒（1% Tween 80水溶液）に懸濁し，0（溶媒のみ），128，320，800，2000及び5000mg/kgの用量で腹腔内投与した。睡眠時間は，検体投与1時間後にヘキソバルピタール100mg/kgを皮下投与し，正向反射の消失から回復までの時間を測定した。

試験結果：320mg/kg以上で，用量に依存した睡眠時間の有意な延長が認められた（ $p \leq 0.05$ 又は $0.01$ ，Steelの多重比較検定，最も延長した5000mg/kg群で対照群の約4倍）。128mg/kg群では検体投与によると思われる変化は認められなかった。

### ④雄ラットの体温に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット，6週齢，体重：232～248g，一群5匹

試験方法：「②雄ラットの状態及び体重」の動物を用いて，投与1日前，投与後1及び6時間，1，2，3及び7日目の状態観察後に，肛門内約4cmの直腸温を測定した。

試験結果：5000mg/kgの用量まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

### 2)ラットの循環器に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット，6週齢，体重：206～238g，一群5匹

試験方法：検体を溶媒（1% Tween 80水溶液）に懸濁し，0（溶媒のみ），2000及び5000mg/kgの用量で経口投与した。投与1日前，投与後1及び6時間，1，2，3及び7日目に動物を保定箱に收容し，約32℃で約15分間保温した後，尾部に加圧カフを装着し，非観血式血圧測定装置を用いて安静時の最高血圧と心拍数を測定した。

試験結果：5000mg/kgの用量まで検体投与によると思われる血圧及び心拍数の変化は認められなかった。

### 3)ラットの自律神経系に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット，6週齢，体重：232～248g，一群5匹

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。

試験方法：「②雄ラットの状態及び体重」の動物を用いて、投与1日前、投与後1及び6時間、1、2、3及び7日目の状態観察及び体重測定後、瞳孔径を測定した。

試験結果：5000mg/kgの用量まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

#### 4) マウスの消化器に対する作用

供試動物：ICR系雄マウス、6週齢、体重；26.0～32.3g、一群8匹

試験方法：検体を溶媒(1%ツィーン80水溶液)に懸濁し、0(溶媒のみ)、128、320、800、2000及び5000mg/kgの用量で腹腔内投与した。検体投与1時間後に炭末懸濁液(10%アラビアゴム水溶液中10%の濃度)を容量10mL/kgで経口投与した。動物は炭末懸濁液投与前に約16時間絶食させたが、水は自由に摂取させた。炭末投与30分後に動物を屠殺して小腸を摘出した。小腸基始部から炭末先端までの長さを測り、全小腸の長さに対する炭末移動距離の比率(%)を求めた。

試験結果：5000mg/kgの用量まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

#### 5) ラットの骨格筋に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット、6週齢、体重；232～248g、一群5匹

試験方法：「②雄ラットの状態及び体重」の動物を用いて、投与1日前、投与後1及び6時間、1、2、3及び7日目の状態観察、体温及び瞳孔径を測定後に、握力測定装置のグリッドに四肢を掴ませ、保定した尾を後方に引き、グリッドから四肢が離れた時(最大)の握力を測定した。

試験結果：5000mg/kgの用量まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

#### 6) ラットの腎機能に対する作用

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット、6週齢、体重；204～246 g、一群5匹

試験方法：検体を溶媒(1%ツィーン80水溶液)に懸濁し、0(溶媒のみ)、2000及び5000mg/kgの用量で経口投与した。検体投与1日後に、生理食塩液を容量25mL/kgで30分おきに2回経口投与し、2回目の生理食塩液投与後直ちに動物を採尿ケージに入れて3時間尿を採取し、以下の項目について検査した。

尿量、尿中電解質排泄量(Na、K、Cl濃度)、浸透圧、pH、潜血、蛋白質、ケトン体、グルコース量

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。

試験結果：5000mg/kgの用量まで検体投与によると思われる変化は認められなかった。  
2000mg/kg群の尿中K排泄量に統計学的に有意な低値がみられたが( $p \leq 0.01$ , Dunnettの多重比較検定), 用量依存性がないことから偶発的なものと考えられた。

以上の結果から、本剤をマウスに腹腔内投与すると、320mg/kg以上の用量でヘキソバルビタール睡眠時間の延長がみられたが、明確な異常状態、体重及び小腸炭末輸送能の変化は認められなかった。また本剤をラットに経口投与しても、5000mg/kgの用量まで状態、体重、体温、血圧・心拍数、瞳孔径、握力及び腎機能に明確な変化は認められなかった。本剤の急性毒性試験の結果は、経口、経皮及び吸入経路による急性毒性が非常に弱いことを示しており、本試験結果と合わせて考えると、本剤が散布作業に伴なって摂取されたり、誤って摂取された場合に急性中毒が発現する可能性は極めて低いと推測される。

生体機能影響試験の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶 媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 状 態 [Irwin法] (雌雄マウス)	腹腔内 (1% Tween 80水溶液)	0, 320, 800, 2000, 5000	3	800	320	極軽微な自発運動の 低下が観察された。
状 態 (雄ラット)	経 口 (1% Tween 80水溶液)	0, 2000, 5000	5	-	5000	検体投与によると思 われる異常は認めら れなかった。
ヘキソバルビタール 睡眠時間 (雄マウス)	腹腔内 (1% Tween 80水溶液)	0, 128, 320, 800, 2000, 5000	8	320	128	睡眠時間の延長が観 察された。
体 温 (雄ラット)	経 口 (1% Tween 80水溶液)	0, 2000, 5000	5	-	5000	検体投与によると思 われる異常は認めら れなかった。
循環器系 血圧、心拍数 (雄ラット)	経 口 (1% Tween 80水溶液)	0, 2000, 5000	5	-	5000	検体投与によると思 われる異常は認めら れなかった。
自律神経系 瞳孔径 (雄ラット)	経 口 (1% Tween 80水溶液)	0, 2000, 5000	5	-	5000	検体投与によると思 われる異常は認めら れなかった。
消 化 器 炭末輸送能 (雄マウス)	腹腔内 (1% Tween 80水溶液)	0, 128, 320, 800, 2000, 5000	5	-	5000	検体投与によると思 われる異常は認めら れなかった。
骨 格 筋 握 力 (雄ラット)	経 口 (1% Tween 80水溶液)	0, 2000, 5000	5	-	5000	検体投与によると思 われる異常は認めら れなかった。
腎 機 能 尿量、尿中電解 質(Na, K, Cl) 濃度及び排泄 量、浸透圧、pH、 潜血、蛋白質、 ケトン体、グルコース 量 (雄ラット)	経 口 (1% Tween 80水溶液)	0, 2000, 5000	5	-	5000	検体投与によると思 われる異常は認めら 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BASFアグロ株式会社にある。

11) その他

11-1) ラットにおける2週間混餌経口投与による肝酵素誘導試験 (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：

供試動物：Wistar系SPFラット[Chbb:THOM]，1群雌雄各8匹（生化学的検査用5匹，病理学的検査用3匹），投与開始時42日齢，体重：雄180～199g，雌134～168g)

投与期間：14日間(1997年10月29日～1997年11月12日)

試験目的：本試験は、ラットにおける24カ月間経口慢性毒性試験（資料 14）およびラットにおける発がん性試験（資料15）において2500ppmの用量で観察された肝臓の変化（肥大および好酸性小増殖巣）に関連した酵素誘導能について検査することを目的として実施した。

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

以上の結果から、本剤のラットに対する14日間飼料混入投与による肝薬物代謝酵素誘導試験における影響として、15000ppm投与群において小葉中心帯肝細胞の滑面小胞体の増加を伴う肝重量の増加およびエトキシリゾルフィン及びペントキシリゾルフィンを基質として認識しないチトクロームP450分子種の誘導が認められた。過酸化脂質の増加はGSH量に有意な影響を及ぼすには不十分なチトクロームP450の誘導に対し二次的に酸化ストレスがわずかに増加した結果と推測される。

これらの変化は肝細胞の解毒反応を示すもので、検体投与に対する適応性反応と解釈された。

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

11-2) ラットにおける4週間混餌経口投与による甲状腺ホルモン及び肝薬物代謝酵素誘導試験  
(資料 27)

試験機関：BASF毒性研究所(ドイツ)  
[GLP対応]

報告書作成年：2001年

検体純度：

供試動物：Wistar系SPFラット[Chbb:THOM]、1群雌雄各5匹、投与開始時3ヵ月齢、  
体重範囲(雄；394.6～452.2g、雌；237.7～257.5g)

投与期間：28日間(2000年7月3日～2000年7月31日)

試験目的：本試験は、ラットにおける発がん性試験(資料15)及び慢性毒性試験(資料14)において、甲状腺濾胞細胞肥大及び過形成を伴う濾胞細胞腺腫の増加傾向が観察されたことから、一連の生理学的、毒性学的変化によって認められた甲状腺腫瘍の発現機序が非遺伝毒性的なものであることを確認するために実施した。

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

以上の結果から、本剤のラットに対する4週間飼料混入投与による甲状腺ホルモン及び肝薬物代謝酵素誘導試験における影響として、トリヨードサイロニン(T3)及びサイロキシン(T4)の減少及び甲状腺刺激ホルモン(TSH)の上昇が、投与開始2日後の早い段階から認められた。また、肝酵素抱合を經由したT4の代謝亢進が、TSHの増加やpNP-GT、MUF-GT、HOB1-GT活性の上昇をもたらした。TSHが増加し続けるような検体の用量に甲状腺が慢性的に暴露され、甲状腺腫瘍の発生に連なる一連の変化を生じると考えられた。

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

11-3) ラットにおける4週間混餌経口投与による甲状腺ホルモン及び肝薬物代謝酵素誘導試験 (資料 27-2)

試験機関：BASF毒性研究所(ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年：2003年

検体純度：

供試動物：Wistar系ラット[CrIGlxBrIHan:Wi]、1群雌雄各10匹、投与開始時56±2日齢、体重範囲(雄：288.4～359.8g、雌：180.3～243.0g)

なお、各群を雌雄各5匹の2群に分けてA及びB群とし、投与開始時期を2日ずらして雌雄別に試験した。

投与期間：28日間(2003年4月14日～2003年5月21日)

試験目的：本試験は、ラットにおける発がん性試験(資料15)及び慢性毒性試験(資料14)において、甲状腺濾胞細胞肥大及び過形成を伴う濾胞細胞腺腫の増加傾向が観察されたことから、一連の生理学的、毒性学的変化によって認められた甲状腺腫瘍の発現機序が非遺伝毒性的なものであることを確認するために実施した。

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



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

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

以上の結果から、本剤のラットに対する4週間混餌投与による甲状腺ホルモン及び肝薬物代謝酵素誘導試験における影響として、サイロキシン(T4)の減少及び甲状腺刺激ホルモン(TSH)の上昇がみられ、又肝臓の第I相及びII相酵素活性の亢進がみられ、肝臓及び甲状腺の肥大を伴っていた。

これらの結果から以下のように解釈される。

本剤はラット肝臓のミクロソーム酵素系を活性化し、肝臓重量の増加を伴い、第I相及びII相酵素活性を亢進する。グルクロン酸転移酵素の誘導により、グルクロン酸抱合T4を増加させ、次いで、T4グルクロン酸抱合体として胆汁経由で排泄する。T4の胆汁排泄率の増加は、一般的にT4の投与初期における循環血中T4濃度の低下を惹起する。

本試験において、T4濃度の軽度低下が2000及び5000ppm群雄で投与初期にのみみられた。T4濃度の低下はネガティブフィードバック機構を介して代償反応を誘導し、2000(試験7日)及び5000ppm(試験7及び14日)群雄におけるTSHの有意な増加をきたした。その後も、有意ではないが軽度TSHの増加がこれらの群でみられた。TSH刺激の増加に伴いホルモン分泌が亢進する結果、T4濃度は正常に回復する。これに対して、TSHは投与期間中、高値で保たれる。TSH濃度の変化はグルクロン酸転移酵素の誘導と量的及び質的に同調している。

結論として、ラット雌雄において、本剤の投与は肝ミクロソーム酵素系を活性化し、甲状腺ホルモンの恒常性を軽度に障害した。

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。

11-4) ラットにおける4週間混餌投与免疫毒性試験

(資料 38)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年

検体純度 :

試験動物 : Wistar系 (Crj:Wistar) ラット, 1群雄16匹

開始時 6週齢

開始時体重範囲 : 188~208 g

投与期間 : 4週間 (2003年4月29日~2003年5月27日)

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。

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。



以上、本剤を0、100、1000及び10000 ppmの濃度で飼料に混入し、1群当たり各16匹の雄ラットに4週間にわたって混餌投与し、免疫毒性を検索した。

体重、摂餌量などの一般的影響では、いずれの投与群においても検体の影響は観察されなかった。

胸腺・脾臓重量と細胞数、胸腺と脾臓のリンパ球サブセットの解析成績、抗ヒツジ赤血球免疫グロブリンM抗体価などの免疫系への影響を示す指標には、いずれの投与群においても検体投与の影響は観察されなかった。

一方、陽性対照物質のシクロフォスファミド投与群では免疫学的検査項目の各指標に、明瞭な免疫抑制反応が認められた。

したがって、本剤を0、100、1000及び10000 ppmの濃度でラットに4週間にわたって混餌投与し、免疫毒性を検討した結果、胸腺と脾臓のリンパ球サブセットの解析及び免疫グロブリンM抗体価の免疫毒性作用の指標に検体投与の影響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BASFアグリ株式会社にある。

表一1. 染色体異常試験結果 (実験1)

薬剤	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処理 時間	標本作製時 間	S9 mix の有無	異数体 細胞	倍数体 細胞	判 定	各染色体異常出現頻度 (%)										異常細胞の 出現頻度 (%)		判定						
								染色体分型					染色体型					交換	その他		+Gap	-Gap				
								切断	断片	欠失	欠失	断片	断片	断片	断片	欠失	欠失									
溶媒対照 (DMSO)	20	4	18	-	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	2.0					
								0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	3.0	-
								0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	4.0	-
検体	500	4	18	-	0.0	0.5	-	0.0	0.5	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.5	2.5	-				
								-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.5**	12.0**	+
								0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	0.5	
溶媒対照 (DMSO)	20	4	18	+	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-				
								0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
								1.5	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	8.0	4.0
検体	500	4	18	-	0.0	2.4	-	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	8.0	3.5	-				
								-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.0**	19.0**	+
								0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	17.0**	17.0**

検体処理群及び溶媒対照群では各反復あたり100個(各濃度あたり合計200個)、陽性対照群では各反復あたり50個(各濃度あたり100個)のよく広がった中期分裂像について観察。同時に、異数体細胞及び倍數体細胞を計数。

\* 標本作製時間は検体処理時間を含む +Gap : ギャップを含む -Gap : ギャップを含まない  
 EMS : エチルメタンсульフォネート GPP : シクロフオスファミド

溶媒対照群に対し、\* :  $p \leq 0.05$ , \*\* :  $p \leq 0.01$ , \*\*\* :  $p \leq 0.001$ で有意 (Bonferroni-Holm補正後 Fisher's 直接確率検定)

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

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

表-2 染色体異常試験結果 (実験2)

薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理 時間	標本作製時 間	S9 mix の有無	異数体 細胞	倍数体 細胞	判 定	各染色体異常出現頻度(%)										異常細胞の 出現頻度(%)		判定
								染色体型			染色体型			交換	その他	+Gap	-Gap			
								切断	断片	欠失	切断	断片	欠失							
溶媒対照 (DMSO)		18	18	-	0.0	0.0	/	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5 <sup>a</sup>	5.0	1.5	/	
検体	31.25				0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	8.0	2.5	-
	62.50	18	18	-	0.0	0.0	-	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.5	1.5	-
	125.00				0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0	0.0	0.0	1.5	9.0	3.0	-	
陽性対照 (EMS)	350	18	18	-	0.0	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16.0 <sup>**</sup>	20.0 <sup>**</sup>	20.0 <sup>**</sup>	+	
溶媒対照 (DMSO)		28	28	-	0.0	0.0	/	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	7.5	2.5	/	
検体	125.00	28	28	-	0.5	1.0	-	1.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	6.5	2.0	-	
	溶媒対照 (DMSO)	4	28	+	0.5	0.0	/	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	5.0	1.0	-	
	125.00				0.5	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	1.5	0.0	3.5	2.0	-	
検体	250.00	4	28	+	0.5	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	4.0	0.5	-	
	溶媒対照 (DMSO)				1.0	0.0	-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	1.5	0.0	4.5	2.0	-	
	500.00				1.0	0.0	-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.5	0.0	0.0	4.5	2.0	-	

検体処理群及び溶媒対照群では各反復あたり100個(各濃度あたり合計200個)、陽性対照群では各反復あたり50個(各濃度あたり100個)のよく広がった中期分裂像について観察。同時に、異数体細胞及び倍數体細胞を計数。

\* 標本作製時間は検体処理時間を含む  
EMS: エチルメタンсульフォネート

+Gap: ギャップを含む, -Gap: ギャップを含まない

\*細粒化が認められた

溶媒対照群に対し, \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ , \*\*\*:  $p \leq 0.001$ で有意 (Bonferroni-Holm補正後 Fisher's 直接確率検定)