

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(12) 繁殖性および催奇形性

1) メトラクロールのラットにおける 2 世代繁殖毒性試験

(資料 No.T-21)

試験機関：Toxi Genics Inc. (米国)

報告書作成年：1981 年

検体の純度： %

試験動物：チャールス・リバーCD ラット、1 群雄 15 匹、雌 30 匹、投与開始時 4 週齢

投与期間：P 世代；雄 P 動物は、交配前 14 週間、交配期 2 週間および交配後 3 週間、雌 P はさらに 3 週間の授乳期間を含め投与を行なった。

F₁ 世代；離乳後雄 F₁ は交配前 17 週間および交配期 2 週間投与し、雌 F₁ はさらに 3 週間の妊娠期間および 3 週間の授乳期間について引き続き投与した。

(1980 年 6 月～1981 年 5 月 20 日)

投与方法：検体を 0、30、300 および 1000ppm 含有した飼料を自由に摂食させた。
検体を混合した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

方法および試験項目：概要を表 I に示す。

親動物：

一般状態および死亡率；試験期間を通し、全動物の一般状態および生死を 1 日 2 回観察した。

体重変化；交配前 (P(F0)親動物では 14 週間、F₁ 親動物では 17 週間) は毎週測定した。交配後の雄は屠殺まで 1 か月毎に体重を測定した。雌は妊娠 0、6、15 および 20 日、哺育 0、4、7、14 および 21 日に体重を測定した。

摂餌量；交配前 (P(F0)親動物では 14 週間、F₁ 親動物では 17 週間) は毎週測定した。

交配および妊娠の確認；交配は 15 日間、同一投与群内で雄 1：雌 2 の比率で行ない、雌雄の組み合わせを 5 日間隔で替えた。雌は最高 3 匹の異なる雄と交配した。交尾の確認は膣栓の存在あるいは膣垢塗抹標本中の精子の存在により行ない、いずれかが認められた日を妊娠 0 日とした。

各雌は妊娠中毎日観察し、妊娠の確認は膣内血管膜の観察や胎児の触診により行なった。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠期の観察に基づき次の指標を算出した。

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾したのべ雌動物数}}{\text{発情回数}^*} \times 100$$

*：発情した雌を交配に供した。従って発情回数は交配に用いたのべ雌動物数を示す。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率} = \frac{\text{出産動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

$$\text{雌受胎率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{雄授精率} = \frac{\text{授精雄動物数}}{\text{交配に用いた雄動物数}} \times 100$$

病理組織学的検査；P(F0)雄動物は、肉眼的検査を行ない異常な組織と臓器を摘出した。また精巣を摘出し、病理組織学的検査を行なった。全てのP(F0)雌については196日齢で殺処分し、何らかの異常を示した雌は剖検し病理組織学的に検査した。

全F₁親動物およびF₁、F₂離乳同腹児の雌雄各5匹については剖検を行ない副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣、甲状腺の重量を測定した。また、副腎、下垂体、大動脈、前立腺、骨（骨髄を含む）、唾液腺、脳、坐骨神経、食道、骨格筋、眼球、皮膚、心臓、小腸、腎臓、脊髄、大腸、脾臓、肝臓、胃、肺（気管支を含む）、精巣（精巣上部を含む）、腸間膜リンパ節、その他のリンパ節、気管、胸腺、乳腺、甲状腺（上皮小体を含む）、卵巣、膀胱、膵臓、子宮および肉眼的病変部について病理標本作製し、鏡検した。

児動物：

一般状態および死亡率；全児動物に一般状態および生死を毎日観察した。出産日に出産児数、生存児数、死亡児数を同腹児ごとに計数した。哺育1、4、7、14および21日に生存児数を計数した。

体重変化；全児動物の体重を哺育4、7、14および21日に測定した。なお、哺育21日（離乳）までは児動物に同腹児内での個体識別番号は付与されなかった。

結 果：概要を表 II に示す。

親 動 物：

死 亡 率；P(F0)世代の雌雄および F1 世代の雄では死亡例はなかった。F1 世代の雌では、交配前に 300ppm 投与群（投与 1 週）と 1000ppm 投与群（投与 4 週）で各 1 例、300ppm 投与群で妊娠 19 日に 1 例が死亡し、対照群の 1 例は哺育 1 日に瀕死屠殺した。

体 重；P(F0)世代および F1 世代とも体重変化に投与の影響はなかった。

摂 餌 量；P(F0)世代では、摂餌量に投与の影響は認められなかった。

F₁ 親世代では、1000ppm 投与群雌で摂餌量の統計学的有意な低値（対照群に比べて 10%の低下）が投与後 1、6、7、8、10、12、13 および 15 週時に認められ、投与による影響と考えられた。

300ppm 投与群雌では、統計学的に有意な低値が投与後 6、7 および 10 週時に認められたが、散発的な変化で用量依存性もないことから投与に関連しない変化と考えられた。

検体摂取量；摂餌量および投与濃度から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量は下表のとおりであった。

表 平均検体摂取量

投与群 (ppm)		30	300	1000
メラクロール摂取量 (mg/kg/day)	F0 雄	2.23	23.5	75.8
	F0 雌	2.63	26.0	85.7
	F1 雄	2.34	23.7	76.6
	F1 雌	2.58	25.7	84.5

繁殖に対する影響；P(F0)世代および F1 世代とも繁殖成績に投与の影響はみられなかった。

臓器重量；F₁ 世代の 1000ppm 投与群雄で甲状腺重量の体重比および脳重比が統計学的に有意な高値を示し、投与による影響と考えられた。

F₁ 世代の 1000ppm 投与群雌雄で肝臓体重比が高値であった。

F₁ 世代の 30ppm および 1000ppm 投与群雄では脳重量が低値を示したが、用量に依存しない変化であったことから投与に関連しない変化と考えられた。

病理組織学的検査；P(F0)親世代では 300ppm 投与群雄の 2 例に精巣萎縮がみられ、雌では 1000ppm 投与群の 1 例に肺の慢性病変および網膜の萎縮、30ppm 投与群の 1 例に乳腺線維腺腫がみられたが、投与による影響は認められなかった。

F₁ 親世代では耳介の炎症、腎の蛋白円柱、肺におけるリンパ球浸潤等がみられたが、投与による影響はみられなかった。

児動物：

同腹児数； P(F0)世代および F1 世代の同腹児数に投与の影響はなかった。

生存率； P(F0)世代および F1 世代の同腹児とも生存率に投与の影響はなかった。

体重； P(F0)世代の 1000ppm 投与群雌雄および F1 世代 1000ppm 投与群雌の生後 21 日の児動物で、低値 (P<0.05) が認められ、投与による影響と考えられた。(申請者注：報告書では、各群の児動物全体の個々の体重に関して統計処理されているが、各腹中の児動物体重は親毎に影響を受けることから、各親毎に同腹児の平均体重を出し、この同腹児平均体重に関して申請者が統計処理した。尚、生後 4、7、14 日の胎児も 21 日と同様に雌雄別に算出した。)

臓器重量； F1 世代の雌児動物では 1000ppm 投与群で肝臓重量が低値であり、この群の児動物体重の増加抑制に起因した変化と考えられた。

F2 世代の雌児動物では、1000ppm 投与群で脳重量および脾臓重量が低値であり、脳、心臓および腎臓の体重比が高値であった。これはこの群の児動物体重の増加抑制に起因した変化と考えられた。

F1 および F2 世代の雄児動物には投与の影響はなかった。

病理組織学的検査； F₁ 世代児動物では肺に軽度のマイコプラズマ感染症状等がみられたが、投与による影響は認められなかった。

F₂ 世代児動物では、腎臓における嚢胞、肺の細胞浸潤等がみられたが、投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を混餌投与した場合、1000ppm 投与群の親動物雄において甲状腺重量の体重比と脳重比の増加、雌において摂餌量の低下、雌雄で肝臓体重比の増加がみられ、児動物では体重増加抑制がみられた。繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。

児動物では 1000ppm 群の雌で体重増加抑制に起因した肝臓、脳および脾臓重量の低下、脳、心臓および腎臓の体重比の増加がみられた。これら臓器重量の変動に関連した病理組織所見は認められなかった。

このことから、親動物および児動物に対する無毒性量は雌雄とも 300ppm (P 世代 雄：23.5mg/kg/日、雌：26.0mg/kg/日、F1 世代 雄：23.7 mg/kg/日、雌：25.7 mg/kg/日) であると判断される。

表 I

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
P	生育 (14 週)		体重、摂餌量を毎週測定。
	交配 (2 週)	雄 1 : 雌 2 の比率で交配。 交尾は陰栓あるいは膣垢中の精子の確認によって行なった。	交配終了後、全雄動物の剖検を実施し、異常臓器、組織を摘出した。また、全例の精巢の組織学的検査を行なった。
	妊娠 (3 週)		妊娠 0、6、15、20 日目に体重を測定。 期間中毎日観察し、触診を行なった。
F ₁	出産		出産児数、生存児数、死亡児数、食殺児数、性別、外表異常について調べた。 哺育 0、4、7、14、21 日目に P 雌動物の体重を測定した。
	哺育 (3 週)	哺育 4 日目に各同腹児数を計 10 匹に調整。	哺育 1、4、7、14 および 21 日目に生存児数、4、7、14 および 21 日目に児体重測定。
	離乳	継代用の雄 15 匹と雌 30 匹を無作為に選抜。	P 世代母動物のうち何らかの異常を示した例は剖検し病理組織学的に検査した。 F ₁ 児動物のうち、各群雌雄各 5 匹の剖検を行ない、臓器重量の測定と病理組織学的検査を実施。
	生育 (17 週) 交配 (2 週) 妊娠 (3 週)	} P 世代に準ずる。	
F ₂	出産		(P 世代に準ずる)
	哺育 (3 週) 離乳	(P 世代に準ずる)	全 F ₁ 親動物の剖検を行ない、臓器重量の測定と病理組織学的検査を行なった。
			離乳後、F ₂ 児動物のうち各群雌雄各 5 匹について剖検を行ない、臓器重量の測定と病理組織学的検査を行なった。さらに何らかの発育異常を示した F ₂ 児動物の病理学的検査を行なった。

表 II- (I)

世 代		親 : P				親 : F ₁			
投 与 量 (ppm)		対照群	30	300	1000	対照群	30	300	1000
動 物 数	雄	15	15	15	15	15	15	15	15
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30
一般状態	雄	/	—	—	—	/	—	—	—
	雌	/	—	—	—	/	—	—	—
死亡数 (%)	雄	0	0	0	0	0	0	0	0
	雌	0	0	0	0	1(3.3)	0	2(6.7)	1(3.3)
体重変化 交配前体重増加量	雄	100	97	100	99	100	91	100	93
	雌	100	99	102	96	100	94	96	94
妊娠 20 日の体重		100	97	101	98	100	97	101	97
哺育 21 日の体重		100	96	99	96	100	101	104	103
摂 餌 量 a	雄	/	—	—	—	/	—	—	—
	雌	/	—	—	—	/	—	—	低下
臓器重量 b	雄		/	/	/	/	甲状腺重量 98 体重比 104 脳重量 103 脳重比 103	甲状腺重量 103 体重比 102 脳重量 102 脳重比 102	甲状腺重量 118 体重比 126↑ 脳重量 124↑ 脳重比 124↑
			/	/	/	/	脳重量 95↓ 肝重量 91 肝体重比 101	脳重量 101 肝重量 103 肝体重比 103	脳重量 94↓ 肝重量 103 肝体重比 117↑
	雌		/	/	/	/	肝重量 101 肝体重比 104	肝重量 102 肝体重比 102	肝重量 104 肝体重比 109↑
			/	/	/	/			
肉眼的病理検査	雄	/	—	—	—	/	—	—	—
	雌	/	—	—	—	/	—	—	—
病理組織学的検査	雄	/	—	—	—	/	—	—	—
	雌	/	—	—	—	/	—	—	—
交尾率 ¹⁾ (%)		81.1	90.9	69.0	63.6	60.0	54.9	74.4	60.9
妊娠率 ²⁾ (%)		76.7	90.0	79.3	71.4	88.9	85.7	89.7	89.3
出産率 ³⁾ (%)		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	87.5	96.0	100.0
雌受胎率 ⁴⁾ (%)		76.7	90.0	76.7	66.7	80.0	80.0	89.7	86.2
雄授精率 ⁵⁾ (%)		86.7	100.0	80.0	80.0	80.0	73.3	93.3	93.3
妊娠期間 (日)		22	22	22	22	23	22	22	22

a : 多重比較検定、b : Kruskal-Wallis の分析

— : 対照群と比較して差が認められなかったことを示す。

$$1) : \text{交尾率} = \frac{\text{交尾したのべ雌動物数}}{\text{発情回数}} \times 100$$

$$2) : \text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$3) : \text{出産率} = \frac{\text{出産動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

$$4) : \text{雌受胎率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

$$5) : \text{雄授精率} = \frac{\text{授精雄動物数}}{\text{交配に用いた雄動物数}} \times 100$$

表 II- (2)

世 代		親 : P		児 : F ₁		親 : F ₁		児 : F ₂		
投 与 量 (ppm)		対照群	30	300	1000	対照群	30	300	1000	
児 動 物	新生児数	294	340	298	280	287	272	293	317	
	生存児数	293	337	295	274	281	271	283	312	
	死産児数	0	3	3	5	5	1	9	5	
	屠殺児数	1	0	0	1	1	0	1	0	
	同腹生存児数	12.7	12.5	12.8	13.7	11.7	12.9	11.8	12.5	
	外 表 異 常		小顎症 : 1例	—	—			—	—	
	性 比 (雄、%)	48.8	53.1	50.3	53.3	49.8	52.3	44.6	49.8	
	1日生存率 ^{a)} (%)	99.3	99.7	98.6	100.0	91.8	98.9	99.3	98.4	
	4日生存率 ⁷⁾ (%)	98.0	98.2	97.3	99.3	90.2	93.7	98.6	97.4	
	7日生存率 ⁸⁾ (%)	99.5	98.5	98.2	99.5	95.8	98.5	99.1	99.2	
	14日生存率 ⁹⁾ (%)	99.5	96.5	95.9	99.0	95.3	98.0	99.1	98.3	
	21日生存率 ¹⁰⁾ (%)	99.5	96.5	95.0	99.0	94.8	98.0	99.1	97.9	
	4日児体重 ^{a)} (g)	雄	10.5	10.0	10.2	9.8	10.1	9.8	10.3	9.5
		雌	9.8	9.6	9.8	9.4	9.9	9.1	9.6	9.0
	7日児体重 ^{a)} (g)	雄	15.9	15.1	15.5	15.0	14.8	14.7	15.2	14.3
		雌	15.2	14.3	14.9	14.3	14.5	13.7	14.3	13.6
	14日児体重 ^{a)} (g)	雄	28.7	28.3	28.4	26.9	27.1	27.3	27.4	26.6
		雌	27.4	26.9	27.3	25.5	26.8	25.4	25.8	25.4
	21日児体重 ^{a)} (g)	雄	47.1	46.1	44.7	42.3*	44.4	43.7	43.0	41.6
		雌	44.3	43.1	42.8	39.8*	42.5	41.0	40.1	39.0*
	一 般 状 態	雄		—	—	—		—	—	—
雌			—	—	—		—	—	—	
臓 器 重 量	雄		—	—	—		—	—	—	
		雌		肝重量 98 肝体重比 96	肝重量 98 肝体重比 107	肝重量 89↓ 肝体重比 108		最終体重 87 脳重量 96 脳体重比 104 心重量 96 心体重比 109 腎重量 95 腎体重比 109 脾重量 87	最終体重 84 脳重量 96 脳体重比 116 心重量 93 心体重比 112 腎重量 94 腎体重比 112 脾重量 76	最終体重 57↓ 脳重量 83↓ 脳体重比 194↑ 心重量 72 心体重比 136↑ 腎重量 69 腎体重比 126↑ 脾重量 54↓
	雌		—	—	—		—	—	—	
		雄		—	—	—		—	—	
	肉眼的病理検査	雄		—	—	—		—	—	
		雌		—	—	—		—	—	
	病理組織学的検査	雄		—	—	—		—	—	
		雌		—	—	—		—	—	

^{a)} : 申請者が算出および統計処理

* : 対照群と比較して有意差あり、P<0.05 (student の t 検定)
: 対照群に比し差の認められなかったことを示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

$$6) \quad : 1 \text{ 日生存率} = \frac{\text{哺育 1 日の生存児数}}{\text{出産児数}} \times 100$$

$$7) \quad : 4 \text{ 日生存率} = \frac{\text{哺育 4 日の生存児数}}{\text{出産児数}} \times 100$$

$$8) \quad : 7 \text{ 日生存率} = \frac{\text{哺育 7 日の生存児数}}{\text{哺育 4 日の調整後児数}} \times 100$$

$$9) \quad : 14 \text{ 日生存率} = \frac{\text{哺育 14 日の生存児数}}{\text{哺育 4 日の調整後児数}} \times 100$$

$$10) \quad : 21 \text{ 日生存率} = \frac{\text{哺育 21 日の生存児数}}{\text{哺育 4 日の調整後児数}} \times 100$$

2) S-メトラクロールのラットを用いた催奇形性試験 (資料 No. T-22)

試験機関 : Ciba-Geigy Ltd. (スイス国)

報告書作成年 : 1995 年 「GLP 対応」

検体の純度 : %

試験動物 : Sprague-Dawley 系 (Tif:RAIf(SPF)) 妊娠ラット

試験開始時約 8 週齢 (試験開始時体重 179.3~216.1g)、1 群 24 匹

試験期間 : 1994 年 6 月 14 日~1994 年 10 月 5 日

投与期間 10 日間 (妊娠 6 日~15 日)

投与方法 : 雌動物を妊性の確認されている同系の雄動物と 3 対 1 で一夜同居させて交配し、3~6 時間後に膣栓または膣垢を検査した。膣栓あるいは膣垢中に精子の認められた日を妊娠 0 日とした。被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液に懸濁させ、0、5、50、500 および 1000mg/kg の用量で、妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与液量は 10mL/kg とした。対照群には、0.5%CMC 溶液 (10mL/kg) を同様に投与した。

<投与量の設定>

試験項目 :

親動物 ; 一般状態、生死、流産について毎日観察し、体重を毎日測定した。摂餌量は妊娠 6、11、16 および 21 日に測定した。妊娠 21 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、早期・後期吸収胚数、流産数、生存および死亡胎児数を調べた。

生存胎児 ; 体重を測定し、性を判定した。外表を検査し、同腹児の約半数について内臓検査を行い、残りの約半数について骨格検査を実施し、奇形、異常および変異を調べた。

結果：概要を表に示す。

〔母動物〕：

500 および 1000mg/kg 群の全母動物と 50mg/kg 群の母動物 9 例は、被験物質投与後に頭部を床敷に押し当てる状態（約 1 時間）の不快症状を示した。この行動は妊娠 7 日から 15 日に観察され、投与が終了した妊娠 16 日には観察されなかった。

500 および 1000mg/kg 群の体重増加量は、投与期間中、用量に相関した低下がみられ、投与終了後の妊娠 16 日では対照群に比してそれぞれ 19% および 28% の低下であった。平均体重についても 500 および 1000mg/kg 群で用量に相関して低下がみられた。また、摂餌量は、500 および 1000mg/kg 群で投与期間中、用量に相関してそれぞれ 11% および 16% の減少が認められた。

カーカス重量の有意な低下が 1000mg/kg 群（対照群に対して 95%）に認められた。剖検所見については、いずれの群においても投与に関連した変化は認められなかった。また、着床所見、妊娠子宮重量に関しても群間に差がなく、平均生存胎児数も各群で同程度であり、加えて後期吸収胚および死亡胎児もみられなかった。

〔胎児動物〕：

胎児の性比および体重に投与の影響は認められなかった。

外表検査では、奇形として 50mg/kg 群 1 例に膈ヘルニア、500mg/kg 群 1 例に多肢症（正常の肢数より多い 3 後肢を有する）、対照群に矮小児（後肢位置異常および曲尾を伴う）が認められた。これらの所見は、散発的な発現であることから投与の影響とは考えられなかった。

内臓検査では、奇形として 50mg/kg 群 1 例に膈ヘルニアが、異常として腹腔内に血液様液体の貯留、腎盂拡張および尿管拡張が散見され、変異として胸腺頸部残留と肝副葉が対照群を含む各群に観察されたが、いずれも発現頻度が低いこと、散発的発現であることから投与に関連した変化とは考えられなかった。

骨格検査では、変異として歪鈴型頸椎体発生頻度の増加が 1000mg/kg 群（胎児発生率 4.7%、腹発生率 27.3%）にみられたが、背景データの範囲内（胎児発生率 0.6～4.7%、腹発生率 4.2～47.8%）にあることから、投与に関連した変化とは考えられなかった。

以上の結果より、母動物では 500 および 1000mg/kg 群で体重増加量の低下および摂餌量の減少、1000mg/kg 群でカーカス重量の低下が認められたことから、母動物における無毒性量は 50mg/kg/day と考えられた。胚および胎児毒性は認められなかったことから胎児における無毒性量は 1000mg/kg/day であると考えられた。

また、最高投与量の 1000mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表

投与量(mg/kg/day)		0	5	50	500	1000		
1群当たりの動物数		24	24	24	24	24		
親	死亡数	0	0	0	0	0		
	一般状態	頭部を床敷に押し当て る状態の不快感		9	24	24		
	体重(妊娠16日) ^d	—	99	100	96*	93**		
	(妊娠21日) ^d	—	99	101	95	92**		
	体重増加量(妊娠6日~16日) ^d	—	100	96	81**	72**		
	(妊娠6日~21日) ^d	—	97	100	88*	81**		
	摂餌量(妊娠6日~16日) ^d	—	100	97	89**	84**		
	妊娠数 ^f (率)	22(91.7)	23(95.8)	23(95.8)	21(87.5)	22(91.7)		
	流産数 ^f	0	0	0	0	0		
	早産数 ^f	0	0	0	0	0		
動物	全胚吸収母動物数 ^f	0	0	0	0	0		
	生存胎児を持つ母動物数 ^f	22	23	23	21	22		
	着床所見 ^d (腹当たり)	黄体数	17.1	18.0	16.9	15.8	16.1	
		着床数	16.0	15.1	16.0	14.4	13.4	
		早期吸収胚数	1.0	1.4	1.2	1.3	0.6	
		後期吸収胚数	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		生存胎児数	15.0	13.7	14.9	13.1	12.8	
	死亡胎児数	0	0	0	0	0		
	妊娠子宮重量(g) ^d	107.2	97.4	104.7	95.3	91.8		
	カーカス重量(g) ^d	268.0	272.4	272.6	264.6	253.6**		
肉眼的病理所見								
胎児	性比(雌%)	50.5	48.3	46.5	51.6	48.6		
	体重 ^d (g)	雄	5.4	5.5	5.4	5.5	5.4	
		雌	5.1	5.1	5.1	5.2	5.2	
	外表検査	胎児発生率(%)	1/329(0.3)	0/315(0)	1/342(0.3)	1/275(0.4)	0/282(0)	
		腹発生率(%)	1/22(4.5)	0/23(0)	1/23(4.3)	1/21(4.8)	0/22(0)	
		異常	矮小児	1	0	0	0	0
			奇形 膈ヘルニア	0	0	1	0	0
			多肢症	0	0	0	1	0
	後肢位置異常		1	0	0	0	0	
	曲尾	1	0	0	0	0		
動物内臓検査	胎児発生率(%)	10/161(6.2)	9/152(5.9)	7/165(4.2)	5/133(3.8)	10/134(7.5)		
	腹発生率(%)	7/22(31.8)	7/23(30.4)	6/23(26.1)	5/21(23.8)	8/21(38.1)		
	奇形	膈ヘルニア	0	0	1	0	0	
		腹腔内血液様液体貯留	0	0	1	1	0	
		腎盂拡張	3	3	0	2	1	
		尿管拡張	1	0	0	0	0	
	変異	胸腺頸部残留	5	3	4	1	8	
肝副葉		3	4	1	1	1		

体重、体重増加量および摂餌量は、対照群に対する変動率(%)で表した。

d: ANOVA+Dunnettのt検定、*: p<0.05、**: p<0.01

f: X²+Fisherの正確確率検定、*: 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シンジェンタジャパン株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	5	50	500	1000
胎 動 物 児 査 検 格 骨 ^f	奇形胎児発生率(%)	0/168(0)	0/163(0)	0/177(0)	0/142(0)	0/148(0)
	腹発生率(%)	0/22(0)	0/23(0)	0/23(0)	0/21(0)	0/22(0)
	異常胎児発生率(%)	16/168(9.5)	10/163(6.1)	10/177(5.6)	12/142(8.5)	5/148(3.4)
	腹発生率(%)	9/22(40.9)	8/23(34.8)	6/23(26.1)	10/21(47.6)	5/22(22.7)
	第1第2胸骨分節癒合	4	3	5	2	1
	第1胸骨分節二分	1	0	0	0	0
	第1胸骨分節断片化	0	0	0	1	0
	第1胸骨分節非対称	0	1	0	0	0
	第2胸骨分節二分	1	0	0	0	0
	第2胸骨分節非対称	0	0	0	1	0
	第3胸骨分節完全癒合	1	0	0	0	0
	第3胸骨分節完全非対称	1	0	0	0	0
	第3胸骨分節非対称	0	1	0	1	0
	第4胸骨分節非対称	1	1	1	3	0
	第4第5胸骨分節癒合	0	0	0	1	0
	第5胸骨分節非対称	1	4	2	4	1
	第6胸骨分節非対称	3	1	2	2	1
	大泉門	6	1	0*	1	1
	後頭骨骨化不整	7	0*	1*	3	0*
	第5中手骨未骨化	5	0	0*	0	0
	第5中手骨骨化不全	1	0	0	0	0
	恥骨位置異常	2	0	0	0	1
	胸椎体二分	1	1	1	0	0
	胸椎体位置異常	1	0	0	0	0
	腰椎体位置異常	1	0	0	0	0
	肋骨未骨化	1	0	0	0	0
	変異胎児発生率(%)	176/329(53.5)	169/315(53.7)	181/342(52.9)	144/275(52.4)	157/282(55.7)
	腹発生率(%)	22/22(100)	23/23(100)	23/23(100)	21/21(100)	22/22(100)
	第1胸骨分節低形成	0	1	1	2	3
	第1胸骨分節骨化遅延	0	1	0	0	0
第2胸骨分節未骨化	1	0	0	0	0	
第2胸骨分節骨化遅延	0	0	0	1	0	
第5胸骨分節骨化遅延	1	0	0	0	0	
第5胸骨分節未骨化	0	0	0	1	0	
第6胸骨分節骨化遅延	2	0	0	0	0	
第6胸骨分節未骨化	1	0	0	0	0	
踵骨未骨化	156	161	154	132	140	
踵骨骨化遅延	4	1	0	0	0	
第1中足骨未骨化	22	16	23	31	23	
第1中足骨骨化遅延	6	2	2	4	4	
頸椎体未骨化	167	162	176	138	141	
頸椎体骨化遅延	17	26	35	25	18	

f: カイ二乗+Fisherの正確確率検定、*: 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シンジェンタジャパン株式会社にある。

投与量(mg/kg/day)		0	5	50	500	1000
胎 骨 ^f 格 児 動 査 物	頸椎体二分	9	11	13	9	20
	亜鈴型頸椎体	1	1	2	3	7*
	亜鈴型胸椎体	4	3	11	4	0
	胸椎体未骨化	1	0	0	0	0
	亜鈴型腰椎体	1	0	0	0	0
	腰椎体未骨化	1	0	0	0	0
	13 肋骨短小	14	20	6	13	3*
	13 肋骨未骨化	2	1	0	1	0
	第1 前肢末節骨未骨化	1	0	1	0	0
	第1 前肢末節骨骨化遅延	1	0	0	0	0
	第2 前肢基節骨未骨化	10	2*	4	11	2*
	第2 前肢基節骨骨化遅延	1	2	2	6	1
	第2 前肢末節骨未骨化	1	0	0	0	0
	第2 前肢末節骨骨化遅延	0	0	1	0	0
	第3 前肢基節骨未骨化	4	0	0	0	0
	第3 前肢基節骨骨化遅延	1	0	0	0	0
	第4 前肢基節骨未骨化	7	0*	0**	1	0*
	第4 前肢末節骨未骨化	0	0	1	0	0
	第5 前肢基節骨未骨化	18	13	13	21	6*
	第5 前肢基節骨骨化遅延	6	4	7	13	3
	第5 前肢末節骨未骨化	3	3	4	8	2
	第5 前肢末節骨骨化遅延	1	1	0	1	0
	第1 後肢末節骨未骨化	1	2	1	0	0
	第1 後肢末節骨骨化遅延	7	2	1*	1	0*
	第2 後肢基節骨未骨化	60	58	69	55	52
	第2 後肢基節骨骨化遅延	14	10	15	7	9
	第2 後肢末節骨骨化遅延	8	1*	1*	1*	0**
	第3 後肢基節骨未骨化	38	38	51	52	40
	第3 後肢基節骨骨化遅延	9	8	13	10	12
	第3 後肢末節骨骨化遅延	6	1	1	1	0*
	第4 後肢基節骨未骨化	38	34	44	47	44
	第4 後肢基節骨骨化遅延	9	9	12	8	8
第4 後肢末節骨骨化遅延	8	1*	1*	1*	0**	
第5 後肢基節骨未骨化	98	93	98	86	81	
第5 肢基節骨骨化遅延	15	14	16	13	12	
第5 後肢末節骨骨化遅延	8	1*	1*	1*	0**	
第5 後肢末節骨未骨化	0	0	1	0	0	

f: Fisher の正確確率検定、* : p<0.05、** : p<0.01

3) S-メトラクロールのウサギを用いた催奇形性試験 (資料 No.T-23)

試験機関：Ciba-Geigy Corp. (米国)

試験実施年：1983 年

報告書作成年：1995 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験動物：ニュージーランドホワイト妊娠ウサギ

開始時約 4 か月齢 (開始時体重 3137~4656g)、1 群 19 匹

試験期間：1983 年 5 月 20 日~1983 年 6 月 24 日

投与期間 13 日間 (妊娠 7 日~19 日)

投与方法：雌動物同系の雄動物から採取した精液で人工授精し、妊娠 0 日とした。被験物質を 3%コーンスターチ/0.5%Tween 80 混合液に懸濁させ、0、20、100 および 500mg/kg の用量で、妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与液量は 10mL/kg とした。対照群には、3%コーンスターチ/0.5%Tween 80 混合液 (10mL/kg)を同様に投与した。

<投与量の設定>

試験項目：

親動物：一般状態、生死および流産について毎日観察し、妊娠 0、7、14、19、21、25 および 29 日に体重を測定した。摂餌量は毎日測定した。妊娠 29 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、子宮内吸収胚数、流産数、生存および死亡胎児数を調べた。

生存胎児；体重および胎盤重量を測定し、性を判定した。外表、内臓および骨格検査を実施し、奇形および変異を調べた。

結果：概要を表に示す。

〔親動物〕：

500mg/kg 群では、妊娠 25 日に 1 例の死亡がみられた。この死亡は、摂餌量低下および体重低下に関連したものであった。

100mg/kg 群では、後肢骨折のため人道的理由から妊娠 15 日に 1 例を屠殺し、20mg/kg 群では、1 例が妊娠 21 日に流産したため屠殺し、他の 1 例は妊娠 28 日に流産し死亡した（申請者注：20mg/kg 群での流産 2 例は、用量相関性がない事から、投与の影響とは考えられない）。

一般状態の変化として 100 および 500mg/kg 群で糞便量の減少／無排泄／軟便の頻度増加が観察された。500mg/kg 群では、投与期間を通して摂餌量の顕著な減少が認められ、対照群に対して 30%（妊娠 16 日）～67%（妊娠 10 日）であった。さらに、体重の低下が妊娠 14 日および 19 日に認められ、対照群に比してそれぞれ 4%および 8%の減少を示した。これに関連して、500mg/kg 群では体重増加量の顕著な低下が、投与期間中の妊娠 7～14 日および 14～19 日に認められた。この群では、投与終了後にリバウンドがみられ、摂餌量、体重および体重増加量は対照群より高値であった。20 および 100mg/kg 群における摂餌量、体重および体重増加量には、投与による変動は認められなかった。

着床所見にはいずれの群においても投与の影響はみられなかった。

〔胎児動物〕：

胎児の性比および体重、胎盤重量には、いずれの群にも投与の影響はみられなかった。

外表検査では、500mg/kg 群で肢の異常彎曲が胎児 4 例に観察されたが、これは 1 母動物にのみ発現したものであった。

内臓検査では、奇形として 500mg/kg 群で口蓋裂および水頭症が観察されたが、水頭症の 1 例を除いて 1 母動物に発現したものであった。変異として 500mg/kg 群で 3 例の曲舌（口蓋裂を伴う）が観察されたが、1 母動物に発現したものであった。

骨格検査では、奇形として 500mg/kg 群で頬骨／側頭鱗の短縮、波状鎖骨、橈骨／尺骨の短縮・彎曲および口蓋裂が観察されたが、これらは 1 母動物の胎児に発現したものであった。変異として、500mg/kg 群で第 13 肋骨完全形成の発現頻度増加がみられた。しかしながら、腹発生率は対照群 15/19 例（腹あたり 1～8 胎児）、500mg/kg 群 15/18 例（腹あたり 1～8 胎児）と同程度であることから投与に関連した変化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シンジェンタジャパン株式会社にある。

外表検査、内臓検査および骨格検査で、500mg/kg 群の著しく体重が減少した 1 母動物（妊娠期間中 7 日から 19 日にかけて 549g の体重減少）から奇形/変異が多く観察されたが、母動物への毒性の影響と考えられた。又、500mg/kg 群で他の母動物の胎児 1 例に水頭症が認められたが、無処理胎児でも自然発生的に生じることから S-メトラクロールに催奇形性はないものと判断された。

以上の結果より S-メトラクロールを妊娠ウサギに投与した場合、母動物では 500 および 100mg/kg 群で糞便量の減少/無排泄/軟便の頻度増加が観察され、500mg/kg 群で摂餌量、体重および体重増加量の低下がみられた。500mg/kg 群では 1 例が死亡したが、これはこの動物でみられた顕著な摂餌量低下と体重増加量減少が関連したものであった。

このことから母動物の無毒性量は 20mg/kg/day と考えられた。胎児動物では、500mg/kg 群で母動物への毒性の影響が認められたことから、胎児動物の無毒性量は 100mg/kg/day と判断された。また、S-メトラクロールの胎児に対する催奇形性は認められなかった。

表

投与量(mg/kg/day)		0	20	100	500		
1群当たりの動物数		19	19	19	19		
親	死亡数 ^a	0	2	1 ^f	1		
	一般状態 ^a	糞便: 量減少/無排泄/軟便					
	体重 ^b	(妊娠 14 日)					
		100	101	104	96		
		(妊娠 19 日)					
		100	101	103	92↓		
		(妊娠 29 日)					
		100	100	103	97		
	体重増加量 ^b	(妊娠 7~14 日)					
		100	152	152	-290↓↓		
	(妊娠 14~19 日)						
	100	114	75	-58↓↓			
	(妊娠 19~21 日)						
	100	112	91	227↑			
	(妊娠 21~25 日)						
	100	49	86	194↑↑			
動物	摂餌量 ^b	(妊娠 7 日)					
		100	105	110	45↓↓		
		(妊娠 10 日)					
		100	113	108	67↓↓		
		(妊娠 16 日)					
		100	104	93	30↓↓		
		(妊娠 19 日)					
		100	111	103	52↓↓		
		(妊娠 26 日)					
		100	106	119	158↑		
	(妊娠 28 日)						
	100	105	114	155↑↑			
妊娠数 ^c (率)	19(100)	17(89.5)	17(89.5)	19(100)			
流産数 ^a	0	2	0	0			
全胚吸収母動物数	0	0	0	0			
生存胎児を持つ母動物数	19	15	16	18			
着床所見 ^d (腹当たり)	黄体数	13.2	12.8	13.1	13.2		
	着床数	9.8	7.9	9.0	9.4		
	吸収胚数	1.4	0.7*	0.9	1.4		
	生存胎児数	8.5	7.1	8.1	7.9		
	死亡胎児数	0	0	0	0		
胎児	性比(雄%)	50.3	54.2	51.9	50.3		
	体重 ^a (g)	雄	43.0	43.5	44.4	39.8	
		雌	41.8	44.4	42.3	40.3	
	胎盤重量 ^a	雄	5.7	6.1	6.7*	5.7	
		雌	5.5	6.5	6.5	5.7	
	外表検査	胎児発生率(%)		0/161(0)	0/107(0)	0/129(0)	4/143(2.8)
		腹発生率(%)		0/19(0)	0/15(0)	0/16(0)	1/18(5.6)
		奇形	肢異常弯曲	0	0	0	4 ^e
	内臓検査	胎児発生率(%)		1/161(0.6)	1/107(0.9)	0/129(0)	7/143(4.9)
		腹発生率(%)		1/19(5.3)	1/15(6.7)	0/16(0)	3/18(16.7)
変異		奇形	口蓋裂	0	0	0	4 ^e
		水頭症	0	0	0	2(1 ^e)	
		胸腺頸部残留	1	0	0	0	
		生殖腺位置異常	0	1	0	0	
		腎褪色	0	0	0	1	
	気管狭窄	0	0	0	1 ^c		
	曲舌	0	0	0	3 ^e		

体重、体重増加量および摂餌量については対照群に対する変動率(%)で表した。

a: Mantel の傾向検定、* : p ≤ 0.05

b: Dunnett の多重比較法、↑↓ : p ≤ 0.05、↑↑↓↓ : p ≤ 0.01

c: 傾向検定、* : p ≤ 0.05

d: Dunn の多重比較法、* : p ≤ 0.05

e: 同腹児 (水頭症では1例のみが同腹児)

f: 妊娠 15 日に屠殺(後肢骨折のため)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

投与量(mg/kg/day)		0	20	100	500	
1群当たりの動物数		19	19	19	19	
胎 児	骨 ^a	奇形胎児発生率(%)	0/161(0)	0/107(0)	1/129(0.8)	5/143(3.5)
		腹発生率(%)	0/19(0)	0/15(0)	1/16(6.3)	1/18(5.6)
		脊椎椎体/肋骨無形成	0	0	1	0
		頬骨/側頭鱗短縮	0	0	0	5 ^e
		波状鎖骨	0	0	0	4 ^c
		橈骨/尺骨短縮・弯曲	0	0	0	5 ^c
	肩甲骨弯曲	0	0	0	1 ^e	
	口蓋裂	0	0	0	1 ^e	
	格	変異胎児発生率(%)	114/161(70.8)	61/107(57.0)	86/129(66.7)	104/143(72.7)
		腹発生率(%)	19/19(100)	11/15(73.3)	16/16(100)	18/18(100)
動 物 検 査	変異	舌骨二分	2	0	0	0
		縫合線離開	0	0	0	4
		脊椎椎体過剰	4	1	3	9
		脊椎椎体二分	0	0	1	0
		痕跡状肋骨	22	27	19	16
		第13肋骨完全形成	49	18	29	72 ^{**}
		遊離肋骨	3	0	2	0
		波状肋骨	0	0	0	2
		肋骨二分	0	0	1	0
		胸骨未骨化	40	29	51	28
		胸骨配置異常	25	7	12	9
		胸骨二分	1	3	3	3
		胸骨癒合	1	0	0	0
		中指骨未骨化	1	0	0	1
指骨中節未骨化	0	0	0	2		
踵骨/距骨未骨化	0	0	2	1		
膝蓋骨未骨化	14	11	16	17		
趾骨中節未骨化	0	0	0	2		

a : Mantel の傾向検定、** : $p \leq 0.01$

e : 同腹児

(13) 変異原性

1) S-メトラクロールの細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-24)

試験機関 : Ciba-Geigy Ltd. (スイス国)

報告書作成年 : 1995 年 [GLP 対応]

検体の純度 : %

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラット肝から調製した代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて突然変異誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

1 回目の試験は、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ を最高濃度とし、公比 2 で 312.5~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲の 5 段階濃度で実施した。1 回目の試験において、TA100、TA102、TA1535 および TA1537 株で細胞毒性が観察されたため、2 回目の試験 (確認試験) では、TA100、TA102、TA1535 および TA1537 株では 78.13~1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、TA98 および WP2 uvrA 株では 312.5~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ のそれぞれ 5 段階濃度について実施した。

[用量設定試験] :

試験結果 : 結果を表 1、2 に示す。

本検体処理群では、1 回目および 2 回目 (確認試験) の試験ともに代謝活性化系の存在下および非存在下で、いずれの菌株および濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた NaN_3 、4-NQO、MC、2-NF、9-AA、2-AA、CPA では全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。

菌の生育阻害が TA100、TA1535、TA98 および TA1537 株の高濃度群で観察され、復帰変異コロニー数も濃度の増加に伴って減少がみられたことから、本検体は菌の生育に対して毒性を有するものと考えられる。

以上の結果より、本剤は代謝活性化系の存在下及び非存在下で、復帰変異誘発性を有さないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表 1 1回目試験の結果 (プレート法)

S9 mixの有無	薬物	濃度 (µg/プレート)	復帰変異コロニー数 (コロニー数/プレート)						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			WP2uvrA	TA100	TA102	TA1535	TA98	TA1537	
-	溶媒対照 (DMSO)	-	19 24 (21.00) 20	134 141 (134.67) 129	255 246 (255.00) 264	25 17 (18.67) 14	27 29 (25.67) 21	17 18 (14.67) 9	
	S-メトテカール	312.5	21 27 (23.00) 21	129 127 (129.33) 132	253 237 (241.33) 234	15 13 (14.00) 14	25 13 (18.67) 18	16 14 (17.00) 21	
		625	20 19 (20.00) 21	85 127 (116.33) 137	181 189 (177.67) 163	14 20 (16.00) 14	21 16 (20.33) 24	14 7 (9.67) 8	
		1250	18 19 (17.67) 16	31 25 (27.67) 27	93 92 (94.67) 99	0* 0* (2.00) 6*	16 19 (17.00) 16	7* 2* (4.67) 5*	
		2500	13 16 (14.33) 14	2* 5* (4.00) 5*	13 18 (16.00) 17	6* 3* (5.67) 8*	15* 8* (9.67) 6*	0* 0* (0.00) 0*	
		5000	20 12 (17.33) 20	6* 4* (8.00) 14*	12 4 (6.67) 4	9* 3* (5.67) 5*	18 7 (11.00) 8	0* 0* (0.00) 0*	
		陽性対照	名称	4-NQO	NaN ₃	MC	NaN ₃	2-NF	9-AA
	濃度 (µg/プレート)	2	5	2	5	20	150		
	コロニー数/プレート	618 792 (708.33) 715	1650 1662 (1700.33) 1789	1327 1410 (1398.00) 1457	1327 1268 (1287.67) 1268	1826 2044 (1975.00) 2055	2073 1944 (1987.33) 1945		
	+	溶媒対照 (DMSO)	-	29 27 (30.67) 36	137 123 (133.33) 140	200 216 (212.00) 220	8 8 (11.00) 17	36 39 (35.00) 30	17 14 (15.33) 15
		S-メトテカール	312.5	20 27 (25.00) 28	133 123 (132.00) 140	170 157 (149.33) 121	17 5 (12.67) 16	28 37 (30.67) 27	17 13 (15.67) 17
			625	24 25 (22.67) 19	122 117 (119.67) 120	117 145 (142.33) 165	9 20 (12.67) 9	26 33 (28.33) 26	9 14 (10.67) 9
1250			16 20 (21.00) 27	60 85 (75.00) 80	99 144 (97.00) 78	20 8 (14.33) 15	31 31 (29.67) 27	3* 2* (3.67) 6*	
2500			25 20 (24.00) 27	38 27 (29.67) 24	44 52 (44.00) 36	0* 0* (0.00) 0*	27* 25* (23.67) 19*	8 16 (11.00) 9	
5000			13 8 (12.67) 17	16 13 (15.00) 16	12 7 (8.33) 6	0* 0* (0.00) 0*	17 18* (16.67) 15*	5* 2* (2.67) 1*	
陽性対照			名称	2-AA	2-AA	2-AA	CPA	2-AA	2-AA
濃度 (µg/プレート)		50	2.5	20	400	2.5	2.5		
コロニー数/プレート		1041 1047 (1045.67) 1049	1397 1332 (1346.33) 1310	645 841 (748.67) 760	388 446 (397.00) 357	1865 1671 (1668.33) 1469	212 212 (183.67) 127		

()内は各プレートの平均値

4-NQO : 4-ニトロキノリンオキサイド

NaN₃ : アジ化ナトリウム

2-NF : 2-ニトロフルオレン

MC : マイトマイシン-C

* : 生育阻害

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

CPA : シクロホスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表 2 確認試験の結果 (プレート法)

S9 mixの有無	薬物	濃度 (µg/プレート)	復帰変異コロニー数 (コロニー数/プレート)						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			WP2uvrA	TA100	TA102	TA1535	TA98	TA1537	
-	溶媒対照 (DMSO)	-	19 24 (21.33) 21	133 128 (128.67) 125	245 243 (237.67) 225	21 14 (15.67) 12	21 18 (19.33) 19	12 14 (13.67) 15	
	S-メトラクロール	78.13	nd	105 134 (112.67) 99	231 271 (260.33) 279	19 21 (19.00) 17	nd	6 15 (11.67) 14	
		156.25	nd	122 117 (121.33) 125	255 220 (227.00) 206	12 19 (15.33) 15	nd	4 9 (10.67) 19	
		312.50	21 24 (23.67) 26	109 105 (111.67) 121	221 218 (232.00) 257	16 21 (18.67) 19	19 17 (18.33) 19	12 12 (10.33) 7	
		625.0	16 19 (19.67) 24	124 126 (123.33) 120	200 196 (188.33) 169	24 13 (17.67) 16	20 14 (18.33) 21	9 5 (6.67) 6	
		1250	16 16 (17.33) 20	6* 13* (8.00) 5*	156 180 (169.00) 171	5 12 (9.67) 12	16 14 (15.67) 17	0* 0* (0.00) 0*	
		2500	19 12 (16.67) 19	nd	nd	nd	12 19 (14.33) 12	nd	
		5000	5 21 (11.00) 7	nd	nd	nd	12* 9* (11.33) 13*	nd	
		陽性対照	名称	4-NQO	NaN ₃	MC	NaN ₃	2-NF	9-AA
		濃度 (µg/プレート)	2	5	2	5	20	150	
		コロニー数/プレート	773 816 (771.33) 725	1063 1027 (1022.33) 977	939 929 (923.00) 901	1191 1136 (1150.00) 1123	1393 1520 (1375.00) 1212	2525 2677 (2550.00) 2488	
	+	溶媒対照 (DMSO)	-	30 32 (31.00) 31	123 120 (114.33) 100	341 355 (339.00) 321	17 25 (20.33) 19	41 26 (36.33) 42	4 6 (7.33) 12
		S-メトラクロール	78.13	nd	111 105 (117.67) 137	216 257 (262.67) 315	14 18 (16.67) 18	nd	6 6 (5.33) 4
			156.25	nd	120 126 (119.00) 111	289 261 (267.67) 253	12 16 (13.33) 12	nd	9 3 (5.67) 5
			312.50	25 21 (25.67) 31	98 109 (112.00) 129	285 295 (287.33) 282	15 9 (13.00) 15	42 28 (33.00) 29	7 6 (5.33) 3
			625.0	29 31 (29.00) 27	108 121 (114.33) 114	234 248 (242.33) 245	19 19 (18.00) 16	33 30 (32.00) 33	7* 3* (4.33) 3*
1250			24 28 (25.67) 25	117 87 (101.67) 101	196 232 (220.67) 234	24 9 (15.67) 14	39 32 (36.67) 39	1* 5* (5.00) 9*	
2500			32 16 (24.00) 24	nd	nd	nd	43 38 (37.67) 32	nd	
5000			12 19 (19.00) 26	nd	nd	nd	28 27 (26.67) 25	nd	
陽性対照			名称	2-AA	2-AA	2-AA	CPA	2-AA	2-AA
		濃度 (µg/プレート)	50	2.5	20	400	2.5	2.5	
		コロニー数/プレート	804 798 (806.33) 817	1617 1364 (1372.00) 1135	1291 1804 (1597.67) 1698	320 401 (378.00) 413	1062 1551 (1302.00) 1293	79 85 (93.00) 115	

()内は各プレートの平均値
 4-NQO : 4-ニトロキノリンオキサイド
 2-AA : 2-アミノアントラセン
 9-AA : 9-アミノアクリジン

* : 生育阻害
 MC : マイトマイシン-C
 NaN₃ : アジ化ナトリウム
 2-NF : 2-ニトロフルオレン
 nd : 検査せず
 CPA : シクロホスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

2) メトラクロールのチャイニーズハムスターの CHO 細胞を用いた
in vitro 染色体異常試験

(資料 No.25)

試験機関：Ciba-Gigy Limited (スイス)

報告書作成年：1990 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法：雌チャイニーズハムスターの卵巣由来の CHO 細胞 (CCL61) を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系(S-9mix)の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。溶媒対照として DMSO、陽性対照として S9-mix 存在下ではシクロホスファミドおよび非存在下ではマイトマイシン C を用いた。

[細胞毒性試験 (分裂指数の測定) と濃度選択]；

細胞毒性試験を 1.95~1000 μ g/m 範囲の 10 段階の濃度で実施した。CHO 細胞を 24 時間培養した後に、短時間処理の場合には S-9mix 非存在下および存在下で 3 時間処理し、さらに 21 時間 (回復期間) 培養した後に標本を作製した。また、長時間処理については S-9mix 非存在下で 21 時間処理した後標本を作製した。

各処理系列とも、作製した染色体標本で分裂指数 (細胞 2000 個中の有糸分裂細胞の比率) を求めた。

その結果、短時間処理 (3 時間) については、S-9mix 非存在下では 250 μ g/mL で分裂指数が溶媒対照群に比べて 56.4%低下し、S-9mix 存在下では 125 μ g/mL で分裂指数は溶媒対照群に比べて 35.8%低下し、250 μ g/mL では生存細胞がみられなかった。一方、24 時間長時間処理では、S-9mix 非存在下において 62.5 μ g/mL で分裂指数が溶媒対照群に比べて 68.2%低下した。

この細胞毒性試験結果から、有糸分裂が約 50~80%阻害する最低用量を染色体異常試験の最高濃度とした。

[染色体異常試験]；

分裂指数の顕著な低下がみられた濃度を最高濃度とし、短時間処理 (3 時間処理) の S-9mix 非存在下では 250、125 および 62.5 μ g/mL、S-9mix 存在下では 125、62.5 および 31.25 μ g/mL、長時間処理 (24 時間) の S-9mix 非存在下では 62.5、31.25 および 15.63 μ g/mL を用いて、染色体異常誘発性を調べた。

観察は、検体処理群および溶媒対照群では 200 個、陽性対照群では 50 個の分裂中期像について行った。

以下の基準にしたがい、陽性判定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

- 1) 溶媒対照群と比較して、特異的染色体異常数が顕著に増加した場合、または切断および断片のような他の特異的染色体異常数が高値であるとともに交換の数が増加した場合、
- 2) 染色体異常を有する細胞数の増加に用量相関性がみられた場合

結果：結果を表1に示した。

S-9mix 非存在下における3時間処理では、125 および 62.5µg/mL 濃度で溶媒対照と比較して特異的染色体異常を有する細胞の割合に増加はみられなかった。250µg/mL 濃度では細胞毒性（有糸分裂指数が溶媒対照群の 56.4%低下）により分裂中期像細胞の質が劣っており、異常染色体を有する細胞の割合が 4%であった。しかし、これらの所見は、溶媒対照背景データの範囲内（特異的染色体異常を有する細胞の割合 0～5%：1989年5月～8月に試験を開始した 15 試験）にあった。

S-9mix 存在下における3時間処理およびS-9mix 非存在下における24時間処理では、異常染色体を有する細胞の割合(%)および異常染色体数は溶媒対照と同等であった。

一方、陽性対照のシクロホスファミドは S-9mix 存在下で、マイトマイシン C は S-9mix 非存在下で、染色体異常を有する細胞が高頻度で認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下で、染色体異常誘発性を有さないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

3) 小核試験

S-メトラクロールのマウス骨髄細胞を用いた小核試験 (資料 No.T-26)
試験機関 : Ciba-Geigy Ltd. (スイス国)
報告書作成年 : 1995 年 [GLP 対応]

検体の純度 : %

試験動物 : Tif:MAGF マウス

用量設定試験 : 1 群雌雄各 1 匹 (体重 ; 雄 30~39g、雌 24~28g)

小核試験 : 1 群雌雄各 5 匹 (体重 ; 雄 27~34g、雌 23~28g)

試験方法 : 検体を落花生油に懸濁し、500、1000 および 2000mg/kg の用量で 5 匹のマウスに 1 回経口投与した。2000mg/kg 群では 16、24 および 48 時間後に、500 および 1000mg/kg 群では 24 時間後に屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取して骨髄塗沫標本を作製した。

陽性対照としてシクロホスファミドを用いた。

〔用量設定根拠〕 :

観察項目 : 各動物あたり 1000 個の多染性赤血球について小核の有無を観察したほか、多染性赤血球と正染性赤血球の比率を 1000 個の赤血球について計測した。

試験結果の評価については、被験物質投与群の小核を有する多染性赤血球の出現頻度が陰性対照値の許容範囲 (0.2%) を越えており、かつ陰性対照値に比較して統計学的有意差が認められた場合に陽性と判定した。

試験結果 : 結果を表 1 に示す。

小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、いずれの検体投与群においても、溶媒対照と比較して有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度は明らかに増加し、溶媒対照に比較して統計学的に有意差が認められた。

以上の結果より、本剤は本試験条件下において染色体異常誘発性は陰性と判断される。

表1. 小核試験結果

処理時間 (h)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	多染性赤血球数 ^{a)}	p/n 比	小核を有する多染性赤血球数 ^{b)}	小核を有する多染性赤血球率(%)
16	溶媒対照 ^{c)}		雄	466	0.87	5	0.10
			雌	479	0.92	3	0.06
	S-メトラクロール	2000	雄	458	0.84	4	0.08
			雌	427	0.74	3	0.06
24	溶媒対照 ^{c)}		雄	453	0.83	2	0.04
			雌	443	0.79	4	0.08
	S-メトラクロール	500	雄	454	0.83	5	0.10
			雌	459	0.85	9	0.18
		1000	雄	447	0.81	2	0.04
			雌	481	0.93	6	0.12
		2000	雄	456	0.84	4	0.08
			雌	450	0.82	4	0.08
	陽性対照 ^{d)}	64	雄	462	0.86	79	1.58*
			雌	470	0.89	75	1.50*
48	溶媒対照 ^{c)}		雄	435	0.77	2	0.04
			雌	444	0.80	5	0.10
	S-メトラクロール	2000	雄	441	0.79	4	0.08
			雌	452	0.82	4	0.08

a) : 赤血球 1000 個当たり (5 匹の平均値)

b) : 赤血球 5000 個当たり (5 匹の合計値)

c) : 落花生油

d) : シクロホスファミド

p : 多染性赤血球

n : 正染性赤血球

* : カイ二乗検定、 $p < 0.05$

4) DNA 損傷

S-メトラクローールのラット肝細胞を用いた *in vivo* / *in vitro* 不定期 DNA 合成試験

(資料 No.T-27)

試験機関：Ciba-Geigy Ltd. (スイス国)

報告書作成年：1995 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験動物：Sprague-Dawley 系ラット雌雄 (Tif:RAI(SPF))、1 群雌雄各 3 匹

体重範囲：152～348g

試験方法：

1. 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 [生体内-器官培養併用法]

検体を落花生油に懸濁し、500 および 1500mg/kg の用量を単回経口投与し、投与後 2 時間および 15 時間で屠殺した。屠殺ラットより分離した肝細胞に ^3H -チミジンを添加し、一晚培養し、オートラジオグラフィ法により UDS を測定した。各動物 2 枚のスライド標本から合計 100 個の細胞を調べ、DNA 損傷による不定期 DNA 合成 (^3H -チミジンの取込み) の誘導を核あたりの銀粒子数で評価した。

以下の条件のうち少なくとも 1 つを満たし、再現性が認められた場合に陽性とした。

- ・核あたりの平均銀粒子数および平均正味銀粒子数が、溶媒対照と比較して増加し、かつ核あたりの平均銀粒子数が 2.0 以上である場合。
- ・核あたりの平均銀粒子数および平均正味銀細粒子数から修復が起っていたと判断される核の割合が、溶媒対照と比較して、明らかに上昇し、用量依存性または再現性が認められる場合は陽性と判定する。

2 時間処理群の陽性対照として、ジメチルニトロソアミン (DMN) を用いた。

2. 複製 DNA 合成 (RDS) 試験

検体を落花生油に懸濁し、雄には 500、1500 および 5000mg/kg、雌には 500、1500 および 3200mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 38 時間で屠殺した。屠殺したラットより肝細胞を分離し、 ^3H -チミジンを添加し、一晚培養し、オートラジオグラフィ法により RDS を測定した。各動物 3 枚のスライド標本から合計 3000 個の細胞を調べ、DNA 合成期 (S 期) の細胞数 (銀粒子数 120 個以上) を測定した。また、UDS 試験に用いた検体投与後 15 時間で分離した肝細胞についても RDS を測定した。

陽性対照として、4-アセトアミノフルオレン (4-AAF) を用いた。

[用量設定試験] :

試験結果：結果を表 1 および表 2 に示した。

1. 不定期 DNA 合成(UDS)試験 [生体内-器官培養併用法] (表 1)

いずれの濃度でも核あたりの銀粒子数および正味銀粒子数は溶媒対照と比較して、顕著な差は認められなかった。また、修復細胞率にも溶媒対照と比較して顕著な差は認められなかった。

一方、陽性対照の DMN では、核あたりの平均銀粒子数および正味銀粒子数とも顕著な増加が認められ、修復細胞率にも明瞭な増加が認められた。

2. 複製 DNA 合成(RDS)試験 (表 2)

5000mg/kg 群雄(38 時間)では S-期細胞の発現率に約 16 倍の増加が認められた。1500mg/kg 群雌では 15 時間および 38 時間ともに S-期細胞の発現率にそれぞれ 24 倍および 12 倍の増加が認められた。同群雄では 38 時間で約 5 倍の増加が認められたが、15 時間では差は認められなかった。500mg/kg 群の雌雄には 15 時間および 38 時間ともに影響は認められなかった。尚、3200mg/kg 群雌からは、測定可能な細胞が得られなかった。

一方、陽性対照の 4-AAF では S-期細胞の発現率に増加が認められた。

以上より、本剤はラット肝細胞に対して DNA 損傷誘発性を有さないものと判断された。

また、1500mg/kg 投与後 38 時間の雌雄および投与後 15 時間の雌で複製 DNA 合成 (RDS) の誘導がみられた。

表 1. 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験結果

投与後 時間	性別	薬物	投与量 (mg/kg)	核あたりの 銀粒子数	細胞質 銀粒子数	核あたりの 正味銀粒子数	修復細胞 正味銀粒子数	修復細胞率 %
2hr	雄	溶媒対照	—	2.72	2.74	-0.02	2.7	13.7
		検体	500	4.02	4.76	-0.74	3.3	15.0
			1500	3.42	3.72	-0.29	3.2	13.7
		陽性対照	15	35.85	4.03	31.82	31.9	99.7
	雌	溶媒対照	—	2.58	2.54	0.04	2.9	14.0
		検体	500	3.69	2.66	1.03	3.6	29.0
			1500	3.11	2.82	0.28	3.1	19.0
		陽性対照	15	17.00	3.80	13.20	13.3	99.3
15hr	雄	溶媒対照	—	3.05	3.89	-0.83	3.2	7.3
		検体	500	3.65	5.68	-2.03	4.4	6.0
			1500	4.33	5.66	-1.33	3.3	9.3
	雌	溶媒対照	—	2.31	2.32	-0.01	3.2	8.3
		検体	500	3.44	3.80	-0.36	2.7	13.7
			1500	2.82	2.57	0.25	3.0	13.0
		陽性対照	15	17.00	3.80	13.20	13.3	99.3

値は 3 匹の平均値を示す。各動物は 2 スライド計 100 個の細胞 (細胞 50 個/スライド) を計測した。
 溶媒対照: 落花生油 陽性対照: ジメチルニトロソアミン (DMN)

表 2. 複製 DNA 合成 (RDS) 試験結果

性別	薬物	投与量 (mg/kg)	S 期細胞発現頻度		S 期細胞率 (%)	
			投与 15 時間	投与 38 時間	投与 15 時間	投与 38 時間
雄	溶媒対照	—	6	34	0.07	0.57
	検体	500	7	41	0.08	0.51
		1500	6	217	0.07	3.01
		5000a	nd	275	nd	9.17
	陽性対照	1000	nd	492	nd	5.66
雌	溶媒対照	—	10	33	0.18	0.37
	検体	500	22	32	0.24	0.36
		1500	396	407	4.40	4.52
	陽性対照	1000	nd	822	nd	10.15

溶媒対照: 落花生油 nd: 実施せず
 S 期細胞発現頻度は 3 匹の合計、S 期細胞率 (%) は 3 匹の平均値を示す
 a: 雄の 5000mg/kg 群は 1 匹のみ実施
 各動物は 3 スライド計 3000 個 (可能な限り) の細胞を計測した
 陽性対照: 4-アセトアミノフルオレン (4-AAF)

(14) 生体機能への影響

S-メトラクロールおよびメトラクロールの一般薬理試験

(資料 No. T-28)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

報告書作成年：1998年

検体の純度：S-メトラクロール %
メトラクロール %

1) 中枢神経系に対する作用

(1) マウスにおける一般状態

供試動物：ICR系マウス雄(5週齢) 体重28.3~35.2g、1群3匹

方法：S-メトラクロールならびにメトラクロールを0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁して、0、30、100、300および1000mg/kgを経口投与した。投与0.5、1、2、4および24時間後にIrwin法に準じて一般状態を観察した。なお、投与2、3、4および7日後に毒性症状と死亡の有無を観察した。

<用量設定>：

結果：主な結果を以下に示した。

マウスの一般状態では、S-メトラクロールの300mg/kg投与で興奮症状と抑制症状を、1000mg/kg投与で抑制症状が観察され、メトラクロールの100mg/kg以上の投与で興奮症状と抑制症状が観察された。

投与量 (mg/kg)	S-メトラクロール	メトラクロール
30	影響なし	影響なし
100	影響なし	投与30分後に蝕刺激反応亢進および軟便、1時間後に閉眼が観察された。症状は投与2時間後には全て消失した。
300	投与30分後より探索行動の亢進/抑制および流涎、30分~2時間後に閉眼が観察された。症状は投与3時間後には全て消失した。	投与30分後に恐怖からの回避反応亢進、蝕刺激反応亢進、四肢筋緊張度低下および流涎、30~1時間後には自発運動抑制、異常姿勢、閉眼および立毛が観察された。症状は投与2時間後には全て消失した。
1000	投与30分後より痙攣、四肢位置の異常、散瞳、流涎、流涙、立毛および体温低下、30分~1時間後に疼痛反応抑制、30分~2時間後に探索行動抑制および閉眼、投与1時間後にとんぼ返り反射抑制、1~2時間後に自発運動抑制および四肢筋緊張度低下が観察された。症状は投与3時間後には全て消失した。	投与15分後に1例が死亡した。投与30分後に疼痛反応抑制、挙尾、攣縮、痙攣、異常姿勢、四肢位置の異常、体幹緊張度低下、流涎および流涙、30分~1時間後に探索行動低下、四肢筋緊張度低下、握力低下、閉眼および体温低下、1時間後に蝕刺激反応抑制、30分~2時間後に立毛、30分~3時間後に散瞳、30分~4時間後に自発運動抑制が観察された。症状は投与24時間後には全て消失した。

(2) ラットにおける一般状態

供試動物 : Wistar 系ラット (雄) 5 週齢、体重 151.7~181.8 g、1 群 3 匹

方 法 : S-メトラクロールならびにメトラクロールを 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC)水溶液に懸濁して、0、30、100、300、1000 および 3000(S-メトラクロール) mg/kg を経口投与した。投与 0.5、1、2、4、6、8 および 24 時間後に Irwin 法に準じて一般状態を観察した。

<用量設定> :

結 果 : 結果を以下に示した。

ラットの一般状態は下表に示した如く、S-メトラクロールでは 1000mg/kg 投与で流涎、3000mg/kg 投与で自発運動の抑制などの抑制症状が観察され、一方、メトラクロールでは 1000mg/kg 投与で興奮症状が観察された。

投与量 (mg/kg)	S-メトラクロール	メトラクロール
30	影響なし	影響なし
100	影響なし	影響なし
300	影響なし	影響なし
1000	投与 30 分後に流涎が観察された。	投与 30 分後に蝕刺激反応亢進が観察された。
3000	投与 4 時間後に 1 例が死亡した。 投与 30 分後から探索行動抑制、自発運動抑制、異常姿勢、閉眼、流涎、2 時間後からとんぼ返り反射抑制、体温低下、皮膚の赤色化、3 時間後から流涎、痙攣、四肢位置異常、異常歩行、四肢筋緊張度低下および散瞳が観察された。症状は 24 時間後には消失した。	—

(3) マウスにおける睡眠時間に対する作用

試験動物 : ICR 系マウス (雄) 5 週齢、体重 27.9~33.5 g、1 群 8 匹

方 法 : S-メトラクロールを 0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁して、0、100、300 および 1000 mg/kg を経口投与した。投与 1 時間後にヘキソバルビタール 80mg/kg を腹腔内投与し、正向反射消失から再現までの時間を測定した。

<用量設定> :

結 果：結果を以下に示した。

投与量 (mg/kg)	S-メトラクロール
100	影響なし
300	影響なし。
1000	投与1時間以内に2例が死亡し、有意な睡眠延長傾向が認められた。

(4)マウスにおける痙攣誘発作用 (電撃痙攣)

試験動物 : ICR系マウス (雄) 5週齢、体重 27.8~32.8 g、1群10匹

方 法:S-メトラクロールを0.5%カルボキシメチルセルローズ(CMC)水溶液に懸濁して、0、30、100および300 mg/kgを経口投与した。投与1時間後に角膜に痙攣誘発閾値よりやや低い電気刺激を与え、強直性屈曲、間代性あるいは強直性進展の各痙攣および昏睡の有無を観察した。

<用量設定> :

結 果：いずれの投与量においても、マウスにおける電撃痙攣誘発作用に対して影響は認められなかった。

(5)ラットの正常体温に対する作用

試験動物 : Wistar系ラット (雄) 6週齢、体重 189.2~222.0 g、1群6匹

方 法:S-メトラクロールを0.5%カルボキシメチルセルローズ(CMC)水溶液に懸濁して、0、100、300および1000 mg/kgを経口投与した。S-メトラクロール投与前、投与0.5、1、2および4時間後に直腸温を測定した。

<用量設定> :

結 果：いずれの投与量においてもラットの正常体温に対して影響は認められなかった。

2) 呼吸・循環器系に対する作用

(1)ウサギの呼吸、血圧、心拍数および心電図に対する作用

試験動物 : 日本白色種ウサギ (雄) 12~16週齢、体重 2383~3257 g、1群4匹

方 法:S-メトラクロールを0.5%カルボキシメチルセルローズ(CMC)水溶液に懸濁して、0、100、300および1000 mg/kgをカテーテルを用いて十二指腸内に投与した。S-メトラ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

クロール投与前、投与 0.5、1、2 および 4 時間後に呼吸流量計で呼吸数と 1 回換気量を、圧トランジューサーで血圧を、心拍計で心拍数を測定し、心電図は四肢第Ⅱ誘導法で記録した。

<用量設定> :

結 果 : いずれの投与量においても麻酔ウサギの呼吸数、換気量、平均血圧、心拍数および心電図波形に影響は認められなかった。

3) 自律神経系および平滑筋に対する作用

(1) ラットの瞳孔径に対する作用

試験動物 : Wistar 系ラット (雄) 5 週齢、体重 161.9~189.5 g、1 群 6 匹

方 法 : S-メトラクロールを 0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁して、0、100、300 および 1000 mg/kg を経口投与した。S-メトラクロール投与前、投与 0.5、1、2 および 4 時間後に実体顕微鏡を用いて瞳孔径を測定した。

<用量設定> :

結 果 : いずれの投与量においてもラットの瞳孔径に対して影響は認められなかった。

(2) モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物 : Hartley モルモット (雄) 8~9 週齢、体重 507.2~544.5 g、1 群 4 例

方 法 : モルモットの回腸を摘出し、Krebs 液中に負荷 0.5g で懸垂し、等張性を記録した。収縮薬としてアセチルおよびヒスタミンを $1 \times 10^{-9} \text{M} \sim 1 \times 10^{-4} \text{M}$ まで累積的に添加して、各収縮反応に対する S-メトラクロールの影響を検討した。S-メトラクロールは 3×10^{-7} 、 3×10^{-6} および $3 \times 10^{-5} \text{g/mL}$ を適用した。

<用量設定> :

結 果 : 結果を以下に示した。

投与量 (g/mL)	アセチルコリン	ヒスタミン
3×10^{-7}	影響なし	影響なし
3×10^{-6}	$3 \times 10^{-8} \sim 3 \times 10^{-7} \text{M}$ の収縮を有意に抑制。	$3 \times 10^{-8} \sim 3 \times 10^{-7} \text{M}$ の収縮を有意に抑制。
3×10^{-5}	$3 \times 10^{-9} \sim 3 \times 10^{-5} \text{M}$ の収縮を有意に抑制。	$1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-4} \text{M}$ の収縮を有意に抑制。 $1 \times 10^{-4} \text{M}$ の最大収縮も有意に低下(57%)。

4) 消化器系に対する作用

(1)マウスの腸管輸送能に対する作用

供試動物 : ICR系マウス(雄) 5週齢、体重23.2~29.3g、1群8匹

方 法:S-メトラクロールを0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁して、0、30、100および300mg/kgを経口投与した。投与1時間後に5%アラビアゴム液となるよう懸濁した5%炭末懸濁液を経口投与した。30分後に頸椎脱臼によりマウスを致死させ、腸管内の炭末輸送状態を観察した。腸管輸送能は十二指腸起始部から炭末到達先端までの長さを測定し、小腸全長に対する輸送率を算出し、腸管輸送能とした。

<用量設定> :

結 果 : いずれの投与量においても腸管輸送能に対する影響は認められなかった。

5) 骨格筋に対する作用

(1)ラットの横隔膜神経筋標本に対する作用

供試動物 : Wistar系ラット(雄) 7週齢、体重251.7~284.7g、1群4例

方 法:ラットの横隔膜を横隔膜神経とともに摘出し、Krebs液中に負荷1.0gで懸垂し、神経および筋肉に電極を装着し刺激した。溶媒対照、S-メトラクロール 3×10^{-7} 、 3×10^{-6} および 3×10^{-5} g/mLを5分以上の間隔で累積添加し、横隔膜収縮の変化を観察した。

<用量設定> :

結 果 : 結果を以下に示した。

投与量 (g/mL)	S-メトラクロール
3×10^{-7}	影響なし
3×10^{-6}	影響なし
3×10^{-5}	横隔膜神経および筋刺激による横隔膜の収縮を約20%有意に増大

6) 血液に対する作用

(1)血液凝固に対する作用

供試動物 : Wistar系ラット(雄) 7週齢、体重278.8~315.6g、1群6匹

方 法:S-メトラクロールを0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁して、0、100、300および1000mg/kgを経口投与した。投与1時間後にペントバルビタール・

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

ナトリウム麻酔下に腹部大静脈から採血し、その血漿を用いて、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

<用量設定> :

結 果 : いずれの投与量においても血液凝固に対する影響は認められなかった。

(2)溶血作用

供試動物 : Wistar系ラット(雄) 7週齢、体重278.8~315.6g、1群6匹

方 法 : S-メトラクロールを0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁して、0、100、300および1000mg/kgを経口投与した。投与1時間後にペントバルビタール・ナトリウム麻酔下に腹部大静脈から採血し、その血漿を用いて、波長540nmにおける吸光度を測定した。

<用量設定> :

結 果 : いずれの用量においても溶血作用は認められなかった。

以上のことから、S-メトラクロールは300mg/kg以上で中枢神経系に対する興奮と抑制がみられ、1000mg/kgでヘキシバルビタール睡眠時間の延長、 3×10^{-6} g/mL以上でアセチルコリンおよびヒスタミンによる回腸収縮の抑制、 3×10^{-5} g/mLで神経および筋直接刺激による横隔膜収縮の増大が認められた。また、一般状態に及ぼす影響は、マウスではS-メトラクロール300mg/kg投与で興奮症状と抑制症状が、1000mg/kg投与で抑制症状が観察され、メトラクロール100mg/kg以上の投与で興奮症状と抑制症状が観察された。ラットではS-メトラクロール1000mg/kg投与で流涎、3000mg/kg投与で自発運動の抑制などの抑制症状が、一方、メトラクロール1000mg/kg投与で興奮症状のみが観察された。このように、一般状態に及ぼす影響にはS-メトラクロールとメトラクロールとの間に症状の明らかな違いはみられなかった。しかしながら、感受性に関してはS-メトラクロールとメトラクロールともにマウスの方がラットに比して高い感受性を示し、またマウスではS-メトラクロールに比してメトラクロールで低い用量から症状が観察された。従って、S-メトラクロールの方がメトラクロールに比較して症状は弱いと考えられる。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (動物)		投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無影響量 (mg/kg)	影響量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	一般状態	Irwin法 (マウス)	経口 (CMC)	S-メタクロール: 30、100、 300、1000	雄 3	100	300	痙攣、探索行動・自発運動・疼痛反応・とんぼ返り反射の抑制、散瞳、閉眼、流涎、流涙、立毛、体温低下
				メタクロール: 30、100、 300、1000	雄 3	30	100	挙尾、痙攣、探索行動・自発運動・触刺激反応・疼痛反応の抑制、散瞳、閉眼、流涎、流涙、立毛、体温低下
	状態	Irwin法 (ラット)	経口 (CMC)	S-メタクロール: 30、100、 300、1000 3000	雄 3	300	1000	探索行動・自発運動・とんぼ返り反射の抑制、閉眼、流涎、流涙、体温低下
				メタクロール: 30、100、 300、1000	雄 3	300	1000	触刺激反応の亢進
	睡眠時間 (マウス)	経口 (CMC)	100、 300、1000	雄 8	300	1000	ヘキソバルビタール睡眠時間延長	
	痙攣誘発作用 (電撃、マウス)	経口 (CMC)	30、100、 300	雄 10	300	—	影響なし	
	正常体温 (ラット)	経口 (CMC)	100、 300、1000	雄 6	1000	—	影響なし	
	呼吸・循環器系	呼吸数 (ウサギ、麻酔)	十二指腸内投与 (CMC)	100、 300、1000	雄 4	1000	—	影響なし
		血圧 (ウサギ、麻酔)	十二指腸内投与 (CMC)	100、 300、1000	雄 4	1000	—	影響なし
		心拍数 (ウサギ、麻酔)	十二指腸内投与 (CMC)	100、 300、1000	雄 4	1000	—	影響なし
心電図 (ウサギ、麻酔)		十二指腸内投与 (CMC)	100、 300、1000	雄 4	1000	—	影響なし	
自律神経系	瞳孔径 (ラット)	十二指腸内投与 (CMC)	100、 300、1000	雄 6	1000	—	影響なし	
	摘出回腸 (モルモット)	<i>in vitro</i> (エタノール)	3×10^{-7} 、 3×10^{-6} 、 3×10^{-5} g/mL	雄 4	3×10^{-7} g/mL	3×10^{-6} g/mL	アセチルコリンおよびヒスタミンによる収縮を抑制	
消化器系	腸管輸送能 (マウス)	経口 (CMC)	30、100、 300	雄 8	300	—	影響なし	
骨格筋	懸垂動作 (ラット)	<i>in vitro</i> (エタノール)	3×10^{-7} 、 3×10^{-6} 、 3×10^{-5} g/mL	雄 4	3×10^{-6} g/mL	3×10^{-5} g/mL	横隔膜神経および筋刺激による横隔膜の収縮を増大	
血液	血液凝固能 (ラット)	経口 (CMC)	100、 300、1000	雄 6	1000	—	影響なし	
	溶血性 (ラット)	経口 (CMC)	100、 300、1000	雄 6	1000	—	影響なし	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(15) 作用機序試験

(資料 No. T-29)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(資料 No.T-30)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジュンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

2. 製 剤

2-1. S-メトラクロール乳剤

(1) 急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.FT-01)

試 験 機 関：Hazleton Inc. (米国)

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検 体：S-メトラクロール乳剤

[組成] S-メトラクロール 83.7%
有機溶剤、界面活性剤等 16.3%

試験動物：Sprague-Dawley系ラット (CrI:CD(SD)BR)、1群雌雄各5匹、
開始時体重；雄 246g～299g、雌 218g～285g

試験期間：14日間観察

試験方法：未希釈の検体を17～20時間絶食させた動物に単回経口投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。

体重は試験開始前、投与後7日および14日に測定し、死亡動物および試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経 口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000、5000	500、1000、2000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000	2515
死亡開始時間 及び終了時間	死亡開始：2日後 死亡終了：3日後	死亡開始：2.5時間後 死亡終了：2日後
症状発現時間 及び消失時間	症状発現：1時間後 症状消失：8日後	症状発現：1時間後 症状消失：7日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	500

中毒症状として、よろめき歩行、振せん、運動量減少、強直性痙攣、虚脱、顔面潮紅、散瞳、過度の流涎、呼吸困難、流涙、軟／水様便および尿生殖器領域の暗色または黄色の着色が認められた。強直性痙攣、振せん、虚脱、散瞳および呼吸困難などの症状は、試験期間中に死亡した1000または5000mg/kg群の雌のみに認められた。生存したすべての雄は投与8日後までに、雌は7日後までに回復した。5000mg/kg群の雌1例で最後の週に体重減少が認められた以外、体重変化に異常は認められなかった。

剖検では、死亡動物に胃腸管の内容物（おそらく摂取物と混合した検体）が認められた。

2) マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 No.FT-02)

試験機関：Covance Lab. Inc. (米国)

報告書作成年：1998年 [GLP 対応]

検 体：S-メトラクロール乳剤

[組成] S-メトラクロール 83.7%
有機溶剤、界面活性剤等 16.3%

試験動物：ICR系マウス (Ctrl:CD-1(ICR)BR)、1群雌雄各5匹、

開始時体重；雄 24.4g~29.9g、雌 25.4g~29.9g、

試験期間：14日間観察

試験方法：検体を未希釈のままあるいは蒸留水で希釈して、4~5時間絶食させた動物に単回経口投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。

体重は試験開始前、投与後7日および14日に測定し、死亡動物および試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経 口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	1000、3000、5000	
LD ₅₀ (mg/kg)	3873	
死亡開始時間 及び終了時間	死亡開始：0.5時間後 死亡終了：2日後	
症状発現時間 及び消失時間	症状発現：0.5時間後 症状消失：6日後	症状発現：0.5時間後 症状消失：1日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1000	

中毒症状として、自発運動の低下、虚脱、強直性痙攣、斜視、粗毛および振せんが認められたが、生存した全ての雄は6日後までに、雌は1日後までに回復した。1000mg/kg群の雌2例および3000mg/kg群の雌2例で試験2週時に軽度な体重の減少が認められた以外、体重変化に異常は認められなかった。剖検では、死亡動物に胃および十二指腸の検体と思われる内容物が認められた。

3) ウサギを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No.FT-03)

試験機関：Hazleton Inc. (米国)

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体：S-メトラクロール乳剤

[組成] S-メトラクロール 83.7%
有機溶剤、界面活性剤等 16.3%

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、約14～18週齢、1群雌雄各5匹、
開始時体重；雄 2425～2528g、雌 2260～2473g

試験期間：14日間観察

試験方法：投与前日に刈毛した背部の皮膚に未希釈の検体を24時間貼付した。貼付除去後、
皮膚を水道水で洗浄した。

試験項目：中毒症状、皮膚刺激性の有無および生死を14日間観察した。体重は投与時、投与
後7および14日目に測定し、試験終了時に全動物について肉眼的病理検査を行っ
た。

結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現及び 消失時期	症状発現なし	
中毒症状の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

全ての動物について、中毒症状は認められなかった。試験2週目に軽度の体重減少
を示した雌2匹を除いて、体重変化に異常は認められなかった。

皮膚反応として全ての動物に中等度から重度の皮膚刺激が認められた。

剖検では、異常は認められなかった。

(2) 皮膚および眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.FT-04)

試験機関：Hazleton Inc. (米国)

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検 体：S-メトラクロール乳剤

[組成] S-メトラクロール 83.7%
有機溶剤、界面活性剤等 16.3%

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雌雄各3匹、
開始時体重：2283~2666g

試験期間：14日間観察

試験方法：未希釈の検体 0.5mL を剃毛した動物の背部に塗布し、処理部をガーゼパッチで覆った。暴露 4 時間後、パッチを除去し、適用部位を水道水と混合した液体石けんで洗浄した。

試験項目：適用 4、24、48、72、96 時間後および 7、14 日後に、貼付部位の刺激性変化（紅斑および浮腫）を観察し、Draize 法に従って採点した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は、次表の通りである。

動物 番号	刺激性 反応	最高 評点	投 与 後 時 間						
			4 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	7 日	14 日
F58932	紅 斑	4	1	1	1	1	0	0	0
	浮 腫	4	1	1	0	0	0	0	0
F58933	紅 斑	4	1	0	0	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0
F58934	紅 斑	4	1	1	1	1	1	1	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0
F58935	紅 斑	4	1	0	0	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0
F58936	紅 斑	4	1	1	1	1	1	0	0
	浮 腫	4	1	0	0	0	0	0	0
F58937	紅 斑	4	1	0	0	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0
合計	紅 斑	24	6	3	3	3	2	1	0
	浮 腫	24	2	1	0	0	0	0	0
平均	紅 斑	4	1	0.5	0.5	0.5	0.33	0.17	0
	浮 腫	4	0.33	0.17	0	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジュンタジャパン株式会社にある。

紅斑（非常に軽度）および浮腫（非常に軽度）が観察されたが、この刺激性変化は 14 日後までに消失した。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を有すると判断された。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.FT-05)

試験機関：Hazleton Inc. (米国)

報告書作成年：1996年 [GLP対応]

検体：S-メトラクロール乳剤

「組成」	S-メトラクロール	83.7%
	有機溶剤、界面活性剤等	16.3%

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、非洗眼雌雄各 6 匹、洗眼群雌 3 匹、
開始時体重 2448～2798g

試験期間：96 時間観察（非洗眼群は 14 日間）

試験方法：末希釈の検体 0.1mL を右眼に点眼し、投与後検体のこぼれを防ぐため約 1 秒間閉眼させた。
洗眼群は、投与 30 秒後から 60 秒間に微温水道水で洗眼した。
なお、左眼は無処置対照とした。

試験項目：洗眼群は適用 1、24、48、72、96 時間後に、非洗眼群は適用 1、24、48、72、96 時間および 7、14 日後に、眼の損傷および刺激性を観察し、Draize 法に従い採点した。

結果：観察された刺激性変化の評点は表 1 および表 2 のとおりである。

非洗眼群では、軽度な角膜混濁、虹彩の異常、結膜発赤、結膜浮腫および分泌物が認められたが、投与後 14 日までに消失した。

洗眼群でも、軽度な角膜混濁、虹彩の異常、結膜発赤、浮腫および分泌物が観察されたが、投与後 96 時間までに消失した。

非洗眼群の評点平均値の最大値は 32.2、洗眼群の評点平均値の最大値は 17.3 であり、明らかな洗眼効果が認められた。

以上の結果から、本剤はウサギの眼に対し強い刺激性があると判断された。また、明らかな洗眼効果が観察された。

表 1. 非洗眼群の結果

処置/ 動物番号	項 目		最高 評点	投与後時間および評点							
				1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	7日	14日	
非洗眼群	動物 F 58953	角膜	混濁程度	4	1	1	1	1	0	0	0
			混濁範囲	4	2	2	1	1	0	0	0
		虹 彩		2	1	1	1	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	2	2	2	1	1	1	0
			浮 腫	4	2	1	1	1	0	0	0
			分泌物	3	3	1	0	0	0	0	0
	動物 F 58954	角膜	混濁程度	4	1	1	1	1	0	0	0
			混濁範囲	4	2	4	2	1	0	0	0
		虹 彩		2	1	1	1	1	1	0	0
		結膜	発 赤	3	2	2	2	1	1	1	0
			浮 腫	4	2	2	2	1	1	1	0
			分泌物	3	3	2	1	0	0	0	0
	動物 F 58955	角膜	混濁程度	4	1	1	1	0	0	0	0
			混濁範囲	4	2	3	1	0	0	0	0
		虹 彩		2	1	1	1	1	1	0	0
結膜		発 赤	3	2	2	2	2	2	1	0	
		浮 腫	4	3	2	2	2	1	1	0	
		分泌物	3	3	3	2	1	0	0	0	
動物 F 58956	角膜	混濁程度	4	1	1	0	0	0	0	0	
		混濁範囲	4	3	1	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	1	1	1	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	2	2	2	1	1	0	0	
		浮 腫	4	2	2	2	1	1	0	0	
		分泌物	3	3	1	0	0	0	0	0	
動物 F 58957	角膜	混濁程度	4	1	1	0	0	0	0	0	
		混濁範囲	4	3	1	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	1	1	1	1	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	2	2	2	1	1	0	0	
		浮 腫	4	2	1	1	0	0	0	0	
		分泌物	3	3	0	0	0	0	0	0	
動物 F 58958	角膜	混濁程度	4	1	1	1	0	0	0	0	
		混濁範囲	4	3	3	2	0	0	0	0	
	虹 彩		2	1	1	1	1	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	2	2	2	2	1	0	0	
		浮 腫	4	3	3	3	1	1	0	0	
		分泌物	3	3	2	2	1	0	0	0	
合 計*			660	193	164	116	62	32	10	0	
平 均			110	32.2	27.3	19.3	10.3	5.3	1.7	0	

* : [(混濁程度 × 混濁範囲) × 5] + [虹彩評点 × 5] + [(発赤 + 浮腫 + 分泌物) × 2]

表 2. 洗眼群の結果

処 置	項 目	最高 評点	投与後時間および評点							
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	7 日	14 日	
洗眼群 (3 匹平均)	角膜	混濁程度	4	1.00	0	0	0	0	—	—
		混濁範囲	4	1.00	0	0	0	0	—	—
	虹 彩		2	1.00	0.33	0	0	0	—	—
	結膜	発 赤	3	2.00	2.00	1.00	0.33	0	—	—
		浮 腫	4	1.00	1.00	0.67	0	0	—	—
		分泌物	3	0.67	0	0	0	0	—	—
	合 計*		330	52	23	10	2	0	—	—
	平 均		110	17.3	7.7	3.3	0.7	0	—	—

* : [(混濁程度 x 混濁範囲) x 5] + [虹彩評点 x 5] + [(発赤 + 浮腫 + 分泌物) x 2]

— : 実施せず

(3) 皮膚感作性

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Closed patch 法) (資料 No.FT-06)

試験機関 : Hazleton Inc. (米国)

報告書作成年 : 1996 年 [GLP 対応]

検体 : S-メトラクロール乳剤

[組成]	S-メトラクロール	83.7%
	有機溶剤、界面活性剤等	16.3%

試験動物 : Crl:(HA)BR 系白色モルモット、1 群雄 10 匹、試験開始時体重 : 429g~533g

観察期間 : 48 時間

試験方法 : Closed patch 法を用いた。

投与量設定根拠 :

誘導 ; 末希釈の検体 0.4mL を 1 週間毎に 3 回、左側背部に 6 時間閉塞貼付した。また、対照群は無処理とした。

惹起 ; 最終感作誘導の 14 日後に、末希釈の検体 0.4mL を、右側背部に 6 時間閉塞貼付した。また、対照群も同様に処理した。

観察項目 ; 皮膚反応 : 惹起の 24 時間および 48 時間後に、Buehler の評価基準に従い皮膚反応を評価した。

一般状態 : 試験期間中毎日 1 回観察した。

体重 : 試験開始時および試験終了時に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

結 果：

試験群		動物数	陽性反応 動物数	平均皮膚反応評点										陽性率 (%)
				24 時間					48 時間					
				0.5	1.0	2.0	3.0	平均	0.5	1.0	2.0	3.0	平均	
検 体	感作群	10	4	2	1	1	0	0.4	2	1	1	0	0.4	40
	非感作群	10	1	1	0	0	0	0.05	0	0	0	0	0	10
陽性対照 ^{a)}	感作群(0.05%)	10	10	0	7	3	0	1.3	0	4	4	2	1.5	100
	感作群(0.1%)	10	10	0	5	5	0	1.8	0	1	7	2	2.1	100
	非感作群	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a : 陽性対照試験 (2,4-ジニトロクロロベンゼン) は 1996 年 1 月 4 日～3 月 26 日) に実施したものである。
本試験は 1996 年 6 月 6 日～9 月 17 日に実施した。

検体感作群では 10 匹中 4 匹に非常に軽度から中等度の紅斑反応が認められた。
また、検体非感作群では 10 匹中 1 匹に非常に軽度な紅斑反応が認められた。感作群の陽性反応のうち 2 つが非感作群の最大反応を超えていた。
一方、陽性対照群では全動物に軽度から強度の紅斑反応が認められた。

一般状態および体重に投与による影響はみられなかった。

以上の結果より、本剤はモルモットに対して皮膚感作性を有するものと判断された。

2-2. アトラジン・S-メトラクロール水和剤

(1) 急性毒性

1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 No.FT-01)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検 体：アトラジン・S-メトラクロール水和剤

〔組成〕	アトラジン	27.8%
	S-メトラクロール	26.4%
	水、界面活性剤等	45.8%

試験動物：Sprague-Dawley系ラット、7週齢、1群雌雄各5匹、
開始時体重；雄 216～241g、雌 158～176g

試験期間：14日間観察

試験方法：検体を蒸留水に懸濁し、20mL/kgを1夜絶食させた動物に単回強制経口投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。

体重は投与時、投与後1、2、3、7、10および14日に測定し、死亡動物および試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、1500、2000、2700、3700、5000	
LD ₅₀ (mg/kg)	2200	2085
死亡開始時間 および終了時間	死亡開始：1日後 死亡終了：2日後	
症状発現および 消失時期	症状発現：5分後 症状消失：1日後	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1500	

雌雄とも 5000 および 3700mg/kg 群では全動物が死亡し、2700mg/kg 群で各4例、2000mg/kg 群で雄2例、雌3例の死亡が認められた。

中毒症状として、自発運動の減少、腹臥、流涎および下痢が各投与群の雌雄に、振せんおよび間代性けいれんが雄では 3700mg/kg 以上に、雌では 2000mg/kg 以上に認められた。

体重については、各群投与群雌雄で投与翌日に体重減少が認められたが、その後はほぼ順調な増加を示した。

剖検では、死亡動物の肺に一部暗赤色化が観察されたが、死亡に伴ううっ血性変化と考えられた。生存動物の剖検では、雌雄とも異常は認められなかった。

2) マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 No.FT-02)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：アトラジン・S-メトラクロール水和剤

[組成]	アトラジン	27.8%
	S-メトラクロール	26.4%
	水、界面活性剤等	45.8%

試験動物：CD-1 (ICR) マウス、7週齢、1群雌雄各5匹、
試験開始時体重；雄 30.4～35.0 g、雌 23.9～26.8 g

試験期間：14日間観察

試験方法：検体を蒸留水に懸濁し、投与前3～4時間絶食させた動物に20mL/kgを単回強制経口投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。

体重は投与時、投与後1、2、3、7、10 および14日に測定し、死亡動物および試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、1500、2200、3200、4800、7000	
LD ₅₀ (mg/kg)	3121	3391
死亡開始時間 および終了時間	死亡開始：15分後 死亡終了：1日後	死亡開始：5分後 死亡終了：1日後
症状発現および 消失時期	症状発現：5分後 症状消失：6時間後	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1500	2200

雌雄とも7000mg/kg群では全動物が死亡し、4800および3200mg/kg群でそれぞれ各4例および各3例に、2200mg/kg群雄で1例に死亡が認められた。

中毒症状として、自発運動の減少および腹臥が各投与群雌雄に、振せんが2200mg/kg以上の雌雄に認められた。

体重については、4800mg/kg群雄で投与翌日に体重減少がみられたが、その後はほぼ順調な増加を示した。

剖検では、死亡動物および生存動物に異常は認められなかった。

3) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No.FT-03)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検 体：アトラジン・S-メトラクロール水和剤

[組成]	アトラジン	27.8%
	S-メトラクロール	26.4%
	水、界面活性剤等	45.8%

試験動物：Sprague-Dawley 系ラット、7週齢、1群雌雄各5匹、
開始時体重；雄 241～261g、雌 177～196g

試験期間：14日間観察

試験方法：投与の前日に剃毛した背部の皮膚に未希釈の検体を24時間貼付した。貼付除去後、
皮膚を温水で洗浄した。

試験項目：中毒症状、皮膚刺激性の有無および生死を14日間観察した。体重は投与時、投与
後1、2、3、7、10および14日に測定し、試験終了時に全動物について肉眼的病
理検査を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 皮	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	
症状発現および 消失時期	症状発現なし	
症状の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

全ての動物について、中毒症状並びに皮膚反応は認められなかった。
体重変化および剖検所見にも投与の影響は認められなかった。

(2) 皮膚および眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.FT-04)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：アトラジン・S-メトラクロール水和剤

[組成]	アトラジン	27.8%
	S-メトラクロール	26.4%
	水、界面活性剤等	45.8%

試験動物：日本白色種ウサギ雌、15週齢、6匹

開始時体重：2.44～2.74kg

試験期間：72時間観察

試験方法：検体 0.5mL をリント布に塗布し、投与前日に剃毛した動物の側腹部に貼付した。暴露時間 4 時間後、パッチを除去し、適用部位を注射用水で洗浄した。

観察項目：適用 1、24、48 及び 72 時間後に適用部位の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

結果：観察した刺激性の採点は以下のとおりである。

項目	最高値	パッチ除去後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑/痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は 6 匹の平均値

パッチ除去 1、24、48 および 72 時間後の観察において、いずれの動物にも刺激反応はみられず、皮膚刺激指数は 0 であった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性なしと判断された。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.FT-05)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：アトラジン・S-メトラクロール水和剤

[組成]	アトラジン	27.8%
	S-メトラクロール	26.4%
	水、界面活性剤等	45.8%

試験動物：日本白色種ウサギ雌、14週齢、非洗眼群6匹、洗眼群3匹
試験開始時体重 2.29～2.80kg

試験期間：11日間観察

試験方法：検体 0.1mL を左眼に点眼し、投与後検体のこぼれを防ぐため約1秒間閉眼させた。
洗眼群は、投与2～3分後に微温水で洗眼した。
なお、右眼は無処置対照とした。

観察項目：適用1、24、48、72、96時間および5、6、7、8、9、10、11日後に、角膜、虹彩および結膜の刺激性を観察し、Draize法に従い評価した。

結果：観察した刺激性変化の採点は表1および表2のとおりである。

非洗眼群では、角膜の混濁、虹彩の異常、結膜発赤、結膜浮腫および眼脂分泌が認められたが、投与11日後までには消失した。平均値の最大値は適応24時間後の43.2であった。

洗眼群においても、角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫及び眼脂分泌がみられたが、投与96時間後までには消失した。平均値の最大値は適応24時間後の15.0であり、明らかな洗眼効果が認められた。

眼のその他の変化として、非洗眼群および洗眼群ともに閉眼がみられた。

以上の結果から、本剤は、ウサギの眼に対して強い刺激性があると判断された。また、明らかな洗眼効果が認められた。

表 1. 非洗眼群の結果

処置/ 動物番号	項 目	最高 評点	投与後時間および評点													
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日	10 日	11 日		
非洗眼群	動物 1101	角膜	混濁程度	4	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	0	0
			混濁範囲	4	1	4	3	3	4	3	3	2	1	1	0	0
		虹 彩		2	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	3	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0
			浮 腫	4	1	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	1	2	1	1	0	0	0	0	0
	動物 1102	角膜	混濁程度	4	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
			混濁範囲	4	1	4	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
			浮 腫	4	1	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0
	動物 1103	角膜	混濁程度	4	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0
			混濁範囲	4	1	4	4	3	3	2	1	1	1	1	0	0
		虹 彩		2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	3	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
			浮 腫	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	動物 1104	角膜	混濁程度	4	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0
			混濁範囲	4	1	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	1
虹 彩		2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
結膜		発 赤	3	1	3	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0	
		浮 腫	4	1	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	1	2	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	
動物 1105	角膜	混濁程度	4	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0	
		混濁範囲	4	1	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	1	0
	虹 彩		2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	1	3	3	2	2	1	1	1	0	0	0	0	
		浮 腫	4	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	
動物 1106	角膜	混濁程度	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	
		混濁範囲	4	1	4	4	4	4	3	3	2	1	0	0	0	
	虹 彩		2	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	1	3	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
		浮 腫	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
合 計*		660	91	259	250	210	202	158	138	65	40	30	10	0		
平均		110	15.2	43.2	41.7	35.0	33.7	26.3	23.0	10.8	6.7	5.0	1.7	0		

* : [(混濁程度 x 混濁範囲)×5] + [虹彩評点×5] + [(発赤 + 浮腫 + 分泌物)×2]

表 2. 洗眼群の結果

処 置	項 目	最高 評点	投与後時間および評点												
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日	10 日	11 日	
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁程度	4	1	1	0.67	0.33	0	0	0	0	0	0	0	0
		混濁範囲	4	1	1.67	0.67	0.33	0	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	0	1.33	1	0.67	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	1	1.33	0.33	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2.33	0.67	0.67	0.67	0	0	0	0	0	0	0	0
	合 計*		330	41	45	22	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	平 均		110	13.7	15.0	7.3	4.3	0	0	0	0	0	0	0	0

* : [(混濁程度 x 混濁範囲) x 5] + [虹彩評点 x 5] + [(発赤 + 浮腫 + 分泌物) x 2]

(3) 皮膚感作性

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 No.FT-06)

試験機関：株ボゾリサーチセンター

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：アトラジン・S-メトラクロール水和剤

[組成]	アトラジン	27.8%
	S-メトラクロール	26.4%
	水、界面活性剤等	45.8%

試験動物：ハートレー系モルモット雌、5～6週齢、1群20匹

陽性対照群は1群10匹(感作時)および5匹(非感作時)

試験開始時体重；291～362g、陽性対照群は350～440g

観察期間：48時間観察

試験方法：Buehler法

投与量設定根拠；

感作；未希釈の検体を1週間毎に3回、剃毛した左側腹部に6時間閉塞貼付した。溶媒対照群には同様の手順で注射用水を処理した。

惹起；最終感作誘導の13日後に、未希釈の検体を剃毛した右側腹部に6時間閉塞貼付した。6時間後に適用部位を注射用水で洗浄した。なお、陽性対照としてDNCB処理群を設定した。

観察；惹起の24時間および48時間後に、皮膚反応の評価並びに体重測定を実施した。

結果：

試験群	惹起濃度	動物数	陽性反応 動物数	平均皮膚反応評点		陽性率 (%)
				24時間	48時間	
検体	感作群	未希釈	20	0	0	0
	非感作群	未希釈	20	0	0	0
陽性対照*	感作群	0.25% w/v	10	10	2.3	2.4
	非感作群	0.25% w/v	5	5	0	0

*DNCB：2,4-ジニトロクロロベンゼン(エタノール溶液)

検体感作群および非感作群において、いずれの観察時においても皮膚反応は認められなかった。体重にも異常は認められなかった。

以上の結果より、本剤は本試験条件下でモルモットに対して皮膚感作性を示さないと判断された。