

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 R-2)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1980 年

検体純度 : %

供試動物 : Dutch Belted 妊娠ウサギ (約 8 ヶ月齢) 1 群 16 匹

投与期間 : 器官形成期 (妊娠 6 日~27 日、22 日間)
1979 年 10 月 1 日~1979 年 11 月 2 日

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、1、3 及び 10mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 27 日まで 22 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には蒸留水 1mL/kg を同様に投与した。

なお、妊娠ウサギは人工受精を行い、直後に絨毛ゴナドトロピンを静注して得た。人工受精日を妊娠 0 日とした。

[申請者注]

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態及び生死を妊娠 6 日~28 日の試験期間中観察し、体重は妊娠 0、6、12、18、24 及び 28 日に全生存動物について測定した。

妊娠 28 日に全生存動物を屠殺後、帝王切開し、肉眼的病理検査を行った。子宮を摘出、子宮重量を測定した後、胎児の生死及び着床部位、着床数、胎児数、早期あるいは後期吸収胎児数及び黄体数を検査した。

生存胎児 ; 全胎児について性別、体重、口蓋及び眼球を含む外部形態、脳を含む内臓及

び骨格の検査を行った。なお、脳及び心は切片を作成し検査した。

結 果 : 概要を次頁の表に示した。

親 動 物 ; 1) 3 及び 10mg/kg/日投与群に鼻分泌物の軽微な増加が認められた。

2) 10mg/kg/日投与群の 2 羽が妊娠 25 日及び 27 日に流産した。

胎児動物 ; 対照群に比較して、奇形または発生学的及び遺伝学的変異を持った胎児数あるいは腹数に生物学的な意味のある差は、どの投与群においても観察されなかった。投与群の奇形の総胎児数(腹数)に僅かな増加が観察されたが、この種のウサギの背景データの範囲内(胎児数:0.0~6.0%、腹数:0.0~30.8%)であった。また、投与群における第 13 番痕跡肋骨の発生頻度の増加は、背景データの範囲内(胎児数:1.1~10.9%、腹数:7.1~44.4%)であったので、投与に関連するとは考えられなかった。

なお、10mg/kg/日投与群の胎児の性比(雄)が背景データ(43.4~57.7%)より若干高い値を示したが、一部の親動物に極端な性比を示した動物があったため、検体の影響というより、親動物におけるバラツキと考えられた。

以上の結果より、本剤をウサギ胎児の器官形成期の母動物に投与した場合、胎児への影響は認められず、最高投与量(10mg/kg/日)においても催奇形性はないと判断される。

[申請者注]

表. 結果の概要

投 与 量 (mg/kg/日)		0	1	3	10	
1 群 当 り 動 物 数		16	16	16	16	
親	一 般 状 態	—	—	鼻分泌物の 軽微な増加	鼻分泌物の 軽微な増加	
	死 亡 率 (%)	0	0	0	0	
	妊 娠 中 平 均 体 重 増 加 量 (g)	81	105	87	125	
	妊 娠 率 (%)	14/16 (87.5)	16/16 (100)	15/16 (93.8)	14/16 (87.5)	
	流 産 数 (%)	0	0	0	2 (12.5)	
	全胎児吸収の母動物数 (%)	1 (7.1)	0	2 (13.3)	0	
	生 存 胎 児 保 有 母 動 物 数	13	16	13	12	
	肉 眼 的 病 理 検 査	卵管上水瘤 4 腎の陥凹 3	卵管上水瘤 2 腎の陥凹 2	卵管上水瘤 4 腎の陥凹 2	卵管上水瘤 4 腎の陥凹 1	
動 物 着 床 所 見	検 査 親 動 物 数	13	16	13	12	
	黄 体 数	9.3	8.5	9.3	9.1	
	着 床 数	6.8	5.6	6.2	5.8	
	着 床 率 (%)	73.1	65.9	66.7	63.7	
	着 床 後 欠 損 数 ¹⁾	0.3	0.4	0.3	0.3	
	早 期 吸 収 胎 児 数 ²⁾	0.2	0.3	0.3	0.1	
	後 期 吸 収 胎 児 数 ³⁾	0.1	0.2	0.1	0.3	
	生 存 胎 児 数	6.5	5.1	5.9	5.5	
胎	平 均 体 重 (g)	30.3±3.9	30.7±6.0	31.1±5.7	33.7±5.3	
	性 比 (雄%)	50.5	47.6	43.2	63.6	
	検 査 胎 児 数	91	82	88	66	
児 胎 児 数	外 部 形 態 異 常	脊 柱 側 弯 症 1 胸 骨 癒 着 0 尾 欠 損 0	脊 柱 側 弯 症 4 胸 骨 癒 着 2 尾 欠 損 1	脊 柱 側 弯 症 2 胸 骨 癒 着 1 尾 欠 損 0	脊 柱 側 弯 症 1 胸 骨 癒 着 0 尾 欠 損 0	
	動 物 (腹 数)	内 臓 異 常	腎・尿管欠損 0	腎・尿管欠損 1(1)	腎・尿管欠損 0	腎・尿管欠損 0
		胎 児 数	全 身 浮 腫	0	0	0
小 眼 球 症			0	1(1)	0	0
内 水 頭 症			0	0	0	1(1)
内 臓 異 常 の 総 胎 児 数	0	2(1)	0	4(2)		

1) 着床後欠損数：母動物1羽当りの（着床数－生存胎児数）

2) 早期吸収胎児数：胎児の確認できない胎盤数

3) 後期吸収胎児数：自己融解して死亡の確認できる胎児数

統計学的解析：

胎児の雌雄比、奇形児を持つ腹数：Yeates 補正によるカイ平方検定あるいはFisher の正確確率検定

吸収あるいは脂肪胎児数、着床後の欠損数：Mann-Whitney のU検定

黄体数、総着床数、生存胎児数、胎児体重：Dunnett の多重比較法：

(いずれの検定結果でも有意差はみられなかった。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

投 与 量 (mg/kg/日)		0	1	3	10
骨 格 異 常 の 胎 児 数 (腹 数)	円盤形の頭部	0	0	0	1(1)
	椎 体 異 常	0	0	0	1(1)
	肋骨の癒合	0	0	1(1)	0
	胸骨分節 の 癒 合	0	2(2)	1(1)	0
	脊柱側弯症 (肋骨の奇形の 有無を伴う)	1(1)	4(1)	2(2)	1(1)
	尾 欠 損	0	1(1)	0	0
	胎児数の合計	1(1)	6(3)	4(3)	3(3)
奇形の総胎児数(腹数) (下 段 は 発 生 率)		1(1) 1.1%(7.7%)	6(3) 7.3%(18.8%)	4(3) 4.5%(23.1%)	6(2) 9.1%(16.7%)
胎 児 動 物 骨 格 変 異 胎 児 数 (腹 数)	仙椎前椎骨数 27	3(3)	4(3)	5(5)	6(4)
	仙椎前椎骨数 25	1(1)	0	0	0
	13 痕跡肋骨 (下段は発生率)	2(2) 2.2%(15.4%)	4(4) 4.9%(25.0%)	6(6) 6.8%(46.2%)	8(4) 12.1%(33.3%)
	1 3 肋 骨	1(1)	2(2)	5(4)	4(3)
	11 肋骨 (12 番 目が痕跡ある いは片側のみ)	1(1)	0	0	0
	第 7 頸部肋骨	0	1(1)	0	0
	舌骨弓の屈曲	0	7(4)	1(1)	0
	舌骨部又は弓 の 未 骨 化	0	5(4)	1(1)	0
	頭 蓋 骨 の 骨 化 不 全	0	0	0	2(2)
	距骨の未骨化	0	0	1(1)	0
	胸骨分節第 5 の 未 骨 化	6(5)	7(4)	9(4)	3(2)
	第 7 胸骨分節	0	0	0	2(1)
	主 要 血 管 の 変 異	5(5)	10(8)	6(4)	4(2)
	腎頭乳の未発 達あるいは尿 管 拡 張	0	0	0	1(1)

統計学的解析：

奇形児を持つ腹数：Yeates 補正によるカイ平方検定あるいは Fisher の正確確率検定
検定結果で有意差はみられなかった。

3) ラットにおける催奇形性試験

(資料 R-3)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1989 年

検体純度 : %

供試動物 : Cr1:CD (SD) BR 系ラット (12 週齢) 1 群雌 25 匹

投与期間 : 妊娠 6 日目から 15 日目までの 10 日間 (1988 年 6 月 27 日~7 月 9 日)

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、0、5、20 及び 75mg/kg/日の用量で妊娠 6 日目から 15 日目までの 10 日間毎日 1 回経口投与した。対照群には蒸留水を同様に投与した。なお、膣洗浄液中に精子が認められた日、または膣栓の認められた日を妊娠 0 日とした。投与量は、用量設定試験の結果に基づいて決定した。

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態及び生死を毎日観察し、体重及び摂餌量を交配前に最低毎週 1 回、妊娠 0 及び 3 日目、ならびに妊娠 6 日目からは毎日測定した。妊娠 20 日目に帝王切開して子宮を摘出し、その重量を測定した。着床の認められなかった子宮は、染色して妊娠の有無を確認した。また、胸腔及び腹腔について肉眼的病変を検査した。さらに、黄体数、着床数、着床部位、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

着床率 (%) = 着床数 / 黄体数 × 100

生存胎児率 (%) = 生存胎児数 / 着床数 × 100

吸収胚率 (%) = 吸収胚数 / 着床数 × 100

生存胎児 ; 性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹児の約半数の胎児については内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果 : 概要を次表に示した。

20 及び 75mg/kg/日投与群の母獣で投与期間全体 (妊娠 6~16 日) における平均体重及び体重当りの摂餌量の減少が認められ、75mg/kg/日投与群の母獣では振せん及び運動機能の低下が認められた。剖検時において同群の母獣に腎盂拡張及び膀胱内結石がみられた例があったが、尿管病変は同系統のラットに一般的にみられることから検体投与とは関連がないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

75mg/kg/日投与群では雌胎児に有意な体重減少がみられた。また、同投与群の胎児には尾椎、胸骨椎骨、前・後肢の中手骨及び趾骨の化骨数にわずかな減少がみられ、後肢趾骨では有意に減少したが、背景データ（後肢趾骨：1.66～4.99 個）の範囲内であった。それ以外は、検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したところ、20 及び 75mg/kg/日投与群で体重増加量及び摂餌量に有意な抑制作用が認められ、75mg/kg/日投与群に振せん及び運動機能低下がみられたことから親動物に対する無毒性量は 5mg/kg/日と判断された。また、胎児では 75mg/kg/日投与群の雌胎児体重に有意な減少がみられたことから胎児の発育に対する無毒性量は 20mg/kg/日と判断された。なお、最高投与量の 75mg/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た。

表. 結果の概要

投 与 量 (mg/kg/日)		0	5	20	75
1 群 当 り 動 物 数		25	25	25	25
親	一 般 状 態				
	振 せ ん ^a	0/0	0/0	0/0	191**/25**
	運動機能低下 ^a	0/0	0/0	0/0	6**/4**
	死 亡 数 (%)	0	0	0	0
	体 重 変 化 ^b (g)				
	妊娠 0~6 日	+40.1±12.2	+39.4± 7.7	+39.1± 8.5	+42.4±10.7
	妊娠 6~9 日	+15.1± 5.2	+10.0±4.0**	+8.0±6.4**	-11.9±9.5**
	妊娠 9~12 日	+19.6± 4.3	+23.0±4.0*	+17.0± 5.0	+11.4±7.3**
	妊娠 12~16 日	+34.3± 6.6	+34.2± 6.4	+33.0± 5.7	+33.0±9.1
	妊娠 6~16 日	+69.0± 9.4	+67.1±10.0	+58.1±11.1**	+32.5±11.6**
妊娠 16~18 日	+29.7± 3.9	+34.3±5.8*	+30.7± 4.8	+38.5±7.5**	
妊娠 16~20 日	+61.7± 6.9	+66.8± 9.6	+60.0± 9.0	+72.6±10.7**	
動 物	摂 餌 量 ^b (g/kg/日)				
	妊娠 0~6 日	79.4± 6.7	78.9± 5.3	79.1± 6.7	79.5± 6.7
	妊娠 6~7 日	79.1± 7.3	75.2± 7.4	69.2± 8.5	53.8±12.0**
	妊娠 6~9 日	76.6± 6.6	74.0± 4.9	69.6± 7.4	51.4±11.1
	妊娠 12~16 日	72.1± 5.3	73.6± 4.4	70.8± 5.6	66.8±7.3**
	妊娠 6~16 日	74.5± 5.1	74.0± 4.2	70.2±6.0*	58.3±5.5**
	妊娠 16~20 日	64.7± 4.7	64.9± 3.4	64.3± 4.4	70.1±5.8**
	妊 娠 数 (%)	24 (96.0)	23 (92.0)	24 (96.0)	24 (96.0)
	帝王切開動物数 ^b	21	23	24	24
	子 宮 重 量 (g)	89.8	95.0	88.9	89.8
肉眼的病理検査					
着 床 所 見	黄 体 数	20.2	20.7	20.2	20.0
	着 床 数 (%)	17.2 (85.1)	17.8 (86.0)	16.9 (83.7)	17.3 (86.5)
	生存胎児数 (%)	16.5 (95.9)	17.1 (96.1)	16.1 (95.3)	16.5 (95.4)
	吸 収 胚 数 (%)	0.7 (4.1)	0.7 (3.9)	0.8 (4.7)	0.8 (4.6)

a: 日数×発病動物数/発病動物数

b: 体重変化及び摂餌量：対照群の妊娠動物 24 匹の内 3 匹で、1 腹当りの胚/胎児数が僅か 2 匹であったので、統計学的解析結果ではこの 3 匹を除いた 21 匹での結果に基づく。

統計学的方法：分散分析，*：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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

投 与 量 (mg/kg/日)		0	5	20	75	
体 重 (g)	全 胎 児	3.45	3.52	3.50	3.38	
	雄 胎 児	3.54	3.62	3.57	3.51	
	雌 胎 児	3.38	3.44	3.41	3.22*	
雄 性 比 ^c (%)		47.4	47.6	54.1	51.5	
外 表 異 常	検 査 数 (同 腹 数)	351 (24)	394 (23)	386 (24)	397 (24)	
	異 常 胎 児 数 (%)	0	0	1 (0.2)	1 (0.2)	
内 臓 異 常	検 査 数 (同 腹 数)	168 (23)	193 (23)	187 (24)	193 (24)	
	異 常 胎 児 数 (%)	0	0	0	0	
胎 児	検 査 数 (同 腹 数)	183 (24)	201 (23)	199 (24)	204 (24)	
	異 常 胎 児 数 (%)	5 (2.7)	7 (3.5)	12 (6.0)	8 (3.9)	
骨 格 異 常	奇 形					
	頭 蓋 奇 形	0	0	0	1 ^d (0.5)	
動 物	骨 格 異 常	肋 骨 分 裂・短 肋 骨	0	1 ^e (0.5)	0	0
		頸 弓	0	0	0	1 ^d (0.5)
	頸 肋 骨	1 (0.5)	0	5 (2.5)	2 (1.0)	
	胸 骨 椎 骨 二 裂	0	2 (1.0)	2 (1.0)	1 ^d (0.5)	
	胸 椎 の 未 化 骨	0	0	0	1 (0.5)	
	胸 骨 柄 の 不 完 全 化 骨	0	0	2 ^f (1.0)	0	
	胸 骨 分 節 の 化 骨 遅 延	3 (1.6)	2 ^e (1.0)	3 ^f (1.5)	0	
	坐 骨 又 は 恥 骨 の 化 骨 遅 延	1 (0.5)	3 (1.5)	2 ^f (1.0)	5 ^d (2.4)	
	肩 甲 骨 の 不 規 則 な 形 の 骨 翼	0	0	0	1 ^d (0.5)	
	骨 格 異 常	化 骨 数 g	尾 椎	4.84±0.77	4.88±0.40	4.84±0.33
胸 骨 椎 骨			3.72±0.34	3.74±0.27	3.72±0.22	3.62±0.28
前 肢 中 手 骨			3.57±0.31	3.58±0.31	3.49±0.37	3.35±0.31
前 肢 趾 骨			5.14±0.90	5.09±0.40	4.93±0.36	4.75±0.58
後 肢 中 手 骨			4.04±0.21	4.00±0.00	4.00±0.00	3.98±0.09
後 肢 趾 骨			4.74±0.65	4.66±0.69	4.63±0.54	4.12±1.10*

c: 雄胎児/全胎児×100。

d: 同胎児#9782-1を含む。 e: 同胎児#9736-1を含む。 f: 同胎児#9775-4を含む。

g: 化骨数:化骨数/胎児/腹

統計学的方法:分散分析 *: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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

4) ラットにおける発達神経毒性試験

(No. DNT-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

試験目的： 米国EPAデータ要求、Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.6300
Developmental Neurotoxicity Studyのガイドラインに従って、アセフェート原
体を子宮内及び/または生後6日まで母乳を介して、また生後7日から生後21日ま
で強制経口投与によって暴露した際の次世代における神経毒性作用の可能性に
ついて評価する際に用いる情報を得ることを目的とした。

検体純度： %

供試動物： Cr1:CD* (SD) IGS BR VAF/Plus*ラット、1群当りP世代妊娠雌25匹、F₁世代各群20
同腹児（1群当り雌雄各5匹）

投与期間： P世代 妊娠6日から生後6日（膣スメアの精子又は膣栓の確認ができた日を妊娠0
日とした。）

F₁世代 生後7日から生後21日

投与方法： 脱イオン水を溶媒として、検体を0、0.5、1及び10mg/kg/日の用量で強制経口投
与した。

用量設定根拠；

交配・選択及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

交配；5日間の馴化期間後、交配用の雄と最大5日間同居させ、膣スメアの精子又は膣
栓の確認ができた日を妊娠0日とした。

選択；哺育（生後）4日に出産した雌を各群20匹選択し、選択された雌の同腹児を雌雄
各5匹に調整した。調整後、同腹児を次の各サブセットに割り付けた。

サブセット1 生後21日の脳重量、神経組織学的評価

サブセット2 水迷路、受動的回避評価

サブセット3 自発運動量、聴覚性驚愕馴化評価

サブセット4 屠殺時 脳重量、神経組織学的評価

サブセット5 生後4-21日までの同腹児数標準化

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

発達神経毒性試験の概要

世代	期間	作業手順	試験項目	
P		動物入手後 5 日間馴化し、その後交配用雄ラットと最大 5 日間同居させた。		
	妊娠 0 日	膈内に精子又は膈栓が確認できた日を妊娠 0 日とする		
	妊娠 6 日	P 世代投与開始		
	妊娠 20 日 (哺育 0 日)	出産		
	妊娠 25 日	屠殺—分娩しなかった動物		
	哺育 4 日	児動物の選択 (雌雄各 5 匹) 児動物のサブセット 1 PND21 脳重量、神経組織学的評価 2 水迷路、受動的回避 3 自発運動量、聴覚性驚愕馴化 4 屠殺時 脳重量、神経組織学的評価 5 PND4—21 までの同腹児数標準化用		
	哺育 4 日	屠殺—継続観察に用いない母動物/児動物		
	哺育 6 日	P 世代投与終了		
	生後 7 日	F ₁ 世代投与開始		
F ₁	生後 13 日	サブセット 3	自発運動量	
	生後 17 日	サブセット 3	自発運動量	
	生後 21 日	離乳 F ₁ 世代投与終了		
		屠殺—母動物/継続観察に用いない児動物		
		サブセット 1 の雌雄 10 匹を選択	神経組織学的評価	
		サブセット 1 の残りの動物	ChE アッセイ	
		屠殺—サブセット 5 代替動物として用いられなかった動物		
	生後 21 日	サブセット 3	自発運動量	
	生後 22 日	サブセット 3	聴覚性驚愕馴化	
	生後 22—24 日	サブセット 2	受動的回避セッション 1	
	生後 29—31 日	サブセット 2	受動的回避セッション 2	
	生後 58 日	サブセット 3	自発運動量	
	生後 62 日	サブセット 3	聴覚性驚愕馴化	
	生後 58—62 日	サブセット 2	水迷路セッション 1	
	生後 65—69 日	サブセット 2	水迷路セッション 2	
	生後 71 日	サブセット 4 の雌雄各 10 匹	神経病理学的検査	
	生後 71 日	屠殺—サブセット 2、3 の全児動物及びサブセット 4 の雌雄各 10 匹		

観察・検査項目及び試験結果；

P世代：

一般状態；試験期間中、生死について1日2回観察した。ホームケージの外で自律神経機能、姿勢、運動又は行動パターンの異常、通常認められない状態について、投与期間中の毎日、投与前に検査した。

P世代のすべての親動物は計画屠殺時まで生存し、妊娠又は哺育期間中、検体投与に関連した有害な臨床観察所見は認められなかった。

体重；妊娠0日、投与期間中毎日、哺育7、11、14、17及び21日、ならびに屠殺時に体重を記録した。

0.5 mg/kg/日投与群の親動物で投与後期間（生後7～21日）の用量に依存しない有意な体重増加抑制を除いて、統計学的に有意な群間差は認められなかった。

摂餌量；妊娠0日、投与期間中毎日、哺育7、11、14、17及び21日に摂餌量を記録した。

哺育期投与期間中に絶対及び相対摂餌量の有意な増加が認められたが、用量に依存せず、かつ、持続しなかったことから検体投与に関連しないと考えられた。

肉眼的病理検査；二酸化炭素の吸入により屠殺し、胸腔、腹腔及び骨盤腔内部臓器の肉眼的剖検を実施した。着床痕の数及び位置を記録した。

同腹児を出産し、哺育4日に継続観察に選択された母動物は哺育21日の離乳完了後に屠殺し、肉眼的病変を検査した。

同腹児を出産したが哺育4日に継続観察に選択されなかった母動物は哺育4日に屠殺し、肉眼的病変を検査した。

同腹児を出産しなかったラットについては妊娠25日に屠殺し、肉眼的病変を検査した。

検体投与に関連した剖検所見は認められなかった。

自然分娩・同腹児観察所見；分娩中の異常所見、妊娠期間、同腹児数、生存同腹児数及び出生児の児動物生存性、ならびに生後0～4日の児動物の所見について評価した。

自然分娩所見に検体投与の影響はなかった。同腹児を分娩した母動物数、妊娠期間、娩出された同腹児当りの平均着床痕数、妊娠率、死産児のあった母動物数については対照群ならびに各投与群間で同等であった。すべての児動物が死亡した母動物はなかった。生存率、一腹当りの生存時、一腹当りの雄児動物百分率、及び離乳児の平均同腹児数については同等であった。

生後0～4日の児動物の所見では、10 mg/kg/日投与群において、無尾、鎖肛などが観察されたが、発現率に用量依存性はなく、1投与群の1又は2組の同腹児でのみ発現したため、検体を10 mg/kg/日の高濃度で投与したことに起因しないと考えられた。

F₁世代：生後0日を出生日と定義した。

一般状態；各同腹児の生死について1日2回観察し、児動物数を毎日1回数えた。臨床観察所見について投与期間中毎日、投与前に検査し、投与後期間は週1回記録した。

また、投与後期間に毒性の肉眼的徴候を観察した。

1 mg/kg/日投与群で雄の2匹が生後8日に死亡し、対照群、0.5、1及び10 mg/kg/日投与群の各1匹合計4匹の雌ラットが切迫屠殺又は死亡したが、検体投与に関連した死亡は観察されなかった。また、投与期間ならびに投与後期間中に検体投与に関連した有害な臨床観察所見は認められなかった。

また、サブセット4の児動物について、生後4、11、21、35、45及び60日にホームケージの外で自律神経機能、姿勢、運動または行動パターンの異常及び通常はみられない状態について検査した。

投与期間中及び投与後期間中にいずれのラットにおいても自律神経機能の異常は認められなかった。

体重；生後0、4日及び投与期間中毎日記録した。投与後期間は週1回ならびに屠殺時に体重を記録した。

検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量；離乳以降、週1回記録した。

検体投与による影響は認められなかった。

性成熟；サブセット2、3、4の雌ラットについて生後27日から膈開口の齢期を検査し、同雄ラットについて生後38日から包皮分離の齢期を検査した。各ラットについて性成熟が確認された日の体重を記録した。

検体投与による影響は認められなかった。

受動的回避；生後22～24日にサブセット2の児動物について受動的回避試験を実施し、学習、短期記憶、長期記憶、自発運動量、自発運動の亢進を評価した。

各ラットについて1週間の間隔をあけて2回の試験セッションを実施した。

検体投与による学習及び記憶への影響はなかった。

水迷路；生後58～62日にサブセット2の児動物についてM字型水迷路を用いて、顕性運動協調性、遊泳能力、自発運動量、学習及び記憶を評価した。

各ラットについて1週間の間隔をあけて2回の試験セッションを実施した。

検体投与による、学習及び記憶への影響はなかった。

自発運動量；生後13、17及び21日の投与前及び生後58日にサブセット3の児動物についてケージの外部にセットした受動赤外線センサーにより自発運動量を検査した。各セッションの測定期間は1時間であった。

検体投与による影響はなく、移動の回数又は移動時間のいずれにも、統計学的に有意な群間差はなかった。

聴覚性驚愕馴化；生後22及び62日にサブセット3の児動物について聴覚刺激に対する

反応及び刺激の反復提示による反応の馴化を評価した。

検体投与による影響はなく、反応の規模又は平均反応規模の何れにも、統計学的に有意な群間差はなかった。

コリンエステラーゼ (ChE) 活性；生後4日に継続観察のためのサブセット1~5に割り付けられなかったすべての児動物ならびに選択されなかったすべての同腹児をペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与により屠殺し、全血を心臓採血により採取した。血液試料は同腹児毎雌雄別の一つにまとめ、EDTA添加試験管に移して測定時までコールドパック又は2~8℃で保存した。採血後、脳を摘出して重量を測定し、生理食塩水に浸漬し、測定時まで冷蔵保存した。

生後21日にサブセット1に割り付けられた児動物のうち、神経組織学的検査に用いられなかった児動物雌雄各10匹から投与3時間後に二酸化炭素吸入により屠殺し全血試料を下大静脈から採取し、生後4日に採取した血液試料と同様に測定時まで保存した。採血後、脳を摘出して重量を測定し、生後4日に採取した脳と同様に測定時まで冷蔵保存した。

対照群に対するChE活性の差の百分率を下表に示す。

試料	生後日数	コリンエステラーゼ活性 (対照群に対する差の百分率(%))								
		0.5 mg/kg/H			1 mg/kg/H			10 mg/kg/H		
		雄	雌	雌雄全体	雄	雌	雌雄全体	雄	雌	雌雄全体
脳	生後 4 日	-5.4	-7.9	-6.7	-2.8	+1.2	-1.1	-7.4	-2.2	-4.6
	生後 21 日	-28.7**	-25.4	-28.2**	-33.7**	-25.8	-29.8**	-62.2**	-57.9*	-60.2**
血 漿	生後 4 日	-3.0	-15.3	-8.5	-8.6	-14.8	-11.5	-10.1	-13.7	-11.8
	生後 21 日	-4.8	-22.5**	-14.1*	-2.0	-15.8	-9.0	-46.3**	-43.2**	-44.8**
赤血球	生後 4 日	-8.2	+34.7	+11.0	-7.7	-0.1	-4.5	-4.8	-3.9	-3.0
	生後 21 日	-22.7	-14.2	-18.5*	-15.5	-19.2	-16.8	-50.4**	-62.9**	-56.6**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnett 検定)

検体を母動物に妊娠6日から哺育6日まで投与した結果、生後4日の児動物の脳、血漿及び赤血球ChE活性に統計学的に有意な、又は生物学的に重要な減少は認められなかった。

検体を児動物ラットに生後7から21日まで投与した結果、10 mg/kg/日投与群において、生後21日の脳、血漿及び赤血球ChE活性に統計学的に有意、かつ生物学的に重要な低下が認められた。[申請者注：

]

0.5及び1 mg/kg/日投与群児動物において、生後21日の脳ChE活性に対照群と比較して20%を超える低下が認められ、両投与群雄ならびに雌雄全体で統計学的に有意であった。しかしながら、これらの低下は、統計学的有意差が一方の性のみに発現したこと及び明らかな用量相関性が認められなかった (用量が2倍となって

も低下率に顕著な変化がみられなかった) ことから、生物学的に重要でないとかんがえられた。また、0.5及び1 mg/kg/日投与群児動物で生後21日の血漿及び赤血球ChE活性に低下が認められたが、いずれも用量相関性がなかったことから、毒性学的な意義はないものと考えられた。

神経病理学的検査；生後21日にサブセット1に割り付けられた児動物のうち、選択された雌雄各10匹についてヘパリンナトリウム及びペントバルビタールナトリウムの混合液を投与し、*in situ*にて10%中性緩衝ホルマリンを灌流した。

生後70日にサブセット4に割り付けられた雌雄各10匹にヘパリンナトリウム及びペントバルビタールナトリウムの混合液を投与し、*in situ*にて10%中性緩衝ホルマリンを灌流した。また、ラットの肉眼的病変を検査し、脳、頭部、脊椎、及び後肢の重量測定、形態計測及び神経組織学的検査を実施した。

生後21及び70日の神経病理学的検査において、神経形態学的計測値(生後21日0.5 mg/kg/日投与群雌における脳重量、生後21日1 mg/kg/日投与群雄における小脳前後長)に統計学的有意差が認められたが、用量相関性がないことから検体投与に関連しないと考えられた。

肉眼的病理検査；生後4日に継続観察のためのサブセット1～5に割り付けられなかったすべての児動物、生後21日にサブセット1に割り付けられChE測定に用いた児動物ならびに生後21日にサブセット5に割り付けられた児動物を剖検した。

サブセット2～4に割り付けられた児動物について、離乳後のすべての行動評価完了後に屠殺した。

サブセット4のうち神経病理学的検査に供さなかった児動物及びサブセット2及び3の児動物は二酸化炭素吸入により屠殺し、胸腔、腹腔及び骨盤腔内臓器の肉眼的剖検を実施した。

生後4日に屠殺し、剖検したすべての児動物は正常であった。生後4日における児動物の平均最終体重、脳重量及び最終体重に対する脳重量比は対照群と投与群間で同等であった。

生後21日の雌雄ラットにおける最終体重、脳重量及び最終体重に対する脳重量比に検体投与による影響は認められなかった。

生後71日の雌雄ラットにおける最終体重、脳重量及び体重に対する脳重量比に検体投与による影響は認められなかった。

以上より、ラットにおける発達神経毒性試験において、アセフェートを0.5、1及び10 mg/kg/日の用量で妊娠6日から哺育6日までP世代母動物に投与し、また生後7から21日までF₁世代児動物に投与した結果、P又はF₁世代に毒性は発現しなかった。本試験で評価したすべての項目についてP及びF₁世代ラットにおける発達神経毒性に関する無毒性量は10 mg/kg/日であり、アセフェート原体の10 mg/kg/日は発達神経毒性物質ではないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

また、生後21日に測定されたF₁児動物の脳、血漿及び赤血球における生物学的に重要なChEの低下が10 mg/kg/日投与群で発現した。

[申請者注]

1-12. 変異原性試験

1) 遺伝子突然変異原性細菌を用いる Rec-assay 及び復帰変異性試験 (資料 Mu-1)

試験機関 :

報告書作成年 : 1980 年

検体純度 : %

試験方法 :

- I) Rec-assay ; *B. subtilis* の組換修復機構保持株 (H17) と、欠損株 (M-45) を用いて、アセフェートの DNA への損傷の誘起性を検索した。
- II) 復帰変異性試験 ; ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *hcr* を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

試験結果 :

- I) Rec-assay ; 表 1 に示す様にアセフェートにおいては、全く生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照として用いた Mytomycin C では、組換修復機構保持株 (H17) に比べ修復機構欠損株 (M-45) に著明な生育阻止帯を生じ、陰性対照として用いた Kanamycin では両株に同程度の生育阻止帯を生じた。

II) 復帰変異試験 ;

表 2、3 に試験結果を示す。アセフェートは、極く高濃度で TA100、WP2 *hcr* の両株に対し、S-9Mix の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の弱い増加を誘起した。

それ以外の株では、いずれも、復帰変異コロニーの増加はみられなかった。一方、陽性対照である AF-2、 β -propiolactone、9-amino-acridine、2-nitrofluorene では、S-9Mix の非存在下で、2-aminoanthracene では、S-9Mix の存在下で著明な変異原性を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 1. Rec-assay 試験成績

薬 物	濃 度 (μ g/disk)	阻 止 域 (mm)		差 (mm)
		M45	H17	
対 照 (H ₂ O)		0	0	0
アセフェート	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1,000	0	0	0
	2,000	0	0	0
Kanamycin	10	5	3.5	1.5
Mitomycin C	0.1	11	1.5	9.5

表2. 復帰変異試験成績

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	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		
			WP2 <i>hcr</i>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (H ₂ O)		-	14	7	121	9	22	25
			17	9	111	13	13	22
アセフェート	10	-	14	4	119	10	7	30
			19	9	105	9	10	22
	50	-	18	7	94	10	16	20
			25	5	117	7	12	29
	100	-	17	2	126	4	13	22
			25	12	129	7	15	18
	500	-	11	7	103	3	18	12
			17	9	141	10	6	21
	1000	-	23	6	133	6	14	18
			11	8	129	13	14	15
	2000	-	28	5	136	7	14	19
			20	5	140	5	18	21
	5000	-	39	11	171	7	14	18
			32	5	147	4	14	23
対照 (H ₂ O)		+	13	7	158	5	21	25
			15	7	149	14	21	27
アセフェート	10	+	14	11	145	8	18	18
			17	10	152	3	10	21
	50	+	10	11	145	6	20	25
			16	8	157	7	33	25
	100	+	20	14	166	6	20	16
			19	7	161	9	15	26
	500	+	12	11	173	7	22	28
			17	6	170	8	19	29
	1000	+	18	7	167	4	18	27
			18	15	164	5	13	24
	2000	+	17	8	200	8	13	27
			21	6	127	8	18	16
	5000	+	29	8	189	3	20	25
			30	7	183	12	8	25
2-amino- anthracene	10	-	11	12	145	24	22	39
			17	12	173	18	23	44
	10	+	57	744	>3000	312	>3000	>3000
			58	648	>3000	294	>3000	>3000
陽性対照		-	a	b	c	d	e	f
			1430	1568	786	>10000	>3000	201
			1224	1276	724	>10000	>3000	237

a) 0.25 $\mu\text{g}/$ プレート AF-2

c) 0.05 $\mu\text{g}/$ プレート AF-2

e) 50 $\mu\text{g}/$ プレート 2-nitrofluorene

b) 50 $\mu\text{g}/$ プレート β -propiolactone

d) 200 $\mu\text{g}/$ プレート 9-aminoacridine

f) 0.1 $\mu\text{g}/$ プレート AF-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表3. 復帰変異試験成績

薬物	S-9 Mix $\mu\text{g}/$ プレート	復帰変異コロニー数/プレート						
		TA 1535		TA 100		WP2 <i>hcr</i>		
		-	+	-	+	-	+	
対照 (H ₂ O)		7	12	142	134	15	15	
		7	8	132	156	18	6	
アセフェート	2000	9	7	157	150	21	30	
		7	8	156	144	28	22	
	5000	8	11	194	180	35	33	
		3	8	179	164	31	28	
	10000	10	13	233	208	60	42	
		6	6	227	221	62	53	
	20000	9	4	299	284	91	67	
		7	10	249	262	98	52	
	30000	14	10	341	335	106	82	
		11	12	355	334	114	85	
	2-amino- anthracene	10	18	463	184	>3000	14	69
			19	410	162	>3000	16	42
陽性対照		a	/	b	/	c	/	
		1336 1254		910 902		1828 1728		

a) 50 $\mu\text{g}/$ プレート β -propiolactone

b) 0.05 $\mu\text{g}/$ プレート AF-2

c) 0.25 $\mu\text{g}/$ プレート AF-2

2) 細菌の復帰試験方法による農薬の変異原性の研究

(資料 Mu-2)

試験機関：

報告書作成年：1982年

〔 Mutation Research, 116 (1983)
Elsevier Biomedical Press より抜粋 〕

要 約

合計 228 の農薬 (殺虫剤 88、殺菌剤 60、除草剤 62、植調剤 12、代謝物 3、その他化合物 3) を *Salmonella typhimurium* の 5 株 (TA100、TA98、TA1535、TA1537、TA1538) と *Escherichia coli* の 1 株 (WP2 *hcr*) を用いた細菌の復帰試験方法により変異原性を調べた。

50 の農薬 (殺虫剤 25、殺菌剤 20、除草剤 3、植調剤 1、その他化合物 1) に変異原性が認められた。そのうち 5 農薬は、S-9Mix の存在下であった。種々の化合物のうち、有機リン化合物、ハロゲン化されたアルカン、ジチオカーバメートが高率で変異原性を示した。

22 の農薬が発がん性ありと報告されているが、そのうち 7 の農薬すなわちキャプタン、DBCP、EDB、EDC、ETU、HEH、ニトロフェンは、S-9Mix の存在下の試験で変異原性を有すると見なした。他の 15 の非変異原性発がん物質は、 α -BHC、クロルベンジレート、p,p'-DDT、ディルドリン、キントジンのような有機塩素系農薬であった。

農薬の変異原性と発がん性の相関を明らかにするために、著者らは、微生物を用いた試験方法により数年間変異原性のスクリーニングを行った。前報で著者らは、16 の農薬の変異原性を明らかにした。本報告で著者らは、農薬の変異原性研究の結果を報告し、発がん性と変異原性の相関について論議する。

被験物質と方法

農 薬

農薬のサンプルは、殆ど農林水産省農薬検査所から得た。これらは、日本で得られる標準品である。水溶性の農薬は、蒸留水で溶解し、他は、ジメチルスルホキシド (DMSO) で溶かした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

細菌の菌株

Salmonella typhimurium の 5 株 (TA100、TA98、TA1535、TA1537、TA1538) と *Escherichia coli* の 1 株 (WP2 *hcr*) を用いた。これらの株は、液体栄養培地で一昼夜培養し、 -80°C で保存した。陽性対照の反応や自然復帰変異のような遺伝的特徴を確認した。

実験手順

手順は Ames らの方法に従った。

結 果 (アセフェートのみ)

アセフェートは WP2 *hcr* (+)、TA1535 (-)、TA100 (+)、TA1537 (-)、TA1538 (-)、TA98 (-) であった。

3) 細菌を用いる変異原性試験・復帰変異性試験

(資料 Mu-3)

試験機関：

報告書作成年：1977年

検体純度： % ()

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA98、TA1537) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

試験結果：結果を次表に示した。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				備考		
			塩基対置換型		フレームシフト型				
			試験 1	試験 2	TA98	TA1537			
			TA100	TA100	TA98	TA1537			
溶媒対照 (蒸留水)	—	—	176	159	164	15	4		
			143	138	161	13	6		
			158			13	5		
無処理 対 照	—	—	—	170	155	11	6		
				155	151	13	4		
						17	6		
アセフェート (SX941) 原 体	1	—	161	—	—	—	—		
			143						
	10	—	—	154	—	—	—		—
				161					
	100	—	—	164	—	—	—		—
				148					
	1000	—	—	138	171	169	15		7
				148	176	178	16		7
	2000	—	—	—	194	178	14		7
					175	207	13		4
	5000	—	—	—	186	183	—		—
					199	213			
10000	—	—	233	239	206	10	4		
			268	213	250	12	6		
500	—	—	174	—	—	—	—	Spot	
			150						
1000	—	—	—	—	—	13	7		
						14	5		
10000	—	—	—	—	—	10	4		
						16	8		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				備考
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			試験1	試験2	TA98	TA1537	
			TA100	TA100			
溶媒対照 (蒸留水)	—	+	169	—	20	8	
			156	—	23	6	
			155	—	25	8	
アセフェート (SX941) 原体	1	+	157	—	—	—	
	10	+	149	—	—	—	
			152	—	—	—	
	100	+	154	—	—	—	
			151	—	—	—	
	1000	+	174	—	—	—	
			161	—	27	4	
	2000	+	144	—	28	5	
—			—	20	8		
5000	+	—	—	27	7		
		—	—	—	—		
10000	+	229	—	26	5		
		248	—	27	7		
Benz- pyrene	10000	—	137	—	—	—	
		+	158	—	—	—	
			430	—	—	—	
			448	—	—	—	
MNNG*	20000	—	137	—	—	—	
		+	153	—	—	—	
			>500	—	—	—	
			>500	—	—	—	
2-AF**	15	—	—	—	18	5	
		+	—	—	21	6	
			—	—	>1000	37	
2-NF***	50	—	—	—	>1000	—	
		+	—	—	>1000	—	
			—	—	—	—	
9-NF****	100	—	—	—	—	>1000	
		+	—	—	—	>1000	

* MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

** 2-AF : 2-aminofluorene,

*** 2-NF : 2-nitrofluorene,

**** 9-NF : 9-nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

アセフェートは TA100 に対して極めて弱い復帰変異コロニー数の増加を示したが TA98 及び TA1537 に対して変異原性は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、2-aminofluorene、2-nitrofluorene 及び 9-nitrofluorene では対照と比較して著明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突然誘発性は有しないものと判断される。

4) 細菌を用いる復帰変異性試験

(資料 Mu-15)

試験機関：

報告書作成年：1984年

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1537 株) を用い、代謝活性化系の非存在下で、Ames らの方法を用いて 7 ロットの検体及びアセトアミドについて変異原性を検定した。

検体及びアセトタミドは蒸留水に溶解した。検体は、TA100 に対しては全ロットで 2~50 mg/プレートの範囲の 4 濃度で、また TA98 及び TA1537 に対しては 3 ロットの検体で 10 及び 50 mg/プレートの 2 濃度で試験を実施した。アセタミドは、TA100 に対しては 0.01~50 mg/プレートの範囲の 7 濃度で、また TA98 及び TA1537 に対しては 10 及び 50 mg/プレートの 2 濃度で試験を実施した。試験は 3 反復とし、1 回行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

いずれのロットの検体においても検定菌株に生育阻害は認められなかった。本試験において、代謝活性化系の非存在下ですべての検体において検定菌株 TA100 の復帰変異コロニー数に用量反応性の有意な増加が認められた。復帰変異コロニー数の増加は評価基準に基づき弱い変異原性を有すると評価した。TA98 及び TA1537 について検体は代謝活性化系の非存在下で復帰変異コロニー数を増加させなかった。アセトアミドはいずれの検定菌株についても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)、2-ニトロフルオレン及び 9-アミノアクリジンではすべての検定菌株で復帰変異コロニー数に明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含まない本試験条件下で検定菌株 TA100 に対して弱い復帰変異誘発性を有すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

復帰突然変異試験成績

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 (mg/プレート)	S9Mix の有無	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	TA98	TA1537
溶媒対照	0	—	120*	29	9
検体 (ロット)	2	—	122	—	—
	10	—	132	—	—
	20	—	145	—	—
	50	—	228	—	—
検体 (ロット)	2	—	142	—	—
	10	—	163	33	9
	20	—	201	—	—
	50	—	235	31	11
検体 (ロット)	2	—	123	—	—
	10	—	131	—	—
	20	—	180	—	—
	50	—	217	—	—
検体 (ロット)	2	—	156	—	—
	10	—	189	29	12
	20	—	214	—	—
	50	—	308	31	14
検体 (ロット)	2	—	145	—	—
	10	—	185	—	—
	20	—	203	—	—
	50	—	313	—	—
検体 (ロット)	2	—	137	—	—
	10	—	158	28	8
	20	—	206	—	—
	50	—	273	32	11
検体 (ロット)	2	—	140	—	—
	10	—	152	—	—
	20	—	190	—	—
	50	—	257	—	—
アセトアミド (ロット)	0.01	—	124	—	—
	0.1	—	120	—	—
	0.2	—	123	—	—
	2	—	121	—	—
	10	—	130	29	10
	20	—	121	—	—
	50	—	126	26	13
陽性 対照	MNNG (n=2)	2 µg/プレート	—	>1000	—
	2-ニトロフルオレン	50 µg/プレート	—	—	>1000
	9-アミノアクリジン	100 µg/プレート	—	—	>1000

* n=12

5) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 Mu-16)

試験機関：

報告書作成年：1984年

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA100 株) を用い、代謝活性化系の非存在下で Ames らの方法を用い 5 ロットの検体及び硫酸ジメチルについて変異原性を検定した。

検体及び硫酸ジメチルは蒸留水に溶解し、0.1～50 mg/プレート の範囲の濃度で試験を実施した。試験は3反復とし、1回行った。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

本試験において、代謝活性化系の非存在下ですべての検体について検定菌株 TA100 の復帰変異コロニー数に用量反応性の有意な増加が認められた。復帰変異コロニー数の増加は評価基準に基づき弱い変異原性と評価した。硫酸ジメチルについては 0.3～5 mg/プレート で対照群と比較して有意な増加が認められたが、毒性のため用量反応性は評価できなかった。

一方、陽性対照として用いた N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) はすべての検定菌株において復帰変異コロニー数に明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含まない本試験条件下で検定菌株 TA100 に対して弱い復帰変異誘発性を有すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

復帰突然変異試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 (mg/プレート)	S9-Mix の有無	復帰変異 コロニー数/プレート
			TA100
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	145
検体 (ロット)	2	-	165
	10	-	212
	20	-	260
	50	-	371
検体 (ロット)	2	-	154
	10	-	200
	20	-	238
	50	-	306
検体 (ロット)	2	-	155
	10	-	168
	20	-	215
	50	-	290
検体 (ロット)	2	-	145
	10	-	155
	20	-	182
	50	-	257
検体 (ロット)	2	-	164
	10	-	184
	20	-	247
	50	-	304
硫酸ジメチル (ロット)	0.1	-	132
	0.3	-	151
	0.5	-	197
	1	-	256
陽性対照 (MNNG)	2 µg/プレート	-	>1000

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

6) マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 細胞遺伝学的試験 (資料 Mu-11)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体純度： %

試験動物：スイス・アルビノ・マウス 1群雌雄各4匹 (体重 雌雄 25-35g)

試験方法：アセフェート 0、11.2、37.3、112mg/kg を経口投与後、6、24、48時間目に屠殺して大腿骨の骨髄を採取し、マウス当り50個の有糸分裂像を分析した。陽性対照にはシクロホスファミド25mg/kg を経口投与、24時間後に屠殺した。なお、屠殺約2時間前にコルヒチン 1.2mg/kg を腹腔内投与し、各動物の有糸分裂を阻止した。

試験結果：結果を次表に示した。

中毒症状；アセフェート 37.3 及び 112mg/kg を投与したマウスは、投与 24、48 時間後に運動失調、不活発、眼滲出物が観察された。

11.2mg/kg 投与群には何ら中毒症状は認められなかった。

アセフェート、シクロホスファミド投与群及び対照群のいずれの群においても死亡は認められなかった。

染色体分析；次表に結果を示す。アセフェート投与のいずれの群においてもギャップを除く染色体異常数の有意な増加は認められず、ギャップを含む染色体異常の総数の増加は、投与量に関連しなかった。

以上の結果より、アセフェートには染色体異常の誘発性がないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

性別	薬物	濃度 (mg/kg)	異常を有する細胞数										
			染色分体		染色体								
			ギャップ	切断	ギャップ	切断	環状	欠失	断片	交換	その他		
6時間後	♂ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	3.75	0.50	—	—	—	—	0.25	—	—	
		112	3.75	—	—	—	—	—	—	—	—		
			37.3	5.00	0.50	—	—	—	—	—	—		
	♀ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	3.00	0.50	—	—	—	—	—	—	—	
		112	5.00	0.75	—	—	—	—	—	—	—		
			37.3	3.00	0.25	—	—	—	—	—	—		
	24時間後	♂ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	3.00	0.00	—	—	—	0.25	0.25	—	—
			25	12.50	10.25	—	0.50	—	1.00	10.50	1.25	2.00	
				112	3.25	0.25	—	—	—	0.25	—	—	
♀ 検体		陽性対照 (シクロスファミド [®])	25	12.50	10.25	—	0.50	—	1.00	10.50	1.25	2.00	
		112	3.25	0.25	—	—	—	0.25	—	—	—		
			37.3	5.00	1.25	—	—	—	0.25	—	—		
48時間後		♂ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	3.00	0.25	—	—	—	—	—	—	—
			25	10.00	5.50	—	—	0.75	1.00	7.50	1.50	0.25	
				112	4.50	0.25	—	—	—	—	—	—	—
	♀ 検体	陽性対照 (シクロスファミド [®])	25	10.00	5.50	—	—	0.75	1.00	7.50	1.50	0.25	
		112	4.50	0.25	—	—	—	—	—	—	—		
			37.3	5.00	0.75	—	—	—	—	—	—		
	48時間後	♂ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	4.50	0.25	—	—	—	—	—	—	—
			112	4.50	0.25	—	—	—	—	—	—	—	
				37.3	3.50	0.25	—	—	—	—	0.25	—	
♀ 検体		溶媒対照 (蒸留水)	—	6.00	0.75	—	—	—	—	—	—	—	
		112	5.50	0.25	—	—	—	0.25	—	—	—		
			37.3	7.75	0.25	—	—	—	—	—	—		
48時間後		♀ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	6.00	0.75	—	—	—	—	—	—	
			112	5.50	0.25	—	—	—	0.25	—	—		
				37.3	7.75	0.25	—	—	—	—	—		
48時間後	♀ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	6.00	0.75	—	—	—	—	—	—		
		112	5.50	0.25	—	—	—	0.25	—	—			
			37.3	7.75	0.25	—	—	—	—	—			
48時間後	♀ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	6.00	0.75	—	—	—	—	—	—		
		112	5.50	0.25	—	—	—	0.25	—	—			
			37.3	7.75	0.25	—	—	—	—	—			
48時間後	♀ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	6.00	0.75	—	—	—	—	—	—		
		112	5.50	0.25	—	—	—	0.25	—	—			
			37.3	7.75	0.25	—	—	—	—	—			
48時間後	♀ 検体	溶媒対照 (蒸留水)	—	6.00	0.75	—	—	—	—	—	—		
		112	5.50	0.25	—	—	—	0.25	—	—			
			37.3	7.75	0.25	—	—	—	—	—			

7) サルのリンパ球細胞を用いた細胞遺伝学的試験

(資料 ChE-3)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体純度： %

試験方法：(染色体異常の検出) 雌雄各2匹のカニクイザルに検体2.5mg/kg/日の用量で経口投与し、投与3週間後に末梢血液を採取した。血球凝集素を加えてリンパ球を得た。37℃にて45時間培養ののち、コルセミドを加え、細胞分裂を停止、さらに3時間培養を行った。

スライドを作製し染色した後、染色体の異常をギャップ、切断、断片、交換及びその他に分類し、計測した。

(姉妹染色分体交換の検出) 上記と同様に得た培養物に bromodeoxyuridine (BRDU) を加えた。培養細胞は、69時間後にコルセミドを加え、72時間後にペレット状とした。

スライドを作製し染色した後、姉妹染色分体交換の数と染色体数を計測した。

結果：(染色体異常の検出) 観察した細胞100個当りの異常細胞数は下表のとおり。

性別	群	ギャップ		切断		断片	交換	多発性 変異	その他
		染色分体	染色体	染色分体	染色体				
♂	対照群	1.5	0.5	0.5	—	—	—	—	—
	検体投与群	1.0	—	—	0.5	0.5	—	—	—
♀	対照群	1.0	—	0.5	—	0.5	—	—	—
	検体投与群	1.0	—	—	—	0.5	—	—	—

(数値は2培地の平均値)

40~44個の幅以外の染色体補体を伴う分裂中期像の発生頻度は下表のとおり。

性別	群	<25		25~29		30~35		35~39		>44	
		正常	異常	正常	異常	正常	異常	正常	異常	正常	異常
♂	対照群	0	0	0	0	1.5	0	5.0	0.5	0.5	0
	検体投与群	0.5	0	0	0.5	1.0	0	7.0	0	0	0
♀	対照群	0	0	0.5	0	4.0	0.5	7.5	0.5	1.0	0
	検体投与群	0.5	0	0.5	0	1.0	0	3.5	0	1.0	0

(数値は2培地の平均値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(姉妹染色分体交換の検出) 培養当たりの 30 個の分裂中期像を調査した。
各分裂中期像の姉妹染色分体交換 (SCE) の頻度は、下表のとおり。

性別	群	SCE の総数 () は細胞当たりの SCE	
		♂	対 照 群
	検体投与群	146 (4.9)	166 (5.5)
♀	対 照 群	140 (4.7)	147 (4.9)
	検体投与群	204 (6.8)	184 (6.1)

検体投与群は、染色体異常の発現頻度において、対照群に比して有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体におけるカニクイザルのリンパ球細胞を用いた染色体異常及び姉妹染色分体交換試験での変異原性は陰性であると判断される。

8) マウスを用いた小核試験

(資料 Mu-8)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体純度： %

供試動物：Swiss系雄性マウス（体重18～27g）1群24匹

試験方法：検体を滅菌水に溶解し、強制経口投与した。

陽性対照群は Trimethyl phosphate (TMP) を DMSO に溶かし、腹腔内投与した。

投与量、体重変化、死亡率及び屠殺日程は次表のとおり。

化合物	動物数	投与量		体重変化	屠殺数			死亡数
		0時間	24時間		48時間	72時間	96時間	
陽性対照 (TMP)	8	1 g/kg	1 g/kg	-1.6	8	-	-	0
陰性対照 (滅菌水)	24	5 mL/kg	5 mL/kg	-1.1*	8	8	8	0
検体	24	75mg/kg	75mg/kg	-0.2	8	8	8	0
	24	150mg/kg	150mg/kg	-0.4	8	8	8	0
	24	300mg/kg	300mg/kg	-1.2	8	8	8	0

* 8匹がそれぞれ4gの減少を示した。おそらく給水装置の不備により、飲水量と摂餌量が減少したものである。

残りの16匹では平均0.4gの体重増加が認められた。

第1回目投与の48、72及び96時間後に動物を屠殺し、大腿骨から骨髄を採取して骨髄塗抹標本を作製した。

1個体当たり500個の多染性赤血球 (PCE) を観察し小核の有無を調べた。同時に200個のPCEを計数する間に視野内に現われた成熟赤血球 (RBC) を数え、RBCに対するPCEの比率も算出した。

結 果 : 小核を有する多染性赤血球の頻度は次表のとおりであった。

化 合 物	投 与 量	48 時間後屠殺		72 時間後屠殺		96 時間後屠殺	
		小核数*	PCE/RBC 比	小核数*	PCE/RBC 比	小核数*	PCE/RBC 比
陽性対照 (TMP)	1g/kg	50	1.23	—		—	
陰性対照 (滅菌水)	5mL/kg	7	1.76	8	1.02	2	0.75
検 体	75mg/kg	7	1.62	6	1.29	5	1.51
	150mg/kg	7	2.05	6	1.03	6	0.99
	300mg/kg	6	1.68	7	1.01	6	1.45

* 小核数：小核を有する PCE の数の各群 8 匹の合計数
(500PCE/匹×8 匹=4000PCE 観察)

検体投与群のすべての投与量及び採取時期において小核誘発性は陰性であった。(検体投与群は、MacKey と MacGregor の統計的評価方法の陰性の基準をすべて満たした。)

陽性対照の TMP は、小核の出現頻度を増加させた。

以上の結果からこの試験で本検体はマウスに小核の出現を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

9) マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 姉妹染色分体交換試験

(資料 Mu-10)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体純度： %

試験動物：ICR (CD-1) 系マウス、1群雌雄各5匹

試験方法：アセフェート 0、29、96mg/kg 及び陽性対照としてシクロfosファミド 10mg/kg を単回経口投与したのち、55mg の BrdU 錠を皮下に挿入した。その後、陰性対照群は 22 時間後、試験群と陽性対照群は 25 時間後に屠殺して、脛骨から骨髄を採取し、固定、染色後、細胞当たりあるいは染色体当りの SCE の頻度を算出した。

試験結果：結果を次表に示した。

処 理	投 与 量	動物数	動物当りのスコアする細胞数	スコアした細胞総数	スコアした染色体総数	1細胞当りのSCE頻度	1染色体当りのSCE頻度		
<u>雄</u>	陰性対照	N/A	5	25	125	4,983	7.44±0.619	0.186±0.0155	
	陽性対照	10mg/kg	4	1-25	76	3,027	19.45±0.876***	0.486±0.0219***	
	<u>検体</u>	アセフェート：低	29mg/kg	3	25	75	2,993	6.93±1.250	0.173±0.0310
		高	96mg/kg	5	18-25	118	4,697	8.45±0.975	0.211±0.0244
<u>雌</u>	陰性対照	N/A	4	16-25	91	3,596	14.70±1.762	0.368±0.0442	
	陽性対照	10mg/kg	5	2-25	102	4,035	20.53±1.140*	0.513±0.0284*	
	<u>検体</u>	アセフェート：低	29mg/kg	5	18-25	118	4,702	11.83±1.134	0.296±0.0283
		高	96mg/kg	5	25	125	4,907	9.10±0.512*	0.228±0.0128*

データは t-検定と両側検定により解析した。各動物は 1 標本とした。

* 有意差 $p \leq 0.05$

*** 有意差 $p \leq 0.001$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

アセフェートを投与したマウスのいずれの群においても染色体当りの SCE 数と細胞当りの SCE 数の増加は認められなかった。

以上の結果より、本試験の条件下では、アセフェートは CD-1 マウスの骨髄における姉妹染色分体交換の頻度を増加させなかった。

10) チャイニーズハムスターの卵巣培養細胞を用いた姉妹染色分体交換試験 (資料Mu-7)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体純度： %

試験方法：チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 培養細胞を用いた。

ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下及び非存在下で、Perry と Evans、Stetka と Wolff の方法を改良した方法で、姉妹染色分体交換 (SCE) 頻度に対する作用を調べ、変異原性を検定した。

検体を 95%エタノールに溶解し、段階的に希釈した。エタノールの最終濃度は、細胞毒性を示さない 1%未満 (0.95%) とした。試験濃度は、細胞毒性と細胞周期の遅延についての予備試験結果から、非活性化法では 2000 μ g/mL、活性化法では 5000 μ g/mL を最高濃度とした。それぞれ公比 2 の希釈段階で 5 濃度を設定した。これらの濃度は、24 時間以内に細胞が 2 回分裂するのに十分であると考えた。

検体処理は、非活性化法では、細胞を検体と BrdU を含む McCoy 5a 完全培地中で、活性化法では、細胞を予め検体と S-9 の混合液中で 2 時間培養した後、その細胞を BrdU を含む McCoy 5a 完全培地中で、共に 21.5 時間培養することにより行った。スライドはコルヒチンを加えて細胞分裂を止め、その 2.5 時間後に回収した細胞を固定、風乾して作製し、FPG 法の改良法により染色した。各サンプルから 2 枚のスライドを作製し、2 名の細胞遺伝学者 (スコアラー：A、B) が 1 スライド当り 25 細胞を観察し (1 処理濃度 2 人でスライド 2 枚計 50 細胞)、SCE の総数及び細胞当りの染色体数を分析した。

試験結果：結果を次表に示した。

表 1. 非活性化法

薬 物	濃 度 (μ g/mL)	スコアラー ^b	SCE 数/細胞* (平均 \pm SE)	SCE 数/染色体* (平均 \pm SE)	
陰 性 対 照 (0.95%エタノール)		A	15.28 \pm 0.78	0.803 \pm 0.041	
		B	10.68 \pm 0.65	0.537 \pm 0.033	
検 体 (アセフェート)	125	A	18.40 \pm 0.86	0.962 \pm 0.045	
		B	14.36 \pm 0.76	0.731 \pm 0.039	
	250	A	16.80 \pm 0.82	0.881 \pm 0.043	
		B	18.96 \pm 0.87	0.954 \pm 0.044	
	500	A	24.36 \pm 0.99	1.253 \pm 0.051	
		B	23.64 \pm 0.97	1.189 \pm 0.049	
	1000	A	30.16 \pm 1.10	1.591 \pm 0.058	
		B	28.16 \pm 1.06	1.400 \pm 0.053	
	2000	A	49.28 \pm 1.40	2.605 \pm 0.074	
		B	54.20 \pm 1.47	2.710 \pm 0.074	
	陽 性 対 照 ^a	10 ⁻³ M	A	34.16 \pm 1.17	1.757 \pm 0.060
			B	42.56 \pm 1.31	2.128 \pm 0.065

a : Ethyl methanesulfonate

b : 各スコアラー (A, B) は 1 試料につき 25 細胞を分析した。

* : アセフェート及び陰性対照に暴露した CHO 細胞における SCE 頻度の一元配置分散分析の比較では、処理群間の分散は処理群内の分散よりも有意に大きかった (P<0.0005)。

表 2. 活性化法

薬 物	濃 度 (μ g/mL)	スコアラー ^b	SCE 数/細胞* (平均 \pm SE)	SCE 数/染色体* (平均 \pm SE)	
陰 性 対 照 (0.95%エタノール)		A	19.16 \pm 0.88	0.980 \pm 0.045	
		B	21.04 \pm 0.92	1.222 \pm 0.049	
検 体	312.5	A	17.04 \pm 0.83	0.878 \pm 0.043	
		B	15.88 \pm 0.80	0.831 \pm 0.042	
	625	A	17.24 \pm 0.83	0.864 \pm 0.041	
		B	18.04 \pm 0.85	0.958 \pm 0.045	
	1250	A	22.12 \pm 0.94	1.119 \pm 0.048	
		B	19.84 \pm 0.89	1.035 \pm 0.046	
	2500	A	23.00 \pm 0.96	1.206 \pm 0.050	
		B	20.20 \pm 0.90	1.072 \pm 0.048	
	5000	A	27.80 \pm 1.05	1.396 \pm 0.053	
		B	27.88 \pm 1.06	1.443 \pm 0.055	
	陽 性 対 照 ^a	10 ⁻³ M	A	42.00 \pm 1.30	2.134 \pm 0.066
			B	35.92 \pm 1.20	1.883 \pm 0.063

a : Dimethylnitrosamine

b : 各スコアラー(A、B)は1試料につき25細胞を分析した。

* : アセフェート及び陰性対照に暴露したCHO細胞におけるSCE頻度の一元配置分散分析の比較では、処理群間の分散は処理群内の分散よりも有意に大きかった (P<0.005)。

検体処理群では、代謝活性化の有無ともに濃度依存的にSCE頻度の増加があると考えられた。

この反応は、非活性化法では2000 μ g/mLで最大で、陰性対照のSCE頻度の約3.2~5.0倍であった。また活性化法では5000 μ g/mLで最大で、陰性対照の1.2~1.4倍であった。

11) 酵母を用いる変異原性試験

(資料 Mu-17)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体純度： %

試験方法：酵母 *Saccharomyces cerevisiae* D7 菌株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、検体を含む7薬物について有糸分裂交差、遺伝子変換及び復帰突然変異誘発性を試験した。

検体及び他の薬物は DMSO に溶解し、試験は通常、生育阻害が認められない濃度から 50%の生育阻害を生じる濃度範囲で行った。検体は、代謝活性化系の有無にかかわらず第1回目の試験では 1~5% w/v の範囲の 5 濃度で、また第2回目の試験では 3~5% w/v の範囲の 5 濃度で試験した。試験は2回行った。陽性対照には 1, 2, 3, 4-ジエポキシブタンを用いた。

酵母細胞は、 10^8 細胞/mL に調整して S9 Mix の存在下または非存在下で検体あるいは他の薬物とともに 30°C で 4 時間インキュベートした後、培養液を適宜生理食塩水で希釈して用いた。

有糸分裂交差； 10^3 及び 10^5 倍希釈培養液 0.2 mL をトップアガーに添加し、寒天培地の入ったプレートに重層した。 10^3 倍希釈培養については 5 プレート、 10^5 倍希釈培養については 3 プレートを調製し、30°C で 2 日間インキュベート後、色素沈着を促すためさらに 4°C で 2 日間培養した。 10^3 倍希釈培養において有糸分裂組換え (ピンク/赤のコロニー) 数及び染色体異常 (ピンク、赤、ピンクと赤、赤と白) 数を 10 倍率の解剖顕微鏡下で採点した。 10^5 倍希釈培養上に出現した総コロニー数を計数し、生存率及び 10^5 倍生存数当たりの有糸分裂組換え数及び総染色体異常数を算出した。

遺伝子変換；10 倍希釈培養液 0.2 mL をトップアガーに添加し、トリプトファン欠乏合成培地の入ったプレートに重層した。30°C で 5 日間培養後、変換コロニー数を計数した。

復帰突然変異；0.2 mL の培養液をトップアガーに添加し、イソロイシン欠乏合成培地の入ったプレートに重層した。30°C で 5 日間培養後、復帰突然変異コロニー数を計数した。

試験結果：有糸分裂交差は 1 mL 当たりの有糸分裂組換え及び染色体異常の絶対数及び 10^5 生存数当たりの相対数で評価し、遺伝子変換は 1 mL 当たりの変換コロニーの絶対数及び 10^6 生存数当たりの相対数で評価した。復帰突然変異は 1 mL 当たりの復帰変異コロニーの絶対数及び 10^7 生存数当たりの相対数で評価し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

た。

検体の試験結果を次の表に示す。検体は有糸分裂交差及び遺伝子変換を誘発し S9 Mix の存在下においてのみ復帰突然変異を誘発した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

1 回目試験 (検体)

薬物	S9Mix の有無	濃度 (%)	生存数		有糸分裂交差				遺伝子変換		復帰突然変異	
					有糸分裂組換え		総染色体異常		変換		復帰変異	
			細胞 /ml ($\times 10^7$)	相対 生存率 (%)	コロニー /ml ($\times 10^3$)	/10 ⁶ 生存 細胞	コロニー /ml ($\times 10^3$)	/10 ⁶ 生存 細胞	コロニー/ml ($\times 10^{-1}$)	/10 ⁶ 生存 細胞	コロニー /ml ($\times 10^0$)	/10 ⁷ 生存 細胞
陰性 対照	-	10.0	5.2	100	0	0	12	23	43	8.3	22	4.2
	+	10.0	5.7	100	2.5	4.4	12	21	54	9.5	22	3.9
陽性 対照	-	0.013	4.6	88	97	210	810	1800	1700	370	350	76
	+	0.013	6.3	111	100	160	870	1400	1600	250	310	49
検体	-	1.0	3.5	67	3.0	8.6	18	51	62	18	31	8.9
	-	2.0	3.7	71	3.0	8.1	31	84	77	21	26	7.0
	-	3.0	2.7	52	8.0	30	38	140	91	34	20	7.4
	-	4.0	1.4	27	17	120	59	420	100	71	13	9.3
	-	5.0	1.3	25	20	150	53	410	83	64	4.0	3.1
	+	1.0	4.3	75	4.0	9.3	12	30	64	15	19	4.4
	+	2.0	2.9	51	3.0	10	41	140	70	24	23	7.9
	+	3.0	2.7	47	8.0	30	41	150	88	33	37	14
	+	4.0	3.4	60	18	53	57	170	110	32	37	11
	+	5.0	3.7	65	19	51	68	180	190	51	60	16

陰性対照：カナマイシン

陽性対照：1,2,3,4-ジエポキシブタン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2回目試験（検体）

薬物	S9Mix の有無	濃度 (%)	生存数		有糸分裂交差				遺伝子変換		復帰突然変異	
					有糸分裂組換え		総染色体異常		変換		復帰変異	
			細胞 /ml ($\times 10^7$)	相対 生存率 (%)	コロン /ml ($\times 10^3$)	/10 ⁵ 生存 細胞	コロン /ml ($\times 10^3$)	/10 ⁵ 生存 細胞	コロン/ml ($\times 10^{+1}$)	/10 ⁶ 生存 細胞	コロン /ml ($\times 10^0$)	/10 ⁷ 生存 細胞
陰性 対照	-	10.0	5.9	100	0.50	0.85	12	20	46	7.8	11	1.9
	+	10.0	6.1	100	0	0	13	21	36	5.9	6.0	0.98
陽性 対照	-	0.013	4.1	69	160	390	660	1600	1000	240	180	44
	+	0.013	5.2	85	110	210	550	1100	1500	290	150	29
検体	-	3.0	4.5	76	10	22	62	140	120	27	11	2.4
	-	3.5	4.8	81	16	33	57	120	150	31	19	4.0
	-	4.0	4.7	80	18	38	100	210	150	32	21	4.5
	-	4.5	1.4	24	19	140	74	530	71	51	7.0	5.0
	-	5.0	0.73	12	9.0	120	61	840	47	64	6.0	8.2
	+	3.0	6.6	108	3.0	4.5	54	8.2	140	21	11	1.7
	+	3.5	5.8	95	4.0	6.9	74	130	160	28	15	2.6
	+	4.0	6.1	100	17	28	62	100	160	26	22	3.6
	+	4.5	4.8	79	13	27	79	160	170	35	24	5.0
	+	5.0	3.2	52	13	41	84	260	150	47	8.0	2.5

陰性対照：カナマイシン

陽性対照：1,2,3,4-ジエポキシブタン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

また、検体及び他の薬剤の試験結果を比較して次の表に示す。7 薬剤中 4 薬剤が酵母 D7 に対し有糸分裂交差、遺伝子変換及び復帰突然変異を誘発した。7 薬剤中 2 薬剤は何ら遺伝子損傷を示さなかった。

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有糸分裂交差及び遺伝子変換誘発性を有し、また代謝活性化の存在下においてのみ復帰突然変異誘発性を有すると判断される。

試験結果 (まとめ)

薬物	有糸分裂交差	遺伝子変換	復帰突然変異
検体	+*	+	- /+**

* + : 陽性、- : 陰性

** S9 Mix の非存在下で陰性、S9 Mix の存在下で陽性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

12) ラットの肝細胞を用いた不定期DNA合成試験 *in vivo*

(資料 Mu-18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体純度 : %

試験動物 : CDF Fisher 344 系雄ラット、投与時 10~11 週齢、体重 165~229g、1 群各 2 匹

試験方法 : ラットの初代培養肝細胞を用い、オートラジオグラフィー法により独立した 4 試験 (試験 1~4) を行った。

いずれも検体は注射用水に溶解し、150、300 及び 500 mg/kg の用量で雄ラットに単回経口投与した。試験 1 及び 3 では投与 2 時間後、試験 2 及び 4 では投与 16 時間後に動物を屠殺し、生体内でコラゲナーゼ灌流した後、標準的な方法により肝細胞を単離した。肝細胞をプレートに播種し培養した。培養期間終了後 3H-チミジンを添加した培地に交換して 3~4 時間培養した。細胞を洗浄し、無標識チミジンを添加した培地でさらに一夜培養した。その後放射標識した肝細胞のオートラジオグラフィー標本を作製し、3H-チミジンの取込み量を測定した。試験は対照群、試験群とも各動物について 3 連の培養を用いた。

動物当たり 2 枚のスライド標本を用い、1 標本につき 50 個、計 100 個の正常形態細胞を観察した。各細胞について核グレイン数 (NG)、平均細胞質グレイン数 (CG: 核に隣接した任意の 3 領域の細胞質グレイン数の平均値) を計測し、ネット核グレイン数 (NNG: NG - CG) を算出した。各スライドの平均 NNG 及び修復細胞 (NNG が 5 個以上) の出現頻度を算出し、さらにこの値から各群 (4 スライド) の平均 NNG 及び修復細胞の出現頻度を算出した。

陰性対照には溶媒を、また陽性対照にはメタンスルホン酸メチル (2 時間処理) 及び 2-アセチルアミノフルレン (16 時間処理) を用い、同様の処理を行った。アセフェートを 0、150、300 及び 500mg/kg の用量で、1 回経口投与したラットの肝細胞を用いて USD 誘発性を検定した。

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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

試験結果 : オートラジオグラフィー標本の観察結果を次表に示す。

スライド観察において有意な細胞毒性の所見が認められなかったことから、不定期 DNA 合成の評価は 300 及び 500mg/kg 投与群についてのみ行った。各試験群について合計 200 個 (50 個/スライド) の細胞を観察した結果、いずれの処理時間の処理群においても、陰性対照群と比較し核当たりの平均ネット核グレイン数及び修復細胞の発現頻度に有意な上昇は認められなかった。一方陽性対照群では、陰性対照と比較し核当たりの平均ネット核グレイン数及び修復細胞の発現頻度に統計学的に有意な明らかな上昇が認められた。

以上の結果からアセフェートは、本試験条件下において、ラット肝細胞に対して DNA 修復を誘発せず、DNA 損傷の誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表：アセフェートの肝細胞における不定期 DNA 合成試験結果

群	用量 (mg/kg)	処理 時間 (hr)	観察 細胞数	各スライドの 平均ネット核グレイン数				群平均	SD
1	溶媒 (注射用水)	2	200	-7.1	-7.0	-7.6	-8.2	-7.4	0.55
	300	2	200	-6.8	-6.7	-6.8	-7.7	-7.00	0.47
	500	2	200	-6.9	-7.5	-8.5	-7.7	-7.65	0.66
	MMS (300g/kg)	2	200	15.4	11.7	16.3	14.2	14.40***	1.99
2	溶媒 (注射用水)	16	200	-8.1	-7.7	-7.6	-6.6	-7.50	0.64
	300	16	200	-6.3	-7.0	-7.0	-7.3	-6.90	0.42
	500	16	200	-7.9	-7.2	-8.8	-8.5	-8.10	0.71
	2-AAF (75mg/kg)	16	200	16.0	17.7	8.5	10.5	13.18***	4.38
3	溶媒 (注射用水)	2	200	-5.9	-8.2	-8.1	-7.7	-7.48	1.07
	300	2	200	-8.5	-7.8	-7.0	-6.8	-7.53	0.78
	500	2	200	-6.7	-7.3	-7.6	-6.7	-7.08	0.45
	MMS (300g/kg)	2	200	21.0	18.0	12.2	13.3	16.13***	4.11
4	溶媒 (注射用水)	16	200	-8.2	-8.0	-6.9	-6.5	-7.40	0.83
	300	16	200	-6.6	-5.7	-6.6	-7.0	-6.48	0.55
	500	16	200	-8.0	-7.6	-6.3	-6.6	-7.13	0.81
	2-AAF (75mg/kg)	16	200	9.2	13.3	11.0	11.7	11.30***	1.70

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

13) マウスリンパ腫細胞を用いる変異原性試験

(資料 Mu-4)

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体純度 : %

試験方法 : アセフェート 0、2, 429、3, 071、3, 714、4, 357 及び 5, 000 μ g/mL の濃度の水溶液と L5178Y TK⁺/⁻マウスリンパ腫細胞浮遊液と混合し、S-9 存在下あるいは非存在下の培養液中にクローン化した。その後細胞数が一定となるよう調整してプレートに移し、培養期間後のプレート当りの総コロニー数を数えた。なお、制限剤として 3 μ g/mL の TFT を用いた。

試験結果 : アセフェートは S-9 活性系の存在下及び非存在下においてマウスリンパ腫細胞 L5178Y TK⁺/⁻の突然変異頻度を増加させた。結果を次頁に表として示す。

次表の結果から、アセフェートは本試験条件下で本検定において陽性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

S-9 非存在下

薬物濃度		制限培地での 平均コロニー数	生細胞培地での 平均コロニー数	突然変異 頻度*	突然変異 誘発頻度*
対 照	A	68	235	0.6	0.5
	B	48	215	0.4	
2429 μ g/mL	A	197	225	1.8	1.3
	B	200	211	1.9	1.4
3071 μ g/mL	A	208	198	2.1	1.6
	B	241	214	2.3	1.8
3714 μ g/mL	A	225	208	2.2	1.7
	B	261	255	2.0	1.5
4357 μ g/mL	A	289	218	2.7	2.2
	B	201	191	2.1	1.6
5000 μ g/mL	A	298	193	3.1	2.6
	B	256	199	2.6	2.1

S-9 存在下

薬物濃度		制限培地での 平均コロニー数	生細胞培地での 平均コロニー数	突然変異 頻度*	突然変異 誘発頻度*
対 照	A	94	219	0.9	0.8
	B	81	242	0.7	
2429 μ g/mL	A	+	222		
	B	211	217	1.9	1.1
3071 μ g/mL	A	245	187	2.6	1.8
	B	242	224	2.2	1.4
3714 μ g/mL	A	263	199	2.6	1.8
	B	297	178	3.3	2.5
4357 μ g/mL	A	287	+		
	B	298	183	3.3	2.5
5000 μ g/mL	A	278	187	3.0	2.2
	B	300	176	3.4	2.6

* 10^4 生存細胞数当り

+ 培養器紛失

$$\text{注) 突然変異頻度} = \frac{\text{制限培地での平均コロニー数}}{\text{生細胞培地での平均コロニー数}} \times 2$$

$$\text{突然変異誘発頻度} = (\text{処理培地の突然変異頻度}) - (\text{対照培地の突然変異頻度})$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

14) マウスリンパ腫細胞を用いる変異原性試験

(資料 Mu-5)

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体純度 : %

試験方法 : アセフェート 0、2429、3071、3714、4357 及び 5000 μ g/mL の濃度の水溶液と L5178Y TK+/-マウスリンパ腫細胞浮遊液と混合し、S-9 活性化系存在下あるいは非存在下の培養液中でクローン化した。その後細胞数が一定となるよう調整してプレートに移し、培養期間後のプレート当りの総コロニー数を数えた。なお、制限剤として 3 μ g/mL の TFT を用いた。

試験結果 : アセフェートは S-9 活性化系の存在下及び非存在下においてマウスリンパ腫細胞 L5178Y TK+/-の突然変異頻度をそれぞれ 2.6~5.0 倍、2.7~4.4 倍増加させた。結果を次頁に表として示す。

次表の結果から、アセフェートは本試験条件下で本検定において陽性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

S-9 非存在下

薬物濃度		制限培地での 平均コロニー数	生細胞培地での 平均コロニー数	突然変異 頻度*	突然変異 誘発頻度*
対 照	A	42	229	0.4	0.5
	B	57	232	0.5	
2429 μ g/mL	A	139	198	1.4	0.9
	B	147	234	1.3	0.8
3071 μ g/mL	A	162	199	1.6	1.1
	B	168	211	1.6	1.1
3714 μ g/mL	A	+	+		
	B	196	176	2.2	1.7
4357 μ g/mL	A	185	177	2.1	1.6
	B	215	186	2.3	1.8
5000 μ g/mL	A	212	176	2.4	1.9
	B	188	153	2.5	2.0

* 10^4 生存細胞数当り

+ 培養器紛失

S-9 存在下

薬物濃度		制限培地での 平均コロニー数	生細胞培地での 平均コロニー数	突然変異 頻度*	突然変異 誘発頻度*
対 照	A	+	+		
	B	71	212	0.7	
2429 μ g/mL	A	190	183	2.1	1.4
	B	172	182	1.9	1.2
3071 μ g/mL	A	227	179	2.5	1.8
	B	191	190	2.0	1.3
3714 μ g/mL	A	205	149	2.8	2.1
	B	230	173	2.7	2.0
4357 μ g/mL	A	205	161	2.5	1.8
	B	200	159	2.5	1.8
5000 μ g/mL	A	247	162	3.1	2.4
	B	252	164	3.1	2.4

* 10^4 生存細胞数当り

+ 培養器紛失

$$\text{注) 突然変異頻度} = \frac{\text{制限培地での平均コロニー数}}{\text{生細胞培地での平均コロニー数}} \times 2$$

$$\text{突然変異誘発頻度} = (\text{処理培地の突然変異頻度}) - (\text{対照培地の突然変異頻度})$$

15) マウスリンパ腫細胞を用いる突然変異原性試験

(資料 Mu-6)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体純度： %

試験方法：チミジンキナーゼがヘテロ接合体 (TK+/-) の L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いて、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下及び非存在下で、Clive らの方法で突然変異原性を調べた。

検体は、DMSO に溶解し、DMSO の最終濃度は 1% になるようにした。

試験濃度は、濃度範囲試験の結果から、活性化法、非活性化法共に 5,000 μ g/mL を最高濃度とし、1000~5,000 μ g/mL の間で 9 濃度設定した。

細胞は、試験物質に 4 時間暴露した後、発現のために新鮮な培地で 2 時間培養した。その後、この細胞をトリフルオロチミジン (TFT) を含む選択クローニング培地 (突然変異体コロニーの計数) と TFT を含まない非選択クローニング培地 (生存細胞コロニーの計数) の両方で同時に培養し、それぞれの培地に形成されたコロニーを計数した。

突然変異頻度は、最初の (検体処理時の) 培養液 1mL 当たりの突然変異体細胞数を 1mL 当たりの生存細胞数で除して表わし、各処理の突然変異頻度から溶媒対照の平均突然変異頻度を差し引いた数値を各処理の突然変異誘発頻度とした。

試験結果：表 1、2 のとおり。

本検体は、マウスリンパ腫細胞 (チミジンキナーゼ座位) において、活性化法、非活性化法共に突然変異誘発頻度の濃度依存的な増加が観察され、突然変異誘発作用があることを示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 1. 非活性化法 (S-9 の非存在下)

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	第 1 回 目		第 2 回 目	
		突 然 変 異 頻 度	突 然 変 異 誘 発 頻 度	突 然 変 異 頻 度	突 然 変 異 誘 発 頻 度
溶 媒 対 照 (1% DMSO)		37	-	43	-
		61	-	54	-
陽 性 対 照 (EMS)	500	537	488	628	579
		654	605	586	537
検 体 (アセフェート)	1000	-	-	80	31
		-	-	85	36
	1500	-	-	81	32
		-	-	82	33
	2000	120	71	105	56
		110	61	113	64
	2500	127	78	111	62
		150	101	106	57
	3000	145	96	140	91
		132	83	155	106
	3500	162	113	158	109
		-	-	149	100
	4000	187	138	178	129
		188	139	170	121
	4500	220	171	175	126
		225	176	184	135
	4700	244	195	156	107
		250	201	171	122
5000	310	261	180	131	
	223	174	167	118	

EMS : Ethyl methanesulfonate

表 2. 活性化法 (S-9 の存在下)

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	突 然 変 異 頻 度	突 然 変 異 誘 発 頻 度
溶 媒 対 照 (1% DMSO)		81	-
		81	-
陽 性 対 照 (3-MCA)	5	402	321
		357	276
検 体 (アセフェート)	1000	-	-
		-	-
	1500	-	-
		-	-
	2000	126	45
		170	89
	2500	144	63
		131	50
	3000	172	91
		170	89
	3500	174	93
		148	67
4000	205	124	
	183	102	
4500	201	120	
	176	95	
4700	182	101	
	203	122	
5000	162	81	
	266	185	

3-MCA : 3-methylcholanthrene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

16) マウスを用いた体細胞突然変異試験 (スポットテスト) (資料 Mu-9)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1986 年

検体純度 : %

供試動物 : 雄 ; T 系マウス 雌 ; C57B1/6 系マウス

試験方法 : 雌雄を交配させた後、膣栓が認められた雌マウス 854 匹を無作為に 6 群に分け、それぞれ、検体を 50、200、600 及び 800ppm の濃度で飼料に混入した投与群、飼料投与対照群、陽性対照群とした。検体投与群の動物には、妊娠 8¹/₂ 日～12¹/₂ 日の間に各濃度の検体を含む飼料を摂取させた。陽性対照群は妊娠 10¹/₂ 日にエチルニトロソウレア (ENU) 50mg/kg を 1 回腹腔内に投与した。

各群膣栓確認雌 129～164 匹供試

出 産 雌 34～54 匹/群

観察児数各群 14 日 67～362 匹

28 日 65～350 匹

生後 14 日と 28 日に被毛における変異色素由来細胞の変色斑の数と位置を観察した。

結 果 : 次頁のとおり

検体投与群において、劣性変色斑 (RCS) を有する児の数は、対照群と比較して有意に増加しなかった。

一方、陽性対照群において、RCS を有する児の数は、有意に増加した。

以上の結果より、本検体は、マウス *in vivo* 体細胞において、遺伝子突然変異を誘発しなかった。

表 1. 生後 14 日齢における変色斑をもった児の数

薬 物	濃 度 (ppm)	生 児 数	斑 点 を も っ た 児 の 数		
			DS	WMVS	RCS
飼料対照	—	362	1	0	3
検 体	50	329	0	0	1
	200	264	0	0	0
	600	88	0	0	1
	800	67	1	0	0
陽性対照 (ENU)	50mg/kg	319	3	8*	24*

表 2. 生後 28 日齢における変色斑をもった児の数

薬 物	濃 度 (ppm)	生 児 数	斑 点 を も っ た 児 の 数		
			DS	WMVS	RCS
飼料対照	—	350	1	0	3
検 体	50	309	0	0	1
	200	258	0	0	0
	600	88	0	0	1
	800	65	1	0	0
陽性対照 (ENU)	50mg/kg	315	3	8*	23*

* : $P \leq 0.01$ 有意差あり

ENU : Ethylnitrosoarea

DS : Differentiation Spot

WMVS : White Midventral Spot

RCS : Recessive Coat Spot

(生児数の減少は、児の死亡によるもの)

[申請者註：]

17) マウスにおける優性致死試験

(資料 Mu-12)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体純度： %

供試動物：ICR (CD-1) 系マウス、1群雄12匹

投与期間：投与期間 5日間、交配期間 8週間

試験方法：アセフェートの0、50、500、1,000ppmを含有した飼料を雄に5日間摂食させた。なお、アセフェートを飼料に添加する場合はアセトン：水(4:1)に溶解して行った。また、陰性及び陽性対照の飼料には溶媒のみを添加した。陽性対照群の雄にはトリエチレンメラミン(TEM)0.3mg/kgを腹腔内投与した。投与を終了した日から、雄1匹に対し同時に馴化飼育していた未経産マウス2匹と同居させ1週間交配、別居後、さらに新しい雌と同居した。この方法を8週間繰り返した。

試験項目及び試験結果：

一般症状；死亡、異常行動及び明白な毒性症状は認められなかった。

雄の体重；1週毎に測定した。500及び1,000ppm投与群の平均体重は5日目の投与終了時に有意に抑制された。

摂餌量；500及び1,000ppm投与群で5日間の投与終了時に摂餌量が少なかった。

検体摂取量；50、500、1,000ppm投与群の平均検体摂取量はそれぞれ、29、302及び354mg/kg/5日間であった。

肉眼的剖検所見；雄では心、肺、肝、消化管、脾、腎、副腎、精巣及び体脂肪を検査したが、投与に関連する異常は認められなかった。

雌では子宮内の着床数、生存胎児数、初期及び後期吸収胚数を検査し、1以上の吸収胚指数(妊娠雌当り)、2以上の吸収胚指数、着床指数(腹当りの着床痕数)、胎児指数(腹当りの生存胎児数)、吸収指数(腹当り)、初期吸収胚指数(腹当り)、非生存(全吸収胚)指数(全吸収胚数/生存胎児数)、非生存(初期吸収胚)指数、突然変異(全吸収胚)指数(雄当りの全吸収胚数/総着床数)及び突然変異(初期吸収胚)指数を算出した結果、有意差のあったものは下表のとおりで、6週目の1,000ppm投与群及び8週目の500ppm投与群の着床指数の減少、さらに8週目の500ppm投与群の胎児指数の減少がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

上記以外には異常は認められなかった。これらの変化は検体の投与量に相関性のない影響と考えられた。

	項 目	0	50ppm	500ppm	1,000ppm
6 週目	着床指数	12.95	12.17	12.04	11.46(↓)
8 週目	着床指数	13.00	13.08	11.55(↓)	12.63
	胎児指数	12.64	12.54	11.09(↓)	12.13

↓ : $p \leq 0.05$ (Wilcoxon の 2 サンプル検定)

以上の結果より、アセフェートは CD-1 マウスにおいて優性致死作用を示さないと判断する。

[申請者注]

1-13. 生体機能への影響に関する試験

アセフェートにおける薬理試験

(資料 P-1)

試験機関：

報告書作成年：1988 年

検体純度 : %

1. マウスの中樞神経系に対する作用

1-1. 筋弛緩作用及び運動協調性

供試動物：Slc：ICR系マウス雄、7週齢、1群9～11匹

投与方法：アセフェート10、30及び100mg/kgをマウスに強制経口投与し、その30分、1、2、3、4及び5時間後に回転棒上へのせ、1分以内に落下する動物数を観察した。なお、無投与対照群(蒸留水：10ml/kg)及び陽性対照としてクロルプロマジン10mg/kg投与群を設けた。

結果：投与2時間後における1分間以内の落下動物数がアセフェート及びクロルプロマジン投与群ともに最高値を示し、無投与対照、アセフェート10、30及び100mg/kg投与群で各々0/11、0/11、0/11及び11/11であり、陽性対照群(クロルプロマジン10mg/kg)は8/9を示した。投与5時間後にはアセフェート投与群の運動協調性は回復した。なお、アセフェート100mg/kg投与群に振せんが観察された。

1-2. マウスにおける睡眠延長作用

供試動物：Slc：ICR系マウス雄、7週齢、1群10～11匹

投与方法：アセフェート10、30及び100mg/kgをマウスに強制経口投与し、その1時間後にヘキソバルビタールナトリウム75mg/kgを腹腔内投与して正向反射が消失してから回復するまでの時間を測定した。なお、無投与対照群(蒸留水：10ml/kg)及び陽性対照としてクロルプロマジン10mg/kg投与群を設けた。

結果：アセフェート10及び30mg/kg投与群では睡眠時間に影響がみられなかったが、100mg/kg投与群では、無投与対照群に比較して約66%の睡眠時間の延長が認められた。なお、陽性対照のクロルプロマジン10mg/kg投与群には睡眠時間の有意な延長が認められた。

2. イヌの呼吸・循環器系に対する作用

供試動物：雑種イヌ雄、1群3頭、体重8~10kg

投与方法：ペントバルビタールナトリウム 30mg/kg の静脈内注射により麻酔し、背位に固定したイヌを用い、アセフェート 800mg/kg を静脈内投与して死亡するまでの間観察した。なお、陰性対照として、生理食塩水 2mℓ/kg を同様に静脈内投与した。

呼吸は、サーミスタ呼吸計により、血圧は右大腿動脈圧を圧力トランジューサーを介して、心電図は四肢第2誘導法で、心拍数は心電図のR波をタコメーターを介して、また、血流量は左大腿動脈に設置したプローブを介し矩形波電磁血流計を用いて各々測定した。

さらに、アセフェート投与前及び投与後に、アセチルコリン (ACh) 1 μ g/kg 及びノルアドレナリン (Nor) 1 μ g/kg を静脈内投与してこれらによって惹起される降圧及び昇圧反応に及ぼす影響についても併せて観察した。

結果：アセフェート 800mg/kg 静脈内投与したイヌ2頭は、投与120分後までに死亡し、他の1頭は190分後に死亡した。投与直後に、投与前の値に比較し、呼吸数は約55%増加、平均血圧は約14%下降、また、血流量は約33%増加したが、いずれも一過性の影響であった。

投与60分後に呼吸数が投与前に比較して約70%増加し、呼吸振幅の減少傾向が認められた。

Nor 1 μ g/kg 静脈内投与による昇圧反応にはアセフェート (800mg/kg) の影響はみられなかったが、ACh 1 μ g/kg 静脈内投与による降圧反応では、アセフェート投与前に比較して、投与15、30及び60分後において各々、約32、43及び61%降圧反応を亢進させた。なお、死亡直前に呼吸の振幅減少、血圧及び血流量の増大が認められた。

一方、陰性対照群では、投与15~120分後におけるいずれの試験項目でも投与による影響は認められなかった。

3. モルモットの自律神経系に対する作用 (摘出回腸に及ぼす影響)

供試動物：Hartley系モルモット、雄、体重391~478g

投与方法：回腸を摘出し、直ちに O₂ 95%+CO₂ 5%の混合ガスを通気した液温 31±1℃の

タイロード液を満したマグヌス槽内に懸垂し、腸管の収縮が安定した後、アセフェートをタイロード液中に 10^{-5} 、 10^{-4} 及び 10^{-3} M 濃度となるように加えた。その3分後に ACh 又はヒスタミンを累積的に添加して収縮作用に及ぼす影響を観察した。陰性対照としてアセフェートの無添加群を設けた。

結 果：アセフェートのいずれの濃度においても ACh 及びヒスタミンによる回腸の収縮に対し影響を与えなかった。

4. マウスの消化器に対する作用（腸管の輸送能に及ぼす影響）

供試動物：Slc：ICR 系マウス、雄、7 週齢、1 群 12 匹

投与方法：アセフェート 10、30 及び 100mg/kg をマウスに強制経口投与し、その1時間後に 10%アラビアゴム溶液に懸濁させた 5%炭素粉末懸濁液（0.2mL/匹）を経口投与した。炭素粉末投与 30 分後にマウスを屠殺して、腸管を摘出、胃幽門部から炭素粉末到達先端までの距離を測定し、腸管全長に対する炭素粉末移動率を算出した。なお、陽性対照として硫酸アトロピン 100mg/kg を同様に投与した。陰性対照として、蒸留水 10mL/kg を強制経口投与した。

結 果：アセフェートの腸管輸送能に及ぼす影響は認められなかった。一方、陽性対照である硫酸アトロピン 100mg/kg 経口投与により腸管輸送能が有意に抑制された。

5. ラットの骨格筋に対する作用（坐骨神経－腓腹筋標本）

供試動物：Slc：Wistar 系ラット、雄、体重 213～237g、1 群 4 匹

投与方法：ペントバルビタールナトリウム 40mg/kg の腹腔内投与により麻酔し、左側坐骨神経－腓腹筋標本を作成した。切断した坐骨神経の末梢側に刺激電極を設置し、電気刺激を行うことによって誘発される腓腹筋のれん縮を記録した。アセフェート 100mg/kg を静脈内投与したのち 180 分間観察した。なお、陰性対照として、生理食塩水 1mL/kg を同様に静脈内投与した。

結 果：アセフェート 100mg/kg 静脈内投与により、4 例中 2 例のラットで投与 60～120 分後から坐骨神経刺激によって惹起される腓腹筋の収縮が次第に増強され、同時に痙攣の発現もみられた。他の 1 例は投与 120 分後より上記の

反応が認められた。なお、陰性対照群では、投与 15～180 分後の検査で変化は認められなかった。

6. ラットの血液に対する作用（血液凝固に対する作用）

供試動物：Slc：Wistar 系ラット、雄、体重 179～196g、1 群 7 匹

投与方法：アセフェート 30、100 及び 300mg/kg を経口投与し、投与 1 時間後にエーテル麻酔下で腹大動脈から採血した。直ちに血液：3.8%クエン酸ナトリウム=9:1 となるように 3.8%クエン酸ナトリウムを加え 3,000rpm で 15 分間遠心分離して得た血漿を用い、プロトロンビン時間 (PT)、活性部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 及びフィブリノーゲン量を測定した。なお、陰性対照として、蒸留水 10ml/kg を経口投与した。

結 果：アセフェート 100 及び 300mg/kg 投与群でフィブリノーゲン量の増加 (9～13%) が認められた。

プロトロンビン時間は 300mg/kg 投与群で 6%減少した。

以上の試験結果より、アセフェートにはコリンエステラーゼの阻害作用の結果として ACh の過剰分泌に伴うニコチン様作用及びムスカリン様作用が認められた。しかし、腸管に対するムスカリン様作用は比較的弱いと考えられた。

「アセフェートの生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

(薬理)

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 筋弛緩作用 及び運動協調性 [rota-rod 法] (マウス雄)	経口 (蒸留水)	0、10、30、100 (陽性対照： クロルプロマジン 10)	9~11	100	30	投与 2 時間後、1 分間以内の落下 動物数：11/11 (100mg/kg) 振せんの発現 (100mg/kg)
睡眠延長 [ヘキサバルビタール] (マウス雄)	経口 (蒸留水)	0、10、30、100 (陽性対照： クロルプロマジン 10)	10~11	100	30	ヘキサバルビタールによる睡眠の延長 (100mg/kg、対対照：166%)
呼吸・循環器系 呼吸、血圧、心電 図、血流量 (イヌ雄：麻酔下)	静脈内 (生食水)	0、800	3	800	—	投与直後に呼吸数増加、血圧下降、 血流量増加傾向が認められた 全例死亡
自律神経系 モルモット 摘出腸管 (Magnus 法)	マグス 槽内添加 (タイロート 液)	0、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} M	—	—	10^{-3} M	影響なし
消化器系 腸管輸送能 (マウス雄)	経口 (蒸留水)	0、10、30、100 (陽性対照： 硫酸アトロピン 100)	12	—	100	影響なし
骨格筋収縮作用 [坐骨神経-腓腹 筋標本] (ラット雄 ：麻酔下)	静脈内 (生食水)	0、100	4	100	—	投与 60~120 分後より坐骨神経刺 激による腓腹筋収縮の増強及び痙 攣
血液凝固作用 (ラット雄)	経口 (蒸留水)	0、30、100、300	7	100	30	フィブリンゲン量増加 (>100mg/kg) プロトロンビン時間減少 (300mg/kg)

1-14. 解毒及び治療

解毒試験

ラットにおけるアセフェートの急性経口毒性に対する硫酸アトロピン及び
2-PAM の解毒効果試験

(資料 AD-1)

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体純度 : %

供試動物 : SD 系ラット、体重、雄 200~276g、雌 194~265g、1 群 5~10 匹

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、1 回経口投与した。検体投与 15 分後に硫酸アトロピン 10mg/kg あるいはブラリドキシムクロリド (2-PAM) 50mg/kg を筋肉内に投与した。なお対照群には蒸留水 10mL/kg を経口投与したのち上記同様に硫酸アトロピンあるいは 2-PAM を筋肉内に投与した。なお動物を投与前夜は絶食させた。

観察項目 : 中毒症状及び生死について 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。体重については投与前、投与 7 日及び 14 日後に個別別に測定した。
死亡率より LD₅₀ 値を算出し、解毒剤を投与した場合と投与しない場合における LD₅₀ 値を比較した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結果：下記の表に示す。

性 別	雄			雌		
アセフェート投与量 (経口投与 g/kg)	0、0.26 0.39、0.59、 0.89、1.1、 1.3、2.0	0、2.2、3.3、 4.8、5.0、 7.5	0、2.2、3.3 3.7、5.0、 7.5	0、0.39 0.59、0.8、 0.89、1.3、 2.0	0、2.2、2.7、 3.3、5.0、 6.3、7.5	0、1.5、2.2、 2.3、3.3、 5.0、7.5
硫酸アトロピン投与量 (筋注 mg/kg)	—	10	—	—	10	—
2-PAM 投与量 (筋注 mg/kg)	—	—	50	—	—	50
LD ₅₀ g/kg (95%信頼限界)	1.3 (0.62-2.8)	5.5 (3.1-9.5)	3.9 (2.5-6.1)	0.93 (0.66-1.3)	6.1 (3.6-11)	2.7 (1.9-3.8)
死亡開始時間 及び終了時間	1 日 4 日	2 日 6 日	1 日 3 日	96 分 3 日	1 日 7 日	1 日 6 日
症状発現 及び消失時期	— 7 日	— 6 日	— 4 日	— 3 日	— 8 日	— 3 日
死亡の認められな かった最高投与量 (g/kg)	0.39	2.2	2.2	—	2.2	1.5
LD ₅₀ 値の比率 (倍)	1.0	4.2	3.0	1.0	6.6	2.9

中毒症状としては、雌雄及び解毒剤の投与の有無に関係なく、流涎、流涙、活動低下、振顫、下痢、虚脱、眼及び鼻の分泌物、飼料摂取量低下などが観察された。

体重はアセフェート 2.2g/kg 投与後、硫酸アトロピン処理した雄及び 2-PAM 処理した雄で投与後 7 日目及び 14 日目に対照群に比較して有意に低下し、アセフェート 2.2g/kg 投与後、硫酸アトロピン処理した雌で投与後 7 日目及び 14 日目に対照群に比較して有意に低下した。

剖検所見ではアセフェート投与に関連する変化は認められなかった。

ラットに対するアセフェートの LD₅₀ 値はアセフェートを経口投与したのち 15 分後に硫酸アトロピン 10mg/kg (筋注) あるいは 2-PAM 50mg/kg (筋注) を投与することにより、無処置対照群の値に比較し 2.9~6.6 倍高い値を示した。

[申請者注]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

1-15. その他

(1) コリンエステラーゼ阻害試験

1) ラットにおけるアセチルコリンエステラーゼ阻害作用試験 (資料 ChE-1)

試験機関：

報告書作成年：1970年

検体純度： %

供試動物：SD系ラット、体重200～210g、1群雄4匹

試験期間：1日

試験方法：水に溶解したアセフェート 900mg/kg をラットに1回経口投与し、20～30分後に採血した。

赤血球及び血漿のコリンエステラーゼ活性を Michelle の方法で測定した。
なお、陽性対照としてパラチオン 15mg/kg を同様に投与した。

試験項目：投与後から採血、屠殺まで約20～30分間一般症状を観察し、赤血球及び血漿コリンエステラーゼ活性の測定を行った。

試験結果：結果は下表の通りであった。

	赤血球	血漿
アセフェート 900mg/kg	62.9	84.1
パラチオン 15mg/kg	40.1	93.9

表中の数値は対照群（無投与群）の値に対する百分率（%）の平均値

- 1) 赤血球コリンエステラーゼ活性はアセフェート投与群で対照群に比較して60%程度に阻害された。また、陽性対照のパラチオン投与群では50%以上の阻害が認められた。
- 2) 血漿コリンエステラーゼ活性は、アセフェート 900mg/kg 投与及び陽性対照のパラチオン 15mg/kg 投与で有意な低下が認められなかった。

以上の結果から、アセフェート投与によりラット赤血球のコリンエステラーゼ活性低下が認められたが、その程度はパラチオンによる活性低下より弱いと判断された。

2) アセフェートのラットにおけるアセチルコリンエステラーゼ阻害作用試験

(資料 ChE-6)

試験機関 :

報告書作成年 : 1970 年

検体純度 : %

供試動物 : SD 系ラット、1 群雌 5 匹

観察期間 : 1 日

投与方法 : アセフェートの固体を満たした 2 つのガス洗浄器を接続し、その中に乾燥した空気を 10L/min の割合で通気させた。その空気を 20 L のチャンバー内に導き、ラットの鼻部及び口部のみを暴露させた。4 時間暴露したのち採血し、赤血球及び血漿のコリンエステラーゼ活性を Frawley の方法で測定した。

観察項目 : 暴露から採血、屠殺まで 4 時間、一般症状を観察し、赤血球及び血漿のコリンエステラーゼ活性を測定した。

結 果 : アセフェートの飽和あるいは飽和に近い蒸気中にラットを 4 時間暴露しても死亡はみられず、また症状の発現も認められなかった。また、赤血球及び血漿のコリンエステラーゼ活性に何ら影響は認められなかった。

以上の結果から、室温においてアセフェートの蒸気を吸入しても死亡あるいは症状の発現はみられず、赤血球及び血漿中のコリンエステラーゼは阻害されないものと判断された。

3) アセフェート及び のラットにおけるコリンエステラーゼ阻害作用試験
(資料 ChE-2)

試験機関：

報告書作成年：1970 年

検体純度 : %

供試動物 : SD 系ラット、体重 120~150g、1 群雌 15 匹

観察期間 : 21 日間

投与方法 : 飼料中 30 (0.5mg/mL)、100 (1.8mg/mL) 及び 1,200ppm (21.6mg/mL) に相当するアセフェートを水に溶解して、1 日 1 回連続 21 日間、胃管により投与した。また、 に相当する量を上記同様に投与した。なお、対照群には蒸留水を投与した。

試験項目及び試験結果：

一般症状及び死亡率；一般症状及び生死を毎日観察した。試験期間を通じ明らかな中毒症状は認められなかった。2 例が死亡したが、検体投与によるものではなく、気管支感染によるものと考えられた。

体重変化；投与開始時及び投与 7、14 及び 21 日目に全生存動物の体重を測定した。アセフェート 1,200ppm 相当量投与群で投与 14 日目まで体重増加抑制が認められたが、21 日目には他の群と同等となった。

コリンエステラーゼ活性測定；各群 4~5 匹を対象に投与 7、14 及び 21 日目に採血し、赤血球及び血漿中コリンエステラーゼ活性の測定を行った。採血後すべての動物を屠殺した。各投与群のコリンエステラーゼ活性値の対照群の値 (100) に対する割合 (%) を下表に示した。

投与開始 後日数 (日)	対 照 (水)		アセフェート 30ppm		アセフェート 100ppm		アセフェート 1,200ppm		10ppm	
	血 漿	赤血球	血 漿	赤血球	血 漿	赤血球	血 漿	赤血球	血 漿	赤血球
7	—	—	100	97	86	91	↓ 76	↓ 63		
14	—	—	94	↓ 79	88	↓ 82	↓ 72	↓ 63		
21	—	—	102	↓ 85	90	↓ 79	↓ 71	↓ 55		

↓ < 0.05、↓ < 0.01 (Dunnett 多重比較)

表中の数値は対照群の値に対する百分率 (%) の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

アセフェート 1,200ppm 相当量投与群における血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性及び 投与群の赤血球コリンエステラーゼ活性は試験期間を通じ、対照群の値に比較して有意に低い値を示した。アセフェート 100 及び 30ppm 相当量の投与群における赤血球のコリンエステラーゼ活性は 14 日間及び 21 日投与において、有意に低い値を示した。

[申請者注]

以上の結果から、アセフェートはラットの血漿及び赤血球コリンエステラーゼを阻害するが、 に比較してその作用は低いものと判断された。

[申請者注]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

4) ラットにおける混餌投与によるコリンエステラーゼ阻害からの回復試験 (資料 ChE-5)

試験機関 :

報告書作成年 : 1980 年

検体純度 : %

供試動物 : SD 系ラット、6 週齢

試験 1) 1 群雄 5 匹

試験 2) 1 群雄 10 匹

観察期間 : 試験 1) 20 日間

試験 2) 49 日間

投与方法 :

試験 1) アセフェートを 75ppm 含有した飼料を投与し、投与開始後 6、11、15 及び 20 日目に 1 群 5 匹を屠殺して赤血球、血漿及び脳のコリンエステラーゼ活性を測定した。

対照群には無添加飼料を投与し、アセフェート投与群と同時に同数のラットを屠殺して同様の測定を行った。

試験 2) アセフェートを 75ppm 含有した飼料を 7 日間投与後、無添加飼料に換え 42 日間飼育した。また、対照群には試験期間を通じて無添加飼料を与えた。アセフェート投与群及び対照群から回復期間の第 1、2、3、5 及び 7 週時に各群 10 匹を屠殺し、赤血球、血漿及び脳のコリンエステラーゼ活性を測定した。

観察・検査項目及び結果 :

一般症状及び死亡率 ; 一般症状及び生死を毎日 2 回観察した。また、詳細な中毒症状に関する検査を週 1 回行った。試験期間を通じて、アセフェート投与による影響は認められなかった。また、全群に死亡例は認められなかった。

体重変化 ; 全群に差は認められなかった。

摂餌量 ; 全群に差は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性測定 ; アセフェート投与群の血漿、赤血球及び脳におけるコリンエステラーゼ活性値の各対照群の値に対する百分率 (%) を以下の表に示した。

試験 1)

	投 与 開 始 後 (日)			
	6	11	15	20
血 漿	↓ 81.8	91.7	90.0	90.0
赤 血 球	↓ 88.5	82.1	91.3	87.0
脳	↓ 69.6	↓ 62.7	↓ 59.1	↓ 58.5

↓ p<0.05、↓p<0.01 (Dunnett 多重比較)

表中の数値は対照群の値に対する百分率 (%) を表す

血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性は、アセフェート投与開始後 6 日目に対照群に比較して統計学的に有意に低下したが、11 日目以降に有意な変化は認められなかった。

脳のコリンエステラーゼ活性は試験期間を通じて有意に低下した。

試験 2)

	投与 7日後	投 与 中 止 後 (日)			
		7	14	28	42
血 漿	↓ 75.0	100.0	100.0	100.0	↑ 118.2
赤 血 球	↓ 78.6	106.9	95.2	89.5	103.4
脳	↓ 66.0	↓ 91.3	↓ 91.8	97.7	94.5

↓ ↑ p<0.05、↓p<0.01 (Dunnett 多重比較)

表中の数値は対照群の値に対する百分率 (%) を表す

アセフェート投与開始後 7 日目の血漿、赤血球及び脳のコリンエステラーゼ活性はいずれも対照に比較して有意に低下した。投与中止後の回復期間において血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性は対照群の値と同等であった。脳のコリンエステラーゼ活性は投与中止後 14 日目まで有意な抑制がみられたが 28 日以後、対照群と同等の値を示した。

以上の結果から、アセフェートを混餌投与したラットの血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性は投与中止 7 日後までに回復し、脳のコリンエステラーゼ活性は投与中止 28 日以後回復するものと判断された。

[申請者注]

5) アセフェートのラットにおけるコリンエステラーゼ阻害試験 (資料 ChE-10)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年

検体純度 : %

供試動物 : SD 系ラット、1 群雌雄各 30 匹

試験開始時 6 週齢、試験開始時体重 雄 206~246g、雌 141~177g

投与期間 : 13 週間 (1987 年 8 月 11 日~1987 年 11 月 10 日)

投与方法 : 検体を基礎飼料に混合し 2、5、10 及び 150ppm の濃度になるよう試験用飼料を週 1 回調製した。各試験用飼料を 4、9 あるいは 13 週間ラットに自由摂取させた。なお、対照群には基礎飼料のみを上記同様に投与した。

[申請者注]

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間中に死亡及び検体投与に関連した中毒症状は認められなかった。

体重変化; 試験開始時及びその後は週 1 回、全動物の体重を個体別に測定した。

雄の平均体重は 10ppm 投与群で 8 週時に、2 ppm 投与群で 9 週時に、対照群に比較して低く、雌は 150ppm 投与群で 4、6、7、8、9 及び 13 週時に対照群に比較して低い値を示した。しかし、これらの変化には一貫性がないことから検体投与に起因するものではないと考えられる。

飼料摂取量; 週 2 回測定し、週 1 回平均飼料摂取量を算出した。

雄では 10ppm 投与群で 6、7、8、12 及び 13 週時に有意な低下がみられ、雌では 150ppm 投与群で 1、3、4、6、12 及び 13 週時に高い値を示した。しかし、これらの変化には一貫性がないことから、検体投与に起因するものではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検体摂取量；飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した 1 日当りの平均検体摂取量は次表の通りである。

ppm	2	5	10	150
雄 (mg/kg/日)	0.12	0.28	0.58	8.90
雌 (mg/kg/日)	0.15	0.36	0.76	11.48

コリンエステラーゼ活性；投与 4、9 及び 13 週間投与終了時に各群雌雄各 10 匹を対象に後大動脈から採血し、赤血球についてはアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 活性を、また、血漿についてはブチリルコリンエステラーゼ (BChE) 活性を測定した。屠殺後、直ちに脳を摘出しその AChE 活性を測定した。測定方法は Ellman らの方法に従った。

1) 検体投与群の脳 AChE 活性の対照群に対する比率を次表に示した。

性	投与量 (ppm)	4 (週)	9 (週)	13 (週)
雄	2	99	97	93 ↓
	5	93 ↓	93 ↓	90 ↓
	10	89 ↓	86 ↓	84 ↓
	150	54 ↓	51 ↓	48 ↓
雌	2	98	91 ↓	91 ↓
	5	95 ↓	90 ↓	90 ↓
	10	90 ↓	85 ↓	86 ↓
	150	56 ↓	47 ↓	47 ↓

数値は対照群の活性を 100 とした場合における比率 (%)

↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 (Dunnett 多重比較)

2ppm 投与群では 4 週後における雌雄及び 9 週後における雄の脳 AChE 活性は対照群と同等であり、9 週後における雌、13 週後における雌雄の値には対照群に比較し統計学的に有意な低下が認められた。5、10 及び 150ppm 投与群雌雄の脳 AChE 活性はすべての測定時において有意な低下が認められた。

[申請者注]

2) 検体投与群の赤血球 AChE 活性の対照群に対する比率を次表に示した。

性	ppm	4 (週)	9 (週)	13 (週)
雄	2	110	103	105
	5	103	104	113
	10	96	101	101
	150	52 ↓	63 ↓	78
雌	2	96	110	97
	5	100	93	92
	10	111	81	90
	150	70	56 ↓	55 ↓

数値は対照群の活性を 100 とした場合における比率 (%)

↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 (Dunnett 多重比較)

150ppm 投与群雌雄の赤血球 AChE 活性は対照群に比較して有意に低い値を示した。

3) 検体投与群の血漿 BChE 活性の対照群に対する比率を次表に示した。

性	ppm	4 (週)	9 (週)	13 (週)
雄	2	103	102	98
	5	98	94	88
	10	103	104	81
	150	72	74	64
雌	2	90	90	71
	5	81	94	85
	10	81	87	77
	150	73	54	57 ↓

数値は対照群の活性を 100 とした場合における比率 (%)

↓ : p<0.01 (Dunnett 多重比較)

150ppm 投与群雌雄の血漿 ChE 活性は低下し、13 週後の雌で有意に低下した。

[申請者注]

6) サルにおけるコリンエステラーゼ阻害作用試験 (資料 ChE-3)

試験機関:

報告書作成年: 1983 年

検体純度 : %

供試動物 : カニクイザル 1 群雌雄各 2 匹、推定年齢 3~5 年
体重; 雄 2.35~2.90kg、雌 3.65~4.19kg

観察期間 : 雄 33 日間、雌 34 日間投与

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、2.5mg/kg/日の用量で雄には 33 日間、雌には 34 日間、胃管により連続投与した。試料は毎日調製し、投与量は 4mL/kg/日とした。なお、対照群には蒸留水を投与した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 全動物について、投与期間中の毎日、投与前、投与中及び投与後の 3 回、さらに週日においては作業の終了時に 1 回、一般状態及び生死を観察した。

さらに、投与開始前及び投与 21 日後に、以下の項目について厳密な検査を行った。

歯と歯肉、粘膜面と皮膚、耳 (外耳道) 害在性のリンパ節、腹部一触診を含む、外部性器と乳腺、胸部一心、肺の聴診を含む、四肢の触診、一般行動と外観

その結果、いずれの動物においても一般状態に変化は認められず、また、死亡も認められなかった。

体重変化; 全動物の体重を投与開始前 2 週間より毎週 1 回測定した。

その結果、僅かな増加及び減少が一部の動物に認められたが、これらは偶発的变化と考えられた。

摂餌量; 各動物の摂餌量を毎週測定し、1 日当りの摂餌量を求めた。

その結果、投与によるものと考えられる影響は認められなかった。

血液学的検査; 投与開始前 7、5 週目及び投与 3 週間目の終了後に各動物の大腿静脈より採血、以下の項目について検査を行った。

PCV、ヘモグロビン濃度、赤血球数、網赤血球数、MCHC、MCV、MCH、白血球

数、白血球分画、血小板数、プロトロンビン時間

その結果、いずれの項目においても、投与によるものと考えられる影響は認められなかった。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査と同時に採血、以下の項目について検査を行った。

アルカリホスファターゼ、アルカリアミノトランスフェラーゼ活性、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性、乳酸脱水素酵素活性、尿素窒素、クレアチニン濃度、グルコース、総ビリルビン濃度、直接ビリルビン濃度、総コレステロール濃度、総蛋白、蛋白質分画、アルブミン/グロブリン比、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

その結果、いずれの項目においても投与によるものと考えられる影響は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性検査；赤血球、血漿、脳及び脳脊髄液コリンエステラーゼ（アセチルとブチリル）を測定した。血液は投与開始前7、6週及び5日、投与開始日、そして、投与開始後は2日毎に34日後まで採取した。

脳及び脳脊髄液は、投与終了後に採取した。

投与期間中における赤血球アセチルコリンエステラーゼ、血漿アセチルコリンエステラーゼ及びブチリルコリンエステラーゼ活性（投与前に対する割合）を下表に示した。

	採血日 (投与開始後)	性別	活性 (投与前に 対する%)
赤血球アセチルコリンエステラーゼ	14-33	雄	53 ± 5
	14-34	雌	47 ± 3
血漿アセチルコリンエステラーゼ	6-33	雄	42 ± 3
	6-34	雌	43 ± 4
血漿ブチリルコリンエステラーゼ	6-33	雄	37 ± 4
	6-34	雌	40 ± 3

アセフェートの投与によりいずれの項目についても投与前に比較して、活性低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

また、試験終了後における脳及び脳脊髄液のアセチルコリンエステラーゼ及びブチリルコリンエステラーゼ活性（対照群に対する割合）を下表に示した。

	活性（対照に対する％）	
	雄	雌
脳 アセチルコリンエステラーゼ	50、45	57、46
脳 ブチリルコリンエステラーゼ	84、70	68、41
脳脊髄液（腰部クモ膜下腔）		
アセチルコリンエステラーゼ	93	84
ブチリルコリンエステラーゼ	93	22
脳脊髄液（大 槽）		
アセチルコリンエステラーゼ	95	82
ブチリルコリンエステラーゼ	83	7

アセフェートの投与により脳のアセチルコリンエステラーゼ及びブチリルコリンエステラーゼ活性の低下が認められた。脳脊髄液のアセチルコリンエステラーゼ及びブチリルコリンエステラーゼ活性も低下したが、これらの生物学的意義は不明であった。

なお、赤血球ブチリルコリンエステラーゼは検出されなかった。

尿 検 査；投与開始前7、5週（一部では2、1週）と、投与3週目に尿を採取、以下の項目について検査した。

外観、量、pH、比重、蛋白質、総還元物質、グルコース、ケトン体、ビリルビン、グロビリノーゲン、亜硝酸塩、潜血、顕微鏡下検査

その結果、いずれの項目についても、投与によるものと考えられる影響は認められなかった。

臓器重量；試験終了後、全動物について解剖ののち、脳、心、肝、腎、精巣、精巣上体及び卵巣を摘出、重量を測定した。

その結果、投与によるものと考えられる影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；上記臓器重量の測定時に、主要臓器について検査を行った。

その結果、投与によるものと考えられる影響は認められなかった。

[申請者注]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

7) アセフェートのヒトにおける経口投与影響試験 (資料 ChE-11)

試験機関：

[GCP/GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体純度： %

試験系：ヒト、年齢 18～50 才、健康なボランティア男性 40 名 (平均年齢 32.3 才)、女性 10 名 (平均年齢 32.2 才)、平均身長及び平均体重 (男性 174.8cm 及び 72.33kg、女性 165.6cm 及び 65.44kg)

観察期間：14 日間

投与方法：アセフェート原体をゼラチンカプセルに入れて単回経口投与した被験物質投与群と、ラクトースをカプセルに入れて単回投与した対照群を設け、二重盲検法に従って実施した。アセフェートの投与量は 0.35、0.7、1.0 及び 1.25mg/kg (体重) とし、対照群ではラクトースをアセフェート投与量と同等量投与した。ヒトに対する安全性を考慮し、下表の通り段階的に投与した。

投与計画：各投与段階での被験者数

投与段階 (性)	対照群	投与群 (mg/kg)				
		0.35	0.7	1.0	1.25	1.0
投与 1 (男性)	1	1	—	—	—	—
投与 2 (男性)	2	6	1	—	—	—
投与 3 (男性)	3	—	6	1	—	—
投与 4 (男性)	3	—	—	6	1	—
投与 5 (男性)	3	—	—	—	6	—
投与 6 (女性)	3	—	—	—	—	7

観察・検査項目及び結果：

一般症状；一般症状を毎日観察した。

被験物質投与に関係なく被験物質投与群及び対照群の両群に投与後、頭痛、消化不良、足の痛み、咳喇及び目眩などの弱い不健全所見を訴える被験者が散見されたが、これらの所見は被験物質投与に起因するものではなく、臨床試験の環境の変化によるものと判断された。

血圧、心拍数、口腔内体温及び心電図；投与前、投与後2、4、8及び24時間に測定し、投与前の値からの変化をパーセントで示した。

- 1) 血圧：男性及び女性被験者の仰臥時における収縮及び拡張動脈血圧に上昇あるいは低下がみられたが、次表に示すように投与前の値（ベースライン）からの変動には統計学的に有意差は認められなかった。

仰臥時における平均拡張期／収縮期血圧及び投与前の値に対する平均変動を下表に示した。

仰臥時における平均拡張期／収縮期血圧及び投与前の値に対する平均変動

投与群 mg/kg (被検者数)	投 与 前	投 与 後 (時間)			
		2	4	8	24
男 性	対 照 (12) [-/-]	63.4/106.2 [-2.4/0.5]	61.0/106.7 [-3.8/-2.6]	59.6/103.6 [-0.7/1.3]	62.8/107.5 [1.3/-0.3]
	0.35 (7) [-/-]	69.7/112.0 [-6.9/0.6]	63.0/112.6 [0/0.3]	69.7/112.3 [-0.6/1.9]	66.6/112.0 [-3.1/8.9]
	0.7 (7) [-/-]	60.3/100.6 [0/-1.1]	60.3/99.4 [4.6/3.4]	64.9/104.0 [2.1/3.3]	62.9/105.1 [2.6/4.6]
	1.0 (7) [-/-]	62.0/105.1 [-3.4/-1.7]	58.6/103.4 [1.9/2.3]	63.9/107.4 [4.0/2.0]	67.9/114.1 [5.9/9.0]
	1.25 (7) [-/-]	61.1/108.3 [-4.4/-3.6]	56.7/104.7 [-1.4/-7.4]	59.7/100.9 [-3.1/-7.3]	60.9/98.3 [-0.3/-10.0]
女 性	対 照 (3) [-/-]	58.0/101.3 [4.7/12.0]	62.7/113.3 [-7.3/-8.0]	50.7/93.3 [-2.0/-0.7]	61.0/107.3 [3.0/6.0]
	1.0 (7) [-/-]	58.3/102.3 [-0.6/3.0]	57.7/105.3 [3.6/-3.6]	61.9/98.7 [3.7/5.4]	62.0/107.7 [2.9/8.6]

測定値単位：mmHg、[]内はベースラインからの変動

- 2) 心拍数：仰臥時における心拍数に増加あるいは減少がみられたが、下表に示すように投与前の値（ベースライン）からの変動には統計学的に有意差は認められなかった。

仰臥時における心拍数及び投与前の値に対する平均変動

投与群 mg/kg (被検者数)	投 与 前	投 与 後 (時間)				
		2	4	8	24	
男 性	対 照 (12)	58.0 [—]	61.3 [3.3]	55.3 [-2.7]	56.2 [-1.8]	60.8 [2.8]
	0.35 (7)	62.0 [—]	63.1 [1.1]	55.4 [-6.6]	56.3 [-5.7]	60.6 [-1.4]
	0.7 (7)	52.1 [—]	53.3 [1.1]	50.3 [-1.9]	52.4 [0.3]	53.4 [1.3]
	1.0 (7)	60.4 [—]	61.3 [0.9]	58.7 [-1.7]	61.4 [1.0]	61.1 [0.7]
	1.25 (7)	53.6 [—]	55.4 [1.9]	52.0 [-1.6]	55.4 [1.9]	57.9 [4.3]
女 性	対 照 (3)	52.0 [—]	50.7 [-1.3]	51.0 [-1.0]	51.3 [-0.7]	53.7 [1.7]
	1.0 (7)	62.0 [—]	63.3 [1.3]	59.9 [-2.1]	61.6 [-0.4]	67.1 [5.1]

測定値単位：回/分、[] 内はベースラインからの変動

- 3) 体温：仰臥時における口腔内体温には被験物質投与による影響は認められなかった。
4) 心電図：仰臥時における心電図には被験物質投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；被験物質投与前及び投与 24 時間後に採血し、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCH、MCV、MCHC 及び白血球百分率を測定した。

各検査項目において被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学検査；被験物質投与前及び投与 24 時間後に採血し、血漿中における尿素窒素、グルコース、AST、ALT、LDH、Na、K、Cl、総蛋白質、アルブミン、総ビリルビン、GGT 及びクレアチニンを測定した。

各検査項目において被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

血漿中のアセフェート及び 測定値；被験物質投与 30 分前及び投与 1、2、4、8、12、24、48 及び 72 時間後、7 日及び 14 日後に採血し、血漿中のアセフェート及び () を測定した。測定値からアセフェートの血漿消失半減期 ($t_{1/2}$)、最高血漿中濃度 (C_{max}) 及び最高値に達した時間 (T_{max}) を算出した。

アセフェートの各測定時における血漿中濃度は経口投与量に従って上昇した。アセフェートの血漿中濃度は投与後速やかに上昇し、 T_{max} は 1~4 時間を示して投与 24 時間後までに直線的に減衰した。消失半減期は 4~5 時間であった。アセフェート投与 48 時間後以降はすべての被験者の血漿中からアセフェートは検出されなかった。

一方、 T_{max} の血漿中濃度は低く、 T_{max} は投与後 時間を示し、速やかに消失して投与 24 時間後以降は検出されなかった。

血漿中のアセフェート及び濃度 [ng/mL (血漿)]

分析物質		アセフェート								
性別		男性			女性	男性			女性	
投与量 mg/kg	採血	0.35	0.7	1.0	1.25	1.0				
投与前	0 h	0	0	0	0	0				
投与後	1 h	483	641	1043	1015	793				
	2 h	434	842	1320	1599	1206				
	4 h	310	744	1087	1441	1309				
	8 h	151	433	658	859	701				
	12 h	73	235	363	462	383				
	24 h	12	51	83	100	75				
	48 h	0	0	0	0	0				
	72 h	0	0	0	0	0				
	7 日	0	0	0	0	0				
14 日	0	0	0	0	0					

h : 時間

アセフェートの血漿中消失半減期、最高血漿中濃度及び最高値到達時間

被験者 性別	投与量 [mg/kg]	消失半減期 ($t_{1/2}$) [時間]	最高血漿中濃度 (C_{max}) [ng/mL]	最高値到達時間 (T_{max}) [時間]
男性	0.35	4.4	506	1.3
	0.7	5.0	922	2.7
	1.0	5.4	1451	2.0
	1.25	5.2	1689	2.4
女性	1.0	4.8	1516	2.7

尿中のアセフェート及び 測定値；被験物質投与前 12～0 時間、投与後 0～12 時間、12～24 時間及び 24～48 時間における尿中アセフェート及び を測定した。

各時間帯における尿中アセフェート及び の平均濃度を下表に示した。

投与後最初の 12 時間でアセフェート及び の大部分が尿中に排出された。アセフェート投与 48 時間後までの尿中におけるアセフェート及び

() の回収率は男性で 25.8%～61.8%、女性で 12.4～52.6%であった。女性での回収率が男性に比較して低い理由は尿量が少ないことによるものと考えられた。また、男性及び女性ともに回収率が低い理由として腸管からの不完全吸収及び 以外の代謝物の産生が関与すると考えられた。

各時間帯における尿中アセフェート及び の平均濃度 [ng/mL (尿)]

分析物質	アセフェート									
	性別					性別				
性別	男 性					女 性				
投与量 mg/kg	0.35	0.7	1.0	1.25	1.0					
投与 前	-12～0h	0	0	0	0	0				
投与 後	0～12h	9536	21457	34957	27371	31000				
	12～24h	1488	5344	9694	9329	7967				
	24～48h	105	546	1249	1021	688				

採尿時間帯 h：時間

血漿及び赤血球中のコリンエステラーゼ (ChE) 活性；被験物質投与 30 分前及び投与 1、2、4、8、12、24、48 及び 72 時間後、7 日及び 14 日後に採血し、血漿中及び赤血球の ChE 活性を測定した。

1) 男性：各測定時における男性血漿及び赤血球 ChE 活性値の投与前値に対する平均%変動を次表に示した。

0.35mg/kg 投与群において投与後 12 時間に血漿 ChE 活性の有意な低下が、1.25mg/kg 投与群では投与後 12 時間に血漿及び血球 ChE に、投与後 24～72 時間に血漿 ChE に統計学的に有意な低下が認められた。

[申請者注]

男性の血漿コリンエステラーゼ：投与前の値に対する平均%変動

採取 時間	投 与 量 (mg/kg)				
	0	0.35	0.7	1.0	1.25
1 時間	-7.45	-8.77	-10.53	-5.62	-6.24
2 時間	-5.27	-7.25	-9.89	-4.65	-4.74
4 時間	-6.49	-6.83	-6.75	-4.89	-6.39
8 時間	-6.64	-9.30	-8.27	-4.79	-10.88
12 時間	-4.87	-10.85*	-10.13	-2.89	-12.77*
24 時間	-1.36	-5.80	-4.66	-1.55	-8.89*
48 時間	-0.41	1.08	-4.70	-4.20	-9.12*
72 時間	1.30	-3.82	-0.60	-0.21	-8.65*
7 日	-2.57	-3.46	1.28	-4.36	-4.76
14 日	-2.55	-4.94	0.46	1.46	0.14

* 統計学的に有意

男性の赤血球コリンエステラーゼ：投与前の値に対する平均%変動

採取 時間	投 与 量 (mg/kg)				
	0	0.35	0.7	1.0	1.25
1 時間	-0.45	2.78	-0.33	2.31	3.08
2 時間	3.30	3.67	1.81	0.63	2.33
4 時間	2.00	6.42	-2.15	4.14	0.26
8 時間	1.26	-0.88	0.06	0.29	-7.53
12 時間	2.91	0.95	8.24	-2.47	-6.75*
24 時間	0.38	2.47	-1.69	-6.48	-2.95
48 時間	0.13	7.98	-3.29	-1.54	-3.14
72 時間	-3.19	8.92*	-8.76	-5.33	-0.89
7 日	-0.84	0.40	5.51	1.37	-4.64
14 日	0.67	2.89	-1.11	-3.61	5.40

* 統計学的に有意

2) 女性：各測定時における女性血漿及び赤血球 ChE 活性値の投与前値に対する平均%変動を次表に示した。

1.0mg/kg 投与群で投与後 8～24 時間で血漿 ChE に、投与後 12 時間で赤血球 ChE に統計学的に有意な低下が認められた。

[申請者注]

これらの変化は、低下の程度が小さかったこと（10～15%）及び一過性の変化であったことから毒性変化とは考えなかった。

女性の血漿コリンエステラーゼ：投与前の値に対する平均%変動

採取時間	全女性被験者		異常値を除く	
	投与用量 (mg/kg)		投与用量 (mg/kg)	
	0	1.0	0	1.0
1 時間	-4.55	-9.10	-4.55	-9.10
2 時間	-3.26	-7.85	-3.26	-7.85
4 時間	-0.58	-6.54	-0.58	-6.54
8 時間	-1.59	-12.73*	-7.49	-12.73
12 時間	-2.27	-12.08*	-2.27	-12.08*
24 時間	3.45	-10.50*	3.45	-10.50*
48 時間	6.66	0.30	6.66	0.30
72 時間	1.01	-3.61	1.01	-3.61
7 日	-7.52	-6.86	-7.52	-6.86
14 日	-1.42	3.96	-1.42	-0.36

* 統計学的に有意

女性の赤血球コリンエステラーゼ：投与前の値に対する平均%変動

採取時間	全女性被験者		異常値を除く	
	投与用量 (mg/kg)		投与用量 (mg/kg)	
	0	1.0	0	1.0
1 時間	-8.77	-4.55	-8.77	-4.55
2 時間	-4.10	-2.22	-4.10	-2.22
4 時間	0.29	-4.32	0.29	-4.31
8 時間	-2.41	-0.30	-2.41	-4.14
12 時間	-1.58	-10.68	-1.58	-15.05*
24 時間	-8.32	-4.97	-8.32	-4.97
48 時間	-1.92	-5.53	-1.92	-5.53
72 時間	-13.77	-11.40	-13.77	-16.73
7 日	-10.07	-10.71	-10.07	-10.71
14 日	0.79	0.30	0.79	0.30

* 統計学的に有意

以上の結果から、アセフェートを0.35～1.25mg/kgでヒトに単回経口投与した場合、投与による影響は認められず、無毒性量は男性に対して1.25mg/kg、女性に対して1.0mg/kgであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

8) アセフェートのヒトにおける経口投与影響試験 (資料 ChE-12)

試験機関 :

[GCP/GLP 対応]

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : %

試験系 : ヒト、年齢 18~55 才、健康なボランティア男性 15 名、体重 50~100kg
ボディマスインデックス 18~28mg/m²

投与期間 : 28 日間

投与方法 : 二重盲検法で実施した。

スクリーニングを投与前 21 日以内に実施し、医療歴、詳細な理学的検査及びバイタルサイン、心電図、血液学的検査、臨床化学、尿検査、血漿及び赤血球コリンエステラーゼ、B 型肝炎、C 型肝炎、HIV 感染、尿中薬物スクリーニングを評価した。また、血漿及び赤血球コリンエステラーゼのベースラインを測定するために試験 -7、-4 及び -2 日に血液を採取した。試験前日に被験者は医療施設に入院し血液学的検査、臨床化学、尿検査、尿中薬物スクリーニング、バイタルサイン、血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ分析ならびにアルコール呼気検査が実施された。

各被験者を対照群 (5 名) 又はアセフェート原体投与群 (10 名) に無作為に割り付け、試験 1 日からラクトース (対照群) 又はアセフェート原体を約 0.25mg/kg の用量で 1 日 1 回、28 日間投与した。

被験者は試験 29 日に退院し、試験 35 日 (±2 日) にフォローアップ診察のために医療施設に来院した。

投与用量設定根拠 ;

観察・検査項目及び結果 :

血漿及び赤血球コリンエステラーゼ (ChE) 活性 :

血漿及び赤血球 ChE 分析のための血液試料は、次の時期に採取した。

スクリーニング : ChE 活性のベースラインを得るため、初回投与 -7、-4、-2 及び -1 日。可能な限り午前中の同一時刻に採取した。

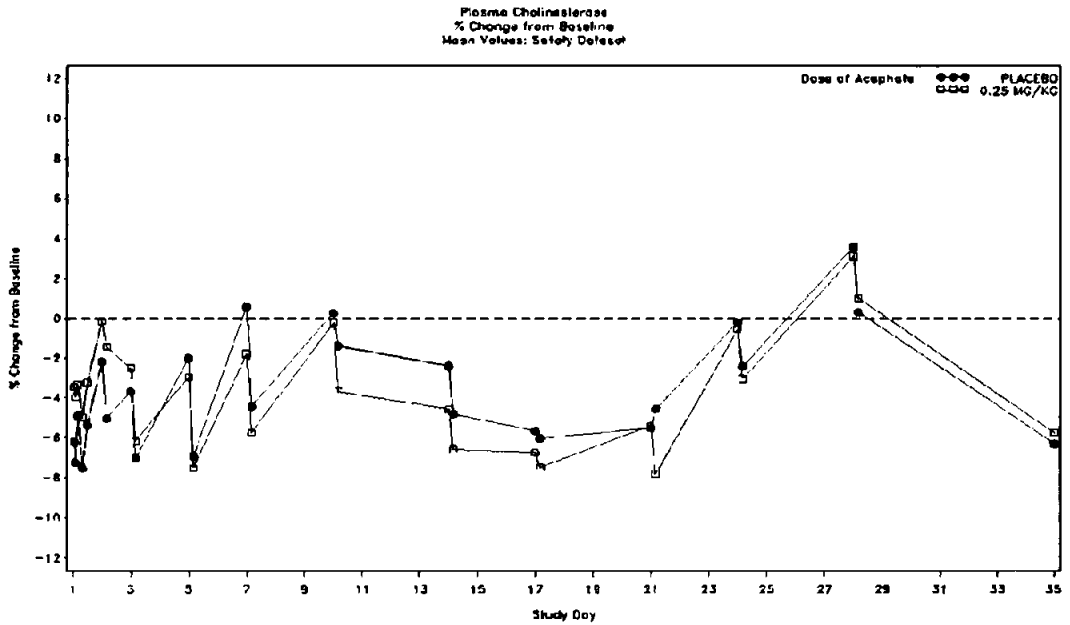
試験期間中 : 試験 1 日 ; 投与前、投与 1、2、4、8 及び 12 時間後。

試験 2、3、5、7、10、14、17、21、24 及び 28 日 ; 投与前及び投与 4 時間後

投与期間後 : 試験 35 日

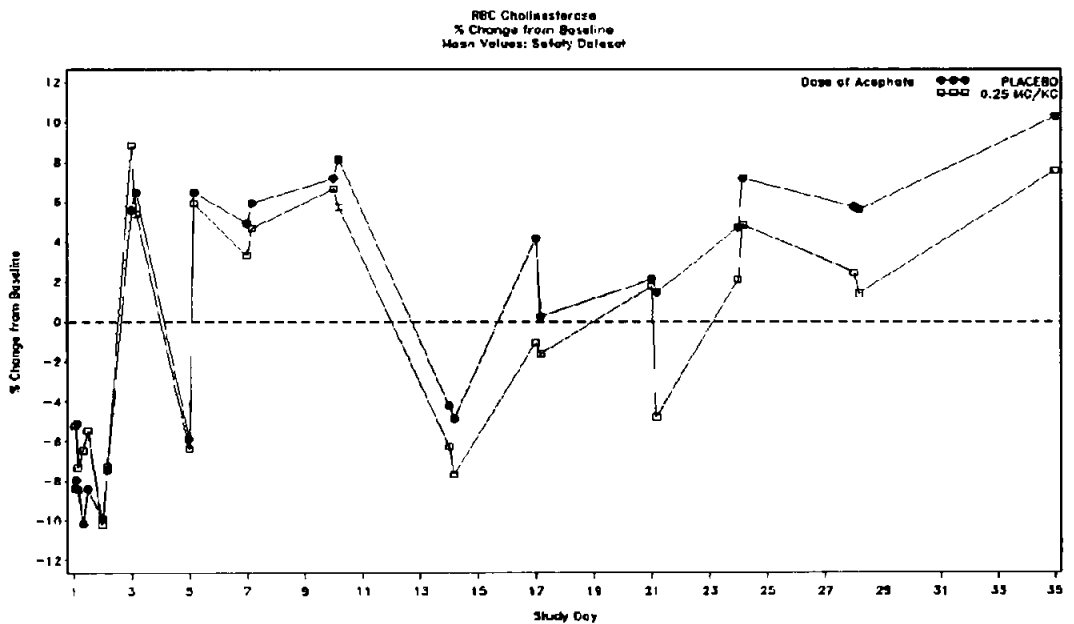
血漿 ChE 活性及び赤血球 ChE 活性についてベースラインを 0 とした時の平均変化率 (%) を示したグラフを次に示す。

血漿コリンエステラーゼ活性 (ベースラインからの平均変化率%)



Note: Data in the above graph are summarized in table M3.1.1
Baseline is defined as the mean of the DAY -7, DAY -4, DAY -2, ADMISSION and DAY 1 PREDOSE values

赤血球コリンエステラーゼ活性 (ベースラインからの平均変化率%)



Note: Data in the above graph are summarized in table M3.2.1
Baseline is defined as the mean of the DAY -7, DAY -4, DAY -2, ADMISSION and DAY 1 PREDOSE values

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

血漿及び赤血球 ChE 活性のベースラインからの変動は、対照群とアセフェート投与群で同様であり、生理学的又は分析上の変動と考えられた。赤血球コリンエステラーゼ活性は血漿コリンエステラーゼ活性よりも高い変動性を示した。

体重：スクリーニング時、入院時、試験 7、14、21 及び 28 日の朝食前に測定した。数名の被検者で体重の増加が認められたが、これは入院中における活動量減少によるものと考えられた。

臨床評価：投与による影響として、対照群 1 例に頭痛、傾眠、鼻道刺激感及びくしゃみが、アセフェート投与群 1 例で感覚異常及び皮膚刺激が認められた。
対照群の 1 名 (No. 009) で呼吸困難、洞性頻脈及び可逆性気道閉塞が認められ、症状が重篤であったことから、この被験者は試験から離脱した。

臨床検査：スクリーニング時、入院時、試験 7、14、21 及び 28 日の投与前に血液学的検査、臨床化学のために血液試料を採取した。
血液学的検査では次の項目を検査した。
ヘモグロビン、ヘマトクリット、総赤血球 (RBC) 数、平均血球色素量 (MCH)、平均血球色素濃度 (MCHC)、平均血球容積 (MCV)、白血球 (WBC) 数、型別白血球数 (好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、大型未分類細胞)、血小板
臨床化学では次の項目を検査した。
アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (AP)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)、乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH)、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン (ALB)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、クレアチン、尿素、グルコース
血液学的検査及び臨床化学検査で投与に関連する変化は認められなかった。

尿検査：スクリーニング時、入院時、試験 7、14、21 及び 28 日の投与前に実施した。次の項目を検査した。
ウロビリノーゲン、尿蛋白、pH、潜血、比重、ビリルビン、グルコース、ケトン体、亜硝酸塩及び白血球
投与に関連する変化は認められなかった。

バイタルサイン (収縮期/拡張期血圧、心拍数)：スクリーニング時、入院時、試験 1 日の投与直前、ならびに投与 1、2、4、8、12 及び 24 時間後に測定した。その他の投与日については投与直前及び投与 4 時間後に測定し、さらに最終投与日には投与 24 時間後に測定した。
臨床的に重要であると考えられた投与に関連する変化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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

心電図：12誘導心電図（ECG）をスクリーニング時、試験 1、7、14、21 及び 28 日の投与直前及び投与 3 時間後に記録した。また、試験 3、5 及び 10 日には投与前に ECG を記録した。

後に試験から離脱した対照群 1 名（No. 009）において中等度の洞性頻脈認められた以外、変化は認められなかった。

理学的検査：スクリーニング時及び退院時（試験 29 日）に実施した。

後に試験から離脱した対照群 1 名（No. 009）において、散発性の吸気性喘鳴が認められた以外、ベースラインからの変化は認められなかった。

以上の結果から、アセフェート原体を 0.25 mg/kg、1 日 1 回、28 日間反復経口投与した結果、血漿又は赤血球コリンエステラーゼの低下及び試験期間中の投与による累積影響は認められなかったこと、及び血液学的検査、臨床化学、尿検査、バイタルサイン、ECG 及び理学的検査において投与に関連する変化が認められなかったことから、本試験の無毒性量は 0.25 mg/kg/日であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

9) アセフェート及び のヒトにおける亜急性経口毒性試験 (資料 ChE-4)
(亜急性経口投与期間中におけるヒトの血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性
に対するアセフェート及び の影響に関する試験)

試験機関:

報告書作成年: 1973 年

検体純度 : アセフェート %、 %

被験者 : 成人男子 7 名、成人女子 7 名、1 群 4~6 名

観察期間 : 予備試験期間 15 日間、投与期間 42 日間及び 73 日間、
回復期間 7 日間

投与方法 : : アセフェートの比が 及び の検体 (作物残留試験結
果から とアセフェートの比率を決定した) 及びブラシーボを
コーンオイルに溶解し 0.1mg/kg/日を 21 日間、0.2mg/kg/日を 21 日間、
0.3mg/kg/日 (の群のみ) を 21 日間、カプセル中に入れて連続投与後、
7 日間の回復期間をおいた。 の女子投与群にはさらに 0.4mg/kg/日を 10
日間投与したのち 7 日間の回復期間をおいた。

(試験設計概要)

の女子の例	投与前	0.1mg	0.2mg	0.3mg	回復	0.4mg	回復
	15 日間	21 日間	21 日間	21 日間	7 日間	10 日間	7 日間

試験項目及び試験結果:

一般症状; 全員を対象に血圧、脈拍数、瞳孔径、対光反射、眼調節、心音、筋緊張、
膝蓋反射、舌及び指の振顫について検査した。

いずれの検査項目についても何ら悪影響は認められなかった。

血液学的検査; 全員を対象に、試験前 6 日及び各投与期間終了時にヘモグロビン濃度、
ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、白血球分画について検査した。

いずれの群及びいずれの検査時期においても、これらの検査項目に何ら影
響はなかった。

血液生化学検査; 上記の血液学的検査と同時期に、全員を対象にビリルビン、総蛋白、
糖、尿素窒素、アルカリホスファターゼ、GPT、GOT について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

その結果、いずれの検査項目についても、何ら異常は認められなかった。

血漿及び赤血球のコリンエステラーゼ活性；

以下の間隔で血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。

投与前（予備試験期間）：1、6、8、13、15日目

21日投与期間：1、3、7、14、16及び/又は21日目

10日投与期間：6、7日目

回復期間：4、7日目

表①、②に各投与群における対照群に対する補正百分率（%）を示した。

表① 赤血球コリンエステラーゼ活性

群・性別	赤血球コリンエステラーゼ											
	0.1mg/kg/日					0.2mg/kg/日						
	1日後	3日後	7日後	14日後	21日後	1日後	3日後	7日後	14日後	16日後	21日後	
:アセフェート 男	98.3	100.5	96.4	103.4	100.9	98.4	102.5	99.0	107.9	106.3	98.4	
	104.3	118.6	106.6	104.6	101.8	98.5	102.1	101.5	95.7	105.1	100.5	
:アセフェート 女	97.8	100.6	96.8	103.7	101.5	101.0	104.2	102.1	111.8		100.2	
	102.6	126.1	102.4	102.1	102.6	97.3	101.2	100.5	101.5		102.9	

群・性別	赤血球コリンエステラーゼ											
	0.3mg/kg/日					回復期間		0.4mg/kg/日			回復期間	
	1日後	3日後	7日後	14日後	21日後	4日後	7日後	6日後	7日後	8日後	7日後	
:アセフェート 男						123.0	113.0					
						117.7						
:アセフェート 女	102.5	101.6	96.8	99.3	101.6		110.9					
	104.5	100.1	100.5	103.0	101.9			112.4	102.3	123.4	110.6	

表中の数値は対照群の数値に対する補正百分率（%）の平均値

表② 血漿コリンエステラーゼ活性

群・性別	血漿コリンエステラーゼ											
	0.1mg/kg/日					0.2mg/kg/日						
	1日後	3日後	7日後	14日後	21日後	1日後	3日後	7日後	14日後	16日後	21日後	
:アセフェート	男	104.3	102.7	95.0	95.6	81.8	92.9	81.6	78.5	73.9	63.5	79.3
	女	94.0	98.5	112.8	89.3	92.3	105.7	86.0	80.7	71.4	72.8	92.3
:アセフェート	男	100.5	98.8	85.9	92.9	90.7	90.5	86.5	92.7	86.1	/	92.4
	女	94.8	103.0	94.7	95.8	101.1	99.5	98.6	94.7	100.5	/	107.5

群・性別	血漿コリンエステラーゼ											
	0.3mg/kg/日					回復期間		0.4mg/kg/日			回復期間	
	1日後	3日後	7日後	14日後	21日後	4日後	7日後	6日後	7日後	8日後	7日後	
:アセフェート	男	/	/	/	/	/	85.0	106.5	/	/	/	/
	女	/	/	/	/	/	72.9	/	/	/	/	/
:アセフェート	男	88.6	82.9	83.0	76.6	87.5	/	94.1	/	/	/	/
	女	92.8	94.0	93.5	81.9	80.5	/	/	72.2	76.6	58.8	82.0

表中の数値は対照群の数値に対する補正百分率(%)の平均値

いずれの投与群においても全期間中赤血球コリンエステラーゼ活性は全く影響を受けなかった。

血漿中コリンエステラーゼ活性は、 :アセフェート 及び
で、0.2mg/kg/日及び0.3mg/kg/日の投与により活性低下が認められた。

[申請者注]

追記 :

- (1) この試験は IBT により実施されたが、米国環境保護局の判定によれば、「Scientifically Sound」の試験であるとされており、その有効性には問題はな
いと考えられた。
- (2) はこの試験の被験者の尿についてアセフェートと
の分析を行った(報告書添付資料参照)。その結果2つの薬物が確かに摂取された
こと及び極めて効率がよく、速やかにアセフェートは未変化のまま尿中に排出さ
れることが確認された。

- 10) アセフェート、アセフェート原体、 () 及びこれらの混合物によるラット、サルの赤血球及び脳アセチルコリンエステラーゼの in vitro での阻害に関する評価 (資料 ChE-8)

試験機関：

報告書作成年：1979 年

検体純度 : アセフェート () %
アセフェート原体* %
(*)
() %

試験動物及び試料：ラット (Sprague Dawley 系、雌、体重 201~295g) 及びサルの成獣から採取した脳及び血液

試験方法 : ホモジナイズした脳と赤血球試料を、種々の濃度のアセフェート、アセフェート原体、 と共に 37°C で 60 分間攪拌しながらインキュベートし、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 活性を測定した。対照として各試料に検体を加えずに同様の操作を行った。AChE 活性は、基質としてアセチルチオコリン、色素源として DTNB を用いる Ellman らの比色法により測定した。対照の AChE 活性を 100% とし、各試料について測定した検体の AChE 阻害の程度を対照の活性に対する百分率で求め、AChE 活性が 50% となる時の検体濃度 (I_{50}) を求めた。

同様に、アセフェートに を % 及び %、アセフェート原体に を % 加えた混合物についても種々の濃度で、ラットの脳及び赤血球の AChE 活性を測定し、 I_{50} 値を求めた。

試験結果 : AChE 阻害率 (%) に対する検体濃度のプロットから概算した I_{50} (モル) は表 1 及び 2 のとおりであった。

表 1. ラットの赤血球及び脳の AChE 阻害 (AChE 活性が 50%となる濃度 (I₅₀))

検 体	赤血球 AChE I ₅₀ (モル)	脳 AChE I ₅₀ (モル)
アセフェート() ()	9.0×10 ⁻³	> 1.0×10 ⁻³
アセフェート原体* アセフェート()に を添加**	5.0×10 ⁻⁴ 1.0×10 ⁻⁴	4.5×10 ⁻⁴ 4.5×10 ⁻⁴
アセフェート原体*に %を添加 アセフェート()に %を添加**	1.5×10 ⁻⁴ 9.0×10 ⁻⁵	8.0×10 ⁻⁵ 8.0×10 ⁻⁵

* %を含む

** アセフェート原体の純度 %と同じになるように濃度を調整した

表 2. ラット及びサルの赤血球及び脳の AChE 阻害

(AChE 活性が 50%となる濃度 (I₅₀))

検 体	赤血球 AChE I ₅₀ (モル)		脳 AChE I ₅₀ (モル)	
	ラット	サル	ラット	サル
アセフェート()	9.0×10 ⁻³	—	1.0×10 ⁻³	1.0×10 ⁻³
アセフェート原体* ()	5.0×10 ⁻⁴	1.0×10 ⁻⁴	4.5×10 ⁻⁴	9.0×10 ⁻⁵

* %を含む

ラット ;アセフェート()による AChE 阻害作用は非常に弱く、脳の AChE 阻害は赤血球 AChE の阻害に比べて 9 倍強かった。アセフェート原体(%含む)は、脳及び赤血球 AChE に対し同程度の阻害を示し、アセフェート()に比して、その阻害作用は 2~18 倍強かった。

()の赤血球及び脳 AChE の阻害は、アセフェート()に比べ約 倍以上と非常に強い AChE 阻害作用を示した。また、の赤血球 AChE 阻害は脳 AChE 阻害の約 倍の強さであった。

%の を添加したアセフェート()の赤血球及び脳 AChE の阻害は、アセフェート原体(%含有)と同等であった。アセフェート()に添加する %に増加した場合、及びアセフェート原体に % を添加した(%含有)場合、どちらも阻害作用は増強された。

サル ;アセフェート、アセフェート原体及びの脳及び赤血球 AChE に対する相対的な阻害作用は、サルとラットで同様の傾向を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

の赤血球 AChE 阻害濃度 (I_{50}) はラットよりもサルで大きく、
の赤血球 AChE 阻害は脳 AChE 阻害よりもやや小さかった。
ラットと同様に、アセフェート原体の脳 AChE 阻害作用はアセフェート () よりも強かった。

以上の結果より、アセフェート原体の赤血球及び脳 AChE 活性阻害作用は、原体中に不純物として含まれている に拠るところが大きいと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

11) アセフェート及び () のヒト血漿及びウシ赤血球における
アセチルコリンエステラーゼ阻害作用試験 (資料 ChE-7)

試験機関 :

報告書作成年 : 1972 年

検体純度 :

供試血漿及び赤血球 : ヒト血漿及びウシ赤血球

試験方法 : ヒトの血漿あるいはウシの赤血球とアセフェートあるいはメタミドホストの混合液を 60 分間インキュベートした後、アセチルコリンを加えさらに 60 分間インキュベートし、pH を測定することでアセチルコリンエステラーゼ活性を求めた。

試験結果 : アセフェート及び () のヒト血漿及びウシ赤血球アセチルコリンエステラーゼに対する阻害活性 (I_{50} 値) を下表に示した。

検 体	ヒト血漿		ウシ赤血球	
	I_{50} (μ g/mL)	I_{50} (Mol)	I_{50} (μ g/mL)	I_{50} (Mol)
アセフェート	> 500	> 2.7×10^{-3}	> 500	> 2.7×10^{-3}

以上の結果から、ヒト血漿及びウシ赤血球に対するアセフェートのアセチルコリンエステラーゼ阻害作用は () のそれに比較して弱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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

12) アセフェート原体の in vitro でのヒト、サル、ラットの脳、赤血球、血漿コリン
 エステラーゼに対する影響 (資料 ChE-9)

試験機関 :

報告書作成年 : 1982 年

検体純度 : %

試験動物及び試料 : ラット (CD:SD Cr1 系、雄、約 100 日齢、24 匹) 及びサル (野生カ
 ニクイザル、雄、3~5 歳齢 (推定)、体重 3.0~3.4kg、3 頭) から採取し
 た脳及び血液。

ヒト (事故死/射殺、刺殺、煙吸入の 3 名) の凍結脳及びボランティア (4
 名) から採血した血液。

試験方法 : ヒト、サル及びラットの脳と赤血球細胞膜のアセチルコリンエステラーゼ
 (AChE) と血漿コリンエステラーゼ (ChE) に対するアセフェート原体の影
 響を、基質としてアセチルチオコリン (AcSCh) を、色素源として DTNB を
 用いる Ellman らの AChE 活性の比色法により測定した。

なお、血漿 ChE の測定には基質としてブチルチオコリン (BuSCh) を用いた。
 脳ホモジネート、赤血球細胞膜及び血漿試料と種々の濃度に希釈したアセ
 フェート原体を、37°C で 1 時間、静かに振とうしながらインキュベートし、
 AChE、ChE 活性を測定した。対照として各試料に検体を加えずに同様の操
 作を行なった。また、陽性対照としてエゼリンを用いた。検体あるいはエ
 ゼリンの AChE、ChE 活性の阻害を対照の活性に対する百分率 (%) で求め、
 AChE あるいは ChE 活性が 50% となる濃度 (I_{50}) を求めた。

試験結果 : 脳及び赤血球細胞膜 AChE、血漿 ChE の阻害率 (%) に対する検体濃度との
 関係から求めた I_{50} (50% 阻害モル濃度) は次表のとおりである。

検 体	I_{50} (アセフェート : $\times 10^{-3}$ モル、エゼリン : $\times 10^{-9}$ モル)								
	脳 AChE			赤血球細胞膜 AChE			血漿 ChE		
	ラット	サル	ヒト	ラット	サル	ヒト	ラット	サル	ヒト
アセフェート原体	1.6	3.4	5.4	1.3	2.7	2.7	4.5	2.3	1.8
エゼリン (陽性対照)	4.3	5.5	5.4	2.3	5.4	4.8	32	12	10

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

アセフェート原体は、ラット、サル及びヒトのすべてに対し AChE、ChE の弱い阻害作用があることが確認され、50%阻害モル濃度 (I_{50}) は 1.3×10^{-3} モル～ 5.4×10^{-3} モルの範囲内であった。また、アセフェート原体の阻害の程度は陽性対照のエゼリンより、AChE 阻害としては約 100,000 倍、ChE 阻害としては約 10,000 倍低かった。

I_{50} 値は、脳及び赤血球 AChE ではサル及びヒトよりもラットの方が低く、血漿 ChE ではラットよりもサル及びヒトの方が低かった。

以上の結果より、アセフェート原体は in vitro で弱い脳及び赤血球 AChE と血漿 ChE 阻害作用を有し、その感受性 (I_{50}) は、脳及び赤血球 AChE でヒト \leq サル < ラットの順でラットが最も感受性が高く、血漿 ChE ではラット < サル < ヒトの順でヒトで最も感受性が高かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(2) ヒトに対する暴露試験

1) アセフェートの職業上暴露試験—試験工場と製剤室において (資料 HE-1)

試験機関 :

報告書作成年 : 1972 年

試験者 : アセフェート原体の生産をする作業員 3 名、アセフェートの製剤化をする作業員 2 名

観察期間 : 10 週間 (1972 年 3 月～5 月)

投与方法 : アセフェートの製造と製剤の作業に従事する前に被験者の詳細な病歴を入手し、身体検査を行った。

上記作業に 10 週間従事させ、その間第 1、2、3、4、5、6、8 及び 10 週時に臨床検査を行い、第 2、3、4、5、6 及び 8 週時に問診を行った。また、尿検査は第 2、3、4、5、6、8 及び 10 週時に行った。

さらに、作業終了後約 2 ヶ月経過したのちも臨床検査を行った。

観察項目 : 作業に従事する前における検査ではオーディオグラムによる聴力、視力、握力、PA 胸部 X 線、心電図、血漿と赤血球のコリンエステラーゼ活性、血液学的検査及び血液生化学的検査を行った。

作業に従事する間は血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査を行い、工場の気中濃度を測定した。

作業終了後約 2 ヶ月経過したのちにも血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査を行った。

さらに、作業従事中における尿検査で尿中に製造工程のいずれにも存在しなかった 2 化合物 () が検出された。これら 2 化合物

は製造工程で生成する混在物

の代謝により生成されるものと考えられたことから、これらの化合物のラット代謝試験を追加で実施した。

結 果 :

1. 尿の化学分析

各従業員尿の分析結果 (各従業員で検出された最高値と最低値) は次表の通りであった。

表. 尿分析の結果 (最低値及び最高値)

作業場所	従業員	分析値 (ppm)			
		最低/最高	アセフェート		
製造工場	1	最低 最高	0.004 0.47		
	4	最低 最高	0.075 5.0		
	5	最低 最高	0.033 3.0		
製剤工場	2	最低 最高	0.004 1.55		
	3	最低 最高	0.000 0.39		

- a. すべての従業員の尿中にアセフェートが検出された。従って、従業員は職業上アセフェートに暴露していた。
- b. 他の3つの化学物質も量は少なかったが検出されたことから、従業員はアセフェート生産工程で他の化学物質にも暴露していた。
- c. 検出量は広範囲に渡り、同一個人でも日によって変わり、個人差もあった。
- d. 製造工場の3名は継続してアセフェート生産に当り各々同じ作業任務を行っていたが、アセフェートの検出最大濃度には10倍以上の差がみられた。
- e. 2名の製剤室作業員は多くの量のアセフェートを断続的に扱っていた。従業員2は薬剤計量作業を処理しており、検出濃度は従業員3より多かった。検出されたアセフェート濃度とその日に個人がアセフェートを取り扱ったかどうかには非常に明確な相関関係がみられた。例えば、従業員2は最大で1.55ppm 検出され（この検出量は次に高い値の3倍以上）であったが、この時の尿試料は16時間にわたり継続的に（食事休憩は除く）数百ポンド（1ポンドは約450g）のアセフェート製剤に従事した後採集したものであった。
- f. 製剤員は工業用アセフェートのみを取り扱っていたことから、他の化学物質に暴露していることはなく、従って他の物質が検出されたとしてもその濃度は極めて低いと予想され、確認された。それに対し、試験工場員は生産工程で使われるか製造される化学物質すべてに暴露する可能性があった。実際、測定した全化学物質（の定量も含む）が有意な、しかし、かなり変動のある量で多くの尿試料中に検出された。
- g. 暴露が中断されると、尿中に排泄されるアセフェートの量は減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

ラットや山羊ではアセフェートの殆ど全量が暴露中断後 2 日間で排出されたが、ヒトにおいては週末尿試料を分析した 3 名の尿分析の結果、2 日後の尿中濃度は金曜日の就業後に採取した就寝時試料濃度の 20%から 50%であった。

- h. 試験終了直後、従業員 4 はアセフェートに暴露されない研究室へ転任した。その後 2 ヶ月以上経過してから 8 月に尿採取をしたところ、アセフェートは検出されなかった。
- i. は概して少量であるが測定し得る量で検出された。このことより、への暴露事実はあるが、概して少量であると思われた。

2. 臨床評価

- a. 身体所見：試験期間中、有機リン酸中毒の臨床上の発現は認められなかった。
- b. 検査所見：血液化学検査成績はすべて正常範囲内であった。

3. 空気試料と拭き取り試料

空気試料は 以外の全関連物質の存在を示していた。拭き取り試料にも 以外の全関連物質が概して少量であるが存在していた。

4. 及び のラット代謝試験

は に代謝され、
は と とに代謝されることが確認された。
、
ともに製造工程に存在することから、試験工場作業員の尿中に 及び が検出されたことが説明された。
ラット代謝試験における推定代謝経路は次の通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

以上より、次のことが確認された。

1. アセフェート及び関連物質の職業上暴露を測定するために尿分析を用いることができる。
2. 5名の被験者は職業上アセフェートに暴露していた。試験工場の3名はアセフェート製造工程で使用又は生産される他の化学物質にも暴露していた。
3. 臨床評価により、従業員5名のアセフェート及び関連物質への職業上暴露は一般健康状態に何ら影響を及ぼさないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) 野外研究員におけるアセフェートの暴露について (資料 HE-2)

試験機関：

報告書作成年：1972年

検体純度：アセフェート散布剤 (75%水溶剤)

試験者：アセフェートを取扱う (計量、混合、散布など) シェブロン社の野外作業員
4名

観察期間：1972年7月10日～9月22日 (75日間)

投与方法：アセフェートに関わる野外作業員に作業日誌をつけてもらうとともに、尿試
料を30回以上採取し、アセフェート及び の有無を調べた。

結果：全被験者の尿中にアセフェートの残留が認められた。
検出量は日によってかなりの変動があった。
最高検出量は0.087ppmであった。 は1例で ppm 検出され
たが、それ以外では残留は認められなかった。
4人の被験者のアセフェートの最高検出量を次表に示す。

作業員名	最高検出量 (ppm)
MJA	0.024
JEL	0.007
JMP	0.087
SSS	0.045

以上の結果から、アセフェートを扱う作業 (計量、混合、散布、空中散布の
関与など) をした日とアセフェートの尿検出量が増えた日の間に明確な相関
関係が認められた。

例えば作業員の1人 (JMP) では、1972年7月10日のアセフェートの散布作
業前に採取した尿中にはアセフェートが検出されなかったが、作業後の尿中
のアセフェートは0.05 ppm 検出され、7月11日及び7月12日に各々0.043
及び0.031 ppm と低下し、さらに7月13日には0.009 ppm となった。さら
に、7月19日の散布後に0.025 ppm が検出されたが、経日的に減少し、7月
24日の散布前の尿中にはアセフェートが検出されなかった。他の作業員にお
いても同様の傾向が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

このようにこれら野外作業員に対するアセフェートの暴露が示されたが、製造工場や製剤工場の従業員での試験に比べると、暴露の量ははるかに少なかった（最大で0.087ppmでありで、試験工場で認められた検出量の最大（5ppm）の50分の1未満であった）。試験工場や製剤工場の従業員に有害な影響は何らみられなかった（資料HE-1）ことから、野外作業員でアセフェートの野外暴露から健康上有害な影響を受けることはなかったと推察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) アセフェート水溶剤の散布中及び散布後における農薬散布業者に対する暴露試験

(資料 HE-3)

試験機関 :

報告書作成年 : 1987 年

検体純度 : アセフェート PCO Spray Concentrate (アセフェート水溶剤 (95%製剤))

試験者 : 農薬散布業者、1ヶ所 3名、1日 2ヶ所、3日間、合計 18名

観察期間 : 4日間 (散布後 4日間)

投与方法 :

散布方法 ; 1日当り住宅内 3ヶ所及び業務用ビル内 3ヶ所、3日間合計各々 9ヶ所で散布試験を実施した。散布者は 1日 3名、3日間合計 9名、散布場所は 2ヶ所で延べ 18名であった。同一散布者が同一日に住宅内及び業務用ビル内の 2ヶ所で手押ポンプ式散布器を用いて、サンプリング用アルファセルローズ板に直接かからぬよう注意しながら散布した。散布設計を次表に示した。

試験日	散布者	
	住宅内	業務用ビル内
10/4/86	R-1	C-1
	R-2	C-2
	R-3	C-3
10/11/86	R-4	C-4
	R-5	C-5
	R-6	C-6
10/18/86	R-7	C-7
	R-8	C-8
	R-9	C-9

散布液の調製及び散布量 ; 水 3.78L 中にアセフェート PCO Spray Concentrate を溶解させ (アセフェートとして 39.7g)、その散布液 0.95L を 1 散布者が 1ヶ所に散布した。

分析用サンプルの採取方法 ; 散布者の暴露をモニターするためにアルファセルローズパッチを体と頭部につけた。体の上部にはシャツ用布で被覆したパッチと、被覆しないパッチを、また、体の下部にはジーンズ布で被覆したパッチと被覆しないパッチの各々 2 セットを衣服にピンでとめた。頭部用パッチは被覆し

なかった。手には白色綿製手袋を着用してモニターした。

床面及び壁面の暴露は各々8ヶ所にアルファセルローズ板を取りつけモニターした。また、吸入暴露は、室内空気を、吸着用ポリウレタン発泡栓をつけたモニタリングポンプで吸引することによりモニターした。

サンプルの分析；サンプルはアセトンで抽出し、抽出液を濃縮して、ガスクロマトグラフィにより分析した。

結 果：保護具を着けた場合における皮膚の暴露を想定した被覆パッチの分析結果は頭部、肩部、背部、胸部、上腕部及び前腕部で検出限界以下 ($<0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)、大腿部及び下肢部で極めて僅かなアセフェートが検出された ($0.03\sim 0.11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)。また、保護具をつけない場合を想定した被覆なしのパッチの分析結果においても上記と同様な結果が得られた。また、住宅内及び業務用ビル内散布で差はみられなかった。すべての散布者の白色綿製手袋からは高濃度のアセフェートが検出され散布作業者の総体表暴露量の94～97%を示した。住宅内及び業務用ビル内の散布者の手袋から各々264～15,260 μg 及び673～55,760 μg が検出された。散布中の各室内空気からアセフェートは検出されなかった（発泡栓当り2.0 μg 未満）。

散布後4日間を通じて、散布した住宅内の壁面からアセフェートは検出されなかったが、業務用ビル内の壁面から散布4日後に僅かに検出された（検出限界程度）。床面からは住宅内及び業務用ビル内の両方から4日間アセフェートが検出された。これは、アルファセルローズ板に直接散布されたものが残留したものと判断した。

また、散布したいずれの部屋からも散布後4日間を通じて空気中にアセフェートは検出されなかった。

以上の結果から、散布者の手以外の暴露は極めて少なく、散布したアセフェート PCO Spray Concentrate の密閉室内への揮散はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物

以下の通り、原体混在物及び代謝物について試験を実施した。

原体混在物の名称	試験の種類	資料 No.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。
