

(8) 繁殖毒性及び催奇形性

① 繁殖毒性

ラットを用いた繁殖試験 (資料 14)

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度： %

試験動物： Crj:CD(SD)系ラット、1群雌雄各24匹、投与開始時5週齢

試験期間： F₀世代；投与開始からF₁世代離乳後1週間までの18週間
F₁世代；離乳時からF₂世代離乳後1週間までの18週間
(1993年4月20日～12月20日)

投与方法：

方法及び試験項目： 概要を別紙の表にまとめた。

一般状態及び； 全動物に関し、全試験期間中、一般状態及び死亡を毎日観察した。
死亡率 死亡又は切迫屠殺した個体は剖検に供し、病理検査を行った。

交配及び妊娠； 交配は、雌の発情を膣垢像より確認し、雄と雌1対1で同居させ、
の確認 翌朝、腔栓及び膣垢の精子により交尾を確認した。妊娠の確認は触診及び
出産をもって行った。

繁殖性に関する； 交配、妊娠、出産、哺育及び離乳時期の観察に基づき、次の指標；
指標 を算出した。

$$\text{交尾率 (\%)} = (\text{交尾数} / \text{交配に用いた動物数}) \times 100$$

$$\text{妊娠率 (\%)} = (\text{妊娠数} / \text{交尾した雌の個体数}) \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = \text{正常分娩数} / \text{妊娠数} \times 100$$

$$\text{平均産児数} = \text{総産児数} / \text{正常分娩した雌の個体数}$$

$$\text{性 比} = \text{総雄児数} / \text{総産児数}$$

$$\text{哺乳0日目の生存率 (\%)} = (\text{哺乳0日目の生存児数} / \text{総産児数}) \times 100$$

$$\text{哺乳4日目の生存率 (\%)} = (\text{哺乳4日目の生存児数} / \text{哺乳0日目の生存児数}) \times 100$$

$$\text{哺乳21日目の生存率 (\%)} = (\text{哺乳21日目の生存児数} / \text{哺乳4日目の生存児数}) \times 100$$

肉眼的病理検査； F₀ 及び F₁ 世代は離乳後、屠殺し、以下の臓器に対して、肉眼的病理検査を行った。脳、下垂体、胸腺、甲状腺（副甲状腺を含む）、脾臓、心臓、大動脈、頭部、舌、咽頭、食道、胃、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、喉頭、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊・凝固腺、卵巣、子宮、膣、眼及びハーダー腺、乳腺及び病変部

臓器重量；各世代の雌雄それぞれ10匹の親動物に関して、離乳後、以下の臓器の重量を測定した。脳、下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、副腎、卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精囊（凝固腺を含む）及び前立腺。尚、肝臓重量に関しては、臓器重量の測定の選抜から外れた個体についても、ホルマリン固定後の肝臓重量を測定した。

- 病理組織学的 ; Fo 及び F₁ 世代の対照群及び高用量群の全動物に関して、生殖器官
検査 (卵巣、子宮、膣、精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺、前立腺)、下垂体の病理組織学的検査を行った。また、低用量群、中間用量群に関しても、交尾及び妊娠不成立の組の動物について、同様に生殖器官と下垂体の病理組織学的検査を行った。
更に、脾臓に関しては全動物を対象として、また肝臓に関しては F₁ 世代雌の対照群及び高用量群の臓器重測定の対象となった個体について病理組織学的検査を行った。
- 精子数及び ; 臓器重量測定の対象となった雄及び交尾不成立/妊娠不成立の
精子形態検査 組の雄について、精巣上体の精子数及び精子の形態を観察した。

方法及び試験項目：

世代	期間 (週)	作業手順	試験項目
Fo	生育 (10 週)		一般状態を毎日観察。体重、摂餌量を週 1 回測定し、同時に外表を検査。
	交配 (11 週)	雌雄を 1 対 1 で交配。 交配は膣栓又は膣垢中の精子で確認	交配状況の観察
	妊娠	(妊娠 0 日)	雌の体重及び摂餌量は妊娠 0、7、14、20 日目に測定。雄の体重及び摂餌量は 2 週間に 1 回測定。
	出産		出産状況の確認。
	哺育 (14 週)	哺育 4 日目に同腹児数を雌雄各 4 匹に調整、 (不可能な場合、雌雄計 8 匹)	新生児数、死産児数、外表異常、性別をを観察、性別毎に同腹児生存児体重測定。 母動物の出産後、0、7、14、21 日目体重と摂餌量測定。0、4、7、14、21 日目に生存児数、胎児体重測定。尚、途中死亡及び 4 日日屠殺の新生児について剖検。
	離乳 (17 週)	継代用に各群雌雄 24 匹ずつを無作為に選抜	全ての母動物について体重測定及び肉眼的病理検査を行い、対照群と最高投与群に関しては、病理組織学的検査を行った。 又、各群雌雄各 10 匹ずつ臓器重を測定した。この時、雄の精巣上体の検査を行い精子数及び形態異常の観察を行った。 この検査は、不妊の場合の雄にも行った。
F ₁	生育 (10 週)		
	交配 (11 週)	(Fo 世代に準ずる)	(Fo 世代に準ずる)
	妊娠		
	出産		(Fo 世代に準ずる)
	哺育 (14 週)	(Fo 世代に準ずる)	(Fo 世代に準ずる)
	離乳 (17 週)	(F ₁ 世代に準ずる)	(F ₁ 世代に準ずる)
F ₂	(18 週)		離乳後、F ₁ 世代の親動物及び F ₂ 世代の検査。検査の内容に関しては Fo 世代に準じて行った。

結 果： 結果の概要を下表に示す。

世 代		親: F ₀ 児: F ₁				親: F ₁ 児: F ₂				
用量群 (ppm)		0	125	1000	8000	0	125	1000	8000	
動物数 (雌雄)		24	24	24	24	24	24	24	24	
死亡率 (雄) 注)		1/24	0/24	1/24	1/24	0/24	1/24	0/24	0/24	
親動物	一般状態	雄	脱毛 傷 被毛の汚れ 皮脂 内歯の 不正咬合 呼吸喘鳴 切迫屠殺	被毛の汚れ 皮脂 内歯の 不正咬合 皮脂 耳介の腫れ 内歯の 不正咬合 呼吸喘鳴	脱毛 傷 被毛の汚れ 皮脂 内歯の 不正咬合 腹部膨脹 呼吸喘鳴	脱毛 傷 被毛の汚れ 短毛 内歯欠損	傷 被毛の汚れ 皮脂 臍帯膨脹	脱毛 被毛の汚れ 皮脂 臍帯膨脹 死亡 切迫屠殺	脱毛 傷 被毛の汚れ 皮脂 内歯の 不正咬合 臍帯膨脹	傷 皮脂 臍帯膨脹
		雌	傷 臍帯膨脹 後足膨脹	脱毛 臍帯膨脹	脱毛 傷	脱毛 腹部の塊 歩行異常	臍帯膨脹	臍帯膨脹		脱毛 後足膨脹 皮脂 屈曲尾
	体重(g)									
	投与開始(0週)	雄	137	137	137	137	70	72	67	66
	生育期間終了(10週)		471	459	↓448*	↓437**	507	496	492	494
	投与終了(18週)	雌	553	533	531	↓509**	601	582	591	584
	投与開始(0週)		123	123	123	123	64	66	64	↓61*
	生育期間終了(10週)		282	284	282	282	293	293	290	282
	妊娠期間終了(13週)		411	431	424	420	429	438	438	420
	哺育期間開始(14週)		305	314	307	302	326	323	336	317
	" 終了(17週)		329	342	321	338	337	346	348	334
	投与終了(18週)		310	323	314	315	322	329	329	312
	体重増加量(g)									
	生育期間(10週)	雄	334	322	↓311*	↓300**	437	425	425	428
		雌	161	161	159	159	229	227	226	221
	摂餌量(g/匹/日)									
	生育期間(10週)	雄	26.9	27.0	26.2	25.1	31.8	30.9	31.6	30.8
		雌	20.4	20.2	19.7	19.1	22.2	22.0	21.4	21.2

注) : 雌に死亡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デュボン株式会社にある。

世 代		親: F ₀				親: F ₁					
用量群 (ppm)		0	125	1000	8000	0	125	1000	8000		
検体摂取量 (mg/kg/日)											
親動物	生育期間 (10週)	雄	0	9.59	76.6	601	0	11.35	90.4	724	
		雌	0	10.92	85.2	663	0	12.39	96.5	783	
	交尾率 (%)		100	100	100	100	100	95.8	100	100	
	妊娠率 (%)		83.3	95.8	87.5	91.7	100	95.7	100	95.8	
	出産率 (%)		100	100	100	100	95.8	100	100	100	
	妊娠期間 (日)		22.4	22.2	22.4	22.1	22.1	22.4	22.3	22.1	
	平均着床数		15.1	16.3	16.3	16.3	14.2	16.0	15.8	16.0	
	平均産児数		13.5	15.0	14.9	15.1	13.3	14.6	13.6	13.9	
	精巢上体精子数 (尾部毎, x10 ⁶)		202	190	177	185	194	206	175	↓171*	
	精巢上体精子数 (尾部 1g 毎, x10 ⁶)		678	656	576	633	638	626	565	↓546*	
	正常精子率 (%)		98.0	98.0	98.5	97.7	96.7	96.7	96.6	97.7	
	肉眼的病理所見 (所見数/検査動物数)										
	膵臓肥大		雄	0/24	0/24	0/24	23/24*	0/24	0/24	0/24	0/24
			雌	0/24	0/24	0/24	24/24*	0/24	0/24	0/24	0/24
	絶対臓器重量 (対照群に対する変動率 (%))										
	膵 臓		雄					↑148*			
	精 巢			↓93*							
	肝 臓		雌					↑113*			
	膵 臓			↑120*				↑162*			
	腎 臓			↑109**				↑109**			
子 宮		↑112*				↑115*					
相対臓器重量 (対照群に対する変動率 (%))											
脳						↑109*					
副 腎		雄					↑119*				
腎 臓							↑108*				
膵 臓			↑124*				↑158*				
肝 臓		雌					↑112*				
膵 臓							↑108*				
病理組織学的所見 (所見数/検査動物数)											
膵臓腺房細胞肥大		雄	0/24	0/24	0/24	23/23*	0/24	0/24	0/24	24/24*	
		雌	0/24	0/24	0/24	23/24*	0/24	0/24	0/24	24/24*	

注) : 雌に死亡は認められなかった。

世 代		親: F ₀ 児: F ₁				親: F ₁ 児: F ₂			
用量群 (ppm)		0	125	1000	8000	0	125	1000	8000
児 動 物	新生児数	269	346	313	333	306	321	327	320
	性比 (雄/総数)	0.513	0.486	0.518	0.559	0.500	0.517	0.486	0.547
	哺育0日目生存率(%)	96.9	98.2	98.2	94.5	98.2	97.2	97.8	95.4
	4 "	96.5	97.6	98.8	97.2	98.3	98.3	99.4	98.5
	離乳時期間平均体重	97.5	99.5	100	99.4	99.5	98.9	97.9	100
	哺育期間平均体重(g)								
	哺育0日目	6.9	6.7	6.8	6.4*	6.8	6.9	6.8	6.6
	4	11.8	11.1	11.2	10.8*	11.6	12.0	12.0	11.1
	7	18.7	18.1	18.1	17.3*	19.0	19.8	19.4	18.2
	14	36.9	36.8	36.8	35.1*	39.2	40.4	39.4	37.2*
	21	59.1	59.4	58.8	56.0*	62.4	65.2*	63.3	58.8*
	哺育0日目	6.5	6.3	6.4	6.0*	6.6	6.6	6.6	6.3
	4	11.1	10.7	10.7	10.2*	11.4	11.5	11.8	10.7
	7	17.8	17.5	17.3	16.5*	18.8	19.0	19.2	17.6
	14	35.4	35.7	35.3	33.6*	38.3	39.1	39.0	36.2**
	21	56.4	56.9	55.7	53.1*	60.1	62.8	62.0	56.2*
離乳時の肉眼的病理 検査(所見数/検査動物数)									
腎盂拡張	7/107	1/132*	4/120	8/127	2/127	1/171	9/186*	7/184	

* : p<0.05 ** : p<0.01 ☆ : p<0.001

統計検定

○Student または Aspin-Welch の t 検定

(体重、体重増加量、摂餌量、臓器重量、着床数、平均産児数、精子数)

○Fisher の直接確率計算法

(親動物の臨床所見、剖検所見、病理組織学的所見、交尾率、妊娠率、出産率、
児の性比)

○Mann-Whitney の U 検定

(妊娠期間、正常精子率、哺育児生存率)

1000 ppm 群では F₀ 及び F₁ 世代の雄の体重及び体重増加量が有意に低下し、F₁ 世代の親動物の雌雄では摂餌量の有意な低下がいくつかの投与週で散見された。又、F₀ 世代の雄の相対脾臓重量が有意に増加した。

8000 ppm 群では、F₀ 及び F₁ 世代の雄の体重及び体重増加量が有意に低下し、F₀ 及び F₁ 世代の親動物の雌雄に摂餌量の有意な低下がいくつかの投与週で散見された。又、F₀ 世代の親動物の雌雄において、脾臓肥大が全個体において認められ、脾臓の相対及び絶対重量の有意な増加が、F₀ 及び F₁ 世代の親動物の雌雄に認められた。病理組織学的検査では同様に F₀ 及び F₁ 世代の親動物の雌雄に脾臓腺房細胞の肥大が認められた。

F₁ 世代の雌の 125、1000、8000 ppm 群に相対肝臓重量の有意な増加が認められた。しかし、固定後の肝臓重量を測定した結果、いずれの投与群においても、絶対重量、相対重量とも有意差は認められなかった。また、背景データから(絶対重量: 15685、17325、17368 mg、相対重量: 4.79、5.06、5.24)、対照群における相対肝臓重量が通常よりも低く(絶対重量: 13974 mg、相対重量 4.34)、有意な増加が認められた群の値はむしろ正常値に近かった。このことは固定後の肝臓重量測定結果により指示され、上記のように対照群の値が通常より低くなった原因は、対照群で肝臓の小さい個体が

多く選抜されたためと考えられる。又、8000 ppm 群においても病理組織学的検査に所見が認められなかったことから、この所見は検体投与に起因する変化ではないと考えられる。また、Fo 世代の雌の 125 ppm 群において絶対脾臓重量の有意な増加が認められたが、同様の所見は同 1000 ppm 群及び F₁ 世代で認められなかったことから検体投与に起因する変化ではないと考えられる。

Fo 世代の雄では各投与群の脳、副腎、腎臓及び精巣の絶対重量と体重比、またはそれらのいずれかに対照群と比較して統計学的に有意な差がみられたが、高用量群または F₁ 世代で有意差が認められないことから、検体の投与に関連した変化とは考えられなかった。また雌では肝臓重量が Fo 世代の 8000 ppm 投与群の絶対重量にのみ有意に高値となったが、F₁ 世代ではすべての投与群の体重比が対照群に比べて有意に高かった。その他に、Fo 雌の腎臓と卵巣の絶対重量が 1000 ppm 投与群と 8000 ppm 投与群で有意に重かったが、体重比には対照群と比較して有意な差はみられなかった。

親動物の繁殖性に関する指標については、F₁ 世代の雄 8000 ppm 群の精巣上体精子数が対照群に対し、有意に低下した。しかし、この点に関しても、精巣上体尾部 1g あたり精子数の対照群の値は背景データの上限 ($617 \times 10^6/g$) を越えており、8000 ppm 群の値が背景データの下限 ($579 \times 10^6/g$) を若干下回るものの、下限値から 5.7%の低下に過ぎず、精子の形態や、精巣の病理組織検査及び他の繁殖性に関する指標については異常は認められなかったことから生物学的に意味のある低下とは考えられなかった。

児動物に関しては、F₁ 及び F₂ 世代の 8000 ppm 群において、体重が対照群に対して有意に低下した。

以上の結果により、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、親動物に関しては 1000 ppm 群において体重及び体重増加量が減少し、児動物に関しては 8000 ppm 群においても繁殖能に影響は認められなかった。従って、最大無作用量は親動物に対しては 125 ppm (雄:9.59 mg/kg/日、雌:10.92 mg/kg/日)、児動物については 1000 ppm (雄:76.6 mg/kg/日、雌:85.2 mg/kg/日) と判断される。また、最高用量群である 8000 ppm 群においても繁殖性に影響は認められなかった。

②催奇形性

②-1. ラットにおける催奇形性試験 (資料 15)

試験機関：(財)残留農薬研究所
[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度： %

試験動物： Crj:CD(SD)系妊娠ラット (13週齢)、1群24匹

試験期間： 投与期間10日間 (1993年10月25日～11月6日)

試験方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁させ、50、200及び1000 mg/kg/日の投与レベルで妊娠6日目から15日目までの10日間、毎日1回強制経口投与した。

投与用量は10 mL/kgとし、対照群には、担体のみを同様に投与した。尚、妊娠0日は、雌雄を同居させた後、膣栓または膣垢中の精子が確認された日とした。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物：一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0日、6日～15日まで(投与期間中)の毎日及び20日に体重を測定した。摂餌量は2日おきに測定した。妊娠20日に帝王切開を行った。各母動物について剖検を行い、卵巣と子宮の状態を検査した。卵巣については黄体数、子宮については妊娠子宮重量、着床数、胎児及び胚の死亡吸収数及び生存胎児数を検査した。胎児及び胚の死亡吸収については、着床痕、胎盤遺残、浸軟胎児に分類した。

生存胎仔：胎児重及び胎盤重を測定し、性、外表奇形の有無及び眼球の異常を検査した。同腹児につき約半数の生存胎児について、内臓を検査し、残りの胎児については、透明骨格標本作製し、骨格検査を行った。

結果：別表に示す。

親動物：試験期間中、母動物の死亡は1例もなかった。投与期間中、1000 mg/kg群で流産が有意に高い頻度でみられた。その他の所見も認められたが出現頻度にはいずれの用量群においても対照群と比較して有意な差はみられなかった。又、1000 mg/kg群において、平均体重増加量が妊娠9日か

ら 20 日の期間中に対照群より有意に低かった。更に、1000 mg/kg 群では、妊娠 6-9 日、9-12 日及び 12-15 日の期間中（投与期間中）の平均摂餌量が対照群の値より有意に低かった。妊娠 20 日の帝王切開時に実施した母動物の剖検において、1000 mg/kg 群では、種々の所見がみられたが、それらの所見のうち脾臓の肥大の出現頻度のみが有意に高かった。交尾の認められた全ての雌動物に妊娠が成立し、妊娠子宮重量、黄体数及び着床数には、いずれの用量群においても対照群との間で有意な差はみられなかった。

胎 児 動 物；生存胎児数及び胎児死亡率は、対照群と各用量群の間でほぼ同じであった。胎盤重量は 1000 mg/kg 群において、対照群とほぼ同じであったものの、同群の胎児体重は雌雄とも対照群より有意に低かった。性比に関しては、50 及び 200 mg/kg 群で統計学的に有意な差がみられた。しかし、1000 mg/kg 群の値には対照群の値と比較して有意な差がみられなかったことから、これらの変化は偶発的なものと考えられた。内臓変異の出現頻度には、50 及び 200 mg/kg 群で胸腺の頸部残留の出現頻度が対照群より有意に低かったことを除いて、有意な差はみられなかった。骨格変異に関しては、1000 mg/kg 群で腰肋及び仙椎前椎骨数 25 個の出現頻度が対照群より有意に高く、これらは検体投与に関連した変化と考えられた。しかし、これらの骨格変異は対照群の胎児においても通常みられる型のものであった。また、いずれの用量群においても奇形を持つ胎児の出現頻度及び奇形のみられた胎児を持つ母動物の頻度に有意な増加はみられなかった。

結 果：

投与量 (mg/kg/日)		0			50			200			1000				
1 群当たり動物数		24			24			24			24				
検査動物数		24			24			24			24				
親動物	所見の認められた期間	投与	投与	投与	投与	投与	投与	投与	投与	投与	投与	投与			
		期間前	期間中	期間後	期間前	期間中	期間後	期間前	期間中	期間後	期間前	期間中	期間後		
一般状態	眼周囲部被毛の汚れ					1			1	1					
	脱 毛										2	3			
	流 涎										9 ^{***b}				
	皮下腫瘍											1			
	剖検 脾臓肥大	0			0			0			5 ^{ab}				
	平均体重変化 (g)														
	投与期間前まで (0~6 日)	29			29			28			26				
	投与期間終了まで (0~15 日)	67			70			66			57 ^{***a}				
	試験終了まで (0~20 日)	146			148			142			133 ^{***a}				
	平均摂餌量 (g/日)														
	投与期間前	23.1			22.8			22.8			23.1				
	中	23.3			23.0			22.6			20.9 ^{***a}				
	後	25.2			25.1			25.2			25.1				
	妊 娠 数	24			24			24			24				
	死 亡 数	0			0			0			0				
流 産 数	0			0			0			0					
分 娩 数	24			24			24			24					
全胎児吸収数	0			0			0			0					
着床所見	平均黄体数	16.6			16.6			16.3			16.3				
	平均着床数	16.0			15.8			15.5			15.4				
	平均生存胎児数	14.7			14.9			14.4			14.1				
	吸収胚数及び死亡率 (%)	8.2			5.6			6.9			7.9				
	平均胎児重 (雄) (mg)	3561			3535			3558			3166 ^{***a}				
	平均胎児重 (雌) (mg)	3344			3324			3405			3016 ^{***a}				
	平均胎盤重 (mg)	516			506			508			518				
	性比 (雄の胎児数/全胎児数)	0.568			0.500 ^{*b}			0.480 ^{*b}			0.566				
	奇形胎児を有した雌数	6			6			2			7				
変異	16			12			14			21					
胎児動物	奇形	外観	検査胎児数	352			358			346			339		
			全身性浮腫	1			0			0			0		
			下顎部浮腫	1			0			0			0		
			臍帯ヘルニア	0			0			0			1		
			鎮肛を伴う痕跡尾	0			1			1			0		
			奇形の認められた総胎児数	2			1			1			1		
			変異	16			12			14			21		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

投与量(mg/kg/日)		0	50	200	1000		
1 群当たり動物数		24	24	24	24		
検査動物数		24	24	24	24		
胎児動物	奇形	内臓	検査胎児数	170	173	167	164
			心室中隔欠損を伴う動脈幹遺残	0	1	0	0
			重複大動脈弓	0	0	0	1
			横隔膜ヘルニア	0	1	0	0
		奇形の認められた総胎児数	0	2	0	1	
		骨格	検査胎児数	182	185	179	175
			重複大動脈弓	4	4	1	5
			横隔膜ヘルニア	0	1	1	0
	奇形の認められた総胎児数		4	5	2	5	
	変異	外観	検査胎児数	352	358	346	339
			変異の認められた総胎児数	0	0	0	0
		内臓	検査胎児数	170	173	167	164
			胸腺の頸部残留	21	5 ^{***b}	10 ^{*b}	24
			大動脈弓から起始する右鎖骨下動脈	0	0	2	0
			腎盂拡張	2	3	1	0
			左側臍動脈	1	1	4	6
			変異の認められた総胎児数	24	9 ^{**b}	17	27
			骨格	検査胎児数	182	185	179
胸骨分離				0	1	1	1
頸肋	0	1		0	0		
腰肋	5	2		8	19 ^{***b}		
波状肋骨	0	1		0	4		
第13肋骨の短縮	0	0		0	3		
腰椎の仙椎化	0	1		0	0		
仙椎前椎骨数25個	0	1		1	5 ^{*b}		
変異の認められた総胎児数	5	7	10	29 ^{***b}			

***: $p \leq 0.001$ **: $p \leq 0.01$ *: $p \leq 0.05$

a: Dunnet 又は Scheffé (型順位和) 検定法

b: Fisher の直接確率計算法

c: Mann-Whitney の U 検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

以上の結果より、母体に関しては、1000 mg/kg/日群で体重増加量及び摂餌量の減少及び脾臓の肥大が認められ、胎児に関しても 1000 mg/kg/日群において胎児体重の減少及び変異総胎児数の増加が認められた。従って母体及び胎児に対する最大無作用量はそれぞれ 200 mg/kg/日と判断される。また催奇形性は最高投与量の 1000 mg/kg/日においても認められなかった。

②-2. ウサギにおける催奇形性試験 (資料 16)

試験機関：(財)残留農薬研究所
[GLP対応]
報告書作成年：1994年

検体の純度： %

試験動物： Kb1:JW系妊娠日本白色種ウサギ (18週齢)、1群18匹

試験期間： 投与6日目から18日目の13日間 (1993年4月5日～4月21日)

試験方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁させ、50、150及び500 mg/kg/日の用量で妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日、1回強制経口投与した。投与容量は、5 ml/kgとし、対照群には1% CMC水溶液を同様に投与した。又、各動物は人工受精により妊娠させ、交配の翌日を妊娠0日として起算した。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物： 一般状態及び生死を毎日最低1回観察した。体重測定は妊娠0日、6日～18日(投与期間中)の毎日、24日及び27日に行った。摂餌量は2日おきに測定した。妊娠27日目に帝王切開し、子宮及び卵巣の重量、卵巣の黄体数、着床数、生存胎児及び死亡吸収胚の数と位置を観察した。尚、母動物は、帝王切開後、剖検に供した。死亡吸収胚については、着床痕、胎盤遺残及び浸軟胎児を検査した。

生存胎仔： 体重及び胎盤重を測定し、外表奇形の有無、眼球、内臓、性、骨格について検査した。

結 果：別表に示す。

親 動 物； 50 及び 150 mg/kg 群に影響は認められなかった。500 mg/kg 群では 7 匹が妊娠 19 日から 25 日の間に流産(4 匹)又は死亡(4 匹、うち 1 匹は流産した個体が衰弱死)した。この用量群の体重増加量は投与期間中、対照群に対し有意に低かったこと及びこれらの異常が、投与期間の後半に摂餌量の急激な減少と体重の著しい低下が認められた個体に観察されたことから、検体の投与が原因であると考えられた。また、試験途中で流産または死亡した個体の剖検では、内部臓器に種々の所見がみられた。これらのうち、胃、腎臓及び盲腸にみられた所見は、この系統のウサギでしばしば観察される変化であることから、被験物質の投与とは関係のないものと考えられた。また、肺の所見については、用量設定試験では最高用量である 1000 mg/kg の用量においてもこのような異常はみられていないことから、死戦期の動物に非特異的に引き起こされた変化であると考えられた。各用量群ともに、体重、摂餌量、剖検所見、平均妊娠、子宮重量、黄体数、着床数に有意差は認められなかった。

胎 仔 動 物； 胎児死亡率について、50 mg/kg 群の値(9.3%)が対照群に対し有意に高かったが、150 mg/kg 及び 500 mg/kg 群において有意差は認められなかったこと、死亡率が背景データ範囲内(3.5~18.6%)であること及び対照群の胎児死亡率(4.3%)が比較的低かったことから、これが薬剤投与に起因した所見とは考えられない。また、50 mg/kg 群における雌の胎児体重と、500 mg/kg 群における胎盤重量が対照群の値より有意に高かったが、これらの変化に伴う異常は認められなかった。このことは対照群における生存胎児数が多く、そのため胎児体重及び胎盤重が比較的低くなったことが原因であると考えられる。更に、50 mg/kg 群における腰肋及び変異胎児の出現頻度は対照群に対し有意に低かった。胎児動物の外表、内臓及び骨格検査で、対照群を含む各群に種々の奇形変異が観察されたが、いずれの所見についても各用量群におけるそれらの出現頻度は、対照群に比し有意差は認められなかった。

結 果：

投与量(mg/kg/日)		0			50			150			500		
1 群当たり動物数		18			18			18			18		
検査動物数		15			17			18			17		
所見の認められた期間		投与 期間前	投与 期間中	投与 期間後	投与 期間前	投与 期間中	投与 期間後	投与 期間前	投与 期間中	投与 期間後	投与 期間前	投与 期間中	投与 期間後
親 動 物	耳介の傷・痂皮						1	1					
	体の一部脱毛						1	3					
	被毛汚染(外陰部/肛門)				1	2						2	
	血様尿			2	2							1	
	軟便		2	2	2		3					1	2
	褐色透明粘液											2	1
	流産					1							4 ^(注)
	死亡												3
	平均体重変化(g)												
	投与期間前(0~6日)	145			168			136			149		
	" 中(6~18日)	152			89			108			-132**		
	" 後(18~27日)	26			134			45			74		
	平均摂餌量(g/日)												
	投与期間前	192			191			181			189		
	" 中	160			151			147			120		
	" 後	91			123			93			73		
	妊娠数	18			18			18			18		
	死亡数	0			0			0			3		
	流産数	0			1			0			4		
	分娩数	15			16			18			10		
全胎児吸収数	3			1			0			1			
平均黄体数	11.7			10.6			12.4			10.2			
平均着床数	10.3			8.8			9.8			7.8			
平均生存胎児数	9.9			7.9			8.7			6.9			
吸収胚数及び死亡率(%)	4.3			9.3**			9.2			8.4			
平均胎児重(雄)(g)	35.0			38.4			36.4			38.6			
平均" (雌)(g)	33.3			39.3**			36.1			35.4			
平均胎盤重(mg)	4446			5247			5031			5580***			
性比(雄の胎児数/全胎児数)	0.544			0.512			0.526			0.652			
奇形胎児を有した雌数	1			1			3			1			
変異"	14			13			16			9			

(注)：1 個体は流産後衰弱死

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

投与量 (mg/kg/日)		0	50	150	500		
1 群当たり動物数		18	18	18	18		
検査動物数		149	127	156	69		
胎 児 動 物	外 観	奇形の認められた 総胎児数	0	0	0	0	
		内 臓	右大動脈弓	0	0	1	0
	停留精巣		0	0	1	0	
	癒合腎		0	0	1	0	
	奇形の認められた 総胎児数		0	0	2	0	
	骨 格	前頭骨分離	1	0	0	0	
		胸骨癒合	0	1	1	0	
		腰椎椎体、骨化核分離	0	0	1	0	
		第2腰椎椎体及び 右側椎弓欠損	0	0	0	1	
		第5腰椎以降の欠損	0	0	1	0	
		奇形の認められた 総胎児数	1	1	2	1	
	変 異	外 観	変異の認められた 総胎児数	0	0	0	0
			内 臓	胸腺の頸部残留	7	3	4
		変異の認められた 総胎児数		7	3	4	6
		骨 格	胸骨分節の非対称	0	0	1	0
			胸骨分節の分離	2	0	1	0
			頸肋	1	1	1	0
			腰肋	48	25 ^a	52	17
仙椎前椎骨 25			1	0	0	0	
仙骨前椎骨 27			10	12	14	7	
変異の認められた 総胎児数		60	38 ^a	68	24		

** : $p \leq 0.01$ * : $p \leq 0.05$ a : Dunnet 又は Scheffé (型順位和) 検定法

b : Fisher の直接確率計算法 c : Mann-Whitney の U 検定

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与した場合、母体に関しては 500 mg/kg/日群で体重の減少及び死亡・流産が認められ、胎児に関しては 500 mg/kg/日でも影響は認められなかった。従って、母体及び胎児における最大無作用量は、それぞれ 150 mg/kg/日及び 500 mg/kg/日であると判断される。また、催奇形性は最高用量の 500 mg/kg/日においても認められなかった。(申請者注：500 mg/kg/日群における平均胎盤重量の増加は、平均生存胎児数がやや少なかったことによる偶発的な変動であると考えているが、組織学的検査などから胎盤に異常のないことを確認できていないので、胎盤に対する無毒性量は 150 mg/kg/日と解釈する。)

(9) 変異原性

① 遺伝子突然変異原性

DPX-A8947 (アジムスルフロン) の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 17)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

[GLP対応]

報告書作成年：1990年

検体の純度： %

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA* 株) を用い、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 Ames らの方法で変異原性を検定した。

この濃度を最高投与量とし、313、625、1250、2500 及び 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 5 用量で試験した。

試験は 2 度行い、各用量について 3 枚のプレートで実施した。

結果： (次表に示す。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

実験 I. S-9 Mix 非存在下

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照 (DMSO)	88	18	27	27	10
		85	12	19	22	7
		91	10	27	28	8
		(88 ± 3)	(13 ± 4)	(24 ± 5)	(26 ± 3)	(8 ± 2)
	78	87	8		24	4
		75	8		22	4
		86	9		27	7
		(83 ± 7)	(8 ± 1)		(24 ± 3)	(5 ± 2)
	156	80	10		24	3
78		4		15	4	
70		11		19	6	
(76 ± 5)		(8 ± 4)		(19 ± 5)	(4 ± 2)	
313	72	10	23	25	2	
	81	7	33	24	6	
	78	5	21	21	4	
	(76 ± 5)	(7 ± 3)	(26 ± 6)	(23 ± 2)	(4 ± 2)	
625	60	6	31	13	5	
	60	5	26	20	3	
	51	8	23	18	1	
	(57 ± 5)	(6 ± 2)	(27 ± 4)	(17 ± 4)	(3 ± 2)	
1250	30	3	25	8	2	
	32	3	30	15	1	
	31	4	24	16	2	
	(31 ± 1)	(3 ± 1)	(26 ± 3)	(13 ± 4)	(2 ± 1)	
2500	4	1	15	3	0	
	5	1	24	3	0	
	9	3	23	1	1	
	(6 ± 3)	(2 ± 1)	(21 ± 5)	(2 ± 1)	(0 ± 1)	
5000	3	1	28	0	0	
	1	0	32	0	0	
	1	0	27	0	0	
	(2 ± 1)	(0 ± 1)	(29 ± 3)	(0 ± 0)	(0 ± 0)	
陽性 対照	名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA
	$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.01	10	0.04	0.1	80
	コロニー数/ プレート	293	2013	198	253	3096
		296	2215	182	298	2774
		261	2388	195	322	3098
(283 ± 19)		(2205 ± 188)	(192 ± 9)	(291 ± 35)	(2989 ± 186)	

():内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * :菌株の生育阻害を認める

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9-AA: 9-aminoacridine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

実験 I. S-9 Mix 存在下

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
		塩基置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
+	対照 (DMSO)	87 78 81 (82 ± 5)	5 5 14 (8 ± 5)	37 30 24 (30 ± 7)	37 22 21 (27 ± 9)	7 10 10 (9 ± 2)	
	78	69 71 69 (70 ± 1)	8 6 5 (6 ± 2)	/	27 17 17 (20 ± 6)	2 5 4 (4 ± 2)	
	156	70 80 83 (78 ± 7)	4 9 8 (7 ± 3)	/	21 21 19 (20 ± 1)	5 6 9 (7 ± 2)	
	313	59 81 55 (65 ± 14)	6 3 6 (5 ± 2)	32 22 21 (25 ± 6)	15 19 14 (16 ± 3)	1 3 2 (2 ± 1)	
	625	35 37 38 (37 ± 2)	4 3 5 (4 ± 1)	23 20 26 (23 ± 3)	9 9 8 (9 ± 1)	1 1 1 (1 ± 0)	
	1250	14 10 12 (12 ± 2)	3 3 1 (2 ± 1)	27 30 23 (27 ± 4)	7 4 2 (4 ± 3)	0 0 2 (1 ± 1)	
	2500	2 3 4 (3 ± 1)	0 3 0 (1 ± 2)	22 19 31 (24 ± 6)	0 0 0 (0 ± 0)	1 0 0 (0 ± 1)	
	5000	0 0 1 (0 ± 1)	0 0 0 (0 ± 0)	26 33 28 (29 ± 4)	0 0 0 (0 ± 0)	0 0 0 (0 ± 0)	
	陽性 対照	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.5	2	40	0.5	2
コロニー数/ プレート		501 523 404 (476 ± 63)	338 342 352 (344 ± 7)	897 890 849 (879 ± 26)	394 420 349 (388 ± 36)	244 275 245 (255 ± 18)	

(): 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める

2-AA: 2-amino anthracen

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

実験Ⅱ. S-9 Mix 非存在下

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照 (DMSO)	95	17	14	18	7
		111	15	11	14	9
		86	10	14	17	7
		(97 ± 13)	(14 ± 4)	(13 ± 2)	(16 ± 2)	(8 ± 1)
	78	92	9	/	15	5
		91	11		15	5
		90	8		17	8
		(91 ± 1)	(9 ± 2)		(16 ± 1)	(6 ± 2)
	156	70	7	/	15	7
		88	8		27	4
99		8	14		5	
	(86 ± 15)	(8 ± 1)		(19 ± 7)	(5 ± 2)	
313	92	6	13	13	9	
	73	3	13	13	4	
	64	5	13	12	4	
	(76 ± 14)	(5 ± 2)	(13 ± 0)	(13 ± 1)	(6 ± 3)	
625	47	1	13	8	4	
	65	5	9	12	4	
	56	3	15	5	6	
	(56 ± 9)	(3 ± 2)	(12 ± 3)	(8 ± 4)	(5 ± 1)	
1250	37	0	10	1	0	
	38	1	18	4	1	
	52	0	5	3	3	
	(42 ± 8)	(0 ± 1)	(11 ± 7)	(3 ± 2)	(1 ± 2)	
2500	22	0	8	4	1	
	24	1	18	4	2	
	20	0	18	1	3	
	(22 ± 2)	(0 ± 1)	(15 ± 6)	(3 ± 2)	(2 ± 1)	
5000	3	0	14	0	0	
	1	0	12	0	0	
	2	0	26	0	1	
	(2 ± 1)	(0 ± 0)	(17 ± 8)	(0 ± 0)	(0 ± 1)	
陽性 対照	名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA
	$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.01	10	0.04	0.1	80
	コロニー数/ プレート	275	3018	202	311	3440
		276	2762	218	314	3263
297		2532	222	262	2805	
(283 ± 12)		(2771 ± 243)	(214 ± 11)	(296 ± 29)	(3169 ± 328)	

():内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * :菌株の生育阻害を認める

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9-AA: 9-aminoacridine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

実験Ⅱ. S-9 Mix 存在下

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
		塩基置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
+	対照 (DMSO)	92 88 94 (91 ± 3)	13 6 11 (10 ± 4)	13 22 27 (21 ± 7)	27 32 27 (29 ± 3)	9 16 13 (13 ± 4)	
	78	72 76 79 (76 ± 4)	8 2 6 (5 ± 3)	/	29 23 24 (25 ± 3)	9 10 3 (7 ± 4)	
	156	76 99 96 (90 ± 13)	4 5 12 (7 ± 4)	/	26 19 21 (22 ± 4)	6 9 5 (7 ± 2)	
	313	91 75 85 (84 ± 8)	6 6 5 (6 ± 1)	19 14 21 (18 ± 4)	21 14 14 (16 ± 4)	2 7 5 (5 ± 3)	
	625	49 38 32 (40 ± 9)	6 2 6 (5 ± 2)	16 10 16 (14 ± 3)	9 13 15 (12 ± 3)	4 4 5 (4 ± 1)	
	1250	11 8 14 (11 ± 3)	3 1 1 (2 ± 1)	22 14 16 (17 ± 4)	5 8 13 (9 ± 4)	0 1 2 (1 ± 1)	
	2500	3 4 4 (4 ± 1)	1 2 0 (1 ± 1)	17 16 22 (18 ± 3)	0 1 1 (1 ± 1)	0 0 0 (0 ± 0)	
	5000	0 0 0 (0 ± 0)	0 0 0 (0 ± 0)	17 21 13 (17 ± 4)	0 0 0 (0 ± 0)	0 0 0 (0 ± 0)	
	陽性 対照	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.5	2	40	0.5	2
コロニー数/ プレート		788 709 658 (718 ± 66)	451 441 1035 (439 ± 14)	956 953 424 (981 ± 47)	543 518 554 (538 ± 18)	237 202 191 (210 ± 24)	

(): 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値

*: 菌株の生育阻害を認める

2-AA: 2-amino anthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

2 回の実験において検体処理群では S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、9-AA では S-9 Mix の添加なしで、2-AA では S9-Mix の添加により復帰変異コロニー数の増加が見られた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

②DNA 損傷誘発性

DPX-A8947 (アジムスルフロン) の細菌を用いた DNA 修復試験(Rec-assay)

(資料18)

試験機関：(財)残留農薬研究所 [GLP対応]

報告書作成年：1990年

検体の純度： %

方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株(H-17、Rec⁺) と欠損株(M-45、Rec⁻) を用い、代謝活性化及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体を溶解させるために、DMSO を用いた。検体の溶解度に基づき、5000 µg/ディスクを最高投与量とし、100、200、500、1000、2000 及び 5000 µg/ディスクの6用量で試験した。

結果： (次頁に示す。)

DNA修復試験成績

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S9 分画(-)			S9 分画(+)		
		阻止帯の径 (mm) *		差	阻止帯の径 (mm) *		差
		M-45	H-17	(mm)	M-45	H-17	(mm)
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0
検 体	100	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0
	200	1	0	1	0	0	0
		1	0	1	0	0	0
	500	1	1	0	0	0	0
		1	0	1	0	0	0
	1000	2	2	0	3	1	2
		2	2	0	3	1	2
	2000	2	2	0	3	3	0
		2	2	0	3	2	1
	5000	3	2	1	4	2	2
		3	3	0	4	2	2
陰性対照 (Kanamycin)	0.1	7	4	3			
		7	4	3			
0.2	7	6	1				
	8	6	2				
陽性対照 (Mitomycin C)	0.005	12	0	12			
		11	0	11			
	0.01	16	0	16			
		16	0	16			
陽性対照 (2-Amino- anthracene)	5	0	0	0	8	0	8
		0	0	0	8	0	8
	20	0	0	0	10	0	10
		0	0	0	10	0	10

* : 生育阻止帯の直径からディスクの直径(8 mm) を引いた値
(各数値は2反復の値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

検体処理群では代謝活性化系の非存在下の 200 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ 以上の用量、また、代謝活性化系の存在下の 1000 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ 以上の用量において、組換修復機構欠損株 (M45) で 1~4 mm、修復機能野生株 (H17) で 1~3 mm の生育阻止帯を誘起した。しかし、最高用量においても両株の生育阻止帯の直径の差は 2 mm 以下であり、陰性対照として用いた Kanamycin と同程度であった。

一方、陽性対照として用いた Mitomycin C は代謝活性化系の非存在下で、2-Aminoanthracene は代謝活性化により組換修復機構の野生株 (H17) に比べ修復機構欠損株 (M45) に著明な生育阻止帯を誘起した。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

③染色体異常誘発性

チャイニーズハムスターの肺由来細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 19)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度： %

方法： チャイニーズハムスターの肺由来の細胞株 CHL を用い、代謝活性化及び非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。

本試験の濃度は、直接法においては 156.3、312.5、625、1250 µg/mL の 4 用量、代謝活性化法においては、312.5、625、1250、2500、5000 µg/mL の 5 用量とした。観察は、1 プレート当たり 100 個の分裂中期像において行い、試験は各群、各濃度とも 2 枚のプレートで行った。

結果： 結果を次表に示す。

S-9 Mix の有無にかかわらず、影響は認められなかった。一方、陽性対照群として用いた MMC では S-9 Mix の添加なしで、[B(a)P] では S-9 Mix の添加で染色体異常の誘発が認められた。

以上の結果より検体は本試験条件下で染色体異常誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理後 時間	観察 細胞 数	S-9 Mix の有無	染色体構造異常細胞出現数									判定
					ギ ヤ ン プ	染色体型			染色体型			その他		
						切断	交換	環	切断	多動 原体	環	断片	断片 化	
無処理	0	24	200	—										—
		48	200	—	1			1						—
溶媒対照 (DMSO)	0	24	200	—	3									—
		48	200	—	1		1							—
アゾムスルホン	156.3	24	200	—	1		1							—
		48	200	—	1	1								—
	312.5	24	200	—	1	1								—
		48	200	—	1							1		—
	625	24	200	—						1	1			—
		48	200	—		1	1							—
	1250	24	200	—						1				—
		48	200	—	1									—
陽性対照 (MMC)	0.4	24	200	—	15	46	51	4		1	1	6		+
		48	200	—	39	111	119	27			3	39	4	+
無処理	0	6-18	200	—	1									—
溶媒対照 (DMSO)	0	6-18	200	—		1								—
アゾムスルホン	312.5	6-18	200	—	1									—
	625	6-18	200	—	2							1		—
	1250	6-18	200	—	1									—
	2500	6-18	200	—	1						1			—
	5000	6-18	200	—	4							1		—
陽性対照 [B(a)P]	37.84	6-18	200	—	1									—
無処理	0	6-18	200	+	1									—
溶媒対照 (DMSO)	0	6-18	200	+	1		2							—
アゾムスルホン	312.5	6-18	200	+			3							—
	625	6-18	200	+			1							—
	1250	6-18	200	+	2		1							—
	2500	6-18	200	+		1	1							—
	5000	6-18	200	+	3		2							—
陽性対照 [B(a)P]	37.84	6-18	200	+	17	23	83	19	1		2	3		+

陽性対照 (MMC) : マイトマイシンC

陽性対照 [B(a)P] : ベンツ(a)ピレン

④小核試験

マウス骨髄を用いた小核試験（資料19-1）

試験機関：マイクロバイオシカール アソシエーツ Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年：1997年

検体純度： %

供試動物：Cr1:CD-1(ICR)BR系マウス

(約6~8週齢、体重 雄 28.8~34.3 g 雌 21.0~26.6 g)

一群雌雄各5匹

試験方法：被験物質を 460, 920, 1840 mg/kg で被験物質-溶媒混合物の総用量 20 mL/kg として単回強制経口投与した。なお、陰性対照群にはコーン油 20 mL/kg、陽性対照群にはシクロフォスファミド 60 mg/kg を同様に投与した。

投与 24、48、72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取した。スライドガラス上にメタノールで固定後、May-Gruenwald-Giemsa 染色し骨髄標本を作製した。

陽性対照群は、24 時間後に動物を屠殺した。

小核の存在について多染性赤血球 2000 個を検査した。多染性赤血球 2000 個中視野内に小核を有する正染性赤血球数を数えた。全赤血球数に対する多染性赤血球の割合についても、赤血球 1000 個当たりについて記録した。

用量設定根拠：

結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

合計で 1840 mg/kg 投与群の雄 20 匹中 4 匹及び雌 20 匹中 3 匹が死亡した。投与後の期間中における臨床症状として、920 及び 1840 mg/kg 群の雌雄において嗜眠、1840 mg/kg 群の雌雄において下痢、並びに 1840 mg/kg 群の雌 1 匹において運動失調が認められた。被験物質及び対照物質を投与したその他全てのマウスは試験期間中正常であった。被験物質投与群における多染性赤血球 1000 個当たりの小核を有する多染性赤血球は、骨髄採取時期に関係なく、雌雄とも統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照であるシクロフォスファミドは、小核を有する多染性赤血球の有意な増加を誘発した。

観察結果

採取時期 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	PCE/ (PCE+NCE) (平均 ±SD)	MNPCE (平均 ±SD)
24	陰性対照 (コーン油)	- *	雄	5	0.50±0.04	0.9±0.22
			雌	5	0.53±0.03	0.9±0.96
	検体	460	雄	5	0.49±0.05	0.5±0.71
			雌	5	0.52±0.06	0.4±0.65
		920	雄	5	0.50±0.07	0.5±0.35
			雌	5	0.53±0.05	1.0±0.61
		1840	雄	5	0.53±0.08	1.3±0.45
			雌	5	0.55±0.02	1.9±0.65
陽性対照 (シクロfosファミ [®])	60	雄	5	0.49±0.04	32.7±5.45 **	
		雌	5	0.46±0.04	30.7±2.64 **	
48	陰性対照 (コーン油)	-	雄	5	0.52±0.04	1.1±0.74
			雌	5	0.49±0.03	0.6±0.22
	検体	1840	雄	5	0.39±0.11	1.1±0.42
			雌	5	0.47±0.05	0.7±0.45
72	陰性対照 (コーン油)	-	雄	5	0.48±0.04	0.9±0.89
			雌	5	0.48±0.06	0.9±0.42
	検体	1840	雄	5	0.46±0.03	0.6±0.42
			雌	5	0.50±0.09	0.6±0.65

* 20 mL/kg

PCE : 多染性赤血球

NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球

** 統計学的解析 : Kestenbaum-Bowman の方法を用いた。 P ≤ 0.05

結論 : 以上の結果から、アジムスルフロンは骨髄における多染性赤血球の出現頻度に有意な増加を誘発せず、Cr1:CD-1 (ICR)BR 系マウス雌雄を用いた小核試験において陰性であると判断された。

(10) 生体機能影響

DPX-A8947 (アジムスルフロン) : 生体の機能に及ぼす影響に関する試験 (資料 20)

試験機関: (財) 残留農薬研究所

報告年月日: 1993年

検体の純度: %

①一般症状及び行動に対する作用

i) 雌雄マウスの一般症状

供試動物: ICR系マウス 1群雌雄各3匹 (8週齢)
体重: 雄 32.8~38.9 g、雌 26.7~31.4 g

方法: 検体を Tween 80 水溶液に懸濁し、0、19.5、78.1、313、1250 及び 5000 mg/kg で一回腹腔内投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。Irwin 法に従い、投与当日は投与前、投与後 0.5、1、3、6 時間、翌日以降は 1 日 1 回、7 日目まで観察を行った。

結果: 雌雄マウスとも、1250 mg/kg 以上の用量を投与すると、認知力の低下、運動性の低下、中枢興奮、姿勢の異常、運動失調、筋緊張の低下、反射の低下、自律神経系の異常、死亡が認められた。これらの異常症状は投与後 0.5 時間以降に認められた。雌雄マウスとも 5000 mg/kg 群の全例が投与後 3 時間以内に死亡した。また、1250 mg/kg 群に見られた異常症状は投与後 1 日以内に消失した。313 mg/kg 以下の群には、検体投与によると思われる異常は認められなかった。

ii) 雄ウサギの一般症状

供試動物: 日本白色種雄ウサギ 1群3匹 (11週齢)
(体重: 2.49~2.85 kg)

方法: 検体を Tween 80 水溶液に懸濁し、0、313、1250 及び 5000 mg/kg の用量を無麻酔下で強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般症状の多元観察を、投与当日には投与前、投与後 0.5、1、3、6 時間、翌日以降は 1 日 1 回、12 日目まで行った。

結 果： 雄ウサギに 5000 mg/kg の用量を投与すると、行動と自律神経系項目（自発運動の低下、呼吸数と心拍数の減少）に異常症状が認められた。これらの異常症状は投与後 5 日以降に認められた。5000 mg/kg 群の 1 例は投与後 6 日目に死亡した。1250 mg/kg 以下の用量群には、検体によると思われる明確な異常は認められなかった。

②呼吸・循環器系に対する作用

i) 雄ウサギの呼吸、血圧、心電図、心拍数に対する作用

供 試 動 物： 日本白色種雄ウサギ 1 群 3 匹 (11 週齢)
(体重：2.00～2.78 kg)

方 法： 検体を Tween 80 水溶液に懸濁し、0、313、1250 及び 5000 mg/kg の用量を無麻酔下で経口投与し、呼吸、血圧、心電図、心拍数を測定した。測定は投与前、投与後 0.5、1、3、6 時間及び 1 日日に行った。

結 果： 1250 mg/kg 以上の用量群において、投与後数時間以降に呼吸数の減少が観察された。また、5000 mg/kg 群において投与後 1 日目に僅かな血圧の低下が見られた。心拍数には検体によると思われる変化は認められなかった。

③血液に対する作用

i) 雄ウサギの血液（溶血と凝固）に対する作用

供 試 動 物： 日本白色種雄ウサギ 1 群 3 匹 (11 週齢)
(体重：2.52～2.86 kg)

方 法： 検体を Tween 80 水溶液に懸濁し、0、313、1250 及び 5000 mg/kg の用量を無麻酔下で経口投与し、血液（溶血と凝固）に対する影響を調べた。溶血の指標として血漿ヘモグロビン(Hb)濃度を、凝固の指標としてプロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。投与後 1 日目と 5 日目にウサギの血液を心臓から採取した。

結 果： 5000 mg/kg の用量を投与しても、血漿ヘモグロビン濃度、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間には明確な変化は認められなかった。

試験項目 (試験動物)	試験経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 / 1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般症状・ Irwin 法 (マウス)	腹腔内 (Tween 80 水溶液)	0、 19.5、 78.1、 313、 1250、 5000	雌雄 各 3	313	1250	○313 mg/kg 以下:影響なし ○1250、5000 mg/kg: 認知力低下、運動性低下、 中枢興奮、姿勢異常、 運動失調、筋緊張低下、 反射低下、自律神経系 の異常 5000 mg/kg で全例が死亡
一般症状・ 多元観察 (ウサギ)	経口 (Tween 80 水溶液 無麻酔下)	0、 313、 1250、	雄 3 5000	1250	5000	○1250 mg/kg 以下: 影響なし ○5000 mg/kg: 自発運動低下、 呼吸数と心拍数の減少 3 例中 1 例死亡
呼吸・ 循環器系 呼吸・血圧 心電図・ 心拍数・ (ウサギ)		0、 313、 1250、 5000	雄 3	313	1250	○ 313 mg/kg:影響なし ○1250 mg/kg:呼吸数減少 ○5000mg/kg:呼吸数減少、 血圧低下
血液 溶血・凝固 (ウサギ)		0、 313、 1250、 5000	雄 3	5000	5000	5000 mg/kg まで 影響なし

本検体を雌雄マウスに 1250 mg/kg 以上、雄ウサギに 5000 mg/kg の用量で投与すると、非特異的な抑制を示唆する異常症状が観察された。各動物種において異常症状の大部分は致死用量である 5000 mg/kg 投与群に発現し、マウスの 1250 mg/kg 投与群に発現した異常症状は投与後 1 日以内に消失した。従って検体による異常症状は致死用量付近傍の用量で発現し、可逆であることを示唆していた。

ウサギに致死用量である 5000 mg/kg を無麻酔で強制経口投与すると、呼吸数の減少と血圧低下を示した。血漿ヘモグロビン濃度、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間には、本剤の急性毒性を説明できるような変化は認められなかった。

2. 原体混在物及び代謝物の毒性

(1) 代謝物の急性毒性

- ① (動物・植物・土壌代謝物、代謝物) のラットにおける急性経口毒性試験
(資料 21-1)

試験機関：米国デュポン社ハスケル研究所
[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度： %

試験動物： Cr1:CD[®]系ラット (雌雄 7週齢) 1群雌雄各 5匹
試験開始時の平均体重—雄:227 g(218~235 g), 雌:165 g(153~175 g)

試験期間： 14日間観察

方法： 検体をコーンオイルに懸濁し、投与 18時間前より投与後 4時間後まで絶食させた動物に、1回強制経口投与した。投与容量は 10 ml/kg とした。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14日間 (投与日は 1日 3回, 以後最低 1日 1回) 観察した。体重は毎日測定した。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。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間 及び終了時間	なし
症状発現及び 消失時期	1日

5000 mg/kg 群の雌雄のそれぞれ 1例に会陰部被毛の黄色汚染が認められた。それ以外に中毒症状は認められず、剖検でも異常は認められなかった。

② (原体混在物及び動物・植物・土壌代謝物、代謝物) の
 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 21-2)

試験機関：米国デュポン社ハスケル研究所
 [GLP対応]

報告書作成年：1994年7月14日

検体の純度： %

試験動物：Cr1:CD①系ラット (雄 7 週齢、雌 6 週齢) 1 群雌雄各 10 匹
 試験開始時の平均体重—雄:235 g(214~253 g), 雌:169 g(160~183 g)

試験期間：14日間観察

方法：検体をコーンオイルに懸濁し、投与前 24 時間より投与 4 時間後まで絶食させた動物に、1 回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間 (投与日は頻繁に、以後最低 1 日 1 回) 観察した。体重は毎日測定した。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。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 1000, 2500, 5000
LD ₅₀ (mg/kg) [95%信頼性限界]	雄 3040[1940~5670] 雌 2850[1950~3890]
死亡開始時間 及び終了時間	投与後 2~13 日目
症状発現及び 消失時期	1~15 日

雌雄のラットで認められた中毒症状は、嗜眠、うずくまり姿勢、ほふく、流涎、立毛、陰茎の分泌物、会陰部の被毛の汚れ、眼及び口の分泌物、半眼、鼻の分泌物、背中を丸めた状態、高腰、虚脱、胸部の黒色の汚れ、腹部の汚れ、下半身の脱毛、瀕死状態、下痢、膣口からの赤色分泌物 (雌 1 匹のみ)、眼の混濁、衰弱、被毛の乱れ、顔面の汚れ、鼻の汚れ、足底の汚れであった。ラットの肉眼的病理検査の結果、認められた所見は偶発的もしくは非特異的なものであった。

③ (原体混在物及び動物・植物・土壌代謝物、代謝物) の
 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 21-3)

試験機関：米国デュボン社ハスケル研究所
 [GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度： %

試験動物：Cr1:CD⁰系ラット (雄 7 週齢、雌 6 週齢) 1 群雌雄各 10 匹
 試験開始時の平均体重－雄:227 g(204～246 g), 雌:159 g(146～171 g)

試験期間：14 日間観察

方法：検体をコーンオイルに懸濁し、投与 18～20 時間前より投与 3.5～4 時間後まで絶食させた動物に、1 回強制経口投与した。投与容量は 10 ml/kg とした。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間 (投与日は頻繁に、以後最低 1 日 1 回) 観察した。体重は毎日測定した。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。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 1000, 2000, 2500 雌 500, 1000, 2000
LD ₅₀ (mg/kg) [95%信頼性限界]	雄 1510[670～2200] 雌 920[680～1240]
死亡開始時間 及び終了時間	投与後 1～2 日目
症状発現及び 消失時期	1～15 日

雌雄のラットで中毒症状として最も頻繁に認められたのは、嗜眠、うずくまり姿勢、ほふく、流涎、眼及び口の分泌物、ならびに半眼であった。その他の毒性症状として、鼻の分泌物、背中を丸めた状態、瀕死状態及び下痢が認められた。肉眼的病理検査で認められた所見は偶発的もしくは非特異的なものであり、検体投与によるものではなかった。

(2) 代謝物の遺伝子突然変異原性

①-1 JJ999 (動物・植物・土壌代謝物、代謝物Ⅱ) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 21-4-1)

試験機関：米國デュポン社ハスケル研究所

[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度： 93.2%

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA97 及び TA98 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*(pKM101)株) を用い、薬物代謝酵素系(S-9)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

溶媒には滅菌水を用いた。試験は2回実施した。

試験濃度(μg/プレート)：5000, 2500, 1000, 500, 100, 50, 10, 0 (溶媒対照)

結果： (次頁に示す。)

実験 I. S-9 Mix 非存在下

S-9 Mix の有無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
		塩基置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> Δ	TA97	TA98	
対 照 (H_2O)		115	9	165	94	21	
		87	13	162	109	22	
		110	13	164	95	15	
		(104 ± 15)	(12 ± 2)	(164 ± 2)	(99 ± 8)	(19 ± 4)	
	10		91	6	162	121	16
			81	9	159	112	23
			119	10	174	108	22
		(97 ± 20)	(8 ± 2)	(165 ± 8)	(114 ± 7)	(20 ± 4)	
	50		104	8	158	107	17
		102	17	184	99	15	
		100	13	165	127	8	
	(102 ± 2)	(13 ± 5)	(169 ± 13)	(111 ± 14)	(13 ± 5)		
100		83	10	167	148	11	
		104	6	183	127	16	
		97	8	152	104	19	
	(95 ± 11)	(8 ± 2)	(167 ± 16)	(126 ± 22)	(15 ± 4)		
500		121	6	175	128	13	
		71	12	175	143	15	
		101	18	139	116	20	
	(98 ± 25)	(12 ± 6)	(163 ± 21)	(129 ± 14)	(16 ± 4)		
1000		109	12	187	105	21	
		107	11	137	110	20	
		108	12	148	131	19	
	(108 ± 1)	(12 ± 1)	(157 ± 26)	(115 ± 14)	(20 ± 1)		
2500		89	9	181	131	20	
		104	14	130	97	18	
		90	12	142	117	16	
	(94 ± 8)	(12 ± 3)	(151 ± 27)	(115 ± 17)	(18 ± 2)		
5000		89	18	178	97	20	
		98	9	152	118	19	
		80	13	158	116	11	
	(89 ± 9)	(13 ± 5)	(163 ± 14)	(110 ± 12)	(17 ± 5)		
陽 性 対 照	名 称	NAAZ	NAAZ	MMS	ICR191	2NF	
	$\mu\text{g}/\text{プレート}$	2	2	1000	2	25	
	コロニー数/ プレート	533	516	1120	966	1095	
		604	500	1093	923	1217	
	565	517	1022	994	1106		
	(567 ± 36)	(511 ± 10)	(1078 ± 51)	(961 ± 36)	(1139 ± 67)		

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める

NAAZ : Sodium azide

MMS : methyl methane sulfonate

ICR191: ICR-191 acridine

2NF : 2-nitrofluorene

☆ : (pKM101)

実験 I. S-9 Mix 存在下

S-9 Mix の有無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> Δ	TA97	TA98
+	対 照 (H_2O)	123 112 120 (118 ± 6)	16 11 17 (15 ± 3)	170 161 163 (165 ± 5)	121 119 120 (120 ± 1)	15 21 25 (20 ± 5)
	10	102 101 134 (112 ± 19)	8 11 11 (10 ± 2)	165 180 184 (176 ± 10)	130 134 123 (129 ± 6)	25 28 24 (26 ± 2)
	50	114 127 117 (119 ± 7)	9 16 11 (12 ± 4)	160 171 171 (167 ± 6)	140 119 115 (125 ± 13)	11 28 18 (19 ± 9)
	100	100 135 119 (118 ± 18)	15 13 11 (13 ± 2)	178 191 190 (186 ± 7)	115 147 109 (124 ± 20)	23 30 18 (24 ± 6)
	500	115 124 143 (127 ± 14)	11 21 13 (15 ± 5)	175 156 168 (166 ± 10)	135 121 128 (128 ± 7)	12 30 16 (19 ± 9)
	1000	135 113 132 (127 ± 12)	14 14 13 (14 ± 1)	172 196 162 (177 ± 17)	136 133 125 (131 ± 6)	29 21 22 (24 ± 4)
	2500	107 122 105 (111 ± 9)	15 12 17 (15 ± 3)	174 188 181 (181 ± 7)	138 118 127 (128 ± 10)	20 24 15 (20 ± 5)
	5000	124 121 118 (121 ± 3)	14 9 12 (12 ± 3)	167 161 184 (171 ± 12)	93 114 117 (108 ± 13)	18 15 24 (19 ± 5)
	陽性 対 照	名 称	2AA	2AA	2AA	2AA
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		1	2	25	1	2
コロニー数/ プレート		866 1022 966 (951 ± 79)	394 357 350 (367 ± 24)	1088 963 837 (963 ± 126)	866 848 924 (879 ± 40)	1292 1078 1470 (1280 ± 196)

(): 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める
 2AA: 2-aminoanthracene ☆: (pKM101)

実験Ⅱ. S-9 Mix 非存在下

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> ☆	TA97	TA98
-	対照 (H_2O)	89 95 99 (94 ± 5)	23 12 18 (18 ± 6)	160 142 140 (147 ± 11)	108 109 126 (114 ± 10)	15 19 17 (17 ± 2)
	10	76 74 75 (75 ± 1)	17 11 15 (14 ± 3)	160 138 147 (148 ± 11)	127 107 113 (116 ± 10)	20 21 17 (19 ± 2)
	50	69 82 69 (73 ± 8)	14 12 13 (13 ± 1)	107 112 124 (114 ± 9)	122 121 103 (115 ± 11)	22 19 21 (21 ± 2)
	100	45 51 70 (55 ± 13)	8 10 11 (10 ± 2)	76 78 81 (78 ± 3)	90 128 128 (115 ± 22)	17 15 13 (15 ± 2)
	500	56 71 54 (60 ± 9)	12 10 11 (11 ± 1)	64 53 60 (59 ± 6)	118 107 126 (117 ± 10)	15 16 18 (16 ± 2)
	1000	60 66 68 (65 ± 4)	9 13 12 (11 ± 2)	155 140 140 (145 ± 9)	108 103 118 (110 ± 8)	14 23 14 (17 ± 5)
	2500	79 54 56 (63 ± 14)	15 14 13 (14 ± 1)	131 146 145 (141 ± 8)	108 104 124 (112 ± 11)	11 11 16 (13 ± 3)
	5000	61 55 92 (69 ± 20)	10 9 8 (9 ± 1)	101 114 112 (109 ± 7)	88 94 103 (95 ± 8)	13 17 16 (15 ± 2)
	陽性 対照	名称	NAAZ	NAAZ	MMS	ICR191
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		2	2	1000	2	25
コロニー数/ プレート		568 588 681 (612 ± 60)	311 300 312 (308 ± 7)	1121 1111 1092 (1108 ± 15)	1338 1087 1319 (1248 ± 140)	1095 1037 1203 (1112 ± 84)

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める

NAAZ : Sodium azide

MMS: methyl methane sulfonate

ICR191: ICR-191 acridine

2NF: 2-nitrofluorene ☆: (pKM101)

実験Ⅱ. S-9 Mix 存在下

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> Δ	TA97	TA98
+	対照 (H_2O)	97 99 103 (100 ± 3)	15 15 15 (15 ± 0)	194 193 189 (192 ± 3)	90 111 130 (110 ± 20)	16 21 25 (21 ± 5)
	10	91 93 97 (94 ± 3)	14 13 18 (15 ± 3)	225 201 199 (208 ± 14)	115 119 104 (113 ± 8)	14 24 25 (21 ± 6)
	50	85 111 92 (96 ± 13)	15 16 18 (16 ± 2)	194 187 179 (187 ± 8)	104 104 88 (99 ± 9)	16 26 24 (22 ± 5)
	100	90 87 90 (89 ± 2)	14 17 13 (15 ± 2)	209 186 165 (187 ± 22)	92 127 102 (107 ± 18)	24 28 23 (25 ± 3)
	500	92 97 95 (95 ± 3)	21 16 22 (20 ± 3)	192 221 201 (205 ± 15)	118 110 91 (106 ± 14)	24 23 22 (23 ± 1)
	1000	116 109 107 (111 ± 5)	14 19 21 (18 ± 4)	181 178 210 (190 ± 18)	120 114 105 (113 ± 8)	21 22 16 (20 ± 3)
	2500	94 117 105 (105 ± 12)	16 14 18 (16 ± 2)	218 169 187 (191 ± 25)	119 105 107 (110 ± 8)	24 22 21 (22 ± 2)
	5000	122 103 96 (107 ± 13)	17 16 15 (16 ± 1)	145 184 190 (173 ± 24)	87 107 114 (103 ± 14)	19 15 15 (16 ± 2)
	陽性 対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		1	2	25	1	2
コロニー数/ プレート		759 762 723 (748 ± 22)	207 206 306 (240 ± 57)	676 744 780 (733 ± 53)	623 623 649 (632 ± 15)	324 303 324 (317 ± 12)

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める
2AA: 2-aminoanthracene ☆ : (pKM101)

2回の試験において検体ではS-9 Mixの有無にかかわらず最高用量においても、いずれの菌株においても、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NAAZ, MMS, ICR191及び2NFでは薬物代謝酵素系の非存在下で、又、2-AAでは薬物代謝酵素系の存在下で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、代謝活性化系を含む本試験条件下で検体は復帰変異誘発性を有しないと判断される。

①-2 (動物・植物・土壌代謝物、代謝物)

の大腸菌を用いた復帰変異試験(確認試験) (資料 21-4-2)

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度： %

試験実施理由： 代謝物 ()を用いて先に実施した4種の細菌を用いた復帰変異試験(資料 21-4-1)においては、試験を実験Ⅰ及びⅡの合計2回行った。その結果、実験Ⅱの大腸菌 WP2 *uvrA*(pKM101)株の S-9 Mix 非存在下、100 及び 500 µg/プレート の用量で生育阻害及び復帰変異コロニー数の減少が認められたため、確認試験を実施した。

方法： トリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*(pKM101)株)を用い、薬物代謝酵素系(S-9)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒には滅菌水を用いた。

試験濃度 (µg/プレート) :

予備試験 ;

(溶媒対照)

本試験 ; 5000, 2500, 1000, 500, 100, 50, 10, 0 (溶媒対照)

結果： 結果は次頁に示す。

試験実施理由に記載した、先に実施した試験で認められたような生育阻害及び復帰変異コロニー数の減少は 及び µg/プレートの用量を含め、いずれの用量でも認められなかった。また、薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加はいずれの用量においても認められなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2 及び 2-AA では明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は薬物代謝酵素系を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有さないと判断される。

復帰変異試験成績 大腸菌 WP2uvrA(pKM101 株)

濃 度 (μg /プレート)		復帰変異コロニー数/プレート	
		塩基対置換型: WP2uvrA(pKM101 株)	
		S9 Mix(-)	S9 Mix(+)
対 照 (H ₂ O)		111	134
		98	127
		102	135
		(104 \pm 7)	(132 \pm 4)
100		84	120
		103	128
		96	127
		(94 \pm 10)	(125 \pm 4)
500		98	134
		78	134
		108	159
		(95 \pm 15)	(142 \pm 14)
100		107	138
		115	101
		143	142
		(122 \pm 19)	(127 \pm 23)
500		107	140
		113	123
		103	130
		(108 \pm 5)	(131 \pm 9)
1000		100	139
		130	146
		109	145
		(113 \pm 15)	(143 \pm 4)
2500		93	122
		134	127
		143	151
		(123 \pm 27)	(133 \pm 16)
5000		111	144
		115	139
		119	142
		(115 \pm 4)	(142 \pm 3)
陽 性 対 照	名 称	AF-2	2-AA
	μg /プレート	0.005	2
	コロニー数	903	1001
	/プレート	1107 958 (989 \pm 106)	955 1117 (1024 \pm 83)

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値

予備試験成績 大腸菌 WP2uvrA(pKM101 株)

濃 度 (μg /プレート)		復帰変異コロニー数/プレート	
		塩基対置換型 : WP2uvrA(pKM101 株)	
		S9 Mix(-)	S9 Mix(+)
		(160)	(151)
陽 性 対 照	名 称		
	μg /プレート		
	コロニー数/ プレート		

() : 内の数値は平均値

② (原体混在物及び動物・植物・土壌代謝物、代謝物) の
細菌を用いた復帰変異試験 (資料 21-5)

試験機関：米国デュポン社ハスケル研究所
[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度： %

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA97 及び TA98 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*(pKM101)株) を用い、薬物代謝酵素系(S-9)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。
溶媒には DMSO を用いた。試験は 2 回実施した。
試験濃度(μg/プレート)：5000, 2500, 1000, 500, 100, 50, 10, 0 (溶媒対照)

結果： (次頁に示す。)

実験 I. S-9 Mix 非存在下

()

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> Δ	TA97	TA98
	対照 (DMSO)	88 93 91 (91 ± 3)	14 14 12 (13 ± 1)	145 157 161 (154 ± 8)	88 91 80 (86 ± 6)	25 30 26 (27 ± 3)
	10	105 126 76 (102 ±25)	8 13 14 (12 ± 3)	144 122 142 (136 ±12)	88 88 94 (90 ± 3)	20 19 35 (25 ± 9)
	50	100 104 95 (100 ± 5)	12 11 4 (9 ± 4)	118 141 120 (126 ±13)	87 116 71 (91 ±23)	9 18 21 (16 ± 6)
	100	131 87 126 (115 ±24)	9 18 12 (13 ± 5)	104 149 136 (130 ±23)	81 87 98 (89 ± 9)	24 20 24 (23 ± 2)
	500	131 114 97 (114 ±17)	12 11 11 (11 ± 1)	120 162 124 (135 ±23)	78 92 67 (79 ±13)	15 19 29 (21 ± 7)
	1000	116 102 129 (116 ±14)	14 12 8 (11 ± 3)	107 110 132 (116 ±14)	97 86 73 (85 ±12)	25 29 21 (25 ± 4)
	2500	111 124 117 (117 ± 7)	16 12 17 (15 ± 3)	135 136 128 (133 ± 4)	95 88 85 (89 ± 5)	22 28 25 (25 ± 3)
	5000	111 89 98 (99 ±11)	19 15 19 (18 ± 2)	155 140 134 (143 ±11)	114 85 81 (93 ±18)	24 21 23 (23 ± 2)
	陽性 対照	名称	NAAZ	NAAZ	MMS	ICR191
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		2	2	1000	2	25
コロニー数/ プレート		537 512 483 (511 ±27)	225 206 242 (224 ± 18)	864 891 886 (880 ±14)	907 944 970 (940 ± 32)	920 600 657 (726 ±171)

() : 内の数値は平均値±標準偏差値

* : 菌株の生育阻害を認める

NAAZ : Sodium azide

MMS: methyl methane sulfonate

ICR191: ICR-191 acridine

2NF: 2-nitrofluorene ☆: (pKM101)

実験 I. S-9 Mix 存在下

()

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> Δ	TA97	TA98
+	対照 (DMSO)	107 98 103 (102 ± 6)	16 15 22 (18 ± 4)	140 172 154 (155 ±16)	94 98 94 (95 ± 2)	22 26 16 (21 ± 5)
	10	113 99 121 (111 ±11)	18 12 9 (13 ± 5)	151 159 135 (148 ±12)	125 103 108 (112 ±12)	26 15 28 (23 ± 7)
	50	100 119 118 (112 ±11)	12 15 13 (13 ± 2)	164 150 166 (160 ± 9)	85 100 113 (99 ±14)	22 18 23 (21 ± 3)
	100	110 114 119 (114 ± 5)	9 25 7 (14 ±10)	170 178 162 (170 ± 8)	95 105 111 (104 ± 8)	20 18 29 (22 ± 6)
	500	153 125 135 (138 ±14)	13 11 14 (13 ± 2)	154 163 166 (161 ± 6)	104 95 82 (94 ±11)	16 24 18 (19 ± 4)
	1000	134 135 129 (133 ± 3)	18 17 13 (16 ± 3)	173 172 163 (169 ± 6)	98 92 123 (104 ±16)	19 18 10 (16 ± 5)
	2500	137 128 125 (130 ± 6)	10 9 8 (9 ± 1)	183 167 149 (166 ±17)	95 101 100 (99 ± 3)	13 16 16 (15 ± 2)
	5000	124 129 121 (125 ± 4)	16 5 12 (11 ± 6)	180 155 175 (170 ±13)	109 102 113 (108 ± 6)	28 11 8 (16 ±11)
	陽性 対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		1	2	25	1	2
コロニー数/ プレート		897 1026 899 (941 ±74)	265 308 261 (278 ± 26)	1116 909 1073 (1033 ±109)	572 482 550 (535 ± 47)	1767 1589 1784 (1713 ±108)

() : 内の数値は平均値±標準偏差値

* : 菌株の生育阻害を認める

2AA : 2-aminoanthracene

☆ : (pKM101)

実験II. S-9 Mix 非存在下

()

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> 株	TA97	TA98
	対照 (DMSO)	129	17	155	94	17
		118	15	161	70	17
		120	14	186	84	16
		(122 ± 6)	(15 ± 2)	(167 ± 16)	(83 ± 12)	(17 ± 1)
	10	104	14	164	102	28
		114	7	183	74	22
		142	13	168	74	22
		(120 ± 20)	(11 ± 4)	(172 ± 10)	(83 ± 16)	(24 ± 3)
	50	125	14	151	75	18
126		8	169	106	23	
138		7	170	68	20	
	(130 ± 7)	(10 ± 4)	(163 ± 11)	(83 ± 20)	(20 ± 3)	
100	107	14	157	73	18	
	107	10	155	87	15	
	115	15	153	78	16	
	(110 ± 5)	(13 ± 3)	(155 ± 2)	(79 ± 7)	(16 ± 2)	
500	113	18	186	85	14	
	123	9	180	83	22	
	108	10	186	80	16	
	(115 ± 8)	(12 ± 5)	(184 ± 3)	(83 ± 3)	(17 ± 4)	
1000	97	12	186	70	26	
	114	11	189	75	10	
	126	12	149	87	19	
	(112 ± 15)	(12 ± 1)	(175 ± 22)	(77 ± 9)	(18 ± 8)	
2500	103	18	160	64	19	
	86	18	155	100	16	
	99	18	163	99	19	
	(96 ± 9)	(18 ± 0)	(159 ± 4)	(88 ± 21)	(18 ± 2)	
5000	125	12	150	100	14	
	108	18	170	76	17	
	109	18	157	89	22	
	(114 ± 10)	(16 ± 3)	(159 ± 10)	(88 ± 12)	(18 ± 4)	
陽性 対照	名称	NAAZ	NAAZ	MMS	ICR191	2NF
	$\mu\text{g}/\text{プレート}$	2	2	1000	2	25
	コロニー数/ プレート	1069	860	1028	834	1182
		994	951	1093	914	1115
	1145	1066	981	1057	1285	
	(1069 ± 76)	(959 ± 103)	(1034 ± 56)	(935 ± 113)	(1194 ± 86)	

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める

NAAZ : Sodium azide

MMS: methyl methane sulfonate

ICR191: ICR-191 acridine

2NF: 2-nitrofluorene ☆: (pKM101)

実験Ⅱ. S-9 Mix 存在下

S-9 Mix の有無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> 株	TA97	TA98
+	対 照 (DMSO)	119 117 127 (121 ± 5)	20 18 18 (19 ± 1)	189 176 180 (182 ± 7)	105 102 87 (98 ± 10)	32 32 31 (32 ± 1)
	10	108 112 129 (116 ± 11)	13 19 16 (16 ± 3)	188 189 166 (181 ± 13)	91 112 110 (104 ± 12)	37 39 22 (33 ± 9)
	50	127 120 97 (115 ± 16)	8 8 11 (9 ± 2)	184 205 194 (144 ± 11)	117 124 105 (115 ± 10)	27 25 31 (28 ± 3)
	100	94 145 127 (122 ± 26)	18 20 11 (16 ± 5)	199 186 194 (193 ± 7)	140 105 90 (112 ± 26)	32 18 23 (24 ± 7)
	500	131 112 121 (121 ± 10)	21 14 13 (16 ± 4)	152 169 185 (169 ± 17)	109 120 110 (113 ± 6)	33 17 16 (22 ± 10)
	1000	130 106 105 (114 ± 14)	13 12 10 (12 ± 2)	133 195 188 (172 ± 34)	94 98 86 (93 ± 6)	26 35 25 (29 ± 6)
	2500	112 123 110 (115 ± 7)	9 13 11 (11 ± 2)	193 187 197 (192 ± 5)	97 98 83 (93 ± 8)	34 28 27 (30 ± 4)
	5000	101 122 110 (111 ± 11)	19 17 9 (15 ± 5)	142 188 175 (168 ± 24)	129 109 111 (116 ± 11)	25 31 23 (26 ± 4)
	陽 性 対 照	名 称	2AA	2AA	2AA	2AA
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		1	2	25	1	2
コロニー数/ プレート		1640 1427 1608 (1558 ± 115)	1642 1488 1453 (1528 ± 101)	1096 776 996 (956 ± 164)	1388 1503 1240 (1377 ± 132)	1581 899 1328 (1269 ± 345)

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値

* : 菌株の生育阻害を認める

2AA: 2-aminoanthracene

☆: (pKM101)

2回の試験において検体では S-9 Mix の有無にかかわらず最高用量 (5000 µg/プレート)においても、いずれの菌株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 NAAZ, MMS, ICR191 及び 2NF では薬物代謝酵素系の非存在下で、又、2-AA では薬物代謝酵素系の存在下で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、代謝活性化系を含む本試験条件下での検体の復帰変異誘発性は陰性であると判断される。

- ③ (原体混在物及び動物・植物・土壌代謝物、代謝物) の
細菌を用いた復帰変異試験 (資料 21-6)

試験機関：米国デュポン社ハスケル研究所
[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度： %

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA97 及び TA98 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*(pKM101)株) を用い、薬物代謝酵素系(S-9)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒には DMSO を用いた。試験は、2 回実施した。
試験濃度(μg/プレート)：5000, 2500, 1000, 500, 100, 50, 10, 0 (溶媒対照)

結果： (次頁に示す。)

実験 I. S-9 Mix 非存在下

()

S-9 Mix の有無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> ☆	TA97	TA98
	対 照 (DMSO)	148 127 147 (141 ± 12)	16 20 20 (19 ± 2)	154 140 169 (154 ± 15)	139 141 133 (138 ± 4)	13 14 17 (15 ± 2)
	10	117 144 142 (134 ± 15)	12 18 12 (14 ± 3)	146 133 134 (138 ± 7)	128 120 131 (126 ± 6)	20 11 15 (15 ± 5)
	50	134 137 139 (137 ± 3)	11 11 11 (11 ± 0)	141 143 142 (142 ± 1)	190 115 141 (149 ± 38)	14 12 11 (12 ± 2)
	100	148 133 148 (143 ± 9)	11 15 16 (14 ± 3)	134 123 162 (140 ± 20)	164 154 139 (152 ± 13)	10 11 15 (12 ± 3)
	500	156 144 163 (154 ± 10)	11 12 13 (12 ± 1)	138 146 152 (145 ± 7)	148 114 188 (150 ± 37)	15 10 15 (13 ± 3)
	1000	126 144 141 (137 ± 10)	16 12 13 (14 ± 2)	157 159 163 (160 ± 3)	126 190 163 (160 ± 32)	15 14 22 (17 ± 4)
	2500	152 146 138 (145 ± 7)	7 10 9 (9 ± 2)	153 142 146 (147 ± 6)	127 117 134 (126 ± 9)	12 14 16 (14 ± 2)
	5000	104 165 130 (133 ± 31)	12 9 14 (12 ± 3)	118 140 104 (121 ± 18)	98 115 127 (113 ± 15)	16 15 12 (14 ± 2)
	陽性 対照	名 称	NAAZ	NAAZ	MMS	ICR191
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		2	2	1000	2	25
コロニー数/ プレート		541 530 575 (549 ± 23)	327 313 331 (324 ± 9)	1087 1218 1164 (1156 166)	829 745 734 (769 ± 52)	545 586 531 (554 ± 29)

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める

NAAZ : Sodium azide

MMS: methyl methane sulfonate

ICR191: ICR-191 acridine

2NF: 2-nitrofluorene ☆: (pKM101)

実験 I. S-9 Mix 存在下

()

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> Δ	TA97	TA98
+	対照 (DMSO)	141 137 169 (149 ±17)	48 37 43 (43 ±6)	178 152 170 (167 ±13)	117 155 167 (146 ±26)	27 24 25 (25 ±2)
	10	148 139 119 (135 ±15)	44 38 43 (42 ±3)	148 188 169 (168 ±20)	163 129 112 (135 ±26)	16 18 21 (18 ±3)
	50	138 164 155 (152 ±13)	52 52 47 (50 ±3)	150 144 163 (152 ±10)	140 155 182 (159 ±21)	21 25 21 (22 ±2)
	100	131 158 152 (147 ±14)	54 43 53 (50 ±6)	160 181 148 (163 ±17)	136 128 113 (126 ±12)	20 22 21 (21 ±1)
	500	147 171 154 (157 ±12)	41 45 40 (42 ±3)	171 183 154 (169 ±15)	117 105 160 (127 ±29)	23 17 18 (19 ±3)
	1000	132 138 144 (138 ±6)	56 51 51 (53 ±3)	153 162 185 (167 ±17)	171 126 116 (138 ±29)	21 17 27 (22 ±5)
	2500	147 140 166 (151 ±13)	43 35 28 (35 ±8)	194 142 140 (159 ±31)	183 174 196 (184 ±11)	23 24 27 (25 ±2)
	5000	132 147 163 (147 ±16)	25 27 26 (26 ±1)	134 94 89 (106 ±25)	174 169 119 (154 ±30)	17 18 16 (17 ±1)
	陽性 対照	名称	2AA	2AA	2AA	2AA
$\mu\text{g}/\text{プレート}$		1	2	25	1	2
コロニー数/ プレート		836 947 839 (874 ±63)	588 600 572 (587 ±14)	679 705 694 (693 ±13)	1070 1176 1221 (1156 ±78)	838 815 986 (880 ±93)

() : 内の数値は平均値±標準偏差値 * : 菌株の生育阻害を認める

2AA: 2-aminoanthracene

☆: (pKM101)

実験Ⅱ. S-9 Mix 非存在下

()

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> ☆	TA97	TA98
	対照 (DMSO)	102 97 95 (98 ± 4)	14 17 10 (14 ± 4)	91 99 115 (102 ± 12)	183 158 143 (161 ± 20)	20 22 21 (21 ± 1)
	10	90 93 97 (93 ± 4)	10 12 5 (9 ± 4)	93 108 88 (96 ± 10)	144 131 147 (141 ± 9)	19 17 14 (17 ± 3)
	50	114 112 100 (109 ± 8)	8 16 8 (11 ± 5)	96 97 96 (96 ± 1)	143 137 155 (145 ± 9)	15 21 16 (17 ± 3)
	100	115 109 102 (109 ± 7)	5 8 8 (7 ± 2)	90 101 93 (95 ± 6)	151 139 144 (145 ± 6)	20 18 19 (19 ± 1)
	500	91 105 83 (93 ± 11)	8 12 18 (13 ± 5)	108 104 101 (104 ± 4)	144 123 165 (144 ± 21)	25 17 21 (21 ± 4)
	1000	126 117 111 (118 ± 8)	9 5 6 (7 ± 2)	91 111 106 (103 ± 10)	139 140 139 (139 ± 1)	16 16 21 (18 ± 3)
	2500	114 112 115 (114 ± 2)	12 10 8 (10 ± 2)	85 90 90 (88 ± 3)	129 122 141 (131 ± 10)	16 15 13 (15 ± 2)
	5000	93 88 100 (94 ± 6)	4 3 3 (3 ± 1)	66 67 70 (68 ± 2)	136 143 123 (134 ± 10)	22 12 17 (17 ± 5)
陽性 対照	名称	NAAZ	NAAZ	MMS	ICR191	2NF
	$\mu\text{g}/\text{プレート}$	2	2	1000	2	25
	コロニー数/ プレート	840 880 706 (809 ± 91)	178 169 173 (173 ± 5)	753 637 772 (721 ± 73)	593 753 688 (678 ± 80)	1787 1580 1603 (1657 ± 113)

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値

* : 菌株の生育阻害を認める

NAAZ : Sodium azide

MMS: methyl methane sulfonate

ICR191: ICR-191 acridine

2NF: 2-nitrofluorene ☆: (pKM101)

実験 II. S-9 Mix 存在下

()

S-9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> ☆	TA97	TA98
+	対照 (DMSO)	114	23	181	164	24
		114	23	178	149	21
		100	18	186	197	24
		(109 ± 8)	(21 ± 3)	(182 ± 4)	(170 ± 25)	(23 ± 2)
	10	107	19	183	155	25
		107	25	183	148	17
		101	21	180	193	19
		(105 ± 3)	(22 ± 3)	(182 ± 2)	(165 ± 24)	(20 ± 4)
	50	97	22	193	118	20
		107	19	168	125	27
104		18	172	115	32	
(103 ± 5)		(20 ± 2)	(178 ± 13)	(119 ± 5)	(26 ± 6)	
100	110	19	149	150	30	
	110	23	158	156	24	
	103	18	150	161	22	
	(108 ± 4)	(20 ± 3)	(152 ± 5)	(156 ± 6)	(25 ± 4)	
500	94	22	173	101	28	
	97	17	179	136	35	
	106	16	179	115	14	
	(99 ± 6)	(18 ± 3)	(177 ± 3)	(117 ± 18)	(26 ± 11)	
1000	112	10	163	172	23	
	110	12	163	253	27	
	106	18	179	199	22	
	(109 ± 3)	(13 ± 4)	(168 ± 9)	(208 ± 41)	(24 ± 3)	
2500	90	27	164	178	22	
	115	18	161	199	27	
	113	16	179	221	31	
	(106 ± 14)	(20 ± 6)	(168 ± 10)	(199 ± 22)	(27 ± 5)	
5000	97	12	132	120	14	
	79	16	152	168	17	
	82	16	150	181	22	
	(86 ± 10)	(15 ± 2)	(145 ± 11)	(156 ± 32)	(18 ± 4)	
陽性 対照	名 称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
	$\mu\text{g}/\text{プレート}$	1	2	25	1	2
	コロニー数/ プレート	420	207	803	770	2251
	(520 ± 89)	(260 ± 46)	(878 ± 74)	(732 ± 136)	(2257 ± 168)	

() : 内の数値は平均値 \pm 標準偏差値

* : 菌株の生育阻害を認める

2AA: 2-aminoanthracene

☆: (pKM101)

2回の試験において検体ではS-9 Mixの有無にかかわらず最高用量(5000 µg/プレート)、いずれの菌株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NAA7, MMS, ICR191及び2NFでは薬物代謝酵素系の非存在下で、又、2-AAでは薬物代謝酵素系の存在下で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、代謝活性化系を含む本試験条件下での検体の復帰変異誘発性は陰性であると判断される。

3. 製剤

ザークDA1キロ粒剤36

(1) ラットにおける急性経口毒性試験 (製剤毒性資料4-1)

試験機関: (株)ボソリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年: 1994年

検体の種類・名称: アジムスルホン・ダイムロン・ベンスルホンメチル・メフェナセット粒剤

(ザークDA1キロ粒剤36 / 試験名: DPX-47-TD-1kg粒剤)

[組成] アジムスルホン.....0.06%
ダイムロン.....4.5%
ベンスルホンメチル.....0.3%
メフェナセット.....10%
鋳物質微粉等.....85.14%

試験動物: Crj:CD(SD)系ラット、約7週齢、体重: 雄 232~243g, 雌 166~177g、
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方法: 乳棒、乳鉢を用いて微粉末化した検体を脱イオン水に懸濁して経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与前、投与後7、14日及び死亡時に測定した。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。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0, 5000
LD50 (mg/kg)	雌雄とも >5000
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	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000

一般状態に異常は認められなかった。また、試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

(2) マウスにおける急性経口毒性試験 (製剤毒性資料4-2)

試験機関: (株)ボソリサーチセンター [GLP対応]
報告書作成年: 1994年

検体の種類・名称: アジムスルフロン・ダイムロン・ベンスルフロンメチル・メフェナセット粒剤
(ザークDA1キログラム36/試験名:DPX-47-TD-1kg粒剤)

[組成] アジムスルフロン.....0.06%
ダイムロン.....4.5%
ベンスルフロンメチル.....0.3%
メフェナセット.....10%
賦物質微粉等.....85.14%

試験動物: Crj:CD-1(ICR)系マウス、約7週齢、
体重: 雄 29.8~32.5g, 雌 22.3~23.4g、1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方法: 乳搾、乳鉢を用いて微粉末化した検体を脱イオン水に懸濁して経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与前、投与後7、14日及び死亡時に測定した。
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。

結果:

投与方法	経口
投与量 (ng/kg)	雌雄 0.5000
LD50 (ng/kg)	雌雄とも >5000
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	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量(ng/kg)	雌雄とも >5000

一般状態に異常は認められなかった。また、試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

(3) ラットにおける急性経皮毒性試験 (製剤毒性資料 4-3)

試験機関: 株式会社リサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年: 1994年

検体の種類・名称: アジムスルホン・ダイムロン・ベンスルホンメチル・メフェナセット粒剤
(ザークDA1キログラム36 / 試験名:DPX-47-TD-1kg粒剤)

[組成] アジムスルホン.....0.06%
ダイムロン.....4.5%
ベンスルホンメチル.....0.3%
メフェナセット.....10%
鉱物質微粉等.....85.14%

試験動物: Crj:CD(SD)系ラット、約7週齢、体重:雄 274~294g、雌 173~193g、
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方法: 乳棒、乳鉢を用いて微粉末化した検体を脱イオン水で湿らせたパッチとともに動物の剃毛した背部に24時間塗布した。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与日(試験日0日)、第7日及び第14日に測定した。試験終了時に全動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD50(mg/kg)	雌雄とも >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	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	2000

試験期間中、中毒症状は観察されなかった。また、試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

(4) ウサギにおける眼一次刺激性試験 (製剤毒性資料 4-4)

試験機関：御ボゾリサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体の種類・名称： アジムスルホン・ダイムロン・ベンスルフロンメチル・メフェナセット粒剤

(ザークDA1キログラム36 / 試験名:DPX-47-TD-1kg粒剤)

[組成] アジムスルホン.....0.06%
ダイムロン.....4.5%
ベンスルフロンメチル.....0.3%
メフェナセット.....10%
鮫物質微粉等.....85.14%

試験動物： 日本白色種ウサギ、15週齢、体重 2.78~2.93kg、
非洗眼群雌 6匹、洗眼群雌 3匹

試験期間： 72時間観察

方法： 非洗眼群；乳棒乳鉢で微粉末化した検体、0.1gを左眼に投与した。
洗眼群；乳棒乳鉢で微粉末化した検体、0.1gを左眼に投与し、2~3分後に微
温湯で約30秒~1分間洗浄した。
いずれも右眼は無処理とし対照とした。

観察項目： 投与後 1, 24, 48及び72 時間後にDraize法(1965年)に従って、角膜、虹
彩、結膜の刺激性の変化を観察した。

結果： 観察した刺激性変化の群平均点数は以下のとおりである。
(表は次頁に示す。)

群	項目	最高 評点	投与後時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	
非洗眼群 (6匹平均)	角膜混濁	80	0	0.3	0	0	0	
	虹彩	10	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	6	2	2	1	0.3	0
		浮腫	8	2	0.3	0	0	0
		分泌物	6	2	0.7	0	0	0
	合計	110	6	3	1	0.3	0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	80	0	0	0	0	0	
	虹彩	10	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	6	0	0	0	0	0
		浮腫	8	0	0	0	0	0
		分泌物	6	2	0	0	0	0
	合計	110	2	0	0	0	0	

非洗眼群；適用後1時間の観察において全例に結膜発赤及び結膜浮腫が、また、適用後24時間では2/6例で角膜混濁が認められた。上記反応の消失は、角膜混濁で適用後48時間、結膜発赤で適用後48時間～4日、結膜浮腫で適用後24または48時間であった。眼のその他の変化としては、全例に適用直後より閉眼、10分より正常より多い分泌物が観察された。これらの変化のうち、閉眼は適用後1時間に回復したが、分泌物の消失は24または48時間であった。試験期間中、虹彩への影響は認められなかった。

洗眼群；観察期間を通じて角膜、虹彩及び結膜に反応は見られなかった。眼のその他の変化としては、適用後5～30分に1/3例で閉眼、全例で適用後10分～1時間の間に正常より多い分泌物が観察された。試験期間中、角膜及び虹彩への影響は認められなかった。

以上の結果より、ザークDA1キロ粒剤36はウサギの眼に対して軽度の刺激性があると判断された。洗眼効果も認められた。

(5) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (製剤毒性資料 4-5)

試験機関: 株式会社リサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年: 1994年

検体の種類・名称: アジムスルホン・ダイムロン・ペンシルフロンメチル・メフェナセット粒剤

(ザークDA1キログラム粒剤36/試験名:DPX-47-TD-1kg粒剤)

[組成] アジムスルホン.....0.06%
ダイムロン.....4.5%
ペンシルフロンメチル.....0.3%
メフェナセット.....10%
鉱物質微粉等.....85.14%

試験動物: 日本白色種ウサギ, 15週齢、体重 2.57~3.09kg、
1群雌10匹

試験期間: 72時間観察

方法: 乳棒、乳鉢で微粉末化した検体を0.5gを0.5mlの脱イオン水で湿らせ、剃毛した動物の背部の皮膚(約8cm²)に閉塞塗布した。脱イオン水のみを閉塞塗布する部位も設け対照とした。塗布時間は4時間とし、皮膚に残った検体は脱イオン水で洗浄した。

試験項目: 検体処理後 1, 24, 48及び72時間目に塗布部分の刺激性変化(紅斑及び痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize法(1965年)に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は以下の通りである。
(表は次頁に示す。)

項目	変 化	最高値	塗布開始後時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
検体処理 部位	紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0
対照部位	紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0

試験期間中、全ての供試動物で皮膚刺激性の徴候は観察されなかった。

以上の結果より、ザークDA1キロ粒剤36はウサギの皮膚に対して刺激性 なしと判断された。

(6) モルモットにおける皮膚感作性試験 (製剤毒性資料 4-6)

試験機関: 柳井研究所

[GLP対応]

報告書作成年: 1994年

検体の種類・名称: アジムスルホン・ダイムロン・ベンスルホンメチル・メフェナセット粒剤

(ザークDA1キログラム36 / 試験名: DPX-47-TD-1kg粒剤)

[組成] アジムスルホン.....0.06%
ダイムロン.....4.5%
ベンスルホンメチル.....0.3%
メフェナセット.....10%
鉱物質微粉等.....85.14%

試験動物: ハートレイ系モルモット、7週齢、体重296~356g

検体投与群及び検体対照群; 1群雌20匹

陽性物質投与及び陽性物質対照群; 1群雌10匹

試験期間: 30日間

方法: [Buehler法]

用量設定根拠: 検体投与濃度は柳井研究所で予備試験より下記のように決定した。検体の50%、25%、12%及び5%(w/v)脱イオン水懸濁液 0.2mlをモルモットの剃毛した皮膚に6時間閉塞塗布した結果、24時間後に非常に軽度の紅斑を示した50%を感作誘導時の濃度とし、最大無刺激濃度の25%を惹起時の濃度とした。

感作: 検体投与群の剃毛した頭よりの背側部に、検体の50%(w/v)脱イオン水懸濁液0.2mlをガーゼ(直径2.5cm)にしみ込ませ、6時間閉塞塗布した。一方、陽性対照物質投与群には2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)の1%(w/v)の濃度のオリーブ油溶液0.2mlを同様に処理した。検体及び陽性物質群の対照群には溶媒のみを処理した。初回感作より7日後及び14日後に同様に計3回感作を行った。

惹起: 最終感作の14日後、検体投与群及び検体対照群の後ろよりの左右背側部を剃毛し、左側に25%(w/v)脱イオン水懸濁液、右側に脱イオン水0.2mlをガーゼ(直径2.5cm)にしみ込ませ、6時間閉塞塗布した。陽性物質投与群及び陽性物質対照群には、DNCBの0.25%(w/v)の濃度のオリーブ油溶液 0.2ml及びアセトンと同様に処理した。

観 察： 惹起後24時間に適用部位の紅斑の有無等を肉眼的に観察し、皮膚感作性を判定した。

結 果： 以下に検体及び陽性物質群の惹起後の皮膚反応表を示す。

	群		供 試 動物数	24時間	48時間	陽 性 動物数
	処理濃度			平均評点	平均評点	
	感作	惹起				
検体	50%	25%	20	0	0	0/20
	溶媒		10	0	0	
陽性 対照	0.1%	0.25%	10	1.0	1.3	10/10
	溶媒		10	0	0	

- 皮膚反応スケール 0 - 肉眼的に変化なし
 0.5 - 非常に軽度の紅斑（通常散在性）
 1 - 軽度の紅斑（通常び漫性）
 2 - 中等度の紅斑
 3 - 重度の紅斑（浮腫の有無を問わない）

24時間後及び48時間後の観察時に、検体投与群及び対照群全ての動物のい
 ずれの濃度の惹起処理部位にも皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性物質投与群では全動物に対照群を上回る発赤がみられた。

以上の結果より、ザークDA1キロ粒剤36の皮膚感作性は陰性と判断された。