

(2) ラット慢性毒性試験 (資料 7) における血液及び組織中の分析

(資料 8)

試験機関

報告書作成年 1978 年

対象動物：ラットを用いた慢性毒性試験 (資料 7) の投与終了時の動物

1 群雌雄各 4 匹

分析対象試料：投与終了時に採血した血液(全血)及び摘出した肝臓、腎臓、肺、体脂肪(腹腔内)、

0、25、50、100、200 及び 1000 ppm 群から雌雄各 4 試料を選択した。

分析方法：試料からベンジルアミノプリンを水酸化ナトリウム水溶液で抽出し、液-液分配で精製後、n-プロピル化したのち、N-P-FID により検出定量した。

本法における n-プロピル-6-ベンジルアミノプリンの最小検出量は 0.2 ng であり、

ベンジルアミノプリンとしての定量限界は 0.1 ppm であった。

試験結果：

1) 回収試験の要約

ベンジルアミノ プリンの添加量	試料及び回収率%、() 内は平均値				
	肝臓	腎臓	肺	血液	体脂肪
0.40 µg/g	70, 63 (68)	93, 78 (85)	70, 70 (70)	78, 78 (78)	95, 63 (79)

2) 分析結果

以下のとおり、すべての試料中でベンジルアミノプリンは定量限界未満であった。

(n=4 分析の最大値、ppm)

性別	雄						雌						
	投与群 ppm	0	25	50	100	200	1000	0	25	50	100	200	1000
試料	肝臓	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	腎臓	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	肺	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	血液	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	体脂肪	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

(3) イヌを用いたカプセル投与による慢性毒性試験

(資料9)

試験機関

報告書作成年 1978年

検体の純度：

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各4匹、投与開始時 雄 29～31週令、雌 29～32週令
体重範囲 雄 9.24～11.29 kg、雌 7.04～10.43 kg

投与期間：24ヵ月(1976年7月12日～1978年7月10日)

投与方法：検体を0、1、10及び100 mg/kg/日になるように体重に基づいて計算し、ゼラチンカプセルに秤量して24ヵ月間経口投与した。投与は毎日午前9時30分から10時30分の間に週7回行った。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日、午前・午後の2回観察した。毎週体重測定時に体温、心拍数を検査した。

1及び10 mg/kg群では、雌雄とも特記すべき中毒症状及び行動異常は観察されなかった。100 mg/kg群では削瘦、沈うつ、眼涙、流涎、角膜混濁、嘔吐及び痙攣が認められた。同群の雌雄各2匹は116日目(17週)から392日目(56週)の間に死亡し、残る雌雄各2匹は途中切迫屠殺したので、試験終了時の死亡率は雌雄とも100%であった。

体重変化：投与開始前6週から投与後26週までは週1回、27週から52週までは2週間に1回、53週から投与終了時までには月1回、すべての生存動物の体重を測定した。

1及び10 mg/kg群では、雌雄とも正常な体重増加の推移を示した。100 mg/kg群では、投与後1～3週から連続的な体重減少を示し、死亡または切迫屠殺に至った。これは検体投与の明らかな影響と考えられた。

摂餌量及び食餌効率：毎日1回給餌した飼料の残量を記録して、摂餌量を毎日測定した。

1及び10 mg/kg群では、雌雄ともある時期に摂餌量の週間変動がみられたが、総摂取量に对照群と大差なかったため、検体投与の摂餌量に及ぼす影響はなかったものと考えられた。100 mg/kg群では、投与開始後4～5週から摂餌量が減少し、検体投与の著しい影響がみられた。食餌効率では、個体別に変動が著しかった。

血液学的検査：投与前7、5、2週と投与後26、52、78及び104週に全生存動物について、約

16時間絶食させ、

により採血して以下の項目について検査した。

ヘマトクリット値(HCT)、ヘモグロビン量(HGB)、赤血球数(RBC)及び白血球数(WBC)を測定した後、平均血球容積(MCV)、平均血球色素量(MCH)及び平均血球色素濃度(MCHC)を計算した。白血球像は血液塗抹標本をヘマテックを用いて自動染色し検鏡した。

以下に対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別		雄		雌			
投与群(mg/kg)		1	10	1		10	
検査時期(週)		26	52	26	52	78	104
検査項目	MCH						↓96
	MCHC			↑102			▽96
	WBC				↑122	↑184	
	単球	↑190	↓12				

↑↓ : p<0.05、▽ : p<0.01 (Student t検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値である。)

上記有意差のみられた検査値は、いずれも生理的変動の範囲内と考えられた。100 mg/kg群で投与後55週に死亡した雄1匹の26及び52週の検査では、貧血の出現と白血球減少がみられた。

血液生化学検査：血液学的検査と同一の時期、動物を対象として、その血清を用いてカルシウム、無機リン酸塩、糖、尿素窒素、尿酸、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酵素(LDH)及びグルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ活性(SGOT)を測定し、LDH/SGOT比を計算した。

以下に対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別		雄			雌		
投与群(mg/kg)		1	10		1	10	
検査時期(週)		104	52	78	26	26	78
検査項目	カルシウム		↓94				
	無機リン酸塩		↓85	↓90			
	総蛋白						↓95
	アルブミン				↑106		
	総ビリルビン		↑124			↑140	
	SGOT	△147		↓67		↓79	

↑↓ : p<0.05、▽△ : p<0.01 (Student t検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値である。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

上記有意差のみられた検査値は、いずれも生理的変動の範囲内と考えられた。100 mg/kg 群の途中死亡雄 1 匹は、52 週の検査で尿酸窒素及び乳酸脱水素酵素がやや高値を示した。コリンエステラーゼ活性(ChE)検査：血液生化学検査と同一の検査時期、動物を対象として、血清総 ChE と阻害 ChE、血漿 ChE、赤血球 ChE を測定した。脳 ChE の測定は 104 週時に実施した。

雄の 1 及び 10 mg/kg 群、ならびに雌の 10 mg/kg 群ではいずれの検査時期、検査項目にも統計学的有意差はみられなかった。

雌の 1 mg/kg 群で赤血球 ChE が統計学的に有意な高値を示したが、生理的変動の範囲内と考えられた。100 mg/kg 群の途中死亡雄 1 匹では、26 及び 52 週とも血漿及び赤血球 ChE 活性値の低下傾向を示した。

以下に対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目、及び途中死亡雄の相対値を示す。

性別、投与群	雌：1 mg/kg				雄（途中死亡）：100 mg/kg	
	26	52	78	104	26	52
赤血球 ChE	△148	↑140	↑141	↑138	53	57
血漿 ChE					79	86

↑：p<0.05、▽△：p<0.01 (Student t-検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値である。)

尿検査：26、52、78 及び 104 週に全生存動物を対象として、色調、濁度、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン及び比重を検査した。

1 及び 10 mg/kg 群では、雌雄ともいずれの検査時期、検査項目にも検体投与による影響は認められなかった。100 mg/kg 群の途中死亡雄 1 匹では、以下のとおり 26 及び 52 週で尿比重がやや低値を示した。

検査時期(週)	26		52	
	0	100	0	100
尿比重	1.044	1.020	1.048	1.019

臓器重量：投与終了時に、全生存動物を対象として解剖したのち、脳、下垂体、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膵臓、精巣または卵巣、胸腺、前立腺または子宮及び甲状腺の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

以下のとおり雌の副腎及び脾臓で統計学的有意差がみられたが、用量相関性がなく検体投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

性別	雌	
	1	10
脾臓重量	↓71	
副腎重量(左)		↑123
対体重比(左)	↑125	

↑↓：p<0.05 (Student t-検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値である。)

肉眼的病理検査：投与終了時の全生存動物及び切迫屠殺、死亡動物を対象として検査を行った。
試験終了時まで生存した対照群、1及び10 mg/kg 群では検体投与に起因すると思われる肉眼的変化は観察されなかった。100 mg/kg 群の切迫屠殺または死亡動物では、検体投与によると考えられる異常所見として、両側性腎外部表面粗造、腎萎縮、皮質斑紋状黄色化、腎盂黄色結石、腎盂拡張等が認められた。

病理組織学検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として皮膚、乳腺、大腿骨髄、胸骨髄、脾臓、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、骨格筋、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺、肝臓、胆嚢、膵臓、食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、腎臓、膀胱、前立腺または子宮、精巣または卵巣、下垂体、副腎、甲状腺、胸腺、大脳、小脳、脊髄、坐骨神経及び眼球について、定法によりパラフィン切片を作成し、HE染色を行い鏡検した。

100 mg/kg 群の切迫屠殺あるいは死亡動物において、腎障害が共通して認められ、腎以外には特に顕著な病変が認められていないことから、死因は腎不全によるものと考えられた。また、腎不全の一定期間の持続によって全身微細血管の障害などを伴い消化管出血などを惹起したものと判断される。

10 mg/kg 群において、腎盂粘膜下リンパ球浸潤が雌雄ともに認められ、慢性腎炎と考えられ、検体投与の影響の初期像と推定された。

次ページに主な組織所見の発生頻度を示した。

以上の結果から、本検体の24ヵ月経口投与による慢性毒性試験における影響として、10 mg/kg 群で腎障害の初期像と考えられる腎盂粘膜下リンパ球浸潤が認められた(註)。

100 mg/kg 群では、切迫屠殺あるいは途中死亡が全例に認められ、死因は腎不全によるものであった。

申請者註：(4) 要求事項に関する対応資料、p. 127 参照。

その後、全動物の腎臓病理組織標本について再検査を行った結果、10 mg/kg 群で認められた腎盂粘膜下リンパ球浸潤は、結石出現や尿細管上皮変性を伴っておらず、自然発生による腎盂腎炎と評価され、無毒量は10 mg/kg/日と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

<主な病理組織学的所見の発生頻度>

検査時期	臓器/組織	性別	雄	雌
		投与群 (mg/kg/日)	100	100
切迫屠殺 途中死亡	肺	検査動物数	4	4
		うっ血	3	4
	肝臓	うっ血	3	3
		肝細胞索萎縮	1	
	腎臓	尿細管拡張	2	4
		尿円柱		1
		間質内炎症性細胞浸潤	1	3
		皮質硬化	2	4
		尿細管上皮変性	2	2
	膵臓	尿細管内針状結晶	2	3
		出血	1	
	結腸	結腸重積	1	
		出血壊死	1	
	精巣	精子形成減退	3	
胸腺	萎縮	3	4	

検査時期	臓器/組織	性別	雄			雌		
		投与群 (mg/kg/日)	0	1	10	0	1	10
104週	肺	検査動物数	4	4	4	4	4	4
		うっ血			1			
	肝臓	限局性肺出血			1			
		うっ血		2		1		2
		グリソン鞘内細胞浸潤					1	
	腎臓	肉芽腫			1			
		尿円柱	1					
		間質内炎症性細胞浸潤	1				1	
		腎盂粘膜下リンパ球浸潤			1			3
	脾臓	血鉄症	3	1		1		1
		濾胞肥大	1					
	腸間膜リンパ節	リンパ洞内出血	1	1		1	1	
		濾胞肥大	2	3	2			2
		リンパ洞内細胞増加	2					
	精巣	石灰沈着			1			
		精子形成減退	2		1			
	卵巣	黄体多発				1	3	4
	甲状腺	リンパ球浸潤			1			
	胸腺	萎縮	4	2	1	1	1	3

(空欄は発生例なし)

(4)

ラット及びイヌ慢性毒性試験（資料 7 及び 9）における病理組織標本の再検査

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1992 年

① ラット慢性毒性試験（資料 7）において認められた白血病の各症例についてタイプ別分類リストを作成する。

検査内容：ラット慢性毒性試験で白血病と診断された病理組織標本及び血液塗抹標本の再検査

検査結果：白血病症例のタイプ別分類は下表のとおりであった。

観察された造血系腫瘍の分類と発生例数

性別	雄						雌							
	0	25	50	100	200	1000	0	25	50	100	200	1000		
投与群 (ppm)	0	25	50	100	200	1000	0	25	50	100	200	1000		
切迫殺・死亡動物	検査動物数	8	6	6	11	13	12	10	5	7	5	8	15	
	白血病	単核球	4	3	2	8	6	9	7	2	5		5	10
		骨髄性					2				1			
		不明						1						
	悪性リンパ			1		1	1		1			1		
	皮膚悪性リンパ							1						
	合計	4	3	3	8	9	11	8	3	5	1	6	10	
発生率%	50.0	50.0	50.0	72.7	69.2	91.7	80.0	60.0	71.4	20.0	75.0	66.7		
計画屠殺	検査動物数	18	20	20	15	18	14	16	22	20	22	19	18	
	白血病 単核球	4	10	1	5	2	7	1	3	2	5	3	4	
	悪性リンパ		1				1*				2*	1*		
	合計	4	11	1	5	2	7	1	3	2	6	3	4	
	発生率%	22.2	55.0	5.0	33.3	15.4	50.0	6.3	13.6	10.0	27.3	15.8	30.8	
全動物	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	28	
	白血病	単核球	8	18	3	13	8	16	8	5	7	5	8	14
		骨髄性					2				1			
		不明						1						
	悪性リンパ		1	1		1	2*		1		2*	2*		
	皮膚悪性リンパ							1						
	合計	8	14	4	13	11	18	9	6	7	7	9	14	
発生率%	30.8	53.8	15.4	50.0	42.3	69.2	34.6	22.2	25.9	25.9	33.3	50.0		
既報告	検査動物数	26	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	28	
	白血病 単核球	8	15	6	13	14	18	10	6	8	8	10	17	
	発生率%	30.8	57.7	23.1	50.0	53.8	69.2	38.5	22.2	29.6	29.6	37.0	60.7	

* それぞれ 1 例ずつ広範囲発生を示した。（空欄は発生例なし）

以上のとおり、ラット慢性毒性試験（資料 7）で認められた白血病は、アズール顆粒陽性に裏付けられた単核球性白血病が主であった。1,000 ppm 群における単核球性白血病の発生率は対照群に比べて高い傾向がみられたが、明確な用量相関性はなかった。また、骨髄性白血病、原発巣の識別不能な白血病及び悪性リンパ腫の発生例数は少なく、特定の投与群に偏らないことから、検体投与による特異的な造血系腫瘍の発生を示唆するものではなかった。

単核球性白血病発生数は、資料 7 の報告と差が認められたが、上記の骨髄原発が考えられる例や、単核球性白血病に合併した悪性リンパ腫などの偶発発生がみられたことによるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

- ② イヌ慢性毒性試験（資料 9）において 10 mg/kg 群で認められた腎盂粘膜下リンパ球浸潤を慢性腎炎と診断している根拠について再検討する。

検査内容：イヌ雄 16 例及び雌 16 例の左右腎臓の病理組織標本の再検査

検査結果：腎臓病変の再評価結果は以下のとおりであった。

観察された所見と発生例数

性別	雄			
	0	1	10	100
投与群(mg/kg/day)				
検査動物数	4	4	4	4
病変の程度	± + ++	± + ++	± + ++	± + ++
尿細管拡張				1 2
尿円柱	1	2		4
間質内炎症性細胞浸潤	1	1		1 1
皮質硬化				1 2
尿細管上皮変性				3 1
尿細管石灰沈着				
尿細管内針状結晶沈着				1 2 1
腎盂粘膜下リンパ球浸潤		1	1	
好塩基性変化	1			3

性別	雌			
	0	1	10	100
投与群(mg/kg/day)				
検査動物数	4	4	4	4
病変の程度	± + ++	± + ++	± + ++	± + ++
尿細管拡張				3 1
尿円柱				4
間質内炎症性細胞浸潤	1	1 1		1 3
皮質硬化				4
尿細管上皮変性				2 2
尿細管石灰沈着	2		2	4
尿細管内針状結晶沈着				3
腎盂粘膜下リンパ球浸潤		1	2 1	
好塩基性変化		1		3 1

病変の程度：± 軽微 + 軽度 ++ 中等度

(空欄は発生例なし)

検体投与による腎障害は、100 mg/kg 群で観察された尿細管内針状結晶沈着、尿細管拡張、尿細管上皮変性、皮質硬化、尿円柱及び間質内炎症性細胞浸潤を特徴とし、結晶析出や尿細管上皮変性に伴う一種の間質性腎炎と診断された。

10 mg/kg 以下の群で認められた腎盂粘膜下リンパ球浸潤及び対照群を含めて観察された間質内炎症性細胞浸潤は、いずれも結晶析出や尿細管上皮変性を伴わずに生じている変化で、自然発生のものに属すると考えられた。

従って、10 mg/kg 以下の用量では本検体投与による腎障害は認められないと判断された。

(7) マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 19)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1994 年

検体の純度:

試験動物: B6C3F1 系マウス、1 群雌雄各 70 匹、投与開始時 6 週令
開始時体重範囲 雄 18.2~22.5 g、雌 15.0~18.3 g

投与期間: 104 週間(1991 年 6 月 6 日~1993 年 6 月 2 日)

投与方法: 検体を 0、80、400、2,000 ppm の濃度で飼料に混入し、104 週にわたって自由摂取させた。検体混入飼料の調製は 2 週間に 1 回行った。

投与量設定理由:

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態および生死を 1 日 2 回観察した。

各群の雌雄でみられた一般状態の変化は、マウスの長期飼育で一般的にみられるもので、薬量相関性はなかった。104 週間投与終了時の死亡率にはいずれの投与群でも統計学的有意差は見られず (Fisher の直接確率検定)、検体投与の影響はなかった。

性別	投与群 (ppm)	雄				雌			
		0	80	400	2000	0	80	400	2000
死亡 率%	78 週	1.7	4.7	1.7	0	1.7	0	3.1	4.7
	104 週	23.7	12.7	17.7	10.0	21.7	16.0	19.2	16.6

体重変化; 投与後 26 週までは毎週 1 回、それ以降は 2 週間に 1 回全生存動物の体重を測定した。雄では、2,000 ppm 群のほとんどの週で、及び 400 ppm 群の 26 週まで多くの週で統計学的に有意な体重の低値がみられた。投与終了時の平均体重の対照群の値に対する比率は、2,000 ppm 群で 18.3% 減であった。雌では、2,000 ppm 群のほとんどの週で、及び 400 ppm 群の投与後 28 週から 104 週までの多くの週で、有意な低値がみられた。投与終了時の平均体重の対照群に対する比率は 2,000 ppm 群で 11.4% 減であった。80 ppm 群の雄で 100~104 週に、雌では 84 週以降に、それぞれ統計学的に有意な低値を示したが、対照群で死亡・切迫殺例が

多く、低体重動物が除外されたことによる結果と考えられ、また、400 ppm 群の体重と逆転がみられることから、検体投与による低値ではないと考えられた。

以下に、体重増加量が対照群と比べて統計学的有意差のみられた時点を示す。

性別	雄			雌			
	投与群 (ppm)	80	400	2000	80	400	2000
期間	0-18週			▼85			▼88
	0-26週			▼73			▼90
	0-52週			▼74			▼84
	0-78週			▼74			▼80
	0-104週	▽87	↓87	▼66	▽87	↓92	▼80

↓ : p<0.05 Δ▽ : p<0.01 ▲▼ : p<0.001 (Student t検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値である。)

摂餌量及び飼料効率；摂餌量を毎週 1 回測定し、飼料効率の算出は 52 週まで行った。

摂餌量は、投与後 1 または 2 週に雄雄のすべての投与群で低値を示したが、その後は増加に転じた。飼料効率は、体重増加抑制、摂餌量の増加を反映して雌雄とも 400 ppm 以上の群で低値を示した。

以下に、飼料効率が対照群と比べて統計学的有意差のみられた時点を示す。

性別	雄			雌			
	投与群 (ppm)	80	400	2000	80	400	2000
期間	0-18週		↓93	▼70		▽95	▼85
	0-26週		▽84	▼68			▼92
	0-52週		↓92	▼67		↓88	▼88

↓ : p<0.05 Δ▽ : p<0.01 ▲▼ : p<0.001 (Student t検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値である。)

検体採取量；各群の平均検体採取量を以下に示す。

投与群 (ppm)		80	400	2000
平均検体採取量 (mg/kg/day)	雄	11.6	58.8	327
	雌	15.1	76.4	396

血液学的検査；投与後 52、78 週は各群雌雄 9~10 匹について、104 週にはすべての生存動物について、約 16 時間絶食後に腹部大動脈から採血し、抗凝固剤 EDTA-3K を加えた血液を用いて下記の項目について測定した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、白血球百分率、赤血球恒数(MCV、MCH、MCHC)

雄では 3 回の検査を通じて一貫性のある変化はみられなかった。雌では 2,000 ppm 群で 3 回の検査とも MCV 及び MCH が高値を示し、52 週及び 78 週の検査でヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の高値が認められた。しかし、いずれの変化は僅かであり、血液系に対する影響は軽微なものと考えられた。その他の変化もすべて僅かであり、一貫性のある変化も

みられなかった。以下に、対照群と比べて統計学的有意差のみられた項目を示した。

検査項目	検査週	雄			雌		
		投与群 (ppm)			投与群 (ppm)		
		80	400	2000	80	400	2000
ヘマトクリット値	52						△108
	78		↑107	↑104			↑110
	104	↑106	↑107				
ヘモグロビン濃度	52						↑108
	78						↑110
	104		↑107				
赤血球数	52	↓97	▼98	↓98			
	104		↑107				↓95
MCV	52				↑101		▲108
	78						△108
	104						▲108
MCH	52						▲108
	78						△108
	104			△108			△108
MCHC	78		↓99	▼98			
	104			↑101	↓99		
血小板数	52						△109
	78		↑107	▲117			
白血球数	52	▽58	▽70	▼49			
	78						▽52
	104	▽77	▽70	▽61			

↑ ↓ : p<0.05 △▽ : p<0.01 ▲▼ : p<0.001 (Dunnnett の多重比較または Duncan の多重範囲検定)
(表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値である。)

剖検及び臓器重量；投与終了後、動物を麻酔下で放血致死させ、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、次の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比も算出した。
副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣または卵巣

剖検所見では、検体投与によると考えられる特異的变化は認められなかった。

臓器重量では、雄雌ともすべての投与群で副腎重量の低値が認められた。さらに、雄の 2,000 ppm 群で心臓及び腎臓重量の低値がみられた。その他の変化は、正常範囲内か体重減による二次的变化と考えられた。

臓器重量体重比では、雄雌ともすべての投与群で脳重量体重比の高値が認められた。雄の 2,000 ppm 群で心臓及び精巣重量体重比の高値が、雌の 2,000 ppm 群で心臓及び腎臓重量体重比の高値が、それぞれ認められた。

そのほか、雄雌の 80 ppm 群における心臓重量体重比の高値及び 400 ppm 群の副腎重量体重比の低値、ならびに雌の 80 ppm 群における副腎重量体重比の低値は、いずれも用量相関性のない変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以下に、対照群と比べて統計学的有意差のみられた項目を示した。

性別		雄			雌		
投与群 (ppm)		80	400	2000	80	400	2000
体重		▽93	▽88	▼82	▽92	↓95	▼89
脳	体重比	△107	↑107	▲121	△108	↑105	▲111
	重量			▽95			
心臓	体重比	↑108		▲115	↑108		▲109
	重量	↑106		↓97	↓96		
腎臓	体重比	▲113	▲111	▲116			▲110
	重量	↓83	▽83	▼83	▽88	▼76	▽88
副腎	体重比		↓87		↓86	▽86	
	重量		100(注)				
精巣	重量						
	体重比			▲117			

↑↓ : p<0.05 △▽ : p<0.01 ▲▼ : p<0.001 (Dunnettの多重比較またはDuncanの多重範囲検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値である。)

(注) 対照群及び400ppm群とも0.20±0.02(平均±SD)だが、有意差あり p<0.05。

病理組織学的検査；剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出し、10%緩衝ホルマリン液で固定後、パラフィン切片を作成し、HE染色したのち鏡検した。

副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、大動脈、脳、眼球、大腿骨(骨髓を含む)、肋骨、胆嚢、心臓、腎臓、肝臓、肺(気管を含む)、リンパ節、雌の乳腺、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、末梢神経、筋肉、皮膚、脊髄、脾臓、精巣及び精巣上体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、膀胱、膣及び子宮、肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変] 雌雄の2,000 ppm群で肝臓の脂肪化、及び雄の2,000 ppm群で腎の空胞化がともに発生減少を示したが、これらは脂質の全般的な減少が考えられ、検体投与群では体重増加抑制がみられることから、全身負荷などの間接的な影響であり、検体の特異的作用とは考えられなかった。その他、対照群と比較して検体投与群に発生数の増減を示した所見も観察されたが、これらは自然発生性病変であり、検体投与に関連する所見とは考えられなかった。

[腫瘍性病変] 検体投与群で明らかに発生の増加した腫瘍は認められなかった。途中死亡動物の主な死因としては、雌雄とも肝細胞がん及び悪性リンパ腫が考えられた。

以下に腫瘍数及び担腫瘍動物数のまとめを示した。

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	80	400	2000	0	80	400	2000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良性	35	34	35	24	28	41	22	25
	悪性	25	20	28	17	24	23	23	19
担腫瘍動物数	良性	27	25	24	22	21	32	20	18
	悪性	22	19	25	16	20	19	19	18
	総数	37	38	39	33	36	41	32	30

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

次ページに、主な非腫瘍性病変及びすべての腫瘍性病変の発生例数を示す。

以上、本検体のマウスを用いた発がん性試験の影響として、雌雄とも 400 ppm 以上の群で体重増加抑制が観察され、雄の 2000 ppm 群で心臓及び腎臓重量の低値がみられたが、それ以外、血液学的及び病理学的検査で検体投与による特異的所見は認められなかった。

従って、無毒性量は、雌雄とも 80 ppm(雄: 11.6 mg/kg/day、雌: 15.1 mg/kg/day)と判断された。
なお、発がん性は認められなかった。

主な非腫瘍性病変の発生頻度 [死亡、切迫屠殺]

臓器/ 組織	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	80	400	2000	0	80	400	2000
	所見/ 検査動物数	12	6	9	5	11	8	10	8
胸腺	萎縮	11	3	8	5	5	5	9*	7
肝臓	脂肪化	2	1		1	2		1	
	巣状壊死	6	3	1	3	6	1	6	3
	リンパ球浸潤	2			2	4	2	1	2
	肉芽巣	1	1	3			1	4*	2
	髓外造血	3	1	1		4	3	1	3
卵巣	萎縮					1	3	2	5*
	色素沈着					3	4	3	3
	黄体減少					3	2	4	1
子宮	囊胞状内膜増生					10	4	7	3*

Fisherの確率検定 *: p<0.05 **: p<0.01

(空欄は発生例なし)

主な非腫瘍性病変の発生頻度 [最終屠殺]

臓器/ 組織	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	80	400	2000	0	80	400	2000
	所見/ 検査動物数	38	44	41	45	39	42	40	42
脾臓	色素沈着	10	16	6	4*	37	38	37	40
	造血亢進	9	8	6	8	6	14*	3	5
リンパ節	リンパ濾胞増生	16	22	25	27	15	21	24*	24
胃	リンパ球浸潤	3	1	6	1	11	8	21*	14
肝臓	脂肪化	13	8	6*	1*	20	15	14	1*
	巣状壊死	4	3	2	3	1	2	2	4
	リンパ球浸潤	10	9	7	15	23	23	27	26
	肉芽巣	26	24	24	21*	33	33	29	28
子宮	囊胞状内膜増生					33	39	40	39
甲状腺	濾胞細胞増生	2	2	1	3	2	9*	4	8
副腎	統細胞増生	31	38	38	31	39	41	40	41
脳	石灰沈着	16	20	16	18	22	32*	24	17
	硝子体	27	36	37*	34	29	30	33	36
脊髄	硝子体	18	18	18	24	26	32	24	22

Fisherの確率検定 *: p<0.05 **: p<0.01

主な非腫瘍性病変の発生頻度 [全動物]

臓器/ 組織	性別	雄				雌			
		投与群 (ppm)				検査動物数			
	0	80	400	2000	10	80	400	2000	
脾臓	色素沈着	11	17	8	4*	41	42	45	45
	造血亢進	15	11	11	12	14	19	10	11
	リンパ濾胞増生	2		5	5	4	8	5	5
リンパ節	リンパ濾胞増生	18	22	27	28	16	21	25*	25*
	髓外造血	7	5	7	8	2	1		
胸腺	萎縮	16	10	15	9	5	8	11	9
	囊腫、囊胞	12	11	7	12	10	4	11	11
胃	びらん	6	7	6	4	17	18	21	18
	リンパ球浸潤	4	1	8	1	11	8	24*	14
	扁平上皮細胞増生	18	11	19	11	22	21	27	22
肝臓	脂肪化	15	9	6*	2*	22	15	15	1**
	巣状壊死	10	6	3	6	7	8	8	7
	リンパ球浸潤	12	9	7	17	27	25	28	28
	肉芽巣	27	25	27	21	33	34	33	30
	髓外造血	6	1	3	1	4	4	8	5
腎臓	管腔拡張	6	2	2	6	8	5	2	2
	空胞化	47	44	44	8**	10	8	9	18
	好塩基化	45	47	46	50	24	20	19	20
	リンパ球浸潤	27	34	82	24	31	23	25	18*
卵巣	萎縮	/				2	6	3	10*
	出血性囊胞					23	16	14	6*
	色素沈着					22	22	28	21
	黄体減少					19	22	24	25
子宮	色素沈着	/				4	1	1	
	囊胞状内膜増生					46	43	47	42
甲状腺	濾胞細胞増生	3	2	1	3	2	9*	4	8
副腎	紡錘細胞増生	38	42	45	35	49	49	49	49
脳	石灰沈着	21	22	19	20	26	85*	27	21
	硝子体	36	38	42	38	36	86	37	41
脊髄	硝子体	20	19	22	25	32	37	26	26

Fisher の確率検定 * : p<0.05 ** : p<0.01

(空欄は発生例なし)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

腫瘍性病変の発生頻度 [死亡、切迫屠殺]

臓器/ 組織	性別 投与群 (ppm) 所見/ 検査動物数	雄				雌			
		0	80	400	2000	10	80	400	2000
		12	6	9	5	11	8	10	8
骨髄	血管肉腫#			1					
脾臓	血管内皮腫						1		
	血管肉腫#			1	1				
	組織球肉腫#								1
リンパ節	悪性リンパ腫#	1	1	1	1	4	3	2	2
肺	肺胞/細気管支上皮腺腫	2	1			1	1	1	1
	肺胞/細気管支上皮癌#		1			1			1
十二指腸	悪性カルチノイド腫瘍#	1							
空腸	悪性リンパ腫#	1	1				1		
回腸	悪性リンパ腫#		1						
肝臓	肝細胞腺腫	2	2	1	1		1	1	
	血管内皮腫			1				1	
	肝細胞癌#	4	1	4	2	1		1	
	組織球肉腫#					2			
	血管肉腫#					1			
乳腺	腺癌#						2		1
卵巣	囊腺腫#							1	
子宮	子宮内膜間質ポリープ							1	
	平滑筋腫						1		
	子宮内膜肉腫#					1			
	組織球肉腫#							2	
下垂体	腺腫								
脊髄	表皮嚢腫						2	2	
ハーダー氏 腺	腺腫					1	1		1
皮下	(): 検査動物数	(0)	(6)	(9)	(0)	(11)	(8)	(10)	(0)
	扁平上皮癌#	-			-			1	-
	横紋筋肉腫#	-			-	1			-
	血管肉腫#	-		1	-				-
	悪性神経鞘腫#	-			-		1		-
筋肉	横紋筋肉腫#						1		

#: 悪性腫瘍

Fisher の確率検定 *: p<0.05 **: p<0.01

(空欄は発生例なし)

腫瘍性病変の発生頻度 [最終屠殺]

臓器/ 組織	性別 投与群 (ppm)	雄				雌			
		0	80	400	2000	0	80	400	2000
		所見/ 検査動物数	88	44	41	45	89	42	40
心	血管腫	1							
骨髄	血管内皮腫	1					1		
	骨髄性白血病#							1	
脾臓	血管内皮腫		2	1	1	1	1		2
	血管肉腫#	2	1		1				
	悪性リンパ腫#	3	2		1		1		
リンパ節	悪性リンパ腫#	4	4	5	1	6	6	7	4
胸腺	悪性リンパ腫#							1	
肺	肺胞/細気管支上皮腺腫	5	5	5	3	2	2	1	2
	肺胞/細気管支上皮癌#	4	1	3	1	1	4	1	2
胃	腺癌#				1				
十二指腸	腺癌#					1			
空腸	悪性リンパ腫#					1	1		
直腸	表皮嚢腫				1				
肝臓	肝細胞腺腫	17	15	17	15	5	11	6	5
	血管内皮腫	2	1	8		1	2		1
	肝細胞癌#	4	7	10	4	2	2	4	5
	悪性リンパ腫#								1
	血管肉腫#	1							
腎臓	腺腫			1					
	血管内皮腫							1	
膀胱	血管内皮腫						1		
乳腺	腺癌#					1			
	扁平上皮癌#							1	
精巣	間細胞腫		1		1				
卵巣	セルトリ細胞腫					1			
	嚢腺腫					1	2		1
子宮	血管腫					1			
	子宮内膜間質ポリープ					1	5	1	3
	平滑筋腫						1		
	子宮内膜肉腫#								1
	組織球肉腫#						1		
陰	黄色線維腫					1			
下垂体	腺腫	1	1			4	3	2	2
	中間部腺腫					2			
甲状腺	濾胞細胞腺腫			1		1	1	1	2
	C細胞癌#					1			

: 悪性腫瘍

Fisherの確率検定 * : p<0.05 ** : p<0.01

(空欄は発生例なし)

腫瘍性病変の発生頻度 [最終屠殺、つづき]

臓器/ 組織	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	80	400	2000	0	80	400	2000
	所見/ 検査動物数	38	44	41	45	39	42	40	42
副腎	腺腫		1		1				
ラ氏島	腺腫 癌#			1	1		1		
脳	表皮嚢腫						1		
ハーダー氏 腺	腺腫 腺癌#	2	4	3	1	3	2	3	3
	(): 検査動物数	(0)	(44)	(41)	(45)	(39)	(0)	(40)	(0)
皮下	血管内皮腫 組織球肉腫#	-			1		-	1	-
筋肉	血管内皮腫	1							

#: 悪性腫瘍 Fisher の確率検定 *: p<0.05 **: p<0.01 (空欄は発生例なし)

腫瘍性病変の発生頻度 [全動物]

臓器/ 組織	性別 投与群 (ppm)	雄				雌			
		0	80	400	2000	10	80	400	2000
		所見/ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50
心	血管腫	1							
骨髄	血管内皮腫	1					1		
	血管肉腫#			1					
	骨髄性白血病#							1	
脾臓	血管内皮腫		2	1	1	1	2		2
	血管肉腫#	2	1	1	2				
	組織球肉腫#								1
	悪性リンパ腫#	3	2		1		1		
リンパ節	悪性リンパ腫#	5	5	6	2	10	9	9	6
胸腺	悪性リンパ腫#							1	
肺	肺泡/細気管支上皮腺腫	7	6	5	3	3	3	1	3
	肺泡/細気管支上皮癌#	4	2	3	1	2	4	1	3
胃	腺癌#				1				
十二指腸	悪性カルチノイド腺腫#	1							
	腺癌#					1			
空腸	悪性リンパ腫#	1	1			1	2		
直腸	表皮嚢腫				1				
肝臓	肝細胞腺腫	19	17	18	16	5	12	7	5
	血管内皮腫	2	1	4		1	2	1	1
	肝細胞癌#	8	8	14	6	3	2	5	5
	組織球肉腫#					2			
	悪性リンパ腫#								1
腎臓	血管肉腫#	1				1			
	腺腫			1				1	
膀胱	血管内皮腫						1		
乳腺	腺癌#					1	2		1
	扁平上皮癌#							1	
精巣	間細胞腫		1		1				
卵巢	セルトリ細胞腫					1	0	0	0
	嚢腺腫					1	2	1	1
子宮	血管腫					1			
	子宮内膜間質ポリープ					1	5	2	3
	平滑筋腫						2		
	子宮内膜肉腫#					1			1
膣	組織球肉腫#						1	2	
	黄色軟組織腫					1			

#: 悪性腫瘍 Fisher の確率検定 *: p<0.05 **: p<0.01 (空欄は発生例なし)

腫瘍性病変の発生頻度 [全動物、つづき]

臓器/ 組織	性別	雄				雌				
	投与群 (ppm)	0	80	400	2000	0	80	400	2000	
	所見/ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
下垂体	腺腫	1	1			5	3	2	2	
	中間部腺腫					2				
甲状腺	濾胞細胞腺腫			1		1	1	1	2	
	C細胞癌#					1				
副腎	腺腫		1		1					
ラ氏島	腺腫						1			
	癌#			1	1					
脳	表皮嚢腫						1			
脊髄	表皮嚢腫						2	2		
ハーダー氏 腺	腺腫	2	4	3	1	4	3	3	4	
	腺癌#				2			2		
皮下	(): 検査動物数	(0)	(50)	(50)	(45)	(50)	(3)	(50)	(0)	
	血管内皮腫	-						1	-	
	扁平上皮癌#	-						1	-	
	横紋筋肉腫#	-				1			-	
	血管肉腫#	-		1					-	
	悪性神経鞘腫#	-					1		-	
	組織球肉腫#	-				1			-	
筋肉	血管内皮腫	1								
	横紋筋肉腫#						1			
腫瘍の合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	35	34	35	24	28	41	22	25
		悪性	25	20	28	17	24	23	23	19
	腫瘍総数	60	54	63	41	52	64	45	44	
	担腫瘍動物数	良性	27	25	27	22	21	32	20	18
		悪性	22	19	21	16	20	19	19	18
	担腫瘍動物数	37	38	39	38	36	41	32	30	

: 悪性腫瘍 Fisher の確率検定 * : p<0.05 ** : p<0.01 (空欄は発生例なし)

(11) 繁殖毒性及び備奇形性

(1) ラットにおける多世代の繁殖機能に及ぼす影響

(資料 10)

試験機関

報告書作成年 1978 年

検体の純度：

試験動物：CFY 系ラット、1 群雌雄各 25 匹、

投与期間：P 世代；投与開始から F_{1b} 児離乳時までの 33 週間、F₁ 世代；離乳時から F_{2b} 児離乳時までの 33 週間、F₂ 世代；離乳時から 12 週間。

(1976 年 9 月 6 日～1978 年 3 月 3 日)

投与方法：検体を 200、500 及び 1,250 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。検体は飼料中で多少分解することが分かったので、設定濃度の 10% 増の飼料を毎週調製した。

飼料中のベンジルアミノプリンの安定性試験結果

設定濃度 ppm	分析結果、ppm				
	調製直後	3 日間保存後		7 日間保存後	
		21℃	4℃	21℃	4℃
200	219	198	212	168	180
500	512	496	522	489	458
1250	1230	1197	1235	1075	1164

方法及び試験項目：概要は次ページの表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

親動物には何ら臨床的毒性徴候はみられなかった。

体重変化；全動物の体重を交配前は毎週測定し、雌は交配開始日から交尾確認日まで 2 日に 1 回、その後は妊娠 0、7、14、20 日に、さらに出産後 0、7、14、21 日に測定した。

雌雄とも 1,250 ppm 群の F_{1b} 及び F_{2b} 世代の生育期の体重増加量（増体重）は有意に低かった。妊娠及び授乳期間中の母動物の体重変化には、投与と関連する異常はみられなかった。以下に対照群と比べ統計学的有意差のみられた時期（週）を示した。

世代	性別、投与群(ppm) 及び有意差を示した増体重の時期 (週)					
	雄			雌		
	200	500	1250	200	500	1250
F _{1b}			▽0-29			▽0-13
F _{2b}			▼0-13			▼0-13

▽：p < 0.01 ▼：p < 0.001 (Williams 検定)

方法及び試験項目の概要

世代	期間(週)	作業手順	試験項目
P(F ₀)	生育(13週)		
	交配(3週)	雌雄 1:1 で交配、交尾は 膣栓または精子で確認 (妊娠 0 日)	交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠 0、7、14、17、20 日目に体重を測定。 各群 5 匹を妊娠 20 日目に屠殺し、胎児の奇形及 び母動物の内眼的病理検査を行った。
	出産	出産状況の観察 新生児数、死産児数、性別、外表異常及び生存児 体重を測定。
	哺育(3週)		母動物の体重を哺育 0、7、14、21 日に測定。 4、12、21 日目に生存児数、児体重を測定。 親動物及び継代用以外の児動物は屠殺し、内眼的 病理検査を行った。
	離乳	継代用の各群雌雄 25 匹を 無作為に選択	
F ₁	生育(19週)		
	交配(3週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠(3週)		各群 10 匹を妊娠 20 日目に屠殺し、胎児の奇形 及び母動物の内眼的病理検査を行った。
	出産	出産状況の観察
	哺育(3週)		
F ₂	離乳	各群雌雄各 30 匹を無作為 に選抜した。	
	生育(12週)	各群雌雄各 2 匹について採血し、血液学的及び臨 床化学的検査を行った。 F _{2b} 動物を全例屠殺し、内眼的病理検査を行い、 臓器重量測定をした。また、対照群と高用量群の 雌雄各 7 匹について病理組織学的検査を行った。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、出産及び離乳時までの観察に基づき、次の指標を算出した。
交配及び妊娠の確認；交配は雌雄 1:1 で同居させ、翌日膣栓及び精子により確認した。

$$\text{雌または雄交配率} = \frac{\text{交配した雌または雄の数}}{\text{交配に用いた雌または雄の数}}$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した雌の数}}{\text{交配の証拠があった雌の数}}$$

$$\text{雄授精率} = \frac{\text{雌を妊娠させた雄の数}}{\text{交配した雄の数}}$$

$$\text{出産時生存率} = \frac{\text{出産時の生存児数}}{\text{出産時の生存及び死亡児数}}$$

$$\text{4 日後の生存率} = \frac{\text{生存 4 日目の生存児数}}{\text{出産時の生存仔数}}$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

$$4\sim 21 \text{ 日の生存率} = \frac{\text{生後 21 日目の生存児数}}{\text{生後 4 日目の生存児数}}$$

$$21 \text{ 日後(離乳時)の生存率} = \frac{\text{生後 21 日目の生存児数}}{\text{出産時の生存児数}}$$

$$\text{同腹生存率} = \frac{\text{離乳時生存児の腹数}}{\text{出産時生存児の腹数}}$$

摂餌量；各世代の交配前 13 週間の摂餌量を毎週測定した (g/rat/week)。

F1b 世代では、雄の全投与群と雌の 200 及び 1,250 ppm 群で、F2b 世代では雌の 1,250 ppm 群で、それぞれ対照群に比べて有意に低い摂餌量を示した。

次表に対照群と比べ分散分析で有意差のみられた時期 (週) を示した。

世代	性別、投与群(ppm) 及び有意差を示した時期 (週)					
	雄			雌		
	200	500	1250	200	500	1250
F1b	↓9-12 ▽1-8 ▼5	↓8-9 ▽1-2, 6-7 ▼3-5	▼1-13	↓1-11		↓4-9, 11
F2b				↓3-4, 7		▽3-13

↓ : p < 0.05 ▽ : p < 0.01 ▼ : p < 0.001

申請者註：生育期の平均体重及び平均摂餌量のデータから検体摂取量を以下のとおり算出した。

世代	性別、投与群(ppm) 及び平均検体摂取量 (mg/kg/day)					
	雄			雌		
	200	500	1250	200	500	1250
F0	11.3	28.4	71.2	13.6	35.1	86.4
F1b	14.0	35.7	88.7	17.4	46.0	117
F2b	13.4	35.9	88.6	15.3	43.9	97.4
平均	12.9	33.3	82.8	15.4	41.7	100

交尾行動、妊娠率及び妊娠期間；いずれも検体投与による影響は認められなかった。

F2b 世代の最終検査：

- 1) 血液学検査；1,250 ppm 群の雌雄とも白血球数及びリンパ球数が僅かに増加したが有意差はなかった。しかし、雄の 500 ppm 以上の群及び雌の 1,250 ppm 群で好中球数が有意な高値を示した。
- 2) 血液生化学検査；雌雄の 1,250 ppm 群の総蛋白は有意な高値を示したものの、検体投与に関連した有意な影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

- 3) 臓器重量検査; F2b 動物について、脳、心臓、腎臓、下垂体、肺、副腎、甲状腺、肝臓、生殖腺、胸腺、脾臓の重量を測定した。

以下に対照群と比べ統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別		雄			雌		
投与群(ppm)		200	500	1250	200	500	1250
臓器・項目	脳:重量		↓95	↓98			
	甲状腺:重量	△124	△119	△129			
	肝臓:体重比			△113	△109	△112	△119
	脾臓:体重比		△115	△111			↑110
	腎臓:体重比			△110	△107	△111	△115

↑↓: p<0.05 ∇△: p<0.01 (Williams 検定)

(表中の数値は、変動の目安として対照群を 100 とした場合の値である。)

雄の 500 及び 1,250 ppm 群の脳重量の低値は、低体重に起因するものであり、全投与群で見られた甲状腺重量の有意な高値は、対照群の平均値が低いためであったと考えられた。

- 4) 肉眼的病理検査; いずれの投与群にも検体投与に起因する変化は認められなかった。
- 5) 病理組織学的検査; F₂ 成熟動物の対照群と高用量群の雌雄各 7 匹を対象として、脳、心臓、腎臓、下垂体、肺、副腎、甲状腺、肝臓、生殖腺、胸腺、脾臓、骨、胃と小腸の一部、膀胱、骨髄、大腸について鏡検した。

いずれの投与群にも検体投与に起因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クマイ化学工業株式会社にある。

結果：

世代		親：P 児：F ₁				親：F ₁ 児：F ₂ b				F ₂ b				
投与量(ppm)		対照群	200	500	1250	対照群	200	500	1250	対照群	200	500	1250	
動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25	30	30	30	30	
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25	30	30	30	30	
親動物	一般状態													
	死亡率(%)	雄	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		雌	0.0	0.0	4.0	4.0	0.0	4.0	0.0	4.0	0.0	0.0	3.3	0.0
	体重変化	飼育期	雄											
			雌								増加抑制			
		妊娠期												
		哺乳期												
	摂餌量	雄						減少	減少	減少				
		雌						減少	減少	減少		減少		減少
	血液学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-			雄：好中球数低下	雌雄：好中球数低下
	生化学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-				雌雄：総蛋白量増加
	肉眼的病理検査		-	-	-	-	-	-	-	-				
	臓器重量		-	-	-	-	-	-	-	-	雌：肝、腎の増加	雌：肝、腎の増加	雄：脾の増加 雌：肝、腎の増加	雌雄：肝、腎、脾の増加
	病理組織学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-				
	交配率(%)	a 雄	-	-	-	-	-	-	-	-				
		雌	100.0	84.0	88.0	92.0	76.0	88.0	92.0	100.0				
	b 雄	-	-	-	-	-	-	-	-					
	雌	92.0	80.0	96.0	96.0	76.0	88.0	88.0	100.0					
妊娠率(%)	a	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0					
	b	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0					
授精率(%)	a	-	-	-	-	-	-	-	-					
	b	-	-	-	-	-	-	-	-					
妊娠期間(日)	a	22.3	22.0	22.1	22.3	22.1	22.1	22.0	21.9					
	b	22.3	22.2	22.3	21.9	22.3	22.1	22.4	22.2					

註) - : 検査せず
空欄 : 異常なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(続き)

世代		親 : P 児 : F _{1a} F _{2b}				親 : F _{1b} 児 : F _{2a} F _{2b}				
投与量(ppm)		対照群	200	500	1250	対照群	200	500	1250	
児 動 物	新生児生存数	a	11.5	11.7	12.8	11.7	13.0	11.6	12.1	12.3
		b	12.8	11.9	11.0	13.8	12.0	10.8	12.8	12.8
	生産児数	a	0.9	0.1	0.0	0.0	0.4	0.0	0.4	0.2
		b	0.8	0.5	0.4	0.0	0.2	0.5	0.4	0.0
	外表異常									
	性比(出産時生存 児 : 雄 / 雌)	a	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	-
	出生時生存率(%)	a	93.5	100.0	99.2	99.2	97.0	99.1	96.8	98.4
		b	93.9	96.7	96.5	100.0	98.4	96.3	96.2	100.0
	4日目生存率(%)	a	88.7	96.6	93.8	97.4	93.8	94.0	96.7	94.3
		b	97.6	98.3	95.5	95.7	98.3	96.1	95.3	99.2
	4~21日の生存率 (%)	a	87.8	98.5	95.0	95.6	95.9	99.1	97.4	98.3
		b	95.8	98.3	96.2	90.2	100.0	96.0	96.7	95.8
	同腹生存率(%)	a	92.0	90.5	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
b		100.0	100.0	94.4	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
出産時体重(g)	a	6.2	6.2	6.2	6.4	6.2	6.3△	6.4	6.4	
	b	6.3	6.5	6.6	6.0	6.4	6.5	6.5	6.2	
4日目体重(g)	a	8.7	9.6	9.4	9.7	9.1	10.8△	10.1	9.8	
	b	10.7	10.4	10.2	8.7↓	10.3	10.7	9.9	9.4	
哺乳時体重(g)	a	46.4	50.9	48.7	48.9	41.3	50.6△	49.0△	44.4	
	b	51.5	51.5	49.8	43.4▽	48.4	54.5	48.8	43.9	

世代		親 : P 児 : F _{1b}				親 : F _{1b} 児 : F _{2b}				
投与量(ppm)		対照群	200	500	1250	対照群	200	500	1250	
1群当たり動物数		5	5	5	5	10	10	10	10	
妊娠動物数		5	5	5	5	10	10	10	10	
親 動 物	着床	黄体数	16.8	16.2	16.6	16.2	14.8	15.0	15.7	15.1
		着床数	15.4	15.0	15.2	14.4	14.3	14.9	14.8	14.4
	所見	生存胎児数	14.4	13.0	14.2	13.6	12.4	13.9	13.7	13.6
		吸収胎児数	1.0	2.0	1.0	0.8	1.9	1.0	1.1	0.8
児 動 物	1群当たり動物数		72	65	71	68	124	139	137	136
	体重(g)		3.32	3.31	3.58	3.76↑	3.54	3.31	3.69	3.73
	性別(雄/雌)		0.8	1.08	0.97	1.0	1.34	0.96	1.04	1.06
	奇形(平均%)		0.0	0.0	0.0	0.0	1.4	0.7	2.1	0.6
	骨格変異(平均%)		29.0	2.9	6.2	5.4	7.7	8.2	8.6	10.4
	内臓変異(平均%)		7.5	2.9	2.5	3.3	16.4	21.6	0.0	7.0

- : 検査せず ↑↓ : p<0.05 △▽ : p<0.01 (Kruskal-Wallis 検定) (空欄は異常なし)

催奇形性検査で見られた奇形及び主な変異

世代		親 : P 児 : F _{1b}				
投与量(ppm)		対照群	200	500	1250	
児動物	1群当たり動物数(腹数)	72(5)	65(5)	71(5)	68(5)	
	奇形	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	
	1群当たり動物数(腹数)	36(5)	33(5)	35(5)	34(5)	
	骨格変異	第12胸椎骨二分	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)
		胸椎骨蝶形状	4(1)	0(0)	0(0)	1(1)
		胸骨癒合及び未骨化	2(1)	0(0)	0(0)	0(0)
		前仙骨椎骨数27	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
		頸肋	4(1)	0(0)	1(1)	0(0)
		仙骨・尾骨椎弓減少	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
		骨化遅延	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
	1群当たり動物数(腹数)	36(5)	32(5)	36(5)	34(5)	
	内臓変異	腹部内出血	2(1)	0(0)	1(1)	0(0)
		精巣位置のずれ	2(1)	1(1)	0(0)	1(1)

世代		親 : F _{1b} 児 : F _{2b}				
投与量(ppm)		対照群	200	500	1250	
児動物	1群当たり動物数(腹数)	124(10)	139(10)	137(10)	136(10)	
	奇形	無眼球又は小眼球	2(1)	1(1)	1(1)	1(1)
		水頭症	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
		大動脈弓走行異常	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
	1群当たり動物数(腹数)	63(10)	69(10)	69(10)	66(10)	
	骨格変異	第12胸椎骨二分	0(0)	0(0)	2(2)	0(0)
		胸椎骨蝶形状	3(2)	2(2)	3(2)	2(2)
		前仙骨椎骨数27	1(1)	2(1)	1(1)	3(2)
		頭頂骨又は後頭骨の減少	1(1)	0(0)	0(0)	3(1)
		化骨遅延	0(0)	2(2)	0(0)	0(0)
		肋骨のねじれ	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
	1群当たり動物数(腹数)	59(10)	69(10)	65(10)	69(10)	
	内臓変異	精巣位置のずれ	2(2)	3(3)	0(0)	1(1)
		眼球大きさ減少	3(2)	3(2)	0(0)	1(1)
		眼球出血	1(1)	0(0)	0(0)	1(1)
		皮下浮腫	3(2)	5(3)	0(0)	0(0)
		皮下出血	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)
		膀胱拡張	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
		腎臓位置の骨盤腔拡大	2(1)	1(1)	0(0)	1(1)
心室中隔欠損		0(0)	1(1)	0(0)	1(1)	
特別な小動脈管発生		0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	

・異常・変異については動物数(腹数)を記載。腹当りの発生率の統計は、Fischer検定を用いて行ったが、有意差のある所見は無かった。

各世代において、臨床学的反応徴候及び投与に関連した死亡も観察されなかった。また F₀ 及び F_{1b} 世代のいずれにおいても、交尾、妊娠成績及び妊娠期間に悪影響を及ぼさなかった。3 世代(F₀、F₁、F_{2b})にわたって、飼料摂取量に検体投与と関連を示す差異は認められなかったが、F_{1b} 及び F_{2b} 世代の雌の飼料摂取量は 1,250 ppm 群で低かった。体重変化では、F_{1b} 及び F_{2b} 世代の雌雄とも、1,250 ppm 群で体重増加量が低かった。しかし、雌の妊娠及び授乳期間においては、検体投与と相関性を示す差異は認められなかった。新生児体重では、各群で低値が認められたが、検体投与と相関性を示す変化ではなかった。

F_{1b} 及び F_{2b} 世代の帝王切開動物において検査した同腹胎児数、胎児死亡率、胎児重量及び異常児の発生頻度に、検体投与に関連した変化はなかった。

F_{2b} 世代の臓器重量では、肝臓、腎臓及び脾臓重量の増加が対照群を含む各群で認められたが、これらは生理学的変化と考えられた。

血液及び血液生化学的値にときどき認められた統計学的有意差は小さく、一定のパターンに従わなかった。

F_{2b} 動物の内眼的病理検査及び対照群と 1,250 ppm 群から選抜された動物の顕微鏡学的検査からは、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果から、3 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、1,250 ppm 群で体重増加抑制、摂取量の低下が認められたが、繁殖能に関しては明確な変化は認められなかった。

従って、一般毒性の無毒性量は 500 ppm (雄 33.3 mg/kg/day、雌 41.7 mg/kg/day)、繁殖毒性の無毒性量は 1,250 ppm と判断される。

また、最高用量の 1,250 ppm でも胎児に対して催奇形性を示さないと判断される。

(2) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 10-1)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1988年

検体の純度：

試験動物：ニーゼーランドホワイト系妊娠ウサギ(体重 3.42~4.66 kg) 1群 18匹

試験期間：1987年7月2日~1987年10月15日

投与は妊娠6日から19日までの14日間

投与方法：検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、6.25、12.5及び25 mg/kgの投与量で妊娠6日から19日までの14日間、毎日1回経口投与した。

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、体重を毎日測定し、妊娠0、6、8、10、12、14、16、18、20、24、28日目に平均±標準偏差を算出した。

摂餌量は、第1~5日、第6~12日、第13~19日、第20~23日及び第24~28日の各期間に測定した。

妊娠29日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数、死亡胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。

生存胎児全例について内臓検査を行った後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果:

投与群(mg/kg/日)		0	6.25	12.5	25		
1群当り動物数		18	18	18	16		
親動物	一般状態	妊娠 21 日に流産(1例)	妊娠 21 日に流産(1例)	糞便量の低下	糞便量の低下 妊娠 20 及び 22 日に流産(各 1 例)		
	死亡率(%)	0	0	0	0		
	切迫屠殺動物数	1 (気管内誤投与による)		1 (気管内誤投与による)			
	体重変化			増加量の減少	増加量の減少		
	摂餌量			低下	低下		
	妊娠動物数	15	16	14	14		
	生存胎児出産動物数	13	15	13	12		
	着床所見	黄体数	10.2±2.7	12.1±4.2	10.5±1.7	10.3±2.5	
		着床数	8.5±2.1	8.6±3.9	8.7±2.7	8.7±3.3	
		生存胎児数	7.5±2.0	7.5±3.5	7.9±2.6	7.3±2.7	
吸収胚数		1.0±1.0	1.1±1.0	0.8±0.9	1.4±1.2		
胎盤重量		5.4±0.3	5.7±0.3	5.3±0.3	5.9±0.4		
胎児動物							
体重(g)		39.2±1.5	41.7±2.0	39.1±1.9	40.5±2.0		
性比(雄/雌)		1.17	0.95	1.32	0.92		
異常・変異	検査動物数(腹数)		98(13)	113(15)	108(13)	87(12)	
	外表異常	胸腔に緑色液を貯留した囊胞	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	
		検査動物数(腹数)		98(13)	113(15)	108(13)	87(12)
	骨格	胸骨分節癒合		1(1)	2(2)	2(2)	5(5)
		第 13 肋骨浮遊		2(1)	3(2)	3(3)	6(4)
		中手骨不完全骨化		15(8)	16(6)	12(7)	23(8)
		前仙骨	26	76(13)	98(15)	90(13)	79@ (12)
			椎骨数	27	22(9)	20(7)	13(6)
	検査動物数(腹数)		68(13)	79(15)	70(13)	59(12)	
	頭部	大泉門の大きさ	小	5(4)	22** (11)	20** (9)	6(3)
			中	63(13)	57** (15)	50** (13)	51(12)
			大	0(0)	0(0)	0(0)	2(1)
		鼻部縫合線過剰		0(0)	0(0)	0(0)	2(2)
	検査動物数(腹数)		30(13)	34(14)	33(13)	28(12)	
	剖面観察時異常	蝸牛出血	1(1)	5(4)	4(4)	11▲ (8) *	

・異常・変異については投与量に相関して増加傾向の所見、あるいは統計的有意差が見られた所見について

動物数 (腹数) を記載。また、上表における空欄は異常なし。

** : p<0.01 (χ²検定) #: p<0.01 (Fischer 検定)

@ : p<0.05 (Mann Whitney U-test) ▲ : p<0.01 (Mann Whitney U-test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

12.5 及び 25 mg/kg 群で親動物の体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められ、検体投与に起因すると考えられた。

胎児動物については、体重、胎児死亡率、外表、骨格及び内臓異常の発現率にいずれの投与群も対照群との間に検体の影響と考えられる統計学的有意差は認められなかった。25 mg/kg 群の内臓検査で、蝸牛出血を有する胎児の頻度が増加したが、この所見の生物学的意義は不明であった。

以上の結果から、本検体の妊娠ウサギ（親動物）における無毒性量は 6.25 mg/kg/日であり、高用量の 25 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を示さないと判断される。

(12) 変異原性試験

(1) 細菌を用いた突然変異誘起性試験

(資料 11)

試験機関

報告書作成年 1978年

1) DNA 修復試験

検体の純度：

方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H17)と欠損株(M45)を用い、DNA の損傷誘発性を検定した。検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、直径 10 mm の濾紙に 0.02 ml 染みこませて試験を行った。

結果：

薬物	濃度 µg/disk	阻止域(mm)		差(mm)
		<i>B. subtilis</i> M45(rec-)	<i>B. subtilis</i> H17(rec+)	
対照(DMSO)	-	0	0	0
検体	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	2	<1	
	500	2	1	1
	1000	2	1	1
	2000	2	1	1
陰性対照 (Kanamycin)	10	7.5	5	2.5
陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	11	0	11

検体は修復機構欠損株(M-45)及び組換修復機構保持株(H-17)に対して軽度の生育阻止帯を示したが、生育阻止の差は軽度であった。

一方、陽性対照の Mitomycin C では H-17 に比べ M-45 で著明な生育阻止の差が生じた。

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。

2) 復帰突然変異試験

検体の純度：99.5%

方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E. coli* WP2hcr 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 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異性を検定した。検体は DMSO に溶解した。

結果： (復帰変異コロニー数は2反復試験の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		-	19	4	112	7	10	30
検体	10	-	21	7	181	5	9	22
	50	-	25	4	115	7	13	39
	100	-	21	5	188	7	18	29
	500	-	16	8	112	7	12	27
	1000	-	24	5	182	7	13	29
	5000	-	10	4	81	1	8	13
対照(DMSO)		+	17	4	182	5	19	32
検体	10	+	18	3	115	7	23	25
	50	+	22	5	110	3	16	30
	100	+	20	4	126	5	16	27
	500	+	21	3	112	5	15	27
	1000	+	26	5	104	7	19	32
	5000	+	13	2	64	2	7	22
2-aminoanthracene	10	-	25	6	216	16	29	50
	10	+	178	213	>3000	371	>3000	>3000
陽性対照		-	a)	b)	c)	d)	e)	f)
			1492	740	976	>10000	>3000	320

a) 0.25 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

b) 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ β -propiolactone

c) 0.05 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

d) 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-aminoacridine

e) 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-nitrofluorene

f) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2

本検体は、代謝活性化を含め 5,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

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

(2) 細菌を用いた突然変異誘起性試験

(資料 12)

試験機関

報告書作成年 1978 年

1) 細菌を用いた DNA 修復試験

検体の純度：

方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H17)と欠損株(M45)を用い、DNA 損傷の誘発性を検定した。検体を DMSO に溶解して供試した。

結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{well}$)	阻止域(2 反復の平均 mm)		差(mm)	判定
		<i>B.subtilis</i> M45(rec-)	<i>B.subtilis</i> H17(rec+)		
H ₂ O	-	0	0	0	-
対照(DMSO)	-	0	0	0	-
検体	25	0	0	0	-
	250	1	0	1	-
	1000	2	0	2	-
	2500*	2	0	2	-
	10000*	4	3	1	-
陰性対照 (HCD)	(2N)	16	15	1	-
(Kanamycin)	50	10	8	2	-
陽性対照(AF-2)	10	23	12	11	+

* 結晶析出

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

本検体は修復機構欠損株(M45)及び組換修復機構保持株(H17)に対して阻止帯の長さに差がなく、陰性と判定された。

一方、陽性対照の AF-2 では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体には DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

2) 復帰突然変異試験

検体の純度：

方法：トリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2 try⁻株及びヒスチジン、ビオチン要求性の *Styphimurium* TA100、TA98 を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) 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。

検体は DMSO に溶解して供試した。

結果： (復帰変異コロニー数/plate)

薬物	濃度		S-9Mix の有無	塩基置換型 WP2 try ⁻	判定
	mg/ml	μg/plate			
対照(DMSO)	0		-	28	
検体	2	400	-	18	-
	10	2000	-	20	-
対照(DMSO)	0		-	23	
検体	20	4000	-	14	-
	50	10000*	-	7	-
	100	20000*	-	2	-
	200	40000*	-	0	-
対照(DMSO)	0		+	21	
検体	2	400	+	16	-
	10	2000	+	18	-
対照(DMSO)	0		+	21	
検体	20	4000	+	16	-
	50	10000*	+	7	-
	100	20000*	+	1	-
	200	40000*	+	0	-
対照(DMSO)	0		-	26	
陽性対照	20 μg/ml	4	-	463	+
対照(DMSO)	0		+	26	
陽性対照	20 μg/ml	4	+	59	+

陽性対照 MNNG : 1-methyl-N⁺-nitro-N-nitrosoguanidine

* 結晶析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(復帰変異コロニー数/plate)

薬物	濃度		S-9Mix の有無	塩基置換型 TA100	フレームシフト型 TA98	判定
	mg/ml	μg/plate				
対照(DMSO)	0		-	44	36	
検体	0.5	100	-	49	31	-
	5.0	1000	-	49	25	-
	50	10000*	-	0	16	-
対照(DMSO)	0		-	287	38	
検体	1.0	200	-	290	47	-
	2.0	400	-	338	45	-
対照(DMSO)	0		-	189	24	
検体	10	2000	-	206	23	-
	20	4000	-	189	24	-
	50	10000*	-	試験なし	18	-
対照(DMSO)	0		+	53	45	
検体	0.5	100	+	46	50	-
	5.0	1000	+	55	57	
	50	10000*	+	0	33	
対照(DMSO)	0		+	144	48	
検体	1.0	200	+	136	50	-
	2.0	400	+	150	52	-
対照(DMSO)	0		+	245	28	
検体	10	2000	+	250	36	-
	20	4000	+	213	28	-
	50	10000*	+	試験なし	23	-
対照(DMSO)	0	0	-	266	試験なし	
陽性対照 1	20 μg/ml	4	-	>3000		+
対照(DMSO)	0	0	+	222		
陽性対照 1	20 μg/ml	4	+	435		+
対照(DMSO)	0	0	-	試験なし	24	
陽性対照 2	250 μg/ml	50	-		35	-
対照(DMSO)	0	0	+		28	
陽性対照 2	250 μg/ml	50	+		1988	+

陽性対照 1 : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)

陽性対照 2 : 2-fluorenylacetamide (2-FA)

* 結晶析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本検体は、代謝活性化を含め 4,0000 μ g/plate の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた MNNG、AF-2 では全ての検定菌株で復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

3) 宿主経由試験

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス、7週令 1群雄各6匹

方法：検体を0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)溶液に懸濁し、体重10g当り0.2mlを3回経口投与した。陰性対照として溶媒を、陽性対照として dimethylnitrosamine (DMNA)を投与した。供試菌株として *S. typhimurium* G46 を検体投与後、腹腔内に2ml投与し、復帰変異菌数及び生存菌数を測定した。各群、6反復試験として実施した。

結果：

薬物	総投与量(mg/kg)	復帰変異菌数/10 ⁸ 生存菌数 (平均値±S.D.)
対照(0.5%CMC)	-	0.65±0.43
検体	55×3	1.38±1.11
	110×3	0.70±0.46
陽性対照(DMNA)	50×3	127±97**

** : p<0.01

検体の高用量群及び低用量群は対照群との間に統計学的有意差はなく、陰性と判定された。陽性対照のDMNAは明らかに陽性を示した。

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

(8) マウスを用いた小核試験

(資料 14)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1983 年

検体の純度：

試験動物：BDF₁(SLC)系マウス雄、9週令で試験に供した。

試験開始時の体重範囲；単回投与 25.2~28.4 g、連続投与 25.4~27.8 g

1群当りの動物数：単回及び連続投与試験とも1群6匹

試験方法：検体を0.25%CMC水溶液に懸濁し、単回投与では550、1,100、2,200 mg/kgの用量を、連続投与では700 mg/kgの用量を、胃ゾンデを用いて胃内に強制経口投与した。単回投与の場合は30時間後に、連続投与の場合は投与終了6時間後に動物を屠殺し、大腿骨より骨髓細胞を洗い出し塗抹標本を作成した。

標本をメタノール固定、May-Gruenwald及びGiemsa染色したのち鏡検により動物1匹当たり赤血球1,000個中の多染性赤血球(PCE)数及びPCE1000個中の小核を有する多染性赤血球(MNE)数を測定した。

用量設定理由；

試験結果：

試験	薬剤	薬量 (mg/kg)	小核赤血球出現頻度 (%、平均±SD) (1)	多染性赤血球の割合 (%、平均±SD) (2)
単回 投与	対照 CMC	0	2.5±1.0	60.2±4.1
	検 体	550	2.5±1.9	57.4±7.7
		1100	2.2±1.0	51.1±9.4*
		2200	2.3±1.2	52.2±13.7
	陽性対照 Mitomycin C (腹腔内投与)	8	100.7±11.7**	20.1±4.8**
5回連 続投与	対照 CMC	0	1.5±1.4	54.5±5.8
	検 体	700	1.7±0.5	35.2±8.8**

*p<0.05 **p<0.01 (1) Kastenbaum and Bowman 法 (2) Student t検定

以上の結果から、本検体は骨髓細胞に対し細胞遺伝学的影響を誘起しないと判断された。

(4) チャイニズハムスター肺線維芽細胞における *in vitro* 染色体異常試験

(資料 15)

試験機関 (財)食品農医薬品安全性評価センター
[GLP]

報告書作成年 1989年

検体の純度 :

試験方法: チャイニズハムスターの継代培養した肺線維芽細胞(CHL/TU)を用いた。検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。濃度設定のために実施した細胞増殖抑制試験の結果から、本試験の濃度は、直接法では 24 時間及び 48 時間処理で各々 320 及び 120 μ g/ml、代謝活性化法では 640 μ g/ml を最高濃度とした。

細胞増殖抑制試験 :

各濃度で 200 個の分裂中期像を観察した。

染色体の異常を染色分体型ギャップ(染色体型ギャップを含む)、染色分体型切断、染色体型切断、染色分体型交換、染色体型交換、その他(断片化等)に分類し、これらの異常を 1 個でも有する細胞を異常細胞として計測した。

結果の判定: ギャップを含めた異常を有する細胞の出現頻度が 5%未満を陰性、5%以上 10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とした。

陽性対照として、直接法では *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*'-nitrosoguanidine(MNNG)を、代謝活性化法では 1,2-benzo[a]pyrene(B(a)P)を用いた。

試験結果: 次ページに示す。

検体処理による染色体異常出現頻度は、直接法及び代謝活性化法において、構造異常、数的異常のいずれとも僅かな増加傾向が観察されたが、溶媒対照に比べ有意な誘発増加ではなかった。

以上の結果から、代謝活性化法を含めた本試験条件下において、本検体は *in vitro* 系のチャイニズハムスターの肺線維芽細胞(CHL/TU)に対し、染色体構造異常及び倍数性細胞を誘発しないものと判断される。

染色体異常試験結果

方法	S9 mix	時間*	濃度 (μ g/ml)	観察 細胞数	構造的異常を有する細胞数						TAG (%)	TA (%)	倍数体 細胞 (%)	判定
					gap	ctb	csb	cte	cse	other				
直接法	-	24-0	DMSO	200	3	0	1	0	1	0	2.0	1.0	0.0	-
			80	200	3	0	0	1	1	0	2.5	1.0	0.0	-
			160	200	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0	-
			320	200	1	1	0	1	0	0	1.5	1.0	0.0	-
			MNNG(2.0)	200	13	56	0	157	0	1	82.0	81.5	0.0	+
	-	48-0	DMSO	200	1	0	0	0	1	0	1.0	0.5	0.0	-
			80	200	1	1	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0	-
			60	200	0	2	0	2	1	0	2.5	2.5	0.0	-
			120	200	9	3	1	1	1	0	4.5	3.0	0.5	-
			MNNG(2.0)	200	14	48	2	16	16	0	59.0	57.5	5.5	+
代謝活性化	+	6-18	DMSO	200	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	1.0	-
			160	200	0	0	0	0	1	0	0.5	0.5	3.5	-
			320	200	1	4	3	4	1	0	4.5	4.5	1.5	-
			640	200	1	1	0	3	1	0	3.0	2.5	0.0	-
			B(a)P(30.0)	200	4	4	2	63	7	0	38.0	31.5	1.0	+
	-	6-18	DMSO	200	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.5	-
			60	200	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	1.0	-
			120	200	3	1	0	1	1	1	3.0	2.0	3.5	-
			240	200	1	0	2	5	0	0	3.5	3.0	2.5	-
			B(a)P(30.0)	200	2	0	1	0	1	0	2.0	1.0	1.0	-

* 検体を含む培地で処理した時間-検体を除いた後、新鮮な培地に換えて培養した時間

gap: 染色体分型、染色体型ギャップ

ctb: 染色体分型切断 cte: 染色体分型交換 csb: 染色体型切断

cse: 染色体型交換 other: その他(断片化等)

TAG: ギャップを含めた構造的異常を有する細胞の出現率

TA: ギャップを除いた構造的異常を有する細胞の出現率

(13) 生体の機能に及ぼす影響

一般薬理試験

(資料16)

試験機関

報告書作成年 1988年

検体の純度：

(1) マウスの中樞神経系に対する作用

1) 自発行動への影響

供試動物：ICR系マウス、体重28.0~32.6g、1群雄10匹

試験方法：検体を0.5%CMC生理食塩水溶液に懸濁して、100、800及び1,000 mg/kgを経口投与し、24時間後までIrwinの多元観察法に準じ一般症状を観察した。

試験結果：300 mg/kg群では、投与30分後から3例に自発運動の抑制がみられたが、3時間後には正常に復した。1,000 mg/kg群では、投与5~15分後から自発運動の抑制がほぼ全例に、又、少数例に腹筋緊張度の低下、触反応の低下、体温下降が認められたが、24時間後には全例正常に復した。

2) 自発運動量への影響

供試動物：ICR系マウス、体重26.5~32.9g、1群雄10匹

試験方法：検体を0.5%CMC生理食塩水溶液に懸濁して、100、300及び1,000 mg/kgを経口投与し、Irwinの回転カゴ法で投与直後から10分間隔で200分後まで回転数を測定した。

試験結果：300 mg/kg群では、対照群に比べ低値を示し、20分及び40~120分では有意な低下が認められた。1,000 mg/kg群でも同様に対照群に比べ低値を示し、10分及び30~130分では有意な低下が認められた。

(2) ウサギの呼吸、循環器系に対する影響

供試動物：日本白色種ウサギ、体重3.21~3.35kg、1群雄5匹

試験方法：検体を0.5%CMC生理食塩水溶液に懸濁して1、5及び25 mg/kgをウサギの静脈内に投与し、呼吸、血圧、心拍数を測定し、心電図を記録した。

さらにacetylcholine chloride (Ach)及びepinephrine chloride (Epi)の反応に対する影響を単独作用のみられない1 mg/kg群で検討した。

試験結果：

1) 単独作用について次ページにまとめた。

試験群	呼吸数	呼吸振幅	血圧	心拍数	心電図	
対照(0.5%CMC生理食塩水)						
検体の投与量 mg/kg	1					
	5	投与後増加、2分後には15.6%の増加、20分後に回復	投与後減少、2分後には9.5%の減少、10分後に回復	30秒後に収縮期血圧で10.9%、拡張期血圧で15.8%の下降、20分後に回復	30秒後に1.3%の増加、30分後に回復	
	25	30秒後には42.7%の増加、30分後でも14.6%の増加	2分後には、27.2%の減少、30分後には5.7%減まで回復	2分後に収縮期血圧で39.0%、拡張期血圧で43.9%の下降、徐々に回復	2分後に2.8%増加、10分後に回復	2/5例に頻脈に伴うR-R間隔の短縮、内1例にR波の高さの上昇が認められた。

(空欄は変化なし)

2) Ach 及び Epi の反応への影響：

実施した 1 mg/kg 群では Ach 及び Epi の呼吸数、呼吸振幅、血圧、心拍数及び心電図の反応に対する影響は認められなかった。

(3) モルモット及びラットの平滑筋に対する影響

1) 摘出回腸への影響

供試動物：Hartley系モルモット、体重 360~400 g、1群雄 5~6 匹

試験方法：モルモットを 18 時間絶食し、常法に基づいて回腸を摘出し、栄養液(32°C)を満した Magnus 装置に懸垂し、収縮反応を記録した。検体 10^{-6} ~ 3×10^{-4} g/ml の単独作用と Ach 及び histamine dihydrochloride (Hist) を累積投与し、相互作用を検討した。

試験結果：

i) 単独作用；検体 10^{-6} ~ 3×10^{-4} g/ml 投与で影響は認められなかった。

ii) Ach 及び Hist の用量反応曲線への影響：検体 10^{-4} g/ml 投与で Ach 及び Hist による収縮に対し、抑制的に作用した。

2) 摘出子宮への影響

供試動物：Wistar系ラット、体重 155~178 g、1群雌 5~6 匹

試験方法：処女ラットの卵巣を摘出し、Vaginal smear test で発情期間を確認したのち、子宮を摘出し、栄養液の温度を 25°C とした他は摘出回腸と同様に行った。検体 10^{-6} ~ 3×10^{-4} g/ml の単独作用と Ach 及び oxytocin の累積投与による相互作用を検討した。

試験結果：

i) 単独作用：検体 10^{-6} ~ 3×10^{-4} g/ml で影響は認められなかった。

ii) Ach 及び oxytocin の用量反応曲線への影響: 検体 10^{-6} 及び 10^{-4} g/ml 投与で Ach 及び oxytocin による収縮に対し抑制的に作用した。

(4) ラットの肝機能に対する作用

供試動物: Wistar 系ラット、体重 128~151 g、1 群雄 10 匹

試験方法: 検体を 0.5% CMC 生理食塩水溶液に懸濁して、100、300 および 1,000 mg/kg を経口投与した。投与 30 分後 Sulfobromophthalein (BSP) 75 mg/kg を尾静脈より投与し、30 分後にエーテル麻酔下で頸動脈より採血し、血清 BSP 濃度を比色定量して BSP 排泄能への影響を検討した。

試験結果: 検体の 1,000 mg/kg 群では、対照群と比べて有意な BSP 排泄抑制が認められた。

以上の結果から、本検体は比較的高用量で中枢神経系、循環器系、平滑筋、肝機能に抑制的な作用を示すものと思われ、経口的に適用された場合、作用をおこす最低用量は 300 mg/kg であった。

「生体の機能に及ぼす影響試験」の総括表

試験項目		動物種及び匹数/群	投与経路(溶液)	投与量(mg/kg)	影響量(mg/kg)	無影響量(mg/kg)	結果の概要
中枢神経系に及ぼす影響	自発行動への影響 Irwin 多元観察法	マウス 雄 10 匹	経口 (0.5% CMC-生理食塩水)	0, 100, 300, 1000	300	100	300 mg/kg 群で 30 分後に 3 例、1000 mg/kg 群で 5~15 分後に全例が自発運動の抑制、腹筋緊張度や触反応の低下、体温下降したが 24 時間後に全例回復
	自発運動量に及ぼす影響 Irwin 回転カゴ法	マウス 雄 10 匹	経口 (0.5% CMC-生理食塩水)	0, 100, 300, 1000	300	100	300 mg/kg 群で 20 分、40~120 分に有意な低値、1000 mg/kg 群で 10 分、30~130 分後に有意な低値
呼吸・循環器系に及ぼす影響		ウサギ 雄 5 匹	静脈内 (0.5% CMC-生理食塩水)	0, 1, 5, 25	心電図 25 その他 5	心電図 5 その他 1	5 mg/kg 以上の群で、呼吸数増加、呼吸振幅減少、血圧下降、心拍数増加したが、いずれも回復 25 mg/kg 群で 2 例が心電図 R-R 間隔の短縮 アセチコリン、エドニウム等の呼吸数等上記項目への影響なし
平滑筋への影響		モルモット 横出回腸 雄 5~6 匹	栄養液に懸垂	10^{-6} ~ 3×10^{-4} g/ml	—	3×10^{-4} g/ml	単独作用では影響なし
				10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml	10^{-4} g/ml	10^{-5} g/ml	アセチコリン、ヒスタミンの累積投与による収縮に抑制的に作用
		ラット 横出子宮 雄 5~6 匹	栄養液に懸垂	10^{-6} ~ 3×10^{-4} g/ml	—	3×10^{-4} g/ml	単独作用では影響なし
				10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml	10^{-5} g/ml	10^{-6} g/ml	アセチコリン、ヒスタミンの累積投与による収縮に抑制的に作用
肝機能 (BSP 排泄能)		ラット 雄 10 匹	経口	0, 100, 300, 1000	1000	300	1000 mg/kg で有意な BSP 排泄抑制

2. 製剤

(1) 3%液剤 (ピーエー液剤)

(1) 3%液剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 3-3)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1987年

検体の純度：3.0%液剤

【組成】 ベンジルアミノプリン ; 3.0%
界面活性剤、有機溶剤等 ; 97.0%

試験動物：CD-1系マウス、体重 雄 18.7~22.0 g、雌 17.0~19.0 g、1群雌雄各 5匹

観察期間：14日間

試験方法：検体を蒸留水で懸濁し経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を 14日間観察した。体重は投与直前、投与後 7日及び死亡時あるいは試験終了時に測定した。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。

試験結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	投与直後~2日
症状発現及び消失時間	投与直後~3日
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄とも<5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄とも<5000

中毒症状としては抑うつ、運動失調、粗毛、円背位が観察された。

体重は雌雄とも正常な増加を示した。

解剖所見としては、肝及び腎の退色化、肺の一部に硬化、膀胱の膨満、腸管に黄色液の貯留、が認められた。

(2) 3%液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 3-4)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1987年

検体の純度：3.0%液剤

〔組成〕 ベンジルアミノプリン ; 3.0%

界面活性剤、有機溶剤等 ; 97.0%

試験動物：SD系ラット、体重 雄 208.6~238.7 g、雌 221.8~235.6 g、1群雌雄各 5匹

観察期間：14日間

試験方法：検体を蒸留水で懸濁し、経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を 14日間観察した。体重を投与直前、投与後 7日及び死亡時あるいは試験終了時に測定した。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。

試験結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	4日(雄1例)
症状発現及び消失時期	投与直後~10日
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄とも<5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雄 <5000、雌 5000

中毒症状としては、抑うつ、粗毛、鼻/眼の赤色化、軟便、尿の着色が観察された。

体重は雌雄とも順調に増加した。

解剖所見として、肝臓及び腎臓の退色、脾臓の黒色化、胃及び腸の膨満、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クマイ化学工業株式会社にある。

(9) 3%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 3-5)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1987年

検体の純度：3.0%液剤

〔組成〕 ペンシルアミノプリン ; 3.0%

界面活性剤、有機溶剤等 ; 97.0%

試験動物：SD系ラット、体重 雄 244.5~263.8g、雌 246.2~261.9g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

試験方法：剪毛した背部に検体をそのまま塗布した。塗布後24時間に塗布面を水で洗浄した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。体重を投与直前、投与後7日及び試験終了時に測定した。試験終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	2000
LD ₅₀ (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	投与直後~2日
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄とも<2000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄とも2000

中毒症状として、軟便、変色尿、軽度な抑うつ、鼻または眼の赤色化が観察された。

体重は雌雄とも順調に増加した。

解剖所見として、腎臓の腎盂外皮の剥離、腸管に黄色あるいは赤色液の貯留が認められた。

(4) 3%液剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 3-6)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1987年

検体の純度：3.0%液剤

〔組成〕 ベンジルアミノプリン ; 3.0%

界面活性剤、有機溶剤等 ; 97.0%

試験動物：SD系ラット、体重 雄 316~359 g、雌 196~242 g、1群雌雄各 5匹

観察期間：14日間

試験方法：検体を 250 L チャンバー内で、通気量 50.2~60.0 L で噴霧させ、動物に 4 時間全身暴露した
設定濃度 64.4、22.6、及び 11.2 mg/L に対して、実際の曝露濃度はそれぞれ 6.47、3.21、
及び 1.27 mg/L であった。

試験項目：暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状及び生死を観察した。体重を投与直前、投与後 7 日及
び 14 日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物につき、肉眼的病理検査を実施
した。

試験結果：

投与方法	吸入	曝露量 (mg/L)	死亡率	
			雄	雌
曝露量(mg/L)	実際濃度 6.47、3.21、1.27			
LC ₅₀ mg/L (95%信頼限界)	雄 >6.47 雌 4.18 (2.63~6.62) 雌雄合計 5.06 (3.58~7.27)	6.47	2/5	5/5
死亡開始時間及び終了時間	1日~4日	3.21	0/5	1/5
症状発現及び消失時期	暴露直後~暴露終了後 14日			
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/L)	<1.27	1.27	0/5	0/5
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/L)	雄 3.21 雌 1.27			

曝露中の中毒症状としては、行動の緩慢、眼を細める状態、毛の濡れ、鼻漏が見られた。曝
露終了後では、これらの症状が継続するとともに、流涎、尿による毛の着色、眼の痲疹、振
戦、虚脱、粗毛、喘鳴、頻呼吸、呼吸困難、分泌反応の増加、が見られた。

体重変化では、6.47 mg/L 群の雄の生存例ならびに 6.47 及び 3.21 mg/L 群の雌雄の生存例
では 8 日目まで体重減少あるいは増加抑制が認められたが、15 日目では正常となり回復した。
解剖所見としては、肝臓の顕著な網状パターン、脾臓及び肝臓の退色、肝臓及び肺の黒色化、
斑点状の肝臓、肺及び胸腺、肺の虚脱、眼の混濁が認められた。

(5) 3%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 8-1)

試験機関

報告書作成年 1984年

検体の純度：3.0%液剤

[組成] ベンジルアミノプリン 3.0%
界面活性剤、有機溶剤等 97.0%

試験動物：日本白色種ウサギ雌、2ヶ月令、体重 非洗眼群 2.5±0.1 kg、洗眼群 2.6±0.1 kg
1群 非洗眼群 6匹、洗眼群 3匹

観察期間：7日間

試験方法：検体 0.1 ml を右眼の下眼瞼に適用し、洗淨群では適用 2 分後に滅菌した微温湯水で 1 分間洗眼した。

観察項目：適用後 1、4、24、48、72 時間、4 日及び 7 日に Draize の評価法に準じて角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

試験群	動物番号	項目	最高採点	適用後時間及び評価点						
				1時間	4時間	1日	2日	3日	4日	7日
非洗眼群	1	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	20	6	10	2	0	0	0	0
	2	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	20	6	6	0	0	0	0	0
	3	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	20	4	8	0	0	0	0	0
	4	角膜	80	20	20	10	5	0	0	0
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	20	14	14	10	8	2	2	0
	5	角膜	80	20	20	5	0	0	0	0
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	20	10	8	4	4	4	2	0
	6	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	20	10	10	4	0	0	0	0
合計			660	80	96	85	17	6	4	0
平均			110	18.8	16.0	5.8	2.8	1.0	0.67	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験群	動物番号	項目	最高 評点	適用後時間及び評価点							
				1時間	4時間	1日	2日	3日	4日	7日	
洗 眼 群	7	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	20	6	6	0	0	0	0	0	
	8	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	20	2	4	0	0	0	0	0	
	9	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	20	8	8	4	2	2	0	0	
	合計			330	16	18	4	2	2	0	0
	平均			110	5.3	6.0	1.3	0.67	0.67	0	0

非洗眼群に軽度の角膜混濁がみられたが、3日後には回復した。

洗眼群、非洗眼群ともに結膜障害(浮腫、発赤、排出物)を認めたが、非洗眼群に比較して洗眼群では軽度であり、回復も早かった。

以上の結果から、本検体(3.0%液剤)はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性があると判断された。

(6) 3%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 3-2)

試験機関

報告書作成年 1984 年

検体の純度：3.0%液剤

【組成】 ベンジルアミノプリン 3.0%

界面活性剤、有機溶剤等 97.0%

試験動物：日本白色種ウサギ雌、2ヶ月令、体重 2.6±0.1 kg、1群 6匹

観察期間：72 時間

試験方法：動物の刈毛皮膚に無傷の非擦過皮膚と角質層を除去した擦過皮膚のテスト部位をそれぞれ 2カ所、計 4カ所をもうけ、検体 0.5 ml を各テスト部位(3×8cm)に適用し半閉塞貼付した。適用時間は 4 時間とした。

観察項目：適用終了後、1、24、48 及び 72 時間に Draize の方法に従い、刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は、以下のとおりである。

皮膚	動物番号	刺激性変化	最高評点	適用終了後時間及び反応評点			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非擦過	1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	3	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	1	1	1	0
	4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	合計	紅斑・痂皮	24	1	0	0	0
		浮腫	24	1	1	1	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.17	0	0	0	
	浮腫	4	0.17	0.17	0.17	0	

皮膚	動物 番号	刺激性変化	最高 評点	適用終了後時間及び反応評点			
				1時間	24時間	48時間	72時間
擦過	1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	3	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	1	1	1	0
	4	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
	5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	合計	紅斑・痂皮	24	2	0	0	0
		浮腫	24	2	1	1	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.33	0	0	0	
	浮腫	4	0.33	0.17	0.17	0	

非擦過皮膚、擦過皮膚ともに軽度の紅斑及び浮腫を認めたが、紅斑は24時間後、浮腫は72時間後にそれぞれ回復した。

以上の結果から、本検体（3.0%液剤）はウサギの皮膚に対して極めて弱い刺激性があると思われる。

(7) 3%液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 3-7)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 1987年

検体の純度：3.0%液剤

〔組成〕 ベンジルアミノプリン ; 3.0%

界面活性剤、有機溶剤等 ; 97.0%

試験動物：ハートレー系モルモット雌雄、体重 316.8~443.7 g

1 群匹数 検体試験群 雌雄各 5 匹、陽性対照群 雌雄各 2 匹

観察期間：37 日間

試験操作：ビューラー法

用量設定根拠；雌雄各 2 匹を用いて、検体原液、25、50、75%(w/v)蒸留水希釈液をそれぞれ皮膚に 0.5 mL 塗布し、6 時間後に検体を除去して 24、48 時間後に皮膚の観察を行った。
その結果、感作暴露を原液で、惹起暴露を 50%希釈液で行うこととした。

試験群として、検体投与群、陰性対照群、及び陽性対照(DNCB)群を設けた。

感作曝露；剪毛した背部に 0.5 ml の検体を週 1 回、6 時間塗布しこれを 3 回繰り返した。
陽性対照 DNCB は、80%エタノール中 0.1%w/v 濃度で同様に塗布した。

惹起曝露；感作の 2 週間後、蒸留水で 50%に希釈した検体 0.5 ml を感作と同様な方法で塗布した。
陽性対照は、アセトン中 0.05%w/v 濃度で同様に塗布した。
陰性対照群として検体の惹起塗布を行った。惹起塗布はいずれも 24 時間とした。

観察項目；感作塗布の 24 時間後及び惹起塗布の 24 時間、48 時間後に Draize の方法にもとづいて紅斑及び浮腫を判定した。試験開始時及び終了時に体重を測定した。

試験結果；検体投与群では、惹起後 24 時間及び 48 時間とも紅斑や浮腫は認められなかった。
一方、陽性対照では明瞭な紅斑がみられた。
結果の概要を次ページに示した。

以上の結果から、本検体 (3%液剤) のモルモットに対する皮膚感作性は陰性と判断される。

感作曝露の皮膚反応

物質	性	動物数	評点	紅斑の評点、発現例数			浮腫の評点、発現例数		
				第1週	第2週	第3週	第1週	第2週	第3週
検体原液	雄	5	0	5	5	5	5	5	5
			1						
			2						
	雌	5	0	5	5	5	5	5	5
			1						
			2						
陽性対照	雄	2	0	2	2	1	2	2	2
			1			1			
			2						
	雌	2	0	2	2	1	2	2	2
			1			1			
			2						

(空欄は発現なし)

惹起曝露後の皮膚反応

物質		性	動物数	評点	紅斑の評点、発現例数		浮腫の評点、発現例数		
感作	惹起				24時間	48時間	24時間	48時間	
検体原液	検体50%希釈液	雄	5	0	5	5	5	5	
				1					
				2					
		雌	5	0	5	5	5	5	
				1					
				2					
なし	検体50%希釈液	雄	5	0	5	5	5	5	
				1					
				2					
		雌	5	0	5	5	5	5	
				1					
				2					
なし	陽性対照	雄	2	0			2	2	
				1	1	1			
				2	1	1			
		雌	2	0			2	2	
				1	1	1			
				2	1	1			

(空欄は発現なし)

(2) 1%塗布剤 (塗布用ピーエー、塗布用ベアニン)

(1) 1%塗布剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 3-8)

試験機関

[GLP]

報告書作成年 2004年

検体の純度：1%塗布剤

【組成】 ベンジルアミノプリン 1.0%
有機溶剤、界面活性剤等 99.0%

試験動物：ハートレー系白色モルモット雄、試験開始時 5~7 週令、開始時の体重 345~451 g
動物数 検体適用群 20 匹、対照群 10 匹、用量設定 第 1 群 4 匹、第 2 群 4 匹

試験期間：30 日間観察

試験操作：ビューラー法

用量設定根拠；用量設定第 1 群では、検体原液、25、50、75%(w/v)蒸留水希釈液を、同第 2 群では 3、5、10、15%(w/v)蒸留水希釈液を、それぞれ皮膚に 0.5 mL 塗布し、6 時間後に検体を除去して 24、48 時間後に皮膚の観察を行った。その結果、原液では 48 時間で評点 2 が 1 例、15% 希釈液では刺激性変化がみられなかったため、感作暴露を原液で、惹起暴露を 15% 希釈液で行うこととした。

感作暴露；剪毛したモルモットの左側腹部に検体原液を塗布し、6 時間後に除去した。
同様の操作を 7 日目、14 日目にも行った。対照群には何も投与しなかった。

惹起暴露；28 日目 (3 回目の感作暴露の 2 週間後) に、適用群及び対照群とも検体 15% 希釈液を適用した。6 時間後に検体を除去し、除去 24 時間後及び 48 時間後に皮膚の状態を観察した。

試験結果：惹起暴露の結果は以下のとおりであった。

試験群		供試動物数	皮膚反応	24時間					48時間					発生率		
				感作反応動物数					重症度	感作反応動物数						
感作	惹起			皮膚反応評点							皮膚反応評点					
				0	1	2	3	4	0		1	2	3	4		
検体原液	検体 15% 希釈液	20	紅斑又は浮腫	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0/20
-		10	紅斑又は浮腫	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0

感作暴露及び惹起暴露期間中のいずれも皮膚反応は認められなかった。各動物の体重は予想通りの増加を示した。

<陽性対照群について>

RCCで定期的に行われている陽性対照群の試験結果は以下のとおりである。

試験期間：2004年8月18日～2004年10月7日

被験物質：アルファヘキシル桂皮酸アルデヒド 5%PEG300 溶液

試験群 処理物質		供試 動物 数	皮 膚 反 応	24時間					48時間					発 生 率		
				感作反応動物数					重 症 度	感作反応動物数					重 症 度	
				皮膚反応評点						皮膚反応評点						
感作	惹起		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4				
被験 物質 希釈液	被験 物質 希釈液	20	紅斑 又は 浮腫	13	7				0.95	9	11			0.55	11/20	
PEG		10	紅斑 又は 浮腫	10					0	10				0	0/10	

以上のことから、本検体（1%塗布剤）は、モルモットに対して皮膚感作性がないと考えられた。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No	試験の種類	供試動物等	供試化合物・投与方法・処理量	結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
13	動物体内における代謝	ラット	<p>[プリン環-8-¹⁴C] 6-ベンジルアミノプリン</p> <p>経口投与： 雄雄各3匹 単回 2.5 mg/kg 7日間 反復 2.5 mg/kg 胆汁排泄：雄5匹 単回 2.5 mg/kg 妊娠・非妊娠雌 各5匹 7日間反復 2.5 mg/kg 全身オートラジオグラフィー</p>	<p>血漿中濃度 単回投与： Tmax； <u>20分</u> <u>24時間</u> Cmax；雄0.71 雌0.75 雄0.19 雌0.24 (μg/ml) 7回投与後： Tmax；<u>40分</u> <u>20分</u> <u>6時間</u> Cmax；雄0.84 雌1.08 雄0.84 雌0.75 (μg/ml) 各投与直前は0.2~0.4 μg/mlで蓄積性なし。 累積排泄率(7回投与後6日目まで)： 尿中；雄53.7% 雌52.2%AR 糞中；雄12.8% 雌18.7%AR 呼吸；雌雄とも約10%ARと試算された。 胆汁排泄；0~48時間 28.7%AR 組織内分布(7回投与後24時間)： 肝臓>肺>腎臓>脾臓、膵臓、副腎、心臓>生殖腺 代謝物：尿中で9成分(一部は)、胆汁中で11成分を分離。</p>	(1978)	179
17	動物体内における代謝 要求事項追加提出 1989年12月	ラット	<p>[プリン環-8-¹⁴C] 6-ベンジルアミノプリン</p> <p>単回経口投与： 雌雄 10, 200 mg/kg 単回経口投与 胆汁排泄： 雄 10, 200 mg/kg</p>	<p>血漿中濃度：<u>10 mg/kg</u> <u>200 mg/kg</u> Tmax時間；雄0.5 雌0.5 雄6 雌6 Cmax μg/ml；雄3.24 雌2.47 雄22.8 雌19.2 半減期時間；雄55 雌59 雄34 雌47 排泄(14日間の累積、200 mg/kg群)： 尿中；雄59.9% 雌63.8%AR 糞中；雄13.8% 雌11.6%AR 呼吸；雄13.0% 雌11.9%AR 胆汁排泄(200 mg/kg群)；0~48時間 22.7%AR 組織内分布(168時間)： 肝臓>肺>腎臓>副腎>脾臓>甲状腺、心臓、膵臓 代謝物：尿中で12成分を分離、 (最大約 %AR) > (最大約 %AR) > を 同定。糞中、胆汁中、組織中でも を同定。</p>	(1989)	184
18	動物体内における代謝 要求事項追加提出 1989年12月	イヌ	<p>[プリン環-8-¹⁴C] 6-ベンジルアミノプリン</p> <p>単回経口投与： 雌雄 5, 100 mg/kg</p>	<p>血漿中濃度：<u>5mg/kg</u> <u>100 mg/kg</u> Tmax時間； 1.5 2 Cmax μg/ml； 10.4 49.6 半減期時間；α相 3.8~6.9, β相 83~119 排泄(100 mg/kg群、14日間の累積、雌雄4匹)： 尿中；24.5% 糞中；27.9% AR (嘔吐物 28.4%) 呼吸 0~24時間；雄3.4% 雌5.1%AR 組織内分布(14日後)：肝臓>肺、副腎>腎臓>心臓、 膵臓>脾臓、甲状腺 代謝物：尿中で (最大 %AR)、 を同定。 糞中でも 、 を確認。</p>	(1989)	190

HRC: Huntingdon Research Centre (英国)

資料 No	試験の種類	供試動物等	供試化合物・投与方法・処理量	結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
13-2	植物体内における代謝	ぶどう	[プリン環-8- ¹⁴ C] 6-ベンジルアミノプリン 葉面散布： 200 ppm 房に散布： 220 ppm	葉面散布：放射能回収率は0日で92%、177日で47%。処理部以外への移行はなかった。 大部分が、代謝物を同定。 房に散布：果実中の放射能濃度は21日間ほぼ一定で1-3μg/g。大部分が未変化体で、少量の代謝物を同定。 果実の抽出残液は14日後に%まで増大。	(1978)	195
13-3	植物体内における代謝	大豆 組織培養	[プリン環-8- ¹⁴ C]、[メチレン- ¹⁴ C]、[ベンゼン環- ¹⁴ C] 6-ベンジルアミノプリン 各標識体 0.5 mg/l 添加、20日間培養	いずれの標識体も、放射能は可溶性 RNA 面分に取り込まれた。その殆どはの と考えられ、 が優先的に mRNA に取り込まれることを示した。	(1967)	198
13-4	植物体内における代謝	オナモミ 切り葉	[プリン環-8- ¹⁴ C] 6-ベンジルアミノプリン 50 mg/l、20℃、暗所に22日間保管	未変化体を確認。速やかに代謝されを生成、とな った。その他、を少 量検出。は RNA に取り込まれた。	(1962)	199
13-5	植物体内における代謝	大根苗 9日令		主な代謝物はで、子葉部分に存在。その他の代謝物として、 を確認。	(1972)	200
13-6	植物体内における代謝	トウモロコシ 実生		代謝物：	(1973)	201
		大根苗 9日令	[G- ³ H] 6-ベンジルアミノプリン 根部を除去し圧軸を60μM溶液に8時間浸漬、16時間水中に静置。	代謝物：		
13-7	土壌における代謝	シルト質 壤土 砂壤土	[プリン環-8- ¹⁴ C] 6-ベンジルアミノプリン 10 mg/kg 添加 22℃、暗所で 128日間培養	¹⁴ CO ₂ の発生： <u>1週 2週 4週 10週</u> 壤土 4.6 34.2 48.0 54.6 %AR 砂壤土 9.9 26.8 59.4 67.4 %AR 親化合物の分解： <u>0日 4日 8日 16日 32日</u> 壤土 86 55 21 7.8 2.0 %AR 砂壤土 87 47 20 5.3 1.2 %AR 半減期 (作図法)：壤土11日、砂壤土7日 抽出残液の分画： <u>フルボ酸 フミン フミン酸</u> (16日後) 壤土 3.6 4.5 14.0 %AR 砂壤土 4.9 2.7 7.0 %AR 土壌中の代謝は速やかで、殆どがとして揮散。	(1978)	202

