

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(8) 慢性毒性及び発がん性

カフェンストロールのラットにおける飼料混入投与による

慢性毒性/発がん性併合試験 (資料 No. 20)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1994 年

検体の純度 :

試験動物 : Fischer 系ラット(F344/DuCrj)、1 群雌雄各 60 匹、投与開始時 5 週齢
各群雌雄各 10 匹は、投与開始 52 週後に中間屠殺し、各種検査を行った。

試験期間 : 24 ヶ月(雄; 1992 年 4 月 28 日~1994 年 4 月 28 日)
(雌; 1992 年 5 月 13 日~1994 年 5 月 16 日)

投与方法 : 検体を 0, 12.5, 400 および 800ppm の濃度で飼料に混入し、24 ヶ月間にわたって
摂食させた。検体を混入した飼料は 9~13 週間に 1 回の頻度で調製し、安定性が
保証されている期間(18 週間)内に使用した。

投与量設定根拠 :

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毎日観察した。

皮下織の結節の増加が 12.5ppm 群の雌で認められたが、高用量群では増加傾向は
みられなかった。その他に、眼球混濁、脱毛等が対照群を含む全群で観察された
が、いずれも検体に起因した変化とは考えられなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	12.5	400	800
死亡率 (%)	雄	30 (100)	28 (93)	24 (80)	30 (100)
	雌	28 (100)	22 (79)	16 (57)	26 (93)

注) () : 対照群に対する変動率 (%)

投与群において、死亡率の増加はみられなかった。

体重変化；投与開始から 13 週後までは週 1 回、その後は 3 または 4 週に 1 回、全動物の体重を測定した。

その結果を下表に示す。

投与量 (ppm)		12.5		400		800	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与開始後期間	投与前	100	100	99	100	99	99
	4 週後			↓97		↓98	↓97
	13 週後			↓97	↓97	↓96	↓94
	26 週後			↓97	↓97	↓96	↓94
	52 週後				↓95	↓96	↓91
	78 週後				↓95	↓97	↓91
	104 週後						↓93

注) 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

(Dunnett または Scheffe の多重比較検定)

400ppm 以上の投与群の雌雄で、増加抑制が継続して認められた。

摂餌量及び食餌効率；投与開始から 13 週後までは週 1 回、その後は 3 または 4 週に 1 回、全ケージの摂餌量を測定し、投与開始から 13 週後までは食餌効率も算出した。800ppm 群の雌雄において、摂餌量の抑制が継続して認められ、同群の雌では食餌効率の低下が投与開始後 1 週間にみられた。12.5 および 400ppm 群の雌雄においても有意な低下もしくは増加がみられたが、継続した変化ではなく、検体投与によるものとは考えられなかった。

検体摂取量；摂餌量および投与濃度から算出した 1 日当たりの平均検体摂取量は以下の表のとおりであった。

投与量 (ppm)		12.5	400	800
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.44	14.3	28.6
	雌	0.53	17.7	36.0

血液学的検査；投与開始後 26, 52 および 78 週に各群雌雄各 10 匹、104 週後には全生存動物を対象として、眼窩静脈叢もしくは後大静脈から血液を採取し、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数および白血球百分比を測定した。

次頁の表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (ppm)	12.5				400				800				
	検査時期 (週)	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
ヘマトク リット値	雄												
	雌								↓97				
MCV	雄									↓98	↓97	↓96	↓97
	雌											↓97	
MCH	雄						↓98						
	雌											↓97	
MCHC	雄						↑101		↑101	↑102	↑102		↑102
	雌						↑102		↑101	↑101			↑101
白血球数	雄									↑121			
	雌												
単球比率	雄												
	雌			↓50				↓50				↓50	

注) 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe の多重比較検定)

白血球数の増加が 800ppm 群の雄で 26 週後に、単球比の減少が全投与群の雌で 78 週後に、また、ヘマトクリット値の減少が 400ppm 群の雌で 104 週後に認められたが、いずれも継投性のない変化、もしくは生理的変動範囲内の変化であった。その他に MCV、MCH および MCHC の増加あるいは減少が投与群で散見された。しかし、計算値の基となるヘモグロビン量、ヘマトクリット値および赤血球数に変化は認められないことから、毒性学的意義は乏しいと考えられた。

血液凝固検査；投与開始 52 および 104 週後の剖検時に、各群雌雄各 10 匹を対象とし、麻酔下で後大静脈から採血してプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。
検体に起因した変化は認められなかった。

血液生化学的検査；投与開始 26, 52 および 78 週後に血液学的検査対象動物、また、104 週後には各群雌雄各 20 匹について、血液学的検査と同様にして得られた血液から血漿を分離し、ALP、GOT、GPT、γ-GTP、クレアチンキナーゼ、コリンエステラーゼ (ChE)、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、A/G、糖、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、遊離脂肪酸、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウムおよびクロライドを測定した。また、52 および 104 週後には赤血球コリンエステラーゼ (ChE) および脳コリンエステラーゼの測定を行った。
次頁の表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

投与量(ppm)	検査時期(週)	12.5				400				800			
		26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
アルブミン量	雄		↓96				↓97				↓96		
	雌												
総コレステロール量	雄									↓86			↓75
	雌		↑112										
リン脂質量	雄												↓79
	雌		↑114										
ナトリウム量	雄				↓99								
	雌											↓99	
カルシウム量	雄			↑103									
	雌												
カリウム量	雄								↑109				
	雌				↑108								
血漿 ChE 活性	雄											↓79	↓77
	雌								↓77	↓86			↓86
赤血球 ChE 活性	雄	-					↓67	-	↓89	-	↓41	-	↓79
	雌	-					↓90	-	↓87	-	↓75	-	↓74

注)表中の数値は対照群に対する変動率(%), - : 未測定

↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (Dunnett または scheffe の多重比較検定)

血漿 ChE 活性の低値下が 800ppm 群の雄で 78 および 104 週後、雌で 26, 52 および 104 週後に認められ、赤血球 ChE 活性値の低下が 400ppm 以上の群の雌雄で 52 および 104 週後に認められた。また、総コレステロール量の低下が 800ppm 群の雄で 26 および 104 週後に、リン脂質量の低下が 800ppm 群の雄で 104 週後にみられた。その他の項目にも対照群との間に有意差が認められたが、いずれも生理的変動範囲内の変化もしくは継続性のない変化であった。

尿検査：投与開始 26, 52, 78 および 104 週後に各群雌雄各 10 匹について、色調、蛋白質、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、尿量、比重および沈渣を検査した。

尿の定性および沈渣所見において種々の変化がみられたが、継続性のない変化もしくは投与量との関連の認められない変化で、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

眼科学的検査：投与開始前に全動物ならびに 52 および 104 週後の剖検対象動物の対照群および 800ppm 群の全動物を検査した。

800ppm 群の雌雄に、検体投与に起因した変化は認められなかった。

臓器重量：切迫殺、投与開始後 52 および 104 週の計画殺動物を対象として、脳、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、副腎、精巣および卵巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

次頁の表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

性 別	雄						雌					
	52			104			52			104		
検査時期(週)	12.5	400	800	12.5	400	800	12.5	400	800	12.5	400	800
体 重								↓94	↓91			↓93
脳：重量 対体重比									↑109			↑107
肝臓：重量 対体重比						↓92						
腎臓：重量 対体重比									↑109			↓94
脾臓：重量 対体重比					↓69	↓61						
					↓66	↓61						
心臓：重量 対体重比												↓95
副腎：重量 対体重比					↑100	↓79						
					↓94	↓77						

注)表中の数値は対照群に対する変動率(%)

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe の多重比較検定)

肝臓の重量および対体重比の減少が 800ppm 群の雄で 104 週後に、また副腎および脾臓の重量および対体重比の減少が 400ppm 以上の投与群の雄で 104 週後に認められた。その他の臓器にも対照群との間に有意差が認められたが、いずれも体重増加抑制に起因した変化もしくは投与量との関連の認められない変化であった。

肉眼的病理検査；切迫殺、投与開始後 52 および 104 週の計画殺動物は放血後、死亡動物は発見後速やかに、剖検を行った。

52 週計画殺対象動物においては、肺の結節、肝横隔膜面結節、肝臓表面の小陥凹巣、膀胱および腔壁の膿瘍様結節、精巣および精巣上体の萎縮、精巣実質内の小結節、卵巣囊の拡張、下垂体の黒色点/斑、眼球白濁、耳介の小結節等が、対照群、投与群ともに散見されたが、発生状況に用量との関連は認められなかった。104 週計画殺対象動物において、雌雄いずれかの群で 20%以上発現した変化を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

性別	雄				雌			
	0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
臓器： 所見\投与量(ppm)								
肝臓： 灰白色点/斑	2/50	3/50	2/50	2/50	4/50	6/50	10/50	4/50
脾臓： 腫大	15/50	9/50	9/50	5/50	8/50	7/50	11/50	11/50
下垂体： 結節	9/50	9/50	4/50	3/50	17/50	10/50	11/50	13/50
赤色点/斑	2/50	6/50	6/50	1/50	11/50	14/50	10/50	7/50
脳底部： 下垂体結節による陥凹	3/50	3/50	2/50	1/50	10/50	4/50	6/50	7/50
精巣： 萎縮	10/50	11/50	8/50	10/50				
実質内結節	50/50	46/50	48/50	46/50				
子宮： 内膜ポリープ					2/50	2/50	11/50	5/50
乳腺： 発達	4/50	4/50	0/50	0/50	12/50	6/50	5/50	5/50
皮下組織： 結節	13/50	14/50	12/50	10/50	14/50	21/50	13/50	6/50

注)表中の数値：発現例数/検査例数

上記のほか、種々の変化が対照群、投与群ともに散見されたが、発生状況に用量との関連は認められなかった。

病理組織学的検査；重量測定臓器の他に、脊髄、坐骨神経、下垂体、甲状腺、上皮小体、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(下顎、腸間膜)、胸腺、大動脈、唾液腺(下顎、舌下)、食道、舌、胃(前胃、腺胃)、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、気管支、膀胱、精巣上体、前立腺、精囊、子宮、腫、眼球、視神経、ハーダー腺、筋肉、皮膚、乳腺および異常部位について病理標本を作製し、鏡検を実施した。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 1-1～表 1-3(93 頁～95 頁)に示す。
対照群との間に有意な差が認められる変化が散見されたが、発生状況に用量との関連が認められない変化、もしくは発現数の減少で、検体の投与に伴う毒性変化は認められなかった。

[腫瘍性病変]

認められたすべての腫瘍性病変を表 2-1～表 2-6(96 頁～101 頁)に示す。
対照群と比較して投与群で有意に増加した腫瘍は認められなかった。また、800ppm 群だけに観察された腫瘍についても、発現数がほとんど 1 例で、高齢ラットでは背景的に発現することが知られていることから、検体投与とは関連ないと考えられる。さらに、腫瘍保有動物のほとんどは、雌雄いずれの投与群においても投与開始後 18 ヶ月から投与終了時にかけて剖検されており、発現時期にも差は認められなかった。なお、造血器の LGL 白血病の発現数が投与群の雄で少なく、400ppm 群では有意に低下していた。

以上の結果から、本剤のラットに対する 24 ヶ月間飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験における影響として、400ppm 群の雌雄で体重の増加抑制、赤血球コリンエステラーゼ活性値の低下が認められたので、最大無作用量は雌雄ともに 12.5ppm(雄 0.44mg/kg/day、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

雌 0.53mg/kg/day) であると判断される。

また、催腫瘍性はないものと判断される。

表 1-1 [非腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
52週計 画殺動物	臓器：所見\投与量(ppm)	0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
	肝臓：肝内胆管増生	8/10	10/10	8/10	7/10	0/10	2/10	2/10	2/10
	巣状炎症性変化	2/10	2/10	3/10	3/10	6/10	6/10	6/10	7/10
	腎臓：硝子円柱	6/10	6/10	3/10	6/10	0/10	1/10	0/10	0/10
	尿細管上皮内の硝子滴	5/10	2/10	6/10	6/10				
	髄質における石灰沈着					6/10	4/10	7/10	2/10
	心臓：線維化	1/10	0/0	0/0	3/10	0/10	0/0	0/0	1/10
	巣状心筋変性	5/10	0/0	0/0	2/10	5/10	0/0	0/0	1/10
	脾臓：小葉性腺房萎縮	3/10	0/0	0/0	3/10	3/10	0/0	0/0	5/10
	骨髄(大腿骨)：肉芽腫性炎					4/10	0/0	0/0	2/10
	精巣：間細胞巣状過形成	8/10	1/2	1/2	8/10				
	萎縮	1/10	1/2	2/2	3/10				
	ハーダー腺：白血球浸潤	2/10	0/0	0/0	1/10	3/10	0/0	0/0	5/10
最終殺対象動物(死亡・ 切迫殺動物)	肝臓：肝内胆管増生	14/15	9/14*	9/12	9/16*	0/14	1/11	0/8	1/13
	腫瘍壊死	4/15	2/14	1/12	0/15*	3/14	1/11	2/8	1/13
	白血球浸潤	0/15	0/14	1/12	0/15	2/14	0/11	0/8	0/13
	肉芽腫					1/14	1/11	0/8	0/13
	微小肉芽腫	1/15	1/14	1/12	2/15	1/14	3/11	1/8	2/13
	変性細胞巣(好塩基性)	1/15	0/14	1/12	2/15	6/14	5/11	2/8	5/13
	変性細胞巣(好酸性)	6/15	1/14*	2/12	3/15	2/14	1/11	0/8	1/13
	腎臓：慢性腎症	11/15	6/14	7/12	7/16*	2/14	2/11	0/8	0/13
	尿細管の好塩基性変化	1/15	2/14	1/12	0/15	4/14	1/11	0/8	2/13
	色素沈着	1/15	3/14	1/12	3/15	4/14	1/11	0/8	0/13*
	脾臓：髄外造血亢進	5/15	8/14	7/12	4/15	5/14	4/11	3/8	3/13
	ヘモジデリン沈着増加	0/15	1/14	3/12*	2/15	4/14	2/11	1/8	4/13
	心臓：線維化	10/15	11/14	8/12	8/15	2/14	1/11	0/8	0/13
	脾臓：腺房細胞萎縮	2/15	4/14	2/12	5/15	4/14	1/11	5/8	3/13
	下垂体：嚢胞	1/15	3/14	0/12	1/16	3/14	3/11	4/8	2/13
	前葉細胞増生	2/15	5/14	4/12	1/15	4/14	5/11	2/8	4/13
	甲状腺：C細胞増生	8/15	7/14	6/12	3/15*	6/14	1/11	2/7	3/13
副腎：髄質細胞増生	5/15	1/14	4/12	4/15	2/14	0/11	0/7	0/13	
骨髄(大腿骨)：造血亢進	13/15	11/14	7/12	9/15	8/14	8/11	8/8	9/13	

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし

*: p<0.05 (Armitage の χ^2 検定)

表 1-2 [非腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
	臓器：所見\投与量(ppm)	0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
(死亡・ 切迫殺動物)	骨(胸骨)：骨硬化症	1/16	0/14	0/12	0/15	6/14	3/11	3/8	5/13
	精巣：萎縮	5/15	6/14	2/12	3/15				
	前立腺：炎症	5/15	4/14	3/12	4/15				
	乳腺：導管拡張	1/15	0/14	0/12	0/16	4/14	2/11	2/8	3/13
	眼：白内障	3/14	1/12	0/12	1/14	0/13	0/11	0/6	1/9
	網膜萎縮	3/14	1/12	0/12	1/14	3/13	1/11	1/6	3/9
	ハーダー腺：分泌亢進	3/15	6/14	3/12	3/15	5/14	1/11	2/8	3/13
最終殺対象動物 (計画殺動物)	肝臓：肝内胆管増生	34/35	36/36	37/38	34/35	2/36	5/39	5/42	6/37
	腫瘍壊死					0/36	2/39	3/42	2/37
	白血球浸潤	1/35	0/36	0/38	1/35	10/36	10/39	15/42	12/37
	肉芽腫	0/35	2/36	3/38	0/35	9/36	13/39	14/42	16/37
	微小肉芽腫	13/35	5/36*	11/38	8/35	18/36	14/39	12/42	11/37
	変性細胞巣(好塩基性)	3/35	5/36	4/38	8/35	32/36	30/39	38/42	34/37
	変性細胞巣(好酸性)	29/35	31/36	34/38	26/35	8/36	15/39	11/42	10/37
	腎臓：慢性腎症	34/35	35/36	34/38	32/35**	1/36	4/39	3/42	3/37
	尿管の好塩基性変化	0/35	1/36	4/38*	3/35	12/36	16/39	14/42	8/37
	色素沈着	0/35	3/36	1/38	0/35				
	脾臓：髓外造血亢進	1/35	2/6	0/8	4/35	4/36	3/5	1/6	4/37
	ヘモジデリン沈着増加	3/35	0/6	0/8	3/35	14/36	0/5	0/6	10/37
	心臓：線維化	32/35	2/4	3/3	31/35	6/36	0/1	0/1	4/37
	膵臓：腺房細胞萎縮	14/35	1/4	0/1	13/35	6/36	0/0	0/0	4/37
	下垂体：嚢胞	1/35	1/10	0/7	1/35	7/36	3/18	1/21	10/37
	前葉細胞増生	9/35	1/10	3/7	12/35	17/36	11/18	9/21	16/37
	甲状腺：C細胞増生	21/35	0/4	2/3	20/35	19/36	0/2	2/4	19/37
	副腎：髄質細胞増生	13/35	0/3	0/2	7/35	3/36	1/4	0/3	4/37
	骨髄(大腿骨)：造血亢進	11/35	0/0	0/0	8/35	2/36	0/0	0/0	3/37
	骨(胸骨)：骨硬化症					17/36	0/0	0/0	21/37
	精巣：萎縮	5/35	7/36	5/38	7/35				
	前立腺：炎症	13/35	2/3	0/0	11/35				
	乳腺：導管拡張	0/34	0/8	0/4	2/35	18/36	2/16	1/11	10/37*
	眼：白内障	4/35	2/5	3/6	9/35	2/36	0/2	0/3	4/37
	網膜萎縮	7/35	3/5	3/6	9/35	5/36	0/2	0/3	9/37
	ハーダー腺：分泌亢進	6/35	1/1	0/0	9/35	4/36	0/1	0/0	4/37

(注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし

*：p<0.05、**：p<0.01 (Armitage の χ^2 検定)

表 1-3[非腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
最終殺対象動物(全動物)	臓器：所見\投与量(ppm)								
	肝臓：肝内胆管増生	48/50	45/50	45/50	43/50*	2/50	6/50	5/50	7/50
	腫瘍壊死	4/50	2/50	1/50	0/50*	3/50	3/50	5/50	3/50
	白血球浸潤	1/50	0/50	1/50	1/50	12/50	10/50	15/50	12/50
	肉芽腫	0/50	2/50	3/50	0/50	10/50	14/50	14/50	16/50
	微小肉芽腫	14/50	6/50*	12/50	10/50	19/50	17/50	13/50	13/50
	変性細胞巢(好塩基性)	4/50	5/50	5/50	10/50	38/50	35/50	40/50	39/50
	変性細胞巢(好酸性)	35/50	32/50	36/50	29/50	10/50	16/50	11/50	11/50
	腎臓：慢性腎症	45/50	41/50	41/49	39/50**	3/50	6/50	3/50	3/50
	尿管の好塩基性変化	1/50	3/50	5/49	3/50	16/50	17/50	14/50	10/50
	色素沈着	1/50	6/50*	2/49	3/50	4/50	1/50	0/50*	0/50*
	脾臓：髓外造血亢進	6/50	10/20	7/20	8/50	9/50	7/16	4/14	7/50
	ヘモジデリン沈着増加	3/50	1/20	3/20	5/50	18/50	2/16	1/14	14/50
	心臓：線維化	42/50	13/18	11/15	39/50	8/50	1/12	0/9	4/50
	膵臓：膵房細胞萎縮	16/50	5/18	2/13	18/50	10/49	1/11	5/8	7/50
	下垂体：嚢胞	2/50	4/24	0/19	2/50	10/50	6/29	5/29	12/50
	前葉細胞増生	11/50	6/24	7/19	13/50	21/50	16/29	11/29	20/50
	甲状腺：C細胞増生	29/50	7/18	8/15	23/50	25/50	1/13	4/11	22/50
	副腎：髓質細胞増生	18/50	1/17	4/14	11/50	6/50	1/15	0/10	4/50
	骨髄(大腿骨)：造血亢進	24/50	11/14	7/12	17/50	10/50	8/11	8/8	12/50
	骨(胸骨)：骨硬化症	1/50	0/14	0/12	0/50	22/50	3/11	3/8	26/50
	精巣：萎縮	10/50	13/50	7/50	10/50				
	前立腺：炎症	18/50	6/17	3/12	15/50				
	乳腺：導管拡張	1/49	0/22	0/16	2/50	22/50	4/27	3/19	13/50*
	眼：白内障	7/49	3/17	3/18	10/49	2/49	0/13	0/9	5/46
	網膜萎縮	10/49	4/17	3/18	10/49	8/49	1/13	1/9	12/46
	ハーダー腺：分泌亢進	9/50	7/15	3/12	12/50	9/50	1/12	2/8	7/50

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし

*：p<0.05、**：p<0.01(Armitageの χ^2 検定)

表 2-1[腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
52週	精巣：間細胞腫 (B)	1/10	1/2	0/2	1/10				
	下垂体：前葉細胞腺腫 (B)					0/10	1/1	0/1	0/10
最終殺対象動物(死亡・切迫殺動物)	肺：細気管支/肺胞上皮腺腫 (B)	1/15	0/14	1/12	2/15				
	細気管支/肺胞上皮腺癌 (M)	0/15	0/14	0/12	1/15				
	胃：平滑筋肉腫 (M)	0/15	0/14	0/12	1/14				
	盲腸：平滑筋肉腫 (M)	0/14	1/14	0/12	0/14				
	食道：Schwann 細胞腫 (B)					0/14	1/11	0/8	0/13
	膵臓：島細胞癌 (M)	0/15	1/14	0/12	0/15				
	膀胱：移行上皮癌 (M)					0/14	0/11	1/8	0/13
	精巣：間細胞腫 (B)	15/15	10/14	11/12	11/15				
	包皮腺：腺腫 (B)	1/4	0/1	0/2	1/1				
	腺癌 (M)	3/4	1/1	1/2	0/1				
	扁平上皮癌 (M)	0/4	0/1	1/2	0/1				
	子宮：内膜間質ポリープ (B)					2/14	1/11	2/8	1/13
	内膜間質肉腫 (M)					0/14	0/11	1/8	1/13
	平滑筋腫 (B)					1/14	0/11	0/8	1/13
	平滑筋肉腫 (M)					0/14	0/11	1/8	0/13
	除核腺：腺癌 (M)					1/1	0/0	1/1	1/2
	扁平上皮癌 (M)					0/1	0/0	0/1	1/2
	下垂体：前葉細胞腺腫 (B)	3/15	2/14	2/12	3/15	0/14	2/11	1/8	4/13
	前葉細胞腺癌 (M)					3/14	0/11	0/8	0/13
	甲状腺：C細胞腺腫 (B)	0/15	2/14	0/12	0/15	1/14	0/11	1/7	1/13
	濾胞上皮腺腫 (B)	0/15	0/14	1/12	0/15				
	濾胞上皮癌 (M)	0/15	0/14	1/12	0/15				
	副腎：褐色細胞腫 (B)	1/15	0/14	0/12	1/15				
	悪性褐色細胞腫 (M)	1/15	0/14	1/12	1/15	0/14	1/11	0/7	0/13
	骨：骨肉腫 (M)	0/0	0/0	1/1	0/1				
	皮膚：基底細胞腫 (B)	0/15	1/14	0/12	0/15	0/14	0/11	0/8	1/13
	基底細胞癌 (M)	0/15	0/14	1/12	0/15				
	角化棘細胞腫 (B)	0/15	0/14	1/12	0/16				
乳頭腫 (B)	1/15	0/14	0/12	0/15	0/14	1/11	0/8	0/13	
皮脂腺腫 (B)	1/15	0/14	0/12	1/15					

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

表 2-2 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌				
		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800	
最終殺対象動物(死亡・切迫殺動物)	皮下織：検維腫 (B)	0/15	1/14	0/12	0/15					
	線維肉腫 (M)					0/14	0/11	1/8	0/13	
	平滑筋肉腫 (M)	0/15	1/14	0/12	0/15					
	横紋筋肉腫 (M)	0/15	1/14	0/12	0/15					
	乳腺：腺腫 (B)					1/14	0/11	0/8	0/13	
	線維腫 (B)	1/15	2/14	2/12	2/15	0/14	1/11	0/8	0/13	
	線維腺腫 (B)	2/15	0/14	0/12	0/15	3/14	2/11	0/8	1/13	
	耳：皮脂腺扁平上皮癌 (M)	0/0	1/1	1/1	1/1					
	扁平上皮癌 (M)					1/1	0/0	1/2	0/0	
	脳：星状膠細胞腫 (B)	0/15	0/14	0/12	1/15	0/14	0/11	0/8	2/13	
	髄膜肉腫 (M)	0/15	0/14	1/12	0/15					
	神経：悪性 Schwann 細胞腫 (M)	0/0	0/0	0/0	1/1					
	胸腔：悪性中皮腫 (M)	1/15	1/14	0/12	0/15					
	悪性 Schwann 細胞腫 (M)					0/14	0/11	0/8	1/13	
	腹腔：脂肪肉腫 (M)	0/15	1/14	1/12	0/15					
	悪性間葉細胞腫 (M)					0/14	0/11	1/8	0/13	
	組織球肉腫 (M)					1/14	0/11	0/8	0/13	
	悪性中皮腫 (M)	0/15	1/14	1/12	1/15	1/14	1/11	0/8	0/13	
	悪性 Schwann 細胞腫 (M)	0/15	0/14	1/12	0/15					
	造血器：LGL 白血病 (M)	6/15	3/14	1/12	4/15	6/14	3/11	4/8	6/13	
	リンパ性白血病 (M)	0/15	0/14	1/12	1/15					
	骨髄性白血病 (M)	0/15	1/14	0/12	0/15					
	最終殺対象動物(計画殺動物)	心臓：心内膜 Schwann 細胞腫 (B)	0/35	0/4	0/3	1/35	1/36	0/1	0/1	0/37
		心筋 Schwann 細胞腫 (B)	1/35	3/4	3/3	1/35	1/36	1/1	1/1	3/37
肺：細気管支/肺胞上皮腺腫 (B)		4/35	5/36	1/38	0/35	1/36	0/39	0/42	0/37	
舌：乳頭腫 (B)						1/36	0/0	1/1	0/37	
肝臓：肝細胞腺腫 (B)		1/35	0/36	2/38	2/35	1/36	0/39	0/42	0/37	
肝細胞癌 (M)		1/35	2/36	2/38	1/35					
膵臓：膵房細胞腺腫 (B)		0/35	0/4	0/1	1/35					
島細胞腺腫 (B)		1/35	0/4	0/1	0/35					
混合腺腫 (B)		0/35	0/4	0/1	1/35					
島細胞癌 (M)		0/35	1/4	0/1	0/35					

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

表 2-3 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
最終対象動物(計画殺動物)	臓器：所見\投与量(ppm)								
	腎臓：脂肪腫 (B)	0/35	1/36	0/38	0/35				
	膀胱：移行上皮乳頭腫 (B)	0/35	0/0	0/0	1/35				
	移行上皮癌 (M)	1/35	0/0	0/0	0/35				
	精巣：間細胞腫 (B)	35/35	35/36	37/38	35/35				
	包皮腺：腺癌 (M)	0/0	1/1	1/2	1/1				
	扁平上皮癌 (M)	0/0	0/1	1/2	0/1				
	卵巢：顆粒膜/莢膜細胞腫 (B)					0/36	0/4	0/5	2/37
	子宮：腺腫 (B)					0/36	0/9	1/22	0/37
	腺癌 (M)					0/36	1/9	0/22	0/37
	内膜間質ポリープ (B)					7/36	3/9	14/22	13/37
	平滑筋腫 (B)					1/36	1/9	0/22	1/37
	腔：平滑筋腫 (B)					1/36	0/0	0/2	0/37
	陰核腺：腺癌 (M)					0/0	3/3	1/1	0/0
	下垂体：前葉細胞腺腫 (B)	6/35	7/10	4/7	1/35	11/36	6/18	11/21	8/37
	前葉細胞腺癌 (M)	0/35	2/10	0/7	0/35	0/36	0/18	1/21	0/37
	甲状腺：C細胞腺腫 (B)	3/35	4/4	3/3	7/35	3/36	2/2	1/4	1/37
	C細胞腺癌 (M)	0/35	1/4	0/3	1/35	1/36	0/2	1/4	0/37
	濾胞上皮腺腫 (B)	0/35	0/4	0/3	2/35				
	濾胞上皮癌 (M)	1/35	0/4	0/3	0/35	0/36	0/2	0/4	1/37
	副腎：褐色細胞腫 (B)	0/35	2/3	2/2	2/35	1/36	2/4	1/3	0/37
	悪性褐色細胞腫 (M)	2/35	1/3	1/2	0/35	0/36	1/4	0/3	0/37
	神経芽細胞腫 (B)	0/35	0/3	0/2	1/35				
	骨：骨肉腫 (M)	0/0	1/1	0/0	0/0				
	皮膚：無色素形成性黒色腫 (B)	0/35	1/4	0/3	0/35				
	基底細胞癌 (M)	1/35	0/4	0/3	0/35				
	角化棘細胞腫 (B)	1/35	2/4	2/3	0/35	0/36	1/7	0/5	0/37
	乳頭腫 (B)	1/35	0/4	0/3	0/35	0/36	2/7	0/5	0/37
	扁平上皮癌 (M)	0/35	0/4	0/3	1/35				
	皮下織：線維腫 (B)	2/35	1/2	1/2	0/35				
	線維肉腫 (M)	0/35	0/2	1/2	1/35				
	脂腺腫 (B)	0/35	1/2	0/2	0/35	0/36	0/0	1/1	0/37
	Schwann細胞腫 (B)	0/35	0/2	0/2	1/35				

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05(Fisherの直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2-4 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
最終殺対象動物(計画殺動物)	臓器：所見\投与量(ppm)								
	乳腺：腺腫 (B)	0/34	0/8	1/4	0/35	1/36	1/16	0/11	1/37
	腺癌 (M)					0/36	1/16	1/11	1/37
	線維腫 (B)	4/34	4/8	2/4	3/35	0/36	1/16	1/11	0/37
	線維腺腫 (M)	1/34	0/8	1/4	0/35	6/36	12/16	6/11	2/37
	耳：皮脂腺扁平上皮癌 (M)	0/0	1/1	0/1	0/1				
	悪性無色素形成性黒色腫 (M)	0/0	0/1	1/1	1/1				
	脳：星状膠細胞腫 (B)					1/36	0/2	0/6	0/37
	胸腔：悪性中皮腫 (M)					0/36	1/1	0/0	0/37
	腹腔：悪性中皮腫 (M)	2/35	2/2	0/1	0/35				
	造血器：組織球肉腫 (M)	0/35	1/36	0/38	0/35				
	LGL 白血病 (M)	6/35	2/36	2/38	0/35	2/36	5/39	6/42	4/37
	リンパ性白血病 (M)	0/35	0/36	1/38	0/35				
最終殺対象動物(全動物)	心臓：心内膜 Schwann 細胞腫 (B)	0/50	0/18	0/15	1/50	1/50	0/12	0/9	0/50
	心筋 Schwann 細胞腫 (B)	1/50	3/18	3/15	1/50	1/50	1/12	1/9	3/50
	肺：細気管支/肺胞上皮腺腫 (B)	5/50	5/50	2/50	2/50	1/49	0/50	0/50	0/50
	細気管支/肺胞上皮腺癌 (M)	0/50	0/50	0/50	1/50				
	胃：平滑筋肉腫 (M)	0/50	0/14	0/12	1/49				
	盲腸：平滑筋肉腫 (M)	0/49	1/14	0/12	0/49				
	舌：乳頭腫 (B)					1/50	0/11	1/9	0/50
	食道：Schwann 細胞腫 (B)					0/50	1/11	0/8	0/50
	肝臓：肝細胞腺腫 (B)	1/50	0/50	2/50	2/50	1/50	0/50	0/50	0/50
	肝細胞癌 (M)	1/50	2/50	2/50	1/50				
	膵臓：腺房細胞腺腫 (B)	0/50	0/18	0/13	1/50				
	島細胞腺腫 (B)	1/50	0/18	0/13	0/50				
	混合腺腫 (B)	0/50	0/18	0/13	1/50				
	島細胞癌 (M)	0/50	2/18	0/13	0/50				
	腎臓：脂肪腫 (B)	0/50	1/50	0/49	0/50				
	膀胱：移行上皮乳頭腫 (B)	0/50	0/14	0/12	1/50				
	移行上皮癌 (M)	1/50	0/14	0/12	0/50	0/50	0/11	1/8	0/50
	精巣：間細胞腫 (B)	50/50	45/50	48/50	46/50				
	包皮腺：腺腫 (B)	1/4	0/2	0/4	1/2				
	腺癌 (M)	3/4	2/2	2/4	1/2				
	扁平上皮癌 (M)	0/4	0/2	2/4	0/2				

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

表 2-5 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800
最終殺対象動物(全動物)	臓器：所見\投与量(ppm)								
	卵巣：顆粒膜/莖膜細胞腫 (B)					0/50	0/15	0/13	2/50
	子宮：腺腫 (B)					0/50	0/20	1/30	0/50
	腺癌 (M)					0/50	1/20	0/30	0/50
	内膜間質ポリープ (D)					9/50	4/20	16/30	14/50
	内膜間質肉腫 (M)					0/50	0/20	1/30	1/50
	平滑筋腫 (B)					2/50	1/20	0/30	2/50
	平滑筋肉腫 (M)					0/50	0/20	1/30	0/50
	膈：平滑筋腫 (B)					1/50	0/11	0/10	0/50
	陰核腺：腺癌 (M)					1/1	3/3	2/2	1/2
	扁平上皮癌 (M)					0/1	0/3	0/2	1/2
	下垂体：前葉細胞腺腫 (B)	9/50	9/24	6/19	4/50	11/50	8/29	12/29	12/50
	前葉細胞腺癌 (M)	0/50	2/24	0/19	0/50	3/50	0/29	1/29	0/50
	甲状腺：C細胞腺腫 (B)	3/50	6/18	3/15	7/50	4/50	2/13	2/11	2/50
	C細胞腺癌 (M)	0/50	1/18	0/15	1/50	1/50	0/13	1/11	0/50
	濾胞上皮腺腫 (B)	0/50	0/18	1/15	2/50				
	濾胞上皮癌 (M)	1/50	0/18	1/15	0/50	0/50	0/13	0/11	1/50
	副腎：褐色細胞腫 (B)	1/50	2/17	2/14	3/50	1/50	2/15	1/10	0/50
	悪性褐色細胞腫 (M)	3/50	1/17	2/14	1/50	0/50	2/15	0/10	0/50
	神経芽細胞腫 (B)	0/50	0/17	0/14	1/50				
	骨：骨肉腫 (M)	0/0	1/1	1/1	0/1				
	皮膚：無色素形成性黒色腫 (B)	0/50	1/18	0/15	0/50				
	基底細胞腫 (B)	0/50	1/18	0/15	0/50	0/50	0/18	0/13	1/50
	基底細胞癌 (M)	1/50	0/18	1/15	0/50				
	角化棘細胞腫 (B)	1/50	2/18	3/15	0/50	0/50	1/18	0/13	0/50
	乳頭腫 (B)	2/50	0/18	0/15	0/50	0/50	3/18	0/13	0/50
	皮脂腺腫 (B)	1/50	0/18	0/15	1/50				
	扁平上皮癌 (M)	0/50	0/18	0/15	1/50				
	皮下織：線維腫 (B)	2/50	2/16	1/14	0/50				
	線維肉腫 (M)	0/50	0/16	1/14	1/50	0/50	0/11	1/9	0/50
	平滑筋肉腫 (M)	0/50	1/16	0/14	0/50				
	脂肪腫 (B)	0/50	1/16	0/14	0/50	0/50	0/11	1/9	0/50
	横紋筋肉腫 (M)	0/50	1/16	0/14	0/50				
	Schwann細胞腫 (B)	0/50	0/16	0/14	1/50				

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05(Fisherの直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2-6[腫瘍性病変]

検査	性別		雄				雌					
	臓器：所見\投与量(ppm)		0	12.5	400	800	0	12.5	400	800		
最終殺対象動物(全動物)	乳腺：腺腫 (B)		0/49	0/22	1/16	0/50	2/50	1/27	0/19	1/50		
	腺癌 (M)						0/50	1/27	1/19	1/50		
	線維腫 (B)		4/49	6/22	4/16	6/50	0/50	2/27	1/19	0/50		
	線維腺腫 (B)		3/49	0/22	1/16	0/50	9/50	14/27	6/19	3/50		
	耳：皮脂腺扁平上皮癌 (M)		0/0	2/2	1/2	1/2						
	扁平上皮癌 (M)						1/1	0/0	1/2	0/0		
	悪性無色素形成性黒色腫 (M)		0/0	0/2	1/2	1/2						
	脳：星状膠細胞腫 (B)		0/50	0/17	0/14	1/50	1/50	0/13	0/14	2/50		
	髄膜肉腫 (M)		0/50	0/17	1/14	0/50						
	神経：悪性 Schwann 細胞腫 (M)		0/0	0/0	0/0	1/1						
	胸腔：悪性中皮腫 (M)		1/50	1/15	0/12	0/50	0/50	1/12	0/8	0/50		
	悪性 Schwann 細胞腫 (M)						0/50	0/12	0/8	1/50		
	腹腔：脂肪肉腫 (M)		0/50	0/16	1/13	0/50						
	悪性間葉細胞腫 (M)						0/50	0/12	1/8	0/50		
	組織球肉腫 (M)						1/50	0/12	0/8	0/50		
	悪性中皮腫 (M)		2/50	3/16	1/13	1/50	1/50	1/12	0/8	0/50		
	悪性 Schwann 細胞腫 (M)		0/50	0/16	1/13	0/50						
	造血器：組織球肉腫 (M)		0/50	1/50	0/50	0/50						
	LGL 白血病 (M)		12/50	5/50	3/50*	4/50	8/50	8/50	10/50	10/50		
	リンパ性白血病 (M)		0/50	0/50	2/50	1/50						
	骨髄性白血病 (M)		0/50	1/50	0/50	0/50						
	合計	検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60	
		腫瘍数		良性	86	85	77	82	45	41	42	42
				悪性	25	27	23	17	16	17	21	16
		腫瘍総数		111	112	100	99	61	58	63	58	
		担腫瘍動物数		良性	51	48	48	48	31	34	33	30
悪性	18			24	21	16	16	16	18	15		
担腫瘍動物数		51	51	49	51	40	42	38	38			

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

カフェンストロールのイヌにおける強制投与による慢性経口毒性試験 (資料 No.21)

試験機関 中外製薬株式会社
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：

試験動物 : ピーグル犬(Beagle/CSK)、1 群雌雄各 4 匹、投与開始時 6~8 ヶ月齢

試験期間 : 12 ヶ月間(1992 年 9 月 22 日~1993 年 9 月 23 日)

投与方法 : 検体の 0.1, 0.3, 10 および 30mg/kg を 1/2 オンスのゼラチンカプセルに充填し、12 ヶ月間にわたって強制経口投与を行った。対照群には賦形剤の乳糖を同カプセルに充填して投与した。

投与量設定根拠；

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毎日観察した。

検体に起因した変化は認められず、死亡例も観察されなかった。

体重変化；投与開始から 13 週後までは週 1 回、その後は 4 週間に 1 回の割合で全動物の体重を測定した。

検体に起因した変化はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率；投与開始から 13 週までは毎日、13 週以降は 4 週間毎に連続して 8 日間、また 50~51 週にも連続して 8 日間残餌量と給餌量を測定し、その差から摂餌量を算出した。また、13 週後までは体重の増加量から食餌効率も算出した。対照群を含む各群で、残餌する個体が散見されたが、検体に起因した変動はみられなかった。また、食餌効率にも影響は認められなかった。

飲水量；投与開始から 13 週後までは毎日、13 週以降は 4 週間毎に連続して 8 日間、また 50~51 週にも連続して 8 日間残水量と給水量を測定し、その差から飲水量を算出した。

各投与群で、対照群との間に有意差が散発的にみられたのみで、継続性のない偶発的変動と考えられた。

血液学的検査；投与開始前、開始後 12, 25, 51 週に、橈側皮静脈から血液を採取し、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数、赤芽球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、網状赤血球数、血小板数、白血球数および白血球百分比を測定し、血球形態を観察した。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (mg/kg)	0.1				0.3				10				30			
	0	12	25	51	0	12	25	51	0	12	25	51	0	12	25	51
ヘモグロビン量	雄															
	雌															
ヘマトクリット値	雄															
	雌															
赤血球数	雄															
	雌															
MCHC	雄				1102											
	雌															1102

注) 表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett の多重比較検定)

10mg/kg 以上の投与群の雌でヘモグロビン量、ヘマトクリット値および赤血球数の減少が投与開始後 12 週に認められた。0.3mg/kg 群の雌でヘモグロビン量およびヘマトクリット値の軽微な減少がみられたが、生理的変動範囲内の変化であり、偶発的なものと考えられた。0.1 および 30mg/kg 群の雄で MCHC の一過性で軽微な上昇が 51 週後にみられたが、偶発的なものと考えられた。

血液凝固検査；投与開始前、開始後 12, 25, 51 週に、橈側皮静脈から血液を採取し、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

以下の表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (mg/kg)	0.1				0.3				10				30			
	0	12	25	51	0	12	25	51	0	12	25	51	0	12	25	51
プロトロンビン時間	雄															
	雌															

注) 表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

↓ ↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett の多重比較検定)

25 週後に 0.3 および 10mg/kg 群でプロトロンビン時間の延長がみられたが、高用量群では差がみられないことから、検体に起因した変化とは考えられなかった。

血液生化学的検査；投与開始前、開始後 12, 25, 51 週に、橈側皮静脈から血液を採取し、血清の ALP、GOT、GPT、 γ -GTP、LAP、LDH、コリンエステラーゼ (ChE)、クレアチンフォスフォキナーゼ、クレアチニン、尿素窒素、尿酸、総蛋白、アルブミン、A/G、蛋白分画、糖、総コレステロール、遊離コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、遊離脂肪酸、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、カルシウム、無機リン、鉄、ナトリウム、カリウムおよびクロライドならびに赤血球コリンエステラーゼ (ChE) を測定した。血清 ChE および赤血球 ChE については 38 週後にも測定した。また、剖検時に脳コリンエステラーゼ (ChE) を測定した。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

血清 ChE 活性値の低下が 0.1mg/kg 以上の投与群の雌雄で認められた。しかしながら、神経のアセチルコリンエステラーゼ活性を反映し毒性の指標とされる赤血球コリンエステラーゼ活性には 30mg/kg 群でも影響はみられなかった。その他の項目においても、有意差がみられる場合があったが、生理的変動範囲内の軽微な変化と考えられた。

投与群 (mg/kg)	0.1					0.3					10					50						
	0	12	25	51	61	0	12	25	38	61	0	12	25	38	61	0	12	25	38	61		
総ビリルビン量	雌			-					-								T138			-		
総蛋白量	雄			-					1.93						↓28					-	↓33	
アルブミン量	雄			-					1.93	1.93					↓26	1.91				↓39	1.92	
A/G	雄		1.90		-										↓33					↓31		
アルブミン分画	雄			-											1.91							
α ₂ -グロブリン分画	雄			-					↓36												↑138	
β ₁ -グロブリン分画	雄			-											T134							
ALP 活性値	雄			-																	↑248	
カルシウム量	雄			-		T134															1.95	
血清 ChE 活性値	雄	↓99	↓97	↓83			↓72	↓99	↓93				↓29	↓28	↓23	↓20	↓14				↓10	↓11
	雌		↓75	↓73			↓58	↓50	↓60				↓31	↓22	↓21	↓17	↓21				↓14	↓16
脳 ChE 活性値	雄	-	-	-			-	-	-	T125											-	-
	雌	-	-	-			-	-	-												-	-

注) 表中の数値は対照群に対する変動率(%)、-：未測定

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnnett の多重比較検定)

尿検査；投与開始前、開始後 12, 25, 51 週に全動物を対象として、尿量、比重、pH、蛋白質、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、沈渣、ナトリウム、カリウムおよびクロライドを検査した。
検体に起因した変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前および開始 52 週後に全動物を対象として、肉眼的に観察するとともに、眼底カメラによる検査も実施した。
検体に起因した変化は認められなかった。

骨髄検査；投与期間終了時、全動物を対象として、胸骨の骨髄を検査した。
検体に起因した変化は認められなかった。

臓器重量；投与期間終了時、全動物を対象として、脳、下垂体、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、副腎、膵臓、甲状腺、下顎腺、胸腺、精巣、前立腺、卵巣および子宮の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	雄				雌			
	0.1	0.3	10	30	0.1	0.3	10	30
投与量 (mg/kg)								
体重	110	101	95	87	99	101	104	101
肝臓：重量 対体重比				↓ 86				
副腎：重量 対体重比				↑ 124				
甲状腺：重量 対体重比					↑ 140		↑ 133	

注) 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett の多重比較検定)

肝臓、副腎および甲状腺で対照群との間に有意な差が認められたが、体重の変動による変化もしくは用量との相関がないので、検体投与による影響とは考えられない。その他の項目に検体に起因した変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；投与期間終了時、全動物を対象として検査を行った。

検体に起因した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；重量測定臓器の他に、脊髄(胸部)、延髄、坐骨神経、上皮小体、

骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(下顎、腸間膜)、大動脈、耳下腺、食道、舌、扁桃、胆嚢、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、気管支、膀胱、精巣上体、腫、眼球、涙腺、骨格筋、皮膚、乳腺について病理標本作製し、鏡検を実施した。

下表に変化の認められた項目を示す。

性別	雄					雌				
	0	0.1	0.3	10	30	0	0.1	0.3	10	30
投与量 (mg/kg)										
動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓 小葉間胆管上皮の空胞増加	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2

注) 表中の数値は発現例数

肝臓において、小葉間胆管上皮の脂肪滴の増加が 30mg/kg 群の雌雄で観察された。その他の変化は自然発生的なものであり、検体に起因した影響とは考えられない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

以上の結果から、本剤のイヌに対する12ヵ月間強制経口投与による慢性毒性試験において、雄では30mg/kg群で肝臓の小葉間胆管上皮の脂肪滴増加が観察され、雌では10mg/kg以上の投与群でヘモグロビン量、ヘマトクリット値および赤血球数の減少が認められた。また、血清コリンエステラーゼ活性値の低下が雌雄の0.1mg/kg以上の投与群に認められた。しかしながら、神経のアセチルコリンエステラーゼ活性を反映し毒性の指標とされる赤血球コリンエステラーゼ活性には30mg/kg群でも影響が認められなかったことから、無毒性量(NOEL)は雄が10mg/kg/day、雌が0.3mg/kg/dayであると判断された。

カフェンストロールのマウスにおける飼料混入投与による発がん性試験 (資料 No. 22)

試験機関 (財)残留農薬研究所
 [GLP 対応]
 報告書作成 1994 年

検体の純度 :

試験動物 : ICR 系マウス (Crj : CD-1)、1 群雌雄各 72 匹、投与開始時 5 週齢各群雌雄各 20 匹は衛星群とし、そのうち各群雌雄 10 匹ずつを対象として投与開始 52 週後に各種検査を行った。

試験期間 : 18 ヶ月 (雄 ; 1992 年 10 月 1 日 ~ 1994 年 3 月 31 日)
 (雌 ; 1992 年 10 月 9 日 ~ 1994 年 4 月 8 日)

投与方法 : 検体を 0, 10, 100 および 1000ppm の濃度で飼料に混入し、18 ヶ月間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は概ね 4 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠 :

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毎日観察した。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与量 (ppm)	0		10		100		1000	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
尾の欠失							↑ 5	
皮膚の創傷							↓ 4	
皮膚の痂皮					↑ 11			
腹部膨満					↓ 1			
触毛脱毛						↓ 3		

注) 数値 : 発現例数、

↑ ↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01 (Fisher の直接確率検定)

1000ppm 群の雄において、尾の欠失の発現頻度が有意に増加した。本変化は同一ケージで飼育された動物に片寄って発現していることから、喧嘩によるものと考えられた。その他にも有意な変動がみられたが、毒性学的に意味のない発現頻度の減少もしくは用量との関連のない変化であり、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量(ppm)		0	10	100	1000
死亡率(%)	雄	37(100)	33(89)	35(95)	40(111)
	雌	27(100)	31(114)	27(100)	39(107)

注) () : 対照群を 100 とした場合の相対値

投与群において、死亡率の有意な増加はみられなかった。

体重変化；投与開始から 13 週後までは週 1 回、その後は少なくとも 4 週に 1 回、全動物の体重を測定した。

1000 および 10ppm 群の雄で一過性に有意な変動が観察されたが、偶発的な変化で検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

摂餌量及び食餌効率；投与開始から 13 週後までは週 1 回、その後は少なくとも 4 週に 1 回、全ケージの 3 日分または 4 日分の摂餌量を測定し、1 日 1 匹当たりの摂餌量を算出した。また、投与開始から 13 週後までは食餌効率も算出した。

100ppm 群の雄で一過性に有意な変動が観察されたが、用量との関連のない変化で検体投与に起因した変化とは考えられなかった。また、食餌効率にも検体投与に起因した変化は認められなかった。

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

投与量(ppm)		10	100	1000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.09	11.1	108
	雌	0.99	10	107

血液学的検査；投与開始 52 週後には衛星群から、78 週後には主群から、各群雌雄各 10 匹を対象として、尾端部切断により採取した血液を用いて塗抹標本作製し、対照群および 1000ppm 群の白血球百分比を測定した。

検体に起因した変化は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性測定；投与開始 52 週後には衛星群から、78 週後には主群から、各群雌雄 10 匹ずつを対象として、後大静脈から採取した血液を用い、血漿コリンエステラーゼ (ChE) 活性および赤血球コリンエステラーゼ (ChE) 活性を測定した。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性 別	雄						雌						
	10		100		1000		10		100		1000		
投与量 (ppm)	52	78	52	78	52	78	52	78	52	78	52	78	
赤血球 ChE 活性値					↓79	↓74						↓76	
血漿 ChE 活性値					↓16	↓17					↓62	↓15	↓15

注) 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

↑ ↓ : p<0.05、▲ ▼ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe の多重比較検定)

1000ppm 群の雌雄で赤血球および血漿 ChE 活性値の有意な低下がみられ、血漿 ChE 活性値の有意な低下は 100ppm 群の雌においても認められた。

臓器重量；投与開始 52 週後には衛星群から、78 週後には主群から、各群雌雄各 10 匹を対象として、脳、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および精巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

いずれの投与群においても、対照群との間に有意な変動を示した臓器は認められなかった。

肉眼的病理検査；切迫殺、投与開始後 52 および 78 週の計画殺動物は放血後、死亡動物は発見後速やかに、剖検を行った。

次頁の表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。なお、10ppm 群の雄 1 例では共食いによる臓器、組織の損失が著しいため、剖検所見の評価対象から除外した。

投与群の死亡・切迫殺動物の雄で、肺の腫瘍の発現頻度の有意な増加が認められたが、これらの変化に対応する組織所見である肺腺腫および腺癌に発生頻度の増加を認めないことから、偶発的な変化と考えられた。その他にも、種々の変化の発生頻度に有意な変動がみられたが、毒性学的に意味のない発生頻度の減少もしくは用量との関連のない変化であり、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。

検査	性別	雄				雌			
	\ 投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
62週	触毛：脱毛	0/17	0/18	3/19	0/19	4/16	0/18*	7/19	0/18*
	皮膚：脱毛	3/17	2/18	5/19	0/19	4/16	0/18*	5/19	0/18*
死亡・切迫殺	触毛：脱毛	1/22	2/18	1/19	3/22	5/18	9/18	0/15*	5/17
	肺：腫瘍	0/22	4/18*	6/19**	8/22**	3/18	2/18	1/15	5/17
	点/斑	0/22	0/18	0/19	1/22	0/18	3/18	4/15*	2/17
	脾臓：腫大	11/22	7/18	7/19	9/22	14/18	13/18	6/15*	12/17
	精嚢：肥大	3/22	2/18	10/19**	4/22				
	凝固腺：肥大	3/22	2/18	9/19*	3/22				
78週	触毛：脱毛	5/33	0/35*	2/34	2/31	6/38	10/36	3/83	9/37
	皮膚：脱毛	7/33	5/35	10/34	9/31	7/38	0/36**	7/83	8/37
	尾：欠失	0/33	0/35	0/34	5/31*				
	眼球：白内障	5/33	1/35	0/34*	0/31*	2/38	1/36	1/83	0/37
全動物	皮膚：脱毛	17/72	11/71	23/72	11/72	17/72	2/72**	14/72	13/72
	尾：欠失	0/72	0/71	0/72	5/72*				
	肺：腫瘍	15/72	26/71*	22/72	26/72*	16/72	10/72	15/72	22/72
	点/斑	2/72	0/71	0/72	0/72	1/72	7/72*	5/72	4/72
	精嚢：肥大	13/72	20/71	26/72*	14/72				
	凝固腺：肥大	14/72	20/71	24/72*	13/72				

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし

*: p<0.05、 **: p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

病理組織学的検査；重量測定臓器の他に、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、骨・骨髓(胸骨、大腿骨、椎骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺、食道、胃(前胃、腺胃)、胆嚢、脾臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、膀胱、精巢上体、前立腺、精嚢、凝固腺、卵巣、子宮、眼球、ハーダー腺、骨格筋、皮膚、乳腺および肉眼的異常部位について病理標本を作製し、鏡検を実施した。なお、10ppm 群の雄1例では共食いによる臓器、組織の損失が著しいため、病理組織学的検査の評価対象から除外した。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 1-1～表 1-3(112 頁～114 頁)に示す。1000ppm 群の雄において、副腎皮髄境界部褐色色素増加の発生頻度が死亡・切迫殺動物において有意に増加した。また、同群の雌で初期慢性糸球体腎炎の発生頻度が 78 週殺動物において有意に増加し、総発生頻度においても有意に増加した。これらの発生頻度の増加は 10ppm 群の雌雄においても、それぞれ認められた。しかしながら、100ppm 群においてはその発生頻度の増加が観察されないこ

とから、以上の病変は用量との関連のない偶発的変化と考えられた。
そのほかにも対照群との間に有意な差が認めれる変化が散見されたが、発生状況に用量との関連が認められない変化、もしくは発現数の減少で、検体の投与に伴う毒性変化は認められなかった。

〔腫瘍性病変〕

認められたすべての腫瘍性病変を表 2-1～表 2-4(115 頁～118 頁)に示す。
種々の腫瘍性変化が観察されたが、それらの発生頻度に対照群との間の統計学的差は認められず、また、特定の腫瘍の早期発生も観察されなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する 18 ヶ月間飼料混入投与による発がん性試験における一般毒性学的影響として、1000ppm 群の雄および 100ppm 以上の投与群の雌において、コリンエステラーゼ活性値の低下が認められたので、最大無作用量は雄で 100ppm(11.1mg/kg/day)、雌で 10ppm(0.99mg/kg/day)であると判断される。

また、催腫瘍性は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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1-1 [非腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
	臓器：所見\投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
52週殺動物	胸腺：リンパ球増生	0/10	0/10	0/10	1/10	2/10	1/10	3/10	3/10
	リンパ節(頸部)： プラズマ細胞増生	2/10	3/10	1/9	1/10	0/10	0/10	2/10	0/10
	脾臓：髄外造血亢進	3/10	2/10	1/10	1/10	0/10	0/10	1/10	0/10
	胃(腺胃)：粘膜上皮過形成	4/10	5/10	1/10	1/10				
	肝臓：小葉中心性脂肪変性	2/10	4/10	3/10	6/10				
	変性細胞巢 (好塩基性)	0/10	3/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10
	微小肉芽腫	3/10	2/10	2/10	2/10	5/10	3/10	3/10	3/10
	脾臓：島細胞増生	1/10	3/10	6/10*	3/10	1/10	1/10	0/10	0/10
	腎臓：尿細管萎縮	2/10	3/10	3/10	6/10	0/10	1/10	0/10	2/10
	初期慢性糸球体腎炎	6/10	5/10	7/10	6/10	2/10	1/10	0/10	3/10
	卵巣：嚢胞					5/10	2/10	4/10	6/10
	副腎：被膜下細胞増生	4/10	2/10	5/10	5/10	5/10	9/10	8/10	8/10
	褐色色素沈着増加	5/10	1/10	5/10	4/10	2/10	1/10	4/10	2/10
	ハーダー腺：単核細胞浸潤	0/10	0/10	0/10	1/10	2/10	1/10	3/10	2/10
死亡・切迫殺動物	心臓：心筋の萎縮/線維化	1/19	2/16	5/18	0/21	1/14	0/16	0/14	1/15
	骨髄(大腿骨)：造血亢進	3/18	2/16	5/17	5/21	0/14	0/16	1/14	1/15
	脾臓：髄外造血亢進	8/19	6/16	9/18	7/21	6/14	6/16	4/14	7/15
	腎臓：硝子円柱	5/19	0/16*	1/18	1/21	2/14	2/16	1/14	2/15
	初期慢性糸球体腎炎	4/19	4/16	6/18	8/21	3/14	8/16	3/14	6/15
	腎盂拡張	6/19	4/16	7/18	7/21	1/14	0/16	0/14	0/15
	膀胱：腔拡張	9/19	9/16	9/18	12/21	0/14	0/16	1/14	1/15
	精囊：分泌物貯留	4/19	3/16	11/18*	5/21				
	凝固腺：分泌物貯留	4/19	2/16	10/18*	5/21				
	卵巣：嚢胞					7/14	6/16	4/14	7/15
	副腎：被膜下細胞増生	4/18	3/16	2/18	4/21	9/14	7/15	5/14	8/15
	褐色色素沈着増加	0/18	5/16*	3/18	5/21*	4/14	2/15	1/14	6/15
	皮膚：糜爛/潰瘍	6/19	4/16	4/18	1/21	2/14	0/16	0/14	3/15

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし

*：p<0.05、**：p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1-2 [非腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
78 週 殺 動 物	臓器：所見\投与量(ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
	心臓：心筋の萎縮/線維化	3/33	1/35	6/34	5/31	2/38	1/35	5/38	2/37
	骨髄(大腿骨)：造血亢進	3/33	0/34	5/32	3/30	1/37	2/35	1/36	0/35
	胸腺：リンパ球増生	1/32	2/35	5/32	2/29	14/37	17/36	13/38	14/36
	脾臓：リンパ球増生	1/33	2/35	0/34	1/31	5/38	7/36	5/38	3/37
	髄外造血亢進	8/33	3/35	13/34	6/31	2/38	4/36	6/38	1/37
	下顎腺：単核細胞浸潤	3/33	2/35	4/34	4/31	6/38	4/36	3/38	2/37
	胃(腺胃)：粘膜上皮過形成	3/33	9/35	4/34	2/31	2/38	1/36	0/38	1/37
	肝臓：肝細胞巢状壊死	1/33	0/35	0/34	0/31	3/38	4/36	3/38	7/37
	変性細胞巢(好塩基性)	2/33	6/35	4/34	5/31	1/38	0/36	1/38	1/37
	微小肉芽腫	4/33	1/35	2/34	1/31	8/38	7/36	5/38	5/37
	髄外造血亢進	1/33	3/36	4/34	4/31	6/38	6/36	10/38	5/37
	脾臓：島細胞増生	7/33	5/35	4/34	3/31	3/38	2/36	4/38	2/37
	腎臓：尿細管萎縮	16/33	14/35	15/34	14/31	12/38	5/36	6/38	5/37
	石灰沈着	10/38	12/35	6/34	5/31	3/38	2/36	2/38	4/37
	硝子出柱	1/33	4/35	4/34	1/31	7/38	5/36	3/38	1/37*
	初期慢性糸球体腎炎	21/33	26/35	20/34	24/31	18/38	28/36**	22/38	28/37*
	腎盂拡張	4/33	4/35	3/34	6/31	0/38	0/36	1/38	1/37
	膀胱：腔拡張	2/33	4/35	1/34	5/31				
	精巣：精細管萎縮	4/33	7/35	4/34	9/31				
	石灰沈着	1/33	3/35	0/34	5/31				
	精囊：分泌物貯留	8/33	15/35	14/34	12/31				
	凝固腺：分泌物貯留	9/33	14/35	14/34	9/31				
	卵巢：嚢胞					23/38	21/36	24/38	22/37
	子宮：子宮腺嚢胞状拡張					5/38	3/35	4/38	2/37
	筋腫症					4/38	7/35	8/38	4/37
	腺組織嚢胞状拡張					0/38	0/35	4/38	0/37
	下垂体：前葉嚢胞	2/33	5/35	1/34	0/31	0/38	0/35	0/37	1/37
	副腎：被膜下細胞増生	12/33	16/35	14/34	13/31	29/38	25/36	28/38	32/37
	褐色色素沈着増加	0/33	1/35	2/34	0/31	8/38	9/36	6/38	14/37
	骨(胸骨)：骨硬化症					4/38	3/36	6/38	1/37
	眼：白内障	12/33	7/35	11/34	7/31	17/38	17/36	15/38	15/37
	ハーダー腺：単核細胞浸潤	5/33	2/35	4/34	1/31	9/38	15/36	13/38	5/37
皮膚：表皮肥厚	1/33	3/35	5/34	4/31	1/38	0/36	2/38	1/37	
糜爛/潰瘍	10/33	2/35**	9/34	5/31	1/38	1/36	0/38	0/37	

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし

*：p<0.05、**：p<0.01(Fisherの直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1-3 [非腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
	臓器：所見\投与量(ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
全動物	心臓：心筋の萎縮/線維化	4/62	3/61	11/62*	5/62	3/62	1/61	5/62	3/62
	骨髄(大腿骨)：造血亢進	7/61	2/60	10/59	8/61	1/61	2/60	2/60	1/60
	胸腺：リンパ球増生	1/60	2/60	5/60	3/60	18/61	20/61	16/62	19/61
	リンパ節(頸部)：囊胞	5/60	0/61*	1/60	2/61	4/60	1/62	5/61	2/62
	脾臓：リンパ球増生	1/62	2/61	0/62	2/62	8/62	8/62	6/62	3/62
	髄外造血亢進	19/62	11/61	23/62	14/62	8/62	10/62	11/62	8/62
	ト顆腺：単核細胞浸潤	4/61	3/61	6/62	5/62	9/62	6/62	5/62	4/62
	胃(腺胃)：粘膜上皮過形成	8/62	17/61*	5/62	3/62	3/62	1/62	0/62	1/62
	肝臓：小葉中心性脂肪変性	6/62	8/61	6/62	13/62	1/62	1/62	0/62	0/62
	肝細胞巢状壊死	1/62	1/61	0/62	1/62	4/62	4/62	3/62	8/62
	肝細胞広範囲壊死	5/62	0/61*	1/62	2/62	5/62	4/62	1/62	0/62*
	変性細胞巢(好塩基性)	3/62	10/61*	5/62	5/62	1/62	1/62	1/62	2/62
	微小肉芽腫	7/62	3/61	4/62	3/62	13/62	10/62	10/62	10/62
	髄外造血亢進	4/62	4/61	7/62	7/62	8/62	8/62	11/62	7/62
	膵臓：島細胞増生	8/62	8/61	10/62	6/62	4/62	3/62	4/62	3/62
	腎臓：尿細管萎縮	21/62	17/61	19/62	21/62	15/62	6/62*	6/62*	7/62*
	石灰沈着	13/62	13/61	8/62	8/62	5/62	4/62	4/62	8/62
	硝子円柱	6/62	4/61	5/62	3/62	11/62	8/62	6/62	3/62*
	初期慢性糸球体腎炎	31/62	35/61	33/62	38/62	23/62	37/62**	25/62	37/62**
	腎盂拡張	12/62	9/61	11/62	14/62	1/62	0/62	1/62	1/62
	膀胱：腔拡張	11/62	13/61	11/62	18/62	0/60	0/60	1/57	1/61
	精巣：精細管萎縮	6/62	12/61	9/62	12/62				
	石灰沈着	2/62	6/61	4/62	6/62				
	精囊：分泌物貯留	13/62	20/61	27/62**	19/62				
	凝固腺：分泌物貯留	14/62	18/61	25/62**	16/62				
	卵巣：囊胞					35/62	29/62	32/62	35/62
	子宮：子宮腺囊胞状拡張					6/62	3/61	4/62	3/61
	筋腺症					5/62	10/61	8/62	4/61
	腺組織囊胞状拡張					0/62	0/61	4/62	0/61
	下垂体：前葉囊胞	2/6	5/61	1/62	0/62	0/62	0/61	0/61	1/62
副腎：被膜下細胞増生	20/61	20/61	21/62	22/62	43/62	41/61	41/62	48/62	
褐色色素沈着増加	14/61	12/61	16/62	18/62	14/62	12/61	11/62	22/62	
骨(胸骨)：骨硬化症	2/62	0/60	0/62	0/60	5/62	3/60	6/60	1/61	
眼：白内障	13/61	7/60	12/62	7/62	19/62	18/62	15/62	17/62	
ハーダー腺：単核細胞浸潤	5/62	3/61	4/62	2/62	12/62	16/62	16/62	7/62	
皮膚：表皮肥厚	2/62	3/61	7/62	4/62	2/62	0/62	3/62	1/62	
糜爛/潰瘍	18/62	8/61*	14/62	6/62**	4/62	1/62	1/62	3/62	

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし

*: p<0.05、**: p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2-1 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
52週殺動物	臓器：所見\投与量(ppm)								
	肺：腺腫 (B)	1/10	1/10	2/10	1/10	2/10	0/10	3/10	1/10
	腺癌 (M)	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10
	大腸：腺腫 (B)	1/10	0/10	1/10	0/10				
	肝臓：肝細胞腺腫 (B)	1/10	4/10	1/10	1/10				
	血管肉腫 (M)					0/10	0/10	0/10	1/10
	子宮角：内膜間質ポリープ (B)					0/10	0/10	0/10	1/9
	甲状腺：濾胞状腺腫 (B)					0/9	0/10	0/10	1/9
	ハーダー腺：腺腫 (B)	0/9	1/9	1/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10
	造血器：悪性リンパ腫 (M)	3/19	2/16	1/18	2/21	5/14	7/16	7/14	5/15
白血病(分類不能) (M)	0/19	0/16	0/18	1/21	0/14	0/16	1/14	0/15	
脾臓：血管肉腫 (M)	1/19	0/16	0/18	0/21	0/14	1/16	0/14	0/15	
肺：腺腫 (B)	1/19	4/16	3/18	4/21	1/14	0/16	1/14	0/15	
腺癌 (M)	0/19	0/16	1/18	2/21	0/14	1/16	0/14	1/15	
胃(腺胃)：腺腫 (B)					1/14	0/16	0/14	0/15	
大腸：腺癌 (M)	0/19	0/16	0/18	1/21					
肝臓：肝細胞腺腫 (B)	1/19	2/16	4/18	4/21					
肝細胞癌 (M)	0/19	1/16	2/18	1/21					
肝芽腫 (M)	0/19	0/16	1/18	0/21					
血管肉腫 (M)	1/19	0/16	0/18	2/21	0/14	1/16	0/14	1/15	
組織球肉腫 (M)					0/14	1/16	0/14	0/15	
腎臓：組織球肉腫 (M)					0/14	1/16	0/14	0/15	
精巣上体：Schwann 細胞腫 (B)	0/19	1/16	0/18	0/21					
子宮角：内膜間質ポリープ (B)					0/14	1/16	0/14	0/15	
子宮頸：内膜間質ポリープ (B)					0/14	1/16	0/14	0/15	
甲状腺：濾胞状腺腫 (B)	0/19	0/15	0/18	1/21					
大脳：髄膜腫 (B)	1/19	0/16	0/18	0/21	0/14	0/16	1/14	0/15	
骨(脊椎)：骨肉腫 (M)					1/14	0/16	0/14	0/15	
ハーダー腺：腺腫 (B)	1/19	0/16	0/18	0/21					
皮膚：線維腫 (B)	0/19	0/16	1/18	0/21					
血管腫 (B)	0/19	0/16	1/18	0/21					
扁平上皮癌 (M)					0/14	0/16	0/14	1/15	
線維肉腫 (M)	1/19	1/16	3/18	1/21	0/14	0/16	0/14	2/15	
横紋筋肉腫 (M)	1/19	0/16	0/18	0/21					
組織球肉腫 (M)	0/19	1/16	0/18	0/21					
乳腺：腺腫 (B)					1/13	0/16	0/13	0/13	
腺癌 (M)					1/13	2/16	1/13	1/13	
胸腔：中皮腫 (B)					0/14	1/16	0/14	0/15	
組織球肉腫 (M)	1/19	0/16	0/18	0/21					

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：活性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2-2 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
78 週 殺 動 物	臓器：所見\投与量(ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
	造血器：骨髄性白血病 (M)	0/33	1/35	0/34	0/31				
	悪性リンパ腫 (M)					0/38	1/36	1/38	2/37
	脾臓：血管肉腫 (M)					2/38	0/36	0/38	0/37
	組織球肉腫 (M)	1/33	0/35	0/34	0/31				
	肺：腺腫 (B)	10/33	13/35	11/34	14/30	8/38	6/33	12/38	13/37
	腺癌 (M)	4/33	4/35	1/34	3/30	3/38	0/33	1/38	1/37
	胃(腺胃)：腺腫 (B)	0/33	0/35	0/34	1/31				
	大腸：腺癌 (M)	0/33	0/35	1/34	0/31				
	肝臓：肝細胞腺腫 (B)	6/33	9/35	9/34	4/31	0/38	1/36	2/38	0/37
	肝細胞癌 (M)	2/33	1/35	1/34	1/31				
	血管肉腫 (M)	0/33	2/35	1/34	2/31	1/38	0/36	3/38	1/37
	腎臓：脂肪腫 (B)	0/33	0/35	1/34	0/31				
	膀胱：移行上皮癌 (M)					1/36	1/34	2/34	1/36
	卵巣：囊腺腫 (B)					1/38	0/36	0/38	0/37
	子宮角：内膜間質ポリープ (B)					4/38	2/35	3/38	5/37
	脱落膜腫 (B)					1/38	0/35	1/38	1/37
	平滑筋腫 (B)					1/38	0/35	0/38	0/37
	平滑筋肉腫 (M)					0/38	0/35	2/38	0/37
	子宮頸：平滑筋肉腫 (M)					0/38	2/35	0/38	0/37
	下垂体：前葉細胞腺腫 (B)					1/38	0/35	1/37	0/37
	甲状腺：濾胞状腺腫 (B)	0/33	2/34	0/34	0/31	0/38	0/35	1/38	0/37
	ハーダー腺：腺腫 (B)	3/33	3/35	1/34	2/31	2/38	0/36	0/38	1/37
	皮膚：乳頭腫 (B)	0/33	0/35	1/34	0/31				
	皮脂腺腫 (B)					1/38	0/36	0/38	0/37
	Schwann 細胞腫 (B)					2/38	1/36	0/38	0/37
	扁平上皮癌 (M)					0/38	1/36	0/38	0/37
	線維肉腫 (M)	0/33	1/35	0/34	0/31				
	乳腺：腺腫 (B)	1/33	0/35	0/34	0/31				
	腺癌 (M)					0/38	0/36	2/38	1/37

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2-3 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
全動物	臓器：所見\投与量(ppm)								
	造血器：骨髓性白血病 (M)	0/62	1/61	0/62	0/62				
	悪性リンパ腫 (M)	3/62	2/61	1/62	2/62	5/62	8/62	8/62	7/62
	白血病(分類不能) (M)	0/62	0/61	0/62	1/62	0/62	0/62	1/62	0/62
	脾臓：血管肉腫 (M)	1/62	0/61	0/62	0/62	2/62	1/62	0/62	0/62
	組織球肉腫 (M)	1/62	0/61	0/62	0/62				
	肺：腺腫 (B)	12/62	18/61	16/62	19/62	11/62	6/60	16/62	14/62
	腺癌 (M)	4/62	5/61	2/62	5/62	3/62	1/60	1/62	3/62
	胃(腺胃)：腺腫 (B)	0/62	0/61	0/62	1/62	1/62	0/62	0/62	0/62
	大腸：腺腫 (B)	1/62	0/61	1/62	0/62				
	腺癌 (M)	0/62	0/61	1/62	1/62				
	肝臓：肝細胞腺腫 (B)	8/62	15/61	14/62	9/62	0/62	1/62	2/62	0/62
	肝細胞癌 (M)	2/62	2/61	3/62	2/62				
	肝芽腫 (M)	0/62	0/61	1/62	0/62				
	血管肉腫 (M)	1/62	2/61	1/62	4/62	1/62	1/62	3/62	3/62
	組織球肉腫 (M)					0/62	1/62	0/62	0/62
	腎臓：脂肪腫 (B)	0/62	0/61	1/62	0/62				
	組織球肉腫 (M)					0/62	1/62	0/62	0/62
	膀胱：移行上皮癌 (M)					1/60	1/60	2/57	1/61
	精巣上体：schwann細胞腫 (B)	0/62	1/61	0/62	0/62				
	卵巢：囊腺腫 (B)					1/62	0/62	0/62	0/62
	子宮角：内膜間質ポリープ (B)					4/62	3/61	3/62	6/61
	脱落膜腫 (B)					1/62	0/61	1/62	0/61
	平滑筋腫 (B)					1/62	0/61	0/62	0/61
	平滑筋肉腫 (M)					0/62	0/61	2/62	0/61
	子宮頸：内膜間質ポリープ (B)					0/62	1/61	0/62	0/61
	平滑筋肉腫 (M)					0/62	2/61	0/62	0/61

注) 表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05(Fisherの直接確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2-4 [腫瘍性病変]

検査	性別	雄				雌				
		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
全動物	臓器：所見\投与量(ppm)									
	下垂体：前葉細胞腺腫 (B)					1/62	0/61	1/62	0/61	
	甲状腺：濾胞状腺腫 (B)	0/62	2/69	0/62	1/62	0/62	0/61	1/62	1/61	
	大脳：髄膜腫 (B)	1/62	0/61	0/62	0/62	0/62	0/62	1/62	0/62	
	骨(脊椎)：骨肉腫 (M)					1/62	0/61	0/61	0/62	
	ハーダー腺：腺腫 (B)	4/61	4/60	2/62	2/62	3/62	0/62	0/62	1/62	
	皮膚：乳頭腫 (B)	0/62	0/61	1/62	0/62					
	腺維腫 (B)	0/62	0/61	1/62	0/62					
	血管腫 (B)	0/62	0/61	1/62	0/62					
	皮脂腺腫 (B)					1/62	0/62	0/62	0/62	
	Schwann 細胞腫 (B)					2/62	1/62	0/62	0/62	
	扁平上皮癌 (M)					0/62	1/62	0/62	1/62	
	線維肉腫 (M)	1/62	2/61	3/62	1/62	0/62	0/62	0/62	2/62	
	横紋筋肉腫 (M)	1/62	0/61	0/62	0/62					
	組織球肉腫 (M)	0/62	1/61	0/62	0/62					
	乳腺：腺腫 (B)	1/62	0/61	0/62	0/62	1/61	0/62	0/61	0/60	
	腺癌 (M)					1/61	2/62	3/61	2/60	
	胸腔：中皮腫 (B)					0/62	1/62	0/62	0/62	
	組織球肉腫 (M)	1/62	0/61	0/62	0/62					
	合計	検査動物数	62	61	62	62	62	62	62	62
腫瘍数		良性	27	40	37	32	27	13	25	23
		悪性	15	15	12	16	14	19	20	19
腫瘍総数		42	55	49	48	41	32	45	42	
担腫瘍動物数		良性	25	33	30	28	21	12	22	21
		悪性	15	15	11	14	14	17	19	19
担腫瘍動物数	34	41	36	37	31	24	36	38		

注)表中の数値：発現例数/検査例数、空欄：発現なし、(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

*：p<0.05 (Fisher の直接確率検定)

(9) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

カフェンストロールのラットにおける繁殖試験

(資料 No. 23)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1994 年

検体の純度：

試験動物 : SD 系ラット (Crj : CD)、1 群雌雄各 30 匹、投与開始時 8 週齢

投与期間 : P 世代；投与開始から F₁ 児離乳時までの 20 週間以上、F₁ 世代；離乳時から F₂ 児
哺育終了時までの 20 週間以上 (1992 年 5 月 28 日～1993 年 3 月 29 日)

投与方法 : 検体の 0, 50, 1000 および 5000ppm を含有した飼料を自由に摂取させた。
投与量設定根拠：

方法及び試験項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に、一般状態および生死を毎日観察した。

体重変化；投与開始日から週 1 回、全動物の体重を測定した。なお、母動物については、
妊娠 0, 7, 14, 20 日、分娩 0, 4, 7, 14, 21 日に測定した。

摂餌量；投与開始日から 14 週後まで、ケージ毎に週 1 回測定した。なお、母動物につい
ては、妊娠 0, 7, 14, 20 日、分娩 0, 4, 7, 14, 21 日に測定した。

検体摂取量；摂餌量および投与濃度から算出した。

交配及び妊娠の確認；雌雄 1 対 1 で交配した。交尾は膣栓もしくは膣垢中の精子の有無に
よって確認した。妊娠の確認は触診および出産をもって行った。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、分娩および哺乳時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

- 交尾率(%)=(交尾動物数/同居動物数)×100
- 受胎率(%)=(妊娠動物数/交尾動物数)×100
- 出産率(%)=(生存児出産雌数/妊娠雌数)×100
- 出生率(%)=(出產生存児数/着床数)×100
- 出生時生存率(%)=(出產生存児数/出産児数)×100
- 4日生存率(%)=(生後4日の生存児数/出產生存児数)×100
- 離乳率(%)=(離乳時の生存児数/児数調整後の児数)×100

病理学的検査；すべての動物について剖検を実施した。交配に供した動物は、卵巣、子宮、腺、精巣、精巣上体、精囊、前立腺および下垂体について組織標本を作製し、鏡検した。また、必要に応じて、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、副腎、乳腺、小腸等についても鏡検を実施した。

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	生育(14週)	雌雄1対1で交配。交尾は膣栓もしくは膣垢中の精子の有無によって確認 (妊娠0日)	一般状態、生死を毎日観察 体重、摂餌量を週1回測定 交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、交尾率、受胎率を検査 交配終了後、雄を病理学的検査
	交配(1週)		
	妊娠(3週) 出産……………		妊娠0, 7, 14, 20日に体重、摂餌量測定 出産状況の観察 妊娠期間、出産率、新生児数、死亡児数、性別、外表異常、出生時生存率及び同腹生存児雌雄別体重測定
	哺育(3週)		母動物の出産後0, 4, 7, 14及び21日に体重、摂餌量測定 生後4日に同腹生存児の雌雄別体重を測定後、哺育数調整を行い、4, 7, 14及び21日に個別に体重測定。生後4日生存率算出
	…… 離乳 ……		離乳率を算出。 母動物の対照群と最高用量群について病理組織学的検査。 継代用以外の児動物を屠殺し、肉眼的病理検査。
F ₁	生育(14週) 交配(1週) 妊娠(3週) 出産…………… 哺育(3週)	} (P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
			(P世代に準ずる)
			(P世代に準ずる)
			(P世代に準ずる)
			F ₂ 児は哺育終了後屠殺し肉眼的病理検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

世代		親:P				親:F ₁			
投与量 (ppm)		0	50	1000	5000	0	50	1000	5000
検体摂取量: (mg/kg/day)	雄	0	2.25	46.8	253	0	3.2	65.8	355
	雌	0	2.61	53.4	289	0	3.48	73.2	389
動物数:	雄	30	30	30	30	24	24	24	24
	雌	30	30	30	30	24	24	24	24
一般状態	雄	—	—	—	—	—	—	—	—
	雌	—	—	—	—	—	—	—	—
死亡数:	雄	—	—	—	—	1/24	—	—	—
	雌	1/30	1/30	1/30	—	—	—	—	—
体重(g)	雄:14週後	551	530	526	↓485	544	545	512	↓416
	雌:14週後	307	308	296	↓270	310	309	299	↓261
	分娩時	321	329	317	↓289	335	343	328	↓291
	離乳時	338	340	336	↓320	344	349	355	↓304
摂取量(g)	雄:1週後	23	22.1	↓21.5	↓18.2	12.1	11.6	↓11.2	↓7.9
	14週後	21	20.1	20.5	20.3	23.9	23.6	↓21.8	↓19.7
	雌:1週後	15.1	15.4	14.7	↓12.7	11.6	10.4	10.4	↓7.8
	14週後	13.9	13.8	13.4	13.6	16.5	16	15.4	↓14.9
剖検	空腸粘膜 雄	—	—	18/30	30/30	—	—	15/24	24/24
	乳白色化 雌	—	—	26/30	30/30	—	—	15/24	21/24
	尿道下裂 雌	—	—	—	—	—	—	—	3/24
	生殖結節・ 膣口間距離	*	*	*	*	10.2	9.6	↓8.6	↓6.8
組織	空腸粘膜絨毛 雄	—	*	*	12/12	—	*	*	12/12
	上皮空胞化 雌	—	*	*	12/12	—	*	*	12/12
交尾率(%)		100	100	100	96.7	91.3	95.8	95.8	95.8
受胎率(%)		100	93.3	100	89.7	85.7	100	87	82.6
着床数		14.2	14.6	14.1	12.5	13.7	14.8	15.4	11.9
出生率(%)		92.9	83.4	90	86.1	89.3	90.3	91.8	86.1
妊娠期間(日)		22.1	22.3	22.1	↓21.8	22.2	22.1	22	↓21.7
出産率(%)		100	100	100	96.2	94.4	100	100	100
分娩異常		3/30	2/28	2/30	—	—	—	—	—
哺育異常(全児死)		1/30	1/28	1/30	—	—	—	—	18/19
児動物	出生児数	13.3	13.1	12.9	11.6	13.6	13.5	14.7	↓11.1
	生存出生児数	13.1	12	12.7	↓11.4	13.4	13.4	14.1	10.2
	外表異常	—	—	—	—	—	—	—	—
	性比(♂/♀)	1.08	0.97	1.11	1.06	0.92	1.1	0.92	1.04
	生存率:出生時	98.7	92.1	98.9	98.4	98.7	99	96	↓91.2
	(%) 生後4日	95.2	92	94.9	95.4	93.7	94.1	76.4	↓3.2
	離乳時	100	100	100	99.5	100	99.4	99.3	100
	生存児 雄:出生時	6.6	6.7	6.6	6.3	6.7	6.4	6.1	↓5.8
	体重(g) 4日齢	10.7	10.6	10.6	↓9.1	10.6	10.4	↓8.4	6
	離乳時	59.3	58.4	↓54.5	↓39.6	59.7	61	↓45.7	28.4
	雌:出生時	6.2	6.2	6.2	5.9	6.3	6	5.9	↓5.5
	4日齢	10.1	10	10	↓8.4	10	9.7	↓8.0	5.6
離乳時	56.4	55.2	↓51.9	↓37.7	56.5	57.2	↓43.4	24.1	
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	
剖検		—	—	—	—	—	—	—	

注) — : 特記すべき所見なし、* : 検査せず、数値: 平均値もしくは発現例数/検査例数

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett または Scheffe の多重比較検定)

一般状態；検体に起因した変化および死亡例はみられなかった。

体重及び摂餌量；1000ppm以上の投与群で体重の増加抑制および摂餌量の減少がP世代およびF₁世代ともに認められた。

病理学的検査；P世代およびF₁世代ともに1000ppm以上の投与群で空腸粘膜面の乳白色化が認められ、組織学的には粘膜絨毛上皮の空胞化として捉えられた。生殖器、下垂体等には検体に起因した変化は認められなかった。

繁殖機能への影響；5000ppm群で妊娠期間の軽度短縮、出産児数あるいは出産生存児数の軽度減少がP世代、F₁世代ともに認められた。交尾、妊娠、分娩、哺育行動等には検体の影響はみられなかった。

児動物への影響；1000ppm以上の投与群において、生後の発育抑制がF₁およびF₂世代、生存率の低下がF₂世代で認められた。また、F₁世代の雌では生殖結節と膣口間の距離の短縮がみられ、5000ppm群では3例に尿道下裂が観察された。

以上の結果から、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、親動物において1000ppm以上の投与群で一般毒性学的影響が認められるとともに、5000ppm群では妊娠期間の短縮、出産児数の減少などの繁殖機能への影響がみられた。また、1000ppm以上の投与群の児動物には低体重、生存率の低下などの生後発育への影響が認められた。しかしながら、親動物に一般毒性学的影響が認められなかった50ppm群では、繁殖機能および児動物への影響は認められなかった。

従って、最大無作用量は、親動物および児動物に対して50ppm(P：雄2.25mg/kg/day、雌2.61mg/kg/day、F₁：雄3.20mg/kg/day、雌3.48mg/kg/day)、繁殖については1000ppm(P：雄46.8mg/kg/day、雌53.4mg/kg/day、F₁：雄65.8mg/kg/day、雌73.2mg/kg/day)と判断される。

【申請者注】

旧残留農薬安全性評価委員会から、本試験でみられた胎児の生殖器発生に及ぼす影響について、特に副腎の機能との関連について詳細な検討を求められた。

本試験では1,000ppmおよび5,000ppmで、F₁の雌に生殖結節－膣口間距離の短縮および生殖結節－肛門間距離の短縮、さらに高用量の5,000ppmでは3例に尿道下裂が認められた。雌の生殖結節－膣口間距離および肛門間距離の短縮は、5,000ppmでは体重が2割程度減少していることを考慮すると、体格の要因が距離に反映されていると考えられる。一方、尿道下裂は泌尿生殖器中隔の形成異常^{1, 2)}である。この異常は男性ホルモン剤^{3, 4, 5)}、抗アンドロジェン剤^{6, 7)}、エストロジェン剤^{8, 9, 10)}などで惹起され、ヒトでは先天性の副腎性器症候群¹⁾が知られている。

ヒトの副腎性器症候群では、副腎皮質のコーチゾール合成系の酵素が欠損しているために、negative feedback機構が作動して、ACTHが過剰に分泌される結果、副腎皮質の過形成が惹起され、中間前駆ステロイドとともに、アンドロジェンなどの男性ホルモンが過剰になることにより、生殖器異常を惹起するとされている。このとき、副腎は肥大し、血液中のカリウム等の電解質に影響を与え、乳児の死亡率も高いことが知られている。

しかし、カフェンストロールの催奇形性試験および繁殖試験では、副腎肥大はみとめられなかったことから、副腎の重篤な異常はなかったものと推察される。

また、カルバメート系化合物および有機リン系化合物は、副腎のステロイド合成を阻害することが知られている¹¹⁾ことから、カフェンストロールが直接、雌の副腎に影響したことも考えられる。しかしその阻害の強さは、カルバメート剤は有機リン剤に比べ極めて弱いとされている¹¹⁾。ラットの亜急性毒性試験では、雌の副腎重量の減少が50ppm以上の投与群で認められた。しかし、用量増加に伴う減少傾向は認められず、試験実施機関の背景データから、正常範囲内の変化と判断した。さらに、血液生化学値および副腎の病理組織には異常は認められていない。したがって、カフェンストロールの組織分布(資料代謝No. 2、表1, 3, 4および資料代謝No. 2-1、表4)においては、50mg/kg 単回投与では、24時間後の値が雄よりも雌の値が高くなっていることから、カフェンストロールが、雌の副腎機能に影響することも否定はできないものの、その影響は微弱なものと考えられる。

一方、性ホルモン剤は催奇形性作用を有することが知られているが、カフェンストロールの催奇形性試験では、妊娠6日から15日に繁殖試験の最高用量である5,000ppmの約3倍に相当する1,000mg/kgを投与しても催奇形性作用は認められなかった。さらに、親動物およびF1の性周期には影響がなく、妊娠率にも差がなかった。カフェンストロールは構造的に性ホルモンとの類似性はないが、構造中に含まれるトリアゾール骨格については、近年その各種誘導体がエストロゲン合成阻害作用を持つことが報告^{12), 13), 14)}されている。したがって、5,000ppmという親動物およびF1の体重増加抑制が著しく、F2児が死亡するような大量投与によって、妊娠末期から新生児期の泌尿生殖器中隔形成期に、微弱なエストロゲン合成阻害作用が影響したものと考えられる。

参考文献

1. 川島邦夫：ホルモン剤の催奇形性 性ホルモン剤による男性化を中心にして トキシコロジーフォーラム, 7: 78-87, 1984
2. Shardein, J. L.: Chemically induced birth defects. 9. Hormones and hormone antagonists. Marcel Dekker Inc., New York. P260. 1985.
3. Hoshino, K.: Development and function of mammary glands of mice prenatally exposed to testosterone propionate. Endocrinology, 76: 789-794, 1965.
4. Schultz, F. M., Wilson, J. D.: Virilization of the Wolffian duct in the rat fetus by various androgens. Endocrinology, 94: 979-986, 1974.
5. Kawashina, K., Nakaura, S., Tanaka, S., Kuwamura, T., Omori, Y.: Quantitative evaluation of virilizing activity of steroids by measuring morphological changes in urogenital region of rats. Endocrinol. Japan., 22: 439-444, 1975.
6. 白井哲夫ら：抗 Androgen 剤 Osaterone acetate (TZP-4238) のラットにおける器官形成期投与試験. 応用薬理, 48: 97-108, 1994.
7. 白井哲夫ら：抗 Androgen 剤 Osaterone acetate (TZP-4238) のラットにおける周産期および授乳期投与試験. 応用薬理, 48: 109-121, 1994.
8. Scholer, H. F. L., De Wachter, A. M.: Evaluation of androgenic properties of progestational compounds in the rat by the female foetal masculinization test. Acta Endocrinol., 38: 128-136, 1961.
9. Suchowsky, G. K., Junkmann, K.: A study of the virilizing effect of progestgens on the female rat fetus. Endocrinology, 68: 341-349, 1961.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

10. Lerner, L. J., Dephillipo, M., Yiacas, E., Brennan D., Borman, A.: Comparison of the acetophenine derivative of $16\alpha, 17\alpha$ -dihydroxyprogesterone with other progestational ateroida for masculinization of the rat fetus. *Endocrinology*, 71: 448-451, 1962.
11. Civen, M., Lifrak, E., Brown, C. B.: Studies on the mechanism of inhibition of adrenal steroidogenesis by organophosphate and carbamate compounds. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 7(2): 169-182, 1977.
12. Bhatnagar, A. S. et al.: Highly selective inhibition of estrogen biosynthesis by CGS 20267, a new non-steroidal aromatase inhibitor. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 37: 1021-1025, 1990.
13. De Coster, R. et al.: Antitumoral and endocrine effects of (+)-vorozole in rats bearing dimethylbenzanthracene-induced mammary tumours. *Cancer Res.*, 52:1240-1244, 1992.
14. Brodic, A. M.: Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 49: 281-289, 1994.

カフェンストロールのラットにおける催奇形性試験

(資料 No. 24)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1992 年

検体の純度 :

試験動物 : SD 系妊娠ラット (Crj : CD、10 週齢)、1 群 24 匹

試験期間 : 投与期間 ; 10 日間 (1992 年 2 月 24 日 ~ 1992 年 3 月 7 日)

方 法 : 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、40, 200 および 1000mg/kg の投与量で、妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。なお、妊娠 0 日は、腔栓形成あるいは腔垢標本中に精子が認められた日とした。

投与量設定根拠 :

試験項目 :

母 体 ; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠 0, 6, 12, 15 および 20 日に体重を測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存および死亡胎児数、死亡胚数を検査した。また、胸腔および腹腔内臓器を肉眼的に検査した。

生存胎児 ; 性別、口腔を含む外表異常を観察し、体重を測定した。各同腹児の雌雄それぞれ約半数の胎児については骨格標本作製して骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

結 果 : 親動物においては、200mg/kg 以上の群で体重の増加抑制が認められた。その他の検査では、検体投与による変化は認められなかった。
胎児動物においては、対照群と投与群との間に有意な差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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

投与量(mg/kg/day)		0	40	200	1000	
1 群当り動物数		24	24	24	24	
親動物	一般状態	—	—	—	—	
	死亡率(%)	0	0	0	0	
	体重増加(g)：妊娠 15 日*	51	46	↓43	↓32	
	肉眼的病理検査	—	—	—	—	
	妊娠数	24	24	24	23	
	着床所見	検査親動物数	24	23	24	23
		黄体数	17.4	18.2	18.1	18.0
		着床数	15.9	15.8	16.6	16.5
		生存胎児数	14.6	14.8	15.5	15.8
		着床後胚死亡率(%)	8.5	6.5	7.0	4.5
胎児動物	体重(g)：雄	3.21	3.17	3.17	3.17	
	雌	3.1	3.01	3.03	3.03	
	性比(雄/雌)	0.96	0.97	0.93	1.02	
	外表異常	臍ヘルニア 1 例 (0.3%)	—	—	小顎症 1 例 (0.3%)	
	骨化進行度	—	NT	NT	—	
	骨格重常：変異(%)	18.4	17.4	22.1	22.7	
	奇形(%)	0.6	0	0	1.0	
内臓異常(%)	18.2	0	0	12.8		

注) —：特記すべき所見なし、NT：not tested、数値：平均値もしくは例数、

↓：p<0.01 (Dunnett または Scheff'e の多重比較検定)、

*：妊娠 6 日(投与開始時)からの増加量

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに強制経口投与したときの最大無作用量は、母体においては 40mg/kg/day、胎児においては 1000mg/kg/day であった。また、最高投与量の 1000mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性をおよぼさないと判断される。

カフェンストロールのウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.25)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1992 年

検体の純度 :

試験動物 : JW 系妊娠ウサギ (Kbl : JW、6 ヶ月齢)、1 群 16 匹

試験期間 : 投与期間 ; 13 日間 (1992 年 3 月 30 日 ~ 1992 年 4 月 14 日)

方 法 : 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、20, 100 および 500mg/kg の投与量で、妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には 0.5%CMC 水溶液を同様に投与した。なお、人工授精を実施した翌日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠 :

試験項目 :

母 体 ; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠 0, 6, 9, 12, 15, 18, 23 および 28 日に体重を、また妊娠 0 日を除く体重測定日に摂餌量を測定した。
妊娠 28 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。また、胸腔および腹腔内臓器を病理学的に検査した。

生存胎児 ; 性別、口腔を含む外表異常を観察し、体重を測定した。また、内臓異常の有無を検査した後、骨格標本作製して骨格異常の有無を検査した。

結 果 : 親動物では、500mg/kg 群の 1 例で自発運動量の減少および軟便がみられ、妊娠 24 日に死亡した。また、妊娠 20 および 23 日に各 1 例が流産した。
その他、体重の増加抑制および摂餌量の減少傾向もみられた。100mg/kg 以下の投与群では検体投与による変化は認められなかった。
胎児動物においては、対照群と投与群との間に有意な差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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

投与重(mg/kg/day)		0	20	100	500	
1群当り動物数		16	16	16	16	
親動物	一般状態	—	—	—	死亡例で自発運動量の減少、軟便	
	死亡率(%)	0	0	0	6.3	
	流産(%)	0	0	0	12.5	
	早産(%)	0	6.3	6.3	0	
	体重増加(g)：妊娠18日*	100	150	160	↓-140	
	摂餌量(g)：妊娠18日	177	181	204	123	
	病理学的検査	—	—	—	—	
	妊娠数	16	16	16	16	
	着床所見	検査親動物数	15	15	14	12
		黄体数	12.6	12.1	12.3	12.7
着床数		9.1	8.2	8.7	7.4	
生存胎児数		8.5	7.3	7.0	6.8	
着床後胚死亡率(%)		8.1	12.7	19.5	17.0	
胎児動物	体重(g)：雄	42.8	45.6	43.8	40.2	
	雌	43.2	45.0	43.7	36.7	
	性比(雄/雌)	0.79	1.24	0.78	1.27	
	外表異常	—	口蓋裂 1例 (0.9%)	単眼 ¹⁾ 1例 (1.0%)	臍ヘルニア ²⁾ 1例 (1.5%)	
	骨化進行度	—	—	—	—	
	骨格異常：変異(%)	46.4	43.9	40.4	48.5	
	奇形(%)	0.7	0.8	0	2.8	
内臓異常(%)	20.6	18.2	23.6	17.7		

注) —：特記すべき所見なし、数値：平均値もしくは例数、

↓：p<0.01 (Dunnett または Scheff'e の多重比較検定)、

*：妊娠6日(投与開始時)からの増加量、

¹⁾：象鼻を伴う単眼、²⁾：臍ヘルニア、脳膜痛、内反手の合併

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに強制経口投与したときの最大無作用量は、母体においては 100mg/kg/day、胎児においては 500mg/kg/day であった。また、最高投与量の 500mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性をおよぼさないと判断される。

(10) 変異原性

カフェンストロールの細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No. 26)

試験機関 中外製薬株式会社
[GLP 対応]
報告書作成 1990, 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* (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異活性を検定した。
検体は DMSO に溶解した。試験菌株に対して抗菌性を示さず、コロニー数の計数に支障を来さない 2000 μ g/plate を最高濃度とした。
試験濃度は 125~2000 μ g/plate の範囲で 5 用量とし、各濃度につき 2 後ずつのプレートを用いた。

結 果：結果を次表に示した。
2 回の試験において、検体はいずれの菌株においても、S-9Mix の有無に係わらず、溶媒対照群と比べ、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 ENNG, SA, 2NF, 1CR-191 および 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、カフェンストロール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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[1回目試験]

薬物	濃度 μg/ Plate	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA102	
対照 (DMSO)	0	-	161	14	39	26	16	306	
カフェンストロール	125	-	157*	14*	34*	29*	15*	289	
	250	-	165*	14*	30*	28*	8*	280*	
	500	-	176*	15*	28*	31*	12*	270*	
	1000	-	186*	14*	27*	23*	11*	262*	
	2000	-	180*	11*	27*	22*	12*	299*	
対照 (DMSO)	0	+	202	18	28	36	15	362	
カフェンストロール	125	+	191	14	29	37	13	378	
	250	+	171*	12*	27*	47*	12*	391*	
	500	+	179*	17*	27*	33*	14*	384*	
	1000	+	205*	15*	24*	37*	14*	393*	
	2000	+	198*	12*	38*	39*	13*	323*	
陽性 対照	ENNG	2	-	-	-	620	-	-	-
		3	-	595	-	-	-	-	-
	SA	0.5	-	-	110	-	-	-	-
	2NF	1	-	-	-	-	1157	-	-
	1CR-191	1	-	-	-	-	-	1249	-
	MMC	0.1	-	-	-	-	-	-	873
	2AA	0.5	+	-	-	-	312	-	-
		1	+	1088	-	-	-	-	-
		2	+	-	173	-	-	202	-
		20	+	-	-	1001	-	-	-
B(a)P	1	+	-	-	-	-	-	822	

注)表中の数値は2プレートの平均値、-:実施せず、*:析出物あり

ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、SA: sodium azide、
1CR-191: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloro ethyl)aminopropylamino]
acridine・2HCl、2NF: 2-nitrofluorene、MMC: mitomycin C、
2AA: 2-aminoanthracene、B(a)P: benzo(a)pyrene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[2 回目試験]

薬物	濃度 μg/ Plate	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA102	
対照 (DMSO)	0	—	123	10	34	31	19	281	
カフェンストロール	125	—	124	12	23	31	17	334	
	250	—	130*	14*	33*	38*	17*	335*	
	500	—	126*	12*	29*	46*	19*	280*	
	1000	—	133*	13*	30*	42*	18*	306*	
	2000	—	117*	13*	34*	38*	14*	253*	
対照 (DMSO)	0	+	137	12	32	58	17	467	
カフェンストロール	125	+	129	8	25	49	22	462	
	250	+	158*	17*	26*	45*	16*	467*	
	500	+	139*	8*	39*	60*	18*	453*	
	1000	+	135*	11*	30*	53*	15*	465*	
	2000	+	138*	11*	26*	44*	10*	442*	
陽性 対照	ENNG	2	—	—	—	705	—	—	—
		3	—	504	—	—	—	—	—
	SA	0.5	—	—	201	—	—	—	—
	2NF	1	—	—	—	—	1574	—	—
	ICR-191	1	—	—	—	—	—	724	—
	MMC	0.1	—	—	—	—	—	—	1588
	2AA	0.5	+	—	—	—	318	—	—
		1	+	837	—	—	—	—	—
		2	+	—	216	—	—	172	—
		10	+	—	—	859	—	—	—
B(a)P	1	+	—	—	—	—	—	964	

注)表中の数値は2プレートの平均値、—:実施せず、*:析出物あり

ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、SA: sodium azide、
ICR-191: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloro ethyl)aminopropylamino]
acridine・2HCl、2NF: 2-nitrofluorene、MMC: mitomycin C、
2AA: 2-aminoanthracene、B(a)P: benzo(a)pyrene

カフェンストロールのチャイニーズ・ハムスター肺由来の株化培養細胞を用いた
in vitro染色体異常試験(資料 No.27)

試験機関 中外製薬株式会社
[GLP 対応]
報告書作成 1992 年

検体の純度：

方 法 ：チャイニーズ・ハムスター肺由来の株化培養細胞(CHL-IU)を用い、代謝活性化および非活性化法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。
用量設定のために実施した細胞分裂抑制試験の結果から、本試験の濃度は非活性化法、代謝活性化法ともに、50%細胞分裂抑制濃度である $25 \mu\text{g/ml}$ を最高濃度とし、以下公比 2 で、12.5 および $6.25 \mu\text{g/ml}$ の 3 用量とした。
各濃度で 200 個の分裂中期像を観察し、染色体異常をギャップ(gap)、切断(break)、交換(exchange)などに分類し、計測した。
異常を有する細胞の発現頻度は、5%未満を陰性(-)、5%~10%未満を疑陽性(±)、10%以上を陽性とした。

結 果 ：結果を次表に示した。
カフェンストロールは、非活性化法あるいは代謝活性化法において、染色体異常率の増加はみられず、処理濃度依存性もみられなかった。
一方、非活性化法の陽性対照として用いた MMC では、明らかな染色体異常の増加がみられた。また、代謝活性化法で用いた B(a)P では、S-9Mix 存在下でのみ染色体異常の増加がみられた。

以上の結果から、カフェンストロールは代謝活性化を含む本試験条件下で、染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[直接法]

処置 時間 (h)	薬物	濃度 (μ g /ml)	染色体異常を有する細胞数(%)				総異 常率 (%)	倍数 体 (%)	評価	
			ギャ ップ	染色分体型		染色体型				
				切断	交換	切断				交換
24	溶媒対照 (DMSO)	0	0.5	0	0	0	0	0.5	1	—
	カフェンストロール	6.25	1	0	0	0.5	0	1.5	1.5	—
		12.5	1	0.5	0	0	0	1.5	1	—
		25	0	0	0.5	0	0	0.5	1.5	—
	陽性対照 (MMC)	0.05	8	23	37	4.5	0.5	55	1.5	+
48	溶媒対照 (DMSO)	0	0.5	0	0.5	0	0	1	1	—
	カフェンストロール	6.25	0	0	0	0	0	0	2.5	—
		12.5	0	0	0.5	0.5	0	1	0.5	—
		25	0	1	1	0	0	1.5	0.5	—
	陽性対照 (MMC)	0.05	1.5	15	38	6	6.5	48.5	2	+

注) MMC : mitomycin C

[代謝活性化法]

薬物	濃度 (μ g /ml)	S-9 Mix	染色体異常を有する細胞数(%)				総異 常率 (%)	倍数 体 (%)	評価	
			ギャ ップ	染色分体型		染色体型				
				切断	交換	切断				交換
溶媒対照 (DMSO)	0	—	1	0.5	0	0.5	0.5	2.5	0.5	—
カフェンストロール	6.25	—	1	0.5	0.5	0.5	0	2.5	1.5	—
	12.5	—	0.5	0	0	0.5	0.5	1	0	—
	25	—	1.5	0	0	2	0.5	4	1	—
陽性対照 (B(a)P)	50	—	0.5	0	0	0	0	0.5	0.5	—
溶媒対照 (DMSO)	0	+	0.5	0	0.5	0	0.5	1.5	0.5	—
カフェンストロール	6.25	+	0.5	0	0	1.5	0	2	0	—
	12.5	+	0.5	0	0	0.5	0	1	0	—
	25	+	0.5	0	0.5	0.5	0	1.5	1	—
陽性対照 (B(a)P)	50	+	0	5	25	6.5	3.5	35	0.5	+

注) B(a)P : benzo(a)pyrene、培養時間 : 6時間処理後、通常培養液にて18時間培養

マウスを用いた小核試験

(資料 53)

試験機関 セーファーマ ラボラトリーズ 社(英国)
[GLP 対応]
報告書作成 2004 年

検体の純度：

試験動物：Cr1:CD-1(ICR)BR系雄マウス、5～8週齢、体重25～30g、一群7匹

試験方法：検体は落花生油に懸濁し、0、500、1000及び2000mg/kgの用量で単回腹腔内投与した。投与後24及び48時間に全てのマウスから大腿骨を摘出して、牛胎児血清を用いて骨髓細胞を採取し、常法により骨髓標本を作製した。観察は2000個の多染性赤血球数について小核を有する多染性赤血球数を計数し、染色体異常誘発性を検定した。また、骨髓細胞の増殖抑制の指標として、1000個の全赤血球(多染性赤血球数+正染性赤血球)を観察し正染性赤血球数を計数した。

予備試験において、最大推奨用量2000mg/kgで毒性影響が認められるかの確認および毒性影響に雌雄差があるかどうかを確認することを目的として2000mg/kgを単回腹腔内投与し、投与後48時間動物を観察した。その結果、死亡や毒性徴候は認められず雌雄差も求められなかったことから、最大推奨用量2000mg/kgを本試験の最高用量とし、以下1000及び500mg/kgの用量を設定した。また、本試験は雄のみで実施することとした。骨髓採取時期は投与後24および48時間とした。陽性対照としてシクロフォスファミド(50mg/kg)を単回経口投与し、投与後24時間に骨髓標本を作製した。

試験結果：結果を次頁に示した。

検体2000及び1000mg/kg投与群にはいずれの観察時間においても小核を有する多染性赤血球の増加は認められなかった。検体500mg/kg投与群の24時間目の観察において、小核を有する多染性赤血球の増加が認められたが、それ以上の投与群には認められなかったことおよび背景データの範囲内(多染性赤血球1000個あたり2.3)であったことから、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

溶媒対照群と比較して検体投与群には多染性赤血球/正染性赤血球比または赤血球1000個中の多染性赤血球の百分率に統計学的な有意な低下は認められなかったが、2000mg/kg投与群における多染性赤血球/正染性赤血球比は溶媒対照群に比して24、48時間とも明らかに低下しており、24時間においては用量相関も認められた。なお、一般状態の異常や死亡は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロフォスファミドでは、投与後24時間の観察で小核を有する多染性赤血球が顕著に増加した。

以上の結果、検体投与による小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、最大推奨用量2000mg/kgにおいても溶媒対照群と同程度であることから、本試験条件下で、検体は骨髓多染性赤血球に対する染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

小核試験成績

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察 例数	MNPCE %	PEC/(PEC+NCE) %
					平均±標準偏差	平均±標準偏差
24	溶媒対照 (DMSO)	—	♂	7	0.10±0.06	52.70± 8.97
	検体 (カフェストール)	500	♂	7	0.23±0.11*	51.86± 7.00
	検体 (カフェストール)	1000	♂	7	0.14±0.05	43.99±14.17
	検体 (カフェストール)	2000	♂	7	0.06±0.07	42.21±15.59
	陽性対照 (シクロオキサミド)	50	♂	5	1.68±0.63***	53.38± 6.12
48	溶媒対照 (DMSO)	—	♂	7	0.13±0.11	55.56±14.41
	検体 (カフェストール)	2000	♂	7	0.13±0.10	54.69± 6.34

PCE : 多染性赤血球数、 NCE : 正染性赤血球数

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球数

* : Student の t 検定で溶媒対照群と有意差あり (P<0.05)

*** : Student の t 検定で溶媒対照群と有意差あり (P<0.001)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロールの細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No. 28)

試験機関 中外製薬株式会社
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：

方 法 ： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)および欠損株(M-45)を用い、代謝活性化および非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。カフェンストロールを溶解させるために DMSO を用い、溶解限界である 2000 μ g/disk を最高濃度とした。

結 果 ： カフェンストロールでは代謝活性化を含め、溶解限度である 2000 μ g/disk においても、両株間の生育阻止は、陰性対照物質と同様に顕著な差を認めなかった。一方、陽性対照の MMC および 2AA では、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果から、カフェンストロールは代謝活性化を含む本試験条件下で、DNA 損傷誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

薬 物	濃度 (μ g/disk)	S-9Mix 有無	阻止帯の径(mm)*		差** (mm)
			M-45	H-17	
溶媒対照(DMSO)	—	—	—	—	0
カフェンストロール	0.13	—	—	—	0
	0.64	—	—	—	0
	3.2	—	20	15	5
	16	—	34	28	6
	80	—	39	32	7
	400	—	36	30	6
	2000	—	35	31	4
陰性対照(TC)	30	—	30	26	4
陰性対照(AP)	10	—	50	40	10
陽性対照(MMC)	0.02	—	32	10	22
溶媒対照(DMSO)		+	—	—	0
カフェンストロール	0.13	+	—	—	0
	0.64	+	—	—	0
	3.2	+	12	10	2
	16	+	26	22	4
	80	+	33	29	4
	400	+	32	27	5
	2000	+	31	23	8
陰性対照(TC)	30	+	26	24	2
陰性対照(AP)	10	+	42	40	2
陽性対照(2AA)	0.02	+	18	—	10

注)*: (ディスクから阻止円縁までの距離) \times 2 + (ディスク直径: 8mm)、

** : — (阻止帯なし) を 8mm として算出、

TC : tetracycline、AP : ampicillin、MMC : mitomycin C、

2AA : 2-aminoanthracene

(11) 生体の機能に及ぼす影響

カフェンストロールにおける薬理試験

(資料 No. 29)

試験機関 (財)残留農薬研究所
報告書作成 1994年

検体の純度：

1) マウス及びウサギの中枢神経系に対する作用

① マウスにおける一般症状

供試動物 : ICR系マウス(Crj:CD-1)、8週齢、
体重；雄 32.4~40.7g、雌 23.9~27.0g、1群雌雄各3匹

方 法 : 検体を1% tween80水溶液に懸濁し、0, 78.1, 313, 1250 および 5000mg/kg を 20ml/kg
の容量で腹腔内に投与した。一般症状は Irwin の方法に従って、多元観察した。

結 果 : 1250mg/kg 以上の投与群で投与 30 分後以降に非特異的な抑制性の変化、すなわ
ち運動性低下、運動失調、筋緊張低下、反射低下等が観察され、全例が死亡し
た。313mg/kg 以下の群では異常は認められなかった。

② ウサギの一般症状

供試動物 : ウサギ(Kb1:JW)、11週齢、体重 2.26~2.86kg、1群雄3匹

方 法 : 検体を1% tween80水溶液に懸濁し、0, 313, 1250 および 5000mg/kg の
容量で経口投与し、一般症状を多元観察した。

結 果 : 5000mg/kg まで投与したが、異常症状は観察されなかった。

③ ウサギの体温に対する作用

供試動物 : ウサギ(Kb1:JW)、11週齢、体重 2.26~2.86kg、1群雄3匹

方 法 : 検体を1% tween80水溶液に懸濁し、0, 313, 1250 および 5000mg/kg の
容量で経口投与し、投与前、投与後 30 分, 1, 3, 6 および 24 時間、以降 1 日 1 回、7 日後まで、
保定器に保定して直腸温を測定した。

結 果 : 5000mg/kg まで投与したが、体温の変動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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

④マウスにおける睡眠延長作用

供試動物 : ICR系マウス(Crj:CD-1)、8週齢、体重31.9~41.4g、1群雄10匹

方 法 : 検体を1% tween80水溶液に懸濁し、0, 19.5, 78.1, 313, 1250 および 5000mg/kg を20ml/kg の容量で腹腔内に投与し、3時間後にヘキソバルビタールを100mg/kg皮下投与して睡眠時間(正向反射の消失継続時間)を、正向反射消失後360分まで測定した。

結 果 :

投与量 (mg/kg)	対 照	19.5	78.1	313	1250	5000
睡眠時間(分)	68±17	70±14	↑9.1±20	>273	>360	>360

注) ↑ : p<0.05(Studentのt検定)

78.1mg/kg以上の投与群で有意な睡眠時間の延長がみられた。本剤は水に難溶であり、通常、水に難溶な物質は肝薬物代謝酵素により分解、解毒されることから、肝臓における本剤の分解、解毒作用を反映した可能性が推察された。

2)ウサギの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物 : ウサギ(Kbl:JW)、11週齢、体重2.25~3.00kg、1群雄3匹

方 法 : 検体を1% tween80水溶液に懸濁し、0, 1250 および 5000mg/kg を20ml/kgの容量で経口投与し、投与前、投与後30分, 1, 3, 6 および 24時間に、呼吸、血圧、平均血圧、心電図および心拍数を測定した。

結 果 : 5000mg/kgまで投与したが、呼吸、血圧、心電図および心拍数に変化はみられなかった。

3) マウスの消化器に対する作用

供試動物 : ICR系マウス(Crj:CD-1)、8週齢、体重28.8~35.8g、1群雄10匹

方 法 : マウスを約17時間絶食後、1% tween80水溶液で懸濁した検体の0, 19.5, 78.1, 313, 1250 および 5000mg/kg を20ml/kgの容量で腹腔内に投与し、3時間後に炭末懸濁液を10ml/kg経口投与した。炭末投与30分後に屠殺し、炭末の小腸内移動距離を測定した。

結 果 :

投与量 (mg/kg)	対 照	19.5	78.1	313	1250	5000
移動距離(%)	63±18	55±11	68±12	57±11	↓28±9	↓29±10

注) ↓ : $p < 0.001$ (Student の t 検定)

1250mg/kg以上の投与群で炭末輸送能の有意な抑制が認められた。

以上の結果より、本剤が実際に使用された場合、重篤な急性中毒の発現する可能性は低いことが推察されたが、非常に大量に摂取された場合には、非特異的な抑制性の症状が発現する可能性が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 一般症状 [Irwin 法] (マウス)	腹腔内 (1%Tween80)	0、78.1、 313、1250、 5000	♂♀ 3	1250	313	運動性低下、運動 失調、筋緊張低下、 反射低下等の非特 異的な抑制性の変 化 死亡：1250mg/kg 以上の全例
中枢神経系 一般症状 (ウサギ)	経口 (1%Tween80)	0、313、 1250、5000	♂ 3	>5000	5000	影響なし
中枢神経系 体温 (ウサギ)	経口 (1%Tween80)	0、313、 1250、5000	♂ 3	>5000	5000	影響なし
中枢神経系 睡眠延長作用 (マウス)	腹腔内 (1%Tween80)	0、19.5、 78.1、313、 1250、5000	♂10	78.1	19.5	睡眠時間の延長
呼吸、循環器系 呼吸、血圧、 心電図、心拍数 (ウサギ)	経口 (1%Tween80)	0、1250、 5000	♂ 3	>5000	5000	影響なし
消化器 炭末輸送能 (マウス)	腹腔内 (1%Tween80)	0、19.5、 78.1、313、 1250、5000	♂10	1250	313	輸送能の抑制

2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

(1) 急性毒性

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 30)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1993 年

検体の化学名：

検体の純度：

試験動物 : SD 系ラット(Crj:CD)、5 週齢、体重；雄 123~152g 雌 96~128g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を 0.1% tween80 添加の 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して投与した。投与前日
の夕方(投与 17 時間前)から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。死亡動物および観
察期間終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。
また、死亡動物の代表例については、病理組織学的検査も実施した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	313, 450, 625, 900, 1250, 1800, 2500, 3600(雄のみ)
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1400(1018~1992) 雌 1169(804~1952)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 3 時間から開始 投与後 2 日に終了
症状発現及び消失時間	投与後 30 分から発現 投与後 6 日に消失
最大無作用量(mg/kg)	雌雄ともに 450
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雌雄ともに 450

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動量の減少、歩行失調、振戦、チアノーゼ、腹臥位、呼吸異常、流涙等が観察された。

体重推移においては、900mg/kg 以上の投与群の一部の個体で体重減少がみられたが、その他の個体では順調に増加した。

死亡例の剖検の結果、腺胃部の出血がみられ、組織学的には腺胃粘膜の壊死巣として観察されたが、生存動物では特記すべき変化は認められなかった。

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.31)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名 :

検体の純度 :

試験動物 : SD 系ラット (Crj : CD)、5 週齢、体重 ; 雄 149~153g 雌 124~127g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を 0.1%Tween80 添加の 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して投与した。投与前日の
夕方(投与 18 時間前)から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に
全動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>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間	異常なし
最大無作用量 (mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000

中毒症状は、5000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。
体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。
剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 32)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名 :

検体の純度 :

試験動物 : SD 系ラット (Crj : CD)、5 週齢、体重 ; 雄 129~141g 雌 106~118g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を 0.1%Tween80 添加の 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して投与した。投与前日の
夕方(投与 18 時間前)から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に
全動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	2500, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>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間	異常なし
最大無作用量(mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雌雄ともに 5000

中毒症状は、5000mg/kg 投与群においても雌雄ともに認められなかった。
体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。
剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. 33)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1993 年

検体の化学名 :

検体の純度 :

試験動物 : SD 系ラット (Crj : CD)、5 週齢、体重 ; 雄 118~153g 雌 97~129g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を 0.1%Tween80 添加の 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して投与した。投与前日の
夕方(投与 17 時間前)から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。死亡動物および観
察期間終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。
また、死亡動物の代表例については、病理組織学的検査も実施した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	313, 450, 625, 900, 1250, 1800, 2500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1218(914~1650) 雌 928(751~1158)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 6 時間から開始 投与後 3 日に終了
症状発現及び消失時間	投与後 30 分から発現 投与後 2 日に消失
最大無作用量 (mg/kg)	雄 <313 雌 313
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 625

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動量の減少、歩行失調、腹臥位、呼吸異常、眼瞼下垂、流涙等が観察された。

体重推移においては、625mg/kg 群の雌 1 例、1250mg/kg 群の雄 1 例で体重減少がみられたが、その他の個体では順調に増加した。

死亡例の剖検の結果、腺胃部の出血がみられ、組織学的には腺胃粘膜の壊死巣として観察されたが、生存動物では特記すべき変化は認められなかった。

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 34)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名 :

検体の純度 :

試験動物 : Fischer 系ラット (F344/DuCrj)、6 週齢、
体重 ; 雄 95~106g 雌 87~97g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を 1%Tween80 水溶液に懸濁して投与した。投与前日の夕方から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に全動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>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間	異常なし
最大無作用量(mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000

中毒症状は、5000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。
体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。
剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 35)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名 :

検体の純度 :

試験動物 : Fischer 系ラット (F344/DuCrj)、6 週齢、
体重 ; 雄 104~108g 雌 86~89g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を 1%Tween80 水溶液に懸濁して投与した。投与前日の夕方から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に全動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>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間	投与後 1 日のみ
最大無作用量 (mg/kg)	雄 5000 雌<5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000

中毒症状は、5000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかったが、投与後 1 日に、雌で下腹部被毛の軽度の汚れが観察された。

体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 変異原性

の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No. 36)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1993 年

検体の化学名 :

検体の純度 :

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は濃度設定試験で 5000 μ g/plate を最高濃度に 2500、1250、625、313、156 μ g/plate の 6 濃度で実施した。その結果、S-9Mix 非共存下のすべてのテスト菌株の 2500 μ g/plate 以上、および S-9Mix 共存下の TA100 の 2500 μ g/plate 以上ならびに TA135 および TA98 の 5000 μ g/plate で抗菌性効果が認められた。

従って、本試験には S-9Mix 非共存下および共存下のいずれも 156~5000 μ g/plate の範囲で 6 用量とし、各濃度につき 2 枚ずつのプレートを用いた。

結 果 : 結果を次表に示した。

検体はいずれの菌株においても、S-9Mix の有無に係わらず、溶媒対照群と比べ、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 AF-2、Na₂N₃、ENNG、9-AA および 2-AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、
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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

薬物	濃度 μg/ plate	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)	0	—	100	12	24	19	6	
	156	—	98	10	24	14	8	
	313	—	91	12	33	20	4	
	625	—	79	13	25	18	6	
	1250	—	44	7	27	17	4	
	2500	—	0 [#]	0 [#]	0 [#]	5 [#]	0 [#]	
	5000	—	0 ^{**}	0 ^{**}	0 ^{**}	0 ^{**}	0 ^{**}	
対照 (DMSO)	0	+	82	15	20	27	6	
	156	+	95	13	24	16	7	
	313	+	94	9	19	23	4	
	625	+	117	10	30	19	8	
	1250	+	100	9	31	27	7	
	2500	+	0 [#]	0 [#]	10 [#]	5 [#]	1 [#]	
	5000	+	0 [#]	0 [#]	14 [#]	7 [#]	4 [#]	
陽性 対照	AF-2	0.01	—	1291	—	—	—	—
		0.1	—	—	—	—	555	—
	NaN ₃	0.5	—	—	232	—	—	—
	ENNG	2	—	—	—	1023	—	—
	9-AA	80	—	—	—	—	—	775
	2-AA	0.5	+	—	—	—	206	—
		1	+	1660	—	—	—	—
	2	+	—	249	—	—	170	
	10	+	—	—	1214	—	—	

注) 表中の数値は2プレートの平均値、—：実施せず

#：抗菌性あり、*：析出物あり

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃：アジ化ナトリウム

ENNG：N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9-AA：9-アミノアクリジン

2-AA：2-アミノアントラセン

の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No. 37)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名：

検体の純度：

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は濃度設定試験で 5000 μ g/plate を最高濃度に 2500、1250、625、313、156 μ g/plate の 6 濃度で実施した。その結果、S-9Mix 非共存下および共存下の TA100 の 1250 μ g/plate 以上で抗菌性効果が認められるとともに、TA1537 の同濃度では抗菌性効果を疑わせる変化が確認された。他の菌株ではいずれの条件下においても抗菌性効果は認められなかった。

従って、本試験の TA100 および TA1537 については S-9Mix 非共存下および共存下のいずれも 78~5000 μ g/plate の範囲で 7 用量、他の菌株については、いずれの条件下も 313~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とし、各濃度につき 2 枚ずつのプレートを用いた。

結 果 : 結果を次表に示した。

検体はいずれの菌株においても、S-9Mix の有無に係わらず、溶媒対照群と比べ、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 AF-2、Na₂S₂O₃、FNNG、9-AA および 2-AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、
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。

薬物	濃度 μg/ plate	S 9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	0	-	86	8	44	23	6	
	78	-	96	-	-	-	4	
	156	-	100	-	-	-	5	
	313	-	86	9	44	20	5	
	625	-	80*	11*	40*	16*	7*	
	1250	-	64**	11*	42*	15*	7*	
	2500	-	67**	8*	40*	14*	5*	
	5000	-	69**	7*	35*	14*	4*	
対照(DMSO)	0	+	90	11	53	26	8	
	78	+	75	-	-	-	4	
	156	+	89	-	-	-	8	
	313	+	124	8	58	31	6	
	625	+	118	10	47	30	5	
	1250	+	110**	9*	51*	30*	4*	
	2500	+	100**	9*	49*	27*	9*	
	5000	+	88**	11*	45*	22*	10*	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	479	-	-	-	-
		0.1	-	-	-	-	583	-
	NaN ₃	0.5	-	-	409	-	-	-
	ENNG	2	-	-	-	522	-	-
	9-AA	80	-	-	-	-	-	1077
	2-AA	0.5	+	-	-	-	315	-
		1	+	1340	-	-	-	-
		2	+	-	561	-	-	266
	10	+	-	-	1704	-	-	

注)表中の数値は2プレートの平均値、-:実施せず

:抗菌性あり、:析出物あり

AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃:アジ化ナトリウム、

ENNG:N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9-AA:9-アミノアクリジン

2-AA:2-アミノアントラセン

の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No. 38)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名 :

検体の純度 :

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は濃度設定試験で 5000 μ g/plate を最高濃度に 2500, 1250, 625, 313, 156 μ g/plate の 6 濃度で実施した。その結果、S-9Mix 非共存下の TA100, TA1535 および TA1537 の 313, 625 および 1250 μ g/plate 以上で抗菌性効果が認められた。S-9Mix 共存下では 5000 μ g/plate においても抗菌性効果は認められなかった。

従って、本試験の S-9Mix 非共存下の TA100 については 20~1250 μ g/plate の範囲で 7 用量、TA1535 および TA1537 については 39~5000 μ g/plate の範囲で 8 用量、WP2uvrA および TA98 については抗菌性効果が認められなかったため、313~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量、また S-9Mix 共存下については、すべてのテスト菌株で 313~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とし、各濃度につき 2 枚ずつのプレートを用いた。

結 果 : 結果を次表に示した。

検体はいずれの菌株においても、S-9Mix の有無に係わらず、溶媒対照群と比べ、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 AF-2、Na₂S₂O₃、ENNG、9-AA および 2-AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、

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。

薬物	濃度 μg/ plate	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	0	-	91	7	22	9	10	
	20	-	87	-	-	-	-	
	39	-	97	7	-	-	8	
	78	-	81	7	-	-	10	
	156	-	68	5	-	-	5	
	313	-	60	5	20	14	3	
	625	-	74	1	24	11	3	
	1250	-	64*	3*	20	10	5	
	2500	-	-	4**	19*	8*	5*	
	5000	-	-	8**	13*	9*	5**	
対照(DMSO)	0	+	83	7	28	19	13	
	313	+	94	7	28	14	11	
	625	+	95	8	25	20	10	
	1250	+	91	7	22	20	12	
	2500	+	87*	5*	23*	18*	7*	
	5000	+	77*	6*	26*	15*	9*	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	517	-	-	-	-
		0.1	-	-	-	-	505	-
	NaN ₃	0.5	-	-	329	-	-	-
	ENNG	2	-	-	-	676	-	-
	9-AA	80	-	-	-	-	-	367
	2-AA	0.5	+	-	-	-	242	-
		1	+	771	-	-	-	-
		2	+	-	300	-	-	160
		10	+	-	-	1123	-	-

注) 表中の数値は2プレートの平均値、-：実施せず

：抗菌性あり、：析出物あり

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃：アジ化ナトリウム

ENNG：N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9-AA：9-アミノアクリジン

2-AA：2-アミノアントラセン

の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No. 39)

試験機関 (株)三菱化成安全科学研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1993 年

検体の化学名：

検体の純度：

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は濃度設定試験で 5000 μ g/plate を最高濃度に 2500、1250、625、313、156 μ g/plate の 6 濃度で実施した。その結果、S-9Mix 非存在下および共存下のいずれにおいても、すべてのテスト菌で抗菌性効果が認められなかった。

従って、本試験では S-9Mix 非共存下および共存下のいずれも 313~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とし、各濃度につき 2 枚ずつのプレートを用いた。

結 果 : 結果を次表に示した。

検体はいずれの菌株においても、S-9Mix の有無に係わらず、溶媒対照群と比べ、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 AF-2、Na₃N、ENNG、9-AA および 2-AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、
復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

は代謝活性化を含む本試験条件下で、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

薬物	濃度 μg/ plate	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)	0	—	145	8	32	25	6	
	313	—	98	10	35	16	5	
	625	—	87	11	17	19	6	
	1250	—	94	5	26	17	7	
	2500	—	68*	9*	28*	19*	5*	
	5000	—	28*	9*	23*	17*	3*	
対照 (DMSO)	0	+	93	9	23	26	12	
	313	+	81	11	39	29	10	
	625	+	77	10	30	26	6	
	1250	+	64	10	30	25	7	
	2500	+	68*	7*	26*	24*	3*	
	5000	+	12*	7*	23*	17*	3*	
陽性 対照	AF-2	0.01	—	1247	—	—	—	—
		0.1	—	—	—	—	531	—
	NaN ₃	0.5	—	—	247	—	—	—
	ENNG	2	—	—	—	546	—	—
	9-AA	80	—	—	—	—	—	557
	2-AA	0.5	+	—	—	—	229	—
		1	+	1693	—	—	—	—
		2	+	—	235	—	—	157
	10	+	—	—	1235	—	—	

注) 表中の数値は2プレートの平均値、—:実施せず、*:析出物あり

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: アジ化ナトリウム

ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No. 40)

試験機関 (財) 残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名：

検体の純度：

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は滅菌超純水に懸濁した。
試験濃度は濃度設定試験の結果から 313~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とし、各濃度につき 2 枚ずつのプレートを用いた。

結 果 : 結果を次表に示した。
検体はいずれの菌株においても、S-9Mix の有無に係わらず、溶媒対照群と比べ、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 AF-2、NaN₃、9-AA および 2-AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、
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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

薬物	濃度 μg/ plate	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(H ₂ O)	0	-	120	9	21	22	9	
	313	-	104	6	18	24	10	
	625	-	107	10	15	27	8	
	1250	-	115	9	16	27	7	
	2500	-	115	8	15	26	8	
	5000	-	147	7	18	25	8	
対照(H ₂ O)	0	+	87	7	25	38	10	
	313	+	101	5	28	37	10	
	625	+	92	12	23	34	8	
	1250	+	100	12	25	34	10	
	2500	+	112	8	25	37	10	
	5000	+	107	6	25	37	7	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	564	-	253	-	-
		0.1	-	-	-	-	663	-
	NaN ₃	0.5	-	-	276	-	-	-
	9-AA	80	-	-	-	-	-	783
	2-AA	0.5	+	-	-	-	310	-
		1	+	589	-	-	-	-
		2	+	-	216	-	-	89
		10	+	-	-	539	-	-

注) 表中の数値は2プレートの平均値、-：実施せず

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃：アジ化ナトリウム

9-AA：9-アミノアクリジン

2-AA：2-アミノアントラセン

の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No. 41)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の化学名：

検体の純度：

方 法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌性 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に懸濁した。

試験濃度は濃度設定試験の結果から 313~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の範囲で 5 用量とし、各濃度につき 2 枚ずつのプレートを用いた。

結 果：結果を次表に示した。

検体はいずれの菌株においても、S-9Mix の有無に係わらず、溶媒対照群と比べ、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 AF-2、 NaN_3 、9-AA および 2-AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、
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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

薬物	濃度 μg/ plate	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	0	-	93	11	17	21	5	
	313	-	120	9	13	25	8	
	625	-	107	8	16	21	6	
	1250	-	108	11	17	24	6	
	2500	-	103*	8*	11*	26*	5*	
	5000	-	102*	3*	15*	14*	6*	
対照(DMSO)	0	+	81	12	16	31	9	
	313	+	109	10	21	26	11	
	625	+	115	11	16	23	12	
	1250	+	92	5	24	32	7	
	2500	+	92	7	25	21	8	
	5000	+	96*	6*	18*	25*	4*	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	627	-	340	-	-
		0.1	-	-	-	-	648	-
	NaN ₃	0.5	-	-	553	-	-	-
	9-AA	80	-	-	-	-	-	879
	2-AA	0.5	+	-	-	-	374	-
		1	+	1093	-	-	-	-
		2	+	-	399	-	-	98
	10	+	-	-	653	-	-	

注) 表中の数値は2プレートの平均値、-:実施せず、*:析出物あり

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

3. 製剤を用いた試験成績

(1) カフェンストロール 50%水和剤 (ハイメドウ水和剤)

カフェンストロール 50%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. 3)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1994年

検体の純度：50.0%水和剤

[組成]；カフェンストロール原体 50.0%
鋳物質微粉 42.5%
界面活性剤 7.5%

試験動物：SD系ラット(Crj:CD)、6週齢、
体重；雄 152~163g 雌 116~120g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を脱イオン水に懸濁して投与した。投与前日の夕方から、投与3時間後まで絶食した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に全動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>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間	異常なし
最大無作用量(mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雌雄ともに5000

中毒症状は、5000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。
体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。
剖検所見では、特記すべき変化は認められなかった。

カフェンストロール 50%水和剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 4)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：50.0%水和剤

[組成]；カフェンストロール原体 50.0%
 鋳物質微粉 42.5%
 界面活性剤 7.5%

試験動物：ICR 系マウス (Crj：CD-1)、6 週齢、
 体重；雄 28.9～33.5g 雌 23.0～26.2g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

方 法：検体を脱イオン水に懸濁して投与した。投与前日の夕方から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目：中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に全動物について、組織の肉眼約病理検査を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに > 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間	異常なし
最大無作用量 (mg/kg)	雌雄ともに > 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000

中毒症状は、5000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。
体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。
剖検所見では、特記すべき変化は認められなかった。

カフェンストロール 50%水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 6)

試験機関 (財)残留農業研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：50.0%水和剤

[組成]：カフェンストロール原体 50.0%

鋳物質微粉 42.5%

界面活性剤 7.5%

試験動物：SD 系ラット (Crj:CD)、7 週齢、体重：雄 249~286g 雌 164~176g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

方 法：脱イオン水で湿らせた濾紙に検体を均一にのせ、背部皮膚に 24 時間閉鎖塗布した。

試験項目：中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に全動物について、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに > 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間	投与 2 日後から発現 投与 4 日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000

中毒症状は、2000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。投与部位では、投与 2 日後から鱗屑が観察されたが、4 日後には消失した。

体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、特記すべき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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロール 50%水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (資料 No. 11)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：50.0%水和剤

[組成]；カフェンストロール原体 50.0%

鋳物質微粉 42.5%

界面活性剤 7.5%

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ(Kb1：N7W)、12 週齢、
体重 2617～3011g、1 群雄 6 匹

試験期間：3 日間観察

方 法：検体 500mg を脱イオン水で湿らせ、刈毛した動物の背部皮膚(2.5cm 四方)に塗布した。塗布時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は脱イオン水にて洗い流した。

観察項目：塗布終了後 1, 24, 48 および 72 時間に塗布部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、農水省ガイドラインおよび Draize 法に従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

変 化	最高 評点	塗布終了後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
浮 腫	4	0	0	0	0
合 計	8	0	0	0	0

注)最高評点：判定基準の最高評点

塗布部分の刺激性変化は、全例に認められなかった。

以上の結果から、カフェンストロール 50%水和剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと思われる。

カフェンストロール 50%水和剤のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験 (資料 No.9)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度 : 50.0%水和剤

[組成]; カフェンストロール原体	50.0%
鉱物質微粉	42.5%
界面活性剤	7.5%

試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ (Kb1 : NZW)、11 週齢、
体重 2376~2750g、1 群雄 9 匹

試験期間 : 7 日間観察

方 法 : 検体 100mg を左眼結膜嚢内に投与し、3 匹は 2 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。

観察項目 : 投与後 1, 24, 48, 72 時間および 4, 7 日に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインおよび Draize 法に従って採点した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

角膜の刺激性変化として、混濁が投与後 24 ないし 48 時間から非洗眼群の 5 例でみられたが、7 日後にはすべて消失した。洗眼群では変化は認められなかった。

虹彩の充血および深い曇りが洗眼群、非洗眼群の全例に投与後 1 時間から観察されたが、非洗眼群では 4 日後、洗眼群では 24 時間後には消失した。

結膜の刺激性変化として、発赤、腫脹および眼瞼等を浸潤する分泌物が投与後 1 時間から全例で観察されたが、非洗眼群では 7 日後、洗眼群では 4 日後にはすべて消失した。

以上の結果から、カフェンストロール 50%水和剤はウサギの眼粘膜に対して、中等度の刺激性があるものと思われる。また、洗眼は刺激性変化の軽減に効果があると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

項 目		最高 評点	投 与 後 時 間						
			1 時 間	24 時 間	48 時 間	72 時 間	4 日	7 日	
非 洗 眼 群 (6 匹 平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0.5	0.8	0.8	0.8	0
		面 積	4	0	1.2	1.8	1.7	1.2	0
	虹 彩		2	0.7	0.8	0.8	0.2	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	1.8	1.8	1.7	0.8	0
		浮 腫	4	1.2	2.0	1.8	0	0.8	0
		分泌物	3	2.3	2.0	1.5	0.8	0.8	0
	合 計*		110	12.3	21.7	23.7	15.8	10.8	0
洗 眼 群 (3 匹 平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	1	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	1	0.7	0.3	0	0
		浮 腫	4	1	1	0.7	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0	0
	合 計*		110	11.0	4.0	2.7	0.7	0	0

注) 最高評点：判定基準の最高評点、*：Draize 法による評価点(最高 110 点)

カフェンストロール 50%水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料 No. 13)

試験機関 (財) 残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1994 年

検体の純度 : 50.0%水和剤

[組成] ; カフェンストロール原体 50.0%
鋳物質微粉 42.5%
界面活性剤 7.5%

試験動物 : ハートレー系モルモット (Crj : Hartley)、6 週齢、
体重 350~428g、1 群雌 20 匹

試験期間 : 48 時間観察

方 法 : [Buehler 法]

投与量設定根拠 ; 検体の 50, 37.5, 25 および 12.5%(w/v) 脱イオン水懸濁液で皮膚一次刺激性の皮膚反応は認められなかった。従って、最高濃度の 50%懸濁液を感作および誘発に使用した。

感作 ; 50%懸濁液 0.4ml を刈毛した動物の背部皮膚 (2cm 四方) に 6 時間閉塞貼付した。以上の処置を 1 週間間隔で計 3 回実施した。
一方、陽性対照群には DNCB (2,4-Dinitrochlorobenzene) の 0.1%アセトン溶液 0.4ml を同様に処置した。

誘発 ; 最終感作終了 14 日後に感作時と同様の 50%懸濁液 0.4ml を、陽性対照群には DNCB の 0.1%アセトン溶液 0.4ml を、刈毛した動物の背部皮膚 (2cm 四方) に 6 時間閉塞貼付した。

観察項目 : 誘発終了 24 および 48 時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の評価基準に従って採点した。

皮膚反応	採点
肉眼的に変化なし	0
散在性の軽度の紅斑	1
中等度および慢性の紅斑	2
重度の紅斑および浮腫	3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を以下の表に示す。

群			供試動物数	感作反応動物数								感作陽性率 (%)		
				24 時間				計	48 時間				計	
				皮膚反応評点					皮膚反応評点					
感 作	誘 発		0	1	2	3	0	1	2	3				
検体	50%検体	50%検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0
	溶媒	50%検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0
陽性 対照	0.1%DNCB	0.1%DNCB	10	0	4	5	1	10/10	1	6	2	1	9/10	100
	溶媒	0.1%DNCB	10	10	0	0	0	0/10	5	0	0	0	0/10	0

注)感作陽性率：感作陽性動物数/供試動物数×100

検体処理群においては、感作処置群、無感作処置群ともに、検体誘発による皮膚反応はまったく認められなかった。

一方、陽性対照の DNCB 感作群においては、明瞭な紅斑が観察された。

以上の結果から、カフェンストロール 50%水和剤のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断した。

(2) カフェンストロール 40%水和剤 (ハイメドウフロアブル)

カフェンストロール 40%水和剤 (フロアブル) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 3-1)

試験機関 (株)ボゾリサーチセンター
[GLP 対応]
報告書作成 1997 年

検体の純度：40.0%水和剤 (フロアブル)

[組成]；カフェンストロール原体 40.0%
水、界面活性剤等 60.0%

試験動物：SD 系ラット (Crj：CD)、7 週齢、
体重；雄 210～230g 雌 155～168g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

方法：検体を蒸留水に懸濁して投与した。投与前日の夕方から、投与 6 時間後まで絶食した。

試験項目：中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。死亡動物は速やかに、生存動物は観察期間終了時に全動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	2500, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡開始時間及び終了時間	投与後 1 日から開始 投与後 1 日に終了
症状発現及び消失時間	投与後 4 時間から発現 投与後 3 日に消失
最大無作用量 (mg/kg)	雌雄ともに 2500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2500

中毒症状は、2500mg/kg 投与群では雌雄ともに認められなかった。5000mg/kg 投与群の雌雄において投与 4 時間後から翌日まで自発運動の減少、腹臥がみられ、雌 1 例が投与翌日に腹臥、体温低下および呼吸数の減少を呈して死亡した。生存動物は翌日には回復し、その後異常は認められなかった。

体重推移は、2500mg/kg 投与群の雌雄で投与後 2 日、5000mg/kg 投与群の雌雄では投与後 3 日に増加抑制がみられたが、その後は順調な増加を示した。

剖検所見では、死亡動物で胃(腺胃部)に案赤色点の散在、小腸(空～回腸)に暗赤色内容物の貯留が認められた。生存動物では特記すべき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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロール 40%水和剤（フロアブル）のマウスにおける急性経口毒性試験

（資料 No. 4-1）

試験機関 (株)ボゾリサーチセンター
[GLP 対応]
報告書作成 1997 年

検体の純度：40.0%水和剤（フロアブル）

[組成]；カフェンストロール原体 40.0%
水、界面活性剤等 60.0%

試験動物：ICR 系マウス (Crj：CD-1)、7 週齢、
体重；雄 27.0～28.6g 雌 23.0～24.3g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

方法：検体を蒸留水に懸濁して投与した。投与前日の夕方から、投与 6 時間後まで絶食した。

試験項目：中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に全動物について、肉眼約病理検査を行った。

結果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに > 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間	投与後 4 時間から発現 投与後 3 日に消失
最大無作用量 (mg/kg)	雌雄ともに < 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000

中毒症状は、5000mg/kg 投与群の雌雄において投与 4 時間後に自発運動の減少がみられたが、投与翌日には回復し、その後異常は認められなかった。

体重推移は、雌雄において投与 2 日後まで増加抑制あるいは減少が認められたが、その後は順調な増加を示した。

剖検所見では、特記すべき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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロール 40%水和剤（フロアブル）のラットにおける急性経皮毒性試験

（資料 No. 6-1）

試験機関 (株)ボツリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成 1997 年

検体の純度：40.0%水和剤（フロアブル）

[組成]；カフェンストロール原体 40.0%
水、界面活性剤等 60.0%

試験動物：SD系ラット(Crj:CD)、7週齢、体重：雄 241~260g 雌 173~197g、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体をリント布に均一に塗布し、背部皮膚に24時間閉鎖塗布した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に
全動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに > 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間	異常なし
最大無作用量 (mg/kg)	雌雄ともに > 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000

中毒症状は、2000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。

体重推移に被験物質投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、特記すべき変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に、
刺激性変化およびその他の異常も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロール 40%水和剤（フロアブル）のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験
（資料 No.11-1）

試験機関 (株)ボツリサーチセンター
[GLP 対応]
報告書作成 1997 年

検体の純度：40.0%水和剤（フロアブル）
[組成]；カフェンストロール原体 40.0%
水、界面活性剤等 60.0%

試験動物：日本白色種ウサギ、15 週齢、体重 2640～3200g、1 群雄 6 匹

試験期間：3 日間観察

方 法：検体 500ml を刈毛した動物の背部皮膚(2.5cm 四方)に塗布した。塗布時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は注射用水で湿らせた脱脂綿で清拭した。

観察項目：塗布終了後 1, 24, 48 および 72 時間に塗布部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、農水省ガイドラインに従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

変 化	最高 評点	塗布終了後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
浮 腫	4	0	0	0	0
合 計	8	0	0	0	0

注)最高評点：判定基準の最高評点

塗布部分の刺激性変化は、全例に認められなかった。

以上の結果から、カフェンストロール 40%水和剤(フロアブル)はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロール 40%水和剤（フロアブル）のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験
 (資料 No. 9-1)

試験機関 (株)ボゾリサーチセンター
 [G.P 対応]
 報告書作成 1997 年

検体の純度：40.0%水和剤（フロアブル）
 [組成]；カフェンストロール原体 40.0%
 水、界面活性剤等 60.0%

試験動物：日本白色種ウサギ、15 週齢、体重 2390～3000g、1 群雄 9 匹

試験期間：3 H 間観察

方 法：検体 0.1ml を左眼結膜嚢内に投与し、3 匹は 2～3 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：投与後 1, 24, 48 および 72 時間に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインおよび Draize 法に従って採点した。また、フルオレセインを点眼した後、角膜の損傷の有無を精査した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項 目			最高 評点	投 与 後 時 間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非 洗 眼 群 (6 匹 平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1.3	0	0	0
	合 計*			110	4.67	0	0
洗 眼 群 (3 匹 平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計*			110	0	0	0

注)最高評点：判定基準の最高評点、*：Draize 法による評価点(最高 110 点)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

角膜および虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに肉眼的には観察されなかった。

結膜の刺激性変化は、非洗眼群において投与1時間後に発赤および眼脂分泌が認められ、24時間後には消失した。洗眼群では観察されなかった。

その他の変化としては、非洗眼群において投与直後に閉眼が観察された。

以上の結果から、カフェンストール 40%水和剤(フロアブル)はウサギの眼粘膜に対して、ごく軽度の刺激性があるものと思われる。また、洗眼は刺激性変化の軽減に効果があると判断された。

カフェンストロール 40%水和剤（フロアブル）のモルモットを用いた皮膚感作性試験
（資料 No.13-1）

試験機関 (株)ホゾリサーチセンター
[GLP 対応]
報告書作成 1997 年

検体の純度：40.0%水和剤（フロアブル）
[組成]；カフェンストロール原体 40.0%
水、界面活性剤等 60.0%

試験動物：ハートレー系白色モルモット、6 週齢、体重 270～384g、1 群雌 20 匹

試験期間：48 時間観察

方法：[Buehler 法]

投与量設定根拠；検体の原液と 50、25 および 10%の注射用水懸濁液で皮膚一次刺激性の皮膚反応は認められなかった。
従って、原液を感作および誘発に使用した。

感作；原液 0.2ml を刈毛した動物の胸部皮膚(直径 2.5cm)に 6 時間閉塞貼付した。
以上の処置を 1 週間間隔で計 3 回実施した。

誘発；最終感作終了 14 日後に感作時と同様の原液 0.2ml を、陽性対照群には DNCB の 0.25%エタノール溶液 0.2ml を、刈毛した動物の胸部皮膚(直径 2.5cm)に 6 時間閉塞貼付した。

観察項目：誘発終了 24 および 48 時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の評価基準に従って採点した。

紅斑および痂皮形成	採点
紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑（かろうじて識別できる）	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑（beet redness）からわずかな痂皮の形成（深部損傷まで）	4

浮腫の形成	採点
浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫（かろうじて識別できる）	1
軽度浮腫（はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる）	2
中等度浮腫（約 1mm の膨隆）	3
高度浮腫（約 1mm の膨隆と暴露範囲を超えた広がり）	4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

結 果 : 各観察時間における感作変化が認められた動物数を以下の表に示す。

群		供試動物数	皮膚反応	感作反応動物数						感作陽性率 (%)									
				24 時間			48 時間												
				皮膚反応評点 0 1 2 3 4					計		皮膚反応評点 0 1 2 3 4					計			
検体	原液	原液	20	紅斑・痂皮	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0	0/20	0
				浮腫	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0	0/20	0
	溶媒	原液	20	紅斑・痂皮	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0	0/20	0
				浮腫	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0	0/20	0
陽性 対照	1% DNCB	0.25% DNCB	10	紅斑・痂皮	0	0	7	3	0	10/10	0	1	4	5	0	10/10	100		
				浮腫	2	6	2	0	0	8/10	1	9	0	0	0	9/10	90		
	溶媒	0.25% DNCB	10	紅斑・痂皮	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0		
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0		

注)感作陽性率：感作陽性動物数/供試動物数×100

検体処理群においては、感作処置群、無感作処置群ともに、検体誘発による皮膚反応はまったく認められなかった。

一方、陽性対照の DNCB 感作群においては、明瞭な紅斑が観察された。

以上の結果から、カフェンストロール 40%水和剤（フロアブル）のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断した。

(3) イマズスルフロン・カフェンストロール・ダイムロン粒剤 (クラッシュ 1 キロ粒剤)

クラッシュ 1 キロ粒剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 7-1)

試験機関 (財) 残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1994 年

検体の純度：3.0%粒剤

イマズスルフロン原体	0.90%	カフェンストロール原体	3.0%
ダイムロン原体	15.0%	無機塩類、界面活性剤等	81.1%

試験動物 : SD 系ラット (Crj : CD)、6 週齢、
体重 ; 雄 180~202g 雌 128~1540g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を乳鉢で微粉末化し、1.0% tween80 水溶液に懸濁して投与した。投与前日の夕方から、投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。死亡動物は速やかに、生存動物は観察期間終了時に全動物について、肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	2621, 3277, 4096 5120, 6400, 8000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 4786 雌 4365
死亡開始時間及び終了時間	雌雄とも 投与後 1 時間に開始 投与後 1 日に終了
症状発現及び消失時間	雌雄とも 投与後 1 時間から発現 投与後 1 日に消失
最大無作用量 (mg/kg)	雄 2621 雌 < 2621
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2621 雌 < 2621

中毒症状として、投与後 1 時間から自発運動低下、はいずり歩行および軟便がみられたが、1 日後にはすべて消失した。

体重推移に、検体投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、死亡例で肺、腺胃、胃内容物、小腸の赤色化、胃内容物による暴慢が観察された。生存例では特記すべき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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

クラッシュ 1 キロ粒剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 7-2)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：3.0%粒剤

イマゾスルフロン原体	0.90%	カフェンストロール原体	3.0%
ダイムロン原体	15.0%	無機塩類、界面活性剤等	81.1%

試験動物 : ICR 系マウス (Crj : CD-1)、6 週齢、
体重 ; 雄 27.8~33.7g 雌 24.2~27.8g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方法 : 検体を乳鉢で微粉末化し、1.0% tween80 水溶液に懸濁して投与した。投与約 2 時間前から投与 3 時間後まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察し、体重の測定を行った。死亡動物は速やかに、生存動物は観察期間終了時に全動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに > 5000
死亡開始時間及び終了時間	雄 死亡例なし 雌 1 時間後のみ
症状発現及び消失時間	雌雄とも異常なし
最大無作用量 (mg/kg)	雄 > 5000 雌 -
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5000 雌 -

中毒症状は、5000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。

体重推移に、被験物質投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、雌の死亡例で腺胃および小腸の赤色化が観察された。生存例では特記すべき変化は認められなかった。

クラッシュ1キログラム剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 7-3)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1994 年

検体の純度：3.0%粒剤

イマズスルフロン原体	0.90%	カフェンストロール原体	3.0%
ダイムロン原体	15.0%	無機塩類、界面活性剤等	81.1%

試験動物：SD系ラット(Crj:CD)、7週齢、体重：雄250~289g 雌177~194g、
1群雌雄各5匹

試験期間：21日間観察

方法：検体を乳鉢で微粉末化して用いた。脱イオン水で湿らせた濾紙に検体を均一に
のせ、背部皮膚に24時間閉鎖塗布した。

試験項目：中毒症状および生死を21日間観察し、体重の測定を行った。観察期間終了時に
全動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに > 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間	雌雄とも投与1日後から発現 雄 投与18日後に消失 雌 投与14日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに2000

中毒症状は、2000mg/kg 投与群において雌雄ともに認められなかった。投与部位
の赤色あるいは黒色化、鱗屑および痂皮が認められ、癬痕へと移行した。
体重推移に、検体投与の影響は認められなかった。
剖検所見では、投与部位の癬痕が観察されたが、その他に異常は認められなかつ
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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

クラッシュ 1 キロ粒剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No. K-5)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：3.0%粒剤

イマズスルフロン原体	0.90%	カフェンストロール原体	3.0%
ダイムロン原体	15.0%	無機塩類、界面活性剤等	81.1%

試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ(Kb1: NZW)、12 週齢、
体重 2478~2710g、1 群雌 6 匹

試験期間 : 3 日間観察

方 法 : 検体 500mg を脱イオン水で湿らせ、刈毛した動物の背部皮膚(6cm²)に塗布した。
塗布時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は脱イオン水にて洗い流した。

観察項目 : 塗布終了後 1, 24, 48 および 72 時間に塗布部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)
の有無等を観察し、農水省ガイドラインおよび Draize 法に従って採点した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

変 化	最高 評点	塗布終了後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
浮 腫	4	0	0	0	0
合 計	8	0	0	0	0

注) 最高評点：判定基準の最高評点

塗布部分の刺激性変化は、全例に認められなかった。

以上の結果から、クラッシュ 1 キロ粒剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと思われ
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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

クラッシュ 1 キロ粒剤のウサギを用いた眼粘膜 1 次刺激性試験

(資料 No. K-4)

試験機関 (財) 残留農業研究所
[GLP 対応]

報告書作成 1994 年

検体の純度：3.0%粒剤

イマゾスルフロン原体 0.90% カフェンストロール原体 3.0%
ダイムロン原体 15.0% 無機塩類、界面活性剤等 81.1%

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ(Kbl: NZW)、11 週齢、
体重 2310~2513g、1 群雌 9 匹

試験期間：21 日間観察

方法：乳鉢で微粉末化した検体 100mg を左眼結膜嚢内に投与し、3 匹は 2 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：投与後 1, 24, 48, 72 時間および 4, 7, 10, 13, 16, 19, 21 日に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインおよび Draize 法に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

群	観察部位	最高評点 スコア*	投 与 後 時 間										
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	7 日	10 日	13 日	16 日	19 日	21 日
非洗 眼群 (6 匹)	角膜	80	0	0	2.5	2.5	1.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
	虹彩	10	4.2	3.3	2.5	1.7	1.7	0	0	0	0	0	0
	結膜	20	11.3	11.3	7.3	4.7	3.7	1.0	0	0	0	0	0
	合計	110	15.5	14.3	12.3	8.8	7.0	1.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
洗眼群 (3 匹)	角膜	80	0	0	1.7	1.7	0	0	0	0	0	0	0
	虹彩	10	3.3	1.7	1.7	1.7	1.7	0	0	0	0	0	0
	結膜	20	12.0	9.3	7.3	3.3	2.7	0	0	0	0	0	0
	合計	110	15.3	11.0	10.7	6.7	4.3	0	0	0	0	0	0

注) *: 角膜；混濁(最高評点 4) × 面積(最高評点 4) × 5 = 80

虹彩；(最高評点 2) × 5 = 80

結膜；[発赤(最高評点 3) + 浮腫(最高評点 4) + 分泌物(最高評点 3)] × 2 = 20

1) 角膜の刺激性変化

非洗眼群の3例および洗眼群1例に虹彩の細部を見分けられる散在性または慢性の混濁(評点1)が投与後48時間から観察された。混濁の領域は、混濁が認められたすべての動物で角膜の1/4以下(評点1)であった。これらの変化はほとんどの例で投与後7日までに回復したが、非洗眼群の1例は投与後21日においてもまだ混濁が残存していた。この個体では投与後13日より角膜混濁部において血管新生が認められ、投与後21日においても同様に観察された。

2) 虹彩の刺激性変化

投与後1時間より対光反射を有する虹彩の充血(評点1)が非洗眼群で5例、洗眼群で2例に認められた。また、洗眼群の1例は投与後24時間より同程度の充血が認められた。虹彩の充血はいずれも投与後7日までに消失した。

3) 結膜の刺激性変化

(1) 発赤

投与後1時間に、一部の血管から明らかに充血する程度の発赤(評点1)が全例に認められた。投与後24時間には、一部の動物で発赤が個々の血管が容易に見分けられない慢性の深紅色を呈する発赤(評点2)に強さを増した。これらの変化は徐々に回復傾向を示し、非洗眼群の6例中4例が投与後7日に、残り2例が投与後10日に、洗眼群の3例中1例が投与後4日に、残り2例が投与後7日に、それぞれ消失した。

(2) 浮腫

投与後1時間に、眼瞼の一部外反を伴った明らかな腫脹(評点2点)が全例に認められた。これらの変化は投与後7日までに消失した。

(3) 分泌物

投与後1時間に、眼瞼および眼瞼に接する被毛を浸潤する分泌物(評点2)および眼瞼、眼瞼に接する被毛および眼の周囲を相当範囲浸潤する分泌物(評点3)が全例に認められた。これらの分泌物は非洗眼群の1例が投与後10日に消失し、他の動物では7日に消失した。

4) 体重

供試動物全体の体重変化に異常は認められなかった。

以上の結果から、クラッシュ1キロ粒剤はウサギの眼粘膜に対して、中等度から強度の刺激性を有すると判断された。また、洗眼は刺激性変化の軽減に効果があると判断された。

クラッシュ 1 キロ粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 7-6)

試験機関 (財)残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成 1994 年

検体の純度：3.0%粒剤

イマゾスルフロン原体	0.90%	カフェンストール原体	3.0%
ダイムロン原体	15.0%	無機塩類、界面活性剤等	81.1%

試験動物：ハートレー系モルモット(Crj: Hartley)、7 週齢、
体重 376~489g、1 群雌 20 匹

試験期間：48 時間観察

方法：[Buehler 法]

投与量設定根拠；検体の 50, 37.5, 25 および 12.5%(w/v)脱イオン水懸濁液で皮膚一次刺激性の皮膚反応は認められなかった。従って、最高濃度の 50%懸濁液を感作および誘発に使用した。

感作；50%懸濁液 0.4ml をサージカルテープ上にのせたガーゼ(2×2cm)に滴下し、このガーゼ面を刈毛した動物の背部皮膚に当てて 6 時間閉塞貼付した。
以上の処置を 1 週間間隔で計 3 回(0, 7 および 14 日目)実施した。
一方、陽性対照群には 1%DNCB(2,4-Dinitrochlorobenzene、80%エタノールに溶解)溶液 0.4ml を同様に処置した。

誘発；最終感作終了 14 日後に感作時と同様の 50%懸濁液 0.4ml を、陽性対照群には 0.1%DNCB 溶液 0.4ml を、刈毛した動物の背部皮膚に 6 時間閉塞貼付した。

観察項目：閉塞パッチ除去 24 および 48 時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の評価基準に従って採点した。

皮膚反応	採点
肉眼的に変化なし	0
弱い散在性紅斑	1
中等度のび慢性紅斑	2
強度の紅斑および浮腫	3

皮膚の陽性反応から算出した感作率を以下の基準で評価した。

感作率(%)	区分	分類
0 ~ 8	I	微弱
9 ~ 28	II	軽度
29 ~ 64	III	中等度
65 ~ 80	IV	重度
81 ~ 100	V	極度

結 果 : 各観察時間における感作変化が認められた動物数を以下の表に示す。

群	動物数	感作反応動物数								感作率 (%)	皮膚反応強度 (時間)			
		24 時間				48 時間					24	48		
		皮膚反応評点				計	皮膚反応評点						計	
		0	1	2	3		0	1	2					3
検体感作群	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
検体対照群	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
陽性物質感作群	10	0	3	7	0	10/10	0	9	0	1	10/10	100	1.70	1.20
陽性物質対照群	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0

1) 皮膚感作率

検体処理群では 20 匹の動物すべてが評点 0 (肉眼的に変化なし) であった。また、検体に対する陰性対照群でも検査した 20 匹の動物のすべてが評点 0 であった。従って、検体投与群の皮膚感作率は 0% と算定された。

一方、DNCB 投与群では 10 匹中 3 例が評点 1 (弱い散在紅斑)、6 例が評点 2 (中等度のび慢性紅斑)、残り 1 例が評点 3 (強度の紅斑および浮腫) であった。これに対して、DNCB に対する陰性対照群では 10 匹の動物のすべてが評点 0 であった。従って、DNCB 投与群の皮膚感作率は 100% と算出された。

2) 平均皮膚反応強度

各群の惹起経皮貼付除去後 24 および 48 時間の観察時における 1 匹当りの平均皮膚反応強度は、検体投与群で両観察時とも 0、検体に対する陰性対照群でも両観察時とも 0 であり、DNCB 投与群で除去後 24 時間で 1.70、48 時間で 1.20、DNCB に対する陰性対照群で両観察時とも 0 であった。

3) 体重

いずれの動物の体重変化にも異常は認められなかった。

以上の結果から、クラッシュ 1 キロ粒剤のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断した。

<代謝分解試験一覧表>その2(動物)

資料代謝 No.	試験の種類	試験項目	動物種	例数性	経路	使用薬物	投与量 mg/kg	投与回数	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
2	CH-900のラットにおける分布ならびに胎児移行	組織内分布(摘出法)	ラット	♂各4	経口	T- ¹⁴ C-CH-900	50	単回	全測定時点:T/P比<1 分布率;4時間後 骨格筋7.06%,皮膚5.96% 血液5.25%,肝臓1.87% 24時間後全組織<0.20%	第一化学薬品(株)(1994)	228
		組織内分布(MARC法)	ラット	♂各1 ♀各1	経口	T- ¹⁴ C-CH-900	50	単回 単回	摘出法の結果とほぼ一致 子宮、卵巣:血液と同濃度 分布特性:雄性ラットとほぼ同様		
		胎児移行	妊娠12日目ラット		経口	T- ¹⁴ C-CH-900	50	単回	全測定時点: 胎児中/血漿中濃度比 <0.04% 分布率(全胎児)<0.02%		
			妊娠19日目ラット		経口	T- ¹⁴ C-CH-900	50	単回	全測定時点: 胎児中/血漿中濃度比 <0.18% 分布率(全胎児)<2.98%		
2-1	CH-900のラットにおける組織内分布	組織内分布	ラット	♂4 ♀各4	経口 経口	T- ¹⁴ C-CH-900 T- ¹⁴ C-CH-900	1 1 50	単回 単回	Cmax: 1.84 μg eq./ml Tmax: 0.5h T/P比:(0.5h)胃、2.17, その他、1以下 分布率:0.5時間後 血液6.91%,骨格筋5.41%, 皮膚5.33%,肝臓3.65% 24時間後全組織<0.23% 尿糞排泄率:90.1% Cmax: 1 50mg/kg 2.42 88.16 μg eq./ml Tmax: 4h 4h T/P比:(4h)共に全組織<0.74 分布率:4時間後 皮膚 9.75% 6.14% 血液 9.06% 6.56% 骨格筋 6.66% 4.08% 肝臓 4.63% 2.67% 24時間後全組織 <1.53% <1.79% 尿糞排泄率:86.8% 96.4%	第一化学薬品(株)(1995)	236

注)カフェンストロールを CH-900、T-¹⁴C-カフェンストロールを T-¹⁴C-CH-900 と略す。

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

<代謝分解試験一覧表>その3(動物)

資料代謝 No.	試験の種類	試験項目	動物種	例数性	経路	使用薬物	投与量 mg/kg	投与回数	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁						
3	CH-900 のラットおよびイヌにおける代謝	血漿中代謝物	ラット	♂ ♀	経口	T- ¹⁴ C-CH-900 CH-900	50	単回	(同定)	中外製薬 (株) (1994)	247						
			イヌ	♂	経口	T- ¹⁴ C-CH-900 CH-900	50	単回	(同定)								
		尿中代謝物	ラット	♂ ♀	経口	T- ¹⁴ C-CH-900 d ₂ -CH-900 CH-900	50	単回	(同定)								
			イヌ	♂	経口	T- ¹⁴ C-CH-900 CH-900	50	単回	(同定) (決定)								
		胆汁中代謝物	ラット	♂ ♀	経口	T- ¹⁴ C-CH-900 d ₂ -CH-900 CH-900	50	単回	(同定) (決定)								
		糞中代謝物	イヌ	♂	経口	T- ¹⁴ C-CH-900 CH-900	50	単回	CH-900, (同定)								
		排泄比率	ラット	♂6 ♀4	経口	T- ¹⁴ C-CH-900	1	単回	0-24h			♂	♀	尿 胆汁			
												26.5%, 18.5%	29.8%, 10.4%				
10.9%, 8.0%	12.9%, 4.3%																
♂6 ♀6	経口	T- ¹⁴ C-CH-900	50	単回	0-24h	♂	♀	尿 胆汁									
						23.9%, 14.0%	23.9%, 7.8%										
7.9%, 7.1%	17.1%, 7.6%																
イヌ	♂1	経口	T- ¹⁴ C-CH-900	50	単回	0-24h	尿	11.3%, 9.9%									
							0-24h	糞	CH 900 34.7%, 9.3%								
3-1	CH-900 のラットにおける尿中および糞中代謝物	排泄比率	ラット	♂各3 ♀各3	経口	T- ¹⁴ C-CH-900	1 50	単回 単回	0-24h 0-24h	♂ ♀ ♂ ♀	尿 糞 CH-900 尿 糞	36.8%, 24.7%, 4.0%, 1.4%, 1.4%, 0.3%	47.6%, 8.7%, 2.9%, 0.7%, 2.1%, 0.3%	43.4%, 19.9%, 4.1%, 1.0%, 1.5%, 6.2%	40.5%, 12.7%, 6.1%, 0.6%, 2.1%, 2.7%	中外製薬 (株) (1995)	254

注)カフェンストロールを CH-900、T-¹⁴C-カフェンストロールを T-¹⁴C-CH-900、d₂-カフェンストロールを d₂-CH-900 と略す。

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

<代謝分解試験一覧表>その4(植物)

資料代謝 No.	試験の種類	試験項目	栽培法	植物	供試化合物	処理量	方法	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
4	CH-900の水稲における吸収・移行および分布試験	吸収・移行試験	ポット栽培	イネ 移植1ヵ月後 移植2ヵ月後 出穂期 収穫期	B- ¹⁴ C-CH-900	30g/10a相当	ARG法	¹⁴ Cの検出部位 湛水部位の茎 根、全体に少し 全体、穂は検出されず 全体、穂は検出されず	(財)三菱化成安全科学研究所(1984年)	258
		吸収・移行試験	ポット栽培	イネ 移植1ヵ月後 移植2ヵ月後 出穂期 収穫期	B- ¹⁴ C-CH-900	30g/10a相当	燃焼法	¹⁴ Cの処理量に対して 茎 0.26%, 根 0.30% 根 3.18%, 葉 0.70% 根 2.43%, 穂 0.00% 根 2.31%, 穂 0.02%	(財)三菱化成安全科学研究所(1994年)	
		分布試験	ポット栽培	イネ 移植1ヵ月後 移植2ヵ月後 出穂期 収穫期	B- ¹⁴ C-CH-900	30g/10a相当	溶媒分画 LSC法 燃焼法 (全体)	¹⁴ CのCH-900換算 根 255, 茎 233ppb 根 388, 葉 369ppb 根 419, 穂 10ppb 根 611, 玄米 13ppb	(財)三菱化成安全科学研究所(1994年)	
		分布試験	ポット栽培	イネ 移植1ヵ月後 移植2ヵ月後 出穂期 収穫期	B- ¹⁴ C-CH-900	30g/10a相当	溶媒分画 LSC法 燃焼法 (代謝物)	¹⁴ CのCH-900換算 19ppb 11ppb 11ppb 14ppb	(財)三菱化成安全科学研究所(1994年)	
5	CH-900の水稲における代謝試験	代謝試験	水耕栽培	イネ苗 (3葉期)	T- ¹⁴ C-CH-900 B- ¹⁴ C-CH-900	0.1ppm	NMR HPLC FABMS	代謝物を同定または推定	中外製薬(株)(1995年)	266
		代謝試験	水耕栽培	イネ苗 (3葉期)	T- ¹⁴ C-CH-900	0.1ppm	溶媒分画 LSC法 燃焼法 HPLC	地上部： 32.5ppb 17.7ppb 根： 29.3ppb 17.8ppb	中外製薬(株)(1995年)	
		代謝試験	水耕栽培	イネ苗 (3葉期)	B- ¹⁴ C-CH-900	0.1ppm	溶媒分画 HPLC	地上部： 35.1ppb 18.5ppb	中外製薬(株)(1995年)	
参考資料	代謝物の作物残留試験	残留試験	圃場試験	イネ (収穫期)	CH-907粒剤 NC-355ドラ イフロアブル	3kg/10a 60g/10a	玄米抽出 玄米抽出	全て検出限界以下	中外製薬残農研(1995年)	273

注) カフェンストールを CH-900、T-¹⁴C-カフェンストールを T-¹⁴C-CH-900、B-¹⁴C-カフェンストールを B-¹⁴C-CH-900 と略す。

・ 網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

<代謝分解試験一覧表>その5(土壌)

資料代謝 No.	試験の種類	試験項目	供試土壌	培養日数	供試化合物	処理量	方法	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
6	CH-900の土壌における運命試験(湛水試験)	分解試験	藤枝土壌	1ヵ月	CH-900 d ₂ -CH-900	0.6ppm	GC-MS HPLC FABMS	同定された分解物 推定された分解物	中外製薬(株) (1995年)	277
		分解試験	藤枝土壌	1ヵ月 4ヵ月	T- ¹⁴ C-CH-900	0.31ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 83.3ppb 112.2ppb CH-900 47.6ppb 87.8ppb 11.1ppb	中外製薬(株) (1995年)	
		分解試験	栃木土壌	1ヵ月 4ヵ月	T- ¹⁴ C-CH-900	0.31ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 132.6 31.7ppb CH-900 98.7 53.5ppb	中外製薬(株) (1995年)	
		分解試験	藤枝土壌	1ヵ月 4ヵ月	B- ¹⁴ C-CH-900	0.33ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 88.3ppb 116.0ppb CH-900 45.9ppb 92.5ppb 13.6ppb	中外製薬(株) (1995年)	
		分解試験	栃木土壌	1ヵ月 4ヵ月	B- ¹⁴ C-CH-900	0.33ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 151.5ppb 33.7ppb CH-900 121.8ppb 56.1ppb	中外製薬(株) (1995年)	
		分解試験(嫌気)	藤枝土壌	7ヵ月	T- ¹⁴ C-CH-900	0.38ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 43.8ppb 115.3ppb 10.8ppb 3.1ppb	中外製薬(株) (1995年)	
		分解試験(振とう)	藤枝土壌	70日	T- ¹⁴ C-CH-900	0.38ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 73.2ppb 75.9ppb 37.4ppb 15.4ppb	中外製薬(株) (1995年)	
		分解試験(振とう)	藤枝土壌	70日	B- ¹⁴ C-CH-900	0.38ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 61.7ppb 63.4ppb 37.0ppb 13.3ppb	中外製薬(株) (1995年)	

注)カフェンストロールを CH-900、T-¹⁴C-カフェンストロールを T-¹⁴C-CH-900、B-¹⁴C-カフェンストロールを B-¹⁴C-CH-900 と略す。

・網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

<代謝分解試験一覧表>その6(土壌及び水)

資料代謝 No.	試験の種類	試験項目	供試土壌または水	培養日数	供試化合物	処理量	方法	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
7	CH-900の土壌における運命試験(畑条件試験)	分解試験	那須土壌	30日 154日	T- ¹⁴ C-CH-900	1.94ppm	LSC法 HPLC	未変化体および分解物 CH-900 671ppb 363ppb 8ppb CH-900 308ppb 281ppb	(財)三菱化成安全科学研究所(1994年)	285
10	CH-900の加水分解試験	加水分解試験	緩衝液		CH-900	1.0ppm	HPLC	加水分解速度定数 pH7.0 : $5.13 \times 10^{-6}/\text{sec}$ (30および40°Cの測定値から外挿) pH9.0 : $1.82 \times 10^{-6}/\text{sec}$ (20°C) 半減期 pH 7 679日 pH 9 70.8日	中外製薬(株)(1995年)	290
10-1	CH-900の加水分解運命試験	加水分解運命試験	緩衝液 pH 7 pH 9	pH 7 30日 pH 9 7日	トリプラー- ¹⁴ C-CH-900 フェニル-U- ¹⁴ C-CH-900	1.25mg/L	HPLC	半減期: pH 7 124日 pH 9 2.84日 代謝物としては が 同定された。	パンテイトンラ イフサイエンス(2005年)	294
9	CH-900の水中光分解試験	水中光分解試験	蒸留水 荒川 北上川 長良川	22日	CH-900	0.1ppm	HPLC	半減期:17.1日 半減期:10.7日 半減期:13.8日 半減期:19.1日 光源 : 蛍光ケルゲンランプ (紫外線波長300~400nm) 光強度: 試験開始時6.5~6.9W/m ² 試験終了時3.7~4.1W/m ²	中外製薬(株)(1995年)	298
9-1	CH-900の水中光分解運命試験	水中光分解運命試験	自然水 蒸留水	36時間	トリプラー- ¹⁴ C-CH-900 フェニル-U- ¹⁴ C-CH-900	1.25mg/L	HPLC	半減期:7.36日 半減期:5.17日 代謝物としては両標識体とも自然水で が 同定された。また、フェニル-U- ¹⁴ C標識体では自然水、蒸留水とも二酸化炭素が発生した。	パンテイトンラ イフサイエンス(2006年)	306
8	CH-900の土壌吸着試験	土壌吸着試験	古川土壌 北陸土壌 藤枝土壌 岡山土壌		CH-900	1.24ppm 0.62ppm 0.31ppm 0.16ppm	HPLC	土壌吸着定数 K _{oc} ' (K _{ads} F _{oc}) 古川土壌 4303 北陸土壌 7690 藤枝土壌 2212 岡山土壌 2273	中外製薬(株)(1995年)	313
PC-10-1	カフェンストロールの土壌吸着試験	土壌吸着試験	青森土壌		カフェンストロール	0.156 0.120 0.0923 0.0710 0.0546 mg/L	HPLC	土壌吸着定数 K _{ads} F _{oc} (K _{oc} ') 青森土壌 350	保土谷コントラコウホ(株)(2007年)	317

注) カフェンストロールを CH-900、T-¹⁴C-カフェンストロールを T-¹⁴C-CH-900、B-¹⁴C-カフェンストロールを B-¹⁴C-CH-900 と略す。

・ 網掛けの試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みである

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

<代謝物一覧>

記号	由来	名称(略号)	化学名	構造式
A				
B				
C				
D				
E				
F				
G				
H				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

<代謝物一覧>

記号	由来	名称(略号)	化学名	構造式
I				
J				
K				
L				
M				
N				
O				
Ps				

1. 動物体内運命に関する試験

カフェンストロールのラットおよびイヌにおける吸収・排泄

(資料代謝 No. 1)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1994年

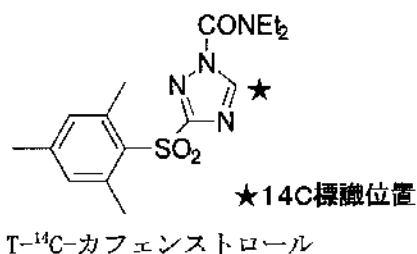
供試標識化合物

1) T-¹⁴C-カフェンストロール

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニルスルホニル) [5-¹⁴C]-1,2,4-トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4 (非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置設定理由：

供試標識化合物の合成法：

供試動物

1) ラット (Jc1 : SD)

- ・雄：8週α齢(207~294g)、1群3~6匹
- ・雌：8週齢(167~216g)、1群4~6匹

2) イヌ (Beagle/CSK)

- ・ 雄：17～23 ヵ月齢(12～14kg)、1群 1～4匹

方法

1) 投与液の調製および投与方法

T-¹⁴C-カフェンストロールの投与液は 5%HPC-L 懸濁液とし、ラットの場合、経口ゾンデ、イヌの場合カテーテルを用いて一夜絶食後胃内に投与した。

2) 定量法

試料中の放射能は液体シンチレーションカウンターで計測し、未変化体は HPLC 法で測定した。

3) 血漿中濃度および尿中、糞中排泄

(1) 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロールまたはカフェンストロールを 1mg/kg あるいは 50mg/kg 経口投与し、放射能あるいは未変化体の血漿中濃度推移ならびに尿中および糞中排泄量について検討した。

(2) 雄性イヌに T-¹⁴C-カフェンストロールあるいはカフェンストロール 50mg/kg を経口投与し、放射能あるいは未変化体の血漿中濃度推移ならびに尿中および糞中排泄量について検討した。

4) 尿中および胆汁中排泄

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg あるいは 50mg/kg を経口投与し、放射能の尿中および胆汁中排泄量について検討した。

結果

1) 血漿中濃度推移

(1) 雄性ラットにおける経口投与後の血漿中濃度推移

T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の血漿中放射能濃度推移を図 1. および表 1. に、薬物速度論的パラメータを表 2. に示した。

1mg/kg 投与時、放射能は速やかに吸収され、投与後 0.38 時間(T_{max})に最高値(C_{max})3.13 μg eq./ml を示し、その後 2 相性で消失し、T_{1/2}(β)は 3.36 時間、AUC は 13.02 μg eq.・h/ml であった。50mg/kg 投与時では、1mg/kg 投与時と比較して、T_{max} の延長に加え、投与量との割合において、C_{max} の低下および AUC の増加が認められた。

(2) 雌性ラットにおける経口投与後の血漿中濃度推移

T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の血漿中放射能濃度推移を図 1. および表 1. に、薬物速度論的パラメータを表 2. に示した。

1mg/kg 投与時の C_{max} は 4.08 μg eq./ml、T_{max} は 0.67 時間、T_{1/2}(β)は 6.93 時間、AUC は 35.8 μg eq.・h/ml であった。50mg/kg 投与時では、1mg/kg 投与時と比較して、T_{max} の延長に加え、投与量との割合において、C_{max} の低下および AUC の増加が認められた。また、雄

性ラットの場合に比べ、 $T_{1/2}$ (β)の延長およびAUCの増大が認められた。

一方、高投与量経口投与した時の血漿中カフェンストロール濃度は、雌雄ラットのいずれの測定時点においても定量限界以下であり、カフェンストロールは生体内で速やかに代謝されることが明らかとなった。

これらのことから、血漿中放射能濃度推移にみられる雌雄差は主として代謝物の消失速度の差によるものと推察された。

(3) 雄性イヌにおける経口投与後の血漿中濃度推移

カフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時、血漿中には、ラットの場合と同様に、未変化体は検出されず、主代謝物として が認められた
(表 3.)。

2) 尿中および糞中排泄

(1) 雄性ラットにおける経口投与後の尿中および糞中排泄

T - ^{14}C -カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の放射能の尿中および糞中排泄率を表 4. に示した。

1mg/kg 投与時では、投与後 48 時間までに投与放射能の 86.8%が尿中に、13.4%が糞中に排泄され、主として尿中へ排泄されることが明らかになった。50mg/kg 投与時では、72.3%が尿中に、32.2%が糞中に排泄された。両投与群とも投与後 48 時間までに投与放射能のほぼ 100%が体外に排泄された。

(2) 雌性ラットにおける経口投与後の尿中および糞中排泄

T - ^{14}C -カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の放射能の尿中および糞中排泄率を表 4. に示した。

1mg/kg 投与時では、投与後 48 時間までに投与放射能の 91.1%が尿中に、8.9%が糞中に排泄され、雄性ラットの場合と同様に尿中排泄が主であった。50mg/kg 投与時では、尿中排泄率が 77.9%であった。これらの尿中排泄率から、雌雄ラットとも高投与量時には吸収が低下するものと考えられた。

(3) 雄性イヌにおける経口投与後の尿中および糞中排泄

T - ^{14}C -カフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時、投与後 48 時間までの尿中および糞中に、それぞれ、投与放射能の 34.1%および 58.2%が排泄された。また、投与後 24 時間までの、それぞれの試料について、HPLC で測定した未変化体は、尿中では検出されず、糞中では投与量の 34.7%が排泄された。

3) 尿中および胆汁中排泄

(1) 雄性ラットにおける経口投与後の尿中および胆汁中排泄

T - ^{14}C -カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の尿中および胆汁中放射能排泄率を表 5. に示した。

1mg/kg 投与時では、投与後 24 時間までに投与放射能の 56.9%が尿中に、28.2%が胆汁中に排泄され、50mg/kg 投与時では、47.1%が尿中に、24.0%が胆汁中に排泄された。

(2) 雌性ラットにおける経口投与後の尿中および胆汁中排泄

T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の尿中および胆汁中放射能排泄率を表 5. に示した。

1mg/kg 投与時では、投与後 24 時間までに投与放射能の 51.8%が尿中に、26.3%が胆汁中に排泄され、50mg/kg 投与時では、40.0%が尿中に、33.0%が胆汁中に排泄された。

尿中および胆汁中放射能排泄量より雌雄ラットとも高投与量時には吸収が低下するものと考えられた。

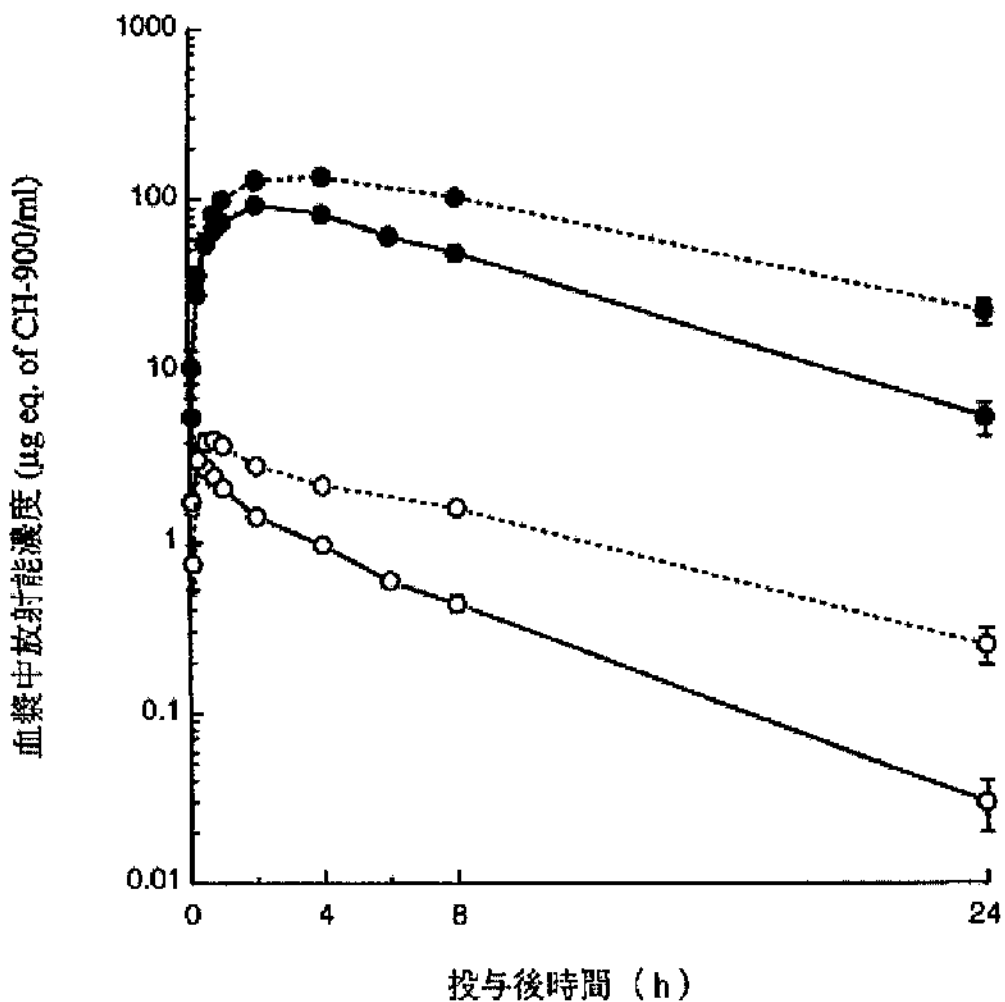


図 1. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の血漿中放射能濃度推移

各点は平均値±標準誤差(n=4 or 6)

投与量 ●—● ♂, 50mg/kg, ●- - ● ♀, 50mg/kg

○—○ ♂, 1mg/kg, ○- - ○ ♀, 1mg/kg

表 1. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の血漿中放射能濃度推移

投与後の時間	血漿中放射能濃度 (μg eq./ml)			
	雄性		雌性	
	1mg/kg	50mg/kg	1mg/kg	50mg/kg
5min.	1.68	10.53	0.74	5.25
15	3.10	36.25	2.98	28.22
30	2.64	54.77	3.80	57.25
45	2.34	65.46	3.88	82.14*
1h	2.07	73.77	3.59	98.86
2	1.43	91.88	2.82	127.90
4	0.96	82.48	2.10	135.22
6	0.59	61.82	—	—
8	0.44	48.65	1.58	103.58
24	0.03	5.25	0.25	21.85

注) 数値は平均値 (n=4 or 6) * : 平均値 (n=2)

— : 試料採取なし

表 2. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の血漿中放射能の薬物速度論的パラメータ

	雄性		雌性	
	1mg/kg	50mg/kg	1mg/kg	50mg/kg
T _{max} (h)	0.38	2.50	0.67*	3.50
C _{max} (μg eq./ml)	3.13	92.69	4.08	132.33**
T _{1/2} (α) (h)	0.17	1.51	0.34	2.18
T _{1/2} (β) (h)	3.36	5.12	6.93*	8.26
AUC (μg eq. · h/ml)	13.02	1034.80	35.8***	2148.7***
MRT (h)	4.53	6.32	7.78	11.02*

注) 数値は平均値 (n=4 or 6)

*, **, *** : 雄性ラットに対する有意差

(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

表 3. 雄性イヌにカフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時の血漿中代謝物 CHM-03 の濃度推移および薬物速度論的パラメータ

投与後の時間	血漿中 CHM-03 濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	CHM-03 の薬物速度論的パラメータ	
30min.	18.3	Tmax (h)	1.5
1h	29.1	Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	31.7
2	29.8	T _{1/2} (h)	13.36
3	25.4	MRT (h)	18.05
4	21.2	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$)	377.3
6	12.2	注) 数値は平均値 (n=4)	
8	7.7		
10	5.9		
24	6.2		
48	1.9		
72	0.3		

注) 数値は平均値 (n=4)

表 4. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の尿中および糞中累積放射能排泄率

投与量	性	投与後の時間	放射能累積排泄率(投与放射能に対する割合%)		
			尿中	糞中	尿+糞
1mg/kg	雄性	0~24h	85.3	12.4	97.7
		0~48	86.8	13.4	100.2
	雌性	0~24h	82.0	5.6	85.7
		0~48	91.1	8.9	100.0
50mg/kg	雄性	0~24h	69.2	28.6	97.8
		0~48	72.3	32.2	104.5
	雌性	0~24h	66.5	5.1	71.6
		0~48	77.9	9.5	87.3

注) 数値は平均値 (n=4 or 5)

表 5. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与した時の尿中および胆汁中累積放射能排泄率

		放射能累積排泄率(投与放射能に対する割合%)					
		1mg/kg			50mg/kg		
性	投与後の時間	尿中	胆汁中	尿+胆汁	尿中	胆汁中	尿+胆汁
雄性	0~2h	26.1	10.7	36.7	7.0	4.6	11.6
	0~4	37.4	17.0	54.4	15.8	8.6	24.4
	0~8	48.0	23.6	71.6	30.5	16.4	46.8
	0~24	56.9	28.2	85.1	47.1	24.0	71.2
雌性	0~2h	16.1	9.1	25.1	4.4	3.3	7.7
	0~4	27.9	14.5	42.4	11.6	9.1	20.8
	0~8	40.2	20.9	61.0	22.8	19.7	42.6
	0~24	51.8	26.3	78.1	40.0	33.0	73.0

注) 数値は平均値 (n=4, 5 or 6)

カフェンストロールのラットにおける尿・胆汁・糞中排泄

(資料代謝 NO.1-1)

試験機関 財団法人残留農薬研究所
報告書作成年 1995年

ラットにおける尿・胆汁採取時の糞中排泄率について検討し、これらから吸収率を推定した。

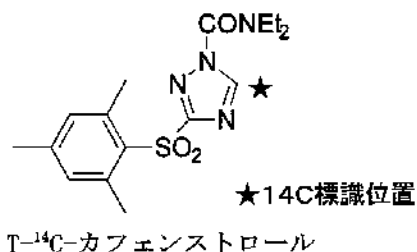
供試標識化合物

1) T-¹⁴C-カフェンストロール

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニルスルホニル) [5-¹⁴C]-1,2,4-
トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4(非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置設定理由：

供試標識化合物の合成法：

供試動物

1) ラット(Crj：CD(SD)、1群4匹)

- ・ 雄性ラット：8週齢、255.5g～276.4g
- ・ 雌性ラット：8週齢、159.5g～177.7g

方法

1) 投与液の調製および投与方法

T-¹⁴C-カフェンストロールの投与液は 5%HPC-L 懸濁液とし、一夜絶食後、経口ゾンデを用いて胃内に投与した。

2) 定量法

試料中の放射能は液体シンチレーションカウンターで計測した。

3) 排泄および分布

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与し、投与後の放射能排泄量および体内分布率について検討した。

(1) 排泄物

投与後 8 時間および 24 時間までの尿、胆汁と、投与後 24 時間までの糞を採取した。

(2) 組織

投与 24 時間後、消化管(内容物を含む)を採取し、残りを残部屍体とした。

結果

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与し、投与後の放射能排泄率、体内分布率および推定吸収率を表 1. に示した。

経口投与後 24 時間までの尿中および胆汁中排泄率ならびに残部屍体中残存率の和から算出した T-¹⁴C-カフェンストロールの推定吸収率は、1mg/kg 投与群の雄性および雌性ではそれぞれ 92.95%および 92.18%、50mg/kg 投与群ではそれぞれ 83.69%および 74.99%であり、T-¹⁴C-カフェンストロールの吸収は良好であることが明らかとなった。

投与後 24 時間までの尿中排泄は、1mg/kg 投与群の雄性および雌性ではそれぞれ 71.82%および 60.98%、50mg/kg 投与群ではそれぞれ 56.33%および 49.46%であった。胆汁中排泄は、1mg/kg 投与群ではそれぞれ 19.84%および 27.05%、50mg/kg 投与群ではそれぞれ 26.00%および 19.81%であった。これらから、いずれの投与量群においても投与量のほとんどが尿中と胆汁中へ排泄されることが明らかとなった。糞中排泄は、1mg/kg 投与群ではそれぞれ 3.18%および 0.83%、50mg/kg 投与群ではそれぞれ 10.46%および 13.04%であった。

表 1. ラットに T-¹⁴C-カフェンストロールを経口投与後 24 時間の放射能の排泄率、体内分布率および推定吸収率

試料	投与量に対する百分率 (%)			
	1mg/kg		50mg/kg	
	雄性	雌性	雄性	雌性
尿	71.82	60.98	56.33	49.46
胆汁	19.84	27.05	26.00	19.81
糞	3.18	0.83	10.46	13.04
ケージ洗液	0.75	1.22	1.13	2.62
消化管(含内容物)	0.25	0.66	0.50	2.86
残部屍体	1.29	4.15	1.36	5.72
総回収率	97.12	94.88	95.77	93.51
推定吸収率	92.95	92.18	83.69	74.99

数値は平均値 (n=4)