

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

8. 繁殖毒性及び催奇形性

① ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料-14)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Crl:CD®系ラット、試験開始時 45～48 日齢、1 群雌雄各 29～30 匹

投与期間： P₁ 世代；投与 73 日後に交配、F₁ 世代：離乳後 105 日後に交配
(1992 年 5 月 27 日～1993 年 5 月 31 日)

投与方法： 検体を 0、100、500 及び 1500ppm の濃度で混餌し、1 群雌雄各約 30 匹に摂食させた。

投与量設定根拠：

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；試験期間中、動物の死亡及び一般状態（外観または行動の異常）について最低 1 週間に 1 回観察した。

1500 ppm 群雌雄の F₁ 世代において、交尾期間中の尾部末端欠損症、尾部の壊死及び潰瘍が認められた個体数が有意に増加した。また同群で第 1 回目の哺乳期間中に被毛の汚れ、第 2 回目の哺乳期間中で腫瘤の所見数が有意に増加した。

1500 ppm 群雌の F₁ 世代において、主に第 1 回目及び 2 回目繁殖期間の間に 6 例を切迫屠殺した。原因は乳腺炎と考えられた。この変化は、被験物質投与に起因した二次的な変化（健康状態の悪化）によると考えられた。全投与群において検体の直接的な影響による死亡例は認められなかった。

交配； 交配は各投与群の雌雄を膣栓が認められるまで、または 3 週間同居させることで行った。なお、F₁ 世代の交配は、対照群の繁殖が不十分だったことから 2 度行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

繁殖性に関する指標；

交尾率(%)=(交尾数/雌雄同居数) × 100

繁殖率(%)= (妊娠胎児数/交尾数) × 100

妊娠率(%)= (最低 1 児は生存していた腹数/腹数) × 100

生存出産児割合(%)= (生存出産児数/出産児数) × 100

生存率(%)= (出産後第 4 日目における生存児数/生存出産児数) × 100

哺乳率(%)= (離乳時における生存児数/出産後第 4 日目における生存児数) × 100

同腹児生存率(%)= (離乳した児ラット数/生存可能児ラット数) × 100

病理組織学的検査；対照群及び高用量群における精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、凝固腺、卵巣、子宮（子宮頸、卵管、子宮体）、膣、下垂体について病理組織検査を行った。肉眼的異常部位は全用量群について検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

世代	期間 (日)	作業手順	試験項目
P ₁	生育 (73 日)		体重、摂餌量を週 1 回測定
	交配 (21 日)	雌雄を同居させて交配交配は交尾栓で確認 (妊娠 0 日)	交配状況の観察
	妊娠		体重、摂餌量及び臨床所見を週 1 回観察
	出産		出産後 0 日目に生存・死亡個体数、 同腹児数、性別の体重測定
	哺育 (21 日)	出産後 4 日目に同腹数を 8 匹に調整 (可能な限り雌雄各 4 匹)	出産後 4 日目に児動物数、体重を測定
F ₁	離乳	継代用の各群雌雄 30 匹ずつ 30 腹から無作為に選抜	各群の母動物及び継代用以外の児動物を屠殺し、肉眼的病理検査
	生育 (105 日)		
	交配 (21 日)	(P ₁ 世代に準ずる)	(P ₁ 世代に準ずる) 但し、対照群の繁殖が不十分だったため交配を 2 度行い F _{2A} 、F _{2B} を得た。
	妊娠		
	出産		(P ₁ 世代に準ずる)
	哺乳 (21 日)	(P ₁ 世代に準ずる)	(P ₁ 世代に準ずる)
	離乳	(F ₁ 世代に準ずる)	(F ₁ 世代に準ずる)
F ₂	生育 (21 日)		出産後 21 日目の各群雌雄 20 匹ずつを肉眼的病理検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果： 結果の概要を下表に示す。

世代		親: P ₁ 児: F ₁				親: F ₁ 児: F _{2A} 、F _{2B}					
投与量(ppm)		0	100	500	1500	0	100	500	1500		
親動物	動物数	-雄	30	30	30	30	30	30	30		
		-雌	30	30	30	30	30	30	29		
	一般状態		-	-	-	-	-	-	尾部欠損等		
	死亡率	-雄	0	0	1	0	1	0	2		
		-雌	0	0	0	1	0	0	1		
	体重増加量										
		雄: 交配前期間 ^a	365.7	352.0	343.1	295.6*	553.5	575.0	549.9	470.3*	
		交配後期間 ^b	71.2	65.4	58.2*	61.1	116.3	118.8	131.6	109.6	
		雌: 交配前期間 ^a	139.7	150.5	130.7	108.0*	272.6	269.5	269.6	233.4*	
	摂餌量(1日当り)										
		雄: 交配前期間 ^a	29.5	28.7	28.0*	26.1*	28.3	28.1	27.0	24.9*	
		雌: " ^a	20.4	20.3	19.9	19.7	20.8	20.7	20.7	19.3*	
	検体採取量										
		雄: 交配前期間 ^a	0	6.50	32.1	97.9	0	7.39	37.4	126	
		雌: " ^a	0	7.85	40.6	130	0	8.85	44.5	148	
	肉眼的病理検査										
	雄: 尾部欠損	0	0	0	0	0	0	0	2*		
	雌: 乳腺肥大	0	0	0	0	0	0	1	4*		
	乳腺腫瘍	0	0	0	0	0	0	0	3*		
病理組織学的変化											
	雌: フト [*] 球菌感染の疑い	0	0	0	0	0	0	1	10*		
	雌: 乳腺炎	0	0	0	0	0	0	1	6*		
交尾率(%)		96.7	100.0	96.7	100.0	90.0 ^c / 80.0 ^d	93.3/ 76.7	93.3/ 86.2	100.0/ 100.0*		
妊娠率(%)		75.9	90.0	86.2	93.3	63.0/ 79.2	71.4/ 78.3	67.9/ 64.0	96.6*/ 81.8		
妊娠期間(日)		22.4	22.4	22.2	22.5	22.8/ 22.5	22.4*/ 22.4	22.3*/ 22.4	22.2*/ 22.6		
児動物	同腹出産児数		14.7	13.6	15.0	13.0	12.6/ 13.2	13.0/ 13.7	13.7/ 15.9	13.5/ 13.5	
	同腹新生児数		14.5	13.0	14.7	11.8*	12.2/ 12.8	12.7/ 13.2	13.2/ 15.4	13.2/ 13.3	
	同腹生存児数	4日		14.5	12.8	14.3	10.6*	11.9/ 12.7	12.5/ 12.8	12.1/ 14.3	12.0/ 13.1
		4日目調整		8.0	7.3	8.0	6.6*	6.5/ 7.6	7.5/ 7.6	7.5/ 7.9	7.7/ 8.0
		7日		8.0	7.3	8.0	6.6*	6.5/ 7.6	7.5/ 7.6	7.5/ 7.9	7.7/ 7.9
		14日		8.0	7.3	8.0	6.2	6.5/ 7.6	7.5/ 7.6	7.5/ 7.9	7.6/ 7.9
21日			8.0	7.3	8.0	6.2	6.5/ 7.6	7.5/ 7.6	7.5/ 7.9	7.7/ 7.9	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

世代		親: P ₁ 児: F ₁				親: F ₁ 児: F _{2A} , F _{2B}				
投与量(ppm)		0	100	500	1500	0	100	500	1500	
児動物	性 比 (雄)	0.51	0.50	0.54	0.50	0.50/ 0.51	0.48/ 0.53	0.48/ 0.52	0.50/ 0.45	
	生存産児率(%)	98.5	95.4	98.5	86.9	88.5/ 97.4	97.9/ 97.3	96.6/ 97.1	98.0/ 98.7	
	4日目生存率	100.0	98.8	97.1*	85.3*	92.2/ 99.3	98.4/ 96.8	92.4/ 92.6*	91.4/ 98.2	
	哺乳率	99.4	99.5	99.5	91.3	100.0/ 99.3	100.0/ 100.0	99.2/ 99.1	99.5/ 98.5	
	同腹 生存 児体 重 (g)	0日	6.7	6.7	6.5	6.4	6.5/ 6.8	6.5/ 6.7	6.5/ 6.3*	6.2/ 6.4*
		4日	10.8	11.6	10.4	9.6*	10.4/ 11.5	10.8/ 11.1	9.9/ 9.5*	9.1/ 9.3*
		4日調整	10.9	11.6	10.4	9.7*	10.4/ 11.5	10.8/ 11.1	9.9/ 9.4*	9.1*/ 9.3*
		7日	17.7	18.3	16.9	13.9*	16.8/ 18.3	17.2/ 17.7	15.6/ 15.5*	13.1*/ 13.2*
		14日	36.5	37.3	34.9	25.4*	34.6/ 37.4	35.4/ 35.3	31.2/ 32.4*	22.5*/ 24.4*
		21日	58.6	59.1	55.2	39.6*	56.3/ 61.8	56.9/ 58.2	50.7/ 53.1*	34.0*/ 38.7*
肉眼的病理検査 尾部欠損		0	0	0	0	0/0	0/0	1/0	1/0	
病理組織学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-	

*: $p \leq 0.05$

Dunnett 検定(体重、摂餌量、臓器重量、妊娠日数)

Cochran-Armitage 傾向検定 (臨床所見数、肉眼病理所見数)

Fisher 直接確率法 (病理組織所見数、交尾率、妊娠率、児ラット生存数)

Kruskal-Wallis 検定 (児ラット数、生存数、重量、生存率、哺乳率)

-: 著変は認められず

a: P 0~70 日間、F₁ 0~105 日間 b: P 70~112 日間、F₁ 105~224 日間

c/d: F_{2A}-1 回目の交配/F_{2B}-2 回目の交配

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

1500 ppm 群では検体投与に起因する影響として以下の所見が認められた。

- P₁ 及び F₁ 世代の雌雄における平均体重増加量の統計学的有意な減少
- P₁ 世代の雄、F₁ 世代の雌雄における摂餌量の統計学的有意な減少
- F₁ 世代の雌または雄に認められた潰瘍、尾部先端部の欠損及び壊死、腫瘤数の統計学的有意な増加（尾部先端部欠損は体重減少及び健康状態の悪化に起因すると考えられた。）
- F₁、F_{2A}、F_{2B} 世代において認められた雌雄児動物の体重の統計学的有意な減少

なお、P₁ 世代では交配能力及び繁殖能力の変化は認められなかった。F₁ 世代の 1500ppm 投与群では、対照群の繁殖力が乏しかったことから、妊娠率または交尾率が有意に増加した。

500 ppm 群では検体投与に起因する影響として以下の所見が認められた。

- P₁ 世代雄における平均体重増加量及び摂餌量の統計学的有意な減少
- F₁ 及び F_{2B} 世代に認められた生後 4 日目生存率の統計学的有意な減少
- F_{2B} 世代において認められた雌雄児動物の体重の統計学的有意な減少

なお、F₁ 世代の全投与群雌において妊娠期間が対照群と比較し統計学的有意に短かったが、これは対照群の平均妊娠期間が通常よりも長かったためであり、生物学的に重要ではないと考えられた。

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、500ppm 投与群の P₁ 世代雄における体重増加量及び摂餌量の減少、F₁ 及び F_{2B} 世代における 4 日目生存率の低下、F_{2B} 世代における雌雄児動物体重減少、親動物及び児動物に対する最大無作用量は 100ppm（親—雌 7.85mg/kg/日、雄 6.50mg/kg/日、児—雌 8.85mg/kg/日、雄 7.39mg/kg/日）と判断される。また、最高投与群においても繁殖性に影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

② ラットにおける催奇形性試験

(資料-15)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Crl:CD@BR 系妊娠ラット (約 63 日齢)
体重 212.3~266.0g、1 群雌 25 匹

投与期間： 妊娠 7 日目~16 日目までの 10 日間

投与方法： 検体を 0.5%メチルセルローズに懸濁し、0、10、25、75 及び 150mg/kg/日の用量で妊娠 7 日目から 16 日目までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。交尾を確認した日を妊娠 1 日とした。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察 (検体投与期間は毎日数回) し、妊娠 1、7~17 及び 22 日に体重を測定した。摂餌量は、妊娠 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19 及び 22 日に測定した。妊娠 22 日目に剖検し、胸腔及び腹腔ならびにその臓器について、肉眼的病理検査を行った。子宮の重量を測定した。着床の種類 (生存/死亡胎児、吸収胚) 及び相対位置を調べた。各卵巣の黄体数を測定した。

胎児動物； 全生存胎児について、性別、体重、外表異常を検査した。各同腹胎児の最大発育遅延重量(MSW)を求めた。約半数の胎児の内臓を検査し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果： 別表に示す。

親動物； 妊娠 22 日目の計画屠殺前に死亡例は認められなかった。臨床症状として下痢や脱毛が認められた。

25、75 及び 150mg/kg 群で投与期間初期(妊娠 7～9 日)に、また 75 及び 150mg/kg 群で投与期間中(妊娠 7～17 日)に平均体重増加量の抑制及び摂餌量の減少がみられた。吸収胚数が有意に増加したことから同腹当りの平均吸収胚数は高投与群で有意に増加した。早産、胚の吸収が認められた親動物の頻度、同腹当りの平均死亡胎児数及び平均黄体数に対する影響は認められなかった。

胎児動物； 150mg/kg 群で平均体重が有意に減少した。25、75 及び 150mg/kg 群で変異の発生頻度は有意に増加した。この変異の発生頻度の増加は主として用量相関性して起こった骨形成の遅延によるものである。奇形の発生頻度は有意に増加したが、用量相関性は認められず、更に各所見について有意差も用量相関性も認められなかった。

以上の結果より、親動物では 25、75 及び 150mg/kg 投与群の体重増加量及び摂餌量が有意に減少したことから最大無作用量は 10mg/kg/日であると判断された。また胎児動物では 25、75 及び 150mg/kg 投与群の胎児の変異発生頻度が増加したことから最大無作用量 (NOEL)は 10mg/kg/日であると判断された。また、本剤は胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果の概要

投与量(mg/kg/日)		0	10	25	75	150	
1群当たり動物数		25	25	25	25	25	
親動物	一般状態	(試験 7~16 日目)					
		脱毛	1	0	3	2	10*
		下痢	0	0	1	0	0
		陰開口部分泌物	0	0	1	0	0
		痂皮	0	0	0	0	1
		鼻変色	0	0	0	0	1
		衰弱	0	0	1	0	0
		(試験 17~22 日目)					
		脱毛	1	0	4	2	8*
		下痢	0	0	1	0	0
		痂皮	0	0	0	0	1
		潰瘍	0	0	0	0	1
	眼周囲変色	1	0	0	0	0	
	衰弱	0	0	1	0	0	
	陰開口部塊	0	0	1	0	0	
体重増加量 (g)	妊娠	7~9 日	9.2	7.9	5.1*	-0.6*	-14.7*
		7~17 日	55.0	52.6	52.7	45.0*	25.1*
摂餌量 (g/日)	妊娠	7~9 日	24.8	23.9	21.9*	17.3*	10.5*
		7~17 日	25.3	24.6	24.4	21.2*	15.3*
死亡率		0	0	0	0	0	
妊娠率		22/25	25/25	24/25	25/25	23/25	
着床所見	検査親動物数		22	25	24	25	23
	黄体数		17.6	17.2	17.1	17.6	17.3
	着床数		16.2	16.1	16.0	15.8	14.8
	生存胎児数		15.2	15.5	15.0	14.6	12.7*
	吸収胚数		1.0	0.6	1.0	1.2	2.1*
胎児動物	平均体重(g)		5.20	5.19	5.01	5.05	4.33*
	外表異常検査胎児数		320(21)	387(25)	360(24)	365(25)	292(23)
	奇形	奇形胎児数	0(0)	1(1)	8 ^{##} (2)	0(0)	2(2)
		神経管欠損	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
		小顎症	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
		全身性水腫	0(0)	0(0)	6 [#] (1)	0(0)	0(0)
		顔欠損	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
		脳ヘルニア	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
		口蓋裂	0(0)	0(0)	3(1)	0(0)	0(0)
		索状尾	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
	変異	変異胎児数	166(21)	202(25)	189(24)	191(25)	154(23)
		皮下出血	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
	内臓異常検査胎児数		166(21)	202(25)	189(24)	191(25)	154(23)
	奇形	奇形胎児数	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
		心臓中隔欠損	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
腎無形成		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	

(次頁へ続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果の概要 (続き)

投与量(mg/kg/日)		0	10	25	75	150
変異	変異胎児数					
	心臓動脈管開存	10(5)	3 [#] (3)	0 ^{##} (0 [#])	3 [#] (3)	15(9)
	腎乳頭 サイズ1 ^{注1)}	5(3)	9(8)	5(4)	4(2)	2(2)
	腎乳頭 サイズ2 ^{注1)}	16(10)	19(13)	20(12)	10(6)	1 [#] (1 ^{##})
頭部異常検査胎児数		166(21)	201(25)	186(24)	189(25)	152(23)
奇形	奇形胎児数	0(0)	0(0)	3(1)	0(0)	0(0)
	口蓋裂	0(0)	0(0)	3(1)	0(0)	0(0)
骨格異常検査胎児数		320(21)	386(25)	360(24)	352(25)	292(23)
奇形	奇形胎児数	0(0)	1(1)	9 ^{##} (1)	3(3)	4(2)
	下顎骨癒合	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
	椎骨癒合	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
	椎骨半椎	0(0)	0(0)	0(0)	2(2)	3(2)
	肋骨癒合	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(2)
	胸骨分節裂	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
	上腕骨弯曲	0(0)	0(0)	5 [#] (1)	0(0)	0(0)
	尺骨弯曲	0(0)	0(0)	2(1)	0(0)	0(0)
	橈骨弯曲	0(0)	0(0)	9 ^{##} (1)	0(0)	0(0)
	腓骨欠損	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
	腓骨弯曲	0(0)	0(0)	5(1)	0(0)	0(0)
	中足骨欠損	0(0)	0(0)	2(1)	0(0)	0(0)
	脛骨弯曲	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
	変異	変異胎児数				
頭蓋部分骨化		9(5)	15(8)	24 [#] (6)	34 ^{##} (12)	25 ^{##} (12)
舌骨未骨化		5(4)	1(1)	3(2)	14(6)	10(5)
下顎骨部分骨化		0(0)	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)
椎骨部分骨化		42(13)	60(18)	119 ^{##} (21 [#])	158 ^{##} (23 [#])	124 ^{##} (21 [#])
椎骨未骨化		0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
胸骨分節部分骨化		13(5)	4 ^{##} (2)	6 [#] (5)	19(10)	63 ^{##} (17 ^{##})
胸骨分節未骨化		0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	6 [#] (3)
骨盤部分骨化		0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	9 ^{##} (1)
指節骨部分骨化		0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
肋骨部分骨化	0(0)	0(0)	3(1)	0(0)	0(0)	
波状肋骨	0(0)	3(3)	6 [#] (3)	1(1)	14 ^{##} (6 [#])	
総奇形胎児数		0	1	13	3	6
1腹当りの平均奇形胎児率		0.0	0.3	4.7*	0.8*	2.2*
総変異胎児数		96	106	165	206	196
1腹当りの平均変異胎児率		27.2	27.6	47.5*	58.6*	68.9*

()内は腹数

*: p<0.05 Jonckheere の検定 (生存胎児数、吸収胚数、胎児変化発生頻度)

共分散分析 (母動物体重変化、母動物摂餌量、胎児体重)

注1) 腎乳頭サイズは Woo and Hoar の定義により 1~3 に分類した。

#: p<0.05、##: p<0.01 Fisher の直接確率検定法 (申請者実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

③ ウサギにおける催奇形性試験

(資料16-1)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ニュージーランド白色種(DLI:NZW) 妊娠ウサギ (約5ヵ月齢)
体重 2.51~4.65kg、1群 17~20匹

投与期間： 妊娠6日目から18日目までの13日間

投与方法： 検体をコーン油に懸濁し、0、1、4、8、32mg/kg/日の投与レベルで妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回強制経口投与した。投与容量は1mL/kgとした。なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。また、各動物は人工授精により妊娠させ、人工受精を実施した日を妊娠0日目とした。
本試験に先駆けて、予備試験[I]、[II]を行った。[I]は、0、4、8、16mg/kg/日の投与量で実施し、母動物及び胎児動物に毒性は認められなかった。
[II]は、0、8、16、32mg/kg/日の投与量で実施し、8mg/kg/日以上で親動物に摂餌低下や体重減少等が認められた。これらの情報から投与量を決定した。

観察・検査項目：

親動物； 一般状態及び生死を妊娠0、3、5日目と検体投与期(妊娠6~18日)は毎日数回、その後は毎日観察した。妊娠0及び5日目、その後妊娠6日目から29日目までは毎日、体重を測定した。妊娠29日目に帝王切開し、黄体数及び位置、着床数及び位置、生存及び死亡胎児数と早期/後期吸収胚を検査した。

胎児動物； 全生存胎児について、性別、体重、外表異常、内臓異常及び骨格異常を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果： 別表に示す。

親動物； 試験期間中死亡は認められなかった。一般症状として摂餌低下、軟便または液状便等が認められたが、用量相関性はなく(Cochran- Armitage の傾向検定)、溶媒対照群でも同様の発生頻度であったことから、検体投与に起因したものではなかった。8及び32mg/kg/日投与群では検体投与終了後に体重増加量が有意に増加した。また各投与群共に、平均黄体数、妊娠率、着床率、吸収率、同腹児数、胎児生存率及び胎児体重は対照群と比較して有意差はなかった。

胎児動物；4、8及び32mg/kg/日投与群で肋骨の奇形、8及び32mg/kg/日投与群で椎骨の奇形及び32mg/kg/日投与群で口蓋裂が数例認められたが、これらの胎児は、生存時に異常がみられ妊娠期間中に体重が減少した母動物の胎児であった。従って、これらは母動物に対する影響によるものであり、検体の毒性によるものではないと考えられた。また、これらは対照群と比べて有意差は認められなかった。

以上の結果より、検体による母体及び胎児毒性は認められなかった。8mg/kg/日及び32mg/kg/日群の検体投与期間における体重及び体重増加量には毒性影響とみられる程の変化はなく、また、他の検査項目についても対照群と比較して明らかな毒性影響がないことから、親動物の無毒性量は32mg/kg/日であると考えられる。胎児動物では8mg/kg/日以上投与群で椎骨及び肋骨に影響が認められたことから無毒性量は4mg/kg/日と判断される(申請者の統計処理による[米国 DuPont Haskell Laboratory(1994)]。また、本剤は胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果の概要

投与量(mg/kg/日)		0	1	4	8	32		
1群当たり動物数		17	18	20	20	20		
親動物	一般状態	摂餌低下	動物数 延日数	5 10/445	3 13/479	4 16/540	2 2/532**	4 9/525
		軟/液便	動物数 延日数	1 1/445	2 2/479	2 3/540	0 0/532	3 5/525
	赤色の滲出物 注1)	動物数 延日数	3 4/445	0 0/479	2 11/540	1 2/532	0 0/525*	
		透明な粘性分泌物注1)	動物数 延日数	0 0/445	1 2/479	1 1/540	0 0/532	0 0/525
	橙色尿	動物数 延日数	0 0/445	1 1/479	0 0/540	0 0/532	0 0/525	
		尿中の赤色滲出物	動物数 延日数	1 1/445	0 0/479	0 0/540	0 0/532	0 0/525
	ラ音	動物数 延日数	1 1/445	0 0/479	0 0/540	0 0/532	0 0/525	
		体重変化 (kg)	妊娠 23~29 日目	-0.05	-0.09	-0.01	0.06*	0.07*
	妊娠 18~29 日目		0.01	-0.02	0.05	0.11	0.17**	
	妊娠 0~29 日目		0.21	0.19	0.26	0.31	0.40	
妊娠率		14/17	15/18	18/20	18/20	19/20		
流産率		2/14	1/15	0/18	1/18	2/19		
胎児吸収率		2/14	1/15	2/18	0/18	1/19		
着床所見	検査親動物数		14	15	18	18	19	
	黄体数		10.3	10.1	11.1	10.4	10.9	
	着床数		7.0	8.1	8.6	7.5	8.1	
	生存胎児数		69	91	109	104	117	
	吸収胚数		1.2	1.6	2.5	1.4	1.2	
	吸収胚率 (%)		27.9	27.3	29.1	20.2	19.5	
平均肝重量 (g)		98.6	112.0	118.9	114.2	117.1		
胎児動物	平均体重(g)		40.8	41.0	43.3	44.0	44.1	
	性比 (雄/雌)		37/32	46/45	68/41	53/51	53/64	
	外表異常 検査胎児数		69	91	109	104	117	
	奇形	奇形胎児数		1	0	6	4	4
		ドーム型頭部		1	0	1	0	1
		小眼球症 (片側)		0	0	1	0	0
		前脚回転減少		1	0	0	0	0
		痕跡尾		0	0	0	2	1
	変異	変異胎児数		1	1	1	0	0
		骨盤部非対照		1	0	0	0	0

注1) ケージの受け皿にて確認された

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果の概要 (続き)

		投与量(mg/kg/日)	0	1	4	8	32	
胎 児 動 物	内臓異常検査胎児数		69	91	109	104	117	
	奇 形	奇形胎児数	1	0	6	4	4	
		水頭症	0	0	0	0	1	
		口蓋裂	0	0	0	0	2	
		脾臓発育不全	0	0	1	0	0	
	変 異	変異胎児数	1	1	1	0	0	
		小型心室	0	1	0	0	0	
		肺動脈拡張	0	0	1	0	0	
	骨格異常検査胎児数		69	91	109	104	117	
	奇 形	奇形胎児数		1	0	6	4	4
		椎骨	— 半椎骨	0	0	0	1	1
			— 癒合、椎弓	0	0	0	1	0
		肋骨	— 過剰肋骨	0	0	1	0	0
			— 癒合	0	0	1	1	1
			— 叉状	0	0	0	0	1
			— 肥大	0	0	1	0	0
		胸骨分節	— 非対照	0	0	0	1	0
			— 癒合	0	0	2	0	0
		変 異	変異胎児数		10	7	15	10
	頭蓋骨、舌骨—骨化不全		0	1	0	0	0	
椎骨	— 分割		0	0	0	2	0	
	— 未骨化		0	0	0	1	0	
胸骨分節	— 未骨化		4	3	14	5	15	
剣状突起	— 分割		0	1	0	0	0	
	— 未骨化		6	3	4	5	7	
上記以外に椎骨及び肋骨に変異がみられた胎児数		0	0	1	4	2		

*: Fisherの直接確立法 $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

*: 分散分析 $p \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$ (申請者による統計処理)

*: Jonckheereの検定 $p \leq 0.05$ (申請者による統計処理)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

④ ウサギにおける催奇形性試験[予備試験(I)]

(資料16-2)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：

検体純度：

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ
体重 2.6~3.7kg、1群 15匹

試験期間： 妊娠 6 日目から 18 日目までの 13 日間

試験方法： 予備試験では 125、250、500mg/kg/日投与レベルでは全ての投与群で検体投与による影響が認められた。15、30、60mg/kg/日投与レベルでは 15、30、60mg/kg/日投与群で摂餌量の低下、60mg/kg/日投与群で体重減少が認められた。そのため本試験では検体を 1%メチルセルロースに懸濁し、0、4、8、16 mg/kg/日投与レベルで妊娠 6 日目から 18 日目までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 1%メチルセルロースを同様に投与した。交尾を行った日を妊娠 0 日目とした。

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 1、6、10、14、19、23、29 日目に体重を測定した。妊娠 29 日目に屠殺し、黄体数、生存及び死亡胎児数を検査した。

胎児動物；全生存胎児について、性別、体重及び外表異常、内臓異常及び骨格異常を検査した。

結果： 別表に示す。

親動物；試験途中で死亡及び屠殺した動物に消化管障害が認められたが高用量群の発生頻度が最も低かったことから、検体投与に関連しないと考えられる。体重、妊娠率、同腹児数、同腹児の吸収、死亡に対照群と比較して有意差は無かった。

胎児動物；8及び16mg/kg/日投与群で対照群に比べて奇形が増加したが、用量相関性がなく(Cochran-Armitageの傾向検定)、有意差も認められなかった。また過剰肋骨は4、8、16mg/kg/日投与群で増加したが、有意差は認められなかった。

以上の結果より、検体投与による母体または胎児毒性は認められなかった。本剤は胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果の概要

投与量(mg/kg/日)		0	4	8	16	
1群当たり動物数		15	15	15	15	
親動物	死亡率	5	5	3	1	
	妊娠率	100.0	80.0	66.7	78.6	
	検査親動物数	10	8	8	11	
	着床所見	黄体数	12.0	13.1	12.8	10.4
		着床数	10.7	12.0	10.9	10.5
		吸収胚数	3.0	0.5	2.8	1.7
		生存胎児数	7.7	11.5	8.1	8.8
	平均体重(g)		40.1	35.6	39.5	41.0
性比(雄/雌)		4.8/3.8	4.5/7.0	4.7/4.6	4.6/4.0	
胎児動物	検査胎児数		77	92	65	86
	奇形	奇形胎児数	1	0	4	2
		脊柱側弯症	1	0	0	1
		水頭症	0	0	1	0
		猿頭症	0	0	1	1
		無趾症	0	0	1	0
		胃壁破裂	0	0	1	0
		小眼球	0	0	1	0
		主要心血管欠損	0	0	1	0
変異	変異胎児数(肉眼的)	1	7	3	2	
	“(骨格)	14	15	11	12	

直線回帰分析(母動物及び胎児動物の体重変化)

Cochran-Armitage 傾向検定(同腹児の吸収、死亡を有する動物の発現頻度、奇形・異常・変異の発現頻度)

Jonckheere 及び Wilcoxon の検定(異常を有する胎児動物及び骨格変異の発現頻度)

Jonckheere 及び Kruskal-Wallis 検定(上記以外の項目)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

⑤ ウサギにおける催奇形性試験[予備試験(II)]

(資料16-3)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：

検体純度：

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ（12～20週齢）
体重 2.8～3.9kg、1群 15匹

試験期間： 妊娠6日目から18日目までの13日間

試験方法： 検体を1%メチルセルロースに懸濁し、0、8、16、32mg/kg/日の投与レベルで妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には1%メチルセルロースを同様に投与した。交尾を行った日を妊娠0日目とした。

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠1、6、10、14、19、23、29日目に体重を測定した。妊娠29日目に屠殺し、黄体数、生存及び死亡胎児数を検査した。

胎児動物；全生存胎児について、性別、体重及び外表異常、内臓異常及び骨格異常を検査した。

結果： 別表に示す。

親動物；試験期間中、死亡は認められなかった。8、16、32mg/kg/日投与群で一般症状として耳の触感温度低下、摂餌量低下、体重減少等が認められた。妊娠率、同腹児数、胎児の死亡、吸収、体重に対照群と比較して有意差はなかった。

胎児動物；全ての試験群で中軸骨格に軽度～重度の骨格変化が認められた。これらは対照群との差は認められたが、用量相関性は認められなかった(Cochran-Armitageの傾向検定)。

以上の結果より、本剤は胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果の概要

投与量(mg/kg/日)		0	8	16	32		
1群あたり動物数		15	15	15	15		
親動物	一般状態	耳の触感温度低下	3	4	7	10	
		摂餌低下	0	1	5	10	
	体重変化(50g以上減少)(匹)		0	3	3	11	
	妊娠率		92.3	100.0	92.9	86.7	
	着床所見	検査親動物数		12	15	13	13
		黄体数		9.8	9.3	9.4	8.8
		着床数		8.5	8.2	8.6	7.3
吸収胚数		0.9	1.0	0.8	0.9		
胎児動物	生存胎児数		7.6	7.2	7.8	6.4	
	平均体重(g)		46.3	44.2	43.9	46.0	
	性比(雄/雌)		4.1/3.5	4.1/3.1	3.8/4.0	3.2/3.2	
	検査胎児数		91	108	101	83	
	奇形胎児数		2	7	6	7	
	変異胎児数(内臓異常)		4	1	1	1	
	" (骨格異常)		11	24	17	18	

直線回帰分析(母動物及び胎児動物の体重変化)

Cochran-Armitage 傾向検定(流産、異常を有する胎児数、異常胎児を有する母動物数、変異発現頻度)

Jonckheere 及び Wilcoxon の検定(異常を有する胎児動物及び骨格変異の発現頻度)

Jonckheere 及び Kruskal-Wallis 検定(上記以外の項目)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

9. 変異原性

(1) 遺伝子突然変異原性

細菌を用いる復帰変異試験①

(資料-17-1)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA* 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体を溶解させるために DMSO を用いた。

用量設定根拠：

結果： 結果を次表に示した。

2 回の実験において検体処理群では S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても溶媒対照に比べて 2 倍以上の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 では S9 Mix の無添加で、2-AA では S9 Mix の添加により全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。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

復帰変異試験成績 (実験 I、サルモネラ菌、-S9 Mix)

S9 Mix の有無	濃度 (μ g/ プレート)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
—	溶媒対照 (DMSO)	101 121 (111)	7 11 (9)		19 19 (19)	6 3 (5)
	31.3	125 109 (117)	3 7 (5)		22 26 (24)	5 4 (5)
	62.5	116 120 (118)	7 5 (6)		27 14 (21)	5 6 (6)
	125	105 98 (102)	7 12 (10)		16 27 (22)	3 3 (3)
	250	93 101 (97)	8 9 (9)		24 18 (21)	2 5 (4)
	500	80 96 (88)	5 5 (5)		9 18 (14)	4 5 (5)
	1000	16 10 (13)	* * (13)		9 10 (10)	2 2 (2)
	2000	* *	* *		* *	* *
陽性 対照	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9-AA
	μ g/ プレート	0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/ プレート	469 438 (454)	616 628 (622)		716 692 (704)	947 736 (842)

():内の数値は平均値 * : 菌株の生育阻害を認める

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-アミノアクリジン塩酸塩

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

復帰変異試験成績 (実験 I、サルモネラ菌、+S9 Mix)

S9 Mix の有無	濃度 (μ g/ プレート)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
+	溶媒対照 (DMSO)	94 88 (91)	10 8 (9)		31 28 (30)	12 6 (9)
	31.3	84 75 (80)	6 6 (6)		25 29 (27)	9 8 (9)
	62.5	83 67 (75)	6 7 (7)		23 25 (24)	7 6 (7)
	125	60 70 (65)	8 10 (9)		20 34 (27)	4 7 (6)
	250	82 73 (78)	5 10 (8)		23 29 (26)	7 8 (8)
	500	73 61 (67)	7 4 (6)		14 10 (12)	8 7 (8)
	1000	34 38 (36)	1 1 (1)		6 7 (7)	4 6 (5)
	2000	* *	* *		* *	* *
陽性 対照	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	μ g/ プレート	1	2	10	0.5	2
	コロニー数/ プレート	640 686 (663)	297 332 (315)		343 325 (334)	111 91 (101)

():内の数値は平均値 * : 菌株の生育阻害を認める

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デュポン株式会社にある。

復帰変異試験成績 (実験 I、大腸菌、WP2 *uvrA* 株)

濃度 (μ g/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート		
	塩基対置換型: WP2 <i>uvrA</i>		
	S9 Mix(-)	S9 Mix(+)	
溶媒対照 (DMSO)	19	19	
	23	15	
	(21)	(17)	
313	12	20	
	15	16	
	(14)	(18)	
625	23	16	
	11	19	
	(17)	(18)	
1250	18	20	
	17	16	
	(18)	(18)	
2500	16	16	
	17	15	
	(17)	(16)	
5000	6	7	
	7	11	
	(7)	(9)	
陽性 対照	名称	AF-2	2-AA
	μ g/ プレート	0.01	10
	コロニー数/ プレート	308 299	405 393
	(304)	(399)	

():内の数値は平均値

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

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デュポン株式会社にある。

復帰変異試験成績 (実験Ⅱ、サルモネラ菌、-S9 Mix)

S9 Mix の有無	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
—	溶媒対照 (DMSO)	111 105 (108)	9 4 (7)		22 19 (21)	5 6 (6)
	31.3	118 103 (111)	11 8 (10)		14 23 (19)	7 7 (7)
	62.5	98 95 (97)	5 10 (8)		20 18 (19)	4 4 (4)
	125	105 104 (105)	6 6 (6)		25 22 (24)	6 2 (4)
	250	101 109 (105)	7 4 (6)		17 21 (19)	4 6 (5)
	500	89 96 (93)	4 6 (5)		9 11 (10)	8 5 (7)
	1000	15 15 (15)	* * (15)		* *	1 1 (1)
	2000	* *	* *		* *	* *
陽性 対照	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9-AA
	$\mu\text{g}/$ プレート	0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/ プレート	571 574 (573)	415 411 (413)		542 528 (535)	829 875 (852)

():内の数値は平均値 * : 菌株の生育阻害を認める

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

NaN_3 : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

復帰変異試験成績 (実験II、サルモネラ菌、+S9 Mix)

S9 Mix の有無	濃度 (μ g/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
+	溶媒対照 (DMSO)	81 92 (87)	5 7 (6)		22 32 (27)	12 8 (10)
	31.3	96 79 (88)	10 8 (9)		32 33 (33)	10 6 (8)
	62.5	95 86 (91)	7 5 (6)		39 32 (36)	8 9 (9)
	125	82 73 (78)	5 6 (6)		34 20 (27)	8 10 (9)
	250	73 66 (70)	4 4 (4)		25 22 (24)	10 7 (9)
	500	71 78 (75)	4 8 (6)		21 20 (21)	2 4 (3)
	1000	70 57 (64)	2 1 (2)		13 8 (11)	1 0 (1)
	2000	* * ()	* * ()		* * ()	* * ()
陽性対照	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	μ g/ プレート	1	2	10	0.5	2
	コロニー数/ プレート	591 511 (551)	178 164 (171)		279 282 (281)	85 112 (99)

():内の数値は平均値 * : 菌株の生育阻害を認める

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デュポン株式会社にある。

復帰変異試験成績 (実験Ⅱ、大腸菌、WP2 *uvrA* 株)

濃度 (μ g/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート		
	塩基対置換型: WP2 <i>uvrA</i>		
	S9 Mix(-)	S9 Mix(+)	
溶媒対照 (DMSO)	22	23	
	19	25	
	(21)	(24)	
313	22	25	
	19	22	
	(21)	(24)	
625	11	25	
	14	16	
	(13)	(21)	
1250	18	23	
	15	19	
	(17)	(21)	
2500	17	28	
	9	25	
	(13)	(27)	
5000	10	12	
	11	16	
	(11)	(14)	
陽性 対照	名称	AF-2	2-AA
	μ g/ プレート	0.01	10
	コロニー数/ プレート	444 451 (448)	401 440 (421)

():内の数値は平均値

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

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デュポン株式会社にある。

細菌を用いる復帰突然変異試験②

(資料-17-2)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA97、TA98)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、10~2500 μ g/プレートの範囲の 7 濃度で実施した。試験は 3 連制とし、2 回行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

2 回の試験において検体は S9Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (750 μ g/プレート) においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA、2NF、NAAZ 及び ICR-191 では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

1回目試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA100	TA1535	TA97	TA98	
対照 (DMSO)	—	—	105	18	108	31	
検体	10	—	108	21	134	27	
	50	—	114	18	121	33	
	100	—	107	20	124	23	
	250	—	108	19	114	36	
	500	—	47 *	20	110 *	23	
	750	—	11 *	0 *	0 *	18 *	
	1000	—	0 *	0 *	0 *	0 *	
	2500	—	0 *	0 *	0 *	0 *	
対照 (DMSO)	—	+	100	21	113	24	
検体	10	+	104	23	112	29	
	50	+	92	22	117	24	
	100	+	108	19	131	29	
	250	+	94	19	138	28	
	500	+	112	19	128	22	
	750	+	71 *	20	112 *	22	
	1000	+	65 *	17 *	71 *	14 *	
	2500	+	0 *	0 *	0 *	0 *	
陽性 対照	NAAZ	2	—	678	—	—	—
		2	—	—	426	—	—
	ICR-191	2	—	—	—	1435	—
	2NF	25	—	—	—	—	1260
	2AA	1	+	1242	—	—	—
		2	+	—	271	—	—
		1	+	—	—	1027	—
		2	+	—	—	—	1614

対照群と比較しコロニーが小さいかもしくはコロニー形成されず。

NAAZ : アジ化ナトリウム

ICR-191 : ICR-191 アクリジン

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 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デュポン株式会社にある。

2回目試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA100	TA1535	TA97	TA98	
対照 (DMSO)	—	—	104	9	126	30	
検体	10	—	117	8	129	29	
	50	—	124	9	124	28	
	100	—	124	10	130	28	
	250	—	113	9	140	18	
	500	—	100 *	9 *	54 *	12 *	
	750	—	34 *	6 *	20 *	4 *	
	1000	—	9 *#	3 *	24 *	0 *	
	2500	—	0 *#	0 *	0 *	0 *	
対照 (DMSO)	—	+	124	13	150	24	
検体	10	+	135	13	165	22	
	50	+	134	13	159	21	
	100	+	137	18	163	19	
	250	+	142	15	175	22	
	500	+	125	13	162 *	23 *	
	750	+	59 *	14 *	105 *	16 *	
	1000	+	17 *#	10 *	30 *	5 *#	
	2500	+	0 *#	0 *	0 *	0 *#	
陽性 対照	NAAZ	2	—	370	—	—	—
		2	—	—	291	—	—
	ICR-191	2	—	—	—	1693	—
		2NF	25	—	—	—	1555
	2AA	1	+	1950	—	—	—
		2	+	—	186	—	—
		1	+	—	—	1027	—
		2	+	—	—	—	1818

* 対照群と比較しコロニーが小さいかもしくはコロニー形成されず。

対照群と比較し背景細菌叢は著しく透明化し、及び/または微小コロニーはわずかに大きい。

NAAZ : アジ化ナトリウム

ICR-191 : ICR-191 アクリジン

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 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デュポン株式会社にある。

(2) 染色体異常誘発性

① ヒトのリンパ球細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験

(資料-19)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒトの初代培養リンパ球細胞を用いた。ヒトリンパ球細胞は米国 DuPont Clinical Specimen and Bioreagent Acquisition Group に所属する男性 1 名及び女性 1 名から採取された。試験は 2 回実施され、原則として試験 1 あるいは試験 2 に男性由来の試料を用いられた場合、試験 2 あるいは試験 1 には女性由来の試料が用いられた。試験前に濃度設定のために実施した細胞毒性、並びに細胞周期の遅延についての試験から、本試験の濃度は非活性化法及び活性化法で 1.5mg/mL までとした。試験は活性化法及び非活性化法でそれぞれ 2 反復で実施し、各試験及び各濃度当り 100 個の分裂中期像を観察した。

結果： 次頁に結果の表を示す。

代謝活性化系の非存在下では、試験 1 において 1.5mg/mL、試験 2 において 1.25 及び 1.5mg/mL で統計学的に有意な異常細胞率の増加が認められた。代謝活性化系の存在下では試験 1 において 1.0、1.25、1.5mg/mL、試験 2 において 0.85、1.25、1.5mg/mL で同様の増加が認められた。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C(MMC)(代謝活性化系の非存在下)及びシクロホスファミド(CP)(代謝活性化系の存在下)では、顕著な染色体異常発現頻度の増加がみられた。

以上の結果より、本検体に於けるヒトリンパ球細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験での変異原性は陽性であると判断される。

結果:

表1

代謝活性化の有無	試験名	検体濃度 (mg/mL)	計数 細胞数	異常細胞数及び異常の種類																	異常を有する細胞数		有糸核 分裂 指数 (%)
				ギャップ		染色体型						染色体型					その他			≥1	>1		
						切 断			交 換			切 断		交 換			≥ 10	pu	pc				
				tg	ig	tb	ib	f	tr	qr	int	af	dm	r	t	d							
非 活 性 化	試験 1	1%DMSO	50a/50b	1/1	0/2	0/2	0/1	0/0	0/0	1/0	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/3	0/0	5.7/8.3	
		0.1(検体)	50#/50#	0/0	0/0	1/2	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/2	1/0	9.3/9.9	
		0.5	50/50	0/0	0/0	3/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/1	1/0	6.8/8.6	
		0.75	50/50	1/3	0/0	3/2	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	3/3	0/0	6.1/6.9	
		1.0	50/50	1/8	1/1	1/8	0/0	1/2	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	2/9	0/3	4.9/8.7	
		1.25	50/50	0/0	1/1	2/0	0/0	1/0	0/0	1/0	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	5/0	0/0	5.1/3.4	
		1.5	50/50	12/2	1/0	4/6	1/1	1/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	7/6	0/2	4.2/3.6	
		MMC 0.35	50/50	1/4	1/1	10/7	3/1	1/3	1/1	1/1	0/0	1/2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	13/13	3/2	6.3/7.3	
	試験 2	1%DMSO	50/50	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	10.1/12.6	
		0.1(検体)	50/50	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	11.1/12.4	
		0.85	50/50	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	8.9/8.0	
		1.25	50/50	0/1	0/0	8/5	0/0	1/2	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	9/5	1/2	4.3/5.8	
		1.5	50/50	2/1	0/0	12/5	0/0	0/4	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	10/7	2/2	5.2/4.8	
		MMC 0.35	50/50	1/0	0/1	10/12	0/0	1/2	2/1	0/1	0/0	2/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	14/14	1/3	7.1/14.3	

表2

代謝活性化の有無	試験名	検体濃度 (mg/mL)	計数 細胞数	異常細胞数及び異常の種類																	異常を有する細胞数		有糸核 分裂 指数 (%)		
				ギャップ		染色分体型						染色体型					その他			≥1	>1				
						切 断			交 換			切 断		交 換			≥	pu	pc						
				tg	ig	tb	ib	f	tr	qr	int	af	dm	r	t	d	≥	10							
活性化	試験1	1%DMSO	50#/50 #	2.0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	6.8/7.9	
		0.1(検体)	50/50	1/1	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	8.7/8.5
		0.5	50/50	2/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/1	0/0	5.6/8.9	
		0.75	50/50	2/3	0/0	0/1	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/3	0/0	5.5/6.8	
		1.0	50/50	5/9	0/0	3/4	0/1	0/1	0/0	0/1	0/0	0/2	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	2/8	1/2	5.0/5.6		
		1.25	50/50	7/3	1/0	7/2	0/1	0/1	0/0	0/1	0/0	0/2	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	7/6	1/1	4.6/4.4		
		1.5	50/50	0/2	2/0	7/1	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/0	0/1	0/1	0/0	8/4	0/2	3.2/4.3			
	CP 10 (μg/mL)	50/50	8/14	4/6	10/13	1/1	0/1	0/0	0/2	0/0	0/2	0/3	0/0	0/0	0/1	0/0	0/1	0/0	10/15	1/4	5.3/3.2				
	試験2	1%DMSO	50/50	0/0	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	11.7/10.9		
		0.1(検体)	50/50	1/0	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0	0/1	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0	2/1	1/0	11.3/9.7			
		0.85	50/50	0/1	0/0	3/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	4/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	6/2	2/0	4.9/9.1			
		1.25	50/50	6/7	0/1	3/7	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/0	2/0	0/0	0/2	0/0	5/8	0/3	6.3/7.3			
		1.5	50/50	6/11	0/2	12/12	0/1	1/1	1/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0	0/0	14/12	3/3	6.8/6.7			
		CP 10 (μg/mL)	50/50	10/14	3/0	17/16	1/1	0/3	3/2	5/2	2/0	1/4	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	19/21	9/6	2.0/1.1			

ab: a=男性由来のリンパ球細胞、b=女性由来のリンパ球細胞、#=女性由来のリンパ球細胞を使用、MMC: マイトマイシンC、
 CP: シクロホスファミド、tg: 染色分体ギャップ、ig: 同染色分体ギャップ、tb: 染色分体切断、
 ib: 同染色分体切断、f: 切片、tr: 三放射状、qr: 四放射状、int: 内部交換、af: 中心外切片、
 dm: 二重マイニュート、r: 環状、t: 転座、d: 二重中心性、pu: 細粉化染色体、pc: 細粉化細胞、
 ≥10: 10以上の異常を有する細胞数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

男性及び女性由来のヒトリンパ球細胞を用いた試験結果（表1及び2）をまとめると以下のとおりである。

S9-Mixの有無	検体濃度 (mg/mL)	計数細胞数	採取時間 (hr.)	細胞1個当りの異常数	異常細胞率 (%)	2個以上の異常を有する細胞率 (%)	有糸核分裂指数 (%)	
非活性化	試験1	0 (1%DMSO)	100	19	0.05	5.0	0.0	7.0
		0.1	100	19	0.04	3.0	1.0	9.6
		0.5	100	19	0.04	3.0	1.0	7.7
		0.75	100	19	0.06	6.0	0.0	6.5
		1.0	100	19	0.16	11.0	3.0	6.8
		1.25	100	19	0.05	5.0	0.0	4.2
		1.5	100	19	0.15	13.0*	2.0	3.9
	MMC 0.35 (μ g/mL)	100	19	0.32	26.0*	5.0*	6.8	
	試験2	0 (1%DMSO)	100	20	0.00	0.0	0.0	11.4
		0.1	100	20	0.00	0.0	0.0	11.8
		0.85	100	20	0.02	2.0	0.0	8.4
		1.25	100	20	0.18	14.0*	3.0	5.0
		1.5	100	20	0.23	17.0*	4.0	5.0
		MMC 0.35 (μ g/mL)	100	20	0.32	28.0*	4.0	10.7
活性化	試験1	0 (1%DMSO)	100	19	0.00	0.0	0.0	7.4
		0.1	100	19	0.02	2.0	0.0	8.6
		0.5	100	19	0.01	1.0	0.0	7.2
		0.75	100	19	0.04	4.0	0.0	6.2
		1.0	100	19	0.13	10.0*	3.0	5.3
		1.25	100	19	0.15	13.0*	2.0	4.5
		1.5	100	19	0.22	12.0*	2.0	3.8
	CP 10 (μ g/mL)	100	19	0.35	25.0*	5.0*	4.2	
	試験2	0 (1%DMSO)	100	20	0.01	1.0	0.0	11.3
		0.1	100	20	0.04	3.0	1.0	10.5
		0.85	100	20	0.11	8.0*	2.0	7.0
		1.25	100	20	0.17	13.0*	3.0	6.8
1.5		100	20	0.40	26.0*	6.0*	6.8	
CP 10 (μ g/mL)	100	20	0.58	40.0*	15.0*	1.6		

Fisherの直接確立法 *:p<0.05

MMC:マイトマイシンC

CP:シクロホスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

② ラットの骨髄細胞を用いた *in vivo* における染色体異常誘発性試験

(資料-20)

試験機関：
報告書番号：
報告書作成年：

検体純度：

供試動物：Sprague-Dawley(CD®)系ラット、1群雌雄各20匹（陽性対照群は雌雄各5匹）
試験開始時の体重範囲；雄305～312g、雌197～207g

試験期間：1982年9月20日～9月22日

方法： 検体をコーン油に懸濁し、50、100及び500mg/kgの用量で1回強制経口投与した。溶媒対照群の動物にはコーン油を同様に投与した。陽性対照群の動物にはシクロホスファミドを40mg/kgの用量で経口投与した。一般状態を1日2回及び屠殺直前に観察し、検体投与前に体重を測定し、24時間または48時間で屠殺した動物についてはコルヒチン投与前にも体重を測定した。検体及び対照物質投与後4、10、22及び46時間目に、所定の動物にコルヒチンを2.0mg/kgの用量で1回腹腔内投与し、2時間後に動物を屠殺し、骨髄細胞標本を作製し、鏡検した。陽性対照群は投与後24時間で屠殺し、骨髄細胞標本を作製した。可能な限り各動物につき50個の分裂中期像を検査した。

結果： 結果の概要を次頁に表示する。

検体投与群では、いずれの用量でも染色体異常の発現頻度に有意な増加が認められなかった。また、平均染色体数及び有糸分裂指数にも有意差が認められなかった。

50mg/kg及び100mg/kg投与群で軽度の活動低下が認められた。500mg/kg投与群全動物で活動低下や虚脱、投与後12時間以内に8匹の死亡が認められた。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミドでは染色体異常の発現頻度に顕著な増加が認められた。

以上の結果から、本検体はラットの骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

投与後 時間	薬物	用量 (mg/kg)	検査動 物数	検査 細胞数	異常の種類及び頻度						異常 細胞数	異常 細胞率	総異 常数	細胞当り平 均異常数	平均標準 細胞数	有糸分 裂指数
					tg	cg	tb	cb	ex	>10						
6	溶媒対照 (コン油)		10	400	1	0	6	0	0	0	6	1.5	7	0.018	41.42	2.3
	検体	50	10	425	2	0	3	0	0	0	5	1.2	5	0.012	41.17	1.2
		100	10	350	0	0	3	0	0	0	3	0.9	3	0.009	41.57	1.6
500	10	375	1	0	6	0	0	0	0	4	1.1	7	0.019	41.38	1.5	
12	溶媒対照 (コン油)		10	450	1	1	6	1	0	0	9	2.0	9	0.020	41.28	2.5
	検体	50	10	464	3	1	4	1	0	0	8	1.7	9	0.019	41.32	2.2
		100	10	450	4	1	5	1	0	0	11	2.4	11	0.024	41.22	2.1
500	5 ^a	250	1	0	2	0	0	0	0	3	1.2	3	0.012	41.43	2.9	
24	溶媒対照 (コン油)		10	379	2	0	0	1	0	0	3	0.8	3	0.008	41.13	1.0
	陽性対照 (CP)	4	10	220	0	0	75	6	8	16	57*	25.94*	249*	1.132*	40.89	0.3
	陽性対照	50	10	500	2	0	1	0	0	0	3	0.6	3	0.006	40.71	2.6
100		10	300	0	0	2	0	0	0	2	0.7	2	0.007	40.92	1.9	
500	7 ^b	300	1	0	4	0	0	0	0	5	1.7	5	0.017	40.66	2.4	
48	溶媒対照 (コン油)		10	375	1	0	4	0	0	0	5	1.3	5	0.013	40.90	2.0
	検体	50	10	350	1	0	2	0	0	0	3	0.9	3	0.009	41.24	2.0
		100	10	350	1	0	1	0	0	0	2	0.6	2	0.006	41.24	1.6
500	10	300	0	0	3	1	0	0	0	4	1.3	4	0.013	41.39	1.7	

tg: 染色体型ギャップ、cg: 染色体型ギャップ、tb: 染色体型切斷、cb: 染色体型切斷、

ex: 交換、>10:10 以上の異常

cp: シクロホスファミド

a: 屠殺前に 5 匹死亡

b: 屠殺前に 3 匹死亡

Kruskal-Wallis 分散分析 * : p=0.03

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

③ マウスの骨髄多染性赤血球(PCEs)を用いた *in vivo* 小核誘発性試験
(資料-21)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Crl:CD-1(ICR)BR 系マウス、投与時約 56 日令、1 群雌雄各 5 匹

試験開始時の平均体重及び範囲；雄 28.9 g (25.6-31.6 g)、雌 25.1 g (22.4-28.2 g)

試験方法： マウスの骨髄多染性赤血球を用いて小核誘発性を評価した。

試験前に濃度設定のために実施した毒性についての試験（雄で 900、800、700、600、500、400mg/kg、雌で 500、400、300、200mg/kg）から、本試験のマウスへの投与用量は雄 125、225、450 及び雌 125、225、350mg/kg の 3 薬量とした。1 群雌雄各 5 匹（高薬量群のみ雄 6 匹、雌 4 匹）からなる陰性対照群、低用量群、中用量群及び高用量群のマウスを骨髄標本を採取するため、それぞれ 24、48 及び 72 時間後に屠殺した。

マウス 1 匹当たり 2000 個の骨髄多染性赤血球について小核の有無を検査した。

また陽性対照として、シクロホスファミド (CP) を用いた。小核を有する細胞の発現頻度を 5%の危険率で評価した。

結果： 次頁に結果の表を示す。

検体投与群はマウスに毒性を示したレベルを含め、小核を有する多染性赤血球の発現率において、濃度相関性及び対照と比して有意な増加は認められなかった。

48 時間目の標本採取時に若性多染性赤血球／成熟正染性赤血球比において有意な低下が 350ppm 投与群の雌で認められた。一方、陽性対照の CP を投与したマウスの標本においては小核を有する多染性赤血球の発現率が陰性対照群と比較して、有意に高かった。

以上の結果より、本検体のマウスの骨髄細胞に対する小核誘発性は陰性であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

観察結果

検体 投与量 (mg/kg)	屠殺 時間 (時間)	性 別	動物 数	体重 変化 (g)	平均 MNPCE 率 (95%信頼限界) (測定変化値)	平均 PCE 率 (95%信頼限界) (測定変化値)	平均 PCE/NCE 比(S.E.)
0	24	雄	5	0.0	0.06(0.00、0.20)	55.7(41.3、69.6)	1.36(0.22)
0	24	雌	5	-0.5	0.02(0.00、0.08)	53.7(49.6、57.8)	1.17(0.07)
125	24	雄	5	0.4	0.08(0.00、0.28)	50.1(39.3、60.9)	1.06(0.17)
125	24	雌	5	0.2	0.15(0.09、0.22)	57.2(47.0、67.1)	1.40(0.21)
225	24	雄	5	0.1	0.13(0.08、0.19)	52.0(37.1、66.8)	1.19(0.25)
225	24	雌	5	-0.5	0.03(0.00、0.26)	54.2(46.4、61.8)	1.22(0.15)
450	24	雄	6	0.3	0.09(0.01、0.24)	40.2(33.1、47.5)	0.69(0.08)
350	24	雌	4 ^a	-0.4	0.02(0.00、0.20)	52.5(35.3、69.4)	1.19(0.27)
0	48	雄	5	1.3	0.13(0.06、0.23)	46.6(37.2、56.2)	0.90(0.11)
0	48	雌	5	0.0	0.03(0.00、0.14)	57.4(52.7、62.0)	1.36(0.09)
450	48	雄	6	0.7	0.11(0.07、0.15)	48.7(43.9、53.6)	0.96(0.07)
350	48	雌	4 ^{a、b}	-0.5	0.08(0.03、0.17)	47.4(43.5、51.3) [*]	0.90(0.04)
0	72	雄	5	1.2	0.13(0.04、0.27)	49.9(42.5、57.4)	1.02(0.11)
0	72	雌	5	0.6	0.07(0.00、0.22)	53.2(42.2、64.0)	1.20(0.20)
450	72	雄	6	1.8	0.14(0.07、0.24)	46.4(40.2、52.8)	0.89(0.10)
350	72	雌	4 ^{a、b}	-1.6	0.07(0.00、0.35)	49.7(39.6、59.9)	1.01(0.13)
CP、40	24	雄	5	-0.2	0.77(0.17、1.79) [*]	41.6(35.7、47.5) [*]	0.72(0.07)
CP、40	24	雌	5	0.0	0.50(0.14、1.09) [*]	50.7(38.8、62.6) [*]	1.09(0.19)

一元配置分散分析 * : p<0.05

a : 計画屠殺前に死亡

b : 48 時間から 72 時間屠殺に移行

MNPCE : 平均小核保有骨髓多染性赤血球数

PCE : 多染性赤血球数

PCE/NCE : 多染性赤血球 / 正染性赤血球

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

(3) DNA 損傷誘発性

① シモキサニルの細菌を用いた DNA 修復試験

(資料-18)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* 組換修復機構保持株(H17、Rec+) と欠損株(M45、Rec-) を用い、代謝活性化及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。検体を溶解させるために、DMSO を用いた。検体の溶解度に基づき、78、156、313、625、1250 及び 2500 μ g/ディスクの 6 用量で試験した。

結果： 次頁に結果の表を示す。

シモキサニルは代謝活性化系の非存在下では 78 μ g/ディスク以上の用量で、また、代謝活性化系の存在下で 625 μ g/ディスク以上の用量で組換修復機構欠損株(M45)に生育阻止帯を誘起した。

一方、陰性対照として用いたカナマイシンは両株に同程度の生育阻止帯を示し、その差は 2mm であった。また、陽性対照として用いたマイトマイシン C は代謝活性化系の非存在下で、Trp-P-1 は代謝活性化により組換修復機構野生株(H17)に比べ組換修復機構欠損株(M45)に著明な生育阻止帯を誘起した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の非存在下において弱い DNA 損傷誘起性を有すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

DNA 修復試験成績

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S9 分画(-)			S9 分画(+)			
		阻止帯 (mm) *		差 (mm)	阻止帯 (mm) *		差 (mm)	
		M45	H17		M45	H17		
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	
検 体 (シモキサニル)	78	1	0	1	0	0	0	
		2	0	2	0	0	0	
	156	5	1	4	0	0	0	
		5	1	4	0	0	0	
	313	5	1	4	0	0	0	
		5	1	4	0	0	0	
	625	9	3	6	1	0	1	
		8	3	5	2	0	2	
	1250	8	2	6	1	0	1	
		7	2	5	2	0	2	
	2500	10	4	6	2	1	1	
		9	3	6	3	0	3	
	(カマイシン)	0.2	9	7	2			
			9	7	2			
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.01	21	2	19				
		20	2	18				
陽性対照 (Trp-P-1)	5				8	0	8	
					9	0	9	

* : 生育阻止帯の直径からディスクの直径(8mm)を引いた値

Trp-P-1: 3-アミノ-1,4-ジメチル-5H-ピリド[4,3-b]インドール

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

② ラットの肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成誘発性試験

(資料-22)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Crl:CD BR 系雄ラット、試験開始時約 8 週齢、体重範囲 255 - 274g

試験方法： ラットの初代培養肝細胞を用いて不定期 DNA 合成誘発性を評価した。本試験では試験 1 で 0、5、10、50、100、250、500、750、1000、2000 $\mu\text{g/mL}$ 、試験 2 で 0、5、10、50、100、250、500、750、1000、1500 $\mu\text{g/mL}$ の濃度とした。各濃度 2 枚のスライドを用い、各スライド毎に 25 個の細胞について核内粒子数、細胞質内粒子数、正味核内粒子数、修復細胞率（正味核内粒子数が 5 以上/細胞）を判定した。また、陽性対照として 2-AAF(2-アセチルアミノフルオレン) を用いた。

結果： 次頁に結果の表を示す。

試験 1 では細胞毒性は認められなかったが、5、10、50、100、250 及び 500 $\mu\text{g/mL}$ で UDS 誘発が認められた。

試験 2 では 500 $\mu\text{g/mL}$ 以上で細胞毒性が認められ、5、10、100 及び 250 $\mu\text{g/mL}$ で UDS 誘発が認められた。これらは陰性対照群と比べて正味の核上銀粒子数は有意に増加していた。また用量相関性が認められた。

750 $\mu\text{g/mL}$ 以上の濃度では、肝細胞の大部分が標識されず、培養細胞の判定はできなかった。

試験 1 では 500 $\mu\text{g/mL}$ 、試験 2 では 250、500 $\mu\text{g/mL}$ で細胞毒性により UDS 反応は低下した。

以上の結果より、本検体のラットにおける初代培養肝細胞における UDS 誘発性は陽性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

試験 1 .

投与量 (μ g/mL)	核内粒子数*	細胞質内 粒子数*	正味核内粒子数* (平均値 \pm 標準誤差)	平均正味核内粒子数** (平均値 \pm 標準誤差)
0	40.5	51.4	-10.9 \pm 2.3	-12.4 \pm 1.5
	39.1	53.0	-13.9 \pm 3.0	
5	62.9	31.5	31.4 \pm 4.3	21.2 \pm 10.2
	40.9	29.7	11.1 \pm 4.5	
10	123.6	41.8	81.9 \pm 6.5	77.8 \pm 4.0
	113.7	39.8	73.8 \pm 5.0	
50	42.8	25.0	17.8 \pm 2.8	28.1 \pm 10.2
	67.3	29.0	38.3 \pm 3.9	
100	72.3	31.7	41.2 \pm 3.0	48.8 \pm 7.7
	97.3	40.8	56.5 \pm 4.9	
250	106.8	37.1	69.7 \pm 5.3	62.5 \pm 7.2
	96.1	40.8	55.3 \pm 5.1	
500	32.8	21.6	11.2 \pm 3.1	18.2 \pm 7.1
	49.6	24.3	25.3 \pm 3.4	
2AAF (0.02)	73.3	30.1	43.2 \pm 3.6	39.8 \pm 3.4
	71.1	34.6	36.4 \pm 4.8	
2AAF (0.2)	124.0	53.9	70.1 \pm 3.9	56.6 \pm 13.5
	81.6	38.5	43.1 \pm 3.5	

2AAF: 2-アセチルアミノフルオレン

* : 培地毎

** : 処理毎

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

試験 2.

投与量 (μ g/mL)	核内粒子数*	細胞質内 粒子数*	正味核内粒子数* (平均値 \pm 標準誤差)	平均正味核内粒子数** (平均値 \pm 標準誤差)
0	32.2	45.7	-13.5 \pm 2.0	-13.3 \pm 0.2
	32.6	45.6	-13.0 \pm 2.3	
5	55.0	50.4	4.7 \pm 3.5	8.1 \pm 3.5
	44.5	32.8	11.6 \pm 3.2	
10	72.6	59.6	13.0 \pm 4.0	11.2 \pm 1.8
	52.5	43.0	9.5 \pm 3.6	
50	39.1	49.4	-10.3 \pm 2.0	-9.6 \pm 0.7
	33.0	41.9	-8.9 \pm 2.2	
100	56.6	38.5	18.0 \pm 3.5	17.8 \pm 0.2
	50.3	32.7	17.5 \pm 3.6	
250	33.9	30.2	3.7 \pm 2.2	5.7 \pm 2.0
	37.5	29.7	7.8 \pm 2.0	
500	11.1	18.3	-7.2 \pm 1.1	-6.8 \pm 0.4
	15.2	21.7	-6.4 \pm 1.4	
2AAF (0.02)	70.6	32.8	37.8 \pm 5.0	28.9 \pm 8.9
	46.5	26.4	20.1 \pm 2.2	
2AAF (0.2)	90.2	47.0	43.2 \pm 4.5	45.1 \pm 1.9
	85.9	38.9	47.0 \pm 4.0	

2AAF: 2-アセチルアミノフルオレン

*: 培地毎

**: 処理毎

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

③ ラットの肝細胞及び精母細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成誘発性試験

(資料-23)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Crl:CD Br 系ラット、1 群雄 5 匹、投与時約 64 日齢、
平均体重 313.1g(280.0 - 352.9g)

試験方法：ラットの肝細胞及び精母細胞を用いて不定期 DNA 合成(UDS)誘発性を評価した。
試験前に濃度設定のために実施した毒性についての試験 (750、1000 及び
1250mg/kg の 3 投与群を設けた) から、本試験ラットへの投与量は 0、500 及び
1000mg/kg とした。1 群雄 5 匹からなる陰性対照群、投与群のラットを肝及び精
巢細胞を採取するため投与 2~16 時間後に屠殺した。ラット 1 匹当たり 3 枚のス
ライドそれぞれについて 25 個の細胞、合計 75 個の細胞について UDS を判定し
た。また、陽性対照として DMN (ジメチルニトロソアミン) または MMS (メ
チルメタンсульフォネート) を用いた。

結果： 次頁に結果の表を示す。

検体投与群で肝細胞及び精母細胞の細胞の生存率及び UDS 反応において統計学
的に有意な増加や用量に相関した増加は認められなかった。

一方、陽性対照の DMN または MMS を投与したラットにおいては正味の核上銀
粒子数が陰性対照群と比較して、有意に高かった。

以上の結果より、本検体のラットにおける肝細胞及び精母細胞における UDS 誘発性
は陰性であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

肝細胞を用いた UDS 試験

投与量 (mg/kg) ¹⁾	屠殺時間 (時間) ²⁾	動物数	平均正味核内粒子数 /細胞±標準誤差	平均修復細胞率 ±標準誤差
0	2	4 ³⁾	-0.8 ± 0.2	5.7 ± 0.3
	16	4 ⁴⁾	-1.4 ± 0.2	2.0 ± 0.4
500	2	4 ⁴⁾	-0.6 ± 0.4	10.3 ± 2.4
	16	4 ³⁾	-0.8 ± 0.2	4.0 ± 0.5
1000	2	5	-0.4 ± 0.2	5.1 ± 1.8
	16	2 ⁶⁾	-1.2 ± 0.2	2.7 ± 0.0
DMN (10mg/kg)	2	4 ⁷⁾	16.3 ± 2.8*	91.7 ± 5.8
2AAF (50mg/kg)	16	5	12.7 ± 0.7*	88.0 ± 1.6

精母細胞を用いた UDS 試験

投与量 (mg/kg) ¹⁾	屠殺時間 (時間) ²⁾	動物数	平均正味核内粒子数 /細胞±標準誤差	平均修復細胞率 ±標準誤差
0	2	5	2.2 ± 0.3	5.3 ± 2.6
	16	5	3.0 ± 0.3	8.0 ± 1.8
500	2	5	2.8 ± 0.2	13.9 ± 1.9
	16	4 ⁵⁾	2.6 ± 0.4	4.4 ± 2.6
1000	2	5	2.5 ± 0.6	8.0 ± 3.4
	16	2 ⁶⁾	3.4 ± 0.2	8.6 ± 0.6
MMS (50mg/kg)	2	5	10.8 ± 0.7*	91.7 ± 2.5

一元配置の分散分析*: p<0.05

- 1): 単回経口投与
- 2): 投与後経過時間
- 3): この群の1例は麻酔状態にならず、それゆえ肝臓の灌流は実施されなかった。
- 4): この群1例の肝臓の灌流は実施されなかった。
- 5): 計画屠殺時以前に1例が死亡した。
- 6): 計画屠殺時以前に3匹が死亡した。
- 7): この群1例の肝細胞は生存していなかったため培養せず、残りの4例について細胞を培養して測定した。

DMN: ジメチルニトロソアミン

2AAF: 2-アセチルアミノフルオレン

MMS: メチルメタンサルフォネート

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

10. 生体機能影響

シモキサニルにおける薬理試験

(資料-24)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：

検体純度：

1) 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（5週齢）、体重25.3～30.5g、1群雄3匹

方法： 検体を0.5%トラガント溶液に懸濁して30、100、300、1000mg/kgを経口投与し、投与後0.5、1、2及び4時間目に一般症状を観察した。

結果： 300mg/kg投与群では自発運動の低下がみられた。1000mg/kg投与群では3匹のうち2匹が死亡し、1匹には反応性や体温の低下等がみられた。30及び100mg/kg投与群では変化は認められなかった。

②マウスにおける睡眠時間に及ぼす影響

供試動物： ICR系マウス（5週齢）、体重25.2～33.9g、1群雄8匹

方法： 検体を0.5%トラガント溶液に懸濁して30、100、300mg/kgを経口投与し、1時間後にヘキソバルビタール80mg/kgを腹腔内投与し、正向反射消失から回復までの時間を測定した。

結果： ヘキソバルビタールによる睡眠時間に対して、30及び100mg/kg投与群では影響はみられなかったが、300mg/kg投与群では1.5倍ほど有意に延長した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

③痙攣誘発作用

供試動物： ICR系マウス（5週齢）、体重26.7～36.3g、1群雄10匹

方法： 検体を0.5%トラガント溶液に懸濁して30、100、300mg/kgを経口投与し、1時間後に角膜に電気刺激を与え強直性屈曲(TF)、強直性伸展(TE)及び間代性(CL)の各痙攣及び昏睡(CO)の発現の有無を観察した。陽性対照群にはペンチレンテトラゾール40mg/kgを皮下投与した。

結果： 30mg/kgでは痙攣症状は認められなかった。100mg/kgではTF及びTEが2/10例に、及びCLが4/10例に認められた。300mg/kgではTF、TE及びCOが4/10例に、またCLが6/10に認められた。なお、CLの出現率には有意差が認められた。

④正常体温に及ぼす影響

供試動物： Wistar系ラット（5週齢）、体重雄145～172g、1群雄6匹

方法： 検体を0.5%トラガント溶液に懸濁して30、100、300mg/kgを経口投与した。体温は被験物質の経口投与前、及び投与後0.5、1、2及び4時間に直腸温を測定した。

結果： 体温に対する影響はみられなかった。

2) 呼吸、循環器系に対する影響

①ウサギの呼吸、血圧、心拍数及び心電図に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ（14週齢）、体重2.8～3.1kg、1群雄4匹

方法： 検体をDMSOに溶解して0.1、1、10mg/kgを静脈内投与し、血圧、心拍数、呼吸数、呼吸流量及び心電図を測定した。

結果： 10mg/kg投与群では投与直後より血圧は有意に低下し、呼吸数及び呼吸流量は有意に増加した。その他の検体投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

3) 自律神経系に対する影響

①摘出モルモット回腸に対する影響

供試動物： Hartley系モルモット（7週齢）、体重458～507g、1群雄4匹

方法： 検体をDMSOに溶解して 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} g/mLを摘出回腸に添加し、収縮を測定した。

結果： 検体投与に起因すると思われる影響は認められなかった。

4) 消化器系に対する影響

①マウス腸管輸送能に対する影響

供試動物： ICR系マウス（5週齢）、体重22.3～27.0g、1群雄8匹

方法： 検体を0.5%トラガント溶液に懸濁して30、100、300mg/kgを経口投与した後、5%炭末液を経口投与し、その移行率から腸管輸送能を測定した。

結果： 30及び100mg/kg投与群では影響はみられなかった。300mg/kgでは投与後1時間以内に8例中2例が死亡した。また、生存した6例の腸管輸送能は対照群に比べて28.4%と有意に低下した。

5) 骨格筋に対する影響

①ラット横隔膜神経節標本に対する影響

供試動物： Wistar系ラット（9週齢）、体重雄316～359g、1群雄4匹

方法： ラットの横隔膜を横隔膜神経と共に摘出し、DMSOに溶解した検体を 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} mg/mL添加した。

結果： 骨格筋に対し何ら作用を示さなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

6) 血液に対する影響

①血液凝固に対する影響

供試動物： Wistar系ラット（5週齢）、体重雄150～173g、1群雄6匹

方法： 検体を0.5%トラガント溶液に懸濁して30、100、300mg/kgを経口投与し、1時間後に採血した。採血した血液を遠心分離し血漿を得た。血漿を用いてプロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結果： シモキサニルは活性化部分トロンボプラスチン時間に対しては影響を及ぼさなかった。しかし、プロトロンビン時間においては対照群に比べ300mg/kg群では0.7秒と有意に延長した。

以上の結果から、シモキサニルの経口投与において、300mg/kgで睡眠増強作用、痙攣誘発作用、腸管輸送能の抑制作用、及び血液凝固時間（プロトロンビン時間）のごく軽度な遅延作用などが発現することが明らかになった。静脈内投与では1mg/kg以下では循環動態に影響がなく、10mg/kgで血圧の低下、あるいは呼吸を亢進させることが明らかになった。

また、*in vitro*試験からアセチルコリン及びヒスタミン受容体に影響せず、直接的な平滑筋に対する作用も有していないことが判明した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

生体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)	試験経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 / 1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)	経口 (トラガン ト溶液)	30、100、 300、1000	♂: 3	300	100	30mg/kg: 影響なし 100mg/kg: 影響なし 300mg/kg: 反応性、自発運動の低下 1000mg/kg: 警戒性、位置、視覚、 受動性等の低下、 体温の低下、2/3 死亡例
●ヘキソバル ピタール睡眠 (マウス)		30、100、 300	♂: 8	300	100	30mg/kg: 影響なし 100mg/kg: 影響なし 300mg/kg: 睡眠時間の有意な延長
●痙攣誘発 痙攣、昏睡 (マウス)		30、100、 300	♂: 10	100	30	30mg/kg: 影響なし 100mg/kg: 強直性屈曲、 強直性伸展間代性 300mg/kg: 強直性屈曲、 強直性伸展間代性、昏睡
●正常体温 直腸温 (ラット)		30、100、 300	♂: 6	—	300	30mg/kg: 影響なし 100mg/kg: 影響なし 300mg/kg: 影響なし
呼吸・循環器系 呼吸数・血圧・ 心拍数・心電図 (ウサギ)	静脈内 (DMSO)	0.1、1、10	♂: 4	10	1	0.1mg/kg: 影響なし 1mg/kg: 影響なし 10mg/kg: 血圧低下、呼吸数増加、 呼吸流量増加
自律神経系 回腸の収縮 (モルモット)	<i>in vitro</i> (DMSO)	10 ⁻⁶ 、10 ⁻⁵ 、 10 ⁻⁴ (g/mL)	♂: 4	—	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁴ g/mL 抗アセチルコリン作用: 作用なし 抗ヒスタミン作用: 作用なし 抗塩化バリウム作用: 作用なし
消化器系 腸管輸送能 (マウス)	経口 (トラガン ト溶液)	30、100、 300	♂: 8	300	100	30mg/kg: 影響なし 100mg/kg: 影響なし 300mg/kg: 腸管輸送能低下、 2/8 死亡
骨格筋 横隔膜神経節 (ラット)	<i>in vitro</i> (DMSO)	10 ⁻⁶ 、10 ⁻⁵ 、 10 ⁻⁴ (g/mL)	♂: 4	—	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁴ g/mL 神経刺激反応: 影響なし 筋刺激反応: 影響なし
血液 血液凝固能 (ラット)	経口 (トラガン ト溶液)	30、100、 300	♂: 6	300	100	30mg/kg: 影響なし 100mg/kg: 影響なし 300mg/kg: トロンボプラスチン時 間影響なし。プロトロン ビン時間延長

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

11. その他

(1) ラットを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口免疫毒性試験

(資料 T-1)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

(2) マウスを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口免疫毒性試験

(資料 T-2)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

(3) 妊娠ラットを用いた発達神経毒性試験

(資料 T-3)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

2) 製剤

1. 急性毒性

(1) 急性経口毒性

① ラットにおける急性経口毒性試験

(製剤資料-8)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度： DPX-KX007-5 WDG 製剤

ファモキサドン	22.7%
シモキサニル	30.4%
その他成分	46.9%
計	100.0%

供試動物： Crl:CD®BR 系ラット、雄 7 週齢、雌 8 週齢、体重範囲：雄 198.9~235.2g、雌 177.6~200.9g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を脱イオン水に懸濁して経口投与した。投与前に約 18~19 時間絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄：500、1000、2000
LD50(mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄：1333 (984~1915)
死亡開始時間及び終了時間	投与後 1 日目から開始 投与後 2 日目に終了
症状発現時間及び消失時間	投与当日から開始 投与後 9 日目に終了
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雄：1000 雌：500

中毒症状としては、屈曲位、嗜眠、立毛、脱毛、運動失調、虚脱姿勢、低体位及び低歩行姿勢などが認められた。

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

② マウスにおける急性経口毒性試験

(製剤資料-9)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度： DPX-KX007-5 WDG 製剤

ファモキサドン	22.7%
シモキサニル	30.4%
その他成分	46.9%
計	100.0%

供試動物： Crl:CD-1[®](ICR)BR系マウス、雄 55～58 日齢、雌 69～72 日齢、
体重範囲：雄 28.1～34.5g、雌 23.0～27.1g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を脱イオン水に懸濁して経口投与した。投与前に約 4 時間絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。途中死亡または試験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。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雄：1000、2500、5000 雌：500、2500、5000
LD50(mg/kg)	雄：855 雌：673
死亡開始時間及び終了時間	投与当日から開始 投与後 7 日目に終了
症状発現時間及び消失時間	投与当日から開始 投与後 15 日目まで持続

中毒症状としては、嗜眠、虚脱姿勢、眼の褐色分泌物、衰弱、瀕死状態、会陰部被毛の湿りや汚れ、不規則呼吸、角膜混濁、歩行異常、両眼閉鎖などが認められた。

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

(2) 急性経皮毒性

ウサギにおける急性経皮毒性試験

(製剤資料-10)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度： DPX-KX007-5 WDG 製剤

ファモキサドン	22.7%
シモキサニル	30.4%
その他成分	46.9%
計	100.0%

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ、体重範囲：雄 2002.8～2269.7g、
雌 2079.9～2530.3g、1群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 検体を脱イオン水に湿らせて背部に 24 時間塗布した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄：5000
LD50 (mg/kg)	雌雄：>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	投与後 2 日目から発現 投与後 15 日目まで持続
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雌雄：5000

中毒症状は特に認められなかった。

投与 2 日目に、投与部位の皮膚で軽度から中等度の発赤及び軽度から中等度の浮腫が認められたものの、投与 10 日後には消失した。刺激性変化及びその他の異常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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

2. 皮膚及び眼に対する刺激性

① ウサギにおける皮膚刺激性試験

(製剤資料-12)

試験機関:

報告書番号:

報告書作成年: [GLP 対応]

検体純度: DPX-KX007-5 WDG 製剤

ファモキサドン	22.7%
シモキサニル	30.4%
その他成分	46.9%
計	100.0%

供試動物: ニュージーランド白色種ウサギ、体重範囲:2258~2595g、1群雌6匹

観察期間: 72時間

投与方法: 検体 0.5g を脱イオン水で湿らせ、刈毛した動物の背中²の皮膚(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石けん及び温水を用いて拭き取った。刺激性の判定は EEC(Directive 93/21)及び米国 EPA(PB88-161179;40 CFR Part 156.10)に基づき行った。

試験項目: 塗布終了1、24、48、72時間後に塗布部位の刺激性変化(紅斑、浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の評点は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投 与 後 時 間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅 斑	4	1.67	0.83	0.33	0.17
浮 腫	4	0.50	0	0	0
合 計	8	2.17	0.83	0.33	0.17
P.I.I. ¹⁾		0.88			

注) 表の点数は6匹の平均値である。

P.I.I.¹⁾: Primary Irritation Index

塗布1時間後に紅斑と浮腫が認められ、72時間後には1匹で非常に軽度の紅斑が認められたが、残りの5匹では紅斑は消失した。

EECの基準では検体は「刺激性なし」に、またP.I.I.に基づくEPAの基準ではカ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

テゴリーIV「軽度」に分類される。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対してごく軽度または軽度の刺激性を有するものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

② ウサギにおける眼刺激性試験

(製剤資料-11)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度： DPX-KX007-5 WDG 製剤

ファモキサドン	22.7%
シモキサニル	30.4%
その他成分	46.9%
計	100.0%

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ、体重範囲:2360~2758g、1 群雄 6 匹

観察期間： 72 時間観察

投与方法： 検体約 57mg(0.1mL に相当)を右眼結膜嚢に投与した。右眼は洗眼しなかった。

観察項目： 投与 1、24、48 及び 72 時間後に、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

刺激性の判定は EEC(Directive 93/21)及び米国 EPA(PB89-124572;40 CFR Part 162)に基づき行った。

結果： 観察した刺激性変化の採点は次頁に示す。

全動物の処置眼で角膜混濁、虹彩炎、結膜の発赤、浮腫及び分泌物が投与 1 時間後に認められた。

しかし、これらの変化は投与 72 時間後には消失した。EEC の基準では「刺激性なし」に、また米国 EPA の基準ではカテゴリー III 「角膜に対する影響または刺激が 7 日以内に消失する」に分類される。

以上の結果から、本検体はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性を有するものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

項 目			最高 評点	投与後時間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜 混濁	程 度	4	1.0	0	0	0
		面 積	4	4.0	0	0	0
	虹 彩		2	1.0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	2.0	1.17	0.50	0
		浮 腫	4	2.0	0.67	0	0
		分泌物	3	2.16	0	0	0
	合 計*			110	37.32	3.68	1.0

* : Draize 法による評価点 (最高 110 点)