

(12) 繁殖毒性および催奇形性

1) ジクワットジプロミドのラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No.T-29)

試験機関:

報告書作成年: 1990年

報告書番号:

検体純度:

供試動物: Wistar系ラット (Alpk:APfSD)、1群雌雄各30匹、投与開始時4週齢

投与期間: P世代; 交配の12週間前からF₁児離乳時までの約24週間、F₁世代; 生後36日からF₂児離乳時までの約21週間 (1987年12月7日~1988年10月)

投与方法: 検体をジクワットイオンとしてP世代では0、16、80および400ppm含有した飼料を自由に摂食させた。F₁世代では400ppmを投与した親動物に口の炎症性変化(口蓋および舌の潰瘍形成)、白内障、立毛および身づくろいの欠如といった有害影響が発現したため、選抜から約4週間後の9週齢から240ppmに減量し、0、16、80および240ppm含有した飼料を自由に摂食させた。

用量設定根拠:

交配・調整・選抜および観察・検査項目: 概要を次頁の表にまとめた。

一般状態および死亡; 全ての親動物について、一般状態および行動の異常を毎日観察し、体重測定時には詳細な検査を行った。また、F₁親動物については、選抜の約4週間後から毎週、口腔内を観察した。

児動物については、死亡および一般状態の異常を毎日観察し、生後1、5、11、16、22、29および36日には生存児数および死亡児数を算定し、性別を記録した。また、F₂児動物の対照群および400/240ppm群の各5腹の全児動物を対象に、生後11、16、22、29および36日に口腔の検査を行った。

体重および摂餌量; 交配前期間中は、すべての親動物の体重を週1回の頻度で測定した。雌については妊娠1、8、15および22日、哺育1、5、11、16および22日に体重を測定した。また、試験終了時にすべての動物の体重を測定した。摂餌量は、交配前期間中には全動物について週1回の頻度で測定し、妊娠中および哺育中の雌動物については週

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

1回の頻度で測定した。

児動物の体重は生後1、5、11、16、22、29および36日に個体別に測定した。

眼科学的検査；P世代については、投与12週目には対照群および400 ppm群の全例の眼を、試験終了前には全例の眼をそれぞれ検査した。F₁世代親動物については、選抜から約4週間後、交配前期間終了時および試験期間終了前に全例の眼を検査した。

交配および妊娠の確認；雌を同群の雄と1対1で同居させて交配を行い、膣垢中に精子が確認された場合に交尾成立と判断し、妊娠1日とした。21日間同居させても交尾が確認できなかった場合は同じ群の別の雄と同居させた。

試験の概要

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (12 週間)		一般状態の観察を毎日 体重、摂餌量を週 1 回測定
	交配 (最長 3 週間)	雌雄 1 対 1 で交配。膣垢中の精子で交尾確認 (妊娠 1 日)	交配状況の観察 交尾成立までの日数を記録、交尾率を算出
	妊娠 (3 週間)		妊娠 1、8、15 および 22 日に体重測定 摂餌量を週 1 回測定
	出産		妊娠期間、産児数 (生存および死亡) を記録、受胎率、出産率を算出 雄親動物の肉眼的病理検査、病理組織学的検査
	哺育 (3 週間)	雄親動物の屠殺	母動物；哺育 1、5、11、16 および 22 日に体重測定、摂餌量を週 1 回測定 児動物；毎日生死を確認 生後 1、5、11、16、22、29 および 36 日に体重測定
F ₁	離乳	雌親動物の屠殺 生後 36 日 F ₁ 離乳児から継代用の各群雄 30 匹雌 30 匹を無作為に選抜 次世代親動物に選抜されなかった F ₁ 児の屠殺	雌親動物の肉眼的病理検査、臓器重量、病理組織学的検査 次世代親動物に選抜されなかった F ₁ 児から各群雌雄各 5 匹を無作為に選抜して肉眼的病理検査、臓器重量、病理組織学的検査 残りの F ₁ 児の肉眼的病理検査
	生育 (11 週間)		一般状態の観察を毎日 体重、摂餌量を週 1 回測定 選抜後 4 週目より口腔内観察を毎週 (P 世代に準ずる)
	交配 (最長 3 週間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週間)		(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
F ₂	哺育 (3 週)	(P 世代に準ずる)	母動物；哺育 1、5、11、16 および 22 日に体重測定、摂餌量を週 1 回測定 児動物；毎日生死を確認 生後 1、5、11、16、22、29 および 36 日に体重測定 対照群と 240 ppm 群の各 5 腹の児動物について、生後 11、16、22、29 および 36 日に口腔検査
	離乳	F ₁ 世代親動物の屠殺 生後 36 日に F ₂ 離乳児の屠殺	雌親動物の肉眼的病理検査、臓器重量、病理組織学的検査 F ₂ 児から各群雌雄各 10 匹を無作為に選抜して肉眼的病理検査、臓器重量、病理組織学的検査 残りの F ₂ 児の肉眼的病理検査

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

交尾成立までの日数；同居開始から交尾成立日 (妊娠 1 日) までの期間

妊娠期間；妊娠 1 日から出産日までの日数

雄授胎率 (%) = (妊娠させた雄動物数 / 交尾成立雄動物数) × 100

雌授胎率 (%) = (妊娠雌動物数 / 交尾成立雌動物数) × 100

生存産児率 (%) = (出産生児数 / (出産生児数 + 死産児数)) × 100

離乳率 (%) = (生後 22 日生存児数 / 出産生児数) × 100

性比 = (雄出産生児数 / 全出産生児数) × 100

病理学的検査；雄親動物は児動物が得られた後、雌親動物については児動物の離乳後に屠殺して、全動物について肉眼的病理検査を行い、腎臓および精巣重量を測定した。病理組織学的検査は全群の肉眼的異常組織および舌、対照群と最高用量群の眼および腎臓についてヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、行った。また、F₁ 世代の全ての親動物について硬口蓋の病理組織学的検査を行った。

継代用には選抜されなかった F₁ 児動物および F₂ 児動物は生後 36 日またはその直後に屠殺し、F₁ 児動物から各群雌雄各 5 匹および F₂ 児動物から各群雌雄各 10 匹を無作為に選抜して肉眼的病理検査を行い、両世代とも各群雌雄各約 10 匹を対象として腎臓および精巣重量を測定した。肉眼的病理検査は 18 日齢以上の途中死亡または切迫屠殺した児動物についても行った。また、これら以外の重大な一般状態の異常が認められる児動物、ならびに一般状態の異常がみられない各腹雌雄各 2 匹の児動物についても肉眼的病理検査を行った。病理組織学的検査は、途中死亡または切迫屠殺した 18 日齢以上の全児動物の肉眼的異常組織、眼、腎臓、舌、硬口蓋および生殖器官、肉眼的病理検査を行った対照群と最高用量群の肉眼的異常組織、眼、腎臓、舌および硬口蓋、16 および 80 ppm 群の F₁ 児動物の肉眼的異常組織、舌および硬口蓋、ならびにこれら以外の肉眼的病理検査を行ったすべての児動物の肉眼的異常組織について行った。

結 果：概要を表 1 に示した。

親動物；

一般状態および死亡；検体投与に起因する死亡は認められなかった。検体投与に関連した症状として、P 世代の 400 ppm 群のほとんどの動物で眼球の不透明化（投与 12～23 週）が観察された。400/240 ppm を投与した F₁ 世代の動物における眼球不透明化の発現頻度は雌では P 世代とほぼ同じであったが、雄では P 世代よりもわずかに高かった（投与 10～23 週）。また、着色尿が P 世代の 400 ppm 群雄（投与 1～20 週）に、口蓋および舌の潰瘍形成が F₁ 世代の 400/240 ppm 群雌雄（投与 4～23 週）に、立毛が P 世代の 400 ppm 群雌雄（投与 4～20 週）に、身繕いの欠如が P 世代の 400 ppm 群雄（投与 6～20 週）および F₁ 世代の 400/240 ppm 群雌雄（投与 3～20 週）にそれぞれ認められた。舌の潰瘍形成は F₁ 世代の 80 ppm 群でも 1 例に投与 19～22 週目にのみ観察された。

体重変化；P 世代の 400 ppm 群雌雄で体重増加量が減少し、交配前期間終了までの体重増加量は対照群と比べて雄で 15%、雌で 10% 低かった。F₁ 世代では 400 ppm から 240 ppm に減量後の体重増加は対照群とほぼ同じであったが、交配前期間終了時の体重はまだ

対照群よりも低値であった。妊娠中の体重および体重増加量は P 世代の 400 ppm 群では対照群よりも低かったが、F₁ 世代の 400/240 ppm 群では体重増加量に差はなかった。哺育期間中の体重および体重増加量は P 世代および F₁ 世代の 400/240 ppm 群で対照群よりも低かった。

P 世代の 80 ppm 群雌では、投与 1 週目の体重増加量が対照群に比べて有意に減少したが、一過性であり、生育期間全体の体重増加量は対照群と差がなかったことから、検体投与に関連しないと考えられた。

摂餌量および食餌効率；交配前期間の摂餌量は P 世代の 400 ppm 群雌雄では対照群よりも少なく、投与初期には特に少なかった。F₁ 世代では選抜後 3/4 週目までは顕著に低かったが、用量を減量すると対照群よりもわずかに低いだけとなった。交配前期間の食餌効率に有害影響はみられなかった。妊娠中および哺育期間中の摂餌量は P 世代の 400 ppm 群では対照群よりも少なかったが、F₁ 世代では変化はみられなかった。

F₁ 世代の 400/240 ppm 群雌では投与 10 週目の摂餌量が対照群に比べて有意に減少したが、一過性であり、検体投与に関連しないと考えられた。

眼科学的検査；P 世代では交配前期間終了時に 400 ppm 群の雌雄で対照群よりも高頻度で部分白内障がみられ、少数では全白内障がみられた。試験期間終了前には、全白内障がみられる動物が増え、400 ppm 群の全例で白内障がみられた。F₁ 世代では、選抜から 4 週間後に 400/240 ppm 群の雌雄で部分白内障の発現頻度が増加し、交配前期間終了時にはさらに発現頻度が増加し、程度も進行した。試験期間終了前には、さらに病変は進行し、400/240 ppm 群の雌雄のほとんどで全白内障がみられ、雌雄とも多くの動物で虹彩炎が認められた。また、80 ppm 群の雌で部分白内障の頻度が対照群よりもわずかに高かった。16 ppm 群の雌雄各 1 例に部分白内障がみられたが、対照群でも同様の発現頻度であり、毒性学的意義がないと考えられた。

臓器重量；P 世代の 400 ppm 群雌雄では、腎臓の絶対重量が対照群よりもわずかに低かったが、体重で補正した値では変化は明らかでなく、体重の低値による二次的变化と考えられた。F₁ 世代の 400/240 ppm 群でも同様の変化が認められた。

肉眼的病理検査；P 世代では 400 ppm 群の雄 20 例雌 26 例に眼球の不透明化が観察され、舌の潰瘍形成が 400 ppm 群の雄 13 例雌 25 例、80 ppm 群の雌 1 例に認められた。その他には、盲腸大型化が 400 ppm 群の雄 1 例雌 4 例、80 ppm 群の雌 1 例に認められた。F₁ 世代では、400/240 ppm 群の雌雄各 27 例に眼球の不透明化が観察された。400/240 ppm 群での硬口蓋の潰瘍形成の発現頻度は F₁ 児動物よりも低かったが、治癒した潰瘍を示唆する口蓋縫線の欠損が多数例に観察された。舌の潰瘍形成は 400/240 ppm 群の雌 12 例および 80 ppm 群の雌 1 例に認められたが、雄では認められなかった。

病理組織学的検査；P 世代では 400 ppm 群の全例で両側性白内障が認められ、その多くで眼球

の二次的变化がみられた。400 ppm 群の雄 7 例雌 25 例では舌の潰瘍形成が組織学的に確認され、別の雄 8 例では潰瘍形成後の治癒に特徴的な変化が認められた。また、80 ppm 群の雌 1 例でも舌の軽度潰瘍形成がみられた。F₁ 世代でも 400/240 ppm 群で白内障が観察され、その発現頻度および程度は P 世代とほぼ同じであった。400/240 ppm 群の雄 5 例雌 2 例では硬口蓋の潰瘍形成が組織学的に確認され、同群の多数例では口蓋の上皮乳頭および乳頭間隆起の正常配列欠如といった治癒した潰瘍に特徴的な変化が認められた。また、舌の潰瘍形成は組織学的に観察されなかったが、400/240 ppm 群の雄 2 例雌 11 例および 80 ppm 群の雌 1 例に潰瘍形成後の治癒に特徴的な変化が認められた。400/240 ppm 群の雌雄では、腎臓の集合管上皮細胞の軽微な肥大および過形成ならびに乳頭管の軽微または軽度の拡張の発現頻度が軽度に増加した。

繁殖性；交尾成立までの日数、妊娠期間、雄授胎率、雌受胎率、生存産児率および離乳率に検体投与の影響はみられなかった。F₁ 児の生存児数が 400/240ppm 群で 400 ppm 投与時にわずかに減少したが、240 ppm に減量した F₂ 児動物では同様の影響はみられなかった。16 ppm 群で F₂ 児の生存児数が軽度に増加したが、より高用量で同様の影響がないことから、検体投与に関連しないと考えられた。

児動物；

一般状態；400 ppm 群の F₁ 児動物および 400/240 ppm 群の F₂ 児動物において尿失禁の徴候の発現頻度が高く、400 ppm 群の F₁ 児動物では腹部膨満および立毛の発現頻度が増加した。

体重変化；児動物の体重増加量は両世代の最高用量群で低かった。80 ppm 群の F₁ 児動物の体重増加量がわずかに低値であったが、F₂ 児動物では同様に変化はないことから、検体投与に関連しないと考えられた。

臓器重量；400 ppm 群の F₁ 児動物では、腎臓の絶対重量が対照群よりもわずかに低かったが、体重で補正した値では変化は明らかでなく、体重の低値による二次的变化と考えられた。また、400/240 ppm 群の F₂ 児動物では同様の変化は認められなかったことから、80 ppm 群の F₂ 雄児動物にみられた腎臓重量の有意な増加は偶発的なものと考えられた。

肉眼的病理検査；F₁ 児動物では、400/240ppm 群の雄 56 例中 22 例、雌 51 例中 19 例で硬口蓋の潰瘍形成が観察された。また、盲腸拡張および腎臓肥大が 400/240ppm 群の雌雄に認められた。F₂ 児動物では、400/240ppm 群の雌雄に盲腸拡張が認められたが、舌および硬口蓋の潰瘍形成はみられなかった。

病理組織学的検査；F₁ 児動物では、400/240ppm 群の雄 21 例雌 19 例で硬口蓋の中等度または高度の潰瘍形成が確認された。また、泌尿器系にいくつかの変化が観察され、これは 400/240ppm 群の 400ppm 投与時のみにみられたか、または 400ppm 投与時の発現頻度

がわずかに高かった。F₂児動物では口腔の病変は観察されなかったが、泌尿器系病変の総発現率は400/240 ppm 群でわずかに高かった。

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、400/240 ppm 群の親動物および児動物に体重増加抑制が観察され、毒性徴候として口腔の炎症性病変、親動物における白内障、立毛および身繕い欠如、ならびに児動物における泌尿器系の病理組織学的変化の発現頻度増加が認められた。80 ppm 群ではF₁世代雌で部分白内障の発現頻度がわずかに増加し、口腔の病変が両世代の親動物で認められた。また、400 ppm 群ではF₁児の生存児数がわずかに減少したが、400/240 ppm 群のF₂児動物では同様の変化はみられなかった。

したがって、無毒性量は親動物および児動物に対して16 ppm (P:雄1.5 mg/kg/日、雌1.6 mg/kg/日、F₁:雄1.4 mg/kg/日、雌1.6 mg/kg/日)、繁殖性については240 ppm (F₁:雄24.0 mg/kg/日、雌31.2 mg/kg/日)と判断される。

表 1 結果概要

世代		親 : P		児 : F ₁		親 : F ₁		児 : F ₂		
投与量 (ppm)		0	16	80	400	0	16	80	400/240	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
死亡	雄	0	0	0	0	0	0	0	1 ^{b)}	
	雌	0	1 ^{a)}	0	0	1 ^{c)}	1 ^{d)}	0	2 ^{e)}	
一般状態 ^{d)} :										
	眼球不透明	0/0	0/0	0/0	20/27	0/0	0/0	0/0	27/28	
	着色尿	0/0	0/0	1/0	10/0	0/0	0/0	1/0	0/0	
	口蓋潰瘍形成	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	19/18	
	舌潰瘍形成	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	2/20	
	立毛	0/0	0/0	0/0	17/5	0/0	0/0	0/0	3/1	
	身繕い欠如	0/0	0/0	0/0	10/0	0/0	0/0	0/0	21/9	
親動物	体重増加量	雄 生育期	—	有意差なし	有意差なし	↓: 投与1~12週	—	有意差なし	有意差なし	↓: 投与1~7週 ↓: 投与8週
		雌 生育期	—	有意差なし	↓: 投与1週	↓: 投与1~12週	—	有意差なし	有意差なし	↓: 投与1、2週 ↑: 投与7~12週 ↑: 投与5、6週
		妊娠中	—	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠8~22日	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし
		哺育期	—	有意差なし	有意差なし	↓: 哺育16、22日 ↓: 哺育11日	—	有意差なし	有意差なし	↓: 哺育16、22日 ↓: 哺育11日
摂餌量	雄 生育期	—	有意差なし	有意差なし	↓: 投与1~12週	—	有意差なし	有意差なし	↓: 投与1~4、7、8週 ↓: 投与5、6、9、10週	
	雌 生育期	—	有意差なし	有意差なし	↓: 投与1~11週	—	有意差なし	↓: 投与10週	↓: 投与1~3、7週 ↓: 投与8~10週	
	妊娠中	—	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠1~3週	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	哺育期	—	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠2、3週	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	

太枠は検体の投与による影響であることを示す。 — : 対照群

- a) 切迫屠殺した。病理組織学的検査の結果、悪性リンパ腫であった。
- b) 咬合異状のため投与9週目に死亡した。
- c) 投与3週目に死亡 (膀胱炎)。
- d) 出産しなかったため屠殺した。子宮頸が閉塞していた。
- e) 1例は投与6週目に死亡 (片側性水腎症)。他の1例は臍閉鎖で交配できなかったため屠殺。
- f) 表中の数値は所見がみられた雄動物数/雌動物数を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

Student の t 検定 : 体重増加量、摂餌量

(つづく)

表 1 結果概要 (つづき)

世代		親 : P				親 : F ₁				親 : F ₁				児 : F ₂					
投与量 (ppm)		0	16	80	400	0	16	80	400	0	16	80	400	0	16	80	400/240		
生育期 食餌効率	雄	—	有意差 なし	有意差 なし	↑ : 投与 9-12 週	—	有意差 なし	有意差 なし	有意差 なし	—	有意差 なし	有意差 なし	有意差 なし	↑ : 投与 1-4, 5-8 週	↑ : 投与 9-11 週				
	雌	—	有意差 なし	有意差 なし	有意差 なし	—	有意差 なし	有意差 なし	有意差 なし	—	有意差 なし	有意差 なし	有意差 なし	↑ : 投与 1-4, 5-8 週					
検体摂取量 ^{g)} (mg/kg/日)		雄	—	1.5	7.2	35.8	—	1.4	7.2	24.0	雌	—	1.6	7.9	38.3	—	1.6	8.0	31.2
親動物	眼科学的検査 ^{d)}	投与 4 週目 ;																	
		部分白内障						0/0				0/0							
		交配前期終了時 ;																	
		部分白内障		1/0				16/22				0/1							
		全白内障		0/0				2/4				0/0							
	虹彩炎		0/0				0/0				0/0								
	試験終了時 ;																		
	部分白内障		1/0				0/0				1/0								
	全白内障		0/0				0/0				0/0								
	虹彩炎		0/0				0/0				0/0								
臓器重量 (g)	雄 腎臓	絶対	3.37	3.43	3.43	↓ 3.22	3.41	3.38	3.38	3.28	補正重量 ^{h)}	3.33	3.35	3.37	3.41	3.36	3.30	3.38	3.42
		補正重量 ^{h)}	3.33	3.35	3.37	3.41	3.36	3.30	3.38	3.42									
	雌 腎臓	絶対	2.34	2.37	2.35	↓ 2.05	2.15	2.14	2.12	2.02	補正重量 ^{h)}	2.28	2.29	2.25	2.26	2.10	2.13	2.12	2.08
		補正重量 ^{h)}	2.28	2.29	2.25	2.26	2.10	2.13	2.12	2.08									
肉眼的病理検査 ^{d)} :																			
盲腸 ; 大型化		0/0				0/0				0/0									
眼球 ; 不透明		0/0				0/0				20/26									
舌 ; 潰瘍形成		0/0				0/0				0/1									
硬口蓋 ; 潰瘍形成		0/0				0/0				0/0									
縫線欠損		0/0				0/0				0/0									
病理組織学的検査 ^{d)} :																			
眼球 ; 白内障		0/0				0/0				30/30									
網膜剥離		0/2				0/0				9/6									
網膜変性		0/0				0/0				2/3									
硝子体癒着		0/0				0/0				11/8									
虹彩後癒着		0/0				0/0				3/5									
水晶体原性炎症		0/0				0/0				6/6									
腎臓 ; 集合管上皮肥大 ／過形成		1/0				0/0				0/1									
乳頭管拡張		1/5				0/0				3/1									

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

— : 対照群

f) 表中の数値は所見がみられた雄動物数/雌動物数を示す。

g) 検体の設定飼料中濃度、各週の群平均体重および群平均摂取量から申請者が算出した。

h) 最終体重で補正した重量

対照群との有意差の検定 (↑↓ : p < 0.05, ↑↓ : p < 0.01)

Student の t 検定 : 食餌効率、臓器重量

(つづく)

表1 つづき

世代		親：P				親：F ₁				
投与量 (ppm)		0	16	80	400	0	16	80	400/240	
親動物	病理組織学的検査 ^{f)} ：									
	硬口蓋； 潰瘍形成	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	5/2	
	乳頭/乳頭間隆起 の正常配列欠如	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	9/14	
	表皮肥厚	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	6/3	
	角化亢進	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0	
	肉芽腫性炎症	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	
	混合型炎症細胞浸潤	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	
	舌； 潰瘍形成	0/0	0/0	0/1	7/25	0/0	0/0	0/0	0/0	
	乳頭/乳頭間隆起 の正常配列欠如	0/0	0/0	0/0	5/0	0/0	0/0	0/1	1/11	
	膿瘍形成	0/0	0/0	0/0	4/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
	表皮肥厚	0/0	0/0	0/0	3/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
	肉芽腫性炎症	0/0	0/0	0/0	2/1	0/0	0/0	0/0	0/0	
	混合型炎症細胞浸潤	0/0	0/0	0/0	2/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
	交尾成立までの日数	3.10	2.35	2.52	3.19	3.50	3.10	2.56	2.76	
妊娠期間	22.2	22.0	22.0	22.1	22.0	22.0	22.1	22.0		
雄授胎率	93	82	97	87	93	93	93	96		
雌受胎率	100	100	100	100	97	97	100	100		
児動物	平均生存産児数	10.8	10.5	11.2	9.4	10.6	11.1	10.8	10.5	
	平均死産児数	0.13	0.36	0.17	0.27	0.46	0.46	0.37	0.43	
	性比 (%)	50	57	53	53	50	51	52	52	
	生存産児率 (%)	98.6	97.0	98.7	96.8	96.4	95.5	97.0	95.6	
	離乳率 (%)	91.1	90.3	91.3	90.2	83.0	94.0	86.9	88.3	
	生存児数 ^{h)}	生後1日	10.8	10.6	11.0	↓9.2	10.5	11.1	10.7	10.8
		生後5日	9.9	9.7	10.1	↓8.4	9.0	↑10.7	9.4	9.5
		生後11日	9.8	9.6	10.0	8.3	8.8	↑10.6	9.2	9.4
		生後16日	9.8	9.6	10.0	↓8.3	8.8	↑10.5	9.2	9.4
		生後22日	9.8	9.6	10.0	↓8.2	8.8	↑10.5	9.2	9.4
		生後29日	9.6	9.5	9.9	↓8.1	8.8	↑10.4	9.2	9.3
生後36日		9.6	9.5	9.9	↓8.1	8.8	↑10.4	9.2	9.3	
一般状態 ⁱ⁾ ：										
尿失禁	1	1	1	6	0	0	1	2		
腹部膨満	0	0	0	4	0	0	0	0		
立毛	1	0	0	3	0	0	0	0		

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

—：対照群

f) 表中の数値は所見がみられた雄動物数/雌動物数を示す。

h) 途中死亡および全児死亡の母動物を除く。

i) 表中の数値は所見がみられた児動物を有する腹数を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01)

Student の t 検定：生存児数

Fisher の直接検定：授胎率、受胎率、生存産児率、離乳率

(つづく)

表1 つづき

世代			親：P				親：F ₁				親：F ₁				児：F ₂				
投与量 (ppm)			0		16		80		400		0		16		80		400/240		
児動物	体重 (g)	生後 1 日	雄	6.1	6.1	5.9	5.9	6.1	6.0	6.0	6.1	6.1	6.0	6.0	6.0	6.1	6.1	6.1	
			雌	5.7	5.7	5.6	5.6	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.8	5.8	
		生後 36 日	雄	125.5	125.5	↓ 116.9	↓ 74.5	136.1	↓ 128.4	134.7	↓ 117.9	119.1	114.1	117.6	↓ 106.2	117.9	↓ 117.9	↓ 106.2	↓ 106.2
			雌	111.1	110.4	104.5	↓ 71.6	119.1	114.1	117.6	↓ 106.2	119.1	114.1	117.6	↓ 106.2	117.9	↓ 117.9	↓ 106.2	↓ 106.2
	体重増加量 (g)	生後 1-5 日	雄	2.8	3.0	2.7	3.1	3.0	3.1	3.2	3.1	3.0	3.0	3.1	3.2	3.1	3.1	3.1	
			雌	2.7	3.0	2.6	2.8	3.0	3.0	3.1	2.9	3.0	3.0	3.1	2.9	3.1	2.9	2.9	
		生後 1-11 日	雄	12.0	12.0	11.4	11.4	13.6	12.6	13.8	12.5	13.1	12.2	13.5	12.2	13.8	12.5	12.5	
			雌	11.4	11.4	11.1	10.8	13.1	12.2	13.5	12.2	13.1	12.2	13.5	12.2	13.5	12.2	12.2	
		生後 1-16 日	雄	21.1	21.1	20.2	19.5	23.6	↓ 21.7	23.5	↓ 21.7	23.0	↓ 21.1	22.8	↓ 21.7	23.5	↓ 21.7	↓ 21.7	
			雌	19.9	20.2	19.6	18.7	23.0	↓ 21.1	22.8	21.3	23.0	↓ 21.1	22.8	21.3	22.8	21.3	21.3	
		生後 1-22 日	雄	34.8	34.5	32.1	↓ 27.6	39.1	↓ 35.2	38.5	↓ 34.1	38.0	↓ 34.3	37.0	↓ 33.0	38.5	↓ 34.1	↓ 34.1	
			雌	32.6	32.6	30.7	↓ 26.7	38.0	↓ 34.3	37.0	↓ 33.0	38.0	↓ 34.3	37.0	↓ 33.0	37.0	↓ 33.0	↓ 33.0	
		生後 1-29 日	雄	69.6	68.4	↓ 63.1	↓ 44.3	77.5	↓ 71.0	75.1	↓ 63.9	71.8	↓ 66.5	69.5	↓ 60.5	75.1	↓ 63.9	↓ 63.9	
			雌	63.9	63.3	↓ 58.7	↓ 43.7	71.8	↓ 66.5	69.5	↓ 60.5	71.8	↓ 66.5	69.5	↓ 60.5	69.5	↓ 60.5	↓ 60.5	
		生後 1-36 日	雄	119.4	119.4	↓ 111.0	↓ 68.6	129.9	↓ 122.4	128.7	↓ 111.9	113.4	108.4	111.9	↓ 100.4	128.7	↓ 111.9	↓ 111.9	
			雌	105.4	104.7	98.9	↓ 66.0	113.4	108.4	111.9	↓ 100.4	113.4	108.4	111.9	↓ 100.4	111.9	↓ 100.4	↓ 100.4	
		臓器重量 (g)	雄腎臓	絶対	1.216	1.330	1.136	↓ 0.945	1.307	1.394	↑ 1.447	1.308	1.307	1.394	↑ 1.447	1.308	1.308	1.308	1.308
				補正重量 ^{k)}	1.133	1.195	1.101	1.198	1.324	1.373	1.407	1.360	1.324	1.373	1.407	1.360	1.360	1.360	1.360
			雌腎臓	絶対	1.177	1.161	1.083	↓ 0.839	1.276	1.204	1.216	1.206	1.276	1.204	1.216	1.206	1.216	1.206	1.206
				補正重量 ^{k)}	1.074	1.066	1.077	1.033	1.244	1.159	1.236	1.264	1.244	1.159	1.236	1.264	1.236	1.264	1.264
精巣	絶対	0.924	1.027	0.912	0.767	1.055	1.024	1.109	1.058	1.055	1.024	1.109	1.058	1.109	1.058	1.058			
	補正重量 ^{k)}	0.828	0.871	0.872	↑ 1.059	1.072	1.003	1.069	1.109	1.072	1.003	1.069	1.109	1.069	1.109	1.109			
肉眼的病理検査 ^{d)} :																			
盲腸 ; 拡張			0/0	0/0	0/1	8/7	0/0	0/0	0/0	3/2	0/0	0/0	0/0	0/0	3/2	3/2	3/2		
眼球 ; 不透明			0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0	0/1	0/0	0/0	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1		
腎臓 ; 両側腎盂拡張			0/0	0/3	2/1	4/4	1/5	0/1	1/8	1/2	0/0	0/1	1/8	1/2	1/2	1/2	1/2		
大型化			0/0	0/0	0/2	4/3	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
尿管 ; 拡張			0/1	0/0	0/1	3/4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
硬口蓋 ; 潰瘍形成			0/0	0/0	0/0	22/19	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
病理組織学的検査 ^{d)} :																			
硬口蓋 ; 潰瘍形成			0/0	0/0	0/0	21/19	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
腎臓 ; 風船状変性			0/0	0/0	0/0	1/3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
皮質尿細管拡張			0/1	0/1	0/0	13/8	0/1	0/0	1/1	0/1	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	1/1			
皮質壊死/梗塞			0/0	0/0	0/2	3/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0			
腎乳頭壊死			0/0	0/0	0/0	2/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0			
腎盂炎/腎盂腎炎			0/3	0/0	0/3	5/3	0/0	0/0	0/0	5/5	0/0	0/0	0/0	0/0	5/5	5/5			
膀胱 ; 膀胱炎			0/3	0/1	0/1	2/2	0/0	0/0	0/0	2/3	0/0	0/0	0/0	0/0	2/3	2/3			
尿管 ; 尿管炎			0/0	0/0	0/1	3/4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0			
泌尿器系病変 ^{j)}			0/3	0/2	0/3	15/9	0/1	0/0	0/0	8/8	0/1	0/0	0/0	0/0	8/8	8/8			

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

f) 表中の数値は所見がみられた雄動物数/雌動物数を示す。

j) 皮質尿細管拡張、風船状変性、皮質壊死/梗塞、腎乳頭壊死、腎盂炎/腎盂腎炎、膀胱炎、尿管炎のいずれかの病変が認められた児動物数を示す

k) 最終体重で補正した重量

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

Student の t 検定: 児動物体重、体重増加量、臓器重量

2) ジクワットジプロミドのラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T-30)

試験機関：

報告書作成年：1989年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：Wistar系妊娠ラット (Alpk:ApfSD)、1群23~24匹、妊娠0日時12週齢、
体重212~326g

投与期間：妊娠7日から妊娠16日までの10日間
(1988年2月22日~3月29日最終屠殺)

投与方法：検体を脱イオン水に溶解し、ジクワットイオンとして0、4、12、40 mg/kg/日の投与レベルで妊娠7日目*)から妊娠16日目までの10日間、毎日1回強制経口投与した。

*)：膈垢中に精子を認めた日を妊娠1日として起算した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物；一般状態および生死を毎日観察し、妊娠1、4、7~16、19、22日に体重を測定し、妊娠1~4、4~7、7~10、10~13、13~16、16~9および19~22日間の摂餌量を測定した。妊娠22日に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床位置と着床数、生存胎児数、子宮内死亡数を検査した。また、肉眼的病理検査を行った。

生存胎児；体重測定、性別および外表異常の観察を行った。全胎児について拡大鏡下で微細剖検により内臓異常を観察した後、メタノールで固定し、脳について肉眼的異常の有無を検査した。続いて、アリザリンレッドS染色を施した骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果；結果の概要を次表に示した。

母動物；40 mg/kg/日群では投与期間中の体重増加量および摂餌量の低下などの毒性が認められた。また、4 および 12 mg/kg/日群の体重増加量および摂餌量にも投与初期に一過性の影響が認められた。一般状態の変化として、40 mg/kg/日群の多数例に立毛がみられ（妊娠 13～22 日）、検体投与との関連は不明だが 3 例に鎮静が認められた（妊娠 14～22 日）。40 mg/kg/日群の 1 例では痩せ、立毛、円背位姿勢および尿失禁がみられ、妊娠 15 日に死亡した。肉眼的病理検査では検体投与に関連する所見は認められなかった。

生存胎児；40 mg/kg/日群では、胎児体重に著しい低下が認められた。

内臓検査では 40 mg/kg/日群で片側性の腎臓出血を有する胎児の発現頻度が統計学的に有意に増加したが、片側性であることから、検体投与とは関連するものではないと考えられた。12 mg/kg/日群で軽度尿管拡張がみられる胎児数の統計学的に有意な増加がみられたが、用量相関性がないことから、検体投与とは関連するものではないと考えられた。

骨格検査では、40 mg/kg/日群で骨化遅延を示す軽度の異常（第 2 胸骨分節の部分的骨化、頸椎の腹側結節および第 3～第 5 椎体の未骨化）、変異（第 5 胸骨分節の部分的骨化、第 2 頸椎体未骨化、踵骨の未骨化）および骨化スコアの高値がみられる胎児数の明らかな増加が認められた。低用量群においても踵骨の未骨化、歯状突起の未骨化および第 4 腰椎横突起の部分的骨化の発現増加傾向がみられたが、4 および 12 mg/kg/日群における骨化の変化はごくわずかであり、統計学的または生物学的に有意ではなかった。その他に、4 mg/kg/日群で第 5 胸骨分節の二分がみられる胎児数の統計学的に有意な増加が、12 mg/kg/日群で 14 肋骨短小がみられる胎児数の統計学的に有意な増加がそれぞれみられたが、用量相関性がないことから、検体投与とは関連するものではないと考えられた。

胎児動物の着床前および着床後損失率、生存胎児数および性比に検体投与の影響は認められなかった。外表、内臓あるいは骨格の重度異常の発生頻度に検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したとき、40mg/kg 用量において母動物で体重増加量および摂餌量の低下、並びに立毛および鎮静化がみられ、胎児動物では体重低下、骨化遅延を示す胸骨分節の部分骨化、頸椎椎体の未骨化などがみられた。

したがって、本試験における無毒性量は、母動物および胎児動物ともに 12 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 40 mg/kg でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		対照	4	12	40	
1 群当りの動物数		24	24	23	24	
死亡数		0	0	0	1	
一般状態 ^{a)}	立毛	3	0	2	15	
	鎮静化	0	0	0	3	
平均体重	妊娠 11 日	301.9	306.3	298.3	↓ 286.2	
	妊娠 12 日	307.3	310.2	303.9	↓ 285.8	
	妊娠 13 日	311.4	315.9	307.4	↓ 286.9	
	妊娠 14 日	318.7	322.5	314.7	↓ 290.4	
	妊娠 15 日	325.2	329.2	321.7	↓ 293.4	
	妊娠 16 日	332.1	334.3	328.4	↓ 297.8	
	妊娠 19 日	366.5	373.2	364.6	↓ 337.0	
	妊娠 22 日	385.2	390.9	381.5	↓ 360.6	
体重増加量 (g)	妊娠 1~4 日	16.4	↑ 19.7	15.5	19.4	
	妊娠 4~7 日	11.6	9.9	10.8	11.9	
	妊娠 7~10 日	13.6	↓ 10.4	↓ 8.2	↓ -5.4	
	妊娠 10~13 日	14.8	16.2	14.5	↓ 2.1	
	妊娠 13~16 日	20.7	18.4	20.9	↓ 11.2	
	妊娠 16~19 日	34.4	↑ 38.9	36.4	↑ 39.3	
	妊娠 19~22 日	18.7	17.8	17.5	23.0	
	妊娠 1~22 日	130.1	131.2	123.7	↓ 101.5	
摂餌量 ^{b)} (g/日)	妊娠 1~4 日	20.9	21.8	20.6	21.9	
	妊娠 4~7 日	24.5	24.2	24.4	25.5	
	妊娠 7~10 日	26.3	↓ 24.5	↓ 23.0	↓ 17.0	
	妊娠 10~13 日	28.0	27.8	26.5	↓ 16.4	
	妊娠 13~16 日	30.3	29.9	↓ 28.5	↓ 19.3	
	妊娠 16~19 日	32.0	32.7	31.2	↓ 25.7	
	妊娠 19~22 日	24.7	25.3	25.9	27.3	
	肉眼的病理所見		検体投与に起因する異常なし			
妊娠子宮重量 (g)		84.7	85.5	81.6	77.0	
着床所見	検査母動物数		24	24	23	20
	平均黄体数		14.0	13.4	13.6	13.6
	平均着床数		12.9	12.7	12.3	12.5
	着床前損失率 (%)		7.8	5.3	9.0	8.4
	着床後損失率 (%)		3.9	4.3	5.3	4.4
	平均生存胎児数		12.4	12.1	11.6	12.0
	子宮内死亡率 (%)	早期	3.6	3.3	4.2	3.2
		後期	0.3	1.0	1.1	1.2

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

— : 対照群

外表・内臓検査の各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

a) 表中の数値は所見がみられた動物数を示す。

b) 試験期間をとおして摂餌量が高値であった4 mg/kg群の1例を除いて統計解析した結果を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: p < 0.05, ↑↓: p < 0.01)

Student の t 検定: 体重*, 体重増加量, 摂餌量, 着床数, 生存胎児数, 着床前損失率, 着床後損失率, 子宮内死亡率, 妊娠子宮重量, 胎児体重, 重度異常のみられた胎児の割合 (*体重のみ申請者が実施した)

Fisher の直接確率検定: 性比, 外表・内臓検査における各所見の発現頻度 (つづく)

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		対照	4	12	40	
胎児体重 (g)		4.83	4.90	4.85	↓ 4.41	
性比 (雄%)		51.9	51.2	52.4	51.0	
胎児動物	外表・内臓検査	検査胎児 (腹) 数	297 (24)	291 (24)	269 (23)	239 (20)
		重度異常のみられた胎児数	0	1	1	3
		内臓逆位	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		水頭症	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		側脳室中等度拡張	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		腹水貯留	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		肝臓嚢胞付着	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		軽度異常のみられた胎児数	28	34	27	31
		皮下出血	0 (0)	2 (1)	1 (1)	1 (1)
		肺奇静脈葉欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肝臓暗色	6 (3)	6 (4)	7 (4)	4 (2)	
	肝臓出血	2 (2)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
	肝臓褪色	1 (1)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	
	胃壁白色域	1 (1)	3 (2)	0 (0)	1 (1)	
	胃縮小	3 (3)	2 (2)	6 (2)	3 (2)	
	腸管内血液凝塊付着	7 (5)	9 (5)	4 (2)	12 (7)	
	脾臓褪色	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	腎臓出血	0 (0)	1 (1)	0 (0)	↑ 5 (↑ 4)	
	腎臓褪色	6 (4)	7 (4)	1 (1)	4 (4)	
	中等度尿管拡張	2 (2)	2 (2)	5 (3)	1 (1)	
膀胱膨張	1 (1)	4 (1)	3 (2)	0 (0)		
変異のみられた胎児数	69	68	70	58		
軽度尿管拡張	26 (12)	34 (14)	↑ 43 (13)	30 (11)		
尿管蛇行	51 (14)	46 (15)	52 (16)	37 (12)		
骨格検査	検査胎児 (腹) 数	297 (24)	291 (24)	269 (23)	239 (20)	
	重度異常のみられた胎児数	1	1	1	1	
	下顎骨癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	脊椎複合異常	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
	13 肋骨未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	前肢第 4 指存在	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	後肢第 6 指存在	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	軽度異常のみられた胎児数	106	102	97	↑ 132	
	前頭骨部分的骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	頭頂間骨部分的骨化	7 (4)	9 (6)	4 (3)	7 (3)	
	後頭骨部分的骨化	1 (1)	4 (3)	1 (1)	2 (1)	
	頭頂骨部分的骨化	31 (11)	18 (8)	15 (5)	7 (4)	
頭頂間骨-頭頂骨間縫合骨	0 (0)	3 (3)	1 (1)	1 (1)		
頭頂骨間縫合骨	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
後泉門軽度開大	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

外表・内臓および骨格検査の各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)

Student の t 検定: 重度異常・軽度異常・変異のみられた胎児の割合

Fisher の直接確率検定: 性比、外表・内臓および骨格検査における各所見の発現頻度

(つづく)

結果の概要 (つづき)

		投与量 (mg/kg/日)	対照	4	12	40
胎児動物	骨格検査	第1頸椎弓部分的骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第2頸椎弓部分的骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第3頸椎弓部分的骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第4頸椎弓部分的骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第7頸椎弓部分的骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		頸椎腹側結節未骨化	17 (8)	14 (10)	8 (4)	↑28 (11)
		第3頸椎体未骨化	39 (16)	37 (12)	45 (14)	↑80 (18)
		第4頸椎体未骨化	21 (11)	20 (7)	21 (8)	↑56 (↑17)
		第5頸椎体未骨化	12 (7)	9 (5)	10 (5)	↑23 (10)
		第6頸椎体未骨化	2 (2)	2 (2)	4 (3)	4 (4)
		第7頸椎体未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		第7頸椎横突起完全骨化	5 (3)	2 (1)	2 (2)	0 (0)
		頸肋	1 (1)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
		第2胸椎体二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第3胸椎体二分	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第4胸椎体二分	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第5胸椎体二分	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第7胸椎体二分	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		第11胸椎体二分	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		第12胸椎体二分	5 (4)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
		第13胸椎体二分	1 (1)	2 (2)	2 (2)	1 (1)
		第6胸椎半椎体未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第11胸椎半椎体部分的骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第13胸椎半椎体部分的骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
		第1腰椎体二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第2腰椎体二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第3腰椎横突起部分的骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第5腰椎横突起部分的骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		仙椎前椎骨数 27	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第1胸骨分節二分	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
		第2胸骨分節二分	0 (0)	1 (1)	1 (1)	2 (1)
		第3胸骨分節二分	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第4胸骨分節二分	1 (1)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
		第5胸骨分節二分	19 (10)	↑32 (13)	25 (14)	18 (11)
		第6胸骨分節二分	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		第4胸骨分節極度配列異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第5胸骨分節極度配列異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第1胸骨分節変形	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
		第3胸骨分節変形	0 (0)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
		第2胸骨分節未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
第5胸骨分節未骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (2)		

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

骨格検査の各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)

Fisher の直接確率検定: 骨格検査における各所見の発現頻度 (つづく)

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		対照	4	12	40		
胎 児 動 物	骨 格 検 査	第1 胸骨分節部分的骨化	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
		第2 胸骨分節部分的骨化	2 (2)	1 (1)	1 (1)	↑ 26 (6)	
		第4 胸骨分節部分的骨化	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
		第6 胸骨分節部分的骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
		第3 胸骨分節軽度配列異常	0 (0)	2 (2)	0 (0)	3 (3)	
		第4 胸骨分節軽度配列異常	1 (1)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	
		第5 胸骨分節軽度配列異常	2 (1)	2 (2)	3 (3)	3 (3)	
		第9 肋骨波状	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
		第10 肋骨波状	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
		第11 肋骨波状	1 (1)	2 (1)	1 (1)	3 (2)	
		第12 肋骨波状	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)	
		第5 肋骨中央部肥厚	1 (1)	1 (1)	3 (2)	2 (2)	
		第6 肋骨中央部肥厚	1 (1)	2 (2)	3 (2)	2 (2)	
		第7 肋骨中央部肥厚	1 (1)	2 (2)	3 (2)	2 (2)	
		第8 肋骨中央部肥厚	3 (3)	2 (2)	1 (1)	2 (2)	
		第9 肋骨中央部肥厚	2 (2)	2 (2)	2 (2)	2 (1)	
		第10 肋骨中央部肥厚	2 (2)	1 (1)	2 (2)	2 (1)	
		13 肋骨短小	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
		変異を有する胎児数		290	286	263	230
		歯状突起未骨化		107 (22)	114 (19)	110 (17)	102 (19)
		第2 頸椎体未骨化		162 (24)	131 (22)	147 (22)	↑ 180 (20)
		第7 頸椎横突起部分的骨化		68 (21)	75 (24)	47 (18)	27 (12)
		第4 腰椎横突起完全骨化		39 (13)	33 (15)	24 (13)	9 (5)
		第4 腰椎横突起部分的骨化		232 (24)	210 (24)	182 (22)	128 (19)
		第5 胸骨分節部分的骨化		69 (19)	84 (20)	66 (19)	↑ 89 (19)
		第14 肋骨正常長		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第14 肋骨短小		35 (15)	39 (12)	↑ 46 (15)	23 (8)
		踵骨未骨化		133 (22)	139 (21)	↑ 157 (22)	↑ 149 (19)
平均骨化進行度 ^{c)}	前肢指骨	2.20	2.25	2.18	↑ 2.52		
	後肢指骨	2.92	2.93	2.92	2.98		

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

骨格検査の各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

c) 骨化進行度のスコア1 (good) ~4 (poor) の平均を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)

Student の t 検定: 指骨骨化スコア

Fisher の直接確率検定: 骨格検査における各所見の発現頻度

3) ジクワットジプロミドのウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.T-31)

試験機関：

報告書作成年：1989年、1990年、1995年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ、1群20匹、妊娠1日体重2.97～3.92 kg

投与期間：妊娠7日から妊娠19日目までの13日間

(1988年4月25日初回受精～1988年6月3日最終屠殺)

投与方法：検体を脱イオン水に溶解し、ジクワットイオンとして0、1、3および10 mg/kg/日の投与レベルで妊娠7日目*)から妊娠19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、脱イオン水のみを同様に投与した。

*)：人工授精日を妊娠1日として起算した。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物；行動および一般状態の変化について毎日観察し、妊娠1、4、7～19、22、26および30日に体重を測定した。摂餌量は妊娠1～4、4～7、7～10、10～13、13～16、16～19、19～22、22～26および26～30日間の摂取量を測定した。妊娠30日に屠殺して、肉眼的病理検査を行い、子宮および卵巣を摘出して、妊娠子宮重量、黄体数、着床位置と着床数、生存胎児数ならびに早期および後期子宮内死亡数を検査した。

生存胎児；体重測定後屠殺し、外表異常および口蓋裂について観察した。全生存胎児について内臓異常を検査し、性別判定後、メタノールに固定して脳の肉眼的異常について検査した。次に、アリザリンレッドS染色を施した骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次表に示した。

母動物；10 mg/kg/日投与により、下痢（妊娠 1～28 日）、鎮静化（妊娠 13～22 日）、痩せ（妊娠 9～23 日）、ケージ受け皿上の糞減少（妊娠 8～17 日）、ケージ受け皿上無排糞（妊娠 8～15 日）、ケージ受け皿上粘液（妊娠 13～16 日）およびケージ受け皿上血液（妊娠 24～29 日）という毒性症状の発現増加、体重減少および摂餌量の減少がみられ、3 例は瀕死状態のため屠殺し、2 例は流産後に屠殺した。これらの切迫屠殺例には肉眼的病理検査で主に胃の出血／潰瘍が認められた。3 mg/kg/日群でも体重および摂餌量に対し、同様ではあるが重度でない影響が認められた。

1 mg/kg/日群の 1 例は流産後に屠殺したが、毒性症状はみられなかったことから、検体投与に関連するものではないと考えられた。また、投与期間終了後には 10 mg/kg/日群で体重増加量の高値、3 および 10 mg/kg/日群で摂餌量の高値がみられたが、投与期間中の低値の代償作用であると考えられた。1 mg/kg/日群では、妊娠中総体重増加量の有意な高値がみられたが、用量相関性がなく、偶発的な変化であると考えられた。着床数、着床前および着床後胚損失率、生存胎児数、子宮内死亡数、妊娠子宮重量に対して投与に関係する影響はなかった。3 mg/kg/日群では、対照群に比べて平均着床数および生存胎児数の統計学的に有意な減少がみられ、このため妊娠子宮重量の有意な減少もみられたが、10mg/kg/日群では同様の変化はなかった。

生存胎児；10 mg/kg/日群では胎児体重がわずかに減少し、前肢および後肢の骨化スコアが増加して骨化遅延が認められた。

体表、内臓または骨格検査で重度異常を有する胎児が 16 例認められた（対照群、1、3 および 10 mg/kg/日群でそれぞれ 2、8、2 および 4 例）が、これらの種類または群間の分布から、投与に関連しないと考えられた。外表または内臓の軽度異常を有する胎児数には投与の影響はなかった。3 mg/kg/日群では胆嚢小血塊付着の発現頻度が高かったが、用量相関性がなく検体投与に関連するとは考えられなかった。肝臓の斑状変色および脆弱化の発現頻度が 10 mg/kg/日群で増加し、いずれも発現頻度に用量相関性がないことから、検体投与に関連しないと考えられた。

骨格の軽度異常を有する胎仔数および背景データを次表に示す。

3 および 10 mg/kg/日群で骨格の軽度異常を有する胎児の割合がわずかに増加した。3 および 10 mg/kg/日群で第 6 胸骨分節部分的骨化の発現頻度の増加が認められ、10 mg/kg/日群でのみ第 6 胸骨分節末骨化の発現頻度が増加した。仙椎前椎骨数 27 の骨格変異の発現頻度が 10 mg/kg/日群で増加し、過剰肋骨の発現頻度は 3 および 10 mg/kg/日群で増加した。しかし、いずれの場合も、背景データの発現頻度の範囲内にあり、毒性学的に意義のない変動と判断した。

軽度の骨格異常を有する胎仔数および背景データ

投与量 (mg/kg/日)	対照	1	3	10	背景データの発現率(%)
軽度異常を有する胎仔数	64	65	↑71	↑53	
第6胸骨分節未骨化	0 (0) [0]	↑6 (2) [4.5]	3 (3) [2.3]	↑6 (↑5) [6.3]	0.0~12.4
第6胸骨分節部分的骨化	9 (6) [6.1]	14 (8) [10.4]	↑19 (8) [14.7]	↑16 (8) [16.7]	6.2~18.2
変異を有する胎児数	146	133	128	96	
仙椎前椎骨数 27	46 (14) [31.3]	54 (12) [40.3]	49 (15) [38.0]	↑49 (12) [51.0]	19.4~59.2
13肋骨	76 (15) [51.7]	61 (13) [45.5]	↑89 (18) [69.8]	↑71 (12) [75.0]	27.2~78.9

各所見の表中の数値は、上段に所見がみられた胎児数（腹数）、下段の [] 内に胎児数の発現率（%）を示す。

Fisherの直接確率検定：(↑↓：p<0.05、↑↓：p<0.01)

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したとき、10mg/kg用量の母動物で瀕死状態、下痢、鎮静化、痩せ等の症状、流産、並びに体重および摂餌量の減少がみられ、3mg/kg用量でも体重および摂餌量の低下がみられた。10mg/kg用量の胎児動物では、体重の減少、並びに骨化遅延を示す四肢の骨化スコアの増加がみられた。

したがって、本試験の母動物における無毒性量は1 mg/kg/日、胎児動物における無毒性量は3 mg/kg/日であった。また、最高投与量の10 mg/kgでも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		対照	1	3	10
1群当りの動物数		20	20	20	20
妊娠動物数		18	16	20	17
死亡・切迫屠殺数		0	0	0	3 ^{a)}
流産		0	1	0	2
一般状態 ^{b)} ;	下痢	2	4	3	7
	鎮静	0	0	1	5
	痩せ	1	3	5	15
	ケージ受皿上の糞減少	0	0	0	11
	ケージ受皿上無排糞	0	0	0	4
	ケージ受皿上粘液	0	0	0	2
	ケージ受皿上血液	0	0	0	3
	平均体重	—	有意差なし	↓: 妊娠 9~12 日	↓: 妊娠 10~19 日
体重増加量 (g)	妊娠 7~19 日	237.4	309.9	236.4	↓ 47.5
	妊娠 7~10 日	42.6	61.4	↓ 54.8	↓ -103.0
	妊娠 19~30 日	312.4	387.1	293.3	↑ 424.8
	妊娠 19~22 日	63.3	99.7	71.4	↑ 137.9
	妊娠 1~30 日	680.1	↑ 828.0	688.2	644.3
親動物 摂餌量 (g/日)	妊娠 7~19 日	163.4	158.1	150.1	↓ 96.0
	妊娠 7~10 日	162.9	162.9	↓ 89.3	↓ 41.8
	妊娠 10~13 日	167.8	158.3	146.3	↓ 87.9
	妊娠 13~16 日	162.6	148.7	172.5	↓ 117.7
	妊娠 16~19 日	160.1	162.6	↑ 192.1	↓ 130.9
	妊娠 19~30 日	164.1	170.4	↑ 181.0	↑ 186.6
	妊娠 22~26 日	169.4	174.2	↑ 187.9	↑ 198.8
	妊娠 26~30 日	147.0	158.9	↑ 167.4	↑ 190.7
肉眼的病理所見 ^{b)} ;					
胃: 出血/潰瘍		0	1	0	5 ^{c)}
妊娠子宮重量 (g)		483.1	539.7	↓ 394.9	413.3
着床所見	検査母動物数	18	15	20	13
	平均黄体数	11.50	11.93	9.35	10.46
	平均着床数	9.61	10.47	↓ 7.65	8.92
	着床前損失率 (%)	16.4	12.3	18.2	14.7
	着床後損失率 (%)	15.0	14.6	15.7	17.2
	平均生存胎児数	8.17	8.93	↓ 6.45	7.38
	子宮内死亡率 (%)				
	早期	6.9	3.8	6.5	9.5
	後期	8.1	10.8	9.2	7.8

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

—: 対照群

a) 非妊娠動物 1 例を含む。

b) 表中の数値は所見がみられた動物数を示す。

c) 4 例は切迫屠殺例。

対照群との有意差の検定 (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)

Student の t 検定: 体重、体重増加量、摂餌量、着床数、生存胎児数、着床前損失率、着床後損失率、子宮内死亡率、妊娠子宮重量

(つづく)

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		対照	1	3	10
平均胎児体重 (g)		39.81	38.59	42.08	37.05
性比 (雄%)		54.4	49.6	49.6	47.9
検査胎児 (腹) 数		147 (18)	134 (15)	129 (20)	96 (13)
胎児動物 外表・内臓検査	重度異常を有する胎児数	2	8 ↑	2	3
	無頭症	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	無顎症	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	鼻短	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	小眼球症	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	眼瞼開裂	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	水頭症	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	大動脈過度拡張	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	大動脈過度縮小	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	肺動脈過度縮小	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	横隔膜嚢胞付着	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	肝臓嚢胞付着	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	腎臓欠損	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	尿管欠損	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	前肢過屈曲	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	軽度異常を有する胎児数	60	56	64	39
	皮下出血	1 (1)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	大動脈軽度拡張	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	肺動脈軽度拡張	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	肺動脈軽度縮小	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	腹水貯留	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肝臓暗色化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	肝臓脆弱	8 (5)	7 (2)	5 (2)	↑ 14 (3)
	肝臓隆起域	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	肝臓斑状	8 (6)	15 (5)	11 (5)	↑ 12 (3)
	胆嚢欠損	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胆嚢二葉	0 (0)	0 (0)	1 (1)	3 (3)
	胆嚢大型	8 (4)	1 (1)	10 (7)	5 (3)
	胆嚢小型	3 (2)	3 (3)	1 (1)	4 (3)
	胆嚢小血塊付着 ^{d)}	18 (8)	21 (9)	↑ 33 (13)	14 (8)
胃拡張	2 (2)	2 (2)	1 (1)	0 (0)	
胃ガス膨満	17 (7)	15 (7)	16 (9)	4 (4)	
胃縮小	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
腸小血塊付着	5 (2)	10 (4)	3 (3)	0 (0)	
副脾	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
脾臓小型	2 (2)	0 (0)	2 (2)	2 (2)	

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

外表・内臓検査の各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

d) 背景対照の発現頻度は 0.0~24.0%

対照群との有意差の検定 (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)

Student の t 検定: 胎児体重、異常のみられた胎児の割合

Fisher の直接確率検定: 性比、外表・内臓検査における各所見の発現頻度

(つづく)

結果の概要 (つづき)

		投与量 (mg/kg/日)	対照	1	3	10
外表・内臓検査		腎臓褪色	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		腎盂軽度拡張	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		膀胱中等度拡張	1 (1)	3 (1)	0 (0)	0 (0)
		卵巣嚢胞付着	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		前肢軽度屈曲	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		変異を有する胎児数	1	1	1	0
胎児動物 骨格検査		膀胱軽度拡張	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		検査胎児 (腹) 数	147 (18)	134 (15)	129 (20)	96 (13)
		重度異常を有する胎児数	1	3	1	1
		猿頭症	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第4-第5胸椎弓癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第6-第7肋骨過度癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		頸椎/胸椎の異常	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		全身奇形	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		軽度異常を有する胎児数	64	65	↑71	↑53
		頭頂骨部分的骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		第1頸椎部分的骨化	4 (3)	4 (3)	5 (3)	2 (2)
		第2頸椎体部分的骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第4頸椎体部分的骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第6頸椎体部分的骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		頸肋	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第1頸椎体未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第5頸椎体未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第7頸椎体未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第3頸椎体部分的骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第6頸椎体部分的骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第4腰椎体二分	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第1腰椎横突起部分的骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第1腰椎横突起完全骨化	2 (2)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第4腰椎横突起未骨化	6 (4)	3 (2)	4 (4)	2 (1)
		第5腰椎横突起未骨化	0 (0)	1 (1)	3 (3)	0 (0)
		第6腰椎横突起未骨化	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		第7腰椎横突起未骨化	12 (6)	9 (6)	9 (5)	2 (1)
		第1仙椎非対称	5 (4)	8 (6)	3 (2)	5 (5)
		仙椎弓不完全骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第5胸骨分節二分	8 (5)	5 (3)	7 (6)	1 (1)
	第6胸骨分節二分	6 (5)	3 (2)	2 (2)	5 (4)	
	第5胸骨分節過度配列異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	第5胸骨分節変形	4 (3)	8 (6)	3 (3)	4 (3)	
	第6胸骨分節変形	0 (0)	3 (1)	1 (1)	0 (0)	
	第5胸骨分節未骨化	14 (11)	11 (5)	19 (8)	13 (4)	

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)

Student の t 検定: 異常のみられた胎児の割合

Fisher の直接確率検定: 外表・内臓および骨格検査における各所見の発現頻度 (つづく)

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		対照	1	3	10	
胎 児 動 物	骨 格 検 査	第6胸骨分節未骨化	0 (0)	↑6 (2)	3 (3)	↑6 (↑5)
		第2胸骨分節部分的骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		第6胸骨分節部分的骨化	9 (6)	14 (8)	↑19 (8)	↑16 (8)
		第1胸骨分節軽度配列異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第2胸骨分節軽度配列異常	2 (2)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第3胸骨分節軽度配列異常	2 (2)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第4胸骨分節軽度配列異常	3 (2)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
		第5胸骨分節軽度配列異常	2 (1)	3 (3)	3 (3)	1 (1)
		第6胸骨分節軽度配列異常	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第1胸骨核前過剰骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第1-第2胸骨分節癒合	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第2-第3胸骨分節癒合	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第3-第4胸骨分節癒合	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第4-第5胸骨分節癒合	3 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第12肋骨短小	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第8肋骨中央部肥厚	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第9肋骨中央部肥厚	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		13肋骨 (不完全、二分)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第4-第5肋骨軽度癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第7-第8肋骨軽度癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		骨盤帯整列	16 (10)	21 (9)	17 (11)	9 (8)
		距骨部分的骨化	1 (1)	1 (1)	0 (0)	3 (1)
		変異を有する胎児数	146	133	128	96
		第2腰椎横突起部分的骨化	18 (9)	18 (9)	12 (8)	8 (5)
		第3腰椎横突起完全骨化	58 (15)	59 (15)	40 (16)	29 (9)
		第3腰椎横突起部分的骨化	56 (15)	61 (15)	55 (18)	31 (11)
		第4腰椎横突起部分的骨化	29 (10)	11 (8)	19 (11)	20 (7)
		第5腰椎横突起部分的骨化	15 (6)	6 (6)	9 (7)	10 (6)
		第6腰椎横突起部分的骨化	9 (4)	6 (6)	7 (5)	3 (3)
		第7腰椎横突起部分的骨化	50 (15)	28 (12)	41 (15)	28 (12)
		仙椎前椎骨数 27	46 (14)	54 (12)	49 (15)	↑49 (12)
		第5胸骨分節部分的骨化	79 (17)	78 (15)	55 (18)	36 (11)
		13肋骨	76 (15)	61 (13)	↑89 (18)	↑71 (12)
13肋骨浮遊	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)		
13肋骨短小	21 (13)	25 (10)	14 (9)	9 (6)		
13肋骨短小浮遊	18 (11)	26 (13)	12 (9)	6 (5)		
平均骨化進行度 ^{e)}	前肢指骨	1.61	1.60	1.62	1.80	
	後肢指骨	1.43	1.45	1.40	↑1.65	

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

e) 骨化進行度のスコア 1 (good) ~4 (poor) の平均を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)

Student の t 検定: 骨化進行度

Fisher の直接確率検定: 骨格検査における各所見の発現頻度

(13) 変異原性

1) ジクワットジプロミドの細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-32)

試験機関:

報告書作成年: 1979 年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli* WP2hcr 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) 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。

検体は滅菌蒸留水 (H₂O) に溶解し、ジクワットジプロミドとして 0.01~50 µg/プレート の範囲の 8 濃度で実施した。試験は 2 連制とし、1 回行った。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体は S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、β-プロピオラクトン、9-アミノアクリジンおよび 2-ニトロフルオレンでは S9 mix 非存在下において、また、2-アミノアントラセンでは S9 mix 存在下において、各試験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、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

(表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 (μg ジクワット ジプロミド/ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (H ₂ O)	0	—	6 ^{b)}	15	124	7	12	10 ^{b)}
検体	0.01	—	11	15	107	6	11	24
	0.05	—	13	20	125	4	11	26
	0.1	—	13	16	113	7	9	17
	0.5	—	*	20	116	4	8	23
	1	—	*	14	105	6	12	24
	5	—	*	9	93	2	5	10
	10	—	*	4	15	0	0	5
50	—	*	0	1	0	0	*	*
対照 (H ₂ O)	0	+	9	15	131	10	22	21
検体	0.01	+	16	21	126	5	13	21
	0.05	+	13	12	129	8	20	19
	0.1	+	15	15	155	8	12	15
	0.5	+	14	16	125	8	13	15
	1	+	10	17	148	8	15	24
	5	+	1	17	165	5	15	23
	10	+	0	14	109	3	15	17
50	+	0	0	0	0	0	7	
陽 性 対 照	AF-2 ^{c)}	0.25	—	911	/	/	/	/
		0.05	—	/	1142	/	/	/
		0.1	—	/	/	/	/	175
	β -プロピオラクトン	50	—	/	803	/	/	/
	9-アミノアクリジン	200	—	/	/	/	>10000	/
	2-ニトロフルオレン	50	—	/	/	/	/	>3000
	2-アミノアントラセン	10	—	12	20	129	13	15
+			69	319	>3000	277	>3000	>3000

*: 菌株の生育阻止が認められた。

b): 1プレートのみの値 (1プレートは、雑菌の混入により正確な計測ができなかった)

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

2) ジクワットジプロミドの細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-33)

試験機関：

報告書作成年：1986年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) およ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 (S9 mix) 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。

検体は脱イオン水に溶解し、ジクワットジプロミド濃度として試験1は S9 mix 存在下 0.5~100 µg/プレートおよび S9 mix 非存在下 0.1~50 µg/プレートの範囲のそれぞれ6濃度で実施した。試験2は S9 mix 存在下 0.5~100 µg/プレート (TA98、100、1535 株)、0.1~50 µg/プレート (TA1537、TA1538 株) および 0.05~10 µg/プレート (WP2*uvrA* 株)、S9 mix 非存在下 0.1~50 µg/プレート (TA98、100、1535、1537 株) および 0.01~5.0 µg/プレート (TA1538、WP2*uvrA* 株) の範囲のそれぞれ6濃度で実施した。また、試験2で汚染が認められたため、TA98 株についてのみ試験2と同濃度で、試験3を実施した。試験はいずれも3連制 (溶媒対照群は5連) とし、プレート法で行った。

なお、少なくとも1用量で (溶媒対照プレートについて認められるものよりも) 平均復帰変異コロニー数/プレートが2倍以上増加した場合、あるいは復帰突然変異体数が統計的有意な用量依存性に増加した場合、いずれの場合も再現性が認められた場合に陽性と判定した。

用量設定根拠；

試験結果：結果を次表に示した。

＜オリジナル報告書の記載＞

2回の試験において、検体はS9 mixの有無にかかわらず、少なくとも最高用量で毒性が認められるいずれの用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を有意に増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG)、4-ニトロキノリン-N-オキシド (4NQO)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (4-NPD) および2-アミノアント

以上の結果より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

試験 1

(表中の数値は3反復の平均値 ± 標準偏差(溶媒対照群は5反復))

薬物	濃度 (μg ジクワット ジプロミド/ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (脱イオン水)	0	-	180.4 ± 9.8	26.8 ± 5.8	104.2 ± 12.2	18.4 ± 2.4	21.4 ± 3.2	14.2 ± 4.4	
検体	0.1	-	200.3 ± 10.6	24.7 ± 9.3	123.7 ± 4.2	15.3 ± 2.3	5.3 ± 2.3	16.7 ± 5.5	
	0.5	-	172.0 ± 5.3	35.7 ± 4.0	112.7 ± 32.3	21.0 ± 2.0	19.3 ± 7.1	21.0 ± 4.4	
	1.0	-	129.0 ± 5.2	25.3 ± 6.1	125.0 ± 17.8	14.0 ± 2.0	3.7 ± 2.1	12.7 ± 0.6	
	5.0	-	23.3 ± 2.3	25.0 ± 7.5	117.7 ± 5.0	9.3 ± 4.2	3.3 ± 2.5	9.7 ± 1.2	
	10	-	11.7 ± 8.6	20.3 ± 2.3	113.3 ± 6.7	7.7 ± 2.3	1.0 ± 1.0	8.0 ± 2.0	
	50	-	1.7 ± 1.5	12.7 ± 10.3	16.0 ± 12.5	0.0 ± 0.0	0.7 ± 0.6	1.0 ± 1.0	
対照 (脱イオン水)	0	+	143.0 ± 61.3	29.8 ± 1.9	122.4 ± 8.0	17.4 ± 5.6	17.6 ± 5.0	21.2 ± 5.0	
検体	0.5	+	178.3 ± 12.2	32.5 ± 0.7	114.3 ± 8.1	22.0 ± 4.4	15.0 ± 2.6	20.3 ± 3.1	
	1.0	+	129.0 ± 66.5	30.3 ± 2.3	115.7 ± 12.5	15.7 ± 5.7	11.3 ± 0.6	16.0 ± 1.7	
	5.0	+	94.3 ± 62.1	27.0 ± 3.6	135.3 ± 4.5	13.3 ± 1.2	10.3 ± 3.2	14.0 ± 3.0	
	10	+	1.0 ± 1.0	23.0 ± 1.7	↑141.7 ± 8.3	11.3 ± 3.2	13.0 ± 3.0	15.7 ± 2.1	
	50	+	0.0 ± 0.0	21.3 ± 8.5	82.7 ± 7.5	6.3 ± 1.2	1.7 ± 0.6	10.7 ± 4.0	
	100	+	0.0 ± 0.0	22.0 ± 6.6	14.3 ± 10.8	5.3 ± 2.1	0.0 ± 0.0	6.0 ± 2.8	
陽性 対照	AF2	0.01	-	↑↑1230.3 ± 147.4		↑↑611.7 ± 31.7			
	ENNG	5.0	-		↑↑155.7 ± 14.0				
	4NQO	0.2	-						↑↑110.0 ± 11.5
		0.25	-				↑↑26.7 ± 4.0		
	4NPD	5.0	-					↑↑107.7 ± 14.6	
	2AA	0.5	+			↑↑229.7 ± 30.6		↑↑155.7 ± 11.0	↑↑166.3 ± 2.5
		2.0	+		↑↑128.7 ± 8.7		↑↑121.7 ± 6.7		
		80	+	↑↑728.3 ± 43.2					

陽性対照物質

- AF2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
- ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
- 4NQO : 4-ニトロキノリン-N-オキシド
- 4NPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン
- 2AA : 2-アミノアントラセン

統計解析 :

Dunnett の検定を実施した (†p<0.05、↑↑p<0.01)。

試験 2*

(表中の数値は3反復の平均値 ± 標準偏差(溶媒対照群は5反復))

薬物	濃度 (μg ジックワットジプロミド/プレート)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (脱イオン水)	0	-	152.4 ± 9.8	19.6 ± 2.5	93.4 ± 14.0	11.6 ± 1.9	6.6 ± 1.1	8.2 ± 2.9	
検体	0.01	-	147.7 ± 9.6				5.7 ± 0.6		
	0.05	-	142.0 ± 17.3				4.7 ± 1.5		
	0.1	-	165.3 ± 7.5	19.0 ± 0.0	86.0 ± 1.7	11.3 ± 2.5	3.7 ± 2.3	↑14.3 ± 4.2	
	0.5	-	132.0 ± 7.0	20.7 ± 5.7	82.0 ± 6.6	11.0 ± 6.2	4.0 ± 1.0	12.3 ± 2.5	
	1.0	-	91.3 ± 9.3	19.0 ± 3.6	87.3 ± 7.5	9.7 ± 4.5	5.0 ± 2.0	11.3 ± 3.1	
	5.0	-	26.0 ± 7.0	21.3 ± 8.3	90.3 ± 8.3	4.3 ± 1.5	3.0 ± 0.0	9.3 ± 1.2	
	10	-		13.3 ± 2.5	101.7 ± 20.3	4.3 ± 2.1		9.3 ± 2.9	
	50	-		2.7 ± 3.1	2.3 ± 0.6	0.0 ± 0.0		3.0 ± 2.6	
対照 (脱イオン水)	0	+	152.6 ± 18.1	21.2 ± 4.6	115.4 ± 17.0	12.8 ± 3.6	7.0 ± 3.3	20.6 ± 6.1	
検体	0.05	+	149.0 ± 13.0						
	0.1	+	158.3 ± 19.9			11.3 ± 2.5	7.3 ± 1.5		
	0.5	+	137.0 ± 10.8	21.7 ± 6.1	107.3 ± 14.6	14.5 ± 2.1	9.3 ± 1.5	19.5 ± 4.9	
	1.0	+	131.7 ± 9.2	22.3 ± 3.2	115.3 ± 9.0	16.3 ± 1.5	9.3 ± 2.5	15.3 ± 3.1	
	5.0	+	23.3 ± 9.6	20.7 ± 1.5	111.0 ± 15.1	7.7 ± 2.1	7.0 ± 1.7	21.0 ± 4.0	
	10	+	0.0 ± 0.0	19.3 ± 2.9	112.0 ± 11.3	5.7 ± 1.5	6.0 ± 4.6	16.7 ± 3.5	
	50	+		14.0 ± 3.6	28.3 ± 3.2	2.0 ± 1.0	0.0 ± 0.0	8.5 ± 2.1	
	100	+		5.3 ± 2.5	3.7 ± 2.1			1.7 ± 1.5	
陽性 対照	AF2	0.01	↑↑1266.7 ± 58.7		↑↑601.3 ± 36.4				
	ENNG	5.0		↑↑205.3 ± 42.2					
	4NQO	0.2	-						
		0.25	-				14.7 ± 2.1		
	4NPD	5.0	-				↑↑120.7 ± 21.2		
	2AA	0.5	+			↑↑402.0 ± 60.8		↑↑240.7 ± 34.2	↑↑143.7 ± 21.2
		2.0	+		↑↑134.7 ± 8.7		↑↑225.7 ± 30.6		
80		+	↑↑946.7 ± 59.7						

陽性対照物質

- AF2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
- ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
- 4NQO: 4-ニトロキノリン-N-オキシド
- 4NPD: 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン
- 2AA: 2-アミノアントラセン

統計解析:

Dunnett の検定を実施した (↑p<0.05, ↑↑p<0.01)。

3) ジクワットジブロミドの細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-34)

試験機関：

報告書作成年：1986年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) 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。

検体は脱イオン水に溶解し、ジクワットジブロミド濃度として試験 1 は S9 mix 存在下および非存在下ともに 0.064~100 µg/プレート の範囲の 6 濃度で実施した。試験 2 は S9 mix 存在下および非存在下の TA98 および 100 株、S9 mix 存在下の TA1535 株については 0.0128~20 µg/プレート、S9 mix 存在下および非存在下の TA1537 および 1538 株、S9 mix 非存在下の TA1535 株については 0.00256~8.0 µg/プレートの範囲のそれぞれ 6 濃度で実施した。試験はいずれも 3 連制 (但し、溶媒対照群は 5 連、陽性対照群は 2 連) とし、プレート法で行った。

なお、少なくとも 1 用量で (溶媒対照プレートについて認められるものよりも) 平均復帰変異コロニー数/プレートが 2 倍以上増加した場合、あるいは復帰突然変異体数が統計的有意な用量依存性に増加した場合、いずれの場合も再現性が認められた場合に陽性と判定した。

用量設定根拠；

試験結果：結果を次表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

<オリジナル報告書の記載>

2回の試験において、検体は S9 mix の有無にかかわらず、少なくとも最高用量で毒性が認められるいずれの用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を有意に増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)、アクリジン突然変異誘発物質 ICR191 (ICR191)、塩酸ダウノマイシン (DR)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (4-NPD) および 2-アミノアントラセン (2AA) では、各試験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、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

試験 1 (表中の数値は 3 反復の平均値 ± 標準偏差 (溶媒対照群は 5 反復、陽性対照物質は 2 反復))

薬物	濃度 (μg シクワット シプロロミド / プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (脱イオン水)	0	—	28.0 ± 3.8	113.4 ± 4.1	13.4 ± 3.0	6.4 ± 2.9	14.4 ± 1.9	
検体	0.064	—	27.7 ± 5.7	110.0 ± 11.3	13.7 ± 2.1	4.7 ± 1.5	11.3 ± 4.2	
	0.32	—	21.7 ± 6.4	121.3 ± 9.3	11.7 ± 3.1	3.7 ± 1.2	18.3 ± 2.1	
	1.6	—	16.0 ± 4.0	100.3 ± 21.5	10.3 ± 3.8	2.3 ± 1.2	16.3 ± 0.6	
	8.0	—	6.0 ± 2.0	24.3 ± 26.5	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6	7.7 ± 1.5	
	20	—	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.6	1.0 ± 1.7	
	100	—	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
対照 (脱イオン水)	0	+	20.8 ± 2.4	117.8 ± 7.2	12.8 ± 3.9	7.4 ± 3.6	17.2 ± 3.3	
検体	0.064	+	20.3 ± 1.2	128.0 ± 14.9	10.0 ± 4.0	9.0 ± 3.0	13.5 ± 2.1	
	0.32	+	18.7 ± 2.5	↑141.0 ± 21.0	11.3 ± 3.2	5.7 ± 4.2	15.3 ± 1.5	
	1.6	+	19.0 ± 1.0	136.0 ± 16.4	5.7 ± 1.5	8.3 ± 2.5	13.0 ± 2.6	
	8.0	+	14.0 ± 4.4	72.3 ± 12.1	1.3 ± 1.2	1.3 ± 0.6	13.0 ± 5.6	
	20	+	3.0 ± 2.6	16.3 ± 11.6	0.7 ± 0.6	0.0 ± 0.0	8.7 ± 3.8	
	100	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
陽性 対照	MNNG	1.0	—	↑↑231.0 ± 67.9	↑↑254.0 ± 86.3			
		2.0	—	↑↑1435.5 ± 631.4	↑↑1048.0 ± 79.2			
		5.0	—	↑↑2094.0 ± 97.6	↑↑1638.5 ± 40.3			
	ICR191	0.5	—			↑↑63.0 ± 7.1		
		1.0	—			↑↑84.5 ± 37.5		
		2.0	—			↑↑324.5 ± 65.8		
	4NPD	1.0	—				↑↑38.5 ± 0.7	
		2.0	—				↑↑88.5 ± 13.4	
		5.0	—				↑↑167.5 ± 37.5	
	DR	0.2	—					↑↑229.0 ± 42.4
		0.5	—					↑↑674.5 ± 101.1
		1.0	—					↑↑1127.5 ± 78.5
	2AA	0.2	+		↑↑212.0 ± 11.3		↑↑67.0 ± 17.0	↑↑95.5 ± 0.7
		0.5	+	↑↑49.0 ± 2.8	↑↑635.0 ± 22.6	↑↑39.5 ± 10.6	↑↑217.5 ± 36.1	↑↑331.5 ± 10.6
		1.0	+	↑↑102.5 ± 4.9	↑↑1167.5 ± 55.9	↑↑84.5 ± 0.7	↑↑521.5 ± 24.7	↑↑794.5 ± 187.4
		2.0	+	↑↑127.0 ± 4.2		↑↑188.5 ± 6.4		

陽性対照物質

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

ICR191 : アクリジン突然変異誘発物質 ICR191

4NPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

DR : 塩酸ダウノマイシン

2AA : 2-アミノアントラセン

統計解析 :

Dunnett の検定を実施した (↑p<0.05、↑↑p<0.01)。

試験 2 (表中の数値は 3 反復の平均値 ± 標準偏差 (溶媒対照群は 5 反復、陽性対照物質は 2 反復))

薬物	濃度 (μg ジクワットジ プロミド/プレ ート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照(脱イオン水)	0	—	21.0 ± 5.4	109.2 ± 10.9	19.2 ± 4.0	8.6 ± 3.9	27.0 ± 2.6	
検体	0.00256	—	23.3 ± 5.5		18.3 ± 7.6	9.0 ± 3.0		
	0.0128	—	24.3 ± 3.1	109.0 ± 2.0	14.7 ± 1.2	11.0 ± 0.0	30.0 ± 4.4	
	0.064	—	18.3 ± 4.0	115.3 ± 6.7	14.3 ± 1.5	7.0 ± 2.6	25.7 ± 3.5	
	0.32	—	24.7 ± 5.1	93.3 ± 17.0	16.7 ± 6.0	9.3 ± 3.2	26.0 ± 2.6	
	1.6	—	18.0 ± 5.3	106.7 ± 10.0	9.3 ± 2.1	4.0 ± 2.6	20.7 ± 1.5	
	8.0	—	10.3 ± 2.5	78.7 ± 6.1	3.0 ± 1.7	0.3 ± 0.6	20.3 ± 4.9	
	20	—		10.3 ± 11.8			8.7 ± 3.1	
対照(脱イオン水)	0	+	18.0 ± 5.2	113.2 ± 7.1	12.2 ± 5.8	8.0 ± 2.0	17.2 ± 3.0	
検体	0.00256	+			11.3 ± 3.8	6.0 ± 1.0		
	0.0128	+	18.3 ± 2.5	105.7 ± 8.5	8.0 ± 5.3	6.7 ± 2.5	13.0 ± 2.6	
	0.064	+	23.3 ± 3.1	120.0 ± 19.5	11.0 ± 2.6	8.3 ± 1.5	13.3 ± 0.6	
	0.32	+	21.3 ± 3.1	115.3 ± 4.0	13.7 ± 4.6	8.0 ± 1.0	16.3 ± 4.5	
	1.6	+	20.3 ± 9.1	122.0 ± 13.5	5.3 ± 0.6	9.7 ± 3.2	17.7 ± 7.5	
	8.0	+	19.3 ± 3.8	110.3 ± 16.0	5.0 ± 1.0	6.7 ± 6.1	15.0 ± 2.6	
	20	+	10.3 ± 9.3	25.3 ± 9.3			8.0 ± 3.0	
陽性対照	MNNG	1.0	—	33.5 ± 12.0	131.0 ± 2.8			
		2.0	—	↑↑568.5 ± 425.0	↑↑858.5 ± 440.5			
		5.0	—	↑↑1668.5 ± 341.5	↑↑1596.0 ± 121.6			
	ICR191	0.5	—			↑↑50.0 ± 9.9		
		1.0	—			↑↑96.0 ± 0.0		
		2.0	—			↑↑128.5 ± 89.8		
	4NPD	1.0	—				↑↑50.0 ± 4.2	
		2.0	—				↑↑79.0 ± 24.0	
		5.0	—				↑↑151.5 ± 33.2	
	DR	0.2	—					↑↑185.5 ± 6.4
		0.5	—					↑↑500.5 ± 40.3
		1.0	—					↑↑744.5 ± 79.9
	2AA	0.2	+		147.0 ± 5.7		23.5 ± 2.1	↑31.5 ± 7.8
		0.5	+	↑32.0 ± 17.0	↑↑330.0 ± 73.5	↑26.5 ± 0.7	↑↑101.5 ± 46.0	↑↑148.5 ± 29.0
		1.0	+	↑↑76.0 ± 12.7	↑↑700.0 ± 77.8	↑↑67.0 ± 17.0	↑↑371.0 ± 124.5	↑↑473.0 ± 65.1
		2.0	+	↑↑102.0 ± 11.3		↑↑196.5 ± 37.5		

陽性対照物質

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

ICR191 : アクリジン突然変異誘発物質 ICR191

4NPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

DR : 塩酸ダウノマイシン

2AA : 2-アミノアントラセン

統計解析 :

Dunnett の検定を実施した (↑p<0.05, ↑↑p<0.01)。

(資料 No.T-35)

4) ジクワットジブロミドのマウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験

試験機関：

報告書作成年：1986年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリフルオロチミジン (TFT) 存在下でのコロニー増殖を指標とするチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子座の突然変異誘発性を検定した。検体は生理食塩水に溶解し、S9 mix 存在下および非存在下ともに、検体で2時間処理した。試験はマイクロウェル法を用いて2回行った。

陰性対照群を上回る突然変異頻度の統計学的に有意な増加が最高用量で繰り返し認められ、>20%生存率を伴う場合、下記の基準1、2および3も満たすという条件で、突然変異誘発性ありとみなすことができる。

- 1) 陰性対照データが自然突然変異頻度の正常範囲内にあること。
- 2) 陽性対照が予想通りの反応を示すこと。
- 3) 発現期間後の溶媒対照のコロニー形成率が>50%であること。
- 4) 突然変異頻度の有意な用量依存的増加がある濃度域で認められること。
- 5) 溶媒対照群と比較して、変異が認められなかったウェル数の用量依存的な減少（反対に変異対数の絶対値の増加）がある濃度域で認められること。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

S9 mix 非存在下では、試験1において、50 µg/mL で強い細胞毒性が認められ（平均生

存率 23%、プレート検定では 16%の生存率)、溶媒対照の 3.5 倍の突然変異頻度の増加がみられたが、統計学的有意差は認められなかった。このような 3 倍以上の増加は生物学的に有意であると思われるが、試験 2 において同濃度の 50 µg/mL で再現性は認められなかった。いずれの試験においても、これ以下の濃度では統計学的あるいは生物学的に有意な突然変異頻度の増加は認められなかった。

S9 mix 存在下では、試験 1 および 2 において、25 µg/mL の濃度でそれぞれ溶媒対照群の 2.7 倍および 2.3 倍のわずかではあるが、統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められた。しかし、これらの増加もまた、強い細胞毒性を伴うものであった（平均生存率はそれぞれ 20%および 16%）。これ以下の濃度では、統計学的または生物学的に有意な突然変異頻度の増加は認められなかった。

以上のデータは突然変異が予想されうる最高濃度（S9 mix 存在下 25 µg/mL、S9 mix 非存在下 50 µg/mL）のみでの突然変異頻度のわずかな増加を示しており、さらに、試験 1 の最高濃度で認められた突然変異頻度の増加は変異体数の絶対値のわずかな増加を伴ったが、そのような増加は試験 2 では認められず、突然変異頻度の増加が細胞生存率の低下によって引き起こされたことが示唆された。全体的にみて、一貫性のある生物学的かつ統計学的に有意な突然変異頻度の増加は認められなかった。

従って、再現性のある有意な用量反応性あるいは変異体数の絶対値の増加を伴う突然変異頻度の増加が認められるという基準に適合しないことから、本試験における反応は陰性であると考えられた。

一方、陽性対照である N-ニトロソジメチルアミン（S9 mix 存在下）およびメタンスルホン酸エチル（S9 mix 非存在下）では、突然変異頻度の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

試験 1

薬物	濃度 (μg シグレット ジプロミド/mL)	S9 mix の有無	相対細胞 ^{a)} 生存率 (%)	コロニー ^{b)} 形成率 (%)	突然変異 ^{c)} 陰性ウェル数 /プレート	突然変異頻度 ($\times 10^{-4}$)
溶媒対照 (生理食塩水)	0	—	100	50	159	2.2
検体	6.25	—	67	74	160	1.1
	12.5	—	76	57	144	2.7
	25	—	56	57	148	2.4
	50	—	23	40	118	7.7
	100	—	1	—	—	—
傾向検定の結果 (試験 1)						*
陽性対照 (EMS)	1000	—	47	69	23	14.6*
溶媒対照 (生理食塩水)	0	+	100	65	149	2.0
検体	3.125	+	105	61	157	1.7
	6.25	+	99	56	152	2.3
	12.5	+	63	69	130	2.7
	25	+	20	49	123	5.3**
	50	+	5	—	—	—
傾向検定の結果 (試験 1)						**
陽性対照 (DMN)	0.9 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	+	37	27	99	16.8**

a) : (i) および (ii) の 2 回の生存率測定データの平均値

(i) マルチウェルプレート生存率 ; 処理直後、96 ウェルのマルチウェルプレート 1 枚を用いて算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

(ii) 浮遊液細胞増殖生存率 ; 72 時間の発現期間後の細胞数データから算出した生存率 (溶媒対照に対する増殖の割合 (%))

b) : 発現期間後、96 マイクロウェルプレート 1 枚当たりの細胞増殖を示したウェル数の割合 (%)

c) : 96 マイクロウェルプレート 2 枚のコロニーの生じていないウェル数の合計

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMN : N-ニトロジメチルアミン

統計解析 :

カイ二乗検定および傾向検定を実施した (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。

試験 2

薬物	濃度 (μg ジクロット ジプロミド /mL)	S9 mix の有無	相対細胞 ^{a)} 生存率 (%)	コロニー ^{b)} 形成率 (%)	突然変異 ^{c)} 陰性ウェル数/プレート	突然変異頻度 ($\times 10^{-4}$)
溶媒対照 (生理食塩水)	0	—	100	60	156	1.8
検体	6.25	—	80	66	145	2.1
	12.5	—	82	58	153	2.1
	25	—	59	59	119	4.2
	50	—	40	35	154	4.0
	100	—	2	—	—	—
傾向検定の結果 (試験 2)						NS
傾向検定の結果 (試験 1 および 2)						*
陽性対照 (EMS)	1000	—	45	53	35	18.0
溶媒対照 (生理食塩水)	0	+	100	63	142	2.5
検体	3.125	+	83	77	145	1.5
	6.25	+	89	60	146	2.4
	12.5	+	65	35	170	2.2
	25	+	16	34	142	5.7**
	50	+	5	—	—	—
傾向検定の結果 (試験 1)						**
傾向検定の結果 (試験 1 および 2)						**
陽性対照 (DMN)	0.9 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	+	33	31	69	21.9

a) : (i) および (ii) の 2 回の生存率測定データの平均値

(i) マルチウェルプレート生存率 ; 処理直後、96 ウェルのマルチウェルプレート 1 枚を用いて算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

(ii) 浮遊液細胞増殖生存率 ; 72 時間の発現期間後の細胞数データから算出した生存率 (溶媒対照に対する増殖の割合 (%))

b) : 発現期間後、96 マイクロウェルプレート 1 枚当たりの細胞増殖を示したウェル数の割合 (%)

c) : 96 マイクロウェルプレート 2 枚のコロニーの生じていないウェル数の合計

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMN : N-ニトロソジメチルアミン

統計解析 :

カイ二乗検定および傾向検定を実施した (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, NS 有意差なし)。

(資料 No.T-36)

5) ジクワットジプロミドのマウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験

試験機関：

報告書作成年：1986年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリフルオロチミジン (TFT) 存在下でのコロニー増殖を指標とするチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子座の突然変異誘発性を検定した。検体は生理食塩水に溶解し、S9 mix 存在下および非存在下ともに、検体で2時間処理した。試験はマイクロウェル法を用いて3回行った。

陰性対照群を上回る突然変異頻度の統計学的に有意な増加が最高用量で繰り返し認められ、>20%生存率を伴う場合、下記の基準1、2および3も満たすという条件で、突然変異誘発性ありとみなすことができる。

- 1) 陰性対照データが自然突然変異頻度の正常範囲内にあること。
- 2) 陽性対照が予想通りの反応を示すこと。
- 3) 発現期間後の溶媒対照のコロニー形成率が>50%であること。
- 4) 突然変異頻度の有意な用量依存的増加がある濃度域で認められること。
- 5) 溶媒対照群と比較して、変異が認められなかったウェル数の用量依存的な減少（反対に変異対数の絶対値の増加）がある濃度域で認められること。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

S9 mix 非存在下、用量依存性の細胞毒性が認められた。突然変異の評価のための有効用量域 (OECD ガイドライン 1984 および UKEMS ガイドライン 1983) は S9 mix 非存

在下では 6.25~50 µg/mL であった。突然変異頻度の生物学的に有意な増加が、試験 2 および試験 3 においてのみ、最高用量であるそれぞれ 50 および 25 µg/mL で認められた。しかし、これら 2 回の試験では、これらの用量で重度の細胞毒性が認められ（平均生存率はそれぞれ 8 および 16%）、変異体の絶対数の増加が認められたのは試験 3 においてのみであった。重度の細胞毒性を引き起こす用量のみで認められた変異頻度の増加は、哺乳類細胞を用いた突然変異試験において陽性反応と判定するには不十分であると一般的に認められている。また、より低用量では、対照と比較したときの変異頻度の増加の最高値は 2.8 倍であり、これは試験 3 で認められたが、他の 2 回の試験では、同じ用量で再現されず、再現性のある用量反応性はなかった。

S9 mix 存在下では用量依存性の細胞毒性が認められ、突然変異の評価のための有効用量域は 6.25~25 µg/mL で、3.125 µg/mL では細胞毒性はほとんど認められなかった。突然変異頻度の生物学的に有意な増加が試験 2 および試験 3 においてのみそれぞれ最高用量である 25 および 12.5 µg/mL で認められた。これらの用量でも高レベルの細胞毒性（生存率はそれぞれ 12 および 23%）が認められたが、変異体の絶対数の増加は認められなかった。試験 2 および試験 3 のこれより低用量では、対照と比較して変異頻度のわずかな増加の徴候が認められた。変異頻度における生物学的に有意な唯一の増加は試験 2 の 6.25 µg/mL で認められた 3.2 倍であったが、これは他の 2 回の試験では再現されなかった。変異体の絶対数の増加（突然変異陰性ウエル数/プレートの減少）は試験 3 の 6.25 µg/mL でのみ認められたが、これは生物学的または統計的に有意な変異頻度の増加を伴わなかった。3 回の試験を通して、細胞毒性の強い濃度を除くと、変異体の用量反応性の増加および絶対数の増加は再現できなかった。

変異頻度に関して、唯一再現性のある生物学的または統計的に有意な増加は、最高用量で認められたが、この用量ではまた、重度の細胞毒性も認められた。このような変異頻度の増加は、変異体の絶対数の増加ではなく、細胞生存率の低下が原因と考えられた。

従って、以上のデータは、再現性のある有意な用量反応性あるいは変異体数の絶対値の増加を伴う突然変異頻度の増加が認められるという基準に適合しないことから、本試験における反応は陰性であると考えられた。

一方、陽性対照である N-ニトロソジメチルアミンおよびベンゾ(α)ピレン (S9 mix 存在下) およびメタンスルホン酸エチル (S9 mix 非存在下) では突然変異頻度の顕著な増加が認められた。但し、試験 1 のベンゾ(α)ピレンでは突然変異頻度の十分な増加が認められなかったが、S9 mix 存在下におけるもう一つの陽性対照物質である N-ニトロソジメチルアミンでは突然変異頻度の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

試験 1

薬物	濃度 (μg ジクワット ジプロミド/mL)	S9 mix の有無	相対細胞 ^{a)} 生存率 (%)	コロニー ^{b)} 形成率 (%)	突然変異 ^{c)} 陰性ウェル数/プレート	突然変異頻度 ($\times 10^{-4}$)
溶媒対照 (生理食塩水)	0	—	100	75	131	2.2
検体	6.25	—	100	81	154	1.1
	12.5	—	82	78	153	1.2
	25	—	76	68	152	1.7
	50	—	28	53	138	3.5
	100	—	0	—	—	—
傾向検定 (試験 1)						NS
陽性対照 (EMS)	1000	—	69	48	30	22.8**
溶媒対照 (生理食塩水)	0	+	100	52	150	2.7
検体	6.25	+	89	73	155	1.3
	12.5	+	66	78	143	1.6
	25	+	22	61	144	2.4
	50	+	2	—	—	—
	100	+	0	—	—	—
傾向検定 (試験 1)						NS
陽性対照 (BaP)	6	+	34	64	113	4.2 ^{d)}
陽性対照 (DMN)	0.9 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	+	38	35	99	12.1*

—: 強い細胞毒性が認められたため、測定実施せず。

a): (i) および (ii) の 2 回の生存率測定データの平均値

(i) マルチウェルプレート生存率; 処理直後、96 ウェルのマルチウェルプレート 1 枚を用いて算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

(ii) 浮遊液細胞増殖生存率; 72 時間の発現期間後の細胞数データから算出した生存率 (溶媒対照に対する増殖の割合 (%))

b): 発現期間後、96 マイクロウェルプレート 1 枚当たりの細胞増殖を示したウェル数の割合 (%)

c): 96 マイクロウェルプレート 2 枚のコロニーの生じていないウェル数の合計

d): ベンゾ (α) ピレンでは突然変異頻度の十分な増加が認められなかったが、S9 mix 存在下におけるもう一つの陽性対照物質である N-ニトロソジメチルアミンでは突然変異頻度の顕著な増加が認められた。

EMS: メタンスルホン酸エチル

BaP: ベンゾ (α) ピレン

DMN: N-ニトロソジメチルアミン

統計解析:

カイ二乗検定および傾向検定を実施した (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, NS 有意差なし)。

試験 2

薬物	濃度 (μg ジクワットジ プロミド / mL)	S9 mix の有無	相対細胞 ^{a)} 生存率 (%)	コロニー ^{b)} 形成率 (%)	突然変異 ^{c)} 陰性ウェル数/プレート	突然変異頻度 ($\times 10^{-4}$)
溶媒対照 (生理食塩水)	0	—	100	50	151	2.8
検体	6.25	—	89	43	141	4.4
	12.5	—	75	39	152	3.8
	25	—	42	42	144	4.3
	50	—	8	10	137	24.5**
傾向検定 (試験 2)						*
陽性対照 (EMS)	1000	—	71	25	46	39.7**
溶媒対照 (生理食塩水)	0	+	100	51	164	1.8
検体	3.125	+	105	36	150	4.4
	6.25	+	65	33	144	5.7
	12.5	+	40	43	165	2.2
	25	+	12	7	161	18.6*
傾向検定 (試験 2)						NS
陽性対照 (B α P)	6	+	32	34	92	14.0**
陽性対照 (DMN)	0.9 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	+	20	10	76	67.4**

a) : (i) および (ii) の 2 回の生存率測定データの平均値

(i) マルチウェルプレート生存率 ; 処理直後、96 ウェルのマルチウェルプレート 1 枚を用いて算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

(ii) 浮遊液細胞増殖生存率 ; 72 時間の発現期間後の細胞数データから算出した生存率 (溶媒対照に対する増殖の割合 (%))

b) : 発現期間後、96 マイクロウェルプレート 1 枚当たりの細胞増殖を示したウェル数の割合 (%)

c) : 96 マイクロウェルプレート 2 枚のコロニーの生じていないウェル数の合計

EMS : メタンスルホン酸エチル

B α P : ベンゾ (α) ピレン

DMN : N-ニトロソジメチルアミン

統計解析 :

カイ二乗検定および傾向検定を実施した (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)。

試験 3

薬物	濃度 (μg シックワットジ プロット/mL)	S9 mix の有無	相対細胞 ^{a)} 生存率 (%)	コロニー ^{b)} 形成率 (%)	突然変異 ^{c)} 陰性ウェル数/プレート	突然変異頻度 ($\times 10^{-4}$)
溶媒対照 (生理食塩水)	0	—	100	51	140	3.5
検体	6.25	—	82	33	127	8.2
	12.5	—	44	36	110	9.8*
	25	—	16	24	83	24.5**
	50	—	1	—	—	—
傾向検定 (試験 3)						**
傾向検定 (試験 1、2 および 3)						**
陽性対照 (EMS)	1000	—	37	18	13	110.5**
溶媒対照 (生理食塩水)	0	+	100	46	144	3.8
検体	3.125	+	90	39	140	5.2
	6.25	+	64	46	96	9.0
	12.5	+	23	13	136	20.7
	25	+	3	—	—	—
傾向検定 (試験 3)						*
傾向検定 (試験 1、2 および 3)						NS
陽性対照 (BaP)	6	+	24	36	69	18.1*
陽性対照 (DMN)	0.9 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	+	29	13	52	78.3**

— : 強い細胞毒性が認められたため、測定実施せず。

a) : (i) および (ii) の 2 回の生存率測定データの平均値

(i) マルチウェルプレート生存率 ; 処理直後、96 ウェルのマルチウェルプレート 1 枚を用いて算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

(ii) 浮遊液細胞増殖生存率 ; 72 時間の発現期間後の細胞数データから算出した生存率 (溶媒対照に対する増殖の割合 (%))

b) : 発現期間後、96 マイクロウェルプレート 1 枚当たりの細胞増殖を示したウェル数の割合 (%)

c) : 96 マイクロウェルプレート 2 枚のコロニーの生じていないウェル数の合計

EMS : メタンスルホン酸エチル

BaP : ベンゾ(α)ピレン

DMN : N-ニトロソジメチルアミン

統計解析 :

カイ二乗検定および傾向検定を実施した (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、NS 有意差なし)。

(資料 No.T-37)

6) ジクワットジプロミドの培養ヒト末梢リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

試験機関：

報告書作成年：1986年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：健康な男女各1名のドナー（男性ドナー1および女性ドナー2）から得られた培養ヒト末梢血リンパ球を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系（S9 mix）の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体は生理食塩水に溶解して用いた。

観察は1濃度あたり可能な限り200個（2連で各100個、但し、陽性対照群については陽性反応が十分に確認できる細胞数）の分裂中期像について行い、3試験（試験1；S9 mix 非存在下におけるドナー1の試験、試験2；S9 mix 非存在下におけるドナー2の試験、試験3；S9 mix 存在下におけるドナー1および2の試験）を実施した。

用量設定根拠；

試験結果：結果を表1に示した。

S9 mix 非存在下では、ドナー1において267.4および107.0 µg イオン/mL 処理群で染色体異常を有する細胞の出現率に統計学的に有意な増加が認められた。26.7 µg イオン/mL 処理群では、異常細胞の出現率に有意な増加は認められなかった。ドナー2では107.0 µg イオン/mL 群で染色体異常がわずかに増加したが、統計学的有意差は認められ

ず、また、生物学的にも重要とは考えられなかった。53.5 および 13.4 μ g イオン/mL 処理群では異常細胞の出現率に増加は認められなかった。

S9 mix 存在下では、ドナー1において 267.4 および 107.0 μ g イオン/mL 処理群で、ドナー2では 534.7 および 267.4 μ g イオン/mL 処理群で染色体異常を有する細胞の出現率に有意な増加が認められた。ドナー2の 107.0 μ g イオン/mL 処理群では異常細胞の出現率に増加は認められなかった。両ドナーの 26.7 μ g イオン/mL 処理群では、異常細胞の出現率に統計学的に有意な、あるいは生物学的に重要と考えられる増加は認められなかった。

以上のように、S9 mix 存在下および非存在下ともに、染色体異常が認められたのは、細胞分裂が40%以上抑制されるような顕著な細胞毒性が認められた比較的高い用量のみに限られていたこと、また、細胞毒性がほとんど認められないMTDの約10分の1の用量では染色体異常が認められなかったことから、検体の染色体異常誘発性は細胞毒性に関連したものであることが示された。

一方、陽性対照のシクロホスファミドおよびマイトマイシンC処理群では染色体異常を有する細胞の出現率に明らかな増加が認められた。

以上のことから、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下において、顕著な細胞毒性を示す高用量でヒト培養リンパ球に染色体異常誘発性を有するが、細胞毒性を示さない用量では染色体異常誘発性を有さないと考えられた。

表1 染色体異常試験結果

試験	ドナー	薬物	濃度 (μg 俵/mL)	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S9 mixの有無	構造異常						異常細胞 (%) ¹⁾	分裂指数 (%) ²⁾			
								異常を有する細胞数										
								ギャップ	切断	断片/微小断片	多重異常	交換	その他					
1	1	溶媒対照 (生理食塩水)	— ³⁾	27	28	100	—	0	1	0	0	0	0	1.0	11.5			
						100		2	1	0	0	0	0					
		検体	26.7			100		1	0	0	0	0	0	9.5				
						100		1	0	0	0	0						
						100		6	3	2	0	0	6.0**	7.0				
						100		5	4	5	0	0						
						100		5	12	4	0	1	16.0**	4.0				
						100		7	7	12	0	0						
陽性対照 (MMC)	0.5	25	5	5	9	0	0	3	48.0	6.0								
2	2	溶媒対照 (生理食塩水)	— ³⁾	27	28	100	—	3	0	1	0	0	0	1.0	9.5			
						100		2	1	0	0	0	0					
		検体	13.4			100		1	0	0	0	0	0.50	10.0				
						100		1	1	0	0	0						
						92		5	0	0	0	0	0.45	7.5				
						130		5	0	1	0	0						
						87		4	2	2	0	0	3.94	4.5				
						40		1	1	2	0	0						
		陽性対照 (MMC)	0.5			53		1	5	10	2	1	0	30.19	6.0			
		3	1			溶媒対照 (生理食塩水)		— ³⁾	3	28	100	+	1	0	0	0	0	2.5
100	6			3	2		0				0		0					
検体	26.7			100	1	1	1	0			0		3.5	8.0				
				100	4	0	5	0			0							
				100	2	4	3	0			0		6.5*	6.5				
				100	10	4	4	0			0							
				100	14	9	10	0			0		14.79**	5.0				
				42	1	4	1	0			0							
陽性対照 (CP)	50		32	1	14	12	0	3			2		68.75	3.0				
2	溶媒対照 (生理食塩水)		— ³⁾	3	28	100	+	3			0		2	0	0	0	1.5	10.5
						100		3			1		0	0	0	0		
	検体		26.7			100		2			0		1	0	0	3.50	10.5	
						100		3			4		2	1	0			0
						100		2			1		1	0	0	3.50	6.5	
		100				2		1	4	0	0							
		57				9		1	4	0	0	7.38**	5.5					
		65				3		1	4	0	0			1				
		25				3		6	5	0	0	24.29**	2.5					
		45				3		9	2	0	0			1				
陽性対照 (CP)	50	28	11	12	11	0	0	5	67.86	3.0								

対照群との有意差検定は Fisher の直接確率検定 (片側検定) を用いて行った (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)。

- 1) : ギャップを除く異常細胞
- 2) : 細胞 1000 個中の分裂中期細胞の割合
- 3) : 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$
- MMC : マイトマイシン C
- CP : シクロホスファミド

(資料 No.T-38)

7) ジクワットジプロミドの培養ヒト末梢リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

試験機関：

報告書作成年：1986年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：健康な男女各1名のドナー（男性ドナー1 および女性ドナー2）から得られた培養ヒト末梢血リンパ球を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系（S9 mix）の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体は生理食塩水に溶解して用いた。

観察は1濃度あたり可能な限り200個（2連で各100個、但し、陽性対照群については陽性反応が十分に確認できる細胞数）の分裂中期像について行い、2試験（試験1；S9 mix 存在下および非存在下におけるドナー1の試験、試験2；S9 mix 存在下および非存在下におけるドナー2の試験）を実施した。

用量設定根拠；

試験結果：結果を表1に示した。

S9 mix 非存在下では、ドナー1において129 および64.5 μg イオン/mL 処理群で、また、ドナー2では129 および25.8 μg イオン/mL 処理群で染色体異常を有する細胞の出現率に統計学的に有意な増加が認められた。12.9 μg イオン/mL 処理群では、いずれのドナーにおいても、異常細胞の出現率に有意な増加は認められなかった。

S9 mix 存在下では、ドナー1において129 および64.5 μg イオン/mL 処理群で、ドナー2では129 μg イオン/mL 処理群で染色体異常を有する細胞の出現率に統計学的に有意

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

な増加が認められた。両ドナーの 12.9 µg イオン/mL 処理群およびドナー2 の 25.8 µg イオン/mL 処理群では異常細胞の出現率に生物学的に重要な増加は認められなかった。以上のように、S9 mix 存在下および非存在下ともに、染色体異常が認められたのは、細胞分裂が 40%以上抑制されるような顕著な細胞毒性が認められた比較的高い用量のみに限られていたこと、また、細胞毒性がほとんど認められない MTD の約 10 分の 1 の用量では染色体異常が認められなかったことから、検体の染色体異常誘発性は細胞毒性に関連したものであることが示された。

一方、陽性対照のシクロホスファミドおよびマイトマイシン C 処理群では染色体異常を有する細胞の出現率に明らかな増加が認められた。

以上のことから、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下において、顕著な細胞毒性を示す高用量でヒト培養リンパ球に染色体異常誘発性を有するが、細胞毒性を示さない用量では染色体異常誘発性を有さないと考えられた。

表1 染色体異常試験結果

試験	ドナー	薬物	濃度 (μg / mL)	処理 時間 (h)	標本製 作時間 (h)	観察 細胞 数	S9 mix の有無	構造異常						異常細胞 (%) ¹⁾	分裂 指数 (%) ²⁾					
								異常を有する細胞数												
								ギャ ップ	切 断	断片 / 微小 断片	多 重 異 常	交 換	そ の 他							
1	1	溶媒対照 (生理食塩水)	— ³⁾	28	28	100	—	3	2	0	0	0	0	1.0	10.0					
						100		2	0	0	0	0	0							
		検体	12.9			100		5	3	1	0	0	0	3.0	7.0					
						100		11	0	2	0	0	0							
						100		9	2	3	0	0	0							
						100		7	6	0	0	0	0							
						90		11	10	8	0	0	1							
						100		14	13	3	0	0	1							
		陽性対照 (MMC)	0.5 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			25		8	7	11	0	0	3	60.0**	4.0					
		溶媒対照 (生理食塩水)	— ³⁾			3		28	100	+	4	0	1	0	0	0	0.5	9.5		
									100		1	0	0	0	0	0				
									検体		12.9	100	4	0	0	0	0	0	1.50	6.5
												100	2	1	2	0	0	0		
												67	12	12	2	0	0	0		
100	9			8	0		0					0	0							
64	9			14	9		0					0	1							
84	19			29	5		0					0	0							
陽性対照 (CP)	50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			25	4		5		6		0	0	4	44.0**	3.0					
2	2			溶媒対照 (生理食塩水)	— ³⁾		27		27		100	—	0	0	0	0	0	0	12.0	
		100	1			0		0		0	0		0							
		検体	12.9	100	0	0		0		0	0		0	0	6.5					
				100	0	0		0		0	0		0							
				100	6	2		1		0	0		0							
				100	0	2		0		0	0		0							
				102	7	10		5		0	0		0							
				17	0	0		0		0	0		0							
		陽性対照 (MMC)	0.5 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	100	0	0		4		1	3		1	9.0**	8.0					
		溶媒対照 (生理食塩水)	— ³⁾	3	27	100		+		0	2		0	0	0	0	1.0	12.5		
						100				0	0		0	0	0	0				
						検体				12.9	100		0	0	0	0	0	0	1.0	6.5
											100		0	2	0	0	0	0		
											100		0	0	1	0	0	0		
100	0						1		2		0	0	0							
87	4						6		9		0	0	0							
87	3						4		1		0	0	0							
陽性対照 (CP)	50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	33	0	3	5	0	2	1	21.21**	1.0										

対照群との有意差検定は Fisher の直接確率検定 (片側検定) を用いて行った (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)。

1) : ギャップを除く異常細胞

2) : 細胞 1000 個中の分裂中期細胞の割合

3) : $10 \mu\text{L}/\text{mL}$

MMC : マイトマイシン C

CP : シクロホスファミド

8) ジクワットジプロミド一水和物のラットを用いた *in vivo* 染色体異常試験 (資料 No.T-39)

試験機関:

報告書作成年: 1978 年

報告書番号:

検体純度:

供試動物: Alderley Park ラット、8~10 週齢、体重 150~200 g、一群雄 8 匹

試験方法: 検体を 0.5% Tween 80 水溶液に溶解し、4.4、9.5 および 14.0 mg ジクワットイオン/kg (投与液量; 10 mL/kg) を毎日 1 回、5 日間連続して強制経口投与した。

なお、陰性対照群には溶媒のみ、陽性対照群にはエチルメタンスルホン酸塩 (EMS、200 mg/kg) を同様に投与した。屠殺 2 時間前にコルヒチンを腹腔内投与し、最終投与の 6 時間後に動物を屠殺した。各動物から大腿骨の骨髓を採取して、氷酢酸-メタノール溶液 (1:3) で固定後、ギムザ染色し骨髓標本を作製した。

各動物当たり可能な限り 50 個の分裂中期像を観察し、染色体異常を有する細胞の割合および染色体切断を有する細胞の割合を算出した。

用量設定根拠:

試験結果: 結果を次表に示した。

検体投与群では、いずれの用量においても、染色体異常を有する細胞の割合および染色体切断を有する細胞の割合にいかなる増加も認められなかった。

一方、陽性対照であるエチルメタンスルホン酸塩 (EMS) では、染色体異常を有する細胞の割合および染色体切断を有する細胞の割合のいずれにおいても、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体はラットの骨髓細胞に染色体異常を誘発せず、染色体異常誘発性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

薬物	投与量 (mg シクワット イオン/kg)	投与後 の採取 時間 (hr)	観 察 動 物 数	観 察 細 胞 数	構造異常						
					異常を有する細胞数					異常細胞 (%)	
					ギ ャ ッ プ	切 断	断 片	微 小 断 片	そ の 他	全 異 常	切 断
溶媒対照 (0.5% Tween 80)	0	6	8	366	18	4	1	0	0	5.8	1.0
シクワットジプロミド 一水和物	4.4	6	7 ^{a)}	350	14	2	0	0	0	4.6	0.6
	9.5	6	8	400	23	4	0	0	0	6.8	1.0
	14.0	6	7	350	13	4	2	0	0	4.6	0.9
陽性対照 (EMS)	200 (mg/kg)	6	8	400	57	20	3	0	4	18.5***	5.0*

Student の t 検定 (片側検定) を用いて、対照群との有意差検定を行った。また、染色体切断を有する細胞の割合について、同様の分析を行い、Fisher の直接確率検定を用いて対照群との有意差検定を行った。 (***) : $p < 0.001$ 、* : $p < 0.05$)

EMS : エチルメタンサルホン酸塩

9) ジクワットジプロミドのマウスを用いた小核試験

(資料 No.T-40)

試験機関：

報告書作成年：1986年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：C57BL/6J/Alpk系マウス、試験開始時10～12週齢、
体重；雄18.3～27.6g、雌15.7～22.5g、1群雌雄各5匹

試験方法：検体を脱イオン水に溶解し、62.5および100mgジクワットイオン/kgの投与量（投与液量；10mL/kg）で強制的に単回経口投与した。なお、対照群には脱イオン水を、また、陽性対照群にはシクロホスファミド（65mg/kg）を同様に投与した。

投与24、48および72時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取して、スライドグラス上で風乾後、ポリクロームメチレンブルーおよびエオジンで染色し骨髄標本を作製した。

細胞毒性を調べるために各動物500個の正染性赤血球を数え、正染性赤血球数に対する多染性赤血球の割合を算出した。また、各動物1000個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球を計数した。

投与量設定根拠；

試験結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

いずれの用量あるいはいずれの標本採取時間においても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して、生物学的あるいは統計学的に有意な増加は認められなかった。

なお、100mgジクワットイオン/kg群では全ての標本採取時間、62.5mgジクワットイ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

オン/kg 群では 48 時間および 72 時間の標本採取時間において、正染性赤血球数に対する多染性赤血球数の割合（(PCE/NCE) 比）に生物学的小核を有する多染性赤血球の出現頻度に生物学的小核を有する多染性赤血球の出現頻度におよび統計学的に有意な増加が認められた。

一方、陽性対照であるシクロホスファミドでは、全ての標本採取時間において小核を有する多染性赤血球の出現頻度に生物学的小核を有する多染性赤血球の出現頻度におよび統計学的に有意な増加が認められた。

観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg シクロホスファミド/kg)	観察動物数	MNPCE ^{a)} (平均値 ± SD)	PCE/NCE ^{b)} % (平均値 ± SD)
24	溶媒対照 (脱イオン水)	— ^{c)}	雌雄各 5 匹	1.7 ± 1.8	33.9 ± 4.3
	検体	62.5	雄 5 匹雌 4 匹	1.7 ± 1.3	34.6 ± 5.2
		100	雌雄各 5 匹	2.5 ± 2.2	28.7 ± 2.9 ^{##}
	陽性対照 (シクロホスファミド [*])	65 (mg/kg)	雌雄各 5 匹	19.3 ± 8.8 ^{##}	28.8 ± 6.9 [#]
48	溶媒対照 (脱イオン水)	— ^{c)}	雌雄各 5 匹	2.0 ± 1.2	35.0 ± 6.4
	検体	62.5	雌雄各 5 匹	2.3 ± 1.3	25.2 ± 6.2 ^{##}
		100	雌雄各 5 匹	1.3 ± 1.3	25.9 ± 7.0 ^{##}
	陽性対照 (シクロホスファミド [*])	65 (mg/kg)	雌雄各 5 匹	14.7 ± 6.4 ^{##}	19.1 ± 5.5 ^{##}
72	溶媒対照 (脱イオン水)	— ^{c)}	雌雄各 5 匹	1.6 ± 1.3	36.7 ± 8.8
	検体	62.5	雌雄各 5 匹	1.2 ± 1.1	22.9 ± 5.1 ^{##}
		100	雌雄各 5 匹	2.5 ± 1.7	23.2 ± 1.3 ^{##}
	陽性対照 (シクロホスファミド [*])	65 (mg/kg)	雌雄各 5 匹	3.4 ± 1.8 [#]	21.6 ± 8.0 ^{##}

Student の t 検定 (片側検定) を用いて溶媒対照群との有意差検定を行った (# : P < 0.05, ## : P < 0.01)。

PCE : 多染性赤血球、 NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球

a) 多染性赤血球 1000 個当たりの小核を有する多染性赤血球数

b) 正染性赤血球 500 個当たりの多染性赤血球数の割合

c) 10 mL/kg

以上の結果から、本試験条件下において、検体はマウス骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断された。

10) ジクワットジブロミドのラット肝細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成試験

試験機関:

報告書作成年: 1987 年

報告書番号:

検体純度:

供試動物: Alderley Park ラット (Alpk:AP)、試験開始時 6~10 週齢、体重 214~334 g、検体投与群 1 群雄 4 あるいは 5 匹、溶媒対照群および陽性対照群 1 群雄 1 あるいは 2 匹

試験方法: 検体を脱イオン水に溶解し、225、450 および 900 mg/kg (58.05、116.1 および 232.2mg ジクワットイオン/kg) の投与量 (投与液量 10 mL/kg) で強制的に単回経口投与した。なお、対照群には溶媒のみを、また、陽性対照群には 6-p-ジメチルアミノフェニル-アゾベンゾチアゾール (6BT、40 mg/kg) (溶媒; コーン油) を同様に投与した。

投与 4 時間および 12 時間後に肝臓をコラゲナーゼ溶液で灌流した後に摘出して肝細胞を分離した。WE (Williams E) - 完全培地中で培養した肝細胞を、メチル-³H-チミジンを添加した WE-不完全培地中で 4 時間培養し、さらに非標識チミジンを含む WE-不完全培地中で一晩培養した。その後、細胞を氷酢酸: 無水エタノール (v/v) = 1:3 で固定し、オートラジオグラム用標本を作製した。

各標本につき、少なくとも 25 個 (通常 50 個) の細胞を検査し、可能であれば、各動物 2 標本 (合計 100 個の細胞) を観察した。各細胞につき、核内総粒子数および細胞質粒子数 (隣接した核と同じ大きさの細胞質の最も大量に標識されている区域にある粒子数) を計数し、正味の核内粒子数の平均値 (核内総粒子数 - 細胞質粒子数)、核内総粒子数および細胞質粒子数の平均値、修復細胞 (正味の核内粒子数 5 以上) の割合を算出した。

なお、各用量における正味の核内粒子数の平均値が 3 以上の場合に陽性とみなした。

投与量設定根拠;

試験結果: 結果を次表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

検体投与群のいずれの用量、およびいずれの標本採取時間においても、正味の核内粒子数の平均値および修復細胞の割合に溶媒対照群を上回る顕著な増加は認められず、不定期 DNA 合成の増加は認められなかった。

なお、全ての検体投与群において、正常な形態の細胞数の減少とともに核濃縮および濃く染色した核として現れる様々な程度の肝細胞毒性が認められたことから、十分に高濃度の検体で試験されたと考えられた。

一方、陽性対照である 6-p-ジメチルアミノフェニル-アゾベンゾチアゾールは、正味の核内粒子数および修復細胞の割合を明らかに増加させた。

試験結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg 10/1kg)	観察動物数	核内総粒子数 (平均値 ± SD)	細胞質粒子数 (平均値 ± SD)	正味の核内粒子数 ^{a)} (平均値 ± SD)	修復細胞の割合 ^{b)} (%、平均値 ± SD)	判定
12	溶媒対照 (脱イオン水)	0 ^{c)}	2	5.86 ± 3.32	8.52 ± 4.04	-2.66 ± 0.72	4.00 ± 5.66	/
	検体	58.05	5	4.42 ± 2.05	6.59 ± 2.61	-2.16 ± 0.67	0.40 ± 0.89	-
		116.1	4	4.87 ± 3.59	7.45 ± 4.80	-2.58 ± 1.24	0.25 ± 0.50	-
		232.2	4	3.47 ± 1.70	5.72 ± 2.79	-2.26 ± 1.13	0.50 ± 0.58	-
	陽性対照 (6BT)	40	2	28.99 ± 17.90	10.84 ± 8.78	18.15 ± 9.12	88.50 ± 4.95	+
4	溶媒対照 (脱イオン水)	0 ^{c)}	1	3.89	7.55	-3.66	0	/
	検体	58.05	5	3.37 ± 0.52	5.81 ± 0.98	-2.44 ± 0.50	0.20 ± 0.45	-
		116.1	5	3.22 ± 0.43	5.45 ± 0.61	-2.23 ± 0.41	0	-
		232.2	5	4.84 ± 0.63	7.99 ± 1.47	-3.15 ± 0.91	0.20 ± 0.45	-
	陽性対照 (6BT)	40	1	11.61	6.32	5.29	54.00	+

6BT : 6-p-ジメチルアミノフェニル-アゾベンゾチアゾール

a) : 正味の核内粒子数 = 核内総粒子数 - 細胞質粒子数

b) : 正味の核内粒子数 5 以上の細胞の割合

c) : 10 mL/kg

以上の結果から、本試験条件下において、検体はラット肝細胞に不定期 DNA 合成を誘発せず、DNA 損傷性を示さないと判断された。

11) ジクワットジブロミドの細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No.T-42)

試験機関:

報告書作成年: 1979 年

検体純度:

試験方法: 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の非存在下で、Rec-assay 法を用いて DNA 損傷誘発性を検定した。

検体は滅菌蒸留水に溶解し、2~200 µg/ディスクの範囲の 7 濃度で実施した。

試験結果: 結果を次表に示した。

薬物	濃度 (µg ジクワット ジブロミド/ディスク)	S9 mix の有無	阻止域 (mm)		差 (mm)
			M45	H17	
溶媒対照		—	0	0	0
検体	2	—	0	0	0
	5	—	0	0	0
	10	—	0	0	0
	20	—	0	0	0
	50	—	<1	0	<1
	100	—	2	2	0
	200	—	3	3	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	—	4	3	1
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	—	5	0	5

検体は陰性対照として用いたカナマイシンと同様に、両株に同程度の生育阻止帯を示した。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では組換修復機構保持株 (H17) に比べ修復機構欠損株 (M45) に著明な生育阻止帯を生じた。

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

(14) 生体の機能に及ぼす影響

(資料 No.T-43)

試験機関：

報告書作成年：1990年

報告書番号：

検体純度：

用量設定根拠：

ラットの中樞神経系に対する作用

ラットの行動に及ぼす影響

供試動物：Wistar系ラット (Alpk:APfSD)、6～13週齢、体重 220～275 g、1群雄2匹

投与方法：検体を脱イオン水に溶解して、16～20時間絶食させたラットに0 (溶媒のみ)、160、200、240 および 280 mg/kg (ジクワットイオンとして) を単回経口投与した。投与約1、2、4、6 および 24 時間後、また、それ以降は1日1回7日目まで、あるいは徴候がみられなくなるまで異常姿勢、運動量の増減、歩行異常、痙攣、異常行動、鎮静、衰弱、振戦、流涙、紅涙、重度の流涎、立毛、縮瞳、散瞳、呼吸異常、下痢、尿失禁、発声、音に対する反応、疼痛知覚、体温および体重の変化などを観察した。

結果：160、200、240 および 280 mg/kg 群の全ての動物に毒性症状が認められた。最初に症状がみられたのは投与24時間後で、下痢 (緑便)、流涙、散瞳および立毛が認められた。48時間後には検体投与群の全ての動物に毒性症状がみられた。認められた症状は活動性の低下、呼吸異常、反射の低下、脱水、脱力、体温低下、音に対する

反応性の低下、安定性の低下、腹側部陥凹 (sides pinched in)、脊柱の上方弯曲、身づくろいの欠如および体重減少などであった。280 mg/kg 群の 1 例が 4 日目に衰弱、鎮静、あえぎ呼吸を示したが、各検体投与群の症状の重度および種類に差はほとんどみられなかった。

160、200 および 240 mg/kg 群の各 1 例、および 280 mg/kg 群の 2 例を投与後 3~5 日に切迫屠殺し、また、200 mg/kg 群の 1 例が 5 日目に死亡した。

160 および 240 mg/kg 群の各 1 例の生存動物は投与 7 日目から症状に回復がみられ、17 日目までには正常に回復した。

240 および 280 mg/kg 群の数例では、剖検時に、肺の充血および腸管の退色・膨化などの肉眼的異常がみられた。

ラットにおける筋弛緩作用 (Pull-up 試験)

供試動物：Wistar 系ラット (Alpk:APfSD)、6~13 週齢、体重 315~405 g、1 群雄 10 匹

投与方法：検体を脱イオン水に溶解して、一晚絶食させたラットに 0 (溶媒のみ)、80 および 240 mg/kg (ジクワットイオンとして) を単回経口投与した。また、陽性対照としてクロルジアゼポキシド (20 mg/kg) を同様に投与した。投与 1 時間後、動物を左手に持ち、後肢を右手の指ではさみ、左手を下げた状態で保定してからラットが正立位に戻ろうとして実験者の右手に前肢を触れるまでの時間 (試験終了までの時間) を測定した。試験打ち切り時間は 30 秒とした。

結果：ジクワットイオン 80 および 240 mg/kg のいずれの検体投与群でも、試験終了までに要した時間に対照群と比較して有意な差はみられなかった。

一方、陽性対照であるクロルジアゼポキシド群では 10 例中 3 例が 30 秒以内に試験を終了できず、試験終了時までに要した時間に対照群と比較して有意な延長がみられた (Mann-Whitney の U 検定)。

以上のことから、これらの用量で検体に筋弛緩作用がないことが示された。

ラットのハロタン睡眠時間に及ぼす作用

供試動物：Wistar 系ラット (Alpk:APfSD)、6~13 週齢、体重 168~219 g、1 群雌 5 匹

投与方法：検体を脱イオン水に溶解して、一晚絶食させたラットにジクワットイオンとして 0、50 および 150 mg/kg (試験 1)、並びに 0、40 および 80 mg/kg (試験 2) を単回経口投与した。投与 1 時間後に動物を麻酔箱に入れ、ハロタン蒸気 (酸素中 4%) を 3 L/分の割合で 3 分間流して吸入させ、5 分後から各動物が覚醒するまでの時間を測定した。なお、陽性対照として中枢神経刺激剤である硫酸 d-アンフェタミン (5 mg/kg) および中枢神経抑制剤であるジアゼパム (5 mg/kg) を同様に投与した。

結 果：

試験	投与量 (mg/kg)		睡眠時間 (対数値) (秒) (平均値 ± 標準偏差)
1	溶媒対照 (脱イオン水)	10 (mL/kg)	1.17 ± 0.42
	ジクワットイオン	50	1.72 ± 0.27*
		150	2.15 ± 0.31**
	陽性対照 (アンフェタミン)	5	1.20 ± 0.69
	陽性対照 (ジアゼパム)	5	2.33 ± 0.42**
2	溶媒対照 (脱イオン水)	10 (mL/kg)	1.76 ± 0.17
	ジクワットイオン	40	2.01 ± 0.26
		80	2.19 ± 0.16**
	陽性対照 (アンフェタミン)	5	1.59 ± 0.11
	陽性対照 (ジアゼパム)	5	2.57 ± 0.10**

対照群との有意差検定を Student の t 検定 (両側検定) を用いて行った (* ; $p < 0.05$, ** ; $p < 0.01$)。

ジクワットイオン 50、80 および 150 mg/kg の投与はハロタンによる睡眠時間を延長させたが、40 mg/kg 群では有意な変化はみられなかった。

また、中枢神経刺激剤であるアンフェタミンは睡眠時間に影響を与えないか短縮させ、中枢神経抑制剤であるジアゼパムは睡眠時間を延長させた。

以上のことから、ジクワットイオン 50、80 および 150 mg/kg の用量では中枢神経抑制作用があることが示唆された。しかし、本試験の投与量より高用量では、急性毒性 (ラットの行動に及ぼす影響の項目参照 ; ジクワットイオン 160 mg/kg の投与で死亡例あり) がみられていることから、この抑制作用は一般的な全身性の毒性および/あるいは不快感を反映している可能性が考えられた。

ラットの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物 : Wistar 系ラット (Alpk:APfSD)、6~13 週齢、体重 269~373 g、1 群雄 3 匹

投与方法: イナクチン腹腔内投与により麻酔したラットに、脱イオン水に溶解した検体 240 mg/kg (ジクワットイオンとして) あるいは溶媒のみを単回経口投与した。血圧は頸動脈にカニューレを挿入し、圧トランスデューサーを介して直接測定、呼吸数は別のトランスデューサーを介して測定した。心電図 (ECG) は四肢誘導法で、心拍出力は Q-A 時間 (ECG の QRS 混合波の開始時点から動脈拍を感知するまでの時間) 法で測定した (心拍出力指数 = 拡張期血圧 / QA 時間間隔)。ECG、血圧、呼吸数の測定は投与前、投与後 5、10、15、30、60、120、180 および 240 分に行った。

結 果: ジクワットイオン 240 mg/kg の投与は血圧、心拍数、心拍出力指数および呼吸数に影響を与えず、心電図にも変化は認められなかった (Student の t 検定)。

以上のことから、ジクワットイオン 240 mg/kg の投与は心血管系および呼吸器系に影響を与えないことが示された。

マウスの消化器に対する作用

マウスの胃腸管機能に対する作用（炭末試験）

供試動物：Alpk:OAPfCD-1 マウス、試験開始時 36～56 日齢、体重 29.6～47.8 g、1 群雄 10 匹
投与方法：約 3 時間絶食させたマウスに、脱イオン水に溶解した検体 0（溶媒のみ）、40 および 160 mg/kg（ジクワットイオンとして）を単回経口投与した。投与 60 分後に 0.5% ポリソルベート 80 に懸濁した炭末 5% 液 10 mg/kg を経口投与し、さらに 60 分後に動物を屠殺し、幽門洞から直腸までの腸管全長に対する炭末の最長移動距離の割合を求めた。なお、陽性対照として腸管運動促進剤であるカルバコール（5 mg/kg）および腸管運動抑制剤であるモルヒネ（10 mg/kg）をそれぞれ検体と同様に投与した。

投与量設定根拠；

結 果：

投与量 (mg/kg)	腸管全長に対する炭末移動距離の割合 (%) (平均値 ± 標準偏差)
溶媒対照 (脱イオン水) 10 (mL/kg)	53.9 ± 6
ジクワットイオン 40	56.6 ± 7
160	64.9 ± 14*
陽性対照 (カルバコール) 5	72.8 ± 11**
陽性対照 (モルヒネ) 10	29.9 ± 12**

対照群との有意差検定を Student の t 検定 (両側検定) を用いて行った (* ; p < 0.05、** ; p < 0.01)。

ジクワットイオン 40 mg/kg では腸管運動に影響は認められなかったが、160 mg/kg では炭末の移動距離の延長がみられた。

腸管運動刺激剤であるカルバコールは炭末の移動距離を延長させ、腸管運動抑制剤であるモルヒネは明らかに移動距離を短縮させた。

モルモットおよびラットの自律神経系に対する作用

モルモットの摘出気管のイソプレナリンに対する反応に及ぼす影響

供試動物：Alpk:Dunkin Hartley 系モルモット、7～14 週齢、雌 3 匹 (11 標本；対照群 4 標本、検体群 7 標本)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

方法：モルモットから摘出した気管標本を Krebs-Henseleit 液槽中（37℃、95%O₂/5%CO₂ 通気）に 1 g の静止張力をかけて懸垂し、等尺性張力変化を記録した。カルバコール（5 × 10⁻⁷ M）を加えて痙縮させ、イソプレナリン（10⁻⁹~10⁻⁴ M）を累積的に加えて、対数濃度-反応曲線を作成した。組織洗浄後、カルバコール（5 × 10⁻⁷ M）を再度加えて 30 分後に検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）または溶媒（脱イオン水）を加え、さらに 30 分後にイソプレナリンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結果：イソプレナリンはカルバコール誘導性痙縮を濃度依存性に抑制し、溶媒あるいは検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）はその対数濃度-反応曲線に影響を及ぼさなかった（Student の t 検定）。

従って、検体は気管のイソプレナリンに対する反応に薬理的に有意な作用を及ぼさず、β₂-アドレナリン受容体作働薬あるいは拮抗薬でないことが示された。

ラットの摘出輸精管のメトキサミンに対する反応に及ぼす影響

供試動物：Wistar 系ラット（Alpk: APfSD）、6~13 週齢、雄 3 匹（12 標本；対照群 5 標本、検体群 7 標本）

方法：ラットから摘出した輸精管を Mg²⁺ を含まない Krebs-Henseleit 液槽中（32℃、95% O₂/5%CO₂ 通気）に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、等尺性張力変化を記録した。メトキサミン（10⁻⁷~10⁻⁴ M）を累積的に加え、対数濃度-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）または溶媒（脱イオン水）を加え、30 分後にメトキサミンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結果：メトキサミンは用量依存性に収縮を誘導し、溶媒または検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）添加によりその対数濃度-反応曲線は右方に移動し、最大反応は抑制されたが、検体処理群と対照群との間に有意な差はみられなかった（Student の t 検定）。従って、検体は輸精管のメトキサミンに対する反応に薬理的に有意な作用を示さず、ラット輸精管のα₁-アドレナリン受容体に何ら作用を及ぼさないことが示された。

フィールド刺激されたラット摘出輸精管のクロニジンに対する反応に及ぼす影響

供試動物：Wistar 系ラット（Alpk: APfSD）、6~13 週齢、雄 3 匹（12 標本；1 群 6 標本）

方法：ラットから摘出した輸精管を Mg²⁺ を含まない Krebs-Henseleit 液槽中（32℃、95% O₂/5%CO₂ 通気）に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、フィールド刺激（1/1000 秒、ダブルパルス；70/1000 秒間隔、電圧 20V；周波数 0.1 Hz）に対する等尺性張力変化を記録した。α₂-作働薬であるクロニジンを累積的に加え、用量-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）または溶媒（脱イオン水）を加え、30 分後にクロニジンの用量-反応曲線を再度作成した。

結果：フィールド刺激によって誘導された最大収縮はクロニジンで用量依存性に抑制され、溶媒あるいは検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）は収縮高あるいはその後のクロニジンに対する対数濃度-反応曲線に有意な影響を及ぼさなかった（Student の t 検定）。

従って、検体はフィールド刺激によって誘導されるラットの輸精管の収縮に対するクロニジンの抑制作用に影響を及ぼさず、ラット輸精管の α_2 -アドレナリン受容体に何ら作用を及ぼさないことが示された。

モルモット摘出回腸のアセチルコリンおよびヒスタミンに対する反応に及ぼす影響

供試動物：Alpk:Dunkin Hartley 系モルモット、7~14 週齢、2 匹（12 標本；対照群 4 標本、検体群 8 標本）

方 法：モルモットから摘出した回腸標本を Krebs-Henseleit 液槽中（37°C、95%O₂/5%CO₂ 通気）に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、アセチルコリン（10⁻⁹~10⁻⁴ M）およびヒスタミン（10⁻⁹~10⁻³ M）を加え、対数濃度-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）または溶媒（脱イオン水）を加え、30 分後にアセチルコリンおよびヒスタミンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結 果：アセチルコリンおよびヒスタミンは用量依存性に収縮を誘導した。溶媒あるいは検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）添加によりアセチルコリンおよびヒスタミンの対数濃度-反応曲線にはほとんど変化はなく、また、検体処理群と対照群との間に有意な差はみられなかった（Student の t 検定）。

検体はモルモット摘出回腸のアセチルコリンおよびヒスタミンに対する反応に影響を及ぼさなかった。

フィールド刺激されたモルモット摘出回腸のアトロピンに対する反応に及ぼす影響

供試動物：Alpk:Dunkin Hartley 系モルモット、7~14 週齢、2 匹（12 標本；1 群 6 標本）

方 法：モルモットから摘出した回腸標本を Krebs-Henseleit 液槽中（37°C、95%O₂/5%CO₂ 通気）に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、フィールド刺激（0.5/1000 秒パルス、電圧 24V；周波数 0.1 Hz）に対する張力変化を記録した。アトロピン（10⁻⁹~10⁻⁷ M）を累積的に加えて、対数濃度-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）または溶媒（脱イオン水）を加え、30 分後にアトロピンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結 果：検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）および溶媒の添加により、同様の収縮高の低下（それぞれ対照群の 94.1%および 94.6%）が認められた。

アトロピンに対する対数濃度-反応曲線は溶媒または検体（ジクワットイオン濃度 10⁻⁵ M）添加によりわずかに左方に移動したが、各時点の検体処理群と対照群との間に有意な差は認められなかった（Student の t 検定）。

検体はフィールド刺激によって誘導されるモルモット摘出回腸の収縮に対するアトロピンの抑制作用に影響を及ぼさなかった。

ラットの神経筋接合部に対する作用

ラットの横隔神経付半横隔膜に及ぼす影響

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

供試動物：Wistar系ラット (Alpk:APfSD)、6~13週齢、雄5匹 (12標本；1群6標本)

方法：ラットから摘出した横隔神経付半横隔膜標本を Krebs-Henseleit 液槽中 (37°C、95% O₂/5%CO₂通気) に5gの静止張力をかけて懸垂し、直接的 (筋肉) あるいは間接的 (横隔神経を介して) に電気刺激した (0.5/1000秒パルス巾、電圧28V、周波数0.1Hz)。ツボクラリン (3×10^{-8} ~ 5×10^{-7} M) を累積的に加え、ツボクラリンの対数濃度-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体 (ジクワットイオン濃度 10^{-5} M) または溶媒 (脱イオン水) を加え、30分後にツボクラリンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結果：直接刺激および間接刺激時にみられた最大収縮高は検体 (ジクワットイオン濃度 10^{-5} M) および溶媒により、わずかではあるが同程度に低下した。

ツボクラリンに対する対数濃度-反応曲線は検体 (ジクワットイオン濃度 10^{-5} M) あるいは溶媒添加により変化せず、検体は、電気刺激による収縮に対するツボクラリンの抑制作用に対して影響を及ぼさなかった (Studentのt検定)。

従って、検体はニコチン性アセチルコリン受容体あるいは接合部以降の部位で、筋肉の収縮に影響を与えないと考えられた。

ウサギの血液に対する作用

溶血作用

供試動物：New Zealand White 種ウサギ、体重2kg以上、1匹

投与方法：血液をヘパリン処理試験管に採取し、遠心分離によって血漿を除去して、リン酸緩衝生理食塩水で10%赤血球浮遊液を調製した。

検体 (ジクワットイオン最終濃度 0.00027、0.00081、0.0027、0.0081 および 0.027% w/v) および溶媒 (脱イオン水) を上記の赤血球浮遊液に加え、37°Cで20分間振盪した後遠心分離した。得られた上清を蒸留水で希釈して吸光度 (550 nm) を測定し、溶血の有無を検査した。100%溶血試料は蒸留水を用いて調製した。

結果：

最終処理濃度 (%w/v)	溶血率 (%) (平均値 ± 標準偏差)
溶媒対照 (脱イオン水) 1 (%v/v)	2.02 ± 0.05
ジクワットイオン 0.00027	2.03 ± 0.32
0.00081	2.17 ± 0.54
0.0027	2.43 ± 0.39
0.0081	2.69 ± 0.33**
0.027	3.27 ± 0.42**

溶血率 (%) = (検体処理群の吸光度 / 100%溶血試料の平均吸光度) × 100
対照群との有意差検定を Student の t 検定を用いて行った (** ; p < 0.01)。

0.0027%までのジクワットイオン濃度ではウサギの赤血球に影響は認められなかつ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

た。

0.0081 および 0.027%のジクワットイオン濃度では統計学的に有意な溶血率の増加が認められたが、その程度は非常に軽度で、生物学的意義はないと考えられた。

以上の試験結果より、ジクワットには主要な薬理作用がないことが示された。血圧、心拍数、心拍力、呼吸数、骨格筋あるいは血液に対して作用を示さず、さらに、 α_1 、 α_2 または β -アドレナリン受容体、ニコチン性あるいはムスカリン性コリン受容体およびヒスタミン受容体に対する作用あるいは平滑筋に対する直接作用を示す証拠も得られなかった。中枢神経系の抑制および消化管運動の亢進は、致死量付近のみでみられたため、これらは薬理作用というよりも、むしろ毒性作用の結果生じたものと考えられた。薬理的無影響量はジクワットイオン 40 mg/kg であると判断された。

ジクワットの「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	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量* (mg イオン/kg)	動物数 /群	作用量* (mg イオン/kg)	無作用量* (mg イオン/kg)	結果の概要	
中枢神経系	行動	ラット	経口 (脱イオン水)	0、160、 200、240、 280	雄 2	160	—	全検体投与群で 24 時間後に下痢、流涙、散瞳、立毛、48 時間後に活動性低下、呼吸異常、反射低下、脱水、脱力、体温低下、音に対する反応性低下、安定性低下、腹側部陥凹 (sides pinched in)、脊柱の上方弯曲、身づくろい停止、体重減少などがみられた。160、200、240 mg イオン/kg の各 1/2 例、280 mg イオン/kg 群の 2/2 例を切迫屠殺、200 mg イオン/kg 群の 1/2 例が死亡した。
	筋弛緩作用	ラット	経口 (脱イオン水)	0、80、 240	雄 10	—	240	検体投与による影響は認められなかった。
	ハコタン睡眠	ラット	経口 (脱イオン水)	0、40、 50、80、 150	雌 5	50	40	50 mg イオン/kg 以上で有意な睡眠時間延長がみられた。
呼吸・循環器系	血圧、心拍数、心拍力、呼吸数、心電図	ラット (麻酔下)	経口 (脱イオン水)	0、240	雄 3	—	240	検体投与による影響は認められなかった。
消化器系	胃腸管機能 (炭末試験)	マウス	経口 (脱イオン水)	0、40、 160	雄 10	160	40	160 mg イオン/kg で炭末の移動距離延長がみられた。
自律神経系	摘出気管	モルモット	<i>in vitro</i> (脱イオン水)	0、10 ⁻⁵ M	[雌 3] 4 ある いは 7 標本/群	—	10 ⁻⁵ M	イブuprofen に対する反応に作用しなかった。
	摘出輸精管	ラット	<i>in vitro</i> (脱イオン水)	0、10 ⁻⁵ M	[雄 3] 5 ある いは 7 標本/群	—	10 ⁻⁵ M	メキサンに対する反応に作用しなかった。
	摘出輸精管	ラット	<i>in vitro</i> (脱イオン水)	0、10 ⁻⁵ M	[雄 3] 6 標本/ 群	—	10 ⁻⁵ M	クロニジンの抑制作用に影響しなかった。

*：ジクワットイオンとしての用量あるいは濃度

[] 内は試験に用いた全動物数

(続く)

ジクワットの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表（続き）

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量* (mg イオン/kg)	動物数 /群	作用量* (mg イオン/kg)	無作用量* (mg イオン/kg)	結果の概要	
自律神経系	摘出回腸	モルモット	<i>in vitro</i> (脱イオン水)	0、 10^{-5} M	[2] (性別不明) 4 あるいは 8 標本/群	—	10^{-5} M	アセチルリン、ヒスタミンに対する反応に影響しなかった。
	摘出回腸	モルモット	<i>in vitro</i> (脱イオン水)	0、 10^{-5} M	[2] (性別不明) 6 標本/群	—	10^{-5} M	アトロピンの抑制作用に影響しなかった。
骨格筋	横隔神経付 半横隔膜	ラット	<i>in vitro</i> (脱イオン水)	0、 10^{-5} M	[雄 5] 6 標本/群	—	10^{-5} M	ツボクラリンの抑制作用に影響しなかった。
血液	溶血作用	ウサギ	<i>in vitro</i> (脱イオン水)	0、 0.00027、 0.00081、 0.0027、 0.0081、 0.027 %w/v	[1] (性別不明)	—	0.027 %w/v	検体投与による影響は認められなかった。

*：ジクワットイオンとしての用量あるいは濃度

[] 内は試験に用いた全動物数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(15) その他試験

1) 白内障に関する考察

ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験において、白内障誘発性が報告されていることから、その発生機序および白内障誘発に関する無影響量について考察する。

したがって、ジクワット投与により、水晶体中のアスコルビン酸量に低下がみられるものの、アスコルビン酸摂取によって白内障を予防することができないことから、その機序は完全に解明できなかった (JMPR でも同様の結論が出されている : 1972 年、1977 年および 1993 年)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

より新しい知見では、Bhuyanらは、ジクワットを *in vivo* でウサギの硝子体内に注入し、1週間後に屠殺してスーパーオキシド、ヒドロキシオキシド、過酸化水素、並びにジクワットおよびジクワットのフリーラジカルを測定した結果に基づき、眼の組織にある内因性の還元物質がジクワットのフリーラジカルを生成し、このフリーラジカルが酸素と反応してスーパーオキシドを過剰に発生させ、これによって過酸化水素が発生し、ヒドロキシラジカルが生成されて白内障を引き起こすと考察している（引用-1）。

白内障の発生には種差がみられないことから、その発生機序は、このように生化学的に説明できるものと考えられる。

引用-1 : OXY RADICALS IN THE EYE TISSUES OF RABBITS AFTER DIQUAT *IN VIVO*

DK Bhuyan et. al, *Free Rad. Res. Comms.*, Vols 12-13, pp621-627, 1991

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(資料 No.T-48)

6) ジクワットジクロリドー水和物のイヌを用いた 2~4 年間反復経口投与毒性試験

試験機関:

報告書作成年: 1966 年

報告書番号:

検体純度:

供試動物: ビーグル犬、1 群雌雄各 3 匹、投与開始時 4~6 ヶ月齢 (試験 1 および 2) または 2 年 2 ヶ月~2 年 8 ヶ月齢 (試験 3)

投与期間: 2~4 年間 (1961 年 5 月 16 日試験 1 投与開始)

2 年間投与後に 1.7 mg/kg/日群において白内障の発現がみられなかったため、対照群の雌雄各 2 匹および 1.7 mg/kg/日群の全例については投与期間を 4 年間に延長した。また、試験 3 の投与期間は 3 年間とした。

投与方法: 検体を水に溶解して 0、0.4、0.8、1.7、5 および 15 mg/kg/日の用量となるよう飼料に混合し、2~4 年間にわたって随時摂食させた。

投与量および投与期間を次表に示す。

試験	投与量		供試動物数	投与期間 (月)
	(mg/kg/日)	mg イオン/kg/日		
試験 1	0	0	雌雄各 1	26
	5	3.4	雌雄各 3	26
	15	10	雌雄各 3	26
試験 2	0	0	雌雄各 2	48
	1.7	1.1	雌雄各 3	48
試験 3	0	0	雌雄各 3	37
	0.4	0.27	雌雄各 3	37
	0.8	0.54	雌雄各 3	37

当初 2 年間投与試験として 0、1.7、5 および 15 mg/kg/日の用量で開始された。2 年投与後に 1.7 mg/kg/日群で白内障がみられなかったことから、この用量について投与期間を 4 年に延長し、同時に確実に無影響量が得られるよう 0.8 および 0.4 mg/kg/日の用量を追加した。

観察・検査項目および結果:

死亡率; 試験期間を通じて死亡例はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

体重変化；投与開始日およびその後は1ヵ月に1回、全生存動物の体重を測定した。

投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；投与開始時および投与終了時（試験1および2では投与26ヵ月時および48ヵ月時に、試験3では投与36ヵ月時）に全生存動物を対象として血液を採取して、以下の項目の測定を行った。

ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、赤血球数、総白血球数、白血球分類

いずれの検査項目においても、投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査と同一の検査時期に、全生存動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

尿素窒素、アルカリホスファターゼ、ビリルビン

また投与10ヵ月時に血清カルシウムについて検査した。

いずれの検査項目においても、投与による影響は認められなかった。

肝機能検査；血液学的検査と同一の検査時期に、全生存動物を対象としてBSP検査を行った。

投与による影響は認められなかった。

尿検査；血液生化学的検査と同一の検査時期に、全生存動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

比重、pH、蛋白、糖、ビリルビン

いずれの検査項目においても、投与による影響は認められなかった。

眼科学的検査；投与期間を通じて、全生存動物を対象として眼科学的検査を行った。

結果を次表に示す。

試験	投与量		検査動物数	投与期間 (月)	水晶体の混濁	
	mg/kg/日	mg イボ/kg/日			発現動物数	発現時期 (月)
試験 1	0	0	雌雄各 1	26	0	—
	5	3.4	雌雄各 3	26	1	11
					雌雄各 3	15~17
15	10	雌雄各 3	26	雌雄各 3	10~11	
試験 2	0	0	雌雄各 2	48	0	—
	1.7	1.1	雌雄各 3	48	0	—
試験 3	0	0	雌雄各 3	37	0	—
	0.4	0.27	雌雄各 3	37	0	—
	0.8	0.54	雌雄各 3	37	0	—

15 mg/kg/日群雌雄で、投与 10~11 ヶ月目までに全動物の両眼に水晶体の混濁がみられた。5 mg/kg/日群雌雄では、投与 11 ヶ月目に 1 例のみに水晶体の混濁がみられ、投与 15~17 ヶ月目には全例に影響がみられた。

1.7 mg/kg/日群では 4 年にわたる投与を行っても水晶体に変化はみられなかった。0.4 および 0.8 mg/kg/日群では約 3 年にわたる投与でも何ら影響はみられなかった。

病理組織学的検査；試験 1 および 2 においては、投与終了時の全生存動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

肝臓、脾臓、腎臓、膵臓、副腎、肺、心臓、大動脈、胸腺、甲状腺および上皮小体、唾液腺、消化管、生殖腺、子宮および卵管、前立腺、精巣上体、膀胱、リンパ節、下垂体

また、中枢神経系（脳、脳幹、脊髄）については神経病理学的に検査した。

15 mg/kg/日群雌雄では 2 年間にわたって投与を行っても、白内障を除けば、対照群との間に何らの差異もみられなかった。従って、5 mg/kg/日群については検査を行わなかった。1.7 mg/kg/日群雌雄で 4 年間の投与を行っても、対照群と同様の変化以外はみられなかった。

いずれの動物にも腫瘍はみられなかった。

以上の結果から、本剤のイヌに対する 2~4 年間反復経口投与毒性試験における影響として、15 mg/kg/日群の全例において 10~11 ヶ月以内に両側性の白内障がみられ、5 mg/kg/日群では主に 15~17 ヶ月後に白内障がみられたが、これら以外に何ら影響はみられなかった。

7) ジクワットジプロミドのマウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

試験機関:

報告書作成年: 1994 年

報告書番号:

検体純度:

供試動物: C57BL/10JfCD-1 Alpk マウス、1 群雌雄各 10 匹、週齢記載なし、

投与開始時の群平均体重; 雄 20.5~21.5 g、雌 18.9~19.3 g

投与期間: 91 日間 (試験開始; 1988 年 11 月 29 日、剖検終了; 1989 年 3 月 3 日)

投与方法: 検体を 0、250 および 350 ppm の濃度 (ジクワットイオン濃度) で飼料に混入し、91 日間にわたって随時摂食させた。

用量設定根拠;

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 全動物の一般状態および生死を毎日観察した。また、週 1 回、詳細な臨床観察を実施した。

検体投与に関連した症状はみられなかった。

なお、対照群の雄 1 匹で頭部の腫大がみられたため、89 日目に切迫屠殺した。

体重変化; 全動物の体重を週 1 回測定した。

体重増加量および最終体重を表 1 に示す。

用量依存性に体重増加量の減少がみられた。350 ppm 群の雄では投与初期にわずかな体重減少がみられた。13 週間の投与期間終了時、350 ppm 群の体重増加量において、対照群と比較して雄で 44%、雌で 23%の減少が認められた。特に雄では、投与期間が長くなるにつれて、対照群との体重の差が大きくなった。

一方、250 ppm 群では対照群との差は一定であるかまたは少なくなった。

最高用量である 350 ppm は最大耐量 (MTD) を上回ると考えられた。

表 1. 体重および体重増加量

項目	検査時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		0	250	350	0	250	350
体重増加量	2	1.5	0.8 (53)	↓0.6	1.3	0.8 (62)	↓0.3 (23)
	3	2.5	1.9 (76)	↓0.3	2.2	1.6 (73)	↓0.2 (9)
	4	3.6	2.4 (67)	↓0.4 (11)	3.1	2.3 (74)	↓0.8 (26)
	5	4.6	3.2 (70)	↓1.1 (24)	3.3	3 (91)	↓1.4 (42)
	6	5.5	3.9 (71)	↓1.6 (29)	3.8	3.3 (87)	↓2.1 (55)
	7	6.7	↓4.6 (69)	↓2.2 (33)	4.6	4 (87)	↓2.6 (57)
	8	7	↓5.3 (76)	↓2.8 (40)	4.7	4 (85)	↓2.7 (57)
	10	7.3	5.6 (77)	↓3.3 (45)	5.1	4.7 (92)	↓3.1 (61)
	12	8.1	↓6.1 (75)	↓4 (49)	6.1	↓4.8 (79)	↓3.6 (59)
14	7.9	7 (89)	↓4.4 (56)	5.6	5.2 (93)	↓4.3 (77)	
最終体重	14	28.4	28.1 (99)	↓25.9 (91)	24.5	23.4 (96)	23.6 (96)

検定法記載なし (↑↓: P<0.05、↑↑: P<0.01)。

表中の () 内数値は変動の目安として対応する対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

摂餌量； 摂餌量を週 1 回測定した。

350 ppm 群で摂餌量の減少がみられたが、その程度はわずかであった。

肉眼的病理検査；切迫屠殺した動物について剖検を行った。また、試験終了時の全生存動物を対象として、舌および口蓋の肉眼的病理検査を行った。

いずれの動物においても、口腔の病変はみられなかった。切迫屠殺した対照群の雄 1 匹の脳表面に押しつぶされたような部位がみられた。

以上の結果から、ジクワットのマウスに対する飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、ジクワットイオン 350 ppm 群で体重増加量の減少がみられたが、最大耐量を上回るジクワットイオン 350 ppm でも舌および口蓋の病変はみられなかった。

8) マウス 28 日間経口 (混餌) 投与免疫毒性試験

試験機関 :

報告書作成年 : 2011 年 [GLP 対応]

報告書番号 :

検体純度 :

試験動物 : ICR マウス (Cri:CD-1)、1 群雌 10 匹、開始時約 7 週齢、体重範囲 24~30g

試験期間 : 28 日間投与 (2010 年 10 月 25 日開始、投与開始日を試験 1 日と起算)

投与方法 : 検体をジクワットイオンとして 100、200 および 350ppm の濃度で混入した飼料を自由摂取させた。陰性対照群には基礎飼料のみを与え、陽性対照群には基礎飼料を与えるとともに、免疫抑制剤であるシクロホスファミドを 10mg/kg 用量で毎日 1 回、5mL/kg の液量で強制経口投与した。試験 25 日に、抗原としてヒツジ赤血球 0.25mL (2×10^8 個) を全動物に静脈内投与した。

試験設計を次表にまとめる。

群	検体の投与量* (ppm)	陽性対照物質の投与量 (シクロホスファミド) (mg/kg/日)	抗原の投与量 (ヒツジ赤血球、 2×10^8 個) (mL/マウス)	雌動物数
陰性対照	0	0	0.25	10
検体	100	0	0.25	10
検体	200	0	0.25	10
検体	350	0	0.25	10
陽性対照	0	10	0.25	10

*ジクワットイオン換算

[用量設定根拠]

試験項目および結果 :

一般状態および生死 ; 試験 1 日 (投与開始日) から解剖時まで毎日、観察した。陰性対照群および検体投与群は毎日 1 回、陽性対照群は毎日 3 回観察した。

投与に関連する死亡や一般状態の変化はみられなかった。

体重変化 ; 試験-4 日から解剖日まで週 2 回記録した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

結果を表 1 に示す。

表 1. 体重変化

群		検体			陽性対照 ^{a)}
投与量		100ppm	200ppm	350ppm	10mg/kg
体重 ^{b)}	試験 0~3 日	96	97	95	96
	試験 7 日	97	94	96	*93
	試験 14 日	98	95	95	**91
	試験 21 日	97	97	96	**93
	試験 28 日	95	**92	*93	*92
体重 ^{b)} 増加量	試験 0~3	(-0.3) ^{c)}	83	*(-0.4) ^{c)}	*(0.0) ^{c)}
	試験 0~7 日	55	45	60	*25
	試験 0~14 日	80	64	56	**16
	試験 0~21 日	65	81	77	*38
	試験 0~28 日	67	*49	*56	*51

表中の数字は、対照群を 100 とした場合の変動の目安 (%) を示す。算出できない場合は括弧内に群平均値 (g) を示す。対照群の群平均値は次の通り：c) : 0.6g

a) : シクロホスファミド

b) : 投与開始日の投与直前を試験 0 日と表示。

統計解析：陰性対照群と検体投与群の比較：Dunnett の t-検定 (*p<0.05、**p<0.01)

陰性対照群と陽性対照群の比較：Student の t-検定 (*p<0.05、**p<0.01)

投与に関連する変化として、200 および 350ppm 群で試験 28 日に体重の低値がみられ、試験 0~28 日の体重増加量にも低値がみられた。

陽性対照群では、投与期間を通して体重および体重増加量に低値がみられた。

摂餌量；試験 4 日から解剖時まで週 2 回記録した。

結果を表 2 に示す。

表 2. 摂餌量

群		検体			陽性対照 ^{a)}
投与量		100ppm	200ppm	350ppm	10mg/kg
b) 摂餌 重	試験 3 日	*123	105	102	96
	試験 7 日	107	98	109	87
	試験 14 日	91	104	106	86
	試験 21 日	109	105	114	85
	試験 28 日	103	94	98	*78

表中の数字は、対照群を 100 とした場合の変動の目安 (%) を示す。

a) : シクロホスファミド

b) : 投与開始日の投与直前を試験 0 日と表示。

統計解析：陰性対照群と検体投与群の比較：Dunnett の t-検定 (*p<0.05)

陰性対照群と陽性対照群の比較：Student の t-検定 (*p<0.05)

検体または陽性対照物質投与による変化はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

投与量 (ppm)	100	200	350
検体摂取量 (mg/kg/日)	23	44	81

摂水量；給水瓶の目視により毎週行った。

検体または陽性対照物質投与による変化はみられなかった。

抗体測定；試験 29 日（ヒツジ赤血球抗原投与後 4 日）に、全動物を対象としてイソフルラン麻酔下で全血を眼窩静脈叢から採取し、ELISA 法を用いてマウス抗ヒツジ赤血球 IgM 量を分析した。

結果を表 3 に示す。

表 3. 抗体測定結果

群	陰性対照	検体			陽性対照 ^{a)}
投与量	—	100ppm	200ppm	350ppm	10mg/kg
IgM	3697±2206	2614±1129	2595±1034	2448±1180	b)

表中の数字は群平均値±SD（単位 U/mL）。

a)：シクロホスファミド

b)：10 例中 7 例が定量限界未満、2 例が試料不足により平均値を算出できなかった（残り 1 例の値は 243U/mL）。

統計解析：陰性対照群と検体投与群の比較：Dunnett の t-検定（有意差なし）

陰性対照群と陽性対照群の比較：陽性対照群の測定値が 1 匹のみなので実施不可。

検体投与群と陰性対照群の間で差はみられず、検体は、体液性免疫機構を抑制しなかったと考えられた。

一方、陽性対照物質では、IgM 量の明確な低下がみられた。

臓器重量；試験 29 日に、全例を対象として高濃度の二酸化炭素暴露および放血により屠殺し、肝臓（胆嚢を含む）、脾臓および胸腺の重量を測定した。

結果を表 4 に示す。

表 4. 臓器重量の測定結果

群		検体			陽性対照 ^{a)}
投与量		100ppm	200ppm	350ppm	10mg/kg
最終体重 ^{b)}		93	**93	**93	**89
肝臓	絶対重量 ^{b)}	100	92	93	100
	調整値 ^{c)}	*116	113	113	**130
	体重比 ^{d)}	106	100	101	113
脾臓	絶対重量 ^{b)}	96	83	99	**71
	調整値 ^{c)}	104	93	110	87
	体重比 ^{d)}	102	90	107	80
胸腺	絶対重量 ^{b)}	83	86	89	75
	調整値 ^{c)}	91	100	102	102
	体重比 ^{d)}	89	95	98	85

表中の数字は、対照群を 100 とした場合の変動の目安 (%) を示す。

a) : シクロホスファミド

統計解析 : b) : 陰性対照群と検体投与群の比較 : Dunnett の t-検定 (**p<0.01)

陰性対照群と陽性対照群の比較 : Student の t-検定 (**p<0.01)

c) : 最終体重を共変数とした共分散分析 (*p<0.05, **p<0.01)

d) : 統計解析は実施していない。

検体投与による変化はみられなかった。

なお、100ppm 群で肝臓重量の調整値に有意差がみられたが、個別値の範囲(1.22~1.75g)は、対照群と同等であったから (1.18~2.18g)、偶発的なものと考えられた。

陽性対照群では、脾臓重量の低下がみられた。

肉眼的病理検査 ; 全例を対象として実施した。

検体または陽性対照物質投与による変化はみられなかった。

以上より、本剤を雌マウスに 28 日間混餌投与した結果、200 および 350ppm 群で体重増加抑制がみられたが、体液性免疫機構に対する抑制性作用はみられず、免疫毒性に関する無影響量は 350ppm (81mg/kg/日) であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

2. 代謝物を用いた試験成績

1)

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-50)

試験機関：

報告書作成年：1987年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：Wistar系ラット (Alpk:AP SPF)、体重；雄 255～295 g、雌 157～196 g、
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、10 mL/kgの容量で1回強制経口投与した。動物は投与前
一晚絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。体重を投与前日、投与日ならびに投与
後2、5、7および14日に測定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検
査を行った。

結果：結果を下表に示す。

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000、3000、5000	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	2449 (2000～3000)	2942 (2000～5000)
死亡開始時間 および終了時間	投与約1時間後から開始 投与5時間後に終了	
症状発現時間 および消失時間	投与日から発現 投与日に消失	投与日から発現 投与後5日に消失
毒性徴候が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

5000 mg/kg 投与群の全動物ならびに 3000 mg/kg 投与群の雌2匹を除く全動物で死亡が認められた。

中毒症状として、鎮静、振戦、立毛、脊椎の上方彎曲、呼吸数の減少および呼吸深度の増加がみられた。

体重は、投与後7日までに絶食前を上回るまでに増加し、その後も増加を続けた。肉眼的病理検査では異常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シンジェンタジャパン株式会社にある。

2) の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 No.T-51)

試験機関:

報告書作成年: 1987年

検体:

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535 および TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli* WP2uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) 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。

検体は滅菌蒸留水に溶解し、100~5000 µg/プレートの範囲の 5 濃度で実施した。試験は 3 連制とし、2 回行った。

なお、対照値の少なくとも 2 倍以上の復帰変異コロニーが出現し、しかも、検体の濃度の増加とともに復帰変異コロニー数が増加し (用量-反応効果)、この復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる場合を陽性とした。

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 S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG) および 9-アミノアクリジン (9-AA) では S9 mix 非存在下において、また、2-アミノアントラセン (2-AA) では S9 mix 存在下において、各試験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、
は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

試験 1

(表中の数値は3反復の平均値 ± 標準偏差)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 <i>uvrA</i>	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
溶媒対照 (蒸留水)		—	35 ± 3	160 ± 22	16 ± 7	34 ± 4	12 ± 2	
検体	100	—	25 ± 3	180 ± 11	13 ± 5	23 ± 2	11 ± 1	
	500	—	32 ± 5	161 ± 5	10 ± 1	36 ± 2	11 ± 1	
	1000	—	25 ± 1	176 ± 17	11 ± 2	37 ± 4	11 ± 2	
	2000	—	22 ± 3	167 ± 3	12 ± 3	31 ± 3	9 ± 2	
	5000	—	32 ± 4	168 ± 8	10 ± 2	31 ± 1	9 ± 2	
溶媒対照 (蒸留水)		+	39 ± 1	133 ± 18	12 ± 0	39 ± 5	10 ± 5	
検体	100	+	38 ± 4	149 ± 8	9 ± 4	37 ± 4	7 ± 2	
	500	+	43 ± 10	154 ± 12	11 ± 4	38 ± 7	7 ± 3	
	1000	+	31 ± 6	144 ± 13	10 ± 4	33 ± 7	8 ± 2	
	2000	+	32 ± 6	150 ± 26	10 ± 1	37 ± 8	9 ± 2	
	5000	+	45 ± 2	154 ± 17	12 ± 3	38 ± 5	11 ± 3	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	/	399 ± 10	/	/	
		0.04	—	103 ± 12	/	/	/	
		0.1	—	/	/	416 ± 22	/	
	ENNG	10	—	/	/	617 ± 35	/	
	9-AA	80	—	/	/	/	2179 ± 245	
	2-AA	0.5	+	/	1005 ± 54	/	544 ± 17	/
		2	+	/	/	499 ± 7	/	297 ± 17
40		+	811 ± 35	/	/	/	/	

陽性対照物質

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

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

試験 2

(表中の数値は 3 反復の平均値 ± 標準偏差)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 $uvrA$	TA100	TA1535	TA98	TA1537
溶媒対照 (蒸留水)		—	30 ± 7	148 ± 5	14 ± 2	30 ± 6	9 ± 5
検体	100	—	26 ± 7	152 ± 11	12 ± 3	32 ± 9	5 ± 1
	500	—	30 ± 4	139 ± 14	14 ± 2	28 ± 4	7 ± 4
	1000	—	29 ± 5	149 ± 11	10 ± 2	28 ± 4	6 ± 1
	2000	—	30 ± 6	162 ± 10	11 ± 1	32 ± 8	7 ± 2
	5000	—	32 ± 5	161 ± 9	10 ± 8	32 ± 7	10 ± 3
溶媒対照 (蒸留水)		+	29 ± 7	136 ± 4	13 ± 2	31 ± 2	14 ± 3
検体	100	+	24 ± 4	146 ± 15	11 ± 3	27 ± 4	12 ± 2
	500	+	25 ± 4	133 ± 4	11 ± 2	19 ± 6	9 ± 4
	1000	+	25 ± 4	144 ± 5	9 ± 1	23 ± 4	5 ± 2
	2000	+	21 ± 0	133 ± 9	8 ± 1	24 ± 6	5 ± 2
	5000	+	24 ± 2	129 ± 9	8 ± 2	29 ± 4	6 ± 0
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—		384 ± 9		
		0.04	—	177 ± 16			
		0.1	—			492 ± 26	
	ENNG	10	—		848 ± 39		
	9-AA	80	—				1780 ± 276
	2-AA	0.5	+		809 ± 45		509 ± 29
		2	+			438 ± 31	
	40	+	846 ± 41				

陽性対照物質

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

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

3) の細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No.T-52)

試験機関：

報告書作成年：1987年

検体純度：

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Rec-assay 法を用いて DNA 損傷誘発性を検定した。

検体は滅菌蒸留水に溶解し、200~10000 µg/ディスクの範囲の6濃度で実施した。

なお、H17株にわずかな生育阻止帯(直径0~4 mm)を示す用量において両株の生育阻止帯の直径の差が明確に5 mm以上である場合を陽性とした。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

は S9 mix 存在下および非存在下のいずれにおいても、最高濃度 10000 µg/ディスクでもほとんど生育阻止帯を誘起しなかった。

一方、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止帯を示し、また、陽性対照として用いたマイトマイシン C は S9 mix 非存在下で、2-アミノアントラセンは S9 mix 存在下で、組換修復機構保持株 (H17) に比べ修復機構欠損株 (M45) に著明な生育阻止帯を誘起した。

以上の結果より、 は本試験条件下で DNA 損傷誘発性を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シンジェンタジャパン株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S9 mix の有無	阻止帯 (mm)		差 (mm)
			M45	H17	
溶媒対照 (蒸留水)		—	0	0	0
検体	200	—	0	0	0
	500	—	0	0	0
	1000	—	0	0	0
	2000	—	0	0	0
	5000	—	0	0	0
	10000	—	1	0	1
陰性対照 (カナマイシン)	0.02	—	12	10	2
	0.05	—	16	13	3
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.005	—	14	0	14
	0.01	—	17	0.5	16.5
陽性対照 (2-アミノアントラセン)	5	—	0	0	0
	10	—	0	0	0
溶媒対照 (蒸留水)		+	0	0	0
検体	200	+	0	0	0
	500	+	0	0	0
	1000	+	0	0	0
	2000	+	0	0	0
	5000	+	0	0	0
	10000	+	0	0	0
陽性対照 (2-アミノアントラセン)	5	+	9	0	9
	10	+	8	0	8

(資料 No.T-53)

4) のラットにおける急性および亜急性経口投与毒性試験

試験機関：

報告書作成年：1974年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：アルビノラット (Alderley Park 系)、体重 130～190 g、

急性経口毒性試験；雌 6 匹、亜急性経口投与毒性試験；雌雄各 10 匹

[急性経口毒性試験]

観察期間：14 日間

投与方法：検体を脱イオン水に溶解し、投与前に一晚絶食させた動物に胃管を用いて強制経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	最高 4000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 4000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	投与後 24 時間から発現 投与後 5 日以内に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	4000

高用量群の数例に、尿失禁および／または軽微な便失禁が認められたが、これらの毒性徴候は、投与液量が多いことによると考えられた。

[亜急性経口投与毒性試験]

投与期間：2 週間

投与方法：検体を脱イオン水に溶解し、1000 mg/kg を 1 日 1 回、週 5 日で 2 週間 (合計 10 日間) にわたり胃管を用いて強制経口投与した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；臨床的異常は認められなかった。

血液学的検査；最終投与日に、雌雄各 5 匹を対象として血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球直径、網状赤血球率、白血球数および白血球分類、血小板数、活性化部分トロンボプラスチン時間およびプロトロンビン時間

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

血液学的異常は認められなかった。

性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	1000	1000
白血球数	↓ 68	↓ 75
白血球分類；リンパ球数	↓ 57	↓ 71
血小板数	106	↑ 128

統計学的有意差： ↑↓：P ≤ 0.05、↑↑↓：P ≤ 0.01 (t-検定)

表中の数値は変動の目安として対照群（同試験施設で同時期に実施した試験の対照群）を 100 とした場合の値を表したもの。

血液生化学検査；最終投与日に、雌雄各 5 匹を対象として血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

尿素、ナトリウム、カリウム

異常は認められなかった。

尿検査；最終投与日、18 時間尿を雌雄各 5 匹から採取し、以下の項目を検査した。

蛋白、グルコース、ビリルビン

異常は認められなかった。

病理組織学的検査；最終投与日に雌雄各 5 匹、また、最終投与の 7 日後に残りの雌雄各 5 匹を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

肝臓、腎臓、副腎、脾臓、肺、胸腺、心臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、膀胱、唾液腺、膀胱および生殖腺（雄の精巣上体含む）

病理組織学的異常は認められなかった。

以上の結果から、
の雌ラットにおける急性経口 LD₅₀ は 4000 mg/kg を上回り、1000 mg/kg で反復経口投与しても毒性作用はなかった。

3. 製剤を用いた試験成績

ジクワット 30%液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.TF-01)

試験機関：

報告書作成年：2003 年

報告書番号：

検体純度：ジクワット 30%液剤

供試動物：Wistar 系ラット (Alpk:ApfSD)、約 8~12 週齢、体重 168~229 g、各段階雌 1 匹

観察期間：14 日間

試験方法：上げ下げ法

投与方法：550 および 2000 mg/kg の用量は検体を希釈せずに、175 mg/kg の用量は脱イオン水により 35% (w/v) 水溶液を調製して、上げ下げ法により 1 回強制経口投与した。動物は投与前一晚絶食させた。

段階	投与量 (mg/kg)	結果
1	550	生存
2	2000	死亡
3	550	死亡
4	175	生存
5	550	生存
6	2000	死亡

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与前日、投与直前ならびに投与後 7 および 14 日、あるいは死亡時に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

結 果：結果を下表に示す。

投 与 方 法	経 口
性別	雌
投与量 (mg/kg)	175、550、2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	550 (123.9~3930)
死亡開始時間 および終了時間	投与日から開始 投与後3日に終了
症状発現時間 および消失時間	投与日から発現 投与後3日に消失
毒性徴候が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	175
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	175

中毒症状として、軽度の全身性毒性（活動低下、立毛および反り返り姿勢）が認められた。

生存動物の体重増加に異常は認められなかった。

肉眼的病理検査では、550 mg/kg 投与の死亡動物に胃の膨満、消化器官中の内容物の異常及び肺の退色がみられたが、2000 mg/kg 投与の死亡動物には異常は認められなかった。生存動物においては、異常は認められなかった。

ジクワット 30%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.TF-02)

試験機関:

報告書作成年: 2003 年

報告書番号:

検体純度: ジクワット 30%液剤

供試動物: Wistar 系ラット (Alpk:ApfSD)、約 8~12 週齢、体重; 雄 262~302 g、雌 191~210 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を剃毛した背部皮膚 (7 cm × 7 cm) に塗布して閉塞し、24 時間後に検体を微温水
を含ませた脱脂綿で拭き取った。

観察項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与後 7 および 14 日に測
定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果: 結果を下表に示す。

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	5000	
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間 および終了時間	投与後 6 日から開始 投与後 6 日に終了	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	投与後 6 日から開始 投与後 8 日に消失	症状の発現なし
毒性徴候が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—	5000

検体投与部位の皮膚に検体の着色が認められ、観察期間終了時まで褐色に染まっていた。

中毒症状としては、軽度の立毛および反り返り姿勢がみられた。また、軽度~中等度の皮膚刺激反応が全例で認められた。

体重においては、検体投与による影響は認められなかった。

生存動物の肉眼的病理検査では、適用部位にうろこ状の皮膚および検体の着色が認められた。死亡 (切迫屠殺) した雄に盲腸および回腸の膨満が認められた。

ジクワット 30%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.TF-03)

試験機関:

報告書作成年: 2003 年

報告書番号:

検体純度: ジクワット 30%液剤

供試動物: ニュージーランドホホワイト種ウサギ、体重 4033~4541 g、1 群雌 3 匹

観察期間: 29 日間

投与方法: 未希釈の検体 0.5 mL を滅菌シリンジにより剃毛した動物の左側腹部の皮膚 2.5 × 2.5 cm に施用し、同サイズのガーゼで覆い、手術用テープで貼付した。このガーゼを不浸透性ゴムシートで覆い、テープで固定した。閉塞貼付時間は 4 時間とし、適用後、貼付部位を微温水に浸した脱脂綿で拭き取った。

観察項目: 貼付除去 30~60 分、1、2、3、4、5、7、10、15、18、21 および 29 日後に適用部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無を観察し、Draize 法に従って採点した。

結果: 観察された刺激性変化は次頁の表のとおりであった。

3 例中 2 例については軽度な紅斑が適用後 21 日まで、軽微な浮腫が 15 日まで観察された。他の 1 例については、非常に軽微な紅斑が適用後 4 日まで観察された。表皮剥離、皮膚の肥厚、痂皮形成、皮膚のひび割れ、一過性の出血等の刺激性に関連した症状が観察された。これらの刺激反応は適用後 29 日までに消失した。

以上の結果から、ジクワット 30%液剤はウサギの皮膚に対して中等度の刺激性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間										
			30-60 分	1日	2日	3日	4日	7日	10日	15日	18日	21日	29日
81	紅斑・痂皮	4	0	1	1	1	1	0	-*	-*	-*	-*	-*
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	-*	-*	-*	-*	-*
88	紅斑・痂皮	4	0	1	1	2	2	2	2	1	1	1	0
	浮腫	4	0	1	1	2	2	2	2	1	0	0	0
89	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	0
	浮腫	4	0	1	1	2	2	2	2	1	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	1	4	4	5	5	4	4	3	2	2	0
	浮腫	12	0	2	2	4	4	4	4	2	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.3	1.3	1.3	1.7	1.7	1.3	2.0	1.5	1.0	1.0	0.0
	浮腫	4	0.0	0.7	0.7	1.3	1.3	1.3	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0

*：観察せず

ジクワット 30%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.TF-04)

試験機関：

報告書作成年：1972年

報告書番号：

検体純度：ジクワット 30%液剤

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、体重 3.0～4.0 kg、1 群雄 3 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体 0.5 mL を布片 (4 cm²) に塗布し、剃毛した動物の背部左側の皮膚 (正常皮膚および擦過傷を与えた皮膚) に閉塞貼付した。暴露時間は 24 時間とし、皮膚に残った検体は水で洗浄した。

観察項目：暴露開始の 1、3、7、10 および 14 日後に適用部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、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採点は次頁の表のとおりである。

24 時間貼付後、全例にごく軽度の紅斑がみられ、擦過皮膚では軽度の浮腫 (Draize 法でステージ 1) がみられた。正常皮膚においても 1 匹のみに 24 時間後、同様の軽度の浮腫がみられ、3 日間持続した。擦過皮膚において浮腫は 10 日間認められた。

ごく軽度の紅斑は 3 例中 2 例の正常皮膚ではすみやかに回復した。擦過皮膚では紅斑は次の観察時には強くなり (Draize 法でステージ 2～3)、続いて明らかな痂皮が認められた。また、正常皮膚の 3 例中 2 例においても軽度の痂皮形成が観察第 2 週に認められた。

刺激性の症状は全て回復可能で、全て急性炎症性であった。皮膚の壊死は認められなかった。

以上の結果から、ジクワット液剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性があるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

皮膚	動物 番号	項 目	最高 評点	暴露開始後時間				
				1日	3日	7日	10日	14日
正常 皮膚	1	紅斑	4	1	1	1*	1*	0*
		浮腫	4	1	1	0	0	0
	2	紅斑	4	1	0	0*	0*	0*
		浮腫	4	0	0	0	0	0
	3	紅斑	4	1	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0
	小計	紅斑	12	3	1	1	1	0
		浮腫	12	1	1	0	0	0
	平均	紅斑	4	1	0.3	0.3	0.3	0
		浮腫	4	0.3	0.3	0	0	0
擦過 皮膚	4	紅斑	4	1	3	2	**	**
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	5	紅斑	4	1	2	**	**	**
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	6	紅斑	4	1	3	2	3	**
		浮腫	4	1	1	1	1	0
	小計	紅斑	12	3	8	—	—	—
		浮腫	12	3	3	3	3	0
	平均	紅斑	4	1	2.7	—	—	—
		浮腫	4	1	1	1	1	0
合 計	紅斑	24	6	9	—	—	—	
	浮腫	24	4	4	3	3	0	
平 均	紅斑	4	1	1.5	—	—	—	
	浮腫	4	0.7	0.7	0.5	0.5	0	

* : 軽度の痂皮形成

** : 明らかな痂皮形成

ジクワット 30%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.TF-05)

試験機関：

報告書作成年：2003年

報告書番号：

検体純度：ジクワット 30%液剤

供試動物：ニュージーランド白色種ウサギ、体重 2650～3867 g、1群雌 3匹

観察期間：14日間

投与方法：検体 0.1 mL を左眼に適用し、右眼は対照とした。

観察項目：適用後 1、24、48 および 72 時間、ならびに 4、7、10 および 14 日後に Draize 法に従い、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。刺激性および評価は Kay and Calandra の方法に従い分類した。

結果：観察された刺激性変化は次頁の表のとおりであった。

いずれの動物においても結膜に対する影響が認められ、2例に軽微な発赤が試験 10 日まで、1例に中程度の発赤ならびにわずかな目脂および分泌物が試験 4 日までみられた。さらに、流涙、粘液状あるいはハーダー腺からの分泌、結膜および瞬膜の部分的な出血、眼窩周囲の検体の着色および乾燥した分泌物の固着、上瞼あるいは下瞼もしくはその両方の腫れなどの刺激による症状が観察された。これらの刺激性症状は、2例の動物では試験 7 日までに、もう 1例では試験 14 日までに完全に回復した。

以上の結果から、ジクワット 30%液剤はウサギの眼に対して中等度の刺激性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

項 目			最高 評点	適用後の経過時間								
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	10日*	14日*	
非 洗 眼 群	動物 番号 51	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	0	0	0	0	0	0	-	-
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	1	0	-	-
			浮腫	4	1	1	1	1	1	0	-	-
			眼脂	3	1	1	1	1	1	0	-	-
	動物 番号 82	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	0	0	0	0	0	0	-	-
		結膜	発赤	3	0	1	1	1	1	0	-	-
			浮腫	4	0	1	1	0	0	0	-	-
			眼脂	3	0	1	0	0	0	0	-	-
	動物 番号 83	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	1	1	1	1	1	1	0
			浮腫	4	0	1	1	0	0	0	0	0
			眼脂	3	0	1	1	0	0	0	0	0
合計**			330	6	20	18	12	10	2	2	0	
平均			110	2.0	6.7	6.0	4.0	3.3	0.7	2.0	0.0	

* : 1例のみの観察結果

** : Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

ジクワット 30%液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.TF-06)

試験機関：

報告書作成年：2003 年

報告書番号：

検体純度：ジクワット 30%液剤

供試動物：アルビノダンキンハートレー系モルモット、体重 304～363 g、1 群雌 10～20 匹

観察期間：惹起後 48 時間

試験操作：〔Buehler 法〕

投与量設定根拠：

感 作；未希釈の検体 0.4 mL をリント布 (2 × 2 cm) に滴下し、これを剃毛した肩甲骨部 (5 × 5 cm) に 6 時間閉塞貼付した。同様の操作を週 3 回、3 週間にわたって反復して合計 9 回行った。

一方、陽性対照群には、ヘキシルシンナムアルデヒドのコーンオイル溶液を同様の操作で、7 日毎に合計 3 回適用した。

惹 起；最終感作の 2 週間後に、脱イオン水を用いて調製した検体の 10% および 5% (w/v) 溶液 0.1～0.2 mL をリント布 (1 × 2 cm) に滴下して、これらをそれぞれ剃毛した左脇腹および右脇腹に 6 時間閉塞貼付した。

陽性対照群にはヘキシルシンナムアルデヒドのコーンオイル溶液を同様に適用した。

観察項目：惹起後 24 および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無を肉眼的に観察し、以下の基準に従って評価した。

評点	0	反応なし
	1	散発的な軽度の紅斑
	2	中等度および瀰漫的な紅斑
	3	重度の紅斑および浮腫

得られた結果は、EC の分類法によりその感作性の有無を判定した。

体重を試験開始時および終了時に測定した。

結果：各観察時間における皮膚反応が認められた動物数を次表に示す。

検体感作群では 10%水溶液で惹起した場合、皮膚反応は認められなかったが、5%水溶液で惹起した場合、1例に軽度の紅斑がみられ、陽性率は5%であった。

一方、陽性対照感作群では、24時間後の観察において、4例に軽度の紅斑が観察された。

群			供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)				
				24 時間後				計	48 時間後				計	24 時間	48 時間	合計
				皮膚反応評点					皮膚反応評点							
感作	惹起	0	1	2	3	計	0	1	2	3	計					
検体	未希釈 検体	10%検体 ¹⁾	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
		5%検体 ¹⁾	20	19	1	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	5	0	5
	—	10%検体 ¹⁾	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0
		5%検体 ¹⁾	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0
陽性対照	陽性対照 ²⁾	陽性対照 ³⁾	20	16	4	0	0	4/20	20	0	0	0	0/20	20	0	20
	—	陽性対照 ³⁾	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0

1) 脱イオン水溶液 (w/v)

2) 未希釈のヘキシルシンナムアルデヒド

3) ヘキシルシンナムアルデヒドの 20%コーンオイル溶液

以上の結果から、ジクワット 30%液剤はモルモットに対して皮膚感作性を有しないと判断された。

ジクワット 30%液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.TF-07)

試験機関：

報告書作成年：1989年

報告書番号：

検体純度：ジクワット 30%液剤

供試動物：Hartley 系モルモット、5 週齢、体重 316～389 g

検体感作群、検体非感作群および無処置群；1 群雄 15 匹

陽性対照感作群および陽性対照非感作群；1 群雄 10 匹

観察期間：惹起貼付除去後 48 時間観察

試験操作：[Buehler 法]

投与量設定根拠；

感作；左腹側部を剃毛し、検体の 5%精製水希釈液 0.5 mL を塗布したリント布 (2 cm 四方) を 6 時間閉塞貼付した。

一方、陽性対照感作群には、2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) の 1%白色ワセリン混合物 0.5 g を同様に適用した。

検体非感作群および陽性対照非感作群にはそれぞれ溶媒のみを同様に適用した。また、無処置群も設定した。

初回感作の 1 週間および 2 週間後に再度同様の感作を行った。

惹起；最終感作の 2 週間後に剃毛した右腹側部に、検体感作群、検体非感作群および無処置群には検体の 0.5%精製水希釈液を、陽性対照感作群および非感作群には 0.1%DNCB 溶液 (溶媒；40 v/v%エタノール水溶液) をそれぞれ 0.5 mL 塗布したリント布 (2 cm 四方) を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目：惹起貼付除去 24 時間および 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、以下の基準に従って採点した。

評点	判定基準
0	無反応
1	まばらな軽い紅斑
2	中等度の紅斑
3	強度の紅斑および浮腫

検体感作群および陽性対照感作群の動物について、使用動物数に対する皮膚反応のみられた動物数の割合（皮膚反応の出現率）を求め、それぞれの対照群である検体非感作群および陽性対照非感作群での皮膚反応状況を基に感作率を決定した。
また、観察期間中、毎日一般状態を観察し、週に 2 回体重測定を行った。

結果：各観察時間における皮膚反応が認められた動物数を下表に示す

群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数								感作率 (%)				
				24 時間後				計	48 時間後				計	24 時間	48 時間	合計
				皮膚反応評点					皮膚反応評点							
				0	1	2	3	0	1	2	3					
検体	5% 検体	0.5% 検体	15	13	2	0	0	2/15	13	2	0	0	2/15	0 ^a	0 ^b	0 ^a
	溶媒	0.5% 検体	15	12	3	0	0	3/15	13	2	0	0	2/15			
	無処置	0.5% 検体	15	12	3	0	0	3/15	13	2	0	0	2/15			
陽性対照	1% DNCB	0.1% DNCB	10	0	2	8	0	10/10	0	9	1	0	10/10	100 ^c	100 ^c	100 ^c
	溶媒	0.1% DNCB	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10			

$$a : (2/15 - 3/15) \times 100$$

$$b : (2/15 - 2/15) \times 100$$

$$c : (10/10 - 0/10) \times 100$$

検体除去 24 または 48 時間後、検体感作群、検体非感作群および無処置群の各群 2~3 例の適用部皮膚にまばらな軽い紅斑が認められたが、これらの皮膚反応は、検体感作群のみでなく検体非感作群および無処置群にも同様にみられていることより、感作性を示すものではなく、検体の刺激性によるものと判断された。検体の感作率は 0%であり、皮膚感作性は認められなかった。

一方、陽性対照物質である DNCB では、除去 24 および 48 時間後に、陽性対照感作群にお

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

いてまばらな軽い紅斑から中等度の紅斑が全例の適用部皮膚にみられ、陽性対照非感作群では皮膚反応は認められなかった。DNCB の感作率は 100%であり、DNCB には極めて強度の皮膚感作性が認められた。

なお、観察期間中の体重および一般状態においては、各群ともに異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、ジクワット 30.0%液剤の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

4. 参考

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。