

(5) フェリムソンのマウス皮膚に対する発癌性試験

(資料11-5)

試験機関 : 臨床医学研究所
[GLP対応]
報告書作成年 : 1991年

試験の実施目的 : フェリムソンのラットに対する慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)において、3000ppm投与群の雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められ、鼻部および皮膚に対する発癌性が懸念された。そのため、フェリムソンを雌マウスの背部皮膚に週2回、30週間連続投与した時の皮膚に対する発癌性試験を実施し、同時に、陽性対照物質として、既知の発癌物質である7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)を投与して比較検討した。

検体 : フェリムソン原体

検体の純度 :

供試動物 : Crj:CD-1系マウス、1群雌20匹
試験開始時5週齢(体重:20.6~29.6g)、1ケージ当り5匹収容

投与期間 : 30週間(1990年5月25日~1990年12月18日)

試験方法 : フェリムソンの0、2000及び6000 μ gをアセトンに溶解し、除毛したマウスの背部皮膚(約2 \times 3cm)に週2回、30週間連続塗布を行った。同時に陽性対照群として皮膚への発癌性作用が知られているDMBA50 μ gをアセトンに溶解し、同様に29週間連続投与した。塗布容量を1匹当り200 μ Lとし、フェリムソンは1及び3%(W/V)溶液を用時に調製して使用し、DMBAは0.025%(W/V)溶液を試験開始時に調製して-20 $^{\circ}$ Cで保存後、用時に取出して使用した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

対照群(アセトン)とフェリムソンの2000及び6000 μ g投与群では一般状態に異常はみられず、死亡例も認められなかった。

DMBA投与群では、3週時に投与部位の皮膚に発赤、浮腫あるいは痂皮がほぼ全例に発生し、3週時から死亡例がみられ、投与終了時まで20匹中11例(55%)が死亡した。

体重変化 : 試験開始時から20週までは週1回、その後は2週に1回全生存動物について個体別体重を測定した。

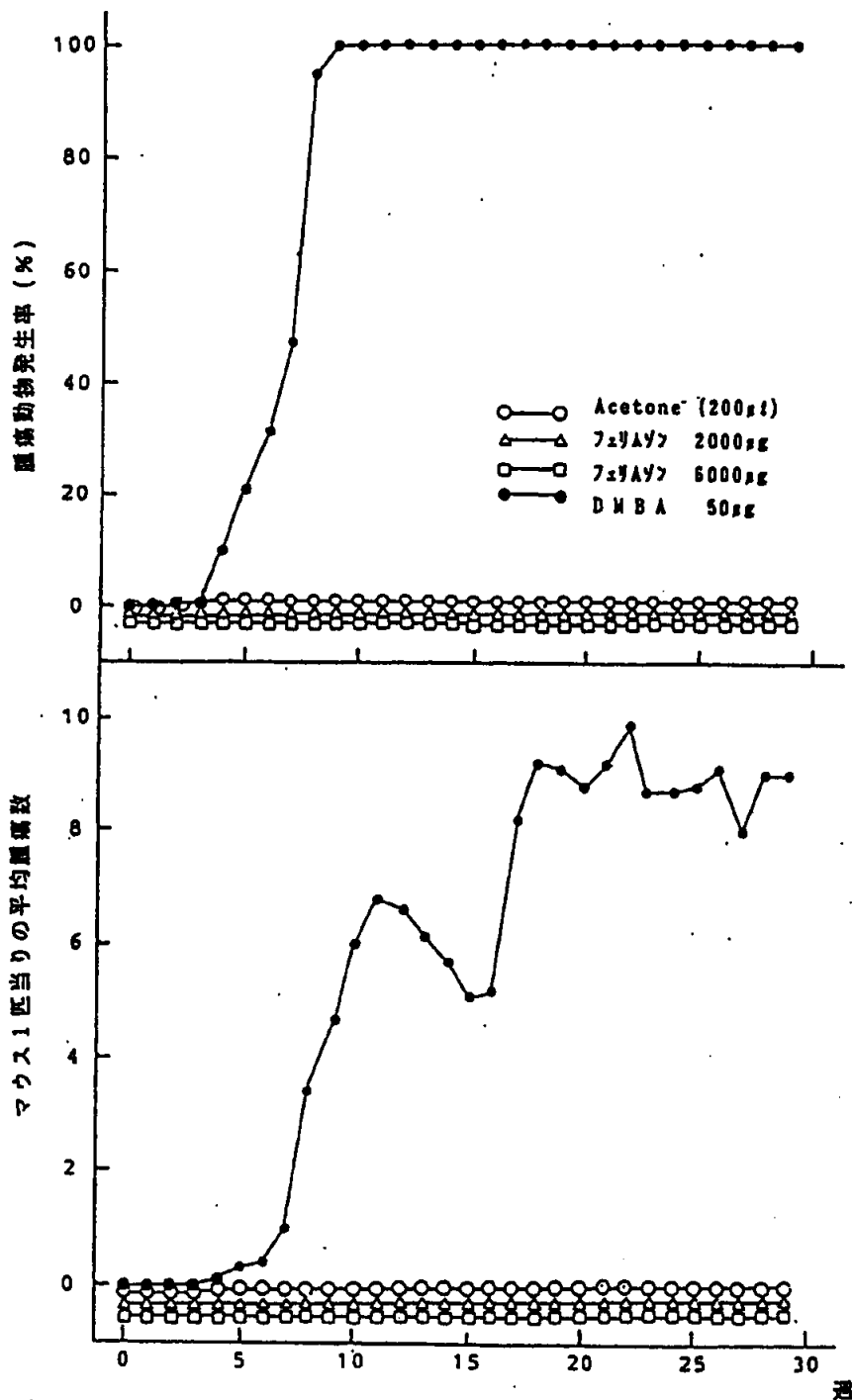
フェリムソン2000 μ g投与群では対照群との間に差は認められなかった。フェリムソン6000 μ g投与群では9及び14週時に有意な体重の増加抑制を示したが、その変動は一時的であり、その前後の体重に有意差が認められなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

DMBA投与群では、体重増加抑制傾向を示し、9週時及び13から26

週時まで有意な体重増加抑制がみられ、これらは DMBA 投与による影響と考えられた。

皮膚腫瘍の発生状況 ; 全生存動物を対象として週1回、皮膚の腫瘍発生数を乳頭腫及び扁平上皮癌に分類して観察した。

腫瘍動物発生率及びマウス1匹当りの平均腫瘍数の経時的推移を下図に示した。



フェリムゾンの両投与群では腫瘍の発生は全く認められなかった。DMBA投与群では4週時から生存動物19匹中2例の皮膚に腫瘍の発生がみられ、9週時には19匹全例に観察された。1匹当りの平均腫瘍数は4週時に0.1個であったが、その後経時的に増加し、17週時には8.2個となり以後プラトーに達して29週目には9.0個を示した。

肉眼的病理検査 ; 30週間投与終了後、対照群及びフェリムゾン投与群については無作為に5例を選び、DMBA投与群は29週時に腫瘍発生により衰弱が著しくなり生存例が9例となったため、予定より1週間早く全例を剖検し肉眼的病理検査を行った。

対照群及びフェリムゾン投与群に異常所見は認められなかった。DMBA投与群では、主要な所見として脾の肥大、腋下リンパ節の肥大、胸腺の萎縮、肺の小結節及び前胃の肥厚等が認められた。

病理組織学的検査 ; 肉眼的病理検査を行った動物を対象に、皮膚の腫瘍は採取可能な全ての腫瘍について、また腫瘍の発生のみられない皮膚については検体を塗布した部位の皮膚について病理組織学的検査を実施した。

[腫瘍性病変]

皮膚の腫瘍性病変の発生数を次表に示した。

群	処置	使用動物数	検査動物数	腫瘍動物数	腫瘍総数	腫瘍の形態別数		
						乳頭腫 [%]	扁平上皮癌 [%]	M P H [%]
1	アセトン (200μL)	20	5	0	0	0	0	0
2	フェリムゾン 2000μg	20	5	0	0	0	0	0
3	フェリムゾン 6000μg	20	5	0	0	0	0	0
4	DMBA 50μg	20	9 (10)*	9 (8)	88 (73)	67 [76.1] (62) [84.9]	21 [23.9] (10) [13.7]	0 (1) [1.4]

注) () 内の数値は死亡動物数、MPH: 悪性線維性組織球腫

投与部位皮膚及び皮下組織の組織所見について、対照群(アセトン)及びフェリムゾン投与群に異常所見は認められなかった。

DMBA投与群における腫瘍の組織所見について、生存例では総腫瘍88個中乳頭腫67個(76.1%、7.4個/匹)、扁平上皮癌21個(23.9%、2.3個/匹)であり、死亡例では腫瘍73個中、乳頭腫62個(84.9%、6.2個/匹)、扁平上皮癌10個(13.7%、1.0個/匹)、悪性線維性組織球腫1個(1.4%、0.1個/匹)であった。

[非腫瘍性病変]

皮膚の非腫瘍性病変をもつ動物数を次表に示した。

皮膚、皮下 組織の病理 組織学的 検査所見	群	1	2	3	4
	処 置	アセトン (200 μ L)	フェリムゾン 2000 μ g	フェリムゾン 6000 μ g	D M B A 50 μ g
	検査動物数	5	5	5	9(10) ^a
表皮の増生		0	0	0	6(9)
細胞浸潤		0	0	0	9(8)
潰瘍		0	0	0	7(6)
痂皮		0	0	0	1(4)
角化亢進		0	0	0	8(9)
出血		0	0	0	1(1)
肉芽組織		0	0	0	1(0)
表皮嚢胞		0	0	0	3(4)

注) () 内の数値は死亡動物数

DMBA 群マウスの塗布部皮膚及び皮下組織の所見としては、生存例及び死亡例ともに表皮の増生、細胞浸潤、潰瘍や角化亢進、また一部に痂皮、出血、肉芽組織や表皮シストが散見された。しかし、対照群(アセトン)及びフェリムゾン投与群に異常所見は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下におけるフェリムゾンのマウス皮膚に対する発癌性は陰性と考えられた。

(6) フェリムゾンのラット皮膚に対する発癌性試験

(資料11-6)

試験機関 : 臨床医学研究所
[GLP対応]

報告書作成年 : 1991年

試験の実施目的 : フェリムゾンのラットに対する慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)において、3000ppm投与群の雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められ、鼻部および皮膚に対する発癌性が懸念された。そのため、フェリムゾンを経ラットの背部皮膚に週2回、30週間連続投与した時の皮膚に対する発癌性試験を実施し、同時に、陽性対照物質として、既知の発癌物質である7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)を投与して比較検討した。

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : Crj:Wistar系ラット、1群雄20匹

試験開始時5週齢(体重:152~181g)、ケージに個体別に収容した。

投与期間 : 30週間(1990年5月22日~1990年12月17日)

試験方法 : フェリムゾンの0、2000及び6000 μ gをアセトンに溶解し、除毛したラットの背部皮膚(約2 \times 3cm)に週2回、30週間連続塗布を行った。同時に陽性対照群として皮膚への発癌性作用が知られているDMBA50 μ gをアセトンに溶解し、同様に30週間連続投与した。塗布容量を1匹当り200 μ Lとし、フェリムゾンは1及び3%(W/V)溶液を用時に調製して使用し、DMBAは0.025%(W/V)溶液を試験開始時に調製して-20 $^{\circ}$ Cで保存後、用時に取出して使用した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

各投与群とも死亡例はみられず、一般状態についても対照群(アセトン)、フェリムゾン投与群には異常は認められなかった。

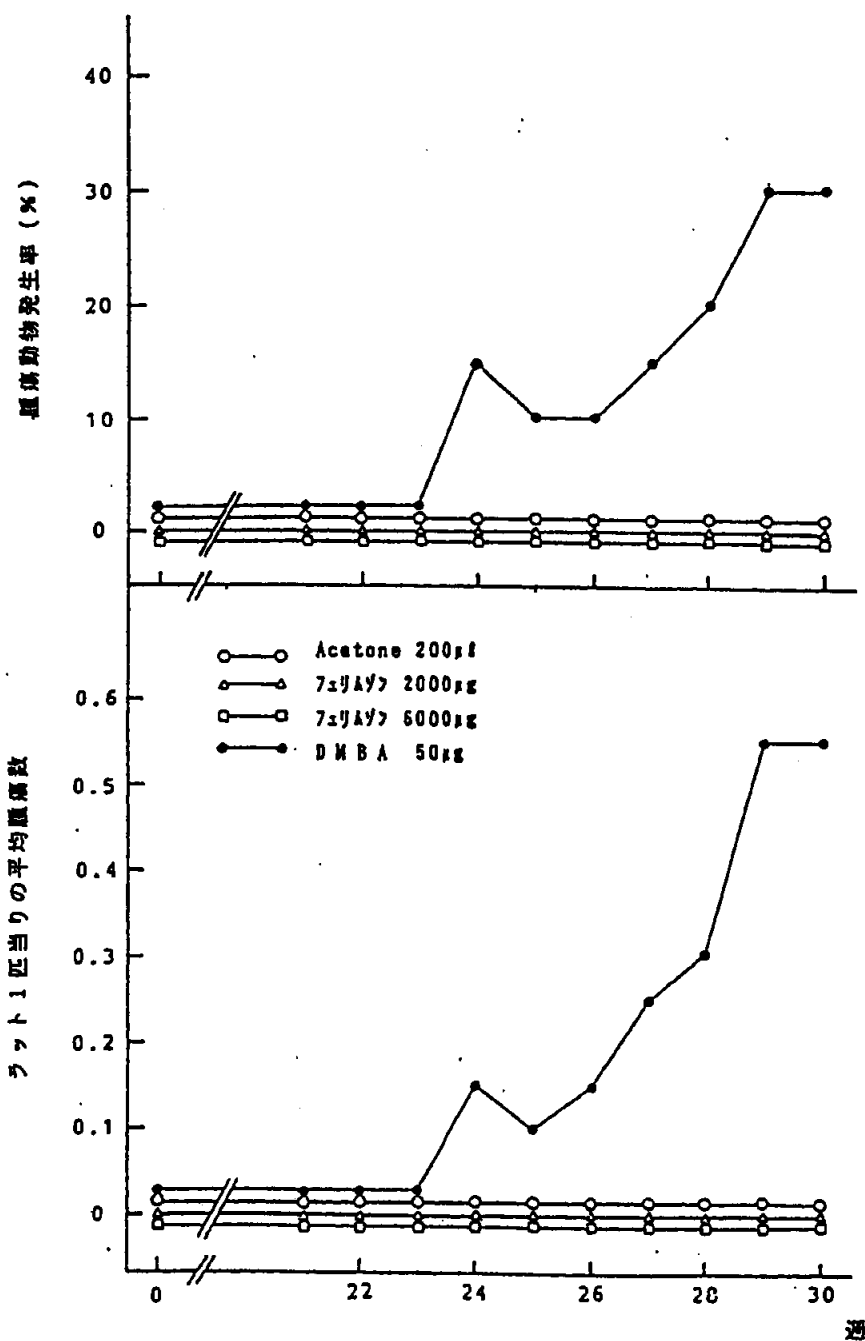
DMBA投与群では1例に被毛の汚れ、尾端の欠落とその部位からの出血及び貧血が認められた。

体重変化 : 試験開始時から20週までは週1回、その後は2週に1回全生存動物について個体別体重を測定した。

体重は各投与群とも順調な増加を示し、対照群と比較し差は認められなかった。

皮膚腫瘍の発生状況 ; 全生存動物を対象として週1回、皮膚の腫瘍発生数を乳頭腫及び扁平上皮癌に分類して観察した。

腫瘍動物発生率及びラット1匹当りの平均腫瘍数の経時的推移を下図に示した。



対照群及びフェリムゾン投与群では皮膚腫瘍の発生は全く認められなかった。

DMBA 投与群では、投与 24 週時から皮膚腫瘍の発生がみられ、24 週時は 3 例 (15%、0.15 個/匹) であったが、30 週時には 6 例 (30%、0.55 個/匹) と増加した。

肉眼的病理検査 ; 30 週間投与終了後、対照群及びフェリムゾン投与群については無作為に 5 例を選び、DMBA 投与群については一般状態が悪化している 1 例、腫瘍の発生している 6 例から無作為に 3 例、また腫瘍の発生していない 13 例から無作為に 2 例を選び、剖検し肉眼的病理検査を行った。

対照群及びフェリムゾン投与群には異常所見は認められなかった。DMBA 投与群については、一般状態で異常を示した 1 例に脾と腎の軽度の肥大及び膀胱の尿充満による膨満がみられた。また、他の 1 例に肝表面の粗造と腫大、腋下リンパ節の黄褐色腫大、脾の褐色腫大と腎の黄褐色腫大が観察された。

病理組織学的検査 ; 肉眼的病理検査を行った動物を対象に、皮膚の腫瘍は採取可能な全ての腫瘍について、また腫瘍の発生のみられない皮膚については検体を塗布した部位の皮膚について病理組織学的検査を実施した。

【腫瘍性病変】

皮膚の腫瘍性病変の発生数を次表に示した。

群	処 置	使用動物数	検査動物数	腫瘍動物数	腫瘍総数	腫瘍の形態別数	
						乳頭腫 [%]	扁平上皮癌 [%]
1	アセトン (200 μ L)	20	5	0	0	0	0
2	フェリムゾン 2000 μ g	20	5	0	0	0	0
3	フェリムゾン 6000 μ g	20	5	0	0	0	0
4	D M B A 50 μ g	20	6	3	8	5 [62.5]	3 [37.5]

[非腫瘍性病変]

皮膚の非腫瘍性病変をもつ動物数を次表に示した。

皮膚、皮下 組織の病理 組織学的検 査 所 見	群	1	2	3	4
	処 置	アセトン (200 μ L)	フェリムゾン 2000 μ g	フェリムゾン 6000 μ g	D M B A 50 μ g
	検査動物数	5	5	5	6
細胞浸潤		0	0	0	1
潰瘍		0	0	0	1
痂皮		1	0	0	2
角化亢進		0	0	0	3

対照群（アセトン）では、1例に塗布部皮膚に痂皮がみられたが、他に異常所見は認められなかった。

フェリムゾン投与群では塗布部の皮膚に全く異常所見は認められなかった。

DMBA 投与群では、剖検した6例中3例に乳頭腫及び扁平上皮癌が認められ、皮膚腫瘍8個中乳頭腫が5個、扁平上皮癌が3個であった。腫瘍の大半が表面の角化亢進を示し、少数例に投与部位の皮膚の潰瘍及び痂皮が認められた。

以上の結果より、本試験条件下におけるフェリムゾンのラット皮膚に対する発癌性は陰性と考えられた。

(7) ブラシン粉剤DLの作業者曝露について

ブラシン粉剤DLの散布時における吸入曝露試験

(資料 11-7)

試験機関：北 里 大 学
株式会社 化学分析センター
武田薬品工業株式会社
報告書作成年：1989年

試験の実施目的： フェリムゾンのラットに対する慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)において、3000ppm 投与群の雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められた。そのため、農薬散布時(ブラシン粉剤DL 散布)における散布者に対する曝露量(吸入域での曝露量)を調査し、散布作業者に対する安全性を検討した。

検 体： ブラシン粉剤DL
組 成： フェリムゾン 2.0%
フサライド 1.5%
鋳物質微粉、凝集剤等 残 量
100%

試験方法：

- (1) 散布方法： 背負式パイプダスター(ビニールパイプ 25~30m)を用いて水田圃場(群馬県勢多郡赤城村宮田地区)各約10aの3ヵ所を個別に散布した。散布は主作業員(背負式パイプダスターを操作)及び補助作業員(ビニールパイプ保持者)の2名により、圃場の両側を移動しつつ行った。散布量は4kg/10a(水田圃場)とした。
- (2) 分析用試料採取方法： 主作業員及び補助作業員の左右両肩に捕集部(ろ紙ホルダーをセット)を固定し、各々を個別にポリエチレンパイプで吸引ポンプ(腰部に装着)に接続した。散布時間中、流量2ℓ/minで連続的に吸引捕集し、ろ紙を各作業員の吸入域における曝露量調査試料として採取し、分析に供した(ろ過捕集方法)。また、散布作業中に作業員が使用した保護マスクも分析に供した。
- (3) 分析方法： 分析用試料は採取後分析時まで-20℃で3~14日間保存した。分析対象化合物はフェリムゾン、E異性体及びフサライドとし、フェリムゾン及びE異性体は高速液体クロマトグラフィーにより、フサライドはガスクロマトグラフィーにより分析した。検出限界は、フェリムゾン及びE異性体が0.2μg/ろ紙、0.4μg/マスクで、フサライドが0.05μg/ろ紙、0.5μg/マスクであった。

(4) 作業時の概況 ; 散布条件及び散布時の気象条件を下表に示す。

圃場No	面積	散布量	作業時間	吸引量	気 象 観 測			
					気 温	湿 度	風 向	風 速
A	14.75a	6 kg	5分42秒	11.4 ℓ	28.5℃	78%	南	2.5m/sec
B	11.1 a	4 kg	3分40秒	7.3 ℓ	30.0℃	79%	南	1.6m/sec
C	11.0 a	4.5 kg	4分1秒	8.0 ℓ	29.5℃	79%	南	2.4m/sec

試 験 結 果 : 分析結果を下表に示す。

圃場No	作業者	試料	分析結果 (μg)		曝露時の気中濃度 (mg/m^3)	
			フェリムグン+ E異性体 合計	フアライト	フェリムグン+ E異性体 合計	フアライト
A	主作業者	マスク	180.1	153.0	—	—
		ろ紙・右肩	2.6	1.76	0.23	0.15
		ろ紙・左肩	2.4	1.58	0.21	0.14
	補助作業者	マスク	82.4	75.0	—	—
		ろ紙・右肩	1.8	1.28	0.16	0.11
		ろ紙・左肩	3.2	2.48	0.28	0.22
B	主作業者	マスク	31.6	33.2	—	—
		ろ紙・右肩	0.6	0.53	0.082	0.073
		ろ紙・左肩	0.5	0.41	0.068	0.056
	補助作業者	マスク	215.1	169.0	—	—
		ろ紙・右肩	9.9	6.90	1.36	0.95
		ろ紙・左肩	10.4	6.76	1.42	0.10
C	主作業者	マスク	38.1	55.0	—	—
		ろ紙・右肩	<0.2	0.14	N.D.	0.018
		ろ紙・左肩	<0.2	0.14	N.D.	0.018
	補助作業者	マスク	181.8	153.0	—	—
		ろ紙・右肩	7.9	5.88	0.99	0.74
		ろ紙・左肩	10.8	8.67	1.35	1.08
平均*	マスク	121.5	106.4	—	—	
	ろ紙・右肩	3.8	2.75	0.515	0.305	
	ろ紙・左肩	4.6	3.34			

N. D. : 検出されず (定量限界 : $0.03 \text{ mg}/\text{m}^3$)。

* : 平均値は申請者が算出した。尚、検出限界未満の値は検出限界の 1/2 として算出した。

申請者注1 : OECD ガイダンス OECD/GD(97)148, 1997 に基づく。

本試験より確認された点及び考察を以下に列記する。

- ① 上表に示した通り、作業者のマスクによる捕集量はフェリムゾンと E 異性体の合計が 31.6~215.1 μg 、フサライドが 33.2~169 μg であった。また、左右両肩部に取り付けた吸引捕集器による捕集量は、フェリムゾンと E 異性体の合計が <0.2~10.8 μg 、フサライドが 0.14~8.67 μg であった。
- ② マスク及びろ紙に捕集された[フェリムゾンと E 異性体の合計]とフサライドの比率は、マスクで 0.69~1.27 (平均 1.06)、ろ紙で 1.18~1.49 (平均 1.33) で、製剤中の両者の比率 (1.33) とほぼ同等であった。
- ③ 同一作業者の測定位置 (右肩・左肩) による曝露量には顕著な差は認められなかった。
- ④ 作業者の曝露量は風向の影響を大きく受け、風下側に位置した作業者は風上側の作業者の約 2~7 倍被曝した。
- ⑤ 本試験におけるフェリムゾン及び E 異性体の曝露時の気中濃度は 0.082~1.42 mg/m^3 、フサライドのそれは 0.018~1.08 mg/m^3 であり、他剤における報告結果 (0.1~5 mg/m^3) とほぼ同等の値が得られた。

[申請者注] ブラシン粉剤 DL の作業者曝露評価について

上記吸入曝露試験の結果を基にブラシン粉剤 DL の作業者曝露評価を以下のとおり、実施した。

- ① 農薬の散布は季節的な作業であるが、一日平均作業 (2.5 時間) を 1 年間毎日実施すると仮定して作業者曝露評価を行った。
- ② 上記④に記載した様に風下側の作業者は高曝露となったが、年間を通じての平均曝露を考えるため、常に風下での作業は有り得ない。従って、主作業者・補助作業者の別なく作業者すべての平均値を用いた。
- ③ 作業時のフェリムゾンと E 異性体の気中濃度の平均は、0.515 mg/m^3 であった。
- ④ マスクを着用しない場合の曝露量は、上記③の平均気中濃度 0.515 mg/m^3 とヒト呼吸量 10 $\text{m}^3/8$ 時間²⁾、一日の平均作業 2.5 時間、体重 50 kg より 0.0322 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ と算定される。但し、当該製剤ラベル表示にマスク着用を記載されているため、平均気中濃度にマスク透過率 8%³⁾ を乗じた後、マスク未着用時と同様に吸入曝露量を算定し、0.00258 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ を得た (別表参照)。
- ⑤ 上記④で算定した曝露量と発ガン性試験における鼻部扁平上皮癌の最大無作用量 19.2 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ を比較する事により、散布作業者に対する安全係数を算出し 7,460 が得られた。

申請者注 2: PCB 許容濃度の提案理由 (産業衛生学会 2006) におけるヒト呼吸量。

申請者注 3: ドイツ BGVV ガイドライン、Part I、3-3 におけるマスク透過率。

- ⑥ 以上の考察から、ラベルに記載されている使用方法に従って保護具を着用し、動力背負式パイプダスターを用いたブラシン粉剤 DL を散布した際の作業者の吸入曝露評価において、下表の通り 7,000 を超える高い安全係数が得られることがわかった。

製剤	マスク	推定曝露量 (mg/kg/day)	安全係数
ブラシン粉剤 DL	無	0.0322	597
	有	0.00258	7,460

B. 原体混在物および代謝物を用いた試験成績

1. 原体混在物

(1) 原体混在物 I のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 混 1)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1986年

検体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

化学名 ;

構造式 ;

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット6週齢、体重 ; 雄 153~168g、雌 123~137g
1群雌雄各10匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 対照群ならびに5段階の用量を設定した投与群を設け、14日後の死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体は、乳鉢を用いて十分に粉碎した後、0.5%MC-Na溶液を所定の濃度に懸濁し、所定の濃度となるように用時調製した投与を、体重100g当たり1mLを投与前16時間絶食させた動物に金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には、0.5%MC-Na溶液のみを同量の割合で投与した。

検査・観察項目 : 中毒症状及び生死を投与後10、20、30分、1、2、3、4、5、6、24時間及び以後は1日1回14日間観察した。体重は投与直前、投与3、7、10、14日及び死亡発見時に測定した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 0, 296, 385, 500, 650, 845 雌： 0, 228, 296, 385, 500, 650
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 449 , 雌： 408 (394~509) , (350~486)
死亡開始時間 及び終了時間	雄：1時間 , 雌：30分 雄：2日 , 雌：2日
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共： 10分 雌雄共： 3日
死亡の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雄： 296 , 雌： 228

中毒症状としては、雌雄ともに筋肉の弛緩、流涎、自発運動減少、鎮静及び衰弱がみられたが、雌雄とも投与3日後には全生存例が回復した。

観察期間中、体重は全投与群で投与3日後に増加抑制がみられたが、雄の385 mg/kg投与群以外は観察期間終了時には回復した。

死亡は、雄では385mg/kg以上の投与群で投与1時間後から2日後まで、雌では296mg/kg以上の投与群で投与30分後から2日後までの間に認められ、死亡例の剖検では雌雄ともに肺、胃粘膜、胸腺及び小腸の出血が認められ、肺のうっ血及び胃粘膜の糜爛が散見された。また、雄の2例の小腸に腸重積がみられた。しかし、生存例の剖検では異常は認められなかった。

(2) 原体混在物 I のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混 2)

試験機関 : 臨床医科学研究所

報告書作成年 : 1984年

検 体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

供 試 動 物 : Std:ddy 系マウス 5 週齢、体重 ; 雄 22.7~26.4g、雌 20.1~23.5g
1 群雌雄各 10 匹

観 察 期 間 : 14 日間

試 験 方 法 : 対照群ならびに 6 段階の用量を設定した投与群を設け、14 日後の死亡率から Litchfield & Wilcoxon 法により LD_{50} 値を算出した。

投 与 方 法 : 検体を 0.4%CMC-Na 溶液に懸濁し、所定の濃度に用時調製し、体重 10g 当たり 0.1mL を投与前 16 時間絶食させた動物に金属製胃ソングを用いて、1 回強制経口投与した。対照群には、0.4%CMC-Na 溶液のみを同量の割合で投与した。

観 察 ・ 検 査 項 目 : 中毒症状及び生死を投与後 ~ 30 分、1、2、3、4、5、6、24 時間及び以後は 14 日間観察した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は投与開始時、投与 3、7、10 及び 14 日後に測定した。

試験結果：

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 228, 296, 385, 500, 650, 845
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 445 , 雌： 420 (364.8~542.9) , (352.9~499.8)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共： 1 時間 雌雄共： 24 時間
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共： 直 後 雌雄共： 7 日
死亡の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 228

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少及び歩行異常が投与直後より、次いで強直性痙攣が、20分後には筋弛緩がみられた。これらの症状は3時間後より軽減する傾向がみられ、24時間後には用量依存的に回復し、7日後には全例が回復した。

体重変化においては、用量依存的に増加抑制が認められた。

死亡は投与1時間後より24時間後までの間に認められた。

剖検所見では、死亡例に胃粘膜の糜爛、胃及び小腸粘膜の出血が多くみられ、肺のうっ血が散見された、生存例では、各投与群と対照群の間に差異は認められなかった。

(3) 原体混在物 I のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 混 3)

試験機関 : 臨床医科学研究所

報告書作成年 : 1984年

検 体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

供試動物 : Std:Wistar/ST 系ラット 7 週齢、体重 ; 雄 231.3g(平均値)、雌 168.5g(平均値)、1 群雌雄各 10 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 対照群ならびに 2000mg/kg の投与群を設けた。

投与方法 : 検体そのままを 2000mg/kg の割合で、あらかじめ剪毛したラットの背部皮膚(塗布面積 4×5cm)を蒸留水で湿らせ塗布した。塗布した面は、ガーゼで覆い、絆創膏で固定し、更にラット用ネックレスを用いて摂食を防いだ。塗布 24 時間後に検体を微温水で洗い落とし、ガーゼを用いて拭き取った。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。全例について観察期間終了時に剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は投与開始時、投与 3, 7, 10 及び 14 日後に測定した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共：0, 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共： > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共： 2000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。

適用部位の皮膚に浮腫、発赤及び痂皮形成等の変化は認められず、発毛の状態も対照群と投与群との間に差異は認められなかった。体重に及ぼす検体の影響は認められなかった。剖検所見では、投与群の適用部位及び胸腹腔内の各臓器に異常は認められず、対照群と比較して差異は認められなかった。

(4) 原体混在物Ⅱのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 混4)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物Ⅱ

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット6週齢、体重;雄94~112g、雌84~104g
1群雌雄各10匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 6段階の用量を設定した投与群を設け、14日後の死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体をコーンオイルに懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当たり2mLを投与前17時間絶食させた動物に金属胃ゾンデを用いて、1回強制経口投与した。対照群には、コーンオイルのみを同量の割合で投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を投与後10、20、30分、1、2、3、4、5、6、24時間及び以後は1日1回14日間観察した。体重は、投与直前、投与3、7、10、14日及び死亡発見時に測定した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 0, 118, 154, 200, 260, 338, 439 雌： 0, 91, 118, 154, 200, 260, 338
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 345 , 雌： 265 (297~437) , (222~360)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共： 1 時間 雌雄共： 24 時間
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共： 20 分 雄： 3 日 , 雌： 4 日
死亡の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雄： 154 , 雌： 91

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、鎮静、チアノーゼ及び下痢がみられたが、雌雄とも漸次軽減し、雄では3日後、雌では4日後に全生存例が回復した。

体重変化では、雄の200 mg/kg以上の投与群、雌の200及び338 mg/kg投与群において、投与3日後に体重増加抑制がみられたが、以後回復し、雌では7日後、雄では10日後には対照群との間に差は認められなくなかった。また、14日後において、雌の91, 118, 154及び260 mg/kg投与群で対照群と比較して体重が有意に減少した。

剖検所見では、死亡例に肺のうっ血、胃粘膜の糜爛または出血、小腸粘膜の糜爛または充血がみられ、肺の出血が散見された。生存例の剖検では、各臓器に異常は認められなかった。

(5) 原体混在物Ⅲのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 混5)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物Ⅲ

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット5週齢、体重;雄101~116g、雌91~108g
1群雌雄各10匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 対照群ならびに6段階の用量を設定した投与群を設け、14日後の死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体をコーンオイルに懸濁し、所定の濃度に用時調製し、体重100g当たり2mLを投与前17時間絶食させた動物に金属胃ゾンデを用いて、1回強制経口投与した。対照群には、コーンオイルのみを同量の割合で投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を投与後10、20、30分、1、2、3、4、5、6、24時間及び以後は1日1回14日間観察した。体重は、投与直前、投与3、7、10、14日及び死亡発見時に測定した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。なお、91及び118mg/kg投与群については、2日以降中毒症状の観察及び体重測定を行わなかった。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 91, 118, 154, 200, 260, 338
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 177 , 雌： 166 (151~207) , (145~191)
死亡開始時間 及び終了時間	雄：1時間 雌：30分 雌雄共： 24時間
症状発現時間及び 消失時間	雄：10分 , 雌：10分 雄：4日 , 雌：24時間
死亡の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 91

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、腹這い、流涎、流涙、強直性痙攣及びチアノーゼがみられた。雌では24時間後に、雄では4日後に、全生存例とも全ての中毒症状が回復した。

体重には検体投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、死亡例に肺の出血またはうっ血、胃粘膜及び小腸粘膜の糜爛がみられ、小腸の充血、胃粘膜の出血、小腸粘膜の出血及び腸重積が散見された。生存例の剖検では、各臓器に異常は認められなかった。

(6) 原体混在物IVのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 混6)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物IV

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット6週齢、体重; 雄104~120g、雌86~110g
1群雌雄各10匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 対照群ならびに6段階の用量を設定した投与群を設け、14日後の死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定の濃度に用時調製し、体重100g当たり2mLを投与前17時間絶食させた動物に金属胃ゾンデを用いて、1回強制経口投与した。対照群には、0.5%CMC-Na溶液のみを同量の割合で投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を投与後10、20、30分、1、2、3、4、5、6、24時間及び以後は1日1回14日間観察した。体重は投与直前、投与3、7、10、14日及び死亡発見時に測定した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 0, 385, 500, 650, 845, 1099, 1428 雌： 0, 296, 385, 500, 650, 845, 1099
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 875 , 雌： 733 (741~1073) , (630~875)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共： 24時間 雄： 4 日 , 雌： 5 日
症状発現時間及び 消失時間	雄： 10 分 , 雌： 10 分 雄： 8 日 , 雌： 7 日
死亡の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 385

中毒症状としては、雌雄ともに流涎、自発運動減少、流涙、鎮静及び間代性痙攣がみられた。これらの症状は漸次回復にむかったが、3日後より一部の動物で衰弱がみられ、全生存例が回復したのは、雄では8日後、雌では7日後であった。

体重変化では、全投与群で投与3日後に体重減少または体重増加抑制がみられ、以後回復にむかったが、500 mg/kg以上の投与群では試験終了時においても対照群との間に差が認められた。

剖検所見では、死亡例に肺のうっ血または出血、胃粘膜の糜爛または出血が認められたが、生存例の各臓器には異常は認められなかった。

(7) 原体混在物Vのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混7)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検体 : 原体混在物V

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス7週齢、体重; 雄26.6g(平均値)、雌21.5g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 投与量設定試験において、雌雄共に5000mg/kgを投与した結果、死亡は認められなかった。従って、本試験の投与量を5000mg/kgとし、対照群も設けた。

投与方法 : 検体を乳鉢で十分に粉碎後0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定の濃度を用時調製し、体重10g当たり0.2mLを投与前17時間以上絶食させた動物に金属胃ゾンデを用いて、1回強制経口投与した。対照群には、0.5%CMC-Na溶液のみを同量の割合で投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を投与後10、20、30分、1、2、3、4、5、6、24時間及び以後は1日1回14日間観察した。体重は投与直前、投与3、7、10、14日に測定した。観察期間終了時の全例について剖検し、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共： > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び 消 失 時 間	雌雄共： 20 分 雄： 4 時間 , 雌： 3 時間
死亡の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 5000

中毒症状としては、雌雄ともに投与 20 分後より自発運動減少がみられたが、雌では 3 時間後、雄では 4 時間後には全例の回復が認められた。

体重変化においては、雌雄とも対照群と投与群との間に有意差は認められなかった。

剖検所見では、対照群及び投与群の雌雄ともに異常は認められなかった。

(8) 原体混在物VIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 混8)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物VI

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット6週齢、体重;雄150~167g、雌116~129g
1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 対照群ならびに4段階の用量を設定した投与群を設け、14日後の死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定の濃度に用時調製し、体重100g当たり2mLを投与前17時間絶食させた動物に金属製胃ソングを用いて、1回強制経口投与した。対照群には、0.5%CMC-Na溶液のみを同量の割合で投与した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を投与後10、20、30分、1、2、3、4、5、6、24時間及び以後は1日1回14日間観察した。体重は投与直前、投与3、7、10、14日に測定した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 1821, 2367, 3077, 4000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共： 3758
死亡開始時間 及び終了時間	雄： 24時間 , 雌： - 雄： 2 日 , 雌： 24時間
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共： 10 分 雌雄共： 3 日
死亡の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 2367

中毒症状としては、鎮静、自発運動減少、筋肉の弛緩、歩行異常、流涎、流涙及び衰弱がみられた。

体重に対しては検体投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、4000 mg/kg投与群の死亡例に肺のうっ血または出血、胃粘膜の出血及び膀胱内に多量の尿貯留が、また雄の1例に十二指腸潰瘍による穿孔がみられた。生存例の各臓器には異常は認められなかった。

(9) 原体混在物 I のラットを用いた混餌投与による 3 ヶ月亜急性毒性試験

(資料 混 9)

試験機関 : 残留農業研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検 体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

供 試 動 物 : Jcl:Wistar 系ラット、1 群雌雄各 12 匹

試験開始時 5 週齢 (体重 ; 雄 132~149g、雌 115~126g)

なお、雌雄別に 1 ケージ当り 3 匹収容し、飼育した。

投 与 期 間 : 3 ヶ月間 (1985 年 5 月 27 日~1985 年 8 月 27 日)

投 与 方 法 : 検体を基礎飼料に混合し、100, 250, 1000 及び 4000ppm の濃度になるよう試験用飼料を調製した。試験用飼料は週 1 回調製した。投与群には各試験用飼料を、対照群には基礎飼料のみを 3 ヶ月間ラットに自由摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察し、さらに少なくとも週 1 回詳細な臨床観察を実施した。

1000 及び 4000ppm 投与群雄において、眼瞼周囲赤色物付着の発生頻度 (0/12 例) が、対照群 (4/12 例) に比べ有意に減少した。雌の各投与群及び雄の 250ppm 以下の投与群では、対照群に比べ有意な変化は認められなかった。いずれの投与群においても死亡例は認められなかった。

体重変化 ; 週1回、全生存動物の体重を個体別に測定した。

4000ppm 投与群では、雄で全投与期間中、雌で投与3週を除く全投与期間中対照群に比べ有意かつ顕著な体重増加抑制が認められた。

1000ppm 以下の投与群雌雄においては、対照群との間に有意な差は認められなかった。

飼料摂取量及び飼料効率 ; 週1回、ケージ別に飼料摂取量を測定し、飼料効率を計算した。4000ppm 投与群の雌雄では、対照群と比べ有意な飼料摂取量の減少あるいは減少傾向が認められた。平均飼料摂取量は、雌雄とも20%減少した。1000ppm 以下の投与群雌雄では、有意な変化は認められなかった。検体投与群の雌雄では、食餌効率の変動は著しく投与期間中一定の変化は認められなかった。

検体摂取量 ; 飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量を下表に示す。

投与群 (ppm)		対照	100	250	1000	4000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	—	6.06	15.2	59.7	233
	雌	—	6.98	17.5	70.7	244

血液学的検査 ; 13週間投与終了後に各投与群雌雄全例について、後大静脈より採血し、次の項目について検査した。赤血球数、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球色素濃度(MCHC)、血小板数、白血球数及び白血球百分比。対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

検査項目	投 与 量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	250	1000	4000	100	250	1000	4000
赤血球数			↓ 97	↓ 95				
Hb				↓ 94				↓ 92
Ht				↓ 94				↓ 92

注) Dunnett 多重比較、↑ ↓ ; p<0.05、↑ ↓ ; p<0.01

表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

4000ppm 投与群の雌雄において、Ht 及び Hb の有意な減少が認められた。また、1000ppm 以上の投与群雌雄では、赤血球数が有意に減少した。これらは軽度の貧血があったことを示している。

血液生化学的検査 ; 上記の血液学的検査を行った同一動物を対象に、血清中の次の項目について検査した。総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G比、アルカリホスファターゼ (ALP)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン、血糖、総コレステロール、GOT、GPT、総ビリルビン、Ca、P、Na、K。対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

検査項目	投 与 量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	250	1000	4000	100	250	1000	4000
アルブミン				↑ 106			↑ 108	↑ 107
グロブリン			↓ 96	↓ 91				
A / G 比			↑ 107	↑ 117			↑ 108	↑ 110
A L P				↑ 151				↑ 133
B U N				↑ 110				
G O T							↓ 89	
G P T			↓ 88	↓ 59				↓ 64
クレアチニン							↑ 109	
P		↑ 111		↑ 109				

注) Dunnett 多重比較、↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01
表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

4000ppm 投与群の雌雄において ALP、アルブミン、A/G 比の有意な増加及び GPT の有意な減少が認められた。また、同投与群の雄では、BUN と P が有意に増加し、グロブリンが有意に減少した。1000ppm 投与群において、投与用量に依存した有意な変化として、雄では GPT とグロブリンの減少及び A/G 比の増加がみられ、雌では、アルブミン、A/G 比、クレアチニンが増加し、GOT が減少した。250ppm 投与群の雄では P が増加した。

尿 検 査 ; 試験開始後 13 週時に、各投与群の生存動物全例につき 24 時間尿量の測定、尿色検査及び尿沈渣の鏡検を行った。さらに、腰背部圧迫法により採尿し、次の項目について検査した。比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン。

4000ppm 投与群雌雄において、対照群と比べ統計学的に有意な変化

は認められなかった。1000ppm 以下の投与群では、比重、蛋白、ケトン体及び尿沈渣所見において有意差が散見された。

眼 検 査 ; 試験開始時と試験開始後 13 週時に対照群及び最高投与群の雌雄全例について、ハロゲン検眼鏡を用い眼検査を行った。

各投与群の雌雄とも対照群と比べ統計学的に有意な所見は認められなかった。

臓器重量 ; 13 週間投与終了後の雌雄全例について、剖検の後次の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣、卵巣。

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

検 査 項 目		投 与 量 (ppm)							
		雄				雌			
		100	250	1000	4000	100	250	1000	4000
脳	重 量				↓ 96				
	対体重比				↑ 120				↑ 112
下垂体	重 量				↓ 83				
心	重 量				↓ 87				
	対体重比				↑ 106				
肝	対体重比				↑ 118				↑ 114
腎	重 量				↓ 87				
	対体重比				↑ 108				
脾	重 量				↓ 89				
	対体重比				↑ 111				
副 腎	重 量								↓ 84
精 巣	対体重比				↑ 124				

注) Dunnett 多重比較、↑↓; $p < 0.05$ 、↑ ↓; $p < 0.01$
表中の数値は対照群に対する相対値(%)を表す。

4000ppm 投与群において、雄では、脳、下垂体、心、腎及び脾の、雌では副腎の重量が有意に減少した。対体重比では、雄で脳、心、肝、腎、脾及び精巣が、雌では脳及び肝がそれぞれ有意に増加した。

肉眼的病理検査 ; 供試動物全例について肉眼的病理検査を行った。

4000ppm 投与群雌雄に肝の暗調化を示す個体が有意に高い頻度で認められた。また、同投与群の雄では体型の小型化を示した。1000ppm 投与群においても、雌に肝の暗調化を示す個体が有意に高い頻度で観察された。

以下にそれらの発生頻度を示す。

性別		雄					雌					
		投与群 (ppm)		0	100	200	1000	4000	0	100	200	1000
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
肝臓	暗調化	0	0	0	1	10**	0	0	0	5*	6**	
その他	体型小型化	0	0	0	0	4**	0	0	0	0	0	

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01

病理組織学的検査 ; 試験終了時の全屠殺動物を対象に、最低限次の組織について病理組織学的検査を実施した。脳、脊髓(頸部、胸部、腰部)、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体、副腎、脾、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心、大動脈、唾液腺、食道、胃(前胃、腺胃)、肝、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊及び凝固腺、卵巣、子宮(角部、体部、頸管部)、眼球及び付属腺、骨格筋、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位。

また、鼻腔及び副鼻腔を含む頭部を Young の方法に従って組織切片を作製し、上記検査を行った。

4000ppm 投与群では、肝の小葉中心性肝細胞腫大が雌雄の個体に認められたが、病変の強度は雌雄ともに軽度であった。この他同投与群ではカタル性盲腸炎が雌雄の個体に認められたが、対照群における発生頻度が雄で 0/12 例であったのに対し雌では 3/12 例であったため、雌では 4000ppm 投与群と対照群との間に有意差は生じなかった。カタル性盲腸炎の組織像はリンパ球を主体とする炎症細胞の粘膜固有層への浸潤であった。

以下にそれらの発現数を示す。

投与群 (ppm)		雄					雌				
		0	100	250	1000	4000	0	100	250	1000	4000
臓器	所見\検査動物数	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12
大腸	カタル性盲腸炎	0	1	0	1	9**	3	1	0	1	7
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
肝臓	小葉中心性肝細胞腫大	0	0	0	0	12**	0	0	0	0	8**

注) Fisher の直接確率検定を実施した ** : p<0.01

また、4000ppm 投与群雌ラットの鼻涙管レベル 2 における扁平上皮化生が統計学的に有意な増加を示した。この病変の程度は軽度から中等度のものであり原発部位は両側であった。鼻涙管レベル 2 における扁平上皮化生の発現数を下表に示した。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	5/12	0/12
100	2/12	0/12
250	1/12	0/12
1000	4/12	2/12
4000	8/12	12/12*

* ; p<0.0001
Fischer の確率検定
及び Cochran-Armitage
検定

以上の結果より、の 3 ヶ月間混餌投与によるラットの亜急性毒性試験における検体投与に関連した影響としては、4000ppm 投与群において体重増加抑制及び飼料摂取量の減少とこれらに付随した多くの臓器重量の減少及び対体重比の増加、軽度の貧血症状、カタル性盲腸炎が認められた。さらに、病理組織学的所見では、4000ppm 投与群において肝に小葉中心性肝細胞腫大がみられ、これに相関して血液生化学的検査では ALP の増加、剖検所見では肝の暗調化の増加が認められた。しかし、GPT はむしろ減少していることから ALP の上昇が真に肝障害を示唆しているのか疑問である。1000ppm 投与群雌においても肝の暗調化がみられ、これは病理組織学的変化と一致しなかったが、投与用量に相関する変化であった。また、4000ppm 投与群雄でみられた体型の小型化は体重変化と一致していた。

本試験における無毒性量は 250ppm (雄 15.2 mg/kg/day、雌 17.5 mg/kg/day) と判断される。

表. 病理組織学的所見 (雄)

投与群 (ppm)		0	100	250	1000	4000
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
心臓	限局性心筋炎	2	4	2	5	1
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
頸部リンパ節	リンパ球様細胞過形成	0	0	1	0	0
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
肺	泡沫細胞集簇	8	4	6	5	8
臓器	所見\検査動物数	12	12	11	12	12
大腸	カタル性盲腸炎	0	1	0	1	9**
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
肝臓	小葉中心性肝細胞腫大	0	0	0	0	12**
臓器	所見\検査動物数	12	12	11	12	12
膵臓	膵房細胞萎縮	0	0	1	0	0
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
腎臓	腎盂拡張	6	4	4	7	4
	限局性尿細管萎縮	2	0	2	1	1
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
精巣上体	精子肉芽腫	0	1	1	1	0
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
大脳	神経膠腫	0	0	1	0	0

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01

表. 病理組織学的所見 (雌)

投与群 (ppm)		0	100	250	1000	4000
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
心臓	限局性心筋炎	0	1	1	0	0
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
肺	泡沫細胞集簇	0	4*	2	4*	3
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
胃	粘膜下浮腫	0	1	1	0	0
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
大腸	カタル性盲腸炎	3	1	0	1	7
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
肝臓	小葉中心性肝細胞腫大	0	0	0	0	8**
臓器	所見\検査動物数	12	12	11	12	12
膵臓	膵房細胞萎縮	0	0	1	0	0
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
腎臓	腎盂拡張	2	0	2	1	1
	限局性尿細管萎縮	1	0	0	0	1
	腎盂炎	0	3	1	0	0
臓器	所見\検査動物数	12	12	12	12	12
膀胱	膀胱炎	0	0	0	0	1

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01

(10) 原体混在物 I のラットにおける催奇形性試験

(資料 混 10)

試験機関 : International Research and
Development Corporation
(米 国) [GLP]
報告書作成年 : 1988年

検 体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

試験動物 : SD (COBS[®]CD[®]) 系妊娠ラット (入荷時 10 週齢)、1 群 25 匹
(妊娠 0 日体重 : 210~297g)

試験期間 : 1987年 3月 23日~1987年 4月 16日 (交配開始より帝王切開終了まで)
投与方法 : 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、3、10及び 30 mg/kg/day の投与レベルで妊娠 6日から 15日までの 10日間、毎日 1回強制経口投与した。対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。投与容量は 5 mL/kgとし、投与液は毎日調製した。

試験項目 :

母動物 : 一般状態及び生死を毎日 2回観察し、妊娠 0、6、9、12、16及び 20日に体重を測定した。妊娠 20日に帝王切開し、生存胎児数、死亡胎児数及びそれらの位置、早期及び後期吸収胎児数、着床数、及び黄体数を検査した。

胎 児 : 全生存胎子について、体重を測定し、外表異常及び性比を検査した。同腹胎児の半数についてブアン固定液で固定、内臓異常の有無を検査し、残りの胎児についてはアルコール固定後、KOH で浸軟しアリザリンレッド S で染色して骨格異常の有無を検査した。

試験結果：母動物及び胎児動物に関するデータを別表に示した。なお、母動物当りの平均着床前死亡率 (%) 及び平均着床後死亡率 (%) は次の式により算出した。

$$\text{着床前死亡率 (\%)} = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{着床後死亡率 (\%)} = \frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

10 mg/kg/day 以上の投与群で母動物に自発運動の低下、運動失調など症状の発現、体重増加抑制および摂餌抑制が認められた。次世代に対しては、10 mg/kg/day 以上の投与群において胎児体重の低値、化骨遅延（第5/6胸骨分節の未化骨）および骨格変異（肋骨弯曲）の発現頻度の増加がみられた。3 mg/kg/day 投与群では母動物及び胎児に対する影響はなかった。また、最高用量の30 mg/kg/dayにおいても胚児致死作用および催奇形作用はなかった。

以上の結果より、原体混在物 I を妊娠ラットに投与した場合母動物および次世代に対する無毒性量は 3 mg/kg/day と判断された。

試験結果：

投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	30	
1群当りの動物数		25	25	25	25	
母動物	一般症状			自発運動の低下 運動失調	自発運動の低下 運動失調	
	死亡数	0/25	0/25	0/25	0/25	
	体重変化	妊娠6~15日(g)	48	46	43	38 *a)
		妊娠0~20日(g)	130	130	129	121
	摂餌量	妊娠9日(g)	20.5	19.1	17.9	16.6 **a)
	妊娠数(%)	23/25(92)	22/25(88)	22/25(88)	23/25(92)	
	肉眼的病理検査					
	着床所見	黄体数	17.2	17.3	16.9	17.0
		着床数	15.0	15.9	15.3	15.5
		着床前死亡率(%)	12.9	8.2	9.4	8.5
着床後死亡胚児数		1.2	0.9	1.3	1.2	
着床後死亡率(%)		8.1	5.4	8.6	7.6	
生存胎児数		13.8	15.0 **	14.0	14.3	
胎児						
体重(g)		3.5	3.4	3.3 *	3.2 **	
性比(雄%)		55.2	48.5	45.9	45.2	
奇形	奇形胎児数	4 (2)	6 (5)	9 (8)	9 (8)	
	水頭症	0	1 (1)	0	1 (1)	
	網膜皺襞	4 (2)	5 (4)	5 (4)	4 (3)	
	小眼症	0	1 (1)	1 (1)	1 (1)	
	胸骨裂	0	0	0	1 (1)	
	肩甲骨弯曲	0	0	0	2 (2)	
	卵巣位置異常	0	0	0	1 (1)	
変異	変異胎児数	51 (18)	60 (20)	75 (21)	77 (19)	
	頭骨化骨不全	1 (1)	2 (1)	7 (4)	3 (3)	
	舌骨未化骨	8 (7)	9 (7)	12 (4)	5 (3)	
	仙椎前椎骨数25	0	1 (1)	3 (2)	1 (1)	
	14肋骨	5 (3)	3 (3)	11 (7)	4 (3)	
	肋骨13対未満	3 (3)	4 (3)	4 (3)	7 (3)	
	肋骨弯曲	0	0	2 (2)	7 *a)(2)	
	第5/6胸骨分節の未化骨	32 (15)	45 (20)	52 *a)(19)	63 **a)(17)	
	第5/6以外の胸骨分節の未骨化	2 (2)	0	0	4 (3)	
	胸骨分節の配列異常	2 (2)	1 (1)	2 (2)	7 (7)	
坐骨の化骨不全	1 (1)	2 (1)	4 (4)	2 (2)		

註) Dunnett 多重比較、* ; p<0.05、** ; p<0.01 (但し、a) は申請者が統計検定を行った。) 空欄は特記すべき変化がないことを示す。胎児の観察結果中に記載した数値は異常胎児数を示し、()に記載した数値は腹数を示す。

(11) 原体混在物 I の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 混 11)

試験機関 : 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1986年

検 体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)、TA100、TA1535、TA98、TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (Escherichia coli WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要は次頁に示した。
代謝活性化の有無にかかわらず、検体の復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以下の値であった。
一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG 及び 9-AA では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、原体混在物 I 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はないものと判断される。

薬 剂	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	S-9 Mix の 有 無	復帰変異コロニー数/Plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	137	9	19	27	12
原体混在物 I	10	-	120	10	16	16	7
	50	-	121	11	18	26	9
	100	-	130	9	22	20	7
	500	-	133	6	10	19	14
	1000	-	133	8	19	21	12
	2000	-	121	6	17	16	11
	5000	-	12	0	12	10	7
対照 (DMSO)		+	145	9	24	30	13
原体混在物 I	10	+	131	13	21	21	9
	50	+	163	11	19	34	13
	100	+	177	9	29	28	12
	500	+	155	9	25	34	16
	1000	+	150	7	14	24	13
	2000	+	115	9	24	28	9
	5000	+	21	1	11	13	2
陽 性 対 照	S-9Mix の	名 称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA
	有 無	$\mu\text{g}/\text{Plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	-	コロニー数 /Plate	449	432	244	554	2029
	S-9Mix の	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	有 無	$\mu\text{g}/\text{Plate}$	1	2	20	0.5	2
	+	コロニー数 /Plate	575	414	751	304	191

注) 表中の数値は 2 反復の平均値を示す。

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

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

9-AA : 9-aminoacridine

2-AA : 2-aminoanthracene

(12) 原体混在物 I のチャイニーズハムスター肺 CHL 細胞を用いた

in vitro 細胞染色体異常試験

(資料 混 12)

試験機関 : 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1987年

検 体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

試験方法 : 継代培養したチャイニーズハムスターの肺由来の CHL 細胞を用い、直接法及び活性化法によって染色体異常誘発性を検定した。染色体分析としては、濃度当りプレート 2 枚を用い、各プレート当り 50 個、また各濃度、各標本作成時間につき 100 個以上のよく広がった中期分裂像を観察し、ギャップ、切断、交換などの染色体異常を有する細胞の出現頻度を計測した。異常細胞出現率が 5%未満を陰性、5%以上 10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とした。

なお、細胞 1000 個に占める中期分裂像の出現頻度を計測し、分裂頻度とした。陽性対照としては、直接法では Mitomycin C (MMC)、代謝活性化法では Benzo(a)pyrene [B(a)P]を用いた。

検体及び[B(a)P]はジメチルスルホキシドに、また MMC は Hank's 平衡塩類溶液に溶解し、試験液は用時調製した。

試験結果 :

- (1) 直接法 (表 1、表 2) ; 染色体異常試験の結果、検体添加 24 及び 48 時間後に作成した標本のいずれにおいても、染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5%以下であった。検体濃度が $3.3 \times 10^{-6}M$ 、 $1.0 \times 10^{-6}M$ 、 $3.3 \times 10^{-7}M$ で添加し 48 時間後に標本を作成した群では著しい分裂抑制のため、各プレ

一ト当り 50 個の良好な中期分裂像を観察できなかった。一方、陽性対照 (MMC) では出現頻度の著しい増加が認められた。

- (2) 代謝活性化法 (表 3、表 4)； 染色体異常試験の結果、検体添加 12 及び 18 時間後に作成した標本のいずれにおいても、染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5%以下であった。一方、陽性対照 [B(a)P] では出現頻度の著しい増加が認められた。

本試験条件下において、直接法、代謝活性化法のいずれにおいても
原体混在物 I 処理群での染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5%を超えなかった。

以上の結果より、原体混在物 I のチャイニーズハムスター肺
CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常誘発性試験における変異原性は陰性であると判断される。

表3 染色体異常試験 (代謝活性化法、標本作成時間12時間) において観察された染色体異常頻度(%): 各々の異常を有する中期分裂像の頻度を示した。

方法	薬剤	濃度(M)	観察細胞数	出現頻度		分型頻度 (%)	染色体型異常				断片	細粉化	その他	評価			
				異常分裂像	ギャップの みを除いた 異常分裂像		ギャップ	切断	交換	ギャップ					切断	多動原体	環
代謝活性化法	原体混在物 I	1.0×10^{-3}	100	3.5	3.5	1.2	0	2.5	1.5	0	0	0.5	0	0			
		3.3×10^{-4}	100	0	0	3.1	0	0	0	0	0	0	0	0			
		1.0×10^{-4}	100	0	0	2.9	0	0	0	0	0	0	0	0			
	B(a)P 溶液対照 無処理	3.3×10^{-5}	100	0	0	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0			
		1.0×10^{-5}	100	0.5	0	2.2	0.5	0	0	0	0	0	0	0			
		1.5×10^{-4}	50	42.0	39.0	1.3	14	20	22	0	0	1	3	9	0	+	
	溶液対照	0	100	1.0	0	2.0	1	0	0	0	0	0	0	0	-		
	無処理	0	100	0.5	0	2.6	0.5	0	0	0	0	0	0	0	-		

表4 染色体異常試験 (代謝活性化法、標本作成時間18時間) において観察された染色体異常頻度(%): 各々の異常を有する中期分裂像の頻度を示した。

方法	薬剤	濃度(M)	観察細胞数	出現頻度		分型頻度 (%)	染色体型異常				断片	細粉化	その他	評価			
				異常分裂像	ギャップの みを除いた 異常分裂像		ギャップ	切断	交換	ギャップ					切断	多動原体	環
代謝活性化法	原体混在物 I	1.0×10^{-3}	100	0.5	0.5	2.7	0	0	0.5	0	0	0	0	0			
		3.3×10^{-4}	100	0	0	2.8	0	0	0	0	0	0	0	0			
		1.0×10^{-4}	100	0	0	3.8	0	0	0	0	0	0	0	0			
	B(a)P 溶液対照 無処理	3.3×10^{-5}	100	0	0	3.1	0	0	0	0	0	0	0	0			
		1.0×10^{-5}	100	0	0	3.7	0	0	0	0	0	0	0	0			
		1.5×10^{-4}	50	33.0	30.0	2.5	5	4	20	0	0	2	5	7	1	0	+
	溶液対照	0	100	0.5	0	3.3	0	0	0	0.5	0	0	0	0	-		
	無処理	0	100	0.5	0.5	4.0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	-		

(13) 原体混在物 I の細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 混 13)

試験機関 : 残留農業研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1986 年

検体 : 原体混在物 I

検体の純度 :

試験方法 : 枯草菌 (Bacillus subtilis) の組換え修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、代謝活性化及び非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。検体は 1000 μg /ディスクを最高濃度とした。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、検体 100 μg /ディスク以上の用量において、陰性対照として用いた Kanamycin と同様に両菌株に対して同程度の生育阻止を示した。しかし、検体による明確な生育阻止帯の差は誘起されなかった。

一方、陽性対照として用いた Mitomycin C は代謝活性化系の非存在下で、2-AA は代謝活性化により、両菌株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、原体混在物 I
は代謝活性化の有無にかかわ
らず DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

薬 剂	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S-9 Mix (-)			S-9 Mix (+)		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
原体混在物 I	10	0	0	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0
	100	1	1	0	3	1	2
	200	3	2	1	4	5	1
	500	6	6	0	7	5	2
	1000	7	6	1	7	7	0
Kanamycin	0.05	13	10	3	—	—	—
	0.2	19	15	4	—	—	—
Mitomycin C	0.005	22	4	18	—	—	—
	0.01	28	9	19	—	—	—
2-AA	5	0	0	0	8	0	8
	20	0	0	0	7	0	7

注) DMSO : 吸収スペクトル測定用ジメチルスルホキシド

(14) 原体混在物Ⅱの細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 混14)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物Ⅱ

純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*)、TA100、TA1535、TA98、TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、検体の復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以下の値であった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃ 及び ICR-191 では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、原体混在物Ⅱ 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はないものと判断される。

薬 劑	濃 度 ($\mu\text{g}/$ Plate)	S - 9 M i x の 有 無	復 帰 変 異 コ ロ ニ ー 数 / P l a t e				
			塩 基 対 置 換 型			フ レ ー ム シ フ ト 型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対 照 (DMSO)		-	104	6	34	24	7
原 体 混 在 物 II	313	-	111	6	46	24	6
	625	-	128	3	42	24	4
	1250	-	134	9	45	24	6
	2500	-	118	8	43	21	3
	5000	-	108	5	30	18	6
対 照 (DMSO)		+	113	7	44	30	8
原 体 混 在 物 II	313	+	112	10	53	28	6
	625	+	106	8	55	34	4
	1250	+	108	8	61	31	6
	2500	+	123	11	72	32	6
	5000	+	102	2	46	33	6
陽 性 対 照	S-9Mix の 有 無	名 稱	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		$\mu\text{g}/$ Plate	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	-	コ ロ ニ ー 数 /Plate	282	238	216	294	1340
		名 稱	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	有 無	$\mu\text{g}/$ Plate	1	2	20	0.5	2
		+	コ ロ ニ ー 数 /Plate	458	251	858	258

注) 表中の数値は 2 反復の平均値を示す。

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

NaN₃ : sodium azide

ICR-191 : 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine·2HCl

2-AA : 2-aminoanthracene

(15) 原体混在物Ⅱの細菌を用いたDNA修復試験

(資料 混15)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物Ⅱ

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、代謝活性化及び非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を以下の表に示した。

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S-9 Mix (-)			S-9 Mix (+)		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
原体混在物 Ⅱ	313	0	0	0	0	0	0
	625	0.5	1.0	0.5	0	0	0
	1250	4.5	3.5	1.0	3.5	2.5	1.0
	2500	6.5	6.0	0.5	6.0	5.0	1.0
	5000	7.5	7.5	0	8.5	8.5	0
Kanamycin	10	8.5	5.0	3.5	—	—	—
AF-2	0.001	3.5	0	3.5	—	—	—
2-AA	5	—	—	—	3.5	0	3.5

注) AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
 2-AA : 2-aminoanthracene
 DMSO : 吸収スペクトル測定用ジメチルスルホキシド

代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの場合も MICrec⁺/MICrec⁻の値は 2 以下であった。溶媒対照の DMSO は代謝活性化の有無にかかわらず、両菌株に対して生育阻止を示さず、陰性対照の Kanamycin は両菌株に対して同程度の生育阻止を示した。また、陽性対照とし

て用いた AF-2 は代謝活性化系の非存在下で、2-AA は代謝活性化により、両菌株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、原体混在物Ⅱ は代謝活性化の有無にかかわらず DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

(16) 原体混在物Ⅲの細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 混16)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物Ⅲ
純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*)、TA100、TA1535、TA98、TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、5000 μ g/プレートの濃度で全菌株の生育阻害が認められたが、検体の復帰変異コロニー数は溶媒対照の2倍以下の値であった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃ 及び ICR-191 では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、原体混在物Ⅲ 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はないものと判断される。

薬 劑	濃 度 ($\mu\text{g}/$ Plate)	S-9 Mix の 有 無	復帰変異コロニー数/Plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	104	6	34	24	7
原体混在物Ⅲ	157	-	90	6	40	24	7
	313	-	112	6	40	20	7
	625	-	116	8	40	30	8
	1250	-	107	9	36	18	5
	2500	-	82	5	33	19	5
	5000	-	18 [*]	0 [*]	8 [*]	0 [*]	0 [*]
対照 (DMSO)		+	113	7	44	30	8
原体混在物Ⅲ	157	+	120	10	53	34	9
	313	+	103	5	54	28	8
	625	+	131	8	54	32	12
	1250	+	128	9	44	34	7
	2500	+	146	8	47	24	5
	5000	+	50 [*]	8 [*]	22 [*]	8 [*]	2 [*]
陽 性 対 照	S-9Mix の 有 無	名 稱	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		$\mu\text{g}/$ Plate	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	-	コロニー数 /Plate	282	238	216	294	1340
		名 稱	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	有 無	$\mu\text{g}/$ Plate	1	2	20	0.5	2
		+	コロニー数 /Plate	458	251	858	258

注) 表中の数値は 2 反復の平均値を示す。

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

NaN₃ : sodium azide

ICR-191 : 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]
acridine·2HCl

2-AA : 2-aminoanthracene

^{*} : 菌の生育阻害が認められる場合。

(17) 原体混在物Ⅲの細菌を用いたDNA修復試験

(資料 混17)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物Ⅲ

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、代謝活性化及び非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を以下の表に示した。

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S-9 Mix (-)			S-9 Mix (+)		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
原体混在物Ⅲ	62.5	0	0	0	0	0	0
	125	0	0	0	0	0	0
	250	3.5	2.0	1.5	2.5	1.5	1.0
	500	5.5	4.0	1.5	4.5	3.0	0.5
	1000	7.0	6.5	0.5	7.5	5.5	2.0
	2000	9.0	9.0	0	9.0	9.0	0
Kanamycin	10	4.5	6.0	1.5	—	—	—
AF-2	0.001	2.0	0	2.0	—	—	—
2-AA	5	—	—	—	3.5	0	3.5

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

2-AA : 2-aminoanthracene

DMSO : 吸収スペクトル測定用ジメチルスルホキシド

代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの場合も MICrec⁺/MICrec⁻の値は 2 以下であった。溶媒対照の DMSO は代謝活性化の有無にかかわらず、両菌株に対して生育阻止を示さず、陰性対照の Kanamycin

は両菌株に対して同程度の生育阻止を示した。また、陽性対照として用いた AP-2 は代謝活性化系の非存在下で、2-AA は代謝活性化により、両菌株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、原体混在物Ⅲ は代謝活性化の有無にかかわらず DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

(18) 原体混在物IVの細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 混18)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物IV
純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*)、TA100、TA1535、TA98、TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、検体の復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以下の値であった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃ 及び ICR-191 では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、原体混在物IV 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はないものと判断される。

薬 剂	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	S-9 Mix の 有 無	復帰変異コロニー数/Plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	120	10	34	28	4
原体混在物 IV	313	-	130	10	36	26	5
	625	-	108	7	41	30	4
	1250	-	128	8	32	26	6
	2500	-	119	11	40	32	2
	5000	-	96	4	50	28	2
対照 (DMSO)		+	112	6	41	26	9
原体混在物 IV	313	+	80	6	44	38	9
	625	+	102	6	49	34	8
	1250	+	109	6	47	31	8
	2500	+	100	6	55	34	4
	5000	+	103	8	56	34	4
陽 性 対 照	S-9Mix の	名 称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
	有 無	$\mu\text{g}/\text{Plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	-	コロニー数 /Plate	674	147	185	818	1082
	S-9Mix の	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	有 無	$\mu\text{g}/\text{Plate}$	1	2	20	0.5	2
	+	コロニー数 /Plate	1810	261	1382	600	261

注) 表中の数値は 2 反復の平均値を示す。

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

NaN₃ : sodium azide

ICR-191 : 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]
acridine·2HCl

2-AA : 2-aminoanthracene

(19) 原体混在物IVの細菌を用いたDNA修復試験

(資料 混19)

試験機関 : 化学品検査協会
 [GLP対応]
 報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物IV
 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、代謝活性化及び非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を以下の表に示した。

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S-9 Mix (-)			S-9 Mix (+)		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
原体混在物 IV	62.5	0	0	0	0	0	0
	125	0	0	0	0	0	0
	250	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0
	1000	0	0	0	0	0	0
Kanamycin	10	8.5	5.0	3.5	-	-	-
AF-2	0.001	3.5	0	3.5	-	-	-
2-AA	5	-	-	-	3.5	0	3.5

注) AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
 2-AA : 2-aminoanthracene
 DMSO : 吸収スペクトル測定用ジメチルスルホキシド

代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの濃度においても生育阻害を示さなかった。溶媒対照の DMSO は代謝活性化の有無にかかわらず、両菌株に対して生育阻止を示さず、陰性対照の Kanamycin は両菌株

に対して同程度の生育阻止を示した。また、陽性対照として用いた AF-2 は代謝活性化系の非存在下で、2-AA は代謝活性化により、両菌株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、原体混在物Ⅳ は代謝活性化の有無にかかわらず DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

(20) 原体混在物Vの細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 混20)

試験機関 : 化学品検査協会
[GLP対応]
報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物V
純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium)、TA100、TA1535、TA98、TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (Escherichia coli WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。
代謝活性化の有無にかかわらず、検体の復帰変異コロニー数は溶媒対照の2倍以下の値であった。
一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃ 及び ICR-191 では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix 添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、原体混在物V 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はないものと判断される。

薬 劑	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	S-9 Mix の 有 無	復帰変異コロニー数/Plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	93	6	27	16	6
原体混在物 V	31.3	-	98	5	23	18	2
	62.5	-	104	2	40	16	4
	125	-	102	9	22	16	3
	250	-	98	6	28	16	3
	500	-	86	6	27	17	2
	1000	-	70 *	3 *	34 *	13 *	0 *
対照 (DMSO)		+	100	8	31	16	7
原体混在物 V	31.3	+	140	6	44	29	7
	62.5	+	102	6	38	32	5
	125	+	100	12	39	25	4
	250	+	105	6	41	32	4
	500	+	92	6	34	20	2
	1000	+	78 *	8 *	32 *	28 *	2 *
陽 性 対 照	S-9Mix の 有 無	名 称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		$\mu\text{g}/\text{Plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	-	コロニー数 /Plate	412	258	239	486	1426
		S-9Mix の 有 無	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	$\mu\text{g}/\text{Plate}$		1	2	20	0.5	2
	+	コロニー数 /Plate	2724	470	831	567	400

注) 表中の数値は 2 反復の平均値を示す。

* : 菌の生育阻害が認められる場合。

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

NaN₃ : sodium azide

ICR-191 : 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]
acridine·2HCl

2-AA : 2-aminoanthracene

(21) 原体混在物Vの細菌を用いたDNA修復試験

(資料 混21)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物V

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、代謝活性化及び非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

検体の MICrec⁺/MICrec⁻の値は代謝活性化を行わなかった場合にはそれぞれ 20 μg/ディスク及び 15 μg/ディスク、代謝活性化を行った場合には両者とも 40 μg/ディスクが得られ、MICrec⁺/MICrec⁻の値は代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの場合も 2 以下であった。

溶媒対照の DMSO は代謝活性化の有無にかかわらず、両菌株に対して生育阻止を示さず、陰性対照の Kanamycin は両菌株に対して同程度の生育阻止を示した。また、陽性対照として用いた AF-2 は代謝活性化系の非存在下で、2-AA は代謝活性化により、両菌株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、原体混在物V は代謝活性化の有無にかかわらず DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

薬 剂	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S-9 Mix (-)			S-9 Mix (+)		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
原体混在物 V	11.1	0	0	0	0	0	0
	33.3	0.4	0.1	0.3	0	0	0
	100	0.7	0.3	0.4	0.3	0.5	0.2
	300	1.0	1.0	0	2.1	2.0	0.1
	900	2.0	1.5	0.5	2.5	2.5	0
Kanamycin	10	6.0	6.0	0	—	—	—
AF-2	0.001	4.5	0	4.5	—	—	—
2-AA	5	—	—	—	5.0	0	5.0

注) AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
 2-AA : 2-aminoanthracene
 DMSO : 吸収スペクトル測定用ジメチルスルホキシド

(22) 原体混在物VIの細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 混22)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物VI

純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*)、TA100、TA1535、TA98、TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、検体の復帰変異コロニー数は溶媒対照の2倍以下の値であった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃ 及び ICR-191 では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、原体混在物VI 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はないものと判断される。

薬 劑	濃 度 ($\mu\text{g}/$ Plate)	S-9 Mix の 有 無	復 帰 変 異 コ ロ ニ ー 数 / Plate				
			塩 基 対 置 換 型			フ レ ー ム シ フ ト 型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	149	8	26	36	15
原体混在物 VI	156	-	144	6	27	38	17
	313	-	170	14	28	40	22
	625	-	143	8	30	35	17
	1250	-	142	10	28	38	14
	2500	-	80	4	21	22	6
	5000	-	0 *	0 *	0 **	0 *	0 **
対照 (DMSO)		+	162	8	27	30	20
原体混在物 VI	156	+	162	8	24	32	18
	313	+	159	6	28	38	16
	625	+	160	8	26	35	21
	1250	+	164	10	21	28	14
	2500	+	120	4	22	24	18
	5000	+	8 *	0 *	0 *	0 *	0 *
陽 性 対 照	S-9Mix の	名 稱	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
	有 無	$\mu\text{g}/$ Plate	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	-	コロニー数 /Plate	378	207	166	426	1463
	S-9Mix の	名 稱	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	有 無	$\mu\text{g}/$ Plate	1	2	20	0.5	2
	+	コロニー数 /Plate	337	316	486	302	230

注) 表中の数値は 2 反復の平均値を示す。

* : 菌の生育阻害が認められる場合。

** : 菌の生育が全く認められなかったことを示す。

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

NaN₃ : sodium azide

ICR-191 : 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]
acridine·2HCl

2-AA : 2-aminoanthracene

(23) 原体混在物VIの細菌を用いたDNA修復試験

(資料 混23)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 原体混在物VI

純度 :

試験方法 : 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、代謝活性化及び非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

検体の MIC_{rec+}/MIC_{rec-}の値は代謝活性化を行わなかった場合には両者とも 700 μg/ディスク、代謝活性化を行った場合には両者とも 400 μg/ディスクが得られ、MIC_{rec+}/MIC_{rec-}の値は代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの場合も 2 以下であった。

溶媒対照の DMSO は代謝活性化の有無にかかわらず、両菌株に対して生育阻止を示さず、陰性対照の Kanamycin は両菌株に対して同程度の生育阻止を示した。また、陽性対照として用いた AF-2 は代謝活性化系の非存在下で、2-AA は代謝活性化により、両菌株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、原体混在物VI は代謝活性化の有無にかかわらず DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

薬 剂	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S-9 Mix (-)			S-9 Mix (+)		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
原体混在物 VI	313	0	0	0	0	0	0
	625	0	0	0	0.2	0.2	0
	1250	0.5	0.5	0	1.0	1.0	0
	2500	1.2	1.2	0	2.0	2.0	0
	5000	1.8	1.8	0	2.5	2.5	0
Kanamycin	10	8.0	7.0	1.0	—	—	—
AF-2	0.001	4.0	0	4.0	—	—	—
2-AA	5	—	—	—	5.5	0	5.5

注) AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
 2-AA : 2-aminoanthracene
 DMSO : 吸収スペクトル測定用ジメチルスルホキシド

2. 代謝物

(1) 代謝物Ⅲのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代1)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1986年

検体 : 代謝物Ⅲ (OMA)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄101.5g(平均値)、雌96.5g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体をコーンオイルに溶解し、所定濃度に用時調整し、体重100g当たり1mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを同量投与した。なお、動物を投与前16時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 46, 59, 77, 100, 130
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 72 , 雌： 79 (59~86) , (66~96)
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後 24 時間から開始、投与後 2 日に終了 雌：投与後 2 日から開始、投与後 3 日 に終了
症状発現時間及び 消 失 時 間	雌雄共投与後 10 分から開始 投与後 8 日に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 46

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、流涎及び衰弱がみられた。流涎は雄では 2 時間後、雌では 4 時間後に消失したが、24 時間後より衰弱がみられ、2 日後には自発運動減少以外の症状は回復し、8 日後に全生存例において回復が認められた。

体重は投与 3 日後に全投与群で体重減少がみられたが、漸次回復し、試験終了時には対照群との間に差異は認められなかった。

剖検所見では、死亡例に肺のうっ血または出血、胃粘膜、膀胱及び胸腺の出血がみられ、胃粘膜糜爛が雄 1 例に認められた。生存例では、各臓器に異常はなく、対照群との間に差異は認められなかった。

(2) 代謝物IVのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代2)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物IV (DPZ)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄104.3g(平均値)、雌95.0g(平均値)、1群雌雄各10匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 6段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当たり2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約16時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雄: 0, 1050, 1365, 1775, 2308, 3000, 3900 雌: 0, 1365, 1775, 2308, 3000, 3900, 5070
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 1692 , 雌: 2112 (1475~1924) , (1778~2444)
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後 24 時間から開始、投与後 2 日に 終了 雌: 投与後 24 時間のみ
症状発現時間及び 消 失 時 間	雄: 投与後 20 分から開始、投与後 2 日に消失 雌: 投与後 20 分から開始、投与後 3 日に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雄: 1050 , 雌: 1365

中毒症状としては、雌雄ともに流涎、自発運動減少、流涙及び鎮静がみられたが、雄では 2 日後、雌では 3 日後には回復した。

体重変化においては、雌の 1775 mg/kg 投与群に一過性の体重増加抑制が認められたが、その他の投与群には雌雄ともに対照群との間に有意差はなかった。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも肺及び胃粘膜の出血が認められ、雄の数例に胃粘膜の糜爛及び肺のうっ血がみられた。生存例では、各臓器に異常はなく、対照群との間に差異は認められなかった。

(3) 代謝物Vのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代3)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物V (TF-164S) のナトリウム塩

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス、5週齢、体重:雄22.7g(平均値)、雌19.8g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5000mg/kgの用量を設定した投与群及び対照群を設けた。

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、所定濃度に用時調製し、体重10g当り0.1mLを金属製胃ソングを用いて1回強制経口投与した。対照群には蒸留水のみを同量投与した。なお、動物を投与17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。試験終了時、全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10及び14日目に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共: > 5000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共、死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共、症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共: 5000

試験期間中、死亡例は認められなかった。

観察期間中の一般症状及び体重変化は、雌雄ともに投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

剖検所見では、雌雄ともに異常は認められなかった。

(4) 代謝物VI関連物質のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代4)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物VI (TF-164G)*の脱糖体

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄111.0g(平均値)、雌96.8g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設けた。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当り2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

* : 代謝物VI (TF-164G) の構造式

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 3472, 4167, 5000, 6000, 7200
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共： > 7200
死亡開始時間及び終了時間	雄：投与後 2 日から開始、投与後 3 日に終了 雌：投与後 6 時間のみ
症状発現時間及び消失時間	雄：投与後 10 分から発現、投与後 7 日に消失 雌：投与後 10 分から発現、投与後 6 日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄： 5000 , 雌： 6000

中毒症状としては、雌雄ともに流涎、筋肉の弛緩、歩行異常、自発運動減少及び鎮静がみられたが、雄では 7 日後、雌では 6 日後には回復した。

体重変化においては、雌雄ともに投与 3 日後に体重減少または増加抑制がみられ、以後回復にむかったが、雄では観察期間終了時においても対照群との間に差が認められた。

剖検所見では、死亡例に肺の出血、腺胃の糜爛または出血、小腸の出血または充血及び膀胱内に血尿の貯留がみられた。生存例では、各臓器に異常はなく、対照群との間に差異は認められなかった。

(5) 代謝物VIIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代5)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1986年

検体 : 代謝物VII (4-HOMA)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄 104.1g(平均値)、雌 92.3g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率から Probit 法により LD_{50} 値を算出した。

投与方法 : 検体を 0.5%CMC-Na 溶液に懸濁し、所定濃度に用時調整し、体重 100g 当り 2mL を金属製胃ゾンデを用いて 1 回強制経口投与した。対照群には 0.5%CMC-Na 溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前 16 時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与 3, 7, 10, 14 日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 592, 769, 1000, 1300, 1690
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 920 , 雌: 966 (729~1130) , (693~1337)
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後 30 分から開始、投与後 1 時 間に終了 雌: 投与後 30 分から開始、投与後 2 時 間に終了
症状発現時間及び 消 失 時 間	雌雄共、投与後 10 分から発現、投与後 24 時間に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共: 592

中毒症状としては、雌雄ともに筋肉の弛緩、流涎、流涙、鎮静及び自発運動減少がみられた。

体重変化においては、769 及び 1000 mg/kg 投与群雄に体重増加抑制または抑制傾向がみられたが、漸次回復し、14 日後には対照群との間に差異は認められなくなった。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも肺のうっ血または出血、胃粘膜の出血がみられ、胃粘膜の糜爛が雌 1 例に認められた。生存例の剖検では、雌雄ともに異常は認められなかった。

(6) 代謝物Ⅷのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代6)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物Ⅷ (5-HOMA)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス、5週齢、体重:23.5g (平均値)

1群雄5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調整し、体重10g当り0.2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0, 455, 592, 769, 1000, 1300
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	603 (489~714)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後1時間から開始、投与後8日に消失
症状発現時間及び 消失時間	投与後10分から発現、観察期間終了時も継続
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	455

中毒症状としては、筋肉の弛緩、自発運動減少及び衰弱などがみられた。このうち衰弱は 592 及び 769 mg/kg 投与群に各 1 例ずつ認められ、769 mg/kg 投与群では試験終了時においても依然衰弱が認められた。その他の動物では、10 日後には全て回復した。

体重変化においては、592 mg/kg 以上の投与群で投与 3 日後から 7 日後までに体重減少がみられ、10 日以後回復にむかったものの試験終了時においても対照群との間に差異が認められた。

剖検所見では、死亡例に肺のうっ血または出血が認められたが、生存例の剖検では異常は認められなかった。

(7) 代謝物IXのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代7)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物IX (α -HOMA)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄112.9g(平均値)、雌98.8g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を37℃に加熱した蒸留水に乳濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当り2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には微温蒸留水のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄: 0, 91, 118, 154, 200, 260, 338 雌: 0, 200, 260, 338, 439, 571, 743
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 201, 雌: 689 (166~258), (499~)
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後24時間から開始、投与後3日に終了、 雌: 投与後1時間から開始、投与後3日に終了
症状発現時間及び 消失時間	雄: 投与後10分から発現、投与後4日に消失 雌: 投与後10分から発現、投与後6日に消失
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雄: 91, 雌: 338

中毒症状としては、雌雄ともに流涎、筋肉の弛緩、歩行異常、自発運動減少及び鎮静がみられ、雌では被毛の汚れも認められたが、雄では4日後、雌では6日後には回復した。

体重変化においては、雌雄ともに体重減少または増加抑制がみられ、以後回復にむかったが、雌では観察期間終了時においても対照群との間に差が認められた。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも、胃の出血または糜爛がみられ、雌に肺のうっ血、雌雄に小腸の重積が散見されたが、生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

(8) 代謝物Xのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代8)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物X (HMAG)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス、5週齢、体重:雄20.9g(平均値)、雌20.4g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間観察

試験方法 : 6段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、所定濃度に用時調製し、体重10g当り0.2mLを金属製胃ソングを用いて1回強制経口投与した。対照群には蒸留水のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 92, 122, 158, 204, 267, 346
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 181 , 雌： 169 (148~220) , (140~206)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共、投与後 24 時間に開始、投与後 5 日に終了
症状発現時間及 び 消 失 時 間	雄：投与後 5 時間から開始、投与後 8 日に消失 雌：投与後 5 時間から開始、投与後 6 日に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雄： 122 , 雌： 92

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、鎮静、衰弱及び消瘦がみられたが、これらの症状は雄では 8 日後、雌では 6 日後には全生存例の回復が認められた。

体重変化においては、雌雄ともに 158 mg/kg 以上の投与群において投与 3 日後に体重減少がみられ、以後回復にむかったが、雄の 204 mg/kg 及び雌雄の 158 mg/kg 投与群においては、試験終了時においても対照群との間に差が認められた。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも、肺のうっ血または出血、腺胃及び小腸の出血が認められ、小腸内にガスの貯留した例もみられたが、生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

(9) 代謝物XIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代9)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1986年

検体 : 代謝物XI (OCA)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、6週齢、体重:雄110.3g(平均値)、雌95.8g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当り2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前16時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 1050, 1365, 1775, 2308, 3000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 2498 (2112~3306), 雌: 2266 (1850~3068)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共、投与後1時間から開始、投与後2日に終了
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共、投与後10分から発現、投与後4日に消失
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雄: 1775, 雌: 1365

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、鎮静、流涎、下痢及び流涙がみられた。

体重変化においては、雌雄とも投与3日後に体重増加抑制がみられたが、漸次回復し、雌では7日後、雄では14日後に対照群との間に差異が認められなくなった。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも肺のうっ血または出血、胃粘膜の出血がみられ、少数例に胃粘膜の糜爛、小腸粘膜または膀胱の出血が認められた。生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

(10) 代謝物XIIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代10)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XII (MPTL)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、6週齢、体重:雄110.6g(平均値)、雌96.0g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体をコーンオイルに溶解し、所定濃度に用時調製し、体重100g当り1mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 910, 1183, 1538, 2000, 2600
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 1268 , 雌: 1501 (909~1568) , (1236~1816)
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後2 時間から開始、投与後 24 時間に終了 雌: 1 時間から開始、投与後 24 時間に 終了
症状発現時間及び 消 失 時 間	雄: 投与後 10 分から発現、投与後 4 日に 消失 雌: 投与後 10 分から発現、投与後 6 日に 消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共: 910

中毒症状としては、雌雄ともに流涎、自発運動減少、筋肉の弛緩、流涙及び鎮静がみられた。これらの症状は漸次軽減し、雄では4日後に、雌では6日後に全生存例の回復が認められた。

体重変化においては、投与3日後に1183mg/kg以上の投与群雄及び1538mg/kg以上の投与群雌で体重減少、増加抑制、増加抑制傾向が認められたが、以後回復し、10日後には雌雄とも対照群との間に差異は認められなくなった。

剖検所見では、死亡例に肺のうっ血、胃の出血または糜爛及び小腸の充血が認められ、雄の場合これらの所見に加えてさらに小腸の出血、小腸の重積及び膀胱内に尿の貯留が散見された。生存例の剖検では、雌雄ともに異常は認められなかった。

(11) 代謝物XIIIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代11)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XIII (OMM)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、6週齢、体重:雄101.3g(平均値)、雌89.5g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当たり2mlを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雄： 0, 2778, 3333, 4000, 4800, 5760 雌： 0, 2315, 2778, 3333, 4000, 4800
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 3519 , 雌： 3395 (3140~3945) , (2769~4352)
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後2時間から開始、投与後3日に終了 雌：投与後3時間から開始、投与後6日に終了
症状発現時間及び 消失時間	雄：投与後10分から発現、投与後3日に消失 雌：投与後10分から発現、投与後8日に消失
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雄： 2778 , 雌： 2315

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、鎮静、歩行異常、流涎、下痢及び被毛の汚れ等がみられたが、これらの症状は漸次回復にむかい、雄では3日後、雌では8日後に全生存例の回復が認められた。

体重変化においては、雌雄とも投与3日後に全投与群で体重減少、増加抑制または増加抑制傾向が認められたが、7日後には回復した。剖検所見では、死亡例に胃粘膜の出血及び小腸粘膜の糜爛が認められた。生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

(12) 代謝物XIVのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代12)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1986年

検 体 : 代謝物XIV (PTL) (試薬)

供 試 動 物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄107.1g(平均値)、雌92.4g(平均値)、1群雌雄各5匹

観 察 期 間 : 14日間

試 験 方 法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。投 与 方 法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調整し、体重100g当たり2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約16時間絶食させ、試験に供した。

観 察 ・ 検 査 項 目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 1000, 1300, 1690, 2197, 2856
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 1564 , 雌： 1659 (1326~1842) , (1400~2045)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共、投与後 30 分から開始、投与後 24 時間に終了
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共、投与後 10 分から発現、投与後 24 時間に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 1000

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、筋肉の弛緩及び流涎が、これに加えて雌では鎮静がみられたが、これらの症状は漸次回復にむかい、投与 24 時間後に全生存例の回復が認められた。

体重変化においては、雄の全投与群に体重増加抑制が認められたが、漸次回復し、投与 10 日後には対照群との間に差が認められなくなった。また、雌では全期間中、投与群と対照群との間に差異は認められなかった。

剖検所見では、死亡例に肺のうっ血及び胃粘膜の出血がみられ、胃粘膜の糜爛が散見された。また、2197mg/kg 投与群雄に肺の出血及び小腸の出血が 1 例ずつ認められた。生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

(13) 代謝物XVのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代13)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検 体 : 代謝物XV (DPZH)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス、5週齢、体重:雄22.6g(平均値)、雌19.9g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5000mg/kgの用量を設定した投与群及び対照群を設けた。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調整し、体重10g当たり0.2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。試験終了時、全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10及び14日目に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共: > 5000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共: 死 亡 例 な し
症状発現時間及び消失時間	雌雄共: 症 状 な し
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共: 5000

試験期間中、死亡例は認められなかった。観察期間中の一般症状及び体重変化は雌雄ともに投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。剖検所見では雌雄ともに異常は認められなかった。

(14) 代謝物XVIのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代14)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XVI (HMPZ)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス、5週齢、体重:雄21.9g(平均値)、雌20.2g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5000mg/kgの用量を設定した投与群及び対照群を設けた。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重10g当たり0.2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。試験終了時、全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3、7、10及び14日目に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共: > 5000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共: 死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共: 症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共: 5000

試験期間中、死亡例は認められなかった。観察期間中の一般症状及び体重変化は雌雄ともに投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。剖検所見では雌雄ともに異常は認められなかった。

(15) 代謝物XVIIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代15)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1986年

検体 : 代謝物XVII (HDMP)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄108.8g(平均値)、雌94.2g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 3段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当たり2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前16時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 3846, 5000, 6500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 5711 , 雌： 5806 (4664~7761) , (4687~)
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後 4 時間から開始、投与後 24 時間に終了 雌：投与後 3 時間から開始、投与後 5 時間に終了
症状発現時間及 び 消 失 時 間	雌雄共、投与後 10 分から発現、投与後 24 時間に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投 与 量 (mg/kg)	雌雄共： 3846

中毒症状としては、投与 10 分後より全投与群に自発運動減少、流涎、5000mg/kg 以上の投与群に鎮静がみられ、雌では投与 30 分後、雄では 1 時間後に流涎が消失したが、雌雄とも 4 時間後より呼吸困難が認められた。呼吸困難のみられた動物はほとんど死に至った。

剖検所見では、肺のうっ血及び出血、胃粘膜の糜爛、胃粘膜及び小腸の出血等が散見された。生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

なお、体重変化に及ぼす検体投与の影響は認められなかった。

(16) 代謝物XⅧのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代16)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XⅧ (OTE)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄103.6g(平均値)、雌91.3g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体をコーンオイルに溶解し、所定濃度に用時調製し、体重100g当たり1mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 153, 214, 300, 420, 588
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 237 , 雌: 380 (192~292) , (308~469)
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後 24 時間から開始、投与後 3 日に終了 雌: 投与後 2 日から開始、投与後 7 日 に終了
症状発現時間及び 消 失 時 間	雄: 投与後 10 分から発現、投与後 4 日 に消失 雌: 投与後 10 分から発現、投与後 7 日 に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雄: 153 , 雌: 214

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、鎮静及び流涎がみられ、300mg/kg 以上の投与群に流涎、420mg/kg 以上の投与群に歩行異常、雌の 588mg/kg 投与群に筋肉の弛緩がみられたが、これらの症状は生存例においては以後軽減し、回復した。

体重変化は、雄では対照群との間に有意差はなく、雌では 214mg/kg 以上の投与群で減少がみられ、以後回復した。

剖検所見では、死亡例に雌雄ともに胃粘膜及び胸腺の出血、雄の 420mg/kg 投与群で 2 例に小腸の重積が認められたが、試験終了時の生存例では雌雄ともに異常は認められなかった。

(17) 代謝物XIXのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代17)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XIX (OTEG)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス、5週齢、体重:雄22.9g(平均値)、雌19.7g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5000mg/kgの用量を設定した投与群及び対照群を設けた。

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、所定濃度に用時調製し、体重10g当り0.1mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には蒸留水のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。試験終了時、全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3、7、10及び14日目に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 : 0, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 : > 5000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 : 死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共、投与後10分から発現、投与後2時間に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 : 5000

試験期間中、死亡例は認められなかった。

中毒症状としては、投与群の雌雄ともに投与10分後に自発運動減少がみられたが、2時間後には全例が回復した。

観察期間中、雌雄ともに投与3日後に体重増加抑制がみられ、以後回復にむかったが、観察終了時においても対照群との間に差が認められた。

剖検所見では雌雄ともに異常は認められなかった。

(18) 代謝物XXのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代18)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XX (ADMP)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄109.2g(平均値)、雌97.3g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 6段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重100g当り2mLを金属製胃ソングを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 : 0, 579, 694, 833, 1000, 1200, 1440
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 : 946 , 雌 : 878 (814~1107) , (772~1004)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共、投与後30分に開始、投与後24時間に終了
症状発現時間及び 消失時間	雄 : 投与後10分から開始、投与後5日に消失 雌 : 投与後10分から開始、投与後3日に消失
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共 : 579

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、筋肉の弛緩、流涎、歩行異常及び鎮静がみられたが、これらの症状は漸次回復にむかい、雄では投与5日後に、雌では3日後に全生存例の回復が認められた。体重変化においては、雄では投与3日後に833mg/kg以上の投与群で

体重増加抑制または抑制傾向がみられたが、7日後までには回復し対照群との間に差異は認められなかった。雌では投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも肺のうっ血、胃粘膜の糜爛、小腸の重積及び充血がみられ、雌の1例に胃の出血が認められた。生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

(19) 代謝物XXIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代19)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XXI (DMP)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄101.0g(平均値)、雌93.3g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 6段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体をコーンオイルに溶解し、所定濃度に用時調製し、体重100g当たり1mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群にはコーンオイル溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 910, 1183, 1538, 2000, 2600, 3380
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共: 1349 (1127~1615)
死亡開始時間 及び終了時間	雄: 投与後2時間から開始、投与後2日に終了 雌: 投与後1時間から開始、投与後24時間に終了
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共、投与後10分から発現、投与後3日に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共: 910

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少、筋肉の弛緩、歩行異常及び被毛の汚れがみられ、下痢が散見された。

体重変化においては、雌雄ともに投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも肺のうっ血または出血、胃粘膜の出血、小腸の重積及び小腸粘膜の出血がみられた。生存例の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

(20) 代謝物XXIIのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 代20)

試験機関 : 臨床医学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物XXII (1,5-DTP)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:ICR系マウス、5週齢、体重:雄25.5g(平均値)、雌21.9g(平均値)、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 5段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na溶液に懸濁し、所定濃度に用時調製し、体重10g当たり0.2mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共： 0, 182, 237, 308, 400, 520
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄： 393 , 雌： 439 (332~484) , (359~736)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共、投与後2時間から開始、投与後24時間に 終了
症状発現時間及び 消 失 時 間	雄：投与後10分から発現、投与後24時間に 消失 雌：投与後10分から発現、投与後2日に消失
死亡例の認めら れなかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共： 237

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動減少及び鎮静がみられたが、2日後には回復した。

体重変化においては、雌では投与3日後に520mg/kg投与群の1例に体重減少がみられたが、雌雄とも投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

剖検所見では、死亡例に雌雄とも肺のうっ血及び胃粘膜の糜爛または腺胃の出血が認められ、雌の400, 520mg/kg投与群の各1例に肺の出血がみられた。生存例の剖検では、雌雄ともに異常は認められなかった。

(21) 代謝物XXIIIのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代21)

試験機関 : 臨床医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1989年

検体 : 代謝物XXIII (DMPZ)

検体の純度 :

供試動物 : Slc:Wistar/KY系ラット、5週齢、体重:雄104~124g、雌93~106g、
1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

試験方法 : 6段階の用量を設定した投与群および対照群を設け、それらの死亡率からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

投与方法 : 検体を0.5%CMC-Na水溶液に懸濁し、所定濃度に用時調整し、体重100g当り1mLを金属製胃ゾンデを用いて1回強制経口投与した。対照群には0.5%CMC-Na水溶液のみを同量投与した。なお、動物を投与前約17時間絶食させ、試験に供した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検し、肉眼的病理検査を行った。体重は試験開始時、投与3, 7, 10, 14日目及び死亡発見時に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共: 0, 68, 89, 115, 150, 195, 254
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 222, 雌: 171 (174~863), (143~205)
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄共、投与後3時間から開始、投与後6時間に終了
症状発現時間及び 消失時間	雌雄共、投与後10分から発現、投与後2日に消失
死亡例の認められ なかった最高 投与量 (mg/kg)	雌雄共: 115

中毒症状としては、雌雄とも流涎、自発運動減少、筋肉の弛緩、鎮静及び痙攣がみられた。これらの症状は漸次軽減し、雌雄ともに2日後には回復した。

体重変化においては、各投与群の雌雄ともに試験期間中増加を示し、対照群との間に差異は認められなかった。

剖検所見では、死亡例に肺のうっ血、胃の出血または糜爛及び腺胃の出血が認められたが、生存例の剖検では、雌雄ともに異常は認められなかった。

(22) 代謝物Ⅲの細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 代22)

試験機関 : 化学品検査協会

(GLP対応)

報告書作成年 : 1987年

検体 : 代謝物Ⅲ (OMA)
純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*)、TA100、TA1535、TA98、TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、検体の復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以下の値であった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃ 及び ICR-191 では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、代謝物Ⅲ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はないものと判断される。

薬 剂	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	S-9 Mix の 有 無	復帰変異コロニー数/Plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)		-	120	16	8	44	8
代謝物 III	313	-	110	14	13	42	7
	625	-	133	12	12	48	10
	1250	-	130	12	11	38	8
	2500	-	110	12	10	41	9
	5000	-	66	26	5	18	10
対照(DMSO)		+	138	17	15	63	16
代謝物 III	313	+	140	20	14	54	14
	625	+	126	20	16	49	10
	1250	+	136	17	6	60	14
	2500	+	131	22	10	42	9
	5000	+	104	24	5	38	11
陽性対照	S-9 Mix	名 称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
	の 有 無	$\mu\text{g}/\text{Plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	-	コロニー数 /Plate	390	216	24	500	882
	S-9 Mix	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	の 有 無	$\mu\text{g}/\text{Plate}$	1	2	20	0.5	2
	+	コロニー数 /Plate	3398	378	538	456	862

注) 表中の数値は2反復の平均値を示す。

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

NaN₃: sodium azide

ICR-191 : 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]
acridine·2HCl

2-AA : 2-aminoanthracene