

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

2) 催奇形性

(ア) ラットにおける催奇形性試験

(資料 No. T-23)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体の純度:

試験動物: SD系、Interfauna CFY strain ラット(妊娠2日目で約10週齢、体重 198~361g)、1群26匹(交配時)

試験期間: 妊娠期間20日間(1986年7月23日~8月25日。1986年7月23日~25日に妊娠1日目の雌ラットが入荷した。)

方法: 検体を0.5%CMCで懸濁し、0、10、100および1,000mg/10ml/kgの投与レベルで妊娠6~16日の11日間、毎日1回経口投与した。腔栓又は腔垢に精子の認められた日を妊娠0日とした。
尚、対照群には0.5%CMC懸濁液を同様に投与した。

投与量設定の根拠:

試験項目:

親動物: 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠2、6、9、13、17、20日に体重を測定した。摂餌量は妊娠3日~19日の期間、毎日測定した。妊娠20日に全動物を帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、死亡胎児数及び死亡胚数(早期及び後期)を検査した。

生存胎児: 性別、外表異常を観察し、体重を測定した。各同腹児の1/2の胎児については、内臓異常を観察後、骨格標本を作成し、骨格異常及び変異の有無を観察した。残りの胎児についてはブアン液で固定後、Wilson法で切開し、軟組織の異常を観察した。
尚、死亡胎児についても可能な限りの観察を行った。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

結果：

投与群 (mg/kg/day)		0		10		100		1,000		
1 群当り動物数 (交配時)		26		26		26		26		
親 動 物	妊娠兆候を示した 動物数	25		21		23		23		
	妊娠 20 日に妊娠 していた動物数	25		21		23		23		
	妊娠率 (%)	96		81		88		88		
	一般状態	異常なし		1 匹に顔面痲皮 (投与との相関はない)		有意な変化なし		1 匹が妊娠 8 日の投 与直後に呼吸促進を 示した。 (投与との相関はない)		
	解剖所見	異常なし		3 匹の肺に暗色斑点。 又、1 匹の左腎に急性 化膿性腎盂炎による と思われる結節性肥大、 白色腫脹。 (いずれも投与との相関 はない)		有意な変化なし		有意な変化なし		
	体重変化	異常なし		有意な変化なし		有意な変化なし		有意な変化なし		
	摂餌量	異常なし		有意な変化なし		有意な変化なし		有意な変化なし		
	着 床 所 見		総数	一腹平均 ^a	総数	一腹平均 ^a	総数	一腹平均 ^a	総数	一腹平均 ^a
		黄体数	365	14.6	297	14.1	326	14.2	341	14.8
		着床数	351	14.0	294	14.0	316	13.7	331	14.4
着床前損失率 (%)		4	—	1	—	3	—	3	—	
生存胎児数		327	13.1	279	13.3	294	12.8	301	13.1	
早期死亡胚数		20	0.8	13	0.6	12	0.5	26	1.1	
後期死亡胚数	4	0.2	1	0	6	0.3	4	0.2		
死亡胎児数	0	0	1	0	4	0.2	0	0		
妊娠子宮重量 (g)		77.0		79.0		77.7		78.0		

注 a. 単純平均(黄体数～死亡胎児数を妊娠 20 日の妊娠動物数で除した。)

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

投与群 (mg/kg/day)		0		10		100		1,000	
胎 児 動 物	生存胎児数	327		279		294		301	
	平均体重(g)	3.69		3.73		3.78		3.67	
	性比 (雄、%)	46.5		53.8		52.0		53.2	
		胎児数	腹数	胎児数	腹数	胎児数	腹数	胎児数	腹数
	骨格								
	検査胎児数	171	25	146	21	154 ^b	23	158	23
	異常胎児数 (異常胎児数 %)	10 (5.85)	8 (32.0)	3 (2.05)	3 (14.3)	6 (3.90)	5 (21.7)	5 (3.16)	5 (21.7)
	異常又は変異胎児数 (異常又は変異胎児数 %)	46 (26.9)	21 (84.0)	23 (15.8)	16 (76.2)	34 (22.1)	16 (69.6)	40 (25.3)	16 (69.6)
	肋骨数								
	13対完全 (同、% [*])	70 (40.9)	21 (84.0)	84 (57.5)	21 (1.0)	74 (48.1)	20 (87.0)	70 (44.3)	18 (78.3)
	第14肋骨痕跡/短小(片方または双方) (同、% [*])	100 (58.5)	24 (96.0)	62 (42.5)	19 (90.5)	80 (51.9)	20 (87.0)	87 (55.1)	22 (95.7)
	片方の第14肋骨が完全で、 もう一方が痕跡/短小/無 (同、% [*])	1 (0.58)	1 (4.00)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.63)	1 (4.35)
	化胃進行度 頸椎椎体の化骨	40 (24.2)	18 (75.0)	29 (19.9)	12 (57.1)	59 (38.6)	18 (78.3)	36 (22.8)	17 (73.9)
	中手骨/中足骨の非化骨	70 (42.4)	18 (75.0)	45 (30.8)	14 (6.67)	30 (19.6)	15 (65.2)	45 (28.5)	15 (65.2)
	外表/内臓								
	検査胎児数	327	25	280 ^b	21	296 ^c	23	301	23
	異常胎児数 (異常胎児数、%)	5 (1.53)	5 (20.0)	3 (1.07)	3 (14.3)	4 (1.35)	4 (17.4)	4 (1.33)	3 (13.0)
	異常又は変異胎児数 (異常又は変異胎児数、%)	40 (12.2)	18 (72.0)	35 (12.5)	13 (61.9)	51 (17.2)	21 (91.3)	34 (11.3)	17 (73.9)
	大動脈弓からの血管分岐 パターン変異 ^d (同、%)	1 (0.6)	1 (4.0)	2 (1.5)	1 (4.8)	1 (0.7)	1 (4.4)	7 (4.9)	5 (21.7)
上記変異の背景データ	対照群		低用量群		中用量群		高用量群		
試験1(1986年1月実施) (%)	0 (0)	0 (0)	1/110 (0.9)	1/24 (0.4)	0 (0)	0 (0)	1/107 (0.9)	1/23 (4.3)	
試験2(1987年1月実施) (%)	0 (0)	0 (0)	1/336 (0.3)	1/24 (4.2)	1/318 (0.3)	1/23 (4.3)	3/36 (8.3)	3/25 (12.0)	
試験3(1987年3月実施) (%)	2/332 (0.6)	2/23 (8.7)	0 (0)	0 (0)	1/297 (0.3)	1/20 (5.0)	2/279 (0.7)	2/20 (10.0)	

注 b. 死亡胎児 1 匹を含む。

c. 死亡胎児 2 匹を含む。

d. 外表/内臓変異の内数である。 e. 全骨格検査胎児数比、%

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

親動物では死亡例はなく、最高用量の1000mg/kg/day投与群でも投与に関連する毒性徴候は何ら認められなかった。流産をした動物もなかった。

胎児動物の内臓検査において、1000mg/kg/day投与群で大動脈弓からの血管の分岐パターンに軽度の変異がみられた胎児が他の群より数例多かったが、背景データでもみられる変異であり、又、統計学的有意差もなく (χ^2 検定及びFischerの直接確率法) 自然発生の範囲内にあるものと考えられる。化骨進行度には、検体投与による影響はなかった。むしろ、100mg/kg/day投与群では対照群より化骨化が進行していた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの親動物における最大無毒性量は1000mg/kg/dayであった。又、最高投与量の1000mg/kg/dayでも胎児において催奇形性及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(イ) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. T-24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

試験動物：ニュージーランド・ホワイト系妊娠ウサギ（入手時 3.5～5 月齢、
体重 3.0～5.0kg）、1 群 15 匹（交配時）

試験期間：妊娠期間 29 日間（1986 年 8 月 12 日～9 月 12 日。1986 年 8 月 12 日～14 日に交配した。）

方法：検体を 0.5%CMC で懸濁し、0、10、100、および 1000mg/4ml/kg の投与レベルで妊娠 6～18 日の 13 日間、毎日 1 回経口投与した。交配日を妊娠 0 日とした。尚、対照群には 0.5%CMC を同様に投与した。確実に妊娠させるために 25 単位の chorionic gonadotrophin を交配前後に注射した。

投与量設定の根拠：

試験項目：

親動物：一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、19、22、26、29 日に体重を測定した。摂餌量は妊娠 3 日～28 日の期間、毎日測定した。妊娠 29 日に動物を帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、及び死亡胚数（早期及び後期）を検査した。

生存胎児：性別、外表異常を観察し、体重を測定した。各同腹児の約 2/3 の胎児については内臓異常を観察後、骨格標本を作成し、骨格異常及び変異の有無を観察した。残りの胎児についてはブアン液で固定後、切開し、軟組織の異常と頭部の構造を観察した。

尚、死亡胎児についても可能な限りの観察を行った。

結果：

投与群 (mg/kg/day)		0		10		100		1,000		
1 群当り動物数 (交配時)		15		15		15		15		
親動物	妊娠兆候を示した動物数	15		13		15		15		
	妊娠 29 日に妊娠していた動物数	13		10		15		14		
	妊娠率 (%)	100		86.7		100		100		
	一般状態	1 匹が首脳腫瘍周囲の自傷行為を示したので、妊娠 18 日に屠殺した。別の 1 匹は瀕死になったので、妊娠 15 日に屠殺。		3 匹が流産したので、各々妊娠 20、27、28 日に屠殺した。(投与との相関はない)		有意な変化なし		1 匹が出血、切迫流産の徴候を示したので、妊娠 19 日に屠殺した。(投与との相関はない)		
	解剖所見	1 匹に投与操作ミスの結果と思われる肺損傷。		1 匹に投与操作ミスの結果と思われる肺損傷。		有意な変化なし		有意な変化なし		
	体重変化	異常なし		有意な変化なし		有意な変化なし		有意な変化なし		
	摂餌量	異常なし		妊娠 20 日に流産した 1 匹で、妊娠 12 日以降著しく低下した以外、有意な変化なし。		有意な変化なし		有意な変化なし		
	着床所見		総数	一腹平均*	総数	一腹平均*	総数	一腹平均*	総数	一腹平均*
		黄体数	139	10.7	97	9.7	132	9.2	160	11.4
		着床数	123	9.5	91	9.1	123	8.2	137	9.8
着床前損失率 (%)		11.5	—	6.2	—	10.9	—	14.4	—	
生存胎児数		102	7.8	81	8.1	100	6.7	118	8.4	
早期死亡胚数		8	0.6	5	0.5	13	0.9	7	0.5	
後期死亡胚数		7	0.5	2	0.2	4	0.3	5	0.4	
死亡胎児数	6	0.5	3	0.3	6	0.4	7	0.5		
妊娠子宮重量 (g)	571.4		588.7		523.5		583.0			

注 a. 単純平均(黄体数～死亡胎児数を妊娠 29 日の妊娠動物数で除した。)

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

投与群 (mg/kg/day)		0		10		100		1,000	
胎 児 動 物	生存胎児数	102		81		100		118	
	平均体重 (g)	49.3		50.0		51.8		45.9	
	性比 (雄、%)	52.9		49.4		39.0		48.3	
		胎児数	腹数	胎児数	腹数	胎児数	腹数	胎児数	腹数
	骨格								
	検査胎児数	69	13	56	11 ^b	67	15	78	14
	異常胎児数 (異常胎児数 %)	5 (7.25)	5 (38.5)	3 (5.36)	3 (27.3)	4 (5.97)	4 (26.7)	3 (3.85)	3 (21.4)
	異常又は変異胎児数 (異常又は変異胎児数 %)	24 (34.8)	11 (84.6)	21 (37.5)	9 (81.8)	22 (32.8)	12 (80.0)	34 (43.6)	11 (78.6)
	肋骨数								
	12対完全 (同、% ^d)	38 (55.1)	11 (84.6)	18 (32.1)	7 (63.6)	27 (40.3)	12 (80.0)	38 (48.7)	13 (92.9)
	第13肋骨痕跡/短小(片方または双方) (同、% ^d)	17 (24.6)	10 (76.9)	15 (26.8)	6 (54.5)	28 (41.8)	12 (80.0)	21 (26.9)	10 (71.4)
	片方の第13肋骨が完全で、 もう一方が痕跡/短小/無 (同、% ^d)	14 (20.3)	8 (61.5)	18 (32.1)	7 (63.6)	12 (17.9)	10 (66.7)	19 (24.4)	8 (57.1)
	化骨遅延 舌骨弓 (同、% ^d)	11 (15.9)	6 (46.2)	9 (16.7)	6 (60.0)	17 (25.4)	8 (53.3)	20 (26.0)	9 (64.3)
	長骨骨端 (同、% ^d)	10 (14.5)	6 (46.2)	4 (7.4)	3 (30.0)	8 (11.9)	6 (40.0)	19 (24.4)	8 (57.1)
	外表/内臓								
	検査胎児数	102	13	87	11 ^b	100	15	118	14
異常胎児数 (異常胎児数、%)	2 (1.96)	2 (15.4)	3 (3.45)	2 (18.2)	0 (0)	0 (0)	3 (2.54)	3 (21.4)	
異常又は変異胎児数 (異常又は変異胎児数、%)	31 (30.4)	11 (84.6)	40 (46.0)	10 (90.9)	40 (40.0)	11 (73.3)	53 (44.9)	14 (10.0)	
心周囲血管分岐パターン変異 ^c (同、%)	23 (22.5)	9 (69.2)	31 (35.6)	10 (90.9)	29 (29.0)	9 (60.0)	44 (37.3)	13 (92.9)	
上記変異の背景データ	対照群		低用量群		中用量群		高用量群		
試験1(1985年6月実施) (%)	6/103 (5.8)	6/13 (46.2)	4/97 (4.1)	4/13 (30.8)	2/121 (1.7)	2/15 (13.3)	2/122 (1.6)	2/15 (13.3)	
試験2(1986年6月実施) (%)	11/102 (10.8)	8/13 (61.5)	19/117 (16.2)	8/14 (57.1)	17/104 (16.3)	6/13 (46.2)	19/92 (20.7)	11/12 (91.7)	
試験3(1987年5月実施) (%)	8/65 (12.3)	7/13 (53.8)	14/84 (16.7)	9/14 (64.3)	9/74 (12.2)	7/14 (50.0)	10/82 (12.2)	7/15 (46.7)	

注 b. 妊娠 28 日に流産した親動物を含む。

c. 外表/内臓変異の内数である。

d. 全骨格検査胎児数比、%

親動物では、最高用量の 1000mg/kg/day 投与群でも投与に関連する毒性徴候は何ら認められなかった。

胎児動物では、1000mg/kg/day 投与群において体重の減少（対照群より 7%低下、統計学的有意差なし、Dunnett の t-検定）がみられた。同群では、化骨進行のわずかな遅延も認められたが、対照群との差異は統計学的に有意ではなかった（Dunn 検定）。

又、胎児動物の内臓検査において、1000mg/kg/day 投与群に心臓周囲の血管分岐パターン変異の増加が認められたが、背景データでもみられる変異であり、自然発生の範囲内にあるものと考えられる。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの親動物における最大無毒性量は 1000mg/kg/day であった。又、最高投与量の 1000mg/kg/day でも胎児に対する催奇形性はないが、胎児体重の減少等がみられたので胎児における最大無毒性量は 100mg/kg/day と判断される。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(13) 変異原性

1) 遺伝子突然変異原性

(ア) 細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 T-38)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [*Salmonella typhimurium*(TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [*Escherichia coli*(WP2 uvrA 株)] を用い, ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在下及び非存在下で, 標準プレート法及びプレインキュベーション法により Amesらの方法で変異原性を検定した。溶媒として DMSO を用い, 試験濃度は標準プレート法で最高 5000 μ g/plate、プレインキュベーション法で最高 2500 μ g/plate とした。

結果: 結果を次頁の表に示した。

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下の試験において, 標準プレート法では 5000 μ g/plate まで、プレインキュベーション法においては 2500 μ g/plate 濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方, 陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン(2-AA), 9-アミノアクリジン(AAC), 4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQD), N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)及び 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)では, 全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より, 検体は復帰変異誘発性を有しないものと判断する。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

標準プレート法

[数値は3プレートの平均]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	31	16	108	9	30
検体	20	-	29	17	110	8	29
	100*1	-	31	14	105	8	26
	500*1	-	28	13	102	6	20
	2500*1	-	22	10	72	4	19
	5000*1	-	16	12	38	3	15
対照 (DMSO)		+	38	17	109	10	35
検体	20	+	33	16	108	7	35
	100*1	+	27	15	105	8	32
	500*1	+	25	13	102	5	32
	2500*1	+	25	12	99	4	29
	5000*1	+	19	8	76	6	14
陽性対照*2	2-AA 2.5	+	NT	134	869	148	836
	2-AA 60	+	212	NT	NT	NT	NT
	AAC 100	-	NT	NT	NT	488	NT
	4-NQO 5.0	-	654	NT	NT	NT	NT
	MNNG 5.0	-	NT	914	789	NT	NT
	NOPD 10	-	NT	NT	NT	NT	610

プレインキュベーション法

[数値は3プレートの平均]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	34	18	105	10	29
検体	4	-	31	18	107	8	26
	20	-	31	20	108	7	28
	100*1	-	26	17	113	7	27
	500*1	-	30	18	103	6	22
	2500*1	-	29	13	93	6	23
対照 (DMSO)		+	37	19	110	11	37
検体	4	+	32	18	110	10	33
	20	+	29	16	104	10	24
	100*1	+	30	15	105	7	28
	500*1	+	28	12	103	5	28
	2500*1	+	25	13	90	4	22
陽性対照*2	2-AA 2.5	+	NT	139	836	103	768
	2-AA 60	+	227	NT	NT	NT	NT
	AAC 100	-	NT	NT	NT	473	NT
	4-NQO 5.0	-	618	NT	NT	NT	NT
	MNNG 5.0	-	NT	726	1012	NT	NT
	NOPD 10	-	NT	NT	NT	NT	842

*1. 不溶性沈殿物を認める。 NT:試験を行っていない

*2. 2-AA: 2-aminoanthracene AAC: 9-aminoacridine
 4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
 NOPD: 4-nitro-o-phenyldiamine

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(ア-2)細菌を用いた復帰変異誘発性試験

(資料 No. T-25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度：

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*, TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*, WP2 *uvrA* pKM101) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため DMSO を用いた。用量は、細胞毒性と検体の溶解性をもとに決定した。1 回目の最高用量 4000 μ g/プレートで培養液中に検体の沈殿が生じたので、2 回目の最高用量は 2000 μ g/プレートとした。陽性対照としては、ベンゾ[a]ピレン (BP)、重クロム酸カリウム (PD)、ニュートラルレッド (NR) 及びアジ化ナトリウム (NaN_3) を用いた。

試験は 2 回行った。

結果：次頁の表に示した。

S9 mix の有無に関わらず、最高 4000 μ g/プレートまでの処理濃度において、検体は全ての供試菌株に対し、復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。又、最高濃度でも細胞毒性は示さなかった。

一方、陽性対照として用いた BP 及び NR は S9 mix 存在下でのみ、PD 及び NaN_3 は S9 mix 存在下及び非存在下のいずれの場合も、明らかな復帰変異コロニー数の増加を誘発した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性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関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(T-25 : 復帰変異)

S9 Mix	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	復帰変異コロニー数/プレート (☆)							
			塩基置換型			フレームシフト型				
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537	TA 1538		
-	対照 (DMSO)	—	96.5	22.3	42.7	11.0	12.0	18.7		
	検体	31.25	87.1	21.6	52.2	11.6	10.8	23.5		
			77.7	21.0	61.7	12.3	9.7	28.3		
		62.5	81.0	22.2	57.3	12.4	9.0	22.5		
			75.7	21.0	69.3	14.7	8.0	25.0		
		125	82.5	22.2	56.4	14.4	8.5	19.3		
			74.3	22.3	66.7	13.0	5.3	25.3		
		250	82.4	22.7	47.0	13.7	10.3	14.7	20.7	
			83.7	21.0	53.3	13.3	6.3	26.7		
		500	89.2	22.0	52.6	9.7	19.3	16.3	23.2	
			78.3	22.3	60.3	10.0	9.7	30.0		
		1000	87.8	25.5	50.8	8.4	10.2	20.5		
			72.0	28.3	56.0	7.7	5.3	28.3		
		2000	96.6	18.0	52.8	10.3	7.2	16.3	20.5	
80.3	16.3		63.7	10.3	6.3	24.7				
4000	77.0	18.6	51.8	10.4	8.0	13.0	18.0			
	70.0	19.0	61.7	9.0	5.3	23.0				
陽性 対照	名称	BP	NaN ₃	PD	BP	NR	BP			
	$\mu\text{g}/$ プレート	20	5	20	20	20	20			
	コロニー数/ プレート	91.0	947.7*	700.7*	17.7	16.3	21.7	25.8		
+	対照 (DMSO)	—	100.7	12.7	45.0	19.0	14.3	19.0		
	検体	31.25	94.4	13.0	54.5	19.0	13.3	23.5		
			88.0	13.3	64.0	19.0	12.3	28.0		
		62.5	87.2	12.3	57.5	14.6	11.2	24.8		
			92.7	11.3	67.0	13.3	8.7	28.7		
		125	88.2	11.4	55.0	13.7	8.2	22.8		
			86.7	12.0	61.0	11.7	7.0	28.3		
		250	99.5	12.5	53.2	14.2	12.2	22.0		
			95.0	14.0	62.3	12.3	12.7	26.0		
		500	99.5	12.0	59.2	11.4	10.6	21.8		
			81.7	13.7	65.0	10.7	10.0	29.3		
		1000	95.0	10.8	58.2	11.8	15.0	19.8		
			90.0	11.0	71.3	9.7	11.3	27.0		
		2000	85.7	10.0	57.0	12.0	11.5	17.8		
77.7	11.3		77.0	10.7	10.0	25.0				
4000	88.2	10.4	49.6	9.0	9.6	16.7				
	82.3	12.0	72.0	8.0	10.0	19.7				
陽性 対照	名称	BP	NaN ₃	PD	BP	NR	BP			
	$\mu\text{g}/$ プレート	20	5	20	20	20	20			
	コロニー数/ プレート	557.3*	705.3*	326.0*	586.3*	211.7*	158.3*	161.6		
	590.0*	733.0*	435.0*	387.3*	238.0*	165.0*				

(☆) : プレート3枚の計測の平均値

(*) : 陽性 (対照群と比べて2.5倍以上の場合、陽性と判定した)

上段 : 1回目の試験の結果

下段 : 2回目の試験の結果 (2回目の試験の最高用量は2000 $\mu\text{g}/$ プレート)

中段(右) : 平均値

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(イ) 酵母を用いた遺伝子変換誘発性試験

(資料 No. T-25)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度:

方法: 酵母 Saccharomyces cerevisiae JD1 の対数増殖期の培養液に所定濃度の検体を加え、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、18 時間インキュベートした。その後、2 種類 of 原栄養体 (復帰変異株) 選択用プレートに植え、3 日間インキュベート後、生じたヒスチジン座位又はトリプトファン座位に関する原栄養体のコロニー数をそれぞれ数えた。

検体を溶解させるため DMSO を用いた。最高用量は 1mg/ml とした。

陽性対照としては、S9 mix 存在下では 4-ニトロキノリン-N-オキシド (4NQO)、及び S9 mix 非存在下ではシクロホスファミド (CP) を用いた。

試験は 2 回行った。

結果: 次頁の表に示した。

S9 mix の有無に関わらず、最高 1mg/ml までの処理濃度において、検体はいずれの遺伝子座に関しても、供試酵母の体細胞分裂における遺伝子変換率の増加を示さなかった。又、最高濃度でも細胞生存率に有意な影響はなかった。

一方、陽性対照の 4NQO 及び CP は体細胞分裂遺伝子変換をいずれの遺伝子座に関しても顕著に誘発した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、体細胞分裂遺伝子変換を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(T-25 : 酵母/遺伝子変換)

検体濃度 mg/ml	細胞生存率 (%) [注-1]	ヒスチジン座位			トリプトファン座位		
		His+コロニー数 /プレート数[注-2]	His+出現頻 度[注-3]	対照群との 比 [注-4]	Trp+コロニー数 /プレート数[注-2]	Trp+出現頻 度[注-3]	対照群との 比 [注-4]
実験 1A、(-) S9 mix							
0	100	11.3	3.3	—	60.8	17.8	—
0.01	93	12.3	3.9	1	59.5	18.9	1
0.1	105	17.0	4.7	2	58.8	16.4	1
0.25	120	12.3	3.0	1	69.5	17.0	1
0.5	80	16.3	6.0	2	61.3	22.6	1
1.0	90	11.0	3.6	1	67.8	22.1	1
0.0025 4NQO	56	39.3	20.6	6*	168.0	88.1	5*
実験 1B、(+) S9 mix							
0	100	5.8	1.6	—	36.8	10.1	—
0.01	98	3.3	0.9	1	36.8	10.4	1
0.1	102	6.0	1.6	1	45.0	12.2	1
0.25	98	3.0	0.8	1	39.8	11.2	1
0.5	89	6.5	2.0	1	44.8	13.9	1
1.0	96	3.0	0.9	1	40.0	11.5	1
1.25 CP	80	18.3	6.3	4*	132.8	45.9	5*
実験 2A、(-) S9 mix							
0	100	10.8	3.7	—	45.5	15.6	—
0.01	108	12.8	4.1	1	55.3	17.6	1
0.1	97	14.5	5.1	2	44.0	15.5	1
0.25	133	10.8	2.8	1	60.3	15.5	1
0.5	110	11.0	3.4	1	55.0	17.1	1
1.0	99	15.5	5.4	2	55.8	19.3	1
0.0025 4NQO	55	45.8	28.7	8*	195.5	122.7	8*
実験 2B、(+) S9 mix							
0	100	8.5	2.8	—	40.0	13.1	—
0.01	89	7.5	2.8	1	32.5	12.0	1
0.1	81	5.8	2.3	1	23.8	9.6	1
0.25	86	7.3	2.8	1	33.5	12.8	1
0.5	87	10.0	3.8	1	29.3	11.0	1
1.0	79	8.0	3.3	1	28.5	11.8	1
1.25 CP	86	24.3	9.3	3*	109.0	41.7	3*

$$\text{[注-1] 細胞生存率 (\%)} = \frac{\text{処理群の平均生存細胞数}}{\text{対照群の平均生存細胞数}} \times 100$$

プレート 3 枚の計測の平均値

[注-2] プレート 4 枚の計測の平均値

[注-3] 生存細胞 10⁶個当りのヒスチジン座位又はトリプトファン座位の復帰変異細胞数

$$\text{[注-4] 比} = \frac{\text{処理群の生存細胞 } 10^6 \text{ 個当りの平均復帰変異細胞数}}{\text{対照群の生存細胞 } 10^6 \text{ 個当りの平均復帰変異細胞数}}$$

* : 陽性(対照群との比が 2 以上の場合、陽性と判定した。)

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(ウ)チャイニーズ・ハムスターの肺培養細胞 (V79) を用いた前進突然変異誘発性試験

(資料 No. T-26)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度:

方法: 継代培養したチャイニーズ・ハムスター由来の肺細胞 (V79) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、6-チオグアニン (6-GT) 耐性前進突然変異誘発性を検定した。

検体処理時間は4時間とし、処理後1、3及び7日後に6-GTに暴露し、突然変異コロニー数を調べた。処理群の生存細胞 10^5 個あたりの突然変異コロニー数が対照群の3倍以上の場合、陽性と判定した。陽性対照としては、メタンスルホン酸エチル (EMS) 及び7、12-ジメチルベンズアントラセン (DMBA) を用いた。

検体を溶解させるため DMSO を用いた。

試験は2回行った。

結果: 結果を次頁の表に示した。

検体処理により、生存細胞 10^5 個あたりの平均突然変異コロニー数が溶媒対照の2倍以上 (3倍以下) に増加した例もみられたが、統計学的有意差はなく (Williams 検定) 又、用量相関性もなかった。

一方、陽性対照の EMS 及び DMBA では顕著な突然変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、チャイニーズ・ハムスター肺培養細胞 (V79) の前進突然変異誘発性はないものと判断される。

+S9 mix の結果

(T-26 : V79/前進突然変異)

検体 処理後 日数	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	試験 1				試験 2			
		A	B	C	D	A	B	C	D
1	0	—	—	—	—	85	100	1.6	100
	50	—	—	—	—	68	79	2.5	156
	150	—	—	—	—	36	41	3.3	206
	450	—	—	—	—	60	71	2.6	163
	900	—	—	—	—	88	103	1.9	119
	1350	—	—	—	—	51	60	3.1	194
	陽性対照 DMBA*	—	—	—	—	64	74	2.1	131
3	0	52	100	5.7	100	59	100	1.1	100
	50	70	135	7.3	128	58	99	1.3	118
	150	52	101	9.9	174	69	116	2.9	264
	450	62	121	6.1	107	74	126	0.7	64
	900	58	111	8.9	156	71	120	2.0	181
	1350	61	118	12.3	216	172	291	0.7	64
	陽性対照 DMBA*	44	85	10.2	179	82	139	11.5	1045
7	0	66	100	5.4	100	66	100	1.3	100
	50	28	42	6.6	122	74	113	0.8	62
	150	52	79	16.5	306	69	104	1.0	77
	450	61	94	7.0	130	70	106	1.2	92
	900	70	108	9.5	176	88	133	1.9	146
	1350	62	94	8.6	159	90	136	2.3	177
	陽性対照 DMBA*	61	93	29.0	537	75	113	21.1	1623

A=コロニー形成率

B=コロニー形成率の対照群対比 (%)

C=細胞 10^5 個当りの変異コロニー数

D=細胞 10^5 個当りの変異コロニー数の対照群対比 (%)

--インキュベーター故障のためデータをとれず

*=DMBA は、試験 1 では $5\mu\text{g/ml}$ で、試験 2 では $10\mu\text{g/ml}$ で処理した。

-S9 mix の結果

(T-26 : V79/前進突然変異)

検体 処理後 日数	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	試験 1				試験 2			
		A	B	C	D	A	B	C	D
1	0	—	—	—	—	113	100	1.0	100
	50	—	—	—	—	101	90	1.7	170
	150	—	—	—	—	9	8	0.9	90
	450	—	—	—	—	14	12	1.2	120
	1350	—	—	—	—	25	22	0	0
	陽性対照 EMS*	—	—	—	—	62	55	3.0	300
3	0	130	100	2.4	100	163	100	1.3	100
	50	211	162	2.8	117	171	105	1.0	77
	150	137	105	4.5	188	82	51	0	0
	450	116	88	4.5	188	71	44	0.6	46
	1350	72	55	6.1	254	73	45	0.7	54
	陽性対照 EMS*	81	62	4.0	167	82	50	34.9	2685
7	0	116	100	3.0	100	175	100	1.5	100
	50	123	106	2.2	73	131	75	1.5	100
	150	90	77	2.7	90	220	126	0	0
	450	105	90	2.9	97	109	62	0.6	40
	1350	95	82	5.6	187	150	86	0.6	40
	陽性対照 EMS*	53	46	19.7	657	129	74	24.4	1627

A=コロニー形成率

B=コロニー形成率の対照群対比(%)

C=細胞 10^5 個当りの変異コロニー数

D=細胞 10^5 個当りの変異コロニー数の対照群対比(%)

--インキュベーター故障のためデータをとれず

*=EMS は、試験 1 では $200 \mu\text{g/ml}$ で、試験 2 では $400 \mu\text{g/ml}$ で処理した。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

2) 染色体異常誘発性

(ア)チャイニーズ・ハムスターの卵巢培養細胞 (CHO-K1) を用いた

in vitro 染色体異常誘発性試験-その1

(資料 No. T-27)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年

検体の純度:

方法: 継代培養したチャイニーズ・ハムスター由来の卵巢細胞 (CHO-K1) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体処理時間は3時間とし、処理開始の8、12及び24時間後に分裂中期細胞を採取した。各採取時の2時間前にコルセミドを添加した。

各濃度につき3枚のシャーレを用い、各シャーレあたり100個の分裂中期細胞を観察した。数的異常については倍数性細胞と核内倍加細胞を数えた。構造異常については染色分体ギャップ、染色体ギャップ、染色分体切断、染色体/染色分体断片、無動原体断片、染色体交換、二動原体、転座、環状染色体、強度損傷に分類し、計測した。

データはギャップを除いた場合、含む場合に分けて集計した。

試験前に濃度設定のために、1~300 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で細胞毒性試験を行った。その結果、50%生育阻害濃度は、+S9 mix、-S9 mixとも約150 $\mu\text{g/ml}$ と推定されたので、本試験の濃度は、15、75及び150 $\mu\text{g/ml}$ とした。

検体を溶解させるためDMSOを用いた。

陽性対照としては、-S9 mixではメタンスルホン酸メチル (MMS) を、+S9 mixではシクロホスファミド (CP) を用いた。

結 果：次頁の表に示した。

処理開始 24 時間後採取の試料において、-S9 mix では、染色体異常を誘発する証拠は観察されなかったが、+S9 mix では、すべての濃度で染色分体ギャップと交換の増加が認められた。

+S9 mix で検体が染色体異常を誘発することが明らかなデータが得られたので、統計学的解析は行わなかった。

陽性対照の MMS (-S9 mix) 及び CP (+S9 mix) では、染色分体型の異常が多く観察された。

尚、+S9 mix の処理開始 24 時間後採取試料で、多数の染色体異常が観察されたので 8 及び 12 時間後採取試料は観察しなかった。

以上の結果より、検体は+S9 mix で CHO 培養細胞の in vitro 染色体異常を誘発すると判断される。

—S9 mix の結果 (処理開始 24 時間後に細胞を採取)

(T-27 : CHO—その 1)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(*)	観察 細胞 数	構造異常 観 察 細胞数	数的異常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)
無処理対照	0	0.015	300	291	9	3.0	0	0	0	0	10	0.034	9	3.1
溶媒対照	0	0.015	300	286	14	4.7	1	0.003	1	0.3	8	0.028	7	2.4
検体	15	0.019	300	274	26	8.7	1	0.004	1	0.4	7	0.025	6	2.2
検体	75	0.026	300	269	31	10.3	0	0	0	0	6	0.022	6	2.2
検体	150	0.025	300	285	15	5.0	0	0	0	0	4	0.014	4	1.4
MMS	60	0.037	300	293	7	2.3	156	0.532	88	30.0	168	0.573	92	31.4

(*) シャーレ 3 枚の平均値

+S9 mix の結果 (処理開始 24 時間後に細胞を採取)

(T-27 : CHO—その 1)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(*)	観察 細胞 数	構造異常 観察 細胞数	数的異常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)
無処理対照	0	0.050	300	281	19	6.3	0	0	0	0	3	0.011	3	1.1
溶媒対照	0	0.047	300	274	26	8.7	6	0.022	6	2.2	18	0.066	16	5.8
検体	15	0.057	300	274	26	8.7	21	0.077	20	7.3	43	0.157	38	13.9
検体	75	0.029	260	250	10	3.8	45	0.180	39	15.6	88	0.352	59	23.6
検体	150	0.033	300	280	20	6.7	27	0.096	21	7.5	58	0.207	43	15.4
CP	100	0.010	111	108	3	2.7	103	0.954	59	54.6	120	1.111	64	59.3

(*) シャーレ 3 枚の平均値

(イ) チャイニーズ・ハムスターの卵巣培養細胞 (CHO-K1) を用いた

in vitro 染色体異常誘発性試験—その2 グルタチオンを添加した場合

(資料 No. T-28)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度:

方法: 資料 No. T-26 で、+S9 mix の場合、検体は in vitro で CHO 培養細胞の染色体異常を誘発することが示されたので、生体内で解毒作用を持つといわれるグルタチオンを培養液に添加し、その効果を資料 No. T-26 と同様の方法で調べた。

検体処理濃度は、50%生育阻害濃度である 150 $\mu\text{g/ml}$ とした。

陽性対照としては、シクロホスファミド (CP) を用いた。

データはギャップを除いた場合、含む場合に分けて集計し、一般的な直線回帰法又は Fischer の直接確率法で統計学的に解析した。

結果: 次頁の表に示した。

資料 No. T-26 と同様に、グルタチオンを添加しない場合、検体は染色体異常を誘発した。しかし、グルタチオンを生理的濃度で加えたときは、染色体異常の頻度は、陰性対照と同じ程度にまで減少した。

以上の結果より、検体は in vitro では CHO 細胞の染色体異常を誘発しないものと推察される。

+S9 mixの結果(処理開始24時間後に細胞を採取)

(T-28: CHO-その2、グルタチオン添加)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(*)	観 察 細胞 数	構造異常 観 察 細胞数	数的異常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)
リン酸バッファ- 対照	0	0.063	300	296	4	1.33	2	0.007	2	0.68	10	0.0314	9	3.04
グルタチオン対照	0	0.065	300	300	0	0	0	0	0	0	5	0.017	5	1.67
検体+ リン酸バッファ-	150	0.046	217	216	1	0.46	44	0.204	28 ⁺⁺	12.96	67	0.310	40	18.52
検体+ グルタチオン	150	0.048	300	296	4	1.33	1	0.003	1	0.34	8	0.027	8	2.70
検 体	150	0.039	263	258	5	1.90	44	0.171	35 ⁺⁺	13.57	78	0.302	51 ⁺⁺	19.77
C P	100	0.049	300	298	2	0.67	34	0.114	31 ⁺⁺	10.40	60	0.201	52 ⁺⁺	17.45

(注) 検体+リン酸バッファが資料 No. T-27 と同じである。

統計学的方法: 直線回帰法又はFischerの直接確率法。

+ : $P < 0.05$, ++ : $P < 0.01$

(*) シャーレ3枚の平均値

(リン酸バッファ-対照対比)

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(ウ) ラットの肝培養細胞 (RL-4) を用いた in vitro 染色体異常誘発性試験

(資料 No. T-29)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度:

方法: 継代培養したラット由来の肝細胞 (RL-4) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体処理時間は 3 時間とし、処理開始の 8、12 及び 24 時間後に分裂中期細胞を採取した。各採取時の 2 時間前にコルセミドを添加した。

各濃度につき 3 枚のシャーレを用い、各シャーレ当り 100 個の分裂中期細胞を観察した。数的異常については倍数性細胞と核内倍加細胞を数えた。構造異常については染色分体型ギャップ、染色体型ギャップ、染色分体切断、染色体断片、無動原体断片、染色体交換、二動原体、転座、環状染色体、強度損傷に分類し、計測した。

データはギャップを除いた場合、含む場合に分けて集計し、一般的な直線回帰法又は Fischer の直接確率法で統計学的に解析した。

検体を溶解させるため DMSO を用いた。

陽性対照としては、メタンサルホン酸メチル (MMS) 及びシクロホスファミド (CP) を用いた。

結 果：次頁以下の表に示した。

S9 mixの有無に関わらず、又、試料採取時間に関わらず、検体はいずれの濃度においても染色体異常を有意に増加させなかった。

一方、陽性対照のMMS (-S9 mix) 及びCP (+S9 mix) は、染色体異常を顕著に増加させた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下でRL-4培養細胞の染色体異常を誘発しないものと判断される。

-S9 mix の結果 (処理開始 8 時間後に細胞を採取)

(T-29 : RL-4)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数的異常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率 (%)	異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率 (%)
無処理対照	0	観察せず	300	297	3	1.0	1	0.003	1	0.34	7	0.024	6	2.02
溶媒対照	0	観察せず	300	297	3	1.0	1	0.003	1	0.34	5	0.017	4	1.35
検体	45	観察せず	208	206	2	1.0	0	0	0	0	3	0.015	2	0.97
検体	225	観察せず	300	298	2	0.7	1	0.003	1	0.34	7	0.023	6	2.01
検体	450	観察せず	300	297	3	1.0	0	0	0	0	5	0.017	5	1.68
MMS	50	観察せず	228	225	3	1.3	16	0.071	15 ⁺	6.67	50	0.222	37 ⁺⁺	16.44

統計学的方法 : 直線回帰法又は Fischer の直接確率法。 + : $P < 0.05$ 、 ++ : $P < 0.01$

(無処理対照対比)

—S9 mixの結果(処理開始12時間後に細胞を採取)

(T-29:RL-4)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数 的 異 常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)
無処理対照	0	観察せず	300	289	11	3.67	1	0.003	1	0.35	8	0.028	6	2.08
溶媒対照	0	観察せず	300	295	5	1.67	0	0	0	0	11	0.037	7	2.37
検体	45	観察せず	300	288	12	4.00	2	0.007	2	0.69	11	0.038	11	3.82
検体	225	観察せず	300	289	11	3.67	1	0.003	1	0.35	6	0.021	6	2.08
検体	450	観察せず	300	288	12	4.00	2	0.007	2	0.69	11	0.038	9	3.13
MMS	50	観察せず	300	282	18	6.00	149	0.528	83 ⁺⁺	29.43	346	1.227	130 ⁺⁺	46.10

統計学的方法：直線回帰法又はFischerの直接確率法。+ : $P < 0.05$ 、++ : $P < 0.01$

(無処理対照対比)

-S9 mixの結果(処理開始24時間後に細胞を採取)

(T-29:RL-4)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数 (*)	観察 細胞数	構造異常 観察 細胞数	数的異常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異常 細胞数	異常細胞 比率(%)
無処理対照	0	6.2	300	296	4	1.33	2	0.007	2	0.68	11	0.037	11	3.72
溶媒対照	0	5.7	300	287	13	4.33	1	0.003	1	0.35	11	0.038	10	3.48
検体	45	8.1	300	286	14 ⁺	4.67	1	0.003	1	0.35	5	0.017	5	1.75
検体	225	7.2	300	284	16 ⁺	5.33	0	0	0	0	8	0.028	7	2.46
検体	450	4.5	300	295	5	1.67	1	0.003	1	0.34	8	0.027	8	2.71
MMS	50	4.0	300	279	21 ⁺⁺	7.00	85	0.305	53 ⁺⁺	19.00	141	0.505	76 ⁺⁺	27.20

統計学的方法：直線回帰法又はFischerの直接確率法。+ : $P < 0.05$ 、++ : $P < 0.01$

(無処理対照対比)

(*) プレート3枚の平均値

+S9 mixの結果(処理開始8時間後に細胞を採取)

(T-29:RL-4)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数 的 異 常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)
無処理対照	0	観察せず	300	297	3	1.0	3	0.010	2	0.67	19	0.064	15	5.05
溶媒対照	0	観察せず	300	294	6	2.0	0	0	0	0	18	0.061	16	5.44
検体	16	観察せず	300	298	2	0.7	1	0.003	1	0.34	7	0.023	6	2.01
検体	80	観察せず	300	296	4	1.3	0	0	0	0	15	0.051	12	4.05
検体	160	観察せず	235	232	3	1.3	0	0	0	0	3	0.013	3	1.29
CP	2	観察せず	300	299	1	0.3	2	0.007	2	0.67	9	0.030	8	2.68

+S9 mixの結果(処理開始12時間後に細胞を採取)

(T-29:RL-4)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数 的 異 常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)
無処理対照	0	観察せず	300	298	2	0.67	3	0.010	3	1.01	11	0.037	10	3.36
溶媒対照	0	観察せず	300	294	6	2.00	2	0.007	2	0.68	6	0.020	5	1.70
検体	16	観察せず	300	297	3	1.0	1	0.003	1	0.34	8	0.027	8	2.69
検体	80	観察せず	300	295	5	1.67	0	0	0	0	10	0.034	10	3.39
検体	160	観察せず	300	298	2	0.67	0	0	0	0	5	0.017	5	1.68
CP	2	観察せず	300	300	0	0	86	0.287	61 ⁺⁺	20.33	107	0.357	71 ⁺⁺	23.67

統計学的方法：直線回帰法又はFischerの直接確率法。+ : $P < 0.05$ 、++ : $P < 0.01$

(無処理対照対比)

+S9 mix の結果 (処理開始 24 時間後に細胞を採取)

(T-29 : RL-4)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数 (*)	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数 的 異 常		構 造 異 常							
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む			
							異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率 (%)	異常 総数	細胞 1 個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率 (%)
無処理対照	0	6.8	300	292	8	2.67	3	0.010	3	1.0	15	0.05	14	4.8
溶媒対照	0	7.07	300	298	2	0.67	4	0.013	3	1.0	9	0.030	8	2.7
検体	16	6.33	300	290	10	3.33	5	0.017	5	1.7	22	0.076	21	7.2
検体	80	7.2	300	286	14	4.67	3	0.010	3	1.0	10	0.035	10	3.5
検体	160	6.07	300	296	4	1.33	2	0.006	2	0.7	4	0.014	3 ⁻	1.0
CP	2	5.2	300	296	4	1.33	41	0.138	33 ⁺⁺	11.1	47	0.160	39 ⁺⁺	13.2

統計学的方法 : 直線回帰法又は Fischer の直接確率法。 +- : P<0.05、++ : P<0.01

(無処理対照対比)

(*) プレート 3 枚の平均値

(エ) ラットの骨髄細胞を用いた in vivo 染色体異常試験

(資料 No. T-30)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度:

試供動物: SD (CD) 系ラット、1 群雌雄各 5 匹

方法: 検体をコーン油に懸濁し、4000mg/kg の投与レベルで 1 回、強制経口投与した。投与の 6、24 または 48 時間後に屠殺して、大腿部骨髄の細胞を採取し、染色体試料を作成し、各動物当り 50 個の分裂中期像を観察した。

屠殺 3 時間前に 0.9% 食塩水に溶解したコルヒチン (0.4mg/ml) を 10ml/kg 腹腔内に投与した。

溶媒対照群にはコーン油を経口投与した。又、陽性対照群には 0.9% 食塩水に溶解したシクロホスファミドを 40mg/kg 腹腔内に投与した。

染色体の異常をギャップ、切断、転座、交換等に分類し、計測した。

データはギャップを除いた場合、含む場合に分けて集計し、Wilcoxon の順位和検定法により解析した。

尚、本試験の前に 0、250、500、1000、2000、4000mg/kg の投与レベルで予備試験を実施したところ、死亡例はみられなかったため、本試験における最高用量は、コーン油懸濁液投与における最大投与可能量である 4000mg/kg とした。

結果：結果を以下に示した。

投与後、 染色体試 料採取ま での時間	試験群	投与量 mg/kg	動物数	観察 細胞数	染色体異常をもつ細胞数			
					ギャップを 除く場合		ギャップを 含む場合	
					異常 細胞数	%	異常 細胞数	%
6	コーン油	—	10	500	3	0.6	3	0.6
	検体	4000	10	500	1	0.2	1	0.2
24	コーン油	—	10	500	1	0.2	1	0.2
	検体	4000	10	500	1	0.2	1	0.2
	シクロホスファミド	40	10	457	99	21.7***	100	21.9***
48	コーン油	—	10	500	0	0.0	0	0.0
	検体	4000	10	500	3	0.6	3	0.6

(*** : P<0.001、Wilcoxon の順位和検定)

検体は、いずれの採取時期においても、染色体異常を有する細胞数を増加させなかった。

一方、陽性対照のシクロホスファミドは、染色分体切断、染色分体交換、染色分体断片、無動原体断片などの染色体異常を有する細胞数を顕著に増加させた(P<0.001)。

以上の結果より、検体はラット骨髄細胞を用いた *in vivo* 試験において、染色体異常を誘発しないものと判断される。

(オ) マウスを用いた腹腔内投与による小核試験

(資料 No. T-31)

試験機関:

報告書作成年:1993年

検体の純度:

試験動物: ICR系マウス、1群 雄 6匹

第1回投与時体重、33.2~36.7g

方法: 検体をオリーブ油に懸濁し、500、1000、2000mg/10ml/kgの用量で、24時間間隔で2回、腹腔内に投与した。

陽性対照として、シクロホスファミド (CP) 40mg/10ml/kgを1回、陰性対照としてオリーブ油 10mg/kgを2回、同様に投与した。

最終投与の24時間後に屠殺し、大腿骨骨髓の塗抹標本を作製し、ギムザ染色した。動物1個体当たり全赤血球1000個における多染性赤血球 (PCE) の割合を調べ、引き続いて1000個になるまでPCEを観察し、その内小核をもつ細胞数 (MNPCE) を数えた。細胞の識別はSchmidらの方法に従った。

投与量設定根拠:

方法: 次頁の表に示した。

検体は最高用量の2000mg/kgでも小核を誘発しなかった。又、全赤血球における多染性赤血球の割合も、陰性対照と差がなかった。

一方、陽性対照のシクロホスファミドは統計学的に有意な小核の誘発と全赤血球中における多染性赤血球割合の増加を示した。

500及び2000mg/kg群では投与後体重がわずかに減少したが、動物の一般症状に変化はなく、又、死亡例もなかった。

以上の結果により、マウスを用いた腹腔内投与における小核試験において、検体は小核を誘発しないものと考えられた。

処理群	用量 (mg/kg)	個体 番号	PCE 観察数	MNPCE		PCE/PCE+NCE
				個数	(%, 平均値±標準偏差)	(%, 平均値±標準偏差)
陰性対照 (オリーブ油)	0×2	1	1000	0		38.1
		2	1000	1		36.4
		3	1000	1		34.7
		4	1000	2		38.5
		5	1000	0		38.7
		6	1000	2		48.9
	合計	6	0.10±0.09	39.2±4.98		
フルフェノクスロン	500×2	1	1000	1		41.9
		2	1000	1		41.0
		3	1000	0		39.6
		4	1000	0		40.7
		5	1000	3		38.8
		6	1000	0		41.4
	合計	5	0.08±0.12	40.6±1.16		
	1000×2	1	1000	0		37.0
		2	1000	0		39.2
		3	1000	1		38.2
		4	1000	0		41.4
		5	1000	0		37.6
		6	1000	3		42.0
合計	4	0.07±0.12	39.2±2.05			
2000×2	1	1000	2		35.0	
	2	1000	0		40.7	
	3	1000	0		37.1	
	4	1000	0		40.8	
	5	1000	1		40.8	
	6	1000	3		49.4	
合計	6	0.10±0.13	40.6±4.92			
陽性対照 (CP)	40×1	1	1000	28		51.3
		2	1000	36		45.1
		3	1000	24		54.7
		4	1000	17		52.7
		5	1000	26		47.8
		6	1000	27		50.7
	合計	158** 1)	2.63±0.62	50.4±3.45** 2)		

PCE : 多染性赤血球 MNPCE : 小核をもつ多染性赤血球 NCE : 正染性赤血球

CP : シクロホスファミド

1) 有意差あり : ** P<0.01、Kastenbaum と Bowman の推計学的方法

2) 有意差あり : ** P<0.01、Student の t-検定

(カ) ヒト培養リンパ球を用いた in vitro 染色体異常誘発性試験

(資料 No. T-32)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1992 年

検体の純度:

方法: 男性 1 名より採取した血液を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下でリンパ球の染色体異常誘発性を検定した。リンパ球の分裂を促進するためフィトヘモグルチニン 37.5 μ l/ml を培養液に加えた。

試験設計を下表に示した。

	S9 mix	シャーレ数			
		検体処理時間及び処理後細胞採取までの時間			
		3+17 時間	20+0 時間	44+0 時間	3+41 時間
溶媒対照	-	2	2	2	-
	+	2	-	-	2
検体	-	2	2	-	-
78.4、112、160 μ g/ml	+	2	-	-	-
160 μ g/ml	-	-	-	2	-
	+	-	-	-	2
陽性対照	-	-	2	-	-
NQO 2.5 μ g/ml	+	2	-	-	-
CP 25 μ g/ml					

(溶媒対照群は各 4 枚の培養シャーレを作成したが、各 2 枚のみ観察した。)

各採取時の2時間前にコルセミドを添加した。各シャーレあたり100個の分裂中期細胞を観察した。数的異常については倍数性細胞と核内倍加細胞を数えた。構造異常については染色体ギャップ、染色分体ギャップ、染色体/染色分体断片、染色体交換、染色分体交換、粉状化等に分類し、計測した。

データはギャップを除いた場合、含む場合に分けて集計した。

試験前に濃度測定のために、3.164~160 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で溶解性及び有糸分裂指数を調べた。その結果、78.4~160 $\mu\text{g/ml}$ では一部、沈殿が生じたので(攪拌すると再溶解する)ほぼ、溶解限界であると考えられた。又、160 $\mu\text{g/ml}$ における有糸分裂阻害率は42%以下であったので、本試験の最高濃度は、160 $\mu\text{g/ml}$ とした。

検体を溶解させるためにDMSOを用いた。

陽性対照としては、-S9 mixでは4-ニトロキノリン-1-オキシド(NQO)を、+S9 mixでは、シクロホスファミド(CP)を用いた。

結 果： 次頁以下の表に示した。

S9 mixの有無に関わらず、又、検体処理時間/細胞採取時間に関わらず、検体はいずれの濃度においても染色体異常を有意に増加させなかった。

一方、陽性対照のNQO(-S9 mix)及びCP(+S9 mix)は、染色体異常を顕著に増加させた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下でヒト培養リンパ球の染色体異常を誘発しないものと判断される。

(ヒト培養リンパ球)

S9 mix	処理時間	処理後細胞採取までの時間	数的異常				構造異常					
			薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(#)	観察 細胞数	異常 細胞数	ギャップを除く		ギャップを含む		
								観察 細胞数	異常 細胞数	異常 総数	異常 細胞数	異常 総数
+	3	17	溶媒対照	—	3.8	200	0	200	1	1	5	5
			検体	78.4	4.3	201	1	200	3	3	7	8
			検体	112	3.8	200	0	200	0	0	1	1
			検体	160	3.4	201	0	200	3	3	3	3
			C P	25	N D	50	0	50	9**	12	13	19
—	44	0	溶媒対照	—	3.0	200	0	200	3	3	4	4
			検体	160	2.3	200	0	200	1	1	2	2
+	3	41	溶媒対照	—	4.9	201	1	200	0	0	2	2
			検体	160	5.5	201	1	200	1	1	3	3

(#) シャーレ 2 枚の平均値

** : $P < 0.001$ (Fisher の直接確率法)

統計処理はギャップを除く構造異常細胞数についてのみ行った。

ND : 観察せず

(ヒト培養リンパ球)

S9 mix	- 処理時間	処理後細胞採取までの時間	数的異常				構造異常					
			薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(#)	観察 細胞数	異常 細胞数	ギャップを除く		ギャップを含む		
								観察 細胞数	異常 細胞数	異常 総数	異常 細胞数	異常 総数
-	20	0	溶媒対照	-	4.2	202	2	200	1	1	1	2
			検体	78.4	3.6	200	0	200	0	0	1	1
			検体	112	3.2	200	0	200	1	1	2	2
			検体	160	2.4	201	1	200	0	0	4	4
			NOO	2.5	ND	50	0	50	9**	13	11	16
-	3	17	溶媒対照	-	4.5	202	2	200	0	0	0	0
			検体	78.4	3.5	200	0	200	0	0	0	0
			検体	112	3.3	200	0	200	0	0	0	0
			検体	160	3.2	200	0	200	0	0	0	0

(#) シャーレ 2 枚の平均値

** : $P < 0.001$ (Fisher の直接確率法)

統計処理はギャップを除く構造異常細胞数についてのみ行った。

ND : 観察せず

3) DNA 損傷誘発性

(ア)ラット肝細胞における in vivo/in vitro 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 No. T-33)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体の純度:

供試動物: Fischer344 系ラット、1 群雄 3 匹 (体重: 150~300g)

方法: 検体をコーン油に懸濁し、188、375、750、1500mg/kg の用量で経口投与した。
ラットにおける急性経口 LD₅₀ は >3000mg/kg と報告されているので(資料 No. T-2)、
最高用量はその 1/2 とした。

投与 4 時間後に灌流し、採取した肝細胞を培養し、生存細胞数を調べた。
約 0.5×10^6 個の生存細胞をプラスチック製カバースリップ付きの培養皿に入れ、
炭酸ガス 5% を含む環境中でインキュベートし、カバースリップ上に単層培養を
作成し、カバースリップへの接着率を調べた。
接着しない細胞を取り除き、³H-チミジンを含む培養液で 18~20 時間インキュ
ベートし、細胞に放射能を取り込ませた。
細胞が単層で接着しているカバースリップを固定後、染色し、オートラジオグ
ラフィーに供した。これを顕微鏡で観察し、UDS 量、即ち、核内の粒子数を数え
た。

各ラットより、3 枚のカバースリップを UDS 検出試験に供した。各カバースリッ
プ当り 50 個の細胞を任意に選び、核内粒子数を数えた。又、2 枚の培養皿につ
いて接着率と接着細胞の生存率を調べた。

陰性対照としてコーン油を、陽性対照としてジメチルニトロソアミン (DMN) を
用いた。陽性判定基準は、結果の表の注 d、e、f に示した。

結 果：次頁の表に示した。

検体投与の各群とも、UDSを示す核内粒子数は陰性対照(コーン油)と差がなく、
いずれの陽性判定基準も満たされなかった。

一方、陽性対照のジメチルニトロソアミンは顕著なUDS誘発性を示した。

以上の結果より、検体はラットを用いた in vivo/in vitro 不定期DNA合成(UDS)試験において、UDSを誘発しないものと判断される。

(T-33:UDS)

投与物質	動物番号	投与量	採取細胞の	接着細胞の	核当り UDS 粒	UDS 粒子数が陰性対照	UDS 粒子数が20個以上	1500 細胞当り	
			生存率	接着率	生存率	より 6 個以上多い核の	の核の割合 (f)	の S 期細胞数	
			(%)	(%)	(%)	割合 (e)	(%)	(%)	
陰性対照 コーン油	1209	5ml/kg	84.3	63.9	86.6	-1.14	3.3	0.0	6
	1193	5ml/kg	87.2	89.8	89.1	-3.77	1.3	0.0	6
	1186	5ml/kg	90.0	78.6	90.4	-0.65	1.3	0.0	0
陰性対照 D M N	1212	10mg/kg	93.8	71.2	96.5	34.72	99.3	91.3	11
	1200	10mg/kg	95.2	71.1	93.2	33.71	97.3	80.7	4
	1199	10mg/kg	91.5	77.8	93.3	30.85	95.3	81.3	32
検 体	1188	1500mg/kg	93.2	72.0	94.4	-3.72	0.7	0.0	4
	1210	1500mg/kg	92.5	76.9	94.1	-1.50	10.7	0.0	5
	1198	1500mg/kg	93.2	68.2	95.4	-4.29	4.0	0.0	2
	1191	750mg/kg	92.0	82.4	96.3	-3.81	2.0	0.0	5
	1183	750mg/kg	92.9	76.1	90.8	-1.77	3.3	0.0	9
	1197	750mg/kg	90.5	72.5	92.1	-2.23	4.0	0.0	2
	1213	375mg/kg	93.0	75.3	92.4	-3.77	0.0	0.0	8
	1211	375mg/kg	93.0	75.1	94.7	-0.74	4.7	0.0	5
	1185	375mg/kg	93.5	77.6	95.9	-2.60	0.7	0.0	13
	1208 (b)	188mg/kg	94.9	78.2	95.0	-1.12	5.8	0.0	17(c)
	1206 (b)	188mg/kg	91.3	68.9	93.7	-3.26	2.7	0.0	11(c)
	1203 (a)	188mg/kg	81.4	35.9	77.0	-	-	-	-

DMN: ジメチルニトロソアミン

注 (a): 接着率が低く、UDS 検出試験からは除外した。

(b): 3 枚のカバースリップにつき、合計 225 個の細胞を観察した。(動物番号 1208 と 1206 で合計 450 個)

他の群は、ラット 1 匹当たり 150 個の細胞を観察 (1 処理群当たり、合計 450 個)

(c): ラット 1 匹当たり 2250 個の細胞を観察し、その内の S 期細胞数を示した。他の群はラット 1 匹当たり 1500 個の細胞を観察した。

(d): 陽性判定基準は 4.15 個以上 (陰性対照の平均+6 個)。核内の粒子数から、核に隣接した核と同面積の領域内の粒子の平均数 (バックグラウンド値) を減じているので、通常マイナスの値になる。

(e): 陽性判定基準は 12.0% 以上 (陰性対照の平均+10%)。

(f): 陽性判定基準は 2% 以上 (陰性対照の平均+2%)。

(14) 生体機能影響

哺乳動物における薬理試験

(資料 No. T-34)

試験機関:

報告書作成年: 1991年

検体の純度:

① マウス、ラット及びウサギの中樞神経系に対する作用

(1) マウス及びウサギの一般症状 (No. T-34-1)

イ) マウスの一般症状 [修正 Irwin 法]

供試動物: BRL NMRI 系マウス、体重 27~32g、1 群雄 3 匹

方法: マウスは検体投与前に一夜絶食させた。検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁して、300、1000 及び 3000mg/kg を経口投与し、一般症状を観察した。

結果: 全投与群で軽度な一般症状 (立毛、行動不活発など) が認められた。しかし、発現頻度が低くかつ非特異的なものであり、用量依存的なものではなかったことから、検体の薬理作用によるものではないと考えられた。

ロ) ウサギの一般症状

供試動物: BRL ニュージーランド白色種ウサギ、体重 2.2~2.9kg、1 群雄 3 匹

方法: ウサギは検体投与前に一夜絶食させた。検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁して、300、1000 及び 3000mg/kg を経口投与し、一般症状を観察した。

結果: 検体投与に関連した一般症状は認められなかった。

(2) マウスのヘキソバルピタール睡眠時間に対する作用 (No. T-34-2)

供試動物: BRL NMRI 系マウス、体重 22~26g、1 群雄 6 匹

方法: マウスは検体投与前に一夜絶食させた。検体を 0.5%CMC に懸濁して、3000mg/kg を経口投与した。検体投与 30 分後に、ヘキソバルピタール 70mg/kg を腹腔内投与し、正向反射の消失から回復までの時間を睡眠時間として測定した。

結果: マウスのヘキソバルピタール睡眠時間に対して何ら作用を示さなかった。

(3) マウスの協調運動に対する作用〔回転棒法〕 (No. T-34-1)

供試動物：BRL NMRI 系マウス、体重 25～30g、1 群雄 5 匹

方 法：マウスは検体投与前に一夜絶食させた。検体を 0.5%CMC に懸濁して、3000mg/kg を経口投与した。検体投与後、0、30、60、90、120 及び 150 分に 2 分間動物を回転棒上に乗せ、動物の落下回数を測定した。

結 果：マウスの協調運動に対し何ら作用を示さなかった。

(4) マウスの自発運動に対する作用 (No. T-34-1)

供試動物：BRL NMRI 系マウス、体重 27～32g、1 群雄 4 匹

方 法：マウスは検体投与前に一夜絶食させた。検体を 0.5%CMC に懸濁して、3000mg/kg を経口投与した。検体投与後、0～15、30～45、75～90、120～135、165～180、225～270 及び 345～360 分の各時間で、Activity ケージを用いて動物の運動量を測定した。

結 果：マウスの自発運動に対し何ら作用を示さなかった。

(5) ラットの体温に対する作用 (No. T-34-2)

供試動物：BRL Han Wistar 系ラット、体重 182～205g、1 群雄 6 匹

方 法：ラットは検体投与前に一夜絶食させた。検体を 0.5%CMC に懸濁して、3000mg/kg を経口投与した。検体投与後、0.5、1、2、3、4、5 及び 6 時間に直腸温度を測定した。

結 果：ラットの体温に対して何ら作用を示さなかった。

(6) ラットの自発脳波に対する作用 (No. T-34-3)

供試動物：BRL Han Wistar 系ラット、体重 390～440g、1 群雄 4 匹

方 法：ラットをペントバルビトール Na (50mg/kg、腹腔内投与) で麻酔して、耳介反射の消失後、頭部を脳定位固定装置に固定し、頭蓋を露出させ、前頭部 (bregma より L2、A2) 及び後頭部 (lambda より L2、A2) に電極を装着した。頸部筋肉に筋電図用電極を挿入した。

電極挿入 2～7 週後(麻酔覚醒後)に、検体を 0.5%CMC に懸濁して、経口投与した。1 群に溶媒を投与し、脳波を記録した後、4 日後に検体 250mg/kg を投与し脳波記録後、さらに 7 日後に 1000mg/kg を投与して脳波記録を行った。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

他の1群に溶媒を投与し、脳波を記録した後、4日後に検体 100mg/kg を投与して脳波記録を行った。

結 果：本体のラットの自発脳波に対する作用は、100mg/kg 投与では影響は認められず、250 及び 1000mg/kg 群で用量依存性の変化が認められ、投与3時間後で筋電図の活動を伴う覚醒状態の短縮、筋電図活動のない覚醒状態の延長、さらに傾眠及びレム睡眠の延長がみられた。投与6時間後ではレム睡眠は元に戻ったが、その他の状態は持続し、さらに徐波睡眠の短縮もみられた。しかし、検体の毒性を示すような異常脳波は何ら認められなかった。

② モルモット及びラットの末梢神経系及び骨格筋に対する作用

(1) モルモットにおける局所麻酔作用 (No. T-34-4)

供試動物：Dunkin-Hartley 系モルモット、体重 280~330g、1 群雄 5 匹

方 法：検体を 10% となるように 0.5% CMC に懸濁し、モルモットの片側の眼の結膜嚢に、0.03ml の容量で点眼した。機械的刺激による角膜反射を、投与の約 1 分前、投与後 10、20、30、40、50 及び 60 分に観察した。

結 果：モルモットにおける角膜表面麻酔作用は認められなかった。

(2) 麻酔ラットの骨格筋に対する作用 (No. T-34-4)

供試動物：BRL Han Wistar 系ラット、体重 260~293g、1 群雄 4 匹

方 法：麻酔はウレタン (1.5g/mg、腹腔内投与) で行った。麻酔後、右アキレス腱を露出させ張カトランスデューサーをつないだ。気管に挿管し、カニューレを左頸動脈に挿入し、血圧用トランスデューサーにつないだ。右肢の挫骨神経を結合組織から剥離して、白金製刺激電極を固定した。検体は 0.5% CMC に懸濁した。溶媒及び検体 30mg/kg を大腿静脈内に連続投与し、神経刺激を行って、腓腹筋収縮反応、心拍数及び血圧を測定した。

結 果：麻酔ラットの腓腹筋に対し何ら作用を示さなかった。又、心拍数、血圧にも影響はなかった。

③ 麻酔ウサギの呼吸及び循環器系に対する作用 (No. T-34-5)

供試動物：ニュージーランド系白色種ウサギ、体重 2.56~2.90kg、1 群雄 4 匹

方 法：麻酔はウレタン (0.7g/kg、静脈内投与) 及びペントバルビタール Na (70mg/kg、静脈内投与) で行った。血圧、血流量、心拍数、呼吸数及び心電図を次のように測定した。右大腿動脈にカニューレを挿入し、血圧用トランスデューサーにつないだ。また、静脈カニューレを耳静脈に挿入した。張力トランスデューサーを胸骨につなぎ、呼吸数を測定した。血流量の測定は、超音波流量計を頸動脈に取り付けて行った。心電図は Einthoven 及び Goldberger 誘導を記録した。詳しい解析は第 II 誘導について行った。

検体は 0.5%CMC に懸濁して投与した。

結 果：本剤の麻酔ウサギの呼吸及び循環器系に対する作用は、4 例中 1 例で投与による物理的な障害 (不整脈 [心室性の 2 段脈]) がみられた以外は、何ら認められなかった。

④ マウス及びラットの消化器に対する作用

(1) マウスの腸管輸送能に対する作用 (No. T-34-7)

供試動物：BRL NMRI 系マウス、体重 22~25g、1 群雄 6 匹

方 法：マウスは検体投与前に一夜絶食させた。検体を 0.5%CMC に懸濁し、3000mg/kg を経口投与した。検体投与 60 分後に炭末 (10%) 及びアラビヤゴム (5%) を経口投与した。その 30 分後に動物を頸椎脱臼により屠殺し、胃腸管を摘出して、炭末が移動した小腸の長さの小腸全体の長さに対する比率を求めた。

結 果：マウスの腸管輸送能に対し、何ら作用を示さなかった。

(2) 麻酔ラットの胃液分泌に対する作用 (No. T-34-7)

供試動物：BRL Han Wistar 系ラット、体重 177~218g、1 群雄 6 匹

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

方 法：ラットを18時間絶食させた後、Shayらの方法でエーテル麻酔下で幽門部を結紮し、直ちに検体を十二指腸内投与した。検体は0.5%CMCに懸濁して300、1000及び3000mg/kgを投与した。投与5時間後にペントバルビタールNaを腹腔内に注射してラットを屠殺し、胃を噴門部より切り離して摘出した後、胃中の胃液量及びpHを測定した。試験は2回行った。最初の試験では1群に3000mg/kgを投与し、追加試験では300、1000及び3000mg/kg投与の3群を行った。

結 果：最初の試験において、麻酔ラットの胃液分泌量が有意に減少したが、追加試験では胃液分泌量の変化は認められなかった。PHのわずかだが統計学的に有意($P < 0.05$ 、Dunnett検定)の低下が300及び1000mg/kg群で認められたが、軽度であり、生理的変動の範囲内と考えられ、検体投与の影響とは判断されなかった。

(3) 麻酔ラットの唾液分泌に対する作用 (No. T-34-8)

供試動物：BRL Han Wistar系ラット、体重193~250g、1群雄5匹

方 法：ラットは一夜絶食後、検体を0.5%CMCに懸濁し、3000mg/kgを経口投与した。その後ウレタン(1.5g/kg、腹腔内投与)で麻酔した。検体投与30分後に、カルバコール0.5mg/kgを腹腔内投与し、その後1時間にわたって流出する唾液を小綿球に吸収させ、その重量を測定した。

結 果：麻酔ラットの唾液分泌に対し、何ら作用を示さなかった。

⑤ ラットの自律神経系及び平滑筋に対する作用

(1) 麻酔ラットの瞬膜に対する作用 (No. T-34-8)

供試動物：BRL Han Wistar系ラット、体重414~437g、雄3匹

方 法：ラットをウレタン(1.5g/kg、腹腔内投与)で麻酔後、頭部を保定台に保定した。右の瞬膜を絹糸で結び張カトランスデューサーにつないで、瞬膜の収縮を記録できるようにした。左頸動脈にカニューレを挿入し、血圧用トランスデューサーにつないだ。又、左大腿動脈にもカニューレを挿入した。実体顕微鏡下で、右の頸部自律神経節を露出させ、神経節の腹側に刺激電極を固定し、パラフィンで覆った。各トランスデューサーの出力はポリグラフを用いて記録し、電極は刺激装置につないだ。

溶媒(0.5%CMC)1ml/kgを大腿静脈内に投与し、電気刺激を行って約25分間瞬膜の収縮を記録し、その後0.5%CMCに懸濁した検体30mg/kgを同様に投与し、電気刺激を行って、約25分間瞬膜の収縮を記録した。同時に血圧も測定した。

結 果：麻酔ラットの瞬膜の収縮及び血圧に対し、何ら作用を示さなかった。

(2) 麻酔ラットの子宮運動に対する作用 (No. T-34-9)

供試動物：BRL Han Wistar 系ラット、体重 217~330g、1 群雌 3 匹

方 法：非妊娠ラット（発情後期又は発情期間のもの）及び妊娠ラットをウレタン麻酔下（1.5g/kg、腹腔内投与）で開腹し、小型バルーンを子宮内に装着して圧カトランスデューサーにつなぎ、ポリグラフを用いて子宮の自発運動を記録した。検体を 0.5%CMC に懸濁し、30mg/kg を静脈内投与した。

結 果：非妊娠麻酔ラットの子宮運動に対し、何ら作用を示さなかった。
妊娠麻酔ラットの 2 例の子宮運動に対し何ら作用を示さなかったが、1 例で、自然律動の周期には変化がなかったが、振幅がわずかに低下した。しかし、これは、偶発的な変化と考えられる。

⑥ ラットの腎機能に対する作用 (No. T-34-10)

供試動物：BRL Han Wistar 系ラット、体重 170~205g、1 群雄 6 匹

方 法：18 時間の絶食後、検体を 0.5%CMC に懸濁し、3000mg/kg を経口投与した。検体投与直後に 0.9%生理食塩水 25ml/kg を投与した。その後、直ちに代謝ケージに入れて 6 時間の尿を採取し、尿検査を行った。採尿後、直ちに動物を屠殺し、腎を摘出して HE 染色病理標本を作製した。尿検査は、次の項目について行った。尿量、色調、外観、比重、浸透圧、pH、Na⁺、K⁺、Cl⁻、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣。

結 果：ラットの腎機能に対して、何ら作用を示さなかった。

⑦ ウサギの血液に対する作用〔溶血及び凝固〕(No. T-34-11)

供試動物：ニュージーランド系白色種ウサギ、体重 2.18~2.41kg、1 群雄 6 匹

方 法：一夜絶食後検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、3000mg/kg を経口投与した。投与 2 時間後に耳静脈より、また 24 時間後に眼窩静脈より採血して、それぞれ次の項目について血液検査を行った。赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均血球容量、平均血球ヘモグロビン量、血小板数、網状赤血球数、有核赤血球数、ハイツ小体、メトヘモグロビン量、トロンボプラスチン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、トロンビン時間。

結 果：ウサギの血液に対して、何ら作用を示さなかった。

〔申請者によるまとめ〕

マウスの一般症状試験において、全投与群(300、1000及び3000mg/kg)で軽度な一般症状(立毛、行動不活発など)がみられたが、非特異的であり、用量依存的でないことから検体の作用ではないと考えられる。又、子宮運動に対する作用試験(30mg/kg投与)で妊娠ラット3例中1例のみで振幅がわずかに低下したが、これは偶発的変化と思われる。

自発脳波に対する作用試験では、100mg/kg投与では影響は認められず、250及び1000mg/kg群で用量依存性の変化が認められ、投与3時間後で筋電図の活動を伴う覚醒状態の短縮、筋電図活動のない覚醒状態の延長、さらに傾眠及びレム睡眠の延長がみられた。しかし、検体の毒性を示すような異常脳波は何ら認められなかった。

その他の中枢神経系に対する作用(ウサギの一般症状、マウスのヘキソバルビタール睡眠、協調運動、自発運動、ラットの体温)、末梢神経系・骨格筋に対する作用(モルモットの局所麻酔、ラットの骨格筋)、呼吸・循環器系に対する作用(ウサギの血圧、心拍数、心電図、呼吸数、血流量)、消化器に対する作用(マウスの腸管輸送能、ラットの胃液分泌、唾液分泌)、自律神経系・平滑筋に対する作用(ラットの瞬膜)、腎機能に対する作用(ラットの尿検査、病理組織学的検査)及び血液に対する作用(ウサギの血液凝固など)に関する試験では、何ら薬理作用は認められなかった。

フルフェノクスロンの「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 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数/ 1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 一般症状 [修正 Irwin 法] (マウス)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 300, 1000, 3000	雄 3 匹	3000	—	対照群を含む全試験群で軽度な症状(立毛、行動不活発など)が認められたが、非特異的であり、用量依存的ではないことから検体の作用とは考えられなかった。
一般症状 (ウサギ)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 300, 1000, 3000	雄 3 匹	3000	—	検体投与に関連した一般症状は認められなかった。
ヘキサヒタル 睡眠時間 (マウス)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 6 匹	3000	—	ヘキサヒタル睡眠時間に何ら作用を示さなかった。
協調運動 (マウス)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 5 匹	3000	—	協調運動に何ら作用を示さなかった。
自発運動 (マウス)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 4 匹	3000	—	自発運動に何ら作用を示さなかった。
体温 (ラット)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 6 匹	3000	—	体温に対して何ら作用を示さなかった。
自発脳波 (ラット)	経口投与 (0.5%CMC)	0—100(単回 投与群) 0—250— 1000(漸増投 与群) [同じ動物に 投与]	雄 4 匹	100	250	筋電図活動を伴う覚醒状態の短縮、筋電図活動のない覚醒状態の延長、頓眠及びレム睡眠の延長が認められた。しかし、毒性を示す異常脳波は認められなかった。
末梢神経系・ 骨格筋 局部麻酔 (モルモット)	結膜嚢に点眼 (0.5%CMC)	溶媒 0.03ml 10%懸濁液 0.03ml	雄 5 匹	10%懸濁 液 0.03ml	—	角膜表面麻酔作用を示さなかった。
骨格筋 (ラット)	ウレタン麻酔下、 大腿静脈内投与 (0.5%CMC)	0—30 [同じ動物 に投与]	雄 4 匹	30	—	腓腹筋に何ら作用を示さなかった。又、心拍数、血圧にも影響はなかった。
呼吸・循環器系 血圧、心拍数、 心電図、呼吸 数、血流量 (ウサギ)	ウレタン及びペン トバルビタール麻 酔下、静脈内投与 (0.5%CMC)	0—30 [同じ動物 に投与]	雄 4 匹	—	30	4 例中 1 例で投与による物理的な障害(不整脈〔心室性の 2 段階〕)がみられた以外は、呼吸・循環器系パラメーターに対して作用を示さなかった。
消化器系 腸管輸送能 (マウス)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 6 匹	3000	—	腸管輸送能に対して何ら作用を示さなかった。
胃液分泌 (ラット)	エーテル麻酔下十 二指腸内投与 (0.5%CMC)	0, 300, 1000, 3000	雄 6 匹	3000	—	胃液分泌に対して何ら作用を示さなかった。
唾液分泌 (ラット)	ウレタン麻酔下腹 腔内投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 5 匹	3000	—	唾液分泌に対して何ら作用を示さなかった。
自律神経系 ・平滑筋 瞬膜 (ラット)	ウレタン麻酔下腹 腔内投与 (0.5%CMC)	0, 30	雄 3 匹	30	—	瞬膜収縮及び血圧に対して何ら作用を示さなかった。
子宮運動 (ラット)	ウレタン麻酔下腹 腔内投与 (0.5%CMC)	0, 30	雌 3 匹 妊娠 3 非妊娠 3	30	—	妊娠ラットの 1 例のみで振幅のわずかな抑制が認められたが、偶発的な変化と思われる。
腎機能 尿、病理検査 (ラット)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 6 匹	3000	—	腎機能に対して何ら作用を示さなかった。
血液 血液凝固、一般 血液検査 (ウサギ)	経口投与 (0.5%CMC)	0, 3000	雄 6 匹	3000	—	血液に対して何ら作用を示さなかった。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(15) その他

1) 肝・発癌性に関する短期試験

(ア) マウス肝薬物代謝酵素活性に及ぼす影響

(資料 No. T-35)

試験機関:

報告書作成年: 1992年

検体の純度:

試験動物: B6C3系マウス、1群雄8匹。

試験期間: 105日(1990年8月24日~12月11日)

方法: 検体を0、5000ppmの濃度で飼料に混入して7、21、63又は105日間、マウスに自由摂取させた。飼料は、4週間間隔で4バッチ調製した。陽性対照群にはフェノバルビタール・ナトリウム(PB)を0.05%(500ppm)混入飼料を1バッチ調製し21日間投与した。

投与量設定根拠:

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与群、陽性対照群とも投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。対照群を含む全群で脱毛がみられたが、これはこの試験に用いたB6C3系マウスで通常みられるものであり、投与の影響とは考えられない。いずれの群にも死亡例は認められなかった。

体重変化: 投与前7日より、週2回測定した。

検体投与群、陽性対照群とも、投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。検体投与群及び陽性対照群で投与第3及び7日の体重が対照群と比べ統計学的に有意に高かったが(それぞれ103%、102%、及び106%、106%)、その差はわずかであり、生物学的に意味はないと考えられる。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

摂 餌 量：検体投与群で対照群と比べ散発的に統計学的有意差が認められたがその差はいずれもごくわずかであり、生物学的に意味はないと考えられた。陽性対照群では変化はなかった。

実 投 与 濃 度：給餌前及び給餌最終日に各バッチの実濃度を測定した。給餌前の測定値を以下に示す。

給餌期間	バッチ 1 0-27 日	バッチ 2 28-55 日	バッチ 3 56-83 日	バッチ 4 84-105 日
検体、5000ppm	5052ppm	4999ppm	4998ppm	4924ppm

給餌期間	バッチ 1 0-21 日
PB、0.05%	0.049%

検 体 摂 取 量：体重、摂餌量及び実投与濃度より算出した1日当りの平均検体摂取量 (mg/kg/日)は、下表の通りである。

	0-7 日	0-21 日	0-63 日	0-105 日
対 照	0	0	0	0
検体、5000ppm	956.9	943.7	887.5	867.1
PB、0.05%	—	91.2	—	—

肝重量、生化学試験及び病理組織学的試験：

所定の計画屠殺日に各群の6匹について肝重量を測定した。各小葉より一部ずつを切除して病理組織標本を作成した。残りの肝組織より全肝ホモジネートを調製し、蛋白含量、DNA含量及び腎酸非感受パルミトイル-CoA酸化酵素活性を測定した。又、全肝ホモジネートの一部を分画遠心して、ミクロソーム画分を調製し、同画分の蛋白含量、チトクロームP-450量及び5種の混合機能酸化酵素活性を調べた。

結果を別表に示した。

肝重量

検体投与群では、7日後（絶対及び相対）及び63日後（絶対のみ）の肝重量が、統計学的に有意な増加を示したが、一貫した傾向は認められなかった。

陽性対照群では、絶対、相対重量とも有意な増加を示した。

生化学試験

検体投与群では、7日目のP-450量がやや高かったが、統計学的に有意ではなく（ $P > 0.05$ ）、21、63、105日目では対照群と比べ有意差はなかった。その他の検査項目には、いずれの投与期間とも、有意な変動はみられなかった。従って、7日目のP-450量のわずかな増加は毒性学的に意味はないと考えられた。

陽性対照群では、全肝ホモジネートの肝単位重量当り蛋白含量及び肝単位重量当りDNA含量は対照群と比べ有意差はなかったが、パルミトイル-CoA酸化酵素活性の低下、ミクロソーム画分の蛋白含量、P-450量及び5種の混合機能酸化酵素活性の増加が認められた。

病理組織学的検査

検体投与群では、いずれの投与期間とも対照群と比べ、所見に差はみられなかった。陽性対照群では、肝小葉中心の肥大が認められた。

電子顕微鏡による観察：検体投与群は、対照群と比べ所見に差はみられなかった。

陽性対照群では、小葉中心肝細胞における滑面小胞体の増加が顕著であった。

投与期間	検体、5000ppm				PB、0.05%
	7日	21日	63日	105日	21日
肝重量、絶対	↑108	—	↑109	—	↑↑↑140
相対	↑106	—	—	—	↑↑↑132
全肝細胞内の蛋白含量 (mg/g 肝)	—	—	—	—	—
同 DNA 含量 (mg/g 肝)	—	—	—	—	—
同 Pal Co-A 酸化酵素	—	—	—	—	↓↓↓70
ミクロソーム画分の蛋白含量	—	—	—	—	↑↑122
同 P450 量	ns) 120	—	—	—	↑↑↑166
同 5種の混合機能酸化酵素	—	—	—	—	
①EM メチル化酵素	—	—	—	—	↑↑↑300
②EC エチル化酵素	—	—	—	—	↑↑↑380
③ER エチル化酵素	—	—	—	—	↑↑160
④αカリオン-11-水酸化酵素	—	—	—	—	↑↑↑215
⑤αカリオン-12-水酸化酵素	—	—	—	—	↑↑↑155

Pal CoA-酸化酵素 : 青酸非感受性パルミトイル-CoA 酸化酵素
 [ペルオキシゾームに存在する酵素]

P450 : チトクローム P-450

EM 脱メチル化酵素 : エチルモルヒネ N-脱メチル化酵素

EC 脱エチル化酵素 : エトキシマリン O-脱エチル化酵素

ER 脱エチル化酵素 : エトキシレゾルフィン O-脱エチル化酵素

↑ : P<0.05 (t-検定) (ns) : P>0.05
 ↑↑ : P<0.01 (t-検定) — : 有意な変化なし
 ↑↑↑, ↓↓↓ : P<0.001 (t-検定)

以上の結果から、検体の 5000ppm を最長 105 日間、マウスに飼料混入投与した場合、検体は肝薬物代謝酵素の誘導作用を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(イ)ラットを用いた肝・複製 DNA 合成 (RDS) 試験

(資料 No. T-36)

試験機関:

報告書作成年: 1992 年

検体の純度:

試験動物: Fisher344系ラット、1群雄4匹 (群分け体重、211.8~239.5g)

方法: 検体をコーン油に懸濁し、2000ないし4000mg/kgの用量で、1回強制経口投与した。

オートラジオグラフを作製した。オートラジオグラフは更に、ヘマトキシリン液で肝細胞の核染色を着色した。

核染色標本を光学顕微鏡下で観察し、動物1個体当たり2000個の肝細胞を数え、RDS誘発細胞の出現頻度(%)を求めた(RDS誘発率)。

宇野らの判定基準に従い、肝RDS誘発率の平均値が2%以上を陽性、1%未満を陰性とした。1%以上、2%未満の場合は用量反応性観察を実施することとした。

陰性対照としてコーン油を用いた。

投与量設定根拠: ラットにおける急性経口LD₅₀値は、5000mg/kg以上であること(資料No. T-1。検体を0.5%CMCに懸濁し、25%W/Wとして、5000mg/18.6ml/kg投与)、又、RDS試験で通常用いられているコーン油を投与媒体とした場合の技術的投与限界が4000mg/10ml/kgであることを考慮し、最大耐量を4000mg/10ml/kgに設定した。

結 果：次頁の表に示した。

検体の 2000、4000mg/kg 投与群とも肝 RDS 誘発率は、いずれの投与後時間においても陰性判定基準の 1%未満であった。

陰性対照のコーン油投与群の肝 RDS 誘発率も 1%未満であった。

動物の一般症状に変化はなく、死亡例もなかった。

以上の結果により、検体は、ラットを用いた肝・複製 RNA 合成試験（RDS 試験）において陰性結果を示したので、肝発癌プロモーター活性を有しないものと考えられる。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

処理群	投与用量 (mg/kg)	肝細胞調製 時間(投与 後時間)	動物 個体 No.	個体別体重 (g)	カウント 細胞数	RDS 細胞数	RDS 誘発率 (%±SD)	生細胞率 (%)
陰性対照群 (無処理)	—	— (0)	1	239.5	2000	5	0.25	91.6
			2	225.6	2000	8	0.40	90.6
			3	234.4	2000	8	0.40	91.3
			4	226.7	2000	4	0.20	93.1
			平均	231.6±6.59			0.31±0.10	91.7±1.05
被験物質群 (1/2MTD)	2000	24	1	217.2	2000	9	0.45	93.0
			2	222.0	2000	12	0.60	90.6
			3	223.2	2000	0	0	85.7
			4	222.6	2000	1	0.05	88.1
			平均	221.3±2.74			0.28±0.30	89.4±3.15
		39	1	232.8	2000	5	0.25	87.8
			2	223.3	2000	4	0.20	87.2
			3	238.6	2000	1	0.05	85.9
			4	223.8	2000	10	0.50	84.6
		平均	229.6±7.41			0.25±0.19	86.4±1.42	
		48	1	226.8	2000	1	0.05	57.6
			2	211.8	2000	0	0	83.2
3	216.0		2000	2	0.10	79.2		
4	208.9		2000	1	0.05	87.2		
平均	215.9±7.84				0.05±0.04	76.8±13.21		
被験物質群 (MTD)	4000	24	1	216.5	2000	19	0.95	70.4
			2	216.0	2000	15	0.75	79.8
			3	224.4	2000	11	0.55	83.5
			4	229.3	2000	5	0.25	78.6
			平均	221.6±6.44			0.63±0.30	78.1±5.52
		39	1	212.1	2000	1	0.05	78.7
			2	226.1	2000	1	0.05	73.5
			3	227.6	2000	5	0.25	82.1
			4	224.3	2000	3	0.15	79.6
		平均	222.5±7.08			0.13±0.10	78.5±3.62	
		48	1	212.8	2000	2	0.10	86.0
			2	220.1	2000	0	0	80.3
3	226.1		2000	0	0	80.9		
4	233.2		2000	3	0.15	79.0		
平均	223.1±8.68				0.06±0.08	81.6±3.07		

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(ウ) マウスを用いた前腫瘍性および腫瘍性変化を指標する PCNA、BrdU 法の適用試験

(資料 No. T-37)

試験機関:

報告書作成年: 1993 年

検体の純度:

試験動物: B6C3F1 系マウス、1 群雌雄各 5 匹 試験開始時 5 週齢

試験期間: 4 週間 (1993 年 4 月 7 日 ~ 1993 年 5 月 5 日)

投与方法: リボンミキサーを用いて検体を 0、500 及び 50000ppm の濃度で基礎飼料に混入し、4 週間にわたって随時摂食させた。検体混入飼料は 2 週間に 1 回調製した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日 2 回観察した。

雌雄共、いずれの投与群にも異常行動は認められなかった。

死亡例はなかった。

体重変化: 投与開始から投与終了まで毎週 1 回全動物の体重を測定した。

雌雄共、いずれの投与群にも対照群と差のない増加を示した。

摂餌量: 毎週 1 回摂餌量を測定した。

500ppm 群雌雄で投与 2 ないし 3 週に対照群と比べ統計学的に有意な減少を示し、又、500ppm 群雌で 4 週間の総摂餌量も減少した。

これらの変化に用量相関性はなく、検体投与に起因するものとは考えられない。

検体摂取量: 摂餌量及び投与濃度から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量 (mg/kg/日) は、次表の通りである。

投与群 (ppm)	500	50,000
雄	102	11,118
雌	123	13,122

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

臓器重量；4週間の投与終了後、肝重量を測定し、臓器重量/体重比を計算した。

以下に結果を示す。

性別	雄		雌	
	500	50,000	500	50,000
投与群 (ppm)	500	50,000	500	50,000
肝 絶対重量	NS	NS	NS	NS
肝 相対重量	NS	↑	NS	NS

NS：統計学的有意差なし (P>0.05)

↑：P<0.05 (Dunnettの多重比較検定)

50,000ppm群雄の相対重量のみに、統計学的に有意な増加が認められた。

肉眼的病理検査；4週間の投与終了後に全生存動物を解剖し、検査した。

対照群を含めた雌雄各群の少数例に前胃の白色斑が認められたが、検体投与に起因すると思われる変化はなかった。

病理組織学的検査；4週間の投与終了後に全動物の肝病理標本を作成し、検鏡した。

以下に結果を示す。

性別	雄			雌		
	0	500	50,000	0	500	50,000
投与群 (ppm)	0	500	50,000	0	500	50,000
小肉芽巣	0	0	1	2	1	1
壊死	0	0	0	0	1	0
色素沈着	0	0	1	0	0	0

小肉芽巣が少数例に、壊死、色素沈着が単発性に発生したが、検体投与に起因すると思われる変化はなかった。

PCNA 及び BrdU 検査；

性別	雄			雌		
	0	500	50,000	0	500	50,000
投与群 (ppm)	0	500	50,000	0	500	50,000
PCNA 陽性細胞数	14	12	14	16	16	16
BrdU 陽性細胞数	6	5	5	7	5	9

雌雄共、いずれの投与群にも対照群と有意差はなかった。

以上の結果、本検体をマウスに50,000ppmの濃度で4週間投与しても肝細胞に細胞増殖活性を示唆する変化は誘起されないものと考えられる。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

2) 繁殖毒性に関する試験

フルフェノクスロンのラットにおける交差哺育試験

(資料 追 T-39)

試験実施機関 :

(GLP 対応)

報告書作成年 : 1996 年

試験の目的 : 先に実施したラット 2 世代繁殖毒性試験 (資料 T-22) において、710ppm より子動物の死亡の増加傾向がみられていることから、本試験では生存率の低下が出生後の哺育影響および新生児による混餌試料の摂取による影響か、または周産期 / 子宮内での影響によるものかを検討するため、母動物と児動物の組み合わせを変えて調べた。申請者注資料 T-22 において、児動物の体重の低下は 190ppm から有意な低下がみられ、生存率の有意な低下は 10000ppm 群にみられている。

検体の純度 :

供試験動物 : CrI:CD BR VAF/Plus 系ラット 1 群雄 25 匹、雌 50 匹

試験開始時 週齢 : 6 週齢

試験方法 : 交配前は雌雄とも 1 ケージ当り 5 匹で飼育した。検体は飼料中に混入して 20000ppm の濃度を動物に自由に摂取させた。調製飼料は検体を少量の基礎飼料に混和してプレミックスを調製し、さらに基礎飼料で希釈して目的の濃度を調製した。飼料は毎週調製した。対照動物には基礎飼料のみを摂取させた。

1) 交差飼育試験 :

表 1-1. 出生前

	用量 (ppm)	親動物 (F0 世代) (匹)	
		雄	雌
対照群	0	25	50
投与群	20000	25	50

表 1-2. 出生後交差飼育時

群	F0 母動物数

2) 乳汁・脂肪残留試験：

乳汁中および脂肪中の検体を HPLC で分析した。

試験の概要を表 2 にまとめ、妊娠、出産および哺育期間中の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{着床後損失} = \frac{(\text{着床数} - \text{総出生児数})}{\text{着床数}} \times 100$$

$$\text{児動物損失} = \frac{(\text{総出生児数} - \text{総生存児数})}{\text{総出生児数}} \times 100$$

調整・交差後

$$\text{蓄積児動物損失} = \frac{(\text{調整後の総児数} - \text{哺育X日における生存児数})}{\text{調整後の総児数}} \times 100$$

$$\text{性比； 出生時} = \frac{\text{総雄児数}}{\text{総出産児数}} \times 100$$

$$\text{性比； 調整後} = \frac{\text{調整後の雄児動物数}}{\text{調整後の総児動物数}} \times 100$$

$$\text{性比； 離乳時} = \frac{\text{離乳時の雄児動物数}}{\text{離乳時の総児動物数}} \times 100$$

表 2

世代	期間(週)	作業手順	試験項目
F0	生育 (10 週間)	雌は 10 週間投与。 雄は 10 週目から 1 週間投与。	体重、摂餌量を週 1 回測定。 飲水量を最初の 2 週間と最後の 2 週間に測定。 交配 7 日前から膣垢の採取（性周期の確認）。
	交配 (2 週間)	同群の雄 1:雌 2 で交配。 膣垢中の精子または膣栓で交尾を確認(妊娠 0 日)	交配状況の観察 膣垢の採取（妊娠成立の確認：膣垢中の膣栓または精子を確認した日を妊娠 0 日とする。）
	妊娠 (3 週間)	交配期間終了後、投与群雌に基礎飼料を与える。	雌動物の体重を毎日測定。
	出産	出産後、投与群雌に基礎飼料を与える。 出産直後、腹あたり 8 匹(雌雄各 4 匹)に調整し、投与母動物と対照母動物の児を入れ替える。	出産状況の観察。 出産児数、死産児数、外表異常、性別、生存児体重測定。
	哺育 (3 週間)	出産 1、7、14、21 日に TD/TP 群および CD/CP 群より選抜した母動物にオキシトシンを静注し、30 分後に乳汁を採取 (0.5mL)。その後 F0 母動物を屠殺し、腹部脂肪を採取。	母動物： 哺育 0、7、14、21 日に体重測定。 出産 0-6、7-13 および 14-21 日の摂餌量の測定。 乳汁および脂肪中の検体濃度の分析。 児動物： 生死、発育状態を毎日観察。 哺育 2、4、8、12、16、21 日に体重測定。 途中死亡動物の肉眼的病理検査。
	離乳 (試験終了)		母動物： 肉眼的病理検査。 児動物： 屠殺後外表、内臓検査。

結 果：

- 1) 結果を表 3-1 および 3-2 に示す。

親動物： 投与群及び対照群の一般状態の変化はなかったが、生育期間中の投与群での体重および体重増加量の有意な抑制が認められた。^{申請者注}妊娠期間中の投与群の体重増加量の有意な増加は、報告書に記載はないが、増加傾向は一般に毒性所見ではなく、妊娠期間中の生理的要求が増大することから毒性学的な意味はないと考えられた。

表 3. 出産時腹当りデータ (群平均; 調整前/交差哺育前)

群			対照群	投与群	
投与量 (ppm)			0	20000	
供試験動物数			50	50	
平均検体摂取量 (mg/kg)			0	1633	
死亡数			0	0	
一般状態			異常なし	異常なし	
体重* (g)	生育期間 (10週)	3日	239	231 ↓	
		6日	288	280 ↓	
		7日	301	290 ↓	
		8日	310	298 ↓	
		9日	319	308 ↓	
		10日	322	310 ↓	
妊娠期間			有意差なし		
哺育期間			有意差なし		
体重増加量* (g)	生育期間		167	154 ↓	
		妊娠期間	7日	29.3	33.9 ↑
			14日	63.8	69.3 ↑
			17日	94.9	104.1 ↑
			20日	有意差なし	
哺育期間			有意差なし		
摂餌量* (g/匹)	生育期間		1408	1420 有意差なし	
	哺育期間		1256	1286 有意差なし	
摂餌効率	生育期間		8.4	9.2	
飲水量* (g/ラット)	生育期間	1-2w	390	397 有意差なし	
		9-10w	463	454 有意差なし	
交尾数			50	50	
妊娠母動物数 ^a			46 (42)	43 (39)	
妊娠期間(日) ^b			22.0	21.9	
着床数(腹当り)			15.0	14.6	
着床後損失母動物	1以下		24	21	
	2以上		13	8	
産児数(腹当り)			14.3	14.8	
生存児数(腹当り)			14.2	14.7	
産児損失母動物	1以下		45	43	
	2以上		1	0	
同腹児体重** (g)			88.2	92.3	
児平均体重 (g)			6.1	6.2	
児の雄の比率(%)			49.1	49.9	
親動物の肉眼的病理検査			雄	異常なし	
			雌	異常なし	

a: () 内の数値は交差哺育に用いた初回交配で妊娠成立した母動物数。

b: 交差哺育に用いた初回交配で妊娠成立した母動物の妊娠日数。

統計検定: * および **について実施した。

Student-T 検定 (* parametric / ** non-parametric) (↓↑: $p \leq 0.05$, ↓↓↑: $p \leq 0.01$)

矢印のないものは有意差なし。

表 3. 出産時腹当りデータ (群平均; 調整前/交差哺育前) つづき

群	対照群	投与群
投与量 (ppm)	0	20000
供試験動物数	50	50
	交 差 群	
出産児をもつ母動物数		
出産児数		
生存出産児数		
産児損失動物数	1 以下	
	2 以上	
腹当り重量 (g)**		
平均児重量 (g)		
雄の割合		

統計検定: * および **について実施した。

Student-T 検定 (* parametric / ** non-parametric) (↓↑; p≤0.05, ↓↑; p≤0.01)

矢印のないものは有意差なし。

表 4. 出産～離乳までの腹当りデータ (群平均; 調整後/交差哺育時)

	交 差 群	
母動物数		
調整後児数		
生存児数	0 日	
	21 日	
腹当り体重 (g)**	0 日	
	21 日	
生存児体重 (g)*	0 日	
	2 日	
	4 日	
	8 日	
	12 日	
	16 日	
	21 日	
児損失数 (生後 21 日)	1 以下	
	2 以上	
雄の割合	0 日	
	21 日	

a: 出産 9 日目に腹部腫脹の 1 例を切迫屠殺した。子宮内に死亡胎児が 3 匹あり、この母動物およびその出産児は試験系から除いた。全児が死亡した母動物 1 例も試験系から除いた。

統計検定: * および **について実施した。

Student-T 検定 (* parametric / ** non-parametric) (↓↑; p≤0.05, ↓↑; p≤0.01)

矢印のないものは有意差なし。

児動物: 投与群と対照群の児動物を交換して哺育させたところ、児動物の体重に有意な変化はみられなかった。また、児動物の生存にも影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

申請者注) 表 4 の交差哺育 0 日の CD/TP 群児動物の平均体重の有意な低下は、出産時の対照群と投与群の児動物の体重に差はなく、交差後哺育前であることから交差による児動物のアロケーション変更の人為操作による結果で検体に関連しない。

2) 脂肪および乳汁中の検体濃度の結果を表 5 に示す。

検体投与群において、乳汁中および脂肪中ともに哺育開始時が最もフルフェノクスロンの濃度が高く、経時的に減少した。対照群では哺育 7 日目を除き検出されなかった。

申請者注) 哺育 7 日後の対照母動物の乳汁中にフルフェノクスロンがわずかに検出されたが、脂肪には検出されていないことからコンタミネーションによるものと思われる。

表 5

群	動物数	採取日	脂肪中の検体濃度 (ppm)	乳汁中の検体濃度 (ppm)
CD/CP	2	哺育 1 日		
	1	哺育 7 日		
	1	哺育 14 日		
	1	哺育 21 日		
TD/TP	3	哺育 1 日		
	3	哺育 7 日		
	3	哺育 14 日		
	3	哺育 21 日		

- : サンプルなし, ND : 不検出

1) : サンプル紛失

2) : 2 サンプル紛失による 1 サンプルの結果

本試験において非交差哺育の投与群 を含め(表 6-1 および 6-2 参照)、
児動物の死亡は少なく、体重にも差がみられなかった。このことは 2 世代繁殖毒性試験 (資料 T-22) でみられたような死亡率の増加および体重低下には、出生前の暴露だけでは不十分である可能性を示唆している。本試験において出産後休薬した母動物の乳汁中の検体濃度が速やかに減少したことから、生後の児動物の発育および生存にこれは重要な要因であるかもしれない。児動物の死亡率の増加を再現するには、体内および乳汁中に検体を高濃度に維持するための母動物の検体への継続暴露 (生育、妊娠および哺育期間) および胎児の試験飼料への暴露を含めた複合的な要素があると思われる。また、本試験において交差哺育した児動物間に差がみられていないことより、交差哺育法そのものには児動物への生育への影響はないものと思われた。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

以上、2世代繁殖毒性試験（資料 T-22）でみられた児動物の死亡率増加は被験物質への慢性暴露の結果であり、急性の影響ではないと考えられ、本試験において毒性発現に影響する暴露期間の特定はできなかった。

参考として、投与群の非交差哺育の結果を含めた表を次ページに示す。[出典：Draft Assessment Report (2006)]

表 6-1. 交差前パラメーター						
群		対照	投与群 (20000ppm)			
出産母動物数		46	43			
着床数 (腹当り)		15.0	14.6			
出生前胎児死亡 ¹ 母動物数	1 児以下	24	21			
	2 児以上	13	8			
出産児数 (腹当り)		14.3	14.8			
生存児数 (腹当り)		14.2	14.7			
死亡児をもつ母動物数	1 ≥	45	43			
	2 ≤	1	0			
出産生存児指数 (%) ²		99.2	99.4			
腹当り重量 (g)		88.2	92.3			
児平均重量 (g)		6.1	6.2			
児の雄の割合 (%)		49.1	49.9			
群						
出産母動物数						
交 差 哺 育 前	腹当りの出産児数					
	腹当りの生存児数					
	児の損失 (0/1 日)					
	1 匹以下の母動物					
	2 匹以上の母動物					
	生存出産指数 ² (腹当り)					
	同腹児体重 (g)					
	児平均体重 (g)					
雄の比率 (%)						
表 6-2. 胎児体重データ						
群						
交 差 哺 育 後	生存指数 ⁴ (腹当り)					
	授乳指数 ⁵ (腹当り)					
	生存児平均体重 (g)					
	0 日					
	2 日					
	4 日					
	8 日					
	12 日					
	16 日					
	21 日					

¹ : 乳汁/脂肪試験に供した母動物を除いた。

² : (生存出産児数) / (出産総児数) x 100 [交差哺育前]

³ : 乳汁/脂肪試験に供した母動物を含む。

⁴ : (哺育 4 日目の生存児数) / (哺育 0 日目の生存児数 ; 調整、交差後) x 100

⁵ : (哺育 21 日目の生存児数) / (哺育 4 日目の生存児数) x 100

NA: 該当なし

2. 原体混在物及び代謝物

(1) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. I-1, 2, 3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

代謝物〔尿素体〕

代謝物〔アニリン体〕

原体混在物〔ビス体〕

試験動物：CrI：CD-1(ICR)BR マウス、1群雌雄各5匹

資料 No. I-1；本試験開始時 6~8 週齢、体重 雄：25~31g、雌：19~25g

資料 No. I-2；本試験開始時 6~8 週齢、体重 雄：22~30g、雌：18~25g

資料 No. I-3；本試験開始時 6~8 週齢、体重 雄：23~26g、雌：19~23g

試験期間：14 日間観察

方法：検体を DMSO を用いて 5~500mg/ml 溶液として投与した。

投与前一夜は絶食した。

観察項目：一般状態及び死亡状況を、14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の生存動物について、臓器の肉眼的病理学検査を行った。

結果：

検体	〔尿素体〕	〔アニリン体〕	〔ビス体〕
投与量 (mg/kg)	0, 111, 200, 360, 648	0, 625, 1000, 1600, 2560, 4096	0, 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：433(304~709) 雌：302(212~436)	雄：1937(955~7846) 雌：2898(1628~>8000)	雄：>5000 雌：>5000
死亡開始時間 及び終了時間	2 日目 8 日目	2 日目 4 日目	5 日目 5 日目
症状発現時期 及び消失時期	30 分 11 日目	30 分 8 日目	雌雄ともに症状なし
最大無作用量 (mg/kg)	雄：— 雌：—	雄：— 雌：—	雄：— 雌：5000
死亡例の認め られなかった最高 投与量(mg/kg)	雄：200 雌：111	雄：625mg/kg でも 1 匹死亡 雌：625	雄：1 例が 4 日目に死亡 雌：死亡例なし

(1) [尿素体]

中毒症状としては、嗜眠、立毛、腹臥位及び眼の蒼白が各投与群に共通して認められた。生存動物では4~11日後に回復した。

死亡例の剖検では、肝及び腎の蒼白又は暗色化、胃腸管の拡張、ガス状の内容物などが認められた。

(2) [アリン体]

中毒症状としては、嗜眠、腹臥位等が各投与群にみられた。生存動物では2~8日後に回復した。

死亡例の剖検では、肺、肝、脾又は腎の暗色化又は瘻血、肝小葉のきわだったパターンなどが認められた。

(3) [ビス体]

中毒症状は認められなかった。

死亡例の剖検では、胃内に検体と思われる白色の塊と小腸及び大腸にガス状の内容物が認められた。

尚、各試験で共通して実施された溶媒 (DMSO) 対照では、全身症状はみられなかった。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(2) 細菌を用いた復帰変異誘発性試験

(資料 No. I-4, 5, 6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

代謝物〔尿素体〕

代謝物〔アニリン体〕

原体混在物〔ビス体〕

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*, TA100, TA98, TA1535, TA1537, T1538) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*, WP2 *uvrA* pKM101) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、WL129183 と WL131767 では DMSO を、WL115096 ではメタノールを用いた。用量は、細胞毒性和検体の溶解性をもとに決定した。

陽性対照としては、ベンゾ[a]ピレン (BP)、重クロム酸カリウム (PD)、ニュートラルヘッド (NR)、アジ化ナトリウム (NaN_3)、2-ニトロフルオレン (NF)、2-アミノアントラセン (ANN) 及び 9-アミノアクリジン (AAC) を用いた。

試験は 2 回行った。

結果：別表に示した。

(1) 〔尿素体〕

S9 mix の有無に関わらず、最高 5000 μg /プレートまでの処理濃度において、全ての供試菌株に対し、復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。

又、S9 mix 非存在下では 2000 μg /プレート以上の濃度で TA1535 及び TA1537 に対してのみ、細胞毒性を示した。

(2) 〔アニリン体〕

S9 mix の存在下で、TA98、TA100 及び WP2 *uvrA* に対し、弱い用量相関性のある復帰変異誘発性を示した。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

S9 mixの非存在下では、これらの菌株に対し、復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。他の菌株には、S9 mixの有無に関わらず、復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。又、TA1537、TA1538、TA98 及び WP2 uvrA に対して、62.5~500 μg /プレート以上の濃度で細胞毒性を示した。

S9 mixの非存在下で特に強かった。

(3) [ビス体]

S9 mixの有無に関わらず、最高 5000 μg /プレートまでの処理濃度において、全ての供試菌株に対し、復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。又、S9 mix 非存在下では 2000 μg /プレート以上の濃度で WP2 uvrA に対してのみ、細胞毒性を示した。

- (4) 一方、いずれの試験においても、陽性対照として用いた BP、ANA 及び NR は S9 mix 存在下で、 NaN_3 、AAC、PD 及び NF は S9 mix 非存在下で、明らかな復帰変異コロニー数の増加を誘発した。

以上の結果より、[代謝物、尿素体] 及び [原体混在物、ビス体] は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

[代謝物、アニリン体] は、復帰変異コロニー数の増加は最大で、溶媒対照の 2.3 倍であったが、用量相関性/再現性がみられたので、S9 mix 存在下で弱い復帰変異誘発性を有するものと判断される。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

[尿素体]

S9 mix	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート(☆)					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	TA1538
-	対照 (DMSO)	-	140.7	19.0	103.7	30.3	12.7	17.7
			131.7	16.5	108.7	26.0	14.4	17.4
	WL129183	31.25	122.7	14.0	113.7	21.7	16.0	17.0
			152.7	13.3	117.7	33.0	9.0	16.0
		62.5	125.3	16.3	96.3	19.7	13.0	15.0
			154.3	18.0	111.7	30.3	3.0	19.3
		125	131.3	19.3	77.3	19.7	11.3	19.7
			152.0	18.0	76.3	23.3	2.0	18.0
		250	119.7	16.3	38.0	16.7	4.7	18.7
			173.3	15.3	58.0	23.0	7.7	13.0
		500	111.0	12.3	39.7	18.0	3.0	13.3
			124.0	15.0	40.7	18.0	3.7	13.7
		1000	111.7	14.3	22.3	12.0	1.7	9.7
			126.7	13.0	48.3	13.7	4.3	11.7
2000	128.0	12.3	25.7	18.7	2.0	15.7		
	138.3	8.7	27.3	15.3	2.3	9.7		
5000	128.3	13.7	10.7	13.3	1.7	16.7		
	135.3	8.0	39.7	20.3	2.3	14.3		
陽性 対照	名称		NaN ₃	NaN ₃	PD	NF	AAC	NF
	($\mu\text{g}/\text{プレート}$)		5	2	20	5	25	5
	コロニー数/プレート		761.7*	604.3*	359.0*	745.0*	89.7*	682.3*
+	対照 (DMSO)	-	137.7	14.0	113.7	34.3	12.7	27.0
			139.8	13.6	113.4	32.5	17.0	24.2
	WL129183	31.25	142.0	13.3	109.0	30.7	21.3	21.3
			152.3	9.7	123.3	32.7	17.3	27.0
		62.5	126.7	16.3	113.3	31.3	20.3	24.7
			153.0	8.3	114.3	34.0	15.0	24.7
		125	137.7	12.7	122.7	26.0	24.0	22.7
			143.0	12.3	118.3	28.0	13.7	27.0
		250	134.7	13.3	95.7	32.3	19.0	23.7
			126.3	12.7	107.7	28.3	10.7	23.3
		500	126.3	14.7	51.0	29.3	16.3	24.0
			131.7	15.0	102.3	28.0	10.0	23.7
		1000	128.7	11.0	58.0	27.7	15.0	22.3
			144.7	14.3	85.7	34.0	10.7	19.3
2000	136.0	13.7	41.3	29.0	17.3	21.7		
	136.3	9.3	96.0	30.0	9.0	19.0		
5000	125.3	9.7	28.0	25.5	11.4	20.8		
	150.3	10.7	62.7	33.7	10.7	23.0		
陽性 対照	名称		BP	AAN	BP	BP	NR	BP
	($\mu\text{g}/\text{プレート}$)		10	5	10	10	20	10
	コロニー数/プレート		776.3*	204.0*	531.7*	305.0*	238.3*	184.3*
		591.7*	304.3*	496.0*	238.7*	278.3*	183.0*	

(☆) : プレート3枚の計測の平均値

(*) : 陽性 (対照と比べて2.5倍以上の場合陽性と判定した)

上段 : 1回目の試験の結果

下段 : 2回目の試験の結果

中段 (右) : 平均値

〔アニリン体〕

S9 mix	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート(☆)								
			塩基置換型				フレームシフト型				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	TA1538			
-	対照 (DMSO)	-	139.3 124.3 109.3	19.3 18.0 16.7	103.3 100.2 97.0	21.0 28.2 35.3	19.0 16.6 14.3	30.3 29.3 28.3			
	WL115096	31.25	128.0 125.6 123.3	18.7 19.8 21.0	111.3 105.5 99.7	18.7 27.2 35.7	9.7 11.7 13.7	20.7 25.0 29.3			
		62.5	141.3 129.8 118.3	14.3 18.0 21.7	69.7 85.4 101.0	16.7 21.7 26.7	4.7 10.4 16.0	12.3 17.8 23.3			
		125	155.0 129.0 103.0	17.0 19.5 22.0	17.3 43.2 69.0	16.3 16.8 17.3	2.0 4.6 7.3	4.0 8.2 12.3			
		250	122.0 124.0 126.0	19.0 19.4 19.7	13.0 30.0 47.0	15.7 14.7 13.7	0.0 4.4 8.7	1.3 5.0 8.7			
		500	119.7 116.0 112.3	15.3 16.0 16.7	0.7 12.7 24.7	8.3 9.6 11.0	0.0 1.4 2.7	1.7 3.7 5.7			
		1000	101.3 101.3 101.3	16.0 17.0 18.0	0.0 4.0 8.0	9.0 10.5 12.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.4 0.7			
		2000	131.7 114.2 96.7	14.7 17.4 20.0	0.0 0.0 0.0	11.7 10.2 8.7	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0			
		5000	119.7 112.7 105.7	15.0 16.4 17.7	0.0 0.0 0.0	3.7 4.0 4.3	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0			
		陽性 対照	名称 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	Na ₂ S ₂ O ₃ 5	Na ₂ S ₂ O ₄ 2	PD 20	NF 5	AAC 25	NF 5		
	コロニー数/プレート	847.0* 809.6 772.3*	623.0* 581.0 539.0*	559.7* 542.7 525.7*	920.7* 871.0 821.3*	88.7* 114.2 139.7*	611.0* 601.5 592.0*				
	+	対照 (DMSO)	-	132.0 130.0 128.0	23.3 23.2 23.0	111.0 101.2 91.3	29.3 31.8 34.3	20.0 17.8 15.7	29.7 29.5 29.3		
		WL115096	31.25	175.7 164.5 153.3	21.7 24.7 27.7	143.0 133.5 124.0	38.0 43.0 48.0	19.0 16.6 14.3	33.7 28.4 23.0		
			62.5	240.0 205.5 171.0	22.0 22.4 22.7	128.7 143.2 157.7	48.3 46.0 43.7	24.7 19.8 15.0	37.3 32.5 27.7		
125			263.0 235.0 207.0	17.7 18.7 19.7	148.3 153.2 158.0	64.7 56.8 49.0	23.0 19.6 16.3	27.7 24.5 21.3			
250			300.3 265.6 231.0	23.0 25.6 28.3	120.0 134.2 148.3	67.0 58.8 50.7	12.7 13.8 15.0	18.3 19.3 20.3			
500			218.0 244.4 270.7	17.3 20.2 23.0	44.0 91.5 139.0	48.0 53.4 58.7	4.3 12.5 20.7	15.3 16.2 17.0			
1000			217.3 235.0 252.7	15.7 19.7 23.7	0.0 65.2 130.3	39.3 30.5 21.7	4.0 9.4 14.7	9.3 12.8 16.3			
2000			205.7 196.8 188.0	18.0 19.4 20.7	0.0 6.8 13.7	29.7 17.2 4.7	0.0 2.6 5.3	6.3 8.5 10.7			
5000			209.3 192.3 175.3	16.7 19.7 22.7	0.0 0.4 0.7	19.3 11.3 3.3	0.0 1.4 2.7	7.0 5.4 3.7			
陽性 対照			名称 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	BP 10	AAN 5	BP 10	BP 10	NR 20	BP 10		
コロニー数/プレート		478.3* 527.8 577.3*	192.0* 220.5 249.0*	564.3* 572.6 581.0*	317.3* 369.6 422.0*	453.0* 390.0 327.0*	176.0* 178.5 181.0*				

(☆) : プレート3枚の計測の平均値

(*): 陽性(対照と比べて2.5倍以上の場合陽性と判定した)

上段: 1回目の試験の結果

下段: 2回目の試験の結果

中段(右): 平均値

[ビス体]

S9 mix	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート(☆)						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	TA1538	
-	対照 (DMSO)	—	103.7 108.4 113.0	17.3 22.0 26.7	109.7 92.0 74.3	33.3 34.8 36.3	13.3 15.6 18.0	24.7 21.5 18.3	
	WL131767	31.25	93.7 121.4 149.0	16.3 21.8 27.3	121.3 105.2 89.0	33.3 34.5 35.7	14.7 13.8 13.0	21.0 21.5 22.0	
		62.5	90.3 118.3 146.3	18.3 22.2 26.0	107.0 97.2 87.3	39.0 40.5 42.0	13.3 13.8 14.3	25.0 25.4 25.7	
		125	94.7 113.0 131.3	17.3 20.2 23.0	100.7 98.0 95.3	35.7 35.4 35.0	14.0 14.2 14.3	26.0 24.8 23.7	
		250	101.0 123.4 145.7	19.0 19.2 19.3	106.0 97.4 88.7	41.3 33.8 26.3	13.0 13.8 14.7	27.0 26.4 25.7	
		500	96.0 116.8 137.7	20.7 21.2 21.7	88.0 85.6 83.3	36.7 31.8 27.0	11.3 11.6 12.0	22.7 21.0 19.3	
		1000	90.3 108.5 127.0	18.3 23.2 28.0	75.3 82.8 90.3	28.0 24.6 21.3	9.7 13.2 16.7	24.7 21.8 19.0	
		2000	83.3 105.2 127.0	16.0 19.2 22.3	52.0 72.4 92.7	33.0 27.0 21.0	10.3 13.0 15.7	25.0 22.2 19.3	
		5000	79.0 102.2 125.3	16.3 20.3 24.3	30.7 61.2 91.7	26.3 24.6 23.0	12.7 13.8 15.0	28.3 23.2 18.0	
		陽性対照	名称	NaN ₃	NaN ₃	PD	NF	AAC	NF
	($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5	2	20	5	25	5		
	コロニー数/プレート	594.0* 770.5 947.0*	624.7* 611.5 598.3*	543.0* 538.5 534.0*	370.0* 435.2 500.3*	113.7* 143.5 173.3*	508.0* 491.4 474.7*		
	+	対照 (DMSO)	—	101.0 122.8 144.7	13.7 15.4 17.0	103.7 89.7 75.7	33.3 33.3 33.3	16.3 19.3 22.3	29.0 27.0 25.0
		WL131767	31.25	101.3 118.0 134.7	12.7 14.7 16.7	135.7 112.5 89.3	33.0 37.6 42.3	17.3 19.5 21.7	29.0 25.6 22.3
62.5			100.3 114.8 129.3	15.3 15.0 14.7	125.7 102.8 80.0	33.3 37.0 40.7	17.0 19.4 21.7	28.3 29.6 31.0	
125			115.3 130.5 145.7	15.3 17.2 19.0	138.0 113.0 88.0	36.3 35.8 35.3	15.7 20.4 25.0	31.0 27.8 24.7	
250			105.3 114.3 123.3	14.0 15.6 17.3	114.7 101.7 88.7	32.7 30.7 28.7	16.7 18.7 20.7	31.0 29.6 28.3	
500			94.3 113.8 133.3	14.7 14.5 14.3	67.3 83.5 99.7	30.0 28.4 26.7	15.7 17.4 19.0	26.3 28.3 30.3	
1000			93.0 114.8 136.7	16.0 15.0 14.0	61.3 75.6 90.0	27.3 27.3 27.3	14.7 17.0 19.3	27.7 27.7 27.7	
2000			71.7 114.2 156.7	15.3 16.3 17.3	38.7 63.5 88.3	27.0 29.4 31.7	22.7 19.8 17.0	22.3 24.0 25.7	
5000			81.7 108.5 135.3	14.7 16.5 18.3	50.7 69.2 87.7	29.7 27.8 26.0	17.7 19.0 20.3	24.3 25.6 27.0	
陽性対照			名称	BP	AAN	BP	BP	NR	BP
($\mu\text{g}/\text{プレート}$)		10	5	10	10	20	10		
コロニー数/プレート		416.0* 430.8 445.7*	145.0* 153.6 162.3*	441.7* 484.2 526.7*	274.7* 307.7 340.7*	191.0* 217.2 243.3*	154.7* 157.5 160.3*		

(☆) : プレート3枚の計測の平均値

(*) : 陽性 (対照と比べて2.5倍以上の場合陽性と判定した)

上段 : 1回目の試験の結果

下段 : 2回目の試験の結果

中段 (右) : 平均値

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

(3) 染色体異常誘発性

(ア) アニリン体 のチャイニーズ・ハムスターの卵巢培養細胞 (CHO-K1) を用いた in vitro 染色体異常誘発性試験

(資料 No. I-7)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検体の純度:

方法: 継代培養したチャイニーズ・ハムスター由来の卵巢細胞 (CHO-K1) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体処理時間は -S9 mix では 3、24 又は 48 時間、+S9 mix では 3 時間とし、処理開始の 24 ないし 48 時間後に分裂中期細胞を採取した。各採取時の 2 時間前にコルセミドを添加した。

各濃度につき 2 枚のシャーレを用い、各シャーレあたり 100 個の分裂中期細胞を観察した。数的異常については倍数性細胞と核内倍加細胞を数えた。構造異常については染色分体ギャップ、染色体ギャップ、染色分体切断、染色体/染色分体断片、無動原体断片、染色体交換、二動原体、転座、環状染色体、強度損傷に分類し、計測した。

データはギャップを除いた場合、含む場合に分けて集計した。

試験前に濃度設定のために、細胞毒性試験を行った。

-S9 mix

3 時間処理では、まず 4.9~5000 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で試験した。78.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上で全細胞が死滅したので、1.56~100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で、第 2 回試験を行った。50 $\mu\text{g/ml}$ で 76% の体細胞分裂阻害が認められたので、本試験の濃度は、6.25、12.5、25 及び 50 $\mu\text{g/ml}$ とした。

24 時間処理では、4.69~100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で試験した。50 $\mu\text{g/ml}$ 以上で分裂中期細胞が観察されなかった。この試験では陽性対照、MMS 処理群の結果が許容範囲内だったので、4.69~37.5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で第 2 回試験を行った。37.5 $\mu\text{g/ml}$ ではやはり分裂中期細胞が観察されなかったので、本試験の濃度は、6.25、12.5、及び 25 $\mu\text{g/ml}$ とした。

本資料に記載された情報に関わる権利および内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Flufenoxuron

48時間処理では、0.78~50 μ g/mlの濃度範囲で試験した。37.5 μ g/ml以上で全細胞が死滅した。この試験では分裂中期細胞像が明瞭でなかったので、同じ濃度範囲で第2回試験を行った。やはり、37.5 μ g/ml以上で細胞毒性が認められたので、本試験の濃度は、6.25、12.5及び25 μ g/mlとした。

+S9 mix/3時間処理

まず、4.88~5000 μ g/mlの濃度範囲で試験した。39.1 μ g/ml以上で全細胞が死滅したので、1~40 μ g/mlの濃度範囲で第2回試験を行った。40 μ g/mlで細胞毒性が認められたので、本試験の濃度は、5、15、20及び30 μ g/mlとした。

検体を溶解させるためにDMSOを用いた。

陽性対照としては、-S9 mixではメタンスルホン酸メチル(MMS)を、+S9 mixでは、ペンゾ(a)ピレン(BP)を用いた。

結 果 : 次頁以下の表に示した。

S9 mixの有無に関わらず、又、試料採取時間に関わらず、検体はいずれの濃度においても染色体異常を有意に増加させなかった。

一方、陽性対照のMMS(-S9 mix)およびCP(+S9 mix)は、染色体異常を顕著に増加させた。

以上の結果より、アニリン体 は代謝活性化を含む本試験条件下でCHO-1培養細胞の染色体異常を誘発しないものと判断される。

-S9 mixの結果(3時間処理、処理開始24時間後に細胞を採取)

(I-7 : /CHO)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(*)	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数的異常		構 造 異 常								ギャップ 細胞数
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む				
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	
無処理対照	0	1.06	200	200	0	0	0	0	0	0	1	0.005	1	0.50	1
溶媒対照	0	1.43	200	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
検体	6.25	0.38	200	198	2	0	0	0	0	0	1	0.005	1	0.51	1
検体	12.5	1.01	200	200	0	0	1	0.005	1	0.50	2	0.010	2	1.00	1
検体	25	0.45	200	199	0	0	0	0	0	0	1	0.005	1	0.50	1
検体	50	0.34	200	198	2	0	0	0	0	0	2	0.010	2	1.01	2
M M S	50	ND	200	200	0	0	72	0.360	56**	28.0	80	0.400	62**	31.00	8**

(*) シャーレ2枚の平均値

** : $P < 0.01$ (Fisherの直接確率法)

ND : 観察せず

-S9 mix の結果 (24 時間処理、処理開始 24 時間後に細胞を採取)

(1-7 : /CHO)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(*)	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数 的 異 常		構 造 異 常								ギャップ 細胞数
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む				
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	
無処理対照	0	0.90	200	199	1	0.50	0	0	0	0	1	0.005	1	0.50	1
溶媒対照	0	0.95	200	200	0	0	0	0	0	0	1	0.005	1	0.50	1
検体	6.25	1.35	200	200	0	0	0	0	0	0	2	0.010	2	1.00	2
検体	12.5	1.16	200	200	0	0	0	0	0	0	1	0.005	1	0.50	1
検体	25	0.73	200	199	1	0.50	0	0	0	0	1	0.005	1	0.50	1
M M S	20	ND	200	200	0	0	45	0.225	40**	20.0	52	0.260	46**	23.0	7**

(*) シャーレ 2 枚の平均値

ND : 観察せず

* : $P < 0.05$ (Fisher の直接確率法)

** : $P < 0.01$ (Fisher の直接確率法)

—S9 mix の結果(48 時間処理、処理開始 48 時間後に細胞を採取)

(1-7: /CHO)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数(*)	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数的異常		構 造 異 常								ギャップ 細胞数
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む				
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率(%)	
無処理対照	0	0.52	200	199	1	0.5	1	0.005	1	0.50	3	0.015	3	1.51	2
溶媒対照	0	0.53	200	198	2	1.0	1	0.005	1	0.51	3	0.015	2	1.01	2
検体	6.25	0.80	200	199	1	0.5	1	0.005	1	0.50	6	0.030	5	2.51	5
検体	12.5	1.15	200	199	1	0.5	1	0.005	1	0.50	5	0.025	5	2.51	4
検体	25	0.54	200	199	1	0.5	1	0	0	0	7	0.035	5	2.51	5
M M S	20	ND	70	70	0	0	34	0.486	23**	32.86	43	0.614	28**	40.00	8**

(*) シャーレ 2 枚の平均値

** : $P < 0.01$ (Fisher の直接確率法)

ND : 観察せず

+9 mix の結果 (3 時間処理、処理開始 24 時間後に細胞を採取)

(I-7 : /CHO)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	有糸分裂 指数 (*)	観 察 細胞数	構造異常 観 察 細胞数	数的異常		構 造 異 常								ギャップ 細胞数	
					細胞 数	%	ギャップを除く				ギャップを含む					
							異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率 (%)	異常 総数	細胞1個当 りの異常数	異 常 細胞数	異常細胞 比率 (%)		
無処理対照	0	1.22	200	199	1	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒対照	0	0.83	200	199	1	0.50	1	0.005	1	0.50	3	0.015	3	1.51	2	
検体	5	0.98	200	200	0	0	1	0.005	1	0.50	1	0.005	1	0.50	0	
検体	15	1.15	200	198	2	1.00	1	0.005	1	0.51	1	0.005	1	0.51	0	
検体	20	0.72	200	199	1	0.50	2	0.010	2	1.01	3	0.015	3	1.51	1	
検体	30	0.68	200	199	1	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
B P	25	ND	200	197	3	1.50	38	0.193	28**	14.21	47	0.239	34**	17.26	9**	

(*) シャーレ 2 枚の平均値

* : $P < 0.05$ (Fisher の直接確率法)

ND : 観察せず

** : $P < 0.01$ (Fisher の直接確率法)