

8.6 慢性毒性及び発がん性

8.6.1 イヌにおける慢性毒性試験 (資料 No. T-3.1)

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

供試動物： ビーグル種イヌ、投与開始時7ヶ月齢、1群雌雄各5匹

投与期間： 12ヶ月間 (雄: 1989年3月28日~1990年3月29日)
(雌: 1989年4月4日~1990年4月5日)

投与方法： 検体をコーン油に溶解して、0、0.05、0.1、0.5及び5.0 mg/kg/dayとなる様にゼラチンカプセル内に封入し、1日1回経口投与した。毎日の投与量は個体ごとに最新の体重を基に決定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に起因すると考えられる徴候はなく、死亡例もなかった。

体重変化；投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回、すべての動物の体重を測定した。体重増加量に関して投与に伴う変化はなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を体重測定週に測定した。投与に起因した変動なし。

血液学的検査；投与開始前、投与3、6、9及び12ヶ月時に、全動物について橈側皮静脈から採血し、以下の項目の測定を行なった。

赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、ヘマトクリット値(Ht)、ヘモグロビン量(Hb)、血小板数(Plat)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、網状赤血球数(Reti)、白血球ディファレンシャルカウント及びプロトロンビン時間(PT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

5.0 mg/kg/day 投与群の雄において、RBC、Hb 及び Ht の有意な低下あるいは低下傾向が試験期間を通じて認められた。同群の雌においては、試験期間を通じて Reti の有意な増加あるいは増加傾向が認められ、3ヶ月後のみに Ht の有意な低下と MCH の有意な増加が認められ、検体投与の影響と考えられた。

その他の有意な変動はいずれも投与量との関連性はなく、偶発性のものと判断した。

生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、アルカリホスファターゼ(ALP)、血糖、総タンパク、アルブミン A/G 比、BUN、クレアチニン、総コレステロール、総ビリルビン、Ca、P、Na、K、Cl、重炭酸、アセチルコリンエステラーゼ(AChE)及びブチリルコリンエステラーゼ(BChE)

さらに、各検査時期に赤血球画分の AChE を、また剖検時に採取した大脳の一部を用いて脳 AChE を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

5.0 及び 0.5 mg/kg/day 投与群の雄において、投与 12 ヶ月後に GPT が高値を示したが、投与期間との間に一定の関連性がないこと、雌では変化が認められないこと、更に病理組織学的検査で肝臓に有意な変化が観察されないことから、偶発的な変化と考えられた。

また、0.5 mg/kg/day 以上の投与群の雄と全投与群の雌で、血漿 AChE および BChE の有意な減少あるいは減少傾向が試験期間を通じて観察されたが、赤血球 AChE 値や脳 AChE 値は対照群と同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

眼検査； 投与開始前と投与終了時に全動物を対象として実施した。検体投与に関連のある異常は認められなかった。

尿検査； 投与開始前と投与6ヶ月後及び投与終了時に、以下の項目を検査した。
尿量、比重、色調、pH、蛋白、ケトン体、グルコース、ビリルビン、
ウロビリノーゲン、潜血、沈渣
検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓器重量； 試験終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。
脳、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣及び卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

0.05 mg/kg/day 群の雌において、脾臓の相対重量の有意な統計学的有意な増加が認められたが、投与量との関連性がないことから偶発性のものと判断した。

肉眼病理学的検査； 試験終了時の全生存動物について剖検を行った。検体投与に関連のある変化は認められなかった。

病理組織学的検査； 全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、肺、心臓、胸腺、肝臓、胆嚢、腎臓、膵臓、脾臓、副腎、精巣、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膀胱、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、大腿筋、腸間膜リンパ節、顎下腺、大動脈、眼球、脊髄、坐骨神経、皮膚、乳腺および検体投与との関連で有意と考えられる異常部位。

検体投与に関連する変化を次表に示す。

5.0 mg/kg/day 投与群の雌雄で副腎皮質の球状帯の淡明化、あるいは束状帯における淡明化及び細胞肥大が認められ、検体投与の影響と考えられた。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する1年間反復経口投与毒性試験における影響として、5.0 mg/kg/day 投与群の雄において、RBC、Hb 及び Ht の有意な低下あるいは低下傾向が試験期間を通じて認められた。同群の雌においては、試験期間を通じて Reti の有意な増加あるいは増加傾向が認められ、3ヶ月後のみに Ht の有意な低下と MCH の有意な増加が認められこれらの変動による貧血ならびに副腎病変が認められたため、無毒性量は雌雄とも 0.5 mg/kg/day であると判断される。

8.6.2 ラットを用いた飼料混入による慢性毒性／発がん性併合試験（資料 No. T-3.2）

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

供試動物： SD系ラット、発がん性群：1群雌雄各50匹、衛星群：1群雌雄各10匹
投与開始時約4～5週齢
投与後52週時に衛星群を中間屠殺した。

投与期間： 発がん性群：104週間（1986年8月22日～1988年8月24日）
衛星群： 52週間（1986年8月22日～1987年8月24日）

投与方法： 検体を0、1、10、50及び200ppmの濃度で飼料に混入し、104週にわたって随時
摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

試験・検査項目及び結果：

一般状態及び生死を全動物について毎日観察した。
検体投与に関連していると考えられる臨床徴候はなかった。
試験終了時の死亡率を次表に示す。

| 投与量 (ppm) | | 0 | 1 | 10 | 50 | 200 |
|-----------|---|----|----|----|----|-----|
| 死亡率 (%) | 雄 | 66 | 58 | 60 | 68 | 52 |
| | 雌 | 48 | 38 | 50 | 60 | 48 |

統計検定の実施なし

検体投与による死亡率の増加は認められなかった。

体重変化；投与開始から14週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。

検体投与による影響が認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|-----|-----|------|-----|----|-----|------|-----|
| | 1 | 10 | 50 | 200 | 1 | 10 | 50 | 200 |
| 投与量 (ppm) | | | | | | | | |
| 0-22 週 | 101 | 103 | 104 | 100 | — | — | — | — |
| 22-76 週 | 104 | 109 | 121↑ | 88 | — | — | — | — |
| 0-76 週 | 104 | 105 | 111↑ | 97 | — | — | — | — |
| 0-42 週 | — | — | — | — | 92 | 102 | 119▲ | 100 |
| 42-88 週 | — | — | — | — | 93 | 87 | 112 | 64◇ |
| 0-88 週 | — | — | — | — | 89 | 95 | 114↑ | 84↓ |
| 0-104 週 | 107 | 110 | 112 | 95 | 93 | 90 | 110 | 76◇ |

Student の t 検定 ↑↓ : P<0.05、◇◇ : P<0.01、▲↓ : P<0.001

— : 報告書中に該当期間のデータ解析なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

検体投与による影響として、200 ppm 投与群の雄で22週目以降、雌で42週目以降の増体重が有意に低下あるいは低下傾向を示した。全体を通しての増体量は雄で対照群の95%、雌で76%の低値であり、雌については統計学的に有意であった。50 ppm 投与群の雌雄で統計学的に有意な増体量の増加が認められた。

摂餌量； 全動物の摂餌量をケージ毎に毎週測定し、14週目までは飼料要求率も算出した。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 10 | 50 | 200 | 1 | 10 | 50 | 200 |
| 投与量 (ppm) | | | | | | | | |
| 摂餌量 0-104 週 | 103 | 101 | 106 | 106 | 99 | 101 | 110 | 111 |
| 飼料要求率 0-14 週 | 100 | 100 | 100 | 106 | 106 | 100 | 96 | 110 |

統計検定実施せず。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

50 及び 200 ppm 投与群の雌雄において、摂餌量が対照群より増加傾向を示した。200 ppm 投与群の雌雄において、飼料要求率の上昇傾向が認められた。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

| 投与量 (ppm) | | 1 | 10 | 50 | 200 |
|------------------------|---|-------|------|------|-------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg/day) | 雄 | 0.042 | 0.41 | 2.08 | 8.94 |
| | 雌 | 0.055 | 0.54 | 2.63 | 12.53 |

血液学的検査：投与12、24、51、76及び102週後に各群の雄雌各10匹ずつ、28及び52週後は雌のみ10匹ずつを対象として、眼窩静脈叢から採血し、以下の項目の測定を行なった。

ヘマトクリット(Ht)、ヘモグロビン濃度(Hb)、赤血球数、網状赤血球数、白血球数、白血球分類(好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球)、血小板数、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球色素濃度(MCHC)及びプロトロンビン時間(PT)

また骨髄塗抹標本を作製し検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体投与に起因する影響として、50及び200 ppm投与群の雌においてHt、Hb及び赤血球数が減少した。雄でも102週時を除き同様の傾向が認められたが、雌ほど顕著ではなかった。10 ppm以上の投与群の雌において、網状赤血球カウントが2%以上の数値を示した動物数がいくつかの測定時期で有意に増加した。

また、200 ppm投与群の雌雄において、いくつかの測定週で総白血球数の増加が認められたが、組織学的変化を伴っていなかった。

その他には検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

生化学的検査;血液学的検査で採血した動物から追加して採血し、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、クレアチンホスホキナーゼ(CPK)、尿素、クレアチニン、血糖、総ビリルビン、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、グロブリン($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 β 及び γ)、アルブミン/グロブリン比(A/G比)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、赤血球アセチルコリンエステラーゼ(赤血球AchE)、血漿ブチルコリンエステラーゼ(血漿BchE)及び血漿アセチルコリンエステラーゼ(血漿AchE)

また、52週後の中間屠殺動物及び104週後の最終屠殺動物の雄雌各10匹ずつを対象として脳を採材し、脳アセチルコリンエステラーゼ(脳AChE)の測定を行なった。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体投与に起因すると考えられる変化として、200 ppm投与群の雌雄においてALPが有意な上昇あるいは上昇傾向を示した。また、200 ppm投与群の雌では総蛋白が投与12、24、51及び52週後に対照群より有意に低下したがA/G比には一貫した影響がないことから、血漿蛋白の本質的な低下によるものと考えられた。

10 ppm群以上の投与群の雌雄において、血漿BChE及び赤血球AChEが有意に低下した。また、10 ppm投与群の雌と50 ppm以上の投与群の雌雄で血漿AChEが、50及び200 ppm投与群の雌雄において、脳AChEが有意に低下した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

尿検査； 投与11、23、49、75及び101週後に、各群雄雌各10匹を対象として1晩の蓄尿サンプルを採取し、以下の項目を検査した。

外観、尿量、pH、尿比重、蛋白、総還元物質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリリン、亜硝酸塩、潜血及び尿沈渣

統計学的有意差及び投与に関連する変化の認められた項目を次表に示す。

検体投与による影響として、200 ppm投与群の雌において尿比重の増加が認められた。200 ppm投与群の雄においても、投与11週及び23週後に尿比重が有意に増加した。200 ppm投与群の雌では尿量が対照群と比較して有意に減少あるいは減少傾向を示した。その他の統計学的に有意な変化は検体投与による影響ではないと考えられた。

眼科学的検査； 投与開始前、51週目及び103週目に、対照群及び200 ppm投与群のすべての動物を対象として、Fisonの倒像双眼検眼鏡を用いて検査した。

検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

臓器重量； 投与52及び104週後の剖検時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

副腎、脳、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣及び甲状腺

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与52週後の検査動物には投与に起因する変化はなかった。104週後の検査動物では、200 ppm投与群の雌で副腎の絶対及び相対重量が有意に増加した。その他に認められた有意な変化は用量相関性を伴わないため、検体投与による変化とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；投与52週後の10匹/性/群、途中死亡、切迫屠殺及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与52週後の剖検では、投与に起因した変化は認められなかった。

104週後の最終計画屠殺動物において、200 ppm投与群の雌において副腎の退色、変化領域ならびに眼球混濁の発生頻度が有意に高かった。また、200 ppm投与群の雌において、死亡時期に関係なく脱毛、外陰部の被毛着色、尾部の痂皮形成が有意に増加した。また、200 ppm投与群の雄において尾部の痂皮形成が認められた。これらの所見は投与に起因すると考えられた。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

副腎、消化管(食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸及び直腸)、大動脈(胸部大動脈弓)、脳、精巣上体、眼及び視神経、大腿骨及び骨髄、ハーダー腺、心臓、腎臓、肝臓、肺及び気管支、リンパ節(頸部、腸間膜及び腫瘤付属リンパ節)、乳腺、卵巣、睪臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、肉眼的異常組織

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を以下の表に、統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を付表1に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

200 ppm投与群の雌雄において副腎束状帯空胞化、網膜萎縮、下垂体後葉空胞化及び骨格筋の筋変性症が増加し、雌において白内障、卵巣泡沫状間質細胞及び誤嚥性肉芽腫性肺炎が増加した。また、50 ppm投与群の雌において卵巣泡沫状間質細胞が有意に増加した。52週中間計画殺群においては、200 ppm投与群の雌雄で副腎球状帯空胞化が有意に増加し、さらに50 ppm以上の投与群の雌で肝臓の小葉周辺性肝細胞空胞化の増加傾向が認められた。これらは検体投与による影響と考えられた。

【腫瘍性病変】

認められた全ての腫瘍性病変を付表2に示す。

投与に関連した腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する24カ月間飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験における影響として、10 ppm以上の投与群の雌に赤血球コリンエステラーゼの低下、50 ppm以上の投与群の雌雄でHt、RBC及びHbの減少または減少傾向、脳コリンエステラーゼの低下、雄で赤血球コリンエステラーゼの低下、雌で卵巣泡沫状間質細胞の発生頻度増加、肝臓小葉周辺性肝細胞空胞化の増加傾向(52週)、200 ppm投与群の雌雄で体重増加抑制、摂餌量の増加及びそれによる摂餌効率の低下、WBCの増加、ALPの上昇、尿比重の増加または増加傾向、尾部痂皮の発生頻度増加、副腎束状帯空胞化、網膜萎縮、下垂体後葉空胞化及び骨格筋の筋変性症の増加、副腎球状帯空胞化の発生頻度増加(52週)、雌で血漿中総蛋白の低下、尿量の減少、副腎重量の増加、副腎の退色および変化領域発生頻度の増加、脱毛、白内障及び誤嚥性肉芽腫性肺炎発生頻度の増加が認められた。したがって、本試験の無毒性量は、雄が10 ppm (0.41 mg/kg/day)、雌が1 ppm (0.055 mg/kg/day)であると判断される。

また、催腫瘍性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.2A 雌ラットを用いた 104 週間混餌投与毒性試験(コリンエステラーゼ測定) (資料 No. T-3.2A)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以上の結果から、検体投与によると考えられる変化として、10 ppm投与群でみられた赤血球AChEの統計学的に有意かつ20%以上の低下が認められたが、脳AChE活性には検体投与に関連する変化はみられなかった。従って、赤血球コリンエステラーゼ阻害に対する無毒性量は4 ppm (0.205 mg/kg/day)、脳AChE阻害に対する無毒性量は10 ppm (0.510 mg/kg/day)以上であると判断された。また、以前に実施したラットにおける慢性毒性/発がん性併合試験(資料No. T-3.2)と総合し、ラットにおける最も低い無毒性量は0.205 mg/kg/dayと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.3 マウスにおける発がん性試験 (資料 No. T-3.3)

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

供試動物： CD-1系マウス、投与開始時約4~5週齢、1群雌雄各60匹

投与期間： 102-103週間 (1986年8月15日~1988年8月1日-8月9日)
(雄投与群の生存率が25%に達した投与102週後に試験を終了させた)

投与方法： 検体を0、10、30、100及び300 ppm (有効成分換算、以下同様)の濃度に均一に配合した粉末飼料を全期間中マウスに随意に摂食させて、以下の項目について観察又は検査を行なった。検体混合飼料は週1回調製した。

観察・検査項目及び試験結果：

一般状態及び死亡；全動物について毎日観察。検体投与に関連していると考えられる臨床徴候はなかった。投与終了時の死亡率の分布は次表の通りであり、300 ppm 投与群雄の死亡率は対照群より高かったが、用量との関連性は不明瞭で、特定の死因が多発したものでなかったことから、投与による影響ではないと判断した。

| 投与量 (ppm) | | 0 | 0 | 10 | 30 | 100 | 300 |
|-----------|---|----|----|----|----|-----|-----|
| 死亡率 (%) | 雄 | 60 | 65 | 68 | 63 | 63 | 75 |
| | 雌 | 55 | 50 | 43 | 73 | 37 | 72 |

体重変化；全動物について投与開始日、14週目までは1週1回、その後は隔週で個体別に測定した。結果を次表に示す。

| 性 | 雄 | | | | | | 雌 | | | | | | | |
|------|-----------|--|-----|-----|----|----|-----|-----|----|-----|-----|----|-----|-----|
| | 投与量 (ppm) | | 0 | 0 | 10 | 30 | 100 | 300 | 0 | | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 増体量重 | 0-102週 | | 100 | 100 | 96 | 91 | 95 | 57↓ | 98 | 102 | 103 | 97 | 103 | 43↓ |

表中の数値は対照群値を100とした場合の数を表わす。

Student-t 検定 ↓: p<0.001

300 ppm投与群の体重増加量は、雄で9週目まで雌で12週目までは対照群と同様であったが、その後は対照群と比較し増加抑制がみられた。300 ppm投与群の全体を通

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

しての体重増加量は、雄で対照群の57%、雌で43%であり統計学的に有意に低値であった ($P<0.001$)。他の投与群の雄の体重増加量は対照群より若干低かったが、統計学的に有意でなく、投与群雌には投与に起因した変動はなかった。

摂餌量及び食餌効率； 全動物の摂餌量を週1回測定し、食餌効率も算出した。

| 性 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|--------|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 投与量 (ppm) | | 10 | 30 | 100 | 300 | 10 | 30 | 100 | 300 |
| 摂餌量 | 0-102週 | 100 | 99 | 98 | 86 | 104 | 103 | 102 | 102 |

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

300 ppm投与群の雄の総摂餌量は対照群より低く、対照群の86%であった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

| 投与量 (ppm) | | 10 | 30 | 100 | 300 |
|------------------------|---|------|------|-------|-------|
| 平均検体摂取量 (mg/kg/day) | 雄 | 1.09 | 3.32 | 11.06 | 32.70 |
| | 雌 | 1.19 | 3.43 | 11.18 | 41.98 |

血液学的検査； 投与50、76及び101週後に各群の雌雄各10匹の尾静脈から麻酔を用いずに採血し、血液塗抹標本作製して白血球分画について検査した。また投与102週後の生存動物及び途中死亡又は切迫殺動物について骨髓塗抹標本作製し検査した。

検体投与に起因するとみられる変化はなかった。

臓器重量； 投与102週後の剖検時に殺処分した全動物及び途中死亡又は切迫殺動物の副腎、脳、腎臓、肝臓、卵巣及び精巣の重量を測定した。統計学的有意差を示した臓器を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体投与に起因すると考えられる変化として、300 ppm投与群の雌に有意に高い副腎の絶対及び相対重量が認められた。他にも300 ppm投与群と対照群動物との間に差がみられたが、これらは投与の直接的な影響というよりはむしろこれらの動物の体重における顕著な差によるものと考えられる。他の群には検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す（全動物）。

途中死亡例または切迫殺例においては300 ppm投与群の雌で副腎の大型化、雌雄で削瘦、雄で会陰部の汚れが認められた。計画殺の動物では300 ppm投与群で削瘦が対照群と比べてやや増加しており、雄で包皮腺の肥大の増加が認められた。全体では前述の所見に加え、300 ppm投与群で食道拡張の増加が認められた。100 ppm投与群の雌で眼の混濁が認められているが有機リン系の化合物でそのような報告をされているものはなく、用量関連性に増加していないため偶発的な変化であると判断した。この他の所見や他の群で散見された変化は偶発的なものや、対照群と比較し発生頻度が低下したものであり投与に関連するものではないと判断した。

病理組織学的検査;全動物の次の臓器・組織について常法に従いHE染色標本を作製し鏡検した。

副腎、消化管(食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸及び直腸)、大動脈(胸部大動脈弓)、脳、精巣上部、眼及び視神経、大腿骨及び骨髄、胆嚢、ハーダー腺、心臓、腎臓、肝臓、肺(主気管支と共に)、リンパ節(頸部、腸間膜及び結節部)、乳腺、卵巣、睪臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、精巣、胸腺、甲状腺(及び上皮小体)、舌、気管、膀胱、子宮(子宮頸管と共に)、肉眼的異常組織。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

〔非腫瘍性病変〕

主要な非腫瘍性病変の発生頻度を別表1に示す。

投与に関連した非腫瘍性病変として、300 ppm投与群に副腎の皮髄境界部の色素沈着及び石灰化、腎臓乳頭部の石灰化並びに下垂体後葉の空胞化が高い発生率で認められた。また100 ppm投与群にも副腎の皮髄境界部の色素沈着*が認められた。その他いくつかの非腫瘍性所見が300 ppm投与群で統計学的に有意となったが、これらの多くは対照群に比べ発生率が低下したもので毒性学的な意義はほとんどないものと考えられた。

〔腫瘍性病変〕

腫瘍性病変の発生頻度を別表2に示す。最終計画殺もしくは全動物での雌の100 ppm投与群において肺癌発生頻度の有意な上昇が認められたが、用量相関性は認められず偶発的な変化と考えられた。この他に投与に関連した腫瘍性病変の発生頻度の上昇は認められなかった。

以上の結果から、検体投与によると考えられる主要な変化としては、100 ppm以上の投与群の雌雄で副腎皮髄境界部の色素沈着が認められ、300 ppm投与群の雌雄で体重増加抑制、雄で低摂餌量、雌で副腎重量増加が認められた。また組織学的検査では、非腫瘍性病変として、300 ppm投与群での副腎皮髄境界部の色素沈着及び石灰化、腎臓乳頭部の石灰化並びに下垂体後葉の空胞化が認められた。従って、無毒性量は30 ppm投与群（雄 3.32 mg/kg/day、雌 3.43 mg/kg/day）であると判断される。また、催腫瘍性はないものと判断される。

*、この色素は過ヨウ素酸シッフ反応とチールネルゼン染色に陽性、シュモール反応とベルリン青染色に対しては陰性であることからセロイド色素と判定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

8.7.1 ラットにおける二世世代繁殖性試験（資料 No. T-4.1）

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

供試動物： SD系ラット、1群雌雄各25匹、投与開始時約6週齢

投与期間： P世代；投与開始から交配前14週間、交配、妊娠および哺育期間（哺育25日まで）
F₁世代；離乳時から交配前14週間、交配、妊娠および哺育期間（哺育25日まで）
（1988年1月20日～1988年11月28日）

投与方法： 検体を0、3、10、30および100 ppmの濃度で含有する飼料を自由に摂取させた。
100 ppm群については十分な数のF₁児動物が得られなかったため、F₁児離乳時で試験を中止した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目；概要を表1にまとめた。

一般症状および死亡；全動物を投与期間中毎日観察した。

体重； 雄親動物；投与期間中、週1回測定した。

雌親動物；生育および交配期間中は週1回、妊娠期間中は妊娠0、6、13および20日、
哺育期間中は哺育1、4、7、14、21および25日に測定した。

摂餌量； 生育期間中、週1回測定した。

交配および妊娠の確認；

雌雄1対1で同居させ、膣栓又は膣垢塗抹標本中の精子の観察によって交尾を確認し、その日を妊娠0日とした。最大交配期間を3週間とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、分娩及び哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

交尾率 $=$ (交尾動物数/交配動物数) \times 100

受胎率 $=$ (妊娠動物数/交尾動物数) \times 100

繁殖率 $=$ (妊娠動物数/交配動物数) \times 100

妊娠期間；受胎から出産までの期間

出産率 $=$ (生存出生児が認められた雌動物数/妊娠動物数) \times 100

出生率 $=$ (生存出生児数/着床痕数) \times 100

児動物に関する指標；

哺育1日に外表異常の有無を検査し、一般状態および死亡について毎日観察した。体重測定は哺育1、4、7、14、21および25日に実施し、哺育1、4、14および25日に性別を確認した。

以下のパラメーターについて、開始と終了を記録し、身体的発達について評価した。

耳介展開、毛生、切歯萌出、眼瞼開裂

児動物の観察に基づき、以下の指標を算出した。

性比 $=$ (哺育n日の雄児動物数/哺育n日の雌児動物数) \times 100

生存出産率 $=$ (哺育1日の生存児動物数/哺育1日の総児動物数) \times 100

生存率 $=$ (哺育4日(間引き前)の生存児数/哺育1日の生存児数) \times 100

哺育n日生存率 $=$ (哺育n日の生存児数/哺育4日(間引き後)の総生存児数) \times 100

肉眼的病理検査；

親動物：児動物離乳後に屠殺し、肉眼病理学的検査を実施した。

児動物：継代用に選抜されなかったF₁離乳児およびすべてのF₂離乳児、間引き児および死亡児について外表および内臓を肉眼的に検査した。

臓器重量；親動物について以下の臓器重量を測定した。

肝臓、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮

病理組織学的検査；

対照群並びに100 ppm群のP親動物、30 ppm群のF₁親動物について、以下の組織について病理組織学的検査を実施した。P親動物の副腎およびF₁親動物の肝臓については他の投与群の動物についても検査した。

下垂体、肝臓、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺(全胎児死亡が認められた雌のみ)および肉眼的異常を認めた組織

表 1 試験手順

| 世代 | 期間 | 交配・調整・選抜 | 観察・試験項目 |
|----------------|----------|--|--|
| P | 生育(14 週) | 雌雄 1 対 1 で交配。交配は膾垢中の精子で確認(妊娠 0 日)。 | 一般状態および生死について毎日観察。 体重および摂餌量を週 1 回測定。 |
| | 交配(3 週) | | 交配状況の観察。 |
| | 妊娠(3 週) | | 妊娠 0、6、13、20 日に雌親動物の体重を測定。 |
| | 出産 | 出産後 4 日目に、各同腹児数を雌雄各 4 匹に調整(不可能な場合、雌雄計 8 匹) | 出産状況の観察 児の一般状態、生存および死亡児数の記録、性別および外表異常の検査。 |
| | 哺育(25 日) | | 一般状態および生死について毎日観察。 哺育 1、4、7、14、21、25 日に雌親動物の体重および生存児動物の体重測定、生存児数及び性別(哺育 7 及び 21 日を除く)の記録。 |
| 離乳 | | 途中死亡及び哺育 4 日に選抜されなかった児動物の肉眼的病理検査。 | |
| F ₁ | 生育(14 週) | 継代用に各腹雌雄各 1 匹の児動物を無作為に選抜。 (100ppm 群は十分な数の F ₁ 児が得られなかったため、F ₁ 世代にて試験中止) | 全ての親動物および継代用以外の F ₁ 児動物の剖検を実施。 親動物の臓器重量測定、病理組織学的検査を実施。 |
| | 交配(3 週) | (P 世代に準ずる) | (P 世代に準ずる) |
| | 妊娠(3 週) | | (P 世代に準ずる) |
| | 出産 | | (P 世代に準ずる) |
| | 哺育(25 日) | (P 世代に準ずる) | (P 世代に準ずる) |
| 離乳 | | | |
| F ₂ | | | 全ての親動物および児動物の剖検を実施。 親動物の臓器重量測定、病理組織学的検査を実施。 |

試験結果： 概要を表2に示した。

① 親動物

一般状態および死亡； 検体投与に関連した一般状態の変化および死亡は認められなかった。

体重； 10および30 ppm投与群のP世代雌動物において体重増加量の増加傾向が認められた。100 ppm投与群のP世代雌動物では、生育期間中の体重および体重増加量の増加、妊娠期間中の体重増加量の低下が認められた。

摂餌量； 30および100 ppm投与群のP世代雌動物、10および30 ppm投与群のF₁世代雌動物において摂餌量の増加が認められた。

繁殖性に関する指標；

10 ppm以上の投与群のP世代雌動物で正常発情周期を示す割合が低下し、10 ppm投与群のF₁雌動物では不規則発情周期を示す雌の割合が有意に増加した。

P雌の100 ppm投与群で妊娠期間の延長傾向が認められたが、難産はなく出産率にも影響は認められなかった。すべての投与群で若干の受胎率および繁殖率の低下が認められたが、統計学的有意差はなかった。

肉眼的病理検査；

全ての動物において検体投与に関連した影響は認められなかった。P雌において副腎退色が認められた。

臓器重量および病理組織学的検査；

P世代の全ての投与群の雌動物で副腎の絶対重量が有意に増加していた。しかし相対重量には有意差が認められず、副腎皮質の球状帯肥大の増加が認められたのは100 ppm投与群のみであったことから、その他の群で見られた副腎重量増加の毒性学的意義はないと考えられた。また、30 ppm投与群のF₁世代雌動物の肝臓における炎症が有意に増加していたが、これは検体投与と関係のない所見であると考えられた。

② 児動物

一般状態； 検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。

児動物に関する指標； F₁児動物について30 ppm以上の投与群で生存率低下、100 ppm投与群で切歯萌出、眼瞼開裂開始日の有意な遅延が認められた。100 ppm投与群は哺育25日までに生存児が7腹となったため、すべての生存児を離乳後殺処分し、この群を終了させた。

体重； 30 ppm以上の投与群でF₁児動物の体重低下が認められた。

肉眼的病理検査；100 ppm投与群の児動物において、小型及び胃内の乳/飼料の欠乏が観察された。

以上の結果より、本剤をラットに二世代にわたって飼料中に混入して投与した場合、10ppm以上の投与群において正常発情周期を示す動物の割合の低下、受胎率および繁殖率の低下傾向、妊娠期間の延長傾向ならびに100ppm群の雌親動物において副腎絶対重量の増加、副腎皮質の球状帯肥大の増加が認められ、30ppm以上の投与群の児動物の生存率および体重低下が認められたことから、親動物に対する毒性および繁殖性に関する無毒性量は、共に3 ppm (P:雄 0.21 mg/kg/day、雌 0.26 mg/kg/day、F₁:雄 0.27 mg/kg/day、雌 0.31 mg/kg/day)と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.2 ラットにおける催奇形性試験（資料 No. T-4.2）

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

供試動物： SD系性成熟未経産雌ラット、9～11週齢、1群24匹

試験期間： 妊娠6～15日の10日間（1989年5月10日～1989年6月2日）

投与方法： 検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、3、5及び10 mg/kgの投与量で妊娠6～15日（膺垢中の精子の存在または3個以上の膺栓が確認された日を妊娠0日として起算）の10日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒の0.5%メチルセルロース水溶液のみを投与した。

観察・検査項目：

親動物； 生死及び一般状態を毎日観察し、妊娠0、3、6-16、18及び20日に体重を、妊娠期間中2～4日間隔で6回摂餌量を測定した。妊娠20日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数を記録した。

生存胎児； 胎児体重及び胎盤重量測定、性別判定を実施し、外表検査を行った。各腹約1/2の胎児について内臓を検査し、残りの胎児について骨格検査を実施した。

試験結果： 概要を表1及び2に示した。

親動物； いずれの群においても検体投与によると考えられる死亡、一般状態の異常は認められなかった。

10 mg/kg/day投与群の投与期間中に体重増加量の低下が認められた。

摂餌量、肉眼的病理検査、黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数については、いずれの群においても検体投与に起因する影響は認められなかった。

胎児動物； 全ての群において胎児体重及び胎盤重量に、検体投与に関連した影響は認められなかった。

外表、内臓及び骨格検査において奇形が散見されたが、これらの所見は共通性がなく自然発生的であり、検体投与との関連性はないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに0、3、5及び10 mg/kg/dayの投与量で経口投与した結果、10 mg/kg/day投与群で母動物の体重増加量の低下が認められたが、胎児に影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.3 ウサギにおける催奇形性試験 (資料No. T4.3)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

供試動物： New Zealand 白色種ウサギ、性成熟未経産雌、1群15～16匹、
試験開始時19～27週齢

試験期間： 妊娠6～19日の14日間 (動物取扱期間 1989年2月20日～1989年4月11日)

投与方法： 検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、0.5、1、1.5及び2 mg/kgの投与量で、妊娠6～19日 (人工授精した日を妊娠0日とした)の14日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

観察・検査項目：

親動物； 生死及び一般状態を毎日観察し、妊娠 0、6、8、10、12、14、16、18、20、24 及び 28 日に体重を測定した。摂餌量及び摂水量は妊娠 1-5、6-12、13-19、20-23 及び 24-28 日の期間で測定した。

妊娠 29 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数及びその子宮内位置を調べた。

生存胎児； 体重及び胎盤重量測定、性別判定を実施し、外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常の有無を検査し、その後、骨格標本作製して骨格異常の有無を検査した。認められた所見は奇形及び変異に分類した。

試験結果： 概要を表1～3に示した。

親動物； 1.5 mg/kg/day投与群の1例で投与後、呼吸困難と痙攣が認められたため切迫殺したが、検体投与との関連性はないものと考えられた。1及び2 mg/kg/day投与群の各1例が流産し、1 mg/kg/day投与群の1例で全胎児吸収が認められた。

いずれの群においても体重、摂餌量及び肉眼的病理検査所見に検体投与による影響は認められなかった。

黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数、着床後胚死亡率についても、いずれの群においても検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

胎児動物； 2 mg/kg/day投与群において軽度な体重低下、矮小児の出現頻度の増加が認められた。その他の群では、胎児体重、胎盤重量及び外表検査において検体投与に起因した影響は認められなかった。
いずれの群においても内臓及び骨格異常の種類または発現頻度に、投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤の投与に起因していると考えられる母動物への影響は認められなかった。
胎児に対しては、2 mg/kg/day投与群で胎児体重の低下と矮小児の出現頻度の増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.8 変異原性

8.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 No. T-5.1)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA98、TA100 の4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活性化酵素系 (S9 Mix) の存在下または非存在下で、Ames 等の方法で復帰変異誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し、313~5000 µg/Plate の範囲の5濃度で実施した。試験は3連制とし、2回行った。

試験結果： 次表に示す様に、検体では S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても溶媒対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。これに対し、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、9-AA では S9 Mix の無添加において、また 2AA では S9 Mix の添加により復帰変異コロニー数の増加が認められた。

結論： 以上の結果より、検体は本試験条件下において復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.8.2 チャイニーズハムスターの CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No.T-5.2)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の細胞株CHLを用い、代謝活性化および非代謝活性化条件での染色体異常誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解した。観察は1濃度あたり200個の分裂中期細胞について行い、短時間処理法および連続処理法(24時間、48時間)の試験を行った。

試験結果： 結果を表に示す。(数値は2枚のプレートの平均値)
検体は代謝活性化の有無に関わらず、すべての処理群において染色体異常を示す分裂中期細胞の増加はなかった。
一方、陽性対照として用いたMMCおよびB(a)Pでは染色体異常を示す分裂中期細胞が明らかに増加した。

結論： 本試験条件下において、検体は染色体異常誘発性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.8.3 マウスにおける小核試験 (資料 No.T-5.3)

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

試験動物： BDF1系マウス、7週齢、1群雌雄各6匹 (体重：雄 24.1~25.0 g、雌 19.0~19.4 g)

試験方法： 検体は蒸留水に懸濁または溶解させ、小核試験 I (経時的検索)では、最大耐量である 50 mg/kg を単回強制経口投与し、投与の 24、48 及び 72 時間後に標本作製した。小核試験 II (用量依存性検索)では、検体を 12.5、25 及び 50 mg/kg を単回強制経口投与し、投与 24 時間後に標本作製した。陽性対照には MMC を 10 mg/kg で単回強制経口投与し、投与 24 時間後に骨髄採取した。

試験結果 結果を表に示す。

小核試験 I (経時的検索)；

死亡は認められなかった。いずれの標本作製時間においても、小核を有する多染性赤血球の頻度の有意な増加は認められず、従って特に感受性の高い時期は認められなかった。

小核試験 II (用量依存性検索)；

死亡は認められなかった。いずれの用量においても小核を有する多染性赤血球の頻度の有意な増加は認められなかった。

全赤血球に占める多染性赤血球の割合は、いずれの標本作製時間及び用量においても有意な減少は認められなかった。

一方、両試験での陽性対照の MMC では小核を有する多染性赤血球の頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

結論： 本試験条件下において、検体はマウスの骨髄細胞に対して小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.8.4 細菌を用いた DNA 修復試験 (資料 No. T-5.4)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

試験方法： 枯草菌(*Bacillus subtilis*)の組換修復機構野生株(H17, rec⁺)と欠損株(M45, rec⁻)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9)の存在下または非存在下で、賀田等の孢子懸濁液を用いる方法で実施した。検体はDMSOに溶解し、1000 mg/mL (20000 µg/disk)を最高用量として実施した。結果の判定は、H17株に僅かな生育阻止帯(直径0~4 mm)を示す用量において両株の生育阻止帯の差が明確に5 mm以上である場合を陽性とした。

試験結果： 検体はS9の存在下及び非存在下において、両株の間に明確な生育阻止帯の差を生じさせなかった。一方、陰性対照として用いたKMはS9分画の非存在下で両株に同程度の生育阻止帯を示し、陽性対照として用いたMMCはS9分画の非存在下で、また2-AAはS9分画の存在下で両株の間に著明な生育阻止帯の差を生じた。

結論： 以上の結果より、検体は本試験条件下でDNA損傷性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.8.5 ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（資料 No. T-5.5）

試験機関

報告書作成年 1992年 [GLP 対応]

試験方法： マウスリンパ腫細胞の L5178Y TK⁺ 細胞を用いて代謝活性化系及び非代謝活性化系によって Thymidine kinase 遺伝子座を用いて遺伝子突然変異誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解した。試験はソフトアガー法を用いて 2 連制で 2 回行った。

試験結果： 結果を次表に示した。

検体処理群において代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で突然変異頻度の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたメタンスルホン酸エチル(EMS)または 7,12-ジメチルベンズアントラセン(DMBA)処理群では、突然変異頻度の明らかな増加が認められた。

結論： 以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、L5178Y TK⁺ 細胞に対し突然変異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係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9 生体機能影響

8.9.1 生体機能に及ぼす影響 (資料 No. T-6.1)

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

試験期： 1990年1月8日～1990年5月2日

1. 中枢神経系に及ぼす影響

1) マウスの行動観察

供試動物：ICR系雌雄マウス、体重は雌17.0～21.0 g、雄21.0～25.0 g、1群雌雄各5匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、15及び50 mg/kgを経口投与した。投与後、15分、30分、60分、120分、4時間及び6時間後にIrwinの方法に準じて行動観察を行った。更に、投与24時間後に同様の観察及び体重測定を行った。

試験結果：

| 用量 (mg/kg) | 結果 |
|------------|---|
| 5、15 | 異常無し |
| 50 | 雌： 15～30分後軽度の挙尾 (1/5例)、 60～120分後軽度の正向反射低下 (2/5例) 雄： 15～30分後軽度の挙尾 (1/5例) 15分後軽度の正向反射低下 (1/5例) |

2) ウサギの一般症状

供試動物：日本白色種雄ウサギ、体重は2.27～2.81 kg、1群3～4匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、15及び50 mg/kgを経口投与した。投与後、30分、60分、120分、4時間及び6時間に、体温、瞳孔径、筋弛緩を中心に一般症状を観察した。その他に流涎及び流涙の有無についても上記の同時帯に観察した。更に、翌日、投与24時間後に、同様の観察及び体重測定を行った。

試験結果：

| 用量 (mg/kg) | 結 果 |
|------------|--|
| 5 | 1/3例で60分～4時間後呼吸促迫、体温低下、60分後軽度の散瞳、120分～4時間後自発運動減少→6時間後回復。 |
| 15 | 4時間後呼吸促迫、縮瞳 (1/3例)→6時間後回復。 |
| 50 | 動物1：投与直後呼吸促迫、側臥位姿勢、縮瞳→8分後啼鳴、死亡。 動物2：投与直後呼吸促迫、10分後チアノーゼ、間代性痙攣、30分後側臥位姿勢、警戒心及び反応性低下、受動性亢進、筋弛緩、流涎、あえぎ呼吸、自発運動低下→32分後死亡。 動物3：投与直後呼吸促迫、120分後呼吸促迫、自発運動減少、警戒心及び反応性亢進→約2.5時間後死亡。 動物4：投与直後うずくまり姿勢、約3時間後間代後痙攣、3時間20分後あえぎ呼吸、流涎、下痢→3.5時間後死亡。 |

3) 麻酔強化作用

供試動物：ICR系雄マウス、5週齢、体重は24.5～29.0 g、1群10匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、15及び50 mg/kgを経口投与した。投与60分後にhexobarbitalの80 mg/kgを腹腔内投与し、マウスが側臥位から自発的に腹臥位に戻るまでの時間を麻酔時間として測定した。

試験結果：5、15及び50 mg/kgでは麻酔時間に有意差は認められなかった。

4) 脳波

供試動物：日本白色種雄ウサギ、体重は2.58～2.80kg、3匹使用

試験方法：pentobarbital (25 mg/kg、静脈内投与)麻酔下でウサギを脳定位固定装置に固定し、Sawyerらの脳図譜に従って、扁桃核(AMY)、海馬(HIP)、新皮質前頭葉(FC)及び新皮質後頭葉(OC)にそれぞれ双極電極を設置した。この手術創が完治し、安定した脳波の得られた動物を実験に使用した。測定は静穏無拘束下で行い、AMY、HIP、FC及びOCから誘導される自発脳波を脳波計に記録した。同時に、行動もテレビカメラを通して観察した。検体はコーン油に溶解し経口投与した。測定は投与前30分より投与後4時間まで連続的に行った。

試験結果：

| 用量 (mg/kg) | 結 果 |
|------------|--|
| 5、15 | 異常無し |
| 50 | 脳波パターン：30～36分、120分後AMY振幅増大 (1/3例) →AMY、HIP、FC及びOCの電位低下→126分後平坦化。 睡眠覚醒周期：投与直後または50分～4時間後覚醒 (2/3例)。 行動観察：120分後より振戦 (1/3例)→126分後死亡、3時間後腹臥位または側臥位姿勢 (1/3例)、3.5時間後呼吸促迫、4時間後下痢、流涎、筋弛緩→4.5時間後死亡。 |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2. 呼吸、循環器系に及ぼす影響

1) 麻酔下におけるイヌの呼吸、血圧、心拍数及び心電図に対する作用

供試動物：ビーグル種イヌ雄、体重は9.0～13.0 kg、1群3匹。

試験方法：pentobarbital麻酔下で背位に固定し、気管及び右大腿動脈にカニューレを挿入した。呼吸はサーミスター型呼吸ピックアップ、血圧は標準型トランスデューサー及び歪圧力アンプ、心拍数は瞬時心拍計ユニットを用いて測定した。心電図は第II誘導法で心電図アンプを介して同時記録した。検体はコーン油に5、15及び50 mg/kgとなるように溶解し十二指腸内にカニューレーション投与した。測定は投与前より投与3時間後まで行った。

試験結果：

| 用量 (mg/kg) | 結 果 |
|------------|--|
| 5 | 作用なし。 |
| 15 | 60分後より血圧低下 (1/3例)、 120分～3時間後軽度の血圧低下 (1/3例)、 90分または120分後より心拍数減少 (3/3例)。 |
| 50 | 60分後より呼吸数減少 (3/3例)、 30分後より血圧低下 (3/3例)、 30分または60分後より著明な心拍数減少 (3/3例)。 |

3. 自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響

1) 摘出回腸

a) 自動運動

供試動物：日本白色種雄ウサギ、体重は2.00～2.01 kg、3匹使用

試験方法：ウサギを脱血屠殺後、回腸を摘出し、空気を通じたTyrode液中に0.5 gの負荷で懸垂し、自動運動による筋の収縮をアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。検体はDMSOに溶解、各濃度は累積的に添加し、それぞれ10分間の測定を行った。

試験結果：

| 用量 (g/mL) | 結 果 |
|-----------|--|
| 10^{-6} | 作用なし。 |
| 10^{-5} | 添加直後筋弛緩 (1/3例)、2分後以降非律動性収縮多発 (1/3例)、 収縮抑制 (3/3例、平均19%)。 |
| 10^{-4} | 筋収縮 (2/3例)、著明な収縮抑制 (3/3例、平均72%)。 |

b) 各agonistに対する作用

供試動物：Hartley系雄モルモット、5～6週齢、体重は376～452 g、1群5匹

試験方法：モルモットを脱血屠殺後、回腸を摘出し、空気を通じたTyrode液中に0.5 gの負荷で懸垂し、自動運動による筋の収縮をアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。測定はagonist (acetylcholine 10^{-7} g/mL、histamine 10^{-6} g/mL、BaCl₂ 10^{-4} g/mL)を処置した際の収縮をinitialとしDMSOに溶解した検体を滴下して3分間単独作用を観察した後に各agonistを処置し、筋収縮の度合をinitialと比較した。

試験結果：

| 用量 (g/mL) | 結 果 |
|---|--|
| 単独作用： 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} | 10^{-6} 、 10^{-5} ：作用なし。 10^{-4} ：筋弛緩 (8/15例、内3例は著明) |
| ACh収縮： 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} | 10^{-6} 、 10^{-5} ：作用なし。 10^{-4} ：抑制 (5/5例、平均49%) |
| Hist収縮： 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} | 10^{-6} 、 10^{-5} ：作用なし。 10^{-4} ：抑制 (5/5例、平均79%) |
| BaCl ₂ 収縮： 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} | 10^{-6} 、 10^{-5} ：作用なし。 10^{-4} ：抑制 (5/5例、平均75%) |

ACh: Acetylcholine、Hist:Histamine

2) 摘出輸精管

供試動物：SD系雄ラット、5～9週齢、体重は282～298 g、1群5匹

試験方法：ラットを脱血屠殺後、輸精管を摘出し、空気を通じたTyrode液中に0.5 gの負荷で懸垂し、自動運動による筋の収縮はアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。測定はnoradrenaline (NA) 2×10^{-6} g/mLを処置した際の筋の収縮をinitialとしDMSOに溶解した検体を滴下して3分間単独作用を観察した後、NAを処置し、筋収縮の度合をinitialと比較した。

試験結果：

| 用量 (g/mL) | 結 果 |
|---|---|
| 単独作用： 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} | 作用なし。 |
| NA収縮： 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} | 10^{-6} 、 10^{-5} ：作用なし。 10^{-4} ：抑制 (5/5例、平均30%) |

4. 消化管に及ぼす影響

1) 胃液分泌

供試動物：SD系雄ラット、5～9週齢、体重は146～174 g、1群7匹

試験方法：約24時間絶食させたラットを用い、Shayの方法に準じて幽門部を結紮し、コーン油に溶解した検体を十二指腸内に投与した。投与4時間後に胃液を採取し、遠心分離後その上清部を取り胃液量を測定した。pH及び総酸度は自動滴定装置によりpH 7.0まで滴定した。

試験結果：

| 用量 (g/mL) | 結 果 |
|-----------|-----------------------|
| 5、15 | 作用なし。 |
| 50 | 胃液量及び総酸度の増加 (P<0.05)。 |

2) 炭末輸送能

供試動物：ICR系雄マウス、5週齢、体重は24.0～29.0 g、1群10匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、15及び50 mg/kgを経口投与した。投与60分後に5%炭末 (10%アラビアゴム懸濁液)を0.1 mL/動物の容量で経口投与した。炭末投与30分後に屠殺して腸管を摘出し、小腸全体に対する炭末の先進移行率を求めた。

試験結果：

| 用量 (g/kg) | 結 果 |
|-----------|-------|
| 5、15、50 | 作用なし。 |

5. 末梢神経系に及ぼす影響

1) 横隔膜神経節標本

供試動物：SD系雄ラット、5～9週齢、体重は314～332 g、1群5匹

試験方法：Bulbringの方法に準じて、ラットを脱血屠殺後開胸し横隔膜を横隔膜神経と共に摘出し、扇状の横隔膜を95%O₂+5%CO₂の混合ガスを通じたKrebs-bicarbonate液中に懸垂した。簡易型電気刺激装置を用いて神経に矩形波電気刺激を与え、その際に発現する筋収縮をオシログラフに記録した。刺激の反応が一定になったところで、DMSOに溶解した各濃度の検体を0.05 mLの容量で低濃度より累積的に添加し、それぞれ10分間測定した。

試験結果：

| 用量 (g/mL) | 結 果 |
|------------------------------------|----------------------------|
| 10 ⁻⁶ 、10 ⁻⁵ | 作用なし。 |
| 10 ⁻⁴ | 18～36%の筋収縮力の増加 (5/5例、平均25) |

6. 血液に及ぼす影響

1) 血液凝固

供試動物：SD系雄ラット、5～9週齢、体重は152～174 g、1群6匹

試験方法：コーン油に溶解した各濃度の検体を経口投与し、60分後にエーテル麻酔下、腹部大静脈より採血してクエン酸加血液とした後、遠心分離により血漿を得た。この血漿についてPT及びPTTKを全自動血液凝固測定装置にて測定した。

試験結果：

| 用量 (g/kg) | 結 果 |
|-----------|-------|
| 5、15、50 | 作用なし。 |

2) 溶血試験

供試動物：日本白色種雄ウサギ、体重は2.80～2.99 kg、3匹使用

試験方法：ウサギの耳介静脈より採血してクエン酸加血液とした後、2%赤血球浮遊液を調製した。DMSOに溶解し、生理食塩水で希釈した各濃度の検体5 mLに対して、2%赤血球浮遊液0.25 mLを添加後、37℃で2時間インキュベートし、遠心分離を行った。その上清について、吸光度を測定して溶血指数を算出した。

試験結果：

| 用量 (g/mL) | 結 果 |
|--|-------|
| 10 ⁻⁶ 、10 ⁻⁵ 、10 ⁻⁴ | 作用なし。 |

【まとめ】 ホスチアゼート原体の生体機能に及ぼす影響について検討した結果、ウサギの一般症状観察でみられた縮腫作用、循環器系で認められた血圧及び心拍数の低下、胃液分泌の亢進作用、横隔膜神経筋標本における筋収縮力の増加がコリンエステラーゼ阻害作用を有する本検体の薬理作用と考えられた。また、*in vitro*の試験でみられた平滑筋における作用はいずれも高濃度の薬物を添加した場合に通常出現するものであり中枢神経系でみられた中毒症状と同様、薬理学的に特異な作用とは考えられなかった。また、本検体はマウス、ラットよりウサギ、イヌに感受性が高く、ウサギへの影響が特に低用量 (5 mg/kg)から認められた。

ホスチアゼートの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

| 試験項目 (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 |
|---|---------------------|----------------|------------|-----------------|----------------|---|
| 1. 中枢神経系 | | | | | | |
| 1) 行動観察 (マウス) | 経口 (コーン油) | 5 15 50 | ♂♀5 | 15 | 50 | 5,15mg/kg : 異常なし 50mg/kg : 雌:15~30分軽度の挙尾 (1/5例), 60~120分軽度の 正向反射低下(2/5例) 雄:15~30分軽度の挙尾 (1/5例), 15分 軽度の正向 反射の低下・(1/5例) |
| 2) 一般症状観察 (ウサギ) | 経口 (コーン油) | 5 15 50 | ♂3~4 | — | 5 | 5, 15 mg/kg : 投与直後呼吸 促迫、6時間後回復 50 mg/kg : 投与直後呼吸促 迫、間代性痙攣、4/4例死亡 |
| 3) 麻酔強化作用 (マウス) | 経口 (コーン油) | 5 15 50 | ♂10 | 5 | — | 5, 15,50 mg/kg : 作用なし |
| 4) 脳波 (ウサギ) | 経口 (コーン油) | 5 15 50 | ♂3 | 15 | 50 | 5,15mg/kg : 異常なし 50mg/kg : 脳波パターン : AMY振幅増大(1/3例)→ AMY, HIP, FC及びOCの電 位低下、126分後平坦化 睡眠覚醒周期 : 投与直後または50分~4時 間覚醒(2/3例) 行動観察 : 振戦後死亡(1例), 3時間腹臥 位または側臥位姿勢(1/3例), 3.5時間呼吸促迫, 4時間下 痢, 流涎, 筋弛緩→4.5時間 後死亡(1例) 死亡例 : 2/3例 |
| 2. 呼吸、循環器系 | | | | | | |
| 1) 麻酔下におけ る呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図 (イヌ) | 十二 指腸内 (コーン油) | 5 15 50 | ♂ n=3 | 5 | 15 | 5mg/kg : 作用なし 15 mg/kg : 血圧低下、心拍 数減少 50 mg/kg : 呼吸回数減少、 血圧低下、著明な心拍数減 少 |

— : 該当なし

次頁に続く

前頁より続く

| 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 |
|------------------------------------|-------------------------------------|--|------------|--|----------------------------|--|
| 3. 自律神経系及び平滑筋 | | | | | | |
| 1) 摘出回腸 a) 自動運動 (ウサギ) | 摘出回腸 | (g/mL) 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | ♂ n=3 | (g/mL) 10 ⁻⁶ | (g/mL) 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ g/mL : 添加直後筋弛緩 (1/3 例) 2 分後以降非律動性収縮多 発(1/3 例), 収縮抑制(3/3 例, 平均 19%) 10 ⁻⁴ g/mL : 筋弛緩(2/3 例), 著明な収縮 抑制(3/3 例, 平均 72%) |
| b) 各 agonist に 対する作用 (モルモット) | 摘出回腸 (DMSO) 単独作用 | (g/mL) 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | ♂ n=5 | (g/mL) 10 ⁻⁵ | (g/mL) 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁴ g/mL : 弛緩 (8/15 例) |
| | 摘出回腸 (DMSO) ACh 収縮 | 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | | | | 10 ⁻⁴ g/mL : 抑制(5/5 例) |
| | 摘出回腸 (DMSO) Hist 収縮 | 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | | | | 10 ⁻⁴ g/mL : 抑制(5/5 例) |
| | 摘出回腸 (DMSO) BaCl ₂ | 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | | | | 10 ⁻⁴ g/mL : 抑制(5/5 例) |
| 2) 摘出輸精管 (ラット) | 摘出 輸精管 (DMSO) 単独作用 | (g/mL) 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | ♂ n=5 | (g/mL) 10 ⁻⁴ | (g/mL) — | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL : 作用なし |
| | | 摘出 輸精管 (DMSO) NA 収縮 | | 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁴ |
| 4. 消化管 | | | | | | |
| 1) 胃液分泌 (ラット) | 十二指 腸内 (コーン油) | 5 15 50 | ♂ n=7 | 15 | 50 | 5, 15 mg/kg : 作用なし 50 mg/kg : 胃液量及び総酸 度の増加(P<0.05) |
| 2) 炭末輸送能 (マウス) | 経口 (コーン油) | 5 15 50 | ♂ n=10 | 50 | — | 5, 15, 50 mg/kg : 作用なし |
| 5. 末梢神経系 | | | | | | |
| 1) 横隔膜神経筋 標本 (ラット) | 横隔膜神 経筋標本 (DMSO) | (g/mL) 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | ♂ n=5 | (g/mL) 10 ⁻⁵ | (g/mL) 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ g/mL : 作用なし 10 ⁻⁴ g/mL : 18~36%の筋 収縮力の増加(5/5 例) |
| 6. 血液 | | | | | | |
| 1) 血液凝固 2) (ラット) | 経口 (コーン油) | 5 15 50 | ♂ n=6 | 50 | — | 5, 15, 50 mg/kg 作用なし |
| 2) 溶血試験 (ウサギ) | 2%赤血 球液 (DMSO) | (g/mL) 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ | ♂ n=3 | (g/mL) 10 ⁻⁴ | — | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL : 作用なし |

— : 該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.A その他の毒性

8.A.1 マウスを用いた混餌投与による 28 日間免疫毒性試験 (資料 No. T-8.1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以上の結果から、ホスチアゼートのマウスを用いた4週間反復混餌投与免疫毒性試験において、ヒツジ赤血球に対する抗体産生能を指標とする免疫毒性は認められなかった。したがって、本試験の免疫毒性に対する無影響量は 200 ppm (雌：44 mg/kg 体重/日)と考えられた。

8.10 製剤毒性

8.10.1 ホスチアゼート 1%粒剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.1)

試験機関

報告書作成年 1990 年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1%粒剤

供試動物： SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹、投与時 5 週齢、
体重 雄 93.5~105.2 g、雌 86.3~94.7 g

観察期間： 14 日間

投与方法： 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC)水溶液を媒体として用い、20 mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与

観察・検査項目：臨床症状及び生死を 14 日間観察。投与直前、投与 1、3、7 及び 14 日後に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

| 投与方法 | 経 口 | |
|---------------------------------------|-----|--------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | 2048、2560、3200、4000、5000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 雄 | > 5000 |
| | 雌 | 4000~5000 |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 雄 | 投与後 2 日目 |
| | 雌 | 投与後 1 日目~2 日目 |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雄 | 投与後 1 時間目に発現、5 日目までに消失 |
| | 雌 | 投与後 30 分目に発現、6 日目までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | < 2048 |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | 4000 |

中毒症状としては、雄雌共に自発運動の低下のほか、うずくまり、呼吸数減少、深呼吸、体温低下、流涙、眼振、虚脱、振戦、流涎、褐色尿等が、また雄で紅涙、雌で蒼白、発声、削瘦、下腹部の汚れ、尾部損傷等がみられた。これらの症状は、尾部損傷を除いて投与 6 日後までに消失した。死亡は雄雌共に 5000 mg/kg 群でみられ、投与 1 日後に雌 2 例、投与 2 日後に雄 1 例雌 2 例が死亡した。

雄雌共に投与 1 日後に、体重増加抑制又は減少がみられ、その後、数例の一過性の減少又は増加抑制がみられたが、ほぼ順調な体重増加を示した。

途中死亡例の剖検では、雄雌で肺のうっ血、雄で脾臓の退色、雌で腎臓の髓質赤色、胃内黒色

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

内容物、腺胃の粘膜黒色部、口から胸部又は口から腹部の湿潤、口から腹部の汚れがみられた。生存例の剖検では 4000 mg/kg 群の雌 1 例に前胃の粘膜肥厚がみられたが、他の動物では検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

8.10.2 ホスチアゼート 1%粒剤のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.2)

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1%粒剤

供試動物： ICR系 (CD1)マウス、1群雌雄各5匹、投与時5週齢、
体重 雄 21.0~22.9 g、雌 19.2~20.7 g

観察期間： 単回投与後 14日間観察

投与方法： 0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液を媒体として用い、20 mL/kgの容量で一晩絶食後に経口投与

観察・検査項目：臨床症状及び生死を14日間観察。投与直前、投与1、3、7及び14日後に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

| | |
|----------------------------|--|
| 投与方法 | 経口 |
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 2000、5000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雌雄共 > 5000 |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 雌雄共 検体投与に起因する死亡なし |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雄 投与後 15分目に発現、4日目までに消失 雌 投与後 30分目に発現、1日目までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 < 2000 |
| 死亡例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、5000 mg/kg 投与群で、雌雄のほとんどの動物が自発運動の低下、雄の数例で呼吸数減少、体温低下、眼瞼下垂、流涙等がみられたが、4日目までに回復した。2000 mg/kg 投与群では、雌雄各1例で一過性の自発運動の低下がみられた。

体重は雌雄共に順調に増加した。

最終剖検時にはほとんどの動物に異常がみられなかったが、5000 mg/kg 群の雄の中に、肺のうっ血、胸膜炎、灰緑色巣等感染症を疑わせる所見がみられた動物が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.3 ホスチアゼート 1%粒剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-1.3)

試験機関

報告書作成年 1990年【GLP 対応】

検体の純度：ホスチアゼート 1%粒剤

試験動物： SD系ラット、1群雌雄各5匹、投与時7週齢、
体重 雄 245.4~268.3 g、雌 175.8~191.9 g

観察期間： 単回投与後 14日間観察

試験方法： 剃毛した軀幹背部に (4×5 cm)、検体を蒸留水で湿らせ、24時間閉鎖貼布。

試験項目： 臨床症状及び生死を 14日間観察。投与直前、1、3、7及び 14日目に体重を測定。
死亡動物及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

| 投与方法 | 経 皮 | |
|--------------------------------|-----|---------------|
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雌雄共 | > 2000 |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 雌雄共 | 検体投与に起因する死亡なし |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雌雄共 | 異常症状なし |
| 毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | 2000 |
| 死亡例の認められなかった最 高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | 2000 |

雌雄いずれにも中毒症状は認められなかった。

体重について、雄では正常に増加した。雌については投与 1 日後に平均体重の減少がみられたが、その後回復した。

剖検所見では、雌雄いずれにも、主要な組織器官に特記すべき変化異常は認められなかった。

8.10.4 ホスチアゼート 1%粒剤のラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 No. TF-1.4)

試験機関

報告書作成年 1990 年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1%粒剤

供試動物： SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹、暴露時 6 週齢、
体重 雄 199.5~224.2 g、雌 145.8~167.7 g

観察期間： 14 日間

暴露方法： 検体を空气中粉体限界濃度として設定した 1.60 mg/L の濃度となるように混合させた空気を 100 L/分の流量で、動物を収容した暴露室 (容積 380 L) に導入して 4 時間に亘り全身暴露した。実測濃度は 1.79 mg/L であった。検体名目濃度=検体消費量 ÷ (空気流量 × 暴露時間) は 99.5 mg/L、検体実測濃度=有効成分実測濃度 ÷ (有効成分含有率 × 1000) は 30.3 µg/L であった。

暴露条件；

| | | |
|--------------------------|---------------|-------|
| 設定濃度 (mg/L) | 1.6 | |
| 実際濃度 (mg/L) | 2.63 | |
| 粒子径分布 (%) | 60 分 | 180 分 |
| 11µm 以上 | 25.39 | 24.47 |
| 7.0~11µm | 25.04 | 26.77 |
| 4.7~7.0µm | 32.59 | 33.65 |
| 3.3~4.7µm | 13.72 | 13.19 |
| 2.1~3.3µm | 2.06 | — |
| 1.1~2.1µm | — | — |
| 0.65~1.1µm | 0.17 | 0.76 |
| 0.43~6.5µm | — | 0.76 |
| 0.43µm 未満 | 1.03 | 0.38 |
| 空気力学的質量中位径 (µm) | 7.53~7.64 | |
| 呼吸可能な粒子 (<4.7µm) の割合 (%) | 16.98 | 15.09 |
| チャンバー容積 | 380 L | |
| チャンバー内通気量 | 100 L/ 分 | |
| 暴露条件 | ダスト 4 時間 全身暴露 | |

観察・検査項目：

一般症状及び生死；暴露中、暴露終了後 2 時間までは頻繁に、翌日から暴露後 14 日までは毎日 1 回観察した。

体 重；暴露日、暴露後 1、3、7 及び 14 日後に測定した。

剖 検；全例について暴露後 14 日に屠殺して検査した。

結 果：

| 投与方法 | | 吸 入 |
|------------------------|--------|----------------|
| 暴露濃度 | (mg/L) | 雌雄共 2.63 |
| LC ₅₀ | (mg/L) | 雌雄共 >2.63 |
| 死亡開始時間及び終了時間 | | 雌雄共 死亡なし |
| 症状発現時間及び消失時間 | | 雌雄共 暴露中～暴露終了まで |
| 毒性徴候の認められなかった 最高投与量 | (mg/L) | 雌雄共 < 2.63 |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 | (mg/L) | 雌雄共 2.63 |

暴露中は全例に自発運動低下がみられたが、暴露終了までにみられなくなった。暴露終了後は何の異常もみられなかった。

暴露 1 日後に雄 3 例、雌 3 例に体重の減少がみられたが 3 日後には回復し、以後全例において順調に増加した。

肉眼的病理検査では、死亡動物及び生存動物とも何ら特記すべき変化は認められなかった。

8.10.5 ホスチアゼート 1%粒剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (資料 No. TF-1.5)

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1%粒剤

供試動物：日本白色種ウサギ、雄、3ヶ月齢、体重 2.37~2.82 kg、1群 6匹

観察期間：10日間

投与方法：検体適用約 24 時間以上前にウサギの体幹背部を除毛して、その除毛域に 2ヶ所 (A・B)の検体適用区画を設けた。検体 0.5 g を蒸留水で湿らせて塗布した 2.5 cm 角のリント布を適用区画に貼付し、更にその上を伸縮包帯で被覆した。適用 4 時間後にリント布を取り除き、生理食塩水で皮膚に残った検体を拭き取った。

観察項目：貼付除去 1、24、48、72 時間後及び 7、10 日後に「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」(59 農蚕第 4200 号)に従って皮膚の刺激性変化 (紅斑及び痂皮、浮腫) を観察、採点した。皮膚刺激性の評価は GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals)の基準に従って行った。(申請者判断) また、一般状態の観察を毎日 1 回、体重の測定を適用日、適用 7 及び 10 日後に実施した。

結果：観察された刺激性変化の結果を次頁の表に示した。

検体投与 1 時間後から 72 時間後にかけて、3/6 例に弱い紅斑(評点 1)が認められたが、7 日後以降消失した。それ以外の皮膚の刺激性反応は認められなかった。

投与 10 日後において 1 例に僅かな体重減少があったが、すべての動物において一般状態の異常は観察されなかった。

本剤の投与により弱い紅斑(評点 1)が一部の動物に認められたが、GHS 分類によると、本剤は分類外であった。以上の結果から、ホスチアゼート 1%粒剤はウサギの皮膚に対する刺激性は、極く軽度であると判断された。

表 皮膚反応の評価点

| 動物番号 | 観察項目 | 最高評点 | 暴露開始後における皮膚反応評点 | | | | | | |
|------|-------|-------|-----------------|------|------|------|-----|-----|---|
| | | | 1時間 | 24時間 | 48時間 | 72時間 | 7日 | 10日 | |
| 1 | A | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | B | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | A | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | B | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | A | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | B | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | A | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | B | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | A | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | B | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | A | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | B | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 48 | 2 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | |
| | 浮腫 | 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0.2 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | |
| | 浮腫 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | |

8.10.6 ホスチアゼート 1%粒剤のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-1.6)

試験機

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1%粒剤

供試動物： 日本白色種ウサギ、雄、3カ月齢、体重 2.55～3.04 kg、
非洗眼群 6匹、洗眼群 2群 各 3匹

観察期間： 96時間

投与方法： 両眼の異常及び角膜損傷のないことを確認した 12匹のウサギの左眼結膜嚢内に検体 0.1g を適用し、検体の流失を防ぐため、1秒間上下眼瞼を軽く合わせた。洗眼群のうち、3匹を洗眼群-1として適用 2分後に 1分間洗眼し、別の 3匹を洗眼群-2として適用 30秒後に 30秒間洗眼を行った。右眼はすべて無処理対照とした。

観察項目： 適用 1、24、48、72 及び 96 時間後に一般状態及び眼の反応を観察した。また、体重を適用日及び 96 時間後に測定した。眼反応の採点は Draize (1959)の基準に従って行い、GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals)の分類に従って刺激性を評価した。(申請者判断)

結 果： 眼反応の採点結果を次頁の表に示した。

非洗眼群；角膜及び虹彩には刺激性反応は認められなかった。結膜では適用 1 時間後から全例に明かな充血(評点 1)が認められたが、96 時間後までにすべて消失した。結膜の点状出血が 1/6 例に認められた。また、正常よりやや多い程度の分泌物の生成がみられたが、72 時間後までにすべて消失した。

洗眼群； 両洗眼群とも角膜及び虹彩には刺激性反応は認められなかった。結膜では、適用 1 時間後から、洗眼群-1 に全例で明かな充血が認められ、洗眼群-2 に全例で明らかな出血が認められたが、それぞれ 72 時間後及び 48 時間後までにすべて消失した。洗眼群-1 の 1 例に、正常より少し多い程度の分泌物の生成がみられたが、24 時間後には消失した。一部の動物に体重減少が認められたが、いずれの動物も一般状態は良好であった。

本剤の投与により、観察期間を通じて陽性の刺激性反応は観察されず、GHS 分類では本剤の刺激性は分類外であった。以上の結果より、ホスチアゼート 1%粒剤のウサギの眼に対する刺激性は極く軽度であると判断した。

眼刺激性採点表（非洗眼群）

| 動物番号 | 観察項目 | | 最高 評点 | 適用後時間 | | | | | |
|------------------|------|-----|----------|-------|-------|-------|-------|-------|---|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 96 時間 | |
| 非 洗 眼 群 | 1 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1* | 1* | 1 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 結膜 | | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 分泌物 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 5 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 分泌物 | 3 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | |
| 6 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 分泌物 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 合計 | | | 660 | 24 | 22 | 16 | 4 | 0 | |
| 平均 | | | 110.0 | 4.0 | 3.7 | 2.7 | 0.7 | 0.0 | |

*：点状出血あり

Draize (1959)の基準による評価点（最高 110 点）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

眼刺激性採点表 (洗眼群)

| 動物番号 | 観察項目 | | 最高 評点 | 適用後時間 | | | | |
|------------------|------|-----|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 96 時間 |
| 洗眼群 1 (3 匹平均) | 角膜 | 程度 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 面積 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1.0 | 1.0 | 0.7 | 0.0 | 0.0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 分泌物 | 3 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 合計 | | 110.0 | 2.7 | 2.0 | 1.3 | 0.0 | 0.0 |
| 洗眼群 2 (3 匹平均) | 角膜 | 程度 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 面積 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 浮腫 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 分泌物 | 3 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 合計 | | 110.0 | 2.7 | 2.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

Draize (1959)の基準による評価点 (最高 110 点)

8.10.7 ホスチアゼート 1%粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料 No. TF-1.7)

試験機関

報告書作成年 1990年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1%粒剤

供試動物：Hertly系モルモット、雌、1群20匹、4～5週齢、体重307～392g

観察期間：48時間

試験操作：[Maximization法]

感作 (皮内感作)；肩甲骨上の皮膚を刈毛した 2×4cm の範囲に、Freund Complete Adjuvant (FCA)乳化液、0.625%の検体水懸濁液、0.625%の検体を含む FCA 乳化液をそれぞれ正中線を対称軸とした左右に 1 対ずつ 0.05 mL を皮内注射した。
陽性対照群では、検体の代わりに 0.1%の dinitrochlorobenzene (DNCB)を使用して同様の操作を行った。対照群には、注射用蒸留水を 1 対、FCA 乳化液を 2 対ずつ同様に皮内注射した。

感作 (経皮感作)；皮内注射 6 日後に、検体群及び対照群の皮内注射部位を刈毛し、ワセリンを溶媒とした 10%ラウリル硫酸ナトリウムを塗布した。
皮内注射 7 日後、25%の検体懸濁液 0.2 mL を含ませたリント布 (2×4 cm)を皮内注射部位に貼付し、その上を更に被覆して 48 時間閉塞貼付した。
対照群には注射用蒸留水を、DNCB 群では 0.5% DNCB のエタノール溶液を用いてそれぞれ同様に処理した。

惹起；経皮感作開始の 13 日後、すべての動物の左右腹側部を刈毛し、検体群及び対照群では、左腹側部に 25%及び 2.5%の検体を、右腹側部に注射用蒸留水を、それぞれ 0.1 mL ずつリント布 (2×2 cm)に含ませて貼付し、経皮感作と同様の方法で 24 時間閉塞貼付した。
DNCB 群では 0.1%の DNCB エタノール溶液を貼付した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

観察項目： 惹起貼付除去の 24 及び 48 時間後に貼付部位の皮膚反応を Magnusson と Kligman (1996)の基準に従って判定し、群平均評点を算出すると共に、検体群と対照群との皮膚反応の程度及び頻度を比較して、感作反応を示す動物の有無を検討した。また、一般状態を毎日 1 回観察した。

結果： 惹起後の観察結果を下表に示す。
 一般状態及び体重の推移ではいずれの動物にも異常が認められなかった。
 検体群では、25%での惹起により、惹起貼付除去24及び48時間後にそれぞれ8/20及び3/20例に散在性の軽度の紅斑(評点1)が認められ、2.5%での惹起により、惹起貼付除去24及び48時間後にそれぞれ4/20及び1/20例に散在性の軽度の紅斑(評点1)が認められた。

一方、対照群においても、25%での惹起により、惹起貼付除去24時間後に6/20例に散在性の軽度の紅斑及び瀰漫性中等度の紅斑(評点1~2)が、48時間後の4/20例に散在性の軽度の紅斑(評点1)が認められ、2.5%での惹起により、惹起貼付除去24及び48時間後のそれぞれ7/20及び4/20例に散在性軽度の紅斑(評点1)が認められた。
 一方、陽性対照群では、惹起貼付除去24及び48時間後の全例に強度紅斑と浮腫(評点3)が認められた。

検体貼付により認められた皮膚反応は、陰性対照群と比較して反応の程度及び頻度に明かな差を認めなかった。

以上の結果から、ホスチアゼート1%粒剤は、皮膚感作性を有さないものと判断した。

表 各観察時間における皮膚反応の採点結果

| 群 | | | 供試 動物数 | 皮膚反応動物数 | | | | | | | | 陽性率 | | | |
|------------------|-----------------------------|--------------|-----------|---------|---|---|--------|-------|-------|---|----|-----|-------|-----|-----|
| | | | | 24時間後 | | | | 計 | 48時間後 | | | | | | |
| 感作 | 惹起 | 皮膚反応評点 | | | | 計 | 皮膚反応評点 | | | | 時間 | | | | |
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | | 0 | 1 | 2 | 3 | 24 | 48 | | | |
| 検 体 | 検体皮内 0.625% 貼付 25% | 検体 25% | 20 | 12 | 8 | 0 | 0 | 8/20 | 17 | 3 | 0 | 0 | 3/20 | 40 | 15 |
| | | 検体 2.5% | 20 | 16 | 4 | 0 | 0 | 4/20 | 19 | 1 | 0 | 0 | 1/20 | 20 | 5 |
| | 注射用 蒸留水 | 検体 25% | 20 | 14 | 5 | 1 | 0 | 6/20 | 16 | 4 | 0 | 0 | 4/20 | 30 | 20 |
| | | 検体 2.5% | 20 | 13 | 7 | 0 | 0 | 7/20 | 16 | 4 | 0 | 0 | 4/20 | 35 | 20 |
| 陽 性 対 照 | DNCB 皮内 0.1% 貼付 0.5% | DNCB 0.1% | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 | 10/10 | 0 | 0 | 0 | 10 | 10/10 | 100 | 100 |

8.10.8 ホスチアゼート 1.5%粒剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-2.1)

試験機関

報告書作成年 1999年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1.5%粒剤

供試動物： SD系ラット、1群雌雄各5匹、投与時6週齢、
体重 雄 134~165 g、雌 121~150 g

観察期間： 14日間

試験方法： コーン油を媒体として用い、10 mL/kgの容量で投与一晩絶食後に経口投与

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察。投与前、投与7及び14日目に体重を測定した。死亡及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

| 投与方法 | 経 口 | |
|---------------------------------------|-----|--------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | 2048、2560、3200、4000、5000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 雄 | > 5000 |
| | 雌 | 3741 (3375~4147) |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 雄 | 投与後1日目 |
| | 雌 | 投与後3時間~2日目 |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雌雄共 | 投与後1時間目に発現、生存例では4日目までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | < 2048 |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 | 4000 |
| | 雌 | 3200 |

投与に起因する症状として、円背位、自発運動低下、起立不能、後肢麻痺、振戦、呼吸緩徐、呼吸困難、縮瞳、流涙、紅涙、眼周囲赤色付着物、流涎、鼻吻部赤色付着物、鼻吻部被毛の汚れ、頸腹部脱毛、外陰部被毛の汚れ及び肛門周囲部被毛の汚れが認められた。

生存例は雌雄共に、投与7日及び14日目において全例が体重増加を示した。

死亡例の剖検所見では、肺暗赤色化、腺胃部黒色斑散在、胃類白色内容物、小腸類白色内容物、小腸黒色内容物、大腸黒色内容物、眼周囲赤色付着物、鼻吻部被毛の汚れ、外陰部被毛の汚れ及び肛門周囲被毛の汚れが認められた。生存例の剖検では投与に起因する変化は認められなかった。

8.10.9 ホスチアゼート 1.5%粒剤のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-2.2)

報告書作成年 1999 年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1.5%粒剤

供試動物： ICR 系マウス、1 群雌雄各 5 匹、投与時 6 週齢、
体重 雄 29.1~34.6 g、雌 19.2~25.9 g

観察期間： 21 日間

投与方法： コーン油を媒体として用い、10 mL/kg の容量で投与 2 時間前絶食後に経口投与

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 21 日間観察。投与前、投与 7、14 及び 21 日目に体重を測定した。死亡及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

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 | なし |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雌雄共 | 投与後 1 時間目に発現、生存例では 4 日目までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | < 5000 |
| 死亡例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、5000 mg/kg 群の雌において自発運動能低下、縮瞳及び流涙が投与後 3 時間目から投与 1 日目まで認められた。雌雄共に死亡は認められなかった。

投与 7 日目において対照群及び 5000 mg/kg 群の雌各 1 例に体重減少が認められた。また、投与後 14 及び 21 日目において 5000 mg/kg 群雌 1 例で体重減少が認められたが、その他は順調な増加を示した。

剖検所見では、投与後 14 及び 21 日目に体重減少を示した雌動物で食道の狭窄、対照群の雌 1 例及び 5000 mg/kg 群の雌 2 例に脾臓腫大、5000 mg/kg 群の雌 1 例に胸腔内嚢胞及び腹腔内脂肪硬化が認められたが、何れの所見も被験物質投与に関連した変化とは考えられなかった。その他の群では異常は認められなかった。

8.10.10 ホスチアゼート 1.5%粒剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-2.3)

試験機関

報告書作成年 1999年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 1.5%粒剤

供試動物： SD系ラット、1群雌雄各5匹、投与時雌雄7週齢、
体重 雄 250~288 g、雌 190~207 g

観察期間： 14日間

投与方法： 脱イオン水 0.5 mL で湿らせた検体を剃毛した背部中央(4×5 cm)に 24時間閉塞貼付した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14日間観察。投与前、投与7及び14日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

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

中毒症状は、雌雄共に観察されず、死亡も認められなかった。また、体重値は雌雄共に順調に増加した。剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

8.10.11 ホスチアゼート 10%粒剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-3.1)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 10%粒剤

供試動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹、体重 雄 230～282g、雌 231～275g

観察期間：14日間

投与方法：検体を非イオン水に懸濁し、10 mL/kgの容量で16～20時間絶食後に経口投与。

観察・検査項目：臨床症状及び生死を14日間観察。絶食前、投与直前、投与7及び14日後に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結果：

| 投与方法 | 経口 |
|---------------------------------------|--|
| 投与量 (mg/kg) | 雄 265、320、375、420、450、530 雌 190、205、225、265 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 雄 410 (360～440) 雌 205～265 |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 雄 投与後1日後～投与3日後 雌 投与後2日後～投与4日後 |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雄 投与後1時間目に発現、生存例では投与6日後までに消失 雌 投与後1時間目に発現、生存例では投与8日後までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 < 265 雌 < 190 |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 375 雌 205 |

投与に起因する徴候としては、主に運動量減少、攣縮、振顫、流涙、肛門性器の汚れ、排便量の減少、運動失調等であった。これらの徴候は、投与後1時間より発現し、生存例では投与8日後までに消失した。死亡は、投与3日後まで起こった。

雌雄共に生存例の体重は順調に増加した。

剖検所見として、途中死亡例には、胃及び小腸内の黒色内容物、小腸及び腎臓の暗調化、胃の拡張等が認められたが、生存例には投与に起因する変化はみられなかった。

8.10.12 ホスチアゼート 10%粒剤のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-3.2)

試験機関

報告書作成年 1994年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 10%粒剤

供試動物： ICR系(CD1)マウス、1群雌雄各5匹、投与時6週齢、
体重 雄 27.4~35.1 g、雌 21.8~26.4 g

観察期間： 14日間

投与方法： 微粉末化した検体を 1%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、10 mL/kg の容量で約 2 時間絶食後に経口投与

観察・検査項目：臨床症状及び生死を 14 日間観察。投与前、投与後 7 及び 14 日に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

| 投与方法 | 経 口 |
|---------------------------------------|--|
| 投与量 (mg/kg) | 雄 648、778、933、1120、1344 雌 540、648、778、933、1120 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界) | 雄 852 (764~950) 雌 684 (603~776) |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 雄 投与後 6 時間目~投与 4 日後 雌 投与後 6 時間目~投与 2 日後 |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雄 投与後 1 時間目に発現、生存例では投与 1 日後までに消失 雌 投与後 1 時間目に発現、生存例では投与 3 日後までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 < 648 雌 < 540 |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 648 雌 540 |

投与に起因する徴候は、自発運動量低下、沈静、振戦、うずくまり、腹臥位、呼吸緩徐、異常歩行、流涙、眼脂及び流涎であった。これらの徴候は、投与後1時間より発現し、生存例では投与3日後までに消失した。死亡は、投与4日後まで起こった。

生存例の体重は、雌雄共に順調に増加した。

剖検所見として、途中死亡例には、胃及び小腸内の黒色内容物が認められたが、生存例には投与に起因する変化はみられなかった。

8.10.13 ホスチアゼート10%粒剤のウサギにおける急性経皮毒性試験 (資料No. TF-3.3)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 10%粒剤

供試動物： New Zealand White 種ウサギ、1群雌雄各5匹、
体重 雄 2350~2950 g、雌 2400~2650 g

観察期間： 14日間

投与方法： 投与前に電気カミソリで剃毛した背部及び側部に (4×8 インチ)、検体を非イオン水で湿らせ、24時間閉鎖貼布。

観察・検査項目：臨床症状及び生死を14日間観察。投与直前、投与7及び14日後に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。投与部位については Draize 法に従い、投与後1、3、7、10及び14日後に紅斑、痂皮及び浮腫について採点した。

結 果：

| 投与方法 | 経 皮 |
|----------------------------|---|
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雌雄共 >2000 |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 雌雄共 なし |
| 症状発現時間及び消失時間 | 雄 投与後2時間半後に発現、皮膚刺激反応後投与7日後までに消失 雌 投与後1時間後に発現、皮膚刺激反応後投与7日後までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 < 2000 |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 2000 |

投与期間中に死亡はなかった。臨床徴候としては、雌雄共に投与日に軟便がみられ、また貼付部位には投与直後から皮膚刺激反応がみられ、投与3日後の検査でも紅斑がみられたが、投与7日後の検査時には回復していた。

体重は雌雄共に順調に増加した。

剖検所見として、雌雄いずれにも検体投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

8.10.14 ホスチアゼート 10%粒剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (資料 No. TF-3.4)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 10%粒剤

供試動物： New Zealand White 種ウサギ、1群雌雄各3匹、体重 2.30~2.75 kg

観察期間： 7日間

投与方法： 検体 0.5 g を 0.2 mL の脱イオン水で湿らせ、除毛した動物の背部皮膚 (1 インチ四方) に適用し、その上にガーゼパッチを貼付した。更にパッチ固定のため弾性テープで被覆した。検体適用 4 時間後にパッチを取り除き、皮膚に残った検体を水で濡らしたタオルペーパーで拭き取った。

観察項目： 適用終了の 30~60 分、24、48、72 時間後並びに 4 日目から 7 日目に皮膚刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無を観察し、Draize の方法に従って採点した。採点結果をもとに、刺激性の程度を GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals) 分類に従って評価した。

結果： 刺激性変化の観察結果を次頁の表に示す。

軽微~明確な紅斑(評点 1~2)が検体投与 30 分から 60 分後に 5 匹で認められた。紅斑は経時的に回復し、72 時間後までに 3 匹で回復した。残りの 2 匹においても 7 日後までに回復した。また、軽微な浮腫(評点 1)が 30 分から 60 分後に 1 匹で認められたが、それ以外では浮腫は認められなかった。検体の刺激性は、GHS 分類によると、区分外に分類された。

以上の結果から、ホスチアゼート 10%粒剤は、ウサギの皮膚に対し極く軽微な刺激性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

| 動物番号 | 観察項目 | 最高 評点 | 暴露開始後における皮膚反応評点 | | | | | | | | |
|-------------|-------|----------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | 分 | 時間 | | | | 日 | | | |
| | | | 30-60 | 24 | 48 | 72 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| 201209 雄 | 紅斑・痂皮 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 201210 雄 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 201211 雄 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 201212 雌 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 201213 雌 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 201214 雌 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 24 | 6 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| | 浮腫 | 24 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 1 | 0.5 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.0 |
| | 浮腫 | 4 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

8.10.15 ホスチアゼート 10%粒剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験 (資料 No. TF-3.5)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 10%粒剤

供試動物： New Zealand White 種ウサギ、1群雌雄各3匹、体重 2.15~2.65 kg

観察期間： 4日間

投与方法： 粉末にした検体 0.1 g を各動物の右眼結膜嚢に投与した。検体の流失を防ぐため、投与後約 1 秒間、上下眼瞼を閉じ合わせた。洗眼は実施せず、左眼は無処理対照として用いた。

観察項目： 検体投与の 1、24、48、72 時間後及び 4 日後に眼刺激性変化を検査し、採点した。採点は **Draize** 法に従った。また、一般状態の変化を毎日観察した。

結果： 眼刺激性変化の観察結果を次頁の表に示す。

角膜、虹彩への影響は認められなかった。結膜への刺激（発赤、浮腫及び分泌物）が 1 時間後の観察で全動物に認められた。軽度の発赤が 2 匹に、また、軽度の分泌物が 1 匹にそれぞれ検体投与 72 時間後の観察まで認められた。検体投与 4 日後以降は全動物に刺激性変化は認められなかった。また、一般状態の変化も観察期間を通じて認められなかった。

以上の結果より、GHS 分類によると、ホスチアゼート 10%粒剤は、ウサギの眼に対して無刺激性に分類され、ホスチアゼート 10%粒剤の眼刺激性は軽微であると判断した（申請者が判定）。

眼刺激性採点表

| 動物番号 | 観察項目 | | 最高 評点 | 適用後時間 | | | | |
|-------------|------|----|----------|-------|------|------|------|-----|
| | | | | 1時間 | 24時間 | 48時間 | 72時間 | 4日 |
| 201221 雄 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 分泌物 | | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 201222 雄 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 分泌物 | | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 201223 雄 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 分泌物 | | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 201224 雌 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 分泌物 | | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 201225 雌 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 分泌物 | | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | |
| 201226 雌 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | 浮腫 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 分泌物 | | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| 合計 | | | 660 | 58 | 28 | 18 | 6 | 0 |
| 平均 | | | 110.0 | 9.7 | 4.7 | 3.0 | 1.0 | 0.0 |

8.10.16 ホスチアゼート 10%粒剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. TF-3.6)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 10%粒剤

供試動物： Hartly 系 HSD : (HA) BR モルモット、体重 301~383g、1 群 20 匹

観察期間： 48 時間

試験操作： [Buehler 法]

感 作；除毛した背部中央に脱イオン水で 75%に調製した検体 0.4 mL を週 1 回、7 日間おきに 3 週連続で閉塞貼付した。貼付時間は 6 時間とし、陽性対照群には 80%エタノールで 0.3%に調製した dinitrochlorobenzene (DNCB) を検体と同様に貼付した。刺激対照群には検体及び DNCB は貼付しなかった。

惹 起；最終感作の 13 日後に、脱イオン水で 25%に調製した検体を、陽性対照群にはアセトンで 0.075%に調製した DNCB を、それぞれ 0.4 mL ずつ全ての動物に 6 時間閉塞貼付した。貼付部位は、感作時の貼付部位と異なる部位を選択した。

観察項目： 惹起の 24 及び 48 時間後に貼付部位の紅斑及び浮腫の有無等を観察し、下記の基準に従って採点した。

無反応-----0
非常に軽度な(かろうじて確認できる)紅斑 通常非融合性-----0.5(±)
軽度融合性あるいは中等度斑状紅斑-----1
中等度融合性紅斑-----2
浮腫、壊死、痂皮形成を伴うかあるいは伴わない重度紋斑-----3

結 果： 観察結果を次頁の表に示す。

刺激対照群で認められた反応を超えた反応は検体感作群においては認められなかった。一方、陽性対照群においては、全ての動物で刺激対照群を超える皮膚反応が認められた。

以上の結果から、ホスチアゼート 10%粒剤は皮膚感作性を有さないものと判断した。

表 皮膚感作性試験結果

| 群 | | | 供試動物数 | 皮膚反応動物数 | | | | | | | | | | | | 陽性率 | |
|----------|--------------|----------------|-------|---------|---|---|---|--------|-------|-------|---|---|---|----|-------|-----|-----|
| | | | | 24時間後 | | | | | | 48時間後 | | | | | | | |
| 感作 | 惹起 | 皮膚反応評点 | | | | | 計 | 皮膚反応評点 | | | | | 計 | 時間 | | | |
| | | 0 | | ± | 1 | 2 | | 3 | 0 | ± | 1 | 2 | | 3 | 24 | 48 | |
| 検体 | 検体 75% | 検体 25% | 20 | 16 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4/20 | 17 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3/20 | 20 | 15 |
| | 注射用 蒸留水 | 検体 25% | 10 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2/10 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2/10 | 20 | 20 |
| 陽性 対照 | DNCB 0.3% | DNCB 0.075% | 10 | 0 | 0 | 4 | 6 | 0 | 10/10 | 0 | 0 | 3 | 7 | 0 | 10/10 | 100 | 100 |
| | 80% エタノール | DNCB 0.075% | 10 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5/10 | 6 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4/10 | 50 | 40 |

8.10.17 ホスチアゼート 30%液剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-4.1)

試験機関

報告書作成年 1999年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 30%SL

供試動物： SD系ラット、投与時6週齢、1群雌雄各5匹、
体重 雄 120~140g、雌 110~130g

観察期間： 14日間

投与方法： 脱イオン水を媒体として用い、20 mL/kgの容量で一晩絶食後に経口投与した。予備試験において 40 mg/kgで雌 0/3、100 mg/kgで雄 0/3、雌 3/3及び250 mg/kgで雄 3/3、雌 3/3の死亡率が得られたため、公比1.60で5用量群 (38、61、98、156及び250 mg/kg)を設けた。

観察・検査： 中毒症状及び生死を14日間観察した。投与前、投与7及び14日目に体重を測定。死亡及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

| 投与方法 | 経 口 |
|---|--|
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 38、61、98、156、250 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界範囲) | 雄 210 (171~257) 雌 124 (算出不能) |
| 死亡開始及び 終了時期 | 雄 投与後3時間~1日目 雌 投与後3時間~2日目 |
| 症状発現及び 消失時期 | 雄 投与後30分後に発現、生存例では5日目までに消失 雌 投与後30分後に発現、生存例では3日目までに消失 |
| 毒性徴候の認められ なかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 38 雌 <38 |
| 死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg) | 雄 156 雌 98 |

中毒症状としては、腹臥位、横臥位、円背位、起立不能、自発運動能低下あるいは消失、呼吸緩徐、呼吸困難、昏迷、振戦、痙攣、後肢伸展、体温低下、流涎、眼球突出、縮瞳、流涙、眼周囲部、鼻吻部、外陰部及び肛門周囲部被毛の汚れが認められた。これらの症状は投与後30分より認められ、生存例では投与後5日目までに全て症状が消失した。

死亡例の剖検所見では、気管内腔の泡沫液、肺の赤色化及び赤色斑散在、腺胃部赤色あるいは黒色斑散在、胃の黒色内容物及びガス貯留、小腸の赤色化、黒色内容物及びガス貯留が認められた。生存例の剖検では投与に起因する変化は認められなかった。

8.10.18 ホスチアゼート 30%液剤のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-4.2)

試験機関

報告書作成年 1999年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 30%SL

供試動物：ICR系マウス、投与時6週齢、1群雌雄各5匹、体重雄25~30g、雌20~25g

観察期間：14日間

投与方法：脱イオン水を媒体として用い、20 mL/kgの容量で投与2時間前絶食後に経口投与した。予備試験において100 mg/kgで雄0/3、雌0/3、250 mg/kgで雄0/3、雌3/3及び625 mg/kgで雄3/3、雌3/3の死亡率が得られたため、公比1.60で5用量群(100、160、256、410及び655 mg/kg)を設けた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察。投与前、投与7及び14日目に体重を測定。死亡及び観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結果：

| 投与方法 | 経口 |
|---|--|
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 100、160、256、410、655 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界範囲) | 雄 324 (算出不能) 雌 268 (210~342) |
| 死亡開始及び 終了時期 | 雄 投与後3時間~1日目 雌 投与後3時間~3日目 |
| 症状発現及び 消失時期 | 雄 投与後30分後に発現、生存例では8日目までに消失 雌 投与後30分後に発現、生存例では5日目までに消失 |
| 毒性徴候の認められ なかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 100 |
| 死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg) | 雄 256 雌 160 |

投与に起因する症状として、腹臥位、自発運動能低下あるいは消失、呼吸緩徐、呼吸困難、昏迷、振戦、痙攣、挙尾、体温低下、流涎、眼球突出、縮瞳、流涙、眼周囲部、鼻吻部及び外陰部の被毛の汚れが認められた。

生存例の体重は、256 mg/kg投与群の雄で7日目に減少を示す個体が散見されたが、その後は全例が増加した。

死亡例の剖検所見では、気管内腔の泡沫液、肺の赤色化及び赤色斑散在、胃部の赤色あるいは黒色斑散在、胃の黒色内容物及びガス貯留、小腸の赤色化、黒色内容物及びガス貯留、肝臓の退色、脾臓の退色及び小型化、腎臓の退色が認められた。生存例の剖検では投与に起因する変化は認められなかった。

8.10.19 ホスチアゼート 30%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-4.3)

試験機関

報告書作成年 1999 年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 30%SL

供試動物： SD 系ラット、投与時 7 週齢、1 群雌雄各 5 匹、体重 雄 170~190 g、雌 140~160 g

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を脱イオン水 0.5 mL で湿らせて剃毛した背部中央 (4×5 cm) に 24 時間閉塞貼付した。予備試験において 1000 mg/kg で雄 0/3、雌 2/3 及び 2000 mg/kg で雄 1/3、雌 3/3 の死亡率が得られたため、雌雄とも 0 mg/kg (陰性対照) 及び公比 2.00 で 3 群の計 4 用量群 (0、500、1000 及び 2000 mg/kg) を設けた。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を 14 日間に亘って観察した。投与前、投与 7 及び 14 日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

| 投与方法 | 経 口 | |
|---|--------|------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | 0、500、1000、2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界範囲) | 雄 雌 | >2000 1782 (926~3429) |
| 死亡開始及び終了時間 | 雌 | 投与後 1 日目に認められた |
| 症状発現及び消失時間 | 雄 | 投与後 4 時間後に発現、生存例では 8 日目までに消失 |
| | 雌 | 投与後 4 時間後に発現、生存例では 5 日目までに消失 |
| 毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雌雄共 | <500 |
| 死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg) | 雄 | 2000 |
| | 雌 | 1000 |

中毒症状としては、腹臥位、横臥位、円背位、起立不能、自発運動能低下あるいは消失、呼吸緩徐、振戦、痙攣、後肢伸展、体温低下、流涎、眼球退色、眼球突出、縮瞳、流涙、眼周囲部及び鼻吻部の被毛の汚れが認められた。

生存例の体重はすべて順調に増加した。

死亡例の剖検所見では、気管内腔の泡沫液、肺の赤色化及び赤色斑散在、腺胃部赤色あるいは黒色斑散在、胃の黒色内容物、小腸の赤色化及び黒色内容物が認められた。生存例の剖検では投与に起因する変化は認められなかった。

8.10.20 ホスチアゼート 30%液剤のラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 No. TF-4.4)

試験機関

報告書作成年 1999年[GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 30%SL

供試動物： SD系ラット、1群雌雄各5匹、投与時雌雄6週齢
体重 雄 174~214g、雌 135~173g

観察期間： 14日間

暴露方法： 検体を懸濁させた空気（ミスト）として 100 回/時の流量で、鼻部暴露型吸入チャンバー（気積 18.3 L）を用いて 4 時間に亘って暴露した。動物は個体別にアクリル樹脂製チューブホルダーに固定して、鼻部だけがエアロゾルに暴露するようにした。本試験はホスチアゼート原体の既知 LC₅₀ 値を参考に初回暴露を行い、雌雄の死亡率及び臨床症状から 2 回目以降の目標暴露濃度を決定した。チャンバーへの空気供給量はサーマルマスフローコントローラを用いて 20 L/min に調整した。

暴露条件：

| 平均実測濃度 (mg/L) | 1.39 (雌のみ) | 1.69 | 1.85 | 2.66 | 3.18 |
|----------------------|---------------|------|------|------|------|
| 粒子径分布 (%) | | | | | |
| > 7.07 (µm) | 22.4 | 17.0 | 16.5 | 20.6 | 21.1 |
| 3.85~7.07 | 31.6 | 28.2 | 27.6 | 29.6 | 29.2 |
| 2.15~3.85 | 25.0 | 28.3 | 23.6 | 24.5 | 25.2 |
| 1.17~2.15 | 13.3 | 14.4 | 19.1 | 15.4 | 13.3 |
| 0.16~1.17 | 7.6 | 9.4 | 9.6 | 6.7 | 8.4 |
| 0~0.16 | — | 2.6 | 3.7 | 3.2 | 2.7 |
| 空気力学的質量中位径 (MMAD) | 3.9 | 3.4 | 3.2 | 3.6 | 3.8 |
| 呼吸可能な粒子の割合 (%) | | | | | |
| < 10 µm | 89 | 91 | 91 | 89 | 88 |
| < 4 µm | 51 | 58 | 61 | 55 | 52 |
| チャンバー容積 (L) | 18.3 | | | | |
| チャンバー内通気量 (L/分) | 20.0 | | | | |
| 暴露条件 | ミスト 4時間、鼻部暴露 | | | | |

観察・検査項目：暴露開始2時間後、暴露終了直後、2及び4時間後、以降毎日1回14日間中毒症状及び生死を観察。暴露開始直前、暴露終了後7及び14日目、死亡例はその発見時に個体別に体重を測定した。死亡例はその都度、生存例は暴露終了後14日目に殺処分して剖検に供した。

結 果：

| 投与方法 | | 吸 入 |
|---------------------------------------|---|-------------------------------|
| 平均実測暴露濃度 (mg/L) | | 1.39(雌のみ)、1.69、1.85、2.66、3.18 |
| LC ₅₀ (mg/L) (95%信頼限界幅) | 雄 | 2.78 (1.94~3.98) |
| | 雌 | 1.77 (1.52~2.05) |
| 死亡開始及び終了 時間 | 雄 | 暴露終了直後から開始、暴露後2日目に終了 |
| | 雌 | 暴露終了直後から開始、暴露後4日目に終了 |
| 症状発現及び消失 時間 | 雄 | 暴露終了直後から発現、暴露後4日目に消失 |
| | 雌 | 暴露終了直後から発現、暴露後4日目に消失 |
| 毒性徴候の認められ なかった最高暴露 量(mg/L) | 雄 | <1.69 |
| | 雌 | <1.39 |
| 死亡例の認められ なかった最高暴露 量(mg/L) | 雄 | 1.85 |
| | 雌 | 1.39 |

暴露開始 2 時間後の観察では、いずれの個体においても特記すべき変化は観察されなかった。暴露終了後には、主たる症状として暴露群を問わず雌雄の大多数に、昏迷、腹臥位、起立不能、呼吸緩徐及び深大、低体温、四肢の軽度の振戦、眼球突出、縮瞳、流涎、下腹部湿潤、軽度の拳尾等が観察された。これらの症状は暴露終了直後から同 4 時間後にかけても認められたが暴露 1 日後には生存例の多くで減衰する傾向が認められた。回復は早い個体では暴露 2 日後、遅い個体でも同 4 日後には認められた。生存例の回復過程においては行動不活発、口吻周囲被毛の汚れ、眼周囲被毛の汚れが多数例で観察された。以上の他に二次的变化と考えられる角膜混濁が雄 2 例に観察された。

雌雄共にすべての生存例において暴露後 7 日後及び 14 日後に体重増加が認められた。

暴露当日の死亡例の剖検においては暴露群及び雌雄の別を問わず、口吻から外陰部にかけて腹側面被毛の湿潤が観察された、一部の動物には肺の部分的暗赤色化が認められた。暴露翌日以降の死亡例においては肺の部分的あるいは全体的暗赤色化、腹側面被毛の湿潤、消化管ガス貯留が認められた。一方、観察期間終了後の生存例の剖検では暴露群を問わず雌雄の肺に散在性の灰白色斑が認められた。

8.10.21 ホスチアゼート 30%液剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料 No. TF-4.5)

試験機関

報告書作成年 1999年【GLP 対応】

検体の純度：ホスチアゼート 30%SL

供試動物： New Zealand White 種ウサギ、12 週齢、雌、体重 2.383~2.770 kg、1 群 6 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 検体 0.5 mL を滴下したガーゼパッチ(2.5×2.5 cm)を前日に剃毛した動物の背中の皮膚に貼付した。その上をポリエチレンシート及びサージカルテープで覆い、4 時間閉塞貼付した。貼付終了後、皮膚に残った検体を脱イオン水で洗い流した。

観察項目： 検体の貼付終了 1、24、48 及び 72 時間後に貼付部分の刺激性変化 (紅斑・痂皮、浮腫)の有無を観察し、**Draize** 法に従って採点した。

結果： 刺激性変化の観察結果は次頁の表の通りである。
検体の貼付除去 1、24、48 及び 72 時間後のいずれの観察においても紅斑・痂皮形成、浮腫及びその他の刺激性変化は認められなかった。

以上の結果より、ホスチアゼート 30%SL は、ウサギの皮膚に対し刺激性はないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

| 動物番号 | 観察項目 | 最高評点 | 暴露開始後における皮膚反応評点 | | | |
|------|-------|------|-----------------|-------|-------|-------|
| | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 |
| 1 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 浮腫 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

8.10.22 ホスチアゼート 30%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-4.6)

試験機関

報告書作成年 1999年 [GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 30%SL

供試動物： New Zealand White 種ウサギ、雌、11 週齢、体重 2.265～2.791 kg
非洗眼群 6 匹、洗眼群 2 群 各 3 匹

観察期間： 7 日間

投与方法： 検体 0.1 mL を各動物の左眼の下眼瞼結膜嚢内に投与し、検体の流失を防ぐために上下の眼瞼を 1 秒間閉じ合わせた(A 群)。その後、洗眼群では、3 匹は投与 30 秒後に(B 群)、別の 3 匹は投与 2 分後に(C 群)、それぞれ 30 秒から 1 分間微温水で洗眼した。右眼を無処理対照として用いた。

観察項目： 投与 1、24、48、72 時間後、4 及び 7 日後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省の指針及び Draize の基準に従って採点し、GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals)の分類に従って刺激性の程度を分類した

結果： 刺激性変化の観察結果を別表に示す。

角膜では、非洗眼 A 群の 4 例、洗眼 B 群の 2 例及び洗眼 C 群の全例で検体投与 24 あるいは 48 時間後の観察で評点 1 の角膜領域の一部から 3/4 にわたる混濁が観察された。

角膜の混濁は、A 群及び B 群では投与 72 時間後までに、C 群では投与 4 日後までに消失した。

虹彩では、充血(評点 1)が A 群の 3 例、B 群の全例及び C 群の 2 例に、投与 1 ないし 24 時間後に観察されたが、投与 48 時間までに全例で消失した。

結膜では、投与 1 時間後に、結膜の発赤 (評点 1)が全例に観察され、投与 24 時間後には、評点 2 の発赤が A 群の 4 例、B 群の 2 例及び C 群の全例に観察された。これらの変化は、投与 7 日後までに全例で消失した。

結膜浮腫として、投与 1 時間後から、A 群では評点 2～3、B 群では評点 2、C 群では評点 3 の浮腫が観察された。これらの変化は、投与 4 日後までに全例とも消失した。

分泌物については、投与 1 時間後から、すべての群で評点 1～3 の分泌物が観察された。これらの変化は、投与 4 日後までに全例とも消失した。

非洗眼 A 群に認められた刺激性の変化は、洗眼 B 群及び洗眼 C 群においても認められ、その程度もほぼ同程度であり洗眼による軽減効果は認められなかった。

以上の結果より、ホスチアゼート 30%SL は、ウサギの眼に対して軽度の刺激性を有すると判断された。また、洗眼の効果は認められなかった。

眼刺激性採点表 (非洗眼群)

| 動物番号 | 観察項目 | | 最高 評点 | 適用後時間 | | | | | | |
|--------|------|-----|----------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|---|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 4 日 | 7 日 | |
| 非洗眼群 A | 1 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 2 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 面積 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 虹彩 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| | | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | | | 分泌物 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 5 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 面積 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 虹彩 | | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 分泌物 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 6 | 角膜 | 程度 | 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 面積 | 4 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | 虹彩 | | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| | | 分泌物 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| 合計 | | | 660 | 89 | 80 | 39 | 20 | 6 | 0 | |
| 平均 | | | 110.0 | 14.8 | 13.3 | 6.5 | 3.3 | 1.0 | 0.0 | |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

眼刺激性採点表 (洗眼群)

| 動物番号 | 観察項目 | | 最高 評点 | 適用後時間 | | | | | |
|------------------|----------|-----|----------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | 4 日 | 7 日 |
| 洗眼群 B (3 匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0.0 | 0.7 | 0.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 面積 | 4 | 0.0 | 1.3 | 0.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 虹彩 | | 2 | 1.0 | 0.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1.0 | 1.7 | 1.7 | 0.7 | 0.7 | 0.0 |
| | | 浮腫 | 4 | 2.0 | 1.3 | 0.7 | 0.3 | 0.0 | 0.0 |
| | | 分泌物 | 3 | 2.0 | 1.3 | 0.3 | 0.3 | 0.0 | 0.0 |
| | 合計 | | 110.0 | 15.0 | 18.7 | 8.7 | 2.7 | 1.3 | 0.0 |
| 洗眼群 C (3 匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0.0 | 1.0 | 1.0 | 0.3 | 0.0 | 0.0 |
| | | 面積 | 4 | 0.0 | 1.7 | 1.7 | 0.7 | 0.0 | 0.0 |
| | 虹彩 | | 2 | 0.3 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 結膜 | 発赤 | 3 | 1.0 | 2.0 | 2.0 | 1.3 | 1.0 | 0.0 |
| | | 浮腫 | 4 | 3.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | 分泌物 | 3 | 3.0 | 1.7 | 0.3 | 0.3 | 0.0 | 0.0 |
| | 合計 | | 110.0 | 14.3 | 19.3 | 15.0 | 8.7 | 2.0 | 0.0 |

8.10.23 ホスチアゼート 30%液剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. TF-4.7)

試験機関

報告書作成年 1999年[GLP 対応]

検体の純度：ホスチアゼート 30%SL

供試動物： Hartly 系モルモット、雌、6 週齢、体重 339～414 g、
検体群 1 群 20 匹、陽性対照群 1 群 10 匹

観察期間： 48 時間

試験操作： Maximization 法

皮内感作；肩甲部を刈毛し、[1] 生理食塩水と FCA の乳化物、[2] 1%検体の生理食塩水懸濁液及び[3] 1%検体の生理食塩水懸濁液と FCA の乳化物を、それぞれ左右 1 カ所ずつ 0.1 mL を皮内投与した。陽性対照群は、[2]で 0.1% dinitro-chlorobenzen (DNCB) 流動パラフィン懸濁液、[3]で 0.1%DNCB/FCA/生理食塩水の乳化物に代え同様に皮内注射した。検体及び陽性対照それぞれの非感作群では、それぞれ検体及び陽性対照物質を用いずに同様の処理をした。

経皮感作；皮内投与 6 日後に肩甲部を刈毛し、10% (w/w)ラウリル硫酸ナトリウムの白色ワセリン混合物を塗布した。皮内投与 7 日後、同部位に 100%検体 0.4 mL を含むリント布を 48 時間閉塞貼付した。陽性対照群では、1%の DNCB 白色ワセリン混合物 0.4 g を同様に貼付した。それぞれの非感作群では、検体及び DNCB を用いずに同様の処理を行った。

惹起；感作皮内投与 20 日後に左右側腹部を刈毛し、その翌日に 100%の検体 0.2 mL を含むリント布で左腹側部に 24 時間閉塞貼付した。陽性対照群では、0.5%DNCB/白色ワセリン混合液 0.2 g を同様に閉塞貼付した。

観察項目： 惹起貼付除去の24及び48時間後に貼付部位の紅斑及び浮腫の有無を観察し下記の基準に従って採点した。

| | |
|------------|---|
| 肉眼的に変化なし | 0 |
| 散在性の軽度紅斑 | 1 |
| 中等度及び慢性の紅斑 | 2 |
| 重度の紅斑及び浮腫 | 3 |

結 果： 各観察時間における皮膚変化がみられた動物数を下表に示す。

検体感作群では20匹中3例が評点1であり、検体の非感作群ではすべてが評点0であった。

従って、検体感作群の皮膚感作率 [(感作陽性動物数/供試動物数)×100]は15%であり、Magnusson & Klingmanの感作性評価区分ではⅡ (軽度)に分類された。一方、陽性対照群では明瞭な陽性反応が認められ、皮膚感作率は100%であった。

以上の結果から、ホスチアゼート 30%SLは、軽度の皮膚感作性を有するものと判断した。

表 皮膚反応採点結果

| 試験群 | | | | 動物数 | 皮膚反応 評点 | 感作反応動物数 | | 陽性反応 動物数 | 陽性率 (%) |
|-------------|--------------------|--------------|--------------|-----|------------|---------|----|-------------|------------|
| 感作濃度 (%) | | 惹起濃度 (%) | 惹起後の時間 | | | | | | |
| | | | 24 | | | 48 | | | |
| 検体 | 皮内 1%検体 | 経皮 100%検体 | 100% 検体 | 20 | 0 | 20 | 17 | 3/20 | 15 |
| | | | | | 1 | 0 | 3 | | |
| | | | | | 2 | 0 | 0 | | |
| | | | | | 3 | 0 | 0 | | |
| | 溶媒 (刺激対照) | | 100% 検体 | 20 | 0 | 20 | 20 | — | |
| | | | | | 1 | 0 | 0 | | |
| | | | | | 2 | 0 | 0 | | |
| | | | | | 3 | 0 | 0 | | |
| 陽性 対照 | 皮内 0.1% DNCB | 経皮 1%DNCB | 0.5% DNCB | 10 | 0 | 0 | 0 | 10/10 | 100 |
| | | | | | 1 | 0 | 0 | | |
| | | | | | 2 | 0 | 0 | | |
| | | | | | 3 | 10 | 10 | | |
| | 溶媒 (刺激対照) | | 0.5% DNCB | 10 | 0 | 8 | 9 | — | |
| | | | | | 1 | 2 | 1 | | |
| | | | | | 2 | 0 | 0 | | |
| | | | | | 3 | 0 | 0 | | |