

農薬抄録

ビール酵母抽出グルカン水和剤 「殺菌剤」

(作成年月日) 平成23年 5月 11日
(改訂年月日) 平成28年 11月 7日

(作成会社名) アサヒバイオサイクル株式会社

(作成責任者・所属) 北川 隆徳

連絡先	アサヒバイオサイクル(株) 北川 隆徳 03-5608-5193
-----	-------------------------------------

目 次

	頁
I. 開発の経緯	1
II. 物理化学的性状	2
III. 生物活性	5
IV. 適用及び使用上の注意	6
V. 農薬残留量	7
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	8
VII. 使用時安全上の注意、解毒方法等	2 3
VIII. 毒性	
<毒性試験一覧表>	2 4
1. 急性毒性	2 8
2. 皮膚感作性	3 3
3. 90日間反復経口投与毒性	3 6
4. 変異原性	4 2
5. 眼及び皮膚に対する刺激性	4 4
IX. 動植物および土壌等における代謝分解（省略理由）	6 4
[附]ビール酵母抽出グルカンの開発年表	6 5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

I. 開発の経緯

グルカンは、古くから植物の防御反応を誘導することが知られている。本剤は、アサヒビール株式会社で開発された、酵母中のグルカンを抽出・濃縮することにより得られる β -1,3型の結合、または β -1,6型の結合で連なったグルカンオリゴ糖及び多糖を有効成分とする非殺菌性の病害抵抗性誘導剤である。

本剤は2004年にアサヒビール(株)事業開発研究所で開発された。一般に、植物は動物のような感染防御のための免疫系を持たないが、感染の拡大を制御して生体を防御するために特有の機構を持っている。病原菌が植物に感染しようとする、感染部位では過敏感反応、活性酸素の生成、細胞壁の強化、抗菌性タンパク質や低分子抗菌性物質であるファイトアレキシンの合成などの様々な防御反応を行い病原菌の感染拡大を阻止しようとする。このような防御反応を誘導する物質はエリシターと呼ばれ、エリシターとして最も有名な物質の1つが大豆の病原菌 (*Phytophthora megasperma* var. *sojae*) 細胞壁由来のグルカンのオリゴ糖 (ヘプタ β -グルコシド) であり、大豆のファイトアレキシンであるグリセオリンの合成を誘導する。このように、グルカンがエリシターとして作用することは古くから知られており、本剤は、酵母中のグルカンを抽出・濃縮し、植物が認識しやすい状態にして抵抗性誘導活性を持たせることを目的として開発された。

2004年から2005年の社内試験においてトマトうどんこ病、トマト根腐萎凋病などに高い防除効果が認められることを発見した。また、本剤の防除メカニズムは、遺伝子解析などの結果から、殺菌によるものではなく、グルカンによってSAR、ISRの両病害応答系を活性化する病害抵抗性誘導によるものであることも確認された。これらの結果から、農業用の病害抵抗性誘導剤として高い可能性があることが判断され、GLPに準拠した安全性試験が開始された。

グルカンは、これまでに国内で農薬としての安全性評価を受けたことはない。海外においては、酵母由来のグルカンとしての農薬登録はないが、海藻由来の β -1,3-グルカンのオリゴ糖であるラミナリンとしては、ドイツ、オーストリア、アメリカ、ベルギー、フランス、スイス、スロヴェキア、ギリシャ、モロッコ、イギリスなどで農薬として登録されており、ドイツ、オーストリアでは、イチゴうどんこ病など、全ての作物、全ての病害への適用がある。

2006年より、日本植物防疫協会を通じて全国の農業研究機関にてイチゴうどんこ病などに対する委託試験が開始された。その結果、イチゴうどんこ病に対して優れた防除効果を示すことが確認され、本剤は、食品由来の安全な病害抵抗性誘導剤として、農作業の効率化に貢献できるものと期待される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

II. 物理化学的性状

1. 名称及び化学構造

1) 有効成分の一般名

和名：ビール酵母抽出グルカン

英名：glucan extracted from brewing yeast

2) 別名

商品名：パワーコウボ

試験名：酵母細胞壁分解物、酵母細胞壁分解物 E-15、酵母抽出物 A15、酵母抽出物

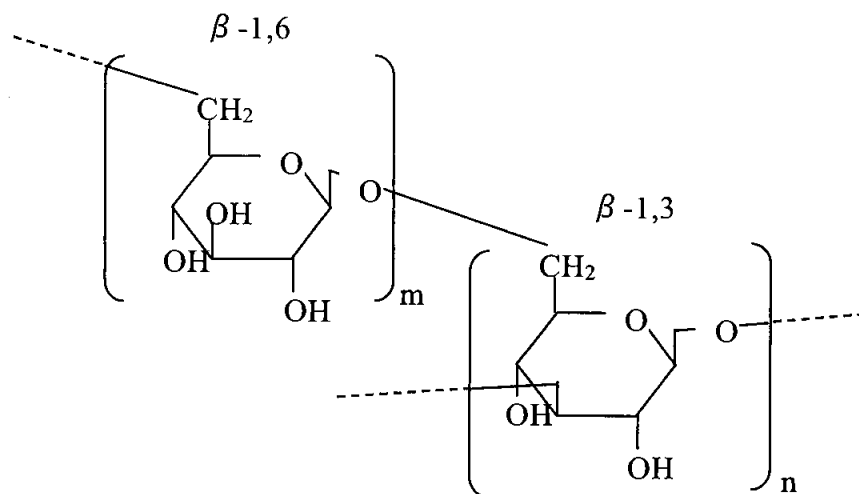
3) 化学名

和名：グルカン

英名：glucan

4) 構造式

グルコースが β -1,3型の結合（主鎖）、または β -1,6型の結合（側鎖）で連なったオリゴ糖、および多糖。



5) 分子式

$(C_6H_{10}O_5)_x$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

2. 有効成分の物理的・化学的性状

有効成分名

	和名	英名
一般名	ビール酵母抽出グルカン	glucan extracted from brewing yeast
化学名	グルカン	glucan

項目	測定値 (測定条件)	測定方法/試験機関/GLP	
色調	類白色 (常温常圧)	目視/アサヒ [®] -IL(株)	
形状	固体 (粉末) (常温常圧)	目視/アサヒ [®] -IL(株)	
臭気	弱い特異臭 (酵母臭) (常温常圧)	官能検査/アサヒ [®] -IL(株)	
密度	試験省略	試験省略	
融点	試験省略	試験省略	
沸点	試験省略	試験省略	
蒸気圧	試験省略	試験省略	
解離定数 (Pka)	試験省略	試験省略	
溶解度	水	試験省略	
	有機溶媒	ヘキサン	試験省略
		ヘプタン	試験省略
		キシレン	試験省略
		トルエン	試験省略
		ジクロロメタン	試験省略
		アセトン	試験省略
		メタノール	試験省略
		エタノール	試験省略
		酢酸エチル	試験省略
オクタノール/水分分配係数 (log Pow)	試験省略	試験省略	
生物濃縮性	試験省略	試験省略	
土壌吸着係数	試験省略	試験省略	
加水分解性	試験省略	試験省略	
水中光分解性 (蒸留水)	試験省略	試験省略	
安定性	対熱	試験省略	
	その他	試験省略	
スペクトル	試験省略	試験省略	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

3. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	原体中の含有量 (%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値
有効成分	ビール酵母抽出 グルカン	グルカン	Ⅱ.1.4) 参照	$(C_6H_{10}O_5)_x$		20.0 以上	24.4~ 31.3
原体 混在物	タンパク質					20.0~ 35.0	23.8~ 28.8
	炭水化物			$C_mH_{2n}O_n$		20.0~ 35.0	27.3~ 30.3
	脂質					5.0~ 10.0	7.2~ 7.9
	灰分					1.8~ 3.5	2.1~ 2.9
	水分				H_2O	18	3.0~ 10.0

4. 製剤の組成

1) 種類：ビール酵母抽出グルカン水和剤

名称：パワーコウボ

組成：28.0%水和剤

ビール酵母抽出グルカン : 28.0%

炭水化物等 : 72.0%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

Ⅲ. 生物活性

1. 活性の範囲

ビール酵母抽出グルカンはイチゴに育苗期から本圃場で葉面散布処理することにより、イチゴうどんこ病に対して高い効果を示す。

2. 作用機構

抗菌力試験、病害抵抗性遺伝子に関する遺伝子解析の結果、本剤の防除メカニズムは、殺菌によるものではなく、ISR、SARの両病害応答系を活性化する病害抵抗性誘導によるものであることが明らかとなっている。

3. 作用特性と防除上の利点等

本剤は、イチゴのISR、SARの両病害応答系を活性化することから、各種病原菌に対するイチゴの防御機構を強化することで、うどんこ病だけでなく広範な病害に対する防除効果も期待できる。

また、食品由来の資材で安全性が高く、作物への薬害も無く、天敵、その他の有用生物への影響も認められないことから、IPMの概念にも合致する資材である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

IV. 適用及び使用上の注意

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

作物名	適用病害虫名	希釈 倍数	使用 液量	使用 時期	本剤の 使用回数	使用 方法	ビール酵母 抽出グルカ ンを含む農 薬の総使用 回数
いちご	うどんこ病	500 倍	300 ～ 350L/10a	収穫前日 まで	—	散布	—

2. 使用上の注意事項

- ・ぬれた手で扱わないこと。
- ・吸湿しやすいため、開封後はしっかりと封をして、できるだけ速やかに使用すること。
- ・本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
- ・眼に入った場合は直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- ・散布の際は農業用マスクなどを着用すること。
- ・使用後は洗眼すること。
- ・直射日光を避け、食品と区別して、なるべく低温で乾燥した場所に密封して保管すること。

3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨 この登録に係る使用方法では該当がない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

V. 農薬残留量

1. 作物残留

当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化及びプロテアーゼ（食品添加物）により分解した酵母エキス中の成分で、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験を省略する。

2. 土壌残留

当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化及びプロテアーゼ（食品添加物）により分解した酵母エキス中の成分で、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験を省略する。

3. 水中残留

当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化及びプロテアーゼ（食品添加物）により分解した酵母エキス中の成分で、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験を省略する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

資料番号	試験名称 (期間) 及び被験物質	供試生物	供試数 (n=反復数)	試験方法	試験水温 (℃)	試験結果	試験機関 (報告年)	抄録頁
1 [GLP]	魚類急性 毒性試験 (96時間) 原体 32.53%	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	10尾/区 (n=1)	半止水 式	21.1~ 22.7	LC ₅₀ >56.4mg/L	バイオトク ステック (2010年)	10
2 [GLP]	ミシノコ類急 性遊泳阻害 試験 (48時間) 原体 32.53%	オオミジ ンコ (<i>Daphnia magna</i>)	5頭/区 (n=4)	半止水 式	20.0~ 20.4	EC ₅₀ >314.7mg/L	バイオトク ステック (2010年)	12
3 [GLP]	藻類生長阻 害試験 (72時間) 原体 32.53%	緑藻 (<i>Pseudoki rchneriella subcapitata</i>)	10 ⁴ cells /mL	止水式 振とう 培養	22.8~ 23.3	ErC ₅₀ (0-72hr) >292.7mg/L NOECr(0-72hr) =62.30 mg/L	バイオトク ステック (2010年)	14

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

資料番号	試験名称及 び被験物質	供試生物	一群当たり の供試数	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)	抄録頁
4	蚕急性経口 毒性試験 原体 32.53%	蚕 (<i>Bombyx mor</i>) 錦秋 ×鐘和 4齢起	20頭/群 3反復	経口投与 (混餌):人工 飼料 100g 当たり被験 物質 350mg	死亡率: 営繭前; 5.0% 繭中 ; 5.0%	(株)IJO (2009年)	15
5	ミツバチ 急性接触毒 性試験 原体 32.53%	セイヨウミ ツバチ (<i>Apis merifera</i>)	10頭/群 3反復	胸部背面局 所施用: 100 μg/Bee	LD ₅₀ (μg/Bee) 24時間: >100 48時間: >100	(株)IJO (2009年)	17

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

6	天敵昆虫等 影響試験 原体 32.53%	タイリクヒメハカメ ムシ成虫 (<i>Orius strigicollis Poppius</i>)	5頭/群 4反復	虫体浸漬 法： 2000mg/L の被験物質 に5秒間浸 漬	死亡率：0%	(株)エソ (2009年)	19
7	天敵昆虫等 影響試験 原体 32.53%	ヤマトクサガ'の 幼虫 (<i>Chysoperl a carnea</i>)	20頭 (1頭/容器)	虫体浸漬 法： 2000mg/L の被験物質 に5秒間浸 漬	死亡率：0% 蛹化率：0%	(株)エソ (2009年)	20
8	天敵昆虫等 影響試験 原体 32.53%	ハミントウ幼虫 (<i>Harmonia axyridis</i>)	20頭 (1頭/容器)	虫体浸漬 法： 2000mg/L の被験物質 に5秒間浸 漬	死亡率：0% 蛹化率：0%	(株)エソ (2009年)	21
9	鳥類 影響試験 原体 32.53%	ニホンウズ ラ	10羽 2反復	経口投与 2000mg/kg 体重	死亡率：0% 一般状態：異常無	日生研(株) (2009年)	22
省略	鳥類混餌 投与試験	鳥類経口投与試験の結果から、半数致死濃度が 2000mg/kg より大きいと判断され、強い毒性が認められないため試験省略。					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

水産動植物に対する影響

1) 魚類急性毒性試験

コイ (*Cyprinus carpio*) を用いた急性毒性試験 (資料番号 1)

試験機関：バイオクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン水和剤)

(ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有)

原体と製剤は同一である

供試生物：コイ (学名 *Cyprinus carpio*)、一群 10 尾、体長：5.81 cm \pm 0.10cm (平均 \pm 標準偏差)、体重：2.62g \pm 0.16g (平均 \pm 標準偏差)

方 法：

暴露方式：半止水式 (48 時間後に換水)

暴露時間：96 時間

試験区：1000 mg/L 区及び対照区

試験液量：30 L/試験区

給餌：無給餌

連数：1 容器/試験区

昭光時間：16 時間/日 (室内光)

飼育水：水道水をフィルター流水殺菌器で濾過後に紫外線照射した精製水

溶存酸素設定濃度：飽和の 60%以上

対照区；6.24~7.64 mg/L、1000 mg/L 区；6.26~7.74 mg/L、

試験溶液の調製：飼育水 30 L と必要量の被験物質を試験水槽に入れてテフロン棒で攪拌して 1000mg/L 濃度を調整した。

試験水温：21.1~22.7℃

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

結 果：結果を下表に要約する。

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0、1000	
	実測ビール酵母抽出 グルカン濃度	暴露開始時(0時間)：320.8 48時間目の換水前：12.34 48時間目の換水後：320.2 暴露終了時(96時間後)：7.976	
LC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]		24 hr	> 56.4[---]
		48 hr	> 56.4[---]
		72 hr	> 56.4 [---]
		96 hr	> 56.4 [---]
死亡例が認められなかった 最高濃度(mg/L)		56.4	

---：算出できず

1000mg/Lの試験区で48時間目の換水前および暴露終了時(96時間後)にビール酵母抽出グルカン濃度が暴露開始時およびの48時間目の換水後濃度の±20%以内に保たれていなかったため、暴露期間中の測定濃度の幾何平均を用いて結果の算出を行った。

暴露期間中、対照区および測定濃度56.4mg/Lの試験区でコイの死亡および異常症状は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料番号2)

試験機関：バイオトクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン水和剤)
(ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有)
原体と製剤は同一である

供試生物：オオミジンコ (学名 *Daphnia magna*)、一群各 20 頭 (生後 24 時間以内の個体)

方 法：

暴露方式：半止水式

暴露時間：48 時間

試験区：1000 mg/L 区及び対照区

試験液量：100 mL/試験区

連数：4 容器/試験区、5 頭/容器

昭光時間：16 時間/日 (室内光)

飼育水：OECD ガイドラインで推薦されている Elendt M4 培地を使用した

溶存酸素濃度：対照区；暴露開始時；6.65mg/L、暴露終了時；6.13 mg/L

1000 mg/L 区；暴露開始時；6.39 mg/L、暴露終了時；5.36mg/L

給餌：無給餌

pH：対照区；暴露開始時；8.03、暴露終了時；7.22

1000 mg/L 区；暴露開始時；7.47、暴露終了時；6.92

試験溶液の調製：飼育水と必要量の被験物質をメスフラスコに入れて攪拌して
1000mg/L 濃度を調整した。

試験水温：対照区；暴露開始時；20.4℃、暴露終了時；20.4℃

1000 mg/L 区；暴露開始時；20.0℃、暴露終了時；20.4℃

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

結 果： 結果を下表に要約する。

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0、1000	
	実測ビール酵母抽出 グルカン濃度	暴露開始時(0時間)：314.7 12時間目の換水前：325.8 36時間目の換水後：304.7 暴露終了時(48時間後)：296.3	
EC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]		24 hr	> 314.7 [---]
		48 hr	>314.7 [---]

---：算出できず

1000mg/L の試験区で暴露期間の試験溶液中のグルカン濃度が暴露開始時のビール酵母抽出グルカン濃度の±20%以内であったことから、全ての試験結果は暴露開始時のビール酵母抽出グルカン濃度を用いて算出した。

暴露期間中、対照区および測定濃度 314.7mg/L の試験区でミジンコの遊泳阻害および異常症状は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

3) 藻類生長阻害試験

(資料番号 3)

試験機関：バイオトクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン水和剤)
(ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有)
原体と製剤は同一である

供試生物：単細胞緑藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, ATCC 22662 株)

初期生物量： 1×10^4 個/mL (初期細胞濃度)

方 法：

暴露方式：止水式、振とう培養 (100 rpm)

暴露時間：72 時間

試験設定濃度：100、177、316、562、1000 mg/L (公比 1.78) 及び対照区

培地：OECD ガイドラインで推薦されている培地を調整して使用した

試験培地量：100 mL/容器

連数：3 容器/試験区

照明：4660~5070 lux

温度：22.8~23.3℃

pH：暴露開始時；6.9~7.4、暴露 72 時間後；7.0~7.4

試験培地の調製：試験溶液 100 mL が入れられたフラスコに前培養した高濃度の藻類懸濁液 (100×10^4 個/mL) を 1mL 加えて藻類細胞の初期生物量が試験区ごとに 1×10^4 個/mL になるようにした。

結 果： 結果を下表に要約する。

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0、100、177、316、562、1000	
	実測ビール酵母抽出 グルカン濃度	29.66、62.30、104.6、187.7、292.7(0 時間) 30.08、53.90、94.38、178.8、312.8(72 時間後)	
ErC50 (mg/L) [95%信頼限界]	0 - 72 hr		> 292.7[---]
NOECr (mg/L)	0 - 72 hr		62.30

---：算出できず

全試験区で暴露終了時の試験溶液中のビール酵母抽出グルカン濃度が暴露開始時のグルカン濃度の±20%以内であったことから、全ての試験結果は暴露開始時のビール酵母抽出グルカン濃度を用いて算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

4) 蚕影響試験

(資料番号 4)

試験機関：株式会社エスコ
報告書作成年：2009年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体（ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有）

供試生物：カイコ（*Bombyx mori*）、錦秋×鐘和、4 齢起蚕、一群 20 頭×3 反復

試験期間：4 齢起蚕時～結繭終了まで

方法：被験物質濃度の設定；被験物質の使用方法のうち最も濃度が高くなるのは、500 倍希釈したものを 10a 当たり 350L 散布する場合(最大投下量:70 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)である。また、4 齢蚕が摂取する人工飼料量 1g は桑葉 50 cm^2 に相当することから、試験濃度を 3.5mg/g(被験物質濃度)に設定した。

試験液の調整；処理区：被験物質を 350mg 秤量し、人工飼料 100g に添加してよく練り合わせて 3.5mg/g(被験物質濃度)の飼料を調整した。

無処理区：人工飼料のみをよく練ったものを飼料とした。

調査項目：実験開始時の体重、4 齢期間中の摂餌量及び被験物質摂取量、死亡数、死亡率、一般状態の観察、4,5 齢期間中の経過日数、結繭蚕数、健蛹歩合、繭重、繭層重

結果：結果を以下の表に要約する。

	処理区	無処理区
実験開始時の体重	233 mg	233 mg
4 齢期間中の摂餌量及び被験物質摂取量	2736 mg/頭 9.58 mg/頭	2786 mg/頭
死亡数（死亡率）	営繭前；3 頭(5.0%) 繭中；3 頭(5.0%)	営繭前；1 頭(1.7%) 繭中；1 頭(1.7%)
一般状態の観察	異常無し	異常無し
4,5 齢期間中の経過日数	4 齢期；6～8 日 5 齢期；8～13 日	4 齢期；6～8 日 5 齢期；8～11 日
結繭蚕数	58 頭/60 頭	59 頭/60 頭
健蛹歩合	88.3%	93.3%
繭重	2.40g	2.46mg
繭層重	480mg	516mg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

結 論：被験物質 3.5mg/g(被験物質濃度)を含む人工飼料を 4 齢期の蚕に毎日与え、結繭までの影響を調査した結果、無処理区と比較して死亡数、摂餌量、4,5 齢期間中の経過日数、結繭蚕数、健蛹歩合、繭重、繭層重に差は認められなかった。以上の結果から、当処理濃度において、ビール酵母抽出グルカン原体は蚕の成育に影響を及ぼさないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

5) ミツバチ影響試験

(資料番号 5)

試験機関：株式会社エスコ

報告書作成年：2009 年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体（グルカン 32.53%含有）

供試生物：セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*)、若い働き蜂、一群 10 頭×3 反復

試験期間：48 時間観察

方 法：

試験区；被験物質処理区 100 μ g/頭（被験物質量）

被験物質を脱イオン水に懸濁させた試験液 1 μ l をミツバチに局所施用する区

無処理対照区；イオン交換水のみ 1 μ l をミツバチに局所施用する区

基準物質区；基準物質（ジメトエート標準品）処理区 0.09, 0.12, 0.16 μ g/頭

基準物質をアセトンで希釈して局所施用した。

無処理対照区はアセトンのみ 1 μ l を胸部背面に局所施用した。

検査項目：供試ミツバチの異常行動の有無及び死亡数を、暴露開始後 4, 24 及び 48 時間後に観察した。各調査時の死亡率に基づき、4, 24 時間後及び 48 時間後の LD₅₀ (μ g/頭) を算出した。なお、ジメトエートによる LD₅₀ 算出には Probit 法を用いた。

結 果：

試験区；結果を以下の表に要約する。

暴露開始後 24 時間から 48 時間にかけての死亡率の増加が認められなかったため、試験終了を暴露開始後 48 時間とした。

投与方法	胸部背面局所施用
投与量 (μ g/頭)	100
LD ₅₀ (μ g/頭)	>100 (4, 24, 48 時間後)
異常行動の有無	異常行動等は認められなかった。

死亡数；処理区対照区ともに、暴露開始後 24 時間後に 1 頭の死亡が認められ、暴露開始後までの累積死亡数(死亡率)は 1 頭(3%)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アサヒバイオサイクル株式会社にある。

基準物質区；結果を以下の表に要約する。

	暴露開始後時間	LD ₅₀	95%信頼限界
LD ₅₀ (μg/頭)	4 時間	>0.16	(求められず)
	24 時間	0.095	0.083~0.10
	48 時間	0.092	0.079~0.10

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

6) 天敵昆虫等影響試験

(資料番号 6)

試験機関：株式会社エスコ

報告書作成年：2009 年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体（ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有）

供試生物：タイリクヒメハナカメムシ成虫(*Orius strigicollis* Poppius)、一群 5 頭×4 反復

試験期間：3 日間観察

方 法：虫体浸漬法（2000mg/L の被験物質に 5 秒間浸漬暴露）

検査項目：暴露後の毎日、供試虫の死亡、異常行動等を調査した。

結 果：

死 亡 率；観察期間を通じて、供試虫の死亡は見られなかった。

一般症状；観察期間を通じて、処理区、無処理区ともに異常は認められなかった。

結 論：以上の結果から、ビール酵母抽出グルカン原体 2000mg/L の虫体浸漬法による試験において、ビール酵母抽出グルカン原体はタイリクヒメハナカメムシ成虫に影響を及ぼさないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

7)天敵昆虫等影響試験

(資料番号7)

試験機関：株式会社エスコ

報告書作成年：2009年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体（ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有）

供試生物：ヤマトクサカゲロウ(*Chrysoperla carnea*)、2 齢幼虫、20 頭（1 頭／容器）

試験期間：11 日間観察

方 法：虫体浸漬法（2000mg/L の被験物質に5 秒間浸漬暴露）

検査項目：暴露後の毎日、供試虫の死亡、異常行動等を調査した。

結 果：

死 亡 率；観察期間を通じて、供試虫の死亡は見られなかった。

一般症状；観察期間を通じて、処理区、無処理区ともに異常は認められなかった。

蛹化率 ；100%

結 論：以上の結果から、ビール酵母抽出グルカン原体 2000mg/L の虫体浸漬法による試験において、ビール酵母抽出グルカン原体はヤマトクサカゲロウ幼虫に影響を及ぼさないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

8) 天敵昆虫等影響試験

(資料番号 8)

試験機関：株式会社エスコ
報告書作成年：2009 年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体（ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有）

供試生物：ナミテントウ (*Harmonia axyridis*)、3 齢幼虫、20 頭（1 頭／容器）

試験期間：12 日間観察

方 法：虫体浸漬法（2000mg/L の被験物質に 5 秒間浸漬暴露）

検査項目：暴露後の毎日、供試虫の死亡、異常行動等を調査した。

結 果：

死 亡 率；観察期間を通じて、供試虫の死亡は見られなかった。

一般症状；観察期間を通じて、処理区、無処理区ともに異常は認められなかった。

蛹化率 ；100%

結 論：以上の結果から、ビール酵母抽出グルカン原体 2000mg/L の虫体浸漬法による試験において、ビール酵母抽出グルカン原体はナミテントウ幼虫に影響を及ぼさないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

9) 鳥類影響試験

(資料番号 9)

試験機関：日生研株式会社

報告書作成年：2009 年

被験物質：ビール酵母抽出グルカン原体（ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有）

供試動物：WE系ニホンウズラ、26 および 27 日齢、体重：79～89g、一群 10 羽×2 群

試験期間：14 日間観察

方 法：経口投与用胃管を用いて、2000mg/kg 体重を単回強制経口投与した。

検査項目：

症状観察；生死および一般状態を 14 日間毎日、午前・午後の各 1 回観察した。

体重測定；馴化開始日、投与前日、投与日及び試験 3 日, 7 日, 及び 14 日に測定した。

剖 検；すべての試験動物を観察期間終了翌日(試験 15 日)に剖検した。

結 果：

死 亡 率；観察期間を通じて、対照群及び 2000mg/kg 群に死亡は見られなかった。

一般症状；観察期間を通じて、対照群及び 2000mg/kg 群に異常は認められなかった。

体重；観察期間を通じて、2000mg/kg 群の体重には対照群と比較して有意な差はみられなかった。

結 論；以上の結果から、2000mg/kg のビール酵母抽出グルカン原体の単回強制経口投与はニホンウズラに対して悪影響を示さないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

VII. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

- ・ぬれた手で扱わないこと。
- ・吸湿しやすいため、開封後はしっかりと封をして、できるだけ速やかに使用すること。
- ・本剤は眼に対して弱い刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。
- ・眼に入った場合は直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- ・散布の際は農薬用マスクなどを着用すること。
- ・使用後は洗眼すること。
- ・直射日光を避け、食品と区別して、なるべく低温で乾燥した場所に密封して保管すること。

2. 製造時、使用時等における事故例

これまでのところ報告例は無い。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

VIII. 毒性

<毒性試験一覧表> 原体と製剤は同一である。

・原体

資料番号	試験の種類 (期間)	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	無毒性量又はLD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録頁
T-1 [GLP]	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♀3	経口	2000	>5000	バイオテック (2006年)	28
T-2 [GLP]	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂5♀5	経皮	2000	>2000	バイオテック (2010年)	29
T-3 [GLP]	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂5♀5	吸入 (タスト)	5.42 mg/L	LC ₅₀ >5.42mg/L	財団法人残留 農業研究所 (2010年)	30
T-4 [GLP]	皮膚感作性 (48時間観察)	モルモット	♂20 陰性対照群 ♂10	感作；初回(皮 内)25%、再感作 (経皮)100%、惹 起(経皮)100%		感作性無し	バイオテック (2006年)	33
省略	急性神経毒性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため試験省略。						
省略	急性遅発性神経毒性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため試験省略。						
省略	90日間反復吸入毒性	急性吸入毒性に関する試験成績(資料番号T-3)の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験省略。						
省略	21日間反復経皮投与毒性	急性経皮毒性試験(資料番号T-2)の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験省略。						
省略	90日間反復経口投与毒性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため試験省略。						
T-5 [GLP]	90日間反復経口投与毒性	ラット	♂10 ♀10	経口	0,250, 500,1000 (mg/kg/ 日)	>1000 (mg/kg/日)	バイオテック (2006年)	36
省略	反復経口投与神経毒性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため試験省略。						
省略	28日間反復経口投与遅発性神経毒性	本剤は、急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要があると認められる場合にあたるため、試験省略。						

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

省略	1年間反復経口投与毒性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験省略。						
省略	発がん性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験省略。						
省略	繁殖毒性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験省略。						
省略	催奇形性	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験省略。						
省略	復帰突然変異	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンには、約0.2%のヒスチジンが含有されており、Ames試験では必ず陽性になってしまうため、本試験を省略し、染色体異常試験成績を提出する。						
T-6 [GLP]	変異原性 (染色体異常) (24時間観察)	ファイニース'ハム スター CHL 細胞		<i>in vitro</i>	S-9mix (-)6+18 時間; 67.5,135, 270 S-9mix (+)6+18 時間; 3.75,7.5, 15 S-9mix (-)24+0 時間; 16.25, 32.5,65 (μ g/mL)	変異原性無し	バイオトクステック (2006年)	42
省略	小核	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験省略。						
省略	生体機能への影響	当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験省略。						

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

・製剤

資料番号	試験の種類 (期間)	供試動物	群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	無毒性量又はLD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録頁
T-1 [GLP]	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♀3	経口	2000	>5000	バイオテック (2006年)	28
T-2 [GLP]	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂5 ♀5	経皮	2000	>2000	バイオテック (2010年)	29
T-3 [GLP]	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂5 ♀5	吸入 (ダスト)	5.42 mg/L	LC ₅₀ >5.42mg/L	財団法人残留 農業研究所 (2010年)	30
T-7 [GLP]	皮膚刺激性 (72時間観察)	ウサギ	♂3	経皮	0.5g/site	刺激性無し	バイオテック (2006年)	44
T-8 [GLP]	眼刺激性 (72時間観察)	ウサギ	♂3	眼 投与	0.1g/眼	ごく軽度の 刺激性あり	バイオテック (2006年)	45
T-4 [GLP]	皮膚感作性 (48時間観察)	モルモット	♂20 陰性対照群 ♂10	感作；初回(皮 内)25%、再感作 (経皮)100%、惹 起(経皮)100%		感作性無し	バイオテック (2006年)	33

・参考

資料番号	試験の種類 (検体)	供試動物	群当り供試数	投与方法	投与量	無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	抄録頁
T-9	28日間反復 経口投与毒性 (ビール酵母細胞壁 ¹⁾)	ヒト	♂3 ♀7	経口	8g/日	144 (申請者注； 投与量を平均 体重で除した 数値)	キリンビール(株) (2000年)	48
T-10	28日間反復 経口投与毒性 (ビール酵母細胞壁 ¹⁾)	ヒト	♂42 ♀47	経口	6g/日	異常無し	キリンビール(株) (2002年)	50

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

T-11	28日間反復 経口投与毒性 (ビール酵母細胞壁 ¹⁾)	ラット	♂6 ♀6	混餌	6%混餌 雄： 8,192mg /kg/日(申請者注； 摂餌量から計算) 雌： 6,692mg /kg/日(申請者注； 摂餌量から計算)	雄：8,192 雌：6,692 (申請者注； 摂餌量から 計算)	麒麟ビール(株) (2000年)	52
T-12	1年間反復 経口投与毒性 (グルカン ²⁾)	ラット	♂20 ♀20	経口	50,100, 200 mg/ kg/day	100	Second Institute of Pharmacology (1992年)	56

申請者注：

- 1) 本文献のビール酵母細胞壁は、ビール酵母を脱苦味後、酵素処理を行いアミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を高圧分散処理したものである。一方、本申請のビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化による分解後、アミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を酵素分解したものである。原料の酵母細胞壁は同様のものであるが、それをさらに酵素分解し、グルカンを低分子化しているという点で異なる。
- 2) 本文献のグルカンは、Candida albicans 由来の酵母細胞壁から酸・アルカリ処理を経てグルカンを抽出したものであり、たんぱく質などが除去されてグルカン部分が濃縮されたものである。グルカン 99.4%、たんぱく質 0.46%のものを供試している。一方、本申請のビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化による分解後、アミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を酵素分解したものである。グルカンが低分子化している点と、グルカン含量は約 30%で、混在物としてたんぱく質等を多く含有している点で異なる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

1. 急性毒性

1) 急性経口毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料番号 T-1)

試験機関：バイオテック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン水和剤)

(ビール酵母抽出グルカン 28.32%含有)

原体と製剤は同一である

供試動物：Sprague Dawley (CrI: CD(SD)) 系ラット、8 週齢、体重：179.3~197.4 g、
一群 雌 3 匹 x 2 群

観察期間：14 日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を注射用水に懸濁し、投与前約 16 時間絶食させたラットに
2000 mg/5 mL/kg 体重を 1 回強制経口投与した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡の有無を、投与後 30 分までは連続的に、その後は
投与 1、2、4、6 時間後及び投与翌日から 14 日後まで毎日観察した。
体重は投与直前、投与 3、7 及び 14 日後に測定した。試験終了時に全
動物を屠殺・剖検した。

結 果： 以下の表に示した。

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	2000 (第 1 段階) 2000 (第 2 段階)
LD ₅₀ (mg/kg)	雌 >5000*
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	一般状態の変化なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

*OECD の TG423 (毒性等級法) フローチャートに従った。

検体投与群の体重は順調に増加し、剖検においても体表、頭蓋腔内、胸腔内及び腹腔内の諸器官に肉眼的異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

2) 急性経皮毒性

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料番号 T-2)

試験機関：バイオクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン水和剤)
(ビール酵母抽出グルカン 28.32%含有)
原体と製剤は同一である

供試動物：Sprague Dawley (CrI: CD(SD)) 系ラット、雄 8 週齢、雌 9 週齢、体重：雄 274.4
～295.4 g 雌 227.8～239.9 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：投与直前の体重を基に投与量を算出した。投与前日にラットの背部被毛を電気バリカンで刈毛 (約 5cm×6cm) した。刈毛した皮膚に区画 (4cm×5cm) を設けて投与部位とした。被験物質をビニールフィルムが付着されたリント布に均一に載せ、注射用水で適度に湿潤させ、投与部位に貼付した。その後、Soft Cloth Tape with Liner とサージカルテープを用いてリント布とビニールフィルムを固定した。塗布 24 時間経過後に全ての被覆物を取り除き、微温湯を用いて被験物質の残留物を除去した。対照群の動物には被験物質の塗布を除き、リント布、ビニールフィルムおよび Soft Cloth Tape with Liner を同様に処置した。投与量は 2000mg/kg とした。

観察・検査項目：一般状態 (毒性徴候の種類、発現時期、回復時期等) 及び死亡の有無を、投与後 30 分までは頻繁に、その後は投与 1、2、4、6 時間後及び投与翌日から 14 日後まで毎日観察した。体重は投与前、投与 3、7 及び 14 日後に測定した。試験終了時に全動物を屠殺・剖検した。

結果： 以下の表に示した。

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	一般状態に異常なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

全ての動物において死亡は認められなかった。

一般状態、体重および剖検において異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

3) 急性吸入毒性

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料番号 T-3)

試験機関：財団法人 残留農薬研究所 (日本)

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン水和剤)

(ビール酵母抽出グルカン 32.53%含有)

原体と製剤は同一である

供試動物：Sprague Dawley (CrI: CD(SD)) 系ラット、8 週齢、体重：雄 317~363 g 雌 215~237 g、1 群 雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

暴露方法：吸入暴露条件の予備試験では、無処置の被験物質で試験実施に適した暴露条件が得られなかった。そのため、試験委託者によって適切な粉碎 (10%ホワイトカーボンを添加) を実施した被験物質を暴露に供した。また、動物を用いた予備試験より、 LC_{50} 値の範囲がガイドラインに規定されている限度暴露濃度 (実測濃度として 5mg/mL) 以上と予想されたため、限界試験として限度暴露濃度以上を暴露する群のみを設定した。動物の鼻部のみが暴露チャンバー内に露出されるようにラットを個別にアニマルホルダーに収容し、空気流動型鼻部暴露チャンバーに装着した。被験物質ダストを含んだ空気の発生は、コンプレッサー及び超高性能フィルターにて清浄化した圧搾空気を発生し、ターンテーブル型ダストフィーダーに空気を供給することで実施した。暴露空気をガラス繊維濾紙を用いて捕集し、重量分析法により実測濃度を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

暴露条件；

設定濃度 (mg/L)	35.19
実測濃度 (mg/L)	5.42
粒子径分布 (%) ¹⁾	
>7.07 (μm)	52.60
3.85~7.07	28.39
2.15~3.85	15.09
1.17~2.15	2.27
0.61~1.17	0.22
<0.61	1.43
空気力学的質量中位径 (μm)	7.27
呼吸可能な粒子 (<3.85 μm) の割合 (%)	19.01
チャンバー容積 (L)	31.2
チャンバー内通気量 (L/分)	20
暴露条件	ダスト 4時間 鼻部暴露

¹⁾ 申請者注：重量分析法により3回測定した平均値を記載した

観察・検査項目：暴露当日は暴露開始後2時間、暴露終了直後、暴露終了後1時間および4時間に、翌日から観察期間終了時までには1日1回、観察を実施した。暴露当日の暴露開始後2時間は、瀕死状態ないし死亡の有無および動物の外貌、外皮、姿勢、呼吸についてアニマルホルダー外より観察し、それ以外の観察時点では、瀕死状態ないし死亡の有無および動物の外貌、外皮、姿勢、呼吸、意識、神経症状、体温、排泄等について詳細に観察し、記録した。

体重測定：暴露直前、暴露後1日、3日、7日、及び観察期間終了時(暴露後14日)に測定した。

剖 検：観察期間終了時(暴露後14日)に全動物を解剖して肉眼的異常の有無を検索した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

結 果：

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	5.42
LC ₅₀ (mg/L)	雄 >5.42 雌 >5.42
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	一般状態に異常なし
死亡の認められなかった最 高暴露濃度 (mg/L)	5.42

全ての動物において死亡は認められなかった。

臨床症状、剖検においても、雌雄の全例に異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

2. 皮膚感作性

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料番号 T-4)

試験機関：バイオクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン水和剤)
(ビール酵母抽出グルカン 28.32%含有)
原体と製剤は同一である

供試動物：Hartley CrI: HA 系モルモット、4~5 週齢、体重 269.4~384.5 g、
検体投与群 雄 20 匹、対照群 雄 10 匹

観察期間：惹起パッチ除去後 48 時間

試験操作：[Maximization 法]

投与量設定根拠；

初回感作 (皮内投与)：

検体の 1.56、3.13、6.25、12.5、25 及び 50% (w/v) 投与液/注射用水で予備試験を行った。結果、50%群では投与部位に紅斑・壊死が、25%、12.5%、6.25%の群には中~軽度の紅斑が見られた。3.13%、1.56%の群には皮膚反応は見られなかった。従って、本試験における皮内投与の用量を、壊死が認められなかった最高濃度である 25%に設定した。

再感作及び惹起 (経皮投与)：

検体の 3.13、6.25、12.5、25、50 及び 100% (w/v) /注射用水で予備試験を行った。その結果、全濃度で皮膚反応が見られなかったことから、本試験における再感作及び惹起投与の用量を 100%に設定した。

初回感作 (皮内投与)；

頸背部を剃毛 ($2 \times 4 \text{ cm}^2$) し、左右各 3 箇所を皮内投与液 0.1 mL を投与した。投与液の詳細を表 1 に示す。初回感作日を投与 0 日とした。

再感作 (経皮投与)；

予備試験において皮膚反応がみられなかったことから、初回感作 6 日後の各群に、10%SDS 軟膏 (起炎剤) 0.5 mL を開放塗布し、その 24 時間後の初回感作 7 日後に微温湯で湿らせたガーゼを用いて起炎剤を除去した。その後、検体投与群には 100% 検体(v/w)を、陰性対照群には注射用水 0.2 mL を $2 \times 4 \text{ cm}^2$ のパッチに塗布し、48 時間閉塞貼付した後、除去した。

惹起；

再感作終了 2 週間後に剃毛 ($5 \times 5 \text{ cm}^2$) した左右腹側部に 100% (v/w) 検体あるい

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

は注射用水 0.2 mL を 2 x 2 cm² のパッチに塗布し、24 時間閉塞貼付した後、除去した。投与部位を表 1 に示す。

表 1 感作、惹起投与液の要約

	初回感作			再感作	惹起	
	皮内投与			経皮投与 (閉塞貼付)	経皮投与 (閉塞貼付)	
	部位 1 (前方)	部位 2 (中間)	部位 3 (後方)		右	左
検体 投与群	注射用水 -FCA エマル ジョン ^{a)}	25%(w/v) 検体 ^{b)}	25%(w/v) 検体-FCA エマルジョン ^{c)}	100%(w/v) 検体	注射用水	100%(w/v) 検体
陰性 対照群		注射用水	注射用水-FCA エマルジョン ^{a)}	注射用水		

FCA：フロイント・コンプリート・アジュバント

a) FCA に等量の注射用水を加えて調製

b) 50%(w/v)被験物質/注射用水に等量の注射用水を加えて調製

c) 50%(w/v)被験物質/注射用水に等量の FCA エマルジョンを加えて調製

観察項目：惹起パッチ除去 24 及び 48 時間後（投与 23 及び 24 日後）に、下記 Magnusson らの判定基準に従って皮膚反応の強さを採点した。

皮膚反応の程度	評点
肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中程度の紅斑	2
強度の紅斑及び浮腫	3

採点した個体別の評点合計、観察時期ごとの各試験群の平均評点を算出して感作率を求めた。

$$\text{感作率 (\%)} = \frac{\text{評点 1 以上の皮膚反応を示した動物数}}{\text{使用動物数}} \times 100$$

以下の分類法を基に感作の程度を評価した。

感作率 (%)	グレード	感作の程度
0~8	I	ごく軽度
9~28	II	軽度
29~64	III	中等度
65~80	IV	強度
81~100	V	極度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

結 果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作	惹起	供試動物数	観察時間	感作反応動物数				陽性率 (%)
					皮膚反応評点				
					0	1	2	3	
検体投与群	皮内： 25%検体	注射用水	20	24	20	0	0	0	0
				48	20	0	0	0	0
	経皮： 100%検体	100%検体	20	24	20	0	0	0	0
				48	20	0	0	0	0
陰性対照群	皮内： 注射用液	注射用水	10	24	10	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0
	経皮： 注射用液	100%検体	10	24	10	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0
陽性対照群*	皮内： オリーブオイル	オリーブオイル	10	24	10	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0
	経皮： オリーブオイル	0.1% CDNB	10	24	10	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0
	皮内： 0.1% CDNB	オリーブオイル	10	24	10	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0
	経皮： 1.0% CDNB	0.1% CDNB	10	24	0	0	3	7	100
				48	0	0	3	7	100

* 試験施設におけるバックグラウンドデータ（2006年）

CDNB: 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン

惹起パッチ除去後の観察において、全例に皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、本検体の感作率は0%であり、感作グレードはIの「ごく軽度」と評価され、皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

3. 90日間反復経口投与毒性

1) ラットを用いた強制経口投与による90日間反復経口投与毒性試験 (資料番号T-5)

試験機関：バイオクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン 28.32%含有)

供試動物：Sprague Dawley 系ラット (CrI:CD(SD))

1群雌雄各10匹

投与開始時雌雄とも6週齢

投与開始時体重範囲 雄；205.8～229.1 g、雌；146.7～175.3 g

投与期間：13週間 (雄：2006年4月25日～2006年7月24日、

雌：2006年4月26日～2006年7月25日)

投与方法：検体を0、250、500及び1000 mg/kg 体重/日の濃度でラット用胃ゾンデを取り付けたディスポーザブルシリンジ (3mL 容量) を用いて90日間にわたって毎日強制経口投与した。検体を注射用水に懸濁させた投与液調製は用時調製とした。対照群には注射用水を投与した。投与容量は5 mL/kg 体重とした。

用量設定根拠：2週間反復経口投与用量設定試験の結果、最高用量の1000 mg/kg/日においても検体投与に起因する変化が認められなかったことから、本試験の高用量は1000 mg/kg/日とし、以下公比2で500及び250 mg/kg/日の3段階の検体投与群を設定した。

統計学的解析：試験期間中の体重測定、摂餌量測定、尿量、血液および血液生化学的検査、器官重量測定などの検査結果について Levene's test により等分散性の検定を実施した (有意水準：5%)。等分散ならば one-way analysis of variance (ANOVA) を実施し、有意 (有意水準：5%) ならば Dunnett's t-test を実施した (有意水準：両側 5 および 1%)。Levene's test の結果、不等分散ならば適切なデータ変換後に等分散性の検定を再実施した (有意水準：5%)。その結果、等分散ならば ANOVA test を実施した (有意水準：5%)。不等分散ならば non-parametric ANOVA test を実施した (有意水準：両側 5 および 1%)。その外、剖検所見および病理組織学的検査の所見は Fisher's exact test により各群間の有意差を検定した (有意水準：両側 5 および 1%)。この検定は Pathos Pathology Operating System (Version 5.09, Pathology Operating System Ltd., 164 Walton Park, Pannal Harrogate, HG3 1RJ, England 01423 870898) のプログラムを利用して実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；投与期間中毎日 1 回以上一般状態観察を行い、瀕死状態ないし死亡動物の有無は毎日 2 回観察した。

観察期間を通じて、対照群及び検体投与群の雌雄全例に死亡例は認められなかった。また、雌雄の検体投与群で投与に起因したと考えられる一般状態の変化は認められなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前 1 回及び投与期間中毎週 1 回全動物を対象として詳細な状態の観察を実施した。観察項目は、皮膚、被毛、眼、粘膜、分泌物及び排泄物の状態、自律神経系機能（流涎、流涙、立毛、瞳孔の大きさ、異常呼吸など）、歩行・姿勢・ハンドリングへの反応、間代性・強直性運動、常同行動（過度の身づくろい、反復旋回運動など）及び異常行動（自傷行動、後ずさりなど）とした。

観察期間を通じて、雌雄の検体投与群で投与に起因したと考えられる詳細な状態の変化は認められなかった。

機能検査；投与 12 週に、全動物を対象として以下の項目を検査した。

視覚反応、接触反応、音反応、痛覚反応、肢開脚幅、空中正向反射及び体温測定—それぞれ 1 回

握力測定—前肢及び後肢について 3 回測定し、それぞれ最大値を採用した。

自発運動量測定—1 動物当たり 1 時間の自発運動量を測定した。

雌雄とも機能検査において検体投与によると判断される変化は認められなかった。

体重；全動物を対象として、投与開始前、投与期間中毎週 1 回及び剖検前約 18 時間の絶食後に体重を測定した。

観察期間を通じて、体重には検体投与によると判断される変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

摂餌量；投与開始前及び投与開始後毎週 1 回、個別飼育した全動物の摂餌量を測定した。

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		250	500	1000	250	500	1000
投与期間 (週)	0					↓85	
	7						↓75

Dunnett の t 検定： ↑↓ p<0.05、 ↑↓ p<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合（申請者計算）

対照群と比較して 500 mg/kg/日群の雌の 0 週で、1000 mg/kg/日群の雌の 7 週で有意な減少が認められた。しかし、その後は増加して対照群との有意差は認められず、いずれも一時的な変化であり、検定投与に起因する変化とは考えられなかった。従って、雌雄の検体投与群の摂餌量には、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

眼科学的検査；全動物について剖検前に 1 回検査した。検査は前眼部、中間透光体及び眼底について実施した。

眼検査において、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

尿検査；剖検前日に各群雌雄 6 例ずつを代謝ケージに収容して、以下の項目を検査した。

尿量 (Volume)、尿色 (Color)、透明度 (Turbidity)、尿沈渣、比重 (Specific gravity)、pH、蛋白 (Protein)、糖 (Glucose)、ケトン体 (Ketone body)、ビリルビン (Bilirubin)、ウロビリノーゲン (Urobilinogen)、潜血 (Erythrocyte)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)

尿検査において、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

血液学的検査；観察期間終了時に全動物を対象として、約 18 時間絶食させた後エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から血液を採取して以下の項目の測定を行った。

赤血球数 (RBC)、血色素量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Hct)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数 (WBC)、血小板数 (PLT)、網赤血球数 (Reti)、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、白血球の型別百分率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

[好中球 (Neu)、好酸球 (Eos)、好塩基球 (Bas)、リンパ球 (Lym)、単球 (Mono)]

また、血液塗抹標本を2枚作製し、1枚はWright染色及びGiemsa染色を、残り1枚はNew methylene blue染色を行って保管した。

血液学的検査において、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で採取した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

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)、アルカリホスファターゼ (ALP)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Crea)、総ビリルビン (T-Bili)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、総コレステロール (T-Chol)、トリグリセリド (TG)、無機リン (P)、ブドウ糖 (Glu)、カルシウム (Ca)、クロライド (Cl)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)

血液生化学的検査において、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；観察期間終了時、すべての計画殺動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。

観察期間終了時、下表に示すように500 mg/kg/日群の雄1例に脾臓の腫大 (Enlarged) が認められたが、他の検体投与群ではみられなかった。従って、この脾臓の変化は検体投与とは無関係であると判断された。その他には剖検所見は認められなかった。

以上のことから、雌雄とも剖検所見において、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

臓器	所見	用量(mg/kg)							
		雄				雌			
		0	250	500	1000	0	250	500	1000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
脾臓	腫大			1					

表中の数値は所見が認められた動物数

臓器重量；観察期間終了時剖検した全動物を対象として以下の臓器重量を測定した。

また、剖検日の体重 100 g 当りの臓器重量を算出した。

肝臓 (Liver)、腎臓 (Kidneys-左/右)、副腎 (Adrenal glands-左/右)、精巣 (Testes-左/右)、精巣上体 (Epididymides-左/右)、子宮 (Uterus)、卵巣及び卵管 (Ovary and oviduct-左/右)、胸腺 (Thymus)、脾臓 (Spleen)、脳 (Brain)、心臓 (Heart)

臓器重量には、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

病理組織学的検査；剖検を実施した対照群及び高用量群の全動物を対象として、以下の器官・組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。

脳 (Brain)、脊髄 (Spinal cord)、下垂体 (Pituitary)、胸腺 (Thymus)、甲状腺及び上皮小体 (Thyroids etc.)、食道 (Esophagus)、顎下腺 (Submandibular gland)、胃 (Stomach)、十二指腸 (Duodenum)、空腸 (Jejunum)、回腸 (Ileum)、盲腸 (Cecum)、結腸 (Colon)、直腸 (Rectum)、肝臓 (Liver)、膵臓 (Pancreas)、腎臓 (Kidneys)、副腎 (Adrenal glands)、脾臓 (Spleen)、心臓 (Heart)、気管 (Trachea)、大動脈 (Aorta)、肺及び気管支 (Lungs with bronchi)、精巣 (Testes)、卵巣 (Ovaries)、子宮 (Uterus)、精巣上体 (Epididymides)、乳腺 (Mammary gland)、前立腺 (Prostate)、精のう (Seminal vesicle)、膀胱 (Urinary bladder)、皮膚 (Skin)、リンパ節 (頸部リンパ節、腸間膜リンパ節) (Cervical lymph node, mesenteric lymph node)、眼球及びその付属器 (Eyes, etc.)、坐骨神経 (Sciatic nerve)、骨髄 (胸骨、大腿骨) (Sternum, Femur)

さらに剖検で 500 mg/kg/日群の雄 1 例に腫大のみられた脾臓についても病理標本を作製し、鏡検した。

次項表に示すように、ハーダー腺、腎臓、肝臓及び前立腺の細胞浸潤、副腎の皮質束状帯脂肪変性、肝臓の小肉芽腫及び甲状腺の嚢嚢遺残といった所見が雌雄にみられたが、対照群と比較して投与群の変化に程度の差は認められなかった。また、500 mg/kg/日群の雄の脾臓で限局性壊死が 1 例にみられたが、1000 mg/kg/日群では観察されなかったことから、投与とは関連がないと判断された。その他の臓器では特記すべき所見はみられず、病理組織学的検査所見に明らかな性差も認められなかった。

以上のことより、病理組織学的検査において、雌雄とも検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

臓器	所見	用量(mg/kg)							
		雄				雌			
		0	250	500	1000	0	250	500	1000
検査動物数		10	0	1	10	10	0	0	10
副腎	皮質束状帯 脂肪変性	1			1				
ハタゲ腺	細胞浸潤				1	1			1
腎臓	細胞浸潤				1				
肝臓	細胞浸潤				1	2			1
	小肉芽腫					2			1
前立腺	細胞浸潤	3			3				
脾臓	限局性壊死			1					
甲状腺	嚢嚢遺残	2			2	1			

表中の数値は所見が認められた動物数

以上の結果より、本検体のラットにおける 90 日間反復投与毒性試験における無毒性量 (NOAEL) は、雌雄とも 1000 mg/kg/日以上であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

4. 変異原性

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

(資料番号 T-6)

試験機関：バイオクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン原体 (ビール酵母抽出グルカン 28.32%含有)

試験方法：チャイニーズハムスター線維芽細胞株 (CHL/IU) を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を検定した。検体は注射用水に溶解した。試験は連続処理法及び短時間処理法 (代謝活性化及び非代謝活性化) の 3 系列とした。検体処理時間は、連続処理法では 24 時間、短時間処理法では 6 時間処理後、新培地を加えてさらに 18 時間培養した。

観察は各用量のシャーレ 2 枚あたり 200 個以上の分裂中期像について行った。

用量設定根拠：濃度設定のために実施した細胞増殖抑制試験の結果、50%細胞増殖抑制濃度 (IC₅₀) は、短時間処理法の非代謝活性化系で 270 µg/mL、代謝活性化系で 15 µg/mL、また連続処理法で 65 µg/mL であった。従って、本試験においては IC₅₀ を最高用量とする 3 用量 (公比 2) を設定した。

試験結果：結果を次表に示す。

検体を処理した全ての培養系において、構造異常及び数的異常 (倍数体) を有する細胞の出現頻度は、陰性対照群と同程度であった。

一方、各培養系の陽性対照群では染色体異常を有する細胞数の顕著な増加が認められた。

以上の結果より本検体は本試験条件下において染色体異常誘発性を有しないと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

薬物	濃度 (μg /mL)	処理 時間	観察細 胞数	S9 mix の有 無	染色体異常を有する細胞数							異 常 細 胞 (%)	染色体異常細胞 /100個の分裂 中期細胞 (%) (平均 \pm S. D.)	判 定	
					染色体 型		染色体 型		断 片 化	そ の 他	倍 数 体				
					切 断	交 換	切 断	交 換							
検体	67.5	6+18 時間	100	-	0	1	0	0	0	0	0	1	0.5 \pm 0.7	-	
			100		0	0	0	0	0	0	0				
	135		100		2	0	0	0	0	0	0	2	1 \pm 1.4	-	
			100		0	0	0	0	0	0	0				
	270		100		0	1	1	0	0	0	0	2	2 \pm 0	-	
			100		1	1	0	0	0	0	0	2			
	陰性対照 注射用水		0		100	0	0	0	0	0	0	0	1 \pm 1.4	-	
	100		1		0	1	0	0	0	0	2				
陽性対照 MMC	0.05	100	5	5	4	3	0	0	0	17	18.5 \pm 2.1	+			
		100	7	4	5	3	1	0	0	20					
検体	3.75	6+18 時間	100	+	2	0	0	0	0	0	0	2	1 \pm 1.4	-	
			100		0	0	0	0	0	0	0	0			
	7.5		100		0	0	0	0	0	0	0	0	0 \pm 0	-	
			100		0	0	0	0	0	0	0	0			
	15		100		1	0	0	0	0	0	0	1	1 \pm 0	-	
			100		0	1	0	0	0	0	0	1			
陰性対照 注射用水	0	100	0	2	0	0	0	0	0	2	2 \pm 0	-			
100	2	0	0	0	0	0	0	2							
陽性対照 B[a]P	20	100	5	4	4	3	1	0	0	17	16 \pm 1.4	+			
		100	8	3	2	1	1	0	0	15					
検体	16.25	24+0 時間	100	-	0	1	1	0	0	0	0	2	1 \pm 1.4	-	
			100		0	0	0	0	0	0	0	0			
	32.5		100		0	1	0	0	0	0	0	1	1.5 \pm 0.7	-	
			100		2	0	0	0	0	0	0	2			
	65		100		1	1	0	0	0	0	0	2	2 \pm 0	-	
			100		0	1	0	1	0	0	0	2			
	陰性対照 注射用水		0		100	0	0	1	0	0	0	0	1	1 \pm 0	-
	100		1		0	0	0	0	0	0	1				
陽性対照 MMC	0.05	100	7	5	2	1	1	0	0	16	16.5 \pm 0.7	+			
		100	4	5	4	3	1	0	0	17					

MMC : マイトマイシン C
B[a]P : ベンツ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

5. 眼及び皮膚に対する刺激性

1) 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料番号 T-7)

試験機関：バイオクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン水和剤 (純度 100%)

(ビール酵母抽出グルカン 28.32%含有) 原体と製剤は同一である。

供試動物：NZW(Yac: NZW(KBL)) 系ウサギ、16 週齢、体重 2.46~2.78 kg、一群 雄 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：パッチ (2.5 x 2.5 cm²) に検体 0.5 g を均一に適用し、注射用水で湿らせ、刈毛したウサギの背部皮膚に閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は微温湯で洗浄した。

観察項目：暴露終了 1、24、48 及び 72 時間後に投与部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮及び浮腫の形成) の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高 評点*	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1101	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

* 判定基準の最高評点

いずれの動物においても皮膚刺激性の変化及びその他異常は認められなかった。検体は「無刺激物」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アサヒバイオサイクル株式会社にある。

2) 眼刺激性

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料番号 T-8)

試験機関：バイオトクステック (韓国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：ビール酵母抽出グルカン水和剤 (ビール酵母抽出グルカン 28.32%含有)
原体と製剤は同一である。

供試動物：NZW(Yac: NZW(KBL)) 系ウサギ、16 週齢、体重 2.38~2.50 kg、一群 雄 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体粉末 0.1 g を右目結膜嚢内に適用し、上下の眼瞼を 1 秒間緩やかに合わせ保持した。洗眼は行わなかった。左眼は無処置対照群とした。

観察項目：適用 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。Draize の基準 (1959 年) に従って採点し、Kay and Calandra の方法を参照して刺激性の程度を分類した。以下に示す評価表に従い、眼刺激性を step1 の暫定的評価と step2 の最終評価の 2 段階で評価した。

Step1：眼に対する刺激性の暫定的評価

試験に供された動物の各観察部位における評点を観察時間ごとに集計し、ITS(Individual total score)を算出した。更に得られた ITS の合計点を動物数で除して平均値を求め MTS(Mean total score)とした。投与後 96 時間以内の各 MTS の最大値を MMTS(Maximum mean total score)とし、‘眼に対する刺激性の暫定的評価’に従い被験物質の暫定的刺激度を決めた。

<眼に対する刺激性の暫定的評価>

MMTS (点) ^{a)}	暫定的刺激度
0.0~0.5	刺激性なし (Nonirritating)
0.5~2.5	實際上刺激性なし (Practically nonirritating)
2.5~15	ごく軽度の刺激性あり (Minimally irritating)
15~25	軽度の刺激性あり (Mildly irritating)
25~50	中程度の刺激性あり (Moderately irritating)
50~80	強度の刺激性あり (Severely irritating)
80~100	極度の刺激性あり (Extremely irritating)
100~110	最大の刺激性あり (Maximally irritating)

^{a)}境界点にあるときは、より強い刺激度の方を選ぶ。

Step2：眼に対する刺激性の最終評価

暫定的評価を最終評価にするためには、‘眼に対する刺激性の最終評価’に示される条件を満足しなければならない。条件が満たされなければ、一段階の上昇または低下により最終評価とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

＜眼に対する刺激性の最終 評価＞

暫定的刺激度	最終評価のための条件 ^{b)}
刺激性なし	MTS 24=0;MTS 24>0のとき一段階上昇
實際上刺激性なし	MTS 24=0;MTS 24>0のとき一段階上昇
ごく軽度の刺激性あり	MTS 48=0;MTS 48>0のとき一段階上昇
軽度の刺激性あり	MTS 96=0;MTS 96>0のとき一段階上昇
中程度の刺激性あり	1)MTS f≤0;MTS f>0のとき一段階上昇 2)60%以上の動物においてITS f≤10; ITS f>30の動物が1匹もない;それ以外のとき一段階上昇
強度の刺激性あり	1)MTS f≤40;MTS f>40のとき一段階上昇 2)60%以上の動物においてITS f≤30; ITS f>60の動物が1匹もない;それ以外のとき一段階上昇
極度の刺激性あり	1)MTS f≤80;MTS f>80のとき一段階上昇 2)60%以上の動物においてITS f≤60; ITS f>100の動物が1匹もない;それ以外のとき一段階上昇
最大の刺激性あり	1)MTS f≤80のとき一段階低下 2)60%以上の動物においてITS f>60;それ以外のとき一段階低下

b)MTS:MTS の右の数字 24、48、96 は投与後の時間を示し、f(final score) は投与7日後を示す。ITS:動物1個体の合計評点

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目			最高 評点 ^a	適用後時間					
				1時間	24時間	48時間	72時間		
非洗眼群	動物 番号 1101	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0	
			浮腫	4	0	0	0	0	
			分泌物	3	0	0	0	0	
		動物 番号 1102	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
				面積	4	0	0	0	0
			虹彩		2	0	0	0	0
	結膜		発赤	3	1	0	0	0	
			浮腫	4	0	0	0	0	
			分泌物	3	1	0	0	0	
	動物 番号 1103		角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
				面積	4	0	0	0	0
			虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0	
			浮腫	4	0	0	0	0	
			分泌物	3	0	0	0	0	
		合計 ^b			330	8	0	0	0
		平均			110	2.7	0	0	0

^a 判断基準の最高評点

^b Draize 法による評点 (最高 110 点/匹)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

投与後 1 時間において評点 1 の結膜発赤及び評点 1 の分泌物が 1 例、評点 1 の結膜発赤が 2 例認められたが、24 時間後には全例で消失した。

投与後 72 時間目の観察で眼刺激性が認められなかったため、試験を終了した。投与後 96 時間以内の平均合計評点の最大値は 1 時間における 2.7 であった。投与 24 時間後の平均合計評点が 0.0 であることから、Kay and Calandra の刺激性の評価分類表により、検体は「ごく軽度の刺激性あり」と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

参考) 28日間反復経口投与毒性

1) ヒトにおける28日間反復経口投与毒性試験

(資料番号T-9)

Evaluation of Feeding Study with Brewer's Yeast Cell Wall in Humans

J.New Rem.& Clin.Vol.49 No.7 2000

試験機関：キリンビール株式会社(日本)

報告書作成年：2000年

検 体：ビール酵母細胞壁*

*申請者注：本文献のビール酵母細胞壁は、ビール酵母を脱苦味後、酵素処理を行いアミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を高圧分散処理したものである。一方、本申請のビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化による分解後、アミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を酵素分解したものである。原料の酵母細胞壁は同様のものであるが、それをさらに酵素分解し、グルカンを低分子化しているという点で異なる。

供試動物：ヒト

男3名、女6名

23~51才(平均32.0才)

投与開始時平均体重；55.4kg、平均身長；163.5cm

投与期間：28日間

投与方法：検体を8g/日の量で28日間にわたって毎日経口摂取した。始めの3日間は対照期間としてセルロースを経口摂取した。4日目以降28日間連続で検体を経口摂取した。

統計学的解析：試験期間中の体重測定、血液および血液生化学的検査などの検査結果についてt-testにより有意差を検定した(有意水準：両側5%)。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；試験期間中1週間に1回、医師による診察を行った。

観察期間を通じて、検体投与群の男女全例に死亡例は認められなかった。また、一般状態の変化は認められなかった。

体重；試験開始前、終了後に体重を測定した。

試験開始前後で体重には検体投与によると判断される変化は認められなかった。

血液学的検査；0日目のセルロース摂取開始前、4日目の検体摂取開始前、及び32日目の投与終了後に血液学的検査を実施した。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、白血球数、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アサヒバイオサイクル株式会社にある。

試験期間終了時、次項表に示すように白血球数の減少が認められたが、通常食時と比較すると少し高いだけで、セルロース摂取により増加した数値の影響が出ており、正常値（ $40\sim 90\times 10^2/\mu\text{L}$ ）の範囲内でもあることから、検体摂取による問題は無いと考えられる。

パラメーター	通常食	対照(セルロース)	検体
白血球数($\times 10^2/\mu\text{L}$)	52.6 \pm 14.3	59.1 \pm 14.9	54.44 \pm 16.4*

* $p<0.05$

以上のことから、血液学的検査において、男女とも検体投与によると判断される大きな変化は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査で採取した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、尿素窒素 (BUN)、ナトリウム、カリウム、クロライド、総コレステロール、トリグリセリド、GOT、GPT、ALP、LDH、 γ -GTP、ブドウ糖、C反応性タンパク

試験期間終了時、下表に示すように、GOT の有意な増加、尿素窒素の有意な減少が認められた。しかしながら、GOT については通常食時の値と大きく差は無く、正常値（10-40IU/L）の範囲内であることから問題は無く、尿素窒素に関しても正常値（8.0-20.0mg/dL）から外れておらず問題は無いと考えられた。

パラメーター	通常食	対照(セルロース)	検体
GOT(IU/L)	16.9 \pm 3.7	14.9 \pm 2.1	16.3 \pm 2.1*
BUN(mg/dL)	13.0 \pm 2.6	14.6 \pm 1.6	11.3 \pm 2.4*

* $p<0.05$

血液生化学的検査において、男女とも検体投与によると判断される大きな変化は認められなかった。

免疫学的検査；対照群は4日目、検体投与群は32日目にIFN γ 、及びIL-4の測定を行った。

パラメーター	対照(セルロース)	検体
IFN γ (IU/L)	0.156 \pm 0.05	0.300 \pm 0.15*
IL-4(pg/mL)	11.49 \pm 13.5	11.64 \pm 14.6

* $p<0.05$

検体投与により、有意にIFN γ が増加した。このことから、検体にはアレルギーの予防効果が期待でき、ヒトの健康に良い効果があると考えられる。

以上の結果より、本検体はヒトに対して血液学的、血液生化学的に大きな変化を与えないことがわかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

参考) 28日間反復経口投与毒性

2) ヒトにおける28日間反復経口投与毒性試験

(資料番号T-10)

Effect of Yogurt Supplemented with Brewer's Yeast Cell Wall on Levels of Blood Lipids in Normal and Hypercholesterolemic Adults

J.Oleo Sci., Vol.51 No.5 2002

試験機関：キリンビール株式会社（日本）

報告書作成年：2002年

検 体：ビール酵母細胞壁*

*申請者注：本文献のビール酵母細胞壁は、ビール酵母を脱苦味後、酵素処理を行いアミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を高圧分散処理したものである。一方、本申請のビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化による分解後、アミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を酵素分解したものである。原料の酵母細胞壁は同様のものであるが、それをさらに酵素分解し、グルカンを低分子化しているという点で異なる。

供試動物：ヒト

男42名、女47名

23~55才（平均33.7才）

投与期間：28日間

投与方法：検体6gを200mlのヨーグルトに混合し、28日間にわたって毎日経口摂取した。グループA（45名）とグループB（44名）に分け、グループAは検体が入っていないヨーグルトを28日間摂取後、28日間空けて、検体が入ったヨーグルトを28日間摂取した。グループBは検体が入ったヨーグルトを28日間摂取後、28日間空けて、検体が入っていないヨーグルトを28日間摂取した。

統計学的解析：試験期間中の血液パラメーターの検査結果についてウイルコクソン検定により有意差を検定した（有意水準：両側5%）。血液脂質の検査結果についてスチューデントのt検定により有意差を検定した（有意水準：両側5%）。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

観察期間を通じて、検体投与群の男女全例に死亡例は認められなかった。また、一般状態の変化は認められなかった。

血液生化学的検査；以下の項目の測定を行った。

総コレステロール、HDL・コレステロール、LDL・コレステロール、トリアシलगリセロール、遊離脂肪酸、空腹時血糖値、GOT、GPT、 γ -GTP、アルブ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

ミン、総タンパク

試験期間終了時、次表に示すように、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、遊離脂肪酸の有意な減少、空腹時血糖の有意な増加が見られたが、検体の入っていないヨーグルトでも同様の傾向が見られた。

	検体入りヨーグルト		対照ヨーグルト	
	0日目	28日目	0日目	28日目
総コレステロール (mg/dl)	199.4±3.7	188.7±3.5**	197.7±3.6	189.4±3.9**
HDL-コレステロール (mg/dl)	65.9±1.2	61.3±1.1**	65.4±1.2	62.0±1.3**
LDL-コレステロール (mg/dl)	114.7±3.6	108.9±3.4**	114.5±3.7	109.1±3.5*
遊離脂肪酸 (Eq/l)	467.6±27.5	330.5±20.3**	449.2±21.5	323.3±16.2**
空腹時血糖 (mg/dl)	84.1±1.1	88.8±0.8**	85.7±1.1	90.0±0.7**

数値：(平均±SD)

* $p=0.0086$, ** $p<0.0001$

血液生化学的検査において、男女とも検体投与によると判断される異常は認められなかった。

以上の結果より、本検体はヒトに対して血液生化学的に異常を与えないことが明らかとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

参考) 28 日間反復経口投与毒性

3) ラットを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与毒性試験(資料番号 T-11)

Evaluation of Feeding Study with Brewer's Yeast Cell Wall in Rats

Jpn Pharmacol Ther Vol.28 No.8 2000

試験機関：キリンビール株式会社（日本）

報告書作成年：2000 年

検 体：ビール酵母細胞壁*

*申請者注：本文献のビール酵母細胞壁は、ビール酵母を脱苦味後、酵素処理を行いアミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を高圧分散処理したものである。一方、本申請のビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化による分解後、アミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を酵素分解したものである。原料の酵母細胞壁は同様のものであるが、それをさらに酵素分解し、グルカンを低分子化しているという点で異なる。

供試動物：IGS ラット (Crj:CD(SD))

1 群雌雄各 6 匹

投与開始時雌雄とも 6 週齢

投与開始時体重 雄；約 150g (申請者注；文献中グラフから読み取った)

雌；約 130g (申請者注；文献中グラフから読み取った)

投与期間：28 日間

投与方法：検体を 6%含有した餌を 28 日間自由摂取させた。対照区はセルロースを 6%含有した餌を 28 日間自由摂取させた。

投与量：雄；8,120mg/kg/日 (上記数値及び平均摂餌量(20.3±2.1g)から申請者計算)

：雌；6,692mg/kg/日 (上記数値及び平均摂餌量(14.5±3.7g)から申請者計算)

統計学的解析：試験期間中の体重測定、摂餌量測定、尿量、血液および血液生化学的検査、器官重量測定などの検査結果について F-test により等分散性の検定を実施した (有意水準：5%)。等分散ならば Student's t-test を実施し、不等分散ならば Aspin-Welch's t-test を実施した (有意水準：5%)。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；投与期間中毎日一般状態および死亡動物の有無の観察を行った。

観察期間を通じて、対照群及び検体投与群の雌雄全例に死亡例は認められなかった。また、全動物において一般状態の変化、及び毒性は認められなかった。

体重；毎週 1 回、体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

雄において、検体投与により有意に体重増加の抑制が見られた。

摂餌量；毎週 1 回、摂餌量を測定した。

雄の投与群において試験開始 3 日後に有意に摂餌量が少なかった。雌においては試験期間中を通じて摂餌量に有意な差は見られなかった。ラットが食物繊維を含む食事を好まないためであると考えられる。

尿検査；処理最終週に、以下の項目を検査した。

尿量、比重、尿色、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣、ナトリウム、カリウム、クロライド

尿検査において、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

眼科学的検査；雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

血液学的検査；観察期間終了時に全動物を対象として、血液を採取して以下の項目の測定を行った。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、網赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、フィブリノゲン、白血球数、白血球の型別百分率 [リンパ球、好中球、好酸球、好塩基球、単球]

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別	雄	雌
赤血球数		↓95
血色素量		↓96
ヘマトクリット値		↓95

Student の t 検定： ↑↓ p<0.05、 ↑↓ p<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合（申請者計算）

雌において、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値が対照よりも低くなった。その他の項目については検体投与によると判断される変化は認められなかった。これは対照グループの一匹の雌のラットの赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値が異常に高かったためであると考えられ、正常なラットに対しては血液学的に変化を与える原因にはならないと考えられる。

血液生化学的検査；以下の項目の測定を行った。

スパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、ブドウ糖、総コレステロール、トリグリセリド、ナトリウム、カリウム、クロライド、カルシウム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

ム、無機リン、 γ -GTP

血液生化学的検査において、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

臓器重量；全動物を対象として以下の臓器重量を測定した。また、剖検日の体重 100 g 当りの臓器重量を算出した。

体重、脳、脳下垂体、唾液腺、甲状腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別	雄 (相対重量)	雌 (相対重量)
体重	↓92	
甲状腺	↑114	
肺	↓93	
前立腺	↑130	

Student の t 検定： ↑↓ $p < 0.05$

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合 (申請者計算)

雄において甲状腺及び前立腺の相対重量が増加し、体重及び肺の重量が減少した。これらの臓器に異常は認められず、また、雌においては検体投与によると判断される変化は認められなかったため、検体投与に関連付けられる変化とは考えられなかった (申請者注)。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の器官・組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。

心臓、大動脈、肺、気管、肝臓、膵臓、舌、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、腸間膜リンパ節、膀胱、精巣、精巣上体、精のう、乳腺、下垂体、副腎、上皮小体、大脳、小脳、延髄、脊髄、皮膚、眼球、ハーダー腺、骨髄 (胸骨、大腿骨)、坐骨神経、大腿筋、鼻腔、甲状腺、脾臓、前立腺、脳下垂体、陰、卵巣、子宮

次項表に示すように、雄において腎臓のごく軽度の尿細管上皮の好塩基性変化、前立腺のごく軽度の細胞浸潤、甲状腺のごく軽度の異所性胸腺組織、雌において脳下垂体のごく軽度の嚢胞といった所見がみられたが、対照群と比較して投与群の変化に程度の差は認められなかった。その他の臓器では特記すべき所見はみられず、病理組織学的検査所見に明らかな性差も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

以上のことより、病理組織学的検査において、雌雄とも検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

臓器	所見	雄		雌	
		対照	検体 6%	対照	検体 6%
検査動物数		6	6	6	6
脾臓	骨髄外造血	1			
腎臓	尿細管上皮の好塩基性変化		1		
前立腺	細胞浸潤		1		
甲状腺	異所性胸腺組織	1	1	2	
脳下垂体	嚢胞				1

表中の数値は所見が認められた動物数

以上の結果より、ラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験において、本検体に毒性は無いと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

参考) 1年間反復経口投与毒性

1) ラットを用いた強制経口投与による1年間反復経口投与毒性試験 (資料番号T-12)

Chronic Toxicity Study on a New Glucan Extracted from *Candida albicans* in Rats

Arzneim.-Forsch./Drug Res. Vol.42(II) No.11 1992

試験機関: Second Institute of Pharmacology (イタリア)

報告書作成年: 1992年

検 体: グルカン*

*申請者注: 本文献のグルカンは、*Candida albicans*由来の酵母細胞壁から酸・アルカリ処理を経てグルカンを抽出したものであり、たんぱく質などが除去されてグルカン部分が濃縮されたものである。グルカン 99.4%、たんぱく質 0.46%のものを供試している。一方、本申請のビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化による分解後、アミノ酸、核酸を抽出し、残渣である酵母細胞壁を酵素分解したものである。グルカンが低分子化している点と、グルカン含量は約30%で、混在物としてたんぱく質等を多く含有している点で異なる。

供試動物: Sprague Dawley系ラット

52週後屠殺群; 1群雌雄各15匹

4週間後処理終了し、回復させた群; 1群雌雄各5匹

投与開始時雌雄とも6~7週齢

投与開始時体重範囲 雄; 231~290g、雌; 159~205g

投与期間: 52週間

投与方法: 検体を0、50、100及び200mg/kg体重/日の濃度で52週間にわたって毎日強制経口投与した。検体を生理食塩水に懸濁させて投与した。対照群には生理食塩水を投与した。投与容量は5mL/kg体重とした。

統計学的解析: 試験期間中の体重測定、摂餌量測定、尿量、血液および血液生化学的検査、器官重量測定などの検査結果について、Student's t-testもしくはDunnett's multiple comparison testにより検定を実施した(有意水準: 5%)。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 投与期間中、毎日1回一般状態観察、および死亡動物の有無を観察した。

観察期間を通じて、対照群及び検体投与群の雌雄全例に死亡例は認められなかった。200mg/kg/日群において、軟便や下痢が認められた。軟便や下痢は糖アルコールを投与した際の典型的な症状であり、また、これらの変化は投与中止後は元に戻り、回復期間終了後は対照群と投与群の間に特筆すべき差異は認められなかった。雌雄における差異も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

体重；全動物を対象として、投与開始前、投与期間中1週間に1回体重を測定した。

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		50	100	200	50	100	200
投与期間 (週)	0						↑106
	4			↓91			
	20					↑110	
	24						↓93
	48			↓91			

Dunnett's multiple comparison test : ↑↓ p<0.05

表中の数値は対照群を100とした時の割合（申請者計算）

対照群と比較して200 mg/kg/日群の雄の4週、48週、200 mg/kg/日群の雌の24週で有意な減少、200 mg/kg/日群の雌の0週、100 mg/kg/日群の雌の20週で有意な増加が認められた。しかし、その後は対照群との有意差は認められず、いずれも容量依存性も認められず一時的な変化であり、検定投与に起因する変化とは考えられなかった。従って、雌雄の検体投与群の体重には、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

摂餌量；投与開始前及び投与開始後1週間に1回、全動物の摂餌量を測定した。

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		50	100	200	50	100	200
投与期間 (週)	20		↑113				
	44					↓92	

Dunnett's multiple comparison test : ↑↓ p<0.05

表中の数値は対照群を100とした時の割合（申請者計算）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

対照群と比較して 100 mg/kg/日群の雄の 20 週で有意な増加、100 mg/kg/日群の雌の 44 週で有意な減少が認められた。しかし、その後は対照群との有意差は認められず、いずれも容量依存性も認められず一時的な変化であり、検定投与に起因する変化とは考えられなかった。従って、雌雄の検体投与群の摂餌量には、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

水分摂取量；投与開始前及び投与開始後 1 週間に 1 回、全動物の水分摂取量を測定した。

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		50	100	200	50	100	200
投与期間 (週)	16		↓91				
	24	↑116	↑110		↑113		↑110
	36				↑113		
	48			↓94		↑113	
	52			↑113			

Dunnett's multiple comparison test : ↑↓ p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合 (申請者計算)

対照群と比較して 100 mg/kg/日群の雄の 16 週、200 mg/kg/日群の雄の 48 週で有意な減少、50 mg/kg/日群の雄の 24 週、100 mg/kg/日群の雄の 24 週、200 mg/kg/日群の雄の 52 週、50 mg/kg/日群の雌の 24 週、36 週、100 mg/kg/日群の雌の 48 週、200 mg/kg/日群の雌の 24 週で有意な増加が認められた。しかし、その後は対照群との有意差は認められず、いずれも容量依存性は認められず一時的な変化であり、検定投与に起因する変化とは考えられなかった。従って、雌雄の検体投与群の水分摂取量には、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

眼科学的検査；雌雄各 15 匹について投与期間終了後、雌雄各 5 匹について投与期間終了後 4 週間の回復期間をおいた後に検査した。

眼検査において、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

尿検査；雌雄各 15 匹について投与期間終了後、雌雄各 5 匹について投与期間終了後 4 週間の回復期間をおいた後、以下の項目を検査した。

尿量、沈澱、比重、pH、アルブミン、ブドウ糖、ケトン、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別	投与量 (mg/kg)	検査時期	動物数 (匹)	pH
雄	0	52 週後	15	7.26±0.45
		回復後	5	7.55±0.39
	100	52 週後	15	7.34±0.54
		回復後	5	7.72±0.42*
	200	52 週後	15	7.69±0.49*
		回復後	5	7.48±0.54
雌	0	52 週後	15	7.52±0.39
		回復後	5	7.27±0.48
	50	52 週後	15	7.84±0.35*
		回復後	5	7.53±0.44
	100	52 週後	15	7.42±0.50
		回復後	5	7.93±0.46*

Dunnett's multiple comparison test : * $p < 0.05$

対照群と比較して、投与期間終了後、200 mg/kg/日群の雄、50 mg/kg/日群の雌において有意な pH の上昇が認められた。しかし、回復期間終了後は対照群との有意差は認められず、用量依存性も認められないため、いずれも一時的な変化であり、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。従って、雌雄の検体投与群の尿検査において、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

血液学的検査；雌雄各 15 匹について投与期間終了後、雌雄各 5 匹について投与期間終了後 4 週間の回復期間をおいた後、以下の項目を検査した。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、白血球数、白血球の型別百分率 [リンパ球、好中球、好酸球、好塩基球、単球]

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別	投与量 (mg/kg)	検査時期	動物数 (匹)	白血球数
雄	200	52 週後	15	↑116
		回復後	5	↑118

Dunnett's multiple comparison test : ↑↓ p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合 (申請者計算)

対照群と比較して、200 mg/kg/日群の雄において白血球数の有意な増加が認められ、回復期間終了後も数値は高かった。その他の項目については検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

血液生化学的検査；雌雄各 15 匹について投与期間終了後、雌雄各 5 匹について投与期間終了後 4 週間の回復期間をおいた後、以下の項目を検査した。

ブドウ糖、総脂質、コレステロール、トリグリセリド、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、リン、ナトリウム、カリウム、クロライド、カルシウム

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別	雄						雌			
	50		100		200		100		200	
投与量 (mg/kg/日)										
検査時期	52 週後	回復 後	52 週後	回復 後	52 週後	回復 後	52 週後	回復 後	52 週後	回復 後
検査動物数 (匹)	15	5	15	5	15	5	15	5	15	5
総脂質					↑102	↑102		↑101	↑101	
コレステロール	↓95		↓96							
AST							↑107			
A/G	↓96		↓96	↓98		↓98				

Dunnett's multiple comparison test : ↑↓ p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合 (申請者計算)

血液生化学的検査において、200 mg/kg/日群の雄で総脂質は増加傾向にあるがその増加割合は 2%程度で小さく、コレステロール、AST、A/G に関しては用量依存性が認められなかった。従って、雌雄とも検体投与によると判断される変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

臓器重量；雌雄各 15 匹について投与期間終了後、雌雄各 5 匹について投与期間終了後 4 週間の回復期間をおいた後、以下の臓器重量を測定した。

肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、卵巣、精巣、脳、下垂体、甲状腺、肺、心臓

投与群において対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別	雄（相対重量）			
	50		200	
投与量 (mg/kg/日)				
検査時期	52 週後	回復後	52 週後	回復後
検査動物数 (匹)	15	5	15	5
腎臓	↑107			
精巣	↓94			
甲状腺	↑110			
肺			↓91	

Dunnett's multiple comparison test : ↑↓ p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合（申請者計算）

対照群と比較して、投与期間終了後、50 mg/kg/日群の雄の腎臓、甲状腺の有意な増加、50 mg/kg/日群の雄の精巣、200 mg/kg/日群の雄の肺の有意な減少が認められた。しかし、回復期間終了後は対照群との有意差は認められず、いずれも一時的な変化であり用量依存性も認められないため、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。従って、雌雄の検体投与群の臓器重量において、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

剖検、病理組織学的検査；雌雄各 15 匹について投与期間終了後、雌雄各 5 匹について投与期間終了後 4 週間の回復期間をおいた後、病理解剖を行い、以下の器官・組織について病理標本を作製し、鏡検した。

心臓、大動脈、肺、気管、甲状腺、上皮小体、唾液腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮管、膀胱、骨格筋、坐骨神経、皮膚、乳腺、下垂体、眼球、視神経、肝臓、脾臓、膵臓、腸間膜リンパ節、胸腺、腎臓、脊髄、脳、骨髄、内耳

200 mg/kg/日群において、結腸粘膜の過形成による盲腸の拡張が認められた。この症状は糖アルコールを投与した際の典型的な症状であり、また、投与中止後は元に戻り、回復期間終了後は対照群と投与群の間に特筆すべき差異は認められなかった。その他の項目に特筆すべき差異は認められず、雌雄における差異も認められなかった。

以上の結果より、グルカンのラットにおける 1 年間反復投与試験における無影響量は、本試験条件下で 100 mg/kg/日であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

IX. 動植物および土壌等における代謝分解

1. 動物代謝試験
2. 植物代謝試験
3. 土壌中動態に関する試験
4. 水中動態に関する試験

当該農薬の成分物質であるビール酵母抽出グルカンは、ビール類酵母を自己消化及びプロテアーゼ（食品添加物）により分解した酵母エキス中の成分で、食品に分類されていて一般に広く利用されており安全であることが公知であるため、試験を省略する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアサヒバイオサイクル株式会社にある。

[附] ビール酵母抽出グルカン水和剤の開発年表

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
	原体開発						
特許		出願					
生物学的性質							
製剤化検討							
薬効・薬害試験							
ヒトに対する安全性		経口	_____			経皮 吸入	_____ _____
		皮膚刺激	_____				
		眼刺激	_____				
		皮膚感作	_____				
環境生物に対する影響		魚類	_____	_____			
		ミシコ類	_____	_____			
		藻類	_____	_____			
天敵昆虫等に対する影響					ミツバチ 蚕 天敵昆虫	_____ _____ _____	
製造検討							_____