

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(8) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

① ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(資料 No. 22)

試験機関 : (GLP対応)

報告書作成年 : 1991年

検体純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley (CrI:CD BR) 系ラット

開始時体重範囲 雄 ; 214~260g、雌 ; 158~195g、1群雌雄各26匹

投与期間 : F₀世代 ; 雄 投与開始 (7週齢) から交配前14週間、交配期間及び解剖日まで
雌 投与開始 (7週齢) から交配前14週間、交配、妊娠、哺育期間および解剖日まで

F₁世代 ; 雄 離乳後16週間、交配期間及び解剖日まで

雌 離乳後16週間、交配、妊娠、哺育期間及び解剖日まで

(試験期間 : 1989年10月4日~1990年11月29日)

投与方法 : 検体を100、800及び3600ppmの濃度になるように基礎飼料に混入し、自由摂取させた。

対照群には基礎飼料を摂取させた。

検体混入飼料は、週1回調製した。

投与量設定根拠 ;

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験項目及び方法：試験の概要を後述した。

一般状態及び死亡率；全ての動物について、一般臨床観察については1日1回及び死亡・瀕死動物の有無については1日2回毎日観察した。

体重変化；F₀及びF₁世代の雄は試験期間を通じて週1回体重を測定した。F₀及びF₁世代の雌は1回目交配成立するまで週1回、交配後は、妊娠0、7、14及び20日目、分娩0、4、7、14及び21日目に体重を測定した。なお、F₁世代の雌においては2回目交配までの休息期間は週1回、妊娠0、7、14及び20日目、哺育0、4、7、14及び21日目に体重を測定した。

摂餌量；雄についてはF₀世代及びF₁世代のF₂A作出時まで、交配期間を除き試験期間を通じて週1回摂餌量を測定した。

F₀世代の雌は、交配成立するまで週1回、交配後は妊娠0-7、7-14、14-20日、哺育0-4、4-7、7-10及び10-14日に摂餌量を測定した。F₁世代の雌は、F₂A作出時には交配までは週1回、交配後は妊娠0-7、7-14、14-28、哺育0-4、4-7、7-10、10-12及び12-14に測定した。また、F₂B作出時については、妊娠期間及び哺育期間について、F₂A作出時と同じ期間に測定した。

交配方法及び交尾・妊娠の確認；交配は雌雄1対1で同居させ、翌朝陰栓の形成または陰垢中の精子の有無により、交尾を確認した（確認された日を妊娠0日とした）。

繁殖性に関する指標；分娩後、各雌親動物について生存出産児数、死亡産児数、児動物の性別及び喰殺について調査した。分娩後0、4、7、14及び21日目に体重を測定した。交配、妊娠、出産及び哺育期間の観察に基づき、次の指標を求めた。

$$\text{交尾率} = (\text{交尾確認雌動物数} / \text{交配雌動物数}) \times 100$$

$$\text{妊娠率} = (\text{妊娠雌動物数} / \text{交配雌動物数}) \times 100$$

$$\text{受胎率} = (\text{妊娠雌動物数} / \text{交尾確認雌動物数}) \times 100$$

$$\text{授胎率} = (\text{雌を妊娠させた雄動物数} / \text{交尾確認雄動物数}) \times 100$$

$$\text{出産率} = (\text{生存児を出産した雌動物数} / \text{妊娠動物数}) \times 100$$

$$\text{出生率} = (\text{出生児動物数} / \text{分娩児動物数}) \times 100$$

$$\text{哺育4日生存率} = (\text{哺育4日生存児動物数 (調製前)}) / (\text{哺育0日生存児動物数}) \times 100$$

$$\text{哺育21日生存率} = (\text{哺育21日生存児動物数}) / (\text{哺育4日生存児動物数 (調整後)}) \times 100$$

病理学的検査；全ての屠殺及び死亡動物について剖検し、同時に着床痕を数えた。

組織学的検査；F₀及びF₁動物について、対照群及び高用量群の卵巣、子宮、膣、精巣、精巣上体、精囊腺、前立腺、凝固腺及び肉眼的病変部について病理標本作製し、鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験の流れを以下に示す。

世代	期間	作業手順	項目
F ₀	生育(14週)	1群 雄26匹 雌26匹	一般状態、生死を毎日観察 体重を週1回、摂餌量を週1回測定
	交配(3週)	雌雄1対1で交配。 交尾は膣栓および膣垢中の精子で 確認(妊娠0日)	交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠動物の体重測定
	F ₁ 出産		出産状況の観察、出産児数、生存児数 外表異常および同腹生存児体重測定
	哺育(21日)		分娩0, 4, 7, 14及び21日目に体重測定
	離乳	一継代用の各群雌雄26匹を出来る 限り各腹から1匹ずつ選抜	親用動物[F ₁]に選抜されなかった児 動物の剖検 親動物[F ₀]の剖検(8週間休息期間後) ならびに病理組織検査
F ₁	生育(16週)		(F ₀ 世代に準じる)
	交配(3週) (1回目)	(F ₀ 世代に準じる)	
	妊娠(3週) (1回目)		
	F _{2A} 出産		(F ₀ 世代に準じる) (F ₀ 世代に準じる)
	哺育(21日)		児動物[F _{2A}]剖検
	離乳		
	親動物[F ₁]休息期間(6週間)		
	交配(3週) (2回目)	(F ₀ 世代に準じる)	(F ₀ 世代に準じる)
	妊娠(3週) (2回目)	(F ₀ 世代に準じる)	(F ₀ 世代に準じる)
	F _{2B} 出産		(F ₀ 世代に準じる) (F ₀ 世代に準じる)
哺育(21日)			
	離乳		児動物[F _{2B}]剖検 親動物[F ₁]の剖検(6週間休息期間後) ならびに病理組織検査

結果 : 以下の表にまとめた

世 代		親 : F ₀ 児 : F ₁				親 : F ₁ 児 : F _{2A} ・F _{2B}					
投 与 量 (ppm)		0	100	800	3600	0	100	800	3600		
供 試 動 物 数 (匹)	雄	26	26	26	26	26	26	26	26		
	雌	26	26	26	26	26	26	26	26		
検 体 摂 取 量	生 育 期 間 (mg/kg)	雄	—	6.3	50.4	223.7	—	7.4	61.0	274.2	
		雌	—	7.4	58.7	261.4	—	8.9	69.7	319.9	
	妊 娠 期 間 (mg/kg)	A	—	6.6	51.7	237.1	—	6.1	49.5	214.9	
		B	—	—	—	—	—	5.8	48.1	210.7	
	哺 育 期 間 (mg/kg)	A	—	11.8	88.1	429.0	—	10.0	81.3	410.5	
		B	—	—	—	—	—	8.5	76.5	344.5	
	一 般 状 態		雌雄ともに検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった。								
	死 亡 率 (%) [匹]	雄	0 [0]	0 [0]	3.8 [1]	0 [0]	0 [0]	0 [0]	3.8 [1]	0 [0]	
雌		0 [0]	0 [0]	0 [0]	0 [0]	3.8 [1]	3.8 [1]	7.7 [2]	11.5 [3]		
親 動 物	体 重 増 加 量	生 育 期 間 (g)	雄	345.9	340.0	347.3	320.2 ↓ 《92.6》	498.3	520.6	507.2	469.1
			雌	142.5	142.5	146.1	114.8 ↓ 《80.6》	243.4	260.8	246.0	228.5
	妊 娠 期 間 (g)	A	128.06	128.35	124.83	128.46	131.14	123.81	126.27	122.63	
		B	—	—	—	—	127.95	114.35	133.61	91.55 ↓ 《71.6》	
	哺 育 期 間 (g)	A	10.53	15.05	10.50	23.26	-8.58	-23.65	-27.53	2.74	
		B	—	—	—	—	-24.14	-32.67	-26.71	2.00 ↑	
	平 均 摂 餌 量	生 育 期 間 (g/rat/week)	雄	202.5	205.1	205.5	195.3	213.2	218.3	215.8	197.7
			雌	143.1	142.7	142.2	132.1	160.9	163.5	154.1	145.3
妊 娠 期 間 (g/rat/day)		A	25.9	26.0	25.6	24.1	26.1	26.3	25.5	22.3	
		B	—	—	—	—	27.3	26.4	26.8	23.0 ↓	
哺 育 期 間 (g/rat/day)	A	46.5	46.0	44.0	43.1	44.9	44.5	44.3	44.6		
	B	—	—	—	—	43.7	41.4	44.3	39.5		

Dunnett の t 検定 ↑ ↓ : p<0.05 合 ↓ : p<0.01
《 》 中の数値は対照群に対する変動率 (%)

A : 第1産 B : 第2産

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

世 代		親 : F ₀				親 : F ₁				
投 与 量 (ppm)		0	100	800	3600	0	100	800	3600	
親動物交配成績	交尾率 (%)	雄	100 26/26	88 23/26	96 25/26	96 25/26	100 26/26	88 23/26	77 20/26	92 24/26
		雌	100 26/26	88 23/26	96 25/26	96 25/26	100 26/26	88 23/26	77 20/26	92 24/26
	受胎率 (%)	65 17/26	91 21/23	96 24/25	96 24/25	85 22/26	74 17/23	80 16/20	83 20/24	
	授胎率 (%)	65 17/26	91 21/23	96 24/25	96 24/25	85 22/26	74 17/23	80 16/20	83 20/24	
	妊娠率 (%)	65 17/26	81 21/26	92 24/26	92 24/26	85 22/26	65 17/26	62 16/26	77 20/26	
	妊娠期間 (day)	22.0	22.0	21.8	22.2	22.0	22.1	21.9	22.1	
	出産率 (%)	100 17/17	100 21/21	100 24/24	100 24/24	95 21/22	100 17/17	94 15/16	95 19/20	
	肉眼的病理検査	雌雄ともに検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった								
	組織病理学的検査	雌雄ともに検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった								
	産児数	0日	分娩児数	231	295	328	344	286	225	199
生存児数 [生存出生率 (%)]			228 [99]	294 [100]	323 [98]	337 [98]	278 [94]	225 [100]	196 [98]	235 [93]
生存雄児数 [生存児数中の雄の割合 (%)]			125 [54]	149 [51]	167 [52]	185 [55]	110 [41]	104 [48]	103 [53]	136 [56]
生存雌児数 [生存児数中の雌の割合 (%)]			103 [45]	145 [49]	156 [48]	152 [45]	168 [60]	121 [52]	93 [47]	99 [42]
21日		生存児数	132	156	179	174	147	122	116	147
		生存雄児数 [生存児数中の雄の割合 (%)]	66 [50]	82 [53]	92 [51]	91 [53]	68 [46]	61 [50]	61 [52]	74 [51]
1牛 腹存 当児 り数		分娩後0日	13.41	14.00	13.42	14.04	13.24	13.24	13.07	12.37
		分娩後4日調整前	13.18	13.57	12.85	13.48	12.35	13.00	12.40	11.95
		分娩後4日調整後	7.94	7.95	7.67	7.91	7.85	7.59	8.00	7.89
		分娩後21日	7.76	7.80	7.78	7.57	7.74	7.18	7.73	7.74
哺育4日生存 (%)	99	97	94	91	90	99	95	97		
哺育21日生存 (%)	98	93	94	95	92	93	97	98		
児動物	哺育 児 体 重	分娩後0日	6.57	6.51	6.55	6.43	6.84	6.86	6.64	6.40♂ 《93.6》
		分娩後4日調整前	10.44	9.81	9.76	9.51	10.44	10.01	10.22	10.19
		分娩後4日調整後	10.51	9.84	9.77	9.49	10.50	9.96	10.37	10.25
		分娩後7日	17.22	16.01	15.37↓ 《89.3》	14.98♂ 《87.0》	16.62	15.73	16.16	15.98
		分娩後14日	33.35	31.97	29.57↓ 《88.7》	28.05♂ 《84.1》	34.97	33.15	34.64	32.17
		分娩後21日	55.04	52.16	48.29♂ 《87.7》	45.69♂ 《83.0》	57.13	54.55	56.86	52.91
		分娩後0日	6.20	6.14	6.28	6.05	6.48	6.48	6.29	6.09♂ 《94.0》
		分娩後4日調整前	9.91	9.18	9.28	8.90	9.95	9.65	9.76	9.82
		分娩後4日調整後	9.96	9.20	9.25	8.97	10.04	9.63	9.71	9.80
		分娩後7日	16.39	14.99	14.77	14.07♂ 《85.8》	15.99	15.34	15.54	15.30
分娩後14日	32.45	30.46	28.92↓ 《89.1》	27.03♂ 《83.3》	33.94	33.11	33.54	31.18		
分娩後21日	52.64	49.64	46.76↓ 《88.8》	43.96♂ 《83.5》	55.38	51.96	54.88	50.55↓ 《91.3》		
肉眼的病理検査	雌雄ともに検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった									

Dunnell の t 検定 ↑ ↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01

A : 第1産 B : 第2産

《 》中の数値は対照群に対する変動率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は口産化学工業株式会社にある。

世 代		親: F ₀ 児: F ₁				親: F ₁ 児: F _{2B}					
投 与 量 (ppm)		0	100	800	3600	0	100	800	3600		
親動物交配成績	交 尾 率 (%)	雄	—	—	—	—	96 24/25	85 22/26	60 15/26	76 19/26	
		雌	—	—	—	—	100 25/25	85 22/26	76 19/25	92 23/25	
	受 胎 率 (%)	—	—	—	—	92 23/25	95 20/21	95 18/19	91 21/23		
	授 胎 率 (%)	—	—	—	—	96 23/24	95 20/22	87 13/15	95 18/19		
	妊 娠 率 (%)	—	—	—	—	92 23/25	88 23/26	84 21/25	88 22/25		
	妊 娠 期 間 (day)	—	—	—	—	22.0	22.0	22.1	22.2		
	出 産 率 (%)	—	—	—	—	96 22/23	83 19/23	86 18/21	77 17/22		
	肉 眼 的 病 理 検 査		雌雄ともに検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった								
組 織 病 理 学 的 検 査		雌雄ともに検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった									
産 児 数	0 日	分 娩 児 数	—	—	—	—	288	237	231	198	
		生 存 児 数 [生存出生率(%)]	—	—	—	—	279 [97]	228 [96]	226 [97]	188 [96]	
		生 存 雄 児 数 [生存児数中の雄の割合(%)]	—	—	—	—	134 [47]	104 [48]	106 [44]	100 [52]	
	21 日	生 存 児 数	—	—	—	—	145	122	122	106	
		生 存 雄 児 数 [生存児数中の雄の割合(%)]	—	—	—	—	67 [48]	62 [50]	58 [45]	53 [50]	
	1 生 腹 存 当 児 り 数	分 娩 後 0 日	—	—	—	—	12.68	12.00	12.56	11.06	
		分 娩 後 4 日 調 整 前	—	—	—	—	11.82	12.22	12.47	10.63	
		分 娩 後 4 日 調 整 後	—	—	—	—	7.23	7.56	7.47	6.88	
		分 娩 後 21 日	—	—	—	—	6.90	6.78	7.18	6.63	
	哺 育 4 日 生 存 (%)		—	—	—	—	93	93	91	91	
哺 育 21 日 生 存 (%)		—	—	—	—	89	90	94	97		
児 動 物	哺 育 児	雄	分 娩 後 0 日	—	—	—	—	6.86	6.81	6.87	6.41♁ 《93.4》
			分 娩 後 4 日 調 整 前	—	—	—	—	10.01	10.53	11.25	10.16
			分 娩 後 4 日 調 整 後	—	—	—	—	10.00	10.54	11.32	10.07
			分 娩 後 7 日	—	—	—	—	16.16	16.12	17.20	16.40
			分 娩 後 14 日	—	—	—	—	34.65	35.66	36.26	33.78
	分 娩 後 21 日	—	—	—	—	58.15	60.50	60.98	55.52		
	体 重	雌	分 娩 後 0 日	—	—	—	—	6.50	6.44	6.56	6.10↓ 《93.8》
			分 娩 後 4 日 調 整 前	—	—	—	—	9.71	10.26	10.84	10.03
			分 娩 後 4 日 調 整 後	—	—	—	—	9.73	10.29	10.82	9.99
			分 娩 後 7 日	—	—	—	—	16.16	15.65	16.50	16.15
分 娩 後 14 日			—	—	—	—	35.36	34.12	34.25	33.15	
分 娩 後 21 日	—	—	—	—	58.80	57.22	56.66	54.01			
肉 眼 的 病 理 検 査		雌雄ともに検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった									

Dunnettのt検定 ↑↓: p<0.05 ♁♂: p<0.01

A: 第1産 B: 第2産

《 》中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

親動物

F₀世代においては、生育期間中 3600ppm 群で雌雄とも体重増加量が有意に抑制された。しかし妊娠期間、哺育期間では変化は認められなかった。

F₁世代では、どの投与量でも生育期間中は雌雄とも、投与による影響は認められなかった。F₂B 作出時の妊娠期間では、3600ppm 群で有意に親動物の体重増加量の抑制が認められた。また、F₂B 作出時の妊娠期間で、3600ppm 群の飼料摂取量が有意に減少した。

F₀、F₁世代とも、妊娠率と受胎率にばらつきは認められたが、統計学的にも有意ではなく、投与との関連性は考えられなかった。他の指標も含めて、生殖性あるいは繁殖性に関して、検体投与の影響は認められなかった。

児動物

出生率、離乳率には、どの世代でも検体投与による影響は認められなかった。児動物の体重については、F₁世代の 3600 及び 800ppm 群で雌雄とも、分娩 0 日では対照群とほぼ同等であったが、分娩 7、14、21 日では体重が有意に抑制された。しかし 800ppm 群では、それに続く生育期間では変化が認められなかった。

F₂世代では雌雄とも、A 産、B 産共に 3600ppm 群でのみ分娩 0 日の体重が有意に低値であった。分娩 21 日体重では、A 産雌のみ 3600ppm 群で有意に抑制された。その他の投与群では児動物体重に検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、3600ppm 投与群ではどの世代でも、親、児動物の体重に有意な抑制が認められた。800ppm 投与群では、F₁世代の哺育期間中に限局的又は一過性の体重への影響が観察されたが、すべての腹あるいは F₂世代に認められた変化ではなかったため、投与による影響ではないと考えられた。

従って、親動物及び児動物の無毒性量は 800ppm^(*)であると判断された。

また、繁殖性への影響はないと考えられた。

注) : 800ppm F₀世代 (生育期間) : 雄; 50.4mg/kg/day、雌; 58.7mg/kg/day

F₁世代 (生育期間) : 雄; 61.0mg/kg/day、雌; 69.7mg/kg/day

② ラットを用いた催奇形性試験

(資料No. 23)

試験機関： (GLP 対応)
報告書作成年：1993年

検体純度：
供試動物：Sprague-Dawley (Crj:CD SPF) 系ラット、開始時週齢 雌 10 週齢、雄 11 週齢
開始時体重範囲 雌 233~268g、雄(入手時体重) 327~375g
交尾確認雌 各群 23 匹
試験期間：30 日間 (1993 年 4 月 20 日~1993 年 5 月 21 日)
投与期間：雌 妊娠 6~15 日の間
試験方法：検体を 100、300 及び 1000mg/kg の投与量となるよう 0.5% Carboxymethyl-cellulose (CMC) 水溶液に懸濁し、交尾確認雌動物に妊娠 6 日~15 日の 10 日間、1 日 1 回強制経口投与した。交尾は発情前期の雌動物と雄動物を 1 対 1 で同居させ、翌口膣栓の形成または膣垢中の精子の検出により交尾を確認し、確認した日を妊娠 0 日とした。対照群には溶媒のみを投与した。

投与量設定根拠；

検査項目及び方法：

親動物；一般状態及び死亡の有無を毎日 1 回観察した。体重は、妊娠 0、6、8、12、16 及び 21 日に個体別に測定し、摂餌量を体重測定日に個体別に測定した。妊娠 21 日に親動物を頸椎脱臼法によって安楽死させ、帝王切開及び肉眼的病理解剖を行い、妊娠黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚(着床痕・残存胎盤)数、死亡胎児(侵軟児を含む)数について観察した。

上記より以下の指標を求めた。

胎児死亡率 = (死亡胚・死亡胎児数 / 着床数) × 100

着床率 = (着床数 / 妊娠黄体数) × 100

性比 = 雄生存児数 / 雌生存児数

生存胎児の雌雄別一腹平均体重

胎児；生存胎児の性別を観察し、個体別体重を測定した後、外表異常の有無を検査した。外表異常の検査後、生存胎児について左子宮角卵巢側から順に番号を振り、奇数番号を骨格検査、偶数番号を内臓検査に振り分け実施した。外表異常胎児については骨格検査に振り分けた。Wilson 法により内臓を検査し、Dawson 法に準じて骨格標本を作成し、骨格検査した。

結果：次ページの表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (mg/kg)		0 (対照)	100	300	1000	
1群当たりの動物数		23	23	23	23	
1群当たりの妊娠動物数		23	23	23	23	
親動物	死亡数	0	0	0	1 ^{a)}	
	一般状態	-	-	-	軟便	
	軟便	0/23	0/23	0/23	23/23	
	体重増加量 ¹⁾ (g)	148	143	138	120 \downarrow	
	[%]	[100]	[97]	[93]	[81]	
	摂餌量 ²⁾ (g)	30.7	30.4	29.0	24.9 \downarrow	
	[%]	[100]	[99]	[94]	[81]	
	妊娠 21 日生存率 (%)	100	100	100	100	
	妊娠率 (%)	100	100	100	100	
	剖検所見	検体投与に起因する所見は認められなかった。				
	着床所見： 腹平均	妊娠黄体数	17.3	16.6	17.3	17.3
		着床数	16.4	15.1	15.8	16.0
		着床率 (%)	94.8	91.9	92.1	93.0
		生存胎児数	15.5	14.2	14.7	14.1
着床後死亡		胚死亡率 (%)	5.3	6.5	6.5	11.5 \uparrow
		前期死亡胚数	19	21	23	40
		後期死亡胚数	1	0	0	2
	総死亡胚数	20	21	23	42	

1): 妊娠 6 日から妊娠 21 日までの平均体重の増加量を申請者が算出し、有意差を検定した。

2): 妊娠 6 日から妊娠 16 日までの平均 1 日摂餌量を申請者が算出し、有意差を検定した。

a): 投与失技による死亡

Dunnett の t 検定又は Scheffe 検定 $\uparrow \downarrow$: $p < 0.05$ $\uparrow \downarrow$: $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (mg/kg)		0 (対照)	100	300	1000	
1群当たりの動物数		23	23	23	22	
平均生存胎児体重	雄 (g)	5.34	5.35	5.21	4.33 \downarrow	
	[%]	[100]	[100]	[98]	[81]	
	雌 (g)	5.07	5.12	4.91	4.08 \downarrow	
	[%]	[100]	[101]	[97]	[80]	
生存胎児の性比 (雄/雌)		1.05	0.88	0.92	0.93	
胎 表	検査胎児数	357	327	339	311	
	外表異常胎児数	0	1	1	4	
	外表異常出現率 (%)	0	0.3	0.3	1.3	
	内訳 ()	痕跡尾、鎖肛	0	0	0	3 (0.96)
		口蓋裂	0	0	0	1 (0.32)
	内 %	曲尾	0	0	1 (0.3)	0
		下顎低形成	0	1 (0.3)	0	0
	内 臓	検査胎児数	173	154	165	149
		内臓異常胎児数	2	8	3	9
		内臓異常出現率 (%)	1.2	5.2	1.8	6.0
内訳 () 内 %		小眼球	0	1 (0.6)	0	0
		大血管部分的転移	1 (0.6)	0	0	0
		総房室口遺残	1 (0.6)	1 (0.6)	0	0
		動脈幹遺残	0	0	1 (0.6)	0
		心室中隔欠損	0	0	0	6 (4.0)
		腎盂拡張	0	3 (1.9)	0	2 (1.3)
		尿管拡張	1 (0.6)	5 (3.2)	2 (1.2)	3 (2.0)
	完全内臓逆位	0	1 (0.6)	0	0	

Dunnell の t 検定又は Scheffe 検定 \downarrow : p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (mg/kg)		0 (対照)	100	300	1000	
1群当たりの動物数		23	23	23	22	
胎骨 児格	検査胎児数	184	173	174	162	
	骨格異常胎児数 ¹⁾	1	1	2	22	
	骨格異常出現率 (%)	0.5	0.6	1.1	13.6 \uparrow	
	骨格奇形胎児数	0	1	0	14	
	骨格奇形出現率 (%)	0	0.6	0	8.6 \uparrow	
	内訳 () 内 %	頭蓋骨奇形胎児数合計	0	1 (0.6)	0	6 (3.7)
		異形成	0	0	0	5 (3.1)
		癒合	0	0	0	1 (0.6)
		単一	0	1 (0.6)	0	0
		下顎骨低形成	0	1 (0.6)	0	0
		椎体椎弓奇形胎児数合計	0	1 (0.6)	0	8 (4.9) \uparrow
		不整列	0	0	0	5 (3.1)
		癒合	0	0	0	3 (1.9)
		欠損	0	0	0	4 (2.5)
		変形	0	0	0	2 (1.2)
		減数	0	1 (0.6)	0	0
		下部椎骨欠損	0	0	0	3 (1.9)
		肋骨奇形胎児数合計	0	0	0	4 (2.5)
		位置異常	0	0	0	1 (0.6)
	癒合	0	0	0	3 (1.9)	
	化骨遅延による異常胎児数	1	1	2	20	
	化骨遅延による異常出現率 (%)	0.5	0.6	1.1	12.3 \uparrow	
	内訳 () 内 %	頭蓋骨化骨遅延胎児数合計	0	0	0	2 (1.2)
		頭蓋骨低形成	0	0	0	2 (1.2)
		椎体椎弓化骨遅延胎児数合計	1 (0.5)	0	1 (0.6)	20 (12.3) \uparrow
		椎体椎弓低形成	1 (0.5)	0	1 (0.6)	13 (8.0) \uparrow
		椎体椎弓分離 ²⁾	0	0	0	9 (5.6) \uparrow
椎体亜鈴型 ²⁾		0	0	0	6 (3.7)	
肋骨化骨遅延胎児数合計		0	1 (0.6)	0	0	
肋骨低形成		0	1 (0.6)	0	0	
その他化骨遅延胎児数合計		0	0	1 (0.6)	2 (1.2)	
胸骨分離		0	0	0	1 (0.6)	
恥骨低形成		0	0	1 (0.6)	0	
坐骨低形成	0	0	0	1 (0.6)		

1) : 異常胎児数=奇形胎児数+化骨遅延による異常胎児数

2) : ここで認められた胎児は他の低形成および、あるいは奇形等の異常を伴う胎児であり、変異で取り上げた胎児とは別胎児である

順位和検定、 χ^2 検定又はFisherの直接確率検定 \uparrow ↓:p<0.05 \uparrow \uparrow :p<0.01

投与量 (mg/kg)		0 (対照)	100	300	1000	
1群当たりの動物数		23	23	23	22	
胎 骨 児 格	骨格変異胎児数	19	24	26	103 \uparrow	
	骨格変異出現率 (%)	10.3	13.9	14.9	63.6 \uparrow	
	内 臓 (%)	仙椎前椎骨数 25	0	1 (0.6)	4 (2.3)	0
		仙椎前椎骨数 27	1 (0.5)	0	0	7 (4.4)
		胸骨非対称	1 (0.5)	4 (2.3)	1 (0.6)	7 (4.4)
		胸骨数過剰	1 (0.5)	0	0	0
		胸骨分離	0	0	0	4 (2.5)
		頸肋	5 (2.7)	4 (2.3)	9 (5.2)	32 (19.8) \uparrow
		12 肋骨	0	0	1 (0.6)	0
		腰肋 (14 肋骨)	2 (1.1)	4 (2.3)	3 (1.7)	44 (27.3) \uparrow
		椎体分離	1 (0.5)	4 (2.3)	3 (1.7)	35 (22.2) \uparrow
		垂鈴型	9 (4.9)	8 (4.6)	8 (4.6)	41 (25.9) \uparrow
		結節状肋骨	0	0	0	1 (0.6)
		波状肋骨	0	0	0	5 (3.1)
		化骨進行度				
内 臓		後頭骨鱗部 (%)	100	100	100	93.6 \downarrow
	胸骨核数	5.99	5.99	5.95	5.70 \downarrow	
	中手骨数	8.00	8.00	7.99	7.91 \downarrow	
	中足骨数	9.98	9.99	9.96	9.15 \downarrow	
	仙・尾椎数	10.34	10.31	9.88 \downarrow	8.74 \downarrow	

順位和検定、 χ^2 検定又は Fisher の直接確率検定 $\uparrow \downarrow$: p<0.05 $\uparrow \downarrow$: p<0.01

親動物 : 1000mg/kg 群の全動物で軟便が認められた。また、体重増加量及び摂餌量が有意に減少した。その他の群には投与による影響は認められなかった。剖検では、いずれの群においても検体に起因する所見は認められなかった。

胎 児 :

帝王切開成績: 子宮内状況の検査では、1000mg/kg 群で、胎児死亡率が有意に増加し、生存胎児体重が有意に減少した。300mg/kg 以下の群の子宮内状況においては有意差のある変化は認められなかった。

胎児の外表検査: 1000mg/kg 群で鎖肛を伴う痕跡尾が 3 匹 (3 腹) 及び口蓋裂が 1 匹、300mg/kg 群で曲尾が 1 匹、100mg/kg 群で下顎低形成が 1 匹認められた。いずれも発現率に統計学的有意差はなく、自然発生の範囲と考えられた。

胎児の内臓検査: 内臓異常では有意差のある変化は認められなかった。1000mg/kg 群で認められた心室中隔欠損の発現は、胎児体重の低下すなわち成長抑制に起因した変化であると考えられた。

胎児の骨格検査:

- 骨格奇形: 骨格奇形は頭蓋骨、椎体椎弓および肋骨で認められたが、各奇形所見については有意差は認められなかった。椎体椎弓の奇形胎児の合計 (5 腹 8 胎児) および骨格奇形合計 (6 腹 14 胎児) が 1000mg/kg 群で有意に増加した。同群での頭蓋骨奇形胎児の合計および肋骨奇形胎児の合計はそれぞれ 2 腹 6 胎児、3 腹 4 胎児でいずれも有意差はなかった。他の群では下顎低形成が 100mg/kg 群に 1 匹のみ認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

- ・化骨遅延による異常：1000mg/kg 群では頭蓋骨低形成、椎体椎弓の低形成・分離および亜鈴型、および坐骨低形成が認められ、椎体椎弓の低形成(7腹13胎児)および分離(6腹9胎児)が有意に増加した。300mg/kg 群では椎体椎弓低形成と恥骨低形成が各1匹、100mg/kg 群では肋骨低形成が1匹のみ認められた。
- ・骨格変異：頸肋、腰肋(14肋骨)、椎体分離および椎体亜鈴型を示す胎児が各群に認められ、1000mg/kg 群で有意に増加した。同群で認められた他の変異、仙椎前椎骨数27、胸骨非対称、胸骨分離、結節状肋骨あるいは波状肋骨については有意差は認められなかった。100および300mg/kg 群でも同様の変異が認められたが有意差は認められなかった。
- ・化骨進行度：後頭骨鱗部化骨胎児数ならびに胎児あたりの胸骨核数、中手骨数、中足骨数および仙・尾椎数は1000mg/kg群で有意に減少した。100および300mg/kg群では、有意差は認められなかった。

骨格異常の1000mg/kg群における頻度は10腹22胎児(13.6%)で有意に増加した。これらの異常のうち骨の低形成あるいは一部分離のような化骨遅延による異常が9腹20胎児であった。奇形は6腹14胎児に認められた。部位別では椎体椎弓の奇形を伴う胎児が最も多く5腹8胎児(4.9%)で有意に高く、頭蓋骨あるいは肋骨では有意差は認められなかった。椎体椎弓で奇形の認められた5腹の腹毎の検査数に対する奇形胎児数は、3/7、2/8、1/7、1/8および1/7胎児の発現率であり、同腹効果を示唆する傾向は認められなかった。

化骨進行度の指標以外で化骨遅延による異常とした変化が、椎体椎弓で有意に増加し9腹20胎児(12.3%)に認められた。これらの所見を伴う胎児には上述の奇形とした症例の5腹8胎児のうち4腹7胎児が含まれていた。従って、これらの奇形は化骨遅延との関連性が強く、奇形としたものは症例の特徴から化骨遅延の程度が比較的強く表れた結果と考えられた。

胸椎あるいは腰椎の椎体椎弓の変化は胎児毒性の一徴候であって奇形の指標には適切でなく、母動物毒性の発現に伴って認められる。1000mg/kg群では母動物の摂餌量の減少を伴う体重増加抑制、胎児死亡率の有意な増加ならびに胎児体重の有意な減少が認められた。従って、本試験で認められた奇形は本剤の催奇形性によるものではなく、母動物毒性および胎児毒性に関連して生じた変化と考えられた。

以上の結果から、本試験における無毒性量は親動物で300mg/kg、胎児で100mg/kgと判断された。また、最高投与の1000mg/kg群でも催奇形性は認められなかった。

申請者注) 胎児の骨格検査に関する表と記載内容は、平成10年9月17日に開催された残留農薬安全性評価委員会の要望事項に従って、本試験の実験結果について骨格奇形、骨格変異、化骨遅延に分類し直した結果に基づいたものである。

③ ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. 24)

試験機関 : (GLP対応)
報告書作成年 : 1990年

検体純度 :
供試動物 : New-Zealand White 系 SPF ウサギ (HRA)
入手時月齢 雌 4ヶ月齢、交配時月齢約 5ヶ月、
妊娠 0 日体重範囲 2.9~4.2kg、交尾確認雌 各群 17 匹
投与期間 : 31 日間 (1988 年 3 月 28 日~1988 年 4 月 29 日)
試験方法 : 検体を 15、50 及び 150mg/kg の投与量になるよう 0.5%Carboxymethyl-cellulose (CMC) 水溶液及び Tween 80 水溶液の混合液に懸濁し、交尾確認雌動物に妊娠 7 日から 19 日の 13 日間、1 日 1 回強制経口投与した。対照群には溶媒のみを投与した。交配は、雄動物と雌動物を同居させ、交尾行動を観察後、膣の検査により交尾の確認をし、ヒト胎盤性性腺刺激ホルモン (HCG) を静脈内投与した。交尾行動の確認及び HCG を投与した日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠:

検査項目及び方法:

親動物 ; 瀕死状態あるいは死亡の有無を毎日 2 回観察し、一般状態について毎日 1 回観察した。体重は妊娠 0、7、9、11、15、20、24 及び 29 日に個別別に測定し、摂餌量は妊娠 0-2、2-4、4-6、6-7、7-9、9-11、11-13、13-15、15-17、17-19、19-20、20-22、22-24、24-26、26-28 及び 28-29 日の間について個別別に測定した。妊娠 29 日に親動物に安楽死用剤 T-61 を静脈内投与し、安楽死させ、胸部、腹部及び腰部臓器の異常について剖検後、子宮重量、着床数及び位置、生存胎児数及び死亡胎児数、前期及び後期死亡胚数及び異常について観察した。卵巣については妊娠黄体数を検査した。

胎児 ; 外表異常及び変異の有無を検査後、胎児の性別を観察し、体重を個別別に測定した。生存胎児はペントバルビタールナトリウムで安楽死させ、Staples の方法により内臓を検査し、Dawson 法に準じて骨格標本を作成し骨格検査した。

前記より以下の指標を求めた。

妊娠率 = (妊娠動物数 / 交配組合わせ数) × 100

死亡胎児率 = 群平均の (1 腹当たり死亡胎児数 / 1 腹当たり死亡及び生存胎児総数) × 100

胎児生存率 = 群平均の (1 腹当たり生存胎児数 / 1 腹当たり着床数) × 100

平均死亡胚率 = 群平均の (1 腹当たり死亡胚数 / 1 腹当たり着床数) × 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

着床前損失率 = 群平均の (1 腹当たり妊娠黄体数 - 1 腹当たり着床数 / 1 腹当たり妊娠黄体数) × 100

着床率 = 群平均の (1 腹当たり着床数 / 1 腹当たり妊娠黄体数) × 100

生存雄胎児率 = 群平均の (1 腹当たり生存雄胎児数 / 1 腹当たり生存胎児数) × 100

結果 : 下表に示した。

投与量 (mg/kg)		0 (対照)	15	50	150	
1 群当たりの動物数		17	17	17	17	
親	死亡動物数	0	0	0	0	
	事故死	1	1	0	0	
	流産動物数	0	2	0	2	
	1 群当たりの妊娠動物数	14	14	11	15	
	妊娠率 (%)	82	82	65	88	
	妊娠 29 日生存数	16 (94)	14 (82)	17 (100)	15 (88)	
	帝王切開時 (29 日) に生存児を有した母体数	13 (76)	11 (65)	11 (65)	13 (76)	
	一般状態	検体投与に起因する所見は認められなかった。				
	体重増加量 (g) (妊娠 7~20 日)	256.77	273.27	245.18	69.00	
	動物	体重増加量 (g) (妊娠 0~29 日)	516.77	428.52	598.64	559.15
平均摂餌量 (g) ¹⁾	169.28	173.47	175.37	141.12		
子宮重量 (g)	470.1	423.9	456.9	406.8		
剖検所見	検体投与に起因する所見は認められなかった。					
着床状況 : 腹平均	妊娠黄体数	12.5	11.2	12.6	13.2	
	着床数	8.2	8.2	7.9	8.5	
	着床率 (%)	68.3	73.6	64.3	67.5	
	着床後死亡	初期死亡胚数	0.8 (9.7)	0.9 (15.3)	0.6 (10.0)	2.0 (24.4)
		後期死亡胚数	0.2 (2.0)	0.5 (7.0)	0.1 (0.8)	0.6 (5.5)
		総死亡胚数	1.0 (11.7)	1.5 (22.3)	0.7 (10.8)	2.6 (29.9)

1) : 妊娠 7 日から妊娠 20 日までの 1 日当たり平均摂餌量

Dunnett の t 検定

() 内の数字は % を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投 与 量 (mg/kg)		0 (対照)	15	50	150	
1 群当たりの妊娠動物数		14	14	11	15	
胎 表	平均生存胎児体重(平均) 雄 (g)	45.9	42.1	45.3	44.3	
	雌 (g)	43.3	39.8	43.1	43.0	
	生存胎児数 [()内%]	7.2 (88.3)	6.6 (76.4)	7.2 (89.2)	5.8 (69.4)	
	死亡胎児数 [()内%]	0	0.1 (1.8)	0	0.1 (1.0)	
	生存雄胎児数	3.5	3.2	3.3	2.4	
	性比 (雄/雄+雌) %	48.6	43.1	45.9	37.4	
	検査胎児数	94	74	79	76	
	外表変異胎児数	0	1 (1.4) ¹⁾	0	0	
	外表異常胎児数	1	1	1	0	
	外表異常出現率 (%)	1.1	1.4	1.3	0	
	() 内 % 表	内 訳				
		脊 椎 裂	1 (1.1)	0	0	0
外 脳		0	1 (1.4)	0	0	
突 舌		0	1 (1.4)	0	0	
口 蓋 裂		0	1 (1.4)	0	0	
痕 跡 尾	0	1 (1.4)	1 (1.3)	0		
胎 内 臓	検査胎児数	93	74	79	75	
	内臓変異胎児数	9	12	8	4	
	内臓変異出現率 (%)	9.7	16.0	10.0	5.3	
	() 内 % 臓	内 訳				
		主要血管の変異	4 (4.3)	10 (14) ↑	4 (5.1)	3 (4.0)
		右心房の腫大	0	0	0	1 (1.3)
		肺の中間葉小型化 もしくは欠損	5 (5.4)	2 (2.7)	4 (5.1)	0
	肝臓の中程度肥大	0	0	0	1 (1.3)	
	内臓奇形胎児数	0	2	2	0	
	内臓奇形出現率 (%)	0.0	2.7	2.5	0.0	
	() 内 % 臓	内 訳				
		水 頭 症	0	1 (1.4)	0	0
動 脈 管 遺 残		0	1 (1.4)	0	0	
鎖 骨 下 動 脈 食 道 後 逸 所		0	1 (1.4)	0	0	
胆 嚢 欠 損	0	0	2 (2.5)	0		

1) : 皮膚の非薄

Dunnnett の t 検定又は Fisher の直接確率検定 ↑ ↓ : p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (mg/kg)		0 (対照)	15	50	150	
1群当たりの妊娠動物数		14	14	11	15	
胎 児 骨 格	検査胎児数	94	74	79	76	
	骨格奇形胎児数	7	3	4	4	
	骨格奇形出現率 (%)	7.4	4.1	5.1	5.3	
	内 訳 () 内 %	頭蓋癒合	1 (1.1)	1 (1.4)	0	0
		肋骨異常を伴ったまたは伴わない脊椎異常	4 (4.3)	3 (4.1)	3 (3.8)	0
		尾椎の不整列、癒合及びあるいは欠損	0	1 (1.4)	1 (1.3)	0
		胸骨癒合	1 (1.1)	1 (1.4)	0	0
	骨格変異胎児数	63	44	40	55	
	骨格変異出現率 (%)	67.0	59.5	50.6	72.4	
	内 訳 () 内 %	頭蓋骨付属骨	3 (3.2)	2 (2.7)	1 (1.3)	1 (1.3)
		仙椎以前椎体数 24	0	0	0	1 (1.3)
		仙椎以前椎体数 26	22 (23)	18 (24)	10 (13)	19 (25)
		完全 13 肋骨 痕跡 13 肋骨	51 (54) 10 (11)	32 (43) 8 (11)	24 (30) ↓ 13 (16)	41 (54) 12 (16)
	化骨遅延による異常胎児数	14	13	13	16	
	化骨遅延による異常出現率 (%)	14.9	17.6	16.5	21.1	
	内 訳 () 内 %	頭蓋化骨不全	0	1 (1.4)	0	0
		舌骨未化骨	0	0	2 (2.5)	2 (2.6)
		舌骨翼状骨化	7 (7.4)	1 (1.4)	2 (2.5)	6 (7.9)
頭骨化骨不全		1 (1.1)	0	0	0	
遠位尾椎不整列または分離		0	4 (5.4) ↑	0	1 (1.3)	
第 5 胸骨分節未化骨 第 5、6 胸骨分節分離		6 (6.4) 2 (2.1)	4 (5.4) 6 (8.1)	9 (11) 0	9 (12) 1 (1.3)	

Dunnett の t 検定又は Fisher の直接確率検定 ↑ ↓ : p<0.05、 ⇕ : p<0.01

申請者注) 胎児の骨格検査の表は、平成 10 年 9 月 17 日に開催された残留農薬安全性評価委員会の要望事項に従って、本試験の実験結果を骨格奇形、骨格変異、化骨遅延に分類し直したものである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

親動物；150mg/kg 群で投与期間中に大幅な体重増加抑制が認められた。しかし、これに続く期間（妊娠 20～29 日）では、体重増加量が対照群の値を統計学的に有意に上回った。その他の投与群には投与に起因した変化は認められなかった。一般状態、剖検、子宮重量及び子宮内状況について、いずれの投与群にも投与に起因した変化は認められなかった。

胎 児；150mg/kg 群で初期死亡胚率が高い傾向が認められたが有意とはならなかった。その他の投与群では投与の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、150mg/kg 群を含むいずれの群においても投与に起因した変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は、親動物、胎児とも 50 mg/kg であると判断された。また、最高投与群の 150mg/kg でも催奇形性は認められなかった。

(1) 変異原性

① 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 25)

試験機関 : (GLP 対応)
報告書作成年 : 1991 年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100 株及び大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA⁻ 株の 6 菌株を用い、S-9Mix 存在下及び非存在下で Ames らの方法でプレート法にて変異原性を調べた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して、サルモネラ菌株の場合は 1~10002 μ g/プレートの濃度範囲で、大腸菌株の場合は 333~10000 μ g/プレートの濃度範囲で処理した。陽性対照物質として Sodium azide (SA)、2-Nitrofluorene (NF)、Quinacrine mustard (QM)、4-nitroquinoline-N-oxide (4NQO) 及び 2-aminoanthracene (2AA) を用いた。

結果の判定は復帰変異コロニー数が溶媒対照値の 2 倍以上で、用量依存性が認められた場合に陽性とした。

なお、サルモネラ菌株と大腸菌株を用いる試験はそれぞれ異なる時期に実施し、いずれの試験も独立した 2 つの試験を行った

投与量設定根拠 :

結果 : 表 1 及び 2 にサルモネラ菌株を用いた試験結果を示し、表 3 に大腸菌株を用いた試験結果を示す。表 1~3 に示すように、検体処理プレートにおいてはいずれの菌株でも S-9Mix の存在の有無に関わらず対照プレートと比べ、復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。一方、陽性対照物質を処理したプレートでは著明な復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下におけるハロスルフロロンメチル原体の変異原性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1. サルモネラ菌株の試験結果 (第1回目試験)

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニ-数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)	—	—	29.7	115.0	9.3	12.7	23.3
検体	1	—	29.0	129.7	10.0	11.3	26.0
	10	—	28.0	130.3	11.0	15.7	29.0
	100	—	27.0	117.3	8.0	14.0	21.7
	500	—	30.3	125.3	9.7	14.7	23.3
	1000	—	29.0	119.3	9.3	16.0	24.3
	2500	—	22.3	116.3	10.7	10.3	23.0
	5001	—	13.3	59.3	5.7	15.3	21.3
	10002	—	4.0	3.3	1.0	8.0	16.0
溶媒対照 (DMSO)	—	+	14.7	109.0	14.0	27.3	37.7
検体	1	+	10.3	111.3	14.0	29.0	41.0
	10	+	12.3	111.0	12.7	26.3	34.7
	100	+	15.3	105.0	11.0	27.0	37.0
	500	+	12.3	103.0	10.3	27.0	35.0
	1000	+	11.3	120.0	12.0	29.0	29.3
	2500	+	12.3	104.7	9.0	30.0	37.0
	5001	+	9.3	73.0	8.3	24.7	33.0
	10002	+	5.0	5.0	1.0	11.3	29.7
陽性 対照	SA	10	—	1389.0	1140.3		
	QM	5	—			1292.7	
	2NF	10	—				1595.3
	2AA	2.5	+	278.0	1930.3	354.7	2020.7
							1987.7

注) 表中の検体処理の値は3枚のプレートの平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2. サルモネラ菌株の試験結果 (第2回目試験)

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)	—	—	25.0	146.3	11.3	13.3	41.7
検体	1	—	22.7	134.7	9.0	16.3	37.0
	10	—	23.0	148.0	7.7	18.3	39.3
	100	—	26.0	156.0	9.3	15.7	43.7
	500	—	22.0	151.3	10.3	18.0	52.0
	1000	—	23.3	159.7	9.3	18.0	45.7
	2500	—	20.7	138.7	5.7	16.7	41.7
	5000	—	14.7	74.3	2.0	12.3	47.7
	9999	—	8.0	5.3	0	2.3	32.7
溶媒対照 (DMSO)	—	+	12.0	148.0	11.7	28.0	48.0
検体	1	+	16.0	119.0	9.7	24.3	52.7
	10	+	13.7	138.0	11.3	27.7	55.0
	100	+	12.0	128.0	12.7	25.3	49.7
	500	+	16.3	142.7	10.3	22.0	52.0
	1000	+	13.7	138.7	10.0	21.7	57.3
	2500	+	11.3	137.7	8.0	29.7	49.7
	5000	+	11.7	109.3	3.3	26.3	59.0
	9999	+	9.0	8.0	0.3	5.7	37.7
陽性 対照	SA	10	—	1213.0	1168.0		
	QM	5	—			740.7	
	2NF	10	—				1566.3
	2AA	2.5	+	232.3	2100.0	241.3	1570.3

注) 表中の検体処理の値は3枚のプレートの平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は口産化学工業株式会社にある。

表 3. 大腸菌株の試験結果 (第 1 および 2 回目試験)

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニ-数/プレート		
			第 1 回目	第 2 回目	
			WP2 $uvrA^-$	WP2 $uvrA^-$	
溶媒対照 (DMSO)	—	—	20.0	15.3	
検 体	333	—	11.3	13.3	
	667	—	14.3	14.3	
	1000	—	13.3	15.3	
	3330	—	12.3	10.7	
	6670	—	13.3	12.7	
	10000	—	11.3	15.3	
溶媒対照 (DMSO)	—	+	21.7	16.3	
検 体	333	+	14.0	17.3	
	667	+	16.0	16.0	
	1000	+	12.3	12.3	
	3330	+	13.7	14.0	
	6670	+	15.0	14.0	
	10000	+	15.7	21.0	
陽 性 対 照	4NQO	10	—	449.0	434.3
	2AA	25	+	248.7	307.3

注) 表中の検体処理の値は 3 枚のプレートの平均

② *in vitro*染色体異常試験

(資料No. 26)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1990 年

検体純度：

方法

：チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の株細胞 (CHO 細胞) を用い、ラット肝臓より調製した S-9Mix 存在下及び非存在下において検体を処理し、染色体異常誘発性を調べた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S-9Mix 非存在下の場合、451、903、1200、1500 及び 1810 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を処理後 20 時間で細胞を回収して染色体標本を作製した。S-9Mix 存在下の場合、449、899、1350 及び 1800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度を 2 時間処理後、検体を除き、さらに 8 時間培養して染色体標本を作製した。検体の各処理濃度で 2 枚のプレートを用いた。陽性対照物質としてマイトマイシン C (MMC) 及びシクロフォスファミド (CP) を用いた。また、無処理対照及び溶媒対照も設けた。

観察結果は Fisher の直接確立検定法を用いて統計学的に検定した。

投与量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示した。

S-9Mix 非存在下で 1810 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を処理したプレートでは強い毒性がみられ、染色体を観察できた細胞は 2 枚のプレートで 65 個のみであった。染色体標本の観察結果は S-9Mix の存在の有無に関わらず、いずれの検体処理プレートでも染色体異常を有する細胞数の増加は認められなかった。一方、陽性対照を処理したプレートでは染色体異常を有する細胞数が有意に増加した。

以上の結果より、本試験条件下におけるハロスルフロンメチル原体の染色体異常誘発性は陰性と考えられる。

結果表

供試物質	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	S-9 mix の有無	観察した 細胞数	異常数と異常の型 a)														細胞当たりの 異常数	異常を有す る細胞数 (%)	>1の異常 を有する 細胞数 (%)	
				ギヤップ			切断			複合異常											
				CT	CS	CI	CS	CT	ID	TR	QR	CR	D	R	CI	2nd					
無処理対照	-	-	100	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.02	2.0	0.0
溶媒対照 (DMSO)	-	-	100	3	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.03	3.0	0.6
陽性対照 (MMC)	0.08	-	25	1	1	1	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0.28	24.0 ↑	4.0
検 体	451	-	200	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.0	0.0
	903	-	200	4	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0.02	1.5	0.0
	1200	-	200	8	3	1	7	0	1	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0.06	3.5	0.5
	1500	-	200	10	3	2	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.03	2.0	1.0
	1810	-	65	7	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0.03	3.1	0.0
無処理対照	-	+	100	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.0	0.0	
溶媒対照 (DMSO)	-	+	100	6	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.01	1.0	0.0	
陽性対照 (CP)	50	+	25	5	0	1	4	2	4	2	0	0	0	0	0	0	1	0.56	36.0 ↑	12.0 ↑	
検 体	449	+	200	3	0	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	3.0	0.5	
	899	+	200	3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02	1.5	0.0	
	1350	+	200	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.01	0.5	0.0	
	1800	+	200	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.0	0.0	

a) CT: 染色分体型, CS: 染色体型, ID: Interstitial Deletion, TR: Triradial, QR: Quadriradial, CR: Complex Rearrangement,
 D: Dicentric, R: Ring, CI: Chromosome Intrachange, 2nd: others
 統計学的手法: Fisherの直接確率検定 ↑: $p < 0.05$

(申請者注): 原報告書の Table 2 および 3 中 (原報告書 ページ 21, 22) の S-9 mix 非存在下における被験物質濃度は、451, 903, 1020, 1050 及び 1800 $\mu\text{g/ml}$ と記載されているが、下線部の濃度は 1200 および 1500 $\mu\text{g/ml}$ の誤りである。

③ マウス小核試験

(資料No. 27)

試験機関： (GLP 対応)

報告書作成年：1990 年

検体純度：

供試動物：ICR 系マウス、8 週齢、開始時体重範囲 雄；24.0～38.1 g、雌；20.0～30.4 g
1 群雌雄各 15 匹 (24、48 及び 72 時間で各 5 匹を屠殺)

試験方法：検体を 0.5% カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し、500、1667 及び 5000 mg/kg の用量で 1 回経口投与して検体の骨髓細胞に対する小核誘起性を調べた。溶媒対照として CMC を 1 回経口投与し、陽性対照として 80 mg/kg の用量で cyclophosphamide (CP) を 1 回経口投与した。投与後 24、48 及び 72 時間に各群雌雄各 5 匹を炭酸ガスの吸引により安楽死させ、大髄骨を摘出し、牛胎児血清で骨髓を洗い出し、骨髓細胞の塗抹標本を作製した。溶媒及び陽性対照群は、投与後 24 時間に安楽死させ、同様に標本を作成した。
標本は顕微鏡下で観察して、小核を有する多染性赤血球数及び正染性赤血球数に対する多染性赤血球数の割合を調べた。

投与量設定根拠；

試験結果：結果を次頁の表に示した。

検体のいずれの投与群においても、溶媒対照に比べ小核を有する多染性赤血球数は増加しなかった。一方、陽性対照群では、小核を有する多染性赤血球数は有意に増加した。

以上の結果から、ハロスルフロンメチル原体の本試験条件下において小核誘発性は陰性と考えられる。

結果表

投与後 時間 (h)	薬 剤	動物数	投与量 (mg/kg)	多染性赤血球 /正染性赤血球		小核を有する多染性赤血球 (%) *	
				雄	雌	雄	雌
24	溶媒対照 (CMC)	5	—	0.55	0.69	0.04	0.04
	検体	5	500	0.58	0.64	0.08	0.12
			1667	0.53	0.66	0.06	0.02
			5000	0.52	0.73	0.18	0.16
陽性対照 (CP)	5	80	0.92	0.87	2.98 ↑	2.62 ↑	
48	検体	5	500	0.46	0.73	0.08	0.08
			1667	0.50	0.47	0.20	0.16
			5000	0.53	0.52	0.22	0.22
72	検体	5	500	0.52	0.59	0.04	0.08
			1667	0.43	0.55	0.06	0.06
			5000	0.55	0.60	0.12	0.14

↑ : $p < 0.01$ (統計学的手法 : 分散分析法)

* 1 動物当り多染性赤血球 1000 個を観察して算出

④ 枯草菌胞子を用いるDNA修復試験

(資料No. 28)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1993年

検体純度：

方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の DNA 修復能保有株 (H-17 Rec⁺) 及び欠損株 (M-45 Rec⁻) の胞子を用い、ラット肝臓より調製した S-9Mix の存在下及び非存在下で検体を処理して、DNA 損傷誘発性を調べた。検体の溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用い、処理濃度は直接法の場合、141~4500 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ 、代謝活性化法の場合、70.3~2250 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ の濃度を処理した。陰性対照としてカナマイシンを、陽性対照としてマトマイシン C (MMC) 及び Trp-P-1 を用いた。結果の判定は生育阻止帯の比が 1.2 以上、かつ、生育阻止帯差が 2mm 以上 4mm 未満を疑陽性、4mm 以上を陽性とした。

投与量設定根拠：

結果：結果を次頁の表に示す。

検体処理で直接法及び代謝活性化法のいずれにおいても高濃度処理では菌に対する生育阻害作用がみられたが、両菌株に対する阻止帯に明瞭な差は認められなかった。一方、陽性対照を処理では両菌株間に 4mm 以上の生育阻止帯の差がみられた。また、陰性対照処理では同程度の生育阻止帯がみられた。

以上の結果より、本試験条件下におけるハロスルフロンメチルの DNA 損傷誘発性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

結果表

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S-9Mix の有無	生育阻止帯 (mm)		差 (mm)	判定
			M-45 Rec ⁻	H-17 Rec ⁺		
溶媒対照 (DMSO)	—	—	0.0	0.0	0.0	—
検体	141	—	0.0	0.0	0.0	—
	281	—	0.0	0.0	0.0	—
	563	—	1.0	1.4	< 0.0	—
	1125	—	4.2	3.3	0.9	—
	2250	—	6.0	6.0	0.0	—
	4500	—	5.9	6.9	0.4	—
陰性対照 (カナマイシン)	0.3	—	6.7	6.9	< 0.0	—
陽性対照 (MMC)	0.02	—	10.1	1.0	9.1	+
溶媒対照 (DMSO)	—	+	0.0	0.0	0.0	—
検体	70.3	+	0.0	0.0	0.0	—
	141	+	0.0	0.0	0.0	—
	281	+	0.0	0.0	0.0	—
	563	+	3.3	2.4	0.9	—
	1125	+	5.5	5.4	0.1	—
	2250	+	6.1	5.7	0.4	—
陽性対照 (Trp-P-1)	20	+	14.7	0.0	14.7	+

表中の数値は各濃度で用いた3枚の処理ディスクの平均値

⑤ 初代培養肝細胞を用いた不定期DNA合成試験

(資料No. 29)

試験機関 :

(GLP 対応)

報告書作成年 : 1990 年

検体純度 :

試験方法 : Fischer344 系の成熟雄ラットの肝臓より調製した初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験を実施して、検体の DNA 障害性を調べた。動物より初代培養肝細胞を調製し、種々の濃度の検体及び³H-チミジンを含む培地を加えたシャーレ中で 18 時間培養した。シャーレ中にはあらかじめ直径 25mm のプラスチック製カバーガラスを入れておき、細胞を付着させた。処理後カバーガラスを取り出し、酢酸とエタノール (1:3) の混合液を用いて固定後、感光乳剤 (kodak NTB) に浸し、4℃で 7~10 日間感光して固定した。さらに、細胞標本はヘマトキシリン-エオジン染色を施し、顕微鏡下で 1500 倍に拡大して、核内のグレイン数を観察した。検体の溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。

各処理濃度で 5 個枚のシャーレを用い、3 枚を UDS 試験に、残りの 2 枚は毒性を調べるため、トリパンブルーを加えて、生存細胞数を測定した。陽性対照として 2-アセチルアミノフルオレン (2AAF) を用いた。

試験は 3 回実施したが、第 2 回目の試験は第 1 回目と比べ細胞に対する毒性が変化したので評価せず、第 1 及び 3 回目試験結果に基づき検体の DNA 傷害性を判定した。

結果の判定は以下基準を満たした場合陽性とした。

1. 平均核内グレイン数が陰性対照と比べ 6 以上増加
2. 核内グレイン数が 6 以上の細胞が陰性対照の値を差し引いた後、全体の 10%以上
3. 核内グレイン数が 20 以上の細胞が全体の 20%以上

投与量設定根拠 :

結果 : 結果を次表に示す。

表に示すように第 1 回目及び第 3 回目試験のいずれでも検体処理細胞における核内グレイン数は対照群と比べ増加はみられなかった。一方、陽性対照では著明な核内グレイン数の増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下におけるハロスルフロンメチル原体の DNA 障害性は陰性と考えられる。

第1回目試験

供試物質	処理量 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	核当たりの グレン数	>6のグレンを 有する細胞の 出現率 (%)	>20のグレンを 有する細胞の 出現率 (%)	細胞生存率 (%)
溶媒対照 (DMSO)	—	150	-0.22	0.7	0.0	100.0
無処理対照	—	150	-0.05	5.3	0.0	100.0
検 体	25.0	150	-0.89	1.3	0.0	99.0
	50.0	150	-0.92	0.0	0.0	97.4
	100	150	-0.95	2.0	0.0	113.9
	250	150	-1.19	0.7	0.0	119.4
	500	150	-0.63	0.7	0.0	99.0
	1000	150	-0.95	0.7	0.0	71.5
陽性対照 (2AAF)	0.1	150	15.13	91.3	30.0	96.4

第3回目試験

供試物質	処理量 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	核当たりの グレン数	>6のグレンを 有する細胞の 出現率 (%)	>20のグレンを 有する細胞の 出現率 (%)	細胞生存率 (%)
溶媒対照 (DMSO)	—	150	-1.15	2.7	0.0	100.0
検 体	5.06	150	1.13	8.7	0.0	96.7
	10.1	150	0.83	12.7	0.0	100.9
	25.3	150	0.25	3.3	0.0	99.2
	50.6	150	0.79	9.3	0.0	89.8
	101	150	0.90	9.3	0.0	88.2
	253	150	0.40	7.3	0.0	79.3
陽性対照 (2AAF)	0.1	150	16.32	98.7	25.3	90.4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(2) 生体機能に及ぼす影響

① 生体の機能に及ぼす影響に関する試験

(資料No. 30)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1993 年

検体純度：

投与量設定根拠：

1 一般症状・行動に対する作用

1.1 マウスの一般症状

供試動物：ICR 系雌雄マウス (6 週齢)；体重雄 26.5～29.4g、雌 20.5～22.4g；1 群雌雄各 3 匹

方法：検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与前、投与後 0.5、1、3、6 時間目、その後 1 日 1 回、7 日間 Irwin 法により、多次元行動観察を行った。体重は、1 日 1 回測定した。

結果：

投与量 (mg/kg)	項目	死亡	症状	体重
0	なし	なし	異常なし	作用なし
556	なし	なし	異常なし	散発的に有意であったが最終体重で変化なし
1667	なし	なし	投与後 1 時間目より自発運動・反応性・眼裂・体温 (雌のみ) の低下。投与後 1 日目には回復	作用なし
5000	雄 1 例、雌 2 例 (投与後 6 時間目)	なし	投与後 1 時間目より警戒性・位置視覚 (雄のみ) の低下、受動態、自発運動・反応性の低下、触覚・痛覚・驚き反応の亢進、振顫、痙攣、姿勢の異常、立ち直り反射・筋緊張・同側屈筋反射・眼裂・体温・呼吸数の低下、立毛。生存例は投与後 1 日目には回復	増加抑制傾向 ↓

Student の t 検定 ↓：p< 0.05。

1.2 ラットの一般症状

供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット (6 週齢) ; 体重 161~172g ; 1 群 3 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与前、投与後 0.5、1、3、6 時間目、その後 1 日 1 回、7 日間 Irwin 法に準拠して、多次元行動観察を行った。体重は、1 日 1 回測定した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目		
	死亡	症状	体重
0	なし	投与後 6 時間目に軟便	作用なし
185	なし	異常なし	作用なし
556	なし	投与後 3 時間目より軟便、恐怖の亢進。投与後 1 日目には回復	作用なし
1667	なし	投与後 3 時間目より恐怖の亢進、自発運動・反応性の低下、痛覚・驚き反応の亢進、姿勢の異常、軟便。投与後 2 日目には回復	作用なし
5000	全動物 (投与後 6 時間、1 日目)	投与後 3 時間目より 1667mg/kg 群の症状に加えて、位置視覚の低下、触覚反応の亢進、痙攣、立ち直り反射・筋緊張・同側屈筋反射・眼裂・体温の低下、呼吸数の増加	評価 できず

Student の t 検定

1.3 ウサギの一般症状

供試動物 : New-Zealand White 系雄ウサギ (10~11 週齢) ; 体重 1.94~2.17kg ; 1 群 3 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与前、投与後 0.5、1、3、6 時間目、その後 1 日 1 回、7 日間一般症状を観察した。同時に体温 (直腸温)、瞳孔径を測定した。体重は、1 日 1 回測定した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目				
	死亡	症状	体重	体温	瞳孔径
0	なし	投与後 4 日目に軟便	作用なし	作用なし	作用なし
556、1667	なし	異常なし	作用なし	作用なし	作用なし
5000	なし	投与後 0.5 時間目より軟便、心拍数・糞量の減少。1 匹は症状なし、1 匹は 2 日目に回復、1 匹は回復せず	減少 ↓ (投与後 1 日目)	低下 ↓ (投与後 6 時間目及び 1、6、7 日目)	作用なし

Student の t 検定 ↓ : p<0.05、 ↓↓ : p<0.01

2 中枢神経系に対する作用

2.1 ラットの脳波に対する作用

供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット (7 週齢) ; 体重 208~272g ; 1 群 3 匹

方法 : 検体投与 8~13 日前に、麻酔下で頭蓋骨に、十字縫合を基準に、関電極として前 1.5mm、右 1.5mm に、不関電極として前 6mm、右 1.5mm にビス電極を装着した。検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与前、投与後 0.5、1、3、6、24 時間目の自発脳波 (大脳皮質脳波) を記録した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目	
	死亡	脳波 (視察及び周波数解析)
0, 185, 556, 1667	なし	作用なし
5000	1 匹 (投与後 24 時間目)	作用なし

Student の t 検定

2.2 マウスの自発運動に対する作用

供試動物 : ICR 系雄マウス (6 週齢) ; 体重 23.6~30.5g ; 1 群 10 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与前、投与後 0.5、1、3、6、24 時間目のオープンフィールド法により測定される区画移動回数と立ち上がり回数を、自発運動の指標として記録した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目		
	死亡	区画移動回数	立ち上がり回数
0, 185, 556	なし	作用なし	作用なし
1667	なし	減少↓ (投与後 1 時間目)	減少↓ (投与後 1 時間~6 時間目)
5000	4 匹 (投与後 3, 24 時間目)	減少↓ (投与後 0.5 時間~6 時間目)	減少↓ (投与後 0.5 時間~6 時間目)

Student の t 検定 ♀ : p<0.01

2.3 マウスのヘキソバルビタール睡眠に対する作用

供試動物 : ICR 系雄マウス (6 週齢) ; 体重 25.3~28.9g ; 1 群 10 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与後 1 時間目にヘキソバルビタール (70mg/kg) を皮下投与し、睡眠時間 (正向反射の消失時間) を測定した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目	
	死亡	睡眠時間
0, 185	なし	作用なし
556	なし	延長↑
1667	なし	短縮↓
5000	1 匹 (正向反射が回復する前に死亡)	短縮↓

Student の t 検定 ↑ ↓ : p<0.05 ♀ : p<0.01

2.4 マウスにおける鎮痛作用

供試動物 : ICR 系雄マウス (6 週齢) ; 体重 26.5~30.9g ; 1 群 10 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与後 1 時間目に 0.7% の酢酸を含む生理食塩液を 10ml/kg の用量で腹腔内投与し、酢酸投与後 10 分目から 10 分間の Writhing 回数を計数した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目	
	死亡	Writhing 回数
0, 185, 556	なし	作用なし
1667, 5000	なし	減少↓

Student の t 検定 ↓ : p<0.01

2.5 ラットの体温に対する作用

供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット (6 週齢) ; 体重 148~177g ; 1 群 8 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与前、投与後 0.5、1、3、6、24 時間目に体温 (直腸温) を測定した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目	
	死亡	体温
0, 185	なし	作用なし
556, 1667	なし	低下↓ (投与後 6 時間目)
5000	4 匹 (投与後 24 時間目)	低下↓ (投与後 6 時間目)

Student の t 検定 ↓ : p<0.01

3 呼吸・循環器系に対する作用

3.1 ウサギの呼吸・血圧・心電図に対する作用

供試動物 : New-Zealand White 系雄ウサギ (11~12 週齢) ; 体重 2.01~2.42kg ; 1 群 3 匹

方法 : 1 晩絶食させたウサギをウレタン (1.5g/kg, sc) 麻酔下で背位に固定し、気管及び左股動脈にカニューレを挿入し、心電図用電極を四肢に取り付けた。心電図、呼吸数 (サーミスタ型ピックアップを介して)、血圧 (血圧トランスデューサーを介して)、心拍数 (脈波より) をポリグラフを用いて測定した。検体は 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を十二指腸内投与した。測定は、投与前から投与後 4 時間目まで行った。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目				
	死亡	呼吸	心拍数	血圧	心電図
0, 185	なし	作用なし	作用なし	作用なし	作用なし
556	なし	作用なし	作用なし	わずかな低下↓ (投与後 150 分目)	作用なし
1667	なし	作用なし	作用なし	低下↓ (投与後 150, 210 分目)	作用なし
5000	なし	作用なし	1 匹低下	低下↓ (投与後 30, 60, 120 分目とそれ以降)	作用なし

Student の t 検定 ↓ : p<0.05, ↓ : p<0.01

4 自律神経系に対する作用

4.1 モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物 : Hartley 系雄モルモット (7 週齢) ; 体重 451~532g ; 1 項目 4 匹

方法 : モルモットを、放血致死させ、回腸を摘出した。37℃に保温し、95%O₂-5%CO₂を通気した Krebs Ringer 中に、懸垂した。検体単独の収縮または弛緩作用と、アゴニスト (アセチルコリン、10⁻⁷M ; ヒスタミン、10⁻⁶M ; セロトニン、3×10⁻⁸M ; 塩化バリウム、3×10⁻⁴M) で惹起した収縮に対する検体の作用を検討した。検体は、DMSO に溶解し、Krebs Ringer 中で 0、10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶、10⁻⁵、10⁻⁴g/ml となるように各濃度を 5 分間適用した。

結果 :

濃度 (g/ml)	項目				
	収縮/弛緩	アセチルコリン	ヒスタミン	セロトニン	塩化バリウム
0、10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁴	作用なし	作用なし	作用なし	作用なし	作用なし

Paired の t 検定

4.2 ラットの摘出輸精管に対する作用

供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット (6 週齢) ; 体重 192~215g ; 1 項目 4 匹

方法 : ラットを、放血致死させ、輸精管を摘出した。37℃に保温し、95%O₂-5%CO₂を通気した Krebs Ringer 中に、懸垂した。検体単独の収縮または弛緩作用と、ノルアドレナリン (5×10⁻⁶M) で惹起した収縮に対する検体の作用を検討した。検体は、DMSO に溶解し、Krebs Ringer 中で 0、10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶、10⁻⁵、10⁻⁴g/ となるように各濃度を 5 分間適用した。

結果 :

濃度 (g/ml)	項目	
	収縮/弛緩	ノルアドレナリン
0、10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁴	作用なし	作用なし

Paired の t 検定

5 消化器系に対する作用

5.1 マウスの炭末輸送能に対する作用

供試動物 : ICR 系雄マウス (6 週齢) ; 体重 25.1~31.6g ; 1 群 10 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与後 1 時間目に 10%に炭末を懸濁した 10%アラビアゴム水溶液を 10ml/kg の容量で経口投与し、その 30 分後にエーテル吸入により安楽死させた。全消化管を取りだし、全小腸長に対する炭末移動距離の割合を求めた。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目	
	死亡	炭末輸送能
0、185、556	なし	作用なし
1667、5000	なし	抑制 ↓

Student の t 検定 ↓ : p<0.01

6 骨格筋に対する作用

6.1 マウスにおける傾斜板法による筋弛緩作用

供試動物 : ICR系雄マウス(6週齢); 体重24.6~31.1g; 1群10匹

方法 : 検体を0.5% CMC-Na水溶液に懸濁し、0、185、556、1667及び5000mg/kgを1晩絶食させた動物に経口投与した。投与前、投与後0.5、1、3、6、24時間目に、マウスを傾斜板測定装置に置き、傾斜板を一定速度(約3度/秒)で傾けた時の滑り落ちる傾斜角度を測定した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目	
	死亡	傾斜角度
0、185、556	なし	作用なし
1667	なし	減少 Δ (投与後1時間~6時間目)
5000	全動物(投与後24時間目)	減少 Δ (投与後0.5時間~6時間目)

Studentのt検定 : p<0.01

6.2 ラットの横隔膜神経筋標本に対する作用

供試動物 : Sprague-Dawley系雄ラット(5~6週齢); 体重172~192g; 検体適用群及び対照群に各4匹

方法 : ラットを、放血致死させ、Bulbringの方法に準拠して、横隔膜神経筋標本を作製した。37℃に保温し、95%O₂-5%CO₂を通気したKrebs Ringer中に、懸垂した。超極大電圧の電気刺激を、神経(0.1msec duration)及び筋(1msec duration)に交互(各刺激は10秒間隔)に加え、惹起した収縮に対する検体の作用を検討した。検体はDMSOに溶解し、Krebs Ringer中で10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶、10⁻⁵、10⁻⁴g/mlとなるように各濃度を5分間、累積的に適用した。対照群には、検体を含まないDMSOを同様に適用した。

結果 :

濃度 (g/ml)	項目	
	神経刺激	筋直接刺激
0、10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁴	作用なし	作用なし

Studentのt検定

7 血液に対する作用

7.1 ラットの血液凝固に対する作用

供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット (6 週齢) ; 体重 173~192g ; 1 群 8 匹

方法 : 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、185、556、1667 及び 5000mg/kg を 1 晩絶食させた動物に経口投与した。投与後 3 時間目に、エーテル麻酔下で腹大静脈より採血し、血漿のプロトロンビン時間と活性部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結果 :

投与量 (mg/kg)	項目		
	死亡	プロトロンビン時間	活性部分トロンボプラスチン時間
0, 185, 556, 1667	なし	作用なし	作用なし
5000	なし	延長↑	作用なし

Student の *t* 検定 ↑ : $p < 0.05$

7.2 ウサギにおける溶血作用

供試動物 : New-Zealand White 系雄ウサギ (11 週齢) ; 体重 2.07~2.13kg ; 4 匹

方法 : ウサギをペントバルビタール麻酔し、腹大静脈より採血した。血球を遠心分離し、生理食塩液で洗浄した。この血球を 10 倍に生理食塩液で希釈した血球浮遊液 0.5ml を、各濃度の検体を含む生理食塩液 9.5ml に加え、37℃で 2 時間インキュベートした。遠心後、上清の 576nm の吸光度を測定し、溶血の指標とした。検体は、DMSO に溶解し、生理食塩液中で 0、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-6} 、 10^{-4} g/ml となるように適用した。

結果 :

濃度 (g/ml)	項目
	溶血
0, 10^{-8} ~ 10^{-4}	作用なし

Paired の *t* 検定

以上の結果より、検体を無麻酔ラット、マウス、ウサギに 556mg/kg 以上致死量の 1/10 で経口投与すると、雄ラットの異常症状と体温低下、雄マウスの睡眠時間延長、雄ウサギの血圧低下 (十二指腸内投与)、1667mg/kg 以上で、雌雄マウスの一般症状の異常、雄マウスの自発運動の低下・筋弛緩・睡眠時間の短縮・鎮痛作用・消化管運動抑制、5000mg/kg (マウス、ラットにおける致死用量でかつ投与可能限度量) で、雄ウサギの一般症状の異常、雌雄マウス・雄ウサギの体重増加抑制及び減少、雄ウサギの体温低下、また雄ラットの血液凝固時間延長作用が認められた。また麻酔ウサギに投与限界量の 5000 mg/kg を投与したところ、心拍数減少が認められた。これらの作用のほとんどは、投与後 0.5 時間目から投与後 1 日目にかけて認められる可逆的作用であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

《一般薬理総括表》

試験項目	試験動物 (麻酔の有無)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 (匹/群)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要	
一般症状・行動	マウス	経口 (0.5% CMC-Na)	0.556, 1667, 5000,	雌雄 3	556	1667	自発運動抑制 死亡 5000:雄1 雌2	
	ラット	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 3	185	556	自発運動抑制 死亡 5000:雄全動物	
	ウサギ	経口 (0.5% CMC-Na)	0.556, 1667, 5000,	雄 3	1667	5000	軟便、心拍数減少、体温低下	
中枢神経系	脳波	ラット	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 3	5000	—	影響なし 死亡 5000:雄1
	自発運動	マウス	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 10	556	1667	減少 死亡 5000:雄4
	覚醒・覚醒 睡眠	マウス	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 10	185	556	延長、短縮 死亡 5000:雄1
	鎮痛	マウス	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 10	556	1667	反応性低下
	体温	ラット	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 8	185	556	低下 死亡 5000:雄4
呼吸・循環器	呼吸・血圧・心電図	ウサギ (麻酔)	十二指腸内 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 3	185	556	心拍数、血圧低下
自律神経系	摘出回腸	モルモット	<i>in vitro</i> (DMSO)	$0, 10^{-6} \sim 10^{-4}$ (g/ml)	雄 4	10^{-4} (g/ml)	—	影響なし
	摘出輸精管	ラット	<i>in vitro</i> (DMSO)	$0, 10^{-8} \sim 10^{-4}$ (g/ml)	雄 4	10^{-4} (g/ml)	—	影響なし
消化器系	炭末輸送管	マウス	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 10	556	1667	抑制
骨格筋	筋弛緩 (傾斜板法)	マウス	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 10	556	1667	筋弛緩 死亡 5000:雄全動物
	横隔膜神経筋	ラット	<i>in vitro</i> (DMSO)	$0, 10^{-8} \sim 10^{-4}$ (g/ml)	雄 4	10^{-4} (g/ml)	—	影響なし
血液	血液凝固	ラット	経口 (0.5% CMC-Na)	0, 185, 556, 1667, 5000,	雄 8	1667	5000	プロトロンビン時間延長
	溶血	ウサギ (麻酔)	<i>in vitro</i> (DMSO)	$0, 10^{-6} \sim 10^{-4}$ (g/ml)	雄 4	10^{-4} (g/ml)	—	影響なし

1. 原体中混在物及び代謝物

(1) 急性毒性

① 代謝物 のラットを用いた急性経口毒性試験

(資料No. 31)

試験機関 : (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley (CD) 系ラット、投与時約 4~7 週齢、
体重 雄 90~103g、雌 92~104g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 単回投与後 14 日間観察

試験方法 : 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁した検体を 1 晩絶食したラットに単回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。投与日、投与後 8 日目、及び 15 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。

試験結果 :

投与経路	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	5分/5日	5分/2日
死亡の認められなかった最高量 (mg/kg)	5000	5000

一般状態；ほぼ全動物で、立毛、円背位、軟便ないし液状便、身づくろいされていない外観が認められたが、これらの症状は雌では投与 2 日目に、雄では投与 5 日目には消失した。

体重；検体による影響は認められなかった。

肉眼的病理所見；検体による影響は認められなかった。

以上から代謝物 のラットに対する経口投与による LD₅₀ 値は 5000mg/kg 以上と推定された。

② 代謝物 のラットを用いた急性経口毒性試験

(資料No. 33)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1988 年

検体純度：

供試動物：Sprague-Dawley (BR) 系ラット、雄 8 週齢、雌 13 週齢

体重 雄 205.6~273.6g、雌 206.6~246.4g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間：単回投与後 14 日間観察

投与方法：検体をコーン油で希釈して一晩絶食後胃内に強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び死亡を投与 1、2、4 時間後、以後 14 日間毎日少なくとも 2 回観察した。投与前、7 日及び 14 日後あるいは死亡時に体重を測定した。
観察終了時の全生存動物及び瀕死期と殺・死亡動物について肉眼病理学的検査を行った。

結果：

投与経路	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	625, 1250, 2500, 5000	625, 1250, 2500, 5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95% 信頼限界)	2806.2 (1653.9~4761.0)	701.5 (428.5~1148.5)
死亡開始及び消失時間	1 日/2 日	1 時間/2 日
症状の発現及び消失時間	1 時間/2 日	1 時間/3 日
死亡の認められなかった 最高量 (mg/kg)	1250	—

一般状態：主な症状は、鎮静化、衰弱、流涙、運動失調、鼻部や眼部の赤色化及び円背位などが認められたが、遅くとも投与 4 日までには回復した。

体重：生存動物では減少または、増加抑制。

肉眼的病理所見；剖検所見としては、肺、肝臓、脾臓、腎臓の退色化及び胃腸に異常内容物が認められた。

以上の結果より、代謝物 のラットに対する経口投与による LD₅₀ 値は雄：2806.2mg/kg、雌：701.5mg/kg と判断された。

③ 代謝物 のマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料No. 35)

試験機関 : (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

供試動物 : ICR 系マウス、投与時約 4~7 週齢、開始時体重範囲 雄 18~22g、雌 16~19g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 単回投与後 14 日間観察

投与方法 : 蒸留水を用いて検体溶液を調製し、1 晩絶食したマウスに単回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。投与日、投与後 8 及び 15 日目に体重を測定した。試験期間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 経 路	経 口	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投 与 量 (mg/kg)	2000	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	5 分/1 時間	5 分/2 時間
死亡の認められなかった 最高量 (mg/kg)	2000	2000

一般状態 ; 全動物で投与 5 分後から立毛が認められたが、これらの症状は雄では投与 1 時間後に、雌では投与 2 時間後には消失した。

体 重 ; 雌 1 匹以外、順調に体重が増加した。

肉眼的病理所見 ; 検体投与による影響は認められなかった。

以上から代謝物 のマウスに対する経口投与による LD₅₀ 値は 2000mg/kg 以上と推定された。

④ 代謝物 のマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料No. 37)

試験機関 : (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

供試動物 : ICR 系マウス、投与時約 4~7 週齢、
開始時体重範囲 雄 21~24g、雌 18~19g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 単回投与後 14 日間観察

試験方法 : 検体を 1%w/v メチルセルロース水溶液に懸濁し、1 晩絶食したマウスに単回強制経口投与した。投与容量は 10ml/kg とした。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。投与日、投与後 8 及び 15 日目に体重を測定した。試験期間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 経 路	経 口	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投 与 量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	8分/48時間	8分/48時間
死亡の認められなかった最高量 (mg/kg)	5000	5000

一般状態；全動物で投与 8 分以内に立毛が認められ、これらの症状は円背位、四肢退色をともなって持続したが、投与 2 日目には完全に回復した。

体重；投与 15 日目に雌 3 匹で体重減少が認められた。

肉眼的病理所見；検体投与による影響は認められなかった。

以上から代謝物 のマウスに対する経口投与による LD₅₀ 値は 5000mg/kg 以上と推定された。

(2) 変異原性

① 代謝物 の細菌を用いた復帰変異試験

(資料No. 32)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1995 年

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100 及び TA102 株) の 5 菌株を用い、S-9Mix 存在下及び非存在下で Ames らの方法でプレート法及びプレインキュベーション法にて変異原性を調べた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して、0, 50, 150, 500, 1500 及び 5000 μ g/プレート の濃度で処理した。陽性対照物質として 4-nitro-quinoline-N-oxide (4NQO), 2-acetylaminofluorene (2AAF), danthron (DAT), benzo (a) pyrene (BP), cumene hydroperoxide (CHO), sodium nitrite (SN), 2-aminoanthracene (2AA), 9-aminoacridine (9AA) を用いた。結果の判定は統計学的検定を行い、対照と比較して有意に増加し、かつ用量依存性が認められる場合を陽性とした。

投与量設定根拠：

結果：次表に示す。

表 2 に示すようにプレインキュベーション法の S-9Mix 存在下において TA100 株の検体処理プレートの復帰変異コロニー数が対照と比べ有意に ($p < 0.05$) 増加したが、増加が軽度 (1.2 倍) であり、用量依存も認められないこと、かつ表 3 に示すように、確認試験において再現性がないことから検体処理の影響ではないと考えられた。その他の場合は表 1 及び 2 に示すようにプレート法及びプレインキュベーション法のいずれにおいても検体処理プレートでは代謝活性化の有無に関わらず、対照と比べ復帰変異コロニー数の有意な増加はみられなかった。一方、陽性対照物質を処理したプレートでは有意な復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下における代謝物 の変異原性は陰性と考えられる。

表1. プレート法による試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニ数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
溶媒対照 (DMSO)		--	15.6	119.0	185.4	11.7	27.3	
検体	50	--	11.0	89.7	229.0	10.3	30.7	
	150	--	10.7	90.0	227.0	11.7	27.0	
	500	--	11.7	86.0	241.0	13.3	23.7	
	1500	--	15.3	93.3	230.3	9.7	31.5	
	5000	--	10.5 ^T	73.0 ^T	154.7	10.0 ^T	25.7	
溶媒対照 (DMSO)		+	13.6	116.8	307.0	19.2	31.7	
検体	50	+	12.0	130.3	274.0	8.0	38.7	
	150	+	13.0	138.0	264.0	13.7	42.0	
	500	+	10.0	118.0	260.7	16.3	35.7	
	1500	+	11.3	110.7	265.3	14.3	28.0	
	5000	+	8.7	125.7	247.7	11.7	36.7	
陽 性 対 照	SN	500	--	134				
		2500	--	1120				
		5000	--	2190				
	4NQO	0.02	--		218			37
		0.1	--		726			67
		0.2	--		991			108
	CHO	10	--			283		
		50	--			584		
		100	--			531		
	9AA	10	--				10	
		50	--				45	
		100	--				317	
	2AA	1	+	56			8	
		5	+	261			154	
		10	+	832			637	
BP	0.2	+		292				
	1	+		C				
	2	+		2560				
DAT	5	+			377			
	25	+			956			
	50	+			1190			
2AAF	3	+					126	
	15	+					761	
	30	+					2570	

注) 表中の検体処理の値は3枚のプレートの平均値。陽性対照は各処理濃度で1枚のプレートを使用。

T: 毒性が観察された

C: 雑菌の混入がみられた

表2. プレインキュベーション法による試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
溶媒対照 (DMSO)		—	17.6	149.1	211.2	16.4	26.7	
検体	50	—	21.3	132.0	285.0	16.0	28.3	
	150	—	15.0	141.0	254.0	11.0	24.3	
	500	—	16.0	145.3	248.3	15.3	22.7	
	1500	—	17.0	144.3	259.3	15.3	25.3	
	5000	—	18.3	153.7 ^T	250.3	13.0	30.0	
溶媒対照 (DMSO)		+	19.6	139.1	313.1	16.9	33.7	
検体	50	+	13.7	159.0 [*]	269.7	13.3	33.0	
	150	+	13.7	157.7 [*]	314.7	11.7	37.3	
	500	+	13.0	157.0 [*]	307.7	13.0	32.0	
	1500	+	16.7	154.7 [*]	316.3	10.3	31.0	
	5000	+	18.0	159.0 ^{*T}	286.3	9.0	35.3	
陽性 対照	SN	500	—	74				
		2500	—	462				
		5000	—	T				
	4NQO	0.02	—		252			59
		0.1	—		1700			121
		0.2	—		1790			193
	CHO	10	—			358		
		50	—			726		
		100	—			1200		
	9AA	10	—				105	
		50	—				489	
		100	—				4320	
	2AA	1	+	26			71	
		5	+	347			287	
		10	+	T			T	
	BP	0.2	+		160			
		1	+		392			
		2	+		1470			
DAT	5	+			345			
	25	+			885			
	50	+			1220			
2AAF	3	+					139	
	15	+					2090	
	30	+					5170	

注) 表中の検体処理の値は3枚のプレートの平均値。陽性対照は各処理濃度で1枚のプレートを使用。

T: 毒性が観察された

*: $p < 0.05$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表3. プレインキュベーション法による確認試験結果

薬物	濃度 (μ g/プレート)	S-9Mixの有無	復帰変異コロニー数/プレート
			塩基置換型
			TA100
溶媒対照 (DMSO)		+	127.1
検体	50	+	117.0
	150	+	127.3
	500	+	128.3
	1500	+	128.0
	5000	+	114.0
陽性対照 BP	0.2	+	147
	1	+	319
	2	+	478

注) 表中の検体処理の値は3枚のプレートの平均値。
陽性対照は各処理濃度で1枚のプレートを使用。

② 代謝物 の細菌を用いた復帰変異試験

(資料No. 34)

試験機関 : (GLP 対応)

報告書作成年 : 1989 年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 TA1535, TA1537, TA98, TA100 株および大腸菌 WP2uvrA 株の 5 菌株を用い、S-9Mix 存在下および非存在下で Ames らの方法でプレート法にて変異原性を調べた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して、0, 313, 625, 1250, 2500 および 5000 μ g/プレートの濃度で処理した。陽性対照物質として 2-(2-フリル)-3-(5-ニコロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2), アジ化ナトリウム (NaN₃), 2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl (ICR-191) および 2-アミノアントラセン (2AA) を用いた。

結果の判定は復帰変異コロニー数が溶媒対照値の 2 倍以上で、用量依存性が認められた場合に陽性とした。

用量設定根拠 :

結果 : 表 1 に本試験結果を、表 2 に用量設定試験結果を示す。

表 1 および 2 に示すように、検体処理プレートにおいてはいずれの菌株でも S-9Mix の存在の有無に関わらず対照プレートと比べ、復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。一方、陽性対照物質を処理したプレートでは著明な復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下における代謝物 の変異原性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1. 本試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA1535	TA100	WP2uvrA	TA1537	TA98
溶媒対照 (DMSO)	—	+	9	99	31	11	28
検体	313	—	6	111	29	9	23
	625	—	8	106	25	14	23
	1250	—	8	96	32	12	27
	2500	—	9	109	34	14	22
	5000	—	7	87	26	12	23
溶媒対照 (DMSO)	—	+	10	95	41	21	31
検体	313	+	10	115	42	21	35
	625	+	7	106	47	16	27
	1250	+	7	107	48	17	30
	2500	+	8	109	37	12	30
	5000	+	8	115	49	13	32
陽性 対照	NaN ₃	0.5	—	263			
	AF-2	0.01	—		415		
		0.1	—				559
	ICR-191	1	—			1059	
	2AA	0.5	+		1361		
1		+					
2		+	473			232	
20		+			934		

注) 表中の値は2枚のプレートの平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2. 用量設定試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA1535	TA100	WP2uvrA	TA1537	TA98
溶媒対照 (DMSO)	-	+	6	103	26	5	24
検体	1	-	9	104	25	7	16
	10	-	6	133	29	4	23
	100	-	5	112	29	6	14
	1000	-	10	102	27	6	18
	5000	-	8	87	25	6	24
溶媒対照 (DMSO)	-	+	5	121	41	13	25
検体	1	+	7	114	41	15	24
	10	+	11	114	45	15	26
	100	+	10	123	47	11	29
	1000	+	3	121	38	14	22
	5000	+	7	107	33	13	28
陽性 対照	NaN ₃	0.5	-	233			
	AF-2	0.01	-		481		
		0.1	-				565
	ICR-191	1	-			1116	
	2AA	0.5	+		1172		
1		+					
2		+	439			206	
20		+			1340		

注) 表中の2枚のプレートの平均値。

③ 代謝物 の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 36)

試験機関 : (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株の 5 菌及びトリプトファン要求性の大腸 WP2uvrA 株 1 菌を用い、S-9Mix 存在下及び非存在下で Ames らの方法でプレート法及びプレインキュベーション法にて変異原性を調べた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して、プレート法では 0、313、625、1250、2500 及び 5000 μ g/プレートの濃度で、プレインキュベーション法では 0、50、150、500、1500 及び 5000 μ g/プレートの濃度で処理した。陽性対照物質として 2-Aminoanthracene (2AA)、9-Aminoacridine (9AA)、2-Nitrofluorene (NF)、Benzo[a]pyrene (BP)、N-Ethyl-N'-Nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) を用いた。結果の判定は、復帰変異コロニー数が溶媒対照値の 2 倍以上に増加し、かつ、用量相関性の認められる場合を陽性とした。

用量設定根拠 :

結果 : 次表に示す。

いずれの供試菌株についても、S-9Mix 存在下及び非存在下に関わらず、いずれの濃度でも、対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質を処理したプレートでは、全供試菌株において顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下における代謝物 の復帰変異原性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1：第1回目試験結果（プレート法）

薬物	濃度 (μ g)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数 ^{注)}					
			サルモネラ菌					大腸菌
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA1538	WP2uvrA
溶媒対照 (DMSO)		+	39	98	18	13	24	67
検体	313	+	33	110	18	11	22	70
	625	+	38	109	15	12	24	79
	1250	+	38	108	17	8	22	77
	2500	+	38	103	17	11	24	64
	5000	+	37	98	15	8	21	61
溶媒対照 (DMSO)		-	34	99	19	13	24	66
検体	313	-	32	86	17	9	21	72
	625	-	35	88	17	12	19	67
	1250	-	33	87	19	10	21	74
	2500	-	38	95	18	9	21	73
	5000	-	34	98	17	9	19	68
陽性 対照	BP	5	+	546	427		293	206
	2AA	2	+			301		
		10	+					522
	NF	1	-	314				
		2	-				706	
	ENNG	2	-					323
3		-		325				
9AA	80	-			116	1973		

注) 表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2：第2回目試験結果（プレインキュベーション法）

薬物	濃度 (μ g)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数 ^{注)}					
			サルモネラ菌					大腸菌
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA1538	WP2uvrA
溶媒対照 (DMSO)		+	39	100	18	13	22	60
検体	50	+	32	96	14	13	16	46
	150	+	36	91	11	12	16	58
	500	+	34	94	13	10	18	55
	1500	+	35	99	13	10	16	63
	5000	+	34	93	14	13	15	48
溶媒対照 (DMSO)		-	33	97	19	15	21	60
検体	50	-	35	93	17	12	19	55
	150	-	33	101	16	10	24	51
	500	-	32	87	15	12	20	47
	1500	-	32	91	17	11	21	50
	5000	-	33	93	14	10	20	50
陽性 対照	BP	5	+	611	451		332	145
	2AA	2	+			297		
		10	+					536
	NF	1	-	305				
		2	-				640	
	ENNG	2	-					286
3		-		319				
9AA	80	-			104	1629		

注) 表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値。

④ 代謝物 の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 38)

試験機関 : (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株の 5 菌及びトリプトファン要求性の大腸 WP2uvrA 株 1 菌を用い、S-9Mix 存在下及び非存在下で Ames らの方法でプレート法及びプレインキュベーション法にて変異原性を調べた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して、0、313、625、1250、2500 及び 5000 μ g/プレートの濃度で処理した。

陽性対照物質として 2-Aminoanthracene (2AA)、9-Aminoacridine (9AA)、2-Nitrofluorene (NF)、Benzo [a] pyrene (BP)、N-Ethyl-N'-Nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) を用いた。

結果の判定は、復帰変異コロニー数が溶媒対照値の 2 倍以上に増加し、かつ、用量相関性の認められる場合を陽性とした。

用量設定根拠 :

結果 : 次表に示す。

いずれの供試菌株についても、S-9Mix 存在下及び非存在下に関わらず、いずれの濃度でも、対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質を処理したプレートでは、全供試菌株において顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下における代謝物 の復帰変異原性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1：第1回目試験結果（プレート法）

葉 物	濃 度 (μ g)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数 ^(注)					
			サルモネラ菌					大腸菌
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA1538	WP2uvrA
溶媒対照 (DMSO)		+	33	97	23	12	21	59
検 体	313	+	28	103	22	15	23	62
	625	+	33	91	26	9	17	58
	1250	+	31	97	23	11	18	63
	2500	+	31	91	22	12	16	53
	5000	+	26	87	17	8	14	54
溶媒対照 (DMSO)		-	32	93	22	12	22	64
検 体	313	-	35	90	23	10	23	57
	625	-	30	92	24	10	21	55
	1250	-	34	96	21	9	22	59
	2500	-	29	88	20	11	20	66
	5000	-	24	90	18	9	14	59
陽 性 対 照	BP	5	+	686	479		307	225
	2AA	2	+			309		
		10	+					586
	NF	1	-	220				
		2	-				589	
ENNG	2	-						
	3	-		204	57			
	5	-					369	
9AA	80	-				1916		

注) 表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2：第2回目試験結果（プレインキュベーション法）

薬物	濃度 (μ g)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数 ^(注)					
			サルモネラ菌					大腸菌
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA1538	WP2uvrA
溶媒対照 (DMSO)		+	37	97	26	12	16	57
検体	313	+	36	100	21	14	16	55
	625	+	40	103	24	11	14	45
	1250	+	35	98	20	9	15	48
	2500	+	32	94	21	11	14	45
	5000	+	25	88	18	8	10	47
溶媒対照 (DMSO)		-	35	96	21	12	18	56
検体	313	-	29	96	21	8	16	58
	625	-	37	95	20	7	15	47
	1250	-	38	94	18	10	17	51
	2500	-	34	92	16	8	16	49
	5000	-	27	82	17	8	12	50
陽性 対照	BP	5	+	314	312		174	157
	2AA	2 10	+ +			249		836
	NF	1 2	- -	407			452	
	ENNG	2 3 5	- - -		201	51		210
	9AA	80	-				1832	

注) 表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値。

1. 製剤

3-1. 製剤 (75%ドライフロアブル)

(1) 急性毒性

① 75%ドライフロアブルのラットを用いた急性経口投与毒性試験 (資料No. 39)

試験機関： (GLP 対応)
報告書作成年：1998年

検体純度：75%ドライフロアブル

(組成) ハロスルフロンメチル 75%
界面活性剤等 残分

供試動物：SD (Crj:CD SD IGS) 系ラット、5週齢、1群雌雄各5匹
体重 雄 139-157g 雌 118-131g

試験期間：単回投与後14日間観察

試験方法：注射用蒸留水を用いて検体を所定濃度に懸濁調製し、1晩絶食したラットに単回強制経口投与した。予備試験として1000、2000、3000、4000及び5000mg/kgの用量で1群2匹を用いて実施した。3000mg/kg以上で全動物が死亡、2000mg/kgで1匹死亡、1000mg/kgでは死亡が認められなかった。これより0、700、1000、1450、2100、3000mg/kgの用量で試験を実施した。投与量は体重100g当り2mlとした。

観察項目：一般状態及び生死を投与後の5、15、30分、1、3、6時間後、翌日からは1日2回14日間観察した。体重は投与直前、投与後1、2、3、7及び14日目に測定した。死亡動物については発見次第、生存動物については観察終了時に肉眼的病理検査を実施した。14日間の累積死亡数からProbit法にてLD₅₀値を算出した。

試験結果：

投与経路	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、700、1000、1450、2100、3000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	2825 (算出不能)	1947 (算出不能)
死亡開始及び消失時間	3時間/2日	3時間/3日
症状の発現及び消失時間	15分/2日	15分/2日
無毒性量 (mg/kg)	700	700
死亡の認められなかった 最高量 (mg/kg)	2100	1450

死亡；2100mg/kg群の雌4匹、3000mg/kg群の雄4匹及び雌5匹が死亡した。

一般状態；自発運動の低下、流涎、腹臥位及び痙攣などが認められた。

体重；対照群と比較して同様の増加が認められた。

肉眼的病理所見；死亡動物において腺胃の暗赤色の斑点が認められた。生存動物では変化は認められなかった。

以上の結果より、本剤のラットに対する経口投与によるLD₅₀値は、雄2825 mg/kg、雌1947 mg/kgと推定された。

② 75%ドライフロアブルのマウスを用いた急性経口投与毒性試験 (資料No. 41)

試験機関： (GLP 対応)

報告書作成年：1998年

検体純度：75%ドライフロアブル

(組成) ハロスルフロンメチル 75%
界面活性剤等 残分

供試動物：ICR (Crj:CD-1) 系マウス、5週齢、体重 雄 28-33g 雌 22-25g、1群雌雄各5匹

観察期間：単回投与後14日間観察

投与方法：検体を乳鉢で微粉化し、所定量を注射用蒸留水にて懸濁し調製した。

1群2匹を用い、500、900、1600、2800及び5000mg/kgで予備試験を実施した。

5000mg/kgで全動物が死亡、2800mg/kgで雌雄各1匹が死亡、1600mg/kg雌で1匹が死亡した。この結果から5000mg/kgを最高用量とし公比1.58で展開し3610、2000、1260および800mg/kgを設定した。投与前の3時間絶食した動物に、単回強制経口投与した。投与液量は20ml/kgとした。対照群には溶媒のみを投与した。

観察項目：一般状態及び生死を投与後5、15、30分、1、3、6時間後、翌日から1日2回14日間観察した。投与日、投与後1、2、3、7及び14日目に体重を測定した。死亡動物については発見時、生存動物については観察終了時に肉眼的病理検査を実施した。14日間の累積死亡数からProbit法によりLD₅₀値を算出した。

結果：

投与経路	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	0, 800, 1260, 2000, 3160, 5000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	2514 (1833-3442)	3071 (算出不能)
死亡開始及び消失時間	30分/3日	30分/1日
症状の発現及び消失時間	5分/1日	5分/1日
無毒性量 (mg/kg)	800	800
死亡の認められなかった 最高量 (mg/kg)	1260	2000

死亡；2000mg/kg群雄が1匹、3160mg/kg群の雄4匹、雌3匹、5000mg/kg群の全動物の死亡が認められた。

一般状態；白発運動の低下、振戦、腹臥位及び痙攣などが認められた。

体重；対照群と比較して同様の増加が認められた。

肉眼的病理所見；死亡動物の3160mg/kg群雄の1匹の動物で腺胃に黒色斑が認められた。

生存動物に変化は認められなかった。

以上の結果より、本剤のマウスに対する経口投与によるLD₅₀値は雄2514mg/kg、雌3071mg/kgと推定された。

③ 75%ドライフロアブルのラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料No. 40)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年 1998 年

検体純度 : 75%ドライフロアブル

(組成) ハロスルフロンメチル 75%
界面活性剤等 残分

供試動物 : SD (Ic1:SD IGS) 系ラット、7 週齢、1 群雌雄各 5 匹、
体重 雄 230-316g 雌 180-196g

試験期間 : 単回投与後 14 日間観察

試験方法 : 検体は乳鉢を用いて微粉化し、注射用蒸留水にて懸濁した。
投与用量は、低毒性が予想されたため、限界投与量である 2000mg/kg を設定した。
投与約 24 時間前に動物の躯幹背部中央を剪毛した。リント布 (4×5cm) に所定量の
検体を均一に塗布、注射用蒸留水で湿潤させ、皮膚に貼付、閉鎖パッチとし、24 時間
保持した。保持期間終了後被覆物を除去し、残存する被験物質を注射用蒸留水で洗
浄した。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。投与日、投与後 7 日目、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。

試験結果 :

投 与 経 路	経 皮	
	雄	雌
性 別		
投 与 量 (mg/kg)	0, 2000	0, 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	発現例なし	発現例なし
無毒性量 (mg/kg)	2000	2000
死亡の認められなかった 最高量 (mg/kg)	2000	2000

死亡；観察期間中に死亡は認められなかった。

一般状態；異常は認められなかった。

体重；対照群と比較し、同様の増加が認められた。

肉眼的病理所見；異常所見を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経皮投与による LD₅₀ 値は 2000mg/kg 以上と推定された。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

① 75%ドライフロアブルのウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 43)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年 1998 年

検体純度 : 75%ドライフロアブル

(組成) ハロスルフロンメチル 75%
界面活性剤 等 残分

供試動物 : 日本白色ウサギ (Kbs:JW)、9-10 週齢、1 群雄 6 匹、体重 1.76-1.85kg

試験期間 : 検体適用後 72 時間観察

試験方法 : 処理約 24 時間前に剪毛した背側部の皮膚 2.54×2.54cm (約 6cm²) に乳鉢で微粉化した検体 0.5g を注射用蒸留水で適度に湿潤させ均一に広げた 2.54×2.54cm (約 6cm²) のリント布を貼付し、非刺激性テープで止めて閉鎖パッチとした。対照区はリント布のみを同様の処置をした。適用時間は 4 時間とした。適用時間終了後パッチを取り除き、残存する検体は注射用蒸留水で洗浄した。

観察項目 : 塗布終了後 1、24、48、72 時間目に塗布部位の紅斑・痂皮、浮腫の有無とその程度を観察し、農水省ガイドラインに従い評価した。

結果 :

動物番号	項目	最高評点	塗布終了後時間 (時間)				平均刺激性評点
			1	24	48	72	
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
平均*	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
平均刺激性評点の合計						0	
皮膚一次刺激性指数 (P. C. I.)						0	

症状及び体重に検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤はウサギの皮膚に対して、無刺激であると判断された。

② 75%ドライフロアブルウサギにおける75%ドライフロアブルの眼刺激性試験 (資料No. 42)

試験機関： (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

- 検体純度 : 75%ドライフロアブル
(組成) ハロスルフロンメチル 75%
界面活性剤等 残分
- 供試動物 : 日本白色ウサギ (Kbs:JW)、雄 9 匹 (非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹)、9-10 週齢、
体重 1.83-2.18kg
- 試験期間 : 検体適用後 72 時間観察
- 試験方法 : 検体を乳鉢にて微粉化し、0.1g を動物の反転させた右眼下眼瞼粘膜面に投与した。
投与後検体の損失を防ぐため、約 1 秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。左眼は
無処理対照眼とした。3 匹は投与約 3 分後に生理食塩水を用いて洗眼し、残りは行
わなかった。
- 観察項目 : 投与後 1、24、48 及び 72 時間後に検眼した。非洗眼群洗眼群共投与 72 時間の観察
で刺激性変化が認められなかったため、この時点で観察を終了した。観察は農水省
の指針および Draize 法に従った。体重は投与日及び観察終了日に測定した。
- 結果 : 観察した刺激性変化の採点を次頁の表に示す。

非洗眼群では結膜のみに変化が認められた。その程度は最高で発赤 2 浮腫 1 で、投与 48 時間迄に全て消失した。個別スコアの平均値 (MTS) は投与 1 時間後が 5.67 で最大値を示した。48 時間後は 0 であった。Kay and Calandra (1962) 評価基準に従うと 2.5-15 の範囲で、 $MTS_{48}=0$ であり、Minimally irritating (最小の刺激) と評価された。洗眼群でも結膜のみに変化が認められた。その程度は発赤 1、浮腫 1 で投与 48 時間迄に全て消失した。個別スコアの平均値 (MTS) は投与 1 時間後が最大で 4.0 であった。洗眼群で観察された刺激性変化は非洗眼群におけるものよりも幾分弱かった。従って洗眼効果はあると判断した。

以上の結果から、本剤はウサギの眼に対して極軽度の刺激性を有すると判定された。また洗眼による効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

群	観察項目		最高 評点	点眼後時間(時間)				
				1	24	48	72	
非洗眼群	1	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
	2	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
	3	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	1	0	0
			浮腫	4	2	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
	4	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
5	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		面積 a)	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌物 a)	3	0	0	0	0	
6	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		面積 a)	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌物 a)	3	0	0	0	0	
合計			660	34	12	0	0	
平均			110	5.67	2.00	0	0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		面積 a)	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌物 a)	3	0	0	0	0	
合計			330	12	6	0	0	
平均			110	4.00	2.00	0	0	

a) 農水省基準では角膜混濁面積、分泌物の評価は要求していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

③ 75%ドライフロアブル希釈液のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料No. 45)

試験機関： (GLP 対応)

報告書作成年 1998 年

- 検体純度 : 75%ドライフロアブル
(組成) ハロスルフロンメチル 75%
界面活性剤 等 残分
上記検体の 0.05g/200ml (0.025%) 希釈液を点眼液とした。
- 供試動物 : 日本白色ウサギ (Kbs:JW)、雄 9 匹 (非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹)、9-10 週齢、
体重 1.79-2.17kg
- 観察期間 : 検体適用後 72 時間観察
- 試験方法 : 検体希釈液 0.1ml を右眼結膜囊内に入れ、両眼瞼を合わせ、1 秒間保持した。左眼は無処理対照とした。うち 3 匹は洗眼群とし、適用約 3 分後に生理食塩水で洗眼した。残り 6 匹はそのままとした。
- 観察項目 : 投与後 1、24、48 及び 72 時間後に検眼した。非洗眼群洗眼群共投与 72 時間の観察で刺激性変化が認められなかったため、この時点で観察を終了した。観察は農水省の指針および Draize 法に従った。体重は投与日及び観察終了日に測定した。
- 結果 : 観察した刺激性変化の採点を次頁の表に示す。

非洗眼群、洗眼群共に刺激性反応は認められず、個別スコアの平均値 (MTS) は 0 であった。

以上の結果より、本剤の希釈液 (使用最高濃度) はウサギの眼に対して刺激性を示さないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

群	観察項目		最高 評点	点眼後時間(時間)				
				1	24	48	72	
非洗眼群	1	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
	2	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
	3	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
	4	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
5	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		面積 a)	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物 a)	3	0	0	0	0	
6	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		面積 a)	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物 a)	3	0	0	0	0	
合計			660	0	0	0	0	
平均			110	0	0	0	0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		面積 a)	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物 a)	3	0	0	0	0	
合計			330	0	0	0	0	
平均			110	0	0	0	0	

a) 農水省基準では角膜混濁面積、分泌物の評価は要求していない。

(3) 皮膚感作性

① 75%ドライフロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料No. 44)

試験機関： (GLP 対応)

報告書作成年：1998年

検体純度：75%ドライフロアブル
(組成) ハロスルフロンメチル 75%
界面活性剤等 残分

供試動物：Hartley系モルモット、6-7週齢、体重354-458g、
検体感作群雌 20匹 陽性感作群雌 10匹
検体対照群雌 20匹 陽性対照群雌 10匹

試験期間：感作開始から惹起終了後48時間まで(30日間)

試験方法：(Buehler法)

スケジュール；

- 1日：刈毛剃毛(肩甲部)
- 0日：感作Ⅰ→6時間保持
- 6日：刈毛剃毛
- 7日：感作Ⅱ→6時間保持
- 13日：刈毛剃毛
- 14日：感作Ⅲ→6時間保持
- 27日：刈毛剃毛(左右側腹部)
- 28日：惹起→6時間保持
- 29日：24時間後判定(惹起終了後)
- 30日：48時間後判定(惹起終了後)

投与量設定根拠；

方法；

[検体の調製]

検体は乳鉢を用いて微粉化し、蒸留水にて懸濁した。

陽性物質(DNCB:2,4-dinitrochlorobenzene)は感作投与には80%エタノールに溶解した。惹起投与にはアセトンに溶解したものをを用いた

[感作Ⅰ]処理前日モルモット左腹側部被毛を剪毛し、2×2cmの投与区画を設けた。検体感作群は検体の感作投与液0.4ml、陽性物質感作群ではDNCBの感作投与液0.4mlを各々、2×2cmのリン布に均一に広げ、皮膚に適用、粘着性包帯で止め、非刺激性テープで固定し閉塞パッチとした。検体対照群では蒸留水、陽性物質対照群では80%エタノール溶液のみを用い感作群と同様の方法で処置をした。閉塞貼付は6時間保持した。

[感作Ⅱ]感作Ⅰと同様の操作を7日目に実施した。

[感作Ⅲ]感作Ⅰと同様の操作を14日目に実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

[惹起] 最終感作終了後 14 日目 (28 日) に実施した。前日に左右腹側部を剪毛し約 2×2cm の投与区画を 2 ヶ所設けた。検体感作群及び検体対照群の右腹側部には検体の惹起投与液 0.4ml、陽性物質感作群及び陽性物質対照群の右腹側部には DNCB の惹起投与液 0.4ml を各々感作と同様の方法で処置した。検体処理群の左腹側部には蒸留水を、陽性対照物質処理群の左腹側部にはアセトンをそれぞれ処置した。閉塞貼付は 6 時間後に除去した。

[判定評価] 閉鎖パッチ除去 24 及び 48 時間後に皮膚の状況を以下の基準で観察した。

皮膚反応の評価

肉眼的に変化なし.....	0
軽度の紅斑.....	1
中等度の紅斑.....	2
強度の紅斑及び浮腫.....	3

[その他の観察項目] 体重を 0 及び 30 日目に測定し、一般状態を毎日観察した。

処置と結果：

	動物数	感作 I (0 口)	感作 II (7 口)	感作 III (14 口)	惹起 (28 口)	感作反応動物数								陽性 反応 動物数	感作 率
						24h (29 日)				48h (30 日)					
						皮膚反応評点									
						0	1	2	3	0	1	2	3		
検体 感作群	雌 20	70%検体 0.4ml	同 左	同 左	70%検体 0.4ml	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0%
検体 対照群	雌 20	蒸留水 0.4ml	同 左	同 左	70%検体 0.4ml	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0%
陽性物質 感作群	雌 10	1.0%DNCB 80%エタノール 0.4ml	同 左	同 左	0.1%DNCB アセトン 0.4ml	10	0	4	6	0	0	5	5	10	100%
陽性物質 対照群	雌 10	80%エタノール 0.4ml	同 左	同 左	0.1%DNCB アセトン 0.4ml	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0%

症状及び体重に検体による影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤はモルモットの皮膚に対して感作性はないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

3-2. 製剤 (10.0%水和剤)

(1) 急性毒性

① 10%水和剤のラットを用いた急性経口投与毒性試験

(資料No. 5)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1992年

検体純度：10%水和剤

(組成) ハロスルフロンメチル 10%
鋳物質微粉、界面活性剤等 残分

供試動物：Sprague-Dawley 系ラット、投与時 5~8 週齢、体重 144~175g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間：単回投与後 14 日間観察

試験方法：蒸留水を用いて検体を懸濁調製し、1 晩絶食したラットに単回強制経口投与した。
投与液量として体重 100g 当り 1ml とした。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。投与日、投与後 7 日目、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。

試験結果：

投与経路	経口	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	発現例なし	発現例なし
無毒性量 (mg/kg)	5000	5000
死亡の認められなかった最高量 (mg/kg)	5000	5000

死亡数；観察期間中に死亡を認めなかった。

一般状態；観察期間中に異常症状を認めなかった。

体重；順調な増加が認められた。

肉眼的病理所見；異常所見を認めなかった。

以上の結果から、ハロスルフロンメチル 10%水和剤のラットに対する経口投与による LD₅₀ 値は 5000mg/kg 以上と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

② 10%水和剤のマウスを用いたの急性経口投与毒性試験

(資料No. 6)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1992年

検体純度：10%水和剤

(組成) ハロスルフロメチル 10%
鉍物質微粉、界面活性剤等 残分

供試動物：ICR (CD-1) 系マウス、投与時 5~7 週齢、体重 20~30g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：単回投与後 14 日間観察

投与方法：蒸留水を用いて検体を懸濁調製し、投与前 3 時間絶食したマウスに単回強制経口投与した。投与液量として体重 100g 当り 1ml とした。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。投与前、投与後 7 日目、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 経 路	経 口	
	雄	雌
性 別		
投 与 量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	発現例なし	発現例なし
無 毒 性 量 (mg/kg)	5000	5000
死亡の認められなかった 最高量 (mg/kg)	5000	5000

死亡；観察期間中に死亡を認めなかった。

一般状態；観察期間中に異常症状を認めなかった。

体重；順調な増加が認められた。

肉眼的病理所見；異常所見を認めなかった。

以上の結果から、ハロスルフロメチル 10%水和剤のマウスに対する経口投与による LD₅₀ 値は 5000mg/kg 以上と推定された。

③ 10%水和剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料No. 7)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：1992年

検体純度：10%水和剤

(組成) ハロスルフロメチル 10%
 鉱物質微粉、界面活性剤等 残分

供試動物：Sprague-Dawley系ラット、投与時5~8週齢、体重144~175g、1群雌雄各5匹

試験期間：単回投与後14日間観察

試験方法：5x5cmの湿らせたガーゼパッチに検体を塗布し、前日剪毛したラット背部に貼布し、非刺激性閉鎖テープで覆い、24時間保持した。

適用期間終了後被覆物を除去、皮膚に残った検体を水で拭き去った。

観察項目：一般状態及び生死を14日間観察した。投与日、投与後7日目、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。

試験結果：

投与経路	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	4時間/1日	4時間/1日
死亡の認められなかった最高量 (mg/kg)	2000	2000

死亡；観察期間中に死亡を認めなかった。

一般状態；雌雄とも、投与4時間目に赤色鼻汁を認めたが、投与1日目には消失した。

体重；雌の1匹以外は、順調に増加した。

肉眼的病理所見；異常所見を認めなかった。

以上の結果から、ハロスルフロメチル10%水和剤のラットに対する経皮投与によるLD₅₀値は2000mg/kg以上と推定された。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

① 10%水和剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 13)

試験機関： (GLP 対応)
報告書作成年： 1992 年

検体純度： 10%水和剤

(組成) ハロスルフロメチル 10%
鋳物質微粉、界面活性剤等 残分

供試動物： New-Zealand White 系ウサギ、若齢成獣、1 群雄 6 匹

試験期間： 検体適用後 72 時間観察

試験方法： 検体 0.5g を水で湿らせ、投与前日に剪毛した動物の軀幹背部の皮膚 (2.5cm 四方) に塗布した。塗布部位は、ガーゼパッチ、Micropore tape、Elastoplast 粘着性包帯で覆い 4 時間保持した。期間終了後、皮膚に残った検体を湿ったティッシュペーパーで拭き取った。

観察項目： 塗布終了後 1、24、48、72 時間目に塗布部位の紅斑・痂皮、浮腫の有無とその程度を観察し、農水省ガイドラインに従い評価した。

結果：

動物番号	項目	最高評点	塗布終了後時間 (時間)				平均刺激性評点
			1	24	48	72	
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
平均*	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
平均刺激性評点の合計							0

以上の結果より、ハロスルフロメチル 10%水和剤は、ウサギの皮膚に対して、無刺激であると判断された。

② 10%水和剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. 10)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年 2005 年

検体純度 : 10%水和剤

(組成) ハロスルフロンメチル 10%
鋳物質微粉、界面活性剤等 残分

供試動物 : New-Zealand White 系ウサギ、成獣、雄 10 匹

試験期間 : 検体適用後 72 時間観察

試験方法 : 100mg の検体を右眼の下結膜嚢内に適用した。左眼は無処理対照とした。3 匹は投与後 2-3 分後に蒸留水で洗眼し、残り 7 匹は行わなかった。

観察項目 : 投与後 1、24、48、72 時間目に角膜、虹彩、結膜の障害を Draize の等級に従って観察し、農水省ガイドラインにて評価した。

結果 : 刺激性評点の結果を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

群	観察項目		最高 評点	点眼後時間(時間)				
				1	24	48	72	
非洗眼群	1	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物 a)	3	0	0	0	0
	2	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	1	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	0	0
			分泌物 a)	3	3	0	0	0
	3	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	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 a)	3	0	0	0	0
	4	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物 a)	3	1	0	0	0
	5	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			面積 a)	4	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
浮腫			4	0	0	0	0	
分泌物 a)			3	1	0	0	0	
6	角膜	混濁	4	0	-	-	-	
		面積 a)	4	0	-	-	-	
	虹彩		2	0	-	-	-	
	結膜	発赤	3	0	-	-	-	
		浮腫	4	0	-	-	-	
		分泌物 a)	3	0	-	-	-	
10	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		面積 a)	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	1	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物 a)	3	0	0	0	0	
合計			660	33	13	0	0	
平均			110	4.71	2.17	0	0	

注) ; 非洗眼群の1匹が1時間目の観察の後に死亡したため、1時間目のみ7匹、その後6匹平均。合計、平均は申請者が算出した。

農水省基準では角膜混濁面積、分泌物の評価は要求していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

群	観察項目		最高 評点	点眼後時間(時間)			
				1	24	48	72
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	0	0	0	0
		面積 a)	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0.33	0	0	0
		分泌物 a)	3	0	0	0	0
合計			330	12	6	0	0

合計、平均は申請者が算出した。

農水省基準では角膜混濁面積、分泌物の評価は要求していない。

角膜には変化が認められなかった。虹彩には評点1の変化が認められたが処理後48時間には消失した。結膜には評点1の変化(陽性効果ではない)が認められたが、48時間後には消失した。

洗眼群では陽性効果は認められなかった。

以上の結果より、ハロスルフロンメチル10%水和剤はウサギの眼に対して、軽度な刺激性が認められた。また洗眼効果は認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

③ 10%水和剤希釈液のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. 11)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年 1993 年

検体純度 : 10%水和剤

(組成) ハロスルフロンメチル 10%

鉍物質微粉、界面活性剤 等 残分

上記検体の 500 倍希釈液を点眼液とした。

供試動物 : New-Zealand White 系ウサギ 成獣雌 9 匹、体重 2.11~2.65kg

観察期間 : 検体適用後 72 時間観察

試験方法 : 検体 500 倍希釈液 0.1ml を右眼結膜嚢内に入れ、両眼瞼を合わせ、1 秒間保持した。
左眼は無処理対照とした。うち 3 匹は洗眼群とし、適用 2~3 分後に生理食塩水 200ml で洗眼した。残り 6 匹はそのままとした。

観察項目 : 投与後 1、24、48 及び 72 時間後に農水省ガイドラインに記載されている評価法にて採点評価した。

結果 : 結果を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

群	項目	最高 評点	投与後時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間		
非洗眼群	1	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	2	角膜	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
	3	角膜	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
	4	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	5	角膜	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	6	角膜	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
合計		78	3	0	0	0		
平均		13	0.5	0	0	0		

合計は申請者が算出した。

群	項目	最高 評点	投与後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
洗眼群 (3匹)	角膜	4	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
合計		13	0	0	0	0	

非洗眼群で適用1時間後の観察において結膜の発赤（評点1）が6匹中3匹に認められたが、24時間後には消失した。洗眼群では何の変化も認められなかった。以降の観察においては変化は認められなかった。

以上の結果よりハロスルフロメチル10%水和剤500倍希釈液はウサギの眼に対して陽性効果を示さなかった。従って農水省基準では無刺激と判断された。また洗浄群では評点が0であったことから洗眼効果を認めた。

(3) 皮膚感作性

① 10%水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 16)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年 1992 年

検体純度 : 10%水和剤

(組成) ハロスルフロンメチル 10%
鋳物質微粉、界面活性剤 等 残分

供試動物 : Dunkin-Hartley系アルビノモルモット、成獣(1年齢以下)、体重392~475g、
1群雌10匹

検体感作群雌10匹

検体対照群雌10匹 計20匹

試験期間 : 感作開始から惹起終了後48時間まで(30日間)

試験方法 : Buehler法。

スケジュール ; 0日 : 感作Ⅰ→6時間保持
7日 : 感作Ⅱ→6時間保持
14日 : 感作Ⅲ→6時間保持
27日 : 刈毛(腹側部)
28日 : 惹起→6時間保持
29日 : 24時間後判定
30日 : 48時間後判定

投与量設定根拠 ;

方法 ;

[検体の調製]

蒸留水で所定濃度となるよう懸濁調製した。濃度は感作、惹起共25% (w/v)とした。

[感作Ⅰ]モルモット背部中央を約4×6cmの広さに刈毛し、検体感作群は25%検体懸濁液0.5mlをWebrilパッド(2.5×2.5cm)に均一に塗布、刈毛した皮膚に貼付した。約5×5cmの閉鎖テープで覆い6時間保持した。

検体対照群は蒸留水のみを感作群と同様の方法で処置した。

[感作Ⅱ]感作Ⅰと同様の操作を7日目に実施した。

[感作Ⅲ]感作Ⅰと同様の操作を14日目に実施した。

[惹起]最終感作終了後14日目(28日)に実施した。前日に左腹側部を5×5cmの範囲に刈毛した。刈毛したモルモットの皮膚に検体感作群、検体対照群共に25%検体懸濁液と、溶媒である蒸留水0.5mlをそれぞれの部位に適用し、閉鎖パッチとして6時間保持した。

[判定評価]閉鎖パッチ除去24及び48時間後に皮膚の状況を以下の基準で観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

皮膚反応の評価

肉眼的に変化なし.....	0
軽度の紅斑.....	1
中等度の紅斑.....	2
強度の紅斑及び浮腫.....	3

[その他の観察項目] 体重を0及び30日目に測定し、一般状態を毎日観察した。

処置と結果：

	使用動物数	感作Ⅰ (0日)	感作Ⅱ (7日)	感作Ⅲ (14日)	惹起 (28日)	感作反応動物数								陽性 反応 動物数	感作 率
						24h (29日)				48h (30日)					
						皮膚反応評点									
						0	1	2	3	0	1	2	3		
検感 体作 群	雌 10	25%検体 0.5ml	同 左	同 左	25%検体 0.5ml	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0%
検対 体照 群	雌 10	蒸留水 0.5ml	同 左	同 左	25%検体 0.5ml	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0%

以上の結果より、ハロスルフロンメチル 10%水和剤はモルモットの皮膚に対して感作性はないものと判断された。

注) 陽性対照物質 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) を用いた感受性は、6ヶ月毎にチェックしている。直近の陽性対照物質を用いた試験結果を次表に示す。表に示すように陽性反応率は90%を示した。

3-3. 製剤 (5%水和剤)

(1) 急性毒性

① 5%水和剤のラットを用いた急性吸入毒性試験 (資料No. 8)

試験機関： (GLP 対応)
報告書作成年 1997 年

検体純度 : 5%水和剤

(組成) ハロスルフロンメチル 5%
鋳物質微粉、界面活性剤等 残分

供試動物 : Wistar 系 (Han-lbm) SPF ラット、開始時週齢 雄 8 週齢 雌 11 週齢、
体重 雄 202.1~225.3g、雌 185.0~204.6g、1 群雌雄各 5 匹使用

試験期間 : 単回 4 時間鼻先暴露後 14 日間観察

試験方法 : 鼻先 4 時間暴露とした。吸入は Sachsse ら (1973, 1976) の方法で行った。動物は暴露室の周囲に放射状に配置された拘束チューブに個別に保定した。暴露室の設計は検査気流の流体動力学モデルに基づいた。均一な検体の分布、各動物への新鮮な検体気流の一定速度を確保し、呼気の再吸入を防止した。

検体濃度 (分析及び重量)、粒子径、酸素濃度、相対湿度、及び温度の測定のためのサンプルは、暴露室の一部で、ある動物の鼻先に新鮮な検体を供給するチューブから直接採取した。したがって、全測定物は動物に実際に供給されたものと同じである。気流測定は目盛りのついた乾式テスターと気圧計を用いた。

温度 $21.9 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $35.3 \pm 14\%$ 、酸素濃度 $20.8 \pm 0.05\%$ (v/v)、総気流量 38.5ml/min であった。

観察項目 : 一般状態を暴露中は 1 時間毎、暴露後 1 回、その他は 1 日 1 回観察した。暴露前、暴露後 4、8、15 日目に体重を測定した。観察終了後全生存動物について肉眼的病理検査を実施した

試験結果 :

投 与 経 路	吸 入	
	雄	雌
性 別		
暴 露 濃 度 (mg/L)	6.34 (分析値 4.40)	
空気力学的質量中位径 (μm)	2.90	
4.6 μm 以下の粒子の割合 (%)	70.07	
1.06 μm 以下の粒子の割合 (%)	13.31	
LC ₅₀ 値 (mg/L)	>6.34 (分析値 4.40)	>6.34 (分析値 4.40)
死亡開始及び消失時間	死亡例なし	死亡例なし
症状の発現及び消失時間	発現例なし	発現例なし
無 毒 性 量 (mg/L)	>6.34 (分析値 4.40)	>6.34 (分析値 4.40)
死亡の認められなかった 最高量 (mg/L)	>6.34 (分析値 4.40)	>6.34 (分析値 4.40)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

死亡数；観察期間中に死亡を認めなかった。

一般状態；観察期間中に異常症状を認めなかった。

体重；順調な増加が認められた。

肉眼的病理所見；異常所見を認めなかった。

以上の結果から、ハロスルフロンメチル5%水和剤のラットに対する鼻先暴露による急性吸入毒性のLC₅₀値は、6.34mg/L(分析値4.40)以上と推定された。