

④ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. T-23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

報告書番号：

検体の純度：

供試動物：New Zealand White 種妊娠ウサギ、1 群 20 匹、妊娠 1 日体重 3.60～4.79 kg

投与期間：妊娠 7 日から妊娠 19 日目までの 13 日間（1990 年 8 月 20 日～9 月 28 日）

投与方法：検体をコーン油に懸濁し、0、25、50 および 100 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日目\* から妊娠 19 日目までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には、コーン油のみを同様に投与した。

\*)：人工授精日を妊娠 1 日として起算した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物；行動および一般状態の変化について毎日観察し、妊娠 1、4、7～19、22、26 および 30 日に体重を測定した。摂餌量は妊娠 1～4、4～7、7～10、10～13、13～16、16～19、19～22、22～26 および 26～30 日間の摂取量を測定した。妊娠 30 日に屠殺して、肉眼的病理検査を行い、子宮および卵巣を摘出して、妊娠子宮重量、黄体数、着床位置と着床数、生存胎児数ならびに早期および後期胚死亡数を検査した。

胎児；体重測定後、全胎児について外表異常および口蓋裂について観察した。全生存胎児について内臓異常を検査し、性別判定後、メタノールに固定して脳の肉眼的異常について検

査した。次に、アリザリンレッド S 染色を施した骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を表 1～6 に示した。

母動物；いずれの群でも、一般状態の変化、流産および死亡は認められなかった。

100 mg/kg 群では投与期間中に軽度な体重減少がみられ、妊娠 7～19 日の体重増加量に低値がみられたことから、母動物に対する毒性が発現したものと考えられたが、投与期間後には回復したことから、その程度は軽度であった。100mg/kg 群では、投与期間中に軽度な摂餌量低下もみられた。50 mg/kg 群でも投与期間中に体重減少がみられ、妊娠 7～19 日の体重増加量に有意な低値がみられ、減少の程度は 100 mg/kg 群よりも大きく、投与期間後に回復がみられなかった。また、50mg/kg 群では、妊娠 13～16 日の摂餌量にもやや低下がみられ、妊娠 16～19 日の摂餌量に有意な低値が認められたが、その減少の程度は 100 mg/kg 群よりも大きかった。したがって、50mg/kg 群でみられた変化は 100mg/kg 群とは異なるものの、検体投与の影響は否定できなかった。なお、25mg/kg 群は、妊娠 7～19 日およびその後の期間を通して体重増加量が低く推移したが、妊娠動物 14 例中 1 例で約 350g の体重減少がみられたことが主な原因と考えられ、この 1 例では投与後期間に回復がみられなかった。25mg/kg 群の妊娠 19～30 日の平均体重増加量は、より高用量の群よりも少なかったことから、投与とは無関係な変化と考えられた。

着床数、着床前および着床後損失率、生存胎児数、胚死亡数、妊娠子宮重量には、投与に関する影響はなかった。

胎児；胎児体重に検体投与の影響はみられなかった。

なお、全検体投与群で平均胎児体重の有意な低下がみられたが、同腹児重量には変化がなく、投与の影響とは考えられなかった。100 mg/kg 群については、平均胎児体重の低値は、平均生存胎児数の増加に起因するものと考えられた<sup>申請者注</sup>。

外表・内臓検査では、検体投与の影響と考えられる変化はなかった。

なお、重度異常を有する総胎児数が 25mg/kg 群で有意に増加したが、発現率は 1.1% (対照)、7.1% (25mg/kg)、4.2% (50mg/kg) および 5.6% (100mg/kg) であり、用量段階に伴う発現率の増加がないことから、投与に関連する変化ではないと考えられた。軽度異常を有する総胎児数が 100mg/kg 群で増加し、発現率は 2.2% (対照)、2.7% (25mg/kg)、3.1% (50mg/kg) および 4.9% (100mg/kg) であったが有意差はなく、投与の影響とは考えられなかった。

骨格検査では、対照群を含む全群の全胎児で何らかの骨格変異がみられたが、100 mg/kg 群で過剰 13 肋骨正常長および仙椎前椎骨数 27 の発現頻度に有意差はないものの増加がみられ、検体投与の影響と考えられた。

なお、第 4 腰椎横突起部分骨化の発現頻度が 50mg/kg 群で有意に増加し、第 5 腰椎横突起部分骨化の発現頻度が 25 および 50mg/kg 群で有意に増加し、第 6 腰椎横突起部

分骨化の発現頻度が25mg/kg群で有意に増加したが、いずれも発現率には用量段階に伴う増加がなく、投与とは無関係と考えられた。

また、骨格検査では、検体投与の影響と考えられる重度異常および軽度異常はみられなかった。

なお、重度異常を有する総胎児数が25mg/kg群で有意に増加したが、発現率は0%（対照）、4.5%（25mg/kg）、1.0%（50mg/kg）および3.5%（100mg/kg）であり、用量段階に伴う発現率の増加がないことから、投与に関連する変化ではないと考えられた。大泉門軽度拡大および第5胸骨分節未骨化が25mg/kg群で有意に増加し、第6胸骨分節未骨化が25および100mg/kg群で有意に増加し、第6胸骨分節部分骨化が25および50mg/kgで有意に増加したが、いずれも用量段階に伴う変化ではなかった。100mg/kg群で頭頂骨孔が有意に増加したが、軽度異常を有する総胎児数の発現率は35.2%（対照）、52.7%（25mg/kg）、51.0%（50mg/kg）、36.6%（100mg/kg）であり、用量段階に伴う発現率の増加がないことから、偶発的な変化と考えられた。

以上より、本剤を妊娠ウサギに投与した結果、50および100mg/kg投与群の母動物で体重増加抑制および摂餌量低下がみられ、100mg/kg投与群の胎児で過剰13肋骨正常長および仙椎前椎骨数27の発現頻度が増加したことから、本試験における無毒性量は、母動物が25mg/kg/日、胎児動物が50mg/kg/日であった。また、最高投与量の100mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

表 1. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	25	50	100	
1 群当りの動物数		20	20	20	20	
妊娠動物数		12	14	13	17	
死亡・切迫屠殺数		0	0	0	0	
流産		0	0	0	0	
一般状態		検体投与に起因する異常なし				
母動物	平均体重 <sup>a)</sup> (g)	妊娠 1 日	4086	4345	4282	4201
	妊娠 4 日	4098	↑ 4384	4346	4266	
	妊娠 7 日	4108	↑ 4443	4376 <sup>a)</sup>	4284	
	妊娠 8 日	4076	↑ 4384	4300 <sup>a)</sup>	4229	
	妊娠 9 日	4055	↑ 4354	4290	4177	
	妊娠 10 日	4062	↑ 4354	4292	4166	
	妊娠 11 日	4088	4362	4286	4189	
	妊娠 12 日	4089	↑ 4375	4266	4212	
	妊娠 13 日	4125	↑ 4409	4268	4228	
	妊娠 14 日	4155	4437	4306	4249	
	妊娠 15 日	4187	4466	4335	4282	
	妊娠 16 日	4215	4476	4328	4291	
	妊娠 17 日	4234	4498	4245	4288	
	妊娠 18 日	4208	4483	4231	4258	
	妊娠 19 日	4206	4455	4210	4239	
	妊娠 22 日	4207	4458	4202	4287	
	妊娠 26 日	4330	4542	4333	4387	
	妊娠 30 日	4445	4628	4404	4459	
	体重増加量 (g)	妊娠 1~4 日	12.8	39.1	63.8	↑ 64.5
		妊娠 4~7 日	10.0	58.8	29.5	18.4
妊娠 1~7 日		22.8	↑ 97.9	↑ 93.3	82.9	
妊娠 7~10 日		-46.5	-88.9	-83.8	↓ -117.8	
妊娠 10~13 日		63.2	54.7	↓ -23.4	61.6	
妊娠 13~16 日		89.7	67.4	59.7	62.5	
妊娠 16~19 日		-8.8	-21.0	-63.4	-51.4	
妊娠 7~19 日		97.6	12.1	↓ -122.9	-45.1	
妊娠 19~22 日		0.8	3.1	-8.3	47.9	
妊娠 22~26 日		123.6	83.6	131.1	100.4	
妊娠 26~30 日		114.6	86.4	71.8	71.6	
妊娠 19~30 日		239.0	173.1	194.6	219.9	
妊娠 1~30 日	359.3	283.2	↓ 156.8	257.7		

a) 申請者が統計実施のために再計算した結果に基づく。

対照群との有意差の検定 (↑↓: P<0.01、↑↓: P<0.05)  
Student の t 検定: 体重 (申請者が実施した)、体重増加量

表 2. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	25	50	100	
1 群当りの動物数		20	20	20	20	
母動物	摂餌量 (g/日) <sup>a)</sup>	妊娠 1~4 日	100	107	113	112
		妊娠 4~7 日	100	↑118	117	112
		妊娠 1~7 日	100	113	115	111
		妊娠 7~10 日	100	110	105	95
		妊娠 10~13 日	100	105	90	102
		妊娠 13~16 日	100	88	75	86
		妊娠 16~19 日	100	93	↓50	↓60
		妊娠 7~19 日	100	99	77	85
		妊娠 19~22 日	100	109	75	96
		妊娠 22~26 日	100	97	86	109
		妊娠 26~30 日	100	91	92	89
	妊娠 19~30 日	100	98	85	97	
	肉眼的病理所見		検体投与に起因する異常なし			
妊娠子宮重量 (g)		519.9	500.6	460.3	492.7	
着床所見	検査母動物数		12	14	13	17
	平均黄体数		10.17	11.21	10.23	10.65
	平均着床数		8.75	9.43	8.62	9.35
	着床前損失率 (%)		15.4	14.3	14.7	12.2
	着床後損失率 (%)		14.3	14.3	14.7	11.9
	平均生存胎児数		7.58	8.00	7.38	8.35
	(腹数/検査腹数)	胚死亡数 早期	4/12	5/14	4/13	5/17
胚死亡数 後期		4/12	7/14	7/13	8/17	
胎児	性比 (雄%)		51.8	48.1	47.1	61.1
	同腹児重量 (g)		331.5	319.2	290.3	328.1
	平均胎児体重 (g)		45.6	↓40.2	↓39.9	↓39.4

a) 表中の数字は対照群を 100 とした場合の目安 (%)。

着床前損失率 (%) = ((黄体数 - 着床数) / 黄体数) × 100

着床後損失率 (%) = ((着床数 - 生存胎児数) / 着床数) × 100

対照群との有意差の検定 (↑↓: P<0.01, ↑↓: P<0.05)

Student の t 検定: 摂餌量、着床数、生存胎児数、着床前損失率、着床後損失率、妊娠子宮重量、同腹児重量、胎児体重、性比

Fisher の検定: 胚死亡数 (有意差なし)

表 3. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	25	50	100
胎児動物 外表・内臓検査	検査胎児 (腹) 数	91 (12)	112 (14)	96 (13)	142 (17)
	重度異常を有する総胎児数	1	↑8	4	8
	潜在性二分脊椎	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	上顎短小	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	鼻孔欠損	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	鼻孔閉鎖	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	小眼球	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	開眼	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	水頭症	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	側脳室拡張過度	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	側脳室拡張中等度	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	動脈幹遺残	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	大動脈拡張過度	0 (0)	3 (2)	1 (1)	1 (1)
	大動脈狭窄過度	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	大血管重度異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	肺動脈拡張過度	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	肺動脈狭窄過度	0 (0)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
	肺嚢胞付着	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	臍帯ヘルニア	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	痕跡腎	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	前肢屈曲過度	0 (0)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
	後肢指欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	後肢屈曲過度	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	後肢回転異常	0 (0)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
	軽度異常を有する総胎児数	2	3	3	7
	側脳室拡張軽度	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	肝臓嚢胞付着	1 (1)	3 (3)	1 (1)	4 (2)
	肝臓左葉欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	肝臓肥厚	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	胆嚢二葉	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	脾臓褪色	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	腎臓位置異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
	腎臓小葉(kidney, lobular)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
前肢屈曲軽度	0 (0)	2 (2)	3 (1)	0 (0)	
後肢屈曲軽度	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
曲尾軽度	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
尾-皮膚フラップ	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
痕跡尾	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	

表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓:  $P < 0.01$ , ↑↓:  $P < 0.05$ )

Student の t 検定: 各腹の軽度異常を有する胎児の割合

Fisher の直接確率検定: 外表・内臓および骨格検査における各所見の発現頻度

表 4. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	25	50	100
胎 児 動 物 骨 格 検 査	検査胎児 (腹) 数	91 (12)	112 (14)	96 (13)	142 (17)
	重度異常を有する総胎児数	0	↑5	1	5
	猿頭症	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	頭頂骨開孔	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	頭蓋肉眼的異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	上顎骨癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	頸椎弓および体配列異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	主要頸椎欠損	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	第 10/第 11 胸椎間過剰椎弓	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 3/第 4 胸椎間過剰椎弓	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	腰椎欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	仙椎欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	尾椎欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	尾椎肉眼的異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
	主要脊柱欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	第 3/第 4 肋骨間過剰肋骨 - 正常長	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 10/第 11 肋骨間過剰肋骨 - 正常長	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	後肢指欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	軽度異常を有する総胎児数	32	↑59	↑49	52
	前頭骨部分骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	頭頂骨部分骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	頭頂骨孔	0 (0)	1 (1)	1 (1)	↑9 (4)
	前頭骨/鼻骨間縫合骨	2 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	頭頂骨間縫合骨	2 (1)	1 (1)	3 (2)	1 (1)
	大泉門軽度拡大	3 (1)	↑12 (6)	3 (3)	3 (2)
	舌骨変形	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	舌骨部分骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 1 頸椎弓部分骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	第 2 頸椎弓部分骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	頸椎結節二分	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
	頸椎歯突起二分	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 4 頸椎体二分	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	第 5 頸椎体二分	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
第 4 頸椎半椎体位置異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
第 2 頸椎半椎体未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
第 3 頸椎半椎体未骨化	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
第 4 頸椎半椎体未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	
第 5 頸椎半椎体未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	

表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓:  $P < 0.01$ , ↑↓:  $P < 0.05$ )

Student の t 検定: 各腹の軽度異常を有する胎児の割合

Fisher の直接確率検定: 外表・内臓および骨格検査における各所見の発現頻度

表 5. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	25	50	100
胎 児 動 物  骨 格 検 査	検査胎児 (腹) 数	91 (12)	112 (14)	96 (13)	142 (17)
	第 7 頸椎半椎体未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	第 7 頸椎横突起部分骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	歯突起第 2 頸椎体間骨化部位	0 (0)	3 (2)	0 (0)	3 (3)
	頸肋	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	第 3 第 4 胸椎体間過剰半椎体	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 6 第 7 腰椎弓間骨化部位	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 6 腰椎弓拡大	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 2 腰椎横突起完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 4 腰椎横突起未骨化	2 (2)	1 (1)	1 (1)	5 (2)
	第 5 腰椎横突起未骨化	1 (1)	1 (1)	1 (1)	4 (2)
	第 6 腰椎横突起未骨化	0 (0)	1 (1)	2 (2)	5 (2)
	第 7 腰椎横突起未骨化	2 (1)	7 (3)	7 (4)	11 (4)
	第 9～第 11 胸椎弓配列異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	仙椎前椎骨数 25	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	第 3 胸骨分節二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	第 5 胸骨分節二分	1 (1)	2 (2)	3 (3)	0 (0)
	第 6 胸骨分節二分	0 (0)	0 (0)	3 (3)	4 (4)
	第 5 胸骨分節配列異常過度	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	第 1 胸骨分節変形	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 2 胸骨分節変形	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	第 6 胸骨分節変形	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	第 5 胸骨分節未骨化	3 (3)	↑15 (5)	1 (1)	5 (3)
	第 6 胸骨分節未骨化	1 (1)	↑10 (7)	5 (3)	↑12 (6)
	第 2 胸骨分節部分骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (2)
	第 6 胸骨分節部分骨化	6 (3)	↑26 (8)	↑23 (7)	16 (8)
	第 2 胸骨分節配列異常軽度	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	第 3 胸骨分節配列異常軽度	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
	第 4 胸骨分節配列異常軽度	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	第 5 胸骨分節配列異常軽度	2 (2)	0 (0)	1 (1)	4 (4)
	第 1/第 2 胸骨分節癒合	0 (0)	1 (1)	2 (2)	0 (0)
	第 2/第 3 胸骨分節癒合	0 (0)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
	第 3/第 4 胸骨分節癒合	3 (3)	4 (4)	6 (3)	0 (0)
第 4/第 5 胸骨分節癒合	4 (3)	3 (3)	6 (3)	2 (2)	
第 13 肋骨分岐	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
第 6 肋骨ばち状	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
第 7 肋骨ばち状	1 (1)	0 (0)	5 (2)	1 (1)	
第 8 肋骨ばち状	1 (1)	0 (0)	4 (1)	0 (0)	
第 9 肋骨ばち状	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	

表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓:  $P < 0.01$ , ↑↓:  $P < 0.05$ )

Fisher の直接確率検定: 骨格検査における各所見の発現頻度



表 6. 結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	25	50	100		
胎 児 動 物	骨 格 検 査	検査胎児 (腹) 数	91 (12)	112 (14)	96 (13)	142 (17)	
		第 7 肋骨中央部肥厚	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
		第 8 肋骨中央部肥厚	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
		第 9 肋骨中央部肥厚	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
		過剰肋骨の第 11 肋骨への軽度癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
		過剰 13 肋骨不完全骨化/二分	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
		第 12 第 13 肋骨癒合軽度	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
		骨盤骨非対称配列	3 (3)	2 (2)	6 (5)	3 (3)	
		恥骨部分骨化	1 (1)	2 (2)	1 (1)	2 (2)	
		距骨未骨化	0 (0)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	
		距骨部分骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
		変異を有する総胎児数	91	112	96	142	
		歯突起部分骨化	53 (11)	45 (12)	33 (12)	45 (12)	
		第 2 腰椎横突起部分骨化	23 (9)	30 (11)	22 (8)	28 (10)	
		第 3 腰椎横突起完全骨化	21 (7)	24 (9)	12 (6)	19 (5)	
		第 3 腰椎横突起部分骨化	63 (11)	68 (14)	62 (13)	75 (17)	
		第 4 腰椎横突起部分骨化	28 (7)	45 (12)	↑46 (11)	58 (14)	
		第 5 腰椎横突起部分骨化	23 (8)	↑43 (11)	↑43 (11)	45 (14)	
		第 6 腰椎横突起部分骨化	26 (8)	↑48 (12)	39 (11)	45 (14)	
		第 7 腰椎横突起部分骨化	56 (12)	76 (14)	61 (11)	86 (17)	
		第 1 仙椎非対称発生	42 (12)	49 (12)	35 (10)	43 (16)	
		第 2 仙椎非対称発生	31 (12)	29 (11)	27 (11)	33 (12)	
		仙椎前椎骨数 27	33 (9)	35 (11)	39 (10)	63 (15)	
		第 5 胸骨分節部分骨化	27 (10)	29 (12)	29 (10)	39 (13)	
		過剰 13 肋骨正常長	55 (12)	62 (14)	52 (12)	96 (17)	
		過剰 13 肋骨正常長浮遊	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	
		過剰 13 肋短小	14 (7)	8 (7)	13 (7)	16 (10)	
		過剰 13 肋短小浮遊	10 (6)	12 (6)	10 (6)	12 (8)	
		骨化進行度 <sup>b)</sup>	前肢指骨	2.84	2.82	2.80	2.86
			後肢指骨	2.00	2.00	2.00	2.00

各所見の表中の数値は所見がみられた胎児数 (腹数) を示す。

b) 骨化進行度のスコア 1 (good) ~4 (poor) の平均を示す。

対照群との有意差の検定 (↓:  $P < 0.01$ , ↑↓:  $P < 0.05$ )

Student の t 検定: 骨化進行度

Fisher の直接確率検定: 骨格検査における各所見の発現頻度

(13) 変異原性

①細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1984 年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、1.6~5000 µg/プレートの範囲の 6 濃度で実施した。試験は 3 連制 (但し、溶媒対照群は 5 連、陽性対照群は 2 連) とし、プレート法で 2 回行った。

[用量設定根拠]；

[判定基準]；

少なくとも 1 用量において平均復帰変異コロニー数が 2 倍またはそれ以上に (溶媒対照プレートでみられる復帰変異コロニー数の平均を上回って) 増加した場合、あるいは統計学的に有意な用量に関連した変異コロニー数の増加がみられた場合で、なおかつ再現性が認められた場合に陽性反応と判定した。

試験結果：結果を次表に示した。

2 回の試験において、検体は S9 mix の有無にかかわらず、最高用量 5000 µg/プレートまで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を有意に増加させなかった。

試験 1 において 200 µg/プレートの濃度で TA1538 (S9 mix 非存在下) の復帰変異コロニー数が増加し、対照群の 1.96 倍であったが、より高用量では同様の変化がなく、試験 2 において繰り返しみられることもなかった。

一方、陽性対照として用いた *N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン (MNNG)、アクリジン変異原 ICR191 (ICR191)、ダウノルピシン (DR)、4-ニトロ-*o*-フェニレンジアミン (4-NPD) では S9 mix 非存在下において、また、2-アミノアントラセン (2-AA) では S9 mix 存在下において、各試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

試験1の結果

(表中の数値は3連の平均値±標準偏差(溶媒対照群は5連、陽性対照群は2連))

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)		-	10.8±3.8	119.0±12.5 <sup>a</sup>	14.6±5.6	6.8±1.6	23.0±2.2 <sup>a</sup>	
検体	1.6	-	9.7±3.1	98.0±15.1	10.7±3.8	6.0±2.6	19.7±3.8	
	8.0	-	10.7±3.1	74.7±20.6	11.0±3.6	7.7±5.0	20.7±3.2	
	40	-	9.7±0.6	84.7±22.6	12.3±3.1	5.0±3.0	16.0±1.0	
	200	-	7.0±2.0	65.3±8.1	5.0±1.7	13.3±3.8	21.7±7.1	
	1000	-	6.0±1.0	42.0±6.2	10.0±4.4	1.0±1.0	7.7±0.6	
5000	-	2.3±3.2	51.0±6.6	7.0±1.0	0.0±0.0	6.0±1.0		
対照 (DMSO)		+	13.0±2.4 <sup>a</sup>	94.8±16.5	13.6±5.5	11.8±2.7	23.6±3.6	
検体	1.6	+	12.5±2.1 <sup>b</sup>	80.7±12.7	12.3±2.3	11.7±3.1	19.7±4.0	
	8.0	+	13.7±3.1	85.3±23.6	15.7±3.1	12.5±0.7 <sup>b</sup>	20.0±1.0	
	40	+	9.7±1.5	89.3±8.5	12.0±1.0	14.0±2.6	21.0±3.6	
	200	+	11.3±3.1	57.7±5.9	11.3±2.5	11.7±3.1	20.3±1.5	
	1000	+	4.3±2.5	37.7±7.6	5.0±2.6	13.3±7.6	8.3±3.2	
5000	+	4.7±3.2	40.7±8.0	10.7±3.1	1.3±1.5	6.0±2.6		
陽性 対照	MNNG	1.0	-	249.0±8.5	307.5±102.5			
		2.0	-	1970.0±209.3	1342.0±72.1			
		5.0	-	2420.5±54.4	1855.0±233.3			
	ICR191	0.5	-			137.5±12.0		
		1.0	-			180.0±24.0		
		2.0	-			241.0±29.7		
	4-NPD	1.0	-				90.0±8.5	
		2.0	-				176.5±13.4	
		5.0	-				360.5±29.0	
	DR	0.5	-					44.0±2.8
		1.0	-					71.5±37.5
		2.0	-					117.5±0.7
2-AA	0.2	+		137.0±45.3		59.0±0.0	54.5±20.5	
	0.5	+	32.0±7.1	175.5±23.3	15.0±5.7	195.5±17.7	140.0±5.7	
	1.0	+	48.5±6.4	340.5±3.5	30.5±2.1	431.0±11.3	320.0±33.9	
	2.0	+	106.5±9.2		112.0 <sup>c</sup>			

統計解析: Student の t-検定 (片側検定) で有意差なし、陽性対照の検定結果については示されていない。

a、b、c: 汚染がみられたプレートを除外したため、aは4プレート、bは2プレート、cは1プレートでの値を示す。

陽性対照物質

MNNG: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

ICR191: アクリジン変異原 ICR191

4-NPD: 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

DR: ダウノルビシン

2-AA: 2-アミノアントラセン

試験 2 の結果

(表中の数値は 3 連の平均値±標準偏差 (溶媒対照群は 5 連、陽性対照群は 2 連))

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)		—	10.4±2.1	87.0±11.9	10.4±2.7	9.2±5.5	13.0±5.0	
検体	1.6	—	7.7±2.1	91.0±25.1	10.0±1.7	13.5±9.2 <sup>b</sup>	15.0±2.0	
	8.0	—	10.3±2.1	82.7±13.4	11.7±2.5	8.0±5.6	16.3±5.8	
	40	—	9.0±3.6	77.3±23.1	8.0±0.0 <sup>b</sup>	6.0±1.7	15.0±3.6	
	200	—	8.7±3.5	63.3±10.2	6.0±2.6	6.0±1.7	14.0±1.0	
	1000	—	2.0±1.0	46.0±7.0	1.0±1.0	0.7±0.6	5.7±3.2	
	5000	—	3.3±1.2	42.0±13.1	4.0±1.0	0.0±0.0	2.0±1.7	
対照 (DMSO)		+	13.8±3.0	88.4±19.3	12.6±2.7	13.8±4.0	21.3±4.5 <sup>a</sup>	
検体	1.6	+	12.7±2.1	87.3±11.9	12.0±1.0	11.3±2.1	25.0±1.7	
	8.0	+	10.7±1.5	74.3±14.6	10.3±0.6	10.7±1.5	26.5±0.7 <sup>b</sup>	
	40	+	14.5±2.1 <sup>b</sup>	90.3±12.6	13.5±2.1 <sup>b</sup>	18.0±1.0	24.5±6.4 <sup>b</sup>	
	200	+	14.0±5.6	65.0±12.1	10.7±1.5	16.7±1.5	19.7±5.0	
	1000	+	3.0±0.0	45.3±6.4	2.0±1.0	6.3±2.5	7.7±4.7	
	5000	+	2.0±1.7	42.0±5.3	6.7±2.1	0.0±0.0	4.3±0.6	
陽性 対照	MNNG	1.0	—	154.5±133.6	508.5±26.2			
		2.0	—	1370.5±13.4	1763.0±168.3			
		5.0	—	2878.5±113.8	2387.5±364.2			
	ICR191	0.5	—			173.0±17.0		
		1.0	—			206.5±0.7		
		2.0	—			332.5±13.4		
	4-NPD	1.0	—				96.5±4.9	
		2.0	—				202.0±31.1	
		5.0	—				435.5±3.5	
	DR	0.5	—					40.0±5.7
		1.0	—					65.0±7.1
		2.0	—					135.5±17.7
	2-AA	0.2	+		122.5±12.0		97.0±4.2	78.0±18.4
		0.5	+	31.5±4.9	223.0±41.0	22.0±0.0	184.0±56.6	188.0±1.4
		1.0	+	63.0±14.1	589.0±356.4	43.0±14.1	546.5±176.1	541.0±251.7
		2.0	+	108.0±7.1		158.5±89.8		

統計解析: Student の t-検定 (片側検定) で有意差なし、陽性対照の検定結果については示されていない。

a, b: 汚染がみられたプレートを除外したため、aは4プレート、bは2プレートでの値を示す。

陽性対照物質

MNNG: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

ICR191: アクリジン変異原 ICR191

4-NPD: 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

DR: ダウノルピシン

2-AA: 2-アミノアントラセン

②細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-25)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

報告書番号:

検体純度:

試験方法: トリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA pKM101 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、1.6~5000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲の 6 濃度で実施した。試験は 3 連制 (但し、溶媒対照群は 5 連、陽性対照群は 2 連) とし、プレート法で 2 回行った。

[用量設定根拠]

試験結果: 結果を次表に示した。

2 回の試験において、検体は S9 mix の有無にかかわらず、最高用量 5000  $\mu\text{g}$ /プレートまで、試験菌株において復帰変異コロニー数の有意な増加を誘発しなかった<sup>申請者注</sup>。一方、陽性対照として用いた *N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン (MNNG) では S9 mix 非存在下において、2-アミノアントラセン (2-AA) では S9 mix 存在下において、それぞれ明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

試験 1 および 2 の結果

(表中の数値は 3 連の平均値±標準偏差 (溶媒対照群は 5 連、陽性対照群は 2 連))

	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート
				塩基対置換型
				WP2 <i>uvrA</i>
試験 1	対照 (DMSO)		—	130.6±9.4
	検 体	1.6	—	127.0±20.0 *
		8.0	—	119.3±9.3 *
		40	—	116.3±11.0
		200	—	101.7±18.3
		1000	—	56.3±2.1
		5000	—	42.0±4.4
	対照 (DMSO)		+	129.4±10.6
	検 体	1.6	+	116.7±12.5
		8.0	+	123.7±18.4
		40	+	119.3±9.6
		200	+	92.7±3.8
		1000	+	67.3±8.1
5000		+	57.0±6.1	
陽性 対照	MNNG	0.5	—	256.5±0.7 **
		1.0	—	1324.5±365.6 **
		2.0	—	1599.0±53.7 **
	2-AA	1.0	+	165.0±1.4 **
		2.0	+	690.0±22.6 **
		5.0	+	2241.5±43.1 **
試験 2	対照 (DMSO)		—	107.0±7.3
	検 体	1.6	—	127.0±12.3
		8.0	—	125.3±10.8
		40	—	128.0±13.0
		200	—	115.3±16.6
		1000	—	64.3±14.0
		5000	—	58.7±6.8
	対照 (DMSO)		+	107.8±15.7
	検 体	1.6	+	114.0±8.7
		8.0	+	100.3±6.7
		40	+	97.0±12.1
		200	+	91.7±3.5
		1000	+	66.7±5.7
5000		+	58.7±6.1	
陽性 対照	MNNG	0.5	—	277.5±21.9 **
		1.0	—	1210.5±279.3 **
		2.0	—	1602.5±27.6 **
	2-AA	1.0	+	148.0±17.0 *
		2.0	+	516.5±20.5 **
		5.0	+	1433.5±146.4 **

\* :  $0.01 \leq P < 0.05$ 、\*\* :  $P < 0.01$  (Student の t-検定 (片側検定))

陽性対照物質

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

③マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 No.T-26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリフルオロチミジン (TFT) 存在下でのコロニー増殖を指標とするチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子座の突然変異誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S9 mix 存在下および非存在下ともに、試験 1 は 7.8~125.0 µg/mL の 5 濃度、試験 2 は 53~125 µg/mL の範囲の 4 濃度、試験 3 は 40~94 µg/mL の範囲の 4 濃度で、細胞を 2 時間処理した。試験 4 は、S9 mix 存在下では 40~94 µg/mL の範囲の 4 濃度、非存在下では 30~70 µg/mL の範囲の 4 濃度で、細胞を 2 時間処理した。試験はマイクロウェル法を用いて、発現期間 72 時間で 2 回 (試験 1 および 2) および発現期間 48 時間で 2 回 (試験 3 および 4) 行った。

[判定基準]；

以下の基準を満たす場合に陽性と判定された。

- 1) 溶媒対照のデータが自然突然変異頻度の正常範囲内にあること。
- 2) 陽性対照では突然変異頻度が予想通りに増加すること。
- 3) 発現期間後の溶媒対照群のコロニー形成率が > 50% であること。
- 4) 突然変異頻度の用量段階に伴う顕著な増加が、ある濃度域で認められること。
- 5) 溶媒対照群と比較して、変異が認められなかったウェル数の用量段階に伴う減少 (反対に変異体数の絶対値の増加) が、ある濃度域で認められること。

最高用量において突然変異発現頻度が溶媒対照値に比べて、顕著に増加し、再現性があり、その場合の細胞の生存率が > 20% であり、しかも、上記の 1)、2) および 3) の基準が同時に満たされている場合も、陽性と判断した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を表 1 (発現期間 72 時間) および表 2 (発現期間 48 時間) に示した。

検体では、用量段階に伴う細胞毒性がみられ、S9 mix 非存在下で僅かに強い毒性を発現した。

発現期間 72 時間 (試験 1、2) および 48 時間 (試験 3、4) で行った 4 回の試験では、S9 mix 存在下および非存在下のいずれにおいても、検体投与群に突然変異頻度の顕著

な増加は認められなかった。

一方、陽性対照であるエチルメタンスルホン酸では S9 mix 非存在下において、また、ベンツ( $\alpha$ )ピレンでは S9 mix 存在下において、いずれの試験においても突然変異頻度の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。



表 1 試験 1 および 2 (発現期間 72 時間) の結果

	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 mix の有無	相対細胞 <sup>a)</sup> 生存率 1 (%)	相対細胞 <sup>b)</sup> 生存率 2 (%)	変異が認められ なかったウェル数 /プレート	突然変異頻度 <sup>c)</sup> ( $\times 10^{-4}$ )
試験 1	溶媒対照 (DMSO)	0	-	100	100	78	1.5
	検体	7.8	-	97	133	76	1.6
		15.6	-	133	152	81.5	0.8
		31.3	-	87	106	79	1.2
		62.5	-	106	121	75	1.6
		125.0	-	6	6	-	-
	陽性対照 (EMS)	1000	-	14	70	18	20.0
	溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	100	76.5	2.0
	検体	7.8	+	109	98	80.5	1.3
		15.6	+	66	72	69.5	1.6
31.3		+	109	98	76	1.7	
62.5		+	106	89	73.5	1.5	
125.0		+	34	27	64	1.9	
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	6	+	0	27	43	10.2	
試験 2	溶媒対照 (DMSO)	0	-	100	100	67.5	2.0
	検体	53	-	63	130	83.5	1.2
		70	-	20	47	75.5	1.8
		94	-	0	0	-	-
		125	-	0	0	-	-
	陽性対照 (EMS)	1000	-	54	86	31	11.3
	溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	100	58	3.3
	検体	53	+	89	93	57.5	2.6
		70	+	69	103	63.5	2.5
		94	+	26	63	82	1.5
125		+	3	0	-	-	
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	6	+	1	50	70	6.7	

統計解析は実施していない。

a) : 相対細胞生存率 1 ; 処理直後、96 ウェルのマルチウェルプレート 1 枚を用いて算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

b) : 相対細胞生存率 2 ; 72 時間の発現期間後の細胞数データから算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

c) : 96 マイクロウェルプレート 2 枚の平均から算出。

EMS : エチルメタンサルホン酸

B( $\alpha$ )P : ベンツ ( $\alpha$ )ピレン

表2 試験3および4（発現期間48時間）の結果

	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 mix の有無	相対細胞 <sup>a)</sup> 生存率1 (%)	相対細胞 <sup>b)</sup> 生存率2 (%)	変異が認められ なかったウェル数 /プレート	突然変異頻度 <sup>c)</sup> ( $\times 10^{-4}$ )
試験3	溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	100	82	1.8
	検体	40	—	64	44	79	1.7
		53	—	56	33	84	1.6
		70	—	22	13	81	1.8
		94	—	0	0	-	-
	陽性対照 (EMS)	1000	—	54	62	24.5	17.3
	溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	100	73.5	2.4
	検体	40	+	66	104	86.5	0.7
		53	+	68	75	71.5	2.1
		70	+	39	64	84	1.2
94		+	20	19	81	1.3	
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	6	+	13	30	62	4.6	
試験4	溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	100	77.5	2.0
	検体	30	—	117	105	62.5	3.0
		40	—	70	103	70.5	1.8
		53	—	29	48	75	2.1
		70	—	2	8	60.5	3.6
	陽性対照 (EMS)	1000	—	18	78	28	20.2
	溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	100	68	2.7
	検体	40	+	92	80	72	1.9
		53	+	104	83	70.5	2.7
		70	+	75	88	65.5	2.7
94		+	6	18	69.5	2.6	
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	6	+	1	56	65	16.0	

統計解析は実施していない。

a) : 相対細胞生存率1 ; 処理直後、96 ウェルのマルチウェルプレート1枚を用いて算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

b) : 相対細胞生存率2 ; 48時間の発現期間後の細胞数データから算出した生存率 (溶媒対照に対する割合 (%))

c) : 96マイクロウェルプレート2枚の平均から算出。

EMS : エチルメタンサルホン酸

B( $\alpha$ )P : ベンツ( $\alpha$ )ピレン

④ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No.T-27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1984 年

報告書番号：

検体純度：

試験方法：健康な 2 名のドナー A および B から得た培養ヒトリンパ球を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。

観察は 1 濃度あたり 200 個 (2 連で各 100 個、但し、陽性対照群については 1 濃度あたり 1 培養で 25 個) の分裂中期像について行い、2 試験 (ドナー A の血液を用いた 1 試験とドナー B の血液を用いた 1 試験) を実施した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を表 1 および表 2 に示した。

ドナー A および B ともにいずれの用量においても、S9 mix の有無にかかわらず、染色体損傷の増加は認められなかった。

一方、陽性対照のシクロホスファミドおよびマイトマイシン C 処理群では染色体異常を有する細胞の出現率に明らかな増加が認められた。

以上のことから、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下において、染色体異常誘発性を有さないと考えられた。

表 1 試験 1 (ドナーA)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S9 mix の有無	構造異常					異常細胞 <sup>1)</sup> (%)	分裂指数 <sup>2)</sup> (%)
						異常を有する細胞数						
						ギャップ	染色 分体型	同位染色 分体型	複合 断片	交 換		
							切断 / 欠失	切断 / 断片 / 欠失				
溶媒対照 (DMSO)	— <sup>3)</sup>			100		1	0	2	0	0	1	13.5
				100		0	0	0	0			
検体	15	3	72 <sup>4)</sup>	100	-	1	0	0	0	0	1	10
				100		1	0	2	0	0		
	75			100		0	0	0	0	0	0.5	8
				100		2	0	1	0	0		
	150			100		1	0	0	0	0	1	7.5
				100		1	2	0	0	0		
陽性対照 (MMC)	0.5			25		2	2	4	0	3	32	4
溶媒対照 (DMSO)	— <sup>3)</sup>			100		0	0	0	0	0	0.5	12.5
				100		0	0	1	0	0		
検体	20	3	72 <sup>4)</sup>	100	+	0	0	1	0	0	1	8.5
				100		1	0	1	0	0		
	125			100		0	0	1	0	0	0.5	7
				100		1	0	0	0	0		
	250			100		1	0	1	0	0	0.5	6
				100		1	0	0	0	0		
陽性対照 (CP)	100			25		3	1	6	0	3	36	3

検体と溶媒対照の間で差がみられなかったため、統計解析は実施していない。

1) : ギャップを除く異常細胞の割合 (%) の平均値 (但し、陽性対照については1培養での値)

2) : 各連の細胞 100 個中の分裂中期細胞の割合 (%) の平均値 (但し、陽性対照については1培養での値)

3) : 10  $\mu\text{L/mL}$

4) : 培養開始後

陽性対照物質

MMC : マイトマイシン C

CP : シクロホスファミド

表 2 試験 2 (ドナーB)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S9 mix の有無	構造異常					異常細胞 (%) <sup>1)</sup>	分裂指数 (%) <sup>2)</sup>	
						異常を有する細胞数							
						ギャップ	染色 分体型	同位染色分 体型	複合 断片	交 換			
							切断 / 欠失	切断 / 断片 / 欠失					
溶媒対照 (DMSO)	— <sup>3)</sup>			100		2	2	1	0	0	2	12	
				100		0	1	0	0	0			
検体	15	3	72 <sup>4)</sup>	100	-	2	0	1	0	0	0.5	6	
				100		3	0	0	0	0			
	75			100		2	1	1	0	0	1.5	8.5	
				100		2	0	2	0	0			
				150		100	2	0	0	0	0	0.5	5.5
						100	1	0	1	0	0		
陽性対照 (MMC)	0.5			25		5	6	8	0	1	56	5	
溶媒対照 (DMSO)	— <sup>3)</sup>			100		0	0	3	0	0	2.5	10.5	
				100		0	0	2	0	0			
検体	20	3	72 <sup>4)</sup>	100	+	0	0	0	0	0	0.5	9	
				100		0	0	1	0	0			
	125			100		0	0	1	0	0	1	6	
				NA		/	/	/	/	/			
				250		100	3	0	0	0	0	0	7
						100	0	0	0	0	0		
陽性対照 (CP)	100			25		3	4	10	0	1	52	5	

検体と溶媒対照の間で差がみられなかったため、統計解析は実施していない。

NA：標本作製できず

1)：ギャップを除く異常細胞の割合 (%) の平均値 (但し、陽性対照については1培養での値)

2)：各連の細胞 100 個中の分裂中期細胞の割合 (%) の平均値 (但し、陽性対照については1培養での値)

3)：10  $\mu\text{L/mL}$

4)：培養開始後

陽性対照物質

MMC：マイトマイシン C

CP：シクロホスファミド

⑤マウスを用いた小核試験

(資料 No.T-28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1984 年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：C57/BL/6J 系マウス、8～12 週齢、1 群雌雄各 5 匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、75 および 120 mg/kg の投与量（投与液量；10 mL/kg）で単回腹腔内投与した。なお、溶媒対照としてコーン油を、また、陽性対照としてシクロホスファミド（65 mg/kg）を用いた。

投与 24、48 および 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取して、スライドガラス上で風乾後、多染性メチレンブルーおよびエオジンで染色し骨髄標本を作製した。

各標本について、1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球を計数した。また、細胞毒性を調べるために、正染性赤血球数に対する多染性赤血球の割合を算出した。

投与量設定根拠；

試験結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

検体投与群では、いずれの用量および標本採取時期においても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の増加は認められなかった。

一方、陽性対照であるシクロホスファミドでは、投与 24 時間および 48 時間後に小核を有する多染性赤血球の出現頻度に統計学的に有意な増加が認められた。

また、すべての検体投与群および陽性対照群で、いずれの標本採取時期においても、多染性赤血球の正染性赤血球に対する百分率が対照群の値に比べて有意に減少し、検体および陽性対照物質が骨髄に到達していることが示唆された。

以上の結果から、本試験条件下において、検体はマウス骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断された。

表 観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNPCE (平均値±SD*)	PCE/NCE (%) (平均値±SD*)
24	溶媒対照 (コーン油)	— <sup>a)</sup>	雌雄各 5 匹	4.0±3.0	36.3±5.3
	検体	75	雌雄各 5 匹	2.6±2.3	25.3±9.6 <sup>##</sup>
		120	雌雄各 5 匹	2.8±2.1	18.9±9.2 <sup>##</sup>
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>*</sup> )	65	雌雄各 5 匹	29.8±10.2 <sup>##</sup>	23.0±4.5 <sup>##</sup>
48	溶媒対照 (コーン油)	— <sup>a)</sup>	雌雄各 5 匹	5.6±3.4	31.6±6.8
	検体	75	雌雄各 5 匹	1.4±1.6	19.1±5.9 <sup>##</sup>
		120	雌雄各 5 匹	0.8±1.4	12.6±9.9 <sup>##</sup>
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>*</sup> )	65	雌雄各 5 匹	18.4±14.6 <sup>##</sup>	23.0±13.0 <sup>#</sup>
72	溶媒対照 (コーン油)	— <sup>a)</sup>	雌雄各 5 匹	3.2±1.7	51.2±8.7
	検体	75	雄 5 匹、雌 4 匹 <sup>b)</sup>	1.1±1.5	31.0±16.2 <sup>##</sup>
		120	雌 5 匹 <sup>c)</sup>	0.0±0.0	13.9±16.3 <sup>##</sup>
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>*</sup> )	65	雌雄各 5 匹	3.0±3.0	32.9±16.4 <sup>##</sup>

Student の t 検定 (片側検定) を用いて溶媒対照群との有意差検定を行った (# : P < 0.05、## : P < 0.01)。

PCE : 多染性赤血球数、NCE : 正染性赤血球数

MNPCE : 多染性赤血球 1000 個当たりの小核を有する多染性赤血球数

a) 10 mL/kg

b) 雌 1 匹の標本は評価不可能であった。

c) 雄 5 匹の標本は評価不可能であった。

\* : 申請者注 ; SD 値は申請者による計算。

⑥マウスを用いた優性致死試験

(資料 No.T-29)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1984 年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：CD-1 マウス、1 群雄 15 匹（投与開始時約 12～13 週齢、投与は 1 群雄 20 匹に行い、うち 15 匹を選抜）、1 群雌 30 匹（交配時約 10 週齢）

試験方法：検体をコーン油に溶解し、0、10、30 および 100 mg/kg/日の用量で雄マウスに連続 5 日間強制経口投与した。陽性対照群にはシクロホスファミド 200 mg/kg を投与期間の最終日に 1 回腹腔内投与した。

最終投与の 4 日後から各雄と 2 匹の雌を同居させ、7 日後に別の雌 2 匹と同居させた。

この手順を毎週繰り返し、雌を入れ替えて合計 8 回（各雌 2 匹）の交配を行った。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：雄に投与した週は毎日、その後は 1 週毎に雌と同居させた日および／または別居させた日に一般状態を観察した。試験の残りの期間中は全群雌雄の一般状態を毎日観察した。検体投与群、溶媒対照群および陽性対照群の雄は投与直前および投与 1～5 日目に体重を測定した。雄との同居開始日から 16 日後に雌を屠殺し、子宮を摘出して、早期死亡胚数、後期死亡胚数および生存胎児数を検査した。

試験結果：結果を表 1 および表 2 に示した。

一般状態；検体投与によると考えられる一般状態の変化はみられなかった。

雄の体重；結果を表 1 に示す。



検体投与による体重への影響は認められなかった。

妊娠率；結果を表 2 に示す。

検体投与群の妊娠率に影響は認められなかった。

着床数；結果を表 2 に示す。

検体投与群の妊娠マウス当りの平均着床数に用量相関性のある影響は認められなかった。30 mg/kg 投与群の 5 週目の平均着床数は溶媒対照群と比較して統計学的に有意に低かった。この低下は、他の週の交配群にみられず、また 100 mg/kg 投与群においても変化はなかった。

したがって、検体は試験したすべての用量において、妊娠マウス 1 匹当りの平均着床数に影響を及ぼさなかったと考えられた。

早期死亡胚数；結果を表 2 に示す。

検体投与による早期死亡胚数への影響は認められなかった。

後期死亡胚数；結果を表 2 に示す。

少なくとも 1 個以上の後期死亡胚数を有する妊娠雌の割合に、検体投与による影響はみられなかった。

一方、陽性対照であるシクロホスファミド投与群では、妊娠率の低下、着床数の減少、早期死亡胚数の増加などが認められ、受精能に対する明白な影響および優性致死毒性が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で、マウスの受精能に影響を及ぼさず、優性致死誘発性を有しないと判断された。

表 1 体重結果

項目	薬物	投与量 (mg/kg/日)	投与日				
			1日目	2日目	3日目	4日目	5日目
雄の平均体重 <sup>a)</sup> (g)	溶媒対照 (コーン油)	0	33.7	33.8	34.1	34.4	34.7
	検体	10	33.5	34.3	33.9	34.3	34.3
		30	34.7	35.5*	36.0**	35.8*	35.9
		100	34.9	35.3*	36.0*	36.5**	36.5*
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>®</sup> )	200 (mg/kg)	34.3	34.4	34.8	35.0	34.8

a) : 20匹の平均値。

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Student の t-検定 (両側検定))

表 2 優性致死試験結果

項目	薬物	投与量 (mg/kg /日)	雄動物への投与後の交配時期 (週)								
			投与前	1	2	3	4	5	6	7	8
妊娠率 (%)	溶媒対照 (コーン油)	0	90 (27/30)	87 (26/30)	97 (29/30)	90 (27/30)	97 (29/30)	97 (29/30)	90 (27/30)	100 (30/30)	93 (28/30)
	検体	10	93 (28/30)	93 (28/30)	97 (29/30)	93 (28/30)	97 (29/30)	97 (29/30)	97 (29/30)	87 (26/30)	100 (30/30)
		30	93 (28/30)	100 (30/30)	97 (29/30)	100 (30/30)	100 (30/30)	93 (28/30)	83 (25/30)	93 (28/30)	90 (27/30)
		100	93 (28/30)	100 (30/30)	100 (30/30)	90 (27/30)	100 (30/30)	93 (28/30)	100 (30/30)	93 (28/30)	93 (28/30)
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>®</sup> )	200 (mg/kg)	93 (28/30)	87 (26/30)	97 (29/30)	83 (25/30)	90 (27/30)	80 (24/30)	71 (20/28)	75** (18/24)	73 (16/22)
着床数 <sup>a)</sup> (平均値)	溶媒対照 (コーン油)	0	12.47	12.80	11.97	13.23	12.23	12.60	12.86 (14)	12.37	10.87
	検体	10	12.77	13.37	12.73	12.90	12.50	12.10	12.37	12.51 (14)	11.40
		30	12.37	12.50	13.47	12.20	13.03	11.17*	11.80	11.67	11.97 (14)
		100	12.60	12.50	12.23	13.23	12.33	13.07	12.37	12.63	11.87
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>®</sup> )	200 (mg/kg)	12.63	8.23**	8.60**	12.06* (14)	12.64 (14)	12.82 (12)	12.39 (11)	12.38 (10)	11.28 (8)

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (妊娠率、1個以上の早期死亡胚を有する妊娠雌の割合、1個以上の後期死亡胚を有する妊娠雌の割合; Fisher の直接確率検定 (片側検定)、着床数、早期死亡胚数、早期死亡胚数/着床数; Student の t-検定 (片側検定))

a) : 反復試験構成を考慮して補正した値。

妊娠率、1個以上の早期死亡胚を有する妊娠雌の割合、1個以上の後期死亡胚を有する妊娠雌の割合; ( ) 内は動物数。

着床率 (妊娠雌当たり)、早期死亡胚数 (妊娠雌当たり、Freeman-Turkey の分散安定化変換データ)、早期死亡胚数/着床数 (妊娠雌当たり、Freeman-Turkey の二重アークサイン変換データ); ( ) 内に示した以外は雄 15 匹に基づく平均値。

(続く)

表 2 優性致死試験結果 (続き)

項目	薬物	投与量 (mg/kg /日)	雄動物への投与後の交配時期 (週)								
			投与前	1	2	3	4	5	6	7	8
a) 早期 死亡胚数 (変換 データ 平均値)	溶媒対照 (コーン油)	0	0.62	0.82	0.80	0.64	0.69	0.89	0.81 (14)	0.77	0.75
	検体	10	0.76	0.65	0.69	0.80	0.79	0.76	0.73	0.78 (14)	0.70
		30	0.70	0.80	0.74	0.70	0.69	0.88	0.76	0.67	0.83 (14)
		100	0.78	0.74	0.71	0.70	0.75	0.99	0.94	0.84	0.87
	陽性対照 (シクロホスファミド) (mg/kg)	200	0.66	1.94**	1.94**	1.40** (14)	0.76 (14)	0.77 (12)	0.75 (11)	0.60 (10)	0.90 (8)
a) 早期死亡 胚数/着 床数 (%, 変 換データ 平均値)	溶媒対照 (コーン油)	0	0.173	0.225	0.234	0.176	0.192	0.252	0.222 (14)	0.221	0.223
	検体	10	0.210	0.179	0.192	0.224	0.232	0.223	0.207	0.221 (14)	0.209
		30	0.199	0.225	0.200	0.198	0.189	0.276	0.228	0.195	0.237 (14)
		100	0.217	0.220	0.206	0.193	0.213	0.272	0.279	0.233	0.250
	陽性対照 (シクロホスファミド) (mg/kg)	200	0.185	0.751**	0.718**	0.416** (14)	0.212 (14)	0.214 (12)	0.207 (11)	0.168 (10)	0.264 (8)
1 個以上 の早期死 亡胚を有 する妊娠 雌の割合 (%)	溶媒対照 (コーン油)	0	19 (5/27)	38 (10/26)	41 (12/29)	19 (5/27)	28 (8/29)	41 (12/29)	37 (10/27)	27 (8/30)	29 (8/28)
	検体	10	36 (10/28)	18 (5/28)	24 (7/29)	39 (11/28)	28 (8/29)	31 (9/29)	28 (8/29)	35 (9/26)	27 (8/30)
		30	25 (7/28)	33 (10/30)	31 (9/29)	27 (8/30)	27 (8/30)	39 (11/28)	24 (6/25)	18 (5/28)	41 (11/27)
		100	39 (11/28)	30 (9/30)	30 (9/30)	26 (7/27)	33 (10/30)	50 (14/28)	47 (14/30)	36 (10/28)	46 (13/28)
	陽性対照 (シクロホスファミド) (mg/kg)	200	25 (7/28)	100** (26/26)	93** (27/29)	72** (18/25)	33 (9/27)	29 (7/24)	30 (6/20)	11 (2/18)	50 (8/16)
1 個以上 の後期死 亡胚を有 する妊娠 雌の割合 (%)	溶媒対照 (コーン油)	0	11 (3/27)	15 (4/26)	10 (3/29)	11 (3/27)	3 (1/29)	0 (0/29)	4 (1/27)	0 (0/30)	4 (1/28)
	検体	10	11 (3/28)	11 (3/28)	7 (2/29)	11 (3/28)	7 (2/29)	10 (3/29)	0 (0/29)	4 (1/26)	7 (2/30)
		30	7 (2/28)	7 (2/30)	7 (2/29)	3 (1/30)	7 (2/30)	4 (1/28)	8 (2/25)	7 (2/28)	7 (2/27)
		100	4 (1/28)	10 (3/30)	7 (2/30)	4 (1/27)	7 (2/30)	0 (0/28)	7 (2/30)	0 (0/28)	14 (4/28)
	陽性対照 (シクロホスファミド) (mg/kg)	200	11 (3/28)	0 (0/26)	10 (3/29)	12 (3/25)	0 (0/27)	4 (1/24)	10 (2/20)	0 (0/18)	0 (0/16)

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 (妊娠率、1 個以上の早期死亡胚を有する妊娠雌の割合、1 個以上の後期死亡胚を有する妊娠雌の割合; Fisher の直接確率検定 (片側検定)、着床数、早期死亡胚数、早期死亡胚数/着床数; Student の t-検定 (片側検定))

a); 反復試験構成を考慮して補正した値。

妊娠率、1 個以上の早期死亡胚を有する妊娠雌の割合、1 個以上の後期死亡胚を有する妊娠雌の割合; ( ) 内は動物数。

着床率 (妊娠雌当たり)、早期死亡胚数 (妊娠雌当たり、Freeman-Turkey の分散安定化変換データ)、早期死亡胚数/着床数 (妊娠雌当たり、Freeman-Turkey の二重アークサイン変換データ); ( ) 内に示した以外は雄 15 匹に基づく平均値。

⑦細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No.T-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

試験番号：

検体純度：

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Rec-assay 法を用いて DNA 損傷誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S9 mix 存在下および非存在下ともに 1~200 µg/ディスクの範囲の 8 濃度で実施した。

[用量設定根拠]；

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S9 mix の有無にかかわらず、20 µg/ディスク以上の用量において両試験菌株に生育阻止帯を誘起したが、両株の生育阻止帯の直径の差は陰性対照のカナマイシンと同程度であった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (S9 mix 非存在下) および 2-アミノアントラセン (S9 mix 存在下) は、両試験菌株に顕著な生育阻止帯を誘起した。

以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷誘発性を有しないものと判断される。

表、結果

薬物	濃度# ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	S9 mix の有無	阻止帯 (mm) *		差 (mm)
			M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	0	0	0
検体	1	—	0	0	0
	2	—	0	0	0
	5	—	0	0	0
	10	—	0	2	2
	20	—	6	4	2
	50	—	12	8	4
	100	—	13	10	3
	200	—	14	12	2
陰性対照 (カナマイシン)	0.2	—	7	5	2
	0.5	—	11	8	3
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.005	—	15	0	15
	0.01	—	19	2	17
陽性対照 (2-アミノアントラセン)	5	—	0	0	0
	20	—	0	0	0
溶媒対照 (DMSO)	0	+	0	0	0
検体	1	+	0	0	0
	2	+	0	0	0
	5	+	0	0	0
	10	+	0	0	0
	20	+	3	1	2
	50	+	9	7	2
	100	+	12	9	3
	200	+	13	10	3
陽性対照 (2-アミノアントラセン)	5	+	10	0	10
	20	+	7	0	7

# : 有効成分濃度換算値

\* : 生育阻止帯の直径からディスクの直径 (8 mm) を引いた値。

⑧ラット肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験

(資料 No.T-31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

報告書番号：

検体純度：

供試動物：Alpk:AP 系ラット雄、6～8 週齢、体重 225～267 g

試験方法：ラットの初代培養肝細胞を用いて、不定期 DNA 合成誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、 $10^{-7}$ ～ $10^{-4}$  M (28.28～28280ng/mL 相当、分子量 314.2 をもとに申請者が算出) の範囲の 4 濃度で試験 1 および 2 を実施した。

試験は 3 連制とし、2 回行った。

ラットからコラゲナーゼ灌流法により肝細胞を分離し、牛胎仔血清を含む Williams (WE) - 完全培地を用いて生存細胞数  $1.5 \times 10^5$  個/mL の細胞浮遊液を調製し、プラスチック製カバースリップに細胞を付着させた。メチル- $^3$ H-チミジンを含む WE - 不完全培地中、細胞を検体で 16～20 時間処理した。その後、非標識チミジンを含む WE - 不完全培地で一晩培養した後、細胞を氷酢酸：無水アルコール = 1：3 (v/v) で固定し、オートラジオグラム用標本を作製した。

各標本少なくとも 25 個、通常 50 個の細胞 (可能であれば用量当たり 100 個の細胞) を観察し、各細胞の核内総粒子数、細胞質粒子数 (核に隣接した、核と同じ大きさの、最も濃く標識された領域の細胞質粒子数) を計数し、正味の平均核内粒子数 (正味の核内粒子数 = 核内総粒子数 - 細胞質粒子数)、平均核内総粒子数、平均細胞質粒子数および修復細胞 (正味の核内粒子数 5 以上の細胞) の割合を算出した。

[判定基準]；

ある用量において正味の平均核内粒子数が 5 以上の場合に陽性と判定し、試験間で再現性が認められた場合、その検体について陽性を示すと判定した。

[用量設定根拠]；

試験結果：結果を次表に示した。

全ての検体濃度において、正味の平均核内粒子数は0未満であった。

一方、陽性対照である 6-*P*-ジメチルアミノフェニルアゾベンチアゾール (6BT) は、正味の平均核内粒子数を顕著に増加させた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体はラット初代培養肝細胞に不定期 DNA 合成を誘発せず、DNA 損傷性を示さないと判断された。

表. 結果

(表中の数値は3連の平均値/平均値±SE)

	薬物	濃度		核内総粒子数 (平均値)	細胞質粒子数 (平均値)	正味の核内粒子数 <sup>a)</sup> (平均値±SE)	修復細胞 <sup>b)</sup> (%)
		(M)	ng/mL*				
試験 1	溶媒対照 (DMSO)	0	0	12.39	18.45	-6.06±0.56	0
	検体	10 <sup>-7</sup>	28.28	13.40	21.93	-8.53±0.66	1
		10 <sup>-6</sup>	282.8	11.81	18.81	-7.00±0.65	4
		10 <sup>-5</sup>	2828	9.58	16.04	-6.46±0.49	1
		10 <sup>-4</sup>	28280	11.04	15.66	-4.62±0.58	6
陽性対照 (6BT)	10 <sup>-6</sup>	282.4	58.87	21.65	37.21±3.37	91	
試験 2	溶媒対照 (DMSO)	0	0	13.45	19.18	-5.73±0.65	4
	検体	10 <sup>-7</sup>	28.28	18.53	23.73	-5.20±0.66	7
		10 <sup>-6</sup>	282.8	14.67	21.04	-6.37±0.83	4
		10 <sup>-5</sup>	2828	15.55	21.08	-5.53±0.61	3
		10 <sup>-4</sup>	28280	16.72	23.98	-7.26±0.72	3
陽性対照 (6BT)	10 <sup>-5</sup>	2824	78.10	23.02	55.08±3.21	97	

統計解析は実施していない。

6BT：6-*P*-ジメチルアミノフェニルアゾベンチアゾール

\*検体の処理濃度は分子量 314.2、6BT の処理濃度は分子量 282.4 をもとに申請者が算出した。

a)：正味の核内粒子数=核内総粒子数-細胞質粒子数

b)：正味の核内粒子数 5 以上の細胞の割合

(14) 生体機能影響

ヘキサコナゾールにおける一般薬理試験

(資料 No.T-32)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

報告書番号:

検体の純度:

用量設定根拠:

(1)中枢神経系に対する作用

①ラットの行動に及ぼす影響

供試動物: Wistar系ラット (Alpk:APfSD)、体重 252~285 g、1群雄 2匹

投与方法: 検体をコーン油に懸濁して、16~20時間絶食させたラットに 0 (溶媒のみ)、1000、2000 および 5000 mg/kg を 1回経口投与した。投与後約 1、2、4、6 および 24 時間目、また、それ以降は 1日 1回 7日目まで、あるいは毒性徴候がみられなくなるまで、異常姿勢、活動性の増減、歩行異常、痙攣、異常行動、鎮静、衰弱、振戦、流涙、紅涙、流涎過多、立毛、縮瞳、散瞳、呼吸異常、下痢、尿失禁、発声、音に対する反応の増減、疼痛知覚、体温の変化および体重の変化を観察した。

結果: 全投与群で活動性低下、立毛、腹側部陥凹 (sides pinched in)、鼻周辺の汚れ、脊柱の上方彎曲および尿失禁の徴候がみられた。また、2000 および 5000 mg/kg 投与群では体温低下および脱水症状がみられた。5000 mg/kg 投与群では 6 日目に 1例が死亡し、この動物には投与 4~5 日目に眼瞼下垂、紅涙、呼吸深度低下、呼吸数減少がみられた。

②ラットにおける筋弛緩作用 (Pull-up 試験)

供試動物: Wistar系ラット (Alpk:APfSD)、体重 240~331 g、1群雄 10匹

投与方法: 検体をコーン油に懸濁して、一晩絶食させたラットに 0 (溶媒のみ)、100、250、2000、および 5000 mg/kg を 1回経口投与した。また、陽性対照としてクロルジアゼポキシド (20 mg/kg) を同様に投与した。投与 1時間後、動物を左手に持ち、後肢を右手の指ではさみ、左手を下げて保定してからラットが正立位に戻ろうとして実験者の右手に前肢を触れるまでの時間 (試験終了までの時間) を測定した。試験打切り時間は 30 秒とした。

結果: 結果を次表に示す。



2000 および 5000 mg/kg 投与群では、溶媒対照群と比較して、試験終了までに要した時間に有意な延長が認められた。

100 および 250 mg/kg 投与群では試験終了までに要した時間に溶媒対照群と差は認められなかった。

一方、陽性対照であるクロルジアゼポキシド投与群では試験終了までに要する時間の延長が認められ、明らかな筋弛緩作用がみられた。

試験	投与量 (mg/kg)	試験終了までの時間 (秒) (平均値 ± 標準偏差)
1	溶媒対照 (コーン油) 10 (mL/kg)	3.6 ± 4.0
	ヘキサコナゾール 2000	15.6 ± 9.5**
	5000	11.4 ± 7.2**
	陽性対照 (クロルジアゼポキシド) 20	25.8 ± 6.9**
2	溶媒対照 (コーン油) 10 (mL/kg)	5.9 ± 3.9
	ヘキサコナゾール 100	4.5 ± 2.7
	250	10.0 ± 6.4
	陽性対照 (クロルジアゼポキシド) 20	22.8 ± 9.6**

\*\* ; p < 0.01 (Mann Whitney の U 検定)

### ③ラットのハロタン睡眠時間に及ぼす作用

供試動物 : Wistar 系ラット (Alpk:APfSD)、体重 192~236 g、1 群雌 5 匹

投与方法 : 検体をコーン油に懸濁して、一晚絶食させたラットに 0 (溶媒のみ)、100、250、500、1000 および 5000 mg/kg を 1 回経口投与した。また、陽性対照として中枢神経系刺激剤である硫酸 d-アンフェタミン (5 mg/kg) および中枢神経系抑制剤であるジアゼパム (5 mg/kg) を同様に投与した。投与 1 時間後に動物を麻酔箱に入れ、4%ハロタン蒸気を含む酸素を 3 L/分の流速で 3 分間流し、5 分後から各動物が覚醒 (趾の刺激による正向反射の復帰) するまでの時間を測定した。

結 果 : 結果を次表に示す。

500、1000 および 5000 mg/kg 投与群ではハロタンによる睡眠時間の有意な延長が認められた。

100 および 250 mg/kg 投与群では対照群と同程度の覚醒が認められた。

一方、中枢神経系刺激剤アンフェタミンはハロタンによる睡眠時間を短縮させ、中枢神経系抑制剤ジアゼパムは睡眠時間を延長させた。

試験	投与量 (mg/kg)	睡眠時間 (秒) (平均値 ± 標準偏差)
1	溶媒対照 (コーン油) 10 (mL/kg)	202.8 ± 112.1
	ヘキサコナゾール 5000	339.8 ± 146.0*
	陽性対照 (アンフェタミン) 5	96.8 ± 28.8*
	陽性対照 (ジアゼパム) 5	357.4 ± 155.3*
2	溶媒対照 (コーン油) 10 (mL/kg)	22.8 ± 13.0
	ヘキサコナゾール 500	125.0 ± 61.7**
	ヘキサコナゾール 1000	358.4 ± 41.2**
	陽性対照 (アンフェタミン) 5	22.2 ± 19.7
	陽性対照 (ジアゼパム) 5	415.2 ± 90.4**
3	溶媒対照 (コーン油) 10 (mL/kg)	50.1 ± 40.5
	ヘキサコナゾール 100	55.9 ± 47.6
	ヘキサコナゾール 250	52.3 ± 16.6
	陽性対照 (アンフェタミン) 5	32.4 ± 16.3
	陽性対照 (ジアゼパム) 5	105.6 ± 76.7*

\* ; p < 0.05、\*\* ; p < 0.01 (対数変換後、Student の t-検定 (両側検定))

## (2)呼吸、循環器系に対する作用

供試動物 : Wistar 系ラット (Alpk:APfSD)、体重 247~303 g、1 群雄 3 匹

投与方法 : イナクチン腹腔内投与 (120 mg/kg) により麻酔したラットに、コーン油に懸濁した検体 5000 mg/kg あるいは溶媒のみを 1 回経口投与した。血圧は頸動脈にカニューレを挿入し、圧トランスデューサーを介して直接測定、呼吸数は別のトランスデューサーを介して測定した。心電図 (ECG) は四肢誘導法で、心拍出力は Q-A 時間 (ECG の QRS 混合波の開始時点から動脈拍を感知するまでの時間) 法で測定した。ECG、血圧、呼吸数の測定は投与前、投与後 15、30、60、120、180 および 240 分に行った。

結 果 : 結果を次表に示す。

検体 5000 mg/kg 投与は血圧、心拍数および呼吸数に影響を与えなかった。また、ECG 上の波形に変化は認められなかった。

対照群および検体投与群のいずれにも、わずかな心拍出力指数の変化がみられたが、その他の変化が認められなかったことから、これらの変化は生物学的意義を有するものではなく、検体 5000 mg/kg 投与は心血管系に影響しないと考えられた。

投与量	経過時間 (分)	心拍数 (心拍回数/分)	平均動脈圧 (mmHg)	呼吸数 (呼吸回数/分)	心拍出力 指数 <sup>1)</sup>
溶媒対照 (コーン油 10 mL/kg)	0	340 ± 35	105 ± 12	72 ± 10	2.2 ± 0.3
	15	340 ± 35	104 ± 10	72 ± 10	2.1 ± 0.2
	30	340 ± 35	105 ± 12	76 ± 14	2.2 ± 0.2
	60	340 ± 35	102 ± 8	72 ± 12	2.1 ± 0.2
	120	340 ± 35	108 ± 13	70 ± 9	2.3 ± 0.3
	180	340 ± 35	108 ± 12	76 ± 9	2.3 ± 0.3
	240	360 ± 0	118 ± 19	74 ± 7	2.6 ± 0.4*
ヘキサコナゾール (5000 mg/kg)	0	360 ± 0	121 ± 1	72 ± 0	2.6 ± 0.2
	15	360 ± 0	123 ± 9	68 ± 15	2.6 ± 0.4
	30	340 ± 35	121 ± 12	72 ± 10	2.6 ± 0.3
	60	340 ± 35	105 ± 14	66 ± 6	2.2 ± 0.3
	120	340 ± 35	108 ± 16	66 ± 6	2.2 ± 0.4
	180	340 ± 35	113 ± 20	70 ± 9	2.3 ± 0.5
	240	340 ± 35	108 ± 9	72 ± 10	2.3 ± 0.2**

\* ; p < 0.05, \*\* ; p < 0.01 (Student の t-検定 (両側検定))

表中の数値は平均値 ± 標準偏差

1) : 心拍出力指数 = 拡張期血圧 / Q-A 間隔

### (3)自律神経系に対する作用

#### ①モルモットの摘出気管のイソプレナリンに対する反応に及ぼす影響

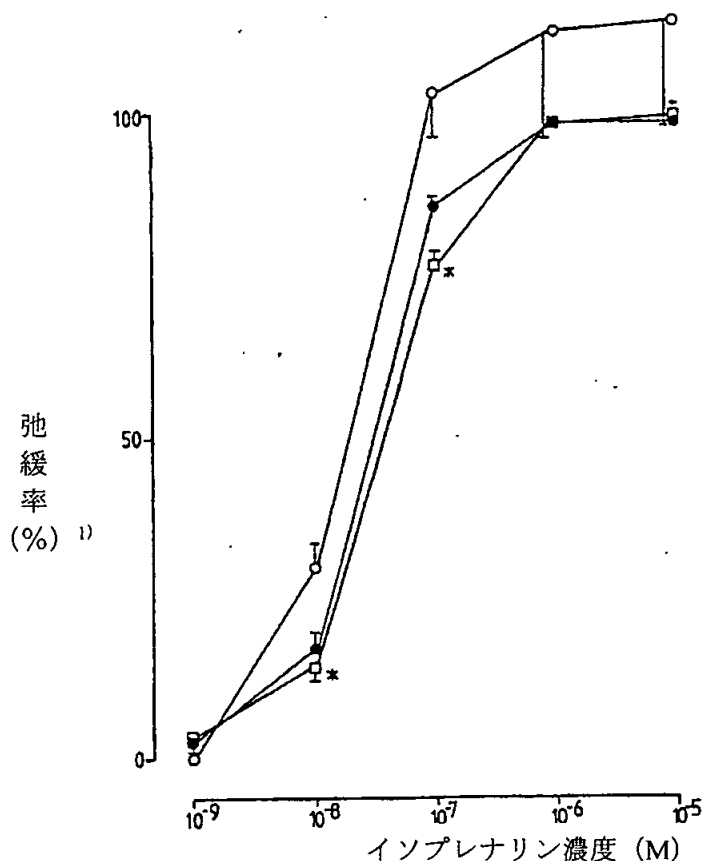
供試動物 : Alpk:Dunkin Hartley 系モルモット、体重 403 g、雌 1 匹 (対照群 2 標本、検体処理群 4 標本)

方 法 : 摘出気管標本を Krebs-Henseleit 液槽中 (37°C、95%O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub> 通気) に懸垂し、1 g の静止張力下で 30 分間平衡化させた後、カルバコール (5 × 10<sup>-7</sup> M) を加えて痙縮させ、イソプレナリン (10<sup>-9</sup> ~ 10<sup>-5</sup> M) を累積的に加え、気管の弛緩に関するイソプレナリンの用量-反応曲線を作成した。組織洗浄後、カルバコール (5 × 10<sup>-7</sup> M) を再度加えて 30 分後に検体 (10<sup>-5</sup> M) あるいは溶媒 (ジメチルスルホキシド (DMSO) を含む蒸留水) を加え、さらに 30 分後にイソプレナリンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結 果 : 結果を次の図に示す。

イソプレナリンはカルバコール誘導性痙縮を濃度依存性に抑制した。

対照群では溶媒添加により対数濃度-反応曲線がわずかに左方に移動したが、検体 (10<sup>-5</sup> M) 添加ではそのような移動はみられなかった。検体処理群において、対照群と比較して、イソプレナリンに対する反応に統計学的に有意な差が認められた。しかし、検体処理群と対照群の EC<sub>50</sub> 値は同程度 (それぞれ 1.9 × 10<sup>-8</sup> および 3.8 × 10<sup>-8</sup> M) であり、観察された差に生物学的意義はないと考えられた。



- 1) 初期最大反応の割合 (%) として表示  
 ●; 全組織標本のイソプレナリン対数濃度-反応曲線 (初期値、n=6)  
 ○; 対照群のイソプレナリン対数濃度-反応曲線 (n=2)  
 □; 検体処理群のイソプレナリン対数濃度-反応曲線 (n=4)  
 \*;  $p < 0.05$  (Student の t-検定 (両側検定))

図 モルモットの摘出気管のイソプレナリンに対する反応に及ぼす影響

②ラットの摘出輸精管のメトキサミンに対する反応に及ぼす影響

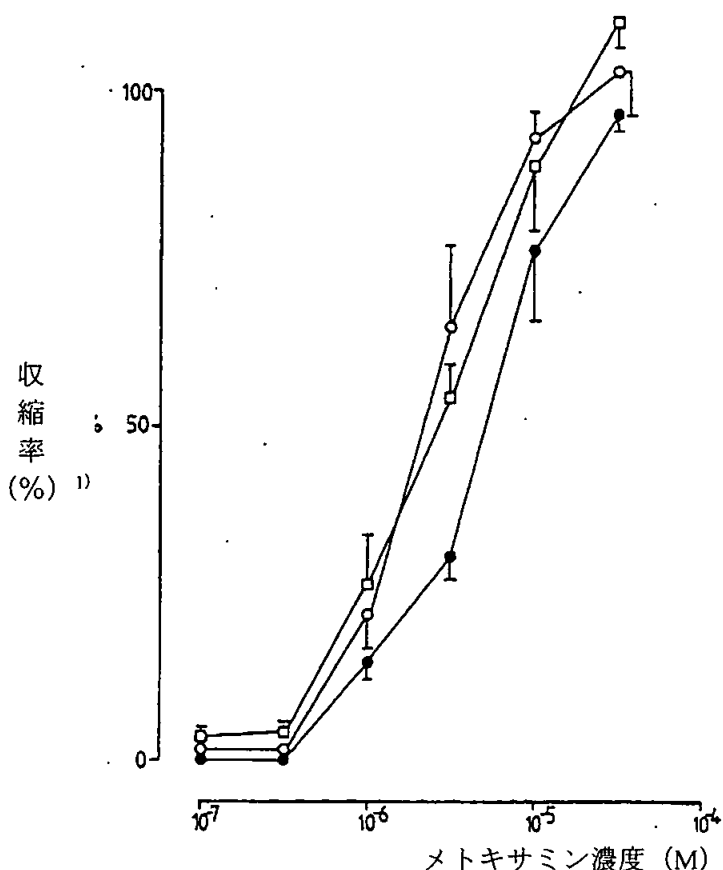
供試動物: Wistar 系ラット (Alpk: APfSD)、体重 391~423 g、雄 3 匹 (対照群 2 標本、検体処理群 4 標本)

方法: 摘出輸精管を  $Mg^{2+}$  を含まない Krebs-Henseleit 液槽中 (32°C、95% $O_2$ /5% $CO_2$  通気) に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、メトキサミン ( $10^{-7}$ ~ $10^{-4}$  M) を累積的に加え、メトキサミンによる収縮反応の用量-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体 ( $10^{-5}$  M) または溶媒 (DMSO を含む蒸留水) を加え、30 分後にメトキサミンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結果: 結果を次の図に示した。

メトキサミンは用量依存性に収縮を誘導した。対数濃度-反応曲線は溶媒あるいは検体 ( $10^{-5}$  M) の添加によりわずかに左方に移動した。

検体はラット輸精管の  $\alpha_1$ -アドレナリン受容体に何ら作用を及ぼさないものと考えられた。



- 1) 初期最大反応の割合 (%) として表示  
 ●; 全組織標本のメトキサミン対数濃度-反応曲線 (初期値, n=6)  
 ○; 対照群のメトキサミン対数濃度-反応曲線 (n=2)  
 □; 検体処理群のメトキサミン対数濃度-反応曲線 (n=4)

図 ラットの摘出輸精管のメトキサミンに対する反応に及ぼす影響

③フィールド刺激したラット摘出輸精管のクロニジンに対する反応に及ぼす影響

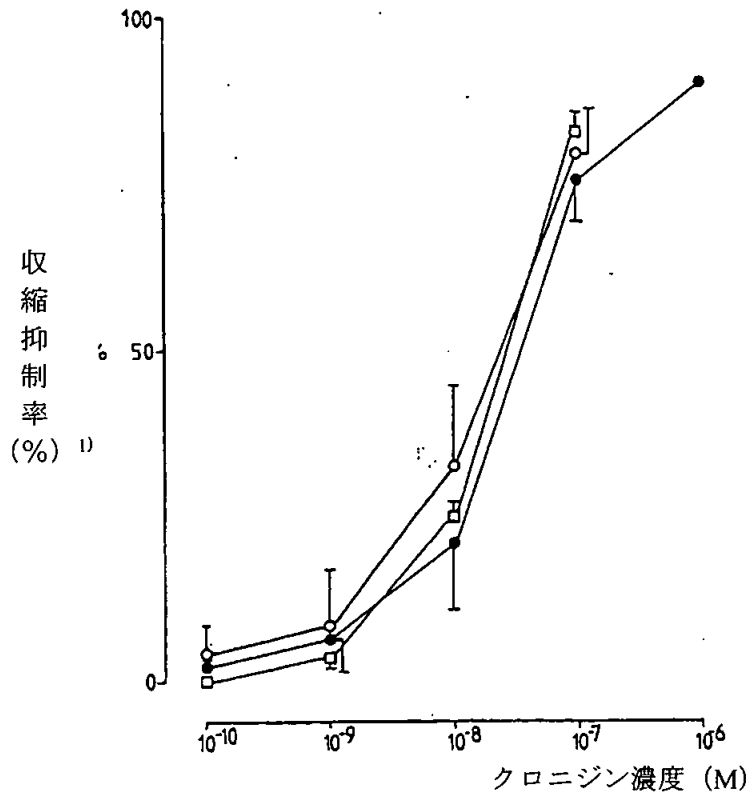
供試動物: Wistar系ラット (Alpk:APfSD)、体重 404~417 g、雄 3 匹 (対照群 2 標本、検体処理群 4 標本)

方 法: 摘出輸精管を  $Mg^{2+}$  を含まない Krebs-Henseleit 液槽中 ( $32^{\circ}C$ 、 $95\%O_2/5\%CO_2$  通気) に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、フィールド刺激 (1/1000 秒、ダブルパルス; 75/1000 秒間隔;  $>20V$ ; 0.1 Hz) に対する等尺性張力変化を記録した。 $\alpha_2$ -作働薬であるクロニジンを累積的に加え、用量-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体 ( $10^{-5} M$ ) または溶媒 (DMSO を含む蒸留水) を加え、30 分後にクロニジンの用量-反応曲線を再度作成した。

結 果: 結果を次の図に示す。

フィールド刺激によって誘発される最大収縮はクロニジンで用量依存性に抑制された。溶媒あるいは検体 ( $10^{-5} M$ ) 添加により、収縮高にも、その後のクロニジンに対する対数用量-反応曲線にも何ら有意な影響はみられなかった。

検体はラット輸精管の  $\alpha_2$ -アドレナリン受容体に何ら作用を及ぼさないものと考えられた。



- 1) 最大収縮高の割合 (%) として表示  
●; 全組織標本のクロニジン対数濃度-反応曲線 (初期値, n=6)  
○; 対照群のクロニジン対数濃度-反応曲線 (n=2)  
□; 検体処理群のクロニジン対数濃度-反応曲線 (n=4)

図 フィールド刺激したラット摘出輸精管のクロニジンに対する反応に及ぼす影響

④モルモット摘出回腸のアセチルコリンおよびヒスタミンに対する反応に及ぼす影響

供試動物: Alpk:Dunkin Hartley 系モルモット、体重 299~320 g、4 匹 (性別不明) (対照群 8 標本、検体処理群 1 群 8 標本)

方 法: 摘出回腸標本を Krebs-Henseleit 液槽中 (37°C、95%O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub> 通気) に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、アセチルコリン (10<sup>-9</sup>~10<sup>-3</sup> M) あるいはヒスタミン (10<sup>-9</sup>~10<sup>-3</sup> M) を累積的に加え、対数濃度-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体 (10<sup>-6</sup>あるいは 10<sup>-5</sup> M) または溶媒 (DMSO を含む蒸留水) を加え、30 分後にアセチルコリンおよびヒスタミンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結 果: 結果を次の図に示す。

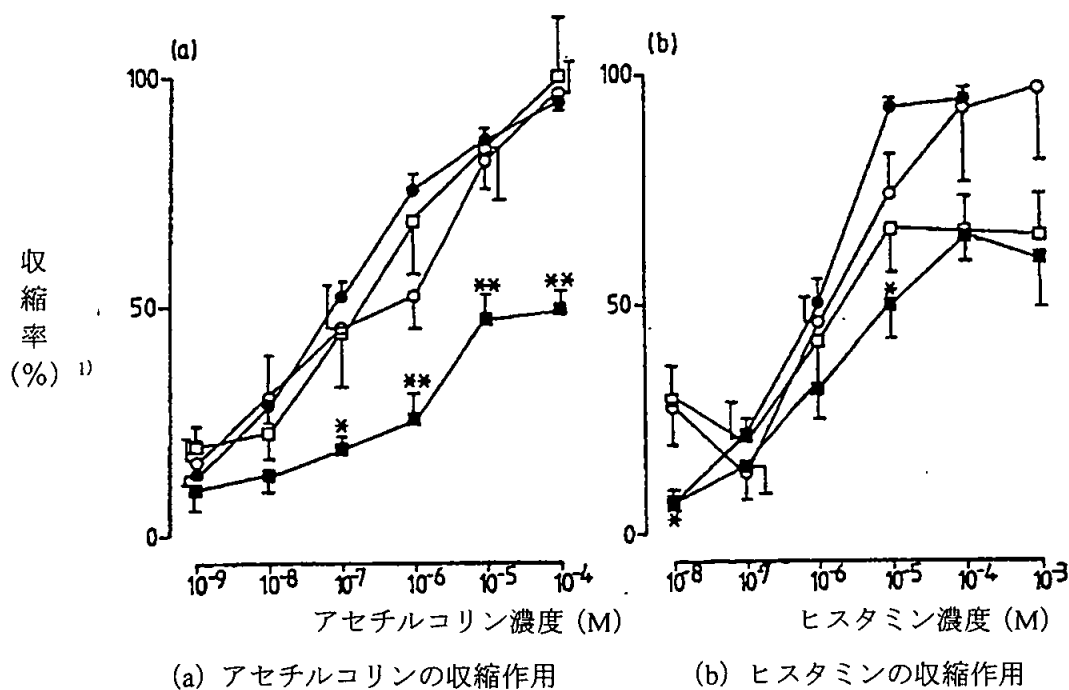
アセチルコリンおよびヒスタミンに対する用量依存性の収縮が認められた。

アセチルコリンに対する対数濃度-反応曲線は溶媒添加により右方に移動し、検体 10<sup>-5</sup> M によりさらに右方に移動し、最大反応は抑制された。検体 10<sup>-6</sup> M ではアセチルコリン

の対数濃度-反応曲線に影響はみられなかった。

ヒスタミンに対する対数濃度-反応曲線は溶媒添加でわずかに右方に移動した以外にはほとんど変化せず、最大反応は検体  $10^{-5}$  M で抑制された。検体  $10^{-6}$  M ではヒスタミンの対数濃度-反応曲線に影響はみられなかった。

検体は  $10^{-5}$  M の濃度でアセチルコリンおよびヒスタミンのいずれに対しても非競合的拮抗作用を示すものと考えられた。



1) 初期最大反応の割合 (%) として表示

- ; 全組織標本の対数濃度-反応曲線 (初期値、n=24)
- ; 対照群の対数濃度-反応曲線 (n=8)
- ; 検体処理群 ( $10^{-5}$  M) の対数濃度-反応曲線 (n=8)
- ; 検体処理群 ( $10^{-6}$  M) の対数濃度-反応曲線 (n=8)

図 モルモット摘出回腸のアセチルコリンおよびヒスタミンに対する反応に及ぼす影響

⑤フィールド刺激したモルモット摘出回腸のアトロピンに対する反応に及ぼす影響

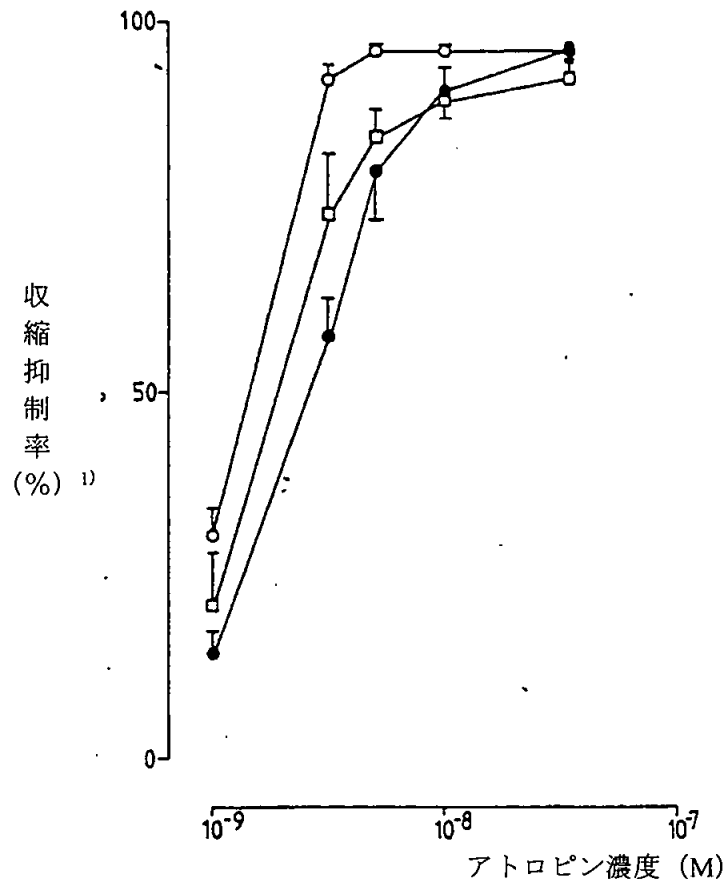
供試動物: Alpk:Dunkin Hartley 系モルモット、体重 377 g、雌 1 匹 (対照群 2 標本、検体処理群 4 標本)

方法: 摘出回腸標本を Krebs-Henseleit 液槽中 ( $37^{\circ}\text{C}$ 、 $95\%\text{O}_2/5\%\text{CO}_2$  通気) に 500 mg の静止張力をかけて懸垂し、フィールド刺激 (0.5/1000 秒パルス、24V ; 0.1 Hz) に対する等尺性張力変化を記録した。アトロピン ( $10^{-9}$ ~ $10^{-7}$  M) を累積的に加えて、対数濃度-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体 ( $10^{-5}$  M) または溶媒 (DMSO を含む蒸留水) を加え、30 分後にアトロピンの対数濃度-反応曲線を再度作成した。

結果: 結果を次の図に示す。

フィールド刺激されたモルモット回腸に検体 ( $10^{-5}$  M) あるいは溶媒を添加すると収縮高の同程度の増加 (それぞれ対照の 126% および 148%) が認められた。

アトロピンに対する対数濃度-反応曲線は溶媒または検体  $10^{-5}$  M の添加によりわずかに左方に移動した。アトロピンに対する反応に統計学的有意差は認められず、 $EC_{50}$  値は対照群および検体処理群で同程度 (それぞれ  $1.3 \times 10^{-9}$  M および  $1.8 \times 10^{-9}$  M) であった。



- 1) ; 最大収縮高の割合 (%) として表示  
● ; 全組織標本のアトロピン対数濃度-反応曲線 (初期値、n=6)  
○ ; 対照群のアトロピン対数濃度-反応曲線 (n=2)  
□ ; 検体処理群のアトロピン対数濃度-反応曲線 (n=4)

図 フィールド刺激したモルモット摘出回腸のアトロピンに対する反応に及ぼす影響

#### (4) 消化器に対する作用

マウスの腸管輸送能に対する作用 (炭末試験)

供試動物 : Alpk: AP マウス、体重 25~46 g、1 群雄 10 匹

投与方法 : 約 3 時間絶食させたマウスに、コーン油に懸濁した検体 500 あるいは 1000 mg/kg を 1 回経口投与した。投与 60 分後に 0.5% ポリソルベート 80 に懸濁した 5% 炭末液 10 mg/kg を経口投与し、さらに 60 分後に動物を屠殺し、幽門洞から直腸までの腸管全長に対する炭末の最長移動距離の割合を求めた。なお、溶媒対照としてコーン油、陽性対照として



消化管運動刺激剤であるカルバコール (5 mg/kg) および消化管運動抑制剤であるモルヒネ (10 mg/kg) をそれぞれ検体と同様に投与した。

結果：結果を次表に示す。

1000 mg/kg 投与群では毒性徴候 (2 時間以内に全動物に活動性の低下、呼吸異常、眼瞼下垂、正向反射抑制、脊柱の上方彎曲、立毛、低体温、腹側部陥凹(sides pinched in)) が認められたが、1000 および 500 mg/kg 投与群ともに炭末の移動距離に対照群と差は認められなかった。

一方、カルバコールは炭末の移動距離を延長させ、モルヒネは短縮させた。

検体は致死量に近い用量においても消化管運動に影響を与えなかった。

試験	投与量 (mg/kg)	腸管全長 (cm)	炭末移動距離 (cm)	炭末移動率 (%)
1	溶媒対照 (コーン油) 10 (mL/kg)	57.5 ± 3.2	29.3 ± 6.8	51.1 ± 11.6
	ヘキサコナゾール 500	57.0 ± 3.5	26.5 ± 10.9	47.1 ± 19.3
	陽性対照 (カルバコール) 5	57.2 ± 2.9	41.9 ± 9.8	72.9 ± 15.6**
	陽性対照 (モルヒネ) 10	56.9 ± 4.8	19.6 ± 4.7	34.1 ± 8.0**
2	溶媒対照 (コーン油) 10 (mL/kg)	56.8 ± 2.5	32.0 ± 4.0	56.5 ± 7.5
	ヘキサコナゾール 1000	59.3 ± 2.8	28.4 ± 11.3	47.7 ± 18.6
	陽性対照 (カルバコール) 5	57.7 ± 3.2	40.4 ± 11.2	70.5 ± 19.8
	陽性対照 (モルヒネ) 10	56.1 ± 4.6	20.5 ± 4.7	37.0 ± 10.2**

\*\* ; p < 0.01 (Student の t 検定 (両側検定))

表中の数値は 10 匹の平均値 ± 標準偏差 (但し、試験 2 の検体 1000 mg/kg 投与群のみ 9 匹)

#### (5)骨格筋に対する作用

ラットの横隔神経付半横隔膜標本に及ぼす影響

供試動物：Wistar 系ラット (Alpk: APfSD)、体重 409~424 g、雄 (匹数不明) (対照群 2 標本、検体処理群 4 標本)

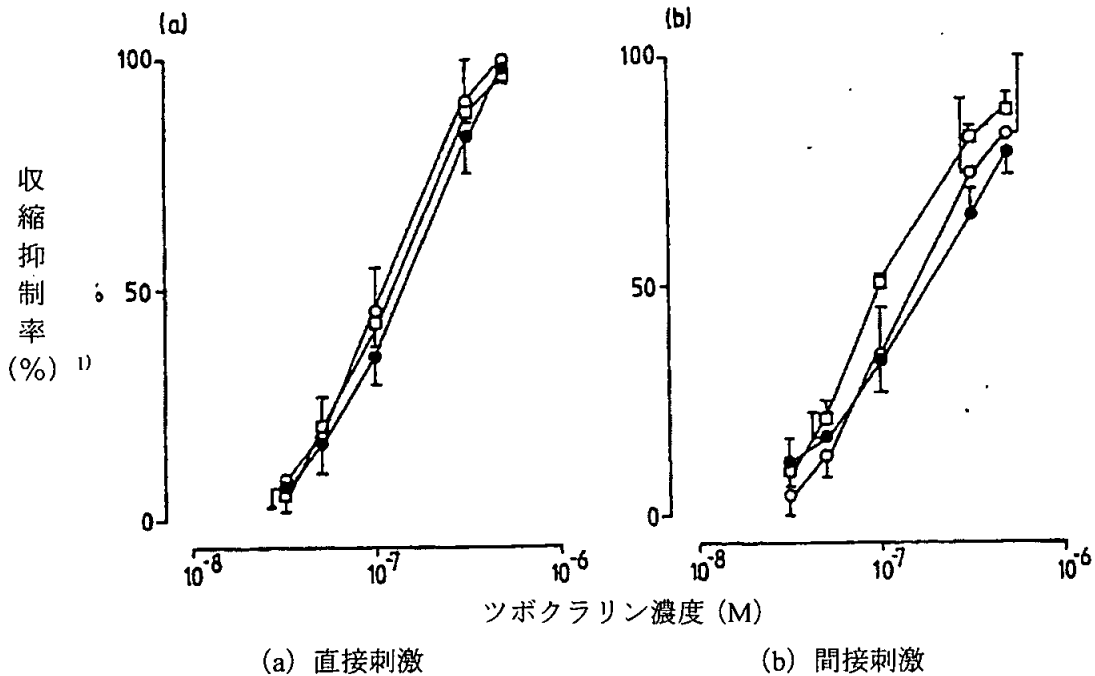
方法：摘出した横隔神経付半横隔膜標本を Krebs-Henseleit 液槽中 (37°C、95%O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub> 通気) に 5 g の静止張力をかけて懸垂し、直接的 (筋肉) あるいは間接的 (横隔神経を介して) に電気刺激した (0.5/1000 秒パルス幅、28V、0.1 Hz)。ツボクラリン (3 × 10<sup>-8</sup>~5 × 10<sup>-7</sup> M) を累積的に加え、ツボクラリンの用量-反応曲線を作成した。組織洗浄後、検体 (10<sup>-5</sup> M) または溶媒 (DMSO を含む蒸留水) を加え、30 分後にツボクラリンの用量-反応曲線を再度作成した。

結果：結果を次の図に示す。

直接刺激および横隔神経を介する間接刺激による最大収縮高は溶媒および検体 (10<sup>-5</sup> M) によりわずかではあるが同程度に減少した。

ツボクラリンに対する対数濃度-反応曲線には、溶媒あるいは検体 (10<sup>-5</sup> M) 添加により変化はみられなかった。

検体は、アセチルコリンのニコチン性受容体あるいは接合部以降の部位で、筋肉の収縮に影響を与えないと考えられた。



- 1) ; 最大収縮高の割合 (%) として表示  
 ● ; 全組織標本のツボクラリン対数濃度-反応曲線 (初期値、n=6)  
 ○ ; 対照群のツボクラリン対数濃度-反応曲線 (n=2)  
 □ ; 検体処理群のツボクラリン対数濃度-反応曲線 (n=4)

図 ラットの横隔神経付半横隔膜標本に及ぼす影響

#### (6)血液に対する作用

ウサギにおける溶血作用

供試動物 : New Zealand White 種ウサギ、体重 2 kg 以上、雌雄 (匹数不明)

投与方法 : 血液をヘパリン処理試験管に採取し、遠心分離によって血漿を除去して、リン酸緩衝生理食塩水で 10% 赤血球浮遊液を調製した。

検体 (最終濃度 0.001、0.003、0.01、0.03 および 0.1% w/v) および溶媒 (DMSO を含む蒸留水) を上記の赤血球浮遊液に加え、37°C で 20 分間振盪した後遠心分離した。得られた上清を蒸留水で希釈して吸光度 (550 nm) を測定し、溶血の有無を検査した。100% 溶血サンプルは蒸留水を用いて調製した。

結果 : 結果を次表に示す。

0.001、0.003 および 0.01% の検体はウサギ赤血球に影響を及ぼさなかったが、高濃度 (0.03 および 0.1%) ではほぼ 100% の溶血を示した。

最終処理濃度 (%)		溶血率 (%) (平均値 ± 標準偏差)
溶媒対照 (1%v/v DMSO)		5.3 ± 1.8
ヘキサコナゾール	0.001	6.8 ± 3.6
	0.003	5.0 ± 2.0
	0.01	5.7 ± 4.0
	0.03	97.8 ± 0.5**
	0.1	103.4 ± 3.6**

溶血率 (%) = (検体処理群の吸光度 / 100%溶血サンプルの平均吸光度) × 100

\*\* ; p < 0.01 (Student の t-検定 (両側検定))

検体投与により、*in vivo* でラットにおいて一般状態の変化 (活動性低下、立毛、尿失禁の徴候、体温低下、脱水症状など)、筋弛緩および睡眠時間の延長が認められた。なお、*in vitro* で高濃度 (0.03%) でウサギ赤血球に対する溶血作用が認められたが、*in vivo* で経口投与を受けた動物に対して重要な損傷を与えるものではないと考えられた。

ヘキサコナゾールの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	行動	ラット	経口 (コーン油)	0、1000、 2000、 5000	雄 2	1000	<1000	全投与群で活動性低下、立毛、腹側部陥凹 (sides pinched in)、鼻周辺の汚れ、脊柱の上方弯曲、尿失禁の徴候、2000 および 5000 mg/kg 群で体温低下、脱水症状がみられた。5000 mg/kg 群では 1/2 例が死亡し、死亡例では眼瞼下垂、紅涙、呼吸深度低下、呼吸数減少がみられた。
	筋弛緩作用 (Pull-up 試験)	ラット	経口 (コーン油)	0、100、 250、 2000、 5000	雄 10	2000	250	2000 および 5000 mg/kg 群で試験終了までに要した時間に有意な延長がみられ、軽度の筋弛緩作用が認められた。
	ハロタン睡眠	ラット	経口 (コーン油)	0、100、 250、 500、 1000、 5000	雌 5	500	250	500 mg/kg 以上の群でハロタン睡眠時間の有意な延長がみられた。
呼吸・循環器系	血圧、心拍数、心拍出力、呼吸数、心電図	ラット (麻酔下)	経口 (コーン油)	0、5000	雄 3	—	5000	検体投与による影響は認められなかった。
自律神経系	摘出気管 (イソプレナリンに対する反応に及ぼす影響)	モルモット	<i>in vitro</i> (DMSO を含有する蒸留水)	0、 $10^{-5}$ M	[雌 1] 2 または 4 標本/ 群	—	$10^{-5}$ M	$10^{-5}$ M でイソプレナリンに対する反応に有意な変化がみられたが、EC <sub>50</sub> 値に溶媒対照群と差はなく、生物学的意義はないと考えられた。
	摘出輸精管 (メトキサミンに対する反応に及ぼす影響)	ラット	<i>in vitro</i> (DMSO を含有する蒸留水)	0、 $10^{-5}$ M	[雄 3] 2 または 4 標本/ 群	—	$10^{-5}$ M	メトキサミンに対する反応に影響はみられず、 $\alpha_1$ -アドレナリン受容体に対する作用は認められなかった。
	摘出輸精管 (フィールド刺激された輸精管のクロニジンに対する反応に及ぼす影響)	ラット	<i>in vitro</i> (DMSO を含有する蒸留水)	0、 $10^{-5}$ M	[雄 3] 2 または 4 標本/ 群	—	$10^{-5}$ M	クロニジンに対する反応に影響はみられず、 $\alpha_2$ -アドレナリン受容体に対する作用は認められなかった。

[ ]内は *in vitro* 試験に用いた全動物数

(つづく)

ヘキサコナゾールの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表（つづき）

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
自律神経系	摘出回腸 (アセチルコリン、ヒスタミンに対する反応に及ぼす影響)	モルモット	<i>in vitro</i> (DMSOを含有する蒸留水)	0、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ M	[4] (性別不明) 8標本/群	$10^{-5}$ M	$10^{-6}$ M	$10^{-5}$ Mでアセチルコリン、ヒスタミンによる最大反応が抑制され、アセチルコリンとヒスタミンに対する非競合的拮抗作用が認められた。
	摘出回腸 (フィールド刺激された回腸のアトロピンに対する反応に及ぼす影響)	モルモット	<i>in vitro</i> (DMSOを含有する蒸留水)	0、 $10^{-5}$ M	[雌1] 2または4標本/群	—	$10^{-5}$ M	アトロピンに対する反応に影響はみられなかった。
消化器系	腸管輸送能	マウス	経口 (コーン油)	0、500、1000	雄 10	—	1000	検体投与による影響は認められなかった。
骨格筋	横隔神経付半横隔膜	ラット	<i>in vitro</i> (DMSOを含有する蒸留水)	0、 $10^{-5}$ M	[雄] (匹数不明) 2または4標本/群	—	$10^{-5}$ M	筋肉および横隔神経の電気刺激による収縮に対するツボクラリンの抑制作用に影響は認められなかった。
血液	溶血作用	ウサギ	<i>in vitro</i> (1%v/v DMSOを含有する蒸留水)	0、0.001、0.003、0.01、0.03、0.1%w/v	[雌雄] (匹数不明)	0.03%	0.01%	0.03および0.1%で溶血作用が認められた。

[ ]内は *in vitro* 試験に用いた全動物数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(15) その他

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

## 2. 原体混在物および代謝物を用いた試験成績

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

### 3. 製剤を用いた試験成績

#### ①2%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.TF-01)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988年

試験番号：

検体純度：2%水和剤

[組成] ヘキサコナゾール原体：2.0%

水、界面活性剤等：98.0%

供試動物：Wistar 系ラット (Slc:Wistar/KY)、6 週齢、体重；雄 147～161 g、雌 115～126 g、  
1 群雌雄各 10 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を精製水で 50%w/v に希釈し、10 mL/kg の液量で 1 回強制経口投与した。対照群  
には精製水を投与した。動物は投与前約 17 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与直前ならびに投与後 7 およ  
び 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結 果：結果を下表に示す。

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、5000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状の発現なし	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

死亡および中毒症状は認められなかった。

体重増加に影響は認められなかった。

肉眼的病理検査では異常は認められなかった。



②2%水和剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No.TF-02)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

試験番号:

検体純度: 2%水和剤

[組成] ヘキサコナゾール原体: 2.0%

水、界面活性剤等: 98.0%

供試動物: Slc:ICR 系マウス、6 週齢、体重; 雄 26.3~28.4 g、雌 22.0~24.5 g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を精製水で 50%w/v に希釈し、10 mL/kg の液量で 1 回強制経口投与した。対照群には精製水を投与した。動物は投与前約 17 時間絶食させた。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与直前ならびに投与後 7 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果: 結果を下表に示す。

投与方法 性別	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、5000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状の発現なし	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

死亡および中毒症状は認められなかった。

体重増加に影響は認められなかった。

肉眼的病理検査では異常は認められなかった。

③2%水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.TF-03)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

試験番号:

検体純度: 2%水和剤

[組成] ヘキサコナゾール原体: 2.0%

水、界面活性剤等: 98.0%

供試動物: Wistar 系ラット (Slc:Wistar/KY)、雄 7 週齢、雌 10 週齢、体重; 雄 208~227 g、雌 201~221 g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を均一に塗布したリント布 (4×5 cm) を剃毛した背部 (5×6 cm) に貼付し、サージカルテープで固定した。24 時間後に適用部位の検体を微温湯で洗い流し、ガーゼで拭き取った。対照群には、検体の塗布を除き同様の処置を行った。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重を投与直前ならびに投与後 7 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果: 結果を下表に示す。

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	0、2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 2000	> 2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状の発現なし	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

死亡および中毒症状は認められなかった。また、適用部位にも刺激性変化およびその他の異常は認められなかった。

体重増加に影響は認められなかった。

肉眼的病理検査では異常は認められなかった。

④2%水和剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No.TF-04)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

報告書番号：

検体純度：2%水和剤

[組成] ヘキサコナゾール原体：2.0%  
水、界面活性剤等：98.0%

供試動物：Wistar 系ラット (Alpk:APfSD)、約7週齢、体重；雄 253~280 g、雌 202~237 g、  
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

暴露方法：検体をガラス製の同心円ジェットアトマイザーを用いてエアロゾル（ダスト）を発生させ、4 時間鼻部暴露させた。対照群は空気のみを暴露させた。

暴露空気を Marple 型カスケードインパクターを用いて 1 回採取し、粒子径分布を求めた。カスケードインパクターで捕集した粒子ならびに暴露中約 30 分間隔で 25 mm Vinyl Metrical フィルター (VM-1) を用いて捕集した粒子をアセトンで溶解し、超音波処理した後、ガスクロマトグラフィーを用いて実際の気中濃度を求めた。

暴露条件；

設定濃度 (全粒子) (mg/m <sup>3</sup> )	5000
実測気中濃度 (全粒子) (mg/m <sup>3</sup> )	4900
ヘキサコナゾール実測濃度 (mg/m <sup>3</sup> )	164
製剤濃度*1 (mg 製剤/m <sup>3</sup> )	8200
粒子径分布 (%) *2	
≥ 9.8 (μm)	22.0
9.8~6.0	31.9
6.0~3.5	27.5
3.5~1.55	16.9
1.55~0.93	0.5
0.93~0.52	0.2
≤ 0.52	1.0
空気力学的質量中位径 (μm)	6.6
呼吸可能な粒子 (≤ 2.5 μm) の割合 (%)	11.0
チャンバー容積 (L)	約 27.6
チャンバー内通気量 (L/分)	30
暴露条件	ダスト 4 時間 鼻部暴露

\*1：ヘキサコナゾール実測濃度および製剤中の有効成分含量 (2%) から算出した。

\*2：数値はカスケードインパクターにより測定したエアロゾル粒子の分布の割合を示す。

観察・検査項目：暴露中および暴露後 14 日間、中毒症状および生死を毎日観察した。体重を暴露前日、暴露前ならびに暴露後 1、2、7 および 14 日に測定した。観察期間終了時に全生

存動物を安楽死させて肉眼的病理検査を行い、さらに肺および肝臓の重量を測定した。

結 果：結果を下表に示す。

投 与 方 法	吸 入	
	雄	雌
製剤濃度 (mg 製剤/m <sup>3</sup> )	0、8200	
LC <sub>50</sub> (mg 製剤/m <sup>3</sup> )	> 8200	> 8200
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	暴露日から発現 暴露後3日に消失	暴露後1日から発現 暴露後2日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg 製剤/m <sup>3</sup> )	—	—
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg 製剤/m <sup>3</sup> )	8200	8200

暴露中、暴露群の全動物に鼻部の検体付着が認められた。また暴露群および対照群に被毛の湿潤および紅涙が認められたが、そのほとんどは保定の影響であると考えられた。暴露後は、中毒症状として少数例に異常呼吸音、脊椎の上方彎曲および毛づくろいの停止がみられた。また、暴露群および対照群に保定の影響によると考えられる異常（被毛の湿潤、円背、立毛、鼻周囲の汚れおよび紅涙）がみられたが、暴露群により多くみられた。

体重増加に影響は認められなかった。

臓器重量ならびに肉眼的病理検査に暴露に関連する影響は認められなかった。

⑤2.0%水和剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.TF-05)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

試験番号：

検体純度：2%水和剤

[組成] ヘキサコナゾール原体：2.0%

水、界面活性剤等：98.0%

供試動物：日本白色種ウサギ、13～15 週齢、体重 2.39～2.73 kg、雄 6 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体 0.5 mL をリント布 (2 × 3 cm) に塗布し、剃毛した背部皮膚の右側に閉塞貼付した。剃毛した背部皮膚の左側にはリント布のみを同様に適用した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は、蒸留水を含ませた脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目：検体除去 1、24、48 および 72 時間後に、適用部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、農水省ガイドライン (59 農蚕第 4200 号通達、1985 年) に従って採点した。

また、一般状態および体重の推移についてもあわせて観察を行った。

結果：観察した刺激性変化の採点は次表のとおりである。

検体によると思われる適用部皮膚の異常は、いずれの動物においても認められなかった。

また、一般状態および体重の推移には、検体によると思われる影響はいずれの動物にも認められなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して、刺激性を有さないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

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
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

⑥2.0%水和剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.TF-06)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

試験番号：

検体純度：2%水和剤

[組成] ヘキサコナゾール原体：2.0%  
水、界面活性剤等：98.0%

供試動物：日本白色種ウサギ、13～15 週齢、体重 2.37～2.64 kg、  
非洗眼群雄 6 匹、洗眼群雄 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体 0.1 mL を右眼に適用し、左眼は対照のため無処置とした。3 匹は 2 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン（59 農蚕第 4200 号通達、1985 年）に従って採点した。  
また、一般状態および体重の推移についてもあわせて観察を行った。

結果：観察した刺激性変化の採点は次表のとおりである。

非洗眼群および洗眼群ともに、適用 1 時間後に、結膜の多少の血管の充血がそれぞれ 6 例中 4 例および 3 例中 2 例に認められたが、24 時間後には全て消失した。これらは陽性効果に至らない検体適用時の物理的作用によるものと考えられた。  
一般状態および体重の推移には、検体によると考えられる影響はいずれの群にも認められなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの眼に対して、刺激性を有さないものと考えられた。

項目		最高 評点	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 1	角膜混濁	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
	動物 番号 2	角膜混濁	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
	動物 番号 3	角膜混濁	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
	動物 番号 4	角膜混濁	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
	動物 番号 5	角膜混濁	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
	動物 番号 6	角膜混濁	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 <sup>a</sup>		78	4	0	0	0		
平均 <sup>a</sup>		13	0.7	0	0	0		
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁		4	0	0	0		
	虹彩		2	0	0	0		
	結膜	発赤	3	0.7	0	0		
		浮腫	4	0	0	0		
	合計 <sup>a</sup>		13	0.7	0	0		

a 非洗眼群 (6匹) の合計および平均、洗眼群 (3匹平均) の合計は申請者による計算



⑦2.0%水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 [Buehler 法]

(資料 No.TF-07)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

試験番号:

検体純度: 2%水和剤

[組成] ヘキサコナゾール原体: 2.0%  
水、界面活性剤等: 98.0%

供試動物: Hartley 系モルモット、5 週齢、体重 283~342 g

検体処置群、検体対照群および無処置群 1 群雄 15 匹

陽性対照物質処置群および陽性対照物質対照群; 1 群雄 10 匹

観察期間: 惹起貼付除去後 48 時間

試験操作: [Buehler 法]

投与量設定根拠:

感作; 左腹側部を剃毛し、検体原液 0.5 mL を塗布したリント布 (2 cm 四方) を 6 時間閉塞貼付した。

一方、陽性対照物質処置群には、2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) 1% を含む白色ワセリン 0.5 g を同様に適用した。

検体対照群には蒸留水 0.5 mL、陽性対照物質対照群には白色ワセリン 0.5 g を処置群と同様に適用した。また、無処置群も設定した。

初回感作の 1 週間後および 2 週間後に再度同様の処置をして計 3 回感作を行った。

惹起; 最終感作の 2 週間後に剃毛した右腹側部に、検体処置群、検体対照群および無処置群には検体の 10% 希釈液 (溶媒; 蒸留水) を、陽性対照物質処置群および陽性対照物質対照群には 0.1% DNCB 溶液 (溶媒; 40% (v/v) エタノール水溶液) をそれぞれ 0.5 mL 塗布したリント布 (2 cm 四方) を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目: 惹起貼付除去 24 時間および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、採点した。

検体処置群および陽性対照物質処置群の動物について、使用動物数に対する皮膚反応のみられた動物数の割合（皮膚反応の出現率）を求め、この値から皮膚刺激のみによって惹起されたそれぞれの対照群（検体対照群および陽性対照物質対照群）の皮膚反応出現率を差し引いた値を感作率とし、Magnusson and Kligman の判定基準に従って皮膚感作性の強さを評価した。

また、観察期間中、毎日一般状態を観察し、週に2回体重測定を行った。

結果：各観察時間における皮膚反応が認められた動物数を下表に示す。

群		供試動物数	感作反応動物数										感作率 (%)		
			24 時間後					48 時間後					24 <sup>a</sup> 時間	48 <sup>b</sup> (合計) 時間	
			皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計			
感作	惹起	0	1	2	3	0		1	2	3					
検体	100% 検体	10% 検体	15	15	0	0	0	0/15	15	0	0	0	0/15	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
	蒸留水	10% 検体	15	15	0	0	0	0/15	15	0	0	0	0/15		
	無処置	10% 検体	15	15	0	0	0	0/15	15	0	0	0	0/15		
陽性対照	1% DNCB <sup>e</sup>	0.1% DNCB <sup>e</sup>	10	0	2	6	2	10/10	0	2	6	2	10/10	70 <sup>d</sup>	70 <sup>d</sup>
	媒体	0.1% DNCB <sup>e</sup>	10	7	3	0	0	3/10	9	1	0	0	1/10		

a : 24 時間の感作率は申請者による計算。

b : 24 時間後あるいは 48 時間後に皮膚反応の認められた動物数を合わせて算出した値。

c :  $(0/15 - 0/15) \times 100$

d :  $(10/10 - 3/10) \times 100$

e : 2,4-ジニトロクロロベンゼン

検体除去 24 または 48 時間後、検体処置群、検体対照群および無処置群のいずれの動物においても紅斑、浮腫等の異常は認められなかった。検体の感作率は 0% であり、皮膚感作性は認められなかった。

一方、陽性対照物質である DNCB では、除去 24 および 48 時間後に、陽性対照物質処置群においてまばらな軽いものから強度に至る紅斑が 10 例全例にみられ、陽性対照物質対照群では 10 例中 3 例にまばらな軽い紅斑がみられた。DNCB の感作率は 70% であり、強度の皮膚感作性が認められた。

なお、観察期間中、一般状態および体重の推移のいずれにおいても異常は全くみられなかった。

以上の結果から本試験条件下において、本剤はモルモットに対し皮膚感作性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

#### 4. 参考

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。