

8. 繁殖毒性及び催奇形性

(1) 繁殖毒性

ラットを用いた繁殖性試験

(資料31)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度： %

試験動物：SD系 [Cri : CD (SD)] SPFラット (投与開始時5週齢；体重 雄133～147g、雌113～124g) 1群雌雄各24匹

投与期間：P世代；投与開始時からF₁仔離乳時までの18週間

F₁世代；F₁仔離乳時からF₂仔離乳時までの18週間

(1990年2月13日投与開始日～1990年10月24日 F₂仔離乳剖検日)

投与方法：検体を0、30、100及び300ppmの濃度で飼料に混合し、自由に摂取させた。

方法及び試験項目：概要を下記の表にまとめた。

一般状態及び死亡；全動物について、試験期間中毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は雌の膣垢像から性周期を調べ、発情期に雌雄1対1で同居させ、翌日膣栓及び精子により交尾を確認した。

繁殖に関する指標；妊娠、交配、分娩、哺育及び離乳時期の観察に基づき次の指標を算出した。

雄の交尾率 = (交尾を認めた雄数 / 交配に用いた雄数) × 100

雌の交尾率 = (交尾を認めた雌数 / 交配に用いた雌数) × 100

妊娠率 = (妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数) × 100

出産率 = (正常出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

平均産仔数 = 総産仔数 / 正常出産雌数

性比 = 総雄産仔数 / 総産仔数

生存率 (哺育0日) = (哺育0日の生存仔数 / 産仔数) × 100

生存率(哺育4日) = (哺育4日の生存仔数/哺育0日の生存仔数) × 100

生存率(哺育21日) = (哺育21日の生存仔数/哺育4日に選抜した仔数)
× 100

体 重 ; 親動物の雄は投与開始時、育成期間中は1日ごと、繁殖期間中は隔週ごと及び剖検日に測定した。雌は投与開始時、育成期間中は1日ごと、繁殖期間中は妊娠0、7、14、20日と哺育0、7、14、21日及び剖検日に測定した。

仔動物は哺育0、4、7、14、21日に1腹分として測定した。

摂 餌 量 ; 育成期間中は雌雄とも1週ごと、繁殖期間では雄は隔週、雌は妊娠0～7、7～14、14～20日及び哺育0～7、7～14、14～21日に測定した。

妊娠期間 ; 正常に出産した雌について、交配を認めた日から分娩完了までの期間を日数で表した。

着 床 数 ; 親動物のすべての雌について、剖検時に子宮内の着床痕数を数えた。

肉眼的病理検査 ; 哺育仔の離乳後、すべての世代の親動物を屠殺して剖検し、所見を記録した。また、哺育4日に選抜されなかった哺育仔はその日に、F世代の親動物として選抜されなかったF₁離乳仔とすべてのF₂離乳仔については21～27日齢でそれぞれ屠殺し、剖検を行って所見を記録した。

臓器重量 ; 各世代の親動物雌雄10匹について、脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、卵巣及び精巣の重量を測定した。

病理組織学的検査 ; 各世代の親動物について、対照群と最高投与群の生殖器(卵巣、子宮、膣または精巣、精巣上体、精のう、前立腺)と下垂体、また、脾臓については全投与群で実施した。

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P (F ₀)	育成(10週)		体重、摂餌量を週1回測定
	交配(3週)	性周期を検査 雌雄1:1で交配。交尾は陰栓及び精子で確認(妊娠0日とした)。	交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠 0、7、14、20日 体重測定 哺育 0、7、14、21日 " 妊娠 7、14、20日 摂餌量測定 哺育 7、14、21日 "
	出産	分娩の完了を確認した日を哺育0日とした。	出産状況の観察 一般状態及び死亡、平均産仔数、性比
	哺育(3週)	出産後4日目各同腹仔数を雄4匹、雌4匹に調整(不可能な場合、雌雄計8匹)	哺育 0、7、14、21日 体重測定 哺育 0、4、21日 生存率 哺育 4日に選抜されなかった哺育仔を剖検。
	離乳	継代用として、各雌雄24匹を選抜し、他は屠殺剖検した。	継代用として、選抜されなかったF ₁ 離乳仔と全ての親動物について剖検した。
F ₁	育成(10週)	P世代に準ずる	P世代に準ずる
	交配(3週)		
	妊娠(3週)		
F ₂	出産	F ₁ 世代に準ずる	F ₁ 世代に準ずる
	哺育(3週)		
F ₂	離乳	離乳仔は21~27日齢で剖検 離乳後、全ての親動物剖検。	同 左

試験結果：

世代		親:P 仔:F ₁				親:F ₁ 仔:F ₂				
投与量 (ppm)		0	30	100	300	0	30	100	300	
投与量 (mg/kg/日)		0	♂2.3, ♀2.6	♂7.6, ♀8.7	♂23.2, ♀26.5	0	♂2.3, ♀2.6	♂7.6, ♀8.7	♂23.2, ♀26.5	
動物数 (雄/雌)		24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	
類	雄: 眼	1	3	2	2	1	1	2	0	
	鼻部周囲汚染	2	2	2	1	1	2	2	0	
	鼻骨骨折	0	0	0	1	0	0	0	0	
	切歯不整交合	1	4	2	1	0	1	1	0	
	呼吸困難	0	0	0	1	0	0	0	0	
	雌: 眼	1	0	0	0	0	0	0	1	
	脱脂毛	2	1	0	1	0	0	0	0	
	腫血様物分泌	0	0	0	0	0	0	0	1	
	上記の他に鼻血様物分泌、創傷、肛門周囲汚染、痂皮形成、腫瘍及び角膜表面粘着物の症状が認められたが、検体投与に関連した症状は認められなかった。									
	動	死亡率 (%)	雄 0.0 雌 0.0	4.8 0.0	0.0 0.0	4.3 0.0	4.3 0.0	4.3 0.0	4.3 4.9	0.0 0.0
平均体重 (g)		雄 飼育期間 0週	140	140	140	140	73	73	73	73
		5週	422	421	412	403*	371	362	357*	367*
		6週	451	448	442	431*	416	406	399*	399*
		7週	477	472	465	454*	450	442	432*	437
		10週	533	524	524	511	524	521	502	507
		18週	622	607	605	592*	615	616	594	604
		雌 飼育期間 0週	119	119	118	119	68	68	68	68
		5週	246	238	239	236	233	227	231	228
		6週	262	254	256	248*	253	245	247	248
	7週	273	265	266	260*	268	259	265	258	
	10週	301	291	295	286*	308	297	295	291	
	妊娠期間 7日	334	324	324	318*	346	332	330	327	
	14日	367	357	355	349*	381	383	369	362	
	20日	441	435	433	429	463	446	442	437*	
	哺育期間 7日	365	356	351*	346**	386	376	364*	368	
	14日	384	372	375	370*	405	392	383*	384*	
	21日	359	347	350	343*	370	361	358	357	
	最終屠殺日	331	319*	320	316*	343	328	326	328	
摂餌量 (g)	雄 飼育期間	27.4	27.0	27.0	26.7	26.6	26.4	25.5	26.1	
	雌 飼育期間	19.7	18.8	19.3	19.1	19.6	19.4	19.4	19.5	
	妊娠期間	26.7	25.3	24.7	25.3	27.0	26.7	26.0	26.3	
	哺育期間	61.0	62.7	60.0	63.0	64.7	63.7	64.0	63.7	
臓器湿重量	雄: 脳 (g)	2.23	2.21	2.21	2.22	2.20	2.18	2.20	2.25	
	心臓 (g)	1.81	1.72	1.99	1.79	1.86	1.79	1.77	2.00	
	肝臓 (g)	21.82	21.42	22.42	22.13	19.95	22.47	22.20	23.65*	
	脾臓 (mg)	939	949	864	891	910	866	911	948	
	腎臓 (g)	2.08	1.93	1.98	1.89	1.81	1.93	1.93	1.99	
	精巣 (g)	1.71	1.73	1.70	1.73	1.76	1.72	1.72	1.81	
	雌: 脳 (g)	2.01	2.03	2.03	1.99	2.05	2.07	2.01	2.07	
	心臓 (g)	1.39	1.38	1.35	1.39	1.38	1.43	1.31	1.37	
	肝臓 (g)	15.50	15.69	14.55	15.65	15.69	15.15	14.68	15.09	
	脾臓 (mg)	632	621	647	682	677	660	689	732	
腎臓 (g)	1.31	1.29	1.32	1.31	1.38	1.30	1.33	1.36		
卵巣 (mg)	59.0	61.0	56.7	56.6	67.9	67.3	64.7	68.2		
肉眼的病理検査	雄: 肝臓 蒼白	0	1	0	0	0	0	0	0	
	腎臓 腎盂拡張	0	0	0	0	1	1	1	2	
	皮膚 創傷	1	1	0	0	0	0	0	0	
	脾臓 暗調	0	0	0	0	0	0	0	5*	
	精巣 萎縮・軟化	0	0	0	0	0	0	1	1	
	包皮腺 膿瘍	0	0	0	0	0	1	0	0	
	雌: 腎臓 腎盂拡張	0	0	2	0	2	0	2	2	
	脾臓 暗調	0	0	0	12***	0	0	0	20***	
	下垂体 白斑	0	0	0	0	1	0	0	0	

註 *: p<0.05 **: p<0.01 ***: p<0.001
(体重、臓器重量: Studentのt検定 病理検査: Fisherの直接確率計算法)

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

世 代		親: P 仔: F ₁				親: F ₁ 仔: F ₂			
投 与 量 (ppm)		0	30	100	300	0	30	100	300
投与量 (mg/kg/日)		0	♂2.3, ♀2.9	♂7.6, ♀8.7	♂23.2, ♀26.5	0	♂2.3, ♀2.6	♂7.6, ♀8.7	♂23.2, ♀26.5
動 物 数 (雄/雌)		24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24
病 理 組	雄: 精巢精細管萎縮	0	-	0	1	1	0	1	3
	前立腺単核細胞凝集	4	-	0	7	3	0	0	1
	脾臓褐色色素沈着増加	1	0	1	9**	3	4	1	9**
	う っ 血	0	0	0	0	0	0	0	5**
	下垂体のう胞形成	2	-	-	3	1	-	-	0
動 物 検 査	雌: 脾臓褐色色素沈着増加	0	0	1	20***	1	0	1	20***
	う っ 血	0	0	0	22***	0	0	0	21***
	下垂体のう胞形成	2	-	-	5	2	-	-	2
	卵巣のう胞形成	0	0	0	0	1	0	1	0
	子宮拡張	5	-	0	5	4	0	1	4
交 尾 率 (%)		100	100	100	100	100	95.8	100	100
妊 娠 率 (%)		100	100	91.7	95.8	95.8	95.7	91.7	95.8
出 産 率 (%)		100	100	100	100	100	100	95.5	100
妊 娠 期 間 (日)		22.3	22.4	22.1	22.3	22.5	22.3	22.3	22.3
一 般 状 態		鼻部外傷、死亡食殺、頸部外傷、チアノーゼ、痂皮を伴う眼球突出及び鼻部外傷が認められたが、検体投与に関連した所見は認められなかった。							
平均産仔数 (1腹)		14.1	14.4	13.8	14.7	14.0	13.1	14.2	12.9
性 比		0.49	0.53	0.52	0.50	0.54	0.48	0.55	0.45'
生 存 率 (%)	哺育 0日	98.2	98.0	97.5	95.8	97.9	97.1	96.4	97.1
	哺育 4日	95.2	98.6	96.9	97.4	99.7	96.7	97.3	97.8
	哺育 21日	99.5	100	99.4	100	98.9	100	100	100
平均着床数 (1腹)		16.0	15.6	15.0	15.9	15.4	14.5	15.2	15.3
体 重 (g)	雄: 哺育 0日	7.0	7.1	6.9	6.9	7.2	7.2	7.0	7.0
	哺育 4日	11.3	11.7	11.2	11.4	11.9	12.3	11.6	11.7
	哺育 7日	18.5	18.1	18.3	18.7	19.0	19.8	19.0	18.6
	哺育 14日	37.8	38.7	37.2	37.9	38.7	39.3	37.7	37.8
	哺育 21日	62.5	63.7	59.4*	62.3	63.4	64.7	62.4	61.5
	雌: 哺育 0日	6.6	6.7	6.4	6.5	6.7	6.8	6.7	6.6
	哺育 4日	10.8	11.2	10.8	10.8	11.3	11.7	11.1	11.1
	哺育 7日	17.5	18.2	17.5	17.9	18.1	18.8	18.1	17.8
	哺育 14日	35.1	37.2	35.5	36.5	37.3	37.7	35.9	36.0
哺育 21日	59.4	60.4	56.6*	59.5	60.2	60.6	58.8	57.7	
肉 眼 的 病 理 検 査	検 査 仔 数 (4日)	125	143	113	131	134	98	114	100
	胸 腺 頸 部 残 留	2	8	4	2	0	1	1	1
	肝 臓 白 斑	0	0	3	0	0	1	0	0
	肝 中 葉 萎 縮	0	0	0	0	0	1	0	0
	腎 盂 拡張	2	0	0	0	3	1	2	1
	水 腎 症	0	0	0	0	1	0	0	0
	尿 管 拡張	0	0	0	0	2	0	0	0
	検 査 仔 数 (離乳)	142	142	124	138	179	172	164	180
	胸 腺 頸 部 残 留	0	0	0	0	4	4	5	6
	右 眼 壊 死	1	0	0	0	0	0	0	0
	脱 毛	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎 盂 拡張	13	4*	5	8	12	9	8	12
	右 精 巢 無 発 生	0	0	0	1	0	0	0	0
小 精 巢	0	0	0	0	1	0	0	1	

註 *: p < 0.05 **: p < 0.01 ***: p < 0.001
 (体重: Studentのt検定 性比、病理検査: Fisherの直接確率計算法)

親動物の臨床症状、体重及び飼料摂取量に対する検体の影響は、30ppm群では何もみられなかった。この投与群ではF₀世代の雌最終体重が有意に低かったが、F₁世代ではこの様な変化はなく、偶発的な変動と考えられる。100ppm群ではF₁世代の雄の投与5~7週、雌の哺育7、14日の体重で有意な増加抑制が認められた。300ppm群では、F₀及びF₁世代の雌雄の体重が対照群値を下回り、いずれの世代においても投与中期から後期にかけて対照群との間で統計的に有意な差が認められた。また、F₀世代の雄では、投与1週と4週で飼料摂取量にも有意な低値が認められた。

親動物の病理学的検査では、300ppm群においてF₀世代の雌とF₁世代の雌雄で脾臓の暗調化が有意に高く認められ、病理組織検査では脾臓の褐色色素沈着増加と靨血が有意に高く認められた。この他に、雄の肝臓重量の変化として、F₀世代では100及び300ppm群で体重比、F₁世代では300ppm群で絶対重量と体重比とも有意な上昇が認められた。脾臓と肝臓にみられた異常は、マウスにおける13週間亜急性経口毒性試験においても同様な結果が得られていることから、検体投与に関連した変化であると考えられる。その他の臓器における重量の変化は、世代間又は投与用量との間で一定した関係が認められないことから、いずれも偶発的な変動と考えられた。

親動物の繁殖能力に対する影響は、いずれの投与群にも認められなかった。仔動物の観察においても、臨床症状、生存率、体重及び剖検所見といった指標に、異常は何もみられなかった。100ppm群では雌雄のF₁哺育仔の哺育21日における体重が有意に低かったが、用量相関性がなく偶発的な変動と考えられた。

以上の結果から、検体の親動物に対する一般毒性的な影響についてみると、30ppm（雄：2.3mg/kg/日、雌：2.6mg/kg/日）は無毒性量、100ppm（雄：7.6mg/kg/日、雌：8.7mg/kg/日）は最小中毒量、300ppm（雄：23.2mg/kg/日、雌：26.5mg/kg/日）は確実中毒量であると考えられる。一方、検体の繁殖能力及び仔動物に対する影響についてみると、親動物に対する確実中毒量であると考えられる300ppm（雄：23.2mg/kg/日、雌：26.5mg/kg/日）の用量においても異常は何も認められず、この用量が無毒性量であると判断される。

(2) 催奇形性

1) ラットにおける催奇形性試験

(資料 32)

試験機関：
[GLP対応]
報告書作成年：1989年

検体の純度： %

試験動物：SD系 (CrL : CD) 妊娠ラット (8～10週齢：体重 155～208g)
供試数1群30匹

試験期間：20日間 (1988年8月18日動物入荷日～1988年9月6日動物処理終了日)

試験方法：検体を0.5%SCMC (ソディウム・カルボキシメチルセルロース) 水溶液に懸濁し、0、15、60、240mg/kgの投与量で妊娠6日より15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には0.5%SCMC水溶液を同様に投与した。なお、臏栓または臏垢内に精子の認められた日を妊娠0日とした。

検査項目：

母動物：一般状態及び生死について毎日観察した。

体重は妊娠2、3、6、8、10、12、14、16、18、20日に測定し、飲水量は妊娠の7、9、11、13、15、17、19日、また、摂餌量は妊娠の2、5、7、9、11、13、15、17、19日に測定した。

妊娠20日後に屠殺帝王切開し、脾臓重量を測定し、黄体数、着床数、生存胎仔数及び死亡吸収胚数を調べた。

生存胎仔：性別を調べ体重を測定し、外表異常の観察を行った。

生存胎仔の半数例について内臓異常の有無を検査し、更に残りの生存胎仔は骨格標本を作製後、骨格異常の有無を検査した。

試験結果:

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照群)	15	60	240
1 群当りの動物数		30	30	30	30
母	脱毛	6	10	6	25
	皮膚形成	1	1	2	3
	尾先端欠損	0	0	1	0
	眼排泄物	0	0	0	2
	不全妊娠	5	2	1	1
	全胚吸収	0	0	0	1
	死亡率	0	0	0	0
	妊娠 2日	186.3	185.9	187.6	186.1
	妊娠 6日	221.9	218.8	220.8	218.4
	妊娠 10日	247.8	242.0	239.8	229.3
体 重 (g)	妊娠 14日	277.0	270.1	265.7	252.1
	妊娠 18日	320.9	314.5	309.7	296.3
	妊娠 20日	351.2	343.8	339.2	323.3
	妊娠 6~7日	31.7	34.4	41.5**	67.2**
	妊娠 8~9日	32.5	35.6	41.6**	64.2**
	妊娠 10~11日	35.3	40.4	44.2**	55.0**
飲水量 (g/rat/day)	妊娠 12~13日	36.8	42.2*	44.8**	52.4**
	妊娠 14~15日	38.3	45.2	46.9**	57.3**
	妊娠 16~17日	43.0	48.7**	50.3**	52.4**
	妊娠 18~19日	43.7	49.1	50.5*	49.5*
	妊娠 2~5日	21.5	21.5	21.6	21.1
	妊娠 6~9日	24.3	23.6	21.7**	20.2**
動物 摂餌量 (g/rat/day)	妊娠 10~15日	26.2	26.3	25.7	24.5*
	妊娠 16~19日	28.8	29.1	29.5	29.7
	妊娠率 (%)	83.3 (25/30)	93.3 (28/30)	96.7 (29/30)	96.7 (29/30)
	動物 体毛減少	2	1	1	4
剖 検 所 見	脱毛	0	3	2	20
	眼網膜出血	1	0	0	0
	卵巣のう胞	1	0	0	0
	腎盂拡張	1	1	2	0
	皮膚形成	1	1	1	1
	腹腔内黄色瘤	0	1	0	0
	脾臓黄色結節のう胞	0	1	0	0
	脾臓暗黒化	0	0	2	18
	子宮膨張	0	0	1	3
	子宮拡張	0	0	1	0
尾先端欠損	0	0	1	0	
膀胱壁薄化白色結節	0	0	1	0	
リンパ節腫大	0	0	0	1	
皮膚軟膨潤	0	0	0	1	
膈前庭膨張	0	0	0	1	

註 * : p < 0.05 ** : p < 0.01 (Williamsの検定)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照群)	15	60	240
母 動 物	検査親動物数	25	28	29	28
	着床所見				
	黄体数	13.5	12.9	13.2	13.1
	着床数	12.5	11.6	11.7	11.9
	生存胎仔数	11.6	10.9	10.6	10.2
	前期死亡吸収胚数 (%)	0.8 (6.4)	0.7 (6.0)	1.0 (8.5)	0.8 (6.7)
	後期死亡吸収胚数 (%)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.1 (0.9)	1.0 (8.4)*
	脾臓重量 (g)	0.62	0.63	0.85**	1.22**
胎	胎仔体重 (g)	3.21	3.27	3.22	2.99'
	性比 ^b	0.509	0.557	0.539	0.485
	外表異常検査胎仔数	291	304	307	286
	外表異常胎仔数 (%)	1 (0.3)	0 (0.0)	1 (0.3)	6 (2.1)
	小 / 無眼球症	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	1 (0.3)
	皮膚欠如 / 無眼瞼症	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	膈ヘルニア	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	短指 / 短肢	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (1.4)
	前肢彎曲	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	網膜出血	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	皮下出血	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
仔	内臓異常検査胎仔数 (異常)	141	151	152	135
	(奇形)	144	151	153	141
	異常胎仔数 (%)	12 (8.5)	10 (6.6)	14 (9.2)	15 (11.1)
	脳硬膜下出血	2 (1.4)	3 (2.0)	2 (1.3)	1 (0.7)
	脳室内出血	0 (0.0)	1 (0.7)	2 (1.3)	2 (1.5)
	脳室拡張亢進	0 (0.0)	1 (0.7)	3 (2.0)	1 (0.7)
	眼窩洞拡張	0 (0.0)	1 (0.7)	1 (0.7)	0 (0.0)
	前眼房出血	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.7)
	前肢皮下出血	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	腹腔内出血	1 (0.7)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.7)
	無名動脈欠如	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)
	下方大動脈部分重複大動脈	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)
	大動脈弓から頸動脈の起始変異	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)
	肝臓葉内出血	1 (0.7)	1 (0.7)	1 (0.7)	0 (0.0)
	腎盂拡張亢進	6 (4.3)	2 (1.3)	3 (2.0)	6 (4.4)
	子宮拡張	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.7)
	精巣の中心線変異	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	1 (0.7)
	奇形異常胎仔数 (%)	3 (2.1)	0 (0.0)	1 (0.7)	6 (4.3)
	小 / 無眼球症	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	1 (0.7)
	網膜不整	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)
心房 / 心室中隔欠損	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.1)	
心臓欠損	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.4)	
膈 / 横隔膜ヘルニア	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.1)	
中軸性多指症	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	

註 * : p < 0.05 ** : p < 0.01
 (着床所見、胎仔重量 : Kruskal-Wallisの検定 脾臓重量 : Williamsの検定)
 a : 1腹当りの平均数 b : 雄胎仔数 / 生存胎仔数

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照群)	15	60	240	
胎	骨格異常検査胎仔数 (異常)	147	152	154	137	
	(変異)	147	152	154	137	
	(奇形)	147	153	154	145	
	異常胎仔数 (%)	31 (21.1)	33 (21.7)	36 (28.4)	46 (33.6)	
	後頭骨化骨減少	5 (3.4)	5 (3.3)	2 (1.3)	5 (3.6)	
	頭頂間骨化骨減少	2 (1.4)	5 (3.3)	1 (0.6)	7 (5.1)	
	頭蓋骨中央部化骨減少	0 (0.0)	5 (3.3)	4 (2.6)	4 (2.9)	
	頸椎椎弓化骨減少	2 (1.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (4.4)	
	頸肋骨	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	3 (2.2)	
	胸椎椎体異常	3 (2.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.7)	
	胸椎椎体減少	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	胸椎二分椎体	4 (2.7)	1 (0.7)	2 (1.3)	0 (0.0)	
	胸椎突起部細鋭化椎体	1 (0.7)	0 (0.0)	2 (1.3)	4 (2.9)	
	胸椎部分椎体欠損	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	
	異常 / 扁平胸骨	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.5)	
	異常 / 扁平胸骨核	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (6.6)	
	胸骨核癒合	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (3.6)	
	短肋骨	0 (0.0)	4 (2.6)	3 (1.9)	3 (2.2)	
	仔	肋骨欠如	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.5)
		非対称 / 肋軟骨癒合	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.6)	2 (1.5)
腰椎突起部細鋭化椎体		0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	
腰椎椎弓化骨減少		0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	
仙尾椎椎弓化骨減少		20 (13.6)	23 (16.4)	25 (16.2)	18 (13.1)	
恥骨化骨減少または無化骨		7 (4.8)	5 (3.3)	4 (2.6)	3 (2.2)	
骨盤帯化骨減少		1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.6)	1 (0.7)	
座骨化骨減少		1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	
前仙骨椎体減少		0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.7)	
前仙骨椎体過剰		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	
動		中手骨/足根骨減少並に無化骨	2 (1.4)	3 (2.0)	1 (0.6)	2 (1.5)
		異常				
		13 肋骨	145 (98.6)	150 (98.7)	153 (99.4)	132 (96.4)
		14 肋骨	2 (1.4)	2 (1.3)	1 (0.6)	5 (3.6)
		胸骨核化骨不全	98 (65.3)	98 (64.5)	81 (52.4)	96 (70.1)
		胸骨核減少	56 (38.1)	56 (36.8)	65 (42.2)	60 (43.8)
		非対称 / 二分胸骨核	3 (2.0)	5 (3.3)	7 (4.5)	8 (5.8)
		胸骨核変異	128 (87.1)	124 (81.6)	121 (78.6)	118 (86.1)
		奇形異常胎仔数 (%)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	8 (5.5)
		皮膚欠如 / 無眼瞼症	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)
物	頭蓋骨中央部著しい化骨減少	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	
	口蓋裂	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	
	頸椎前彎症	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.8)	
	肋骨歪曲	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	7 (4.8)	
	膀胱欠如	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	
	臍ヘルニア / 腹壁薄化	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.4)	
	肩甲骨 / 尺骨奇形	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.1)	
	前肢彎曲	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	
	短指 / 短肢	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.8)	

註 * : p < 0.05 ** : p < 0.01

母動物：240mg/kg群では、体毛減少/痂皮形成の増加、飲水量の有意な増加、投与初期の摂餌量減少及び体重増加抑制、脾臓重量の有意な増加及び暗調化、1例に全吸収がみられた。

60mg/kg群では、飲水量の有意な増加、投与初期の摂餌量減少及び体重増加抑制、脾臓重量の有意な増加がみられた。

15mg/kg群では、投与初期に飲水量の軽度な増加と体重増加量の軽度な減少がみられた。

胎仔動物：240mg/kg群では、平均胎仔重量の有意な減少及び後期胎仔死亡率の増加がみられた。

60及び15mg/kg群では、検体によると思われる明かな影響は認められなかった。

以上の結果より、検体を240mg/kg/日の用量で投与した場合、母動物及び胎仔動物に明かな毒性が認められ、15mg/kg/日の用量でも母動物に明かな無毒性量は認められなかったが、その影響は極軽微であった。従って、本試験条件下では、母動物に対する無毒性量は推定できなかったが、胎仔動物に対する無毒性量は60mg/kg/日と判断される。

2) ラットにおける催奇形性試験

(資料 33)

試験機関:

(GLP対応)

報告書作成年: 1991年

検体の純度: %

試験動物: SD系 (Crj: CD) 妊娠ラット (11週齢: 体重 229~285g)

供試数 1群 22匹

試験期間: 23日間 (1990年8月20日交配開始日~1990年9月12日帝王切開終了日)

試験方法: 検体を0.5% CMC-Na (カルボキシメチルセルロース・ナトリウム) 水溶液に懸濁し、0、5、30、150mg/kgの投与量で妊娠6日より15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には0.5% CMC-Na水溶液を同様に投与した。なお、臍垢内に精子の認められた日を妊娠0日とした。

検査項目:

母動物: 一般状態及び生死について毎日観察した。

体重は、妊娠0、6、9、12、15及び20日に測定し、摂餌量及び飲水量を妊娠0、6、9、12、15、20日にそれぞれ測定した。

妊娠20日後に屠殺帝王切開し、子宮及び脾臓重量を測定し、黄体数、着床数、生存胎仔数及び着床後死亡胚数を調べた。

生存胎仔: 性別、体重及び外表異常の観察を行った。

生存胎仔の各腹の約半数例について内臓異常の有無を検査し、残りの生存胎仔は骨格標本を作製して、骨格異常の有無を検査した。

試験結果:

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照群)	5	30	150	
1群当りの動物数		22	22	22	22	
母	一般状態 四肢または腹部 脱毛	2	1	1	1	
	死亡率	0	0	0	0	
動物	妊娠 体重 (g)	0日	254	254	254	254
		6日	287	289	288	280
		9日	302	301	295	285*
		12日	316	317	309	296**
		15日	334	337	326	314*
		20日	410	415	404	395

註 *: p < 0.05 **: p < 0.01 (多重比較検定)

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

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照群)	5	30	150	
母	妊娠 6日	0	0	0	0	
	体重増加量 (g)	9日	14	12	7**	-5**
		12日	29	29	21**	7**
		15日	47	49	39*	25**
		20日	122	127	116	105**
動	妊娠 6日	23.5	23.9	24.1	24.2	
	摂餌量 (g/rat/day)	9日	23.7	23.9	21.4	16.4**
		12日	24.3	24.6	22.5	19.5**
		15日	23.5	24.1	22.2	20.7**
		20日	25.8	26.0	25.9	26.3
動物	妊娠 6日	37.7	38.0	39.9	37.4	
	飲水量 (g/rat/day)	9日	38.6	39.8	41.8	42.6
		12日	42.3	43.5	46.0	49.1
		15日	45.7	47.9	50.9	57.3**
		20日	52.6	54.8	59.1	61.9*
妊娠率 (%)		100.0 (22/22)	100.0 (22/22)	95.5 (21/22)	86.4 (19/22)	
剖検所見		異常なし	異常なし	異常なし	脾臓暗調化	
動物	a 着床所見	検査親動物数	22	22	21	19
		着床数	17.6	17.9	16.4	17.9
		生存胎仔数	15.6	18.7	15.1	16.1
		合計死亡胚数 (%)	14.7	15.5	14.5	14.2
		前期死亡胚数	1.0 (6.4)	1.2 (7.3)	0.7 (4.2)	1.9 (11.7)
		後期死亡胚数	1.0	1.2	0.6	1.4
		子宮総重量 (g)	0.0	0.0	0.0	0.5**
		脾臓重量 (mg)	75.52	80.17	74.24	71.64
		胎仔体重 (g)	644	732	800*	1312**
		性別	雄	3.29	3.28	3.27
	雌	3.10	3.18	3.11	2.83**	
胎仔動物	性比 b		0.448	0.482	0.444	0.415
	外表異常検査胎仔数		323	342	304	270
	外表異常胎仔数 (%)		1 (0.3)	1 (0.3)	0 (0.0)	6 (2.2)
	口唇裂	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	口蓋裂	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	片側性眼瞼開存	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)	
	小顎症	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	無尾	0 (0.0)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	鎖肛	0 (0.0)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	全身浮腫	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (1.9)	
臍ヘルニア	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (1.5)		
痕跡尾	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)		
皮下出血	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.7)		

註 * : p < 0.05 ** : p < 0.01 (多重比較検定)
a : 1腹当りの平均数 b : 雄胎仔数/生存胎仔数

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照群)	5	30	150	
胎	内臓検査胎仔数	155	163	146	131	
	異常発現胎仔数 (%)	23 (15.6)	23 (14.0)	31 (23.1)	53 (43.8)**	
	変異発現胎仔数 (%)	20 (13.9)	21 (12.8)	27 (20.6)	46 (38.0)**	
	胸腺頸部残留	9 (5.8)	7 (4.1)	15 (12.2)	29 (23.4)**	
	右鎖骨下動脈の大動脈起始	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (5.2)**	
	過剰冠状動脈口	1 (0.5)	4 (2.2)	1 (0.7)	7 (5.4)*	
	左臍動脈	4 (2.9)	1 (0.6)	2 (1.5)	2 (3.2)	
	腎盂の拡張	7 (5.4)	9 (6.9)	9 (6.2)	4 (2.8)	
	奇形発現胎仔数 (%)	4 (2.4)	3 (1.8)	4 (2.5)	13 (11.7)*	
	小脳症	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	肺裂の癒合	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	迷走右鎖骨下動脈	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	分離右心症	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	心室中隔欠損	1 (0.7)	3 (1.8)	4 (2.5)	13 (11.7)**	
	総房室管開存	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	大動脈転位症	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	仔	骨格検査胎仔数	168	179	158	139
		異常発現胎仔数 (%)	20 (11.6)	30 (17.3)	18 (11.7)	52 (41.2)**
		変異発現胎仔数 (%)	20 (11.6)	30 (17.3)	18 (11.7)	46 (35.5)**
		頸椎椎弓横突孔閉鎖	17 (9.5)	26 (15.2)	11 (7.8)	33 (26.3)*
胸椎椎体化骨核分離		1 (0.8)	3 (1.8)	2 (1.1)	3 (1.9)	
腰椎の仙椎化		2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (5.5)	
頸肋骨		0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	2 (1.2)	
14本肋骨		0 (0.0)	2 (1.1)	2 (1.2)	1 (0.8)	
第13肋骨短小		0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.1)	6 (4.5)*	
奇形発現胎仔数 (%)		1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	12 (11.7)*	
環椎弓と後頭骨癒合		1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
頸椎椎弓の癒合		1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
胸骨の癒合		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	
波状肋骨		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (11.0)**	
四肢骨/肩甲骨/鎖骨の屈曲		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (8.1)*	
腰椎・仙椎の欠損		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	
物		化骨進行度				
		頸椎結節・棘突起骨数	0.07	0.17	0.20	0.10
		尾椎棘突起骨数	3.50	3.32	3.55	3.44
		舌骨数	0.88	0.87	0.88	0.79
	下顎切歯骨数	2.00	2.00	2.00	1.97	
	胸骨核分節骨数	5.37	5.38	5.21	4.70**	
	中手骨数	6.86	6.75	7.00	6.72	
	指骨基節骨数	0.14	0.18	0.29	0.14	
	指骨末節骨数	10.00	10.00	10.00	9.87	
	中足骨数	8.00	8.00	7.99	7.95	
	趾骨末節骨数	9.88	9.95	9.95	9.64	

註 * : p < 0.05 ** : p < 0.01 (多重比較検定)

母動物：150mg/kg群で体重、摂餌量の減少、飲水量の増加及び脾臓重量及び暗調化の増加が認められた。その他、後期死亡胚数の増加が見られたが、生存胎仔数では特に減少は認められていないことから、影響は弱いと考えられた。30mg/kg群で体重増加量抑制と脾臓重量（体重比含む）の増加と統計的に有意でないが、飲水量増加の傾向が認められた。5mg/kg群では検体の影響は認められなかった。

胎仔動物：150mg/kg群で胎仔体重の低下、外表検査で全身浮腫、臍ヘルニアの各異常が低頻度ながらみられた。内臓検査では奇形として心室中隔欠損の発生頻度が、変異として右鎖骨下動脈の大動脈起始、過剰冠状動脈口及び胸腺の頸部残留の発生頻度が増加した。

骨格検査では奇形として波状肋骨、四肢骨等の屈曲が観察された他、変異として第13肋骨の短小、頸椎椎弓横突孔閉鎖の発生頻度が増加した。また、化骨進行度検査では胸骨核分節の化骨遅延が認められた。30及び5mg/kg群では、統計的に有意な発現率の増加を示す変化はなく、検体による有意な影響は認められなかった。

以上の結果より、150mg/kg群では明かな母体毒性が認められ、その条件下で胎仔毒性として発育遅延、奇形の発現が認められた。30mg/kg群では母体毒性は認められたが、胎仔への影響は認められなかった。5mg/kg群では母動物及び胎仔動物いずれにも影響は認められなかった。

従って、本試験条件下では検体の母動物に対する無毒性量は5mg/kg、胎仔動物に対する無毒性量は30mg/kgと判断された。

3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 34)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1989年

検体の純度: %

試験動物: ニュージーランド白色種妊娠ウサギ (16~24週齢: 体重 3070~3870g)
供試数1群16匹

試験期間: 36日間 (1988年8月23日 動物入荷~1988年9月28日 動物屠殺)

試験方法: 検体を0.5%SCMC (ソディウム・カルボキシメチルセルロース) 水溶液に懸濁し、0、5、20、80mg/kgの投与レベルで妊娠7日より19日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には0.5%SCMC水溶液を同様に投与した。交配方法は雄と同居させ、交尾を観察した雌に排卵を確実にする為、黄体ホルモンを静注し、交尾の観察された日を妊娠0日とした。

検査項目:

母動物: 一般状態及び生死について毎日観察した。

雌動物の体重は、妊娠1、7、9、11、15、20、24、29日に測定し、また、摂餌量は妊娠6、8、10、14、19、23、28日に測定した。

妊娠29日後に屠殺帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎仔数及び死亡吸収胚数を検査した。

生存胎仔: 性別を調べ体重を測定し、外表異常の観察を行った。

生存胎仔について内臓異常の有無を検査し、更に骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果：

投与群 (mg/kg/日)		0 (対照群)	5	20	80
1 群当りの動物数		16	16	16	16
母	排糞減少異常	8	8	10	11
	体温低下 (耳冷)	10	9	12	10
	脱毛	2	3	3	3
	一般状態 鼻汁/口曲り	0	1	0	0
	軽度下血	0	0	2	1
	眼瞼蒼白	0	0	0	1
	尾異常	0	0	0	1
	不妊	3	1	2	0
	評価対象外 流産	0	0	1	0
	屠殺(投与ミス) 全胚吸収	0	1	0	1
死亡率 (数)	0 (0/16)	6.25 (1/16)	0 (0/16)	6.25 (1/16)	
動物	妊娠 1日	3.45	3.39	3.36	3.42
	7日	3.59	3.51	3.50	3.60
	9日	3.59	3.54	3.49	3.61
	体重変化 (kg) 11日	3.63	3.57	3.53	3.64
	15日	3.77	3.74	3.68	3.83
	20日	3.80	3.74	3.73	3.86
	24日	3.89	3.84	3.80	3.90
	29日	4.02	3.96	3.93	4.04
摂餌量 (g/rabbit/ day)	1~6日	142	162	143	170*
	7~8日	163	156	151	151
	9~10日	153	153	152	150
	11~14日	150	153	138	144
	15~19日	166	155	149	160
	20~23日	154	145	146	153
	24~28日	147	133	138	146
妊娠率 (数)	81.3 (13/16)	93.8 (15/16)	87.5 (14/16)	100.0 (16/16)	
剖検所見	脱毛	2	2	3	4
	口唇の腫脹	0	1	0	0
	皮毛汚染	0	0	1	0
	爪欠如	0	0	0	1
	肺：癒着/結節 /肋骨骨折	1	0	0	0
	脾臓肥大	0	1	0	0
	腎臓局所/蒼白 部/瘢痕/のう胞	5	2	1	2
	胆のう二分	1	0	0	0
	盲腸液状内容物	0	0	1	0
	子宮緊縮/肥厚	0	0	1	0

注 * : p < 0.05 ** : p < 0.01 (Williamsの検定)

投与群 (mg/kg/日)		0 (対照群)	5	20	80
母動物	a 検査動物数	13	14	13	14
	着床体数	12.1	11.3	10.9	10.2
	着床数	10.0	8.9	8.5	8.1*
	生存胎仔数	8.1	7.7	7.8	6.8
	死亡吸収胚数 (%)	1.9 (19.0)	1.2 (13.5)	0.8 (9.4)	1.4 (17.3)
胎仔	胎仔体重 (g)	46.1	46.2	45.7	47.5
	性比 b	0.514	0.564	0.497	0.548
胎仔	奇形検査胎仔数	105	108	99	93
	奇形胎仔数 (%)	0 (0.0)	3 (3.4)	3 (2.9)	2 (1.8)
	異常検査胎仔数	105	105	96	91
	肉眼/内臓異常胎仔数 (%)	5 (4.8)	1 (1.2)	6 (6.6)	3 (3.1)
	骨格異常胎仔数 (%)	15 (13.0)	12 (9.3)	15 (15.7)	3 (4.0)
	外表奇形 (%)				
	二分脊椎	0 (0.0)	2 (1.9)	0 (0.0)	1 (1.1)
	両側性前肢彎曲	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
	後肢異常回転	0 (0.0)	1 (0.9)	0 (0.0)	1 (1.1)
	内臓異常 (%)				
胎仔	肺退色	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (3.1)	0 (0.0)
	肺拡張不全	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.1)
	大動脈弓動脈起始変位	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.1)
	肝臓葉異形	2 (1.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.1)
	肝臓に影響する皮下のう胞	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
	胆のう二分	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
	腎臓出血性皮下のう胞	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	卵巣のう胞	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	内臓奇形 (%)				
	胎仔	右鎖骨下動脈起始異常	0 (0.0)	1 (0.9)	0 (0.0)
心室中隔欠損		0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
大動脈・大動脈弓拡張		0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
肺幹狭窄		0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
前肢彎曲		0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
後肢異常回転		0 (0.0)	1 (0.9)	0 (0.0)	1 (1.1)
骨格異常 (%)					
頭頂骨未化骨・不規則		0 (0.0)	1 (1.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
縫合骨		2 (1.9)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
頭蓋骨中央部癒合		6 (5.7)	3 (2.9)	3 (3.0)	0 (0.0)
胎仔	椎体癒合	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
	椎体化骨不全	2 (1.9)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
	椎弓化骨不全	0 (0.0)	4 (3.8)	3 (3.0)	1 (1.1)
	半椎体	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
	頭肋骨	1 (1.0)	0 (0.0)	3 (3.0)	0 (0.0)
	胸骨核癒合	2 (1.9)	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (1.1)
	胸骨核過剰	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	1 (1.1)
	脊椎部分的欠損	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	椎弓縮小	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	肋骨化骨不規則	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

注 * : p < 0.05 ** : p < 0.01 (Kruskal-Wallisの検定)
a : 1腹当りの平均数 b : 雄胎仔数/生存胎仔数

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

投与群 (mg/kg/日)		0 (対照群)	5	20	80
胎	肋骨欠損	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	肋軟骨不規則	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	1 (1.1)
	軽度な側彎症	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	尾側椎体分裂	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
	爪/指骨未化骨・不全	1 (1.0)	2 (1.9)	0 (0.0)	0 (0.0)
仔	骨格変異 (%)				
	13 肋骨	39 (37.1)	56 (53.3)	31 (32.3)	31 (34.1)
	14 肋骨	66 (62.9)	49 (46.7)	65 (67.7)	60 (65.9)
動物	胸骨核変異	23 (21.9)	14 (13.3)	21 (21.9)	17 (18.7)
	骨格奇形 (%)				
	胸椎側彎症/半椎体/肋骨欠損/椎弓減少/椎体欠損	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
	腰椎/仙尾椎二分椎体	0 (0.0)	2 (1.9)	0 (0.0)	1 (1.1)

注 * : P<0.05

** : P<0.01

母動物：高用量80mg/kg/日群においても、臨床症状、死亡率、体重、摂餌量、剖検及び妊娠率で対照群に比べ有意な用量依存的変化は認められなかった。

80mg/kgで、妊娠15～24日に体重増加量が僅かに減少したが、最終的には対照群と変化はなかった。

高用量で着床数のみ有意な減少が認められたが、これは投与の前であり投与による着床所見では、黄体数、生存胎仔数及び死亡吸収胚数においては対照群に比べ有意な用量依存的変化は認められなかった。

胎仔動物：高用量80mg/kg/日群においても、胎仔平均体重、性比、外表検査、内臓及び骨格検査で、対照群に比べ奇形、異常等の有意な用量依存的変化は認められなかった。

以上の結果より、検体を80mg/kg/日の用量で投与した場合、母動物に対し着床数の有意な減少が認められたが、20mg/kg/日の用量では、検体によると思われる影響は胎仔に対してなら認められなかった。従って、本試験条件下では、母動物における無毒性量は20mg/kg/日であり、胎仔に対しては80mg/kg/日でも、その生育及び僅奇形性は認められなかった。

4) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 35)

試験機関：
〔GLP対応〕
報告書作成年：1991年

検体の純度： %

試験動物：日本白色種ウサギ (SPF) (18週齢：体重 3.513～4.605kg)
供試数 1群 18匹

試験期間：35日間 (1990年8月6日 交配開始日～1990年9月10日 帝王切開終了日)

試験方法：検体を1.0% CMC-Na (カルボキシメチルセルロース・ナトリウム) 水溶液に懸濁し、0、10、30、100mg/kgの投与量で妊娠6日より18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には1.0% CMC-Na水溶液を同様に投与した。交配方法は人工授精法を用い、授精の翌日を妊娠0日とした。

検査項目：

母動物：一般状態及び生死について毎日観察した。

体重は、妊娠0日、6日から18日の毎日、24及び27日に測定し、摂餌量は妊娠の0日から27日まで2日ごとに測定した。

妊娠27日後に屠殺帝王切開し、子宮 (胎仔含む)、卵巢及び胎盤の重量を測定し、黄体数、着床数、生存胎仔数及び死亡吸収胚数を調べた。

生存胎仔：性別を調べ体重を測定し、外表異常の観察を行った。

生存胎仔について内臓異常の有無を検査し、更に骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果：

投与群 (mg/kg/日)		0 (対照群)	10	30	100
1 群当りの動物数		18	18	18	18
母	脱毛	1	4	3	0
	痂皮	0	0	1	0
	軟便	0	0	1	0
	全吸収	2	1	0	0
	血尿	1	1	0	0
	評価対象不妊	0	0	1	0
	除外外傷性麻痺	0	1	0	0
	舌損傷	0	0	1	0
	真性半陰陽	0	0	0	1
	死亡率 (数)	0	0	0	0
体 重 (kg)	妊娠 0日	3.89	3.84	3.83	3.85
	6日	4.02	3.97	3.94	3.96
	12日	4.10	4.04	4.01	4.05
	18日	4.17	4.13	4.11	4.15
	24日	4.29	4.25	4.21	4.23
	27日	4.29	4.33	4.23	4.26
摂 餌 量 (g/rabbit/日)	4~6日	186	190	181	185
	8~10日	171	165	168	163
	12~14日	151	156	154	151
	16~18日	155	161	163	157
	20~22日	143	138	137	138
	24~26日	85	108	81	109
妊娠率 (数)	88.9 (16/18)	94.4 (17/18)	94.4 (17/18)	94.4 (17/18)	
剖 検 所 見	肝臓黄色化	2	0	0	0
	胃毛球	3	0	3	2
	腎臓のう胞形成	0	1	0	1
	子宮羊水暗黒色化	0	0	0	1
。 着床所見	検査親動物数	16	16	16	17
	黄体数	12.4	12.1	11.3	12.0
	着床数	10.8	10.9	9.3	9.1
	生存胎仔数	9.8	9.8	8.4	7.8
死亡吸収胚数 (%)	1.06 (9.8)	1.13 (10.1)	0.81 (7.6)	1.35 (14.0)	
子宮総重量 (g)	513	532	479	457	
胎盤重量 (mg)	4814	4697	5377	5365	
胎 仔 動 物	胎仔体重 (g) 雄	36.8	37.9	39.3	37.7
	雌	36.3	38.0	38.6	39.9
	性 比 ^a	0.545	0.462	0.452	0.485
外 表 異 常 検 査 胎 仔 数	外表異常検査胎仔数	156	156	135	132
	外表奇形胎仔数 (%)	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)
	髓 膜 瘤	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	小 眼 球 症	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	臍 帯 ヘル ニ ア	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)

注 * : p < 0.05 ** : p < 0.01
a : 1腹当りの平均数 b : 雄胎仔数/生存胎仔数

投与群 (mg/kg/日)	0 (対照群)	10	30	100
内臓異常検査胎仔数	156	156	135	132
変異胎仔数 (%)	3 (1.9)	6 (3.8)	4 (3.0)	4 (3.0)
胸腺頸部残留	2 (1.3)	5 (3.2)	4 (3.0)	4 (3.0)
腎盂拡張	1 (0.6)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
奇形胎仔数 (%)	2 (1.3)	0 (0.0)	1 (0.7)	4 (3.0)
大脳減形成	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
心室中隔欠損を伴う 動脈幹遺残	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	1 (0.8)
右肺葉癒合	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)
停留精巣	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.3)
骨格異常検査胎仔数	156	156	135	132
変異胎仔数 (%)	66 (42.3)	52 (33.3)	43 (31.9) *	32 (24.2) **
頸肋骨	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)
胸骨非対称	1 (0.6)	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)
胸骨分離	0 (0.0)	5 (3.2) *	1 (0.7)	0 (0.0)
腰肋骨	64 (34.6)	36 (13.1) *	28 (20.7) *	25 (18.9) **
仙椎前骨化数	11 (7.1)	11 (7.1)	13 (9.6)	7 (5.3)
奇形胎仔数 (%)	5 (3.2)	1 (0.6)	5 (3.7)	2 (1.5)
鼻骨・前頭骨・頭頂骨 分離	2 (1.3)	0 (0.0)	3 (2.2)	0 (0.0)
前頭骨・頭頂骨・頭頂間 骨・上後頭骨欠損	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
頸椎椎体骨化核分離	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)
肋骨分岐	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)
胸骨癒合	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	1 (0.8)
脊椎側彎症	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
尾椎癒合	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)

注 * : P<0.05 ** : P<0.001 (Fisherの直接確率計算法)

母動物：全投与群において、体重、摂餌量等を含め検体による明かな影響は見られなかったが、先に実施した用量設定試験の結果から考えると、この試験で用いたロットの動物が、検体の毒作用に対してやや感受性が低かった為であろうと考えられる。

胎仔動物：全投与群において、検体投与による明かな影響は認められなかった。

骨格検査で見られる有意な変動は、用量相関性のない増加又は対照群の偶発的な発生頻度の高値による減少であり、いずれも被験物質の投与に関するものではないと考えられた。

以上の結果より、この試験では100mg/kgの用量は母動物に対する無毒性量であると考えられるが、用量設定試験の結果と併せて考えると、この100mg/kgは妊娠動物に対する本検体の毒作用の閾値であり、催奇形性に用いる高用量としては、ほぼ限界に近い量であると考えられる。

この用量は胎仔に対して無毒性量であり、催奇形性は陰性であると結論される。

9. 変異原性

(1) 遺伝子突然変異原性

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料36)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1988年

検体の純度： %

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株及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*を用いラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素 (S-9) の存在下及び非存在下で、Amesら、の方法で変異原性を検定した。
検体はDMSOに溶解して用いた。

結果： 次表のとおりである。

【1回目】

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ plate)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate (平均値 \pm SD)						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	TA1538	
対照	DMSO	-	106 \pm 12.9	10 \pm 1.7	58 \pm 3.5	25 \pm 4.0	11 \pm 4.5	18 \pm 3.6	
検 体	イミベンコ ナゾール	312.5	-	101 \pm 14.7	10 \pm 1.5	56 \pm 10.3	15 \pm 1.2	10 \pm 0.6	14 \pm 1.7
		625.0	-	87 \pm 10.4	10 \pm 4.2	59 \pm 10.7	14 \pm 1.5	8 \pm 1.5	9 \pm 1.0
		1250.0	-	98 \pm 9.8	8 \pm 0.6	55 \pm 3.0	19 \pm 2.6	12 \pm 2.0	11 \pm 3.6
		2500.0	-	86 \pm 7.6	10 \pm 1.0	51 \pm 2.3	15 \pm 1.5	8 \pm 1.2	8 \pm 2.5
		5000.0	-	98 \pm 9.1	7 \pm 1.5	62 \pm 3.1	10 \pm 4.6	8 \pm 1.5	12 \pm 2.9
陽 性 対 照	ENNG	2.0	-			1071 \pm 0.6			
		3.0	-	428 \pm 74.5					
		5.0	-		422 \pm 91.7				
対 照	NF	1.0	-				89 \pm 5.5		
		2.0	-						59 \pm 9.5
	9AC	80.0	-					2250 \pm 186.3	
対照	DMSO	+	122 \pm 2.3	13 \pm 3.2	60 \pm 12.6	21 \pm 2.5	14 \pm 3.5	11 \pm 1.5	
検 体	イミベンコ ナゾール	312.5	+	117 \pm 5.5	8 \pm 1.2	62 \pm 13.4	16 \pm 3.5	12 \pm 0.6	12 \pm 5.9
		625.0	+	111 \pm 6.6	9 \pm 2.1	60 \pm 3.1	20 \pm 3.8	10 \pm 1.7	10 \pm 4.0
		1250.0	+	102 \pm 13.1	9 \pm 4.8	57 \pm 7.4	16 \pm 6.1	9 \pm 3.5	9 \pm 2.3
		2500.0	+	98 \pm 2.6	9 \pm 3.1	64 \pm 9.2	12 \pm 1.5	14 \pm 5.3	14 \pm 3.2
		5000.0	+	78 \pm 12.7	9 \pm 2.5	56 \pm 2.5	9 \pm 1.2	7 \pm 1.2	11 \pm 0.6
陽 性 対 照	AA	0.5	+				225 \pm 37.1		106 \pm 15.7
		1.0	+	479 \pm 24.8					
		2.0	+		147 \pm 4.9			123 \pm 11.9	
		20.0	+			322 \pm 92.2			

注) ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
 NF : 2-nitrofluorene
 9AC : 9-aminoacridine
 AA : 2-aminoanthracene
 * : プレート3枚の平均値
 検体では、1250 $\mu\text{g}/$ plate以上の濃度で結晶析出

【2回目】

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate (平均値 \pm SD)						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	TA1538	
対照	DMSO	-	138 \pm 11.1	15 \pm 1.2	49 \pm 1.5	28 \pm 3.6	13 \pm 0.0	12 \pm 1.5	
検 体	イミベンコ ナゾール	312.5	-	108 \pm 3.2	11 \pm 1.5	55 \pm 5.1	24 \pm 2.6	13 \pm 2.1	13 \pm 0.6
		625.0	-	104 \pm 8.3	14 \pm 2.1	43 \pm 5.1	27 \pm 7.0	15 \pm 4.0	13 \pm 4.0
		1250.0	-	120 \pm 20.7	15 \pm 5.1	42 \pm 8.4	25 \pm 7.1	15 \pm 1.2	12 \pm 2.5
		2500.0	-	109 \pm 12.4	10 \pm 2.5	43 \pm 3.1	22 \pm 2.0	13 \pm 1.0	10 \pm 2.6
		5000.0	-	112 \pm 10.0	10 \pm 2.1	40 \pm 3.5	20 \pm 6.0	10 \pm 3.6	9 \pm 2.1
陽 性 対 照	ENNG	2.0	-			820 \pm 34.0			
		3.0	-	399 \pm 17.0					
		5.0	-		156 \pm 22.3				
対 照	NF	1.0	-				118 \pm 2.1		
		2.0	-						49 \pm 3.5
対 照	9AC	80.0	-					x	
対照	DMSO	+	133 \pm 10.0	14 \pm 2.1	59 \pm 4.0	22 \pm 4.7	16 \pm 1.5	13 \pm 4.0	
検 体	イミベンコ ナゾール	312.5	+	127 \pm 15.3	8 \pm 3.2	62 \pm 3.0	20 \pm 2.5	11 \pm 3.0	12 \pm 5.3
		625.0	+	125 \pm 11.5	12 \pm 2.1	54 \pm 6.7	22 \pm 3.5	12 \pm 1.5	16 \pm 7.8
		1250.0	+	114 \pm 27.4	12 \pm 3.1	60 \pm 8.5	22 \pm 3.1	16 \pm 4.6	14 \pm 3.2
		2500.0	+	100 \pm 16.9	13 \pm 2.1	44 \pm 3.2	22 \pm 3.8	10 \pm 2.0	12 \pm 1.5
		5000.0	+	85 \pm 11.3	9 \pm 1.0	53 \pm 4.4	14 \pm 0.6	11 \pm 2.5	10 \pm 3.2
陽 性 対 照	AA	0.5	+				208 \pm 3.2		145 \pm 2.9
		1.0	+	717 \pm 48.6					
		2.0	+		173 \pm 10.1			111 \pm 14.8	
		20.0	+			360 \pm 41.9			

注) * : プレート3枚の平均値
 X : コロニー数が多すぎて正確なカウントができなかった。
 検体では、1250 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の濃度で結晶析出

代謝活性化S-9の存在の有無にかかわらず、いずれの菌株においても、検体では、対照 (DMSO) に比して復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたENNG、NF、9AC、及びAAでは対照に比し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、イミベンコナゾールは、代謝活性化を含む本試験条件下で変異原性を有しないものと判断される。

(2) 染色体異常誘発性

(資料 37)

1) チャイニーズハムスターの培養 CHO 細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1988年

検体の純度: %

試験方法: チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣組織由来の細胞 (CHO) K1-BH4 株を用いた。

各濃度あたり細胞 200 個の分裂中期像を観察し、染色体の異常をギャップ、切断、交換等に分類して計測した。分裂中期の細胞の 20% 以上に異常を生じた場合に陽性と判定した。

結果: 試験の結果は次表のとおりである。

代謝非活性化法試験（-S-9：6時間処理、24時間で細胞回収）

処 理	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	観察細 胞 数	倍 数 体		染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)								
			出現数	判 定	+ve (g)	染色体分体型		染色体型		その他	合 計		判 定
						ctb	cte	csb	cse		-g	+g	
無 処 理	-	200	6 (3)		2 (1)	0	2 (1)	0	0	5 (2.5)	7 (3.5)	9 (4.5)	
陰 性 対 照 (DMSO)	10 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	400	6 (1.5)		1 (0.25)	2 (0.5)	0	0	0	5 (1.25)	7 (1.75)	8 (2)	
検 体 (イミベンコ ナゾール)	2.0	200	8 (4)	-ve	0	0	0	0	0	2 (1)	2 (1)	2 (1)	-ve
	4.0	200	5 (2.5)	-ve	0	0	0	0	0	0	0	0	-ve
	8.0	200	3 (1.5)	-ve	2 (1)	3 (1.5)	0	0	0	6 (3)	9* (4.5)	10* (5)	-ve
	16.0	200	2 (1)	-ve	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	-ve
	24.0	8	0	-ve	0	0	0	0	0	0	0	0	-ve
陽 性 対 照 (MMC)	0.4	200			16 (8)	60 (30)	81 (40.5)	0	10 (5)	27 (13.5)	122*** (61)	122*** (61)	+ve
陽 性 対 照 (CBDZ-TH)	50.0	200	175*** (87.5)	+ve									

注) *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ で有意差あり (Fisher's test)。

() 内の数値は観察細胞数に対する異常細胞の出現数の割合 (%)。

倍数体 : 27 またはそれ以上の染色体を有する全ての細胞を倍数性細胞として計数した。

g : 同位染色体及び染色体ギャップ

ctb : 染色体分体切断

cte : 染色体分体交換 (複雑型交換及び10以上の異常を持った細胞を含む)

csb : 染色体切断

cse : 染色体交換 (リングを含む)

その他 : 微小断片、染色体断片、細粉化細胞を含む。

-g : ギャップを除く。

+g : ギャップを含む。

-ve : 陰性反応と判断される。

+ve : 陽性反応と判断される。

±ve : 不確かな反応と判断される。

ccpp : cyclophosphamide

CBDZ-TH : carbendazim TH

MMC : mitomycin C

代謝非活性化法試験 (- S-9 : 24 時間処理、24 時間で細胞回収)

処 理	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	観察細 胞 数	倍 数 体		染 色 体 構 造 異 常 細 胞 の 出 現 数 と 頻 度 (%)								
			出現数	判 定	*+g (g)	染色体型		染色体型		その他	合 計		判 定
						ctb	cte	csb	cse		-g	+g	
無 処 理	-	200	9 (4.5)		1 (0.5)	2 (1)	0	0	0	2 (1)	3 (1.5)	3 (1.5)	
陰 性 対 照 (DMSO)	10 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	400	10 (2.5)		1 (0.25)	0	0	0	0	6 (1.5)	6 (1.5)	7 (1.75)	
検 体 (イミベンコ ナゾール)	1.1	200	2 (1)	- ve	1 (0.5)	0	0	0	1 (0.5)	9 (1.5)	4 (2)	5 (2.5)	- ve
	2.3	200	5 (2.5)	- ve	0	0	0	0	2 (1)	2 (1)	2 (1)		- ve
	4.5	200	2 (1)	- ve	0	3 (1.5)	0	0	0	1 (0.5)	4 (2)	4 (2)	- ve
	9.0	200	3 (1.5)	- ve	1 (0.5)	2 (1)	1 (0.5)	0	0	1 (0.5)	4 (2)	5 (2.5)	- ve
	13.5	135	9* (6.21)	- ve	1 (0.74)	0	0	0	0	0	0	1 (0.74)	
陽 性 対 照 (M M C)	0.4	200			10 (5)	52 (26)	122 (61)	0	8 (4)	19 (9.5)	148*** (74)	148*** (74)	+ ve
陽 性 対 照 (CBDZ-TH)	20.0	200	176*** (88)	+ ve									

注) *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ で有意差あり (Fisher's test)。

() 内の数値は観察細胞数に対する異常細胞の出現数の割合 (%)。

倍数体 : 27 またはそれ以上の染色体を有する全ての細胞を倍数体細胞として計数した。

g : 同位染色体及び染色体ギャップ

ctb : 染色体切断

cte : 染色体交換 (複雑型交換及び 10 以上の異常を持った細胞を含む)

csb : 染色体切断

cse : 染色体交換 (リングを含む)

その他 : 微小断片、染色体断片、細粉化細胞を含む。

-g : ギャップを除く。

+g : ギャップを含む。

-ve : 陰性反応と判断される。

+ve : 陽性反応と判断される。

±ve : 不確かな反応と判断される。

ccpp : cyclophosphamide

CBDZ-TH : carbendazim TH

MMC : mitomycin C

代謝非活性化法試験（- S-9 : 48 時間処理、48 時間で細胞回収）

処 理	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	観察細 胞 数	倍 数 体		染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)								
			出現数	判 定	ギャップ (g)	染色体分体型		染色体型		その他	合 計		判 定
						ctb	cte	csb	cse		-g	+g	
無 処 理	-	200	11 (5.5)		1 (0.5)	1 (0.5)	0	0	0	5 (2.5)	8 (3)	7 (3.5)	
陰 性 対 照 (DMSO)	10 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	400	15 (3.75)		4 (1)	1 (0.25)	0	1 (0.25)	1 (0.25)	5 (1.25)	8 (2)	12 (3)	
検 体 (イミベンコ ナゾール)	0.25	200	9 (4.5)	-ve	4 (2)	1 (0.5)	0	1 (0.5)	1 (0.5)	6 (3)	9 (4.5)	13 (6.5)	-ve
	0.50	200	10 (5)	-ve	4 (2)	1 (0.5)	0	0	0	2 (1)	3 (1.5)	7 (3.5)	-ve
	1.00	200	6 (3)	-ve	4 (2)	2 (1)	0	1 (0.5)	0	8 (4)	11* (5.5)	14* (7)	-ve
	2.00	200	11 (5.5)	-ve	3 (1.5)	1 (0.5)	0	1 (0.5)	0	3 (1.5)	5 (2.5)	8 (4)	-ve
	3.00	200	8 (4)	-ve	2 (1)	0	0	1 (0.5)	0	3 (1.5)	4 (2)	6 (3)	-ve
陽 性 対 照 (MMC)	0.10	184			8 (5.97)	55 (41.04)	65 (48.51)	5 (3.73)	7 (5.22)	84 (82.69)	128*** (96.52)	128*** (95.52)	+ve
陽 性 対 照 (DESBE)	5.00	103	90** (87.38)	+ve									

注) *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ で有意差あり (Fisher's test).

() 内の数値は観察細胞数に対する異常細胞の出現数の割合 (%)。

倍数体 : 27 またはそれ以上の染色体を有する全ての細胞を倍数性細胞として計数した。

g : 同位染色体及び染色体ギャップ

ctb : 染色体切断

cte : 染色体交換 (複雑型交換及び10以上の異常を持った細胞を含む)

csb : 染色体切断

cse : 染色体交換 (リングを含む)

その他 : 微小断片、染色体断片、細粉化細胞を含む。

-g : ギャップを除く。

+g : ギャップを含む。

-ve : 陰性反応と判断される。

+ve : 陽性反応と判断される。

±ve : 不確かな反応と判断される。

ccpp : cyclophosphamide

DESBE : diethylstilboestrol

MMC : mitomycin C

代謝活性化法試験 (+ S-9 : 6 時間処理、24 時間で細胞回収)

処 理	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	観察細胞数	倍 数 体		染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)								分裂 指数 (\bar{x} 平均)	
			出現数	判定	ギャップ (g)	染色分体型		染色体型		その他	合 計			判定
						ctb	cta	csb	cse		-g	+g		
無 処 理	-	200	9 (4.5)		0	1 (0.5)	5 (2.5)	0	0	4 (2)	8 (4)	8 (4)		6.6
陰性対照 (DMSO)	10 ($\mu\text{l}/\text{ml}$)	400	28 (7)		4 (1)	4 (1)	6 (1.5)	0	0	10 (2.5)	20 (5)	21 (5.25)		6.3
検 体 (イミベンコ ナゾール)	0.5	200	8 (4)	-ve	2 (1)	1 (0.5)	6 (3)	0	0	11 (5.5)	16 (8)	17 (8.5)	-ve	7.6
	1.0	200	5 (2.5)	-ve	2 (1)	8 (4)	2 (1)	0	1 (0.5)	9 (4.5)	16 (8)	16 (8)	-ve	8.0
	2.0	200	6 (3)	-ve	1 (0.5)	11 (5.5)	14 (7)	0	2 (1)	7 (3.5)	28*** (14)	28*** (14)	-ve	7.5
	4.0	200	8 (4)	-ve	2 (1)	3 (1.5)	4 (2)	0	0	9 (4.5)	15 (7.5)	16 (8.0)	-ve	7.8
	8.0	200	13 (6.5)	-ve	2 (1)	6 (3)	12 (6)	0	1 (0.5)	11 (5.5)	24** (12)	25** (12.5)	±ve	7.5
	12.0	200	8 (4)	-ve	6 (3)	13 (6.5)	10 (5)	0	0	17 (8.5)	32*** (16)	37*** (18.5)	±ve	8.1
陽性対照 (ccpp)	20.0	175			1 (0.57)	15 (8.57)	35 (20)	1 (0.57)	2 (1.14)	70 (40)	86*** (49.14)	87*** (49.71)	+ve	
陽性対照 (CBDZ-TH)	50.0	200	29** (14.5)	+ve										

注) *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ で有意差あり (Fisher's test).

() 内の数値は観察細胞数に対する異常細胞の出現数の割合 (%)。

倍数体 : 27 またはそれ以上の染色体を有する全ての細胞を倍数体細胞として計数した。

g : 同位染色分体及び染色分体ギャップ

ctb : 染色分体切断

cta : 染色分体交換 (複雑型交換及び 10 以上の異常を持った細胞を含む)

csb : 染色体切断

cse : 染色体交換 (リングを含む)

その他 : 微小断片、染色体断片、細胞化細胞を含む。

-g : ギャップを除く。

+g : ギャップを含む。

-ve : 陰性反応と判断される。

+ve : 陽性反応と判断される。

±ve : 不確かな反応と判断される。

ccpp : cyclophosphamide

CBDZ-TH : carbendazim TH

MMC : mitomycin C

代謝活性化法再試験 (+ S-9 : 6 時間処理、24 時間で細胞回収)

処 理	処理濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	観察細 胞 数	倍 数 体		染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)								分 裂 指 数 (\bar{x} 平均)	
			出現数	判定	ギャップ (g)	染色分体型		染色体型		その他	合 計			判定
						ctb	cte	csb	cse		-g	+g		
無 処 理	-	200	14 (7.0)		0	1 (0.5)	0	0	0	3 (1.5)	3 (1.5)	3 (1.5)		
陰 性 対 照 (DMSO)	10 ($\mu\text{l}/\text{ml}$)	400	18 (4.5)			1 (0.25)	8 (2.0)		4 (1.0)	10 (2.5)	18 (4.5)	18 (4.5)		6.8
検 体 (イミベンコ ナゾール)	2	200	5 (2.5)	-ve		1 (0.5)			2 (1.0)	3 (1.5)	5 (2.5)	5 (2.5)	-ve	5.6
	4	200	8 (4.0)	-ve	1 (0.5)	1 (0.5)	7 (3.5)		1 (0.5)	7 (3.5)	12 (6.0)	12 (6.0)	-ve	4.5
	8	200	9 (4.5)	-ve	1 (0.5)	4 (2.0)	11 (5.5)			4 (2.0)	16 (8.0)	16 (8.0)	-ve	2.4
	12	200	0 (0.0)	-ve	0	1 (0.5)	6 (3.0)	0	0	8 (4.0)	14 (7.0)	14 (7.0)	-ve	2.0
	25	200	1 (0.5)	-ve	0	1 (0.5)	2 (1.0)	0	1 (0.5)	1 (0.5)	3 (1.5)	3 (1.5)	-ve	1.4
	50		分析中期像が僅かのため分析せず											0.6
陽 性 対 照 (ccpp)	20	190			0	13 (6.84)	36 (18.95)	0	2 (1.05)	29 (15.26)	50 (26.32)	50 (26.32)	+ve***	
陽 性 対 照 (CBDZ-TH)	50	200	64*** (32.0)	+ve										

注) *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ で有意差あり (Fisher's test).

() 内の数値は観察細胞数に対する異常細胞の出現数の割合 (%)。

倍数体 : 27 またはそれ以上の染色体を有する全ての細胞を倍数性細胞として計数した。

g : 同位染色分体及び染色分体ギャップ

ctb : 染色分体切断

cte : 染色分体交換 (複雑型交換及び 10 以上の異常を持った細胞を含む)

csb : 染色体切断

cse : 染色体交換 (リングを含む)

その他 : 微小断片、染色体断片、細粉化細胞を含む。

-g : ギャップを除く。

+g : ギャップを含む。

-ve : 陰性反応と判断される。

+ve : 陽性反応と判断される。

±ve : 不確かな反応と判断される。

ccpp : cyclophosphamide

CBDZ-TH : carbendazim TH

MMC : mitomycin C

代謝活性化非存在下では、全 3 処理時間において、2 つの例外を除いて、いずれの用量においても、溶媒対照と比較して染色体異常を持つ分裂中期像の出現率に統計的な有意差は認められなかった。

6 及び 48 時間処理の中用量で極く僅かであるが、統計的に有意な ($p < 0.05$) 染色体異常の増加が見られた。その値 (ギャップを除いた場合、各々 4.5 %、5.5 %、ギャップを含めた場合、各々 5 %、7 %) は、当研究所の背景対照値の範囲 (0 ~ 3.75 %) を僅かに越えるものであったが、溶媒対照や無処理の個々の値と

比較すると同じであり、染色体異常誘発性を示すとは考えられなかった。代謝活性化存在下では、2つの高用量と1つの中用量で染色体異常の統計的に有意な増加を示した。しかし、溶媒対照の個々の培養間でも、検体の種々の用量の培養間においても染色体異常に大きな変動があり見掛けの陽性反応を示した。異常に高い溶媒対照の個別値（10%）は検体処理の培養の個別値と同じであり、これらの結果は人為的なものであると考えられ、確認のため再試験を行った。再試験においては、毒性のある用量まで試験したが、いずれの用量でも、染色体異常の統計的に有意な増加は認められなかった。従って、最初の試験で見られた陽性の結果は人為的なものであり、検体処理に関係しないものであると考えられた。

代謝活性化の存在下及び非存在下とも、溶媒対照と比較して倍数性細胞の統計的に有意な増加を示さなかった。例外として、代謝活性化の非存在下、24時間処理の最高用量で倍数性細胞数が有意に（ $p < 0.05$ ）増加した。しかし、この増加は無処理培養の値と比較した場合は有意でなく、倍数体誘発を示唆するものとは考えられなかった。

一方、陽性対照化合物は、いずれの条件下でも染色体異常を持つ分裂中期像の出現率を極めて有意に増加させ、倍数体誘発の極めて有意な反応を示した。

以上の結果から、チャイニーズハムスターのCHO培養細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験で、検体は染色体異常誘発性も、倍数体誘発性もなく、変異原性は陰性であると判断される。

2) マウスにおける小核試験

(資料 38)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1991年

検体の純度: %

試験動物: BDF1系マウス (7週齢: 体重 雄 21.5 ~ 26.3g、雌 17.0 ~ 19.6g)
1群雌雄各5匹

試験方法:

用量設定:

本試験: 検体は0.5% CMC-Na水溶液に懸濁させ1250、2500及び5000mg/kgを1回強制経口投与した。

陽性対照群としてマイトマイシンCを10mg/kg、陰性対照群として検体投与液の溶媒0.5% CMC-Na水溶液20ml/kgを同様に1回経口投与した。

骨髓採取は、検体投与群及び陰性対照群では、投与24、48及び72時間後の3回、陽性対照群では、投与24時間後に1回行った。

各時間に動物を屠殺して大腿骨を摘出し、牛胎仔血清を用いて骨髓細胞を洗い出し、細胞浮遊液を得、ギムザ染色して標本作製した。1動物1枚の標本について、多染性赤血球1000個を観察し、小核を有するものの数を計測した。また同時に1000個の全赤血球を観察し、その中に占める多染性赤血球の割合を求めた。

結果: 試験の結果は次表のとおりである。

採取時間 (時間)	薬物	投与量 (mg/kg)	動物数	MNPCE (%) (平均値±SD)	PCE/(PCE + NCE) (%) (平均値±SD)
24	陰性対照 (0.5% CMC-Na)	0	10	0.14 ± 0.11	56.0 ± 7.9
	検体 (イミベンコ ナゾール)	1250	10	0.23 ± 0.09	61.2 ± 7.7
		2500	10	0.16 ± 0.13	59.2 ± 5.7
		5000	10	0.10 ± 0.09	56.6 ± 7.5
	陽性対照 (マイトマイシンC)	10	10	3.86 ± 0.76***	47.7 ± 4.1*
48	陰性対照 (0.5% CMC-Na)	0	10	0.15 ± 0.14	65.5 ± 5.1
	検体 (イミベンコ ナゾール)	1250	10	0.11 ± 0.07	62.2 ± 9.0
		2500	10	0.21 ± 0.17	66.3 ± 6.3
		5000	10	0.13 ± 0.09	60.0 ± 6.7
72	陰性対照 (0.5% CMC-Na)	0	10	0.19 ± 0.12	62.5 ± 6.9
	検体 (イミベンコ ナゾール)	1250	10	0.09 ± 0.11	69.3 ± 7.0
		2500	10	0.11 ± 0.11	62.9 ± 7.3
		5000	10	0.12 ± 0.12	63.9 ± 6.6

注) MNPCE: 小核を有する多染性赤血球の割合
PCE/(PCE + NCE): 全赤血球 [多染性赤血球 + 正染性赤血球] に占める多染性赤血球の割合
*, ***, **: 陰性対照と比べ $p \leq 0.05$, $p \leq 0.001$ で有意差あり。

いずれの標本作製時間においても、検体投与群の小核を有する多染性赤血球の頻度に有意な増加は認められず、用量依存性も認められなかった。また、多染性赤血球の全赤血球に対する割合に有意な減少はみられず、骨髓細胞の増殖に対して抑制を示さなかった。陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の有意な増加及び多染性赤血球の割合の有意な減少が認められた。

以上の結果より、検体イミベンコナゾールは、骨髓細胞において増殖抑制を示さず、小核も誘発しないものと考えられる。

(3) DNA 損傷誘発性

(資料 39)

細菌を用いた DNA 修復試験

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度: %

試験方法: 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H-17) 及び欠損株 (M-45) を用い、孢子法により、代謝活性化及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

結果: 試験の結果は次表のとおりである。

予備試験

	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disc}$)	非活性化法 (-S-9)			活性化法 (+S-9)		
			阻止円径 (mm)		差 (mm)	阻止円径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17		M-45	H-17	
溶媒対照	DMSO	20 μL	0	0	0	0	0	0
検体	イミペンコ ナゾール	50	0	0	0	0	0	0
		150	0	0	0	0	0	0
		500	0	0	0	0	0	0
		1500	0	0	0	0	0	0
		5000	0	0	0	0	0	0
陰性対照	KM	40	4	4	0			
		80	9	7	2			
		160	25	27	-2			
	SM	100				11	10	1
		200				20	22	-2
	400				37	35	2	
陽性対照	AF-2	0.0005	10	0	10			
		0.001	22	12	10			
		0.002	47	27	20			
	2-AA	5				0	0	0
		10				7	0	7
		20				16	0	16

注) 阻止円径は、生育阻止円の直径から、discの直径10mmを差し引いた値
 検体ではいずれの濃度においても結晶が析出
 KM : Kanamycin
 SM : Streptomycin
 AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide
 2-AA : 2-Aminoanthracene

本試験【1回目】

	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix	M-45		H-17		*** 生存指数
				コロニー数*	生存率(%)*	コロニー数	生存率(%)	
溶媒対照	DMSO	100 μl	-	431	100	129	100	1.00
検体	イミベンコ ナゾール	50	-	430	100	128	99	1.01
		150	-	490	114	157	122	0.93
		500	-	317	74	96	74	1.00
		1500	-	0	0	0	0	-
		5000	-	0	0	0	0	-
陰性対照	KM	40	-	41	10	13	10	1.00
		80	-	9	2	2	2	1.00
		160	-	0	0	0	0	-
陽性対照	AF-2	0.0005	-	303	70	131	102	0.69
		0.001	-	208	48	130	101	0.48
		0.002	-	49	11	128	99	0.11
溶媒対照	DMSO	100 μl	+	544	100	170	100	1.00
検体	イミベンコ ナゾール	50	+	533	98	180	106	0.92
		150	+	495	91	181	106	0.86
		500	+	520	96	182	107	0.90
		1500	+	533	98	178	105	0.93
		5000	+	495	91	156	92	0.99
陰性対照	SM	100	+	78	14	22	13	1.08
		200	+	0	0	0	0	-
		400	+	0	0	0	0	-
陽性対照	2-AA	5	+	467	86	134	79	1.09
		10	+	253	47	130	76	0.62
		20	+	128	24	142	84	0.29

注) 検体では、5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度において結晶が析出

*: プレート2枚の生存コロニー数の平均

** : 溶媒対照に対する生存コロニー数の割合

*** : 生存指数 = M-45の生存率 (%) \div H-17の生存率 (%)

本試験【2回目】

	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix	M-45		H-17		生存指数
				コロニー数	生存率(%)	コロニー数	生存率(%)	
溶媒対照	DMSO	100 μl	-	130	100	172	100	1.00
検体	イミペンコ ナゾール	50	-	135	104	164	95	1.09
		150	-	130	100	178	103	0.97
		500	-	142	109	145	84	1.30
		1500	-	0	0	0	0	-
		5000	-	0	0	0	0	-
陰性対照	KM	40	-	8	6	11	6	1.00
		80	-	0	0	0	0	-
		160	-	0	0	0	0	-
陽性対照	AF-2	0.0005	-	98	75	163	95	0.79
		0.001	-	57	44	185	108	0.41
		0.002	-	26	20	145	84	0.24
溶媒対照	DMSO	100 μl	+	144	100	263	100	1.00
検体	イミペンコ ナゾール	50	+	154	107	266	101	1.06
		150	+	148	103	263	100	1.03
		500	+	151	105	252	96	1.09
		1500	+	150	104	253	96	1.08
		5000	+	141	98	255	97	1.01
陰性対照	SM	100	+	16	11	29	11	1.00
		200	+	3	2	2	1	2.00
		400	+	0	0	0	0	-
陽性対照	2-AA	5	+	147	102	242	92	1.11
		10	+	89	62	253	96	0.65
		20	+	68	47	278	106	0.44

注) 検体では、5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度において結晶が析出

予備試験において、検体では、代謝活性化及び非活性化の条件下で、いずれの濃度でも両菌株に生育阻止は認められなかった。一方、陽性対照の AF-2 及び 2-AA では両菌株の間に顕著な生育阻止円径の差が認められた、また陰性対照の KM 及び SM では、両菌株に同程度の生育阻止が認められた。

本試験においては、検体は、非代謝活性化でのみ高用量で両菌株に毒性を示したが、代謝活性化及び非活性化の条件下で、いずれの濃度でも両菌株の生存率に大差がなく、両菌株間に毒性の本質的な差は認められなかった。陽性対照の AF-2 及び 2-AA では、両菌株の生存率に顕著な差が認められ、また陰性対照の KM 及び SM では、両菌株に同程度の毒性が認められた。

以上の結果から、検体は DNA 損傷の誘発性を有しないものと判断される。

10. 生体機能への影響に関する試験

(1) イミペンコナゾールにおける薬理試験

(資料40)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1990年～1991年

検体の純度：

①マウス及びラットの中樞神経系に対する作用

i) マウスの一般症状 (Irwin試験)

(資料40-1)

供試動物： CD-1系マウス (体重：25～28g) 1群雄4匹

方 法： 検体を0.5%w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、1250、2500及び5000mg/kgを単回経口投与し、行動または自発運動への影響を調べた。

結 果： 2500及び5000mg/kg投与群で投与後30から150分の間に一般的な中枢神経抑制の軽度な症状が見られた。観察された症状は、軽度の無反応、運動性の低下及び警戒性、驚き反応の軽度減少であった。これら症状は、投与後300分までには回復した。

1250mg/kg投与群では、行動または自発運動への影響は認められなかった。

ii) マウスにおける自発運動に及ぼす影響

(資料40-2)

供試動物： CD-1系マウス (体重：21～28g) 1群雄16匹

方 法： 検体を0.5%w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、20～5000mg/kg (全9薬量) を単回経口投与した。

動物の自発運動は、Benwick Electronics Activity Platformを用いて、投与後30分から10分間隔で1時間測定した。

結 果： 156mg/kg以上の薬量で、自発運動の統計学的に有意な減少が観察された。80mg/kg以下の薬量では、自発運動への影響は認められなかった。また、陽性対照として用いた塩酸クロルプロマジンでは、自発運動に対して10mg/kgの薬量で、明らかな統計学的に有意な減少が認められた。

iii) マウスにおけるヘキソバルビタール誘導睡眠時間に与える影響

(資料40-3)

供試動物： CD-1系マウス (体重：23～29g) 1群雄6匹

方 法： 検体を0.5%w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、625、1250、2500及び5000mg/kgを1日1回、5回連続経口投与し

た。最終投与30分後に、ヘキソバルビタール100mg/kgを腹腔内投与し、睡眠の持続時間を測定した。

結果：1250mg/kg以上の薬量で、薬量に関連した睡眠時間の延長が見られた。しかしながら1250及び2500mg/kgでは、統計学的に有意ではなかった。また、最高用量の5000mg/kgでは投与期間中2匹の死亡が観察された。625mg/kgでは、生物学的に意義のある睡眠時間の延長は認められなかった。

iv) ラットにおける体温（直腸）に与える影響 (資料40-4)

供試動物：Wistar系ラット（体重：179～205g）1群雄10匹

方法：検体を0.5% w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、200、600及び2000mg/kgを単回経口投与し、投与2時間、1時間前と直前及び投与後15、30、60、120と240分に直腸体温を測定した。

結果：600mg/kg及び2000mg/kgの薬量では、投与後1時間から4時間に各々軽度及び中等度の体温の低下がみられた。2000mg/kgでは、統計学的に有意であった。200mg/kgでは、溶媒対照群と比較して体温に差は認められなかった。

② ビーグル犬の呼吸、循環器系に対する影響 (資料40-5)

供試動物：ビーグル犬（体重：11.2～13.2kg）雄2匹雌1匹

方法：検体を0.5% w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、200mg/kg、600mg/kg、及び2000mg/kgを低薬量から順次十二指腸内に投与し、血圧、心拍数、呼吸量、呼吸回数、血流量、血管抵抗及び心電図を測定した。

なお、以上の操作は、チオペントンナトリウム及び α -クロラロースのそれぞれ静脈内投与による麻酔条件下で行った。

結果：呼吸器または循環器のいずれの項目においても検体による影響は認められなかった。

③ ネコにおける循環器系及び自律神経系に対する影響

i) ネコにおける血圧、心拍数、両側性頸動脈閉塞、神経節伝達（瞬膜収縮）及びノルアドレナリンに対する影響 (資料40-6)

供試動物：ネコ（体重：2.3～2.6kg）雌3匹。

方法：検体を0.5% w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、200、600及び2000mg/kgを低薬量から順次十二指腸内に投与し、次の循環器系、自律神経系に関する項目を順次調べた。

なお、以上の操作は、エーテル及び α -クロラロース静脈内投与による麻酔条件下で行った。

試験項目

血圧、心拍数への影響

交感神経節前、節後の電氣的刺激による瞬膜収縮に対する影響

両側性頸動脈閉塞による血圧、心拍数の変化に対する影響

ノルアドレナリン静脈内投与による血圧、心拍数の変化に対する影響

結果：検体のいずれの薬量においても、血圧、心拍数及び瞬膜収縮の正常レベルに何ら影響は認められなかった。またノルアドレナリン投与により誘導された血圧、心拍数の変化に対しても何ら影響は認められなかった。

両側性頸動脈閉塞により誘導された血圧、心拍数の変化は、600及び2000 mg/kgの薬量で抑制された。しかしながらこれら変化は変動が多く、検体の投与とその影響との関係を一貫して十分に説明できるものではなかった。

ii) ネコにおける血圧、心拍数及び迷走神経刺激、アセチルコリン及びヨウ化1,1-ジメチル-4-フェニル-ピペラジニウム (DMPP) による反応に対する影響 (資料40-7)

供試動物：ネコ (体重：2.9～3.3kg) 雌3匹。

方法：検体を0.5% w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、200、600及び2000mg/kgを低薬量から順次十二指腸内に投与し、各々の薬量投与後に次の循環器系、自律神経系に関する項目を順次調べた。
なお、以上の操作は、エーテル及び α -クロラロースの静脈内投与による麻酔条件下で行った。

試験項目

血圧、心拍数に対する影響

頸部迷走神経刺激による血圧、心拍数の変化に対する影響

アセチルコリン及びDMPPの静脈内投与による血圧、心拍数の変化に対する影響

結果：血圧及び心拍数に対して、また迷走神経刺激、アセチルコリン及びDMPP (神経節興奮剤) 静脈内投与による血圧、心拍数に誘導された変化に対して、検体による影響は認められなかった。

④ モルモット摘出回腸における自律神経系に対する作用

i) モルモット摘出回腸に及ぼす影響 (直接作用) (資料40-8)

供試動物：Dunkin-Hartley系モルモット (体重：250～260g) 雄3匹

方法：モルモットを屠殺後回腸を摘出し、95% O₂ + 5% CO₂で通気した32℃のKreb's溶液に懸垂した。

検体を25%エタノール溶液に懸濁して、Kreb's溶液中に0、 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mlの最終濃度で低濃度から順次加え、回腸への影響を調べた。

結 果：モルモット摘出回腸に対して検体による影響は認められなかった。

i i) モルモット摘出回腸のアゴニスト誘導収縮に及ぼす影響 (資料40-9)

供試動物：Dunkin-Hartley系モルモット (体重：250～260g)

雄3匹/1アゴニスト

方 法：モルモットを屠殺後回腸を摘出し、95%O₂+5%CO₂で通気した37℃のTyrode溶液中に懸垂した。

検体を25%エタノール溶液に懸濁して、Tyrode溶液中に0、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} g/mlの最終濃度で低濃度から順次加え、各々の濃度添加2分後に、各アゴニスト(アセチルコリン、ヒスタミン、塩化バリウム)を作用させ、アゴニストによる回腸の収縮に対する影響を調べた。

結 果：アセチルコリン、ヒスタミン及び塩化バリウムの各アゴニストにより誘導されたモルモット回腸の収縮に対して、検体による影響は認められなかった。

⑤ マウスの消化器に対する影響 (炭末輸送能試験) (資料40-10)

供試動物：CD-1系マウス (体重：21～26g) 1群雄10匹

方 法：検体を0.5%w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、約18時間絶食下で0、1250、2500及び5000mg/kgを単回経口投与し、投与30分後に炭末の0.5%蒸留水懸濁液を0.25ml/匹経口投与した。炭末投与30分後にマウスを屠殺後、胃、腸管を摘出し、幽門部から盲腸への炭末の移動距離を測定し、消化管全長に対する移動距離の割合を求めた。

結 果：5000mg/kgの薬量で、溶媒対照群と比較して、炭末移動距離の中等度の減少が見られ、統計学的に有意であった。

1250、2500mg/kgでは、腸の運動性に影響は認められなかった。

⑥ ラットの横隔膜神経筋接合部標本に対する影響 (資料40-11)

供試動物：Wistar系ラット (体重：約300g) 雄3匹

方 法：ラットを屠殺後、横隔膜神経筋を摘出し、95%O₂+5%CO₂で通気した37℃のTyrode液(標準の2倍量のグルコースを含有)中に懸垂した。

検体を25%エタノール溶液に懸濁して、Tyrode液中に0、 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mlの最終濃度で低濃度から順次加え、電気刺激による筋収縮に対する影響を調べた。

結 果：電気刺激によるラット横隔膜神経筋の収縮に対して、検体の影響は認められなかった。

⑦

i)

(資料40-12)

ii)

(資料40-13)

⑧ ラットの尿量及び尿中電解質排泄に対する影響 (資料40-14)

供試動物：Wistar系ラット（体重：205～277g）1群雄10匹

方 法：検体を0.5% w/vカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液に懸濁して、0、60、200、600及び2000mg/kgを18時間の絶食及び2時間の無給水下で単回経口投与し、尿を24時間にわたって採取し、個々のラットの尿排泄量を投与後1、2、3、4、5及び24時間に記録した。また、その5時間尿サンプルについては、Na⁺、K⁺、Cl⁻及び総タンパク量を分析した。

結 果：2000mg/kgで、投与後24時間の尿量及び投与後5時間に測定したNa⁺、K⁺、Cl⁻の排泄の有意な増加が見られた。

600mg/kg以下の薬量では、検体によると思われる影響は認められなかった。

以上を要約すると、本剤の哺乳動物に対する主な薬理作用は、その大量経口投与による自発運動抑制等の一般的な中枢神経系に対する抑制的影響であった。

生体の機能に及ぼす影響に関する試験の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路*	投与量 (mg/kg)	動物数	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経	一般症状 (マウス) Irwinの観察	経口	0, 1250, 2500, 5000	♂ 4/群	1250	2500	軽度の無反応、運動性低下、警戒性及び驚き反応の軽度減少
	自発運動 (マウス)	経口	0, 20, 40, 80, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000	♂ 16/群	80	156	自発運動量低下
	ヘキサバルビタール 誘導睡眠時間 (マウス)	経口 (5回反復 投与)	0, 625, 1250, 2500, 5000	♂ 6/群	625	1250	睡眠時間延長 (5000mg/kgで 2例死亡)
	直腸体温 (ラット)	経口	0, 200, 600, 2000	♂ 10/群	200	600	体温低下
呼吸・循環器	血圧、心拍数、呼吸量、 呼吸数、血流量、血管 抵抗、心電図 (イヌ)	十二指腸内 (累積的) (麻酔下)	0, 200, 600, 2000	♂ 2 ♀ 1	2000	-	影響なし
循環器・自律神経	血圧、心拍数、両側性 頸動脈閉塞及びノルアドレナリン 静脈内投与による血圧心拍数の 変化、神経節刺激による 瞬膜収縮 (ネコ)	十二指腸内 (累積的) (麻酔下)	0, 200, 600, 2000	♀ 3	200	600	両側性頸動脈閉塞による 血圧、心拍数変化の抑制 (しかし、これらの変化には 変動が多く、検体投与との 関係を十分説明出来るものでは なかった)
	血圧、心拍数、アチルコリン、 DMPP**投与及び迷走神経刺激 による血圧、心拍数の変化 (ネコ)	十二指腸内 (累積的) (麻酔下)	0, 200, 600, 2000	♀ 3	2000	-	影響なし
	回腸 (直接作用) (モルモット)	in vitro (累積的)	0, 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/ml	♂ 3	10 ⁻⁴ g/ml	-	影響なし
	回腸 (ゴキウ [®] 誘導収縮) (モルモット)	in vitro (累積的)	0, 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/ml	♂ 3/1 アゴニスト	10 ⁻⁴ g/ml	-	影響なし
消化器	腸間炭末輸送能 (マウス)	経口	0, 1250, 2500, 5000	♂ 10/群	2500	5000	炭末輸送能低下
骨格筋	横隔膜神経筋 (ラット)	in vitro (累積的)	0, 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/ml	♂ 3	10 ⁻⁴ g/ml	-	影響なし
その他	尿量及び 尿中電解質排泄 (ラット)	経口	0, 60, 200, 600, 2000	♂ 10/群	600	2000	尿量及びNa ⁺ 、K ⁺ 、 Cl ⁻ 排泄の増加

* 1) 投与 筒媒: in vivo ; 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム
in vitro ; 25%エタノール溶液 (回腸試験、横隔膜神経筋試験)
生理食塩水 (溶血性試験)

* 2) DMPP: ヨウ化1,1-ジメチル4フェニルピペラジニウム

* 3) アゴニスト: アセチルコリン、ヒスタミン、塩化バリウム

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

1.1. その他

マウスの血液に及ぼす影響試験（参考資料）

（資料26）

（ハイツ小体の証明）

試験機関：

報告書作成年：1990年

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

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