

(2) 催奇形性

1) ラットにおける催奇形性試験

(資料 T-17)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体の純度：

試験動物：SD 系ラット、1 群 24 匹

妊娠 0 日において 11 週齢(体重 238~274 g)

試験期間：妊娠期間 20 日間(1995 年 6 月 12 日~1995 年 7 月 3 日)

試験方法：検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、3、10 および 20 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、1 日 1 回強制経口投与した。また、対照群には 1%メチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。帝王切開は妊娠 20 日に行った。

尚、交配は雄 1 雌 2 の交配对を昼夜同居させることにより行い、膣栓または膣垢中に精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物：一般状態および生死を毎日観察し、体重および摂餌量を妊娠 0、6、9、12、15 および 20 日に測定した。

帝王切開後剖検し、黄体数、着床数、死亡胚数、生存および死亡胎児数等を検査した。

生存胎児：性別、体重および外表異常の有無を全胎児について検査した。

対照群および 20 mg/kg 群の各腹について約半数の生存胎児は内臓異常の有無を検査し、残りの生存胎児については、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果：概要を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果:

投与群 (mg/kg/day)		0	3	10	20	
1 群当り動物数		24	24	24	24	
親動物	妊娠動物数	22	21	21	24	
	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	N	N	N	臃出血	
	体重増加量 (g): 妊娠 6~15 日	50	52	50	49	
	摂餌量 (g/匹/day): 妊娠 15 日	26.3	26.1	26.2	25.5	
	肉眼的病理所見	N	N	N	N	
	1) 子宮内所見	検査親動物数	22	21	21	24
		黄体数	17.4	16.9	17.5	16.7
		着床数	14.6	14.8	15.3	14.9
		生存胎児数	14.4	14.2	14.7	14.0
早期胚死亡数		0.9	0.4	0.6	0.9	
後期胚死亡数		0.0	0.1	0.0	0.0	
総胚死亡数		0.9	0.5	0.6	0.9	
胎児	体重 (g) <sup>1)</sup>	雄	3.38	3.29	3.21	3.31
		雌	3.22	3.10	3.07	3.14
	性比 (雄数/雌数)		150/152	150/149	168/141	161/176
	外表検査	検査胎児数 (腹数)	302(22)	299(21)	309(21)	337(24)
		異常を有する胎児数	1	2	0	0
		無顎症	0	1	0	0
		外脳症	0	1	0	0
		尾のうっ血・腫脹	1	0	0	0
	1) 内臓検査	検査胎児数 (腹数)	146(21)	0	0	163(24)
		異常を有する胎児 (%)	8.3	-	-	7.3
		変異 <sup>‡</sup> : 冠状動脈口過剰 (%)	0.5	-	-	1.3
		胸腺の頸部残留 (%)	1.2	-	-	2.5
	1) 骨格検査	検査胎児数 (腹数)	156(21)	0	0	174(24)
		異常を有する胎児 (%)	23.9	-	-	19.2
		奇形: 頸椎椎弓癒合 (%)	0	-	-	0.6 <sup>2)</sup>
		胸椎椎弓癒合 (%)	0	-	-	0.6 <sup>2)</sup>
		肋骨癒合 (%)	0	-	-	0.6 <sup>2)</sup>
		波状肋骨 (%)	0	-	-	0.5
変異 <sup>‡</sup> : 14 本肋骨 (%)		0.7	-	-	1.1	
胸骨分節の 2 分 (%)		0.6	-	-	0.7	
骨化 左中手骨骨化数	3.42	-	-	↑ 3.62		
進行度: 右中手骨骨化数	3.41	-	-	↑ 3.62		

N: 検体に起因する変化なし

-: 検査せず

<sup>1)</sup>: 腹平均値

<sup>2)</sup>: 同一胎児での合併症

↑: P<0.05(多重比較検定、Sheffé 法)

<sup>‡</sup>: 内臓変異および骨格変異については代表所見を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

母動物について、妊娠 13～15 日に 20 mg/kg 群 4 例で膈からの出血が見られ、検体投与による影響と考えられた。この所見は妊娠 16 日以降には消失し、帝王切開時の剖検でも子宮内に出血は認められなかった。また、他の投与群においても同様の変化は見られなかった。その他、体重、摂餌量、子宮内所見のいずれにおいても、異常は見られなかった。

胚・胎児について、体重、性比および外表異常のいずれにおいても、検体投与に起因する変化は見られなかった。骨格検査において、中手骨の骨化数の高値が 20 mg/kg 群で見られた。しかし、程度も軽微であり、通常の毒性変化としての骨化遅延ではないことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。その他、自然発生的に見られる種々の内臓異常および骨格異常が散見されたのみで、それらの発生率には対照群との間に統計学的有意差が見られないことから、検体投与に関連のない変化と考えられた。

以上、インダノファン原体を妊娠ラットに投与したときの母体に対する無毒性量\*は 10 mg/kg/day、胎児に対する無毒性量\*は 20 mg/kg/day と考える。また、最高投与量の 20 mg/kg/day においても胎児に対して催奇形性、胚／胎児致死性および子宮内発達遅延作用を示さないと判断された。

---

\* 申請者注: 原報には無作用量「母動物: 10 mg/kg/day、胚・胎児: 20 mg/kg/day」との記載はあるが、無毒性量の記載はない。申請者は、母動物の 20 mg/kg 群で見られた毒性変化に基づき無毒性量を上記の通り判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ラットにおける催奇形性試験〔低および中用量群の追加胎児検査〕 (資料 T-17-1)

試験機関 : 三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1999 年

試験の背景: 以前の試験成績(資料 T-17)では、対照群および高用量群の胎児検査のみ実施された。今回、残留農薬安全性評価委員会からの要望事項に従い、さらに低および中用量群の胎児検査(内臓および骨格検査)を追加実施し、以前の試験成績も含めて、被験物質の胎児に対する影響を精査した。

検体の純度:

試験動物: SD 系ラット、1 群 21~24 匹 (資料 T-17 の試験)

試験期間: 1998 年 11 月 20 日(検査開始日)~1999 年 2 月 8 日(検査終了日)

検査方法: 以前の試験(資料 T-17)で保存した低(3 mg/kg)および中用量(10 mg/kg)群の胎児内臓および骨格標本を検査した。

試験結果: 概要を次頁の表に示した。

骨格検査において、種々の奇形または変異が見られたが、何れの異常についても発現率に有意差は見られなかった。骨化進行度については、10 mg/kg 群で後肢末節骨数(左右)の有意な低値が見られたが、20 mg/kg 群で同様の変化が見られず、傾向検定の結果からも有意な用量相関性が見られなかったことから、偶発的な変化と考えられた。なお、以前の試験における対照群および 20 mg/kg 群の検査では、20 mg/kg 群において中手骨の骨化数の有意な高値が見られた。しかし、今回全群の胎児を検査して改めて全群による統計学的解析を実施したところ、何れの投与群においても有意差は見られなかった。以前の試験で見られた 20 mg/kg 群の中手骨数の有意な高値については、対照群との差も僅かであり、通常の毒性変化としての骨化遅延ではなかったことから、毒性学的意義のない変化と考えられた(資料 T-17)。

以上、対照群と高用量群の胎児検査から評価した以前の試験(資料 T-17)における結論は妥当であり、原体の胚・胎児に対する無毒性量は 20 mg/kg/day と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果:

対照群および高用量群については、以前の試験データ(資料 T-17)を用いたが、統計学的解析は全群のデータを基に再実施した。

投与群 (mg/kg/day)		0	3	10	20	
胎 児	1) 内臓 検査	検査胎児数(腹数)	146(21)	143(20)	152(21)	163(24)
		異常を有する胎児(%)	8.3	16.5	8.8	7.3
		変異: 冠状動脈口過剰(%) 胸腺の頸部残留(%)	0.5 1.2	0 8.3	0.8 3.7	1.3 2.5
	1) 骨格 検査	検査胎児数(腹数)	156(21)	156(21)	157(21)	174(24)
		異常を有する胎児(%)	23.9	17.8	14.8	19.2
		奇形: 頸椎椎弓癒合(%)	0	0	0	0.6 <sup>2)</sup>
		胸椎椎弓癒合(%)	0	0	0	0.6 <sup>2)</sup>
		肋骨癒合(%)	0	0	0	0.6 <sup>2)</sup>
		波状肋骨(%)	0	0	0	0.5
		変異: 14 本肋骨(%)	0.7	0	3.3	1.1
		胸骨分節の 2 分(%)	0.6	1.5	0.7	0.7
		骨化進行度(骨化数):				
		左後肢末節骨数	5.00	4.93	↓ 4.77	4.98
		右後肢末節骨数	5.00	4.95	↓ 4.81	5.00
左中手骨数	3.42	3.54	3.56	3.62		
右中手骨数	3.41	3.55	3.57	3.62		

N: 検体に起因する変化なし

-: 検査せず

1): 腹平均値

2): 同一胎児での合併症

↓:  $p < 0.05$  (多重比較検定、Sheffé 法)

3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 T-18)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences 社

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

検体の純度:

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、1 群 16 匹

妊娠 0 日において 16~24 週齢(体重 3.0~4.2 kg)

試験期間: 妊娠期間 29 日間(1995 年 8 月 29 日~1995 年 10 月 6 日)

試験方法: 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、2.5、5、10 および 20mg/kg の投与量で妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間、1 日 1 回強制経口投与した。また、対照群には 1%メチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。帝王切開は妊娠 29 日に行った。

尚、交配は雌雄を同居させることにより行い、交尾確認後各雌に黄体形成ホルモンを投与し、排卵を促した。交尾の見られた日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠:

試験項目:

親動物: 一般状態および生死を毎日観察し、体重および摂餌量を妊娠 0 日、2 日、7~19 日(毎日)、20 日、24 日および 29 日に測定した。

帝王切開後剖検し、黄体数、着床数、死亡胚数、生存および死亡胎児数等を検査した。

生存胎児: 性別、体重および外表異常の有無を全胎児について検査した。

全生存胎児について内臓検査を実施したのち、骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

なお、構造的な変化は以下のように分類した。

奇形: 稀ないしおそらく致命的なもの。例えば無肢、外脳。

異常: 「正常」からの小さな逸脱で、内臓検査での胆嚢の変異、骨格検査での半椎などのようにしばしば見られるもの。

変異: 対照群でも通常発生しうる形態異常。例えば過剰肋骨対のように永久的なもの、あるいは未骨化胸骨のように発達の途中段階のものなどがある。

試験結果: 概要を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果:

投与群 (mg/kg/day)		0	2.5	5	10	20	
1 群当り動物数		16	16	16	16	16	
親動物	妊娠動物数	14	15	14	13	15	
	死亡数	0	0	0	0	3	
	一般状態	N	N	N	N	膣出血等	
	体重増加量 (g): 妊娠 7~19 日	197	214	234	253	251	
	摂餌量 (g/kg/day): 妊娠 19 日	141	162	173	155	154	
	肉眼的病理所見	N	N	N	N	内出血	
	1) 子宮内所見	検査親動物数	14	15	14	13	12
		黄体数	11.1	10.9	10.4	11.4	10.8
		着床数	9.8	9.1	9.1	9.8	10.0
		生存胎児数	8.4	7.3	8.5	8.7	8.8
早期胚死亡数		0.7	1.1	0.1	0.3	0.4	
後期胚死亡数		0.6	0.7	0.4	0.8	0.8	
総胚死亡数		1.4	1.8	0.6	1.1	1.3	
妊娠子宮重量 (g) <sup>1)</sup>		543.6	509.9	579.2	564.0	536.1	
胎児	体重 (g) <sup>1)</sup>	46.3	48.6	47.3	45.9	44.1	
	性比 (雄%) <sup>1)</sup>	39.0	47.2	54.5	48.7	50.2	
	検査胎児数 (腹数)	118(14)	109(15)	119(14)	113(13)	105(12)	
	外表・内臓・骨格奇形を有する胎児数 (%) <sup>1)</sup>	7(5.5)	3(2.9)	4(3.1)	0(0)	3(3.4)	
	心室中隔欠損	1	2	0	0	2	
	内臓検査胎児数 (腹数)	111(14)	106(15)	115(14)	113(13)	102(12)	
	異常を有する胎児数 (%) <sup>1)</sup>	6(4.0)	4(4.4)	4(3.7)	9(8.0)	9(8.7)	
	頸胸部の動脈異常 中肺葉の欠損	1 3	3 0	0 0	6 1	4 3	
	骨格検査胎児数 (腹数)	111(14)	106(15)	115(14)	113(13)	102(12)	
	異常を有する胎児数 (%) <sup>1)</sup>	15(10.7)	18(18.3)	9(7.0)	33(27.4)	16(16.3)	
頸肋 指骨の不完全骨化	3 2	5 1	2 0	14 6	5 4		
変異: 腰骨 (13 本肋骨) (%)		49(37.1)	59(54.2)	65(56.3)	53(45.7)	62(62.3)	

N: 検体に起因する変化なし

<sup>1)</sup>: 腹平均値 (統計解析の結果、有意差なし)

[統計解析手法] 胎児の死亡、奇形、異常の腹発生率と分布: Linear by Linear Association 法

および Kruskal Wallis 法、Shirley 法

その他の腹データ、骨格変異データ: Kruskal Wallis 法、Shirley 法

摂餌量および体重データ: 分散分析 ⇒ パラメトリック検定 (Williams 検定または t 検定)

⇒ ノンパラメトリック検定 (Kruskal Wallis 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日本農薬株式会社にある。

母動物について、20 mg/kg 群で投与期間中に死亡 1 例、瀕死期殺 2 例が見られた。瀕死期殺例では生存時の投与期間の後半に膣からの出血徴候に加えて円背位、座込み姿勢、呼吸異常、立毛が見られ、剖検の結果広範な内出血が見られた。その他の投与群では死亡例は見られなかった。

膣出血が、生存例では対照群、2.5、5、10 および 20 mg/kg 群でそれぞれ 1、2、2、2 および 4 例に見られた。20 mg/kg 群の生存例の膣出血は死亡例と同様の投与期間に発生していることから、検体投与に起因する影響と考えられた。一方、対照群も含め 10 mg/kg 以下の群で見られた膣出血は投与開始前もしくは終了後に見られたことから、投与に起因しない変化と考えられた。

体重、摂餌量、子宮内所見および生存例の肉眼的病理所見において、投与に起因する変化は見られなかった。

胚・胎児について、胎児体重、妊娠子宮重量、性比のいずれにおいても、検体投与による影響は見られなかった。骨格検査において、20 mg/kg 群で骨格変異である腰肋(13 本肋骨\*)の発生頻度の高値(62.3%)が見られた。この腰肋の発生頻度は、対照群値(37.1%)との間に統計学的有意差を示さなかった(Kruskal Wallis の検定:  $p \geq 0.05$ )が、試験機関の背景データ(41.7~57.1%)を僅かに上回っていた。この変化については背景データからの逸脱の程度が僅かであり、対照群との間に統計学的有意差もなく、かつ用量相関性も見られない(Shirley の検定:  $P \geq 0.05$ )ことから毒性学的意義はないと考えられた。その他、各群に種々の外表、内臓および骨格異常が見られたが、いずれも対照群との間に統計学的有意差はなく、検体投与との関連性は見られなかった。

以上、原体を妊娠ウサギに投与したときの母体に対する無毒性量は 10 mg/kg/day、胎児に対する無毒性量は 20 mg/kg/day であった。また、最高投与量の 20 mg/kg/day においても胎児に対して催奇形性、胚/胎児致死性および子宮内発達遅延作用を示さないと判断された。

\* 13 本肋骨の定義: 12 対の肋骨に加えて、第 1 腰椎に片側あるいは両側性に認められる種々な長さの肋骨



### 13. 変異原性

#### (1) 遺伝子突然変異原性

##### 1) 細菌を用いた復帰変異試験

(資料 T-19)

試験機関 : Huntingdon Research Centre 社  
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度:

試験方法: ヒステジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 および TA1538 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*<sup>-</sup> 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の共存下および非共存下でプレート法を用いて変異原性を検索した。

検体は DMSO に溶解した。予備試験 (用量: 5~5000  $\mu\text{g}$ /プレート) において 5000  $\mu\text{g}$ /プレートの濃度でも菌株に対する抗菌性が見られなかったため、5000  $\mu\text{g}$ /プレートを最高用量とした。

試験濃度は 312.5~5000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲で 5 用量とした。試験は 3 プレート/用量とし、2 回 (第 1 回および 2 回試験) 行った。

試験結果: 結果を次頁の表に示す。

2 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、最高用量 5000  $\mu\text{g}$ /プレートまでの用量で、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた *N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、2-ニトロフルオレン、9-アミノアクリジンおよび 2-アミノアントラセンではすべての指標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、インダノファン原体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第1回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537	TA1538
対照(DMSO)	0	-	113	13	74	24	12	10
検体	0.0 <sup>1)</sup>	-	111	14	75	18	9	11
	312.5	-	101	15	66	18	7	7
	625.0	-	105	14	71	20	9	7
	1250.0	-	107	15	61	20	10	11
	2500.0	-	116	14	83	20	8	10
	5000.0	-	108	13	65	19	11	9
対照(DMSO)	0	+	114	15	82	27	13	11
検体	0.0 <sup>1)</sup>	+	115	20	70	25	10	13
	312.5	+	107	13	79	27	10	12
	625.0	+	135	13	71	27	10	9
	1250.0	+	144	15	76	29	7	11
	2500.0	+	172	12	77	21	11	10
	5000.0	+	180	17	80	24	10	11
陽性 対照 <sup>2)</sup>	ENNG	別表記載	-	533	451	987		
	NF	別表記載	-				330	659
	9AC	別表記載	-				X <sup>3)</sup>	
	AA	別表記載	+	520	273	431	259	148

注: <sup>1)</sup> 指標菌株および S-9 Mix(またはリン酸緩衝液)のみ反応

<sup>2)</sup> 陽性対照物質名と用量

<sup>3)</sup> X: コロニー数過多の為、正確な計数が不可能

別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )					
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537	TA1538
ENNG	<i>N</i> -エチル- <i>N</i> -ニトロ- <i>N</i> -ニトロソ グアニジン	3.0	5.0	2.0	-	-	-
NF	2-ニトロフルオレン	-	-	-	1.0	-	2.0
9AC	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80.0	-
AA	2-アミノアントラセン	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0	0.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第2回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2uvrA <sup>-</sup>	TA98	TA1537	TA1538	
対照(DMSO)	0	-	105	11	72	21	10	8	
検体	0.0 <sup>1)</sup>	-	115	13	68	18	8	9	
	312.5	-	114	12	63	17	8	8	
	625.0	-	126	10	70	20	8	9	
	1250.0	-	115	13	61	18	7	10	
	2500.0	-	93	11	64	23	8	6	
	5000.0	-	105	12	62	17	6	6	
対照(DMSO)	0	+	127	13	70	26	13	10	
検体	0.0 <sup>1)</sup>	+	123	16	70	25	12	8	
	312.5	+	116	13	61	26	9	10	
	625.0	+	120	12	66	21	8	5	
	1250.0	+	125	10	73	21	10	10	
	2500.0	+	133	13	76	25	9	9	
	5000.0	+	150	13	80	19	11	5	
陽性 対照 <sup>2)</sup>	ENNG	別表記載	-	498	368	905			
	NF	別表記載	-				330		579
	9AC	別表記載	-					X <sup>3)</sup>	
	AA	別表記載	+	523	188	248	318	76	586

注: <sup>1)</sup> 指標菌株および S-9 Mix(またはリン酸緩衝液)のみ反応

<sup>2)</sup> 陽性対照物質名と用量

<sup>3)</sup> X: コロニー数過多の為、正確な計数が不可能

別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}$ /プレート)					
		TA100	TA1535	WP2uvrA <sup>-</sup>	TA98	TA1537	TA1538
ENNG	N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソ グアニジン	3.0	5.0	2.0	-	-	-
NF	2-ニトロフルオレン	-	-	-	1.0	-	2.0
9AC	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80.0	-
AA	2-アミノアントラセン	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0	0.5

(2) 染色体異常誘発性

1) CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 T-20)

試験機関：Huntingdon Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺組織由来培養細胞株 (CHL 細胞) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の共存下および非共存下で染色体異常誘発性を検索した。

次の 4 処理群を設定した。

第 1 群：+S-9 Mix、6 時間検体処理 (24 時間目に細胞を回収)

第 2 群：-S-9 Mix、6 時間検体処理 (24 時間目に細胞を回収)

第 3 群：-S-9 Mix、24 時間検体処理 (24 時間目に細胞を回収)

第 4 群：-S-9 Mix、48 時間検体処理 (48 時間目に細胞を回収)

検体は DMSO に溶解し、1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を最高濃度として処理した後、染色体標本を作製した。染色体異常を観察した最高濃度は、分裂指数が 40~60% 抑制される濃度とした。1 濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察し、染色体構造異常および倍数性細胞の出現を調べた。

尚、各処理群には無処理群、溶媒対照群 (DMSO) および陽性対照群をそれぞれ設けた。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

染色体構造異常の出現頻度については、いずれの検体処理群においても溶媒対照に比べて統計学的に有意な増加は見られなかった。倍数性細胞の出現頻度については、第 3 群で同群の溶媒対照に比べて統計学的に有意な増加が見られたが、他の無処理群および溶媒対照群でも同程度の頻度で見られていることから、生物学的意義はないと考えられた。

一方、陽性対照物質は溶媒対照に比べて統計学的に有意な染色体異常を誘発した。

以上の結果より、インダノファン原体は本試験条件下で代謝活性化の有無に関わらず染色体異常を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 1. 第 1 群・S-9 Mix 共存下、6 時間処理(24 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	倍数性細胞		ギャップ	染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)				合計 <sup>1)</sup>		判定 <sup>2)</sup>	
			出現数 と頻度 (%)	判定		染色体分体型		染色体型		その他	-g		+g
						切断	交換	切断	交換				
無処理	0	200	8 (4.0)	/	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	4 (2.0)	/
溶媒対照 (DMSO)	0	400	27 (6.75)	/	4 (1.0)	7 (1.75)	1 (0.25)	8 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (3.75)	18 (4.5)	/
検体	31.25	200	9 (4.5)	陰性	1 (0.5)	8 (4.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (4.0)	9 (4.5)	陰性
	62.5	200	4 (2.0)	陰性	1 (0.5)	8 (4.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	13 (6.5)	14 (7.0)	陰性
	125	200	11 (5.5)	陰性	0 (0.0)	4 (2.0)	2 (1.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (4.0)	8 (4.0)	陰性
陽性対照 CP <sup>3)</sup>	5	200	/	/	6 (3.0)	35 (17.5)	36 (18.0)	10 (5.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	58*** (29.0)	60 (30.0)	陽性

注) <sup>1)</sup> -g: ギャップを除いた総異常細胞数

+g: ギャップを含む総異常細胞数

<sup>2)</sup> ギャップを除いた総染色体構造異常細胞について判定

<sup>3)</sup> CP: シクロフォスファミド

\*\*\*:  $P < 0.001$  (Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2. 第 2 群: S-9 Mix 非共存下、6 時間処理(24 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	倍索性細胞		染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)								判定 <sup>2)</sup>		
			出現数 と頻度 (%)	判定	ギャップ		染色分体型		染色体型		その他			合計 <sup>1)</sup>	
					交換	切断	交換	切断	交換	切断	交換	切断		-g	+g
無処理	0	200	10 (5.0)	/	0 (0.0)	10 (5.0)	4 (2.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	12 (6.0)	12 (6.0)	12 (6.0)	/
溶媒対照 (DMSO)	0	400	28 (7.0)	/	1 (0.25)	6 (1.5)	0 (0.0)	1 (0.25)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (1.5)	7 (1.75)	7 (1.75)	/
検体	15.6	200	14 (7.0)	陰性	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性
	31.25	200	13 (6.5)	陰性	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	3 (1.5)	3 (1.5)	陰性
	62.5	200	8 (4.0)	陰性	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	3 (1.5)	3 (1.5)	陰性
陽性 対照	5	200	/	/	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	陰性
	0.2	200	/	/	0 (0.0)	26 (13.0)	10 (5.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	34*** (17.0)	34 (17.0)	34 (17.0)	陽性
	12	200	81*** (40.5)	陽性	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

注) 1) -g: ギャップを除いた総異常細胞数

+g: ギャップを含む総異常細胞数

2) ギャップを除いた総染色体構造異常細胞について判定

3) CP: シクロフオスファミド

MMC: マイトマイシン C

CBZ: カルベンダジン

\*\*\*:  $P < 0.001$  (Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 3. 第 3 群: S-9 Mix 非共存下、24 時間処理 (24 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)										判定 <sup>2)</sup>
			倍索性細胞		ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	合計 <sup>1)</sup>		
			出現数 と頻度 (%)	判定		切断	交換	切断	交換		-g	+g	
無処理	0	200	5 (2.5)	/	2 (1.0)	5 (2.5)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (4.0)	10 (5.0)	/
溶媒対照 (DMSO)	0	400	3 (0.75)	/	3 (0.75)	8 (2.0)	0 (0.0)	1 (0.25)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (2.25)	12 (3.0)	/
検体	15.6	200	6 (3.0)	陰性	2 (1.0)	3 (1.5)	0 (0.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (3.5)	9 (4.5)	陰性
	31.25	200	9** (4.5)	陰性	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性
	62.5	200	13*** (6.5)	陰性	3 (1.5)	4 (2.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	8 (4.0)	陰性
陽 <sup>3)</sup> 性 対 照	0.1	200	/	/	4 (2.0)	19 (9.5)	8 (4.0)	8 (4.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	29*** (14.5)	30 (15.0)	陽性
MMC	12	200	164*** (82.0)	陽性	/	/	/	/	/	/	/	/	/
CBZ	12	200	164*** (82.0)	陽性	/	/	/	/	/	/	/	/	/

注) 1) -g: ギャップを除いた総異常細胞数

+g: ギャップを含む総異常細胞数

2) ギャップを除いた総染色体構造異常細胞について判定

3) MMC: マイトマイシン C

CBZ: カルベンダジン

\*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$  (Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 4. 第 4 群: S-9 Mix 非共存下、48 時間処理 (48 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)										判定 <sup>2)</sup>
			倍数性細胞		ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	合計 <sup>1)</sup>		
			出現数 と頻度 (%)	判定		切断	交換	切断	交換		-g	+g	
無処理	0	200	14 (7.0)	/	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	3 (1.5)	/
溶媒対照 (DMSO)	0	400	17 (4.25)	/	0 (0.0)	2 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.5)	2 (0.5)	/
検体	3.9	200	10 (5.0)	陰性	0 (0.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	4 (2.0)	陰性
	7.8	200	11 (5.5)	陰性	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性
	15.6	200	8 (4.0)	陰性	0 (0.0)	5 (2.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	5 (2.5)	陰性
	31.25	200	12 (6.0)	陰性	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性
陽 <sup>3)</sup> 性対照	MMC	200	/	/	0 (0.0)	18 (9.0)	6 (3.0)	3 (1.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	23*** (11.5)	23 (11.5)	陽性
	CBZ	200	59*** (29.5)	陽性	/	/	/	/	/	/	/	/	/

注) <sup>1)</sup> -g: ギャップを除いた総異常細胞数

+g: ギャップを含む総異常細胞数

<sup>2)</sup> ギャップを除いた総染色体構造異常細胞について判定

<sup>3)</sup> CP: シクロホスファミド

MMC: マイトマイシン C

CBZ: カルベンダジン

\*\*\*:  $P < 0.001$  (Fisher の直接確率法)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3) マウスを用いた小核試験

(資料 T-37)

試験機関：Huntingdon Life Sciences (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2003年

検体の純度：

供試動物：CD-1系マウス、1群雄各5匹、入荷時体重27.7～31.6g

試験方法：検体を0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、0(溶媒対照)、25、50、100 mg/kgの用量で24時間間隔により2回強制経口投与した。

用量設定根拠：

2回目の検体投与後24時間に動物を屠殺し、ギムザ染色による骨髄塗抹標本を作製した。各動物2000個の多染性赤血球(PCE)を観察した。正染性赤血球(NCE)についても小核の有無を検査した。赤血球(NCE+PCE)1000個における多染性赤血球(PCE)の割合を骨髄毒性の指標として評価した。検体投与群で小核を有する多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度が、溶媒対照群の値に比べて統計学的に有意な用量相関性のある増加を示し、溶媒対照の背景値を上回る場合に陽性と判定した。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

いずれの検体投与群においても小核を有する多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度について、統計学的に有意な増加はみられなかった。また、小核を有する正染性赤血球(MNCE)および赤血球(NCE+PCE)における多染性赤血球(PCE)の割合について、いずれの検体投与群においても統計学的に有意な増加はみられなかった。一方、陽性対照物質のマイトマイシンC投与群では、MNPCEが顕著に増加した。

以上の結果から、インダノファン原体はマウスを用いた小核試験において小核を誘発せず、*in vivo*染色体異常誘発能を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果表:

試験群	投与	動物数	群平均値		
			MNPCE (%) <sup>1)</sup>	MNNCE (%) <sup>2)</sup>	PCE PCE+NCE (%) <sup>3)</sup>
溶媒対照 (0.5%CMC 水溶液)	-	5	0.2	0.0	37
検体	25 mg/kg/day × 2 回経口投与	5	0.8	0.6	35
	50 mg/kg/day × 2 回経口投与	5	0.0	0.0	42
	100 mg/kg/day × 2 回経口投与	5	0.8	0.0	36
陽性対照 (マイトマイシン C)	12 mg/kg/day × 1 回経口投与	5	↑ 33.8	1.0	33

1) MNPCE (%): 多染性赤血球 2000 個中の小核を有する細胞数の出現率

2) MNNCE (%): 正染性赤血球 2000 個中の小核を有する細胞数の出現率

3) [PCE] / [PCE+NCE] (%): 赤血球(PCE + NCE) 中の多染性赤血球(PCE) の割合

↑ : p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

#### (4) DNA 損傷誘発性

##### 1) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 T-21)

試験機関：Huntingdon Research Centre 社

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株(H17、*rec*<sup>+</sup>)と欠損株(M45、*rec*<sup>-</sup>)を用い、致死性差異評価試験\*をラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の共存下および非共存下で実施し、DNA の損傷を検索した。検体はDMSOに溶解して用いた。

0~55000(溶解限界)  $\mu\text{g/ml}$  の検体溶液に、菌液、S-9 Mix またはリン酸緩衝液を加えて 37°C、30 分間培養した。その後、3 種類の培養液の希釈液を調製し、軟寒天を加え、平板プレート上で 37°C で 24 時間培養した。各プレートについて、コロニー数を計数し、生菌数を求めた。試験は 2 回実施した。

<判定法> 生存率比(M45 株の生存率÷H17 株の生存率)を算出する。生存率比が 0.75 未満の場合 *rec*<sup>-</sup> の優性致死を示す。用量相関性のある *rec*<sup>-</sup> の優性致死が 2 回の試験で見られれば「陽性」と判断した。

試験結果：致死性差異試験の結果を次頁の表に示す。

第 1 回および 2 回致死性差異試験において、S-9 Mix の共存下または非共存下で、いくつかの用量で生存率比が 0.75 未満を示したが、用量相関性が見られず、低値を示した用量に再現性はなかった。

一方、陽性対照の 2-アミノアントラセン(S-9 Mix 共存下)および 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(S-9 Mix 非共存下)では用量相関性のある *rec*<sup>-</sup> の優性致死が見られた。また、陰性対照のストレプトマイシン(S-9 Mix 共存下)およびカナマイシン(S-9 Mix 非共存下)では、両菌株に差は見られなかった。

以上の結果より、インダノファン原体は代謝活性化を含む本試験条件下で DNA 損傷を誘発しないものと判断された。

\*: スポット試験の結果、検体は毒性を全く示さなかったため、致死性差異評価試験を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第1回致死性差異試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S-9 Mix の有無	生存率(%)		生存率比 <sup>1)</sup>
			H17	M45	
水	0	-	100.00	100.00	1.00
溶媒対照(DMSO)	0	-	100.00	100.00	1.00
検体	550	-	101.11	73.65	0.73
	1650	-	106.41	82.74	0.78
	5500	-	101.92	77.83	0.76
	16500	-	104.09	77.33	0.74
	55000	-	93.25	87.77	0.94
陰性対照: カナマイシン	10	-	68.11	63.60	0.93
	20	-	38.10	47.00	1.23
	40	-	20.17	26.17	1.30
	80	-	15.64	23.06	1.47
	160	-	13.26	15.95	1.20
陽性対照: AF-2 <sup>2)</sup>	0.0005	-	92.83	76.28	0.82
	0.001	-	99.55	71.88	0.72
	0.002	-	106.30	61.05	0.57
水	0	+	100.00	100.00	1.00
溶媒対照(DMSO)	0	+	100.00	100.00	1.00
検体	550	+	87.79	75.66	0.86
	1650	+	86.09	75.18	0.87
	5500	+	105.30	78.46	0.75
	16500	+	97.79	79.82	0.82
	55000	+	93.70	84.52	0.90
陰性対照: ストレプトマイシン	25	+	84.39	102.83	1.22
	50	+	83.81	108.00	1.29
	100	+	92.12	104.62	1.14
	200	+	82.18	108.79	1.32
	400	+	99.32	105.10	1.06
陽性対照: 2-アミノアントラセン	5	+	104.50	57.71	0.55
	10	+	109.03	61.03	0.56
	20	+	108.31	45.61	0.42

注) <sup>1)</sup> 生存率比 : M45 の生存率(%) ÷ H17 の生存率(%)

<sup>2)</sup> AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

## 第2回致死性差異試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S-9 Mix の有無	生存率(%)		生存率比 <sup>1)</sup>
			H17	M45	
水	0	-	100.00	100.00	1.00
溶媒対照(DMSO)	0	-	100.00	100.00	1.00
検体	550	-	99.85	98.42	0.99
	1650	-	118.64	98.11	0.83
	5500	-	105.09	116.16	1.11
	16500	-	95.54	98.64	1.03
	55000	-	112.75	102.79	0.91
陰性対照: カナマイシン	10	-	87.84	99.49	1.13
	20	-	95.01	89.63	0.94
	40	-	49.13	50.47	1.03
	80	-	15.83	39.36	2.49
	160	-	8.84	21.90	2.48
陽性対照: AF-2 <sup>2)</sup>	0.0005	-	107.01	87.62	0.82
	0.001	-	104.26	55.34	0.53
	0.002	-	96.16	46.98	0.49
水	0	+	100.00	100.00	1.00
溶媒対照(DMSO)	0	+	100.00	100.00	1.00
検体	550	+	108.82	89.25	0.82
	1650	+	107.05	105.27	0.98
	5500	+	98.44	92.49	0.94
	16500	+	121.12	90.18	0.74
	55000	+	96.44	106.90	1.11
陰性対照: ストレプトマイシン	25	+	96.62	98.85	1.02
	50	+	116.14	96.31	0.83
	100	+	93.70	105.30	1.12
	200	+	100.09	101.84	1.02
	400	+	91.11	98.21	1.08
陽性対照: 2-アミノアントラセン	5	+	95.01	60.52	0.64
	10	+	101.50	52.06	0.51
	20	+	99.99	42.64	0.43

注) <sup>1)</sup> 生存率比: M45の生存率(%) ÷ H17の生存率(%)

<sup>2)</sup> AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

(14). 生体の機能に及ぼす影響

生体の機能に及ぼす影響に関する試験

(資料 T-22)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

報告書作成年：1996年

検体の純度：

(1) 中枢神経系に及ぼす影響

1) 一般症状観察

試験動物：ICR系マウス、5週齢(体重27.3~31.4g)、1群雄3匹

試験方法：検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、マウスに0、10、30、100、300 mg/kgの用量で経口投与し、マウスの行動をIrwinの方法に準じて多次元観察した。

結果：中枢興奮等を示す症状が、30 mg/kg以上で検体投与後30分をピークとして発現した。また、300 mg/kgでは検体投与後1時間以内に死亡が見られた。生存例では症状は投与後4時間以内にほぼ消失した。

用量(mg/kg, p.o.)		10	30	100	300
一般症状	死亡率	0/3	0/3	0/3	3/3
	発現度	-	+	++	+++

症状：[グレード]-；異常なし、+；軽度、++；中等度、+++；高度  
[種類]中枢興奮症状(触反応、反応性亢進、恐怖感からの回避反応、驚き反応の亢進、挙尾、痙攣)、不穏\*)、自発運動能低下、散瞳、立毛、下痢

\*) 申請者注：申請者にて修正

2) 睡眠時間に及ぼす影響

試験動物：ICR系マウス、5週齢(体重28.0~33.3g)、1群雄8匹

試験方法：検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、マウスに0、10、30、100 mg/kgの用量で検体を経口投与し、1時間後に80 mg/kgのヘキソバルビタールを腹腔内投与し、正向反射消失から回復までの時間を指標に、睡眠時間に対する影響を調べた。

結果：上記の用量範囲では、睡眠時間に対し影響は見られなかった。

3) 痙攣誘発作用(電撃痙攣)

試験動物：ICR系マウス、5週齢(体重27.1~32.3g)、1群雄10匹

試験方法：検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、マウスに0、10、30、100 mg/kgの用量で検体を経口投与し、1時間後に電撃痙攣装置を用い、角膜に痙攣誘発閾値よりやや低い電気刺激を与え、痙攣(強直性屈曲、強直性伸展および間代性)及び昏睡発現の有無を調べた。陽性対照群には、電気刺激前にペンチレンテトラゾール(40 mg/kg)を皮下投与した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

なお、100 mg/kg 群では 1 例が、検体投与後 1 時間以内(電気刺激前)に痙攣後死亡したため、同群の供試動物数は 9 例であった。

結果: 10 及び 30 mg/kg の検体投与では、痙攣誘発作用は見られなかった。  
100 mg/kg では 4/9 例に痙攣誘発が見られた。なお、陽性対照群では、8/10 例が痙攣を誘発した。

#### 4) 正常体温に及ぼす影響

試験動物: Wistar 系ラット、5 週齢(体重 142~160 g)、1 群雄 6 匹

試験方法: 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、ラットに 0、10、30、100 mg/kg の投与量で検体を経口投与し、投与前、投与 0.5、1、2 及び 4 時間後に直腸温を測定した。

結果: 10 及び 30 mg/kg の検体投与では、正常体温に対し影響は見られなかった。  
100 mg/kg では投与後 1~2 時間まで有意な体温上昇が観察されたが、4 時間後には回復した。なお、100 mg/kg 群の 1/6 例が投与後 1 時間以内に痙攣後、死亡した。

投与量(mg/kg, p.o.)		0	10	30	100
体温(°C)	投与前	38.3	38.3	38.3	38.3
	投与後 0.5 時間	38.2	38.2	38.2	38.5
	投与後 1 時間	38.1	38.2	38.5	↑ 39.6
	投与後 2 時間	38.2	38.1	38.2	↑ 39.4
	投与後 4 時間	38.2	38.1	38.1	38.3

↑ : p<0.05 (Dunnett 検定)

#### 5) 自発脳波に及ぼす影響

試験動物: Wistar 系ラット、10~12 週齢(体重 352~448 g)、1 群雄 3 匹

試験方法: 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、ラットに 0、10、30、100 mg/kg の用量で検体を経口投与した。脳波は、検体投与前から投与後 4 時間まで測定した。脳波の解析は投与直前、投与後 1、2、3 及び 4 時間、皮質脳波の周波数解析(トータルパワー算出)は投与直前、投与後 0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5 及び 4 時間の成績について実施した。

結果: 10 及び 30 mg/kg の検体投与では、大脳皮質および海馬の自発脳波に対して、影響は見られなかった。一方、100 mg/kg では、検体投与後 1 時間より高振幅徐波が消失し、低振幅高頻度速波が発現した。この変化は検体投与後 3 時間には消失し、正常脳波に回復した。なお、同群では、トータルパワーも脳波の変化に対応し変化した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) 呼吸、循環器系に及ぼす影響

試験動物： 日本白色種ウサギ(体重 2.55～3.75 kg)、1 群雄 4 匹

試験方法： 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、ウレタン麻酔下でウサギに 0、60、200、600 mg/kg の用量で十二指腸内に投与し、呼吸、血圧、心拍数及び心電図に対する影響を測定した。成績の解析は、検体投与前、投与後 0.25、0.5、1、2 及び 4 時間目の測定値について行った。

結果： 上記の用量範囲では、呼吸、循環器系に対し影響は見られなかった。

(3) 自律神経系に及ぼす影響

瞳孔径に及ぼす影響

試験動物： Wistar 系ラット、5 週齢(体重 154～175 g)、1 群雄 6 匹

試験方法： 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、ラットに 0、10、30、100 mg/kg の用量で経口投与し、検体投与前、投与 0.5、1、2 及び 4 時間後に瞳孔径を測定した。

結果： 上記の用量範囲では、瞳孔径に対し影響は見られなかった。

(4) 消化器系に及ぼす影響

腸管輸送能に及ぼす影響

試験動物： ICR 系マウス、5 週齢(体重 22.7～28.8 g)、1 群雄 8 匹

試験方法： 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、マウスに 0、10、30、100 mg/kg の用量で経口投与し、検体投与後 1 時間に炭末懸濁液を 0.2 mL/匹で経口投与した。炭末投与 30 分後にマウスを屠殺し、十二指腸起始部から炭末到達先端までの長さを測定し、全小腸の長さに対する炭末移動距離の移行率を求めた。

結果： 上記の用量範囲では、腸管輸送能に対し影響は見られなかった。なお、100 mg/kg 群で 3/8 例が検体投与後 1 時間以内に、痙攣後死亡した。

(5) 骨格筋に及ぼす影響

懸垂動作試験

試験動物： ICR 系マウス、5 週齢(体重 25.9～33.2g)、1 群雄 8 匹

試験方法： 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、マウスに 0、10、30、100 mg/kg の用量で経口投与し、水平に張り渡した針金に前肢をかけさせ、10 秒以内に後肢を針金にかけられない場合を陽性とし、懸垂動作への影響を検討した。検査は、投与後 0.5、1、2 及び 4 時間に行った。

結果： 上記の用量範囲では、懸垂動作に対し影響は見られなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

## (6) 血液に及ぼす影響

### 血液凝固に及ぼす影響

試験動物： 日本白色種ウサギ(体重 2.64~3.32 kg)、1 群雄 6 匹

試験方法： 検体及び陽性対照物質(ワーファリン)を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、検体は 0、200、600 mg/kg、ワーファリンは 130、400 mg/kg の用量で経口投与した。プロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の測定のため、検体投与前、投与後 1、2 及び 4 時間に耳静脈から採血を行った。

結果： 検体及びワーファリンともに、投与後 4 時間まで上記の用量範囲では、PT 及び APTT に対する影響は見られなかった。

考察及び結論： 原体は、マウスにおいて 30 mg/kg 以上で中枢神経系の興奮様作用、100 mg/kg 以上で痙攣誘発の亢進と痙攣を伴った急性死を惹起した。また、ラットでは 100 mg/kg において体温上昇と安静時脳波の速波化が見られ、1 例が痙攣後死亡した。これらにより、検体は中枢神経系に対しては興奮性に作用すると考えられた。一方、検体は呼吸・循環器系、自律神経系、消化器系及び骨格筋機能に対しては薬理学的作用を示さなかった。

以上の結果から、インダノファン原体の生体の機能に及ぼす影響のうち重要な作用として、中枢神経系への影響が挙げられ、急性大量暴露時には、中枢神経系の興奮により痙攣を誘発し、死亡を発生させる可能性が示唆された。

なお、本試験における無毒性量は、マウスで 10 mg/kg、ラットで 30 mg/kg、ウサギで 600 mg/kg 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 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無毒性量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系	単回経口 投与 (1%メチ ルセルロ ース水溶 液に懸 濁)	0	雄 3匹	30	10	症状: 触反応・反応性の亢進、恐怖感からの回避反応、驚き反応の亢進、挙尾、痙攣、不穏*、自発運動能低下、散瞳、立毛、下痢 死亡率: 100 mg/kg 以下; 0/3 300 mg/kg ; 3/3
		10				
		30				
		100				
		300				
睡眠時間 に及ぼす影響 (ヘキソバルビター ル睡眠) (マウス)	0	雄 8匹	(作用 なし)	100	睡眠時間への作用なし	
10						
30						
痙攣誘発作用 (マウス)	0	雄 10匹	100	30	痙攣誘発: 100 mg/kg; あり(4/9) 死亡率: 100 mg/kg; 1/10	
10						
30						
100						
正常体温 に及ぼす影響 (ラット)	0	雄 6匹	100	30	体温上昇: 30 mg/kg 以下; なし 100 mg/kg; あり 死亡率: 100 mg/kg; 1/6	
10						
30						
100						
自発脳波 に及ぼす影響 (ラット)	0	雄 3匹	100	30	低振幅高頻度速波の発現: 30 mg/kg 以下; なし 100 mg/kg; あり	
10						
30						
100						
呼吸、循環器系に及ぼす 影響(ウサギ) (呼吸、血圧、心拍数、心 電図を麻酔下で測定)	0	雄 4匹	(作用 なし)	>600	呼吸・循環器系への作用なし	
60						
200						
600						
自律神経系に及ぼす 影響(マウス) 瞳孔径の測定	0	雄 6匹	(作用 なし)	>100	自律神経系への作用なし	
10						
30						
100						
腸管輸送能に及ぼす 影響(マウス) 炭末輸送能	0	雄 8匹	(作用 なし)	>100	腸管輸送能への作用なし 死亡率: 100 mg/kg; 3/8	
10						
30						
100						
骨格筋に及ぼす影響 (マウス) 懸垂動作試験	0	雄 8匹	(作用 なし)	>100	懸垂動作への影響なし	
10						
30						
100						
血液に及ぼす影響 (ウサギ) 血液凝固能の測定	0	雄 6匹	(作用 なし)	>600	急性暴露における血液凝固能への影響なし	
200						
600						

\*) 申請者注: 申請者にて修正

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(15). 解毒及び治療

ウサギを用いた血液凝固阻害試験及び治療試験

(資料 T-23)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

報告書作成年：1997年

検体の純度：

試験実施の背景： 検体は、マウス、ラット及びイヌの毒性試験で遅発性に血液凝固阻害を惹起することが明らかになっている。検体がインダンジオン系化合物であることから、本作用は他の同系化合物やクマリン系化合物と同様、ビタミン K 拮抗作用に基づくものであると推察された。

本試験は、検体の血液凝固阻害作用機序を明らかにし、治療薬の効果を検討する目的で実施した。

試験動物： 日本白色種ウサギ、体重 2.63～3.14 kg、1 群雄 4 匹

陽性対照物質： ワーファリン

使用した治療薬： ビタミン K

試験方法： 検体(20、40、50、100 及び 200 mg/kg)およびワーファリン(2 mg/kg)は 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、5 日間反復経口投与(1 回/日)した。

【実験 I： 血液凝固阻害作用の推移を検討する試験】

検体の用量は 20～100 mg/kg とし、投与前、投与 5 日間および反復投与終了後 2 日間のプロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。また、陰性対照として溶媒投与群を、陽性対照としてワーファリン処置群を設けた。

【実験 II： ビタミン K による治療試験】

検体の用量を 200 mg/kg として 5 日間の反復投与後、ビタミン K を最終投与 2 時間後に 1 mg/kg 静脈内投与、同 5 時間後に 5 mg/kg 筋肉内投与し、PT 及び APTT 値の変動を 48 時間後まで検討した。また、対照としてビタミン K 無処置群を設けた。

検体の投与量設定根拠：

試験結果： 実験 I 及び実験 II の PT および APTT の成績をそれぞれ次頁の表 I 及び表 II にまとめた。

表 I: 血液凝固阻害作用の推移の検討試験

測定項目	実験処置	検体及びワーファリン投与期間(日)					24* 時間後
		1	2	3	4	5	
PT (%投与前値)	対照 0 mg/kg	85	100	95	89	106	96
	検体 20 mg/kg	100	129	125	111	119	106
	検体 40 mg/kg	89	139	114	121	132	114
	検体 50 mg/kg	87	134	114	119	130	121
	検体 100 mg/kg	104	↑164	↑163	130	148	129
	ワーファリン 2 mg/kg	93	↑159	↑195	↑213	↑232	↑261
APTT (%投与前値)	対照 0 mg/kg	99	97	98	101	83	68
	検体 20 mg/kg	94	145	132	134	120	122
	検体 40 mg/kg	102	147	142	158	112	96
	検体 50 mg/kg	118	130	137	139	117	103
	検体 100 mg/kg	91	145	↑158	135	149	155
	ワーファリン 2 mg/kg	88	↑149	↑168	↑222	↑248	↑321

表中の数値は、検体及びワーファリン反復投与開始前の値に対する変動率(%)

↑:  $p < 0.05$  (Dunnett 検定; 対照群との比較)

\*: 最終投与(5日目)の24時間後

表 II: ビタミン K の治療試験

測定項目	実験処置	5日**	ビタミン K 静注投与後***の経過時間				
			2	3	6	24	48
PT (%投与前値)	検体 200 mg/kg	245	210	241	246	293	101
	検体 200 mg/kg ⇒ビタミン K 処置	254	↓127	↓126	↓113	↓104	95
APTT (%投与前値)	検体 200 mg/kg	225	208	218	228	255	90
	検体 200 mg/kg ⇒ビタミン K 処置	241	↓136	↓125	↓120	↓102	↓71

表中の数値は、検体反復投与開始前の値に対する変動率(%)

↓:  $p < 0.05$  (t 検定; ビタミン K 無処置群との比較)

\*\* : 検体最終投与(5日目)の1時間後

\*\*\*: ビタミン K 静注投与は検体最終投与(5日目)の2時間後

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

検体は、20～50 mg/kg でPT 及び APTT を軽微に延長させた。100 mg/kg では、PT 及び APTT の顕著な延長が見られ、特に投与 2 及び 3 日目には対照群に比べ有意であった。ワーファリンは、投与 2 日目以降、PT 及び APTT を有意に延長させた。治療効果の検討では、検体 200 mg/kg 投与により著しく延長したPT 及び APTT は、ビタミン K 処置により直ちに短縮化し、24 時間後には正常値まで回復した。

以上の結果より、インダノファン原体の血液凝固阻害作用は、ワーファリン等と同様、ビタミン K 拮抗阻害作用によることが明らかになり、治療処置としてはビタミン K の投与が有効である可能性が示された。また、原体 200 mg/kg で惹起された血液凝固阻害作用は、ワーファリン 2 mg/kg の阻害作用と同等であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2. 原体混在物および代謝物の毒性

原体混在物の毒性一覧

インダノファン原体の毒性試験は、を用いて実施された。

毒性試験様原体		の分析結果
有効成分および混在物名		含有率(%)
略号	化学名および構造式	
インダノファン(1)	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> <p>(RS)-2-[2-(3-クロロフェニル)- 2,3-エポキシプロピル]- 2-エチルインダン-1,3-ジオン</p> </div> <div style="flex: 1; text-align: center;"> </div> </div>	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

### 代謝物の毒性

動物、植物および土壌における主要代謝物の毒性を検索するため、次表に示した代謝物について、毒性試験を実施した。

検体一覧表

検体名		由来
略号	化学名および構造式	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(1) 急性および反復経口毒性

1) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 T-24)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences 社

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

検体の純度:

試験動物: SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹

投与時 5~7 週齢(体重 雄 99~148 g、雌 100~131 g)

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、投与前日から一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および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。また、体重を投与当日(0 日)、投与後 3、7 および 14 日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	32、64、80	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	72	51
95%信頼限界	57~90	39~65
死亡開始時間	投与後 20 分	投与後 30 分
死亡終了時間	投与後 1 時間 35 分	投与後 1 時間 30 分
症状発現時間	投与後 5 分	
症状消失時間	投与後 8 日	
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/kg)	32	

中毒症状として、雌雄に関係なく立毛、円背位、軟便・液状便、粗毛、よたよた歩き、よろめき歩行、四肢蒼白、嗜眠、頻呼吸、緩徐呼吸、強直性および間代性痙攣、振戦が見られた。また、少数例で眼球突出、つま先立ち歩行および反応性亢進が見られた。

体重変化について、生存例には、検体投与による影響はなかった。

剖検所見では、死亡例に心臓、肺、肝臓、脾臓および腎臓のうっ血が見られた。さらに、胃を含む消化管においてうっ血、膨満および液状物貯留が見られた。生存例には検体投与に起因する所見は見られなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 T-25)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1997年

検体の純度：

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時5週齢(体重雄129~153g、雌109~128g)

試験期間：14日間観察

試験方法：検体をジメチルスルフォキシド(DMSO)に溶解させ、更にオリーブ油を加えて懸濁させた。この投与液を投与前日から一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および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。また、体重を投与当日(0日)、投与後3、7および14日に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	30、45、70、100、150、300	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	126	78
95%信頼限界	92~215	56~102
死亡開始時間	投与後15分	投与後15分
死亡終了時間	投与後7日	投与後5日
症状発現時間	投与後15分	投与後15分
症状消失時間	投与後7日	投与後6日
無毒性量 (mg/kg)	30	

投与日の死亡例の中毒症状として、振戦、間代性強直性けんれん、間代性けいれん、拳尾、走り回り、異常発声、かみつぎ、歩行異常、眼球突出、呼吸不整、紅涙、流涎、赤色鼻汁、下腹部の汚れおよび側・腹臥位が見られ、剖検所見として腺胃のびらんが見られた。一方、投与後4日以降の死亡例では、投与日に見られた症状は投与翌日には消失したが、投与後4日以降に蒼白、眼退色、鼻出血、自発運動の低下、歩行異常、呼吸不整、下腹部の汚れ、体温低下および緩徐呼吸が見られた。これらの遅発性の死亡例では、体重の減少が見られ、剖検の結果、消化器、肺、胸腺、雄性生殖器および筋肉等に出血が見られた。

生存例では、振戦、間代性強直性けんれん、拳尾、歩行異常、呼吸不整、紅涙、下腹部の汚れおよび側臥位が見られたが、体重および剖検では異常は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 T-26)

試験機関：三菱化学 安全性研究所

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、1群雄各5匹  
投与時5週齢(体重 雄 100~110 g)

試験期間： 7日間観察

試験方法： 検体を0.5%カルボキシメチルセルロースNa水溶液に懸濁し、投与前日から一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状および生死を7日間観察した。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。また、体重を投与当日(0日)、投与後1、3、5および7日に測定した。

試験結果：

	雄
投与量 (mg/kg)	100、300
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	(死亡なし)
死亡開始および終了時間	(死亡なし)
症状発現および消失時間	(症状発現なし)
死亡例の見られなかった最高投与量 (mg/kg)	300

いずれの投与量においても、中毒症状および体重への影響は見られなかった。また、いずれの生存例の剖検所見においても異常は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) **のラットにおける急性経口毒性試験** (資料 T-27)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度：

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

投与時5週齢(体重雄130~143g、雌105~122g)

試験期間：14日間観察

試験方法：検体を0.5%カルボキシメチルセルロース-Na水溶液に懸濁し、投与前日から一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および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。また、体重を投与当日(0日)、投与後3、7および14日に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	30、60、150、300、600	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	160	212
95%信頼限界	110~204	(算出不能)
死亡開始時間	投与後3日	投与後3日
死亡終了時間	投与後7日	投与後10日
症状発現時間	投与後2日	投与後3日
症状消失時間	なし*	投与後11日
無毒性量 (mg/kg)	30	150

\*: 眼球の出血および膨大が観察終了日まで見られた。

中毒症状として、貧血様症状、自発運動の低下、呼吸不整、後肢を主とする内出血および腫脹、歩行異常、側臥位、腹臥位、うずくまり、流涙、体温低下、血尿、鼻出血、紅涙および麻痺性歩行が見られた。また、生存例の一部で眼球の膨大または眼球内の出血が観察期間終了時まで見られた。

体重変化について、検体投与による影響はなかった。

剖検所見では、死亡例に胸腺、精巣、精巣上体、筋肉、回腸内、胸腔内、腹腔内および腹腔内脂肪、脳の硬膜下において出血が見られた。また、胸腺の腫大、消化管内のタール様ないし黒色内容物、脳の血様脳脊髄液が見られた。生存例では、上記の眼球に症状が見られた個体で眼球の出血および腫大が確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) のラットにおける強制経口投与による 28 日間反復投与毒性試験

(資料 T-28)

試験機関：畜産生物科学安全研究所

〔化審法 GLP 対応〕

報告書作成年：1998 年

実施の背景：本化合物は、インダノファンの代謝物であるとともに、インダノファンの中間製造原料でもある。この試験は、この製造原料の化審法に係わる安全性評価のために実施された。

検体の純度：

試験動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹

投与開始時 5 週齢(体重 雄 152~169 g、雌 135~152 g)

試験期間および群構成：

	1 群当りの動物数		投与開始～終了日
	雄	雌	
投与 28 日時 屠殺対象動物	5	5	雄：1997 年 8 月 7 日～9 月 3 日 雌：1997 年 8 月 8 日～9 月 4 日
回復動物 (14 日休薬) [対照群、30 および 50 mg/kg 群のみ]	5	5	雄：1997 年 8 月 7 日～9 月 3 日 (休薬：9 月 4 日～9 月 18 日) 雌：1997 年 8 月 8 日～9 月 4 日 (休薬：9 月 5 日～9 月 19 日)

試験方法：検体をゴマ油に溶解させ、0(対照)、3、10、30 および 50 mg/kg の投与量で 28 日間にわたって毎日 1 回動物に強制経口投与した。対照群では、溶媒であるゴマ油のみを投与した。更に、対照群、30 および 50 mg/kg 群では 28 日間の投与終了後 14 日間の休薬期間を設けた(回復動物)。投与液は少なくとも週 1 回調製し、使用時まで冷蔵保管した。

投与量設定根拠：

試験項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

検体投与による一般状態の変化は見られず、死亡も見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

体重変化： 投与および回復期間を通じて1週間に2回全動物の体重を測定した。

雌雄とも各投与群の体重は対照群と同様な推移を示し、検体投与による影響は見られなかった。

摂餌量： 投与および回復期間を通じて全動物の摂餌量を毎週測定した。

雌雄のいずれの投与群にも検体投与による影響は見られなかった。

血液学的検査： 投与および回復期間終了の翌日に各群の全動物を対象として、一晚絶食した動物の腹大動脈より血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値(Ht)、血小板数、白血球数、白血球百分比、網状赤血球数、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)

対照群に比べ、統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別	雄				雌			
	3	10	30	50	3	10	30	50
投与群(mg/kg)								
Ht								
回復期間	-	-	102	100	-	-	98	↓ 94
PT								
投与期間	100	99	107	↑ 166	99	102	105	↑ 164
回復期間	-	-	101	102	-	-	98	↓ 95
APTT								
投与期間	99	98	117	↑ 169	96	95	114	156
回復期間	-	-	101	96	-	-	102	107
分節核好中球の百分比								
投与期間	125	125	125	100	120	180	↑ 260	200

↑ ↓ : P < 0.05 (多重比較検定)

表中の数値は対照群値を100とした時の値(%)

PTの延長が、雌雄の50 mg/kg群の投与終了時に見られた。APTTの延長が、雄の50 mg/kg群の投与終了時に見られ、同群の雌でも同様の傾向が見られた。これらの変化は検体投与に起因する変化と考えられた。尚、これらの変化は回復動物には見られなかったことから、回復性は良好であると考えられた。一方、分節核好中球百分比の高値が雌30 mg/kg群の投与終了時に見られたが、用量相関性が見られず、白血球数を乗じて求めた分節核好中球数には有意な変化が見られなかったことから、偶発的変化と考えられた。

血液生化学検査： 血液学的検査と同時期に採取した血液から得られた血清を用いて以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、γ-グルタミルトランスぺプチターゼ(γ-GTP)、乳酸脱水素酵素(LDH)、アルカリフォスファターゼ(ALP)、コリンエステラーゼ(ChE)、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総蛋白、アルブミン、A/G比、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群に比べ、統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性別		雄				雌			
投与群(mg/kg)		3	10	30	50	3	10	30	50
LDH	投与期間	137	78	68	↓32	76	223	82	↓49
GOT	回復期間	-	-	↓88	97	-	-	97	89
血糖	投与期間	91	91	92	89	94	↓83	86	86
無機リン	投与期間	↓92	99	94	↓92	108	103	106	104
	回復期間	-	-	96	101	-	-	96	↓86
カリウム	投与期間	103	99	92	↓89	99	108	98	95
塩素	投与期間	↑102	↑102	↑102	102	99	100	100	98

↑↓:P<0.05 (多重比較検定)

表中の数値は対照群値を100とした時の値(%)

LDHの低値が50 mg/kg群の雌雄で、カリウムの低値が同群の雄で投与終了時に見られ、検体投与による変化と考えられた。しかし、LDHの低値は毒性学的意義の低い変化と考えられた。また、カリウムの低値は他に関連する変化が見られず、変化の程度も軽度であった。

一方、血糖、無機リンおよび塩素について見られた変化には用量相関性が見られず、関連性変化も見られなかったことから、偶発性変化と考えられた。

尿検査：投与および回復期間終了の至近日に採取した尿について以下の項目を測定した。

外観、pH、潜血、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン

雌雄のいずれの投与群にも検体投与による影響は見られなかった。

臓器重量：投与終了時屠殺対象動物および回復動物を対象として以下の臓器重量(絶対重量)を測定し、相対重量として対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体および卵巣

対照群に比べ、統計学的有意差の見られた項目を次表に示す。

性別		雄				雌				
投与群(mg/kg)		3	10	30	50	3	10	30	50	
体重 (絶食後)	投与-	95	99	99	98	106	102	105	106	
	回復-	-	-	98	100	-	-	98	107	
腎臓	回復-	相対重量	-	-	↑115	104	-	-	100	95
脾臓	投与-	絶対重量	111	↑123	95	106	109	114	109	107
	投与-	相対重量	111	↑122	94	106	100	110	105	100
甲状腺	回復-	相対重量	-	-	99	101	-	-	105	↓85
副腎	回復-	相対重量	-	-	98	87	-	-	98	↓74

↑↓:P<0.05, ↑↓:P<0.01(多重比較検定)

表中の数値は対照群値を100とした時の値(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投与終了時屠殺対象動物のいずれの群においても、検体投与に関連する変化は見られなかった。

肉眼的病理検査：投与終了時屠殺対象動物および回復動物のすべてについて剖検を行った。検体投与に起因すると考えられる変化は見られなかった。

病理組織学的検査：上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織を固定・保存した。投与終了時屠殺対象動物については対照群と 50 mg/kg 群の雌雄の「心臓、肝臓、腎臓、脾臓および副腎」、回復動物については対照群と 50 mg/kg 群の雌の「副腎および甲状腺」について病理標本を作製し、鏡検した。また、肉眼的病変部ならびに一般状態観察および血液生化学検査で異常所見を示した個体の関連臓器も同様に検査した。

脳、下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺(上皮小体を含む)、唾液腺、胸腺、気管、肺(気管支を含む)、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、大動脈(胸部)、脊髓(頸膨大部、腰膨大部)、坐骨神経、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部・腸間膜)、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚、乳腺および肉眼的病変部  
検体投与に起因する変化は、いずれの投与群においても見られなかった。

以上のラットの強制経口投与方法による 28 日間亜急性毒性試験における影響として、雌雄の 50 mg/kg 群で血液凝固時間(PT および APTT)の延長が見られた。従って、無毒性量\*は雌雄とも 30 mg/kg/day であると判断された。

\* 申請者注：原報には、無影響量「雄雌とも 30 mg/kg/day」との記載はあるが、無毒性量の記載はない。申請者は、雌雄の 50 mg/kg 群で見られた毒性変化に基づき、無毒性量は雌雄とも 30 mg/kg/day と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6)

与による血液凝固阻害作用の検討

のラットを用いた単回強制経口投

(資料 T-28-1)

試験機関：三菱化学(但し、肝臓の薬物濃度分析は、  
三菱化学安全科学研究所で実施)

報告書作成年：1999年

実施の背景および目的：残留農薬安全性評価委員会からの要望事項に対して、インダノファンの  
単回経口投与における血液凝固阻害作用の有無を検討するとともに、同作用の原  
因物質を考察するため、この試験が実施された。

検体の純度：

試験動物：

群構成：




本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7)

を用いた混餌法による4週間反復投与比較毒性試験

(資料 T-28-2)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1999年

実施の背景：

検体の純度：

試験動物：

群構成：


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

---

---

---

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。




本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上のことから、  
の無毒性量は雌雄とも 6 ppm (雄 0.455 mg/kg/day、雌 0.475 mg/kg/day)と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。




本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

## (2) 変異原性

### 1) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 T-29)

試験機関：Huntingdon Life Sciences(英国)  
〔GLP 対応〕

報告書作成年：1996年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537 および TA1538 株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*<sup>-</sup>株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の共存下および非共存下でプレート法を用いて変異原性を検索した。

検体は DMSO に溶解した。予備試験(用量:5~5000  $\mu$ g/プレート)を実施した結果、全 6 菌株で S-9 Mix の共存下および非共存下とも 5000  $\mu$ g/プレートの用量で抗菌性が見られた。一方、500  $\mu$ g/プレート以下の用量では何れの菌株とも抗菌性は見られなかった。従って、5000  $\mu$ g/プレートを本試験の最高用量とした。

試験濃度は第 1 回試験では 39.06~5000  $\mu$ g/プレートの範囲で 8 用量、第 2 回試験では 78.13~5000  $\mu$ g/プレートの範囲で 7 用量とした。試験は 1 用量当たり 3 プレートとし、2 回(第 1 回および 2 回試験)行った。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

2 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の抗菌性が見られる用量まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた *N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンおよび 2-アミノアントラセンでは各々の指標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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第1回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537	TA1538
対照(DMSO)	0	—	115	16	75	21	8	13
検体	0.0 <sup>1)</sup>	—	119	14	73	26	14	14
	39.1	—	124	14	68	19	10	6
	78.1	—	127	10	65	20	5	4
	156	—	105	14	82	18	6	7
	313	—	128	15	70	25	14	9
	625	—	113	19	91	24	14	13
	1250	—	112	14	77	21	16	15
	2500	—	# <sup>2)</sup>	#	#	#	#	#
5000	—	#	#	#	#	#	#	
対照(DMSO)	0	+	118	15	75	26	11	16
検体	0.0 <sup>1)</sup>	+	129	20	79	28	16	17
	39.1	+	121	16	78	23	6	9
	78.1	+	126	12	75	27	7	9
	156	+	97	13	74	29	11	10
	313	+	129	13	93	28	18	13
	625	+	122	17	80	28	13	19
	1250	+	130	16	90	26	14	12
	2500	+	#	#	#	#	#	#
5000	+	#	#	#	#	#	#	
陽性 対照 <sup>3)</sup>	ENNG	別表記載	—	465	264	794		
	NF	別表記載	—				384	404
	9AC	別表記載	—					X <sup>4)</sup>
	AA	別表記載	+	483	228	370	200	98

注) <sup>1)</sup> 指標菌株および S-9 Mix (またはリン酸緩衝液) のみ反応

<sup>2)</sup> #: 抗菌性

<sup>3)</sup> 陽性対照物質名と用量

<sup>4)</sup> X: コロニー数過多の為、正確な計数が不可能

別表

略称	化学名	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )					
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537	TA1538
ENNG	N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	3.0	5.0	2.0	-	-	-
NF	2-ニトロフルオレン	-	-	-	1.0	-	2.0
9AC	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80.0	-
AA	2-アミノアントラセン	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0	0.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第2回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537	TA1538
対照(DMSO)	0	—	138	18	63	29	6	16
検体	0.0 <sup>1)</sup>	—	134	19	55	29	6	15
	39.1	—	129	18	49	26	7	18
	78.1	—	117	20	58	32	8	16
	156	—	128	21	84	27	8	18
	313	—	112	20	75	33	6	15
	625	—	76	15	39	30	7	18
	1250	—	# <sup>2)</sup>	#	#	#	#	#
	2500	—	#	#	#	#	#	#
対照(DMSO)	0	+	99	14	58	33	6	15
検体	0.0 <sup>1)</sup>	+	117	15	64	29	8	13
	39.1	+	110	16	63	26	7	15
	78.1	+	113	14	67	33	5	18
	156	+	124	17	74	33	8	19
	313	+	132	15	79	29	8	13
	625	+	74	18	72	26	9	13
	1250	+	#	#	#	#	#	#
	2500	+	#	#	#	#	#	#
陽性 対照 <sup>3)</sup>	ENNG	別表記載	—	281	105	373		
	NF	別表記載	—				132	82
	9AC	別表記載	—					X <sup>4)</sup>
	AA	別表記載	+	418	114	246	155	57

注) <sup>1)</sup> 指標菌株および S-9 Mix(またはリン酸緩衝液)のみ反応

<sup>2)</sup> #: 抗菌性

<sup>3)</sup> 陽性対照物質名と用量

<sup>4)</sup> X: コロニー数過多の為、正確な計数が不可能

別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )						
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537	TA1538	
ENNG	N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	3.0	5.0	2.0	-	-	-	
NF	2-ニトロフルオレン	-	-	-	1.0	-	2.0	
9AC	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80.0	-	
AA	2-アミノアントラセン	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0	0.5	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 2) の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 T-30)

試験機関 : 三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

検体の純度:

試験方法: ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535 および TA1537 株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*<sup>-</sup>株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix の共存下および非共存下でブレインキューベーション法を用いて変異原性を検索した。

検体は DMSO に溶解した。予備試験(用量:1.22~5000  $\mu$ g/プレート)を実施した結果、全 5 菌株で S-9 Mix の共存下および非共存下とも 1250  $\mu$ g/プレートの用量で抗菌性が見られた。従って、2500 または 1250  $\mu$ g/プレートを本試験の最高用量とした。

試験濃度は第 1 および 2 回試験とも TA98 および WP2 *uvrA*<sup>-</sup>株では 39.1~2500  $\mu$ g/プレートの範囲で 7 用量、その他の菌株では 39.1~1250  $\mu$ g/プレートの範囲で 6 用量とした。試験は 3 プレート/用量とし、2 回(第 1 回および 2 回試験)行った。

試験結果: 結果を次頁の表に示す。

2 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の抗菌性が見られる用量を含め何れの用量においても、またいずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 2-アミノアントラセンでは各々の指標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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異を誘発しないものと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第1回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	-	133	10	29	15	7
検体	39.1	-	129	11	26	19	6
	78.1	-	115	11	26	14	8
	156	-	116	13	30	19	7
	313	-	132	11	23	18	7
	625	-	99# <sup>1)</sup>	9#	22	18	4#
	1250	-	0#	0#	18#	11#	0#
	2500	-			17# <sup>2)</sup>	15# <sup>3)</sup>	
対照(DMSO)	0	+	129	12	27	25	12
検体	39.1	+	144	12	30	24	10
	78.1	+	129	10	26	22	10
	156	+	134	14	33	25	9
	313	+	141	16	31	33	6
	625	+	108#	11#	34	26	9#
	1250	+	0#	0#	25#	24#	0#
	2500	+			16#	19#	
3) 陽性 対照	AF-2	別表記載	-	574			606
	NaN <sub>3</sub>	別表記載	-		438		
	ENNG	別表記載	-			606	
	9-AA	別表記載	-				494
	2-AA	別表記載	+	1071	428	1628	327

注) <sup>1)</sup> #: 抗菌性

<sup>2)</sup> \$: 沈殿物

<sup>3)</sup> 陽性対照物質名と用量

別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}$ /プレート)				
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド	0.01	-	-	0.1	-
NaN <sub>3</sub>	アジ化ナトリウム	-	0.5	-	-	-
ENNG	N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	-	-	2	-	-
9-AA	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80
2-AA	2-アミノアントラセン(+S9のみ)	1	2	10	0.5	2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第2回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	—	140	17	29	19	15
検体	39.1	—	137	18	28	17	7
	78.1	—	143	18	34	18	12
	156	—	149	18	32	19	9
	313	—	131	17	27	16	10
	625	—	96# <sup>1)</sup>	8#	27	12	5#
	1250	—	0#	0#	26#	14#	0#
	2500	—			19#\$ <sup>2)</sup>	10#\$	
対照(DMSO)	0	+	144	17	32	30	13
検体	39.1	+	149	20	32	24	13
	78.1	+	142	20	33	24	8
	156	+	140	16	33	29	14
	313	+	138	17	39	29	10
	625	+	105#	14#	32	24	11#
	1250	+	0#	0#	19#	23#	0#
	2500	+			21#	22#	
3) 陽性 対照	AF-2	別表記載	—	623		614	
	NaN <sub>3</sub>	別表記載	—		392		
	ENNG	別表記載	—		530		
	9-AA	別表記載	—				474
	2-AA	別表記載	+	992	417	1844	423

注) <sup>1)</sup> #: 抗菌性

<sup>2)</sup> \$: 沈殿物

<sup>3)</sup> 陽性対照物質名と用量

別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )				
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド	0.01	—	—	0.1	—
NaN <sub>3</sub>	アジ化ナトリウム	—	0.5	—	—	—
ENNG	<i>N</i> -エチル- <i>N'</i> -ニトロ- <i>N</i> -ニトロソグアニジン	—	—	2	—	—
9-AA	9-アミノアクリジン	—	—	—	—	80
2-AA	2-アミノアントラセン(+S9のみ)	1	2	10	0.5	2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 T-31)

試験機関：三菱化学 安全性研究所

報告書作成年：1996年

検体の純度：

試験方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA94、TA98 および TA2637 株)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて変異原性を検索した。  
検体を DMSO に懸濁し、50~5000  $\mu$ g/プレートの範囲で7用量を設定した。  
試験は1プレート/用量とし、1回行った。

試験結果： 結果を次頁の表に示す。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、最高用量 5000  $\mu$ g/プレートまでの用量で、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。  
一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、2-アミノアントラセン、9-アミノアクリジンおよびマイトマイシン C では各々の指標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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(表中の数値は1プレートの値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート			
			塩基置換型		フレームシフト型	
			TA100	TA94	TA98	TA2637
対照(DMSO)	0	—	124	29	30	18
検体	50	—	120	32	22	10
	100	—	121	28	26	11
	200	—	131	25	23	18
	500	—	128	20	40	21
	1000	—	133	21	32	16
	2000	—	88 \$ <sup>1)</sup>	33 \$	21 \$	24 \$
	5000	—	90 \$	30 \$	28 \$	18 \$
対照(DMSO)	0	+	125	36	45	35
検体	50	+	124	41	25	29
	100	+	118	20	53	45
	200	+	133	36	36	51
	500	+	119	26	37	40
	1000	+	122	43	35	23
	2000	+	97 \$	44 \$	21 \$	14 \$
	5000	+	86 \$	46 \$	35 \$	17 \$
陽性 対照 <sup>3)</sup>	AF-2	別表記載	—	434	221	
	MMC	別表記載	—		253	
	9AA	別表記載	—			110
	2AA	別表記載	+	633	127	964

注) <sup>1)</sup> \$: 結晶の析出

<sup>2)</sup> 陽性対照物質名と用量

#### 別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )			
		TA100	TA94	TA98	TA2637
AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド	0.01	—	0.1	—
MMC	マイトマイシン C	—	5.0	—	—
9AA	9-アミノアクリジン	—	—	—	80.0
2AA	2-アミノアントラセン	5.0	30.0	5.0	5.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 T-32)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535 および TA1537 株)およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*<sup>-</sup>株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて変異原性を検索した。

検体は DMSO に溶解した。予備試験(用量:1.22~5000  $\mu$ g/プレート)を実施した。その結果、S-9 Mix 非共存下では TA100、TA1535、TA98、TA1537 の 1250  $\mu$ g/プレート以上、WP2 *uvrA*<sup>-</sup>の 5000  $\mu$ g/プレートで、S-9 Mix 共存下ではすべての菌株の 1250  $\mu$ g/プレート以上で抗菌性が見られた。従って、本試験の用量では、S-9 Mix 非共存下の TA100、TA1535、TA1537 は 39.1~1250  $\mu$ g/プレートの 6 用量、WP2 *uvrA*<sup>-</sup>は 156~5000  $\mu$ g/プレートの 6 用量、TA98 は 39.1~2500  $\mu$ g/プレートの 7 用量を、S-9 Mix 共存下の TA100、TA1535、TA1537 は 39.1~1250  $\mu$ g/プレートの 6 用量、WP2 *uvrA*<sup>-</sup>および TA98 は 39.1~2500  $\mu$ g/プレートの 7 用量をそれぞれ設定した。試験は 3 プレート/用量とし、2 回(第 1 回および 2 回試験)行った。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

2 回の試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、何れの用量においても、またいずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。なお、S-9 Mix 非共存下および共存下の 1250  $\mu$ g/プレート以上で沈殿物が見られた。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 2-アミノアントラセンでは各々の指標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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第1回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA <sup>-</sup>	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	-	160	11	29	19	8
検体	39.1	-	155	19		23	6
	78.1	-	157	17		22	6
	156	-	164	14	20	21	8
	313	-	130	11	24	22	8
	625	-	112#	8#	21	19	5#
	1250	-	0#\$	0#\$	21\$	18#\$	0#\$
	2500	-			23\$	14#\$	
5000	-			19#\$			
対照(DMSO)	0	+	169	21	32	35	10
検体	39.1	+	160	14	27	25	11
	78.1	+	170	16	30	31	8
	156	+	162	18	30	30	10
	313	+	167	17	28	25	8
	625	+	119#	7#	17#	19#	5#
	1250	+	0#\$	0#\$	14#\$	24#\$	0#\$
	2500	+			16#\$	20#\$	
3) 陽性 対照	AF-2	別表記載	687			437	
	NaN <sub>3</sub>	別表記載		516			
	ENNG	別表記載			709		
	9-AA	別表記載					338
	2-AA	別表記載	+	1115	416	1301	383

注) 1) #: 抗菌性  
2) \$: 沈殿物  
3) 陽性対照物質名と用量

別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}$ /プレート)				
		TA100	TA1535	WP2uvrA <sup>-</sup>	TA98	TA1537
AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド	0.01	-	-	0.1	-
NaN <sub>3</sub>	アジ化ナトリウム	-	0.5	-	-	-
ENNG	N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	-	-	2	-	-
9-AA	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80
2-AA	2-アミノアントラセン	1	2	10	0.5	2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第2回試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	-	147	12	29	18	9
検体	39.1	-	165	11		20	9
	78.1	-	166	11		17	8
	156	-	158	13	32	15	11
	313	-	154	11	30	14	10
	625	-	113 #	8 #	22	18	4 #
	1250	-	0 # $\$$	0 # $\$$	19 $\$$	14 # $\$$	0 # $\$$
	2500	-			21 $\$$	14 # $\$$	
	5000	-			20 # $\$$		
対照(DMSO)	0	+	167	10	34	29	12
検体	39.1	+	162	14	39	29	13
	78.1	+	149	14	40	26	13
	156	+	166	14	33	33	14
	313	+	148	13	34	29	13
	625	+	121 #	9 #	15 #	19 #	7 #
	1250	+	0 # $\$$	0 # $\$$	16 # $\$$	19 # $\$$	0 # $\$$
	2500	+			14 # $\$$	17 # $\$$	
3) 陽性対照	AF-2	別表記載	816			469	
	NaN <sub>3</sub>	別表記載		450			
	ENNG	別表記載			508		
	9-AA	別表記載					274
	2-AA	別表記載	+	1204	337	1463	404

注) 1) #: 抗菌性  
2)  $\$$ : 沈殿物  
3) 陽性対照物質名と用量

別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )				
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド	0.01	-	-	0.1	-
NaN <sub>3</sub>	アジ化ナトリウム	-	0.5	-	-	-
ENNG	<i>N</i> -エチル- <i>N'</i> -ニトロ- <i>N</i> -ニトロソグアニジン	-	-	2	-	-
9-AA	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80
2-AA	2-アミノアントラセン	1	2	10	0.5	2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 T-33)

試験機関：日本油料検定協会

[化審法および労安法 GLP 対応]

報告書作成年：1997年

実施の背景：

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535 および TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*<sup>-</sup> 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の共存下および非共存下でプレインキュベーション法を用いて変異原性を検索した。

検体は DMSO に溶解した。予備試験 (用量: 156~5000  $\mu$ g/プレート) を実施した結果、全 5 菌株で S-9 Mix の共存下および非共存下とも 5000  $\mu$ g/プレートまでの用量で抗菌性が見られなかった。従って、5000  $\mu$ g/プレートを本試験の最高用量とした。

試験濃度はいずれの菌株とも 313~5000  $\mu$ g/プレートの範囲で 5 用量とした。試験は 2 プレート/用量とし、1 回行った。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの用量、またいずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、ナトリウムアジド、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 2-アミノアントラセンでは各々の指標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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異を誘発しないものと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(表中の数値は2プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	—	103	6	19	13	9
検体	313	—	100 \$ <sup>1)</sup>	7 \$	13 \$	10 \$	7 \$
	625	—	92 \$	9 \$	9 \$	13 \$	6 \$
	1250	—	100 \$	7 \$	6 \$	14 \$	7 \$
	2500	—	105 \$	4 \$	10 \$	10 \$	6 \$
	5000	—	96 \$	6 \$	10 \$	14 \$	7 \$
対照(DMSO)	0	+	97	10	16	18	13
検体	313	+	138 \$	6 \$	19 \$	15 \$	8 \$
	625	+	134 \$	6 \$	16 \$	15 \$	9 \$
	1250	+	138 \$	6 \$	18 \$	15 \$	10 \$
	2500	+	106 \$	8 \$	13 \$	20 \$	9 \$
	5000	+	131 \$	4 \$	14 \$	19 \$	7 \$
陽性対照 <sup>3)</sup>	AF-2	別表記載	—	726			269
	NaN <sub>3</sub>	別表記載	—		301		
	ENNG	別表記載	—			513	
	9-AA	別表記載	—				306
	2-AA	別表記載	+	691	193	740	323

注) <sup>1)</sup> \$: 被験物質の析出

<sup>2)</sup> 陽性対照物質名と用量

### 別表

略称	化学名	用量( $\mu\text{g}$ /プレート)				
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA^-$	TA98	TA1537
AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド	0.01	-	-	0.1	-
NaN <sub>3</sub>	ナトリウムアジド	-	0.5	-	-	-
ENNG	<i>N</i> -エチル- <i>N'</i> -ニトロ- <i>N</i> -ニトロソグアニジン	-	-	2	-	-
9-AA	9-アミノアクリジン	-	-	-	-	80
2-AA	2-アミノアントラセン	1	2	10	0.5	2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) の CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 T-34)

試験機関：畜産生物科学安全研究所

[化審法 GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

実施の背景：

検体の純度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺組織由来培養細胞株(CHL 細胞)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の共存下および非共存下で染色体異常誘発性を検索した。

次の 4 処理群を設定した。

第 1 群：-S-9 Mix、24 時間検体処理(24 時間目に細胞を回収)

第 2 群：-S-9 Mix、48 時間検体処理(48 時間目に細胞を回収)

第 3 群：-S-9 Mix、6 時間検体処理(24 時間目に細胞を回収)

第 4 群：+S-9 Mix、6 時間検体処理(24 時間目に細胞を回収)

検体は DMSO に溶解し、細胞増殖抑制試験の結果から第 1 および 2 群では 100  $\mu$ g/mL、第 3 群では 125  $\mu$ g/mL、第 4 群では 150  $\mu$ g/mL を最高濃度として処理した後、染色体標本を作製した。1 濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察し、染色体構造異常および倍数性細胞の出現を調べた。

尚、各処理群には溶媒対照群(DMSO)および陽性対照群をそれぞれ設けた。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

染色体構造異常の出現頻度については、第 1、2 および 3 群において溶媒対照に比べて増加は見られなかった。しかし、第 4 群(S-9 Mix 共存下の 6 時間処理群)では用量依存的な染色体構造異常の出現頻度の増加傾向が見られ、125 および 150  $\mu$ g/mL での出現頻度は溶媒対照群に比べて統計学的に有意であった。第 4 群の  $D_{20}$  値\*は、0.18 mg/mL と算出された。

一方、陽性対照物質は溶媒対照に比べて統計学的に有意な染色体異常を誘発した。

以上の結果より、検体は本試験条件下で代謝活性化の共存下で染色体異常誘発性を有すると判断された。

\*  $D_{20}$  値：分裂中期像 20%に異常を誘発させるために必要な検体の用量(mg/mL)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第1群：S-9 Mix 非共存下、24 時間処理 (24 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)										判定	
			倍数性細胞		ギヤップ	染色分体型		染色体型		その他		合計 <sup>1)</sup>		
			出現数 と頻度 (%)	判定		切断	交換	切断	交換	切断	交換	+g		-g
溶媒対照 (DMSO)	0	200	0 (0)	/	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0.1)	1 (0.5)	/
検体	12.5	200	1 (0.5)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性
	25	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	陰性
	50	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性
	75	200	0 (0)	陰性	0 (0)	2 (0.1)	2 (0.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (2.0)	4 (2.0)	陰性
	100	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	2 (0.1)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	3 (1.5)	陰性
陽性対照 MNNG <sup>2)</sup>	2.5	200	1 (0.5)	陰性	8 (4.0)	56 (28.0)	199 (99.5)	6 (3.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	199** (99.5)	199 (99.5)	陽性

注)<sup>1)</sup> +g: ギヤップのみを有する細胞を含む場合  
 -g: ギヤップのみを有する細胞を除く場合  
<sup>2)</sup> MNNG: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン  
 \*\*: P < 0.01 ( $\chi^2$ 検定または Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第2群：S-9 Mix 非共存下、48 時間処理(48 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	倍数性細胞		染色体構造異常細胞の出現数と頻度 (%)										判定
			出現数 と頻度 (%)	判定	ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	合計 <sup>1)</sup>				
						切斷	交換	切斷	交換		+g	-g			
溶媒対照 (DMSO)	0	200	0 (0)	/	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	/
検体	12.5	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性
	25	200	0 (0)	陰性	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性
	50	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性
	75	200	0 (0)	陰性	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性
	100 #	200	- (-)	-	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	-
陽性対照 MNNG <sup>2)</sup>	2.5	200	3 (1.5)	陰性	8 (4.0)	192 (96.0)	16 (8.0)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	194** (97.0)	194 (97.0)	194 (97.0)	194 (97.0)	陽性

注) <sup>1)</sup> +g:ギャップのみを有する細胞を含む場合

-g:ギャップのみを有する細胞を除く場合

<sup>2)</sup> MNNG: N'-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

# : 細胞毒性のため、観察可能な分裂中期像なし

\*\* :  $P < 0.01$  ( $\chi^2$ 検定または Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第3群: S-9 Mix 非共存下、6 時間処理 (24 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	観察 細胞数	倍數性細胞		染色体構造異常細胞の出現數と頻度 (%)										判定
			出現數 と頻度 (%)	判定	ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	合計 <sup>1)</sup>				
						切斷	交換	切斷	交換		+g	-g			
溶媒対照 (DMSO)	0	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	5 (2.5)	5 (2.5)	5 (2.5)	陰性
検体	25	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	陰性
	50	200	2 (1.0)	陰性	1 (0.5)	0 (0)	4 (2.0)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	7 (3.5)	6 (3.0)	6 (3.0)	陰性	
	75	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	2 (1.0)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性	
	100	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	2 (1.0)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性	
陽性対照 B[a]P <sup>2)</sup>	125	200	1 (0.5)	陰性	3 (1.5)	5 (2.5)	6 (3.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (5.0)	10 (5.0)	10 (5.0)	陰性	
	10	200	1 (0.5)	陰性	3 (1.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	5 (2.5)	2 (1.0)	5 (2.5)	陰性	

注) <sup>1)</sup> +g: ギャップのみを有する細胞を含む場合

-g: ギャップのみを有する細胞を除く場合

<sup>2)</sup> B[a]P: 3,4-ベンツ[a]ピレン

\*\* :  $P < 0.01$  ( $\chi^2$ 検定または Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第4群:S-9 Mix 共存下、6時間処理(24時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	倍索性細胞		ギヤップ	染色体構造異常細胞の出現数と頻度(%)								判定	
			出現数 と頻度 (%)	判定		染色体分体型		染色体型		その他	合計 <sup>1)</sup>				
						切断	交換	切断	交換		+g	-g			
溶媒対照 (DMSO)	0	200	0 (0)		0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	2 (1.0)	2 (1.0)		
検体	25	200	0 (0)	陰性	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	2 (1.0)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性	
	50	200	0 (0)	陰性	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性	
	75	200	0 (0)	陰性	0 (0)	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	2 (1.0)	2 (1.0)	陰性	
	100	200	2 (1.0)	陰性	0 (0)	3 (1.5)	3 (1.5)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	6 (3.0)	6 (3.0)	6 (3.0)	陰性	
	125	200	2 (1.0)	陰性	0 (0)	11 (5.5)	6 (3.0)	0 (0)	6 (3.0)	0 (0)	17** (8.5)	17 (8.5)	17 (8.5)	陽性	
陽性対照 B[a]P <sup>2)</sup>	150	200	0 (0)	陰性	4 (2.0)	33 (16.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	33** (16.5)	33 (16.5)	33 (16.5)	陽性	
	10	200	1 (0.5)	陰性	4 (2.0)	88 (44.0)	1 (0.5)	3 (1.5)	0 (0)	93** (46.5)	91 (45.5)	91 (45.5)	91 (45.5)	陽性	

注) <sup>1)</sup> +g:ギヤップのみを有する細胞を含む場合

-g:ギヤップのみを有する細胞を除く場合

<sup>2)</sup> B[a]P: 3,4-ベンツ[a]ピレン

\*\* :  $P < 0.01$  ( $\chi^2$ 検定または Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7) のマウスにおける *in vivo* 小核試験 (資料 T-35)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

実施の背景：

検体の純度：

試験動物：ICR 系マウス、1 群雄 6 匹

投与開始時 8 週齢(体重 34.0~38.0 g)

試験方法：検体をオリーブ油に懸濁し、0(溶媒対照)、15.6、31.3、62.5 mg/kg の用量で動物に 24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。用量設定試験(31.3、62.5、125 mg/kg の用量で 2 回投与)の結果、125 mg/kg 群で 5 例中 1 例の死亡が見られ、62.5 mg/kg 以下の用量では死亡は見られなかった。従って、小核試験の高用量(最大耐量)を 62.5 mg/kg とする上記の用量を設定した。

骨髓塗抹標本は、2 回目の投与終了後 24 時間とし、各動物 2000 個の多染性赤血球(PCE)を観察した。

[陽性の判定基準] 検体群で小核をもつ多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度(%)が、溶媒対照群の値に比べて統計学的に有意な増加を示し、その増加に用量相関性が見られる場合を陽性と判断した。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

小核をもつ多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度および多染性赤血球(PCE)の出現頻度は、いずれの検体群でも明らかな増加、減少は見られず、溶媒対照群と比較して有意な差は見られなかった。

一方、陽性対照のシクロfosファミド群(40 mg/kg の用量で単回腹腔内投与)では、小核をもつ多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度は溶媒対照群と比較して有意に増加した。

以上の結果より、検体はマウスにおける小核試験において小核を誘発せず、*in vivo* 条件下で染色体異常を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬物	投与量 × 投与回数	MNPCE <sup>1)</sup>		PCE(%) <sup>2)</sup> 平均±標準偏差 n=6
		総出現数 (6匹合計)	出現頻度(%) 平均±標準偏差 n=6	
溶媒対照 (オリーブ油)	0 mg/kg × 2 (強制経口)	16	0.13 ± 0.05	50.8 ± 1.81
検体	15.6 mg/kg × 2 (強制経口)	9	0.08 ± 0.05	48.8 ± 3.75
	31.3 mg/kg × 2 (強制経口)	12	0.10 ± 0.05	48.2 ± 4.06
	62.5 mg/kg × 2 (強制経口)	13	0.11 ± 0.04	50.1 ± 3.77
陽性対照 (シクロfosファミド)	40 mg/kg × 1 (腹腔内)	306** <sup>3)</sup>	2.55 ± 0.45	49.0 ± 2.78

<sup>1)</sup> MNPCE: 小核をもつ多染性赤血球。多染性赤血球は、各動物 2000 個観察した。

<sup>2)</sup> PCE(%):

$$PCE(\%) = \frac{\text{多染性赤血球数}}{\text{多染性赤血球} + \text{正染性赤血球数}} \times 100$$

<sup>3)</sup> \*\*: P < 0.01 (Kastenbaum と Bowman の方法)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

8)                    の *in vitro* 染色体異常試験                   (資料 T-35-1)

試験機関：三菱化学安全科学研究所  
[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

実施の背景:

検体の純度:

試験方法:   チャイニーズハムスター肺由来細胞株(CHL/IU)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の共存下および非共存下で染色体異常誘発性を検索した。

試験では、次の 4 処理群を設定した。

第 1 群: -S-9 Mix、24 時間検体処理(24 時間目に細胞を回収)

第 2 群: -S-9 Mix、48 時間検体処理(48 時間目に細胞を回収)

第 3 群: -S-9 Mix、6 時間検体処理(24 時間目に細胞を回収)

第 4 群: +S-9 Mix、6 時間検体処理(24 時間目に細胞を回収)

検体は DMSO に溶解し、細胞増殖抑制試験の結果から第 1 群では 250  $\mu$ g/mL、第 2 群では 125  $\mu$ g/mL、第 3 群では 300  $\mu$ g/mL、第 4 群では 400  $\mu$ g/mL を最高濃度として処理した後、染色体標本を作製した。1 濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察し、染色体構造異常細胞および倍数性細胞の出現を調べた。

尚、各処理群には無処理対照群、溶媒対照群(DMSO)および陽性対照群をそれぞれ設けた。

[判定基準]各処理条件において、構造異常細胞(ギャップのみを有する細胞を除く)または倍数性異常細胞の出現頻度が 5%未満を陰性、5~10%を疑陽性、10%以上を陽性と判定した。

試験結果:   結果を次頁以降の表に示す。

第 4 群(+S-9 Mix、6 時間検体処理)の 350 および 400  $\mu$ g/mL において、染色体構造異常細胞の出現頻度は 17.0%および 23.3%であり、陽性と判定された。その他の処理群では構造異常細胞の出現頻度はいずれも 5%未満であった。倍数性細胞の出現頻度はいずれの処理群においても 5%未満であった。一方、陽性対照群では明らかな構造異常細胞の増加が見られた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で染色体異常誘発性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第1群：S-9 Mix 非共存下、24時間処理(24時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	倍數性細胞		ギヤップ	染色体構造異常細胞の出現數と頻度(%)						判定	
			出現數 と頻度 (%)	判定		染色分體型		染色體型		断片化	合計		
						切断	交換	切断	交換		-g		+g
無処理		200	0 (0)		2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	3 (1.5)	
溶媒対照 (DMSO)	0	200	0 (0)		1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	2 (1.0)	
検体	31.3	200	0 (0)	陰性	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	5 (2.5)	5 (2.5)	陰性
	62.5	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性
	125	200	0 (0)	陰性	2 (1.0)	3 (1.5)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	6 (3.0)	8 (4.0)	陰性
陽性対照物質 マイトマイシンC	250	200	2 (1.0)	陰性	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	2 (1.0)	陰性
	0.03	200	0 (0)	陰性	2 (1.0)	24 (12.0)	1 (0.5)	24 (12.0)	0 (0)	0 (0)	45 (22.5)	46 (23.0)	陽性

注) -g:ギヤップのみを有する細胞を除く場合  
+g:ギヤップのみを有する細胞を含む場合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第2群・S-9 Mix 非共存下、48 時間処理(48 時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	倍數性細胞		ギヤップ	染色体構造異常細胞の出現数と頻度(%)						合計		判定	
			出現数 と頻度 (%)	判定		染色体型		断片化	染色体型		-g	+g			
						切断	交換		切断	交換					
無処理		200	0 (0)		0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	2 (1.0)		
溶媒対照 (DMSO)	0	200	0 (0)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	2 (1.0)		
検体	15.6	200	0 (0)	陰性	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	陰性	
	31.3	200	0 (0)	陰性	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	3 (1.5)	陰性	
	62.5	200	1 (0.5)	陰性	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	3 (1.5)	陰性	
陽性対照 マイトマイシンC	125	200	0 (0)	陰性	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	4 (2.0)	陰性	
	0.03	200	0 (0)	陰性	4 (2.0)	30 (15.0)	44 (22.0)	4 (2.0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	70 (35.0)	73 (36.5)	陽性	

注) -g: ギヤップのみを有する細胞を除く場合  
+g: ギヤップのみを有する細胞を含む場合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第3群:S-9 Mix 非共存下、6時間処理(24時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	染色体構造異常細胞の出現数と頻度(%)										判定
			倍数性細胞		ギヤップ	染色分体型		染色体型		断片化	合計		
			出現数 と頻度 (%)	判定		切断	交換	切断	交換		-g	+g	
無処理		200	0 (0)		3 (1.5)	2 (1.0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	4 (2.0)	7 (3.5)	
溶媒 (DMSO)	0	200	1 (0.5)		0 (0)	2 (1.0)	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	2 (2.0)	4 (2.0)	
検体	37.5	200	0 (0)	陰性	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	3 (1.5)	3 (1.5)	陰性
	75	200	0 (0)	陰性	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	3 (1.5)	陰性
	150	200	1 (0.5)	陰性	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	4 (2.0)	4 (2.0)	陰性
陽性対照 ベンゾ[a]ピレン	300	200	0 (0)	陰性	1 (0.5)	7 (3.5)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9 (4.5)	10 (5.0)	陰性
	20	200	0 (0)	陰性	2 (1.0)	0 (0)	2 (1.0)	3 (1.5)	1 (0.5)	0 (0)	6 (3.0)	7 (3.5)	陽性

注) -g:ギヤップのみを有する細胞を除く場合  
+g:ギヤップのみを有する細胞を含む場合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

第4群: S-9 Mix 共存下、6時間処理(24時間目に細胞を回収)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	倍數性細胞		染色体構造異常細胞の出現数と頻度(%)										判定		
			出現数 と頻度 (%)	判定	ギヤップ		染色分体型		染色体型		断片化		合計				
					切断	交換	切断	交換	切断	交換	-g	+g					
無処理	/	200	/	/	0	0	1	0	0	0	1	1	3	3	3	3	/
					(0)	(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0.5)	(0.5)	(0.5)	(0.5)	(1.5)	(1.5)	(1.5)	(1.5)
溶媒 (DMSO)	0	200	0	0	2	2	2	2	1	0	0	0	5	7	7	7	/
					(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(0.5)	(0)	(0)	(2.5)	(3.5)	(3.5)	(3.5)	(3.5)	(3.5)
検体	37.5	200	0	陰性	2	4	1	1	0	0	1	0	6	8	8	8	陰性
					(1.0)	(2.0)	(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(3.0)	(4.0)	(4.0)	(4.0)	(4.0)	(4.0)	(4.0)
	75	200	0	陰性	0	1	0	0	1	0	0	0	2	2	2	2	陰性
					(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
	150	200	0	陰性	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	陰性
					(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0.5)	(0.5)	(0.5)	(0.5)	(0.5)
300	200	1	陰性	0	0	1	1	1	0	0	0	2	2	2	2	陰性	
				(0.5)	(0)	(0.5)	(0.5)	(0.5)	(0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)
350	200	1	陰性	3	17	20	2	2	0	0	0	34	35	35	陽性		
				(1.5)	(8.5)	(10.0)	(1.0)	(1.0)	(0)	(17.0)	(17.5)	(17.5)	(17.5)	(17.5)	(17.5)	(17.5)	(17.5)
400	60 <sup>1)</sup>	0	陰性	1	5	12	0	0	0	0	0	14	14	14	陽性		
				(1.7)	(8.3)	(20.0)	(0)	(0)	(0)	(23.3)	(23.3)	(23.3)	(23.3)	(23.3)	(23.3)	(23.3)	(23.3)
陽性対照 ベンゾ[a]ピレン	20	200	0	陰性	4	12	86	2	2	2	2	95	99	99	陽性		
					(2.0)	(6.0)	(43.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(1.0)	(47.5)	(49.5)	(49.5)	(49.5)	(49.5)	(49.5)

注) -g: ギヤップのみを有する細胞を除く場合  
 +g: ギヤップのみを有する細胞を含む場合  
 1) 細胞毒性のため、所定の細胞数を観察できなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬物	投与量 × 投与回数 (投与方法)	MNPCE <sup>1)</sup>		PCE(%) <sup>2)</sup> 平均±標準偏差 n=6
		総出現数 (6匹合計)	出現頻度(%) 平均±標準偏差 n=6	
溶媒対照 (オリーブ油)	0 mg/kg × 2 (強制経口)	8	0.07 ± 0.06	47.9 ± 4.57
検体	12.5 mg/kg × 2 (強制経口)	11	0.09 ± 0.07	44.5 ± 4.49
	25 mg/kg × 2 (強制経口)	12	0.10 ± 0.06	49.9 ± 3.83
	50 mg/kg × 2 (強制経口)	7	0.06 ± 0.02	44.8 ± 4.71
陽性対照 (シクロfosファミド)	40 mg/kg × 1 (腹腔内)	315** <sup>3)</sup>	2.63 ± 0.95	48.7 ± 3.36

<sup>1)</sup> MNPCE:小核をもつ多染性赤血球。多染性赤血球は、各動物 2000 個観察した。

<sup>2)</sup> PCE(%):多染性赤血球出現頻度

$$PCE(\%) = \frac{\text{多染性赤血球数}}{\text{多染性赤血球} + \text{正染性赤血球数}} \times 100$$

<sup>3)</sup> \*\*:P<0.01 (Kastenbaum と Bowman の方法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

10) のラットにおける肝不定期 DNA 合成試験 (資料 T-35-3)

試験機関：三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

実施の背景：

検体の純度：

試験動物：Fischer 系ラット、1 群雄 3 匹

投与時 9 週齢(体重 201~236 g)

試験方法：検体をコーン油に懸濁し、0(溶媒対照)、62.5、250 mg/kg の用量で動物に単回強制経口投与した。用量設定試験(用量：125、250、500、1000、2000 mg/kg)の結果、500 mg/kg 以上の群で死亡が見られ、125 および 250 mg/kg 群では死亡は見られなかったが、自発運動量の増加、神経過敏(250 mg/kg 群のみ)、軟便が見られた。従って、本試験の高用量を 250 mg/kg とする上記の用量を設定した。

検体投与後 2 または 16 時間に動物を屠殺し、常法に従って肝細胞を分離後、オートラジオグラフィー法により  $^3\text{H}$ -チミジンの取り込みを指標とした不定期 DNA 合成(UDS)を 1 個体あたり 100 個の肝細胞について検索した。UDS は、肝細胞のネットグレイン数で評価した。即ち、1 個の細胞の核内グレイン数と核と同一面積の細胞質内グレイン数を測定し、その差をネットグレイン数とした。

[判定基準] いずれか 1 群でもネットグレイン数が 5 以上の場合を陽性と判定し、全群のネットグレイン数が 5 未満の場合を陰性と判定した。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

検体では、いずれの投与群ならびに標本作製時間においても平均ネットグレイン数は 5 未満であった。一方、陽性対照のジメチルニトロソアミンでは、2 時間および 16 時間の標本作製時期における平均ネットグレイン数はそれぞれ、18.23、6.60 であり、明らかな UDS の誘発が見られた。

以上の結果より、検体はラットにおける肝不定期 DNA 合成を誘発せず、*in vivo*において DNA 損傷を誘発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日本農薬株式会社にある。

薬物	投与量 (mg/kg)	標本作成時期 (投与後時間)	核1個あたりの ネットグレイン数 平均±標準偏差
溶媒対照 (コーン油)	0	2	-1.37±0.17
		16	-1.24±0.20
検体	62.5	2	-1.36±0.03
		16	-1.43±0.23
	250	2	-1.25±0.17
		16	-1.37±0.17
陽性対照 (ジメチルニトロソアミン)	10	2	18.23±0.36
		16	6.60±0.08

### 3. 製剤の毒性

#### (1) アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤 (クサストップ A1キロ粒剤)

##### 1) ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. 1)

試験機関 : Safeparm Laboratories (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

被験物質 : アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤  
(クサストップ A1キロ粒剤)

[組成(分析値)]

アジムスルフロン : 0.0667

インダノファン : 1.68 %

ベンスルフロンメチル : 0.338 %

鉱物質微粉等 : 残余

試験動物 : SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹

雌雄 : 投与時 8~12 週齢 (体重 雄 ; 201~228 g)

(体重 雌 ; 217~231 g)

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体を蒸留水に懸濁させ、一晚絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0 日)、投与後 7 および 14 日に測定した。

試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>5000	
死亡開始時間	(死亡例なし)	投与後 0.5 時間
死亡終了時間		投与後 0.5 時間
症状発現時間	(症状発現なし)	投与後 0.5 時間
症状消失時間		投与後 1 日
最大無毒性量 (mg/kg)	5000	
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	<5000

中毒症状は、雌において生存例で円背位、振戦、正向反射の消失、嗜眠、呼吸異常(緩徐呼吸、呼吸困難)、強直性痙攣、眼周囲の赤色/褐色の着色が見られたが、死亡例(雌 1 例)では見られなかった。

体重変化について、雌雄とも検体投与による影響は見られなかった。

剖検所見において、死亡例で肺の出血、肝臓および腎臓の暗赤色化が見られたが、生存例では雌雄とも主要な組織器官に特記すべき変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 2)

試験機関 : Safeparm Laboratories (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

被験物質 : アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤  
(クサストップ A1キロ粒剤)

[組成(分析値)]

アジムスルフロン : 0.0667  
インダノファン : 1.68 %  
ベンスルフロンメチル : 0.338 %  
鉍物質微粉等 : 残余

試験動物 : ICR 系マウス、1 群雌雄各 5 匹

雌雄 : 投与時 6~8 週齢 (体重 雄 ; 22~26 g)

(体重 雌 ; 20~23 g)

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体を蒸留水に懸濁させ、投与前約 3~4 時間絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0 日)、投与後 7 および 14 日に測定した。

試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>5000	
死亡開始時間 死亡終了時間	投与後 2 時間 投与後 2 時間	(死亡例なし)
症状発現時間 症状消失時間	(症状発現なし)	投与後 2 時間 投与後 2 日
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/kg)	<5000	5000

中毒症状は、雌において生存例で円背位および異常呼吸(緩徐呼吸、呼吸困難)が見られたが、死亡例(雄 1 例)では見られなかった。

体重変化について、雌雄とも検体投与による影響は見られなかった。

剖検所見において、死亡例で肺の出血、肝臓および腎臓の暗色化が見られたが、生存例では雌雄とも主要な組織器官に特記すべき変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 3)

試験機関 : Safeparm Laboratories (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

被験物質: アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤  
(クサストップ A1キログ粒剤)

[組成(分析値)]

アジムスルフロン : 0.0667 %

インダノファン : 1.68 %

ベンスルフロンメチル : 0.338 %

鉱物質微粉等 : 残余

試験動物: SD 系ラット、雌雄各 5 匹

雌雄: 投与時 10~14 週齢 (体重 雄; 202~227 g)

(体重 雌; 204~238 g)

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を滅菌蒸留水で加湿し、刈毛した背部皮膚に 24 時間閉鎖塗布した。24 時間後、皮膚に付着した検体を蒸留水で湿らせたガーゼで清拭した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0 日)、投与後 7 および 14 日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 死亡終了時間	(死亡例なし)	(死亡例なし)
症状発現時間 症状消失時間	(症状発現なし)	(症状発現なし)
最大無毒性量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

中毒症状は、雌雄とも見られなかった。また、皮膚適用部の刺激性変化はみられなかった。

体重変化について、雌雄とも検体投与による影響は見られなかった。

剖検所見において、雌雄とも主要な組織器官に特記すべき変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料 No. 4)

試験機関 : Safepfarm Laboratories (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

被験物質: アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤  
(クサストップ A1キログ粒剤)

[組成(分析値)]

アジムスルフロン : 0.0667  
インダノファン : 1.68 %  
ベンスルフロンメチル : 0.338 %  
鋳物質微粉等 : 残余

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、雄 9 匹

投与時 12~16 週齢 (体重 2.35~2.88 kg)

試験期間: 7 日間観察

試験方法: 検体 0.1 mL(約 98mg)を片眼へ投与した。6 匹はそのままとした。3 匹は、投与 2~3 分後に洗眼した。

観察項目: 投与後 1、24、48、72 時間および 7 日に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に基づく基準に従って採点した。

試験結果: 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

項目			最高 評点	投 与 後 時 間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
非洗眼群 [6 匹 平均 <sup>1)</sup> ]	角膜 混濁	程度	4	0.5	1.17	1.17	0.33	0
		面積	4	0.67	1.33	1	0.33	0
	虹彩		2	1	1	0.83	0	0
	結膜	発赤	3	2	2.17	2	1.17	0
		浮腫	4	2	1.83	1.17	0.33	0
		分泌物	3	2.67	1.17	0.17	0	0
	合計 <sup>2)</sup>		110	21.7	22.8	1.67	4.7	0
洗眼群 [3 匹 平均 <sup>1)</sup> ]	角膜 混濁	程度	4	1	0	0	0	
		面積	4	1	0	0	0	
	虹彩		2	1	0	0	0	
	結膜	発赤	3	2	1	0.67	0	
		浮腫	4	1.67	0.67	0	0	
		分泌物	3	1	0	0	0	
	合計 <sup>2)</sup>		110	19.3	3.3	1.3	0	

<sup>1)</sup>: 各採点の平均値は、原報に基づき申請者が算出

<sup>2)</sup>: Draize 法による評価点(最高 110 点)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

非洗眼群では、投与後 1 時間より角膜、虹彩および結膜の刺激性変化が見られた。これらの変化は投与後 48 時間から軽減し、角膜および結膜の変化は投与後 7 日に、虹彩の変化は投与後 72 時間にすべて消失した。

一方、洗眼群でも投与後 1 時間から刺激性変化が見られ、角膜および虹彩の変化は投与後 24 時間に、結膜の変化は投与後 72 時間にすべて消失した。

以上の結果から、本剤のウサギの眼粘膜に対する刺激性は中等度 (Kay & Calandra の分類法を一部修正した分類法) であり、洗眼により刺激性は軽減されると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 5)

試験機関 : Safeparm Laboratories (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

被験物質: アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤  
(クサストップ A1キログラム)

[組成(分析値)]

アジムスルフロン : 0.0667  
インダノファン : 1.68 %  
ベンスルフロンメチル : 0.338 %  
鉍物質微粉等 : 残余

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、雄 6 匹

投与時 12~16 週齢 (体重 2.33~2.80 kg)

試験期間: 72 時間観察

試験方法: 検体 0.5 mL を蒸留水で加湿し、ガーゼパット(2.5 cm 四方)に塗布し、刈毛した動物の背部の皮膚に貼布した。塗布時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は蒸留水で湿らせた脱脂綿で清拭した。

観察項目: 塗布終了後 1、24、48、72 時間に塗布部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize 法に基づく基準に従って採点した。なお、各動物の一般状態を毎日観察した。

試験結果: 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

項目	最高 評点	投 与 後 時 間				
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
検体群 [6 匹平均]	紅斑および痂皮	4	0.5	0.5	0	0
	浮腫	4	0.17	0	0	0
	合 計	8	0.67	0.5	0	0

投与後 1 時間より紅斑および痂皮、浮腫が見られた。紅斑および痂皮は投与後 48 時間に、浮腫は 24 時間にすべて消失した。

以上の結果から、本剤のウサギの皮膚に対する刺激性は軽度(Draize 法)であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 No. 6)

試験機関 : Safeparm Laboratories (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

被験物質 : アジムスルフロン・インダノファン・ベンスルフロンメチル粒剤

(クサストップ A1キログ粒剤)

[組成(分析値)]

アジムスルフロン : 0.0667

インダノファン : 1.68 %

ベンスルフロンメチル : 0.338 %

鉱物質微粉等 : 残余

試験動物 : ハートレー系モルモット、検体群雄各 20 匹および陽性対照群雄各 10 匹

投与時 8~12 週齢 (体重 358~468 g)

試験期間 : 惹起暴露終了後 48 時間

試験方法 : Buehler 法

投与量設定根拠:

感作: 刈毛した左側腹部に、検体群および陽性対照物質群では検体液または DNCB 液を吸湿性リント布に塗布し、6 時間閉鎖塗布した(第 1 回感作暴露)。第 1 回感作暴露終了後 7 および 14 日に第 2 回および第 3 回の感作暴露を同様に行った。

惹起: 第 3 回感作暴露終了後 14 日に刈毛した右側腹部に、検体群およびその対照群では検体液を吸湿性リント布に塗布し、6 時間閉鎖塗布した。同様に陽性対照物質群およびその対照群では DNCB 液を閉鎖塗布した。

観察項目: 惹起暴露終了後 24 および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫等の有無を観察した。

惹起後の反応の評価: 検体群対照群で見られた皮膚反応よりも顕著な皮膚反応が検体群で見られた場合、検体は皮膚感作性陽性とした。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果： 観察された適用部位の変化を次表に示す。

群	供試動物数	試験物質		感作反応動物数					陽性率 (%)	
				観察時間	皮膚反応評点 <sup>1)</sup>					
		感作	惹起		0	1	2	3		4
検体群	20	75% 検体	50% 検体	24 時間 48 時間	20 20	1 1	0 0	0 0	0 0	0 0
検体群 対照群	20		75% 検体	24 時間 48 時間	20 20	1 0	0 0	0 0	0 0	0 0
陽性対照 物質群	10	0.5% DNCB	0.025%	24 時間	2	7	1	0	0	80
			DNCB	48 時間	3	7	0	0	0	70
			0.05%	24 時間	0	1	9	0	0	100
			DNCB	48 時間	0	5	5	0	0	100
陽性対照物 質対照群	10	溶媒	0.025%	24 時間	9	1	0	0	0	10
			DNCB	48 時間	10	0	0	0	0	0
			0.05%	24 時間	7	3	0	0	0	30
			DNCB	48 時間	10	0	0	0	0	0

<sup>1)</sup> 皮膚反応評点 (Buehler 法の基準を一部修正した基準)

- 0 : 紅斑なし
- 1 : 非常に軽度な紅斑
- 2 : はっきりした紅斑
- 3 : 中等度、重度の紅斑
- 4 : 重度の紅斑～わずかな痂皮

検体投与に起因する一般状態および体重への影響は見られなかった。

検体に対する皮膚反応： 惹起暴露では、検体群のいずれの動物にも皮膚反応は見られなかった。

陽性対照に対する皮膚反応： 惹起暴露では、陽性対照群の 0.025%DNCB 液で、対照群で見られた皮膚反応(評点 0 または 1)をこえる反応が惹起後 24 時間または 48 時間で見られ、7 例の動物が陽性と判定された。また、0.05%DNCB 液でも、対照群で見られた皮膚反応(評点 0 または 1)を超える反応が惹起後 24 時間または 48 時間で見られ、全例の動物が陽性と判定された。

以上の結果から、本剤のモルモットの皮膚感作性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) インダノファン・ピラゾスルフロンエチル・ブロモブチド粒剤 (キリフダエースジャンボ)

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 1)

試験機関：(株)実医研

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

被験物質： インダノファン・ピラゾスルフロンエチル・ブロモブチド粒剤  
(キリフダエースジャンボ)

[組成]

インダノファン : 4.0%

ピラゾスルフロンエチル : 0.7%

ブロモブチド : 20.0%

界面活性剤、木質微粉等 : 残余

試験動物： Crj:CD(SD)IGS ラット、投与時 6 週齢、1 群雌雄各 5 匹

投与時体重範囲 雄：173～192 g 雌：132～152 g

試験期間： 14 日間観察

方法： 検体を注射用水に懸濁し、単回強制経口投与した。投与容量は 40 ml/kg とした。動物は投与前に約 18 時間絶食した。

試験項目： 症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与 1 日(投与直前)、投与 2、3、4、8 および 15 日に測定した。死亡動物および試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
性別		
投与量(m/kg)	0, 1250, 2500, 5000	0, 593, 889, 1333, 2000, 3000, 4500
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000	1085.8 (696.3～1526.0)
死亡開始及び終了時間	死亡例なし	投与後 30 分/投与後 3 時間
症状発現及び消失時間	投与後 15 分/消失せず	投与後 15 分/投与 2 日
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	593

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

症状； 雄では投与 1 日に流涎、過敏、下痢、肛門・尿道口周囲および口周囲の汚れ、立毛が認められた。5000 mg/kg 群では投与 3 日から立毛、下半身の汚れ、自発運動の低下、腹臥位、横臥位、麻痺性歩行、呼吸深大、血尿を示す動物も認められた。雌では投与 1 日に強直性痙攣、過敏、異常発声、口から出血、流涎、下痢、腹臥位、横臥位、振戦が認められた。

体重； 雄では 5000 mg/kg 群で投与 2 日以降に増加抑制が認められた。雌では、1333 および 2000 mg/kg 群で投与 2 日に増加抑制が認められたが、その後は回復した。

肉眼的病理検査； 5000 mg./kg 群雄の生存動物 1 例に、左精巢の小型化、前立腺の黄白色部位、膀胱の壁肥厚および脊髄の暗赤色部位が認められたが、検体投与との関係は明らかではなかった。その他の生存および死亡動物に検体投与に関連した影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.2)

試験機関：(株)実医研

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

被験物質： インダノファン・ピラゾスルフロンエチル・ブロモブチド粒剤  
(キリフダエースジャンボ)

[組成]

インダノファン : 4.0%

ピラゾスルフロンエチル : 0.7%

ブロモブチド : 20.0%

界面活性剤、木質微粉等 : 残余

試験動物： Crj:CD(SD)IGS ラット、投与時7週齢、1群雌雄各5匹

投与時体重範囲 雄：240～265g 雌：191～216g

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を4×5cmのリント布に載せた後、剪毛した背部皮膚に24時間閉鎖貼付した。

試験項目： 症状および生死を14日間観察した。体重は投与1日(投与直前)、投与2、3、4、8および15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：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別	雄	雌
投与量(mg/kg)	0、2000	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	影響は認められなかった	投与2日/投与5日
無毒性量	2000	<2000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	2000	2000

症状： 雄では検体投与に関連した影響は認められなかった。雌で検体投与部位皮膚の発赤が2～4例に認められた。

体重： 検体投与に関連した影響は認められなかった。

肉眼的病理検査： 検体投与に関連した影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料 No. 4)

試験機関：(株)実医研

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

被験物質： インダノファン・ピラゾスルフロニエチル・プロモブチド粒剤  
(キリフダエースジャンボ)

[組成]

インダノファン : 4.0%  
ピラゾスルフロニエチル : 0.7%  
プロモブチド : 20.0%  
界面活性剤、木質微粉等 : 残余

試験動物： 日本白色種(Kbs:JW)ウサギ、投与開始時 8~10 週齢、

非洗眼群 雄 6 匹、洗眼群 雄 3 匹、投与時体重範囲 2.00~2.25 kg

試験期間： 非洗眼群 21 日間観察、洗眼群 72 時間観察

方法： 検体 0.1 g を右眼の結膜嚢内に投与した。洗眼群は、投与後 30 秒に注射用水で洗眼した。左眼は無処理対照眼とした。

観察項目： 非洗眼群では投与後 1、24、48 および 72 時間、4、5、7、10、14、18 および 21 日に、洗眼群では投与後 1、24、48 および 72 時間に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省の指針および Draize 法に従って採点した。刺激性強度は、Kay & Calandra の方法に従って分類した。また、一般状態および体重も観察した。

結果： 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

項目	最高 評点	観察時間													
		時間				日									
		1	24	48	72	4	5	7	10	14	18	21			
非洗眼群 (6匹平均)	角膜混濁	程度	4	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.83
		面積*	4	2.00	4.00	4.00	4.00	3.83	3.67	3.17	2.50	2.33	1.50	1.17	
	虹彩	2	1.00	0.67	0	0.17	0	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.83	1.67	1.50	1.50	1.00	0.67	
		浮腫	4	1.67	2.00	1.33	1.33	1.17	1.17	1.17	0.83	0.67	0.33	0.17	
		分泌物*	3	2.00	1.67	1.00	1.00	1.00	0.17	0	0	0	0	0	
	合計**	110	24.33	34.67	28.67	29.50	27.50	24.67	21.50	17.17	16.00	10.17	7.50		
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0								
		面積	4	0	0	0	0								
	虹彩	2	0.67	0	0	0									
	結膜	発赤	3	1.00	1.00	0.67	0								
		浮腫	4	1.00	0.33	0	0								
		分泌物	3	1.00	0	0	0								
	合計**	110	9.33	2.67	1.33	0									

\*: 農林水産省の指針では要求されていない。 \*\*: Draize 法による評価点(最高 110 点)

刺激性変化： 非洗眼群は、投与後 1 時間から角膜混濁、虹彩および結膜に刺激性変化が認められた。これらの変化は投与後 24 時間で最も強かった。投与後 48 時間以降投与後 7 日までほぼ同様に推移した。投与後 10 日以降刺激性変化は減弱したが回復は遅く、投与

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

21 日でも角膜および結膜に刺激性変化が認められた。その他、角膜の血管新生が投与後 5～21 日で認められた。

洗眼群は、投与後 1 時間から虹彩および結膜に刺激性変化が認められたが、投与後 72 時間には全て消失した。

刺激性強度： 非洗眼群 強度刺激物、洗眼群 軽度刺激物、洗眼効果あり。

一般状態： 検体投与群に関連した影響は認められなかった。

体重： 検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対して強度の刺激性を有すると判断された。また、洗眼効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 4)

試験機関：(株)実医研

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

被験物質：インダノファン・ピラゾスルフロエチル・プロモブチド粒剤  
(キリフダエースジャンボ)

[組成]

インダノファン : 4.0 %  
ピラゾスルフロエチル : 0.7 %  
プロモブチド : 20.0 %  
界面活性剤、木質微粉等 : 残余

試験動物：日本白色種(Kbs:JW)ウサギ、投与開始時 8~10 週齢、雄 6 匹、  
投与時体重範囲 1.95~2.19 kg

試験期間：72 時間観察

試験方法：検体 0.5 g を 2.5×2.5cm のリント布に載せた後、剪毛した背部皮膚に 4 時間閉鎖  
貼付した。貼付終了後にリント布を除去し、皮膚に残った検体を洗浄した。

観察項目：リント布除去後 1、24、48 および 72 時間に、投与部位の刺激性変化(紅斑および  
浮腫)を観察し、農林水産省の指針に従って採点した。リント布除去 72 時間後ま  
でに得られた評点から皮膚一時刺激指数(Primary Cutaneous Irritation Index,  
P.C.I.)を算出し、Association Francaise de Normalization (A.F.N.O.R.)の方法に従っ  
て刺激性強度を分類した。また、一般状態および体重も観察した。

試験結果：観察された刺激性変化の採点を下表に示す。

動物数	項目	最高 評点	投与後時間			
			時間			
			1	24	48	72
6 匹	紅斑	4	1.00	0.67	0	0
	浮腫	4	0.17	0	0	0
	合計		1.17	0.67	0	0
	P.C.I.	8	0.46			

刺激性変化：紅斑および浮腫はリント布除去後 1 時間から認められ、1 時間での評点  
が最高となった。その後は次第に減弱し 48 時間に刺激性反応は消失した。

刺激性強度：A.F.N.O.R.の基準では無刺激物に分類されるが、リント布除去後 1 時間  
の観察で全例に刺激性反応が認められたことからごく軽度の刺激性を有すると  
判断された。

一般状態：検体投与に関連した影響は認められなかった。

体重：検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤のウサギの皮膚に対してごく軽度の刺激性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 5)

試験機関：(株)実医研

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

被験物質： インドファン・ピラゾスルフロンエチル・プロモブチド粒剤  
(キリフダエースジャンボ)

[組成]

インドファン : 4.0 %  
ピラゾスルフロンエチル : 0.7 %  
プロモブチド : 20.0 %  
界面活性剤、木質微粉等 : 残余

試験動物： Std:Hartley モルモット、投与時 5~6 週齢、投与時体重範囲 358~442 g

検体感作群 雌 20 匹 (検体非感作群および陽性対照群は雌雄各 10 匹)

試験期間： 感作開始日から惹起終了後 48 時間までの 30 日間

方法： Buehler 法

投与量設定根拠：

処理濃度： 感作および惹起物質を下表に示す。

群	感作	惹起
検体感作群	70%検体注射用水懸濁液	70%検体注射用水懸濁液
検体非感作群	注射用水	70%検体注射用水懸濁液
陽性物質感作群	1.0%DNCB80%エタノール水溶液	0.1%DNCBアセトン溶液
陽性物質非感作群	80%エタノール水溶液	

DNCB： 2,4-ジニトロクロロベンゼン

処理方法： 感作は、約 5×5cm の広さに剪毛した動物の左腹側部に、処理物質の 0.2g または 0.2ml を 2×2cm のリント布に塗布し 6 時間閉鎖貼付した。同様の処理を 7 日間隔で合計 3 回行った。

惹起は、最終感作後 14 日目に、約 5×5cm の広さに剪毛した動物の右腹側部に、処理物質の 0.2g または 0.2ml を 2×2cm のリント布に塗布し 6 時間閉鎖貼付した。

試験項目： 以下に示した項目について観察および測定を行った。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

一般状態； 感作開始日から惹起後の皮膚の観察終了まで毎日、動物の一般状態を観察した。

体重測定； 感作開始日(投与0日)と最終判定日(投与30日)に全動物の体重を測定した。

皮膚反応； 皮膚反応の観察は惹起貼付除去後 24 および 48 時間に行い、次に示す Magnusson らの判定基準に従って評点した。

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

評価； 評点 1 以上を陽性とする感作率(%)を算出し、EEC の基準に従い感作率が 15% 以上の場合に皮膚感作性を陽性と判定した。

結果； 各観察時間における結果を下表に示す。

群	供試動物数	観察時間(時間)	皮膚反応動物数				平均評点	陽性反応動物数	感作率(%)	判定
			皮膚反応評点							
			0	1	2	3				
検体感作群	20	24	20	0	0	0	0	0	陰性	
		48	20	0	0	0	0	0		
検体非感作群	10	24	10	0	0	0	0	0	—	
		48	10	0	0	0	0	0		
陽性物質感作群	10	24	0	0	5	5	2.5	10	陽性	
		48	0	1	5	4	2.3	10		
陽性物質非感作群	10	24	10	0	0	0	0	0	—	
		48	10	0	0	0	0	0		

検体感作群および検体非感作群で皮膚反応は認められなかった。

陽性物質感作群では、惹起貼付除去後 24 および 48 時間の観察で全例に明らかな陽性反応が認められた。陽性物質非感作群で皮膚反応は認められなかった。

一般状態および体重では検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において検体の皮膚感作性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3) インダノファン・クロメプロップ・ベンスルフロメチル水和剤 (日農ダイナマンフロアブル)

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.1)

試験機関 : 日本農薬株式会社  
[GLP対応]

報告書作成年 : 1999年

被験物質 : インダノファン・クロメプロップ・ベンスルフロメチル水和剤  
(日農ダイナマンフロアブル, NH-803 フロアブル)

[組成]

インダノファン : 3.0 %  
クロメプロップ : 7.0 %  
ベンスルフロメチル : 1.4 %  
水、界面活性剤等 : 88.6%

供試動物 : SD系ラット(雌雄 6週齢)

投与日の体重範囲; 雄 137.7~163.7 g、雌 115.2~132.1 g

6群、雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を蒸留水に懸濁させ、一夜絶食させたラットに1回強制経口投与した。

試験項目 : 一般状態および死亡の有無を14日間観察した。体重は群分け時、投与前(投与0日)、投与1、7および14日後に測定した。途中死亡例および試験終了時の全ての生存動物について剖検し、各々器官および組織の肉眼的病理検査を行った。試験は『毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針(農蚕第4200号, 農林水産省1985年)』に準じて実施した。

結果:

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	1751、2276、2959、3846、5000、6500	700、910、1183、1538、2000、2600
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	3328 (2608-4345)	1552*
死亡開始時間及び 終了時間	投与後1時間 投与後3時間	投与後1時間 投与後3時間
症状発現時間及び 消失時間	投与後1時間 投与後3日	投与後1時間 投与後3日
死亡例の認められな かった 最高投与量(mg/kg)	1751	1183

\*プロビット法の算出条件に適合しないため、95%信頼限界は算出不可

死亡は、雄は2276 mg/kg以上、雌は1538 mg/kg以上の投与群において認められた。体重に関しては、雄の3846 mg/kg投与群で増加抑制傾向がみられた。一般状態では、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

衰弱、過敏、振戦、被毛汚染、下痢、軟便、尿失禁、顔面の分泌物付着、呼吸数増加、流涎、眼周囲の出血が観察された。剖検所見では、途中死亡例において、胃および腸内の投与液様物質の残存、盲腸の一部萎縮および出血が認められた。生存例に検体投与によると思われる変化は認められなかった。

結 論 : 本剤のラットにおける LD<sub>50</sub> は、雄 3328 mg/kg、雌 1552 mg/kg であった。