

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## (10) 繁殖毒性および催奇形性

ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験

(資料 16)

[GLP 対応]

報告書作成年： 2008 年

検体純度：

供試動物：Wistar Hanover 系ラット、1 群雌雄各 30 匹

投与開始時 約 8 週齢、体重；雄 203.6～261.1g、雌 136.2～176.0g

投与期間：P 世代；投与開始から F1 児離乳時までの約 18 週間、F1 世代；離乳時から F2 児離乳時までの約 24 週間

投与方法：検体を 0 (対照群)、150、1000 および 8000/4000ppm の濃度で飼料に混入し 2 世代にわたり生育期間を通じて投与した。雌の哺育期間中は摂餌量の顕著な増加に伴う検体摂取量の増加を防ぐため、何れの投与群とも混餌濃度を半分にした (それぞれ、0、75、500 および 4000/2000ppm)。F1 世代離乳後 8000ppm 群雌雄で死亡を含む強い毒性症状が見られたため、同群については 3 日間休薬後 4000ppm に用量を下げて試験を継続した。投与再開時の F1 児動物は 26～38 日齢であった。

用量設定根拠；投与用量は同研究所で同系統のラットを用いて 0、200、1000、3000 ならびに 8000ppm 用量で実施した予備繁殖試験の結果に基づいて選択した。この結果、投与の影響として 8000ppm 群雌で体重および摂餌量の変化、子宮重量の減少および甲状腺重量の増加傾向が認められ、雄では 3000 および 8000ppm 群で肝臓重量の増加、8000ppm で副腎および腎臓重量の増加が認められた。また、児動物では 8000ppm 群雌で体重の変化、脾臓および子宮重量の減少が認められた。

交配手順： 交配前の 10 週間の投与後、雌 1 匹と雄 1 匹を最高 14 日間連続して同居させることにより、交配を行った。交配期間中は、膣垢を毎朝採取し、精子および/または膣栓の有無を検査した。受精したことが判明した雌は、営巣ケージに移した。膣垢で受精が観察された日をその雌の妊娠 0 日目とした。14 日間の交配期間終了後に残りの雌すべてをポリカーボネート製営巣ケージに移し、受精した可能性を確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

交配、調整、観察、検査項目：概要を下表にまとめた。

表：試験の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成(10 週)		・ 一般状態および生死の有無確認。
	交配(2 週)	雌雄 1 対 1 で交配。 交尾を確認した日 を妊娠 0 日とした。	・ 体重、摂餌量（交配期間中を除く）検査。 ・ 交配 3 週前より発情周期検査。
	妊娠 (約 22 日)		・ 妊娠 0、6、13、20 日目に体重、摂餌量測定。
	出産		・ 全腹出産後、雄親動物を屠殺、剖検、臓器重量 を測定、精子検査、鏡検。
	哺育(3 週)	哺育 4 日目に各同 腹児数を雌雄各 4 匹に調整	・ 哺育 0、4、7、14 および 21 日目に母動物体重お よび摂餌量測定。 ・ 新生児の生死、性別、外表異常、体重
	離乳	継代用の各群雌雄 を無作為に選抜	・ 全同腹児離乳後（哺育 22 日目）、母動物を屠殺、 剖検、臓器重量測定、着床痕検査、鏡検。 ・ 児動物の剖検、臓器重量、鏡検
	育成(6 週)		・ F1 親動物について腔開口、包皮分離観察。
F1	育成(10 週)		(P 世代に準ずる)
	交配(2 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠(3 週) 出産		(P 世代に準ずる)
	哺育(3 週)		(P-F1 世代に準ずる)
F2	離乳		(P-F1 世代に準ずる)

親動物：

死亡率および一般状態観察：1日2回（休日は1日1回）、ケージ内の動物を観察することにより、死亡、病的状態、行動の変化、難産または遅産の徴候、ならびに明白な毒性影響を記述した。ケージ越しの評価中に一般状態の変化が観察された場合には、動物をケージから出し、詳細な評価を行った。その他、少なくとも週1回、ケージから出しての身体検査を含む詳細な検査を実施した。

体重および摂餌量：10週間の交配前期間中は雌雄とも週1回体重および摂餌量を測定した。交配期間およびその後の屠殺までの期間中は、雄および未交配の雌の体重を週1回測定した。交配期間中の摂餌量の測定は行わなかった。妊娠期間中は、0日目、6日目、13日目および20日目に母動物の体重を測定し、週1回摂餌量の測定を行った。哺育期間中は、0日目、4日目、7日目、14日目および21日目に母動物の体重を測定し、0～4日、4～7日、7～14および14～21日間の摂餌量を測定した。

発情周期：すべてのP世代およびF1世代の雌の発情周期を交配前の3週間、（陰垢を毎日調べることにより）検査した。さらに、最終屠殺直前にすべての雌について発情周期の段階を調べた。

精子パラメータ：最終屠殺時に、P世代およびF1親世代のすべての雄について、片側の精巣および精巣上体から精子を採取し、それぞれ、均質化抵抗性精子細胞数および精巣上体尾部精子貯蔵数を計数した。また、輸精管の遠位部分（尿道に最も近い位置）から採取した精子について、形態および運動性を評価した。精子の運動性は全群、形態評価および計数は対照群および最高用量群について行った。

剖検：最後の同腹児が出生した後、生存しているすべての雄親動物をできる限り速やかに屠殺した。母動物は同腹児が離乳した後（哺育22日目）に屠殺した。雄ラットは、二酸化炭素窒息により安楽死させ、肉眼による外表検査を行った。すべての雄について、最終体重を測定し、肉眼で確認できる病理学的変化をすべて記録し、指定臓器の重量を測定し、すべての肉眼的病変部位を保存した。最終屠殺時にすべての雄を対象に、片側の精巣および精巣上体から精子を採取し各精子パラメータを評価した。

各母動物（P世代およびF1世代）は、二酸化炭素窒息により安楽死させ、肉眼による外表検査を行った。すべての雌について、最終体重を測定し、肉眼で確認できる病理学的変化をすべて記録し、指定臓器の重量を測定し、すべての肉眼的病変部位を保存した。子宮を切開し、着床痕（存在する場合）を数えた。精子および／または陰栓は確認されたが出産しなかった雌は、妊娠24日後に屠殺した。受精が観察されなかった雌および／または陰栓が確認されず、交配期間の終了から少なくとも24日後に産出なかった雌は、屠殺し剖検した。

また、10%緩衝ホルマリンを用いて子宮角のフラッシングを行い、これらの雌における子宮頸部／子宮口の開口を調べた。

以下の組織を採取し、重量を測定した。

脳、下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、甲状腺、胸腺、副腎、精巣上部、卵巣、前立腺、精のう、精巣、子宮、精巣上部尾部

以下の組織について病理組織学的検査を実施した。

下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、子宮頸部、精巣上部、凝固腺、卵巣、卵管、前立腺、精のう、精巣、子宮、膣、精巣上部尾部、肉眼的異常部位  
試験中に瀕死状態で発見された動物は屠殺し、肉眼的剖検を行った。死亡している状態で発見された動物はできる限り速やかに剖検に供した。剖検では、上記のパラメータについて調べた。死亡した児動物または切迫屠殺した児動物は、肉眼的剖検によって異常を調べ、および／または、死因を決定した。

F1 世代の 4000ppm および対照群の生存同腹児を有する雌 10 匹の卵巣について、原始卵胞数、胞状卵胞数および黄体卵胞数を調査した。

#### 児動物：

生存・死亡動物数、体重、外部異常、性別、性成熟：哺育期間中および離乳後に以下の項目について調査した。

生存児動物数ならびに死亡児動物数（哺育 0～21 日）、体重（哺育 0、4、7、14、21 日目）、外部異常（哺育 0、4、7、14、21 日目）、性別（哺育 0 日目）、包皮分離（離乳後）、膣開口（離乳後）

調整（間引き）：各同腹児ができる限り雌雄各 4 匹となるように、哺育 4 日目に各同腹児の数を調整した。雄または雌の児動物の数が 4 匹未満の場合には、部分的な調整を行う（たとえば、雌 3 匹と雄 5 匹）。児動物の数が 8 匹未満の同腹児については、調整を行わなかった。調整は、SAS から提供されたソフトウェアを用いて、児動物を無作為に選抜する方法で行った。

性的成熟：F1 児および F2 児の一部について哺育 21 日目以降も維持し、包皮分離および膣開口までの日数を調査した。また、哺育 0 日目に全ての F2 児について肛門性器間距離を測定した。

剖検：哺育 4 日目に間引きされなかった F1 および F2 世代の児動物は、哺育 21 日目に離乳させるまで飼育した。F1 児哺育 21 日目に、各同腹児の雌雄ごとに、次の世代を得るのに十分な数の F1 児を選抜した。次世代の親または性的成熟検査用に使われなかった F1 児および F2 児は屠殺し、肉眼での検査を行い、以下の臓器重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺、子宮

各世代につき、各同腹児の雌雄それぞれ 1 匹から、生殖系臓器を中心に以下の組織を採取し病理学的変化について評価した。

子宮、卵巣、膣、子宮頸部、卵管、精巣、精巣上部、前立腺、凝固腺、精のう

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

死亡または瀕死状態で発見された児動物については、剖検し考えられる死因を決定した。

繁殖に関する指標：交配および分娩記録から、以下の繁殖に関する指標を計算した。

$$\text{交尾率(\%)} = \frac{\text{受精した雌の数}^{\text{a}}}{\text{同居させた雌の数}} \times 100$$

$$\text{受胎率(\%)} = \frac{\text{妊娠した雌の数}^{\text{b}}}{\text{受精した雌の数}} \times 100$$

$$\text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児を出産した雌の数}}{\text{妊娠した雌の数}} \times 100$$

<sup>a</sup> 精子または膣栓が確認されなかったが妊娠した雌を含む。

<sup>b</sup> 出産しなかったが着床痕が確認された雌を含む。

出生児の生存指標：この試験の同腹児の哺育記録から、以下の生存指標を計算した。

$$\text{出生率(\%)} = \frac{\text{同腹児あたりの総出生児数}}{\text{同腹児あたりの総着床痕数}} \times 100$$

$$\text{生児出生率(\%)} = \frac{\text{同腹児あたりの総生産児数}}{\text{同腹児あたりの総産児数}} \times 100$$

$$\text{生存率(\%)} = \frac{\text{4日目(間引き前)の同腹児あたりの生存児数}}{\text{同腹児あたりの生存児数}} \times 100$$

$$\text{離乳率(\%)} = \frac{\text{21日目の同腹児あたりの生存児数}}{\text{4日目(間引き後)の同腹児あたりの生存児数}} \times 100$$

結果：概要を後頁の表に示す。

#### 親動物

死亡および一般状態：

P世代；8000ppm群雌で粗大振戦を示す動物数が増加した。他に影響は認められなかった。

F1世代；投与の影響は認められなかった。（申請者による考察；1000ppm以上の投与群雄で門歯トリミングの頻度が対照群に比べ統計学的有意に減少したが、門歯トリミングはP世代雌雄、F1世代雌では対照群でも頻度は低く、毒性学的意義は不明である。）

体重および摂餌量：

雄：P世代の体重に投与の影響は見られなかった。150および1000ppm群で対照群に比べ僅かな体重の増加が認められたが、用量との関連はなく投与の影響とは考えられなかった。8000ppm群の投与14週間全体の増体重は統計学的有意ではないものの対照群に比べ僅かに減少（対照群比-7%）した。8000ppm群でg/kg/dayで表した摂餌量が対照群に比べ増加傾向を示し、6週以降統計学的有意差が認められた（平均、対照群比+7%）。g/動物/dayで表した摂餌量には1週目を除き投与の影響は見られなかった。1週目に1000および8000ppm群の値が対照群に比べ一時的に減少したが、2週目以降差は認められず、おそらく検体に対する嗜好性による影響と思われた。

F1世代では4000ppm群において体重が対照群に比べ0日目より低値（対照群比-21%）を示しこの傾向は14週目（対照群比-10%）まで持続した。一方、投与期間を通じた増体重および摂餌量（g/kg/day）は対照群に比べ増加（それぞれ+12%、+17%）しており、P世代に対するF1世代開始前、およびF1世代開始時の8000ppm投与により影響を受けた体重が4000ppmにすることにより回復傾向を示しているものと考えられた。

雌：交配前—P世代の2週目以降8000ppm群の体重および増体重が対照群に比べ有意に減少した（2～10週目の平均、対照群比-8%）。体重は1000ppm群でも8週目に対照群に比べ統計学的有意に減少した。1000および8000ppm群の摂餌量（g/kg/dayおよびg/動物/day）が対照群に比べ幾つかの時点で減少した（g/動物/dayベース；4～10週目の平均、対照群比-10%）。

F1世代4000ppm群では交配前期間を通じて対照群に比べ体重が減少し（対照群比、0日目；対照群比-13%、交配前期間終了時；-10%）、一方、増体重は対照群と同等であった。同群の摂餌量（g/動物/day）は対照群に比べ減少した。

妊娠期間；P世代8000ppm群の体重は妊娠期間を通じて対照群に比べ減少し（0日目；対照群比-8.8%、20日目；-14.8%）、期間を通じた増体重は対照群に比べ29.7%減少した。

F1世代4000ppm群の体重は妊娠期間を通じて対照群に比べ減少し（0日目；対照群比-10.2%、20日目-12.7%）、期間中の増体重が対照群に比べ19.1%減少した。体重の減少傾向は1000ppm群でも認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

哺育期間：P世代8000ppm群の体重が哺育期間を通じて対照群に比べ減少し（0-21日の平均で対照群比・14.3%）、4~21日の摂餌量（g/動物/day）が対照群に比べ減少した（対照群比・14.7%）。

F1世代の4000ppm群の体重は哺育期間を通じて対照群に対し減少した（0-21日の平均で対照群比・10.5%）。4000および1000ppm群の4~21日の摂餌量（g/動物/day）が対照群に比べ減少した（それぞれ対照群比・8.9%および・13%）。

検体摂取量：交配前期間中（10週間）の平均検体摂取量は下表のとおりであった。

平均検体摂取量（mg/kg 体重/日）

性 用量(ppm)	雄			雌		
	150	1000	8000/4000	150	1000	8000/4000
P	10.2	68.9	560.1	12.6	83.2	656.2
F1	10.6	69.6	317.6	13.1	87.2	355.5

生殖機能：

発情周期：何れの世代、用量においても雌の発情周期に投与の影響は認められなかった。

精子の測定：何れの世代、用量においても評価した精子パラメータに投与の影響は認められなかった。P世代8000ppm群の精巣精子数が対照群に比べ減少したが、精巣上体精子数および精巣重量に影響は認められず、精巣の病理組織学的検査でも関連する異常が認められなかったこと、および繁殖能に影響が認められなかったことから投与の影響とは考えられなかった。

雌の繁殖能力：F1世代4000ppm群において平均着床数が対照群に比べ減少し、腹当りの出産児数が軽度減少したがP世代8000ppm群ではこれらの影響が認められておらず、おそらく用量を減少する前のF1児動物の育成期間初期における強い全身毒性によるものと考えられた。

最終体重および最終臓器重量：

P世代では8000ppm群雌で親動物の最終体重が低下した（対照群比・11.5%）。8000ppm群雄で肝臓、腎臓重量（実重量および体重比）が増加し、同群雌で脾臓および子宮重量（いずれも実重量および体重比）が減少した。1000ppm群雄でも肝臓重量（実重量および体重比）が増加した。

F1世代では4000ppm群雌雄で最終体重が低下した（雄；対照群比・10.6%、雌・8.5%）。4000ppm群雌で下垂体重量（実重量および体重比）が僅かに減少したが、病理組織学的検査で関連する異常はみられず、生育初期の強い毒性影響による二次的影響の可能性が考えられた。

（申請者による考察；他にも対照群に比べ統計学的有意な変化が認められたが、いずれも実重量と相対重量ないし、左右臓器で一貫した変化が見られない、関連する病理組織学的変化が認められない等より生物学的に意義のある変化とは判断されなかった。）

剖検：

肉眼的病理検査：何れの世代、用量群とも投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査：P 世代では 8000ppm 群雄の腎臓で軽微から軽度のヒアリン変性がみられ、軽微から軽度の尿細管再生が増加した。8000ppm 群雌の副腎皮質球状帯で軽微から軽度の細胞質空胞化が認められた。1000ppm 以上の投与群雄および 8000ppm 群雌で軽微から中等度の小葉中心性肝細胞肥大の発現頻度が増加した。

F1 世代では 4000ppm 群雌雄で小葉中心性肝細胞肥大が認められ、同群雄では腎臓のヒアリン変性が認められた。

卵胞数：F1 世代雌の卵胞数（原始卵胞、胞状卵胞、黄体）に投与の影響は認められなかった。

児動物

生存率および一般状態：

F1 児動物（出産 0-21 日）；生存率に投与の影響は見られなかった。8000ppm 群で尿着色および鼻部の着色が見られた。

F1 児動物（出産 22-61 日）；高用量群において出産 26～38 日目に用量を 4000ppm に変更する以前の 8000ppm 投与時に児動物に対して強い毒性兆候が認められた。同一の母動物から生まれた児動物 2 匹を出産 23 日に切迫殺し、別の腹から生まれた 2 匹が出産 27 日目に死亡した。同群の他の児動物の多くが活動性の亢進、反応性の増加、間代性筋肉痙攣、振戦、腹部膨張、努力性呼吸、下痢、軟便および被毛の着色を含む強い毒性症状を示した。他の用量群では投与の影響は見られなかった。

F2 児動物（出産 0-70 日）；いずれの用量においても投与の影響は見られなかった。4000ppm 群の 1 腹から生まれた児動物 4 匹で前肢の外反が認められたが、同様の影響は 8000ppm を投与した F1 児動物では認められず、投与の直接的影響というより、母動物の成長初期における過剰な毒性影響によるものと考えられた。

体重：F1 児の出生児体重に投与の影響は認められなかった。8000ppm 群児動物の哺育期間中の増体重および出産 4 日以降の体重が対照群に比べて減少した。

F2 児の出生時体重に投与の影響は認められなかった。4000ppm 群児動物の哺育期間中の増体重および出産 4 日以降の体重が対照群に比べて減少傾向を示した。1000ppm 群児動物の増体重が対照群に比べ減少傾向を示した。

性的成熟：F1 の 8000ppm 群児動物の包皮分離および陰開口が対照群に比べ遅延した。

F2 の 4000ppm 群の包皮分離および陰開口についても対照群に比べ遅延した。これらの変化は F1 児動物の哺育期間～育成期間初期における強い全身毒性および児動物の低体重に関連したものと考えられた。

F2 児動物の肛門生殖突起間距離に投与の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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

臓器重量：F1 児動物 8000ppm および F2 児動物 4000ppm 群雌雄で脳、脾臓ないし胸腺重量が、F2 児動物 1000ppm 雌で脾臓重量が対照群に比べ統計学的有意に変動したが、児動物の最終体重の減少に関連した二次的影響と考えられた。

剖検：何れの世代、雌雄とも検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査：何れの世代、雌雄とも検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表：結果の概要

1. 親動物

世代		親：P				親：F1			
投与量 (ppm)		0	150	1000	8000	0	150	1000	4000
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30
死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態									
雄	門歯トリミング					8	4	0 <sup>+</sup>	0 <sup>+</sup>
雌	粗大振戦	0	0	0	8 <sup>+</sup>				
体重、摂餌量									
雄									
交配前~交配期間									
体重(g)	14週	432.1	452.6	456.3*	429.2	446.4	462.3	446.6	401.3**
増体重(g)	1-14週	174.3	188.9	188.3	162.8	148.4	160.1	148.6	166.6
平均摂餌量(g/動物/day)	1-10週	22.75	23.19	23.66	22.94	24.03	24.71	23.99	24.04
平均摂餌量(g/kg/day)	1-10週	67.30	66.20	66.57	68.36	66.00	66.54	66.01	77.19**
雌									
交配前期間									
体重(g)	10週	235.9	231.2	230.5	216.1**	244.2	243.3	234.1	218.0**
増体重(g)	1-10週	67.1	63.7	62.9	48.7	54.4	52.1	47.8	53.3
平均摂餌量(g/動物/day)	1-10週	16.97	16.56	16.16	15.23**	17.98	18.07	17.44	16.70**
平均摂餌量(g/kg/day)	1-10週	82.66	81.94	80.44	80.13	82.48	82.37	82.68	86.40
妊娠期間									
体重(g)	0日	238.7	235.2	230.2	217.8**	242.0	244.4	231.6	217.4**
	6日	256.3	252.9	246.1	232.1**	258.0	258.6	246.7	232.8**
	13日	275.7	273.4	266.9	245.6**	277.1	277.3	266.6	247.2**
	20日	334.8	333.1	331.4	285.4**	337.2	337.0	322.9*	294.5**
増体重(g)	0-20日	96.1	97.9	101.2	67.6**	95.3	92.6	91.3*	77.1**
平均摂餌量(g/動物/day)	0-20日	19.43	19.67	19.23	18.43	20.20	18.83	19.00	20.87
平均摂餌量(g/kg/day)	0-20日	75.49	77.93	77.73	79.77	78.37	72.40	74.63	87.00
哺育期間									
体重(g)	0日	260.4	258.2	254.8	221.2**	263.3	265.0	256.0	231.0**
	4日	271.2	267.8	265.6	235.5**	273.0	273.0	262.9	240.7**
	7日	282.1	278.0	272.2	244.1**	281.9	280.5	272.4	253.0**
	14日	297.3	290.6	288.0	247.1**	295.2	290.7	285.4	266.0**
	21日	289.3	281.0	283.6	252.5**	279.7	281.8	274.5	256.2**
平均摂餌量(g/動物/day)	0-21日	45.90	46.70	44.70	40.25**	48.58	46.95	44.78	43.93**
平均摂餌量(g/kg/day)	0-21日	164.00	169.35	164.25	168.78	173.48	168.60	165.40	176.38

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)、+ : p<0.05 (Fisher's Exacttest)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

親動物 (続き)

世代			親 : P				親 : F1				
投与量 (ppm)			0	150	1000	8000	0	150	1000	4000	
生殖機能											
雄	精子運動性	運動率 (%)	83.3	84.6	83.6	83.7	83.3	82.9	84.2	84.0	
		前進率 (%)	58.6	59.7	59.0	58.0	56.2	55.4	58.1	56.6	
	精子数 (精子/g)	精巢	30.7	-	-	26.0*	34.5	-	-	30.4	
		精巢上体	219.0	-	-	266.7	147.2	-	-	198.5	
	精子形態	正常	190.9	-	-	197.8	198.2	-	-	197.6	
		異常	4.5	-	-	1.7	1.7	-	-	2.3	
頭部分離		4.7	-	-	0.5	0.1	-	-	0.1		
雌	同居させた対数		30	30	30	30	30	30	30	30	
	交尾の認められた雌数		30	30	29	30	30	30	30	30	
	出産の認められた雌数		27	29	26	29	27	30	28	29	
	着床の認められた雌数		28	29	26	29	27	30	28	29	
	発情周期		3.4	3.8	3.8	3.6	3.5	3.6	3.6	3.4	
	発情周期長		4.5	4.2	4.0	4.3	4.4	4.3	4.4	4.7	
	交尾率 (%)		100.0	100.0	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
	受胎率 (%)		93.3	96.7	89.7	96.7	90.0	100.0	93.3	96.7	
	出産率 (%)		96.4	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
	交尾までの平均日数		2.8	2.2	3.0	2.7	3.1	2.6	2.5	2.5	
	平均妊娠期間(日)		21.8	21.9	21.8	22.0	22.1	22.0	21.9	21.9	
	同腹児データ										
	平均着床数		11.2	11.9	11.7	10.6	11.5	11.1	11.0	9.9	
生存出産児数		290	327	290	296	294	315	290	268		
死亡出産児数		3	1	2	2	1	2	0	2		
同腹児数		10.9	11.3	11.2	10.3	10.9	10.6	10.4	9.3		
性比 (出産0日、雄%)		47.3	50.0	44.0	51.2	48.8	51.1	51.4	48.1		
出生率		89.9	95.1	96.1	96.6	95.2	95.3	93.6	93.7		
生児出生率		98.9	99.8	99.3	99.5	99.0	99.3	100.0	97.9		
生存率		99.1	99.2	94.4	99.2	95.7	99.3	96.3	95.1		
離乳率		99.5	99.6	99.5	99.1	99.0	99.1	100.0	100.0		

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

- : 該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

親動物 (続き)

世代		親 : P				親 : F1			
投与量 (ppm)		0	150	1000	8000	0	150	1000	4000
臓器重量									
雄	最終体重(g)	439.8	461.0	464.6*	436.7	455.0	468.6	450.3	406.8*
	脳(絶対)					2.072	2.095	2.101	2.003*
	脳(相対)	0.478	0.457	0.454*	0.484	0.458	0.449	0.470	0.496*
	肝臓(絶対)	14.299	15.324	16.295*	17.158*				
	肝臓(相対)	3.245	3.323	3.507*	3.932*	3.404	3.359	3.469	3.827*
	脾臓(絶対)	0.687	0.711	0.763*	0.700				
	胸腺(絶対)					0.493	0.506	0.490	0.429*
	副腎、左(絶対)	0.027	0.029	0.030*	0.031*				
	副腎、左(相対)	0.006	0.006	0.007	0.007*				
	副腎、右(相対)	0.006	0.006	0.006	0.007*				
	腎臓、左(絶対)	1.393	1.432	1.496	1.508*				
	腎臓、右(絶対)					1.533	1.545	1.510	1.391*
	腎臓、左(相対)	0.316	0.310	0.322	0.346*				
	腎臓、右(相対)	0.333	0.323	0.335	0.357*				
	精巣、左(絶対)					1.927	1.903	1.871	1.757*
	精巣、右(絶対)					1.922	1.899	1.852	1.754*
	精巣、左(相対)	0.419	0.408	0.391*	0.429				
	精巣、右(相対)	0.419	0.408	0.391*	0.426				
	精巣上体尾部(相対)					0.074	0.068 <sup>§</sup>	0.072	0.078
精囊(相対)					0.330	0.317	0.356	0.391*	
甲状腺、右(相対)					0.003	0.003	0.003	0.004*	
雌	最終体重(g)	283.6	278.2	277.8	251.1*	289.7	295.8	284.3	265.0*
	脳(絶対)	1.956	1.944	1.965	1.900*	1.938	1.935	1.930	1.882*
	脳(相対)	0.694	0.706	0.710	0.764*	0.673	0.656	0.681	0.713*
	肝臓(相対)	4.608	4.659	4.671	5.159*	5.008	5.227	5.077	5.393*
	脾臓(絶対)	0.577	0.571	0.554	0.463*				
	脾臓(相対)	0.204	0.205	0.199	0.184*				
	下垂体(絶対)					0.013	0.013	0.013	0.011*
	下垂体(相対)					0.0045	0.0045	0.0047	0.0040*
	胸腺(絶対)	0.264	0.252	0.272	0.196*	0.274	0.241	0.254	0.227*
	子宮(絶対)	0.897	0.617	0.652	0.412 <sup>§</sup>				
	子宮(相対)	0.231	0.221	0.238	0.163*				
	副腎、左(絶対)	0.047	0.044	0.043	0.040*	0.048	0.047	0.048	0.043*
	副腎、右(絶対)	0.041	0.040	0.040	0.035*				
	甲状腺、左(相対)	0.004	0.004	0.004	0.005*				
	甲状腺、右(相対)	0.004	0.004	0.004	0.005*				
	腎臓、左(絶対)	1.084	1.094	1.091	0.987*	1.080	1.111	1.080	0.986*
	腎臓、右(絶対)	1.146	1.150	1.137	1.043*				
	卵巣、左(絶対)	0.052	0.054	0.050	0.040*				
	卵巣、右(絶対)	0.052	0.051	0.052	0.040*				

空欄は該当または有意差なし、臓器重量単位：絶対重量(g)、相対重量(%)

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Dunnett's test), § : p<0.05 (Mann-Whitney U-tests)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

親動物 (続き)

世代		親 : P				親 : F1			
投与量 (ppm)		0	150	1000	8000	0	150	1000	4000
肉眼的病理検査									
雄、雌		投与の影響認められず							
病理組織学的検査									
雄	腎臓:ヒアルン変性	0/30		1/30	15/30 <sup>+</sup>	0/30		0/30	6/30 <sup>+</sup>
	腎臓:尿細管再生	3/30		5/30	13/30 <sup>+</sup>				
	肝臓:肝細胞肥大	3/30	1/30	8/30	27/30 <sup>+</sup>	0/30		0/30	15/30 <sup>+</sup>
雌	副腎:空胞化	1/30		1/30	15/30 <sup>+</sup>				
	肝臓:肝細胞肥大	0/30		0/30	30/30 <sup>+</sup>	0/30		0/30	30/30 <sup>+</sup>
卵胞									
原始卵胞数						79.7			87.2
胞状卵胞数						46.2			47.9
黄体数						33.1			25.4

空欄は該当または有意差なし、臓器重量単位：絶対重量(g)、相対重量(%)

+ : p<0.05 (Fisher's Exacttest)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 2. 児動物

世代		F1 児動物				F2 児動物			
投与量 (ppm)		0	150	1000	8000	0	150	1000	4000
同腹児データ (再掲)									
平均着床数		11.2	11.9	11.7	10.6	11.5	11.1	11.0	9.9
生存出産児数		290	327	290	296	294	315	290	268
死亡出産児数		3	1	2	2	1	2	0	2
同腹児数		10.9	11.3	11.2	10.3	10.9	10.6	10.4	9.3
性比 (出産 0 日、雄%)		47.3	50.0	44.0	51.2	48.8	51.1	51.4	48.1
出生率		89.9	95.1	96.1	96.6	95.2	95.3	93.6	93.7
生児出生率		98.9	99.8	99.3	99.5	99.0	99.3	100.0	97.9
生存率		99.1	99.2	94.4	99.2	95.7	99.3	96.3	95.1
離乳率		99.5	99.6	99.5	99.1	99.0	99.1	100.0	100.0
一般状態									
哺育期間中(0-21 日)					着色尿、 鼻部着色				
(育成期間 (22-61 日))					死亡(4 例) 痙攣、下痢 他				
体重(g)									
雄+雌	哺育 0 日目	5.8	5.9	5.8	5.6	5.9	6.1	5.9	6.0
	哺育 4 日目(調整前)	9.6	9.8	9.6	8.4**	9.9	10.3	9.6	9.8
	哺育 4 日目(調整後)	9.6	9.8	9.6	8.4**	9.9	10.4	9.6	9.8
	哺育 7 日目	15.3	15.8	15.4	12.9**	15.9	16.5	15.4	15.5
	哺育 14 日目	32.8	32.9	32.0	26.3**	32.8	33.3	31.7	31.3
	哺育 21 日目	49.1	49.4	48.0	39.1**	49.4	50.2	47.2	46.6
雄	哺育 0 日目	6.0	6.1	6.0	5.7	6.1	6.3	6.1	6.2
	哺育 4 日目(調整前)	9.8	9.9	9.9	8.5**	10.1	10.6	9.8	10.0
	哺育 4 日目(調整後)	9.8	9.9	10.0	8.4**	10.1	10.5	9.8	10.0
	哺育 7 日目	15.6	16.0	16.0	12.9**	16.3	16.8	15.7	15.8
	哺育 14 日目	33.3	33.2	33.2	26.3**	33.3	33.8	32.4	32.0
	哺育 21 日目	50.1	49.8	49.9	39.0**	50.6	51.6	48.5	47.6
雌	哺育 0 日目	5.6	5.8	5.6	5.4	5.8	5.9	5.8	5.8
	哺育 4 日目(調整前)	9.4	9.6	9.5	8.2**	9.7	10.1	9.5	9.5
	哺育 4 日目(調整後)	9.4	9.7	9.4	8.2**	9.6	10.2	9.5	9.5
	哺育 7 日目	15.0	15.5	15.1	12.6**	15.6	16.1	15.2	15.1
	哺育 14 日目	32.3	32.5	31.5	25.7**	32.3	32.7	31.2	30.8
	哺育 21 日目	48.2	48.4	47.1	38.5**	48.4	48.7	46.1	45.6*
増体重(g)									
雄+雌	哺育 0-4 日目	3.8	3.9	3.8	2.8**	3.9	4.3	3.7	3.8
	哺育 4-21 日目	39.5	39.3	38.4	30.7**	39.5	39.8	37.6	36.8*
雄	哺育 0-4 日目	3.9	3.8	3.9	2.8**	4.0	4.3	3.7	3.8
	哺育 4-21 日目	40.3	39.9	39.9	30.6**	40.5	41.0	38.7	37.6
雌	哺育 0-4 日目	3.8	3.9	3.8	2.8**	3.9	4.3	3.7	3.8
	哺育 4-21 日目	38.8	38.7	38.4	30.7**	38.8	38.5	36.6*	36.1*
性成熟									
陰茎包皮分離日数		42.5	43.1	42.8	51.8**	43.2	43.5	43.4	46.6**
臆開口日数		34.1	34.7	35.3	40.9**	34.4	33.8	33.7	36.8*
肛門生殖突起間距離 (mm)	雄					3.5	3.5	3.7	3.5
	雌					2.0	2.0	2.0	2.1

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 2. 児動物 (続き)

世代		F1 児動物				F2 児動物			
投与量 (ppm)		0	150	1000	8000	0	150	1000	4000
臓器重量									
雄+雌	脳(絶対)	1.460	1.483	1.491	1.409*				
	脳(相対)	2.997	3.043	3.208	3.710**	3.075	3.037	3.225	3.284*
	胸腺(絶対)	0.211	0.222	0.225	0.178**				
	脾臓(絶対)	0.236	0.238	0.233	0.147**	0.242	0.238	0.219	0.197**
	脾臓(相対)	0.478	0.482	0.494	0.370**	0.492	0.474	0.462	0.426**
雄	脳(絶対)	1.484	1.501	1.515	1.420*				
	脳(相対)	2.993	3.042	3.284	3.743**	3.067	3.005	3.210	3.314*
	胸腺(絶対)	0.208	0.217	0.227	0.173**				
	脾臓(絶対)	0.234	0.239	0.236	0.142**	0.238	0.248	0.220	0.190**
	脾臓(相対)	0.466	0.478	0.500	0.361**	0.475	0.480	0.455	0.409**
雌	脳(相対)	2.997	3.050	3.095	3.716**	3.088	3.078	3.249	3.316**
	胸腺(絶対)	0.214	0.227	0.226	0.180*				
	脾臓(絶対)	0.238	0.236	0.230	0.148**	0.244	0.229	0.217*	0.193**
	脾臓(相対)	0.490	0.487	0.481	0.379**	0.507	0.474	0.466	0.432**
剖検		投与の影響は認められず							
病理組織学的検査		投与の影響は認められず。							

臓器重量単位：絶対重量(g)、相対重量(%)

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

投与群		親：P、児：F1		親：F1、児：F2	
		雄	雌	雄	雌
親動物	8000/4000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>増体重抑制</li> <li>摂餌量 (g/kg/day) 増加</li> <li>腎臓重量増加 (絶対、相対)</li> <li>腎臓ヒアルン変性、尿細管再生</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>粗大振戦</li> <li>体重低下(妊娠、哺育期間、最終体重)</li> <li>増体重抑制(交配前、妊娠期間)</li> <li>摂餌量 (g/動物/day) 減少(哺育期間)</li> <li>最終体重低下</li> <li>脾臓、子宮重量 (絶対、相対) 減少</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大、副腎細胞質空胞化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重低下</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>腎臓ヒアルン変性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重低下(交配前、哺育期間、)</li> <li>増体重抑制(妊娠期間)</li> <li>摂餌量 (g/動物/day) 減少(交配前)</li> <li>最終体重低下</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>(平均着床数、平均腹生存児数の軽度減少、黄体数減少傾向)**</li> </ul>
	1000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝臓重量増加 (絶対、相対)</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重低下(交配前)</li> <li>摂餌量 (g/kg/day および g/動物/day) 減少(交配前)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1000ppm については毒性所見なし</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重低下(妊娠期間)</li> <li>摂餌量 (g/動物/day) 減少(哺育期間)</li> </ul>
	150ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>
児動物	8000/4000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>尿着色、鼻部着色</li> <li>体重低下(出産4日以降)、増体重抑制(哺育期間)</li> <li>死亡、活動性亢進、反応性の増加、間代性痙攣、振戦、腹部膨張、努力性呼吸、下痢、軟便、被毛着色(離乳後、育成期間初期)</li> <li>(包皮分離、陰開口の遅延)*</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>体重低下(出産4日以降)、増体重抑制(哺育期間)</li> <li>(包皮分離、陰開口の遅延)*</li> </ul>	
	1000ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>増体重抑制(哺育期間)</li> </ul>	
	150ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>	

\*: F1 児動物 8000ppm 群、F2 児動物 4000ppm でみられた包皮分離および陰開口の遅延は、生育初期に見られた強い全身毒性および低体重に関連した変化と考えられた。

\*\*F1 世代 4000ppm 群動物でみられた平均着床数、平均腹生存児数の軽度減少、黄体数減少傾向は、同群の生育初期に見られた強い全身毒性に関連した変化と考えられた。

以上より、親動物に対する NOAEL は P 世代では雌雄とも 150ppm(雄; 10.2mg/kg/day、雌; 12.6mg/kg/day)、F1 世代では雄 1000ppm(69.6mg/kg/day)、雌 150ppm(13.1mg/kg/day)、児動物に対する NOAEL は F1 世代では 1000ppm(雄; 68.9mg/kg/day、雌; 83.2mg/kg/day)、F2 世代では 150ppm(雄; 10.6mg/kg/day、雌 13.1mg/kg/day)であった。

繁殖に関する NOAEL は P 世代では雌雄とも 8000ppm(雄 560mg/kg/day、雌 656mg/kg/day)以上、F1 世代では雄は 8000/4000ppm (318mg/kg/day)以上、雌は 8000/4000ppm における平均着床数、腹生存児数および黄体数の軽度減少に基づき 1000ppm(87.2mg/kg/day)と判断された。しかし、F1 世代 8000/4000ppm 雌における平均着床数、腹生存児数および黄体数の軽度減少は同群の生育初期における重篤な全身毒性に関連した変化と考えられた。



ラットにおける催奇形性試験

(資料 17)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：

供試動物： Sprague-Dawley (CrI:CD(SD))系雌ラット、1 群当たり 23 匹  
交尾確認日の体重 239～299g

投与期間： 妊娠 6 日から 20 日の 15 日間（交尾確認日を妊娠 0 日とした。）

投与方法： 検体を 0.5%メチルセルロース 400 水溶液に懸濁させ 0、10、25 および 200mg/kg/日の用量で、投与期間中毎日 1 回 10ml/kg の投与容量で強制経口投与した。

用量設定根拠；用量設定試験において、妊娠雌ラットに最大 400mg/kg/day の用量で妊娠 6～20 日まで検体を投与した結果、400mg/kg/day で母動物の体重損失、増体重抑制および摂餌量低下が認められ、骨形成遅延が認められた。本試験の 200mg/kg/day は母動物に対し軽度の毒性が発現し、10mg/kg/day は母動物、胎児の何れにも毒性影響が認められない用量として選択した。

観察・検査項目：

母動物； 全ての動物について妊娠 0 日から 21 日まで毎日一般症状を観察した。死亡、瀕死状態および流産については 1 日 2 回（週末および休日は 1 回）観察した。妊娠 0、6、8、10、12、14、16、18 および 21 日目に体重、妊娠 1-6、6-8、8-10、10-12、12-14、14-16、16-18 および 18-21 日目の摂餌量を測定した。

妊娠 21 日目に二酸化炭素吸入により全ての母動物を屠殺・剖検し、妊娠している雌について肝臓重量を測定した。

妊娠子宮重量を測定し、卵巣と子宮の観察から以下の着床所見を記録した。

- ・ 黄体数
- ・ 着床痕数
- ・ 早期および後期吸収胚数
- ・ 生存胎児および死亡胎児数
- ・ 生存胎児の性別
- ・ 生存胎児体重

可能な場合、死亡胎児の性別および体重も記録した。着床痕が目視で確認出来ない子宮角は 10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し、着床痕を可視化した。

胎児； 全生存胎児について、ペントバルビタールナトリウムの皮下注射により屠殺

後外表検査をした。各腹約半数の個体は Bouin 液に固定し、フリーハンドで切開して内部器官の検査を実施した。残りの半数は内臓を取り出し無水エタノールに固定した後、アリザリンレッド S およびアルシアンブルーで染色し、骨格検査に供した。

結果： 概要を次頁以降の表に示す。

母動物；200mg/kg/day 群の雌 1 例が妊娠 9 日目に間代性痙攣を示した後死亡し、剖検の結果、強制経口投与時のミスによる死亡と診断された。試験期間中、他に母動物の死亡は認められず、何れの用量群においても投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。妊娠率は何れの群においても 96% 以上であり投与の影響は認められなかった。200mg/kg/day 群の増体重が投与期間を通じて対照群に比べ減少傾向を示し、妊娠 6-21 日の増体重は対照群に比べ 14% 減少した（統計学的有意差なし）。同群の補正体重増加量（妊娠 6~21 日の増体重-妊娠子宮重量(g)）は対照群に比べ統計学的有意に減少した（対照群比・28%）。同群の各調査時点の摂餌量は対照群に比べ 4~10% 減少し、妊娠 6-8、12-14 および 18-21 日には統計学的有意差が認められた。25mg/kg/day 以下の用量の投与群では体重および摂餌量に影響は見られなかった。肝臓重量に投与の影響は見られず、いずれの用量においても剖検時に投与に関連した異常は認められなかった。

着床所見；200 mg/kg/day では、雄、雌および雌雄合計の平均胎児体重がそれぞれ対照群を 9、7 および 8% 下回り、統計学的有意差が認められた。

10mg/kg/day においても雌雄別あるいは雌雄合計の平均胎児体重が対照群に比べ統計学的有意に減少したが、25mg/kg/day では同様の変化が見られなかったため、10mg/kg/day におけるこの変化は投与の影響とは考えられなかった。他の着床所見に投与の影響は見られなかった。

胎児； 外表、内臓、骨格検査のいずれにおいても投与の影響は認められなかった。外表検査において、全投与群で矮小児(4g 未満の体重)の発現頻度が対照群に比べ増加したが、この変化は用量との関連性が認められず、200mg/kg/day における変化が背景対照データの範囲内であることから偶発的変動であると考えられた。

用量 (mg/kg/day)	0	10	25	200	背景対照データの範囲	0	10	25	200	背景対照データの範囲
観察所見	一腹毎の病変胎児出現率平均(%)					影響を受けた腹の割合(%)				
矮小児	0.5	2.5	3.5	2.2	0.2-2.2	4.3	13.6	17.4	13.6	4.2-13.6

内臓検査において低用量群の 2 例に重度の腎盂拡張が認められたが、用量との関連性がなく偶発的な所見と考えられた。他にも少数の奇形が散見されたが単発的であり投与の影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

25および200mg/kg/day群で胸腺の欠損の発現頻度が対照群に比べ増加したが、この変化は用量との関連性が認められず、200mg/kg/dayにおける変化が背景対照データの範囲内であることから偶発的变化であると考えられた。

用量 (mg/kg/day)	0	10	25	200	背景対照データの範囲	0	10	25	200	背景対照データの範囲
観察所見	一腹毎の病変胎児出現率平均(%)					影響を受けた腹の割合(%)				
胸腺欠損	24	21	9.6	3.9	1.3-6.0	13.0	9.1	34.8	27.3	5.3-33.3

骨格検査において、少数の奇形が対照群を含む全群に認められたが用量との関連性はなく単発的であったため偶発的变化と考えられた。

投与群において第5胸骨分節：不完全骨化、前足：第3および/または第4基節骨、未骨化、第1中足骨：未骨化、骨化した仙尾椎が9未満および第6胸骨分節：不完全骨化等の変異が認められたがいずれも用量との関連性がない、背景対照の範囲内である等の理由により投与の影響とは考えられなかった。

用量 (mg/kg/day)	0	10	25	200	背景対照データの範囲	0	10	25	200	背景対照データの範囲
観察所見	一腹毎の病変胎児出現率平均(%)					影響を受けた腹の割合(%)				
第5胸骨分節： 不完全骨化	11.7	18.7	12.5	16.8	7.3~25.9	47.8	59.1	56.5	54.5	34.8~76.0
第6胸骨分節： 不完全骨化	0.9	3.6	0.6	2.3	0.0~3.3	4.3	9.1	4.3	13.6	0.0~20.0
前足：第3ないし第4基節骨、未骨化	0.0	5.2	1.2	0.6	0.0~2.0	0.0	9.1	8.7	4.5	0.0~12.0
第1中足骨：未骨化	0.5	7.0	3.9	6.3	0.0~13.2	4.3	18.2	17.4	27.3	0.0~40.0
骨化した仙尾椎が9未満	0.6	3.7	1.3	2.7	0.0~6.1	4.3	9.1	8.7	13.6	0.0~20.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

母動物

投与量(mg/kg/日)		0	10	25	200	
交尾雌数		23	23	23	23	
妊娠雌数 (%)		23 (100)	22 (96)	23 (100)	23 (100)	
不妊雌数		0	1	0	0	
死亡妊娠雌数		0	0	0	1	
死亡不妊雌数		0	0	0	0	
一般状態		—	影響なし	影響なし	影響なし	
体重増加量(g)	GD <sup>a</sup> 6-8	4.2	4.8	5.6	1.4	
	GD6-10	12.6	13.5	14.4	9.1	
	GD6-14	29.8	33.1	32.8	24.1	
	GD6-18	73.2	74.7	74.8	63.1	
	GD6-21	123.8	123.3	127.2	106.8	
補正体重増加量 <sup>b</sup>		50.6	53.9	52.4	36.5*	
摂餌量	GD6-8	24.0	23.4	23.3	21.5**	
	GD12-14	25.9	25.8	25.5	23.5*	
	GD18-21	27.4	27.0	27.6	24.7*	
肝重量 (g)		—	影響なし	影響なし	影響なし	
剖検所見		—	影響なし	影響なし	影響なし	
着床所見	検査母動物数	23	22	23	22	
	平均黄体数	16.7	18.2	17.0	17.1	
	平均着床痕数	15.3	15.4	15.4	16.1	
	平均着床前損失率(%) <sup>c</sup>	7.5	13.1	8.5	6.1	
	平均早期吸収胚数	0.8	1.1	1.0	0.7	
	平均後期吸収胚数	0.0	0.2	0.0	0.1	
	平均生存胎児数	14.5	14.0	14.4	15.2	
	生存胎児数	333	309	331	335	
	生存胎児を有する腹数	23	22	23	22	
	死亡胎児数	0	1	1	1	
	死亡胎児を有する腹数	0	1	1	1	
	平均胎児死亡率(%) <sup>d</sup>	0.0	0.3	0.4	0.3	
	平均着床後損失率(%) <sup>e</sup>	5.7	9.4	6.6	5.6	
	胎児性比 (雄%)	47.8	49.7	54.8	47.8	
	胎児体重(g) (対照群に 対する割 合%)	雄	5.57 (100)	5.41* (97)	5.48 (98)	5.09** (91)
		雌	5.27 (100)	5.12** (97)	5.18 (98)	4.92** (93)
雌雄合計		5.41 (100)	5.26** (97)	5.34 (99)	5.00** (92)	

a: GD: 妊娠日数、b: 補正体重変化=妊娠6~21日の増体重-妊娠子宮重量(g)、c: 平均着床前損失率=(黄体数-着床痕数)/黄体数×100、d: 平均胎児死亡率=母体単位の死亡胎児数/母体単位の総胎児数×100、e: 平均着床後損失率=(着床痕数-生存胎児数)/着床痕数×100

統計手法: 母動物の体重増加量、補正体重変化、摂餌量、肝重量、黄体数、着床痕数、吸収胚数、着床前後損失率、胎児体重; Dunnett's test または Dunn's test、

胎児性比;  $\chi^2$  test、

死亡胎児数; Fisher Exact test

\*: p ≤ 0.05、 \*\*: 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

胎児：

投与量(mg/kg/日)		0	10	25	200
<b>外表検査</b>					
検査胎児(腹)数		333(23)	309(22)	331(23)	335(22)
矮小胎児(体重<4.0g)	変異	1/1/0.5	4/3/2.5	10**/4/3.5	8*/3/2.2
<b>内臓検査</b>					
検査胎児(腹)数		160(23)	147(22)	160(23)	164(22)
網膜皺壁	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.7	0/0/0.0
心室中隔欠損(頭側部) /大動脈起始異常(右室 起始)/左室肥大/肺尾状 葉欠損	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.6
強度の腎盂拡張	奇形	0/0/0.0	2/2/1.3	0/0/0.0	0/0/0.0
胸腺欠損	変異	4/3/2.4	3/2/2.1	14*/8/9.6	6/6/3.9
<b>骨格検査</b>					
検査胎児(腹)数		173(23)	162(22)	171(23)	170(22)
2頸椎体軟骨融合 (環椎、軸椎を除く)(片 側)	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.6
第6胸骨分節分枝-軟骨 分枝/剣状突起分離	奇形	1/1/0.6	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0
1以上の胸椎体分割、ダ ンベル状軟骨	奇形	0/0/0.0	1/1/0.8	0/0/0.0	1/1/0.5
1以上の胸椎体分離、分 離軟骨	奇形	1/1/0.5	0/0/0.0	3/1/1.6	0/0/0.0
第5胸骨分節不完全骨 化	変異	19/11/11.7	30*/13/18.7	21/13/12.5	29/12/16.8
第6胸骨分節不完全骨 化	変異	1/1/0.9	3/2/3.6	1/1/0.6	4/3/2.3
前肢第3ないし4基節 骨未骨化	変異	0/0/0.0	4/2/5.2	2/2/1.2	1/1/0.6
第1中足骨未骨化	変異	1/1/0.5	7*/4/7.0	6/4/3.9	11**/6*/6.3
骨化した仙尾椎が9未 満	変異	1/1/0.6	3/2/3.7	2/2/1.3	5/3/2.7

影響を受けた胎児数/影響を受けた母体数/母体単位の病変胎児出現率平均(%)

統計手法: \*: $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Fisher Exact test; 申請者実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与による毒性影響を下表に要約する：

用量(mg/kg/day)	母動物	胎児
200	・ 増体重抑制 ・ 摂餌量減少	・ 体重低下
25 以下	・ 所見なし	・ 所見なし

本試験における母動物および胎児に対する無毒性量は 25mg/kg/day であった。  
催奇形性は認められなかった。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料 18)

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

検体純度：

供試動物： New Zealand White CrI: KBL(NZW) 妊娠雌ウサギ、1 群当たり 23 匹  
交配時体重：3.15～3.85kg、18 週齢

投与期間： 妊娠 6 日から 28 日の 23 日間（受精日を妊娠 0 日とした。）

投与方法： 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁させ 0、10、25 および 60mg/kg/day の用量で、投与期間中毎日 1 回 4ml/kg の投与容量で強制経口投与した。

用量設定根拠；用量設定試験において、妊娠雌ウサギ 1 群各 8 匹に 0、10、25、60、120mg/kg/day の用量で妊娠 6 日から 28 日まで投与した。120mg/kg/day は母動物への毒性影響が顕著であったため途中で中止した。60mg/kg/day では母動物に体重および摂餌量の低下が認められ、一方、10mg/kg/day では投与の影響は認められなかった。

観察・検査項目：

母動物； 全ての動物について妊娠 2 日から 29 日まで毎日一般症状を観察した。死亡、瀕死状態および流産については 1 日 2 回（週末および休日は 1 回）観察した。雌の体重を妊娠 3、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26 および 29 日目に測定し、体重増加量および子宮重量を除いた補正増体重を計算した。摂餌量は妊娠 3-4、4-5、5-6、6-8、8-10、10-12、12-14、14-16、16-18、18-20、20-22、22-24、24-26、26-28 および 28-29 日目の間計測した。

妊娠 29 日目に生存している雌動物を屠殺し、内臓について剖検し肋骨数を記録した。肝臓、妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、吸収胚（早期と後期に分類）、生存または死亡胎児数および生存胎児個体重量等、着床所見を測定した。黄体が認められ、肉眼で着床が確認できない場合は、子宮角を 2%水酸化ナトリウム溶液に約 2 時間浸漬後、更に 2 時間 10%中性緩衝ホルマリンに浸漬し着床部位を可視化した。投与期間中に死亡または切迫屠殺した動物は速やかに剖検し、着床や黄体が認められる場合は数とタイプを記録し、肉眼で着床が確認できない場合は、上述の方法で着床部位を可視化した。

胎児； 全生存胎児について、屠殺後外表検査をした。各腹約半数の個体は頭部を Bouin 液に浸漬し、固定後に内部構造を検査した。全ての個体について内臓を検査し性別を確認した後、無水エタノールで固定後 Staple and Schnell の変法を用いて染色し骨格検査を行った。

結果： 概要を次頁以降の表に示す。

母動物；60mg/kg/day 群の 1 例(RR4F0461)が妊娠 27 日目に流産し、その後動物福祉の見地から屠殺した。この動物の一般状態の変化として妊娠 26～27 日における糞量の減少、妊娠 24～26 日における摂餌量の低下と体重減少がみられ、剖検において肝臓の淡色化がみられた。これらの所見と投与の関連性は不明であった。

10mg/kg/day 群の 1 例 (RR2F0414) が、妊娠 16～22 日の間糞の排泄が認められず、妊娠 12-22 日の摂餌量が著しく減少し、体重の減少が認められたため妊娠 22 日目に切迫屠殺した。25mg/kg/day では母動物に毒性影響がみとめられていないことからこの変化は投与とは無関係と考えられた。10mg/kg/day の他の 1 例 (RR2F0433) は投与時の挿管ミスにより妊娠 12 日目に屠殺した。対照群の 1 例(RR1F0408)が妊娠 21 日に死亡し、おそらく挿管ミスによるものと考えられた。この動物の生存中に所見はなく、剖検では肺に斑点および多数の病巣が認められた。

一般状態の観察において、60mg/kg/day 群で粘液便が認められ、糞量の減少の頻度が増加した。糞量の減少は 10mg/kg/day 群でも対照群に比べ増加したが、25mg/kg/day 群では対照群と同等であり投与の影響とは考えなかった。

60mg/kg/day 群の増体重が対照群に比べほとんどの調査期間で低下し、妊娠 6～29 日全体では対照群を 30% 下回った。平均補正増体重も対照群に対し低下した。同群の各測定期間における摂餌量は対照群に対し 10～30%減少した。

剖検において 60mg/kg/day 群の肝臓の蒼白化および白色病巣が少数例認められた。肝臓重量に投与の影響は認められなかった。

帝王切開データ；母動物の妊娠率に投与の影響は無かった。

平均胎児体重、生存胎児数、早期・後期吸収胚数、性比ならびに着床前・後損失率に投与の影響は認められなかった。10mg/kg/day 群において死亡胎児の割合が対照群に比べ増加したが 25mg/kg/day 以上の投与群では影響が認められなかったため偶発的変動と考えられた。

胎児；外表、内臓および骨格検査のいずれにおいても投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

外表検査；数種類の奇形が認められたが、いずれも 1 例のみであり高用量ではみとめられなかったため投与の影響とは考えられなかった。

内臓検査；数種類の奇形が認められたが、いずれも単発的であり投与の影響とは考えられなかった。60 mg/kg/日群における、変異“胸腺遺残 (片側/両側)”の発生率は同腹児レベルでも胎児レベルでも背景対照値をわずかに外れた。しかし、同時対照群の発生頻度と有意差は認められず偶発的なものと考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロフサイエンス株式会社にある。

用量 (mg/kg/day)	0	10	25	60	背景対照 データ範囲	0	10	25	60	背景対照 データ範囲
	一腹毎の病変胎児出現率(平均%)					影響を受けた腹の割合(%)				
胸腺遺残 (片側/両側)	12.5	8.5	11.9	14.6	3.5 ~13.4	63.2	41.2	65.2	66.7	20.8 ~59.1

骨格検査；数種類の奇形が認められたが、いずれも単発的であり投与の影響とは考えられなかった。

25 および 60mg/kg/day 群において、変異“舌骨中央部：不完全骨化”が胎児および同腹児レベルの両方で増加したが、発生率は用量に依存せず、背景対照の範囲内であったため、この所見は偶発的なものと考えられた。同群で変異“27の前仙椎の存在”の同腹児レベルでの発生率が背景対照値からわずかに外れたが、明白な用量依存性がなく、かつ、この他に関連する所見はなかったため、この所見は偶発的なものと考えられた。60 mg/kg/day 群で、変異“第13胸部肋骨（片側/両側）（両側、短小、片側を含む）”が胎児レベルの発生率が背景対照値をわずかに外れていたが、腹毎の変異出現頻度に有意差がないことおよび変異をもつ腹の出現頻度に群間で有意差は認められなかったことから、投与の影響とは判断されなかった。同群で変異“第13胸部肋骨（片側/両側）：分離”の発生率が同腹児レベルで背景対照値をわずかに外れていたが、同時対照群の発生頻度と比べ統計学的に有意な差は認められず投与の影響とは考えられなかった。変異“第1中手骨：不完全骨化”の発生率は、3つの投与群すべてにおいて、胎児および同腹児レベルで対照群を上回った。しかし、胎児および同腹児レベルにおいて、同時対照群での発生率は背景対照値よりも低く、投与群では背景対照値内と同等かより低頻度であることから偶発的なものと考えられた。

用量(mg/kg/day)	0	10	25	60	背景対照デ ータ範囲	0	10	25	60	背景対照デ ータ範囲
	一腹毎の病変胎児出現率(平均%)					影響を受けた腹の割合(%)				
舌骨中央部：不完全骨化	4.6	2.6	14.4	9.7	0.8~24.3	15.8	11.8	34.8	28.6	4.8~55.0
第13胸部肋骨(片側/両側) (両側、短小、片側を含む)	63.4	69.6	64.0	77.5	49.6~69.9	100	100	95.7	100	87.0~100
第13胸部肋骨(片側/両側) 分離	11.4	11.7	10.2	12.6	5.1~12.7	63.2	52.9	52.2	71.4	23.8~65.0
27の前仙椎の存在	0.0	0.0	2.2	1.4	0.0~2.6	0.0	0.0	13.0	14.3	0.0~12.5
第1中手骨：不完全骨化	0.6	4.1	0.8	2.5	2.3~11.8	5.3	23.5	8.7	14.3	14.3~50.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

母動物

投与量(mg/kg/day)		0	10	25	60	
交尾雌数		23	23	23	23	
妊娠雌数 (%)		20(87)	19(83)	23(100)	22 (96)	
不妊雌数		3	4	0	1	
流産		0	0	0	1	
死亡妊娠雌数		1	2	0	0	
死亡不妊雌数		0	0	0	0	
一般状態	粘液状便	0	0	0	3	
	糞量減少	2	9*	5	12**	
体重増加量 (kg)	GD <sup>a</sup> 6-10	0.04	0.04	0.05	-0.01*	
	GD6-14	0.13	0.10	0.11	0.05*	
	GD6-18	0.23	0.18	0.21	0.13*	
	GD6-26	0.38	0.35	0.35	0.25**	
	GD6-29	0.44	0.39	0.40	0.30*	
補正体重増加量 <sup>b</sup> (kg)		-0.08	-0.11	-0.15	-0.24**	
摂餌量 (g/day)	GD6-8	175.1	171.3	173.8	139.3*	
	GD8-10	184.6	176.8	180.7	148.0*	
	GD22-26	152.1	138.5	130.3	115.4**	
	GD26-29	126.5	114.9	104.8	88.8**	
剖検所見	肝臓蒼白化	0	0	0	3	
	肝臓白色病巣	0	0	0	2	
肝重量		—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
着床所見	検査母動物数		19	17	23	21
	平均黄体数		10.8	11.2	11.6	11.3
	平均着床痕数		9.6	9.5	10.2	10.0
	平均着床前損失率(%) <sup>c</sup>		12.0	15.3	11.0	10.3
	平均早期吸収胚数		0.6	0.6	0.3	0.1
	平均後期吸収胚数		0.1	0.1	0.2	0.0
	平均生存胎児数		8.5	8.1	9.3	9.3
	生存胎児数		162	137	213	195
	生存胎児を有する腹数		19	17	23	21
	死亡胎児数		6	14*	11	12
	死亡胎児を有する腹数		5	8	8	8
	平均胎児死亡率(%) <sup>d</sup>		2.9	9.0	4.4	5.5
	平均着床後損失率(%) <sup>e</sup>		10.1	15.2	8.2	6.7
	胎児性比 (雄%)		46.6	49.3	56.0	54.9
	胎児体重(g) (対照群に対する割合:%)	雄	41.4 (100)	41.4 (100)	40.4 (98)	38.6 (93)
		雌	40.3 (100)	40.6 (101)	38.9 (97)	38.7 (96)
雌雄合計		40.8 (100)	41.0 (101)	39.7 (97)	38.6 (95)	

a: GD: 妊娠日数

b: 補正体重変化=妊娠6~29日の増体重-妊娠子宮重量(g)

c: 平均着床前損失率=(黄体数-着床痕数) / 黄体数 × 100

d: 平均胎児死亡率=母体単位の死亡胎児数 / 母体単位の総胎児数 × 100

e: 平均着床後損失率=(着床痕数-生存胎児数) / 着床痕数 × 100

統計手法: 母動物の体重増加量、補正体重増加量、摂餌量、肝重量、黄体数、着床痕数、吸収胚数、着床前後損失率、胎児体重; Dunnett's test または Dunn's test、胎児性比、死亡胎児数;  $\chi^2$  test、一般状態; Fisher exact test (申請者実施)

\*: p ≤ 0.05, \*\*: 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

胎児：

投与量(mg/kg/day)		0	10	25	60
<b>外表検査</b>					
検査胎児(腹)数		162(19)	137(17)	213(23)	195(21)
頭蓋、頸部、胸部壁浮腫	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.5	0/0/0.0
腹部浮腫/胸腔短縮	奇形	0/0/0.0	1/1/0.6	0/0/0.0	0/0/0.0
二分脊椎(アペール)	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.3	0/0/0.0
臍帯ヘルニア	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.4	0/0/0.0
<b>内臓検査</b>					
検査胎児(腹)数		162(19)	137(17)	213(23)	195(21)
頭部検査胎児数		76	65	99	92
網膜欠損(片側/両側)	奇形	2/1/5.3	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0
口蓋裂(全体)/右心房肥大/左右心室肥大/腹部液 充満/肺動脈幹拡張/心室中隔頭側欠損/全肺泡 小型	奇形	0/0/0.0	1/1/1.2	0/0/0.0	0/0/0.0
下行大動脈及び大動脈弓拡張/心室中隔頭側欠 損	奇形	1/1/0.8	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0
腕頭動脈短縮/大動脈弓及び下行大動脈狭窄/心 室中隔頭側欠損/胸部液充満/全肺泡小型	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.5	0/0/0.0
結腸拡張/直腸狭窄	奇形	0/0/0.0	1/1/0.5	0/0/0.0	0/0/0.0
上行大動脈及び大動脈弓拡張/左心房肥大/左心 室壁(体側)薄化/網膜欠損(片側)	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.3	0/0/0.0
胸腺遺残(片側/両側)	変異	19/12/12.5	14/7/8.5	25/15/11.9	27/14/14.6
<b>骨格検査</b>					
検査胎児(腹)数		162(19)	137(17)	213(23)	195(21)
頭部検査胎児数		86	72	114	103
第8肋骨(片側)欠損/第8肋骨(片側)分離/仙骨前 椎骨25存在/胸椎11のみ	奇形	1/1/0.4	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0
第6及び7胸椎体、肋骨融合	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.4	0/0/0.0
第4頸椎半椎/第3及び4胸椎弓融合(片側)/2以 上の肋骨融合(片側)/第3胸椎体半椎体/第4胸椎 体異常/第2胸椎体不完全骨化	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.4	0/0/0.0
仙骨前椎骨25存在及び頸椎6のみ/2肋骨(片側) 融合/第4および6胸椎体異常/第5肋骨(片側)欠 損/第5胸椎体半椎体/第5胸椎弓小型	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.4	0/0/0.0
第9胸椎弓(片側)小型/第9胸椎弓欠損(片側)/第 9胸椎体欠損(片側)/第8肋骨(片側)分枝	奇形	1/1/1.1	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0
第7肋骨(片側)欠損/第7胸椎半椎/第6,8胸椎体 異常	奇形	0/0/0.0	1/1/0.6	0/0/0.0	0/0/0.0
第5及び6胸椎弓(片側)融合/第5胸椎体半椎体/ 第6胸椎体分割/第1肋骨(両側)短縮/2肋骨(片側) 融合/第5,6肋骨異常	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.5
第9胸椎体分割/1以上の胸椎体及び1胸半椎体 (第8及び9,第9及び10)融合	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.4	0/0/0.0
第9肋骨(片側)欠損/第9胸椎体半椎体/第9胸半 椎体及び第10胸椎体融合	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.4	0/0/0.0
第3から6腰椎椎弓位置異常、前部及び頭部に 穿孔	奇形	0/0/0.0	0/0/0.0	1/1/0.3	0/0/0.0
胸骨融合及び短縮	奇形	0/0/0.0	1/1/0.6	1/1/0.3	0/0/0.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

胎児（続き）

投与量(mg/kg/day)		0	10	25	60
舌骨中央部不完全骨化	変異	4/3/4.6	2/2/2.6	16*/8/14.1	10/6/9.7
1以上の胸骨分節異常,位置異常	変異	8/5/4.8	2/2/1.1	4/4/2.0	2*/2/1.2
第5胸骨分節未骨化	変異	8/6/5.5	0*/0*/0.0	10/4/4.1	6/4/3.2
第13胸部肋骨(片側/両側)(両側、片側短小を含む)	変異	105/19/63.4	99/17/69.6	133/22/64.0	151**/21/77.5
第13胸部肋骨(片側/両側)短小	変異	26/13/16.1	17/9/11.2	31/17/13.9	16*/12/8.3
第13胸部肋骨(片側/両側)分離	変異	19/12/11.4	17/9/11.7	22/12/10.2	24/15/12.6
27の前仙椎の存在	変異	0/0/0.0	0/0/0.0	5/3/2.2	3/3/1.4
第1中手骨不完全骨化	変異	1/1/0.7	7*/4/4.1	2/2/0.8	6/3/2.5
前肢第5中節骨未骨化	変異	9/5/6.2	0*/0*/0.0	1*/1/0.5	11/4/5.7

影響の認められた胎児数/影響のみられた母体数/母体単位の病変胎児出現率平均 (%)

\*:p<0.05、 \*\*:p<0.01 (Fisher exact test: 申請者実施)

投与による毒性影響を下表に要約する：

用量(mg/kg/day)	母動物	胎児
60	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ (流産 (1例) )*</li> <li>・ 粘液状便、糞量減少</li> <li>・ 増体重抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ 肝臓蒼白化、白色病巣</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 所見なし</li> </ul>
25以下	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 所見なし</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 所見なし</li> </ul>

\* 60mg/kg/day 群の1例で認められた流産に関して投与との関連性は不明であった。

本試験における無毒性量は母動物に対しては25mg/kg/day、胎児に対しては60mg/kg/dayであった。

催奇形性は認められなかった。

(11) 変異原性

細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 19)

[GLP]

報告書作成年： 2006 年

検体純度：

投与方法：*Salmonella typhimurium* の5つのヒスチジン要求性 LT2 変異株 TA 1535、TA 100、TA 1537、TA 98 および TA 102 を用いて、薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。検体を DMSO に溶解し 16、50、158、500、1581 および 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量で試験した。試験は 2 回実施し、1 回目はプレートインコーポレーション法、2 回目はプレインキュベーション法 (プレインキュベーション 37°C、20 分間) を用いた。各試験、各用量、各菌株毎に 3 つのプレートで実施した。陽性対照として、S9 Mix 非存在下ではアジ化ナトリウム (NA-azide) 10  $\mu\text{g}/\text{plate}$  (TA1535 用)、ニトロフラントイン (NF) 0.2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  (TA100 用)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NPDA) 10  $\mu\text{g}/\text{plate}$  (TA1537 用)、同 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  (TA98 用)、マイトマイシン C (MMC) 0.2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  (TA102 用、プレートインコーポレーション法)、クメンヒドロペルオキシド (Cumene) 50  $\mu\text{g}/\text{plate}$  (TA102 用、プレインキュベーション法)、S9 Mix 存在下では何れの菌株に対しても 2-アミノアントラセン (2-AA) 3  $\mu\text{g}/\text{plate}$  を用いた。

細胞毒性はバックグラウンド増殖の減少が認められプレート当りの変異細胞数が陰性対照に比べ用量依存的に有意に減少した場合に細胞毒性を疑い、薬物代謝酵素存在下で総細胞数を計数し確認した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

菌株、試験条件により、158  $\mu\text{g}/\text{plate}$  以上の用量で細胞毒性が認められ、また、全菌株において 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  で被験物質の沈殿が認められたが、いずれの菌株においても被験物質の変異原性評価は可能であった。

供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の変異体数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な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原性は示さ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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1 回目試験 (プレートインコーポレーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
対照(DMSO)			11	139	232	6	25	
検体	16	-	12	134	238	6	26	
	50		11	153	249	6	24	
	158		10	159	263	6	25	
	500		8	148	246	3 <sup>b</sup>	23	
	1581		6 <sup>b</sup>	135	216	2 <sup>b</sup>	26	
	5000		/ <sup>p</sup>	106 <sup>p</sup>	190 <sup>p</sup>	/ <sup>p</sup>	11 <sup>p</sup>	
NA-azide	10		681					
NF	0.2			364				
MMC	0.2				573			
4-NPDA	10					71		
	0.5						158	
対照(DMSO)			+	16	192	283	9	32
検体	16			14	184	301	7	28
	50	14		184	273	7	27	
	158	12		199	290	7	32	
	500	9 <sup>t</sup>		195 <sup>t</sup>	311 <sup>t</sup>	8	28 <sup>t</sup>	
	1581	5 <sup>bt</sup>		178 <sup>t</sup>	298 <sup>t</sup>	5 <sup>bt</sup>	28 <sup>t</sup>	
	5000	4 <sup>pt</sup>		186 <sup>pt</sup>	313 <sup>pt</sup>	2 <sup>pt</sup>	16 <sup>pt</sup>	
2-AA	3	141 <sup>t</sup>		1497 <sup>t</sup>	860	288 <sup>t</sup>	1252	

(表中の数値は3反復の平均値) b: バックグラウンドロンの減少、p:沈殿 /:データなし、t:細胞毒性

2 回目試験 (プレインキュベーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
対照(DMSO)			10	147	236	7	16	
検体	16	-	11	125	253	7	17	
	50		9	133	264	5	16	
	158		9 <sup>b</sup>	83	210	5	15	
	500		9 <sup>b</sup>	81	205 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	13 <sup>b</sup>	
	1581		6 <sup>b</sup>	86 <sup>b</sup>	177 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	
	5000		/ <sup>p</sup>	88 <sup>p</sup>	109 <sup>p</sup>	/ <sup>p</sup>	/ <sup>p</sup>	
NA-azide	10		744					
NF	0.2			519				
Cumene	50				444			
4-NPDA	10					83		
	0.5						141	
対照(DMSO)			+	10	175	273	10	29
検体	16			11	162	279	8	24
	50	9		174	282	9	20	
	158	7		154	279	8	21	
	500	8 <sup>bt</sup>		157	293	7 <sup>b</sup>	32	
	1581	8 <sup>bt</sup>		112	281 <sup>t</sup>	5 <sup>bt</sup>	23	
	5000	6 <sup>pt</sup>		161 <sup>pt</sup>	265 <sup>pt</sup>	/ <sup>pt</sup>	/ <sup>p</sup>	
2-AA	3	145		1645	584	270	950	

(表中の数値は3反復の平均値) b: バックグラウンドロンの減少、p:沈殿 /:データなし、t:細胞毒性

チャイニーズハムスターV79細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 20)

[GLP]

報告書作成年：2006年

検体純度：

投与方法：チャイニーズハムスターV79細胞を用い、代謝活性化 (+S9 mix) および非活性化 (-S9 mix) によって以下の濃度、条件で染色体異常誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。

処理時間	細胞回収時間	S9mix	検体濃度(μg/ml)	陽性対照(μg/ml)
4	18	-	0、15、30、60	マイトマイシン C 0.1
		+	0、50、100、160	シクロホスファミド 2.0
	30	-	0、60	
		+	0、160	
18	18	-	0、8、16、20	マイトマイシン C 0.03

培養は1濃度あたり2連で行い、各培養につき100個の分裂中期像について観察した。

評価に用いた濃度の選択：予備試験の結果、代謝非活性化条件下4時間処理、回収24時間では100μg/ml以上、18時間処理、回収18時間では20~30μg/ml以上で、代謝活性化条件下4時間処理、回収24時間では200μg/ml以上で強度の細胞毒性ないし有糸分裂阻害が認められた。また、代謝非活性化条件(4時間処理)では100μg/ml以上で、代謝非活性化条件(18時間処理)では60μg/ml以上で非接着細胞および細胞形態変化が、代謝活性化条件(4時間処理)では100μg/ml以上で非接着細胞が、400μg/mlで細胞形態の変化が観察された。予備試験に基づき代謝非活性化条件では120μg/ml(4時間処理)または24μg/ml(18時間処理)まで、代謝活性化条件では240μg/mlまでの濃度で本試験を実施した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

代謝非活性化条件において検体の何れの処理においても、異常を有する分裂中期細胞数に統計学的、生物学的に有意な変化は認められなかった。

代謝活性化条件において検体の何れの処理においても、異常を有する分裂中期細胞数に生物学的に有意な変化は認められなかった。(申請者による考察；検体160μg/ml(4時間処理、回収30時間)で構造異常を有する細胞の割合(ギャップを含むおよび交換)が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、ギャップを含む構造異常細胞の割合は背景対照データ(1998~2005年)の範囲内(0.0~8.0%)であること、交換を含む細胞の割合については反復間の変動が大きいこ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

とおよび代謝活性化条件を含む他の培養条件ではいずれも同様の傾向は認められなかったことから生物学的に意義のない変動と判断した。)

一方、陽性対照のマイトマイシン C およびシクロホスファミドは明白な染色体異常を誘発し、試験系の感受性ならびに使用した S9 mix の活性が確認された。

(申請者による考察：数的異常(倍数性)に関し、いずれの処理においても影響は認められなかった。)

以上の結果に基づき、検体は代謝活性化を含む本試験条件において染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

表：結果

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ml)	S9 mix	処理時間	回収時間	観察細胞数	異常の分類													構造異常細胞(%)			数的異常
						ギャップ		染色分体型			染色体型			その他				ギャップ		交換		
						g	ig	b	f	d	ib	if	id	ex	maE	ma	cd	含む	除外			
検体	0	-	4	18	200	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	1	0	10	
	15					0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	1.5	1.5	0	6	
	30					0	0	2	0	0	0	1	2	2	0	0	0	3	3	1	5	
	60					0	0	0	0	0	0	0	3	4	0	0	0	2.5	2.5	1	4	
MMC	0.1					5	5	53	9	0	16	7	7	88	7	0	0	60.5**	59.5**	37.5**	11	
検体	0	+	4	18	200	1	0	4	0	0	0	1	1	4	0	0	0	3	2.5	1	9	
	50					0	0	0	0	0	1	0	7	2	0	0	0	4.5	4.5	0.5	6	
	100					0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	1.5	0	10	
	160					2	0	0	0	0	3	0	4	0	0	0	0	4.5	3.5	0	7	
CP	2					10	7	45	14	1	37	9	10	69	12	1	0	63.5**	61.5**	34.0**	3	
検体	0	-	4	30	200	1	0	1	2	1	1	0	4	0	0	0	5	4.5	0	7		
	60					1	0	1	1	1	0	1	5	1	2	0	0	5	5	1.5	18	
検体	0	+	4	30	200	0	0	0	0	0	1	0	5	0	0	0	0	3	3	0	2	
	160					2	0	3	1	0	2	1	3	10	3	0	0	7.5*	7	4.5**	5	
検体	0	-	18	18	200	0	0	0	0	0	0	1	5	1	0	0	0	3	3	0.5	27	
	8					1	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	2.5	2	0	24	
	16					2	0	1	3	0	1	0	1	0	0	0	0	3	2	0	8	
	20					1	0	1	0	0	0	0	2	2	0	0	0	3	2.5	1	18	
MMC	0.03					3	3	31	6	0	26	7	5	38	0	0	0	40.0**	37.0**	16.5**	24	

\*:p<0.05, \*\*:p<0.01 (カイ二乗検定)

g：染色分体型ギャップ、ig：染色体型ギャップ、b：染色分体型切断、f：染色分体型断片、d：染色分体型欠失、ib：染色体型切断、if：染色体型断片、id：染色体型欠失、ex：交換、maE：交換を含む重複異常、ma：重複異常、cd：染色体破損

MMC：マイトマイシン C、CP：シクロホスファミド



マウスを用いた小核試験

(資料 21)

[GLP]

報告書作成年： 2006 年

検体純度：

試験系： NMRI 系雄マウス、1 群 5 匹  
(試験開始時：約 6～12 週齢、体重 37～45 g)

投与方法：検体を 0.5% Cremophor に懸濁させ、0、10、20 および 40mg/kg の用量でマウスに 24 時間の間隔で 2 回、腹腔内投与した。更に予備群を設け 40mg/kg を同様に処理し、本群 40mg/kg 群で死亡が認められた場合および多染性/正染性赤血球比が著しく変化した場合に使用した。陽性対照シクロホスファミド(CP)は生理食塩水に溶解し 20mg/kg の用量で 1 回腹腔内投与した。何れの群も最終投与の 24 時間後に動物を屠殺し、大腿骨骨髓標本を作製した。動物毎に 2000 個の多染性赤血球を観察し、多染性赤血球に対する正染性赤血球数の割合、小核を含む多染性赤血球の頻度および小核を含む正染性赤血球の頻度を計数した。

用量設定根拠；予備試験において検体を 20、40、100、200 および 1000mg/kg の用量で雌雄各 3 匹の NMRI 系マウスに 24 時間間隔で 2 回腹腔内投与したところ、雌雄とも 100mg/kg 以上の用量で死亡が認められ雄では 20mg/kg 以上の用量で痙攣、呼吸困難等を含む毒性症状がみとめられたことから、40mg/kg を雄における最大耐量(MTD)として選択した。毒性影響について雌雄で顕著な差が認められなかったことから本試験では雄のみを使用した。

結果：全投与群において 2 回目投与の 3 時間後までに無関心、皮毛粗剛、痙攣、周期的な伸張、呼吸困難等の影響が認められた。死亡例はなかった。この変化は、何れの用量においてもマウスが検体に全身暴露されたことを示した。多染性赤血球と正染性赤血球の比には投与の影響は認められなかった。小核を有する多染性および正染性赤血球の頻度に検体投与の影響はみられなかった。陽性対照のシクロホスファミドは、小核を有する多染性赤血球が顕著に増加した。

以上より、本試験条件下で検体の変異原性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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与群	用量 (mg/kg)	投与 回数	評価した 多染性 赤血球数	多染性赤血球 2000個当たりの 正染性赤血球数	小核を有する細胞数	
					正染性赤血球 2000個当たり	多染性赤血球 2000個当たり
陰性対照(溶媒)	0	2	10000	3247±362	1.2±0.6	2.4±1.1
検体	10			3741±976	1.4±0.9	3.0±1.9
	20			3465±436	1.2±0.4	3.0±2.2
	40			4219±1050	0.7±0.7	3.0±2.6
陽性対照 (CP)	20	1		4036±714	1.1±0.8	29.0*±9.6

平均±SD

\*:p<0.01 (non-parametric Wilcoxon Ranking test)

(12) 生体機能に及ぼす影響

一般薬理試験

(毒性資料 22)

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体純度：

試験方法

投与方法：検体を乳鉢内で微粉碎後、クレモフォル EL・注射用水の混液(1:49)に懸濁し、ラットを用いた試験では 0、200、600 および 2000mg/kg、マウスを用いた試験では 0、2、6、20 および 60mg/kg の用量で経口投与した。

投与容量は、体重 100g 当たり 1mL とした。

投与用量設定根拠

ラット試験に関してはラットを用いた急性経口毒性試験(資料 1)の結果、2000mg/kg で死亡および症状が見られなかったことから、2000mg/kg を最高用量として、以下公比約 3 で除し、600 および 200mg/kg を設定した。

マウス試験は同試験機関で実施した用量設定試験に基づき決定した。用量設定試験では 60mg/kg 群で死亡例が認められ生存例における症状として側臥位および振戦が認められた。30 および 15mg/kg 群では一時的な腹臥位が観察されたが投与 24 時間までには正常状態に回復した。これより、60mg/kg を最高用量とし以下公比約 3 で除し、20、6 および 2mg/kg を設定した。

試験項目および結果

1) 一般状態の観察(ラット)

供試動物：ラット SD 系(CrI: CD) 雄、1 群 5 匹、7 週齢、体重 204.2~219.7g

方法：検体投与後、Irwin 法(多次元観察法)に従って、一般状態の観察や行動変化について調べた。

結果：対照群および 200 mg/kg 群では、いずれの観察時間においても異常所見は認められなかった。600 mg/kg 群では、1 例(動物番号 1201A)で投与 120 分後に腹臥位、身震いおよび散瞳が発現し、腹臥位は投与 180 分後、散瞳は投与 24 時間後(投与 1 日後)まで継続した。他にも、散瞳が投与 120 分後に 1 例(1203A)、眼瞼下垂が投与 180 分後に 1 例(1204A) および投与 1 日後に 2 例(1203A、1205A)に観察された。いずれの動物も、投与 2 日後には異常所見は認められなかった。2000 mg/kg 群では、投与 120 分後に腹臥位、眼瞼下垂、振戦および散瞳が発現した。腹臥位および振戦は投与 180 分後においても、散瞳は投与 180 分後、360 分後および投与 1 日後にも観察され、投与 120 および 180 分後では、散瞳の発現数(4/5 例)が対照群と比べて統計学的に有意な高値を示した。さらに、投与 180 分後の観察では、体温低下および握力低下が 1 例に認められ、投与 360 分後では、2 例(1301A、1304A)が死亡した。

認められた一般状態の変化は2日後には回復した。

投与の影響と考えられる変化

用量 (mg/kg)	項目	症状	投与後時間						
			投与前	15分	60分	120分	180分	360分	1日
600	姿勢	腹臥位	0	0	1	1	0	0	0
	自律神経系	眼瞼下垂	0	0	0	1	0	2	0
		身震い	0	0	1	0	0	0	0
		散瞳	0	0	2	1	1	1	0
2000	姿勢	腹臥位	0	0	1	2	0	0	0
	自律神経系	眼瞼下垂	0	0	1	0	0	0	0
		振戦	0	0	2	3	0	0	0
		散瞳	0	0	4*	4*	2	2	0
	反射	握力低下	0	0	0	1	0	0	0
	その他	低体温	0	0	0	1	0	0	0
	死亡		0	0	0	0	2	0	0

表中の数値は変化のみられた動物数

\*: p<0.05 (Fisher)

## 2) 中枢神経系への影響

### ① 自発運動量に及ぼす影響 (マウス)

供試動物: マウス ICR 系(Crlj: CD-1) 雄、1群6匹、6週齢、体重23.8~28.8g

方法: 検体投与前30分間および投与直後から360分後まで継続して自発運動量測定装置を用い測定した。自発運動量の集計は、30分毎に行った。

結果: 20および60mg/kgで投与直後から30分後の自発運動量測定値が対照群に比べ統計学的有意に減少し、投与30~60分後および投与60~90分後の自発運動量が対照群に対し低下傾向を示した。2および6mg/kg群では影響は認められなかった。

60mg/kg群の1例で死亡が認められた。

自発運動量 (統計学的有意差の認められた項目)

投与後時間	用量(mg/kg)			
	2	6	20	60
0-30分	99	105	↓69	↓52

表中の数値は対照群を100とした場合の値、↓:p<0.05、↓↓:p<0.01 (Dunnett)

### ② 痙攣誘発作用 (マウス)

供試動物: マウス ICR 系(Crlj: CD-1) 雄、1群6匹、6週齢、体重25.3~28.4g

方法: 検体投与60分後に両耳介より小型動物用電撃刺激装置を用い通電し、電撃刺激後に発現する後肢の痙攣(間代性痙攣、強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣)および死亡の有無を観察した。

結果: 電撃刺激後の観察より、各痙攣および死亡の発現には対照群と検体投与群の間に差は認められなかった。

結果表

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

用量(mg/kg)	0	2	6	20	60
検査動物数	6	6	6	6	6
間代性痙攣	6	6	6	6	6
強直性屈曲痙攣	5	6	6	6	6
強直性伸展痙攣	5	6	6	5	6
死亡	2	3	2	2	1

③ 正常体温に及ぼす影響 (ラット)

供試動物：ラット SD 系(CrI: CD) 雄、1 群 5 匹、7 週齢、体重 172.8~202.0g

方法： 検体投与前、投与 30、60、120、180、360 分および 24 時間後にデジタル温度計を用いて直腸温を測定した。

結果： 2000mg/kg 群において投与 120 分後の体温が対照群に比べ統計学的有意に低下し、投与 180 および 360 分後の体温が低値傾向を示した。

体温 (変化のみられた時点、単位：℃)

用量(mg/kg)	0	200	600	2000
120 分後	37.2	37.2	36.7	36.2*
180 分後	36.9	36.8	36.4	35.1
360 分後	37.6	37.5	37.1	36.2

\*p<0.05 (Dunnett)

3) 循環器系への影響 (ラット；無麻酔)

① 血圧および心拍数の測定

供試動物：ラット SD 系(CrI: CD) 雄、1 群 5 匹、7 週齢、体重 174.4~234.4g

方法： 検体投与前、投与後 60、120、180 および 360 分に非観血式自動血圧測定装置を用いて収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧および心拍数を測定した。測定はそれぞれ 3 回繰り返した。

結果： 血圧、心拍数に関して投与の影響は認められなかった。

心拍数について 2000mg/kg 群の投与 120 分後の投与前値からの変化値が対照群に比べ統計学的有意に上昇したが、実測値に差が認められないことから投与による影響とは考えなかった。(申請者による考察：投与 120 分後の心拍数の絶対値に関して対照群と 2000mg/kg 群間で統計学的有意な差は認められないものの、自律神経系への影響が認められていることとあわせ、この変化は投与の影響とするのが妥当と考える。)

4) 腎機能に対する作用

①尿量、尿中電解質および尿浸透圧の測定

供試動物：ラット SD 系(CrI: CD) 雄、1 群 5 匹、7 週齢、体重 186.7~215.6g

方法： 生理食塩水を 2.5mL/100gBW を経口投与後、検体を投与した。検体投与直後に個別に採尿ケージに收容し、無給餌・無給水条件下で投与後 6 時間までの尿を採取し、尿量、尿浸透圧、ナトリウム総排泄量、カリウム総排泄量および塩素総排泄量を調査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：2000mg/kg 群で尿量、尿中ナトリウム総排泄量および塩素総排泄量が対照群に比べ有意に低下し、尿浸透圧が上昇傾向を示した。200mg/kg 群では尿中カリウム総排泄量が対照群に対し有意に増加したが、この用量でナトリウムおよび塩素の総排泄量に変化が認められないことから投与の影響ではないと判断した。

統計学的有意差のみられた項目

用量(mg/kg)	200	600	2000
尿量			40#
ナトリウム総排泄量			29*
カリウム総排泄量	188#		
塩素総排泄量			40#

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

\*:p<0.05 (Dunnett)、#:p<0.05 (Steel)

## 5) 自律神経系

### ①瞳孔径の測定

供試動物：ラット SD 系(Crl: CD) 雄、1 群 5 匹、7 週齢、体重 183.7~215.7g

方法：検体投与前、投与 30、60、120、180、360 分および 1 ならび 2 日後にデジタルノギスを用いて瞳孔径（片側）を測定した。

結果：2000mg/kg 群では投与 60 分から 1 日後、600mg/kg 群では投与 180~360 分後の瞳孔径が対照群に比べ有意に増加（散瞳）し、200mg/kg 群では投与 180~360 分後の瞳孔径が高値傾向を示した。投与 2 日目には投与の影響はみられなかった。（申請者による考察：200mg/kg 群でみられた変化については、統計学的有意差がなごと、及び、Irwin 法を用いた一般状態の観察において、同用量で散瞳が認められていないことから、境界線上の変化と考えられた。）

統計学的有意差のみられた項目

用量(mg/kg)	200	600	2000
60 分			164*
120 分			202#
180 分	(155)	175#	218#
360 分	(150)	282#	263#
24 時間			303#

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

\*:p<0.05 (Dunnett)、#:p<0.05 (Steel)、( )は統計学的有意差なし。

以上の結果より、本検体の投与により中枢神経系、腎機能および自律神経系への影響が認められた。循環器系に対する影響は認められなかった。

「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)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般状態 [Irwin 法] (ラット)	経口 (2% クレモフォール EL 水溶液)	0、 200、 600、 2000	♂5	600	200	600mg/kg：腹臥位、身震い、 散瞳、眼瞼下垂、投与 2 日後に 全例回復 2000mg/kg：腹臥位、眼瞼下垂、 振戦、散瞳、低体温、握力低下 (生存動物は 2 日後に全例回 復)、2/5 例死亡
中枢神経系 自発運動量 (マウス)		0、2、6、 20、60	♂6	20	6	20mg/kg 以上で運動量低下(投 与直後から 60 分後) 60mg/kg 群の 1 例死亡
中枢神経系 痙攣 誘発作用 (マウス)		0、2、6、 20、60	♂6	—	60	影響なし
中枢神経系 正常体温 (ラット)		0、 200、 600、 2000	♂5	2000	600	2000mg/kg 群で投与 120～ 360 分後に体温低下、投与 1 日 後に回復
循環器系 血圧・ 心拍数 [Tail-cuff 法] (ラット、 無麻酔)		0、 200、 600、 2000	♂5	—	2000	影響なし
腎機能 尿量・ 電解質・ 浸透圧 (ラット)		0、 200、 600、 2000	♂5	2000	600	2000mg/kg：尿量、尿中ナトリ ウムおよび塩素総排泄量の低 値、尿浸透圧高値傾向
自律神経系 瞳孔径 (ラット)		0、 200、 600、 2000	♂5	200	<200	200mg/kg：散瞳傾向(投与 180 ～360 分後) 600mg/kg：散瞳(投与 180～ 360 分) 2000mg/kg：散瞳(投与 60 分～ 1 日後)、投与 2 日後に回復

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 2. 原体混在物および代謝物

(資料 代謝物 1)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(資料 代謝物 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

### 3. 製剤

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製剤 1)

[GLP]

報告書作成年：2009 年

検 体：インダジフラム 19.1%フロアブル

組 成：インダジフラム 19.1%

水、界面活性剂等 80.9%

供試動物：Hsd Cpb: WU 系 Wistar ラット 各段階 1 群雌 3 匹

投与開始時約 8~12 週齢、体重 160~203g

観察期間：14 日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を水道水で希釈し、10ml/kg の投与容量で、単回強制経口投与した。動物は投与 16~24 時間前から投与 2~4 時間後まで絶食させた。

観察・検査項目：投与当日は数回、以降毎日 1 回以上一般症状を観察し、生死を確認した。投与直前および投与後 7、14 日目に体重を測定した。全動物について剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	≥5000*
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現期間	投与 35 分~2 時間後
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	<2000
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

\*OECD ガイドライン 423 の分類に基づく (GHS の区分 5/未分類に該当)。

全例で一時的な運動量の低下が認められた。

その他、一般状態、体重および剖検において投与の影響は認められなかった。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製剤 2)

[GLP]

報告書作成年：2009 年

検 体： インダジフラム 19.1%フロアブル

組 成： インダジフラム 19.1%

水、界面活性剤等 80.9%

供試動物： Hsd Cpb: WU 系 Wistar ラット 1 群雌雄各 5 匹

投与開始時約 9~13 週齢、体重 雄：284 g~295 g、雌：226 g~239 g

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体をガーゼパッド (6.0 cm×5.0 cm=30 cm<sup>2</sup>) に塗布し、刈毛したラットの背部に半閉塞固定した。24 時間後、ガーゼパッドを取り除き、石けんを使用して暴露部位をぬるま湯で洗浄した。

観察・検査項目： 投与当日は数回、以降毎日 1 回以上一般症状を観察し、生死を確認した。

投与直前および投与 7、14 日後に体重を測定した。全動物について剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	雌雄； >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	臨床症状および皮膚反応は認められなかった。
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

投与の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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製剤 3)

[GLP]

報告書作成年：2009年

検 体：インダジフラム 19.1%フロアブル

組 成：インダジフラム 19.1%

水、界面活性剤等 80.9%

供試動物：Crl:KBL(NZW)系アルビノウサギ 1群雌3匹

投与開始時体重 3.2 kg~3.5kg

観察期間：72時間

投与方法：検体 0.5ml をガーゼに添付し刈毛した背部の皮膚（約 2.5cm × 2.5cm）に半閉塞で貼付した。暴露時間は4時間とし、皮膚に残った検体は水を用いて洗浄した。1匹目の動物に対しては3段階（暴露時間3分、1時間および4時間）で処理し、4時間の暴露時間が動物愛護の観点から適正であることを確認した。

観察項目：暴露終了1時間、24時間、48時間及び72時間後に適用部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無を観察し、以下の Draize の評価基準に従って評価した。

紅斑および痂皮形成：

・ 紅斑なし	0
・ 極軽度の紅斑（辛うじて識別される）	1
・ 明確な紅斑	2
・ 中等度から重度の紅斑	3
・ 重度の紅斑から軽度の痂皮形成（深部を傷害）	4

浮腫形成：

・ 浮腫なし	0
・ 極軽度の浮腫（辛うじて識別される）	1
・ 軽度の浮腫（輪郭が明瞭に隆起し、明確に識別される）	2
・ 中等度の浮腫（約1mm隆起）	3
・ 重度の浮腫（1mm以上隆起し暴露部位より広がっている）	4

結 果：結果を次頁の表に示す。

紅斑・痂皮及び浮腫の刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

動物	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製剤 4)

[GLP]

報告書作成年：2009年

検 体：インダジフラム 19.1%フロアブル

組 成：インダジフラム 19.1%

水、界面活性剤等 80.9%

供試動物：CrI:KBL(NZW)系アルビノウサギ 1群雌3匹

投与開始時体重 3.1 kg～3.2 kg

観察期間：72時間

投与方法：片眼の下眼瞼を緩やかにつまみ眼球から離し検体 0.1ml を結膜嚢に適用した。約1秒間、上下の眼瞼を合わせ検体の漏逸を防いだ。反対側の眼は対照として扱った。検体の施用約 24 時間後に洗眼を実施した。

観察項目：適用後 1 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間に結膜、虹彩、角膜の刺激性変化を観察し、以下の Deaize の評価基準に従って採点した。

結膜病変及び分泌物

浮腫(眼瞼結膜及び瞬膜)

- ・ 腫脹なし.....0
- ・ 正常を越える腫脹 (瞬膜を含む) .....1
- ・ 眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹 .....2
- ・ 眼瞼の1/2未満の閉鎖を伴った腫脹 .....3
- ・ 眼瞼の1/2以上の閉鎖を伴った腫脹 .....4

発赤(眼瞼及び眼球結膜、角膜、虹彩)

- ・ 血管正常.....0
- ・ 一部の血管が明らかに充血 .....1
- ・ びまん性の深紅色、個々の血管は容易に見分けられない .....2
- ・ びまん性の牛肉様赤色 .....3

虹彩

- ・ 正常.....0
- ・ 明瞭なひだ、充血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、これらのいずれか又は組み合わせ、虹彩はまだ光に反応する (反応は遅く鈍い) .....1
- ・ 対光反応消失、出血、著しい組織崩壊 .....2

角膜混濁

混濁の程度 (最も濃い部分で判定する)

- ・ 潰瘍又は混濁を認めない .....0
- ・ 散在性又はびまん性の混濁 (通常の光沢を持った軽度の曇りとは異なる。)、虹彩の細部は明瞭に透視可能 .....1
- ・ 透明な部分は残っているが、虹彩の全体がやや不明瞭 .....2
- ・ 真珠様光沢部位があり、虹彩の細胞は不明で瞳孔の大きさが辛うじて見分けられる .....3
- ・ 角膜不透明、混濁部を通して虹彩は見分けられない .....4

混濁の範囲

- ・ 0より多く1/4以下.....1
- ・ 1/4より多く1/2以下.....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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

- ・ 1/2より多く3/4以下 .....3
- ・ 3/4より多く全体以下 .....4

結 果：

項 目				最高 評点	適用後時間					
					1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	Mi*	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	3	2	1	0	0	0.3	
			浮 腫	4	0	0	0	0	0	
		動物 番号 2	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
	面 積			4	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0		
	結 膜		発 赤	3	2	1	0	0	0.3	
			浮 腫	4	0	0	0	0	0	
	動物 番号 3		角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
		面 積		4	0	0	0	0	0	
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	3	2	1	0	0	0.3	
			浮 腫	4	0	0	0	0	0	
		合 計**				330	12	6	0	0
	平 均**				110	4	2	0	0	—

\* 24～72 時間日の平均スコア

\*\* 角膜混濁評点（程度×面積）×5＋虹彩評点×5＋結膜評点（発赤＋浮腫＋分泌物）×2、分泌物は評点 0として申請者が算出した。

適用後 1 時間目においては評点 2、適用後 24 時間においては評点 1 の結膜発赤が全例で認められたが、適用 48 時間後にはいずれも消失した。他に、刺激性変化は認められなかった。全身毒性は認められなかった。

EEC 理事会指令 440/2008 の分類基準により、本試験条件下において、検体は非刺激性と分類された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) 皮膚感作性

(資料 製剤 5)

[GLP]

報告書作成年：2009 年

検 体：インダジフラム 19.1%フロアブル  
組 成：インダジフラム 19.1%  
水、界面活性剤等 80.9%

供試動物：雌性モルモット (CrL: HA 系)、  
5~6 週齢、体重：297~361 g、  
一群 雌 20 匹 (対照群雌 10 匹)

試験期間：48 時間観察

試験方法：[Buehler Patch Test]

投与量設定根拠；予備動物 5 匹に、それぞれ 0、25、50 および 100%の濃度の検体を 1 週間かけて 3 回適用し、適用 30 時間目の皮膚反応を観察した。この結果、いずれにおいても皮膚反応は認められなかったため 100% (原液) を感作濃度として選択した。また、惹起の 1 週間前に対照群と同様の感作処理をした予備動物 2 匹に、それぞれ 0、25、50 および 100%の濃度の検体を適用し、その 30 および 54 時間後に皮膚反応を観察した。この結果、いずれにおいても皮膚反応は認められなかったため 100%を惹起濃度とした。

感 作；各動物に週 3 回 (月、水、金曜)、3 週にわたり 9 回感作処理した。各処理ごとに刈毛した左側腹部に 100%検体 0.5ml を載せたパッチを各 6 時間閉塞処理した。6 時間の適用後パッチを取り外し、残った検体は生理食塩水を用いて除去した。対照群の動物には何も載せないパッチを同様に適用した。

惹 起；1 回目感作処理の 4 週間後 (最終感作処理の 11 日後) に、処理群および対照群の各動物の背部および右側腹部を刈毛し 100%検体 0.5ml を載せたパッチを右側腹部に 6 時間閉塞処理した。同時に、検体を載せないパッチを各動物の検体処理部位の頭部側に同様に適用し、対照部位とした。6 時間の適用後パッチを取り外し、残った検体は生理食塩水を用いて除去した。

観察項目：惹起終了後 24 時間及び 48 時間後に適用部位の皮膚反応を以下の評価基準に従って肉眼的に観察した。

- ・ 肉眼的変化なし……………0
- ・ 散在性または斑状の紅斑……………1
- ・ 中等度の連続した紅斑……………2
- ・ 強い紅斑および浮腫……………3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	供試動物数	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率 (%)
				24 時間				48 時間				24 時間	48 時間		
				皮膚反応評点											
				0	1	2	3	0	1	2	3				
感作群	20	100	100	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
非感作群	10	0	100	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0

以上の結果から、被検物質の皮膚感作性は陰性であると判断された。

参考：陽性対照試験結果（試験番号 T4079017、2008 年 8-9 月実施）

試験群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)
				24 時間後				48 時間後				
				評点				評点				
				0	1	2	3	0	1	2	3	
陽性対照	40	20	20	9	11	0	0	13	7	0	0	55%
対照	0	20	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0%

陽性対照物質 α-ヘキシル桂皮アルデヒド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

#### 4. 参考

(資料 参考1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(資料 参考 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(資料 参考 3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## IX. 動物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
1	動物代謝1  動物における動態と代謝	ラット (雄)	<p>供試化合物： <sup>14</sup>C インダジフラム 標識位置 [I-3-<sup>13</sup>C / <sup>14</sup>C] [T-2,4-<sup>14</sup>C]</p> <p>試験群・調査項目 (各両標識) LDE：吸収、分布、代謝及び排泄 BCE：吸収、分布、代謝及び胆汁排泄</p> <p>投与用量(設定) 10 mg/kg bw</p> <p>投与回数・経路 単回・経口</p>	<p><b>排泄及び吸収</b> 放射能の回収は投与量の約 101~111%、総排泄量は投与量の約 97~107%であった。主要排泄経路は糞あるいは胆汁であった(尿中排泄量：35~50%、LDE の糞中排泄量：60~70%、胆汁排泄量：40~50%)。主要排泄経路に標識位置による違いは認められなかった。 BCE 群の尿及び胆汁への排泄量から吸収率は約 90%と推定された。</p> <p><b>屠殺時の動物体中残留量及び分布</b> 屠殺時の動物体における残留量は少なかった。いずれの試験群でも、肝臓中で最高濃度が検出され(胃腸管を除く)、そのほかの臓器中の残留量は比較的低かった。 臓器・組織中の分布に標識位置による違いは認められなかった。</p> <p><b>代謝</b> インダジフラムは主に糞中から検出され尿中からは検出されなかった。主要代謝反応はであり、 [M02]がラットにおける主要代謝物であった。</p>	(2008)	運命-11
2	動物代謝2  動物における動態と代謝 - 吸収、分布、排泄	ラット (雌雄)	<p>供試化合物： <sup>14</sup>C インダジフラム 標識位置 [I-3-<sup>13</sup>C / <sup>14</sup>C] [T-2,4-<sup>14</sup>C]</p> <p>試験群・調査項目 (各両標識) LDE：吸収、分布、代謝及び排泄 PCE：血中薬物動態</p> <p>投与用量(設定) 低：5~20 mg/kg bw 高：500~750 mg/kg bw</p> <p>投与回数・経路 単回・経口</p>	<p><b>排泄及び吸収</b> 放射能の回収は投与量の約 94~111%、総排泄量は投与量の約 93~111%であった。低用量群の雌(I-LDE-F または T-LDE-F)においては、尿と糞にほぼ等量が排泄された。高用量群の雄の主要排泄経路は糞であり、大部分(約 90%以上)が糞中に排泄された。主要排泄経路に標識位置による違いは認められなかった。</p> <p><b>血液中放射能濃度の経時変化</b> 血液中放射能濃度はいずれの試験群でも投与1時間後までに最高濃度に達し、その後、速やかに消失し、投与 24~48 時間後には 0.01 ppm 未満となった。血中曲線からは腸管循環は示唆されなかった。</p> <p><b>屠殺時の動物体中残留量及び分布</b> 低用量投与群の雌の屠殺時の臓器・組織における残留量は低く、0.03 ppm 以下であった。高用量投与群の雄では低用量投与群の雌に比べて著量残留し、各臓器における残留濃度と投与用量は比例して増加した。 低用量投与群の雌では胃腸管、肝臓及び皮膚、高用量投与群の雄では肝臓及び皮膚における濃度がその他の臓器に比べて高かった。</p> <p><b>代謝</b> インダジフラムは尿中から検出されず、糞のみから検出された。雌雄あるいは投与用量によらず、主要代謝反応はであり、 [M02]がラットにおける主要代謝物であり、尿及び糞のいずれからも著量検出された。</p>	(2009)	運命-17

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表(続き)>

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
3	動物代謝3 動物における動態と代謝一分布	ラット	<p>供試化合物： <sup>14</sup>C インダジフラム 標識位置 [I-3-<sup>14</sup>C/<sup>14</sup>C]</p> <p><b>試験項目</b> 臓器への経時的分布</p> <p><b>投与用量</b> 低用量：3 mg/kg bw</p> <p><b>投与回数</b> 単回</p> <p>屠殺時間 投与 1、4、8、24、48、72、120 及び 168 時間後</p>	<p><b>排泄</b> 投与量の 64～69%が糞中に、25～29%が尿中に排泄された。投与 48 時間後にはほとんど全ての放射能(投与量の 86～95%)が排泄された。呼吸排泄はほとんど認められず、投与量の 0.01%未満であった。</p> <p><b>臓器への経時的分布</b> 放射能は投与 1 時間後にほとんど全ての臓器に分布していた。定量分析した臓器および組織中の当量濃度は投与から 1 時間後までにピークに達した。1 時間後の当量濃度が最も高かったのは肝臓の 10.8 mg/kg であり、次に腎髄質の約 1.8mg/kg、腎皮質の 1.1 mg/kg であった。その他の臓器および組織では 0.1～0.9 mg/kg の範囲であった。以降、各臓器中の当量濃度は速やかに減衰し、投与から 24 時間後には、肝臓(0.06 mg/kg)、腎髄質(0.02 mg/kg)、腎皮質(&lt;0.01 mg/kg)、甲状腺(&lt;0.01 mg/kg)、鼻粘膜(&lt;0.01 mg/kg) および硝子体(&lt;0.01mg/kg)を除き、すべての臓器および組織で定量限界未満となった。腎臓、甲状腺、鼻粘膜および硝子体中の放射能は投与から 48 時間後までに、肝臓中の放射能は 72 時間後までに定量限界未満となった。</p>	(2007)	運命-25
4	動物代謝4 動物における動態と代謝一分布	ラット	<p>供試化合物： <sup>14</sup>C インダジフラム 標識位置 [T-2,4-<sup>14</sup>C]</p> <p><b>試験項目</b> 臓器への経時的分布</p> <p><b>投与用量</b> 低用量：3 mg/kg bw</p> <p><b>投与回数</b> 単回</p> <p>屠殺時間 投与 1、4、8、24、48、72、120 及び 168 時間後</p>	<p><b>排泄</b> 投与量の 64～72%が糞中に、30～37%が尿中に排泄された。投与 48 時間後にはほとんど全ての放射能(投与量の約 100%)が排泄された。呼吸排泄はほとんど認められず、投与量の 0.02%未満であった。</p> <p><b>臓器への経時的分布</b> 放射能は投与 1 時間後に既にほとんど全ての臓器に分布していた。定量分析した臓器および組織中の当量濃度は投与から 1 時間後までにピークに達した。1 時間後の当量濃度が最も高かったのは肝臓の 12.1 mg/kg であり、次に腎髄質の約 2.5mg/kg、腎皮質の 1.3 mg/kg であった。その他の臓器および組織では 0.1～0.7 mg/kg の範囲であった。以降、各臓器中の当量濃度は速やかに減衰し、投与から 24 時間後には、肝臓(0.041 mg/kg)、腎髄質(0.016 mg/kg)、腎皮質(&lt;0.01 mg/kg)、脂肪(腎周囲)(0.010 mg/kg)、鼻粘膜(&lt;0.01 mg/kg) および硝子体(0.010 mg/kg)を除き、すべての臓器および組織で定量限界未満となった。腎臓、鼻粘膜および硝子体中の放射能は投与から 48 時間後までに、肝臓中の放射能は 120 時間後までに定量限界未満となった。</p>	(2007)	運命-29

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイオクロップサイエンス株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表(続き)>

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
5	土壤中 運命1  好氣的 土壤に おける 分解	土壤	<p>供試化合物： <math>^{14}\text{C}</math> インダジフラム 標識位置 [I-3-<math>^{13}\text{C}</math>/<math>^{14}\text{C}</math>]</p> <p><b>試験項目</b> 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>供試土壤： LH AXXa、砂壤土 LH AIIIa、壤土 LH Wurmwiese、壤土 H Hohensch、シルト質壤土</p> <p>処理量：0.4 ppm</p> <p>試験温度：20℃</p>	<p><b>物質収支、放射能の分布</b> 回収率は93.3%~101.0%の範囲であった。インダジフラム処理後の放射能の挙動は土壤の種類によらず類似していた。 <math>^{14}\text{CO}_2</math>量は試験経過に伴い増加し、処理122日後には処理量の23.6%~33.1%が無機化された。 抽出画分中の放射エネルギーは経時的に減少し、処理122日後に抽出された放射エネルギーは41.2~53.4%であった。未抽出放射エネルギー(NER)は経時的に増加し、処理101~122日後には21.2~25.4%まで増加した。</p> <p><b>未抽出残留物の特徴付け</b> 処理122日後の抽出後の土壤の未抽出残留物を腐植の画分化法に従い分画した結果、いずれの土壤でもフルボ酸画分及びヒューミン画分に多くの放射能が認められた。</p> <p><b>分解物の生成及び消長</b> いずれの土壤でもインダジフラムは経時的に分解し、122日後には処理量の14.9~28.6%まで減少した。 [M10]及び[M02]が全土壤で検出された。 [M10]及び[M02]の量は土壤により異なったが、いずれかの土壤で処理量の10%を超える量で認められた。両分解物とも増加後、122日後までに減少することが認められた。</p> <p><b>インダジフラム及び分解物の分解速度</b> インダジフラム及び[M10]並びに[M02]分解物の土壤における半減期は、インダジフラムで27.7~41.3日、代謝物はいずれも100日未満であった。</p>	(2007)	運命 -33

<代謝分解試験一覧表(続き)>

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
6	土壤中 運命 2  好氣的 土壤に おける 分解	土壤	<p>供試化合物：  <sup>14</sup>C インダジフラム                      標識位置                      [T-2.4-<sup>14</sup>C]</p> <p><b>試験項目</b>                      分解速度                      分解物の生成及び消失</p> <p>供試土壤：                      LH AXXa、砂壤土                      LH AIIIa、壤土                      LH Wurmwiesc、壤土                      H Hohenseh、壤土</p> <p>処理量：0.27 ppm                       試験温度：20°C</p>	<p><b>物質収支、放射能の分布</b>                      回収率は 94.9%~101.6%の範囲であった。処理 120 日後における <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 生成量は 3 種類の Laacherhof 土壤で 5.0%~13.6%、Hoefchen 土壤で 30.6%であった。                      抽出画分中の放射エネルギーは経時的に減少し、処理 120 日後に抽出された放射エネルギーは 47.8~69.9%であった。未抽出放射エネルギー(NER)は経時的に増加し、いずれの土壤でも処理 120 日後に最大に達した(17.1~24.6%)。</p> <p><b>未抽出残留物の特徴付け</b>                      放射能分布は土壤の違いによらず類似し、いずれの土壤でもフルボ酸画分及びヒューミン画分に多くの放射能が認められた。</p> <p><b>分解物の生成及び消長</b>                      インダジフラムは経時的に分解し、120 日後には処理量の 15.3~28.7%まで減少した。                      [M10]、 [M02]及び [M01]が全土壤で検出された。これら分解物の量は土壤により異なったが、いずれかの土壤で処理量の 10%を超える量で認められた。 [M10]及び [M02]については増加後、120 日後までに減少することが認められたが、 [M01]は処理 120 日後まで増加した。</p> <p><b>インダジフラム及び分解物の分解速度</b>                      インダジフラム及び分解物の土壤における半減期は、インダジフラムで 21.7~51.6 日であり、 [M10] [M02]で 100 日未満であった。                      [M01]については半減期を算出できなかった。</p>	(2007)	運命 -39

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
7	土壌中 運命 3  嫌氣的 土壌に おける 分解	土壌	<p>供試化合物： <math>^{14}\text{C}</math> インダジフラム 標識位置 [I-3-<math>^{13}\text{C}</math>/<math>^{14}\text{C}</math>] [T-2,4-<math>^{14}\text{C}</math>]</p> <p><b>試験項目</b> 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>供試土壌： H Hohenseh、シルト質壤土</p> <p>処理量：0.4 ppm</p> <p>試験温度：20°C</p> <p>30 日の好気条件後、1.5 cm 湛水し窒素大気で嫌気培養</p>	<p><b>物質収支、放射能の分布</b> [T-2,4-<math>^{14}\text{C}</math>]及び[I-3-<math>^{13}\text{C}</math>/<math>^{14}\text{C}</math>]インダジフラムを添加後、好気条件で30日間及び嫌気条件で180日間に亘り培養した土壌からの放射能の回収はそれぞれ90.8～98.1%及び92.1～98.5%であった。 嫌気条件で培養後、抽出可能な放射エネルギーはほとんど変化しなかった。<math>\text{CO}_2</math>は嫌気条件で培養後に増加することは無かった。未抽出放射能はいずれの標識位置でも増加したが、増加の程度は少なく、処理放射エネルギーの20%を上回することは無かった。</p> <p><b>分解物の生成及び消長</b> 嫌気条件においてインダジフラムの分解がほとんど進行せず、嫌気条件下に特有の分解物は認められなかった。好気条件で生成した分解物として、[M10]、[M02]及び[M01]が同定されたが、いずれも嫌気条件ではほとんど分解せず、試験期間を通じてその量はほぼ一定であった。</p> <p><b>インダジフラム及び分解物の分解速度</b> インダジフラムは嫌気条件土壌でほとんど分解せず、半減期は&gt;180日と推定された。</p>	(2006)	運命 -46
8	水中 運命 1  加水分解	緩衝液 pH 4 pH 7 pH 9	<p>供試化合物： <math>^{14}\text{C}</math> インダジフラム 標識位置 [T-2,4-<math>^{14}\text{C}</math>]</p> <p>試験濃度： 1 ppm 試験温度：50°C</p>	<p><b>物質収支、分解速度</b> 処理放射能は全 pH、全採取時点で良好に回収された。 インダジフラムは7日間の試験期間中、いずれの pH でも安定であった。</p>	(2007)	運命 -50



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表(続き)>

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
9	水中 運命 2  水中光 分解  緩衝液	緩衝液 pH7	<p>供試化合物： <sup>14</sup>C インダジフラム 標識位置 [I-3-<sup>13</sup>C / <sup>14</sup>C] [T-2,4-<sup>14</sup>C]</p> <p>試験項目 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>試験濃度：1 mg/L 試験温度：25°C 光強度(300~800 nm)： トリアジン標識 573 W/m<sup>2</sup> インダン標識 564 W/m<sup>2</sup></p>	<p><b>物質収支</b> 光照射後の溶液及び捕集液からの回収率はトリアジン標識で 97.4%、インダン標識で 100.6%であった。暗対照からの回収率はトリアジン標識及びインダン標識でそれぞれ 100.2%及び 96.1%であった。</p> <p><b>分解</b> インダジフラムは光照射により分解し、試験終了時には約 20%まで減少した。 分解物 2 種が 10%以上生成し、これらを [M11]及び [M12]と同定した。 [M11]及び [M12]のいずれも試験終了時まで上昇し、それぞれ約 50%及び約 20%に達した。</p> <p><b>分解速度</b> 実験条件における半減期は 1.4 日であり、この値から 4~6 月の東京の自然太陽光下における半減期は 8.1 日と算出された。</p>	(2006)	運命 -52
10	水中 運命 3  水中光 分解  自然水	自然水	<p>供試化合物： <sup>14</sup>C インダジフラム 標識位置 [I-3-<sup>13</sup>C / <sup>14</sup>C] [T-2,4-<sup>14</sup>C]</p> <p>試験項目 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>試験濃度：1 mg/L 試験温度：25°C 光強度(300~800 nm)： 1044 W/m<sup>2</sup></p>	<p><b>物質収支</b> 光照射後の溶液及び捕集液からの回収率は良好であり、トリアジン標識の回収率は 97.9%、インダン標識の回収率は 97.5%であった。</p> <p><b>分解</b> インダジフラムは光照射により分解し、分解速度は両標識位置で類似し、初期濃度 99.5%から照射 72 時間後には 5.4~7.7%まで減少した。光分解により生成した主要分解物も両標識位置で共通し、分解物 2 種が 10%以上生成し、これらをオレフィン [M11]及び [M12]と同定した。 [M11]は試験終了時まで上昇し、試験終了時に約 55%に達した。 [M12]も試験終了時まで上昇し、試験終了時に約 24%に達した。</p> <p><b>分解速度</b> インダジフラムの実験条件における半減期は 5.7 時間(両標識位置の平均)と計算された。この値から 4~6 月の東京の自然太陽光下における半減期は 2.5 日と算出された。</p>	(2008)	運命 -56

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。  
 <代謝分解試験一覧表(続き)>

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																	
11	土壌吸着-1	畑地土壌 5 種	供試化合物： <sup>14</sup> C インダジフラム 標識位置 [T-2,4- <sup>14</sup> C]	<b>安定性(物質収支)</b> 被験物質の安定性はいずれの土壌においても比較的良好であり、処理量の約 90%以上が回収された。振とう 96 時間後の上清及び土壌を分析して求めた被験物質の回収量は 92.8～93.9%であった。  <b>吸着係数</b> 各土壌における吸着係数( $K_F^{ads}$ 及び $K_F^{ads}_{oc}$ )を下表に示す。インダジフラムの吸着係数 $K_F^{ads}$ は 6.087～11.127、 $K_F^{ads}_{oc}$ は 395.8～741.8 であった。	(2006)	運命-61																																																	
							<table border="1"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>粘土含量 (%)</th> <th>土性</th> <th>OC%</th> <th>pH (CaCl<sub>2</sub>)</th> <th>OECD 型</th> <th><math>K_F^{ads}</math></th> <th><math>K_F^{ads}_{oc}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Laacher Hof AXXa、ドイツ</td> <td>10</td> <td>SL</td> <td>2.0</td> <td>6.1</td> <td>3 相当</td> <td>8.519</td> <td>426.0</td> </tr> <tr> <td>Hoefchen am Hohenseh、ドイツ</td> <td>18</td> <td>SiL</td> <td>2.4</td> <td>6.4</td> <td>3 相当</td> <td>9.500</td> <td>395.8</td> </tr> <tr> <td>Laacher Hof Wurmwielse、ドイツ</td> <td>18</td> <td>L</td> <td>1.3</td> <td>5.3</td> <td>5 相当</td> <td>6.087</td> <td>468.2</td> </tr> <tr> <td>Pikeville、米国</td> <td>5</td> <td>LS</td> <td>1.5</td> <td>5.1</td> <td>5 相当</td> <td>11.127</td> <td>741.8</td> </tr> <tr> <td>Stanley、米国</td> <td>31</td> <td>CL</td> <td>2.3</td> <td>5.8</td> <td>3 相当</td> <td>10.344</td> <td>449.7</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$	Laacher Hof AXXa、ドイツ	10	SL	2.0	6.1	3 相当	8.519	426.0	Hoefchen am Hohenseh、ドイツ	18	SiL	2.4	6.4	3 相当	9.500	395.8	Laacher Hof Wurmwielse、ドイツ	18	L	1.3	5.3	5 相当	6.087	468.2	Pikeville、米国	5	LS	1.5	5.1	5 相当	11.127	741.8	Stanley、米国	31	CL	2.3	5.8	3 相当	10.344	449.7
							土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$																																									
							Laacher Hof AXXa、ドイツ	10	SL	2.0	6.1	3 相当	8.519	426.0																																									
							Hoefchen am Hohenseh、ドイツ	18	SiL	2.4	6.4	3 相当	9.500	395.8																																									
							Laacher Hof Wurmwielse、ドイツ	18	L	1.3	5.3	5 相当	6.087	468.2																																									
							Pikeville、米国	5	LS	1.5	5.1	5 相当	11.127	741.8																																									
Stanley、米国	31	CL	2.3	5.8	3 相当	10.344	449.7																																																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>粘土含量 (%)</th> <th>土性</th> <th>OC%</th> <th>pH (CaCl<sub>2</sub>)</th> <th>OECD 型</th> <th><math>K_F^{ads}</math></th> <th><math>K_F^{ads}_{oc}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>牛久、日本</td> <td>11</td> <td>砂壤土</td> <td>4.3</td> <td>5.6</td> <td>2 相当</td> <td>21.571</td> <td>502</td> </tr> <tr> <td>上川、日本</td> <td>19</td> <td>壤土</td> <td>2.1</td> <td>4.9</td> <td>4 相当</td> <td>21.613</td> <td>1029</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$	牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502	上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																															
土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$																																																
牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502																																																
上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																																																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>粘土含量 (%)</th> <th>土性</th> <th>OC%</th> <th>pH (CaCl<sub>2</sub>)</th> <th>OECD 型</th> <th><math>K_F^{ads}</math></th> <th><math>K_F^{ads}_{oc}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>牛久、日本</td> <td>11</td> <td>砂壤土</td> <td>4.3</td> <td>5.6</td> <td>2 相当</td> <td>21.571</td> <td>502</td> </tr> <tr> <td>上川、日本</td> <td>19</td> <td>壤土</td> <td>2.1</td> <td>4.9</td> <td>4 相当</td> <td>21.613</td> <td>1029</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$	牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502	上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																															
土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$																																																
牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502																																																
上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																																																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>粘土含量 (%)</th> <th>土性</th> <th>OC%</th> <th>pH (CaCl<sub>2</sub>)</th> <th>OECD 型</th> <th><math>K_F^{ads}</math></th> <th><math>K_F^{ads}_{oc}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>牛久、日本</td> <td>11</td> <td>砂壤土</td> <td>4.3</td> <td>5.6</td> <td>2 相当</td> <td>21.571</td> <td>502</td> </tr> <tr> <td>上川、日本</td> <td>19</td> <td>壤土</td> <td>2.1</td> <td>4.9</td> <td>4 相当</td> <td>21.613</td> <td>1029</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$	牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502	上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																															
土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$																																																
牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502																																																
上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																																																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>粘土含量 (%)</th> <th>土性</th> <th>OC%</th> <th>pH (CaCl<sub>2</sub>)</th> <th>OECD 型</th> <th><math>K_F^{ads}</math></th> <th><math>K_F^{ads}_{oc}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>牛久、日本</td> <td>11</td> <td>砂壤土</td> <td>4.3</td> <td>5.6</td> <td>2 相当</td> <td>21.571</td> <td>502</td> </tr> <tr> <td>上川、日本</td> <td>19</td> <td>壤土</td> <td>2.1</td> <td>4.9</td> <td>4 相当</td> <td>21.613</td> <td>1029</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$	牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502	上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																															
土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$																																																
牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502																																																
上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																																																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>粘土含量 (%)</th> <th>土性</th> <th>OC%</th> <th>pH (CaCl<sub>2</sub>)</th> <th>OECD 型</th> <th><math>K_F^{ads}</math></th> <th><math>K_F^{ads}_{oc}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>牛久、日本</td> <td>11</td> <td>砂壤土</td> <td>4.3</td> <td>5.6</td> <td>2 相当</td> <td>21.571</td> <td>502</td> </tr> <tr> <td>上川、日本</td> <td>19</td> <td>壤土</td> <td>2.1</td> <td>4.9</td> <td>4 相当</td> <td>21.613</td> <td>1029</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$	牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502	上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																															
土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl <sub>2</sub> )	OECD 型	$K_F^{ads}$	$K_F^{ads}_{oc}$																																																
牛久、日本	11	砂壤土	4.3	5.6	2 相当	21.571	502																																																
上川、日本	19	壤土	2.1	4.9	4 相当	21.613	1029																																																
12	土壌吸着-2	畑地土壌 2 種	供試化合物： <sup>14</sup> C インダジフラム 標識位置 [I-3- <sup>13</sup> C / <sup>14</sup> C]	<b>安定性(物質収支)</b> 上清中濃度はいずれの土壌でも振とう 24 時間後には平衡に達した。また、被験物質の 48 時間後における安定性はいずれの土壌においても比較的良好であり、処理量の約 100%以上が回収された。  <b>吸着係数</b> 各土壌における吸着係数( $K_F^{ads}$ 及び $K_F^{ads}_{oc}$ )を下表に示す。インダジフラムの吸着係数 $K_F^{ads}$ はいずれの土壌でも約 22、 $K_F^{ads}_{oc}$ は牛久で 502、上川で 1029 であった。	(2009)	運命-65																																																	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
参考 1						運命 -68
参考 2						運命 -70

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称	化学名	構造式
	親化合物	インダジフラム	<i>N</i> -[(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-2,3-ジヒドロ-2,6-ジメチル-1 <i>H</i> -インデン-1-イル]-6-[(1 <i>R</i> )-1-フルオロエチル]-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン	
[M01]				
[M02]				
[M03]				
[M04]				
[M05]				
[M06]				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。  
<代謝分解物一覧表(続き)>

記号	由来	名称	化学名	構造式
[M07]				
[M08]				
[M09]				
[M10]				
[M11]				
[M12]				