

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

農 薬 抄 録

一般名：メピコートクロリド

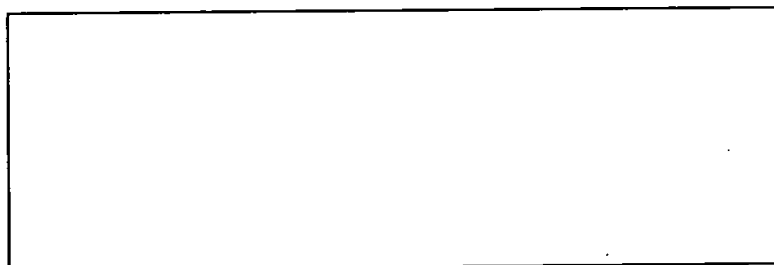
(植物成長調整剤)

作成年月日：

平成26年11月21日改訂

作成会社名 ： BASF ジャパン株式会社

作成責任者名・所属 ： BASF ジャパン株式会社



目 次

	頁
I. 開発の経緯	1
II. 物理的・化学的性状	3
III. 生物活性	16
IV. 適用及び使用上の注意事項	18
V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係	20
作物残留	20
土壌残留	23
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	26
1. 水産動植物に対する影響	26
2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響	32
VII. 使用時安全上の注意、解毒法等	34
VIII. 毒性	毒 1
毒性試験一覧表	毒 1
1. 原体	
(1) 急性毒性	毒 7
(2) 皮膚及び眼に対する刺激性	毒 13
(3) 皮膚感作性	毒 18
(4) 急性神経毒性	毒 20
(5) 急性遅発性神経毒性	毒 25
(6) 亜急性経口投与毒性	毒 26
(7) 亜急性経皮投与毒性	毒 63
(8) 亜急性吸入毒性	毒 64
(9) 亜急性神経毒性	毒 65
(10) 亜急性経口投与遅発性神経毒性	毒 69
(11) 慢性毒性及び発がん性	毒 70
(12) 発達神経毒性	毒 141
(13) 繁殖毒性、催奇形性および新生児毒性	毒 153
(14) 遺伝毒性	毒 200
(15) 生体機能に関する試験：一般薬理試験	毒 218
(16) 毒性作用機作	毒 222
2. 代謝物	毒 226
3. 製剤	毒 230

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

Mepiquat-Chloride

IX. 動植物における代謝及び土壌等における動態	代 1
代謝及び環境動態試験一覧表	代 1
代謝物一覧表	代 4
1. 動物代謝に関する試験	代 5
2. 植物代謝に関する試験	代 16
3. 土壌中動態に関する試験	代 23
4. 水中動態に関する試験	代 40
4.1 加水分解動態試験	代 40
4.2 水中光分解動態試験	代 42
5. 土壌吸脱着性試験	代 52
代謝及び環境動態のまとめ	代 55
動物、水中、土壌推定代謝経路図	代 57
代謝分解動態の概要	代 58

[附] メピコートクロリド(一般名)の開発年表

I. 開発の経緯

メピコートクロリドは 新規化合物として BASF 社（ドイツ）で合成され、植物成長調整剤としての活性を有することが確認された。

メピコートクロリドの主たる使用場面は、棉の棉花増収を目的とした植物成長調整剤およびぶどうの着粒増加を目的とした植物成長調整剤であり、アメリカ合衆国他で既に登録されている。

メピコートクロリドは我が国においても植物成長調整剤として 、 にぶどう、特に“巨峰”品種に対して着粒増加（花振り防止）を目的に延べ5ヵ所の県農業試験場で検討され、それぞれの試験において当該目的のための植物成長調整剤として実用性のある効果が確認された。

この結果、「フラスター液剤」の農薬名で BASF ジャパン株式会社及び日本曹達株式会社により植物成長調整剤として農薬登録申請され、保留基準が「果実：2ppm」と設定（

）され、 で農薬登録を取得した。また、メピコートクロリドの毒性上の知見については、 発行の「日本農薬学会誌（第17巻、第3号）」に公表している。

メピコートクロリドの安全性については、JMPRで評価されていない。

ADIについては、アメリカ合衆国の環境保護庁(EPA)の の評価において、イヌの1年間反復経口投与毒性試験の無毒性量 1800ppm(58.4mg/kg/日)および安全係数 1/100 より 0.6mg/kg/日に設定されている。 再評価を実施中である。EUにおいては にイヌの1年間反復経口投与毒性試験の無毒性量 19.9mg/kg/日および安全係数 1/100 より 0.2mg/kg/日と設定されている。

ARfDについては、EPAの の評価において、イヌの90日間反復経口投与毒性試験および1年間反復経口投与毒性試験の総合的な無毒性量 1800ppm(58.4 mg/kg/日)および安全係数 1/100 より 0.6mg/kg/日に設定されている。 、再評価を実施中である。EUにおいては

に、ラット発達神経毒性試験の無毒性量 30 mg/kg/日および安全係数 1/100 より 0.3mg/kg/日と設定されている。

諸外国における登録状況

メピコートクロリドは、諸外国においては にコロンビアで棉用の成長調整剤として登録され、現在日本を含め以下の国々で登録されている。

国名	適用作物
アメリカ合衆国	綿実、ぶどう
アルゼンチン パラグアイ ベネズエラ エジプト	綿実、にんにく、たまねぎ
インドネシア	綿実、にんにく、エシャロット、ばれいしょ
オーストリア	綿実、大麦、小麦、ライ麦、なたね
オーストラリア、ブラジル、コロンビア、 エチオピア、コートジボワール、メキシコ、 南アフリカ、カメルーン、エルサルバドル、 ギリシャ、イスラエル、ガンビア、ギニア、 マリ、モーリタニア、モザンビーク、 ニジェール、セネガル、ザンビア、ジンバブエ、 ブルキナファソ、カーボベルデ、チャド	綿実
カザフスタン	綿実、なたね
スペイン	綿実、ぶどう、にんにく、たまねぎ、メロン
トルコ	綿実、たまねぎ、らっかせい
デンマーク	綿実、大麦、ライ麦、穀物類、オイルシード
ペルー	綿実、じゃがいも、トマト、豆類(乾燥)、オレンジ
アイルランド オランダ スウェーデン	大麦、小麦、ライ麦
イギリス ドイツ	大麦、小麦、ライ麦、オーツ麦、なたね
ウクライナ	穀物類、なたね
エストニア	大麦、小麦、ライ麦、オイルシード
スイス チェコ共和国 スロバキア ブルガリア	大麦、小麦、ライ麦、なたね
チリ	小麦、オーツ麦、なたね
ニュージーランド	大麦、穀物
ハンガリー	大麦、小麦、なたね
フィンランド	大麦、小麦、ライ麦、あまに
フランス	大麦、小麦、ライ麦、オーツ麦、あまに、ひまわり 種子、アブラナ科野菜、なたね
ベラルーシ	大麦、小麦、あまに、なたね
ベルギー、ルクセンブルグ	大麦、小麦、ライ麦、オーツ麦、なたね
ポーランド	小麦、なたね
ラトビア	大麦、小麦、ライ麦、オイルシード
リトアニア	大麦、小麦、ライ麦、穀物類、オイルシード
ルーマニア	なたね

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

Mepiquat-Chloride

II. 物理的・化学的性状

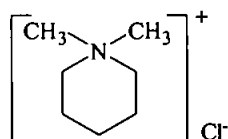
1. 有効成分の名称及び化学構造

(1) 有効成分の一般名 : メピコートクロリド (mepiquat chloride) (ISO 名)

別名 :

(3) 化学名 (IUPAC 名) : (英) 1,1-dimethylpiperidinium chloride
(和) 1,1-ジメチルピペリジニウム=クロリド

(4) 構造式 :



(5) 分子式 : $C_7H_{16}ClN$

(6) 分子量 : 149.7

(7) CAS 番号 : 24307-26-4

2. 有効成分の物理的・化学的性状

試験項目	試験結果		試験法	試験機関/GLP	資料番号	
色調	白色		官能法	() /GLP	1	
形状	結晶固体				2	
臭気	無臭				3	
密度	1.166 g/cm ³ (室温)		OECD 指針 109 比重瓶法	() /GLP	4	
融点	>300°C		OECD 指針 102 毛細管法、DCS 法及び TGA 法	() /GLP	5	
沸点	測定不能 (>300°C)		OECD 指針 102 毛細管法	省略理由書提出	6	
蒸気圧	<10 ⁻⁸ Pa (20°C及び25°C)		OECD 指針 104 熱重量法	() /GLP	7	
解離定数 (pka)	完全に解離		電気伝導法	()	8	
水溶解度	>500g/L (20°C)		フラスコ法	()	9	
有機溶媒溶解度 [g/L] (20°C)	n-ヘプタン	<0.01	OECD 指針 105 フラスコ法	() /GLP	10	
	トルエン	<0.01				
	ジクロロメタン	0.51				
	メノール	344				
	n-オクタノール	9.96				
	アセトン	0.02				
	酢酸エチル	<0.01				
アセトニトリル	2.78					
オクタノール/水分配係数 (Log Pow)	-3.45 (脱イオン水、20°C) -3.20 (pH4、20°C) -3.55 (pH7、20°C) -3.14 (pH10、20°C)		OECD 指針 107 フラスコ振とう法	() /GLP	11	
生物濃縮性	試験除外 (LogPow が<3.5 であるため)			() /GLP	—	
土壌吸着係数	K _F ^{ads} (25°C) : 1.69~47.79 K _F ^{ads oc} (25°C) : 67~4686		OECD 指針 106	()	12	
加水分解性*	t _{1/2} >30 日 (pH3、25°C) t _{1/2} >30 日 (pH5、25°C) t _{1/2} >30 日 (pH7、25°C) t _{1/2} >30 日 (pH9、25°C)		USEPA N161-1	() /GLP	13 (代謝・動態 No. W1)	
水中光分解性*	蒸留水 (滅菌)	t _{1/2} >5 日** (照射)	キセノンランプ 605W/m ² (300~800nm) (25°C)	() /GLP	14 (代謝・動態 No. W4)	
	自然水 (滅菌)	t _{1/2} >5 日 (暗所)				
安定性	対熱	320°Cで分解		OECD 指針 113 DSC-TGA 法	() /GLP	15
	その他					
スペクトル	UV		OECD 指針 101	() /GLP	16	
	MS、NMR、IR					

* 動態試験

** 東京春季太陽光換算で 30.6 日に相当

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

Mepiquat-Chloride

各スペクトルの測定条件及び図を記載する。

(物化性 16)

図 1 ; UV スペクトラム

図 2 ; $^1\text{H-NMR}$ スペクトラム

ピーク	水素数	水素番号	線種

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

Mepiquat-Chloride

図 3 ; ^{13}C -NMR スペクトラム

ピーク	炭素数	水素番号	結合定数 ($^1J_{\text{C-H}}$)

図 4 ; IR スペクトラム

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

Mepiquat-Chloride

図 5 ; MS スペクトラム

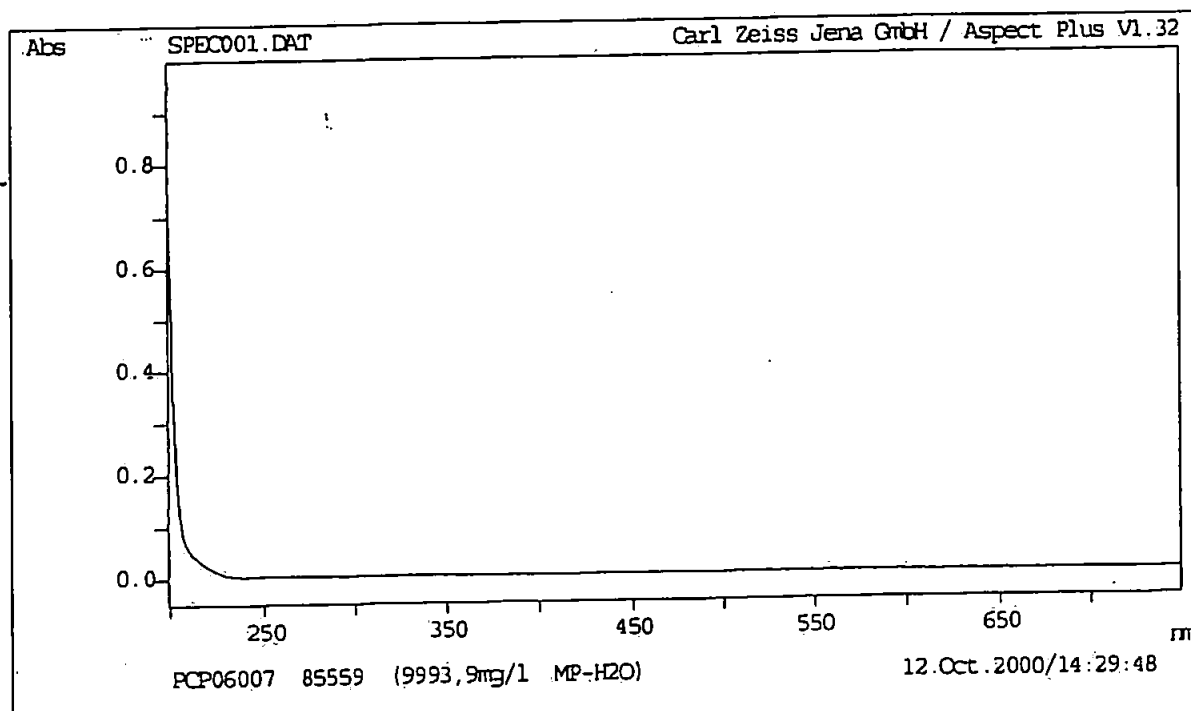


図 1-1 各 pH 条件下での UV スペクトラム (pH 5.9)

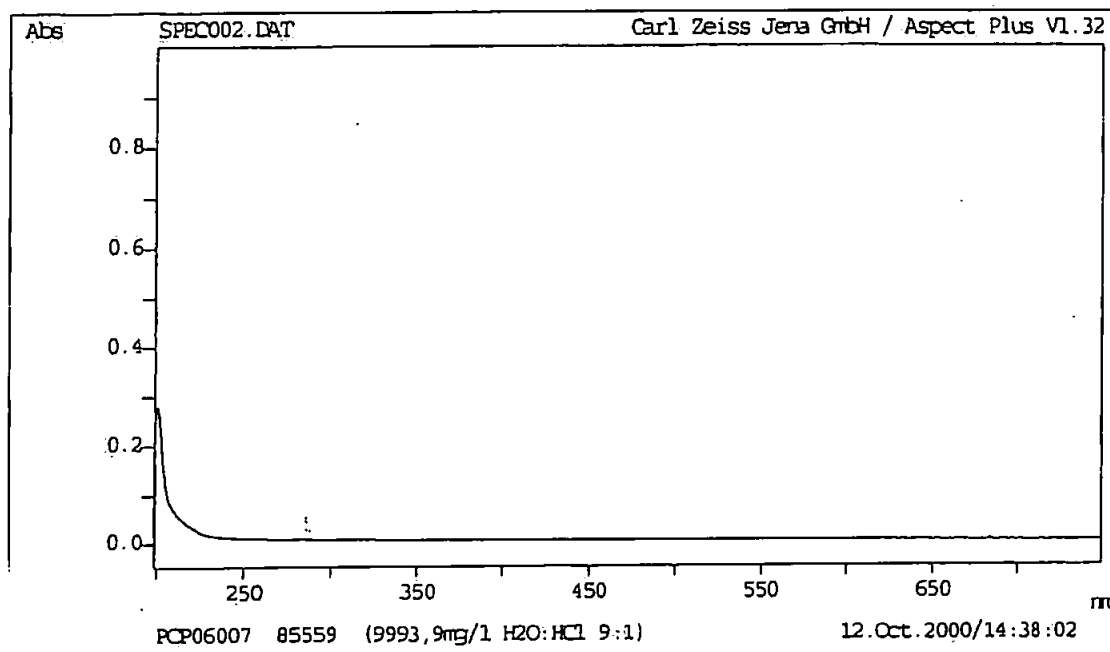


図 1-2 各 pH 条件下での UV スペクトラム (pH 1.0)

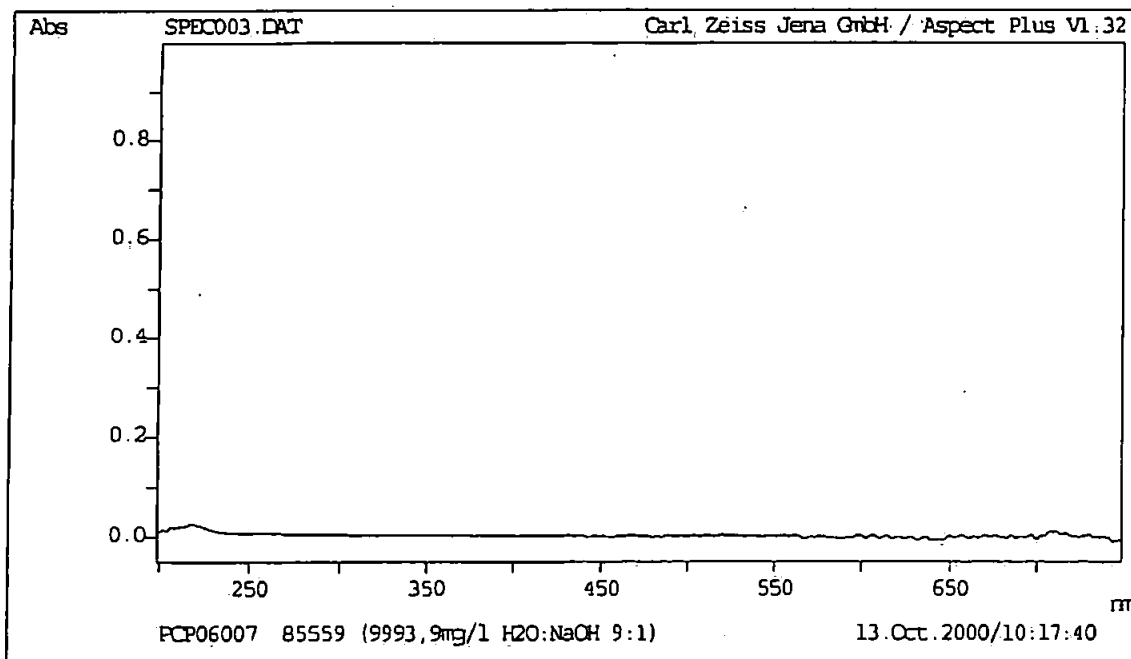


図 1-3 各 pH 条件下での UV スペクトラム (pH 13.0)

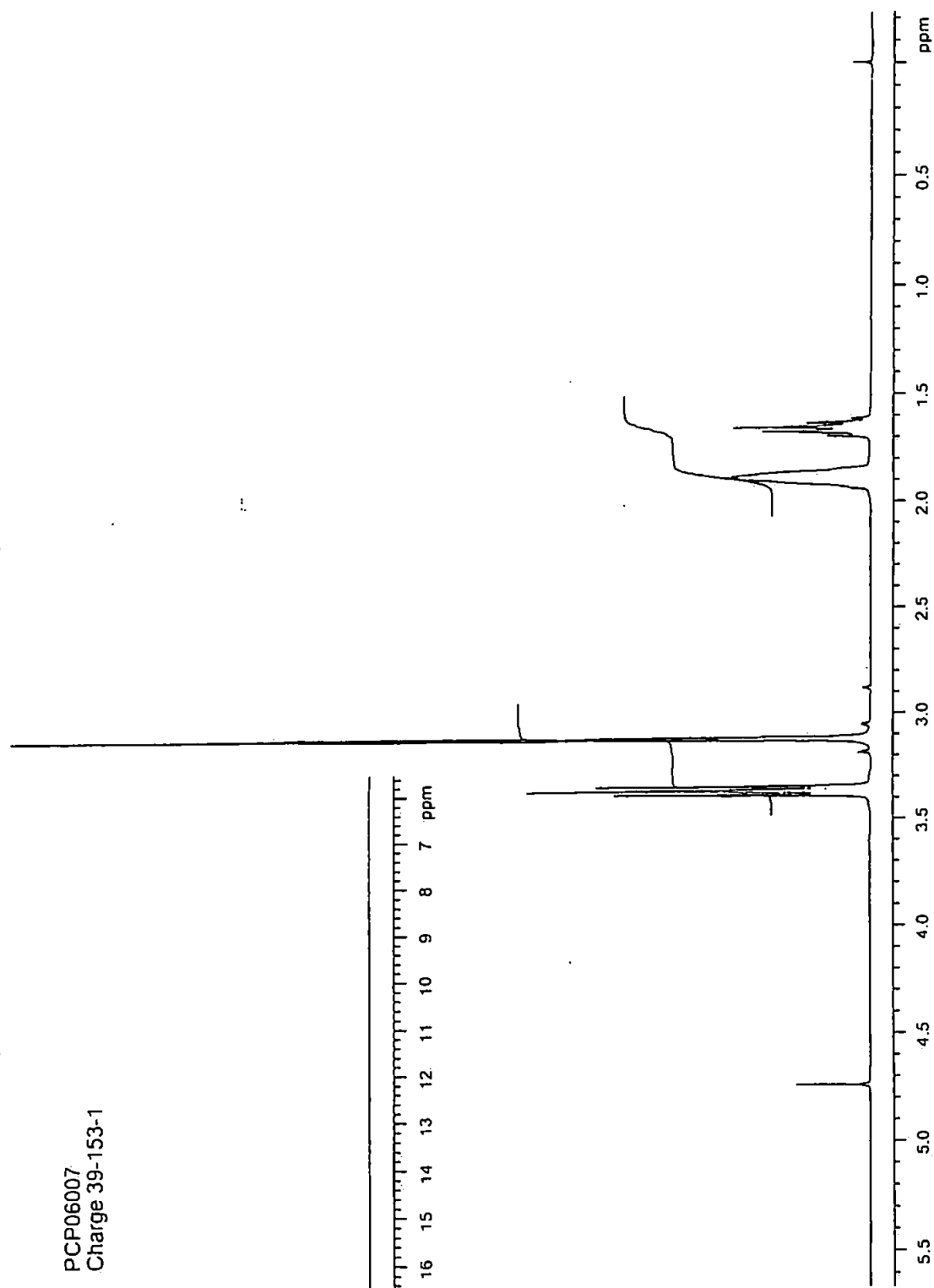
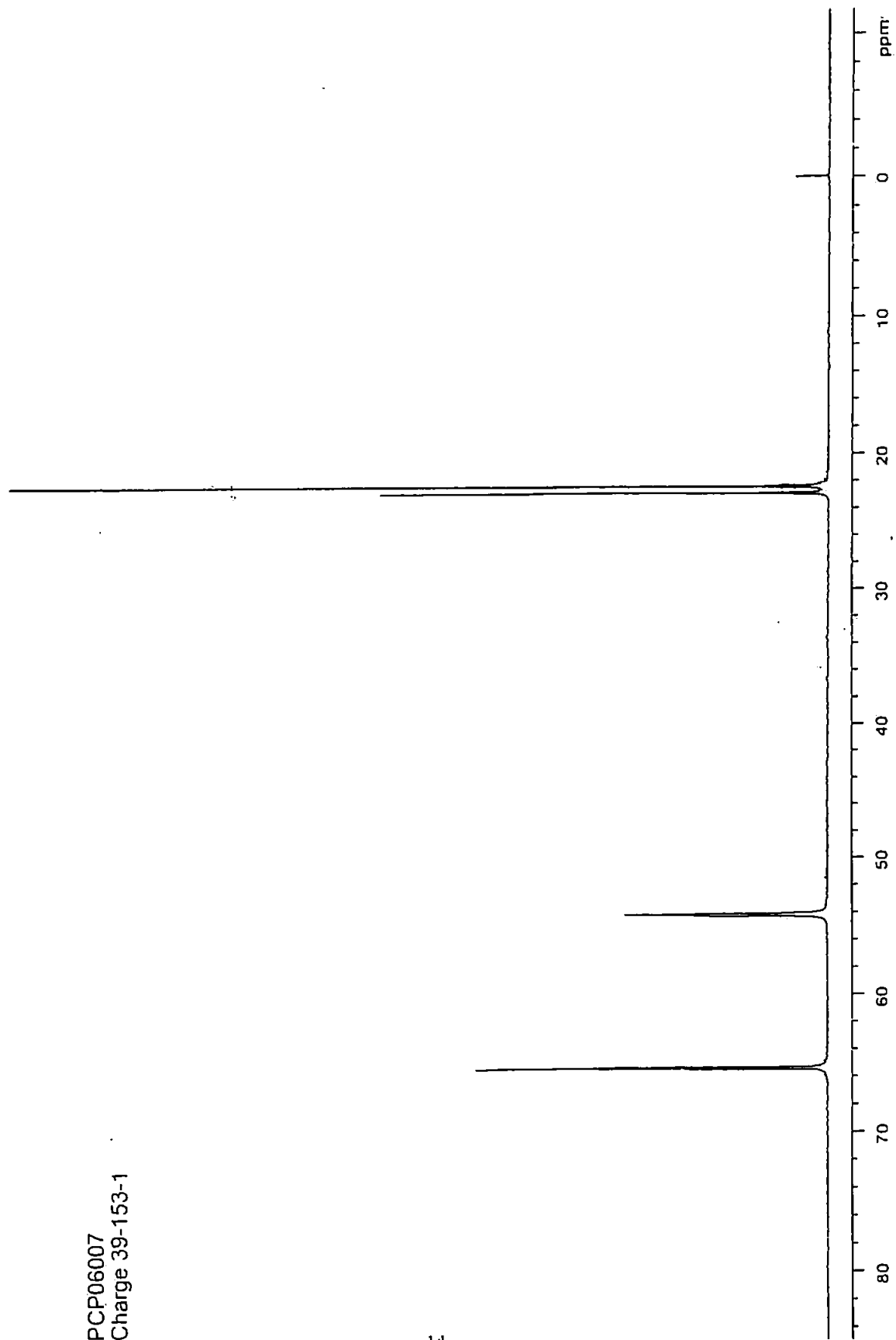


図2 $^1\text{H-NMR}$ スペクトラム



PCP06007
Charge 39-153-1

図 3 ¹³C-NMR スペクトラム

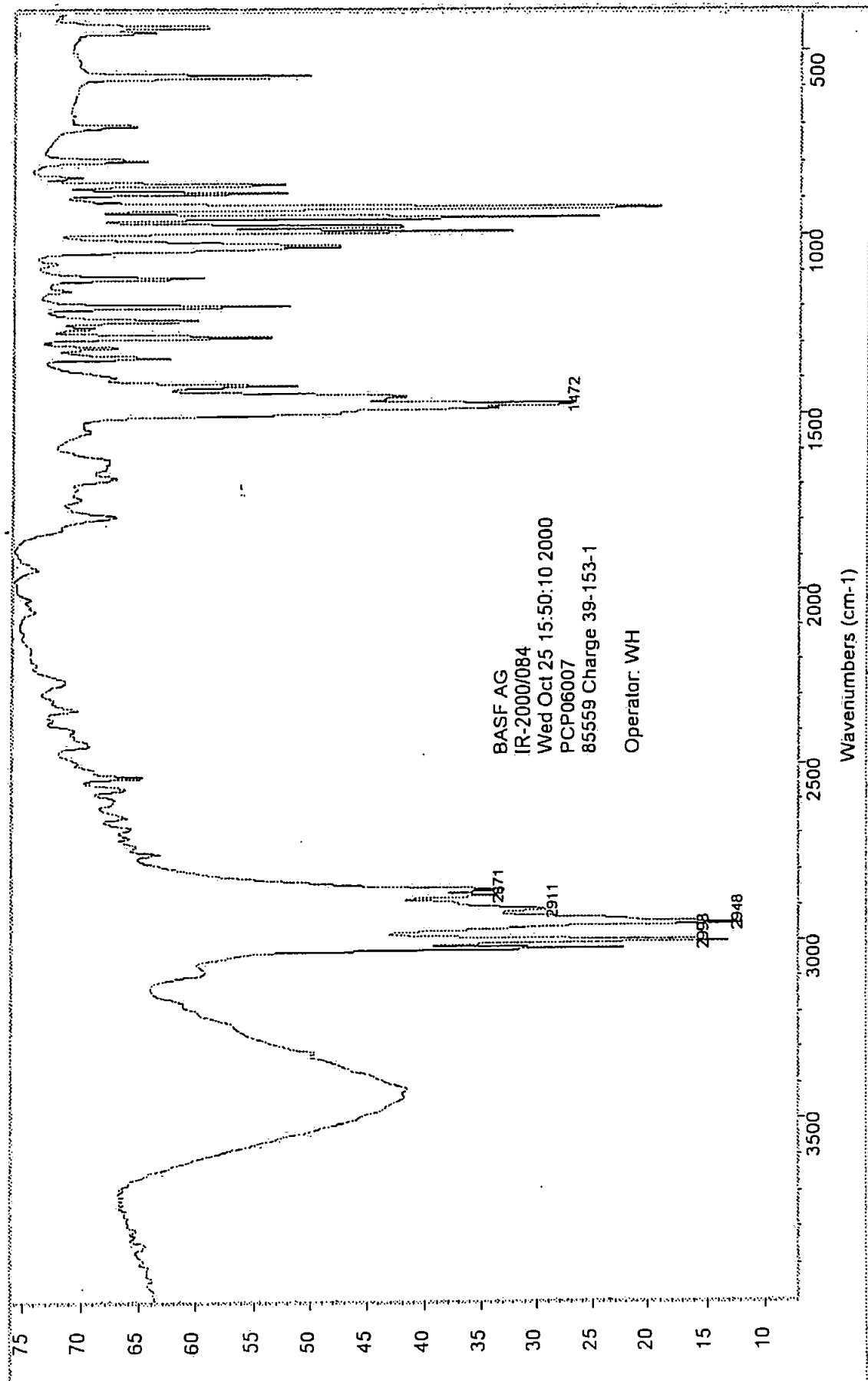


図 4 IR スペクトラム

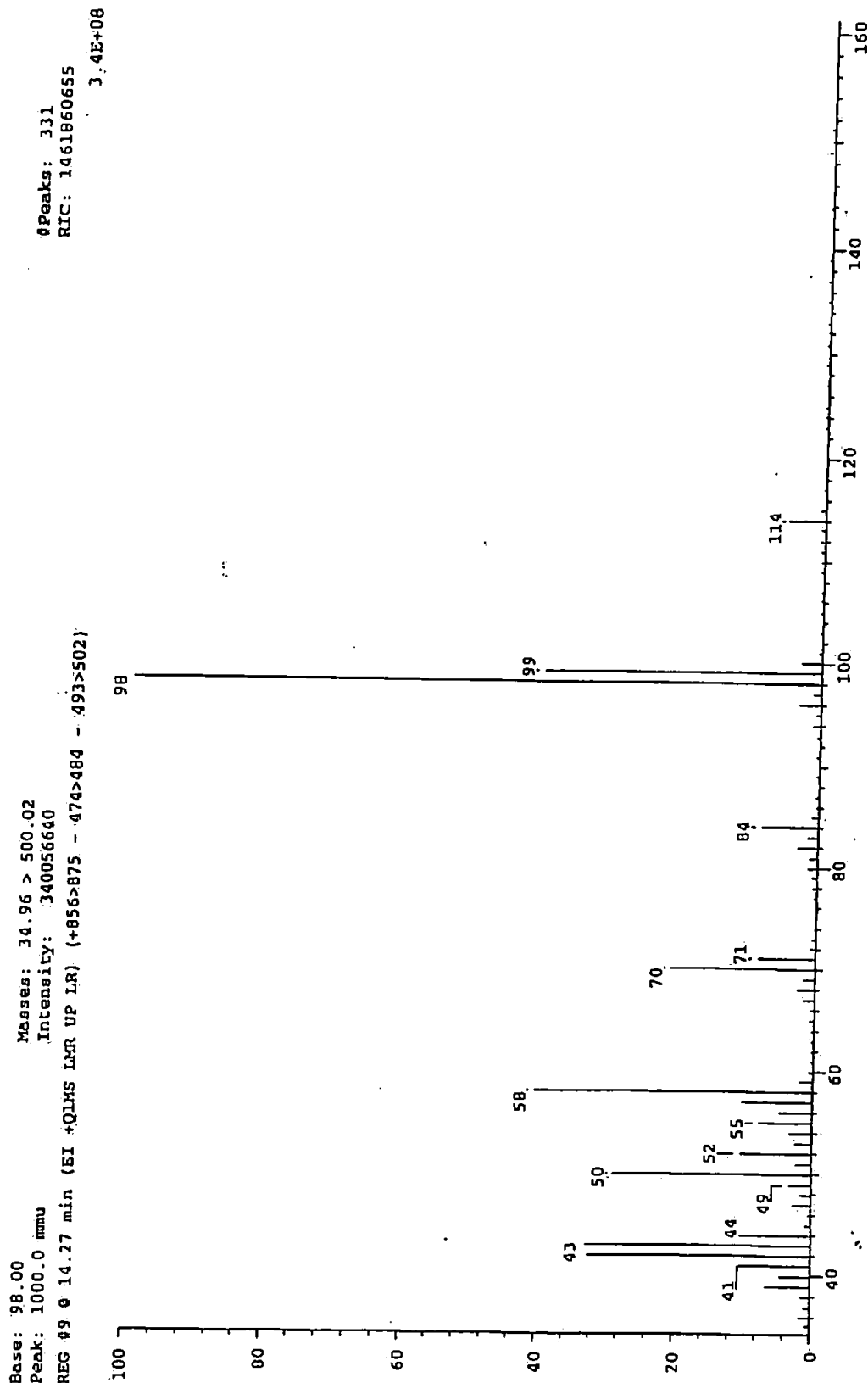


図 5 MS スペクトラム

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

Mepiquat-Chloride

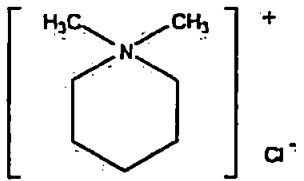
3. 原体の成分組成

区 分	名 称		構造式	分子式	分子量	含 有 量 (%) w/w	
	一般名	化学名				規格値	通常値
有効成分	メピコートクロリド						
原体中 混在物							

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

Mepiquat-Chloride

3. 原体の成分組成(つづき)

一般名	化学名	構造式	分子式	分子量
メピコート クロリド	1,1-ジメチルピペリジニウム=ク ロリド		C ₇ H ₁₆ ClN	149.7

4. 製剤の組成

44.0%液剤(フラスター液剤)

メピコートクロリド; 44.0%
水等; 56.0%

Ⅲ. 生物活性

1. 活性の範囲

本剤は観賞植物であるデージー、ハイビスカス、ブーゲンビリア、ペゴニア等の生育抑制や棉の節間伸長の抑制、成熟の促進、またコンコルド、トンプソン、巨峰等のぶどうに対して着粒増加作用を示す。特に花振り（落花）を起こしやすい巨峰に有用である。

2. 作用機構

本剤の生化学的機構については、現在までに解明されている点は次のとおりである。

- 1) 茎葉散布された本剤は速やかに茎葉部分より植物に吸収される。
- 2) 本剤は植物生長ホルモンであるジベレリンの体内レベルを低下させることにより作用を発揮する。
- 3) 細胞伸長を抑制し、その結果節間伸長の抑制を生じる。
- 4) 木本類では新梢伸長に養分が過度に分配されると落花がおこるが、本剤で新梢の伸長を抑制すると花器への養分分配が向上する。この作用を利用して、ブドウの花振り（落花）防止に利用する。
- 5) 節間伸長が抑制された場合でも植物体に生育阻害や奇形を生じさせることは無い。
- 6) Scott 氏ら (American Chemical Society) は、本剤がジベレリン生合成過程の初期の段階にあるゲラニルゲラニルニリン酸からエント-カウレンへの生合成を抑え、その結果ジベレリンの生合成を阻害すると推定している。

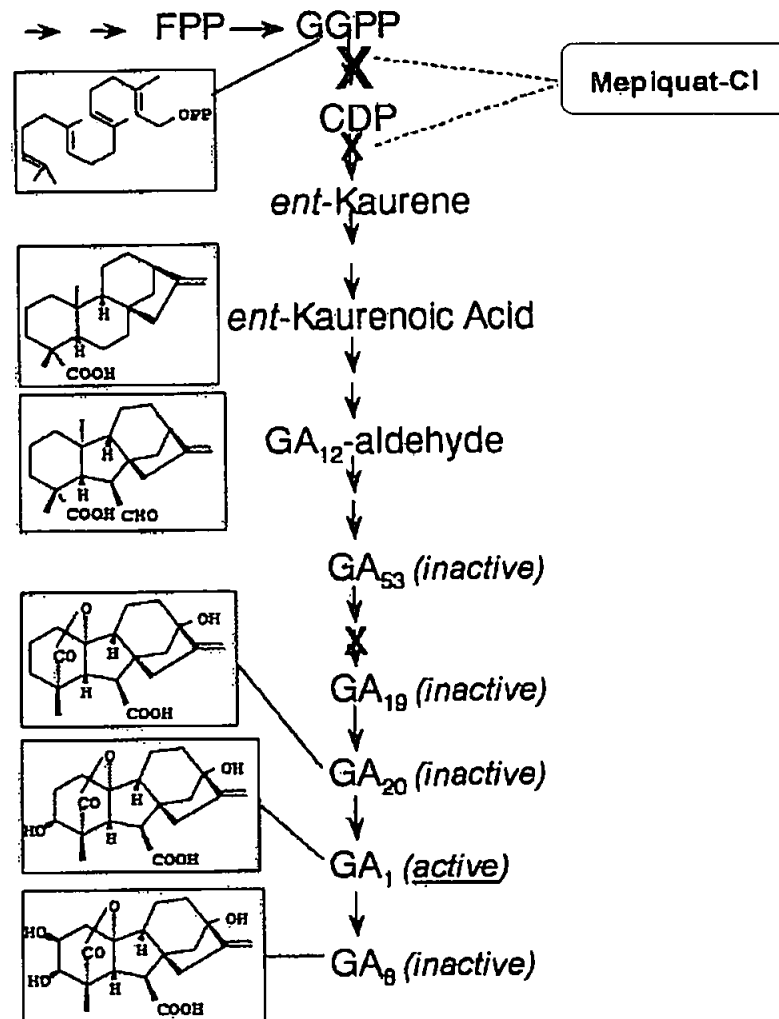
また、Rademacher 氏は (Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 51, 501-31,)、ゲラニルゲラニルニリン酸からエント-カウレンへの生合成過程において、主にゲラニルゲラニルニリン酸 (GGPR) からコパリルニリン酸 (CDP) の酵素反応を阻害することを報告している。(図を参照)

3. 作用特性

巨峰は花振り（落花）を生じやすく、特に天候不順によりその発生が著しい品種である。本剤を巨峰に茎葉処理することにより新梢を抑制し、有核果を増加することが確認されている（

、 日植調落葉果樹試験成績集）。巨峰では花振りによる収量や商品価値の低下が問題となっている。本剤は有核果を必要とする巨峰の花振り防止および着粒数・有核果の増加に極めて有用である。一方、果粒重、糖度、酸度、着色等の果実品質には悪影響を及ぼさない。また、樹体に対する影響や、翌年の生育への悪影響もない。

Simplified scheme of biosynthetic steps involved in GA biosynthesis and points of inhibition by Mepiquat-chloride and Chlomequat-chloride (X,x = major and minor activity, respectively)



FPP = Farnesyl diphosphate
 GGPP = Geranylgeranyl diphosphate
 CDP = Copalyl diphosphate

IV. 適用及び使用上の注意事項

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

メピコートクロリド 44.0% 液剤 (フラスター液剤)

作物名	使用目的	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	メピコートクロリドを含む農薬の総使用回数
ぶどう (巨峰(露地栽培))	着粒増加 新梢伸長抑制	1000 倍	300L/10a	新梢展開葉 7~11 枚時 (開花始期まで)	2 回以内	散布	2 回以内
ぶどう (巨峰(施設栽培))		500~800 倍	100~150 L/10a				
ぶどう (巨峰系 4 倍体品種) [巨峰、ピオーネを除く]							
ぶどう (2 倍体米国系品種)							
ぶどう (3 倍体品種)							
ぶどう (2 倍体欧州系品種) [シャインマスカットを除く]							
ぶどう (ピオーネ)		500~800 倍	150L/10a				
新梢伸長抑制	500 倍						
ぶどう (シャインマスカット)	着粒増加 新梢伸長抑制	1000~2000 倍	100~150 L/10a	新梢展開葉 7~11 枚時 (開花始期まで)	1 回	散布	1 回
	新梢伸長抑制	500 倍	150L/10a	満開 10~40 日後			
ぶどう (テラウエ(施設栽培))	新梢伸長抑制	800~1000 倍	100~150 L/10a	新梢展開葉 7~11 枚時 (開花始期まで)	1 回	散布	1 回
ぶどう (テラウエ(露地栽培))		1500~2000 倍	200~250 L/10a				

2. 使用上の注意事項

- (1) ぶどうに関する作物名中の品種による区分は、メピコートクロリドに対するぶどうの反応性の違いを考慮した区分なので、ぶどうの品種がどの区分（品種群）に該当するか病虫害防除所等関係機関に確認してから使用すること。
- (2) 下記(3)の「ぶどうの品種による区分」に記載のない品種に対して本剤を初めて使用する場合は、病虫害防除所等関係機関の指導を受けるか、自ら事前に薬効及び薬害を確認した上で使用すること。
- (3) ぶどうの品種による区分
 - ア) 2倍体米国系品種[デラウェアを除く]
ノースレッド、ナイアガラ、スチューベン、キャンベル・アーリー、マスカットベリーA
 - イ) 2倍体欧州系品種[シャインマスカットを除く]
甲斐路、甲斐乙女、ロザリオピアンコ、瀬戸ジャイアンツ、黄華、赤嶺
 - ウ) 3倍体品種
甲斐美嶺、サマーブラック、キングデラ、ナガノパープル
 - エ) 巨峰系4倍体品種[巨峰、ピオーネを除く]
安芸クイーン、オリンピア、ブラックオリンピア、伊豆錦、高妻、紅伊豆、藤稔、ゴルビー
- (4) 本剤を誤って所定の散布濃度より高い濃度で使用すると薬害をまねくおそれがあるので、所定の散布濃度を厳守すること。
- (5) 本剤をぶどう「巨峰[露地栽培]」に対して散布濃度を1000倍、散布液量を10アール当たり300Lとして散布する場合には、スピードスプレーヤーを用いて散布すること。
- (6) 本剤をぶどう「デラウェア[露地栽培]」に対して散布濃度を1500倍～2000倍、散布液量を10アール当たり200L～250Lとして散布する場合には、スピードスプレーヤーを用いて散布すること。
- (7) 2倍体欧州系品種の中で「甲斐路」、「ロザリオピアンコ」、「赤嶺」は葉に黄化等の薬害を生じた事例があるので、散布濃度を1000倍で使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けること。
- (8) 2倍体欧州系品種では樹勢が弱い場合に所定の高濃度で使用すると過度に新梢伸長が抑制されたり、過着粒になりやすいので注意すること。一方、樹勢が強い場合には所定の低濃度で使用すると新梢伸長抑制効果が劣る場合があるので注意すること。

3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

この登録に係る使用方法では該当がない。

V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

1. 作物残留

(1) 分析法の原理と操作概要

原理

メピコートクロリドを、

ガスクロマトグラフィーで定量する。

操作概要

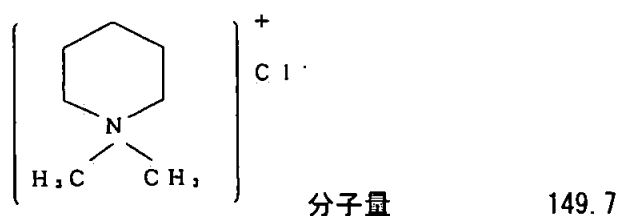
ガスクロマト
グラフィー (NPD もしくは FTD、窒素・リン検出器付) で定量する (GC 法)。

液体クロマトグラフ・質量分析計を
用いて定量する (LC/MS 法)。

(2) 分析対象の化合物

親化合物 (メピコートクロリド)

1,1-ジメチルピペリジニウム=クロリド



メピコートクロリドのぶどうにおける代謝研究の結果、親化合物そのものが残留主体であったので、親化合物を標的化合物として残留分析を実施した。

(3) 残留試験結果

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数又は 使用量/使用方法	試料 調製場所	使用 回数	経過 日数	メピコートクロリド：分析結果 (ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					最高値	平均値	最高値	平均値
大粒ぶどう (巨峰) (露地) (果実)	液剤(44.0%) 500倍希釈 250L/10a 散布	秋田果試 天王分場	0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05
			1	141	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05
	液剤(44.0%) 500倍希釈 100L/10a 散布	長野果試	0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05
			1	116	0.10	0.09	<0.05	<0.05
大粒ぶどう (巨峰) (施設) (果実)	液剤(44.0%) 500倍希釈 150L/10a 散布	長野中信 農試	0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05
			1	100	0.16	0.14	0.51	0.50
		島根農試	0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05
			1	111	0.08	0.07	0.14	0.12
大粒ぶどう (ピオーネ) (施設) (果実)	液剤(44.0%) 500倍希釈 100L/10a 散布	広島県立 農技センター 果樹研究所	0	—	<0.1	<0.1	<0.03	<0.03
			1	66	0.2	0.2	0.16	0.16
			1	73	0.3	0.2	0.40	0.38
			1	80	0.2	0.2	0.45	0.42
			2	66	0.5	0.5	0.45	0.45
			2	73	0.5	0.5	0.52	0.52
		福岡県 農総試 園芸研究所	0	—	<0.1	<0.1	<0.03	<0.03
			1	75	0.4	0.4	0.40	0.38
大粒ぶどう (ピオーネ) (施設) (果実)	液剤(44.0%) 500倍希釈 100L/10a 散布	福岡県 農総試 園芸研究所	1	82	0.2	0.2	0.36	0.36
			1	89	0.3	0.2	0.38	0.36
			2	75	0.4	0.4	0.89	0.87
			2	82	0.4	0.4	0.59	0.55
			2	89	0.3	0.2	0.85	0.82
			2	89	0.3	0.2	0.85	0.82
大粒ぶどう* (施設) (果実) 【GLP】	液剤(44.0%) 500倍希釈 150L/10a 散布	秋田果試	0	—	<0.01	<0.01	/	
			2	21	1.44	1.42		
			2	28	0.96	0.96		
			2	42	1.05	1.04		
			2	56	0.83	0.82		
		日植調 岡山	0	—	<0.01	<0.01		
			2	21	0.11	0.11		
			2	28	0.13	0.13		
			2	41	0.50	0.49		
			2	55	0.64	0.64		
大粒ぶどう* (施設) (果実) 【GLP】	液剤(44.0%) 500倍希釈 150L/10a 散布	秋田果試	0	—	<0.01	<0.01		
			1	21	1.21	1.20		
			1	28	1.04	1.04		
			1	42	2.05	2.00		
			1	56	1.91	1.90		
		日植調 岡山	0	—	<0.01	<0.01		
			1	21	0.47	0.46		
			1	28	0.52	0.51		
			1	41	0.23	0.23		
			1	55	0.27	0.26		

* 03.27 付申請

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

Mepiquat-Chloride

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数又は 使用量/使用方法	試料 調製場所	使用 回数	経過 日数	メピコートクロリド：分析結果(ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					最高値	平均値	最高値	平均値
小粒ぶどう (テラウェア) (施設) (果実)	液剤(44.0%) 500倍希釈 150L/10a 散布	秋田果試 天王分場	0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05
			1	104	0.19	0.18	<0.05	<0.05
		島根農試	0	—	<0.04	<0.04	<0.05	<0.05
			1	89	0.40	0.39	0.20	0.20
—								
小粒ぶどう (施設) (果実) 【GLP】	液剤(44.0%) 800倍希釈 150L/10a 散布	油日 アグリサーチ	0	—	<0.01	<0.01	/	
			1	63	0.18	0.18		
			1	77	0.15	0.15		
			1	91	0.08	0.08		
		島根 農技センター	0	—	<0.01	<0.01		
			1	63	0.88	0.84		
			1	77	0.54	0.53		
			1	91	0.16	0.16		

2. 土壌残留

(1) 分析法の原理と操作概要

原 理

メピコートクロリドを、

ガスクロマトグラフで定量する。

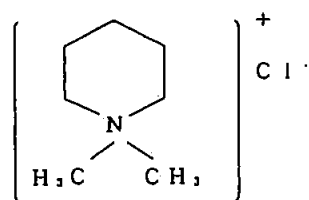
操作概要

ガスクロマトグラフで定量する。

(2) 分析対象の化合物

親化合物 (メピコートクロリド)

1,1-ジメチルピペリジニウム=クロリド



分子量

149.7

メピコートクロリドの土壌における代謝研究の結果、親化合物そのものが残留主体であったので、親化合物を標的化合物として残留分析を実施した。

(3) 残留試験結果

① 圃場試験

推定半減期： [沖積・砂土] 約 17 日
 [火山灰・埴土] 約 18 日

分析機関：

試料調製及び 採取場所 [土壌種] 年度	供試薬剤の処理方 法		経過 日数	分析値 (ppm)		
				メピコートクロリド		
	濃度	回数		最高値	回数	平均値
秋田県果樹試験場 天王分場 [沖積・砂土]	液剤 (44.0%) 500倍希釈 150L/10a	0	-	<0.05	2	<0.05
		1	0	0.62	2	0.61
		1	3	0.48	2	0.48
		1	7	0.50	2	0.48
		1	14	0.42	2	0.41
		1	30	0.07	2	0.06
		1	60	<0.05	2	<0.05
		1	90	<0.05	2	<0.05
長野県中信農業 試験場 [火山灰・埴土]	液剤 (44.0%) 500倍希釈 200L/10a	0	-	<0.05	2	<0.05
		1	0	1.43	2	1.37
		1	3	0.93	2	0.92
		1	7	0.92	2	0.90
		1	14	1.15	2	1.10
		1	30	0.18	2	0.18
		1	60	<0.05	2	<0.05
		1	90	<0.05	2	<0.05

② 容器内試験

推定半減期： [沖積・砂土] 約 19 日
 [火山灰・埴土] 約 11 日

分析機関：

試料調製及び 採取場所 [土壌種] 年度	供試薬剤の処理方法		経過 日数	分析値 (ppm)		
	濃度	回数		メピコートクロリド		
				最高値	回数	平均値
秋田県果樹試験場 天王分場 [沖積・砂土]	標準品 (純度) 濃度： 1.84ppm/乾土	0	-	<0.05	2	<0.05
		1	0	1.79	2	1.72
		1	1	1.70	2	1.66
		1	3	1.69	2	1.56
		1	7	1.56	2	1.53
		1	14	1.61	2	1.60
		1	30	0.44	2	0.42
		1	60	0.15	2	0.15
		1	90	0.05	2	0.05, <0.05
		長野県中信農業 試験場 [火山灰・埴土]	使用量： 92 μg/50g 試験温度： 25℃	0	-	<0.05
1	0			1.78	2	1.72
1	1			1.41	2	1.39
1	3			1.38	2	1.30
1	7			1.58	2	1.42
1	14			0.69	2	0.68
1	30			0.39	2	0.37
1	60			0.21	2	0.20
1	90			<0.05	2	<0.05

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

原 体

No.	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1群 当りの 供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC ₅₀ 又は EC ₅₀ 値 (mg/L) ¹⁾				試験機関 (報告年)	頁
						24 h	48 h	72 h	96 h		
1 GLP	魚類急性毒性 (原体)	コイ	10	止水式	21.5	24 h	48 h	72 h	96 h	()	27
					~ 22.8	>100 ()	>100 ()	>100 ()	>100 ()		
2 GLP	ミジンコ類 急性遊泳阻害 (原体)	材 ミジンコ	20	止水式	19.5	24 h	48 h			()	28
					~ 21.0	>100 ()	68.5 ()	-	-		
3 GLP	藻類生長阻害 (原体)	緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)				ErC ₅₀ (0~72 時間) : >1000 ()				()	30
		初期濃度 4.0×10 ⁴ cells/mL	振とう 培養法	23±1	NOECr : 1000 ()						

1) 括弧内は純度換算した申請者計算値である。

製 剤

当該試験成績については、フラスター液剤 (44.0%) による水産動植物への各影響試験は実施していないが、本剤はメピコートクロリド原体を水で希釈した製剤であるので、原体を用いたデータで本剤の試験成績として読み替えることは可能であると考えられる。

原体を用いた水産動植物に対する影響試験

1) 魚類急性毒性試験

コイを用いた急性毒性試験

(資料 1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質: メピコートクロリド原体 (純度)

供試生物: コイ (学名 *Cyprinus carpio*)

一群 10 匹、

全長: 4.8~5.8 cm (平均 5.4 cm)、体重: 1.27~2.40 g (平均 1.95 g)

方法:

暴露条件: 96 時間、止水式

環境条件: 試験にはガラス製水槽 (30 × 30 × 30 cm) を用い、試験液量を 20 L とした。

照明は蛍光灯で、明暗周期は明 16 時間/暗 8 時間であった。暴露期間中の水質は、pH が 7.6~7.9、溶存酸素濃度は飽和濃度の 82~90% であった。

試験液の調製方法:

なお、対照区として希釈水のみが無処理対照区を設けた。

試験水温: 21.5~22.8°C

結果:

設定濃度 (mg/L)	100	
平均実測濃度 (mg/L) ¹⁾	100	
LC ₅₀ 値 (mg/L) ²⁾	24 時間	> 100 ()
	48 時間	> 100 ()
	72 時間	> 100 ()
	96 時間	> 100 ()
NOEC (mg/L) ²⁾	100 ()	

1) 報告書中の個別データおよび以下の計算式に基づき申請者が時間加重平均を算出した。

$$\text{計算式: } \frac{(\text{暴露開始時濃度} - \text{暴露終了時濃度})}{(\ln(\text{暴露開始時濃度}) - \ln(\text{暴露終了時濃度}))}$$

2) 設定濃度に基づいて算出した。括弧内は純度換算した申請者計算値である。

試験液中の被験物質濃度は設定濃度の 97.4~102% の範囲であり、試験結果は設定濃度に基づき評価した。

中毒症状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 BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質: メピコートクロリド原体 (純度)

供試生物: オオミジンコ (学名 *Daphnia magna*)

一群 20 頭 (5 頭 × 4 連) (生後 2~24 時間の幼体)

方法:

暴露条件: 48 時間、止水式

環境条件: 試験には 20 mL 容ガラス製平底試験管を用い、試験液量を 10 mL とした。

照明は人工照明で、明暗周期は明 16 時間/暗 8 時間であった。暴露期間中の水質は、pH が 8.1、溶存酸素濃度は 8.8~9.3 mg/L であった。

試験液の調製方法:

なお、対照区として人工調製水 Elendt M4 のみの無処理対照区を設けた。

試験水温: 19.5~21.0°C

結果:

設定濃度 (mg/L)	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
平均実測濃度 (mg/L) ¹⁾	1.60	—	—	12.4	—	—	94
EC ₅₀ 値 (mg/L) ²⁾ (95%信頼限界)	24 時間	> 100 []					
	48 時間	68.5 (51.2~91.5) [] ³⁾					
NOEC (mg/L) ²⁾	12.5 []						

1) 報告書中の個別データ (ミジンコを含まない 0 時間試験液およびミジンコを含む 48 時間後試験液) および以下の計算式に基づき申請者が時間加重平均を算出した。

$$\text{計算式: } \frac{(\text{暴露開始時濃度} - \text{暴露終了時濃度})}{(\ln(\text{暴露開始時濃度}) - \ln(\text{暴露終了時濃度}))}$$

2) 設定濃度に基づいて算出した。角括弧内は純度換算した申請者計算値である。

3) プロビット (Probit) 法により算出した。

試験液中の被験物質濃度は設定濃度の 93.4~103.1%の範囲であり、試験結果は設定濃度に基づき評価した。

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

Mepiquat-Chloride

[申請者注]

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

Mepiquat-Chloride

3) 藻類生長阻害試験

(資料 3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質: メピコートクロリド原体 (純度)

供試生物: 単細胞緑藻 (学名 *Pseudokirchneriella subcapitata*)

初期生物量 4.0×10^4 cells/mL

方法:

暴露条件: 72 時間、振とう培養

環境条件: 試験には 100 mL 容ディンプル三角フラスコを用い、試験液量を 60 mL とし、処理区は 5 連、無処理対照区は 10 連とした。

pH 試験開始時 記載なし、暴露 72 時間後 7.89~8.38

培養器内の照度 約 8000 lux で連続照明

振とう速度 約 125 rpm

試験液の調製方法:

なお、対照区として藻類培地のみの無処理対照区を設けた。

試験水温: $23 \pm 1^\circ\text{C}$

結果:

設定濃度 (mg/L)	10	25	75	150	400	1000
平均実測濃度 (mg/L) ¹⁾	10	—	—	157	—	1054
ErC ₅₀ 値 (mg/L) ²⁾	0~72 時間		> 1000 ()			
NOECr (mg/L) ²⁾	0~72 時間 ⁴⁾		1000 () ³⁾			

1) 報告書中の個別データおよび以下の計算式に基づき申請者が時間加重平均を算出した。

$$\text{計算式: } \frac{(\text{暴露開始時濃度} - \text{暴露終了時濃度})}{(\ln(\text{暴露開始時濃度}) - \ln(\text{暴露終了時濃度}))}$$

2) 設定濃度に基づき算出した。括弧内は純度換算した申請者計算値である。

3) 多重比較検定 (Dunnett 法) により算出した。

4) 申請者が計算ソフト Ecotox Statics ver. 2.6d により解析した。

暴露終了時、いずれの濃度区においても細胞の形態学的な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 BASF ジャパン株式会社にある。

Mepiquat-Chloride

[申請者注]

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

2-1. 蚕

資料番号	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当たりの供試数	試験方法(投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験の実施機関及び報告年
1	蚕急性毒性試験 44.0%液剤	蚕 芙・蓉×東・海 (4齢起蚕)	50頭 2連制	500倍希釈液を 120L/10a相当 量、手動加圧式噴 霧器で桑葉散布		()
安全基準日数：当日						

2-2. ミツバチ

資料番号	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当たりの供試数	試験方法(投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験の実施機関及び報告年
2	ミツバチ急性 経口毒性試験 原体	セイヨウミツバチ (<i>Apis mellifera</i> L) 4~6週齢 成虫	10頭 (5反復)	経口投与(混餌) 107.4µg a. i./bee OECD213	48h LD ₅₀ : >107.4µg a. i./bee	()
3	ミツバチ急性 接触毒性試験 原体	セイヨウミツバチ (<i>Apis mellifera</i> L) 4~6週齢 成虫	10頭 (5反復)	胸部に滴下 100µg a. i./bee OECD214	48h LD ₅₀ : >100µg a. i./bee	()

2-3. 天敵昆虫等

資料番号	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当たりの供試数	試験方法(投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験の実施機関及び報告年
7		コレマンアブラバチ (<i>Aphidius colemani</i>) 羽化24時間内 成虫	10頭 (3反復)	間接暴露 500倍希釈液 2µL/ガラス板 cm ² 散布 ドライフィルム法	48h 死亡率：0%	
8	天敵昆虫等 急性毒性試験 (44.0%液剤)	フィカシリガニ (<i>Phytoseiulus persimilis</i>) 第一若虫	10頭 (4反復)	直接暴露 500倍希釈液 4µL/リフトイス 1cm ² 散布	48h 補正死亡率：7.7%	()
9		ヒメカサガウ (<i>Chrysoperla carnea</i>) ふ化後約3日幼虫	30頭	間接暴露 500倍希釈液 2µL/ガラス板 cm ² 散布 ドライフィルム法	48h 死亡率：0%	

2-4. 鳥類

No.	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1群 当りの 供試数	投与 方法	投 与 量	LD50 又は LC50 及び 無影響量	観察された 影響等	試験機関 (報告年)
1	急性経口 毒性 原体	ウズラ	10羽	経口	215, 464, 1000, 2150, 4640 mg/kg	LD50 : >4640mg/kg	全ての投与群における死亡個体なし。4640 mg/kg 投与群で認められた一時的な嗜眠を除き中毒症状は見られなかったが、同投与群において摂餌量と体重の減少が認められた。	()
2	8日間混餌 投与毒性 原体	ウズラ	10羽	飼料 混入	464, 1000, 2150, 4640 10000 ppm	LC50 : >10000ppm	1000ppm 投与群において試験5日目に1匹の偶発死が認められた。試験期間を通じ、全ての個体において明白な中毒症状は認められなかった。	
3	8日間混餌 投与毒性 原体	マガモ	10羽			LC50 : >10000ppm	全ての投与群における死亡個体なし。毒性症状及び異常行動は全ての投与群において認められなかった。	

3. その他

試験名称 及び 被験物質	供試生物	一群当 たりの 供試数	試験方法(投与 方法、投与量、 試験条件等)	試験結果	試験の実施 機関及び 報告年
ミミズ毒性 試験 原体	ミミズ (<i>Eisenia fetida</i>)	10匹	直径11cmのガラス製容器に入った被験物質750gが含まれる人工土壌中にミミズを放飼。7日、14日後に死亡数、体重を調査。	LC ₅₀ : 440ppm(14日間) LC ₀ : 100ppm	()

VII. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

- (1) 誤飲などのないように注意すること。

誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当てを受けること。

本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当てを受けること。

- (2) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないように注意すること。

眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当てを受けること。

- (3) 本剤は皮膚に対して弱い刺激性があるので皮膚に付着しないように注意すること。付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと。

- (4) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。

また、散布液を吸い込んだり浴びたりしないように注意し、使用後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに洗眼すること。

2. 解毒法及び治療法

本剤の特異的な解毒法はない。

症状に応じた処置（洗浄・機能回復）を講ずること。

3. 製造時、使用時等における事故例

これまでに、本剤製造時または使用時に事故例はない。

Ⅷ. 毒性

毒性試験一覧表

毒性試験に用いた被検物質について

メピコートクロリド (C₇H₆ClN) は、1-メチルピペリジン (C₆H₁₃N) をもとに合成している。この合成・蒸留産物として 60% のメピコートクロリド水溶液が生成され、これは 99% 以上のメピコートクロリドおよび 0.3% 以下の 1-メチルピペリジンを含有する水溶液である。この水溶液を工業用原液とし、さらに水で希釈することで製剤を調整、毒性試験で原液および製剤として使用している。また毒性試験中の原体とは、この工業用原液の水分を蒸発させ粉末化したものである。したがって、原体は原液から水分が無くなったものであり、主要成分はメピコートクロリドであることから、濃度換算をすれば原液も原体として毒性試験に使用することは十分に可能であると考えられる。

I. 原体（原液を使用した試験の混餌濃度は有効成分換算 ppm で示した）

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1 群当り 動物数	投与方法	投与量 (有効成分換算 ppm 又は mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1 (GLP)	原液 急性毒性 (14 日間観察)	ラット	雌雄 各 5	強制 経口	100, 200, 464, 1470, 2150	雄+雌 約 464		毒 7
2 (GLP)	原液 急性毒性 (14 日間観察)	マウス	雌雄 各 5	強制 経口	100, 200, 464, 1470, 2150	雄+雌 約 780		毒 8
3 (GLP)	原液 急性毒性 (14 日間観察)	ラット	雌雄 各 5	経皮	2000	雌雄 >2000		毒 9
4	原体 急性毒性 (14 日間観察)	ラット	雌雄 各 10	吸入	0.78, 3.11, 3.15 mg/L	雌雄 >3.2 mg/L		毒 10
5 (GLP)	原液 急性毒性 (14 日間観察)	ラット	雌雄 各 5	吸入	2.59, 4.89 mg/L	雄 >4.89 mg/L 雌 約 4.89 mg/L		毒 11
6	原体 皮膚刺激性 (72 時間観察)	ウサギ	雌雄 各 3	24 時間 塗布	0.5 g	刺激性なし		毒 13

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当り動物数	投与方法	投与量 (有効成分換算 ppm 又は mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
7	原体 眼刺激性 (72 時間観察)	ウサギ	雌雄 各 3	点眼	0.1 g	刺激性なし		毒 15
8	%原体 皮膚感作性 (Maximization)	モルモット	雄 12		感作 (皮内) : 10%, 0.1 mL, 10 回 惹起 (皮内) : 10%, 0.1 mL	感作性なし		毒 18
26 (GLP)	%原液 急性神経毒性 (14 日間観察)	ラット	雌雄 各 10	経口	0, 58, 174, 697	雄 58 雌 174 可逆的神経毒性		毒 20
	急性遅発性神経毒性			急性経口毒性試験および急性神経毒性試験の結果より、急性遅発性神経毒性の懸念がなかったことから、当該試験は不要と判断し実施しなかった。				毒 25
9	原体 亜急性 (4 週間投与)	ラット	雌雄 各 25	飼料 混入	0, 250, 1000, 2500, 10000 ppm 0, 27, 109.3, 268.3, 1055 0, 28.3, 109.3, 279.5, 1002.5	1000 ppm ----- 雌雄 109.3		毒 26
27 (GLP)	原液 亜急性 (4 週間投与)	ラット	雌雄 各 5	飼料 混入	0, 500, 2000, 8000 ppm 雄 0, 44, 175, 633 雌 0, 48, 191, 688	8000 ppm ----- 雄 633 雌 688		毒 31
28 (GLP)	原液 亜急性 (4 週間投与)	マウス	雌雄 各 2	飼料 混入	0, 6000, 12000 ppm 雌雄平均 0, 185, 308	<6000 ppm ----- 雌雄 <185		毒 36
10	原体 亜急性 (90 日間投与)	ラット	雌雄 各 25	飼料 混入	0, 100, 300, 1000, 3000 ppm 0, 9.2, 27.6, 91.8, 275.5 0, 8.9, 26.7, 91.2, 278.8	1000 ppm ----- 雄 91.8 雌 91.2		毒 39
29 (GLP)	原液 亜急性 (13 週間投与)	ラット	雌雄 各 10	飼料 混入	0, 145, 579, 2316, 4632 ppm 雄 0, 10, 40, 163, 319 雌 0, 12, 47, 188, 372	4632 ppm ----- 雄 319 雌 372		毒 43
30 (GLP)	原液 亜急性 (13 週間投与)	ラット	雌雄 各 10	飼料 混入	0, 12000 ppm 雄 0, 826 雌 0, 951	<12000 ppm ----- 雄 <826 雌 <951		毒 46
11	原体 亜急性 (90 日間投与)	マウス	雌雄 各 4	飼料 混入	0, 100, 300, 1000, 3000 ppm 雄 0, 3.3, 9.8, 32.4, 95.3	1000 ppm ----- 雌雄 32.4		毒 55
31 (GLP)	原液 亜急性 (3 カ月間投与)	マウス	雌雄 各 10	飼料 混入	0, 300, 900, 2700, 8100 ppm : 0, 60, 166, 526, 1731 : 0, 83, 265, 705, 2422	8100 ppm ----- 雄 : 1731 雌 : 2422	BASF (1992)	毒 59

資料 No.	試験の種類 期間	供試 動物	1 群当り 動物数	投与 方法	投与量 (有効成分換算 ppm 又は mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
	亜急性経皮投与毒性				急性経皮毒性試験結果から、経皮毒性は弱いことが明らかになっており、そのため本試験は不要と判断し実施しなかった。			毒 63
	亜急性吸入毒性				急性吸入毒性試験結果から、吸入毒性は弱いことが明らかになっており、そのため本試験は不要と判断し実施しなかった。			毒 64
32 (GLP)	原液 亜急性 神経毒性 (91 日間投与)	ラット	雌雄 各 10	飼料 混入	0, 943, 3770, 7540 ppm 雄 65.6, 259.0, 516.6 雌 79.4, 366.9, 616.5	雄 943 ppm 雌 3770ppm 雄 : 65.6、雌 79.4 7540 ppm で神経毒性 なし		毒 65
	亜急性経口投与遅発性神経毒性				急性毒性試験および亜急性毒性試験では、遅発性神経毒性を示唆する所見が認められず、したがって本試験を不要と判断し実施しなかった。			毒 69
12	原体 慢性 (1 年投与)	マウス	雌雄 各 6	飼料 混入	0, 200, 600, 1800 ppm 雌雄 0, 6.3, 19.9, 58.4	雄 600 ppm 雌 1800 ppm 雄 19.9 雌 58.4		毒 70
33 (GLP)	原液 慢性 (12 ヶ月投与)	マウス	雌雄 各 6	飼料 混入	0, 6000 ppm 雄 166 雌 173	<6000 ppm 雄 <166 雌 <173		毒 77
13	原体 慢性/発癌 (24 ヶ月投与)	ラット	対照群 雌雄 各 105 投与群 雌雄各 35-55	飼料 混入	0, 100, 300, 1000, 3000, 9000 ppm 0, 6.4, 18.0, 62.4, 186.0, 684.0 0, 7.3, 21.0, 71.6, 211.9, 669.8	3000 ppm 雄 186.0 雌 211.9 発癌性なし		毒 83
34 (GLP)	原液 慢性 (2 年間投与)	ラット	雌雄 各 20	飼料 混入	0, 290, 2316, 5790 ppm 雄 0, 13, 106, 268 雌 0, 18, 146, 371	2316 ppm 雄 106 雌 146		毒 92
35 (GLP)	原液 発癌 (2 年間投与)	ラット	雌雄 各 50	飼料 混入	0, 290, 2316, 5790 ppm 雄 0, 13, 105, 269 雌 0, 17, 141, 370	2316 ppm 雄 105 雌 141		毒 106
14	原体 慢性/発癌 (24 ヶ月投与)	マウス	対照群 雌雄 各 100 投与群 雌雄 各 50	飼料 混入	0, 100, 300, 1000, 3000 ppm 0, 16.0, 48.9, 169.4, 513.5 0, 21.7, 65.3, 226.1, 689.4	1000 ppm 雄 169.4 雌 226.1 発癌性なし		毒 121
36 (GLP)	58%原液 発癌 (2 年間投与) 衛星群 : (12 ヶ月間投 与)	マウス	発癌群 : 雌雄各 50 衛星群 : 雌雄各 10	飼料 混入	0, 500, 2000, 7500 ppm 雄 0, 74, 297, 1140 雌 0, 85, 328, 1348	雄 : 2000 ppm 雌 : 7500 ppm 雄 297 雌 1348 発がん性なし		毒 129
37 (GLP)	原液 発達神経 毒性	ラット	母動物 : 40 新生児 : 雄 84-116 雌 92-124	強制 経口	0, 15, 30, 60	全身毒性 : 30 (児動物) 60 (母動物) 発達神経毒性 : 60		毒 141

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1 群当り 動物数	投与 方法	投与量 (有効成分換算 ppm 又は mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
15	原体 3 世代繁殖 + 催奇形性	ラット	雌雄 各 40	飼料 混入	0, 319.1, 1063.8, 3191.5 ppm F0 世代 雄 0, 24.9, 83.3, 256.6 雌 0, 37.1, 122.9, 383.9 F1 世代 雄 0, 26.7, 89.1, 258.0 雌 0, 37.5, 127.1, 374.6 F2 世代 雄 0, 27.0, 88.5, 271.5 雌 0, 37.9, 129.0, 379.8 F3 世代 雄 0, 39.7, 126.8, 378.7 雌 0, 41.5, 137.4, 424.5	3191.5 ppm F0 世代 : 雄 256.6、雌 383.9 F1 世代 : 雄 258.0、雌 374.6 F2 世代 : 雄 271.5、雌 379.8 催奇形性なし 繁殖毒性なし		毒 153
38 (GLP)	原液 2 世代繁殖	ラット	雌雄各 25	飼料 混入	0, 500, 1500, 5000 ppm 雄 (F0/F1) : 0, 48.6/51.2, 146.6/153.1, 499.3/574.5 雌 (F0/F1) : 0, 53.3/54.0, 162.0/163.6, 530.0/626.5	1500 ppm F0 世代 : 雄 153.1 雌 163.6 ; F1 世代 : 雄 146.6 雌 162.0 5000 ppm でも繁殖能 に影響なし		毒 163
16	原体 催奇形性 (20 日間投与)	ラット	帝王切開群 雌 25 自然分娩群 雌 10	飼料 混入	0, 100, 300, 1000, 3000 ppm	3000 ppm 催奇形性なし		毒 174
17 (GLP)	原液 催奇形性 (20 日間投与)	ラット	雌 25	強制 経口	0, 50, 150, 300	母動物 : 150 胎仔 : 300 300 でも催奇形性なし		毒 180
18	原体 催奇形性 (13 日間投与)	ウサギ	雌 21-22	強制 経口	0, 50, 100, 150	母動物 : 50 胎児 : 100 150 で催奇形性なし		毒 184
19 (GLP)	原体 催奇形性 (13 日間投与)	ウサギ	雌 15	強制 経口	0, 75, 100	母動物 : <75 胎児 : <75 100 で催奇形性なし		毒 188
39 (GLP)	原液 催奇形性 (13 日間投与)	ウサギ	雌 15	強制 経口	0, 50, 100, 150	母動物 : 50 胎児 : 150 催奇形性なし		毒 192
40 (GLP)	原液 新生児 急性毒性 (生後 11-21 日 投与)	ラット 新生児	雄 6-40 雌 10-41	強制 経口	0, 30, 60, 120, 200	30		毒 196

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1 群当り 動物数	投与方法	投与量 (有効成分換算 ppm 又は mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁	
41	原体 遺伝毒性 (復帰変異)	サルスベリ 菌	TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	<i>in vitro</i>	0, 4, 20, 100, 500 2500 µg/plate	変異原性なし		毒 200	
21 (GLP)	原体 遺伝毒性 (復帰変異)	サルスベリ 菌 大腸菌	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2	<i>in vitro</i>	0, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	変異原性なし		毒 202	
42 (GLP)	原液 遺伝毒性 (前進突然変異)	CHO 細胞		<i>in vitro</i>	162.5, 325, 650, 1300, 2600 µg/mL	変異原性なし		毒 206	
22 (GLP)	原体 遺伝毒性 (染色体異常)	CHO 細胞		<i>in vitro</i>	0, 2, 3, 4, 5 mg/mL	変異原性なし		毒 209	
45 (GLP)	原液 遺伝毒性 (小核)	マウス	雄 5	強制 経口	0, 250, 500, 750, 1000	陰性		毒 211	
23	原体 遺伝毒性 (不定期 DNA 合成)	ラット 初代肝細胞		<i>in vitro</i>	0, 25.6, 51.2, 102 256, 512, 1000, 1020, 2000, 3000 µg/mL	変異原性なし		毒 213	
24	原体 遺伝毒性 (優勢致死)	マウス	雄 20 雌 480	飼料 混入	0, 100, 300, 1000, 3000 ppm 0, 26.1, 78.5, 268.2, 801.6	変異原性なし		毒 214	
20 (GLP)	原体 遺伝毒性 (Rec-Assay)	枯草菌 M45・H17		<i>in vitro</i>	S9 : 0, 2484, 4968, 9935, 19870, 39740 S9:0, 1242, 2484, 4968, 9935, 19870 µg/disk	変異原性なし		毒 215	
25	原体 生体機能におよぼす影響					無作用量		毒 218	
	1) 中枢神経系								
	一般症状	マウス	雄 3	強制 経口	125, 250, 500	125			
	一般症状	ウサギ	雄 3	静注	5, 15, 45	< 5			
	2) 平滑筋								
		モルモット	雄 4 より回腸		10 ⁻⁷ -3x10 ⁻² g/mL	< 10 ⁻⁶ g/mL			
	3) 呼吸・循環器系								
		ウサギ	総数 : 雄 6		0.04, 0.2, 1	0.04			
4) 血液凝固系									
<i>ex vivo</i>	ラット	雄 5-6	腹腔	0, 3, 10, 30	30				
<i>in vitro</i>	ウサギ	雄 1 より採血		0.2, 0.6, 20, mg/mL	20 mg/mL				

資料 No.	試験の種類 期間	供試 動物	1 群当り 動物数	投与 方法	投与量 (有効成分換算 ppm 又は mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
43	原体 ニ コチンレセ プターへの 影響		マウス骨格筋細胞	<i>in vitro</i>	1000 μ M	ニコチン様アセチル コリン活性型受容体 に特異的作用を示す		毒 222
44	原体 ムスカリン 受容体への 影響		ウシ大脳皮質、ラ ット心臓および顎 下腺の膜画分	<i>in vitro</i>	各膜画分と 3 H-NMS との結合に対する 検体の拮抗作用	ムスカリン受容体に 対する親和性は低い が、高濃度では受容体 に結合する。		毒 224

網掛け資料番号は登録後に提出した資料である。

II. 代謝物(4-OH 体)を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 期間	供試 動物	1 群当り 動物数	投与 方法	投与量 (有効成分換算 ppm 又は mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
M1	急性毒性 (14 日間観 察)	ラット	雌 3	強制 経口	464	>464		毒 226
M2	遺伝毒性 (復帰変異)		サルモネラ菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌 WP2	<i>in vitro</i>	0, 20, 100, 500, 2500, 5000 μ g/plate	変異原性なし		毒 227

網掛け資料番号は登録後に提出した資料である。

III. 製剤

メピコートクロリド 44% (460 g/L) 液剤

資料 No.	試験の種類 期間	供試 動物	1 群当り 動物数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD50 又は 無毒性量 (mg/kg)	試験期間 (報告年)	頁
F1	急性毒性 (14 日間観 察)	ラット	雌雄 各 10	経口	825, 1000, 1210, 1470, 1780, 2150, 2610, 3160, 3830, 4640 μ L/kg	雄 3200 μ L/kg 雌 3180 μ L/kg		毒 230
F2	急性毒性 (14 日間観 察)	ラット	雌雄 各 10	経皮	5000 μ L/kg	雄 >5000 μ L/kg 雌 >5000 μ L/kg		毒 231
F3	急性毒性 (14 日間観 察)	ラット	雌雄 各 10	吸入	3.2, 3.9 mg/L	雄 >3.9 mg/L 雌 >3.9 mg/L		毒 232
F4	皮膚刺激性 (8 日間観 察)	ウサギ	雄 1 雌 5	24 時間 塗布	0.5 g	弱い刺激性あり		毒 233
F5	眼刺激性 (7 日間観 察)	ウサギ	雄 4 雌 2	点眼	0.1 mL	弱い刺激性あり		毒 235

1. 原体

1. 急性毒性

1-1. ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 1)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Wistar 系ラット 1 群雌雄各 5 匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時体重 (群平均)： 雄 179-190.0 g 雌 170-189 g

観察期間： 14 日間

投与方法： メピコートクロリド 57.9% 原液を用い、各濃度の水溶液を 16 時間絶食した動物に 10 mL/kg の用量で強制経口投与した。

観察・検査項目： 中毒症状および死亡を 14 日間観察し、投与前および投与後 7、13 日後の体重を測定した。途中死亡動物および試験終了時の全生存動物は、試験終了時に屠殺し病理学的剖検を実施した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	100、200、464、1470、2150
LD50 (mg/kg)	雌雄ともに約 464
死亡開始時間および消失時間	投与後 1 時間-1 日
症状発現時間および消失時間	投与直後-1 時間
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 200
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 200

本試験において、中毒症状として一般状態の悪化、呼吸困難、無気力、腹臥位、歩行異常、攣縮、チアノーゼおよび自咬が認められた。

途中死亡動物の剖検では、鬱血が認められたが、生存動物では肉眼的病理所見は認められなかった。

1-2. マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 2)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： NMRI 系マウス 1 群雌雄各 5 匹

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重 (群平均)：雄 22-26 g 雌 18.9-21.6 g

観察期間： 14 日間

投与方法： メピコートクロリド 57.9%原液を用い、各濃度の水溶液を 16 時間絶食した動物に 10 mL/kg の用量で強制経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状および死亡を 14 日間観察し、投与前および投与後 7、13 日後の体重を測定した。途中死亡動物および試験終了時の全生存動物は、試験終了時に屠殺し病理学的剖検を実施した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	100、200、464、1470、2150
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄ともに 780 (470-1250)
死亡開始時間および消失時間	投与直後-1 時間
症状発現時間および消失時間	雄：投与直後-2 時間 雌：投与直後-4 時間
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 200
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 200

本試験期間中、中毒症状として一般状態の悪化、呼吸困難、無気力、腹臥位、側臥位、歩行異常、振戦、攣縮、間代性痙攣、立毛および脱水症状などが認められた。また、体重増加抑制が雌の最高投与量群で認められた。

途中死亡動物の剖検では、鬱血が認められたが、生存動物では肉眼的病理所見は認められなかった。

1-3. ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 3)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Wistar 系ラット 1 群雌雄各 5 匹

試験開始時週齢；記載なし

試験開始時体重（平均）；雄 280 g 雌 241 g

観察期間： 14 日間

投与方法： 15 時間前に刈毛した動物に、背部皮膚約 50 cm² でメピコートクロリド水溶液を塗布し、24 時間半閉塞被覆した。24 時間後に被覆を除去後、塗布部位を微温水で洗淨した。

観察・検査項目：中毒症状および死亡を 14 日間観察し、投与前および投与後 7、13 日後の体重を測定した。試験終了時の全生存動物は、試験終了時に屠殺し病理学的剖検を実施した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	雌雄ともに >2000
死亡開始時間および消失時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	中毒症状なし
無毒性量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000

本試験において、中毒症状および死亡例は認められなかった。また試験終了時の剖検においても特に異常は認められなかった。

1-4. ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 4)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： SD系ラット Mura:SPRA (SPF 68 Han)、 1群雌雄各 10匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時体重： 雄雌 174-190 g

観察期間： 14日間

方法： メピコートクロリドをイオン交換水を用いて 50%水溶液とし、下記暴露条件でミストとして暴露した。本試験における対照群には、非処理の空気のみを暴露した。

暴露条件：

設定濃度： 4.2、23.6、21.0 mg/L

実測濃度： 0.78、3.11、3.15 mg/L

暴露経路： 鼻部 (7時間)

試験項目： 中毒症状および生死を暴露後 14日間観察した。また本試験期間中、暴露前および暴露後 7、14日後に体重を測定した。死亡動物および観察期間終了時の全生存動物に対し、病理学的剖検を実施した。

結果：

投与方法	吸入
投与量 (mg/L)	0.78、3.11、3.15*
LC50 (mg/L) (95%信頼限界)	雌雄ともに > 3.2
死亡開始時間および終了時間	投与直後-1日後
症状発症時間および消失時間	投与直後-11日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/L)	雄：3.11 雌：0.78

*：技術的に暴露可能最大量
粒子径分布・空気力学的質量中位径・チャンバー容積・チャンバー内通気量については報告書に記載はない

本試験期間中、中毒症状として水様ないし赤色の涙および鼻汁、閉眼、異常呼吸、震え、無気力、粗毛などが認められた。また、3.11 mg/L 群においてのみ、体重増加抑制の傾向が認められた。死亡動物では、心収縮および肝臓鬱血が認められたが、生存動物では異常は認められなかった。

1-5. ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 5)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Wistar/Chbb: THOM 系ラット 1 群雌雄各 5 匹

試験開始時週齢；約 8-9 週齢

試験開始時体重 (平均値)；雄 275±19.0 g 雌 194±4.7 g

観察期間： 14 日間

方法： 検体を液体エアロゾルとして、動物に 4 時間鼻部吸入させた。成分濃度は 1 時間毎にイオン選択法により測定した。

暴露条件：

試験群	1	2
設定濃度 (mg/L)	17.23	119.3
実際濃度 (mg/L) *	2.59	4.89
粒子系分布 (%) **		
< 1.2 μm	19.9	23.3
1.2 - 2.8 μm	33.3	32.3
2.8 - 5.5 μm	19.3	18.6
5.5 - 8.5 μm	8.8	7.1
8.5 - 18.2 μm	7.2	6.7
18.2 - 29.5 μm	5.9	5.7
> 29.5 μm	5.6	6.4
空気力学的質量中位径 (μm)	2.9	2.7
チャンパー容量 (L)	55	
チャンパー内通気量 (L/hour)	2000	
暴露条件	液体エアロゾル・鼻部 (4 時間)	

*：実際濃度は、分析で得られた値と吸入用空気の採取量から算出した。

**：暴露開始 30 分後、アンダーセン・サンプラーを用いてミストの粒径を測定した。

試験項目： 暴露中 (数回) および暴露後 14 日間 (各就労日に 1 回)、中毒症状および生死を観察した。また、試験開始時、暴露後 7 日後および試験終了時に体重を測定した。死亡動物、途中屠殺動物および試験終了時の全生存動物に対しては、肉眼的病理検査を実施した。

結果： 本試験期間中、各試験群において以下のような症状が認められた。

(試験群 1 : 2.59 mg/L 暴露)

暴露中、不規則呼吸、呼吸亢進、間欠呼吸および眼瞼閉鎖が認められ、特に眼瞼閉鎖は暴露期間を通して認められた。暴露後は、呼吸亢進、間欠呼吸および粗毛が認められたが、これらの症状は暴露後 2 日目以降には認められなかった。また、本試験群では死亡例は認められなかった。

(試験群 2 : 4.89 mg/L 暴露)

暴露中、不規則呼吸、呼吸亢進、間欠呼吸、眼瞼閉鎖、喘ぎ呼吸および逃避行動が認められた。本試験群では、眼瞼閉鎖は暴露 2.5 時間まで全動物で認められたが、以降減少傾向を示した。暴露後は、呼吸亢進、間欠呼吸、呼吸音、腹臥姿勢、横臥姿勢、蹲り姿勢、強直間代性痙攣、体毛変色（但し被験物質に起因する着色）および粗毛が認められたが、いずれも暴露後 6 日目以降には認められなかった。また本試験群では、暴露日に 3 例（雄 1 例；雌 2 例）の死亡が認められた。雌雄の体重増加量では、試験群 1 および 2 とともに、背景対照と比べて暴露後 2 週間目に抑制傾向が認められた。申請者注

病理学的所見では、試験群 2 の死亡動物において全身性鬱血および肺の限局性充血が認められたが、その他の全生存動物では異常所見は認められなかった。

投与方法	吸入
暴露濃度 (mg/L)	2.59 および 4.89
LC ₅₀ (mg/L) (4 時間)	雄 > 4.89 雌 約 4.89
死亡開始時間および終了時間	暴露開始 3 時間後-暴露終了直後
症状発現時間および消失時間	暴露開始後-暴露終了 6 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	雌雄共に 2.59

(申請者注)

本試験報告書では上記のような記載が認められるが、本試験における試験開始前の平均体重は、背景データに比べて極めて高値を示している。体重および体重増加量は、週齢に対し対数的に変動するものであり、今回のように基準となる投与前体重の大きな違いでの科学的な検証は不可能と考える。また、背景データという同一飼育下での結果ではなく、試験結果の統計学的解析もなされていない。よって、本試験での評価には体重変動の項目を考慮しない。

2. 皮膚および眼に対する刺激性

2-1. ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 6)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ 1 群雌雄各 3 匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時体重： 2.3-2.8 kg

観察期間： 72 時間

方法： メピコートクロリド原体および 50%液 0.5 g を 2.5 cm 四方のパッチに塗布し、刈毛した各動物の背部の無傷皮膚に適用した。また、同様に調製した検体を擦過皮膚にも適用した。適用期間は 24 時間とした。

試験項目： 塗布期間終了直後（試験開始 24 時間後）および適用後 48 時間（試験開始 72 時間後）での皮膚反応について、Draize 法に基づき下記基準で判定した。

紅斑及び痂皮形成	
紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑（かろうじて識別できる）	1
はっきりした紅斑	2
中等度又は重度の紅斑	3
重度の紅斑（深紅色）又は軽度痂皮形成（深部傷害）まで	4
浮腫形成	
浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫（かろうじて識別できる）	1
軽度の浮腫（はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる）	2
中等度の浮腫（約 1 mm の膨隆）	3
高度の浮腫（1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり）	4

結果： 本試験では、いかなる動物も皮膚の異常反応を示さなかった。

以上の結果より、本検体はウサギの皮膚に対し一次刺激性を有しないと判断した。

表. Draize 法による皮膚一次刺激性評価

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間								
			無傷皮膚				擦過皮膚				
			原液		50%液		原液		50%液		
			24	72	24	72	24	72	24	72	
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2-2. ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料 7)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ 1群雌雄各3匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時体重： 2.3-2.8 kg

観察期間： 72 時間

方法： メピコートクロリド 0.1 g を左眼結膜嚢に点眼し、1 秒間眼を閉ざしてから、放した。右眼を対照とし、生理的食塩水を同様に点眼した。

試験項目： 適用、24、48 および 72 時間後、角膜、虹彩および結膜を観察し、表 1 に示す Draize 法の基準に従い、眼の刺激性反応を判定した。

結果： 試験結果を表 2 に示す。

本試験では、結膜に弱い刺激性が認められたが、48 時間後には全て回復していた。

本試験では、適用 24 時間後に結膜での発赤が認められたもの、48 時間後には回復しており、また平均スコアも極めて低い値であった。よって本剤は、本実験条件下においてウサギの眼に対し刺激性を有しないと判断する。

表 1. 眼の刺激性／腐食性の評価基準

<p>角膜</p> <p>(A) 混濁 (最も濃い部分で判定する)</p> <p>混濁を認めない</p> <p>0</p> <p>散在性又は瀰漫性の混濁、虹彩の細部は明瞭に透視可能</p> <p>1</p> <p>透明な部分は残っているが、虹彩の全体がやや不明瞭</p> <p>2</p> <p>真珠様光沢部位あり、虹彩の細部は不明で瞳孔の大きさがかろうじて見分けられる</p> <p>3</p> <p>角膜不透明、虹彩は見分けられない</p> <p>4</p> <p>(B) 混濁面積</p> <p>0 混濁なし</p> <p>0</p> <p>> 0 ≤ 1/4</p> <p>1</p> <p>> 1/4 < 1/2</p> <p>2</p> <p>> 1/2 < 3/4</p> <p>3</p> <p>> 3/4</p> <p>4</p> <p>評点 : A x B x 5 (最高評点 80)</p>	
<p>(A) 虹彩</p> <p>正常</p> <p>0</p> <p>正常を越えるひだ、充血、腫脹、中等度の角膜周囲充血、虹彩はまだ光に反応する</p> <p>1</p> <p>対光反応消失、出血、著しい組織崩壊</p> <p>2</p> <p>評点 : A x 5 (最高評点 10)</p>	
<p>結膜</p> <p>(A) 発赤</p> <p>血管正常</p> <p>0</p> <p>一部の血管が正常を越える充血</p> <p>1</p> <p>瀰漫性の深紅色、個々の血管は容易には見分けられない</p> <p>2</p> <p>瀰漫性の牛肉様赤色</p> <p>3</p> <p>(B) 浮腫</p> <p>腫脹なし</p> <p>0</p> <p>正常を越える腫脹</p> <p>1</p> <p>眼瞼の部分外反を伴った明らかな腫脹</p> <p>2</p> <p>眼瞼の 1/2 未満の閉鎖を伴った腫脹</p> <p>3</p> <p>眼瞼の 1/2 以上の閉鎖を伴った腫脹</p> <p>4</p> <p>(C) 分泌物</p> <p>分泌物なし</p> <p>0</p> <p>正常とは異なる分泌量</p> <p>1</p> <p>眼瞼及び眼瞼に隣接する被毛の湿潤を伴う分泌物</p> <p>2</p> <p>眼瞼及び被毛並びに眼周囲の相当範囲の湿潤を伴う分泌物</p> <p>3</p> <p>評点 : (A + B + C) x 2 (最高評点 20)</p>	

表 2. Draize 法による眼刺激性評価

項目		最高 評点	適用後時間			24-72 時間 平均値	
			24 時間	48 時間	72 時間		
1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	0	0	0.3
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
3	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	0	0	0.3
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
4	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	0	0	0.3
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
5	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
6	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	0	0	0.3
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
Draize 法 評点	合計	660.0	8	0	0	2.4	
	平均	110.0	1.3	0	0	0.4	

3. 皮膚感作性

3-1. モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 8)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： Pirbright White 系モルモット 検体群雄各 12 匹 対照群雄各 6 匹

試験開始時週齢；記載なし

試験開始時体重；試験群 519-682 g、対照群 682-807 g

観察期間： 惹起処理後 72 時間

方法： Draize 法に基づく

感作処理；背部にメピコートクロリド（生理的食塩水で 10%に希釈）0.1 mL（初回のみ 0.05 mL）を週 3 回、合計 10 回皮内投与した。対照群には、生理的食塩水のみを投与した。

惹起処理；感作処理後 14 日目に、メピコートクロリド（生理的食塩水で 10%に希釈）0.1 mL を皮内投与した。この際、対照群には生理的食塩水のみを投与し、非感作処理群（各 6 匹）にもメピコートクロリド（生理的食塩水で 10%に希釈）または生理的食塩水を 0.1 mL 皮内投与した。

本試験の検体濃度は、予備試験の結果から、弱い発赤を発症する濃度とした。

皮膚反応の評価；惹起処理後 24、48 および 72 時間後に適用部位の紅斑および浮腫について観察し、Draize 法に従って評価した。また浮腫については、つまんだ皮膚の厚さを測定した。

紅斑および痂皮形成：

0；紅斑なし

1；非常に軽度の紅斑(かろうじて識別できる)

2；はっきりした紅斑

3；中等度-重度の紅斑

4；重度の紅斑(ビート赤色)-軽度痂皮形成（深部傷害）まで

浮腫形成：

0；浮腫なし

1；非常に軽度の浮腫(かろうじて識別できる)

2；軽度の浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)

3；中等度の浮腫(約 1 mm の膨隆)

4；重度の浮腫(1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)

結果： 発赤の評点および浮腫の程度（皮膚の厚み）について、表 1 に示す。
 本試験では、感作処理により軽度の発赤と浮腫が、さらに数匹の動物で壊死が認められたが、10 回投与の感作処理中、これらの皮膚反応が増悪化することはなかった。
 惹起処理後、軽度の発赤と浮腫が認められたが、この反応は非感作処理群に対し惹起処理を行った群と差は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下において本剤は、モルモットに対する皮膚感作性を有さないと判断する。

表 1. 発赤の評点と浮腫の程度

群	処理		惹起処理後の皮膚反応					
			発赤（評点）			浮腫（皮膚の厚み：mm）		
	感作	惹起	24 時間	48 時間	72 時間	24 時間	48 時間	72 時間
試験群 12 匹の平均	検体 10%	検体 10% （右側）	2.00	1.83	1.83	3.91	3.78	3.58
	検体 10%	生食水 （左側）	0.75	0.08	0.00	3.31	3.20	3.10
対照群 6 匹の平均	生食水	検体 10% （右側）	0.92	0.92	0.92	4.42	4.35	3.98
	生食水	生食水 （左側）	1.33	0.67	0.00	4.02	3.67	3.53

生食水：生理的食塩水

4. 急性神経毒性

4-1. ラットにおける急性神経毒性試験

(資料 26)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

試験動物：ウィスター系 [CrIGlxBrIHan:WI] ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 49±1 日齢、

投与開始時の体重範囲：雄 170.4-220.4 g、雌 121.2-161.8 g

観察期間：14 日間

投与方法：検体を再蒸留水に溶解して、その 10 mL/kg を、0、100、300 及び 1200 mg/kg (有効成分として 0、58、174 及び 697 mg/kg) の用量となるよう強制経口投与した。また、投与の直前に投与液を抜き取り分析した。

用量設定根拠：予備試験としてホームケージ内の動物の臨床症状を確認する最大影響確認試験を実施した。1 群雌雄各 3 匹のラットに 0、200、300、400 及び 600 mg/kg (有効成分、0、123、185、247 及び 370 mg/kg 相当) を強制経口投与した試験では影響が見られなかったため、0、800、1000 及び 1200 mg/kg (有効成分 0、494、617 及び 740 mg/kg 相当) を投与した群を追加した。1200 mg/kg 群において嗜眠、振戦、不安定歩行及び眼瞼の半閉鎖が、1000 mg/kg 群において嗜眠、振戦、不安定歩行等が認められたことより、1200 mg/kg を高用量群とし、以下 300 及び 100 mg/kg を設定した。最大影響は投与約 2 時間後であった。

試験項目及び結果：結果はすべて有効成分量として示す。

死亡率：生死を毎日観察した。

697 mg/kg 群の雄 1 例が試験 0 日の FOB 中に死亡し、投与に関連したものと判断した。

一般状態：一般状態はホームケージ内で毎日観察した。

表 1. 一般状態の発生率

用量 (mg/kg)	雄				雌			
	0	58	174	697	0	58	174	697
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
立毛	0	0	0	1	0	0	0	0
痂皮	0	0	0	0	0	0	1	0

統計検定未実施。

投与に関連して 697 mg/kg 群雄 1 例に立毛が投与 1-3 日までみられた。174 mg/kg 群雌 1 例に 1-2 日までみられた痂皮は偶発的なものと判断した。

体重の変化：試験 7 日前、試験 0、7 及び 14 日の機能観察総合検査 (FOB) を行ったその日に測定した。体重変化として 0 日との体重差を算出した。

以下に有意差の認められた項目及び時期を示す。

表 2. 体重変化

測定時期	雄 (mg/kg)			雌 (mg/kg)		
	58	174	697	58	174	697
試験 7 日			77.6 ↓			

統計学的方法：Dunnett (両側) 検定 ↓：p<0.01

表中の数値は対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差なし。

697 mg/kg 群雄の 7 日目に投与の影響として体重増加が有意に抑制された。

機能観察総合検査 (FOB)：全動物を対象に、体重測定日に盲検でホームケージ内観察、オープンフィールド観察、感覚運動検査並びに反射検査を行った。

ホームケージ観察：姿勢 (0-7)、振戦 (0-3)、痙攣 (0-3)、異常動作 (0-4)、歩行障害 (0-7)

オープンフィールド観察：ケージから取り出したときの行動 (0-4)、被毛 (0-5)、皮膚 (0-7)、流涎 (0-3)、鼻の分泌物 (0-2)、流涙 (0-3)、眼/瞳孔サイズ (0-7)、姿勢 (0-7)、眼瞼閉鎖 (0-3)、呼吸 (0-4)、振戦 (0-3)、痙攣 (0-3)、異常動作/常同運動 (0-4)、歩行障害 (0-4)、活動性/覚醒レベル (0-4)、2 分間以内の糞 (糞粒数/外観/硬さ) (0-6)、2 分間以内の尿 (量/色) (0-3)、2 分間以内の立ち上がり回数

感覚運動/反射：接近反応 (0-3)、接触反応 (0-4)、視覚 (視覚性踏み直り反応) (0-1)、瞳孔反射 (0-3)、耳介反射 (0-1)、聴覚 (驚愕反応) (0-3)、運動協調性 (正向反応) (0-3)、取扱い中の行動 (0-3)、異常発声 (0-3)、疼痛反応 (テールピンチ) (0-3)、握力 (前肢/後肢)、着地開脚幅

() は各検査項目のランク範囲を示す

FOB 観察及び感覚運動/反射の検査で観察された毒性所見の発生頻度を次頁以降の表 3-1 及び 3-2 に示す。

試験 0 日 (投与約 2 時間後) の検査でのみ、毒性所見が観察された。その他の検査時期には観察されなかった。

表 3-1. 試験 0 日 (投与約 2 時間後) に観察された毒性所見の発生動物数

観察項目	ラ ン ク	所 見	影響の認められた動物数							
			雄 (mg/kg)				雌 (mg/kg)			
			0	58	174	697	0	58	174	697
群動物数			10	10	10	10	10	10	10	10
ホームケージ観察										
姿勢	3	腹臥位				3				5
その他	2	眼瞼半閉鎖				6				2
オープンフィールド観察										
ケージからの取 出し時の行動	1	軽度の抵抗								3
	2	無抵抗/無関心				4				3
被毛	3	立毛				1				
姿勢	2	うずくまり姿勢				3				5
	3	腹臥位				3				2
眼瞼閉鎖	1	軽度				2				3
	2	半閉鎖				4				2
呼吸	1	努力呼吸				1				
	2	喘鳴/呼吸音				6				4
振戦	1	軽度				7				2
歩行障害	3	軽度の協調性障害、 不安定歩行				5				3
	4	中等度の協調性障害、 引きずり歩行				1				3
	7	歩行不能 (腹臥位又は側臥位)				1				
活動性/覚醒レ ベル	1	探索行動の低下				6				6
	2	探索行動の重度低下、 無関心				2				
感覚運動テスト/反射										
瞳孔反射	1	刺激に対し反応なし				6				6

統計検定未実施。空欄は影響の認められた動物数なし。

表 3-2. 統計学的有意差の認められた項目

検査項目	検査 時期	雄 (mg/kg)			雌 (mg/kg)		
		58	174	697	58	174	697
立ち上がり回数	0 日		238 ↑	12.5 ↓			1 ↓
後肢握力	14 日						86 ↓

統計学的方法 : Kruskal-Wallis + Wilcoxon (両側) 検定 ↑ ↓ : p < 0.05, ↓ : p < 0.01

表中の数値は対照群を 100% とした際の相対値。空欄は有意差なし。

立ち上がり回数は 697 mg/kg 群の雌雄で有意に低下した。雄 174 mg/kg 群に認められた有意な増加は、用量関連性がなく毒性学的意義はないと判断した。投与 14 日目に認められた雌の後肢握力の低下は軽度であり、しかも遅れて発現していることから毒性学的意義はないものと判断した。

自発運動量：FOB 検査後に全動物を対象として、試験 7 日前、0 (午前 11:30)、7 及び 14 日にビームを遮る回数を 5 分間隔で 12 回評価した。測定中ラットには餌及び水は与えなかった。

表 4 のように、試験 0 日の検査でのみ、統計学的有意差が認められた。

表 4. 総自発運動量

検査項目	検査時期	雄 (mg/kg)			雌 (mg/kg)		
		58	174	697	58	174	697
総自発運動量	試験 0 日		82	11 ↓			23 ↓

統計学的方法：Kruskal-Wallis + Wilcoxon (両側) 検定 ↓ : p < 0.01

表中の数値は対照群を 100% とした際の相対値。

総自発運動量 (測定間隔 1-12 の合計) の有意な低下は 697 mg/kg 群雌雄に測定された。これは FOB 検査時に観察された歩行障害のレベルに一致しており、投与に関連性があった。個々の測定間隔の比較では自発運動量の低下は測定の 35 分以内に検出された。雄の 174 mg/kg 群では総自発運動量に有意差はなかったが、軽度に低下していた。個々の測定間隔において測定の 10 分以内で有意な低下を示しており、投与の影響であった。

肉眼的病理検査：試験終了後、番号順に各群の生存動物 5 匹を Narcoren (4 mL/kg) で深麻酔して、Karnovsky に準じた固定用液を用いて灌流固定した後、肉眼的病理検査を行った。異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査：灌流固定した 5 匹を対象として、下記のように病理組織学的標本作製して鏡検した。

プラスチック包埋標本の作製：対照群及び 697 mg/kg 群の雌雄を対象として、下記の固定組織をプラスチック包埋 (エポキシ樹脂)、半薄切り、アズール II-メチレン青-塩基性フクシン染色して標本作製した。

末梢神経系 [背根神経節、背根神経線維、腹根神経線維 (C3-C6)；背根神経節、背根神経線維、腹根神経線維 (L1-L4)]、近位坐骨神経、近位脛骨神経 (膝部)、遠位脛骨神経 (下肢部)

パラフィン包埋標本の作製：対照群及び 697 mg/kg 群の雌雄を対象として、下記の固定組織をパラフィン包埋 (パラプラスト)、薄切り、ヘマトキシリン-エオジン染色標本作製した。

脳 [前頭葉、間脳を含む頂頭葉、後頭葉及び側頭葉を含む中脳、脳橋、小脳、延髄] (横断切片)、網膜及び視神経を含む眼、脊髓 [頸部膨大部 (C3-C6)、腰部膨大部 (L1-L4)] (横断切片)、末梢神経系 [神経を含むガッサー神経節、腓腹筋]

認められた病変(対照群及び 697 mg/kg 群の各 5 例のみ検査)を次表に示す。

表 5. 病理組織学的検査所見

所見\発生部位	雄 (mg/kg)				雌 (mg/kg)			
	0	58	174	697	0	58	174	697
軸索変性								
遠位脛骨神経	2 (7, 9)	-	-	1 (3)	0	-	-	1 (62)
近位坐骨神経	2 (10, 23)	-	-	0	0	-	-	2 (64, 67)
ガッサー神経節	0	-	-	0	0	-	-	1 (67)

表内の数値は所見のみられた動物数。

()内の数値は所見のみられた動物番号。

認められた神経病理学的病変は末梢神経系における軸索変性であったが、この病変は性質上偶発的または自然発生性で、投与に関連がないと考えられる。

以上より、697 mg/kg までの用量を経口投与した急性神経毒性試験において、試験 0 日のみにおいて、検体投与に関連した歩行異常等の一般状態の毒性、瞳孔反射の低下、立ち上がり回数及び自発運動量の低下が 697 mg/kg 群の雌雄に認められた。174 mg/kg 群の雄においては軽度な自発運動量の低下が認められた。全ての影響は 7 日後の FOB 検査時には回復した。

検体投与に関連性のある神経病理学的病変は認められなかった。

697 mg/kg 群雄において試験終了時に有意な体重低下が認められた。

これらの臨床的影響は、既に知られているメピコートクロリドの薬理作用(すなわちニコチン性、ムスカリン性受容体との反応性: 資料 43 および 44) に依存するものと考えられる。従ってこれらの影響は非可逆的な神経毒性の徴候ではなく、受容体に対する可逆的結合を示している。無毒性量 (NOAEL) は雄で 58 mg/kg (有効成分値) 及び雌で 174 mg/kg (有効成分値) であった。

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

Mepiquat-Chloride

5. 急性遅発性神経毒性

急性経口毒性試験および急性神経毒性試験の結果より、急性遅発性神経毒性の懸念がなかったことから、当該試験は不要と判断し実施しなかった。

6. 亜急性経口投与毒性

6-1. ラットを用いた飼料混入投与による 4 週間亜急性経口毒性試験 (資料 9)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： SD 系ラット 1 群雌雄各 25 匹。なお、対照群および最高用量群には雌雄各 10 匹の 4 週間回復を加えた。

試験開始時週齢；雄 39 日齢 雌 42 日齢

試験開始時体重；雌雄ともに 110-115 g

観察期間： 投与期間 4 週間、回復期間 4 週間。

投与方法： 検体を粉末飼料に混合して、0、250、1000、2500 および 10000 ppm の濃度とし、4 週間にわたって随時摂食させた。

試験項目および結果：

一般症状および生死；一般症状観察および生死判定を試験期間中毎日実施した。

本試験では、いずれの投与群においても死亡例は認められなかった。

投与開始後、10000 ppm 群においてのみ鎮静 (5-8 日より)、軟便 (2-3 週目より) および毛繕い行動の消失 (2-3 週目より) が認められた。これらの症状は、投与終了まで持続し、回復 10 日後までにはすべて消失した。

体重；全動物の体重を毎週測定した。

試験終了時の体重を表 1 に示す。

表 1. 投与終了時および回復期間終了時の体重 (%)

検査時期	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	250	1000	2500	10000	250	1000	2500	10000
投与終了後			94	74 \downarrow			96	83 \downarrow
回復期間終了後	-	-	-	89	-	-	-	96

統計学的解析：分散分析、Student t-test； \downarrow ： $p \leq 0.01$ 矢印のない数値は有意差なし

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

-：実施せず

投与期間中、対照群と比べ、2500 ppm 投与群の雌雄では体重の抑制傾向が認められ、10000 ppm 投与群の雌雄では有意な体重の抑制が認められた。10000 ppm 投与

群で認められた体重の抑制は、その後の回復期間中に回復し、回復期間終了時には対照群に比し有意差は認められなかった。

摂餌量；摂餌量は毎日測定し、週毎の平均値を算出した。

2500 および 10000 ppm 投与群の摂餌量 (g/head/week) は、対照群と比較し低値を示す傾向を示したが、体重当りの換算値 (g/kg/week) では差は認められなかった。また 10000 ppm の 4 週間投与終了後の回復期では、対照群と比べ体重当りの換算値は高値を示す傾向にあった (ただし、統計学的有意な変動ではない)。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

検体摂取量		投与量 (ppm)			
		250	1000	2500	10000
mg/kg/day	雄	27.0	109.3	268.3	1055.0
	雌	28.3	109.3	279.5	1002.5

血液学的検査；投与前および投与開始 2 週間、4 週間後に、各群より選抜した 10 匹の後眼窩静脈叢から採取した血液を用い、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固時間
いずれの検査時期および検査項目についても統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

血液生化学的検査；血液学的検査用血液の採血と同時に採取した血液の血清を用い、以下の項目について検査した。

アラントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、ヨウ素 (I)
統計学的有意差の認められた項目を表 2 に示す。

投与終了後に、ヨウ素の値が、10000 ppm 投与群の雌雄で有意に減少したが、4 週間の回復期間後には回復し対照群と差が認められなかった。他の項目については、すべての検査時期で統計学的有意差は認められなかった。

表 2. 血中ヨウ素 (%)

検査時期	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	250	1000	2500	10000	250	1000	2500	10000
投与終了後				80↓				77↓
回復期間終了後	-	-	-	94	-	-	-	99

統計学的解析：分散分析、Student` t-test；↓：p≤0.01 矢印のない数値は有意差なし

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

-：実施せず

尿検査：血液学的検査と同時期に、各群より選抜した 10 匹に対し、0.3%食塩水を強制経口投与した後、代謝ゲージに收容して採尿した。回収した尿は、以下の項目の検査に使用した。

色調、比重、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ヘモグロビン、ビリルビン、沈渣

全ての検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

眼科学的検査、聴覚(単純な騒音試験)および歯列検査：投与終了後および回復期間終了後に実施した。

全ての検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

肉眼的病理検査：試験終了時(投与終了時および回復期間終了時)の全生存動物を屠殺、剖検した。

10000 ppm 投与群の雄 1 例で、前胃粘膜における褐色斑および周囲の浮腫が認められた。また同用量群の雌 2 匹においても同部位での赤褐色斑が認められた。

臓器重量：肉眼的病理検査を実施した動物から以下の組織を採取し、臓器重量を測定、対体重比を算出した。

心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、精巣、卵巣、甲状腺、脳
本試験において、有意差の認められた組織を表 3 に示す。

10000 ppm 投与群では、様々な組織の絶対重量が統計学的有意な減少を示したが、対体重比ではいずれの組織も統計学的有意な減少は認められなかった。2500 ppm 群雄では、肝臓、副腎(右側)および甲状腺の絶対重量に統計学的有意な減少が認められたが、対体重比では有意な差は認められなかった。回復期間後、左腎臓を除くすべての臓器で臓器重量は対照群と同等であった。したがって、これらの臓器重量の低下は体重の低下に基づく変化と申請者は判断した。

表 3. 臓器絶対重量 (%)

臓器	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	250	1000	2500	10000	250	1000	2500	10000
最終体重			95	75↓				84↓
心臓				75↓				77↓
肝臓			77↓	60↓				82↓
肺				75↓				80↓
脾臓				69↓				71↓
腎臓/左				77↓				80↓
腎臓/右				76↓				81↓
副腎/左				81↓				86↓
副腎/右			88↓	81↓				
胸腺				68↓				63↓
下垂体								73↓
卵巣/左			-	-				71↓
卵巣/右			-	-				72↓
甲状腺			79↓	79↓				79↓
脳								96↓
腎臓* (左:回復期 間終了時)				87↓				

統計学的解析: 分散分析、Student` t-test; ↓: $p \leq 0.01$ 矢印のない数値は有意差なし
表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

*: 回復群では左腎のみ有意差が認められた

病理組織学的検査; 肉眼的病理検査を実施した動物から下記の臓器/組織を採取し、対照群および最高用量投与群 (10000 ppm 投与群) については、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本を作製し、鏡検した。心臓、肝臓および腎臓はズダン染色も実施した。また、最高用量投与群の胃に対照群を含む他群で認められない肉眼的病理所見があったため、2500 ppm 投与群の胃についても病理組織学的検査を実施した。回復群に対しては、検査を実施しなかった。

脳、下垂体、眼球、耳下腺、甲状腺、胸腺、食道、気管、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胃、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、リンパ節、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮、骨、骨髄、骨格筋、末梢神経、大動脈

肉眼的病理検査で特異的所見が認められた胃において、胃上皮細胞層の乳頭状増

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

Mepiquat-Chloride

殖、慢性炎症、水腫が雄に 1 例、上皮細胞層の出血性糜爛が 3 例（雄：1/25；雌 2/25）認められた。これら胃での病理組織学的所見は、検体投与に起因するものと考えられるが、2500 ppm 群では認められなかった。

以上の結果より、本剤をラットに 4 週間混餌投与した結果、10000 ppm 群では一般状態の悪化、摂餌量の減少傾向を伴い有意な体重抑制が認められた。また、血清中ヨウ素の減少、胃の上皮細胞層の乳頭状増殖、慢性炎症、水腫、上皮細胞層の出血性糜爛が少数例に認められた。2500 ppm では摂餌量のわずかな低下を伴い、体重の軽度抑制が認められた。したがって、無毒性量は 1000 ppm（雌雄ともに 109.3 mg/kg/day）と判断した。

6-2. ラットを用いた飼料混入投与による 4 週間亜急性経口毒性試験 (資料 27)

試験機関 :

報告書作成年 : [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : ウィスター系ラット [Chbb:Thom(SPF)] 1 群雌雄各 5 匹

試験開始時週齢 : 42 日齢

試験開始時体重 : 雄 177-191 g 雌 139-159 g

観察期間 : 4 週間

投与方法 : 検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要濃度の飼料を添加・混合して 0、864、3454 および 13817 ppm (有効成分換算 0、500、2000、および 8000 ppm) の混餌を調製し、4 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は、1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠 : 年に Laboratorium für Pharmakologie und Toxikologie において、資料 9 に示すように同内容の試験が実施されている。しかしながら、既報の試験は非 GLP 試験であり、またガイドラインに準じるものではなかったため、新たに試験を実施した。したがって、既報試験の結果を考慮し、500、2000 および 8000 ppm で本試験を実施した。

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について、毎日観察した。

検体投与に関連する中毒症状も死亡例も認められなかった。

体重 : 投与前日および試験期間中は 1 週間に 1 度測定した。

有意差の認められた測定日を表 1 に示す。

表 1. 体重 (%)

性別		雄			雌		
		500	2000	8000	500	2000	8000
検査時期	投与前						
	投与後 7 日			82.4 ↓ ↓			90.7 ↓ ↓
	投与後 14 日			81.4 ↓ ↓			91.1 ↓ ↓
	投与後 21 日			82.4 ↓ ↓			
	投与後 28 日			83.1 ↓ ↓			

統計学的解析 : Krustal-Wallis + Mann-Whitney u-test (両側)、↓↓ : $p \leq 0.02$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差なし

検体投与開始後、雄では 8000 ppm 群において、投与後 7 日から試験終了 (28 日) まで有意な体重抑制が認められた。同群の雌でも有意な体重抑制が投与後 7-14 日まで認められた。

摂餌量 ; 摂餌量は、1 週間に 1 度測定した。

摂餌量の変動を、対照群に対する変動率 (%) で表 2 に示す。

表 2. 摂餌量 (%)

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		500	2000	8000	500	2000	8000
検査時期	投与後 7 日	101.6	96.8	52.0	99.5	98.9	64.2
	投与後 14 日	101.5	102.3	76.7	96.3	100.5	87.8
	投与後 21 日	101.1	98.1	82.5	96.3	100.5	94.1
	投与後 28 日	100.0	99.6	87.8	100.0	101.1	94.1

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。 統計学的解析：実施せず

雌雄ともに、8000 ppm 群において、検体投与開始後 7 日で摂餌量の顕著な減少が認められた (対対照比 雄 : 52% ; 雌 : 64%)。しかしながら、その後、摂餌量の回復が認められたが、試験終了時 (投与 28 日) でも雄は 88%と少なく、雌は対対照比で 94%と対照群よりわずかに少ない程度まで回復した。

検体摂取量 : 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	500	2000	8000	500	2000	8000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	44	175	633	48	191	688

血液学的検査 ; 投与開始後 29 日目に、供試動物 (非絶食・非麻酔下) の眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について検査した。各データの統計学的解析は、Kruskal-Wallis + Mann-Whitney u-test (両側) を用いて実施した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、血液凝固系 (トロンボプラスチン時間 : TPT)

いかなる検査項目についても、対照群と投与群との間に、有意な変動は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査に用いた血液より血清を回収し、以下の項目について検査した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、血清γ-グルタミルトランスフェラーゼ (SGGT)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)、マグネシウム (Mg)

有意差の認められた検査項目を、対照群に対する変動率 (%) として表 3 に示す。

表 3. 血液学的検査 (%)

性別		雄			雌		
		投与量 (ppm)	500	2000	8000	500	2000
検査項目	Urea		112.2 ↑				
	Gluc			87.8 ↓ ↓			
	T. Pro			92.7 ↓ ↓			
	Alb			93.3 ↓ ↓			
	Glob			92.1 ↓ ↓			
	TG		73.2 ↓	45.7 ↓ ↓			
	Chol			122.0 ↑ ↑			

統計学的解析：Kruskal-Wallis + Mann-Whitney u-test (両側) ↑ ↓ : $p \leq 0.05$; ↑ ↑ ↓ ↓ : $p \leq 0.02$

表中の数値は、対照群を 100% とした際の相対値。 空欄は有意差なし

雄において、8000 ppm 群でグルコース、総タンパク、アルブミン、グロブリン、トリグリセリドおよびコレステロール値に有意な変動が認められた。2000 ppm 群でもトリグリセリド値の有意な減少が認められた。これらの変動は、雄においてのみ認められた反応であり、また栄養状態によって容易に変化するものである。8000 ppm 群の雄では、摂餌量の減少および体重抑制が認められていることから、これらの影響によるものと判断する。また、2000 ppm 群の雄にのみ、血清尿素値の有意な増加が認められたが、用量関連性がなく、雌では認められないことから毒性学的意義がなく、検体投与に起因するものではないと判断した。

臓器重量；試験終了後の全生存動物を対象として、二酸化炭素麻酔下での断頭処理による放血屠殺後、以下の臓器重量を測定し対体重比を算出した。

重量の各データは、Kruskal-Wallis h-test を行い、有意差が認められた場合に

Wilcoxon u-test を行い対照群と投与群を比較した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、麻酔動物（体重測定）

有意差の認められた結果を表 4 に示す。

表 4. 臓器重量：絶対値および対体重比（%）

性別		雄			雌			
投与量 (ppm)		500	200	8000	500	200	8000	
臓器	最終体重			81.6 ↓ ↓			89.5 ↓ ↓	
	肝臓	重量			71.6 ↓			
		対体重比			88.0 ↓			
	腎臓	重量			86.5 ↓			88.1 ↓
		対体重比						
	精巣	重量						
		対体重比			126.5 ↑ ↑			
	副腎	重量						
		対体重比			114.8 ↑			

統計学的解析：Kruskal-Wallis + Mann-Whitney U-test（両側） ↓ ↓ : p ≤ 0.05 ; ↑ ↑ ↓ ↓ : p ≤ 0.02
 表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。 空欄は有意差なし

8000 ppm 群においてのみ、雌雄ともに最終体重の有意な抑制が認められた。また、雄では肝臓（重量および対体重比）および腎臓（重量）の有意な減少、精巣（対体重比）および副腎（対体重比）の有意な増加が認められ、雌では腎臓（重量）の有意な減少が認められた。これらの変動は検体投与による直接的変動ではなく、摂餌量の減少を伴う体重の抑制に起因していると考えられた。

肉眼的病理検査；試験終了後の全生存動物について、剖検を実施した。

検体投与に起因するいかなる肉眼的病理所見も認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を行った動物から、以下の臓器/組織を摘出し、対照群および 8000 ppm 群については全組織を、中間用量群（500、2000 ppm 群）についてはすべての動物の肝臓、脾臓および全ての肉眼的異常部位のみをヘマトキシリン・エオジンで染色して病理標本を作製し、鏡検した。また、対照群および 8000 ppm 群の脾臓についてはパール染色も行った。

肝臓、腎臓、脾臓、副腎、心臓、肉眼的所見異常部位

検体投与に起因する病理組織学的所見異常は認められなかった。

検体をラットに 28 日間混餌投与した結果、500 および 2000 ppm 投与群では毒性学的な異常

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

Mepiquat-Chloride

所見は認められず、8000 ppm 群においてのみ、摂餌量の減少を伴う体重抑制が認められ、経時的に回復傾向にあった。また、雄においてのみ、グルコース、総タンパク、アルブミン、グロブリン、トリグリセリドおよびコレステロール値に有意な変動および臓器重量の変動が認められた。しかし、病理組織学的に検体投与による異常所見は認められず、これらの変動は摂餌量の減少を伴う体重抑制による影響と考えられ、検体投与による直接的影響ではないと判断される。よって、8000 ppm (雄 : 633 mg/kg/day ; 雌 : 688 mg/kg/day) 以上が毒性誘発濃度と判断する。また無毒性量は、2000 ppm (雄 : 175 mg/kg/day ; 雌 : 191 mg/kg/day) となる。

6-3. イヌを用いた飼料混入投与による 4 週間亜急性経口毒性試験 (資料 28)

試験機関 :

報告書作成年 : [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬 1 群雌雄各 2 匹

試験開始時月齢 : 11-13 ヶ月齢

試験開始時体重 : 雄 10.3-15.0 kg 雌 8.8-13.1 kg

観察期間 : 4 週間

投与方法 : 検体を水に希釈し、有効成分換算濃度で 0、6000 および 12000 ppm を飼料に混入し、4 週間にわたって毎日 700 g (混餌 350 g および水 350 g を加えてペースト状にした飼料) を摂食させた。検体の水溶液は 32 日間安定であることが確認されていたので、試験開始前に 1 回のみ調製した。混餌への水の添加は投与直前に行った。

用量設定根拠 : 同研究所において、同系統のラットを用いた 12 ヶ月混餌投与試験 (資料 12) では、200、600 および 1800 ppm で試験を実施した。当該試験では、最高用量で僅かに毒性徴候が認められるだけであったため、補足試験として用量範囲設定を目的とし、6000 および 12000 ppm で本試験を実施した。

試験項目および結果 :

一般状態および生死 : 一般状態および生死について、毎日観察した。また、一般状態観察に加え、流涎についても投与前および投与後 2、4、6 時間後に実施した。

投与開始後 1 日で 12000 ppm 群の雌が 1 匹死亡した。投与関連性を無視できない死亡である。生存動物に関しては、検体投与に起因するような一般状態異常は認められなかった。また、流涎は雌雄の両投与群で異なる程度・頻度で認められた。雄では、給餌 2 時間後から 4-6 時間後まで認められたが、翌日の給餌前には回復していた。雌では、散発的に認められた。しかしながら、雌は観察時間の 6 時間以内に常に全量を摂食しているわけではなかったため、雌での流涎反応に毒性学的意義はないものと考えられる。

体重 : 試験期間中毎週 1 回、全動物の体重を測定した。

投与群の体重変化は、対照群と同様な増加を示したことから、本検体投与による影響は認められないと判断した。

摂餌量 : 毎日午前中に給餌し、翌朝の残量から 1 日あたりの摂餌量を算出した。

試験期間中の平均摂餌量を次表に示す。

対照群および各投与群の雌雄ともに、給餌飼料をすべて摂取していた。まれに、雌

は給餌を残す場合もあったが、散発的であり、またそのような個体は対照群にも認められたので、本検体の投与は摂餌に影響しないものと判断した。

表 1. 平均摂餌量(給餌量に対する摂食率%)

群 (ppm)	0	6000	12000
雄	100	100	100
雌	95	100	95

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 1. 平均検体摂取量

平均検体摂取量 (mg/kg/day)		
投与量 (ppm)	6000	12000
雄雌平均	185	308

血液学的検査：絶食させた動物の前腕橈側皮静脈より、投与 21 日前および投与 27 日後に採血し、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (部分トロンボプラスチン時間：PTPT；トロンボプラスチン時間：TPT)

雌雄とも検体投与に起因する変動は認められなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査用の採血と同時に採血した血液から得た血清を用いて、以下の項目について検査した。

アラントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)

雌雄とも検体投与に起因するような変動は認められなかった。

尿検査：投与 18 日前および投与 24 日後に、各動物を代謝ケージに移し、絶食および給水 (500 mL) 下で一夜尿を採取し、以下の項目について検査した。

尿量、色調、濁度、亜硝酸塩、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

雌雄とも検体投与に起因するような変動は認められなかった。

臓器重量：試験終了時の全生存動物（各群雌雄各5例）を対象として、麻酔下で瀉血屠殺し、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。試験終了後の全生存動物に対し、麻酔下で頸静脈からの放血により屠殺し、以下の組織を摘出、重量測定を実施した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、麻酔動物（体重測定）

雌雄とも検体投与に起因するような変動は認められなかった。

肉眼的病理検査：試験終了時の全生存動物および死亡動物について剖検を行った。

雌雄とも検体投与に起因するような肉眼的病理所見は認められなかった。また、12000 ppm 群雌で認められた死亡例（1例）にも、異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器/組織についてヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本を作製し、鏡検した。肝臓および脾臓についてはパール鉄染色も行った。

全肉眼的病理異常所見部位、肝臓、心臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣

雌雄とも検体投与に起因するような病理組織学的異常所見は認められなかった。

12000 ppm 群雌の死亡例にも検体投与に起因するような病理組織学的異常所見は認められなかった。

本検体の 6000 および 12000 ppm 含有混餌をイヌに4週間摂取させた場合、両投与群とも流涎が認められ、その程度および発生頻度には差が認められたが、可逆的であり、一時的神経機能障害の後遺症であると思われた。さらに 12000 ppm 群では雌1例の死亡が認められた。

以上の結果より、本検体の無影響量（NOAEL）は雌雄 6000 ppm（185 mg/kg/day）未満であると判断する。

6-4. ラットを用いた飼料混入投与による3ヶ月亜急性経口毒性試験 (資料 10)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： SD系ラット 1群雌雄各25匹

試験開始時週齢：雄 38日齢、雌 40日齢

試験開始時体重：雄 100-105 g 雌 100-105 g

観察期間： 3ヶ月間

投与方法： 検体を粉末飼料に混合して、0、100、300、1000 および 3000 ppm の濃度とし、3ヶ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は週1回調製した。

投与量設定根拠： 4週間経口投与した亜急性毒性試験（資料9）において、2500 ppm では摂餌量のわずかな低下を伴い、体重の軽度抑制が認められ、無毒性量は 1000-2500 ppm の間にあると判断されたことから、最高用量を 3000ppm とし、公比約3として、1000、300 および 100 ppm を選定した。

試験項目および結果：

一般症状および生死： 一般状態および生死を毎日観察した。

死亡例は認められず、また一般状態においても対照群と検体投与群との間に明らかな変化は認められなかった。

体重： 週に1回体重を測定した。

試験終了時の体重および体重増加量を表1に示す。

表1. 体重および体重増加量 (%)

検査時期	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
体重				91↓				92↓
体重増加量				87↓				87↓

統計学的解析： 分散分析、Student t-test；↓： $p \leq 0.01$ 矢印のない数値は有意差なし

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

3000 ppm 群では雌雄とも体重および体重増加量の抑制が認められた。1000 ppm 以下の群では対照群と同等であった。

摂餌量： 摂餌量は毎日測定した。週毎の平均値を算出した。

3000 ppm 投与群の雌雄で試験の後半で摂餌量の減少が認められた。^{申請者注}

しかし、摂餌量に関する図（報告書 207-208 頁）から雄では試験の後半に対照群より投与群の摂餌量が多く、雌では投与群と対照群で顕著な差は認められないことから、検体投与の影響はなかったものと判断する。

（統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$ ）

（申請者注）報告書の結果部分（14 頁）には、上記のような記載があるが、報告書では摂餌量の数値記載がなく平均値の図示（207-208 頁）のみである。図から「雄では試験の後半に対照群より投与群の摂餌量が多い。雌では投与群と対照群で顕著な差は認められない。」という記載は、大きな変動が読み取れず、また報告書の結果部分の記載には、統計学的解析を実施しているにもかかわらず「統計学的有意な」という記載もない。したがって、摂餌量に関しては、本試験期間中変動は認められなかったと判断する。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

検体摂取量		投与量 (ppm)			
		100	300	1000	3000
mg/kg 体重/日	雄	9.2	27.6	91.8	275.5
	雌	8.9	26.7	91.2	278.8

血液学的検査；投与開始前、投与後 6 および 13 週間後（投与終了時）、各群より選抜した雌雄各 10 匹を用い、後眼窩静脈叢より採取した血液を用い以下の項目に関する検査を実施した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系（プロトロンビン時間：PTT）。

いずれの検査時期および検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

（統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$ ）

血液生化学的検査；血液学的検査用血液の採血と同時に採取した血液の血清を用いて、以下の項目に関する検査を実施した。

アラントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)、脂肪酸エステル (FAE)、遊離脂肪酸 (FFA)

いずれの検査時期および検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

（統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$ ）

尿検査；血液学的検査と同時期に 0.3%生理的食塩水を強制経口投与した後、代謝ケージ

に收容して採尿し、以下の項目について検査した。

色調、比重、pH、タンパク、糖、ビリルビン、ヘモグロビン、尿沈渣

いずれの検査時期および検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

眼科学的検査、聴覚(単純騒音試験)および歯列の検査；投与終了時の全生存動物を対象として実施した。

検体投与に起因する変化は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

肉眼的病理検査；投与終了時、全動物を屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。

対照群および投与群ともに検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

臓器重量；肉眼的病理検査を実施した動物から、以下の臓器を採取し、臓器重量を測定した。また、対体重比を算出した。

脳、心臓、肝臓、肺、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、甲状腺、精巣、卵巣
対照群と比べ有意な変動を示した臓器を表 2 に示す。

表 2. 臓器絶対重量 (%)

臓器	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
最終体重	97	99	102	91↓	100	99	99	92↓
心臓				93↓				
肺				88↓				
肝臓	97	93	95	93				95
脾臓				85↓				
腎臓/左				90↓				
腎臓/右				93				
胸腺						86↓		
下垂体					117↑			

統計学的解析：分散分析、Student` t-test；↑↓： $p \leq 0.01$ 矢印のない数値は有意差なし
表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

3000 ppm 投与群雄では、心臓、肺、脾臓および腎臓（左側）の重量減少が認められたが、対体重比では有意差がなく、体重増加抑制によるものと考えられる。また、300 ppm 投与群雌で胸腺重量の有意な減少および 100 ppm 投与群雌での下垂体重量の有意な増加が認められたが、いずれも用量依存性がないことから、投与に起因する変化ではないと判断した。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物から下記の臓器/組織を採取し、対照群および 3000 ppm 投与群について、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標

本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、眼球、甲状腺、耳下腺、胸腺、食道、気管、肺、心臓、肝臓、脾臓、大動脈、腎臓、副腎、胃、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、リンパ節、膀胱、生殖腺、前立腺、子宮、骨、骨髄、骨格筋、末梢神経、乳腺、

炎症（心臓、気管、肝臓、腎臓、子宮、大腸、膀胱、リンパ節）、腎臓での円柱、嚢胞形成（胸腺、下垂体、甲状腺）、精巣萎縮、甲状腺機能亢進、甲状腺腺腫、主要所見として表3のような所見が認められたが、いずれも対照群と同頻度の発生であり、検体投与の影響は認められなかった。

表3. 主要所見（各群 25 例中の発生頻度）

臓器	所見	雄		雌	
		対照	3000 ppm	対照	3000 ppm
心臓	心筋炎	1	3		
気管	炎症	6	5	3	4
肝臓	慢性肝炎	1		3	
腎臓	間質腎炎	1	2	1	
	円柱		1	2	1
大腸	炎症	6	13	9	7
	リンパ ^o 過形成	10	13	14	9
リンパ節	炎症	7	5	3	2
胸腺	嚢胞			1	3
下垂体	嚢胞	2	2		2
甲状腺	機能亢進	14	18	6	2
乳腺	過形成	7		4	
精巣	萎縮	2	4		

統計検定未実施

以上の結果より、本剤をラットに3ヵ月間混餌投与した結果、3000 ppm 群で体重および体重増加の抑制が認められたのみであった。したがって無毒性量は 1000 ppm（雄：91.8 mg/kg/day、雌：91.2 mg/kg/day）と判断する。

6-5. ラットを用いた飼料混入投与による 13 週間亜急性経口毒性試験 (資料 29)

試験機関 :

報告書作成年 : [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : ウィスター系ラット [Chbb:Thom(SPF)] 1 群雌雄各 10 匹

試験開始時週齢 : 42 日齢

試験開始時体重 : 雄 166-196 g 雌 131-156 g

観察期間 : 13 週間

投与方法 : 検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要濃度の飼料を添加・混合して 0、250、1000、4000 および 8000 ppm (有効成分換算 0、145、579、2316 および 4632 ppm) の混餌を調製し、13 週間にわたって随時摂食させた。混餌は、1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠 : 同研究所において、同系統ラットを用いた 4 週間混餌投与試験(資料 27)から、本試験の用量を設定した。

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について、毎日観察した。

検体投与に関連する中毒症状も死亡例も認められなかった。

体重 : 投与前日および試験期間中は 1 週間に 1 度測定した。

8000 ppm 群の雄のみ有意 ($p \leq 0.01$) な軽微体重抑制が投与初期(投与後 7 および 14 日とも対照群に比し 92%)に認められたがすぐに回復し、試験終了まで有意な体重減少は認められなかった。また、雄のその他の群および雌のすべての投与群においても試験期間を通じて有意な体重減少は認められなかった。したがって、この体重減少は嗜好性の低下による摂餌量の減少に関連しており、毒性学的意義はなく、検体投与に起因しないものと判断した。

(統計学的解析 : Dunnett's 両側検定)

摂餌量および食餌効率 : 摂餌量の測定は毎週体重の測定と同時期に行った。また、食餌効率も算出した。

投与開始初期に対照群と比べ、8000 ppm 群の雌雄で摂餌量の低下傾向(投与 7 日後の摂餌量は対照群に比し、雄で 76%、雌で 85%)が認められたが、すぐに回復した。この投与初期に認められた減少傾向は、嗜好性による減少で、一時的であり統計学的有意差も認められないことから、毒性学的意義はなく、検体投与に起因しないものと判断した。また、食餌効率についても、試験期間を通じて明確な変化は認めら

れなかった。

(統計学的解析 : Dunnett's 両側検定; $p \leq 0.01$)

検体摂取量 : 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)	検体濃度	250	1000	4000	8000	250	1000	4000	8000
	有効成分濃度	145	579	2316	4632	145	579	2316	4632
平均検体摂取量 (mg/kg/day)		10	40	163	319	12	47	188	372

血液学的検査 : 投与開始後 86 日目に、供試動物 (非絶食・非麻酔下) の眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について測定した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (トロンボプラスチン時間 : TPT)

いずれの試験群にも対照群と比較して有意な変動は認められなかった。

(Dunnett の両側検定)

血液生化学的検査 : 血液学的検査に用いた血液より血清を回収し、以下の項目について検査した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、血清 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T.Bil)、総タンパク (T.Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)、マグネシウム (Mg)

8000 ppm 群の雌でクレアチニンの有意な減少 (対対照比 92%、Dunnett の両側検定 $p < 0.05$) が認められたが、検体投与の影響とは考えられなかった。いずれの試験群にも対照群と比較して検体投与に起因する有意な変動は認められなかった。

尿検査 : 投与開始後 79 日目に、代謝ケージを用いて一晚蓄尿を採取し、以下の項目について検査した。

外見、窒素、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、沈渣

8000 ppm 群の雄で結晶の発生が有意 (カイニ乗検定 $p < 0.01$) に高かった (結晶の

評価基準 3 が対照群の 2/10 に対し、8/10)。申請者注)

申請者注) 尿検査における血漿発生の有意な増加は、雄のみで認められたものである。したがって雌雄同一性が認められないことから、毒性学的意義はないものと考えられる。

眼科学的検査：投与前日および投与開始後 85 日に、対照群および 8000 ppm 群の全動物を検査した。

検体投与に起因する異常は認められなかった。

臓器重量：試験終了後の全生存動物を対象として、二酸化炭素麻酔下で断頭による放血屠殺後、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、麻酔動物（体重測定）

麻酔動物の体重、すべての臓器重量とも、検体投与による有意な変動を認めなかった。

(Dunnett 両側検定)

肉眼的病理検査：試験終了後の全生存動物について剖検を行った。

検体投与に起因するいかなる肉眼的病理所見も認められなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を行った動物から、以下の臓器/組織を摘出し、対照群および 8000 ppm 群の雌雄については全組織を、中間用量群 (250、1000、4000 ppm 群) についてはすべての動物の肺、肝臓、腎臓および全ての肉眼的異常部位のみをヘマトキシリン・エオジンで染色して病理標本を作製し、鏡検した。脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、顎下腺、舌下腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、卵巣、子宮、陰、精巣上体、前立腺、精囊、皮膚、食道、胃（腺胃および前胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節（下顎および腸間膜）、乳腺（雌のみ）、骨格筋、坐骨神経、胸骨（骨髓を含む）、骨髓（大腿骨部位）、眼球、大腿骨（膝関節を含む）、脊髓（頸部、胸部および腰部）肉眼的異常部位、

検体投与に起因する病理組織学的所見は認められなかった。

以上の結果より、本検体をラットに 13 週間混餌投与した場合、雌雄ともに最高用量である 8000 ppm（有効成分換算濃度 4632 ppm）でも異常は認められなかった。したがって、本検体のラットに対する無毒性量 (NOAEL) は、本試験条件下で 8000 ppm (雄: 319 mg/kg/day; 雌: 372 mg/kg/day) 以上であると判断する。また、続く長期投与試験のための毒性・有害作用濃度の決定のため、12000 ppm の補足試験を実施することとした。

6-6. ラットを用いた飼料混入投与による 13 週間亜急性経口毒性試験 (資料 30)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ウィスター系ラット [Chbb:Thom(SPF)] 1 群雌雄各 10 匹

試験開始時週齢： 42 日齢

試験開始時体重： 雄 177-192 g 雌 140-160 g

観察期間： 13 週間

投与方法： 検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要濃度の飼料を添加・混合して 0 および 20725 ppm (有効成分換算 12000 ppm) の混餌を調製し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は、1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠： 同研究所において、同系統ラットを用いた 13 週間混餌投与試験 (資料 29) では、投与最高用量である 8000 ppm (有効成分換算 4632 ppm) でも毒性学的な異常が認められなかったことから、毒性影響の出る用量を得ることを目的とし、有効成分換算 12000 ppm で実施した。

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について、毎日観察した。また、1 週間に 1 回追加の詳細な検査を行った。

試験期間を通じ死亡例は認められなかった。

対照群では中毒症状は認められなかったが、12000 ppm 群では、次表のような中毒症状が認められた。

投与動物で神経過敏、振戦、歩行異常から運動失調、腹臥位等が認められた。動物の取り扱い時に発生が認められ、雌より雄の発生頻度が高かった。

また、糞の状態にも異常が認められ、もろく、脱色し、単一糞は大きかった。

表 1. 12000 ppm 群における異常所見の発生頻度/発生動物数

異常所見	雄	雌
腹臥位	48/6	36/5
側臥位	4/1	
運動失調		9/1
振戦	111/10	99/10
不安定歩行 (unsteady)	34/4	14/2
よろめき歩行 (long legged)	63/7	71/10
神経過敏	9/1	15/2
一般状態の低下	4/1	

体重：投与前日および試験期間中は1週間に1度測定した。

体重の変動について表2に示す。

表 2. 体重 (%)

性別		雄	雌	性別		雄	雌
投与量 (ppm)		12000		投与量 (ppm)		12000	
検査時期	投与前			検査時期	投与後 49 日	67.6 ↓	85.0 ↓
	投与後 7 日	72.2 ↓	81.5 ↓		投与後 56 日	66.6 ↓	84.8 ↓
	投与後 14 日	65.9 ↓	81.2 ↓		投与後 63 日	66.7 ↓	82.1 ↓
	投与後 21 日	66.4 ↓	84.2 ↓		投与後 70 日	66.3 ↓	82.0 ↓
	投与後 28 日	66.7 ↓	85.0 ↓		投与後 77 日	67.1 ↓	83.0 ↓
	投与後 35 日	66.2 ↓	82.8 ↓		投与後 84 日	67.8 ↓	83.4 ↓
	投与後 42 日	67.4 ↓	84.7 ↓		投与後 91 日	67.8 ↓	82.8 ↓

統計学的解析：Student's t-test (両側)、↓ : p ≤ 0.001

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差なし

投与後雌雄ともに有意な体重抑制が摂餌量の減少を伴い試験期間中認められた。この体重抑制は、雌よりも雄の方がより顕著で、試験期間中回復することはなかった。摂餌量および食餌効率；摂餌量の測定は毎週体重の測定と同時期に行った。また食餌効率も算出した。

対照群に対する摂餌量および食餌効率の変動を表3に示す。

表 3. 摂餌量および食餌効率 (%)

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		12000			
検査項目		摂餌量	食餌効率	摂餌量	食餌効率
検査時期	投与開始後 7 日	34.4	(-18.8)	45.1	(-13.1)
	投与開始後 14 日	55.7	63.0	73.4	107.0
	投与開始後 21 日	63.9	108.5	85.6	168.8
	投与開始後 28 日	65.9	106.2	83.9	119.5
	投与開始後 35 日	68.8	84.5	78.8	42.0
	投与開始後 42 日	77.3	141.5	90.1	228.1
	投与開始後 49 日	75.4	92.6	88.9	104.7
	投与開始後 56 日	73.8	62.4	84.4	93.4
	投与開始後 63 日	74.1	93.3	82.0	19.1
	投与開始後 70 日	73.6	62.5	85.7	84.2
	投与開始後 77 日	77.9	127.1	87.4	175.9
	投与開始後 84 日	79.8	114.9	89.7	115.2
投与開始後 91 日	81.5	87.0	92.0	33.3	

統計学的解析：未実施 表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

表中 () で記載は、マイナス値となったため、算出数値を記載

投与開始後 7 日間で、摂餌量の強い抑制が認められた(対対照比; 雄:34%; 雌:45%)。

この摂食抑制は、特に雄で抑制傾向が強かったが、徐々に回復し、最終的には対対照比で雄は 82%、雌は 92%に回復した。

食餌効率では、雄で試験開始後の 2 週間、雌で 1 週間、強い抑制が認められたが、それ以降、対照群に比し、生物学的に関連性のある一貫した変化は認められなかった。

平均検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

性別	雄	雌
有効成分換算投与量 (ppm)	12000	
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	826	951

神経系機能検査：投与開始後 34、69 および 93 日に神経系機能検査として、感覚・運動神経機能を指標とした以下の検査項目について、全動物を対象に実施した。

一般状態、振戦、痙攣、立毛、流涙、流涎、瞳孔収縮・拡張、下痢、発声、不全麻痺、完全麻痺、運動失調、体緊張、姿勢、身体異常、自発運動、呼吸、排尿、皮膚色、正向反射、行動、握力、瞳孔反射、眼瞼反射、聴力、嗅覚、接触反応、疼痛反応 (hot plate test)、尾部および足指圧迫刺激試験、視覚性置き直し反応、その他の異常

以前行われた試験では、投与開始後 2 週間目以降、幾つかの用量において振戦や歩行異常が認められていた。しかしながら、この神経性症状は動物の取り扱い時に認

められたものであったため、本試験では投与開始後 34、69 および 93 日後に、通常行われている症状観察よりも、より詳細な神経性異常症状の観察を行った。検体投与に起因すると考えられる所見について表 4 に示す。

表 4. 神経系機能検査において投与群に認められた異常所見発生動物数

性別	雄			雌		
	34 日	69 日	93 日	34 日	69 日	93 日
検査時期 (投与後)	34 日	69 日	93 日	34 日	69 日	93 日
検査動物数	10	10	10	10	10	10
振戦	6	6	2	7	6	3
瞳孔サイズ異常	0	0	0	0	0	1
運動失調	5	0	4	6	3	7
姿勢異常	5	6	3	5	2	4
呼吸異常	0	4	3	0	1	1
視覚性置き直し反応異常	1	0	0	0	0	0
瞳孔反射異常	0	0	0	0	0	1

表 5. 握力および疼痛試験 (Hot Plate Test) (%)

性別	雄			雌		
	34 日	69 日	93 日	34 日	69 日	93 日
検査時期 (投与後)	34 日	69 日	93 日	34 日	69 日	93 日
握力検査						
検査動物数	10	10	10	10	10	10
前肢握力	85.3 ↓	89.0	93.8	81.5 ↓ ↓	70.8 ↓ ↓ ↓	81.4 ↓
後肢握力	67.4 ↓ ↓ ↓	81.3 ↓	94.3	85.3	85.4 ↓	82.0
疼痛試験 (Hot Plate Test)						
検査動物数	9	8	10	9	10	10
疼痛試験	125.0	111.1	157.1 ↑	109.1	100.0	112.5

統計学的解析: Student's t-test (両側)、↑ ↓ : $p \leq 0.05$; ↓ ↓ : $p \leq 0.01$; ↓ ↓ ↓ : $p \leq 0.001$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

前肢および後肢握力検査では、投与群はいずれの検査日でも、対照群に比べて低値を示した。しかしながら、常に有意に低下しているというわけではなかった。

Hot Plate Test による疼痛試験では、投与開始後 93 日の雄でのみ、熱刺激からの回避における有意な時間延長が認められた。しかしながら、他の検査日や雌においては有意な変動は認められず、93 日目の雄で認められた有意な変動には毒性学的意

義はないものと判断した。

血液学的検査；投与開始後 41 および 91 日目に、供試動物（非絶食・非麻酔下）の後眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について測定した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、血液凝固系 (トロンボプラスチン時間 : TPT)

統計学的有意差の認められた項目について表 6 に示す。

表 6. 血液凝固系 (トロンボプラスチン時間) (%)

性別	雄		雌	
	41 日	91 日	41 日	91 日
検査時期 (投与開始後)	41 日	91 日	41 日	91 日
検査動物数	9	10	10	10
WBC	81.7 ↓			
MCV		102.7 ↑		
TPT	112.3 ↑ ↑ ↑	108.7 ↑ ↑	108.3 ↑	99.0

統計学的解析 : Student's t-test (両側)、↑ ↓ : $p \leq 0.05$; ↑ ↑ : $p \leq 0.01$; ↑ ↑ ↑ : $p \leq 0.001$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

トロンボプラスチン時間の有意な延長が認められた。この変動は、検体投与に起因すると考えられるものの、一般状態観察の結果から検体投与後の状態異常による可能性も考えられる。その他の変動に関しては、雌雄同一性もなく、また経時性変化も認められない事から、毒性学的意義はないものと考えられる。

血液生化学的検査；血液学的検査に用いた血液より血清を回収し、以下の項目について検査した。また、剖検時の脳の一部を採取してコリンエステラーゼ (ChE) の検査も行った。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、コリンエステラーゼ (血清 : SCholE、赤血球 ECholE および脳 BCholE)、血清 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (SGGT)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)、マグネシウム (Mg)

有意差が認められた結果を表 7 に示す。

表 7. 血液生化学的検査 (%)

性別	雄		雌	
	41 日	91 日	41 日	91 日
検査時期 (投与開始後)				
検査動物数	10	10	10	10
SChoIE			67.1 ↓ ↓ ↓	
EChoIE		87.7 ↓		
BChoIE*		140.4 ↑ ↑ ↑		
Cl	101.4 ↑	101.4 ↑		101.8 ↑ ↑
INP		108.9 ↑		
Ca	94.9 ↓ ↓ ↓	97.8 ↓	96.8 ↓	
Urea			87.7 ↓ ↓	
Crea	89.1 ↓ ↓ ↓	85.9 ↓ ↓ ↓	87.7 ↓ ↓ ↓	87.9 ↓ ↓ ↓
Gluc	88.2 ↓ ↓	86.5 ↓ ↓	87.7 ↓	
T. Bil		122.3 ↑ ↑		
T. Pro	89.3 ↓ ↓ ↓	91.0 ↓ ↓ ↓	91.4 ↓ ↓ ↓	93.1 ↓ ↓ ↓
Alb	95.4 ↓	95.5 ↓	91.8 ↓ ↓ ↓	94.5 ↓
Glob	83.0 ↓ ↓ ↓	86.8 ↓ ↓ ↓	90.9 ↓ ↓	91.6 ↓
TG	33.7 ↓ ↓ ↓	36.1 ↓ ↓ ↓	62.4 ↓ ↓	
Mg			95.0 ↓	

*: BChoIE は投与 94 日に脳を採取し検査した。

統計学的解析: Student's t-test (両側), ↑ ↓ : $p \leq 0.05$; ↑ ↑ ↓ ↓ : $p \leq 0.01$; ↓ ↓ ↓ : $p \leq 0.001$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差なし

投与開始後に統計学的有意なコリンエステラーゼ活性の低下 (91 日後雄: 赤血球コリンエステラーゼ活性、41 日後雌: 血清コリンエステラーゼ活性) および上昇 (94 日後雄: 脳コリンエステラーゼ活性) が認められた。しかしながら、これらの変動には雌雄差があることから、検体投与に起因するものではないと判断した。

一方、両測定日の雄血清では、カルシウム、クレアチニン、グルコース、総タンパク、アルブミン、グロブリンおよびトリグリセリドの有意な低下が認められた。また雌では、投与開始後 41 日では同様な低下が認められたが、91 日後ではカルシウム、グルコースおよびトリグリセリド値では有意な変動が認められず回復していた。これらの変動は、検体投与に起因するものと思われ、おそらく体重減少に伴い誘起された反応であると考えられる。さらに雌雄で塩素値の有意な上昇が認められた (ただし 41 日後雌では有意ではない)。この変動も、投与に起因するものと考えられるが、非常に軽微であり、また 41 日後では雌で有意な変動が認められないことから、特殊な生体反応 (または異常症状) に関連するものとは考えがたい。

尿検査: 投与開始後 38 および 85 日目に、代謝ケージを用いて一晚蓄尿を採取し、以下の項目について検査した。

尿量、外見、窒素、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

有意差が認められた結果を表 8 に示す。

表 8. 尿検査における異常症例数

性別		雄				雌			
検査時期 (投与開始後)		38 日		85 日		38 日		85 日	
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
群		対照	12000	対照	12000	対照	12000	対照	12000
窒素	= 0							6	0
	≧ 1							4	10 ↑
ウロビリノーゲン	≧ 1	10	5						
	≧ 2	0	5 ↑						
比重	≦ 1040	5	0						
	> 1040	5	10 ↑						
沈渣 (結晶)	≦ 3			8	0				
	3			2	10 ↑ ↑				
亜硝酸塩	0							6	0
	> 1							4	10 ↑

統計学的解析 : Fischer's exact test (両側), ↑ : $p \leq 0.05$; ↑↑ : $p \leq 0.01$

表 8 に示すような有意変動が認められた。このうち結晶性沈渣 (特に 3 リン酸) の表出は著しかった。試験終了時の雄のみに認められた反応ではあるが、これは検体投与に起因すると考えられる。

眼科学的検査 : 投与前日および投与開始後 90 日に、対照群および 8000 ppm 群の全動物を検査した。

検体投与に起因する異常は認められなかった。

臓器重量 : 試験終了後の全生存動物を対象として、二酸化炭素麻酔下での断頭によって屠殺、放血後、以下の臓器重量を測定、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、麻酔動物 (体重測定)

有意差が認められた臓器について表 9 に示す。

雌雄ともに最終体重の有意な減少が認められた。雄では、肝臓、腎臓および副腎の重量が、雌では肝臓および副腎の重量の有意な減少が認められた。しかしながら、対体重比に換算すると、腎重量は有意な増加を示した。これら有意な変動を示した臓器では、病理検査で異常が認められなかったことから、体重減少に伴う 2 次的な反応であると思われる。

表 9. 臓器重量 (%)

性別		雄	雌
検査動物数		10	10
最終体重		67.2 ↓ ↓	81.8 ↓ ↓
肝臓	重量	55.6 ↓ ↓	84.8 ↓ ↓
	対体重比	82.2 ↓ ↓	
腎臓	重量	83.1 ↓ ↓	
	対体重比	124.2 ↑ ↑	111.1 ↑ ↑
精巣	対体重比	145.7 ↑ ↑	
副腎	重量	74.7 ↓ ↓	85.4 ↓

統計学的解析: Student's t-test (両側)、↑: $p \leq 0.05$; ↑↑ ↓ ↓: $p \leq 0.01$
 表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

肉眼的病理検査: 試験終了後の全生存動物を対象として、剖検を行った。

検体投与に起因するいかなる肉眼的病理所見も認められなかった。

病理組織学的検査: 肉眼的病理検査を行った動物から、以下の臓器/組織を摘出し、ヘマ

トキシリン・エオジンで染色して病理標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、顎下腺、舌下腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、卵巣、子宮、膣、精巣上体、前立腺、精嚢、皮膚、食道、胃(腺胃および前胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節(下顎および腸間膜)、乳腺(雌のみ)、骨格筋、坐骨神経、胸骨(骨髓を含む)、骨髓(大腿骨部位)、眼球、大腿骨(膝関節を含む)、脊髄(頸部、胸部および腰部)、肉眼的異常部位

有意差が認められた結果を表 10 に示す。

肝細胞における脂肪性空胞変性が、対照群の雄 6 匹に認められた。これに対し、検体投与群雄では 1 例と、検体投与による脂質性空胞変性が改善されたかにみえる。しかしながら、この異常所見は、生体の栄養状態などにより変化する可逆的異常であり、本試験では検体投与後に体重や肝重量の減少が認められている。したがって、これは改善ではなく、体重・肝重量減少に伴う 2 次的反応と思われる。その他、幾つかの所見が認められたが、いずれも少数であり、検体投与に起因するような異常所見は認められなかった。

表 10. 病理組織学的検査における異常症例数

性別		雄		雌	
		投与量 (ppm)	対照群	12000	対照群
胃	検査動物数	10	10	10	10
	腺拡張	1	0	0	0
肝臓	検査動物数	10	10	10	10
	空胞変性	6	1	3	1
	胆嚢血管周囲線維化	0	0	1	0
膵臓	検査動物数	10	10	10	10
	外分泌腺細胞過形成	0	1	0	0
腎臓	検査動物数	10	10	10	10
	石灰沈着	0	0	10	9
精巣	検査動物数	10	10		
	減弱精子形成	1	0		
子宮	検査動物数			10	10
	子宮留水症			1	2
心臓	検査動物数	10	10	10	9
	浸潤	0	0	1	0
眼球	検査動物数	10	10	10	10
	角膜炎	0	0	0	2
下垂体	検査動物数	10	10	10	10
	嚢胞	3	3	2	1
骨格筋	検査動物数	10	10	10	10
	単球浸潤	0	1	0	0

以前に実施した 13 週間混餌投与試験（資料 29）における最高投与量（8000 ppm；有効成分換算 4632 ppm）で、顕著な毒性が認められなかったことから、毒性の認められる十分な濃度を得るために行った。この目的のため、有効成分換算 12000 ppm（雄：826 mg/kg/day；雌：951 mg/kg/day）の検体を投与したところ、顕著な体重抑制や神経系機能障害が認められた。本試験の結果から、本検体の有効成分換算 12000 ppm という濃度は、最大耐用量を超過しており長期のラット試験には高濃度であると判断する。

6-7. イヌを用いた飼料混入投与による3ヶ月亜急性経口毒性試験 (資料 11)

試験機関:

報告書作成年: [非 GLP]

検体の純度:

供試動物: ビーグル犬 1群雌雄4匹

試験開始時月齢: 雌雄 10ヶ月齢

試験開始時体重: 雄 9.2-10.8 kg 雌 9.2-11.0 kg

観察期間: 3ヶ月間

投与方法: 検体を粉末飼料に混合して、0、100、300、1000 および 3000 ppm の濃度とし、3ヶ月間にわたって1日1回定期的に与えた。混合飼料は週に1回調製した。

試験項目および結果:

一般症状および生死; 一般状態および生死を毎日観察した。また、瞳孔光反射、角膜反射、膝蓋反射、屈筋反射、伸筋反射および姿勢反射について検査した。

本試験期間中、死亡例は認められなかった。

本試験では、最高用量投与群 (3000 ppm 投与群) において鎮静症状が投与初日から、食後約 20 分後に始まり、1-6 時間持続した。鎮静症状は試験 3-8 日に最も強く (中等度)、その後試験 15-28 日にかけて徐々に減弱・消失した。しかしながら試験後半に、鎮静症状が再発し、試験 40 および 82 日目に 8 匹中 2 匹 (雄)、試験 31、54、78 および 79 日目に 8 匹中 1 匹 (1 匹) で、食後 3 時間ほどで発症し、発症約 60 分後から 2-4 時間腹臥位および側臥位姿勢を取り、その後正常に回復した。

体重: 週1回体重を測定した。

試験開始後 6 および 13 週間 (投与終了時) の体重および体重増加量を表 1 に示す。

表 1. 体重 (%)

検査時期	性別/投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	100	300	1000	3000	100	300	1000	3000
投与 6 週				92↓				92↓
投与 13 週				89↓				83↓

統計学的解析: 分散分析、Student's t-test; ↓: $p \leq 0.01$ 矢印のない数値は有意差なし

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

3000 ppm 群では、投与開始 1 週以降、体重増加量が有意に抑制され、雄ではほぼ

とんど体重の増加がみられず、雌ではほぼ一貫して漸減した。1000ppm 以下の群では対照群に比し有意差は認められなかった。

摂餌量：週に 1 回摂餌量を測定した。

本試験期間中、対照群と各投与群との間に有意な変動は認められず、検体投与に起因する影響はないと判断した。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

検体摂取量 (mg/kg 体重/day)	投 与 量 (ppm)			
	100	300	1000	3000
雌雄平均	3.3	9.8	32.4	95.3

血液学的検査：投与前、投与開始 6 および 13 週間後（投与終了時）に全生存動物より静脈血を採取し、下記項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、赤血球沈降速度、血液凝固系（プロトロンビン時間：PTT）

有意差の認められた項目について表 2 に示す。

表 2. 対血液学的検査値（雌雄平均）(%)

検査項目/時期（投与後週）		投 与 量 (ppm)			
		100	300	1000	3000
RBC	6 週				86↓
	13 週				88↓
Hb	6 週				88↓
	13 週				87↓
HCT	13 週				90↓

統計学的解析：分散分析、Student` t-test；↓： $p \leq 0.01$ 矢印のない数値は有意差なし

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

3000 ppm 投与群において赤血球数およびヘモグロビン濃度の有意な低下が投与 6 および 13 週間後に認められ、ヘマトクリット値の有意な低下が 13 週間後に認められた。また、有意差は認められないものの 3000 ppm 投与後 13 週間で網状赤血球数の増加傾向が認められた（対照群：14.4；3000 ppm 投与群：17.8）。その他の検査項目については、有意な変動は認められなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査用血液の採血と同時に採取した血液を用い、以下の項目に関する検査を実施した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、コレステロール (Chol)、遊離脂肪酸 (FFA)、グルコース-6-リン酸-デヒドロゲナーゼ (G6PDH)、コリンエステラーゼ (ChE)、ヨウ素 (I)

いずれの検査時期および検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

尿検査：投与前、投与後 6 および 13 週間後の全生存動物に対し、25 mL/kg の容量で水道水を強制経口投与し、1 時間後にカテーテルにて採尿した。また、最終投与終了時の採尿は屠殺時に膀胱穿刺により採尿した。尿検査は、以下の項目について行った。

色調、比重、pH、タンパク、グルコース、潜血、ケトン体、ビリルビン、尿沈渣
いずれの検査時期および検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

心電図：投与初日、投与後 6 および 13 週間後、給餌前と給餌後 2 時間で全動物を対象として、ECG、心拍数、P-Q および Q-T 間隔を測定した。

いずれの検査時期および検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

循環器系機能検査：投与終了後の全生存動物を対象として、麻酔下大腿動脈の血圧を測定した。

収縮期および拡張期血圧に検体投与による影響は認められなかった。また、ノルアドレナリン投与後の高血圧にも検体投与による影響は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

眼科学的検査、聴覚(単純騒音試験)および歯列の検査：投与前、投与後 6 および 13 週間後の全生存動物を対象として行った。

いずれの検査時期および検査項目とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

肉眼的病理検査：投与終了時の全生存動物を瀉血・屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。

対照群および投与群ともに検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

臓器重量：肉眼的病理検査を実施した動物から、以下の臓器を採取し、重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、肺、腎臓、胸腺、肝臓、生殖腺、心臓、脾臓、副腎、下垂体、甲状腺

いずれの臓器とも統計学的有意な変動は認められなかった。

(統計学的解析：分散分析、Student` t-test、 $p \leq 0.01$)

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物から下記臓器を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色して、病理標本を作製し、鏡検を実施した。

脳、下垂体、眼球、唾液腺、甲状腺、胸腺、食道、気管、肺、心臓、肝臓、脾臓、大動脈、腎臓、副腎、胃、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、リンパ節(腸間膜リンパ節)、膀胱、生殖腺、前立腺、子宮、骨、骨髄、骨格筋、末梢神経、皮膚、乳腺、舌、脊髄、胆嚢

様々な臓器において炎症や嚢胞形成、出血などが認められたが、いずれも低頻度で、対照群にも認められる所見であった。したがって、検体投与に起因する異常所見は認められないと判断する。

以上の結果より、本剤のイヌに対する 90 日間飼料混入投与による亜急性毒性試験では、3000 ppm で、摂食開始後鎮静、体重抑制または減少および赤血球における異常(貧血様症状)並びに網状赤血球数の増加傾向が認められた。したがって無毒性量は 1000 ppm(雌雄平均 32.4 mg/kg/day)と判断した。

6-8. マウスを用いた飼料混入投与による 3 ヶ月亜急性毒性試験

(資料 31)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： B6C3F1/CrIBr 系マウス 1 群雌雄各 10 匹

試験開始時週齢： 7 週齢

試験開始時体重： 雄 24.7-28.2 g 雌 18.4-21.4 g

観察期間： 3 ヶ月間

投与方法： 検体を少量の飼料と混合してプレミックスを調製後、必要濃度の飼料を添加・混合して、有効成分として 300、900、2700 および 8100 ppm (原体として、0、518、1554、4663 および 13990 ppm) で飼料に混入した。混餌飼料の調製は毎週行った。

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について、毎日観察した。また週に 1 回、詳細な一般状態の観察を行った。

検体投与に起因する一般状態の異常は認められなかった。また、死亡例は認められなかった。

体重；投与 2 日前、投与開始後は 1 週間毎に測定した。

全ての群の雌雄とも体重および体重増加量に対照群との有意な差は認められなかった。

(Dunnett の両側検定)

摂餌量および食餌効率；摂餌量は、週に 1 回測定し、食餌効率を算出した。

摂餌量および食餌効率ともに、検体投与に起因する明らかな変動は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は表 1 のとおりであった。

表 1. 平均検体摂取量

投与量 (有効成分 ppm)	300	900	2700	8100	
平均検体摂取量 mg/kg/day	雄	60	166	526	1731
	雌	83	265	705	2422

血液学的検査；投与後 92 (雄) または 93 (雌) 日に一晚絶食させた動物の後眼窩静脈叢から、または断頭屠殺による採血を実施し、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、

平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)

検体投与に起因する変化は認められなかった。

(Dunnett の両側検定)

血液生化学的検査；血液学的検査に用いた血液より血清を回収し、以下の項目について検査した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol)

検体投与に起因する変化は認められなかった。

(Dunnett の両側検定)

臓器重量；試験終了後の全生存動物を対象として、二酸化炭素麻酔下での断頭処理によって屠殺後、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣

有意差の認められた臓器について表 2 に示す。

表 2. 臓器重量 (%)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		300	900	2700	8100	300	900	2700	8100
最終体重		98.6	96.3	100.1	95.1	101.5	93.7	98.1	97.3
肝臓	絶対値								
	対体重比				107.3 ↑				
腎臓	絶対値								
	対体重比				108.8 ↑				

統計学的解析：Dunnett's-test、↑：p ≤ 0.05 体重および空欄は有意差無し
表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。

臓器重量では、絶対値での有意な変動は認められなかったが、肝臓および腎臓の対体重比において、有意な増加が認められた。絶対値での変動が認められないことから、検体投与に起因するものではないと判断する。本試験では、雄最高用量投与群 (8100 ppm) で体重減少の傾向が認められたが、有意差は認められなかった。肝臓および腎臓での対体重比での変動は、この体重減少傾向によるものと考えられる。

肉眼的病理検査；試験終了後の全生存動物を対象として、剖検を行った。

認められた異常所見を表 3 に示す。

認められた所見は、いずれも散発的かつ用量依存性がなく、検体投与に起因するも

のではないと判断した。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を行った動物から、以下の臓器/組織を摘出した。対照群および 8100 ppm 群については全動物の全臓器/組織を、中間用量群（300、900 および 2700 ppm 群）については死亡動物の全臓器/組織並びに肺、肝臓、脾臓および腎臓をヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本を作製し、鏡検した。さらに、脾臓についてはパール鉄染色も行った。

大動脈、脳、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、心臓、腎臓、肝臓、胆嚢、脾臓、肺、気管、リンパ節（顎下および腸間膜）、副腎、膵臓、胸腺、甲状腺、上皮小体、下垂体、唾液腺（顎下線および舌下腺）、前立腺、精嚢、精巣、膀胱、卵巣、子宮、乳腺（雌のみ）、皮膚、骨格筋、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（膝関節を含む）、脊髄（頸部、胸部および腰部）、坐骨神経、眼球、肉眼的異常部位認められた病理組織学的異常所見を表 4 に示す。

認められた所見は、全て散発的で、雌雄同一性も認められない。また用量依存性も認められないことから、検体投与に起因するものではないと判断した。

以上の結果から、本検体をマウスに 3 ヶ月間反復経口投与したところ、最高用量の 8100 ppm（雄：1731 mg/kg/day；雌：2422 mg/kg/day）でも、検体投与に関連する一切の毒性徴候が認められなかった。

表 3. 肉眼的病理異常所見

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	300	900	2700	8100	0	300	900	2700	8100
動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
異常所見なし		8	10	8	8	8	9	9	8	9	6
腺胃	病巣	2		2	1	1		1	2		2
肝臓	病巣					1					
	捻転						1				
脾臓	病巣				1					1	1
皮膚	脱毛									1	1

統計学的解析：未実施

表 4. 病理組織学的異常所見

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	300	900	2700	8100	0	300	900	2700	8100
動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
顎下腺	検査動物数	10				10	10				10
	浸潤					1	1				6
腺胃	検査動物数	10		2	1	10	10	1	2		10
	糜爛										1
	潰瘍	2							1		
	石灰化			1							
肝臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	二核細胞		1			1					
	肝細胞変性			2		1			1		1
	明細胞巢			2		1			1		1
	巣状壊死	1	1								
	毛細血管拡張症					1					
	血腫						1				
精巣	検査動物数	10				10					
	空胞化					2					
子宮	検査動物数						10				10
	腺過形成										
脾臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	色素沈着				1						1
	ヘモジデリン蓄積	10				10	10				10
	髓外造血						1	1		2	1
	異所性組織									1	
顎下リンパ	検査動物数	10				10	10				10
	過形成					1	1				
副腎	検査動物数	10				10	10				10
	空胞化						2				
	変性細胞巢						1				
甲状腺	検査動物数	10				10	10				10
	嚢胞	1									
皮膚	検査動物数	10				10	10			1	10
	過角化症										1

統計学的解析：未実施

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

Mepiquat-Chloride

7. 亜急性経皮投与毒性

本検体は、急性経皮毒性試験結果から、経皮毒性は弱いことが明らかになっており、そのため本試験は不要と判断し実施しなかった。

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

Mepiquat-Chloride

8. 亜急性吸入毒性

本検体は、急性吸入毒性試験結果から、吸入毒性は弱いことが明らかになっており、そのため本試験は不要と判断し実施しなかった。

9. 亜急性神経毒性

9-1. ラットにおける 90 日反復経口投与神経毒性試験 (資料 32)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

試験動物：ウイスター系(Cr1Gl×BrHan:WI) ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 47-49 日齢、
投与開始時の体重範囲：雄 179.7-231.6 g、雌 122.8-167.0 g

投与期間：91 日間；

投与方法：濃度ごとに検体を秤量し、少量の飼料と混合してプレミックスを調製し、次いで用量
群ごとに対応する量の飼料を加えて、1625、6500、13000 ppm 含有飼料（有効成分と
して 0、943、3770 及び 7540 ppm）を調製した。混餌飼料は 4 週間間隔で調製した。

用量設定根拠：過去の試験に基づき、体重に対して影響が期待される高濃度として 13000 ppm
を、以下、6500 及び 1625 ppm（有効成分として 7540、3770 及び 943 ppm）を選択し
た。

試験項目及び結果：結果はすべて有効成分換算値で示す。

死亡率：生死を毎日観察した。

試験期間中動物の死亡は認められなかった。

一般状態：一般状態はホームケージ内で毎日観察した。

7540 ppm 群の雌 1 例に左右の体側の脱毛がみられたが、これは散発的で投与に関
連したものではなかった。その他の変化はみられなかった。

摂餌量；週 1 回測定した。結果を以下の表に記載する。

週	雄 (ppm)			雌 (ppm)		
	943	3770	7540	943	3770	7540
1		90.5 ↓	68.6 ↓		89.8 ↓	69.5 ↓
2			83.2 ↓			87.9 ↓
3			88.4 ↓			86.8 ↓
4			87.0 ↓			88.9 ↓
5			86.9 ↓			
6			86.5 ↓			88.3 ↓
7			87.7 ↓			
8			92.6 ↓			
9			91.8 ↓			
10			90.5 ↓			
11						87.2 ↓
12			85.3 ↓			89.8 ↓
13			87.2 ↓			87.8 ↓

表中の値は対照群の値を 100 とした場合の割合 (%) を示す。

統計処理：Dunnett (両側) 検定 ↓ : $p \leq 0.05$, ↓↓ : $p \leq 0.01$

7540 ppm 群の雄でほぼ全試験期間を通じて、雌でも多くの週で有意な低下を示した。

3770 ppm 群雌雄の投与第 1 週の有意な低下も投与影響と思われた。

食餌効率；群平均値を体重及び摂餌量の個体別値に基づいて毎週の食餌効率を計算した。

投与の影響として 7540 ppm 群の雌雄で第 1 週 (7 日目) のみに食餌効率が有意に低下した。

検体摂取量；1 日当たり平均検体摂取量 (群平均値) を体重、摂餌量及び飼料中の実測濃度より求めた。

検体摂取量は以下のとおりであった。

試験群	メピコートクロリド原体 (ppm)	有効成分 (ppm)	有効成分摂取量 (mg/kg/day)	
			雄	雌
1	943	943	65.6	79.4
2	3770	3770	259.0	366.9
3	7540	7540	516.6	616.5

飲水量；毎日給水瓶を目視で観察した。

飲水量に明白な変化はみられなかった。

体重の変化；体重は試験 7 日前、投与開始時及び以降毎週 1 回並びに機能観察総合検査 (FOB) 時に測定した。

試験 91 日 (13 週) の平均体重及び体重増加量の対照群に対する比率%を次表に示す。

検査項目	雄 (ppm)			雌 (ppm)		
	943	3770	7540	943	3770	7540
体重			86 ↓			90 ↓
体重増加量			72 ↓			71 ↓

統計学的手法 : Dunnett (両側) 検定 ↓ ; $p \leq 0.05$, ↓ ; $p \leq 0.01$,
 表中の数値は、対照群を 100 とした場合の割合 (%)。

体重は雌雄ともに一貫して 7540 ppm 群では体重及び体重増加量ともに有意な低下を示した。

3770 ppm 群雌では 13 週において対照群との間に有意な差はなかったが、2-4、7、10-12 週で有意な低下を示し、投与の影響が考えられた。943 ppm 群雌の投与 3 週目のみにみられた単発の有意な低下は偶発的なものと考えられた。その他の投与群に対照群との差はみられなかった。

機能観察総合検査 (FOB) : 機能観察結果を有意に妨害する程度の毒性毒症状が認められない全ての動物を対象として投与前 (試験 7 日前)、試験 22、50 及び 85 日に行った。受動観察から開始し、次いでホームケージから取り出し、標準観察台上のオープンフィールドで立ち上がり回数を含め詳細な一般状態の観察を行った。その後、感覚運動検査並びに反射検査を行った。

ホームケージ観察 : 姿勢、振戦、痙攣、異常動作、歩行障害、一般状態

オープンフィールド観察 : ケージから取り出したときの行動、被毛、皮膚、流涎、鼻の分泌物、流涙、眼/瞳孔サイズ、姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦、痙攣、異常動作、歩行障害、活動性/覚醒レベル、2 分間以内の糞 (糞粒数/外観/硬さ)、2 分間以内の尿 (量/色)、2 分間以内の立ち上がり回数

感覚運動/反射 : 接近反応、接触反応、視覚 (視覚性踏み直り反応)、瞳孔反射、耳介反射、聴覚 (驚愕反応)、運動協調性 (正向反応)、取扱い中の行動、異常発声、疼痛反応 (テールピンチ)、握力 (前肢/後肢)、着地開脚幅

統計学的に有意差のついた変化を次表に記載する。

項目	測定日	雄			雌		
		943	3770	7540	943	3770	7540
立ち上がり回数	22	39.7 ↓		41.3 ↓			
前肢握力	22			70.6 ↓			
後肢握力	85		125.0 ↑			70.5 ↓	

表中の数値は対照群の値を 100 とした場合の割合 (%) を示す。

統計検定 : Kruskal-Wallis + Wilcoxon (両側) 検定 ↑ ↓ ; $p \leq 0.05$, ↓ ; $p \leq 0.01$

これらの有意差のみられた所見は孤立発生であること、用量反応関連性がないことより偶発的と考えられた。その他に影響はみられなかった。

自発運動量 : FOB 検査後に全動物を対象として、投与前 (試験 7 日前)、試験 22、50 及び 85

日にビームを遮る回数を 5 分間隔で 12 回評価した。

総自発運動量については検体に有意な変化はなかった。

単一期間では、7540 ppm 群の雌において試験開始前及び 22 日の検査時に有意な増加が数例認められたが、孤立した発生であることより、偶発的で検体投与の影響によるものではないと判断した。

脳重量：試験終了後、生存動物 5 匹を Narcoren で深麻酔して、karnovsky 固定後を用いて灌流固定した後、脳(嗅球を除く)重量を測定した。

絶対及び相対重量の有意な変化はみられなかった。

肉眼的病理検査：灌流固定した 5 匹を対象として、肉眼的病理検査を行った。

肉眼的異常はみられなかった。

病理組織学的検査：灌流固定した 5 匹を対象として、下記の様に病理組織学的標本を作製して検鏡した。

プラスチック包埋標本の作製：対照群及び 7540 ppm 群を対象として、下記の固定組織をプラスチック包埋(エポキシ樹脂)、半薄切り、アズール II-メチレン青-塩基性フクシン染色して標本を作製した。

末梢神経系 [背根神経節、背根神経線維、腹根神経線維(C3-C6)；背根神経節、背根神経線維、腹根神経線維(L1-L4)]、近位坐骨神経、近位脛骨神経(膝部)、遠位脛骨神経(下肢部)

パラフィン包埋標本の作製：対照群及び 7540 ppm 群を対象として、下記の固定組織をパラフィン包埋(パラプラスト)、薄切り、ヘマトキシリン-エオジン染色標本を作製した。

脳[前頭葉、間脳を含む頂頭葉、後頭葉及び側頭葉を含む中脳、脳橋、小脳、延髄](横断切片)、網膜及び視神経を含む眼、脊髄 [頸部膨大部(C3-C6)、腰部膨大部(L1-L4)](横断及び縦断切片)、末梢神経系[神経を含むガッサー神経節、腓腹筋]

7540 ppm 群の雄 1 例に腓腹筋の反応性筋炎を伴う中等度で多病巣性の筋線維変性が認められた。また近位坐骨神経及び近位脛骨神経の軸索変性が同群の雄にそれぞれ 1 例及び 2 例認められた。これらは偶発的又は自然発生的であり、投与に関連したものではないと判断した。

以上より、検体を 90 日間 7540 ppm までの用量を反復混餌投与した神経毒性試験において、摂餌量の低下を伴う体重の抑制の全身性毒性が 7540 ppm 群の雌雄および 3770 ppm 群の雌雄で軽度認められたのみで、神経毒性の徴候は試験した最高用量でも認められなかった。従って、全身毒性の無毒性量(NOEL)は、943 ppm(雄 65.6 mg/kg/day；雌 79.4 mg/kg/day)と判断され、また、神経毒性の無毒性量(NOEL)は、雌雄とも 7540 ppm(雄 516.6 mg/kg/day；雌 616.5 mg/kg/day)であった。

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

Mepiquat-Chloride

10. 亜急性経口投与遅発性神経毒性

本検体の急性毒性試験および亜急性毒性試験では、遅発性神経毒性を示唆する所見が認められず、したがって本試験を不要と判断し実施しなかった。

11. 慢性毒性および発がん性

11-1. イヌを用いた飼料混入投与による 12 ヶ月間慢性経口毒性試験 (資料 12)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： ビーグル犬 1 群雌雄各 6 頭

試験開始時月齢： 雌雄約 7-9 ヶ月齢

試験開始時体重： 雄 6.7-13.0 kg 雌 6.4-10.4 kg

観察期間： 12 ヶ月間

投与方法： 検体を 0、200、600 および 1800 ppm の濃度で飼料に混入し、12 ヶ月間毎日摂取させた。検体混入飼料は 1 週間に 1 回調製し、毎日の給餌直前に検体混入飼料 350g と同量の水を混ぜペースト状にしたものを翌日の 7:30 頃まで与えた。

用量設定根拠： 3 ヶ月間混餌投与試験の試験結果 (資料 11) を基にした。3000 ppm 投与群において、鎮静、体重増加抑制、摂餌量の低下および貧血様症状が認められたことから、無毒性量は雌雄ともに 1000 ppm と判断、12 ヶ月間投与する本試験では、最高投与用量を 1800 ppm (検体の摂取量理論値：72 mg/kg) とし、毒性所見はこの濃度で確認できると予測した。また公比 3 により、600 ppm (24 mg/kg) および 200 ppm (3 mg/kg) と設定した。

試験項目および結果：

一般症状および生死： 全動物に対し、一般状態を毎日 1 回 (異常が認められた場合は数回) および生死を毎日 2 回観察した。

死亡例は認められなかった。また一般症状異常として、脱毛、嘔吐、下痢などが観察されたが、いずれも散発的かつ非用量依存的であるため、投与に起因しないものと判断した。

体重： 1 週間に 1 度 (通常は午前中)、全動物の体重を測定した。また各測定日毎に体重増加量を算出した。

雌雄ともにいずれの投与用量・測定日でも統計学的有意な変動は認められなかった。したがって、本検体の投与は動物の体重に影響を及ぼさないと判断する。

(Kruskal-Wallis Anova+Mann-Whitney u-Test、 $p < 0.05$)

摂餌量： 午前中の遅い時間に給餌し、翌朝の残量から 1 日あたりの摂餌量を毎日算出した。

最高投与量の雄で 1 例、および雌で数例 (対照群および各検体投与群中に散見)、

食欲不振が認められた。しかし、この食欲不振は極めて一時的なものであり、各群の平均摂餌量に影響を及ぼすようなものではなかった。対照群と各検体投与群との間には統計学的有意な変動が認められないことから、本検体は食欲に対し影響を及ぼさないと判断した。

(Kruskal-Wallis Anova+Mann-Whitney u-Test、 $p < 0.05$)

検体摂取量：各個体の 1 日あたり摂餌量と投与濃度から、1 日あたりの平均検体摂取量を算出した。結果を表 1 に示す。

表 1. 平均検体摂取量

投与量 (ppm)	200	600	1800
平均検体摂取量 (雌雄混合値) (mg/kg/日)	6.3	19.9	58.4

血液学的検査：絶食させた動物の橈側皮静脈より、投与開始前（雄：11 日前、雌：8 日前）および投与開始 3、6 および 12 カ月後（雄：93、184 および 367 日目、雌：94、188 および 367 日目）に採血し、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、白血球百分比 (WBC-Dif)、網状赤血球数 (RET)、部分トロンボプラスチン時間 (PTT)、トロンボプラスチン時間 (TPT)

有意差の認められた検査項目を表 2 に示す。

表 2. 血液学的検査 (%)

検査時期 雄/雌	投与前 11/8 日			投与後 93/94 日			投与後 184/188 日			投与後 367 日		
	200	600	1800	200	600	1800	200	600	1800	200	600	1800
雄	Hb			105 ↓			106 ↓ ↓					
	RBC						107 ↓ ↓					
	HCT						107 ↓ ↓		106 ↓			
	RET					200 ↓ ↓	217 ↓ ↓	200 ↓ ↓	233 ↓ ↓			
	PTT					94 ↓						
雌	RET											23 ↓ ↓
	PTT						95 ↓					

統計学的解析：Kruskal-Wallis Anova+Mann-Whitney u-Test ↑ ↓ : $p < 0.05$ 、↑ ↓ ↓ ↓ : $p < 0.02$

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差無し

上記のような変動が認められた。しかしながら、これらの変動には用量や経時依存性が認められず、また雌雄での同一性も認められないため検体投与に起因する

ものではないと判断した。

血液生化学的検査；血液学的検査用血液の採血と同時に採取した血液から血清を回収し、以下の項目について検査した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) アルカリフォスファターゼ (ALP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (INP)、カルシウム (Ca)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Crea)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T.Bil)、総タンパク (T.Pro)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、トリグリセリド (TG)、コレステロール (Chol) 有意差の認められた検査項目を表 3 に示す。

下記のような有意な変動が認められた。しかしながら、これらの変動には用量や経時依存性が認められず、また雌雄での同一性も認められないため検体投与に起因するものではないと判断した。

表 3. 血液生化学的検査値 (%)

検査時期 雄/雌	投与前 11/8 日			投与後 93/94 日			投与後 184/188 日			投与後 367 日		
	200	600	1800	200	600	1800	200	600	1800	200	600	1800
雄												
T.Pro		109 ↑								106 ↑		104 ↑
Glob		115 ↑ ↑										
雌												
Urea						128 ↑ ↑						
Cl						104 ↑						
K								106 ↑				

統計学的解析：Kruskal-Wallis Anova+Mann-Whitney u-Test ↑ : p < 0.05, ↑↑ : p < 0.02

表中の数値は、対照群を 100%とした際の相対値。空欄は有意差無し

尿検査；投与開始 6 日前、投与 92 (雌雄)、183 (雄)、185 (雌) および 365 (雌雄) 日後に、各動物の一晚蓄尿を採取し、以下の項目について検査した。

尿量、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、亜硝酸塩、潜血、比重、沈渣

有意差の認められた検査項目を表 4 に示す。

表 4. 尿検査

検査時期 雌	投与前 6日			投与後 92日			投与後 185日			投与後 365日		
	200	600	1800	200	600	1800	200	600	1800	200	600	1800
タンパク									↑		↑	
比重					↑	↑					↑	↑
沈渣鏡検												
赤血球		↑										
扁平上皮							↑		↑	↑		↑
結晶											↑	

統計学的解析: χ^2 Test ↑: $p < 0.05$

空欄は有意差無し

雌においてのみ上記のような変動が認められた。しかしながら、これらの変動には用量や経時依存性が認められず、また雌雄での同一性も認められないため検体投与に起因するものではないと判断した。

眼科学的検査: 投与開始前の全動物および投与終了時の対照群および最高用量投与群 (1800 ppm) の動物を対象として実施した。

1800 ppm 投与群の雌 1 例においてのみ、投与開始および投与終了時に右眼の角膜混濁が認められた。しかしながら、この症状は極めて軽微であり、また試験終了時には変化が認められなかったことから、検体投与に起因するものではないと判断した。

臓器重量: 試験終了時の全生存動物に対し、屠殺後に以下の臓器を採取し臓器重量を測定した。

肝臓、腎臓、副腎、脳、甲状腺 (上皮小体を含む)、精巣、卵巣

相対重量および対体重比のいずれにおいても、統計学的に有意な変動は認められなかった。

肉眼的病理検査: 試験終了時の全生存動物に対し、屠殺後の剖検を実施した。

検体投与に起因する所見は認められなかった。

病理組織学的検査: 剖検を実施した動物より、以下の組織を採取し、病理標本作成後の鏡検より組織学的検査を実施した。

肉眼的異常部位、前立腺、副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、食道、眼球、乳腺 (雌のみ)、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節 (腸間膜および腋窩)、卵巣、膵臓、下垂体、直腸、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、脾臓、胸骨 (骨髓を含む)、胃、精巣、胸腺、甲状腺 (上皮小体を含む)、気管、膀胱、子宮、耳下腺

上記組織はヘマトキシリン・エオジン染色を行い、さらに肝臓および脾臓に関してはヘモジデリン沈着検出のための鉄検出染色 (パールス反応染色) およびオイ

ル・レッドO染色（脂肪検出、肝臓のみ）も実施した。

パルス反応染色によるヘモジリン沈着の結果を表5に、ヘマトキシリン・エオジン染色による病理組織学的検査の異常所見を表6に示す。

表5. 脾臓および肝臓のヘモジリン沈着の程度

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	200	600	1800	0	200	600	1800
検査動物数		6	6	6	6	6	6	6	6
脾臓	グレード1	6	5	6	3	5	5	5	4
	グレード2	0	1	0	3	1	1	1	2
肝臓	グレード1	6	6	6	4	6	4	5	5
	グレード2	0	0	0	2	0	0	0	0

表6. 病理組織学的検査による異常所見

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	200	600	1800	0	200	600	1800
耳下腺	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	浸潤	1	2				1	1	1
顎下腺	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	浸潤							1	
胃	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	腺嚢胞形成		1	1					
	リンパ節過形成			1	1	1	1	2	1
十二指腸	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	腺拡張		2	2	1	2	3	2	1
空腸	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	糜爛					1			
肝臓	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	嚢胞形成			1			1	1	
	浸潤					1			1
	肉芽腫						1		
胆嚢	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	嚢胞形成						1	1	
	浸潤	1							1
肺	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	石灰化		2						
	肺気腫		1		1	1	1		
	出血	1	1		1		1	2	2
	浸潤	1	2	2	3	3	4	2	4
	肉芽腫	5	4	4	2	5	3	2	1
	肺炎			1	1	1	1	3	2
腎臓	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	石灰化	6	5	6	6	6	5	6	5
	嚢胞形成						1		
	浸潤				1				
	腎炎					1			
精巣	検査動物数	6	6	6	6				
	精子不形成	3	1	2	2				
	浸潤	1							

表 6. 病理組織学的検査による異常所見 (つづき)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	200	600	1800	0	200	600	1800
前立腺	検査動物数	6	6	6	6				
	嚢胞形成	3		1	2				
	繊維化	1							
卵巣	検査動物数					6	6	6	6
	嚢胞形成						1		2
	嚢胞腫						1	1	
子宮	検査動物数					6	6	6	6
	腺嚢胞形成					1			
	内膜形成異常						1	1	
脾臓	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	脾柱肥厚			1					
胸腺	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	嚢胞形成	4	1	3	1		1		
腋窩リンパ節	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	色素沈着	1	1	1	1	2	1	1	2
脳	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	石灰化					2			2
	出血		1		1	1	1	1	
	嚢胞形成	1					1		
	浸潤	1							
副腎	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	類洞拡張							1	
甲状腺	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	過形成							2	
	甲状腺炎					1	1		1
上皮小体	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	嚢胞形成	2	1			1		1	1
下垂体	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	血液嚢腫	6	6	6	6	6	6	6	6
胸骨(含骨髄)	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
	繊維化異形成	1			1	1	2		

表 5 に示すように最高用量投与群の雄脾臓におけるヘモジデリン沈着の程度が対照群に比べ僅かに進行していた。両群ともに全動物でヘモジデリン沈着が陽性であったが、対照群が全例グレード 1 (極軽微) であるのに対し、最高用量投与群では 3/6 例がグレード 1、グレード 2 (軽微) が 3/6 例で認められた。また同様に肝臓においても、対照群雄の全例がグレード 1 であったのに対し、最高用量投与群雄では、グレード 2 が 2/6 例、グレード 1 が 4/6 例で認められた。

その他の病理組織学的所見では、いずれも雌雄不同一性、散発性または用量非依存性であり、対照群にも認められるような所見であったため、検体投与に起因するものではないと判断した。

病理組織学的検査結果から、本検体は 1800 ppm の投与により雄動物の脾臓およ

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

Mepiquat-Chloride

び肝臓において、ヘモジデリン沈着を軽微に亢進するものと判断する。

以上の結果から、本検体をイヌに 12 ヶ月間混餌投与した場合、1800 ppm (約 5.4 mg/kg/day) の濃度において雄動物の脾臓および肝臓にヘモジデリン沈着を極めて軽微に亢進する。よって、無毒性量は雄では 600-1800 ppm の間、雌では 1800 ppm 以上であると判断する。