

(12) 繁殖毒性および催奇形性

1) メタラキシルのラットにおける繁殖毒性試験

(資料 No.T-29)

報告書作成年：1980年

試験動物：CrL：COBS CD(SD)BR 系 SPF ラット、1 群雌雄各 25 匹（開始時 5 週齢）

投与期間：F<sub>0</sub> 世代；投与開始から F<sub>1A</sub> 離乳までの約 22 週間、F<sub>1B</sub> 離乳までの約 10 週間および F<sub>1C</sub> 分娩までの約 8 週間。

F<sub>1</sub> 世代；離乳時から F<sub>2A</sub> 離乳までの約 19 週間および F<sub>2B</sub> 離乳までの約 8 週間。

F<sub>2</sub> 世代；離乳時から F<sub>3A</sub> 離乳までの約 22 週間、F<sub>3B</sub> 離乳までの約 8 週間。

(1977 年 11 月～1979 年 6 月)

投与方法：メタラキシルを 0、50、250、1250ppm 含有した飼料を各世代のそれぞれの投与期間、自由に摂食させた。メタラキシルを混合した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

試験項目および結果：試験方法の概要を図 1、結果を表 1～6 にまとめた。

親動物：

一般状態および死亡率；全動物の全検査期間に一般状態および生死を毎日観察した。

検体投与に関連する所見は認められなかった。

飼料摂取量および食餌効率；飼料摂取量は交配前期間に週 1 回測定し、食餌効率（単位体重増加当りの飼料摂取量）を算出した。

検体投与に関連する変化は認められなかった。

飲水量；交配前期間の 1 週または 2 週時、ならびに交配 2 週間前の 1 週間について測定した。

検体投与に関する変化は認められなかった。

体重変化；試験開始時から交配前までは週に 1 回、交配中は 1 日おきに、妊娠期間中は 0、7、14、20 日目に、分娩後は 0、7、14、21 日目に測定した。

F<sub>1</sub> 世代の 1250ppm 投与群雄で有意な減少 (P<0.01) を示したが、F<sub>2</sub> 世代では有意差が認められなかったことから、投与の影響ではないと考えられた。

繁殖に関する指標 ; 交配、妊娠時の観察に基づき次の指標を算出した。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

また、妊娠 20 日目の検査ではさらに黄体数、生存胎児数および子宮内分布、死亡胎胚ないし胎児数および子宮内分布、平均胎児体重、胎児の異常を調べ、以下の指数を算出した。

$$\text{着床前損失率} = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{着床後損失率} = \frac{\text{黄体数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

いずれの項目についても検体投与に関連した変化はみられなかった。

仔動物 ; 繁殖性の項目 ; 産児数、性別について調べ、分娩時、4、8、12、21 日目に一腹児体重および平均児体重を測定し、死亡率についても算出した。さらに F<sub>0</sub>および F<sub>1</sub>世代の児を対象として外表異常および内臓異常検査を実施した。1250ppm 群の F<sub>1B</sub>雄において、育成期間中に有意な体重増加抑制が認められた。それ以外には、いずれの世代でも、検体投与に関連する変化は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; F<sub>0</sub>、F<sub>1B</sub>および F<sub>2B</sub>世代を対象として検査を実施した。いずれの世代でも、検体投与に関連する変化は認められなかった。

臓器重量 ; F<sub>2B</sub>および F<sub>3B</sub>世代を対象として以下の臓器の重量を測定し、必要に応じて比重量を算出した。

副腎、肝臓、脾臓、脳、肺、精巣、心臓、卵巣、胸腺、腎臓、下垂体、甲状腺、子宮。

一部の臓器において、有意な変化がみられたが、用量に依存した変化ではなく、F<sub>2</sub>および F<sub>3</sub>世代で一貫した変化を示さなかったことから投与による影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査 ; F<sub>3B</sub>世代の対照群および最高投与群を対象として下記の組織の検査を実施した。

副腎、骨髄、脳、(髄質、小脳および皮質)、盲腸、十二指腸、眼、心、回腸、腎、肝、肺、リンパ節 (頸部および腸間膜)、卵巣、膵、下垂体、唾液腺、精囊、脾、胃 (腺胃および非腺胃)、精巣、胸腺、甲状腺、膀胱、子宮、肉眼的異常部位。検体投与に関連す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シンジェンタジャパン株式会社にある。

以上の結果より、2世代にわたり検体を飼料中に混入して投与した場合、繁殖能力への影響は認められず、最高用量の 1250ppm 投与においても毒性が認められなかったことから、無毒性量は親および児に対し 1250ppm（親動物の雄で 77.6mg/kg/day、雌で 92.9mg/kg/day、児動物の雄で 106.1mg/kg/day、雌で 127.3mg/kg/day）と判断された。

図 1. 試験方法の概要

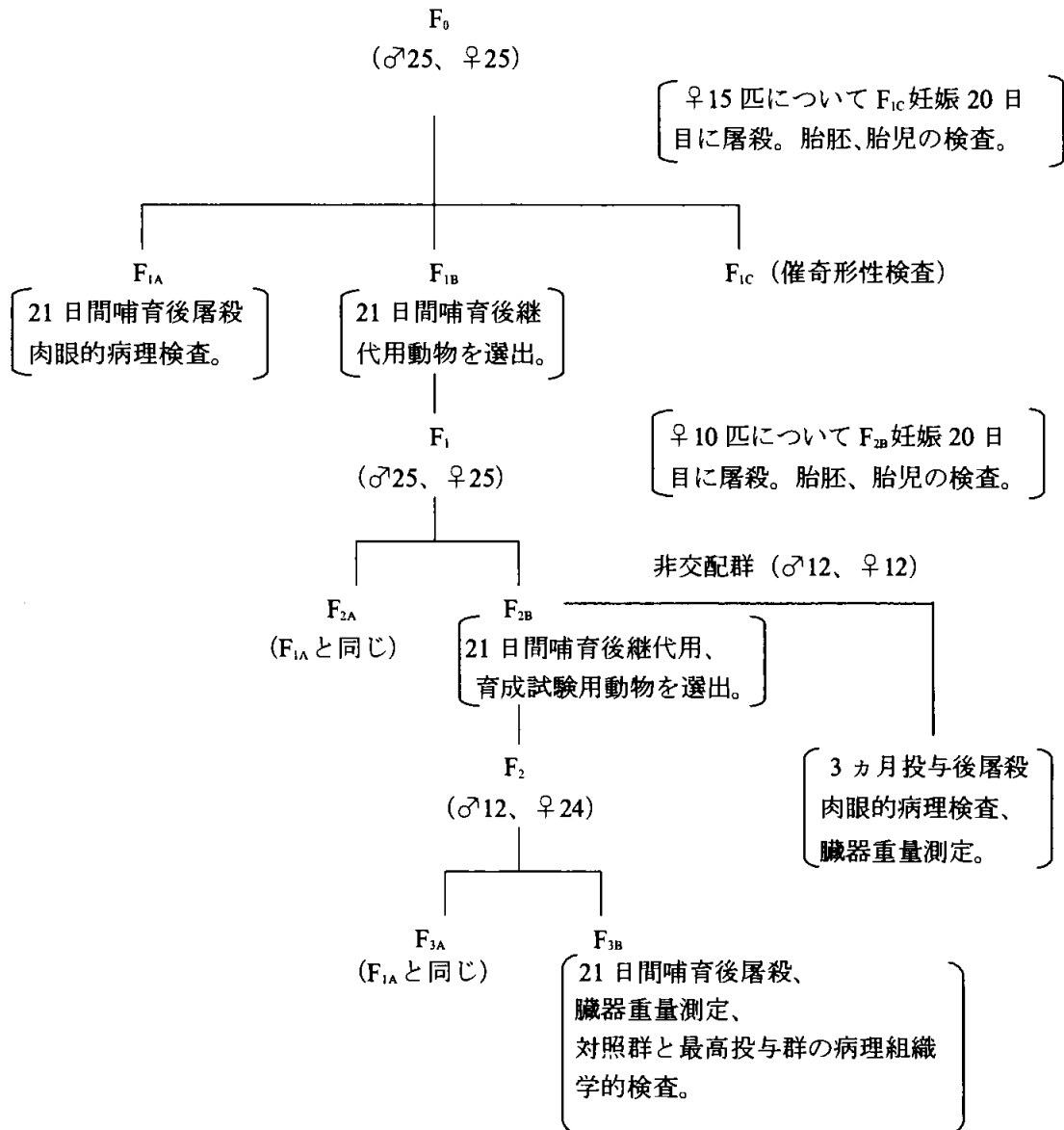


表 1

世 代	親 動 物											
	F <sub>0</sub>				F <sub>1</sub>				F <sub>2</sub>			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
一般状態												
死亡率 (%)	雄 雌	0 0	0 0	4 0	4 0	4 0	0 0	0 0	4 0	4 0	0 0	0 0
飼料摂取量 <sup>a)</sup> (g/ラット/週)	雄 雌	193 135	184 129*	178 128**	189 135	180 137	164 131*	184 155	201 132	196 140	186 130	202 137
飲水量 (ml/ラット/日)	1 回目 2 回目	28.3 33.9	26.9 36.7	26.8 35.2	29.2 38.9**	18.2 34.8	16.3 34.6	15.6 34.8	16.1 31.7	21.8 37.4	24.0 36.9	25.9 43.2
体 重	雄 雌	30.3 30.2	30.2 31.4	31.4 31.1	31.1 31.1	27.5 27.5	27.3 27.3	27.2 27.2	29.5 29.5	30.4 30.4	31.9 31.9	32.9 32.9
食餌効率	雄 雌	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
検体摂取量 (mg/kg/day) <sup>c)</sup>	雄 雌	0 0	3.1 3.6	15.6 17.5	77.6 92.9	0 0	4.1 4.8	20.9 23.0	106.1 127.3	0 0	4.0 4.7	19.7 23.2
妊娠率 (%)	1 回目 2 回目 3 回目	80 76 80	88 88 53	96 80 73	80 84 67	88 76	88 80	100 96	96 88	92 96	75 92	96 88
50%交尾所要期間 (日)	1 回目 2 回目 3 回目	2.0 3.0 3.0	2.0 3.0	2.0 4.0	3.0 3.0	3.0 4.0	3.0 3.0	3.0 2.0	3.0 2.0	4.0 3.0	7.5 5.5	4.5 3.0
妊娠期間 (日)	1 回目 2 回目	22.4 22.2	22.3 22.2	22.1 22.3	22.4 22.2	22.0 22.3	22.2 22.4	22.1 22.3	22.0 22.2	22.3 22.2	22.2 22.2	22.3 22.0
肉眼的病理検査		検体投与に関連した変化は認められなかった。										

備考

統計解析；群間の平均の飼料摂取量、飲水量および体重については、共分散分析（あるいは分散分析）後、LSDs法または Williams 法で検定

—；対照との差がない、\*；p<0.05、\*\*；p<0.01、\*\*\*；p<0.001

a)；F<sub>0</sub>、F<sub>2</sub>は13週、F<sub>1</sub>は10週の測定値 b)；交配1週間前の測定値のみ。%は対照群に対する変動率を示す。

c)；群別平均体重、平均摂取量および添加濃度を基に申請者が計算した。

表 2

世 代	児 動 物									
	F1A					F1B				
	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	5
投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	5
全死産腹児出現率 (%)	10	0	4	0	11	0	0	0	0	5
分娩時	12.5	13.9	12.8	12.9	10.8	14.7***	13.7*	14.3***	13.7*	14.3***
4日後	12.2	13.2	12.3	12.3	10.0	14.5***	12.9*	13.9***	12.9*	13.9***
8日後	11.8	13.0	11.9	11.8	9.8	14.3***	12.6*	13.6***	12.6*	13.6***
12日後	11.8	12.9	11.8	11.8	9.8	14.2***	12.6*	13.5***	12.6*	13.5***
21日後	11.7	12.9	11.7	11.8	9.7	13.9***	12.5*	13.3**	12.5*	13.3**
分娩時	0.4	0.0	1.3	0.7	1.4	0.3	1.3	0.0	1.3	0.0
4日後	2.5	4.7	5.5	5.3	7.4	1.7	7.1	3.3	7.1	3.3
8日後	4.9	6.1	8.2	8.4	8.9	3.1	8.9	4.8	8.9	4.8
12日後	4.9	7.3	9.1	8.4	9.3	3.7	9.1	5.4	9.1	5.4
21日後	5.7	7.3	9.5	8.4	9.8	5.4	9.4	6.7	9.4	6.7
分娩時	77.8	88.2	78.0	82.7	67.1	94.2***	86.4*	93.1***	86.4*	93.1***
4日後	113.5	128.5	112.7	122.9	90.9	134.1***	119.0*	129.9***	119.0*	129.9***
8日後	188.4	211.5	186.0	199.7	154.9	218.5***	191.2	209.8**	191.2	209.8**
12日後	277.1	305.5	266.6	290.7	234.9	323.5***	284.3	309.5**	284.3	309.5**
21日後	544.1	615.7	538.5	581.6	440.1	602.0**	536.4*	578.0**	536.4*	578.0**
分娩時	6.3	6.4	6.2	6.5	6.5	6.5	6.4	6.6	6.4	6.6
4日後	9.6	9.7	9.4	10.0	9.4	9.5	9.3	9.7	9.3	9.7
8日後	16.3	16.3	16.0	16.8	16.3	15.6	15.2	16.0	15.2	16.0
12日後	24.0	23.9	23.1	24.5	24.6	23.3	22.6	23.7	22.6	23.7
21日後	47.4	48.2	46.8	48.8	46.5	44.2	42.9	45.0	42.9	45.0
肉眼病理検査	検体投与に関連した変化は認められなかった。									
備考	統計解析；ノンパラメトリック法 (Jonckheere および Kruskal Wallis) ; * ; p<0.05, ** ; p<0.01, *** ; p<0.001									

表 3

世代	児動物											
	F <sub>2A</sub>						F <sub>2B</sub>					
	0	50	250	1250	0	1250	0	50	250	1250	0	1250
投与量 (ppm)	0	5	11.5	13.2	13.0	12.9	12.6	12.6	12.6	12.1	12.1	12.5
全死産腹児出現率 (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均生存一腹 児数の推移	13.5	13.2	13.0	12.9	12.9	12.6	12.6	12.1	12.1	12.1	12.9	12.2
分娩時	13.0	13.0	12.8	12.8	12.8	12.5	12.5	12.1	12.1	12.1	12.9	12.2
分娩時	0.4	0.4	1.3	1.3	1.3	0.8	0.8	0.5	0.5	0.5	1.0	3.1
4日後	2.6	2.4	2.8	2.8	2.8	2.7	2.7	3.6	3.6	3.6	2.1	4.8
8日後	4.4	3.2	3.0	3.0	3.0	3.9	3.9	4.5	4.5	4.5	2.1	4.8
12日後	4.7	3.2	3.0	3.0	3.0	3.9	3.9	4.9	4.9	4.9	2.1	4.8
21日後	4.7	3.6	3.5	3.5	3.5	4.5	4.5	4.9	4.9	4.9	2.5	4.8
分娩時	79.9	73.9	81.8	80.2	81.8	80.2	80.2	78.4	78.4	78.4	73.5	76.8
4日後	118.9	115.4	128.1	120.0	128.1	120.0	120.0	120.2	120.2	120.2	109.5	117.8
8日後	195.4	190.0	209.2	198.3	209.2	198.3	198.3	198.1	198.1	198.1	184.2	198.3
12日後	293.8	277.6	303.6	294.9	303.6	294.9	294.9	292.2	292.2	292.2	268.4	296.0
21日後	571.9	551.6	590.4	567.6	590.4	567.6	567.6	591.0	591.0	591.0	538.9	577.9
分娩時	5.9	6.5***	6.2*	6.2	6.2*	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.5	6.2
4日後	9.0	10.4**	10.0**	9.5	10.0**	9.5	9.5	9.8	9.8	9.8	10.3	9.8
8日後	14.9	17.4**	16.4*	15.9	16.4*	15.9	15.9	16.4	16.4	16.4	17.2	16.4
12日後	22.7	25.5	23.9	23.6	23.9	23.6	23.6	24.4	24.4	24.4	25.2	24.5
21日後	44.4	50.9*	46.9	45.8	46.9	45.8	45.8	49.4	49.4	49.4	50.5	48.0
肉眼病理検査	検体投与に関連した変化は認められなかった。											
備考	統計解析；ノンパラメトリック法 (Jonckheere および Kruskal Wallis)、*；p<0.05、**；p<0.01、***；p<0.001											

表 4

世 代	児 動 物											
	F <sub>3A</sub>						F <sub>3B</sub>					
	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	50	250	1250
投与量 (ppm)	9	6	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
全死産腹児出現率 (%)												
分娩時	13.3	12.5	12.3	12.7	12.7	11.7	12.8	12.4				
4日後	13.1	12.1	11.8	12.5	12.5	11.7	12.5	12.2				
8日後	12.9	12.1	11.5	12.4	12.4	11.6	12.4	12.2				
12日後	12.9	12.1	11.4	12.3	12.3	11.5	12.3	12.2				
21日後	12.9	12.1	11.4	12.3	12.3	10.9	12.2	12.2				
分娩時	0.5	0.5	1.7	0.0	0.0	0.6	0.9	3.1				
4日後	1.6	3.8	5.2	1.0	1.0	0.6	2.9	4.8				
8日後	3.3	4.3	7.0	1.9	1.9	1.1	3.6	4.8				
12日後	3.9	4.3	7.9	2.3	2.3	2.3	4.4	4.8				
21日後	3.9	4.3	7.9	2.3	2.3	5.9	5.1	4.8				
分娩時	81.4	78.6	77.0	76.8	76.8	76.0	84.4	76.8				
4日後	122.3	114.9	108.7	120.2	120.2	125.5	133.5	117.8				
8日後	198.3	188.6	175.8	191.8	195.9	202.9	212.9	198.3				
12日後	295.1	278.2	260.9	283.3	295.0	293.6	311.5	296.0				
21日後	556.3	536.8	504.5	545.7	572.1	546.6	597.8	577.9				
分娩時	6.2	6.3	6.3	6.3	6.2	6.6	6.7	6.2				
4日後	9.3	9.4	9.4	9.7	9.8	11.1	10.9	9.8				
8日後	15.3	15.6	15.5	15.7	16.3	18.1	17.5	16.4				
12日後	23.0	23.3	23.2	23.2	24.5	26.6	25.9	24.5				
21日後	43.5	45.0	44.7	44.7	47.7	52.1	50.2	48.0				
病理組織検査	対照群と1250ppm投与群について検査したところ、検体投与に関連した変化は認められなかった。											



表 5

世 代	催 奇 形 性 試 験										
	F <sub>0</sub>					F <sub>1</sub>					
	0	50	250	1250	0	50	250	1250	0	250	1250
投与量 (ppm)											
着床前吸収胚 (%) *	4.9	5.2	7.4	17.6	2.8A 8.8B	11.1	7.6	5.5			
一腹児数	13.6	14.4	13.5	10.9	11.7	10.4	11.8	12.9			
性 比	1.14	1.96	1.37	0.95	0.95	0.86	0.84	0.82			
着床後吸収胚 (%) **	6.0	2.9	7.0	5.5	5.6A 6.6B	11.4	12.1	10.7			
一腹児体重 (g)	45.99	49.22	45.97	36.96	40.15A 46.72B	35.96	42.76	46.28			
胎児平均体重 (g)	3.38	3.41	3.46	3.46	3.46A 3.61B	3.47	3.60	3.70			
大奇形出現率	0.9	2.1	1.3	0.9	0.0	0.0	1.7	0.0			
小変形出現率	3.9	5.2	2.4	0.0	0.0	23.3	5.1	2.8			
内臓異常 骨格異常	7.5	4.2	4.2	3.6	5.6	9.1	4.1	1.8			
備 考 :	A ; 本試験の平均値 B ; ハンチンドン・リサーチ・センターの蓄積データの平均値 (屠殺用妊娠動物が少ない為)										
	F <sub>2</sub> 親世代					育成試験					
投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250			
肉眼病理検査	検体投与に関連した変化は認められなかった。										
備考	$* : \text{着床前吸収胚} = \frac{\text{黄体総数} - \text{着床数}}{\text{黄体総数}} \times 100$ $** : \text{着床後吸収胚} = \frac{\text{着床総数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床総数}} \times 100$										

表 6

世 代 性 別	臓器重量											
	F <sub>2</sub>						F <sub>3</sub>					
	雄			雌			雄			雌		
投与量 (ppm)	50	250	1250	50	250	1250	50	250	1250	50	250	1250
	103	98	106	93	91	95	109	103	104	119	115	111
最終体重				84 ↓	84 ↓	85 ↓						
副腎	重量			88 ↓	90 ↓							
	体重比											
	補正值			105 ↑		106 ↑				104 ↑	105 ↑	102 ↑
脳	重量			109 ↑	110 ↑	112 ↑				88 ↓		
	体重比					107 ↑						
	補正值			104 ↑								
心臓	重量			109 ↑	111 ↑	106 ↑						
	体重比											
	補正值											
腎臓	重量			94 ↓	90 ↓	98 ↓						90 ↓
	体重比			92 ↓								
	補正值			93 ↓								
肝臓	重量											
	体重比						111 ↑	109 ↑	110 ↑	108 ↑		
	補正值						111 ↑					
肺	重量											
	体重比											
	補正值											
卵巢	重量									123 ↑	114 ↑	
	体重比											
	補正值											
下垂体	重量			79 ↓	79 ↓	86 ↓						150 ↑
	体重比			80 ↓						67 ↓		125 ↑
	補正值			79 ↓						60 ↓		
甲状腺	重量											
	体重比											
	補正值											
胸腺	重量											
	体重比											
	補正值											
胸腺	重量											
	体重比											
	補正值											

統計解析：Student-t test ↑↓：P<0.05、↑↑↓↓：P<0.01、表中の数値は対照群に対する割合%  
補正值は最終体重値を共変量として調整した平均値

2) ラットにおける催奇形性試験

(資料No.T-30)

報告書作成年：1978年

報告書改訂：1984年

試験動物：Sprague Dawley系 (Tir/RAI) 妊娠ラット (2ヵ月齢)、1群雌25匹

試験期間：1977年3月16日～ (終了時期不明)

試験方法：検体を2%CMC水溶液に懸濁させ、20、60および120 mg/kg/dayの用量で妊娠6日から妊娠15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した。  
対照群には2%CMC水溶液を同様に投与した。

試験項目：

母体；一般状態、生死および体重を毎日観察、測定し、飼料摂取量を妊娠6、11、16および21日に測定した。  
妊娠20ないし22日に帝王切開し、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重および外表異常の観察を行なった。  
生存寄児の2/3については骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内蔵異常の有無を検査した。

試験結果：概要を次頁の表に示す。

母体；120mg/kg投与群で軽度の嗜眠が認められた。  
60mg/kg以上の投与群で特に投与期間中に体重の増加抑制が認められたが、60mg/kg投与群では検体投与開始前から体重が有意に低かったため、検体投与による影響とは考えられなかった。  
120mg/kg投与群で投与期間における飼料摂取量が有意に低下した。  
着床所見には群間に差が認められなかった。

生存胎児；外表異常として対照群の1例に脳ヘルニアが認められた。  
骨格検査では、投与群で骨化の促進が認められたが、帝王切開日の変動によるものと考えられた。  
骨格変異胎児数が20mg/kg投与群で少なかったが、用量相関性は認められなかった。

内臓検査では、全身浮腫、肺形成不全、心の位置異常が認められたが、群当りの発生例数は1~2例で検体投与との関連は認められなかった。

以上の結果より、メタラキシルを妊娠ラットに投与した時の母体における無毒性量は60 mg/kg/dayであった。また、最高投与量の120 mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性を示さないものと判断される。

投与群 (mg/kg/day)		対照群	20	60	120	
1群当り動物数		25	25	25	25	
親動物	一般状態		影響なし	影響なし	嗜眠 (鈍麻)	
	死亡率 (率%)	0	1 (4.0)	0	0	
	体重変化 (率%)#					
	妊娠 0~6日	100	100~102	96~97 ↓	99~104	
	妊娠 7~15日	100	99~101	97 ↓	95~97 ↓	
	妊娠 16~21日	100	99~102	98~99	97~98 ↓	
	体重増加量 (g) #	149	152	151	142	
	飼料摂取量 (率%) #		影響なし	影響なし	投与期間中に減少 (91~95 ↓)	
	妊娠動物数 (率%)	24 (96.0)	22 (91.7)	23 (92.0)	24 (96.0)	
	着床所見					
着床数 #	13.2	13.1	12.9	12.1		
生存胎児数	12.2	12.3	12.0	11.0		
吸収胚数	1.1	0.8	0.9	0.9		
吸収胎児数	0.0	0.0	0.0	0.1		
死亡胎児数	0.0	0.0	0.0	0.0		
胎児動物	体重 (g) #	5.33	5.38	5.35	5.48 ↑	
	性比 (雄率%)	52.4	46.1	51.3	51.7	
	外表検査	検体胎児数(腹数)	292 (24)	271 (22)	275 (23)	265 (24)
		異常胎児数(腹数)	脳ヘルニア : 1(1)	0	0	0
	骨格検査	検査胎児数(腹数)	198 (24)	180 (22)	184 (23)	176 (24)
		骨化遅延	0	骨化促進 (頸椎、胸骨、距骨)	骨化促進 (後肢指骨、距骨)	骨化促進 (胸骨)
		変異胎児数 (腹数)	A: 19 (13) B: 276 (23)	A: 54 (20) B: 20 (9)	A: 18 (9) B: 243 (23)	A: 14 (11) B: 241 (24)
		奇形胎児数 (腹数)	0	0	0	0
	内臓検査	検査胎児数 (腹数)	94 (24)	91 (22)	91 (23)	89 (24)
		変異胎児数 (腹数)	0	0	0	0
		奇形胎児数 (腹数)	軽度の全身浮腫 : 1 (1)	肺形成不全 : 2 (2)	軽度の全身浮腫、肺形成不全を伴う心の位置異常 : 1 (1)	0

A : 胸骨のジッパー型骨化 (のべ胎児数とのべ腹数)

B : 肋骨短小 (のべ胎児数とのべ腹数)

# : 一元配置ANOVAおよびDuncanの多重比較検定 ↑ ↓ : P < 0.05

3) ラットにおける催奇形性試験

(資料No.T-31)

報告書作成年：1985年

試験動物：Sprague-Dawley系（チャールス・リバーCOBS）妊娠ラット（交配時14～17週齢）、1群27匹、但し最高投与量群は38匹

試験期間：1984年8月29日（交配開始）～1984年10月2日（帝王切開）

試験方法：検体を1%CMC水溶液に懸濁させて50、250および400mg/kg/dayの用量で妊娠6日から妊娠15日までの10日間、毎日1回強制経口投与した。  
対照群には1%CMC水溶液を同様に投与した。

なお、本試験は当初、最高用量として575 mg/kg/dayを投与したが、死亡が認められ、次に500 mg/kg/dayに投与量を下げたが、この用量でも死亡が認められた。このことから最終的に最高用量を400 mg/kg/dayとした。

試験項目：

母体：一般状態、死亡の有無について毎日観察し、妊娠0、6、9、12、16および28日に体重を、妊娠0日から19日まで毎日飼料摂取量を測定した。  
妊娠20日に帝王切開し、生存および死亡胎児数、吸収胚数、着床数および黄体数を検査した。

生存胎児：全胎児について体重、性別および外表異常を検査した。また、半数の胎児について内蔵検査を、残りの半数について骨格検査を行なった。

試験結果：概要を表に示す。

母体：250mg/kgおよび400mg/kg投与群で鎮静、痙れん、正向反射の消失、死亡等が認められ、250mg/kg投与群で投与期間中、さらに400mg/kg投与群で妊娠期間中における体重増加抑制が認められたが、いずれも統計学的有意差は認められなかった。その他の検査項目では、群間に差が認められなかった。

生存胎児；外表検査では、50mg/kg投与群に無頭症が1例認められた。

骨格検査では、250mg/kg以上の投与群で、骨化遅延を示す腹数には差がなかったが、胎児数の増加が認められ、検体投与との関連が示唆された。

内臓検査では、400mg/kg投与群で全身浮腫が1例認められたが、発生例数が少ないことから、検体投与によるものとは考えられなかった。

以上の結果より、メタラキシルを妊娠ラットに投与した時の母体における無毒性量は50mg/kg/dayであった。また、最高投与量の400mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性を示さないと判断される。

投 与 群 (mg/kg/day)		対照群	50	250	400	
1群当りの動物数		27	27	27	38	
親動物	一 般 状 態		影響なし	瘰れん	被毛の汚れ、瘰れん、活力低下、正向反射の低下(消失)	
	死亡数 (死亡率%)	0	0	1 (3.7)	12 (31.6)	
	体重増加量* (g)	115	119	111	104	
	飼料摂取量*(率%)		影響なし	影響なし	影響なし	
	妊娠動物数 (妊娠率%)	24 (88.8)	25 (92.5)	23 (85.2)	33 (86.8)	
	着床所見	黄 体 数 **	15.4	15.5	15.0	15.7
		着 床 数 **	13.8	14.0	13.6	13.9
		生 存 胎 児 数 **	12.7	12.6	12.5	13.0
		吸 収 胎 児 数	1.0	1.5	1.0	0.8
		吸 収 胎 児 数	0.0	0.0	0.0	0.0
死 亡 胎 児 数	0.0	0.0	0.0	0.0		
児動物	体 重** (g)	3.4	3.3	3.2	3.2	
	性 比 (雄率%)	51.1	50.8	53.3	52.6	
	外表検査	検査胎児数 (腹数)	305 (24)	315 (25)	276 (22)	287 (22)
		異常胎児数 (腹数)	0	無頭症： 1 (1)	0	0
	骨格検査	検査胎児数 (腹数)	150 (24)	151 (24)	135 (22)	139 (22)
		骨化遅延胎児数*** (腹数)	43 (18)	51 (19)	59↑ (21)	70↑↑ (19)
		変異胎児数 (腹数)	16 (12)	10 (7)	16 (8)	25 (16)
		奇形胎児数 (腹数)	0	0	0	0
	内臓検査	検査胎児数 (腹数)	155 (24)	157 (25)	141 (22)	143 (22)
		変異胎児数 (腹数)	1 (1)	0	0	0
奇形胎児数 (腹数)		0	0	0	全身浮腫： 1 (1)	

\*：Studentのt 検定、

\*\*：修正  $\chi^2$  検定で統計解析、↑：P<0.05、↑↑：P<0.001

\*\*\*：分散分析および修正t 検定

4) メタラキシルのウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.T-32)

報告書作成年：1978年

報告書改訂：1984年

試験動物：チンチラ種ウサギ（4～5月齢、体重2.57～4.00kg、未経産）  
1群雌20匹（全動物を妊娠28日に開腹）

試験期間：1978年8月29日～（終了時期不明）

試験方法：メタラキシルを2% CMC水溶液に懸濁させ5、10および20 mg/kg/day用量で妊娠6日から18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には2% CMC水溶液を同様に投与した。

試験項目：

母体；一般状態及び生死を毎日観察し、また体重を毎日測定した。飼料摂取量を妊娠0～5、6～10、11～14、15～18、19～23および24～28日の6期間に測定した。妊娠28日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数、吸収胎児数および死亡胎児数を検査した。

生存胎児；性別及び体重ならびに外表および内臓異常を観察した。頭部については頭蓋骨の縫合、脳、脳室、頭蓋外表異常を、躯幹部については骨格異常を観察した。

試験結果：概要を表に示す。

母体；妊娠動物の10 mg/kg投与群で飼料摂取量および体重が対照群より有意に低い時期が認められたが用量相関性のない変化であった。一般状態、着床所見等その他の検査項目については対照群と差が認められなかった。

生存胎児；性別および体重に対照群との差は認められなかった。外表異常は全く認められず、両前肢および左後肢の第5指節骨の骨化促進例数が5mg/kg投与群で有意に高かったが、いずれも用量相関性がなく、検体の影響とは考えられなかった。骨格変異として肋骨の短小または欠損を示す延児動物数が10mg/kg以上の投与群で幾分多かったが、統計学的に差がないことから検体の影響とは考えられなかった。また骨格の奇形は全く認められなかった。内臓の異常については、10mg/kg投与群に左腎および尿管の欠損が1例に、腎の形成不全が1例に、20mg/kg投与群に右腎および尿管の欠損が1例に認められたが、蓄積対照では692例中4例に腎または尿管の欠損が認められているので、本試験における変化は自然発生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シンジェンタジャパン株式会社にある。

以上の結果より、メタラキシルを妊娠ウサギに投与したときの母体における無毒性量は 20 mg/kg/day であった。また最高投与量である 20 mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性は示さないと判断される。



投与群 (mg/kg/day)		対照群	5	10	20	
1 群当り動物数		20	18*	20	20	
親動物	一般状態		影響なし	影響なし	影響なし	
	死亡数 (率%)	0	1 (5.5)	0	0	
	体重増加量 (g)	0.73	0.70	0.66	0.75	
	飼料摂取量 (率%) (妊娠 6~18 日)	100	100~104	69~87 ↓***	93~96	
	妊娠動物数 (率%)	18 (90.0)	12 (66.7)	16 (80.0)	19 (95.0)	
	自然分娩動物数	1	1	1	0	
	** 着床所見	黄体数	10.6	9.8	9.5	10.4
		着床数	8.4	8.0	8.0	8.6
		生存胎児数	♂ 4.2 ♀ 3.7	♂ 4.0 ♀ 2.9	♂ 3.7 ♀ 3.7	♂ 4.7 ♀ 2.8
		吸収胚数	0.4	1.7	0.3	0.7
吸収胎児数		0.2	0.2	0.3	0.4	
死亡胎児数		0.0	0.0	0.0	0.0	
胎児動物	体重 (g)	♂ 34.4 ♀ 34.0	♂ 37.3 ♀ 36.2	♂ 34.5 ♀ 34.4	♂ 36.0 ♀ 34.3	
	性比 (雄率%)	53.2	58.0	49.5	62.5	
	外表検査	検査胎児数 (腹数)	141 (18)	69 (10)	111 (15)	144 (19)
		異常胎児数 (腹数)	0	0	0	0
	骨格検査	検査胎児数 (腹数)	141 (18)	69 (10)	111 (15)	144 (19)
		骨化遅延胎児数 (腹数)	0	指骨の骨化促進	0	0 (19)
		変異胎児数 (腹数)	A : 3 (3) B : 11 (8)	A : 4 (2) B : 7 (3) C : 1 (1) D : 2 (1)	A : 4 (3) B : 16 (7) D : 1 (1)	A : 2 (2) B : 20 (9) E : 1 (1)
		奇形胎児数 (腹数)	0	0	0	0
	内臓検査	検査胎児数 (腹数)	141 (18)	69 (10)	109 (15)	143 (19)
		変異胎児数 (腹数)	0	0	0	0
奇形胎児数 (腹数)		0	0	左腎及び尿管の欠損 1 (1) 腎の形成不全 1 (1)	右腎及び尿管の欠損 1 (1)	

\* : 事故死 1 例、吸収胚のみの 1 例を除外、\*\* : 自然分娩例を除外

A : 胸骨のジッパー型骨化 (延べ胎児数と延べ腹数)、B : 肋骨短小/欠損 (延べ胎児数と延べ腹数)

C : 胸骨癒合 (延べ胎児数と延べ腹数)、D : 分岐胸骨 (延べ胎児数と延べ腹数)、

E : 二分胸骨核 (延べ胎児数と延べ腹数)

\*\*\* : 一元配置 ANOVA および Dunnett の多重比較検定、↓ : P < 0.05、% は妊娠 6~18 日の対照群に対する変動率を示す

5) メタラキシルのウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. T-33)

報告書作成年：1984 年

試験動物：ダッチベルテッド種妊娠ウサギ（交配時 5～6 ヶ月齢）、1 群雌 18 匹

試験期間：1984 年 5 月 24 日（授精開始）～1984 年 6 月 22 日（帝王切開終了）

試験方法：検体を 1% CMC 水溶液に懸濁し、30、150 および 300 mg/kg/day の用量で妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には 1% CMC 水溶液を同様に投与した。

試験項目：

母体；一般状態および死亡の有無を毎日観察し、妊娠 0、7、13、20、24 および 28 日に体重を測定した。また、妊娠期間をとおして飼料摂取量を毎日測定した。妊娠 28 日に帝王切開し、生存および死亡胎児数、吸収胚数あるいは吸収胎児数、着床数および黄体数を検査した。

生存胎児；全胎児について体重、性別、外表異常の有無、内臓異常の有無および骨格の異常を検査した。

試験結果：次頁の表に示した。

母体；体重増加量が 300 mg/kg 投与群で投与期間及び妊娠期間に低かった。  
150mg/kg 投与群でも体重増加量がやや低かったが、ウサギにおける体重増加量の変動を考慮すると検体投与によるものとは考えられなかった。  
飼料摂取量は 300 mg/kg 投与群で投与期間中低く、投与終了後も妊娠 20 日まで低下がみられた。同群の妊娠後期（妊娠 24-28 日）の飼料摂取量は高値を示した。  
30mg/kg 投与群の飼料摂取量は妊娠後期（妊娠 24-28 日）で高値を示したが、用量に依存した変化ではなく、投与に関連しない変化と考えられた。  
その他の検査項目について検体投与に関連した影響は認められなかった。

生存胎児；種々の奇形が認められたが、その発生率に統計学的に有意な群間差は認められなかった。また、変異、骨化遅延およびその他の検査項目にも対照群と各投与群との間に、統計学的な差は認められなかった。

以上の結果より、本剤をダッチベルテッド種妊娠ウサギに投与したときの母体における無毒性量は 150 mg/kg/day であった。また、最高投与量の 300 mg/kg/day でも、胎児に対して催奇形性を示さないと判断される。

投与群 (mg/kg/day)		対 照	30	150	300	
1 群当り動物数		18	18	18	18	
親動物	一般状態		影響なし	影響なし	糞量の低下	
	死亡数 (率%)	2 (11.1)	0	0	1 (5.6)	
	体重増加量 (g)	186	329	140	132	
	飼料摂取量 # (率%)	妊娠 0-7 日	100	101	98	94
		妊娠 7-13 日	100	108	96	75↓ <sup>6)</sup>
		妊娠 13-20 日	100	121	103	78
		妊娠 20-24 日	100	116	92	95
		妊娠 24-28 日	100	142↑ <sup>6)</sup>	105	141↑ <sup>6)</sup>
	妊娠動物数 (率%)	16 (88.9) <sup>1)</sup>	17 (94.4)	16 (88.9)	16 (88.9) <sup>2)</sup>	
	着床所見	黄体数	12.3	10.1 ↓↓ <sup>5)</sup>	11.5	10.6
着床数		8.8	7.7	7.8	7.3	
生存胎児数		8.1	7.3	6.7	6.7	
吸収胚数 <sup>3)</sup>		0.4	0.1	0.4	0.3	
吸収胎児数 <sup>3)</sup>		0.1	0.3	0.8	0.3	
死亡胎児数 <sup>3)</sup>		0.1	0.1	0.0	0.1	
胎児動物	体 重 (g)	31.4	32.3	30.6	30.6	
	性 比 (雄率%)	48.1	56.8	45.8	51.9	
	外表検査	検査胎児数 (腹数)	131 (16)	125 (17)	107 (16)	108 (15)
		異常胎児数 (腹数)	腹壁裂 : 1 (1)	0	0	無頭症 : 1 (1)
	骨格検査	検査胎児数 (腹数)	131 (16)	125 (17)	107 (16)	108 (15)
		骨化遅延胎児数(腹数) <sup>4)</sup>	18 (8)	7 (6)	14 (10)	12 (5)
		変異胎児数 (腹数) <sup>4)</sup>	48 (11)	38 (14)	29 (10)	43 (14)
		奇形胎児数 (腹数)	肩甲骨棘分岐 : 2 (1)	肋骨の異形成 : 2 (2) <sup>a)</sup> 肩甲骨棘分岐 : 1 (1)	0	脊椎の異形成 : : 1 (1) 尾椎の異形成 : 1 (1) 脊椎及び鎖骨 の異形成 : 1 (1) <sup>b)</sup>
	内臓検査	検査胎児数 (腹数)	131 (16)	125 (17)	107 (16)	108 (15)
		変異胎児数 (腹数) <sup>4)</sup>	7 (6)	8 (5)	3 (2)	4 (3)
奇形胎児数 (腹数)		水頭症 : 1 (1) 頸動静脈位置 異常 : 1 (1)	0	小眼球症 : 1 (1) 水頭症 : 1 (1) 心室中隔欠損 を伴う心の異 形成 : 1 (1)	0	

# : 飼料摂取量は対照群に対する変動率で示した

1) : 妊娠後死亡した 2 例を除く

a) : 1 例は肋骨の癒合を伴う

2) : 妊娠後死亡した 1 例を除く

b) : 同一胎児

3) : 個体別表 7 参照

4) : 申請者が個体別表を基に算出した

5) : 分散分析 (片側検定)、Bartlett の均一性検定および

Dunnet の多重比較表を用いた修正 t-検定、↓↓ ; P<0.01

6) : Student's t-test、↑↓ ; P<0.05 (申請者が実施した)

(13) 変異原性

1-1) DNA修復試験

(資料No.T-34)

報告書作成年：1981年

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、DNAの損傷の誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

試験結果：

S-9mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止域 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
—	溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
	メタラキシル	20	0	0	0
		50	0	0	0
		100	0	0	0
		200	0	0	0
		500	0	0	0
		1000	0	0	0
		2000	0	0	0
		5000	<1	<1	<1
	Kanamycin	10	8.5	7.5	1
Mitomycin C	0.1	10	2	8	

メタラキシル存在下においては、最高濃度 (5000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ ) においても両株の間に明らかな生育阻止の差は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたMitomycin Cでは、両株の間に著明な生育阻止の差が生じた。

以上の結果よりメタラキシルのDNA損傷性は陰性と判断される。

1-2) 復帰変異試験

(資料No.T-34)

報告書作成年：1981年

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌（TA1535、TA100、TA1537、TA1538およびTA98）およびトリプトファン要求性大腸菌（WP2hcr）を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系の（S-9mix）の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。

試験結果：結果の表は次頁に示した。  
メタラキシル存在下では、いずれの変異株においても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。  
一方、陽性対照として用いたAF-2、ENNG、9-AC、2-NFおよび2-AAでは、溶媒対照（DMSO）と比較して顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果からメタラキシルの復帰変異誘発性は陰性と判断される。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9mix無、復帰変異コロニー数/plate						S-9mix有、復帰変異コロニー数/plate					
		塩基対置換型			フレームシフト型			塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538	TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)		95	7	11	35	6	16	106	2	16	38	19	32
		(106)	(9)	(14)	(37)	(7)	(13)	(103)	(3)	(17)	(42)	(15)	(33)
		116	10	17	38	8	9	99	3	18	45	10	33
メタラキシル	10	119	6	11	28	7	11	78	7	12	33	8	28
		(112)	(7)	(12)	(33)	(10)	(12)	(103)	(7)	(13)	(34)	(7)	(34)
	50	105	7	13	37	13	13	128	6	14	34	5	40
	100	107	6	8	12	7	7	90	4	13	28	11	36
		(105)	(8)	(13)	(18)	(8)	(7)	(89)	(6)	(14)	(31)	(9)	(29)
	500	103	9	18	23	8	6	87	7	15	34	7	21
	1000	129	8	11	15	10	3	105	4	10	32	8	23
		(121)	(8)	(10)	(20)	(9)	(6)	(107)	(4)	(11)	(31)	(9)	(25)
	5000	112	7	8	25	7	8	109	4	11	29	10	26
1000	113	7	16	31	4	7	94	6	13	34	12	28	
	(106)	(6)	(18)	(29)	(6)	(11)	(92)	(8)	(13)	(34)	(13)	(37)	
5000	99	5	20	26	7	15	90	9	12	33	13	45	
1000	100	4	16	41	6	14	120	4	15	37	4	39	
	(101)	(8)	(14)	(39)	(7)	(14)	(123)	(4)	(16)	(37)	(5)	(30)	
5000	101	11	11	37	7	13	125	4	17	37	5	20	
5000	95	7	14	24	2	10	98	4	13	39	5	24	
	(91)	(9)	(14)	(37)	(1)	(11)	(91)	(4)	(13)	(36)	(6)	(21)	
陽性対照	87	11	13	49	0	12	84	3	13	33	6	17	
陽性対照	608 a)	>2000 <sup>b)</sup>	341 c)	448 d)	>2000 <sup>e)</sup>	336 f)	500 g)	166 h)	340 i)	212 g)	177 h)	288 g)	
	(574)	(>2000)	(364)	(473)	(>2000)	(317)	(503)	(177)	(374)	(220)	(168)	(264)	
	540	>2000	387	498	>2000	298	506	187	408	228	158	240	
陽性対照	113 g)	15 h)	10 i)	30 g)	19 h)	15 g)							
	(107)	(12)	(10)	(33)	(14)	(15)							
陽性対照	100	8	10	35	8	15							

( ) 内の数値は平均値

a) 0.01  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide(AF-2)

b) 10  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG)

c) 0.04  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2

d) 0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2

e) 80  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 9-aminoacridine (9-AC)

f) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-nitrofluorene (2-NF)

g) 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-aminoanthracene (2-AA)

h) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

i) 40  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

2) 細菌を用いた復帰変異試験

(資料No.T-35)

報告書作成年：1983年

**試験方法** : 資料No.30で5000 µg/plateの濃度で復帰変異コロニー数の増加が認められなかったため、菌に対して毒性を示す25000 µg/plateを最高として10000および5000µg/plateの濃度でヒスチジン要求性サルモネラ菌 (TA1535、TA100、TA1537、TA1538およびTA98) およびトリプトファン要求性大腸菌 (WP2hcr) を用いて同様の方法で再度試験を行なった。

**試験結果** : 結果の表は次頁に示した。

メタラキシル存在下では、いずれの変異株においても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかったが、最高濃度 (25000µg/plate) では菌株の生育阻止が認められた。

一方、陽性対照として用いたAF-2、ENNG、9-AC、2-NF、2-AAでは、溶媒対照 (DMSO) と比較した顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、メタラキシルの復帰変異誘発性は陰性と判断される。

薬物	濃度 (mm/plate)	S9mix 無、復帰変異コロニー数/plate						S9mix 有、復帰変異コロニー数/ト					
		塩基対置換型			フレームシフト型			塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538	TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)		122 (125)	5 (8)	14 (14)	33 (29)	3 (7)	20 (17)	111 (114)	9 (6)	19 (20)	33 (30)	10 (11)	30 (37)
		127	11	14	25	10	13	116	3	20	26	12	43
メタラキシル	5000	106 (109)	11 (9)	8 (9)	38 (44)	8 (8)	24 (22)	118 (112)	6 (6)	20 (18)	36 (38)	12 (14)	40 (36)
		112	7	9	50	7	19	106	6	15	39	16	31
	10000	74 (74)	7 (6)	16 (18)	30 (31)	7 (6)	19 (16)	47 (60)	5 (6)	11 (12)	37 (32)	7 (7)	32 (32)
		74	5	19	31	4	12	73	7	13	26	6	31
	25000	* *	2* (2)* 2*	9 (12) 14	10* (11)* 11*	* * *	11 (12) 12	* * *	2 (1) 0	13 (14) 14	22 (19) 16	0* (0)* 0*	43 (37) 31
陽性対照	/	800 a) (812)	523 b) (563)	1000 c) (1091)	750 (738)	>2000 e) (>2000)	377 f) (388)	554 g) (524)	238 h) (244)	>2000 i) (>2000)	242 g) (243)	140 h) (131)	239 g) (237)
		824	602	1182	726	>2000	399	494	249	>2000	243	122	235
		114 g) (100)	10 h) (12)	23 i) (20)	32 g) (36)	11 h) (14)	14 g) (18)	/	/	/	/	/	/
		86	13	16	40	17	22	/	/	/	/	/	/

( ) 内の数値は平均値

\* : 菌株の育成阻止を認めたもの

a) 0.01 µg/plate : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide(AF-2)

b) 10 µg/plate : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG)

c) 0.04 µg/plate : AF-2

d) 0.1 µg/plate : AF-2

e) 80 µg/plate : 9-aminoacridine (9-AC)

f) 2 µg/plate : 2-nitrofluorene (2-NF)

g) 0.5 µg/plate : 2-aminoanthracene (2-AA)

h) 2 µg/plate : 2-AA

i) 40 µg/plate : 2-AA



3-1) DNA修復試験

(資料No.T-36)

報告書作成年：1985年 [GLP対応]

方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、代謝活性化 (S9mix存在下) および非活性化法 (S9mix非存在下) によってDMAの損傷の誘発性を検定した。検体を溶解させるため、DMSOを用いた。

結果：

S-9mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯の径 (mm)		平均値の差 (mm)
			M-45	H-17	
-	対照 (DMSO)		0,0 (0)	0,0 (0)	0
	メタラキシル	10	0,0 (0)	0,0 (0)	0
		50	0,0 (0)	0,0 (0)	0
		100	0,0 (0)	0,0 (0)	0
		500	15,17 (1.6)	22,24 (2.3)	-0.7
		1000	5.1,4.8 (5.0)	4.1,5.2 (4.7)	0.3
		5000	7.6,8.1 (7.9)	83,94 (8.9)	-1.0
陰性対照 (Kanamycin)	60	14.2*	13.0*	1.2	
陽性対照 (AF-2)	0.15	33.4*	19.3*	14.1	
+	対照 (DMSO)		0,0 (0)	0,0 (0)	0
	メタラキシル	10	0,0 (0)	0,0 (0)	0
		50	0,0 (0)	0,0 (0)	0
		100	0,0 (0)	0,0 (0)	0
		500	0,0 (0)	0,0 (0)	0
		1000	28,20 (2.4)	16,13 (1.5)	0.9
		5000	7.1,5.0 (6.1)	6.0,5.5 (5.8)	0.3
陰性対照 (Kanamycin)	60	17.1*	15.2*	1.9	
陽性対照 (AF-2)	0.15	9.1*	0 *	9.1	

( ) 内の数値は平均値

\* : 14試料の平均値

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

2-AA : 2-aminoanthracene

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

検体投与群では代謝活性化及び非活性化の両条件下で、5000 µg/diskの濃度においても著しい生育阻止帯の差は認められなかった。

一方、陽性対照のAF-2及び2-AAのいずれにおいても両株の間に明らかな生育阻止帯の差が認められた。

以上の結果より、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下でDNA損傷性は陰性と判断される。

3-2) 復帰変異試験

(資料No.T-36)

報告書作成年：1985年 [GLP対応]

方法：トリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli*: WP2hcr) およびヒスチジン要求性サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*: TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) を用いてラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9mix) の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体を溶解させるため、DMSOを用いた。

結果：結果は次頁の表に示した。

メタラキシルには代謝活性化を含めて5000µg/plateの濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、ENNG、9-AC、2-NFおよび2-AAでは全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性はないものと判断される。

薬物	濃度 (µg/plate)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr	TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538
対照 (DMSO)		-	32	147	18	20	8	16
			(32)	(146)	(18)	(20)	(9)	(14)
			33	144	18	20	9	12
メタラキシル	10	-	26	136	17	24	9	8
			(30)	(137)	(18)	(21)	(9)	(9)
			34	137	18	18	9	10
	50	-	21	143	15	11	9	15
			(27)	(139)	(18)	(12)	(10)	(14)
			32	134	20	12	11	12
	100	-	29	155	19	31	17	14
			(31)	(149)	(20)	(28)	(13)	(16)
			33	143	21	25	9	17
	500	-	32	146	23	1T	8	17
			(29)	(153)	(24)	(17)	(10)	(21)
			26	159	24	16	11	24
	1,000	-	30	135	25	16	8	15
			(28)	(137)	(22)	(17)	(8)	(17)
			26	139	19	18	8	19
	5,000	-	21	146	14	26	13	12
			(26)	(145)	(15)	(28)	(12)	(13)
			30	144	16	30	10	14

( ) の数値は平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート							
			塩基対置換型			フレームシフト型				
			WP2hcr	TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538		
対照 (DMSO)			36 (36) 35	149 (154) 159	18 (17) 15	48 (46) 44	15 (19) 23	37 (37) 37		
メタラキシル	10	+	34 (35) 35	135 (138) 140	13 (14) 14	39 (38) 37	16 (18) 20	45 (37) 29		
			50	+	43 (45) 46	124 (125) 125	15 (12) 9	39 (43) 46	24 (23) 21	34 (39) 44
					100	+	45 (41) 34	141 (145) 149	14 (14) 14	46 (44) 42
	500	+					50 (40) 30	147 (144) 140	15 (14) 12	44 (41) 38
			1,000	+			55 (46) 36	149 (145) 141	15 (14) 13	35 (36) 36
					5,000	+	50 (44) 3T	150 (148) 145	13 (16) 19	53 (48) 43
	陽性対照 (用いた陽性対照は 欄外に記載した)	-					59 a) (65) 71	319 a) (316) 313	247 b) (254) 260	316 e) (331) 345
			-	26 f) (26) 26			122 h) (129) 135	16 g) (18) 20	21 h) (23) 24	14 g) (14) 14
				+	1307 f) (1312) 1317	466 h) (414) 461	164 g) (175) 185	220 h) (212) 204	184 g) (182) 179	257 h) (259) 261 a)

( ) の数値は平均値

- a) 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-(2-furyl)3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide(AF12)
- b) 5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(ENNG)
- c) 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 9-aminoacridine(9-AC)
- d) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-nitrofluorene(2-NF)
- e) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2
- f) 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-aminoanthracene(2-AA)
- g) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA
- h) 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

4) 染色体異常試験

(資料No.T-37)

報告書作成年：1989年 [GLP対応]

**試験方法** : チャイニーズ・ハムスターの肺線維芽細胞 (CHL/IU細胞) を用いた。検体の濃度は、細胞増殖抑制試験の結果を参考とし、24および48時間処理では、-S9mixの条件下、処理濃度156、313及び6255 $\mu\text{g/ml}$ 、6時間処理では+S9mixおよび-S9mixの条件下、処理濃度は625、1,250及び2,500 $\mu\text{g/ml}$ とした。検体は、1%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液 (CMC) に溶解させた。溶媒対照群を設定し、マイトマイシンC (MMC) を非代謝活性化法、N-ニトロソジメチルアミン (DMN) を代謝活性化法の陽性対照群として設定した。

**試験項目** : 各濃度200個の分裂中期細胞を観察し、数的異常として倍数体の出現細胞率を、構造異常としてギャップ (gap)、染色分体切断 (ctb)、染色体切断 (csb)、染色分体交換 (cte)、染色体交換 (cse) およびその他 (oth) の出現細胞率を算出した。判定は再現性および濃度依存性を考慮し、異常を有した細胞数の出現頻度が5%未満を陰性、5%以上10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とした。

**試験結果** : 結果を次頁の表に示した。非代謝活性化法及び代謝活性化法のいずれの検体処理群にも、構造異常細胞および倍数体細胞の出現率の増加は認められなかった。なお、陽性対照群では染色体の構造異常細胞の出現率の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、メタラキシルは本試験条件下で染色体異常を誘発しないものと判断される。

S-9mix の有無	処理 時間	薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	構造異常細胞出現頻度 (%)							倍数体細胞 出現頻度 (%)	
				gap	ctb	cte	csb	cse	oth	総合		
-	6	溶媒対照 (CMC)	-	0	0	0.5	0	0	0	0	0.5	0
		メタラキシル	625	0	1.0	0.5	0	0	0	0	1.5	1.0
			1250	0	1.0	0	0	0	0	0	1.0	0
			2500	0.5	0.5	0	0	0	0	0	1.5	0.5
	陽性対照 (DMN)	400	0	1.0	0.5	0	0	0	0	1.5	0	
-	24	溶媒対照 (CMC)	-	0.5	0	0	0	0	0	0	0.5	0
		メタラキシル	156	0.5	0	0	0	0	0	0	0.5	0
			313	0	1.0	0	0	0	0	0	1.0	0
			625	0	0.5	0	0	0	0	0	0.5	0
	陽性対照 (MMC)	0.05	0	16.0	25.0	0	0	0	0	30.0	0	
-	48	溶媒対照 (CMC)	-	1.0	0	0	0	0	0	0	1.0	0
		メタラキシル	156	0	0.5	0	0	0	0	0	0.5	0
			313	0.5	1.0	0	0	0	0	0	1.5	0
			625	0.5	1.0	0	0	0	0	0	1.5	1.0
	陽性対照 (MMC)	0.05	1.0	32.5	38.0	0	0	0	0	55.0	1.0	
+	6	溶媒対照 (CMC)	-	0	0	0.5	0	0	0	0	0.5	0.5
		メタラキシル	625	0	0.5	0	0	0	0	0	0.5	0.5
			1250	0.5	0.5	0.5	0	0	0	0	1.5	0
			2500	0.5	1.0	0	0	0	0	0	1.5	0
	陽性対照 (DMN)	400	2.5	39.0	48.5	0	0	0	0	63.0	1.0	

5) 染色体異常試験

(資料No.T-38)

報告書作成年：1979年

方法：1群雌雄3匹のチャイニーズ・ハムスターを用い、検体を0.7%CMC水溶液に懸濁し、595、1190および2380mg/kgの割合で1日1回、2日間にわたり強制経口投与した。投与24時間後に屠殺し、両大腿骨から骨髓を採取し、骨髓塗抹標本を作製した。これらのスライドを用い、単一ジョリー小体、赤血球の核片、赤芽球の小核、白血球芽球の小核及び倍数体細胞の異常を検査した。なお、陽性対照として、シクロホスファミド（エンドキササン<sup>®</sup>）、陰性対照として0.7%CMC水溶液を投与した。

結果：

薬物	投与量 (mg/kg)	異常を有する細胞の割合 (%)					合計
		単一 ジョリー 小体	赤血球 の核片	赤芽球 の小核	白血球 芽球の 小核	倍数 体細胞	
陰性対照 (0.7%CMC水溶液)		0.1	0	0	0	0	0.1
メタラキシル	595	0.1	0	0	0	0	0.1
	1190	0.1	0	0	0	0	0.1
	2380	0.1	0	0	0	0	0.1
陽性対照 (シクロホスファミド <sup>®</sup> )	128	5.5	1.5	0.6	0.2	0.3	8.1

数値は雌雄各3匹の平均値

検体を各用量で投与した場合、骨髓細胞における核異常の発生率には、陰性対照群と比較して有意差は認められなかった。また、陽性対照であるシクロホスファミドを投与した場合、核異常の発生率は、陰性対照群と比較して、有意な増加であった。

以上の結果からメタラキシルにおけるチャイニーズ・ハムスターの体組胞を用いた *in vivo* 核異常試験での突然変異誘起性は陰性であると判断される。

6) マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験

(資料 No.T-39)

報告書作成年：1992 年

[GLP 対応]

試験動物：Tif:MAGf (SPF) 系マウス、開始時週齢；5～6 週齢、  
用量設定試験；1 群雌雄各 1 匹、体重範囲 (雄 22～27g、雌 20～22g)  
小核試験；1 群雌雄各 5 匹、体重範囲 (雄 22～30g、雌 20～25g)

試験方法：検体を落花生油に懸濁し、78.1, 156.3 および 312.5mg/kg の用量で雌雄各 5 匹に単回強制経口投与した。さらに別の群に溶媒のみ、あるいは陽性対照としてシクロホスファミド (64mg/kg) を投与した。  
高用量群および溶媒対照は投与 16, 24 および 48 時間後に、中用量群、低用量群および陽性対照は投与 24 時間後に屠殺した後、大腿骨骨髄細胞を採取し塗抹標本作製した。各動物 1000 個の多染性赤血球について小核の発現頻度を検査し、多染性赤血球と正染色性赤血球の比を算出した。

結果：結果の概要を次頁の表に示す。

312.5, 156.3 及び 78.1mg/kg 投与のいずれの用量群及び、312.5mg/kg 投与ではいずれの採取時間においても死亡例はなく、毒性徴候も認められなかった。

いずれの用量群及び採取時間においても、溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球数の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体は本試験条件下で突然変異誘発性を有さないものと判断される。



表；

投与後の時間 (h)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	p/n 比	小核を有する多染性赤血球数 <sup>c)</sup>	小核を有する多染性赤血球の出現率 (%)
16	溶媒対照 <sup>a)</sup>	—	雄	0.87	5	0.10
			雌	0.85	2	0.04
	メタキシル	312.5	雄	0.84	4	0.08
			雌	0.85	1	0.02
24	溶媒対照 <sup>a)</sup>	—	雄	0.87	4	0.08
			雌	0.92	1	0.02
	メタキシル	78.1	雄	0.90	4	0.08
			雌	0.91	3	0.06
		156.3	雄	0.84	4	0.08
			雌	0.87	2	0.04
	312.5	雄	0.82	4	0.08	
		雌	0.85	2	0.04	
陽性対照 <sup>b)</sup>	64	雄	0.69	91	1.82*	
		雌	0.76	81	1.62*	
48	溶媒対照 <sup>a)</sup>	—	雄	0.81	0	0.00
			雌	0.84	3	0.06
	メタキシル	312.5	雄	0.82	0	0.00
			雌	0.84	0	0.00

a) : 落花生油

b) : シクロホスファミド

c) : 多染性赤血球 5000 個 (5 匹の合計値) あたり

p : 多染性赤血球

n : 正染性赤血球

\* :  $\chi^2$ 検定、有意水準  $p=0.05$

参 考

メタラキシルのその他の変異原性試験

2002年のJMPRにおいてメタラキシルの毒性評価に用いられたその他の変異原性試験の一覧を以下に示した。

(1)

表 題 酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) D7 / 哺乳類ミクロソームを用いた  
CGA 48988 の *in vitro* 変異原性試験 (酵母細胞を用いた突然変異試験)

試験結果 陰 性

報 告 年 1982年

(2)

表 題 サルモネラ菌 / 哺乳類ミクロソームを用いた CGA 48988 の変異原性試験

試験結果 陰 性

報 告 年 1985年

(3)

表 題 CGA 48988 の優性致死試験  
(雄生殖細胞に対する細胞毒性あるいは変異原性)

試験結果 陰 性

報 告 年 1978年

(4)

表 題 CGA 48988 の染色体異常誘発性の評価  
チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) の染色体異常を測定する  
*in vitro* 細胞遺伝学的試験

試験結果 陰 性

報 告 年 1986年

- (5)
- |       |  |
|-------|--|
| 表 題   | CGA 48988 のヒト線維芽細胞を用いたオートラジオグラフィによる DNA 修復試験 ( <i>in vitro</i> DNA 損傷試験) |
| 試験結果  | 陰 性  |
| 報 告 年 | 1982 年   |
- (6)
- |       |   |
|-------|---|
| 表 題   | CGA 48988 のラット肝細胞を用いたオートラジオグラフィによる DNA 修復試験 |
| 試験結果  | 陰 性   |
| 報 告 年 | 1985 年                                      |
- (7)
- |       |   |
|-------|---|
| 表 題   | CGA 48988 の L5178Y/TK <sup>+/-</sup> マウスリンホーマ細胞を用いた変異原性試験 |
| 試験結果  | 陰 性   |
| 報 告 年 | 1982 年  |

(14) 生体の機能に及ぼす影響

(資料No.T-40)

報告書作成年：1984年

1) 中枢神経系に及ぼす影響

- 供試動物 : ddy系マウス、体重：20～25g、1群雄5匹（運動機能のみ雄6匹）  
体温に対する作用については、Wistar系ラット、体重：150～200g、  
1群雌5匹
- 投与方法 : 検体を1%CMC水溶液に懸濁させて50および200mg/kgの濃度で経口投与した。  
対照群は、1%CMC水溶液のみを経口投与した
- 観察項目 : 正向反射、自発運動（Wheel cage）、運動機能（Grip Strength法、Rotarod法  
および傾斜板法による）、抗痙攣作用、鎮痛作用（酢酸writhing法）、睡眠作用  
および体温に対する作用について観察した。
- 結果 : 200mg/kg投与群で、自発運動の抑制と鎮痛作用が認められた以外に影響は  
認められなかった。

2) 循環器系および呼吸器系に及ぼす影響

① 血圧、心拍数および血流量

- 供試動物 : 日本白色種ウサギ、体重：2.5～3.0kg、雄3匹、雌1匹
- 投与方法 : 検体を1%CMC生理食塩水に懸濁させて、0.1、1.0および10mg/kg の濃度で  
耳静脈内に投与した。
- 結果 : 下表に示す。

投与量	血圧	心拍数	血流量
10mg/kg	降圧作用を示し、投与3分後に最低値に達し、その後は回復傾向を示した。	減少を示し、投与3分後に最低値に達し、その後は回復傾向を示した。	影響なし
1mg/kg	影響なし	影響なし	影響なし
0.1mg/kg	影響なし	影響なし	影響なし

② 心電図および呼吸流量

- 供試動物 : 日本白色種ウサギ、体重：2.6～2.8kg、雄2匹、雌1匹
- 投与方法 : 検体を1%CMC水溶液に懸濁させて0.1、1.0および10mg/kg の濃度で耳静脈  
内に投与した。
- 結果 : 投与による心電図および呼吸流量に対する影響は認められなかった。

### ③ 摘出心房に対する作用

- 供試動物 : Hartley系モルモット、体重：250～300g、雄1匹、雌3匹  
 日本白色種ウサギ、体重：2.7～2.8kg、雌雄各1匹
- 投与方法 : マグス法により37℃のTyrode液中に摘出心房を懸垂し、検体を1%CMC溶液に懸濁させてTyrode液中に添加し、検体濃度が1、10、100および1000 µg/mL となるように調製した。
- 結 果 : 下表に示す。

投与量	モルモット	ウサギ
1000µg/mL	投与後直ちに収縮力の低下および心拍数の減少が見られ、1分後には律動的収縮反応も消失	同 左
100µg/mL	収縮力の著明な低下	同 左
10µg/mL	収縮力の低下傾向	同 左
1µg/mL	影響なし	同 左

### ④ 耳介血管灌流

- 供試動物 : 日本白色種ウサギ、体重：2.8～3.0kg、雄7匹、雌2匹
- 投与方法 : 摘出した耳介をKrawkow-Pissemskiの方法に準じて、37℃のTyrode液で灌流し、流出液量が1mLとなるように調整した。  
 検体を1%CMC水溶液に0.01、0.1、1、10および100mg/mLの濃度となるように懸濁させて各溶液0.1mLを注入し、3分毎に滴下液量を測定した。  
 さらに0.5µM noradrenaline 0.1mLを注入した場合の滴下液量と比較した。
- 結 果 : いずれの濃度でも流出液量が僅かに減少傾向を示したが、noradrenaline と比較して減少量は小さく、濃度依存性も認められなかった。

## 3) 消化器系に及ぼす影響

### ① 腸管輸送能

- 供試動物 : ddy系マウス、体重：20～30g、1群雄7匹
- 投与方法 : 検体を1%CMC生理食塩水に懸濁させて、10、50および100mg/kgの用量で経口投与し、対照群は、1%CMC生理食塩水のみを経口投与し、60分後に5%炭末10%アラビアゴム懸濁液をそれぞれ投与した。炭末懸濁液の投与30分後に屠殺して開腹し、炭末輸送率（胃幽門部から肛門までの長さに対する炭末の移動の割合）を対照群と比較した。
- 結 果 : いずれの用量でも腸管輸送能に影響は認められなかった。

② 胃粘膜に対する作用

供試動物 : Wistar系ラット、体重 : 160~180g、1群雌5匹

投与方法 : 検体を1%CMC生理食塩水に懸濁させて10および100mg/kgの用量で6時間毎に2回経口投与した。対照群は、1%CMC生理食塩水のみを同様に2回経口投与した。2回目の投与6時間後に胃を摘出し、10%ホルマリン溶液で固定後、切開し、実体顕微鏡で異常の有無を検査した。出血または潰瘍を異常の指標としてその長さの総和を潰瘍係数として求めた。

結 果 : いずれの用量でも胃粘膜に影響は認められなかった。

4) 摘出平滑筋に及ぼす影響

① 摘出回腸

供試動物 : Hartley系モルモット、体重 : 250~300g、1群雄3~19匹

試験方法 : マグス法により37℃のTyrode液中に回腸標本を懸垂し、検体単独作用および検体処理5分後に下表に示す各薬剤を投与した場合の相互作用を検討した。検体は、1%CMC溶液に懸濁させて添加した。経壁刺激については電気刺激装置を用いて、低頻度 (0.1Hz、0.4m/sec、10V) および高頻度 (10Hz、0.4m/sec、10V) の場合の収縮作用を検討した。

結 果 : 下表に示す。

検体濃度 (μg/mL)		0.1	1	10	100	1000	供試動物数
単 独 作 用		NT	NT	11/19	13/19	12/14	14 または 19
		弛緩作用を示したが、 いずれも洗浄により回復					
経壁刺激 (収縮作用)	低頻度	5% 抑制	20% 抑制	60% 抑制	90% 抑制	NT	3
	高頻度	NT	15% 抑制	45% 抑制	60% 抑制	100% 抑制	
収縮作用	40mMカリウム	NT	NT	—	35% 抑制	100% 抑制	5
	DMPP (10μM)	—	—	—	100% 抑制	100% 抑制	7
	histamine (10 <sup>-8</sup> ~10 <sup>-6</sup> M)	NT	NT	—	やや 抑制	100% 抑制	4
	acetylcholine (10 <sup>-8</sup> ~3×10 <sup>-6</sup> M)	NT	NT	—	50% 抑制	100% 抑制	4
弛緩作用	tetrodotoxin (0.1μg/mL)	NT	NT	—	—	—	4

NT : 試験せず、— : 作用を認めず

## ② 摘出胃条片

供試動物 : Wistar系ラット、体重 : 150~200g、雌3匹

試験方法 : マヌグス法により37℃のTyrode液中に摘出胃条片を懸垂し、検体を1%CMC溶液に懸濁させてTyrode液中に添加し、検体濃度1、10、100および1000 µg/mLのTyrode液を調製した。

結 果 : 1および10µg/mLでは、胃条片の自発運動に影響が認められなかった。  
100および1000 µg/mLでは、自発運動の顕著な抑制が認められた。

## ③ 大動脈条片

供試動物 : 日本白色種ウサギ、体重 : 2.5~3.0kg、雄3匹

試験方法 : マヌグス法により37℃のTyrode液中に大動脈条片を懸垂し、検体を1%CMC溶液に懸濁させてTyrode液中に添加し、検体濃度1、10、100および1000 µg/mLのTyrode液を調製した。

検体の単独作用および検体処理5分後に noradrenaline (10<sup>-6</sup>M)、histamine (10<sup>-2</sup>M) およびカリウム(40mM) を処理した時の相互作用を検討した。

結 果 : いずれの条件でも収縮反応に影響は認められなかった。

## ④ 摘出気管平滑筋

供試動物 : Hartley系モルモット、体重 : 250~300g、雄3匹

試験方法 : マヌグス法により37℃のTyrode液中に摘出気管平滑筋を懸垂し、検体を1%CMC溶液に懸濁させてTyrode液中に添加し、検体濃度0.01、0.1および1.0 mg/mLのTyrode液を調製した。検体処理5分後に histamine (10<sup>-5</sup>M) を処理し、その作用を検討した。

結 果 : 0.1 mg/mL 以下では収縮作用に対して影響が認められなかった。  
1.0 mg/mL では histamineの収縮作用を約50%抑制した。

## ⑤ 摘出輸精管

供試動物 : Hartley系モルモット、体重 : 250~300g、雄3匹

試験方法 : マヌグス法により37℃のTyrode液中に摘出輸精管を懸垂し、検体を1%CMC溶液に懸濁させてTyrode液中に添加し、検体濃度0.1、1.0、10、100および1000 µg/mLのTyrode液を調製した。

結 果 : いずれの濃度においても輸精管平滑筋に対して影響は認められなかった。

⑥ 摘出子宮に対する作用

供試動物 : Wistar系ラット、体重 : 150~200g、雌3匹

試験方法 : マヌグス法により30℃のDe Jalon液中に摘出子宮を懸垂し、検体を1%CMC溶液に懸濁させてDe Jalon液中に添加し、検体濃度1.0、10および100µg/mLのDe Jalon液を調製した。

結 果 : 10µg/mL以下では、影響が認められなかった。100µg/mLでは、摘出子宮の自発運動を完全に消失させたが、洗浄により直ちに回復した。

5) その他の作用

① 尿排泄量に及ぼす影響

供試動物 : Wistar系ラット、体重 : 150~200g、1群雌5匹 (対照群は雌4匹)

試験方法 : 1%CMC生理食塩水に懸濁させて、10および100mg/kg の用量で経口投与した。対照群は、1%CMC生理食塩水のみを経口投与した。

結 果 : 下表に示す。

投与量 (mg/kg)	10	100
尿 量	有意な減少	
ナトリウム	有意な増加	
カリウム	影響なし	
クロール	有意な増加	

② 角膜および結膜反射

供試動物 : Hartley系モルモット、体重 : 250~300g、1群雄3匹

試験方法 : 検体を1%CMC生理食塩水に懸濁させて10mg/Lおよび1g/Lの濃度で右眼に3滴を点眼した。対照群は、1%CMC生理食塩水のみを点眼した。

点眼後5分毎に30分間刺激を加えて反射 (まばたき) の回数の変化を調べた。

結 果 : 角膜および結膜反射に影響は認められなかった。



「生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無影響量 (mg/kg)	影響量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	正向反射 (マウス)	経口 (CMC)	0, 50, 200	雄 5	200	—	影響なし
	自発運動 (マウス)	経口 (CMC)	0, 50, 200	雄 5	50	200	自発運動の抑制
	運動機能 (マウス)	経口 (CMC)	0, 50, 200	雄 6	200	—	影響なし
	抗痙攣作用 (マウス)	経口 (CMC)	0, 50, 200	雄 5	200	—	影響なし
	鎮痛作用 (マウス)	経口 (CMC)	0, 50, 200	雄 5	50	200	200 で Writhing 発現を完全に抑制
	睡眠作用 (マウス)	経口 (CMC)	0, 50, 200	雄 5	200	—	影響なし
	体温に対する 作用(ラット)	経口 (CMC)	0, 50, 200	雌 5	200	—	影響なし
循環器・呼吸器系	血圧 (ウサギ)	静脈内 (CMC *)	0.1, 1, 10	雄 3 雌 1	1	10	10 で降圧作用
	心拍数 (ウサギ)	静脈内 (CMC *)	0.1, 1, 10	雄 3 雌 1	1	10	10 で減少
	血流量 (ウサギ)	静脈内 (CMC *)	0.1, 1, 10	雄 3 雌 1	10	—	影響なし
	心電図 (ウサギ)	静脈内 (CMC)	0.1, 1, 10	雄 2 雌 1	10	—	影響なし
	呼吸流量 (ウサギ)	静脈内 (CMC)	0.1, 1, 10	雄 2 雌 1	10	—	影響なし
	摘出心房： 収縮反応に 対する影響 (モルモット、 ウサギ)	マヌグス法 (CMC)	1, 10, 100、 1000 ( $\mu\text{g/mL}$ )	モルモット 雄 1 雌 3 ウサギ 雌雄各 1	1 ( $\mu\text{g/mL}$ )	10 ( $\mu\text{g/mL}$ )	10 $\mu\text{g/mL}$ 以上で収縮 力低下、1000 $\mu\text{g/mL}$ で心拍数減少
	耳介血管滲流： 流出液量に 対する影響 (ウサギ)	Krawkow- Pissemski 法 (CMC)	0.01, 0.1、 1, 10, 100 (mg/mL)	雄 7 雌 2	100 (mg/mL)	—	影響なし
消化器系	腸管輸送能 (マウス)	経口 (CMC *)	0, 10, 50、 100	雄 7	100	—	影響なし
	胃粘膜に対する 作用：出血また は潰瘍 (ラット)	経口 (CMC *)	0, 10, 100	雌 5	100	—	影響なし

CMC \* : 1%CMC 生理食塩水溶液

試験項目 (動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無影響量 (mg/kg)	影響量 (mg/kg)	結果の概要	
摘出平滑筋	摘出回腸：収縮 または弛緩作用 (モルモット)	マヌグス法 (CMC)	0.1、1、10、 100、1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 単独作用	雄 14 または 19	1 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	10~1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	弛緩作用を示したが、洗浄で回復
		マヌグス法 (CMC)	0.1、1、10、 100、1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 相互作用**	雄 3~7	—	0.1~1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	収縮作用の抑制
	摘出胃条片： 自発運動への 影響 (ラット)	マヌグス法 (CMC)	1、10、100、 1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	雄 3	10	100、1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	自発運動の抑制
	大動脈条片： 収縮反応への 影響 (ウサギ)	マヌグス法 (CMC)	1、10、100、 1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	雄 3	1000	—	影響なし
	摘出気管平滑 筋：収縮反応 への影響 (モルモット)	マヌグス法 (CMC)	0.01、0.1、 1.0 (mg/mL)	雄 3	0.1 (mg/mL)	1.0 (mg/mL)	収縮反応の抑制
	摘出精輸管： 収縮反応への 影響 (モルモット)	マヌグス法 (CMC)	0.1、1、10、 100、1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	雄 3	—	1000 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	影響なし
摘出子宮：自発 運動への影響 (ラット)	マヌグス法 (CMC)	1、10、100、 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	雌 3	10	100 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	自発運動の抑制 洗浄で回復	
腎機能	尿排泄量 (ラット)	経口 (CMC*)	0、10、100	雄 5	—	10、100	有意な減少
	ナトリウム およびクロール (ラット)	経口 (CMC*)	0、10、100	雄 5	—	10、100	有意な増加
	カリウム (ラット)	経口 (CMC*)	0、10、100	雄 5	100	—	影響なし
眼機能	角膜および 結膜反射 (モルモット)	点眼 (CMC*)	0、10、1000	雄 3	1000	—	影響なし

CMC \* : 1%CMC 生理食塩水溶液

相互作用\*\* : 経壁刺激 [低頻度 (0.1Hz、0.4m/sec、10V) および高頻度 (10Hz、0.4m/sec、10V)]、  
40Mカリウム、DMPP、histamine、acetylcholine および tetrodotoxin 添加の場合  
の相互作用

(15) 酵素誘導試験

メタラキシルのラットの肝における酵素誘導試験

(資料 No.T-41)

報告書作成年：1988年

供試動物：6～7週齢のSD系雄ラット（体重 200～220g）を1群当たり5匹使用した。

試験方法：投与方法および用量は、下表の通りとした。

群	投与物質および用量	投与期間	投与経路
陰性対照群	0.6%メチルセルロース溶液	3日間	連続経口 投与
	0.6%メチルセルロース溶液	7日間	
試験群	メタラキシル 40mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	7日間	
	メタラキシル 80mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	3日間	
	メタラキシル 80mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	7日間	
陽性対照群	フェノバルビタール 80mg/kg (0.6%メチルセルロース懸濁液)	3日間	

最終投与後 20 時間の絶食させた後に屠殺し、灌流放血した肝臓をホモジナイズ後、遠心分離により上清とマイクロソーム画分とを得た。これらの蛋白質量は牛血清アルブミンを標準物質として Lowry 法により定量した。チトクローム b<sub>5</sub> とチトクローム P-450 量は、Omura および Sato の方法、アミノピリン N-デメチラーゼ活性は Nash の方法、p-ニトロアニソール O-デメチラーゼ活性は Nebert 等の方法、NADPH-チトクローム c リダクターゼ活性は Masters 等の方法、p-ニトロフェニル UDP-グルクロニル トランスフェラーゼ活性は Bock 等の方法、DNCB GSN-トランスフェラーゼ活性は Habig 等の方法に従って測定した。

結 果： 結果の概要を下表に示す。

80mg/kgの3日及び7日間投与群では、チトクローム b<sub>5</sub>活性を除くいずれの酵素活性も有意に上昇した。また、40 mg/kgの7日間投与群では、チトクローム b<sub>5</sub>及びNADPH-チトクローム C リダクターゼ活性を除くいずれの酵素活性もわずかに上昇したが、陽性対照のフェノバルビタールよりも軽度であり、肝における通常の異物代謝と同様に可逆的で正常な反応であると考えられる。

雄ラットにおけるメタラキシルの酵素誘導

群	陰性対照群		供試化合物投与群				陽性対照群
投与物質名	0.6%メチルセルロース溶液		メタラキシル				フェノバルビタール
投与経路	経 口						
用 量	-	-	40mg/kg	80mg/kg	80mg/kg	80mg/kg	
投与期間	3日間	7日間	7日間	3日間	7日間	3日間	
体 重 (g)	160.7±2.2	204.2±3.6	189.4 ±2.3	163.4 ±1.0	184.8 ±2.5	158.0 ±4.0	
肝 重 量 (g/100g 体重)	3.48±0.05	3.35±0.11	3.37±0.03	3.46±0.05	3.46±0.08	4.83±0.21	
チトクローム P-450 (nmol/mg 蛋白)	0.54±0.02	0.55±0.02	0.65±0.03 *	0.77±0.04 *	0.73±0.02 *	1.57±0.09 **	
チトクローム b <sub>5</sub> (nmol/mg 蛋白)	0.13±0.02	0.13±0.02	0.15±0.02	0.18±0.02	0.12±0.01	0.35±0.02 *	
NADPH-チトクローム C リダクターゼ (µmol/分/mg 蛋白)	0.030±0.002	0.031±0.002	0.030±0.003	0.039±0.001 *	0.038±0.002 *	0.070±0.005 **	
アミノピリン-N デメチラーゼ (nmol/分/mg 蛋白)	10.24±0.12	10.26±0.10	10.73±0.25 *	10.91±0.20 *	11.12±0.28 **	14.41±0.42 **	
p-ニトロアニソール O-デメチラーゼ (nmol/分/mg 蛋白)	0.23±0.02	0.24±0.01	0.29±0.01 *	0.38±0.02 **	0.42±0.02 **	0.70±0.02 **	
p-ニトロフェノール UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ (nmol/分/mg 蛋白)	25.2 ±0.8	25.3 ±1.1	31.5 ±1.9 *	44.5 ±2.0 *	35.5 ±2.3 **	48.6 ±2.5 **	
DNCB GSH-トランスフェラーゼ (µmol/分/mg 蛋白)	1.13±0.05	1.14±0.04	1.30±0.06 *	1.28±0.03 *	1.39±0.05 **	2.20±0.19 **	

数値は5匹の平均値±S.E.

\* : 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シンジェンタジャパン株式会社にある。

## 2. 代謝物を用いた試験成績

以下の代謝物について、急性毒性試験あるいは反復投与試験および変異原性試験を行った。

記号	一般名または略称	化学名	構造式	由来

1) (代謝物) のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料No.T-42)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

試験動物 : Crj ; CD-1 (ICR) 系マウス、試験開始時5週齢、1群雄5匹

試験期間 : 7日間観察

方法 : 検体を粉砕し、0.5%CMC-Na水溶液に懸濁させて、500、1000および2000 mg/kg の用量を1回強制経口投与した。対照群は0.5%CMC-Na水溶液のみを投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を7日間観察した。投与0、3および7日後に体重を測定し、死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行なった。

結果 :

投与方法	経口
	雄
投与量(mg/kg)	0、500、1000、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	1000~2000
死亡開始および終了時間	投与後20分から開始 投与後4時間に終了
症状発現および消失時期	投与後10分から開始 投与後24時間に終了
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	1000

中毒症状としては、自発運動の低下、鎮静及び呼吸困難が観察された。体重変化には、対照群と投与群との間に差は認められなかった。解剖所見では、死亡例に肺のうっ血または出血が認められた以外、特記すべき変化は認められなかった。

2) (代謝物) のラットを用いた急性経口毒性試験 (資料 No.T-43)

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット (Tif:RAIf、SPF)、1群雌雄各5匹  
試験開始時体重；雄 213～228 g、雌 182～197 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 蒸留水を用いて所定濃度の検体を調製し、投与前夜から絶食させた動物に単回強制経口投与した。

試験項目 : 一般状態は、投与1、3および5時間後と、投与14日後まで1日1回観察した。  
死亡は、平日の場合午前午後2回、休日の場合は午前に確認した。  
体重は、投与直前、7および14日後に測定した。  
病理学検査は、観察期間終了後に全動物について実施した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
性 別		
投与量 (mg/kg)	2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	
症状発現および 消失時期	症状発現なし	
無毒性量 (mg/kg)	>2000	>2000

中毒症状および体重変化に特記すべき所見は認められなかった。  
また、肉眼的病理検査においても異常所見は観察されなかった。

3) (代謝物) のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No.T-44)

報告書作成年: 1996 年

[GLP 対応]

試験動物 : Tif:RAIf系ラット (SPF)、1群雌雄各5匹  
開始時体重、雄 213~242 g、雌 179~202 g

試験期間 : 14 日間観察

方法 : 被験物質を蒸留水でペースト状にし、剃毛した背部に 24 時間貼付した。貼付終了後、塗布部を温水で洗浄した。

試験項目 : 一般状態は、1日1回観察し、死亡は毎日午前午後の2回観察した。投与直前、および7、14日後に体重を測定し、試験終了時に全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 2000	> 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	
症状発現および消失時期	症状発現なし	
無毒性量 (mg/kg)	2000	

中毒症状、体重変化および剖検所見のいずれにも異常は認められなかった。



4) (代謝物)のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料No.T-45)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

試験動物 : Crj : CD-1 (ICR) 系マウス、試験開始時5週齢、1群雄5匹

試験期間 : 7日間観察

方 法 : 検体を粉砕し、0.5%CMC-Na水溶液に懸濁させて、500、1000および2000 mg/kg の用量を1回強制経口投与した。対照群は0.5%CMC-Na水溶液のみを投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を7日間観察した。投与0、3および7日後に体重を測定し、死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行なった。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
	雄
投与量(mg/kg)	0、500、1000、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2000
死亡開始および終了時間	投与後24時間から開始 投与後24時間に終了
症状発現および消失時期	投与後10分から開始 投与後24時間に終了
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	500

中毒症状としては、自発運動の低下が観察された。体重変化には対照群と投与群との間に差は認められなかった。

解剖所見では、死亡例に肺のうっ血が認められた以外、特記すべき変化は認められなかった。

5) (代謝物) のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料No.T-46)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

試験動物 : Crj ; CD-1(ICR) 系マウス、試験開始時5週齢、1群雄5匹

試験期間 : 7日間観察

方法 : 検体を粉砕し、0.5%CMC-Na水溶液に懸濁させて、500、1000および2000 mg/kg の用量を1回強制経口投与した。対照群は0.5%CMC-Na水溶液のみを投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を7日間観察した。投与0、3および7日後に体重を測定し、死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行なった。

結果 :

投与方法	経口
	雄
投与量(mg/kg)	0、500、1000、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	1000~2000
死亡開始および終了時間	投与後20分から開始 投与後20分に終了
症状発現および消失時期	投与後10分から開始 投与後24時間に終了
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	1000

中毒症状として、自発運動の低下、鎮静、呼吸困難および振せんが観察された。体重変化に関しては、対照群と投与群との間に差は認められなかった。解剖所見では、死亡例に肺のうっ血が認められた以外、特記すべき変化は認められなかった。

6) (代謝物) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-47)

報告書作成年：1994年 [GLP 対応]

試験動物：Tif:RAIf (SPF) 系ラット、体重 194~230g、1群雌雄各 5匹

観察期間：14日間

試験方法：0.1% (w/v) のポリソルベート80水溶液に0.5% (w/v) のカルボキシメチルセルロースを溶解させた溶媒に検体を懸濁させて、胃内挿管により1回強制経口投与した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡率を14日間観察した。試験終了時の全生存動物について剖検を実施し、肉眼的病理所見を行った。

結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼性限界)	>2000	
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	
症状発現時間および消失時間	投与1時間後から発現、投与3日後に消失	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

投与後1時間から、全ての動物においても立毛、円背姿勢、呼吸困難が認められたが、投与後3日以内に回復した。剖検所見では、被験物質投与に起因すると考えられる肉眼的病理所見は認められなかった。

7) (代謝物) のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.T-48)

報告書作成年：1994年 [GLP 対応]

試験動物：Tif:RAIf (SPF) 系ラット、体重 222~261g、1群雌雄各 5匹

観察期間：14日間

試験方法：ラットの背部において、体表面積の約10%に相当する部分を刈毛し、蒸留水で湿らせた検体を塗布し、24時間適用した。適用後、皮膚を洗浄し、皮膚反応を評価した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡率を14日間観察した。試験終了時の全生存動物について剖検を実施し、肉眼的病理所見を行った。

結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼性限界)	>2000	
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	
症状発現時間および消失時間	投与5日後に発現 投与11日後に消失	投与5日後に発現 投与6日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

投与5~11日に雄5例中1例で、雌5例中2例で適用部位に軽度の紅斑が認められた。剖検所見では、被験物質投与に起因すると考えられる肉眼的病理所見は認められなかった。

8) (代謝物) のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-49)

報告書作成年：1997 年

[GLP 対応]

試験動物：Sprague-Dawley 系ラット (Tif:RAIf、SPF)、1 群雌雄各 5 匹

開始時体重；雄 144.3~199.0g、雌 117.5~150.6g、開始時週齢；約 7 週齢

試験構成および動物数

投与量 (mg/kg/day)		0 (対照群)	10	50	200	1000
雄	試験群	5	5	5	5	5
	回復群	5	—	—	5	5
雌	試験群	5	5	5	5	5
	回復群	5	—	—	5	5

回復群は、最終投与後 28 日に屠殺した。

—は実施せず。

試験期間：28 日間投与 (1996 年 10 月 22 日~1996 年 11 月 20 日)

回復期間 (1996 年 11 月 19 日~1996 年 12 月 18 日)

試験方法：0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 0.1%Tween80 水溶液に所定濃度の検体を調製し、10mL/kg の液量で 1 日 1 回 (週 7 日) 強制経口投与した。対照群には、0.5% CMC 0.1%Tween80 水溶液を同液量投与した。

対照群ならびに 200 および 1000mg/kg 投与の回復群は、28 日間の投与終了後 4 週間基礎飼料のみを投与し観察した。

試験項目および試験結果：

死亡率；生死の確認を 1 日 2 回実施した。

投与に関連した死亡は認められなかった。

対照群の雄 2 例、10mg/kg 群の雌 1 例が試験 5 日に死亡した。死亡例に用量相関性がなく、生前および肉眼的病理検査で異常所見がみられていないことから、投与に関連した死亡ではないと考えられた。

体重変化；全動物について体重を週1回測定した。

投与群の雌雄とも体重増加量は対照群と同程度であり、体重変化に投与の影響は認められなかった。

飼料摂取量および食餌効率；飼料摂取量を毎週1回測定し、週あたりの飼料摂取量を算出した。また、飼料摂取量および体重から食餌効率を算出した。

飼料摂取量および食餌効率について対照群との間に差なく、投与の影響は認められなかった。

飲水量；飲水量を毎週測定し、週あたりの飲水量を算出した。

投与群の雌雄とも、飲水量は対照群と同程度であり、投与の影響は認められなかった。

一般状態の観察；一般状態および行動の変化について1日1回ケージサイドから観察した。

投与期間を通して、投与に関連した一般状態および行動の変化は観察されなかった。

機能観察総合検査；投与前および試験4週時は全動物、試験8週時は回復群のみを対象にして、機能観察総合検査をホームケージ内、取り扱い時およびアリーナ内で観察した。以下に機能観察項目を示した。

ホームケージ内/取り扱い時/アリーナ内での観察：横臥、姿勢/歩行、歩行異常、よろめき歩行、筋緊張、活動性、麻痺、線維即束性収縮、痙縮、振戦、痙攣、ケージからの取り出し易さ、取扱いの容易さ、異常発声、挙尾、常同行動、クリック反応、流涎、流涙、血涙、鼻漏、着色鼻漏、立毛、眼瞼閉塞、眼球突出、糞の硬さ（性状）、排尿、呼吸異常、被毛の乱れ（状態）、削瘦、脱水、腹部膨満、瞳孔径

感覚運動機能の観察：接近光反応、接触反応、視覚反応、聴覚反応、痛覚反応、前庭感覚

自律神経機能の観察：瞳孔反射、直腸体温測定

感覚運動協調性機能の観察：握力測定、着地開脚幅測定

その他に観察される全ての症状

詳細な症状観察および機能観察に投与に関連した影響は認められなかった。

自発運動量；投与前および試験4週時は全動物、試験8週時は回復群のみ対象に、自動開放型装置を用いて自発運動量（3分単位で連続10回）を測定した。

自発運動量への影響は認められなかった。

血液学的検査；投与終了時および回復期間終了時に、各群の全動物を対象にして、眼窩静脈叢より採血を行ない、以下の項目について測定した。抗凝固剤として血液検査にはEDTA、凝固系検査には3.8%クエン酸ナトリウムを用いた。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、赤血球容積分布幅 (RDW)、ヘモグロビン濃度分布幅 (HDW)、白血球数、白血球百分率、血小板数、プロトロンビン時間

統計学的有意差が認められた項目を表1に示した。

投与群の雄雌とも、投与の影響は認められなかった。

1000mg/kg 群雌では、投与終了時に統計学的に有意なヘモグロビン濃度の低下を認めたが、生理的変動の範囲にあったことから投与の影響ではないと考えられた。その他にも統計学的に有意な検査項目がみられたが、用量に依存した変化ではないこと、変化の程度が小さいこと、関連する検査項目に変動がみられていないことから、投与による影響とは考えられなかった。

表1. 血液学的検査結果

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量(mg/kg)	10	50	200	1000	10	50	200	1000
	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
5週	ヘモグロビン濃度								95↓
	好塩基球数								62↓
	血小板数					92↓			
9週	赤血球容積分布幅	—	—	—	95↓	—	—	—	

統計；↓：p<0.05 (Lepageの検定)

—：検査せず

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す

5週：投与終了時、9週：回復期間終了時

生化学的検査；投与終了時および回復期間終了時に、各群の全動物を対象にして、眼窩静脈叢より採血を行ない、得られた血漿を用いて以下の項目について測定した。

グルコース、尿素、クレアチニン、総ビリルビン、総タンパク、アルブミン、グロブリン、A/G比、コレステロール、ナトリウム、カリウム、カルシウム、クロール、無機リン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アルカリホスファターゼ (ALP)

統計学的有意差が認められた項目を表2に示した。

投与群の雄雌とも投与の影響は認められなかった。

統計学的に有意な検査項目がみられたが、用量に依存した変化ではないこと、変化の程度が小さいこと、関連する検査項目に変動がみられていないことから、投与による影響とは考えられなかった。

表 2. 血液生化学的検査結果

検査 時期	性 別	雄				雌			
	投与量(mg/kg)	10	50	200	1000	10	50	200	1000
	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
5 週	尿素窒素	123↑	126↑						
	総ビリルビン				77↓				
	アルブミン					100↑			
	グロブリン	98↓	101↑						
	A/G 比	102↑							
	ナトリウム	99↓	97↓		99↓		101↑	101↑	
	カリウム					90↓			
	カルシウム						95↓		
	クロール				97↓				
9 週	総タンパク	—	—	—	97↓	—	—	—	—

統計；↓：p<0.05 (Lepageの検定)

—：検査せず

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す

5週：投与終了時、9週：回復期間終了時

尿 検 査；投与終了時および回復期間終了時に、各群の全動物を対象にして一夜尿を採取し、尿量、比重、色調、pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビンおよび潜血について検査した。

統計学的有意差が認められた項目を表 3 に示した。

雄雌とも投与に関連した変化は認められなかった。

投与終了時の検査において、潜血の低値が 1000mg/kg 群の雄に、尿 pH、ケトン体およびウロビリノーゲンの低値が 1000mg/kg 群の雌に認められた。しかし、いずれも投与の影響とする方向とは逆を示していることから、毒性学的意義はないと判断された。



表 3. 尿検査

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	10	50	200	1000	10	50	200	1000
	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
5週	潜血				51↓				
	尿 pH								88↓
	ケトン体								50↓
	ウロビリノーゲン								↓

統計；↓：p<0.05 (Lepage の検定)  
表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

臓器重量；投与期間終了時および回復期間終了時に全生存動物を対象にして、体重(放血後)、脳、心、肝、腎、副腎、胸腺、脾臓、精巣上体、精巣および卵巣の重量を測定し、対体重比を算出した。

統計学的有意差が認められた項目を表 4 に示した。

投与終了時では、1000mg/kg 群雄の肝対体重比の軽度な増加、50 および 1000mg/kg 群の雌で肝重量の増加傾向がみられた。

28 日間の回復期間終了時では、雄雌とも 1000mg/kg 群の肝重量は対照群と同程度であり、回復がみられた。

その他の臓器では統計学的有意差がみられた例が散見されたが、用量相関性がみられないこと、病理組織学的変化が認められていないことから、検体投与に起因したものとは考えられなかった。

表 4. 臓器重量

検査時期	性別	雄				雌				
	投与量(ppm)	10	50	200	1000	10	50	200	1000	
	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5	
5週	肝	体重比				108↑		(107)		(106)
	胸腺	体重比			74↓		93↓	94↓		
	精巣	体重比	109↑				—	—	—	—
	脾	体重比								117↑

統計；↑↓：p<0.05 (Lepage の検定)  
( ) 内は統計学的に有意ではないが増加傾向を示す  
—：検査せず  
表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

肉眼的病理検査；投与期間終了時および回復期間終了時に、全動物を対象にして肉眼的病理検査を実施した。

検体投与に起因する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；投与期間終了時および回復期間終了時に、肺、気管、肝、胃、小腸、大腸、パイエル板（小腸および大腸）、腎、膀胱、心、脾、リンパ節（腋窩および腸間膜）、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、副腎、胸腺、甲状腺および上皮小体、関節を含む大腿骨、骨髄（大腿骨）、坐骨神経、脳（大脳および小脳皮質、延髄、橋）、脊髄、肉眼的病変部位について常法に従って全例検査した。

表 5 に観察された主な病理組織学的所見を示した。

28 日間の投与終了時では、50mg/kg 群の雌、200 および 1000mg/kg 群の雄雌で軽度な肝細胞肥大が認められた。

この肝細胞の肥大は、回復期間終了時には消失した。

その他観察された病理組織学的所見は、本系統のラットに一般的に発現する所見であり、発現頻度、分布および形態像に投与との関連は認められなかった。

表 5. 投与に関連した病理組織学的所見

性 別	雄					雌				
	0	10	50	200	1000	0	10	50	200	1000
投与量 (mg/kg)										
28 日間投与終了時										
(検査動物数)	(6)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
肝 : 細胞肥大	1	1	1	3	4	1	1	3	2	3
回復期間終了時										
(検査動物数)	(4)	—	—	—	(5)	(5)	—	—	—	(5)
肝 : 細胞肥大	2	—	—	—	2	1	—	—	—	1

以上の結果から、代謝物を 28 日間ラットに強制経口投与した場合、体重変化、飼料摂取量、血液学的検査、生化学的検査および尿検査に投与の影響は認められなかった。また、神経毒性を示唆する影響も認められなかった。

一方、肝への影響として、軽度な肝重量の増加、肝細胞肥大が認められた。しかし、この肝への変化は、28 日間の回復期間中に回復し、可逆的な変化であった。このことを考慮すると肝への影響には毒性学的意義はないと考えられる。

したがって、本試験における無毒性量は、雄雌とも 1000mg/kg/day であると判断された。

9) (代謝物) のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No.T-50)

報告書作成年：1997 年 [GLP 対応]

試験動物：Tif:RAIf (SPF) 系ラット (Sprague-Dawley 由来)、1 群雌雄各 5 匹  
試験開始時約 6 週齢、体重：雄 153.3～184.9g、雌 124.9～156.0g、

試験構成および動物数

投与量 (mg/kg/day)		0 (対照群)	10	50	200	1000
雄	試験群	5	5	5	5	5
	回復群	5	—	—	5	5
雌	試験群	5	5	5	5	5
	回復群	5	—	—	5	5

回復群は、最終投与後 28 日に屠殺した。  
—は実施せず。

試験期間：28 日間投与 (1996 年 12 月 10 日～1997 年 1 月 8 日)  
回復期間 (1997 年 1 月 7 日～1997 年 2 月 5 日)

試験方法： を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) および 0.1%Tween80 水溶液に懸濁させて、胃ゾンデを用いて 10mL/kg の液量で 1 日 1 回 (週 7 日) 強制経口投与した。対照群には、0.5% CMC および 0.1%Tween80 水溶液を同容量投与した。対照群ならびに 200 および 1000mg/kg 投与の回復群は、28 日間の投与終了後 4 週間にわたり飼料のみを投与し観察した。

試験項目および試験結果：

死亡率；生死の確認を1日2回実施した。

検体投与に関連した死亡は認められなかった。

200 mg/kg 群において、試験24日に雄1例および試験28日に雌2例の死亡が確認されたが、病理組織学的所見から、検体投与時の挿管によると考えられた。

体重変化；全動物について体重を週1回測定した。

体重変化に投与の影響は認められなかった。

飼料摂取量および食餌効率；飼料摂取量を毎週1回測定し、週あたりの飼料摂取量を算出した。また、飼料摂取量および体重から食餌効率を算出した。

飼料摂取量および食餌効率について対照群との間に差なく、投与の影響は認められなかった。

飲水量；飲水量を毎週測定し、週あたりの飲水量を算出した。

1000 mg/kg 群および50 mg/kg 群の雄では、対照群よりも飲水量が高く、回復期間中も増加を続けたが、臓器重量および病理学的検査では異常な所見は認められず、投与の影響ではないと考えられた。

一般状態の観察；一般状態および行動の変化について1日1回観察した。

投与期間を通して、投与に関連した一般状態および行動の変化は観察されなかった。

機能観察総合検査；投与前および試験4週時は全動物、試験8週時は回復群のみを対象にして、機能観察総合検査をホームケージ内、取り扱い時およびアリーナ内で観察した。以下に機能観察項目を示した。

ホームケージ内/取り扱い時/アリーナ内での観察：横臥、姿勢/歩行、歩行異常、よろめき歩行、筋緊張、線維束性収縮、痙縮、振戦、痙攣、ケージからの取り出し易さ、取扱いの容易さ、異常発声、挙尾、常同性、クリック反応、流涎、流涙、血涙、鼻漏、着色鼻漏、立毛、眼瞼閉塞、眼球突出、糞の硬さ、排尿、呼吸異常、被毛の乱れ、削瘦、脱水、腹部膨満、瞳孔径

感覚運動機能の観察：接近光反応、接触反応、視覚反応、聴覚反応、痛覚反応、前庭感覚

自律神経機能の観察：瞳孔反射、直腸体温測定

感覚運動協調性機能の観察：握力測定、着地開脚幅測定

詳細な症状観察および機能観察に投与に関連した影響は認められなかった。

自発運動量；投与前および試験 4 週時は全動物、試験 8 週時は回復群のみ対象に、自動開放型装置を用いて自発運動量（3 分単位で連続 10 回）を測定した。

自発運動量への影響は認められなかった。

血液学的検査；投与終了時および回復期間終了時に、各群の全動物を対象にして、眼窩静脈叢より採血を行ない、以下の項目について測定した。抗凝固剤として血液検査には EDTA、凝固系検査には 3.8%クエン酸ナトリウムを用いた。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）、赤血球容積分布幅（RDW）、ヘモグロビン濃度分布幅（HDW）、白血球数、白血球百分率、血小板数、プロトロンビン時間

統計学的有意差が認められた項目を表 1 に示した。

いくつかの項目で対照群と比較して統計学的有意差が認められたが、その変化は小さく、用量相関性が認められないため、投与による影響ではないと考えられた。

表 1. 血液学的検査結果

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量 (mg/kg)	10	50	200	1000	10	50	200	1000
	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
5 週	ヘモグロビン濃度		↑ 102						
	白血球数		↑ 120						
	単球数				↑ 133				
	単球数比		↑ 159		↑ 145				
	好塩基球数								(↑ 150)
	分類不能な大型細胞数比					↑ 114			
	プロトロンビン時間							↓ 93	(↓ 93)
9 週	平均赤血球血色素量	—	—		↑ 105	—	—		

統計；↑↓：p<0.05 (Lepageの検定)

—：検査せず

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す

( ) 内は統計学的に有意ではないが増加または減少傾向を示す

5週：投与終了時、9週：回復期間終了時

生化学的検査；投与終了時および回復期間終了時に、各群の全動物を対象にして、眼窩静脈叢より採血を行ない、得られた血漿を用いて以下の項目について測定した。  
 グルコース、尿素、クレアチニン、総ビリルビン、総タンパク、アルブミン、グロブリン、A/G比、コレステロール、ナトリウム、カリウム、カルシウム、クロール、無機リン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アルカリホスファターゼ (ALP)

統計学的有意差が認められた項目を表2に示した。

1000mg/kg 投与群雄のグルコースおよびカリウムについては、対照群と比較して、やや高い平均値を示したが、回復試験終了時までには対照群とほぼ同等の値となった。その他の統計学的有意差が認められた検査項目については、変化の程度が小さく、用量に依存した変化ではないことから、投与による影響ではないと考えられた。

表2. 血液生化学的検査結果

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量(mg/kg)	10	50	200	1000	10	50	200	1000
	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
5週	グルコース				↑113				
	アルブミン						↓97		
	A/G比			↓98					
	カリウム				↑113				
	アスパラギン酸		↓96						
9週	総タンパク	—	—	↓98		—	—		
	クレアチニン	—	—			—	—	↑140	↑136
	アルブミン	—	—	↓99		—	—		
	アラニンアミノトランスフェラーゼ	—	—			—	—		↑101

統計；↑↓：p<0.05 (Lepageの検定)

—：検査せず

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す

5週：投与終了時、9週：回復期間終了時

尿検査；投与終了時および回復期間終了時に、各群の全動物を対象にして一夜尿を採取し、尿量、比重、色調、pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、赤血球および白血球について検査した。

統計学的有意差が認められた項目を表3に示した。

試験5週に1000mg/kg 投与群の雌雄で対照群に比べて酸性度のやや高い尿を排泄したが、回復期間の終了時までには、対照群とほぼ等しくなった。

その他の統計学的有意差が認められた検査項目については、変化の程度が小さく、用量に依存した変化ではないことから、投与による影響ではないと考えられた。

表 3. 尿検査

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		10	50	200	1000	10	50	200	1000
	検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5
5 週	尿 量					↓ 67				
	相対比重					↑ 102				
	pH					↓ 79				↓ 84
	ウロビリノーゲン									
	ビリルビン					↑ 350				↑ 600
	赤血球									
	白血球				↓ 54	↓ 32				
9 週	尿 量		—	—		↓ 59	—	—	↓ 53↓	
	ウロビリノーゲン		—	—			—	—		↑ 450
	赤血球		—	—	↑ 1117		—	—		

統計；↑↓：p<0.05 (Lepageの検定)

—：検査せず

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

**臓器重量**；投与期間終了時および回復期間終了時に全生存動物を対象にして、体重(放血後)、脳、心、肝、腎、副腎、胸腺、脾臓、精巣上体、精巣および卵巣の重量を測定し、対体重比を算出した。

統計学的有意差が認められた項目を表 4 に示した。

投与終了時に 1000mg/kg 投与群雄で、平均心重量および平均心重量対体重比が、対照群と比較して高かったが、4 週間の回復期間中に回復した。

投与終了時に 200mg/kg 投与群雄の肝重量が有意に高かったが、用量相関性が認められず投与によるものではないと考えられた。

その他の臓器でも統計学的有意差が認められた例が散見されたが、用量相関性が認められず、病理組織学的変化も認められていないことから、検体投与に起因したものは考えられなかった。

表 4. 臓器重量

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		10	50	200	1000	10	50	200	1000
	検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5
5 週	肝	重 量		↑ 116						
	心	体重比				↑ 111				
	肝	体重比		↑ 112						
	副腎	体重比					↓ 82			
9 週	肝	重 量	—	—	↑ 111		—	—		

統計；↑↓：p<0.05 (Lepage の検定)

—：検査せず

表中の数値は、対照群に対する変動率(%)を表す。

肉眼的病理検査；投与期間終了時および回復期間終了時に、全動物を対象にして肉眼的病理検査を実施した。

投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；投与期間終了時および回復期間終了時に、肺、気管、肝、胃、小腸、大腸、パイエル板（小腸および大腸）、腎、膀胱、心、脾、リンパ節（腋窩および腸間膜）、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、副腎、胸腺、甲状腺および上皮小体、関節を含む大腿骨、骨髄（大腿骨）、坐骨神経、脳（大脳および小脳皮質、延髄、橋）、脊髄、肉眼的病変部位について常法に従って全例検査した。

投与に関連のある変化は認められなかった。

1000mg/kg 投与群の死亡例のうち、雄 1 匹および雌 2 匹の胸膜に、軽度～顕著な線維素性炎が観察されたが、用量相関性は見られず、検体投与時の挿管によるものと考えられた。

以上の結果から、代謝物 を 28 日間ラットに強制経口投与した場合、体重変化、飼料摂取量、血液学的検査、生化学的検査および尿検査に投与の影響は認められなかった。また、神経毒性を示唆する影響も認められなかった。

したがって、本試験における無毒性量は、雄雌とも 1000mg/kg/day であると判断された。



10-1) (代謝物)の変異原性試験 (DNA修復試験)

(資料No.T-51)

報告書作成年：1985年

方 法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、DNAの損傷の誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

結 果：

S-9mix の有無	薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯の径 (mm)				差 (mm)	
			M-45		H-17			
—	溶媒対照(DMSO)		0 0	(0)	0 0	(0)	0 0	(0)
	陰性対照 (Kanamycin)	1.0	2.7		2.2		< 1	
	陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	8.6		0.8		7.8	

( )の数値は平均値

検体投与群の2500/ $\mu\text{g}/\text{disk}$  以下では両株に生育阻止を認めなかった。  
陽性対照のMitomycin Cでは、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体はDNA損傷の誘発性がないものと判断される。

10-2)

(代謝物) の変異原性試験 (復帰変異性試験)

(資料No.T-51)

報告書作成年：1985年

方法：ヒスチジン要求件のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*:TA100およびTA98) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。  
検体はDMSOに溶解して用いた。

結果：下表に示す。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9mix 有無	復帰変異コロニー数/plate	
			塩基対置換型	フレームシフト型
			TA 100	TA 98
対照 (DMSO)		—	101 103 (102)	10 18 (14)
対照 (DMSO)		+	122 108 (115)	22 28 (25)
陽性対照	AF-2	0.01	682 708 (695)	332 336 (334)
		0.1		
	2-AA	0.5	410 401 (406)	381 417 (399)

AF-2：2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

2-AA：2-aminoanthracene

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

は、代謝活性化を含め、5000 $\mu$ g/plate の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性はないものと判断される。

11-1) (代謝物) の変異原性試験 (DNA修復試験)

(資料No.T-52)

報告書作成年：1985年

方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、DNAの損傷の誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

結果：下表に示す。

S9-mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
—	溶媒対照(DMSO)		0 0 (0)	0 0 (0)	0 0 (0)
	陰性対照 (Kanamycin)	1.0	4.9	4.2	<1
	陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	10.2	1.4	8.8

( )の数値は平均値

検体投与群では2500 $\mu\text{g}/\text{disk}$ 以上で両株に生育阻止帯を形成したが、両株に差は認められなかった。陽性対照のMitomycin Cでは、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体はDNA損傷の誘発性を示さないと判断される。

11-2) (代謝物) の変異原性試験 (復帰変異性試験)

(資料No.T-52)

報告書作成年：1985年

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium* ; TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA1538) およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coil* ; WP2uvrA)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

結 果 : 結果の表は次頁に示した。

代謝物 には、代謝活性化を含め、5000 µg/plateの濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性はないものと判断される。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9mix 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
対照(DMSO)		-	126 (118) 110	10 (12) 13	16 (21) 25	23 (22) 20	7 (5) 2	19 (14) 8
対照(DMSO)		+	111 (113) 114	10 (10) 10	22 (22) 21	30 (28) 26	7 (5) 2	20 (18) 15
陽性対照		-	786 a) (749) 712	2148 b) (2379) 260	729 a) (690) 651	242 c) (288) 334	1106 d) (1013) 920	404 e) (426) 44
		+	515 f) (466) 416	206 g) (191) 175	369 h) (438) 507	259 f) (247) 235	153 g) (159) 165	323 f) (354) 384

a) 0.01  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)

b) 5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG)

c) 0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2

d) 80  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 9-aminoacridine (9-AA)

e) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-nitrofluorene (2-NF)

g) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

f) 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-aminoanthracene (2-AA)

h) 80  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

( )内の数値は平均値

12) (代謝物 ) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-53)

報告書作成年：1997 年

[GLP 対応]

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA) を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下および非存在下において変異原性を検定した。検体はジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解した。

用量設定試験における知見に基づいて試験の最高濃度を 5000 $\mu$ g/プレートとし、それ以下の 4 濃度については公比 2 で設定した (312.5~5000 $\mu$ g/プレート)。また、DMSO のみの陰性対照と既知変異原性化合物の陽性対照を設定し比較に用いた。

試験は基本的にプレート法で行なったが、代謝活性化系の存在下で行なった確認試験のみプレインキュベーション法で行なった。

試験は本試験に加え、結果を確認するために全ての菌株について同じ試験方法および濃度で確認試験を行った。

試験結果：結果の表は次頁以降に示す。

本試験および確認試験において、検体処理群では代謝活性化系の存在下および非存在下で、いずれの菌株および濃度においても突然変異株の発現頻度の増加は認められなかった。

代謝活性化系存在下で行なった確認試験は、プレインキュベーション法であったことから、検体の生育阻害効果により最高濃度処理で復帰変異コロニー数およびバックグラウンドの生育が抑制される場合があった。

以上の結果より、( ) は代謝活性化系の存在下および非存在下で、復帰変異誘発性を有さないものと判断された。

表 1. 本試験の結果

S-9 mixの有無	薬物	濃度 (µg/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート											
			塩基対置換型						フレームシフト型					
			TA100		TA1535		WP2uvrA		TA102		TA98		TA1537	
	平均		平均		平均		平均		平均		平均			
-	溶媒対照 (DMSO)	-	136		11		24		244		18		8	
			125		8		16		288		16		8	
			156	139	15	11	20	20	292	275	15	16	9	8
	陽性対照	名称	アジ化ナトリウム		アジ化ナトリウム		4-ニトロキノリン		マイトマイシン-C		2-ニトロフルオレン		9-アミノアクリジン	
	濃度 (µg/プレート)	2.0		2.0		2.0		0.5		5.0		80.0		
	コロニー数/プレート	1148		835		510		1239		516		1200		
		1178		895		497		1267		521		1225		
		1178	1168	855	862	459	489	1231	1246	529	522	918	1114	
+	溶媒対照 (DMSO)	-	115		14		21		294		23		11	
			137		12		23		290		24		7	
			133	128	8	11	18	21	303	296	17	21	12	10
	陽性対照	名称	2-アミノアントラセン		シクロホスファミド*		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン	
	濃度 (µg/プレート)	1.5		200.0		20.0		4.0		1.5		1.5		
	コロニー数/プレート	2372		254		1129		2241		1335		201		
		2569		265		989		2264		1304		192		
		2090	2344	223	247	1083	1067	2035	2180	969	1203	199	197	

表 2. 確認試験の結果



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

S-9 mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	復帰変異コロニー数/プレート											
			塩基対置換型								フレームシフト型			
			TA100		TA1535		WP2uvrA		TA102		TA98		TA1537	
				平均		平均		平均		平均		平均		平均
-	溶媒対照 (DMSO)	-	137		19		26		260		29		12	
			133		22		28		254		20		7	
			132	134	17	19	22	25	260	258	31	27	9	9
-	陽性対照	名称	アジ化ナトリウム		アジ化ナトリウム		4-ニトキリン		マイトマイシン-C		2-ニトロフルオレン		9-アミノアクリジン	
		濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	2.0		2.0		2.0		0.5		5.0		80.0	
		コロニー数/ プレート	1131		784		417		1220		439		901	
		1205		792		500		1220		378		908		
	1205	1180	738	771	529	482	1264	1235	424	414	964	924		
+	溶媒対照 (DMSO)	-	126		14		26		303		48		13	
			133		13		25		260		38		11	
			152	137	8	12	29	27	291	285	45	44	14	13
+	陽性対照	名称	2-アミノアントラセン		シクロホスファミド*		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン		2-アミノアントラセン	
		濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	1.5		200.0		20.0		4.0		1.5		1.5	
		コロニー数/ プレート	768		378		337		1406		651		123	
		785		291		256		1057		627		121		
	428	660	392	354	182	258	858	1107	598	625	123	122		

13) (代謝物 ) のチャイニーズハムスターV79細胞を用いた  
*in vitro* 突然変異試験

(資料 No.T-54)

報告書作成年：1998年

[GLP 対応]

試験方法：継代培養したチャイニーズハムスターV-79細胞を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下および非存在下で6-チオグアニン耐性突然変異誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。最高濃度を代謝活性化系存在下では 2500 $\mu$ g/mL、非存在下では 4000 $\mu$ g/mL とし、4濃度について試験を実施した。確認試験の最高濃度は代謝活性化系存在下および非存在下とも 3000 $\mu$ g/mL とした。検体の処理時間は代謝活性化系存在下では 5 時間、非存在下では 21 時間とした。発現時間を 7~8 日間とし、細胞を選択培養液 (6-チオグアニン添加) で培養し、6-チオグアニン耐性コロニーを計数した。突然変異発現頻度に統計学的有意な増加傾向や用量相関性が認められた場合に陽性と判断した。

試験結果：結果の表は次頁に示す。

検体処理群では代謝活性化系の存在下、非存在下で、いずれの濃度においても突然変異の発現頻度に溶媒対照群との差は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた N-ニトロソジメチルアミン (DMN) およびエチルメタンサルフォネート (EMS) には溶媒対照と比較して明らかな突然変異発現頻度の増加が認められた。

以上の結果より、( ) は代謝活性化系の存在下および非存在下で、チャイニーズハムスターV79細胞に対して突然変異誘発性を有さないものと判断された。

表 1. 本試験の結果

S9-mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	突然変異発現頻度 ( $\times 10^{-6}$ )	突然変異比率*
+	溶媒対照 (DMSO)	—	3.41	1.00
	陽性対照 (DMN)	1.0 ( $\mu\text{L/mL}$ )	172.79	50.63 $\uparrow\uparrow$
—	溶媒対照 (DMSO)	—	1.93	1.00
	陽性対照 (EMS)	0.3 ( $\mu\text{L/mL}$ )	685.82	355.83 $\uparrow\uparrow$

\*：それぞれの溶媒対照に対する比、\*\*：成育阻害率が高く調査不能  
DMN：N-ニトロソジメチルアミン、EMS：エチルメタンサルフォネート  
統計学的方法：コラン・ア・ミテジ<sup>®</sup>傾向検定、 $\uparrow\uparrow$ ： $p < 0.01$

表 2 確認試験の結果

S9-mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	突然変異発現頻度 ( $\times 10^{-6}$ )	突然変異比率*
+	溶媒対照 (DMSO)	—	1.68	1.00
	陽性対照 (DMN)	1.0 ( $\mu\text{L/mL}$ )	104.27	62.16 $\uparrow\uparrow$
—	溶媒対照 (DMSO)	—	2.55	1.00
	陽性対照 (EMS)	0.3 ( $\mu\text{L/mL}$ )	639.01	250.38 $\uparrow\uparrow$

\*：それぞれの溶媒対照に対する比、\*\*：成育阻害率が高く調査不能  
DMN：N-ニトロソジメチルアミン、EMS：エチルメタンサルフォネート  
統計学的方法：コラン・ア・ミテジ<sup>®</sup>傾向検定、 $\uparrow\uparrow$ ： $p < 0.01$

14) (代謝物) の変異原性試験 (復帰変異性試験)

(資料No.T-55)

報告書作成年：1986年〔GLP対応〕

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*; TA100、TA1535、TA98、TA1537およびTA1538株) およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli*; WP2uvrA) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

結 果 : 結果の表は次頁に示した。  
代謝活性化系を含め、5000 $\mu$ g/plate の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。陽性対照ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体には代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性はないものと判断される。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
対照(DMSO)		—	110 (110) 110	7 (6) 6	14 (18) 22	30 (28) 27	7 (8) 10	15 (12) 10
対照(DMSO)		+	88 (84) 80	6 (6) 6	21 (18) 16	25 (24) 23	11 (8) 5	9 (11) 13
陽性対照		—	365 a) (384) 402	397 b) (442) 2609	456 c) (492) 529	490 d) (464) 437	2173 e) (2392) 2611	348 f) (348) 347
		+	531 g) (531) 531	268 f) (263) 258	1185 h) (1126) 1067	370 g) (336) 303	105 f) (123) 141	321 g) (401) 481

a) 0.01  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド (AF-2)

b) 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : アジ化ナトリウム

c) 0.04  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2

d) 0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2

e) 80  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 9-アミノアクリジン (9-AA)

f) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-ニトロフロレン (2-NF)

g) 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

h) 80  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

( )内の数値は平均値

15-1) (代謝物) の変異原性試験 (DNA修復試験)

(資料No.T-56)

報告書作成年：1985年

方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、DNAの損傷の誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

結果：

S9-mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
—	溶媒対照 (DMSO)		0 0 (0)	0 0 (0)	0 0 (0)
	陰性対照 (Kanamycin)	1.0	2.5	2.2	<1
	陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	8.6	1.3	7.3

( )の数值は平均値

2500 $\mu\text{g}/\text{disk}$ 以下では、両株に生育阻止を認めなかった。

陽性対照のHitomycin Cでは、南棟の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体はDNA損傷の誘発性がないものと判断される。

15-2) (代謝物) の変異原性試験 (復帰変異性試験)

(資料No.T-56)

報告書作成年：1985年

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*; TA100、TA98) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

結果：

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9mix 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA 100		TA 98		
対照 (DMSO)		—	113 123	(118)	15 17	(16)	
対照 (DMSO)		+	122 128	(125)	21 22	(22)	
陽性対照	AF-2	0.01	438 454	(446)	/		
		0.1					350 328
	2-AA	0.5	586 795	(691)			614 601

AF-2： 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2-AA： 2-aminoanthracene

( )内の数値は平均値

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

代謝活性化系を含め、5000 $\mu$ g/plateの濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

陽性対照では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体には代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性はないものと判断される。



16) (代謝物) の復帰変異性試験

(資料No.T-57)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

方 法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium* ; TA100、TA1535、TA98、TA1537およびTA1538株) およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* ; WP2uvrA株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。

結 果：結果の表を次頁に示す。  
代謝物 には、代謝活性化を含め、5000 µg/plate の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。  
陽性対照ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体には代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を示さないと判断される。

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

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	T人1538
対照(DMSO)		-	110	9	20	23	7	12
			(110)	(7)	(16)	(22)	(8)	(14)
			111	5	12	22	9	16
対照(DMSO)		+	83	5	20	23	4	17
			(84)	(6)	(18)	(22)	(6)	(16)
			85	7	16	22	8	15
陽性対照		-	307 a)	239 b)	407 c)	604 d)	2913 e)	429 f)
			(366)	(216)	(483)	(547)	(2790)	(446)
		425	194	559	490	2667	463	
		623 g)	262 h)	1185 i)	528 g)	200 h)	321 g)	
		+	(577)	(266)	(1126)	(451)	(208)	(401)
			531	271	1067	374	217	481

( )の数値は平均値

- a) 0.01  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide(AF-2)
- b) 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : アジ化ナトリウム
- c) 0.04  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2
- d) 0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : AF-2
- e) 80  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 9-aminoacridine (9-AC)
- f) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-nitrofluorene (2-NF)
- g) 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-aminoanthracene (2-AA)
- h) 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA
- i) 80  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : 2-AA

17) 代謝物 (代謝物) の細菌を用いた変異原性試験

(資料 No.T-58)

報告書作成年：1997年 [GLP 対応]

方 法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (WP2uvrA) を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下及び非存在下において変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解した。

用量設定試験における知見に基づいて試験の最高濃度を 5000 $\mu$ g/plate とし、それ以下の 4 濃度については公比 2 で設定し、用量を 312.5、625.0、1250.0、2500.0 および 5000 $\mu$ g/plate とした。また、DMSO のみの陰性対照と既知変異原物質の陽性対照を設定し比較に用いた。試験は 1 回目の試験(本試験)に加え、結果を確認するために全ての菌株について同じ試験方法および濃度で確認試験を行った。

結 果： 結果の表を次頁に示す。

本試験において、検体処理群では代謝活性化系の存在下および非存在下で、いずれの菌株および濃度においても突然変異株の発現頻度の増加は認められなかった。確認試験においても、本試験と同様の結果が得られ、試験の再現性が認められた。

一方、陽性対照群では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下で、復帰変異誘発性を有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シンジェンタジャパン株式会社にある。

表 1 本試験の結果

S-9 Mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	復帰変異コロニー数/プレート											
			塩基対置換型						フレームシフト型					
			TA100		TA1535		WP2uvrA		TA102		TA98		TA1537	
			平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均		
-	溶媒対照 (DMSO)	-	137 148 152	146	16 8 15	13	14 24 22	20	308 314 277	300	20 19 21	20	10 9 7	9
	陽性対照	名称	アシ化ナトリウム				4-ニトロキノリン		マイトマイシン-C		2-ニトロフルオレン		9-アミノアクリジン	
	濃度	2.0				2.0		0.5		5.0		80.0		
	コロニー数	1224 1232 1209	1222	729 776 720	742	428 398 414	413	1153 1131 1065	1116	321 295 309	308	962 1011 1003	992	
+	溶媒対照 (DMSO)	-	157 145 177	160	16 19 26	20	21 23 23	22	279 282 271	277	27 25 38	30	12 11 17	13
	陽性対照	名称	2-アミノアントラセン		シクロホスファミド		2-アミノアントラセン							
	濃度	1.5		200.0		20.0		5.0		1.5		1.5		
	コロニー数	1885 2022 1912	1940	253 287 268	269	1276 1129 1120	1175	1854 1840 1833	1842	1047 1209 1011	1089	158 171 184	171	

表中の平均値は、申請者が小数点以下を四捨五入した値を示す。

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

表 2 確認試験の結果

S-9 Mix の有 無	薬物	濃 度 ( $\mu$ g/plate)	復帰変異コロニー数/プレート											
			塩基対置換型						フレームシフト型					
			TA100		TA1535		WP2uvrA		TA102		TA98		TA1537	
			平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均				
-	溶媒対照 (DMSO)	—	149 132 147	143	12 16 14	14	15 19 19	18	270 292 294	285	14 15 17	15	7 11 8	9
	陽性対照	名 称	アシ化ナトリウム				4-ニトロキノリン		マイトマイシン-C		2-ニトロフルオレン		9-アミノアクリジン	
		濃 度	2.0				2.0		0.5		5.0		80.0	
	コロニー数	1231 1229 1128	1196	785 709 752	749	379 413 402	398	1255 1202 1105	1187	258 287 277	274	1021 978 1009	1003	
+	溶媒対照 (DMSO)	—	141 112 171	141	23 21 20	21	20 25 16	20	290 282 306	293	32 32 21	28	9 9 11	10
	陽性対照	名 称	2-アミノアントラセ ン		シクロホスファミド <sup>6</sup>		2-アミノアントラセン							
		濃 度	1.5		200.0		20.0		5.0		1.5		1.5	
	コロニー数	999 728 741	823	336 316 352	335	530 541 794	622	1012 1389 1434	1278	544 489 699	577	141 121 135	132	

表中の平均値は、申請者が小数点以下を四捨五入した値を示す。

18) (代謝物) のチャイニーズハムスターV79細胞を用いた *in vitro* 突然変異試験

(資料 No.T-59)

報告書作成年：1998年〔GLP対応〕

試験方法：継代培養したチャイニーズハムスターV79細胞を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系(S-9 mix)の存在下および非存在下で6-チオグアニン耐性突然変異誘発性を検定した。検体は蒸留水に溶解させた。

本試験；

公比3で以下の4濃度を設定した。

代謝活性化系存在下で74.1、222.2、666.7および2000 µg/mL

代謝活性化系非存在下で37.4、111.1、333.3および1000 µg/mL

確認試験1；

本試験で用いた最高濃度で100%の細胞毒性が認められたため、以下の通りとした。

代謝活性化系存在下で55.6、166.7、500および1500 µg/mL

代謝活性化系非存在下で37.4、111.1、333.3および1000 µg/mL

確認試験2；

確認試験1において、代謝活性化系存在下では最高濃度で100%の細胞毒性が認められ、代謝活性化系非存在下では生細胞数が対照の50%を上回ったため、以下の通りとした。

代謝活性化系存在下で400、600、900および1350 µg/mL

代謝活性化系非存在下で900、1000、1100および1200 µg/mL

陽性対照として代謝活性化系非存在下ではエチルメタンサルホネート(EMS)処理群、代謝活性化系存在下ではジメチルニトロソアミン(DMN)処理群を、また陰性対照として溶媒(蒸留水)処理群を設けた。

各試験とも2連で、代謝活性化系存在下で5時間、代謝活性化系非存在下で21時間曝露した後、6-チオグアニン耐性コロニーを計数した。

1濃度以上で突然変異発現頻度に統計学的に有意な増加傾向が認められ、かつ、検体処理培地および溶媒対照培地における突然変異体数を増殖率100%で補正した値を比較して20以上の差が認められる場合、あるいは突然変異発現頻度に有意な直線性の用量相関性が認められる場合を陽性と判定した。

結 果：結果の表を次頁に示す。

検体処理群では代謝活性化系の非存在下では、いずれの濃度においても突然変異の発現頻度に溶媒対照群との差は認められなかった。

代謝活性化系の存在下では、確認試験 2 において最低用量の 400 $\mu$ g/mL で突然変異発現頻度の有意な増加が認められたが、用量相関性が認められず、突然変異体数について、溶媒対照の代謝活性化系非存在下の試験では同様の変化が認められなかった。さらに検体処理培地および溶媒対照培地における突然変異体数を増殖率 100% で補正した値を比較して 20 以上の差が認められなかった。したがって、この変化は自然発生性のものであり、検体によるものではないと判断された。

一方、陽性対照では突然変異発現頻度に顕著な増加が認められた。

以上の結果から、検体は代謝活性化系存在下および非存在下において、チャイニーズ・ハムスター V79 細胞に対して突然変異誘発性を有しないと判断された。

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

本試験

S9-mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	細胞増殖率 (%)	突然変異発現 頻度 ( $\times 10^{-6}$ )	変異比率 <sup>a)</sup>	突然変異体数 の補正值 <sup>b)</sup>
-	溶媒対照	-	45.00	3.89	-	7.78
	陽性対照 (EMS)	0.3 $\mu\text{L/mL}$	36.17	1287.10 <sup>d)</sup>	330.97	2574.19
+	溶媒対照	-	64.25	3.31	-	6.61
	陽性対照 (DMN)	1 $\mu\text{L/mL}$	51.00	96.32 <sup>d)</sup>	29.12	192.65

確認試験 1

S9-mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	細胞増殖率 (%)	突然変異発現 頻度 ( $\times 10^{-6}$ )	変異比率 <sup>a)</sup>	突然変異体数 の補正值 <sup>b)</sup>
-	溶媒対照	-	42.17	2.67	-	5.34
	陽性対照 (EMS)	0.3 $\mu\text{L/mL}$	49.00	991.58 <sup>d)</sup>	371.66	1983.16
+	溶媒対照	-	71.25	4.30	-	8.60
	陽性対照 (DMN)	1 $\mu\text{L/mL}$	48.17	123.92 <sup>d)</sup>	28.83	247.84

確認試験 2

S9-mix の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	細胞増殖率 (%)	突然変異発現 頻度 ( $\times 10^{-6}$ )	変異比率 <sup>a)</sup>	突然変異体数 の補正值 <sup>b)</sup>
-	溶媒対照	-	49.33	4.05	-	8.11
	陽性対照 (EMS)	0.3 $\mu\text{L/mL}$	47.33	948.46 <sup>d)</sup>	233.95	1896.92
+	溶媒対照	-	74.82	2.26	-	4.51
	陽性対照 (DMN)	1 $\mu\text{L/mL}$	69.42	90.76 <sup>d)</sup>	40.24	181.51

溶媒：蒸留水、EMS：エチルメタンサルホネート、DMN：ジメチルニトロソアミン

<sup>a)</sup> 溶媒対照に対する比率。 <sup>b)</sup> 増殖率 100% で補正した値。

<sup>d)</sup>  $p < 0.001$     <sup>e)</sup>  $0.02 < p < 0.05$



19) (代謝物) のマウスリンホーマ細胞を用いた *in vitro* 突然変異試験

(資料 No.T-60)

報告書作成年：2001年〔GLP 対応〕

試験方法：マウスの継代培養 L5178Y TK<sup>+</sup>リンホーマ細胞を用い、代謝活性化系および非活性化系におけるトリフルオロチミジン (TFT) 耐性株への突然変異誘発性を検定した。検体は脱イオン水に溶解して用いた。

各濃度ともに4時間曝露した後、生存率を判定した。さらに48時間の形質発現期間を設けた後、選択培地および非選択培地で増殖させ、突然変異頻度を判定した。なお、陽性対照として代謝活性化系非存在下ではエチルメタンスルホネート (EMS) 処理群、存在下ではベンゾ[a]ピレン (BP) 処理群を、また陰性対照として溶媒 (脱イオン水) 処理群を設けた。試験は2回実施した。また、陽性の判定は、以下の3つの基準を満たす場合とした。

- ① 突然変異頻度の統計学的に有意な用量依存性の増加が認められること。
- ② 突然変異体数の絶対値が溶媒対照の値を上回ること。
- ③ 試験に再現性が認められること。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

2回の試験において、代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれでも、突然変異頻度の統計学的に有意な用量依存性の増加は認められなかった。一方、陽性対照では突然変異頻度の有意な増加がみられた。

以上の結果から、検体は代謝活性化系存在下および非存在下において、マウスの L5178Y TK<sup>+</sup>リンホーマ細胞に対して突然変異誘発性を有しないと判断された。

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

1回目の試験結果

S9-mix の有無	薬物	濃度(μg/mL)	生存率 (%)	突然変異発現頻度 ( $\times 10^{-4}$ )
-	溶媒対照	—	101	1.6
	陽性対照 (EMS)	500	74	9.4*
+	溶媒対照	—	100	2.9
	陽性対照 (BP)	1	81	9.2*

表中の数字は、2連制プレートの平均値を示す。

EMS : エチルメタンサルホネート

BP : ベンゾ[a]ピレン

\*P<0.01 (回帰分析)

2回目の試験結果

S9-mix の有無	薬物	濃度(μg/mL)	生存率 (%)	突然変異発現頻度 ( $\times 10^{-4}$ )
-	溶媒対照	—	100	2.1
	陽性対照 (EMS)	500	52	11.4*
+	溶媒対照	—	100	1.9
	陽性対照 (BP)	1	10	27.4*

表中の数字は、2連プレートの平均値を示す。

EMS : エチルメタンサルホネート

BP : ベンゾ[a]ピレン

\*P<0.01 (回帰分析)

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

(資料 No.T-61)

報告書作成年：2001 年 [GLP 対応]

方 法：継代培養したチャイニーズハムスターの V79 細胞を用いてラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。検体は脱イオン水に溶解させて以下の条件で試験を実施した。

[染色体異常試験]

細胞毒性試験において、DMSO の溶解限度である 2500 $\mu$ g/mL で細胞毒性がみられなかったこと、および検体の脱イオン水に対する溶解性試験において約 10mM (3000 $\mu$ g/mL)で溶解したことから、本試験では、検体を脱イオン水に溶解させて 187.5、375、750、1500、2250 および 3000 $\mu$ g/mL とし、以下の条件で各濃度とも 2 連で試験を行った。全ての用量で細胞毒性を評価し、750、1500 および 3000 $\mu$ g/mL で染色体異常を評価した。

1 回目の試験：代謝活性化系非存在下および存在下、4 時間処理／14 時間培養

2 回目の試験：代謝活性化系非存在下、18 時間処理、28 時間処理

代謝活性化系存在下、4 時間処理／24 時間培養

陽性対照群は代謝活性化系の非存在下でエチルメタンサルホネート (EMS)、代謝活性化系の存在下でシクロホスファミド (CP) を処理し、各 2 連で実施した。陰性対照群は、無処理および溶媒 (脱イオン水) を処理し、各 2 連で実施した。

各群の細胞 200 個の分裂中期像を観察し、以下の基準に従い、判定を行った。

1) 試験が成立する条件

- ① 陰性対照群における染色体型異常細胞数（ギャップを除く）が、背景データの範囲内（0.0～4.0%）にあること。
- ② 陽性対照群における染色体型異常細胞数が顕著に増加し、背景データの範囲内（EMS：9.0～39.0%、CPA：7.5～49.5%）にあること。

2) 陰性判定

全ての検体処理群で染色体型異常細胞数（ギャップを除く）が背景データの範囲内（0.0～4.0%）にあるか、または統計学的に有意な増加が認められない場合、陰性とする。

3) 陽性判定

検体処理群で染色体型異常細胞数（ギャップを除く）が背景データ（4.0%）を上回る増加を示し、かつ、用量相関性または統計学的に有意な増加が認められる場合、陽性と判定する。

試験結果 : 結果を次表に示した。

代謝活性化系の非存在下では、染色体型異常細胞数の有意な増加は認められなかった。代謝活性化系の存在下では、1 回目の試験において 750 $\mu$ g/mL のみで染色体型異常細胞数（ギャップを除く）について統計的に有意な増加が認められたが、その発現頻度は 3.5%であり、背景データの範囲内（0.0～4.0%）にあった。有意差が認められた原因として、溶媒対照群での発現頻度が低い（0.5%）ことが考えられた。一方、陽性対照群では、染色体型異常細胞数の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下において、検体には染色体異常誘発性が認められなかった。

1回目の試験結果

S-9 mix	処理時間	供試化合物	濃度 (µg/mL)	観察細胞数	生存細胞率 <sup>4)</sup> (%)	有糸分裂指数 (%)	異常を有する細胞の割合 (%) <sup>5)</sup>	染色分体型異常細胞数				染色体型異常細胞数				染色体性ギャップ	分体性ギャップ	5つ以上の異常を持つ細胞	染色体崩壊細胞数	
								切断	断片	欠失	交換	断裂	断片	欠失	交換					
-	4	無処理対照	—	200	—	100.0	2.0	0	3	0	1	0	2	0	0	2	0	0	0	
		溶媒対照 <sup>1)</sup>	—	200	—	100.0	2.0	1	2	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	
		陽性対照 <sup>2)</sup>	1000	200	—	37.3	19.5*	19	2	0	13	5	1	0	0	2	0	17	1	
+	4	無処理対照	—	200	—	100.0	1.0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
		溶媒対照 <sup>1)</sup>	—	200	—	100.0	0.5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		陽性対照 <sup>3)</sup>	0.7	200	—	97.1	16.0*	13	4	1	10	14	1	0	0	7	1	0	0	

<sup>1)</sup>脱イオン水

<sup>2)</sup>EMS

<sup>3)</sup>CP

<sup>4)</sup>溶媒対照に対する割合で示す。

<sup>5)</sup>ギャップを除く。

\*P<0.05 (Fisherの検定)

2回目の試験結果

S-9 mix	処理時	供試化合物	濃度 (µg/mL)	観察細胞数	生存細胞率 <sup>4)</sup> (%)	有糸分裂指数 (%)	異常細胞の割合 (%) <sup>5)</sup>	染色体型異常細胞数				染色体型異常細胞数				染色体性ギャップ	分体性ギャップ	5つ以上の異常を持つ細胞	染色体崩壊細胞数
								切断	断片	欠失	交換	断裂	断片	欠失	交換				
-	18	無処理対照	-	200	-	100.0	2.5	1	0	0	0	1	3	0	1	0	0	0	0
		溶媒対照 <sup>1)</sup>	-	200	-	100.0	1.5	1	0	0	0	1	1	0	0	3	0	0	0
		陽性対照 <sup>2)</sup>	1000	200	-	90.0	19.5*	24	8	0	14	10	0	0	0	10	0	0	0
-	28	無処理対照	-	200	-	100.0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		溶媒対照 <sup>1)</sup>	-	200	-	100.0	2.0	1	4	0	0	0	0	0	2	4	0	0	0
		陽性対照 <sup>2)</sup>	1000	200	-	68.2	20.5*	13	10	0	32	3	0	0	0	7	1	0	0
+	4	無処理対照	750	200	80	108.6	3.0	4	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
		溶媒対照 <sup>1)</sup>	1500	200	77	113.4	1.5	1	1	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0
		陽性対照 <sup>3)</sup>	0.7	200	-	109.8	10.0*	3	2	0	5	7	8	1	0	7	0	0	0

<sup>1)</sup>脱イオン水

<sup>2)</sup>EMS

<sup>3)</sup>CP

<sup>4)</sup>溶媒対照に対する割合で示す。

<sup>5)</sup>ギャップを除く。

#750および1500 µg/mLは評価しなかった。

\*P<0.05 (Fisherの検定)

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