

(2) 代謝物を用いた試験成績

1) のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No.T-44)

試験成績提出の除外

メタラキシル M の代謝物は、ラセミ体であるメタラキシルの代謝物のうち D-鏡像異性体であると考えられ、メタラキシルの代謝物の当該資料で代替できると考えられるため試験を省略した。

「 のマウスにおける急性経口毒性試験 (1986 年、 ) 」を参照

1) のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-44)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

検 体 :

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 : 検体を粉碎し、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
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) のラットを用いた急性経口毒性試験 (資料 No.T-45)

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体の純度：

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
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。







4) のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No.T-47)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

検 体 :

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 : 検体を粉碎し、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) のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No.T-48)

試験成績提出の除外

メタラキシル M の代謝物は、ラセミ体であるメタラキシルの代謝物のうち D-鏡像異性体であると考えられ、メタラキシルの代謝物の当該資料で代替できると考えられるため試験を省略した。

「 のマウスにおける急性経口毒性試験 (1986 年、 )」を参照

5) のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-48)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

検 体 :

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 : 検体を粉碎し、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)

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-49)

報告書作成年：1994年 [GLP 対応]

検体の純度：

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)

のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.T-50)

報告書作成年：1994年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：Tif:RAIf (SPF) 系ラット、体重 222~261g、I 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) のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-51)

試験成績提出の除外

メタラキシル M の代謝物は、ラセミ体であるメタラキシルの代謝物のうち D-鏡像異性体であると考えられ、メタラキシルの代謝物の当該資料で代替できると考えられるため試験を省略した。

「 のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験 (1997 年、 )」を参照

8) 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-51)

報告書作成年：1997 年

[GLP 対応]

検体の純度：

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	雌					雄				
	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) のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-52)

試験成績提出の除外

メタラキシル M の代謝物は、ラセミ体であるメタラキシルの代謝物のうち D-鏡像異性体であると考えられ、メタラキシルの代謝物の当該資料で代替できると考えられるため試験を省略した。

「 のラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験 (1997 年、 )」を参照

9) 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-52)

報告書作成年 : 1997 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

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			
9 週	プロトロンビン時間							↓ 93	(↓ 93)
	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)

の変異原性試験 (DNA修復試験)

(資料No.T-53)

報告書作成年：1985年

検 体：

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：

代謝 活性化系 の有無	薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯の径 (mm)				差 (mm)	
			M-45		H-17			
無	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) の変異原性試験 (復帰変異性試験) (資料No.T-53)

報告書作成年：1985年

検 体 :

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)

の変異原性試験 (DNA修復試験)

(資料No.T-54)

報告書作成年：1985年

検 体：

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。

代謝 活性化系の 有無	薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
無	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

( )の数值は平均値

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) の変異原性試験（復帰変異性試験） （資料No.T-54）

報告書作成年：1985年

検 体：

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 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。

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	10	16	23	7	19
			(118)	(12)	(21)	(22)	(5)	(14)
			110	13	25	20	2	8
対照(DMSO)		+	111	10	22	30	7	20
			(113)	(10)	(22)	(28)	(5)	(18)
			114	10	21	26	2	15
陽性対照		-	786 a)	2148 <sup>b)</sup>	729 a)	242 c)	1106 d)	404 e)
			(749)	(2379)	(690)	(288)	(1013)	(426)
			712	260	651	334	920	44
陽性対照		+	515 f)	206 g)	369 h)	259 f)	153 g)	323 f)
			(466)	(191)	(438)	(247)	(159)	(354)
			416	175	507	235	165	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)

の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-55)

報告書作成年：1997年

[GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (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 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	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-ニトキリン		マイトマイシン-C		2-ニトロフオレン		9-アミノアクリジン	
		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	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 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	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

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)	-	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	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 (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	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) 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-56)

報告書作成年：1998年

[GLP 対応]

検体の純度：

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。

用量設定根拠：

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・アーミテジ<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・アーミテジ<sup>®</sup> 傾向検定、 $\uparrow\uparrow$  :  $p < 0.01$



14) の変異原性試験（復帰変異性試験）

(資料No.T-57)

報告書作成年：1986年〔GLP対応〕

検 体 :

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	7	14	30	7	15
			(110)	(6)	(18)	(28)	(8)	(12)
			110	6	22	27	10	10
対照(DMSO)	+	+	88	6	21	25	11	9
			(84)	(6)	(18)	(24)	(8)	(11)
			80	6	16	23	5	13
陽性対照	-	-	365 a)	397 b)	456 c)	490 d)	2173 e)	348 f)
			(384)	(442)	(492)	(464)	(2392)	(348)
	402	2609	529	437	2611	347		
	531 g)	268 f)	1185 h)	370 g)	105 f)	321 g)		
			(531)	(263)	(1126)	(336)	(123)	(401)
			531	258	1067	303	141	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<sup>\*</sup> (AF-2)

b) 0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : ナトリウム アジド<sup>\*</sup>

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-ニトロフルオレン (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)

の変異原性試験 (DNA修復試験)

(資料No.T-58)

報告書作成年：1985年

検 体：

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：

代謝 活性化系 の有無	薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ k)	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)

の変異原性試験（復帰変異性試験）

(資料No.T-58)

報告書作成年：1985年

検 体：

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	(118)	15	(16)		
			123		17			
対 照 (DMSO)		+	122	(125)	21	(22)		
			128		22			
陽性対照	AF-2	0.01	-	438	(446)	/		
				454				
	0.1	-			350			(339)
					328			
2-AA	0.5	+	586	(691)	614	(608)		
			795		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 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 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)

の復帰変異性試験

(資料No.T-59)

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

検 体：

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。

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。

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	TA1538
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  $\mu\text{g}/\text{plate}$  : NaN<sub>3</sub>
- 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) の細菌を用いた変異原性試験 (資料 No.T-60)

報告書作成年：1997年 [GLP 対応]

検体の純度：

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 5000µg/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 5000µg/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。

表1 本試験の結果

S-9 Mixの有無	薬物	濃度 (µg/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			
-	溶媒対照 (DMSO)	-	137		16		14		308		20		10	
			148	146	8	13	24	20	314	300	19	20	9	9
			152		15		22		277		21		7	
	陽性対照	名称	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	2.0				2.0		0.5		5.0		80.0		
	コロニー数	1224		729		428		1153		321		962		
		1232	1222	776	742	398	413	1131	1116	295	308	1011	992	
		1209		720		414		1065		309		1003		
+	溶媒対照 (DMSO)	-	157		16		21		279		27		12	
			145	160	19	20	23	22	282	277	25	30	11	13
			177		26		23		271		38		17	
	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		253		1276		1854		1047		158		
		2022	1940	287	269	1129	1175	1840	1842	1209	1089	171	171	
		1912		268		1120		1833		1011		184		

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。



表2 確認試験の結果

S-9 Mixの有無	薬物	濃度 (µg/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		12		15		270		14		7	
			132	143	16	14	19	18	292	285	15	15	11	9
			147		14		19		294		17		8	
-	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		785		379		1255		258		1021	
			1229	1196	709	749	413	398	1202	1187	287	274	978	1003
+	溶媒対照 (DMSO)	-	141		23		20		290		32		9	
			112	141	21	21	25	20	282	293	32	28	9	10
			171		20		16		306		21		11	
+	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	999		336		530		1012		544		141	
			728	823	316	335	541	622	1389	1278	489	577	121	132
		741		352		794		1434		699		135		

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)

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-61)

報告書作成年：1998年 [GLP 対応]

検体の純度：

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37.0、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37.0、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：エチルメタンスルホネート、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>c)</sup>100%の生育阻害がみられた。

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

19)

の変異原性試験

(資料 No.T-62)

試験成績提出の除外

メタラキシル M の代謝物は、ラセミ体であるメタラキシルの代謝物のうち D-鏡像異性体であると考えられ、メタラキシルの代謝物の当該資料で代替できると考えられるため試験を省略した。

「 の変異原性試験（突然変異試験）（2001年、 ）」を参照

19) 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-62)

報告書作成年：2001年〔GLP 対応〕

検体の純度：

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。

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
	(Blank)			
	陽性対照 (EMS)	500	74	9.4*
+	溶媒対照	—	100	2.9
	(Blank)			
	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
	(Blank)			
	陽性対照 (EMS)	500	52	11.4*
+	溶媒対照	—	100	1.9
	(Blank)			
	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)

の変異原性試験

(資料 No.T-63)

試験成績提出の除外

メタラキシル-M の代謝物は、ラセミ体であるメタラキシルの代謝物のうち D-鏡像異性体であると考えられ、メタラキシルの代謝物の当該資料で代替できると考えられるため試験を省略した。

「 の変異原性試験 (染色体異常試験) (2001 年、 ) 」を参照

20) 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-63)

報告書作成年：2001年 [GLP 対応]

検体の純度：

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。

[用量設定試験]

[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。

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

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	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
		無処理対照	—	200	—	100.0	1.0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
+	4	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)

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	3	0	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。

<sup>#</sup>750および1500 µg/mLは評価しなかった。

\*P<0.05 (Fisherの検定)

### 3. 製 剤

#### (1) メタラキシル M 粒剤の急性毒性

##### 1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 No.F-01)

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 粒剤  
[組成] メタラキシル M ; 1.0%  
          鉍物質細粒 ; 99.0%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット (Cj:CD(SD)IGS、SPF)、1群雌雄各5匹、  
試験開始時7週齢、開始時体重；雄 214～235 g、雌 150～168 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 検体を 0.5% (w/v) メチルセルロース水溶液に懸濁し、約 16 時間絶食させた動物  
に胃管を用いて 1 回強制経口投与した。投与液量は 20mL/kg とした。対照群の動物  
には 0.5% (w/v) メチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。  
体重を投与直前、投与後 1、2、3、7、10 および 14 日に測定した。  
試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、5000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 5000	
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	症状発現なし	
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	

投与による中毒症状は認められず、体重変化および剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

2) マウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 No.F-02)

報告書作成年 : 1999年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 粒剤  
[組成] メタラキシル M ; 1.0%  
          鉱物質細粒 ; 99.0%

試験動物 : ICR 系マウス (Crlj:CD-1(ICR)、SPF)、1 群雌雄各 5 匹、試験開始時 7 週齢、  
開始時体重 ; 雄 28.5~33.8g、雌 23.2~27.0g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体を 0.5% (w/v) メチルセルロース水溶液に懸濁し、20mL/kg の投与液量で、約  
3~4 時間絶食させた動物に胃管を用いて 1 回強制経口投与した。対照群の動物には  
0.5% (w/v) メチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。

試験項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。  
体重を投与直前、投与後 1、2、3、7、10 および 14 日に測定した。  
試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
性 別		
投与量 (mg/kg)	0、5000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 5000	
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	症状発現なし	
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	

投与による中毒症状は認められず、体重変化および剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

3) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No.F-03)

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 粒剤  
 [組成] メタラキシル M ; 1.0%  
 鉍物質細粒 ; 99.0%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット (Crj:CD(SD)IGS、SPF)、1群雌雄各5匹  
 試験開始時7週齢、開始時体重；雄 239～249 g、雌 166～187 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 検体を蒸留水で湿らせた検体をリント布に塗布し、剃毛したラットの背部皮膚(面積；約20cm<sup>2</sup>)に、24時間貼付した。貼付除去後、適用部位を清拭した。対照群の動物には検体の塗布を除き同様に処置した。

試験項目 : 中毒症状および生死を14日間観察した。  
 体重を投与直前、投与後1、2、3、7、10および14日に測定した。  
 試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 皮	
	雄	雌
性 別		
投与量 (mg/kg)	0、2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 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	症状発現なし	
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

投与による中毒症状は認められず、体重変化および剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。



4) ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No.F-04)

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 粒剤  
 [組成] メタラキシル M ; 1.0%  
 鉍物質細粒 ; 99.0%

試験動物 : 日本白色ウサギ (雌、14 週齢)、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹  
 開始時体重 ; 2.60~3.03 kg

試験期間 : 72 時間観察

試験方法 : 検体を微粉末化し、ウサギの左眼結膜嚢内に 0.1g 適用し、検体の漏出を防ぐために約 1 秒間閉眼させた。右眼は無処置対照とした。洗眼群については適用 2~3 分後に微温湯で 30 秒間洗眼した。右眼も同様に洗眼し、洗眼対照とした。

観察項目 : 適用 1、24、48 および 72 時間後に肉眼ならびに検眼鏡を用いて眼の刺激性変化を観察し、Draize の判定基準に従って採点した。Kay and Calandra の方法に従って刺激性の分類を行った。  
 一般状態の観察を適用 6 時間までは 1 時間毎に、その後は 1 日 1 回実施した。体重を適用日および観察終了日に測定した。

結 果 :

群	動物番号	項目	最高評点	投与後時間と採点結果				
				1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群	1101	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			範囲	4	0	0	0	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌	3	1	0	0	0
		総合評点*		110	6	2	0	0
	1102	角膜	混濁	4	1	1	0	0
			範囲	4	1	1	0	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌	3	1	0	0	0
		総合評点*		110	11	7	2	0

\*Draize 法による評点 = 角膜混濁 × 範囲 × 5 + 虹彩 × 5 + (発赤 + 浮腫 + 分泌) × 2

群	動物番号	項目		最高評点	投与後時間と採点結果			
					1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群	1103	角膜	混濁	4	0	1	1	0
			範囲	4	0	2	1	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	1	0
			浮腫	4	1	1	0	0
			分泌	3	2	1	1	0
		総合評点*		110	8	18	9	0
	1104	角膜	混濁	4	1	1	1	0
			範囲	4	1	1	1	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌	3	1	0	0	0
		総合評点*		110	11	7	7	0
	1105	角膜	混濁	4	1	1	0	0
			範囲	4	1	1	0	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌	3	2	1	1	0
		総合評点*		110	13	9	4	0
1106	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
		範囲	4	0	0	0	0	
	虹彩異常		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌	3	1	0	0	0	
	総合評点*		110	6	2	0	0	
合計		660	55	45	22	0		
平均		110	9.2	7.5	3.7	0		
洗眼群	2101	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			範囲	4	0	0	0	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌	3	1	0	0	0
		総合評点*		110	6	0	0	0
	2102	角膜	混濁	4	1	1	0	0
			範囲	4	1	1	0	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌	3	1	0	0	0
		総合評点*		110	11	7	2	0
	2103	角膜	混濁	4	0	0	0	0
			範囲	4	0	0	0	0
		虹彩異常		2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌	3	2	0	0	0
		総合評点*		110	8	0	0	0
合計		660	25	7	2	0		
平均		110	8.3	2.3	0.7	0		

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

\*Draize 法による評点=角膜混濁×範囲×5+虹彩×5+(発赤+浮腫+分泌)×2

非洗眼群において、適用後 1 時間に角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫および分泌物が認められたが、これらの反応は適用 72 時間後までに全て消失した。総合評点の最大値 (MMTS) は 9.2 であった。その他の変化として閉眼が適用直後～1 時間後に認められた。

洗眼群では、適用後 1 時間に角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫および分泌物が認められ、MMTS は 8.3 であったが、適用後 48 時間には 0.7 まで軽減し、72 時間後には全ての反応が消失した。

いずれの動物においても、一般状態および体重に特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの眼に対して「軽度の刺激性あり」と分類され、洗眼効果が認められた。

5) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No.F-05)

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 粒剤

[組成]      メタラキシル M ;      1.0%  
                 鋳物質細粒 ;      99.0%

試験動物 : 日本白色ウサギ、15 週齢、雌 6 匹、開始時体重 ; 2.56~2.75 kg

試験期間 : 72 時間観察

試験方法 : 検体 0.5g を等量の注射用水で湿らせ、リント布 (面積 ; 2.5×2.5cm) を用いて剃毛したウサギの左側背部皮膚に 4 時間閉塞貼付した。リント布除去後に適用部位を清拭した。右側背部皮膚は、無処理対照とした。

観察項目 : 検体除去 1、24、48 および 72 時間後に皮膚の刺激性反応を観察し、Draize 法に従って採点した。刺激性の評価は、Draize 法を参考にして皮膚一次刺激指数を算出し、行った。  
一般状態を適用 6 時間までは 1 時間毎に、その後は 1 日 1 回観察した。体重は適用日および観察終了日に測定した。

結 果 :

項目	最高評点	投与後時間			
		1 時間後	24 時間後	48 時間後	72 時間後
紅斑 / 痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

評点は 6 匹の平均値

いずれの観察時点でも、皮膚刺激反応はみられず、皮膚一次刺激指数は 0 であった。  
一般状態および体重について特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと判断された。

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 No.F-06)

報告書作成年：1999 年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 粒剤  
[組成] メタラキシル M ; 1.0%  
鉍物質細粒 ; 99.0%

試験動物 : ハートレー系モルモット、1 群雌 20 匹、開始時 6~7 週齢、開始時体重 ; 319~383g

試験期間 : 48 時間観察

試験方法 : Buehler 法  
[投与量設定根拠]

感作誘導 ;

検体の 50%注射用水液 0.2mL をパッチに塗布して剃毛したモルモットの左側胴部に 6 時間、閉塞貼付した。非感作群には、注射用水のみを同様に適用した。  
感作誘導は 1 週間間隔で合計 3 回実施した。

誘 発 ;

最終感作誘導処置 14 日後、検体の 50%注射用水液 0.2mL をパッチに塗布して、前日に剃毛した動物の右側胴部に 6 時間、閉塞貼付した。

観察項目 : パッチ除去後 24 および 48 時間に、皮膚反応を観察し、Draize 法に従って判定した。  
感作性の評価は、評点 1 以上を陽性として陽性率を求め、感作群と非感作群の反応の程度を比較して行った。  
一般状態を毎日 1 回観察し、体重を感作誘導開始日(0 日)、最終感作日(14 日)、誘発日(28 日)および観察終了日(30 日)に測定した。

結 果 :

試験群		動物数	陽性反応 動物数	平均皮膚反応評点				陽性率 (%)
				紅斑		浮腫		
				24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	
検体	感作群	20	0	0	0	0	0	0
	非感作群	20	0	0	0	0	0	0
陽性対照* (DNCB)	感作群	10	10	1.8	1.9	0.5	0.5	100
	非感作群	5	0	0	0	0	0	0

DNCB : 2,4-ジニトロクロロベンゼン

\* 陽性対照群のデータは、1999年7月2日～8月6日に実施した試験より得られた。

検体感作群では、誘発 24 および 48 時間後の観察において、いずれの動物にも皮膚反応は認められず、平均評点は 0 であり、陽性率は 0% であった。

陽性対照群では、感作群の陽性率は 100% であった。

一般状態および体重に関して特記すべき変化は認められなかった。

以上より、本剤は本条件下でモルモットに対して皮膚感作性はないものと判断された。

(2) メタラキシル M 液剤の急性毒性

1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 No.F-07)

報告書作成年：2005 年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 液剤  
[組成] メタラキシル M : 22.0%  
有機溶媒、界面活性剤等 : 78.0%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、合計雌 13 匹  
開始時体重 ; 161~205g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体の原液を希釈せずに、胃管を用いて単回経口投与した。毒性ガイドライン「上げ下げ法」に従って、まず 1 例に 5000 mg/kg を投与して観察を行い、死亡がみられたため、175、550、1750、5000 mg/kg の用量をそれぞれ 1、2、5、5 匹に投与した。投与液量は 0.14 mL/kg (175mg/kg) から 4.05 mL/kg (5000mg/kg) であった。

試験項目 : 一般状態および生死の有無を、投与日は 3 回以上、その後は 1 日 1 回観察した。体重は投与前、投与後 7 および 14 日に測定した。試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
性別	雌
投与量 (mg/kg)	175、550、1750、5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	2965 (1450-8580)
死亡開始時間 および終了時間	投与 2~4 時間 投与後 1 日
症状発現時期 および消失時期	発現時間 : 投与直後 消失時間 : 投与後 2 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	550

1750 mL/kg の 1/5 例および 5000 mL/kg の 4/5 例が投与当日に死亡した。生存した動物の臨床症状として活動性の低下、立毛、円背位、音に対する過敏性および眼周囲の腫脹が認められたが、これらの症状は、2 日目までに消失した。

死亡した動物では、活動性の低下、痙攣、下痢、体軀/筋振戦、あえぎ呼吸、音に

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。

対する過敏性および流涎が観察された。剖検では、死亡した動物に口腔周囲および肛門部の被毛の汚れあるいは湿潤、肺または肝臓の変色、胃および大腸内の内容物の変色、胃および小腸内のガス充満、消化管内の内容物欠如が認められた。生存動物の体重変化には異常はみられなかった。



2) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No.F-08)

報告書作成年：2005年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 液剤  
[組成] メタラキシル M : 22.0%  
有機溶媒、界面活性剤等 : 78.0%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、1 群雌雄各 5 匹  
開始時体重 ; 雄 257~282g、雌 176~198g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体の原液を 5050mg/kg の用量で剃毛した背部皮膚に適用し、ガーゼパッチ (2×4 インチ) で被覆し、非刺激性粘着テープにより固定した。24 時間後に被覆を除去し、水道水により洗浄し、清潔な布で検体を取り除いた。

試験項目 : 一般状態および生死の有無を、投与日は 3 回以上、その後は 1 日 1 回観察した。  
体重は投与前、投与後 7 および 14 日に測定した。  
適用部位の皮膚刺激性反応を 1、4、7、11 および 14 日に観察した。  
試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 皮	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5050	5050
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>5050	>5050
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現なし	試験 1 日目 試験 2 日目
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5050	5050

中毒症状は認められなかった。

適用部位の皮膚刺激性は、軽微な紅斑が試験 1 日に雌 3 例で観察された。

体重および肉眼的病理検査には特記すべき所見は認められなかった。

3) ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No.F-09)

報告書作成年：2005年 [GLP 対応]

検 体：メタラキシル M 液剤

[組成] メタラキシル M： 22.0%  
有機溶媒、界面活性剤等：78.0%

試験動物：ニュージーランド白色ウサギ、雄 2 匹、雌 1 匹

開始時体重；雄 2.450～2.700kg、雌；2.800kg

試験期間：7 日間観察

試験方法：検体の原液 0.1 mL を右眼結膜嚢に投与した。左眼は無処理対照とした。

観察項目：適用後 1、24、48、72 時間 4 日および 7 日に、角膜、虹彩および結膜の刺激性について観察し、採点した。Kay and Calandra の方法に従って刺激性を分類した。

結 果：

項 目	最高 評点	投与後時間						
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	
角膜	混濁	4	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	範囲	4	4.0	4.0	3.7	0.0	0.0	0.0
虹彩		2	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
結膜	発赤	3	2.0	1.7	1.7	1.0	0.3	0.0
	浮腫	4	2.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0
	分泌物	3	2.7	1.7	1.7	0.0	0.0	0.0
総合評点*		110	38.3	8.7	8.7	2.0	0.7	0.0

\*総合評点=角膜混濁×範囲×5+虹彩×5+(発赤+浮腫+分泌物)×2  
評点は 3 匹の平均値

適用後 1 時間に角膜、虹彩、結膜発赤、結膜浮腫、分泌物がみられた。角膜への影響は適用後 72 時間、その他の反応は適用後 7 日には全て消失した。  
総合評点の最大値は、38.3(適用後 24 時間)であった。

以上の結果から、本剤はウサギの眼に対して刺激性を有すると判断された。

また、Kay and Calandra の方法に従って、「中程度の刺激性物質」と分類された。

4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No.F-10)

報告書作成年：2005年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 液剤

[組成] メタラキシル M : 22.0%  
有機溶媒、界面活性剤等 : 78.0%

試験動物 : ニュージーランド白色ウサギ、雄 1 匹、雌 2 匹  
開始時体重 ; 雄 3.200kg、雌 2.775~3.275 kg

観察期間 : 72 時間

試験方法 : 検体の原液 0.5mL を剃毛した動物の背部皮膚に適用し、ガーゼ (2.5×2.5cm) で 4 時間にわたり被覆した。暴露時間終了後、水道水で洗浄し、清潔な布で被験物質を拭き取った。

観察項目 : 検体除去後 1、24、48 および 72 時間後に皮膚の刺激性反応を観察し、採点した。刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。

結 果 : 刺激性の採点結果は以下の表のとおりである。

項 目	最高評点	適用後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅 斑	4	0.3	0.0	0.0	0.0
浮 腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	8	0.3	0.0	0.0	0.0

評点は 3 匹の平均値

適用後 1 時間の観察時に軽微な紅斑が 1 例に観察されたのみであり、一次刺激指数は 0.1 であった。

浮腫およびその他の刺激性反応は、観察されなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないと判断された。

5) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 No.F-11)

報告書作成年：2005 年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M 液剤

[組成] メタラキシル M : 22.0%  
有機溶媒、界面活性剤等 : 78.0%

試験動物 : ハートレー系モルモット、感作群 雌雄各 10 匹、非感作群 雌雄各 5 匹  
開始時体重 ; 雄 : 338~392 g、雌 : 330~388 g

観察期間 : 48 時間

試験方法 : Buehler 法の変法 (Ritz and Buehler、1980 年)

[投与量設定根拠]

感作誘導 ; 検体の原液 0.4 mL を剃毛した動物の背部の左前部皮膚に適用し、ガーゼパッチ (2.5×2.5 cm) により被覆した。透明なポリエチレンフィルムによりパッチを覆い、6 時間閉塞貼付した。感作誘導は 3 週間で計 9 回行った。

誘 導 ; 最終感作誘導後の 14 日目に、検体の原液 0.4 mL を、動物の背部の右後部に 6 時間にわたり閉塞貼付した。

観察項目 : 惹起 24 および 48 時間後に適用部位の皮膚反応を Ritz and Buehler の皮膚反応評価基準 (1980 年) に従って採点した。

体重は、最初の感作誘導前日 (試験 0 日)、誘導前日 (試験 35 日) に測定した。

結果：皮膚反応の評点は表1のとおりであった。

表1. 惹起後の皮膚反応評点

試験群	試験群	動物数	陽性反応 動物数	平均皮膚反応評点		陽性率 (%)
				24時間	48時間	
検体	感作群	20	0	0.0	0.0	0
	非感作群	10	0	0.0	0.0	0
陽性対照*	感作群	10	10	0.7	0.2	100
	非感作群	10	0	0.0	0.0	0

陽性対照： $\alpha$ -ヘキシルシンナムアルデヒド 85%

定期的に行われている（2005年4月13日～2005年5月20日）陽性対照群の試験結果

検体感作群および非感作群のいずれの動物にも刺激性反応はみられず、陽性率は0%であった。

以上の結果より、本剤は本条件下でモルモットに対して皮膚感作性はないと判断された。

(3) メタラキシル M・TPN 水和剤の急性毒性

1) ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 No.F-12)

報告書作成年：2004 年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M・TPN 水和剤  
 [組成] メタラキシル M : 3.3%  
 TPN : 32.0%  
 水、界面活性剤等 : 64.7%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、合計雌 14 匹  
 試験開始時体重 ; 167~221g

試験期間 : 14 日間観察

試験方法 : 検体の原液を希釈せずに、胃管を用いて単回経口投与した。毒性ガイドライン「上げ下げ法」に従って、まず 4 例に 5000mg/kg を投与して観察を行い、死亡がみられたため、175、550、1750、5000mg/kg の用量をそれぞれ 1、1、2、6 匹に投与した。投与液量は 0.15mL/kg (175mg/kg) から 4.25mL/kg (5000mg/kg) とした。

試験項目 : 一般状態および生死の有無を、投与日は 3 回以上、その後は 1 日 1 回観察した。体重は投与前、投与後 7 および 14 日に測定した。試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
性別	雌
投与量 (mg/kg)	175、550、1750、5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	5000 (4690~20000 以上)
死亡開始時間 および終了時間	投与後 1 日 投与後 2 日
症状発現時期 および消失時期	発現時間 : 投与後 2~4 時間 消失時間 : 投与後 7 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1750

5000mg/kg の投与で 1/6 例が投与翌日に死亡した。臨床症状は、5000mg/kg 投与群の 1 例のみに活動性の低下、下痢、体温低下、立毛、鼻口部の汚れが観察されたが、これらの症状は、投与後 7 日までに回復した。生存動物の体重変化には異常はみられなかった。剖検では、死亡した動物に被毛の汚れ、被毛の光沢消失、肺の変色、腹腔および消化管内容物の変色、胃内ガス充満がみられた。

2) ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No.F-13)

報告書作成年：2004年 [GLP 対応]

検 体 : メトラキシル M・TPN 水和剤

[組成] メトラキシル M : 3.3%

TPN : 32.0%

水、界面活性剤等 : 64.7%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、1群雌雄各5匹

試験開始時体重 ; 雄 255~306g、雌 170~185g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 検体の原液を 5050 mg/kg の用量で剃毛した背部皮膚に適用し、ガーゼパッチ (2×4 インチ) で被覆し、非刺激性粘着テープにより固定した。24 時間後に被覆を除去し、水道水により洗浄し、清潔な布で検体を取り除いた。

試験項目 : 一般状態および生死の有無を、投与日は3回以上、その後は1日1回観察した。  
体重は投与前、投与後7および14日に測定した。  
適用部位の皮膚刺激性反応を1、4、7、11および14日に観察した。  
試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 皮	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5050	5050
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>5050	>5050
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現なし	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5050	5050

中毒症状は認められず、体重および肉眼的病理検査には特記すべき所見は認められなかった。適用部位の皮膚刺激性はいずれの観察時間においてもみられなかった。

3) ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No.F-14)

報告書作成年：2004年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M・TPN 水和剤  
 [組成] メタラキシル M : 3.3%  
 TPN : 32.0%  
 水、界面活性剤等 : 64.7%

試験動物 : ニュージーランド白色ウサギ、雄 2 匹、雌 1 匹  
 開始時体重 ; 雄 2100~2150g、雌 ; 2200g

試験期間 : 21 日間観察

試験方法 : 検体の原液 0.1mL を右眼結膜嚢に投与した。左眼は無処理対照とした。

観察項目 : 適用後 1、24、48、72 時間 4、7、10、14、17 および 21 日目に、角膜、虹彩および結膜の刺激性について観察し、採点した。Kay and Calandra の方法に従って刺激性を分類した。

結 果 :

群	動物番号	項 目	最高 評点	投与後時間										
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	10日	14日	17日	21日	
非洗眼群	7024-M	角膜	混濁	4	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
			範囲	4	0	4	4	4	4	0	0	0	0	0
		虹彩	発赤	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	3	2	3	3	3	3	1	1	1	0	0
		結膜	分泌物	4	2	3	3	3	3	1	1	0	0	0
			総合評点*	3	2	3	3	3	2	3	0	0	0	0
	7026-M	角膜	混濁	4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
			範囲	4	2	4	4	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩	発赤	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	3	2	3	3	2	2	1	0	0	0	0
		結膜	分泌物	4	2	3	3	1	2	1	0	0	0	0
			総合評点*	3	2	3	2	2	2	2	2	1	0	0
	7025-F	角膜	混濁	4	0	1	1	1	1	4	4	4	4	0
			範囲	4	0	4	4	4	4	1	2	2	2	0
		虹彩	発赤	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	3	2	3	3	3	3	3	2	1	1	0
		結膜	分泌物	4	2	3	3	3	2	2	2	1	0	0
			総合評点*	3	2	3	2	2	2	3	2	1	0	0
合 計			110	12	38	36	36	34	36	57	51	42	0	
平 均			110	15.3	38.0	36.7	28.0	27.3	24.7	21.7	18.3	14.0	0	

\* : 総合評点 = 角膜混濁×範囲×5 + 虹彩×5 + (発赤 + 浮腫 + 分泌物)×2



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

適用後 1 時間に角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫および分泌物がみられたが、これらの刺激性反応は適用後 21 日までに消失した。

総合評点の最大値は、38.0(適用後 24 時間)であった。

以上の結果から、本剤はウサギの眼に対して刺激性を有すると判断された。

また、**Kay and Calandra** の方法による分類では、強度の刺激性物質に分類された。

4) ウサギを用いた眼一次刺激性試験／希釈液

(資料 No.F-15)

報告書作成年：2005 年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M・TPN 水和剤 (800 倍希釈液)

[組成] メタラキシル M : 3.3%  
TPN : 32.0%  
水、界面活性剤等 : 64.7%

試験動物 : 日本白色ウサギ (雌、15 週齢)、非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹  
開始時体重 ; 2.42~3.06 kg

試験期間 : 72 時間観察

試験方法 : 検体 0.1mL (メタラキシル M・TPN 水和剤の 800 倍希釈液) を左眼結膜嚢に投与し、  
検体の漏出を防ぐために約 1 秒間閉眼させた。右眼は無処置対照とした。洗眼群に  
ついては適用 2~3 分後に微温湯で 30 秒間洗眼した。右眼も同様に洗眼し、洗眼対  
照とした。

観察項目 : 適用後 1、24、48、72 時間後に肉眼ならびに検眼鏡を用いて、角膜、虹彩および結  
膜の刺激性変化を観察し、Draize の判定基準に従って採点した。Kay and Calandra  
の方法に従って刺激性を分類した。  
一般状態の観察を適用 6 時間までは 1 時間毎に、その後は 1 日 1 回実施した。体重  
を適用日および観察終了日に測定した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点 (表 1 : 非洗眼群、表 2 : 洗眼群) を以下に示した。

表 1. 非洗眼群の結果

群	項目		最高 評点	投与後時間と採点結果(平均)			
				1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	0	0	0	0
		範囲	4	0	0	0	0
	虹彩異常		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌	3	0	0	0	0
	総合評点*		110	0	0	0	0

\*Draize 法による評点 = 角膜混濁×範囲×5 + 虹彩×5 + (発赤 + 浮腫 + 分泌) ×2

表 2. 洗眼群の結果

群	項目		最高 評点	投与後時間と採点結果(平均)			
				1時間	24時間	48時間	72時間
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	0	0	0	0
		範囲	4	0	0	0	0
	虹彩異常		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌	3	0	0	0	0
	総合評点*		110	0	0	0	0

\*Draize 法による評点＝角膜混濁×範囲×5＋虹彩×5＋（発赤＋浮腫＋分泌）×2

非洗眼群および洗眼群とも角膜、虹彩、結膜に刺激性変化は認められなかった  
一般状態および体重に特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤の 800 倍希釈液はウサギの眼に対して刺激性なしに分類され、また、洗眼を行うことにより刺激反応の出現はないと判断された。

5) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No.F-16)

報告書作成年：2004年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M・TPN 水和剤  
[組成] メタラキシル M : 3.3%  
TPN : 32.0%  
水、界面活性剤等 : 64.7%

試験動物 : ニュージーランド白色ウサギ、雄 2 匹、雌 1 匹  
開始時体重 ; 雄 2050~2150 g、雌 2500 g

観察期間 : 72 時間

試験方法 : 検体の原液 0.5mL を剃毛した動物の背部皮膚に適用し、ガーゼ (2.5×2.5cm) により 4 時間にわたり被覆した。暴露時間終了後、水道水で洗浄し、清潔な布で被験物質を拭き取った。

観察項目 : 検体除去後 1、24、48 および 72 時間後に皮膚の刺激性反応を観察し、採点した。刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。

結 果 : 刺激性の採点結果は以下の表のとおりである。

項 目	最高評点	適用後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅 斑	4	0.0	0.0	0.0	0.0
浮 腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	8	0.0	0.0	0.0	0.0

評点は 3 匹の平均値

いずれの観察時間でも、紅斑および浮腫は観察されず、皮膚一次刺激指数は 0.0 であった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないと判断された。

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料 No.F-17)

報告書作成年 : 2005 年 [GLP 対応]

検 体 : メタラキシル M・TPN 水和剤

[組成] メタラキシル M : 3.3%  
TPN : 32.0%  
水、界面活性剤等 : 64.7%

試験動物 : ハートレー系モルモット、感作群 雌 20 匹、非感作群 雌 10 匹  
開始時体重 ; 315~382 g 開始時 ; 6 週齢

観察期間 : 48 時間

試験方法 : Buehler 法  
[投与量設定根拠]

感作誘導 ; 検体の原液 0.2mL をフォームパッド (直径 2.5 cm) に塗布し、剃毛した動物の背部の左側皮膚に貼付した。ポリエチレンフィルムによりパッチを覆い、6 時間閉塞貼付した。非感作群には、注射用水のみを同様に適用した。感作誘導は 1 週間間隔で計 3 回行った。

惹 起 ; 最終感作誘導後の 14 日目に、検体の 50%溶液を 0.2mL を、動物の背部の右側に 6 時間にわたり閉塞貼付した。

観察項目 : 惹起 24 および 48 時間後に適用部位の皮膚反応を Magnusson & Kligman の皮膚反応評価基準 (1969、1970 年) に従って採点した。  
一般状態を毎日 1 回観察し、体重を感作誘導開始日(0 日)、最終感作日(14 日)、惹起日(28 日)および観察終了日(30 日)に測定した。

結果：皮膚反応の評点は下表のとおりであった。

表. 惹起後の皮膚反応評点

試験群	試験群	動物数	陽性反応 動物数	平均皮膚反応評点		陽性率 (%)
				24時間	48時間	
検体	感作群	20	0	0.0	0.0	0
	非感作群	10	0	0.0	0.0	0
陽性対照*	感作群	10	10	2.9	2.9	100
	非感作群	5	0	0.0	0.0	0

陽性対照：DNBC（ジニトロクロロベンゼン）0.25%

2005年6月16日～2005年9月30日に行われた陽性対照群の試験結果

検体感作群および非感作群のいずれの動物にも皮膚反応はみられず、陽性率は0%であった。

陽性対照群では、感作群の陽性率は100%であった。

一般状態および体重に関して突起すべき変化は認められなかった。

以上の結果より、本剤は本条件下でモルモットに対して皮膚感作性はないと判断された。