

# 農薬抄録

メタゾスルフロン

---

(除草剤)

(作成年月日)

---

(作成会社名)

日産化学工業株式会社

---

(作成責任者・所属)

---

## 目 次

I.	開発の経緯.....	1
II.	物理的・化学的性状.....	2
III.	生物活性.....	24
IV.	適用及び使用上の注意.....	26
V.	残留性.....	31
VI.	有用動植物等に及ぼす影響.....	38
VII.	使用時安全上の注意、解毒法等.....	54
VIII.	毒性.....	VIII- 1
1.	原体	
(1)	急性毒性.....	VIII- 6
(2)	皮膚及び眼に対する刺激性.....	VIII- 10
(3)	皮膚感作性.....	VIII- 13
(4)	急性神経毒性.....	VIII- 15
(5)	90日間反復経口投与毒性.....	VIII- 19
(6)	21日間反復経皮投与毒性.....	VIII- 43
(7)	90日間反復経口神経毒性.....	VIII- 46
(8)	1年間反復経口投与毒性及び発がん性.....	VIII- 50
(9)	繁殖性に及ぼす影響.....	VIII-104
(10)	変異原性.....	VIII-124
(11)	生体機能影響.....	VIII-133
(12)	その他.....	VIII-136
2.	原体中混在物及び代謝物	
(1)	急性毒性.....	VIII-150
(2)	変異原性.....	VIII-153
3.	製剤	
3-1.	2.5%粒剤.....	VIII-166
3-2.	2.0%フロアブル.....	VIII-173
3-3.	1.0%粒剤.....	VIII-180
IX.	動植物および土壌等における代謝分解.....	IX- 1
〔附〕	メタゾスルフロンの開発年表.....	附- 1

## I. 開発の経緯

メタゾスルフロン (NC-620) は、日産化学工業 (株) によって創製されたスルホニルウレア系の水稲用除草剤である。

日産化学工業 (株) において効果・薬害についての性能評価を詳細に行った結果、1) 低薬量で水田の各種雑草に卓効を示し、2) 多年生雑草を含めた水田雑草に対する殺草スペクトラムが広く、3) 水稲に対する安全性が高いことが示された。

メタゾスルフロンの水稲用除草剤としての標準的な有効成分施用量は 10 アール当り 6~12g であり、この薬量で、ノビエを含めた一年生雑草のみならず、イヌホタルイ、ウリカワ、ミズガヤツリ、オモダカ、クログワイ、シズイ等の多年生雑草に対しても高い効果を示すことが温室内試験および圃場試験から明らかとなった。さらには、メタゾスルフロンと同系統の従来のスルホニルウレア系除草剤に抵抗性を示すイヌホタルイ、オモダカ等に対してもメタゾスルフロンは十分高い効果を有することが温室内試験、圃場試験、およびスルホニルウレア系除草剤の標的酵素であるアセト乳酸合成酵素に対する *in vitro* 阻害試験等で確認された。

また、水稲に対する安全性は高く、実用的に各種雑草を防除し得る薬量で水稲の生育に影響を及ぼすことは少ないことが併せて明らかとなった。

2006 年からは日本植物調節剤研究協会を通じて、実用化に向けての効果・薬害試験が日本各地の研究機関に於いて実施され、上述したような高い除草効果と水稲に対する安全性が確認された。

安全性評価については、農薬取締法の規定に基づく試験を実施した結果、安全性は確保されていると判断した。

諸外国では、韓国での開発を計画しており、2009 年から登録用生物効果試験を開始した。尚、米国及び EU での開発は現時点で未定である。

## II 物理的・化学的性状

### 1. 有効成分の名称及び化学構造

#### (1) 一般名

和名：メタゾスルフロン

英名：metazosulfuron (ISO名)

#### (2) 別名

商品名：ツインスター

試験名：NC-620、A-0410079

#### (3) 化学名

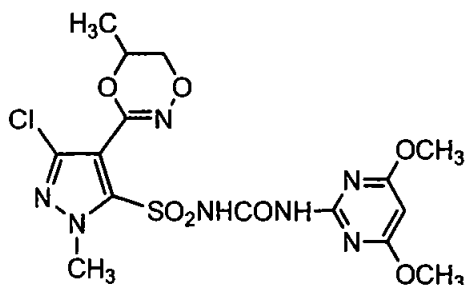
1-[3-クロロ-1-メチル-4-[(5*R,S*)-5,6-ジヒドロ-5-メチル-1,4,2-ジオキサジン-3-イル]ピラゾール-5-イル]スルホニル]-3-(4,6-ジメトキシピリミジン-2-イル)尿素 (IUPAC名)

1-[3-chloro-1-methyl-4-[(5*R,S*)-5,6-dihydro-5-methyl-1,4,2-dioxazin-3-yl]pyrazol-5-ylsulfonyl]-3-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)urea (IUPAC名)

3-クロロ-4-(5,6-ジヒドロ-5-メチル-1,4,2-ジオキサジン-3-イル)-*N*-[[4,6-ジメトキシ-2-ピリミジン-2-イル]アミノ]カルボニル]-1-メチル-1*H*-ピラゾール-5-スルホンアミド

3-chloro-4-(5,6-dihydro-5-methyl-1,4,2-dioxazin-3-yl)-*N*-[[4,6-dimethoxy-2-pyrimidinyl]amino]carbonyl]-1-methyl-1*H*-pyrazole-5-sulfonamide (CA名)

#### (4) 構造式



(5) 分子式  $C_{15}H_{18}ClN_7O_7S$

(6) 分子量 475.86

(7) CAS NO. 868680-84-6

(8) その他 ラセミ体 (RS比：1/1)

2. 有効成分の物理的・化学的性状

2-1. メタゾスルフロンの性状

項目		測定値 (測定条件)	測定方法	試験施設/報告年/ GLP
色調		白色 マンセル表色系 N9.5	官能法	/2007年
形状		結晶性固体		
臭気		無臭		
密度		1.49 g/cm <sup>3</sup> (20℃)	OECD 109 比重瓶法	/2007年/GLP
融点		175.5~177.6℃ (分解)	OECD 102 液浴付毛細管法	/2007年/ GLP
沸点		熱分解のため測定不可	省略理由書	—
蒸気圧		7.0×10 <sup>-8</sup> Pa (25℃) 3.6×10 <sup>-8</sup> Pa (20℃)	OECD 104 蒸気圧天秤法	/2007年/GLP
解離定数 (pKa)		3.4 (20℃)	OECD 112 分光光度法	/2007年/GLP
溶解度	水 (蒸留水)	33.3 mg/L (pH6.37, 20℃)	OECD 105 フラスコ法	/2007年/ GLP
	水 (緩衝液)	pH4: 14.9 mg/L (20℃) pH7: 8.14 mg/L (20℃) pH9: 7.68 mg/L (20℃)	OECD 105 フラスコ法	/2007年及 び2008年/GLP
有機溶媒	ヘキサン	0.006738 g/L (20℃)	OECD 105 フラスコ法	GLP /2007年/
	トルエン	3.150 g/L (20℃)		
	ジクロロメタン	177.3 g/L (20℃)		
	アセトン	61.72 g/L (20℃)		
	酢酸エチル	27.88 g/L (20℃)		
	メタノール	2.533 g/L (20℃)		
	1-オクタノール	0.6944 g/L (20℃)		
オクタノール/水分配係数 (log Pow)		pH4: 1.87 (25℃) pH7: -0.349 (25℃) pH9: -0.584 (25℃)	OECD 107 フラスコ振とう法	/2008年/ GLP
生物濃縮性		分配係数が3.5未満のため除外	除外理由書	—
土壌吸着係数		K <sub>f</sub> <sup>ads</sup> 0.053~0.584 K <sub>f</sub> <sup>adsoc</sup> 3.11~29.6 (20℃)	OECD 106	/2009年/GLP
加水分解性 *		t <sub>1/2</sub> 17.0日 (pH4, 25℃) t <sub>1/2</sub> 196.2日 (pH7, 25℃) t <sub>1/2</sub> 209.4日 (pH9, 25℃)	12農産第8147号 2-6-1	/2009年/ GLP
水中光分解性	滅菌緩衝液 *	t <sub>1/2</sub> 50日 (25±2℃, 425 W/m <sup>2</sup> , 300~800 nm)	12農産第8147号 2-6-2	/2009年/ GLP
	滅菌自然水 *	t <sub>1/2</sub> 30日 (25±2℃, 425 W/m <sup>2</sup> , 300~800 nm)		
安定性	対熱	150℃以下で熱的に安定、185℃ 付近より熱分解を伴い融解 図1及び2 (別紙)	OECD 113 TG/DTA	/2007年/GLP
	その他	なし	—	—
スペクトル	UV	図3~6 (別紙)	OECD 101	/2007年/GLP
	IR	図7 帰属 図8 (別紙)	KBr錠剤法	
	MS	図9 帰属 図10 (別紙)	LC-MS ESI法	
	<sup>1</sup> H-NMR <sup>13</sup> C-NMR	図11 帰属 図12 (別紙) 図13 帰属 図14 (別紙)	—	

\* : 運命試験として実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

2-2. 代謝分解物

項目	測定値 (測定条件)	測定方法	試験施設/報告年/ GLP

## 物理的・化学的性状試験の測定条件

### 熱に対する安定性

機器：示差熱・熱重量測定装置 DTG-60（島津製作所）

測定条件：昇温条件：5°C/min

試料：5.38~9.84 mg (99.7% 純品)

測定温度範囲：50°C~500°C

試験雰囲気：空気（流速 75 mL/min）

### スペクトル

#### (1) 紫外可視吸収スペクトル

機器：分光光度計 UV-2500PC（島津製作所）

測定条件：セル：石英、10 mm

スリット幅：2.0 nm

走査スピード：約154 nm/min

基準物質：重クロム酸カリウム

温度：25°C

試料：20 mg/L ( $4.20 \times 10^{-5}$  mol/L)

#### (2) 赤外吸収スペクトル：臭化カリウム錠剤法

機器：フーリエ変換赤外分光光度計 FTIR-8200PC型（島津製作所）

測定条件：走査スピード：2.8 mm/sec

積算回数：20回

#### (3) 質量スペクトル：LC-MS ESI法

機器：液体クロマトグラフー四重極・リニアイオントラップ型質量分析計（LC-MS）；  
LC LC-20A（島津製作所）、MS 3200Q TRAP（Applied Biosystems/MDS SCIEX）

測定条件：DP：40 V

プローブ温度：600°C

#### (4) 核磁気共鳴スペクトル

機器：核磁気共鳴分析計 JNM-LA400（日本電子）

測定条件：溶媒：テトラメチルシラン（TMS）含有重クロロホルム

内部基準物質：TMS

観測周波数  $^1\text{H-NMR}$ ：399.65 MHz  $^{13}\text{C-NMR}$ ：100.40 MHz

パルス繰り返し時間  $^1\text{H-NMR}$ ：4.9504 sec.  $^{13}\text{C-NMR}$ ：2.3954 sec.

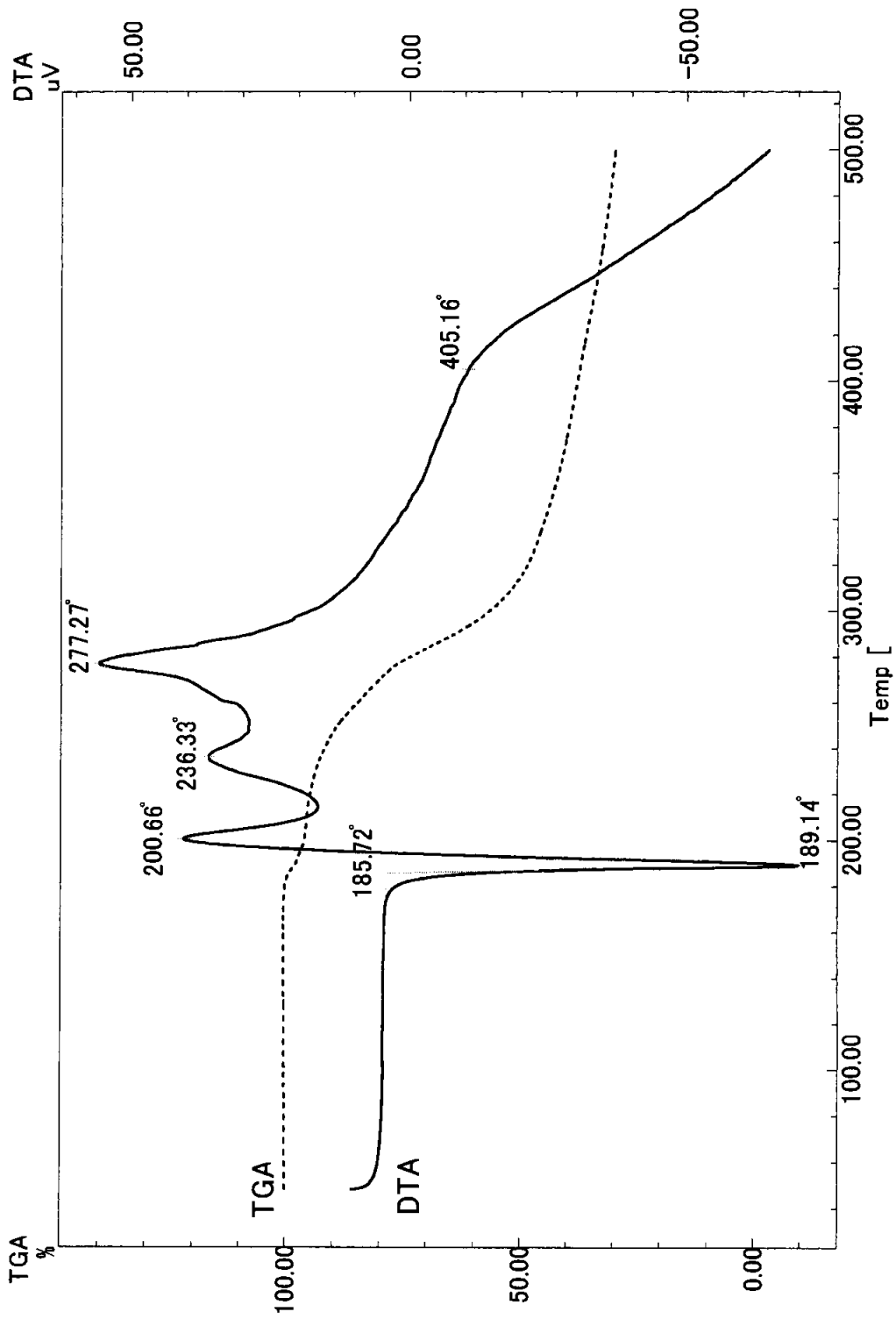


図1 TG/DTA (雰囲気ガス：空気)



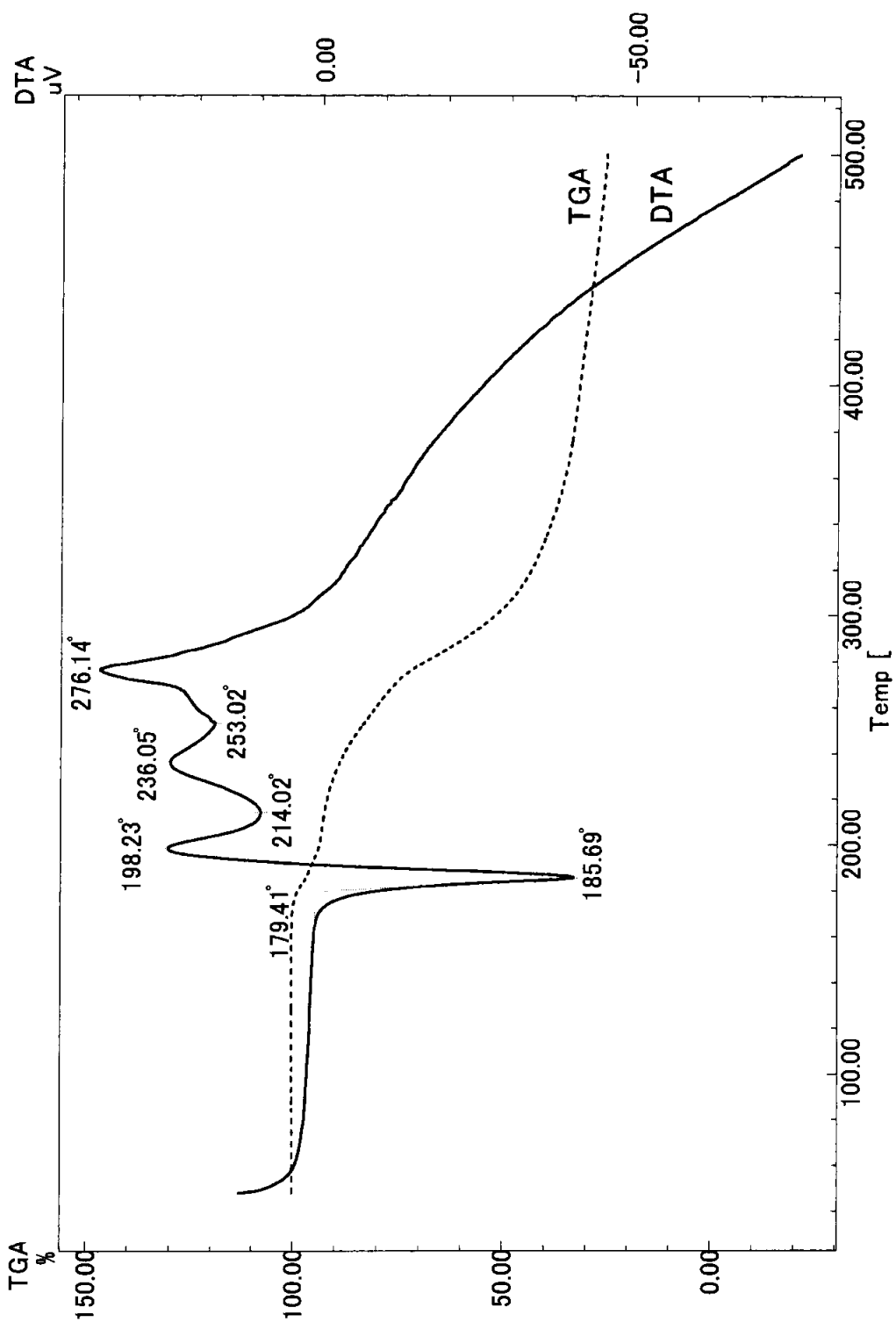


図2 TG/DTA (雰囲気ガス：窒素)

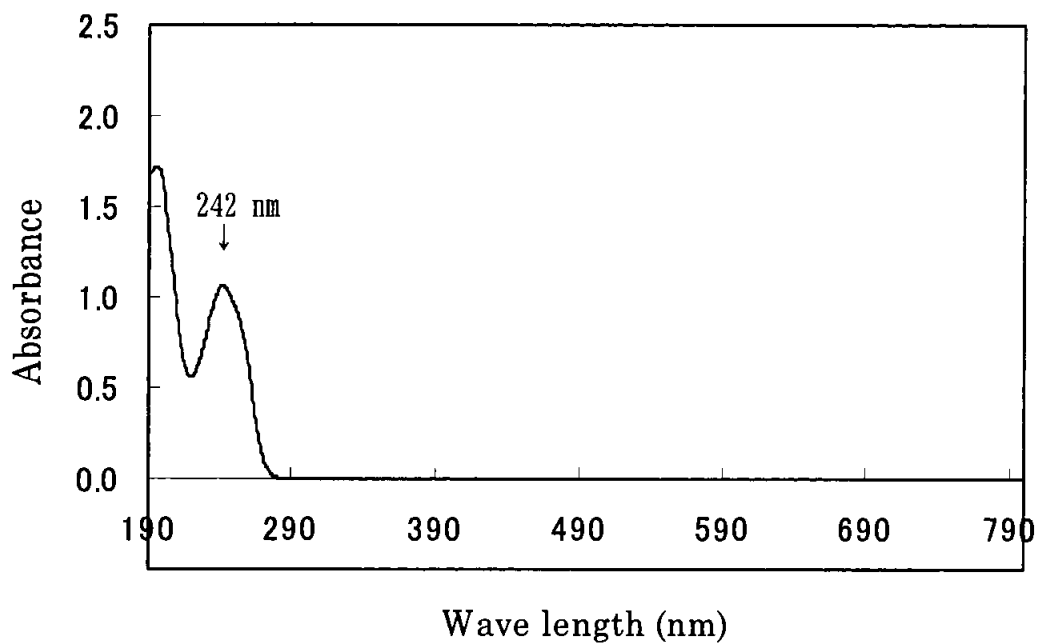


図3 紫外可視吸収スペクトル (水)  
 $\lambda_{\max}$  : 242 nm ( $\epsilon$  : 25200)

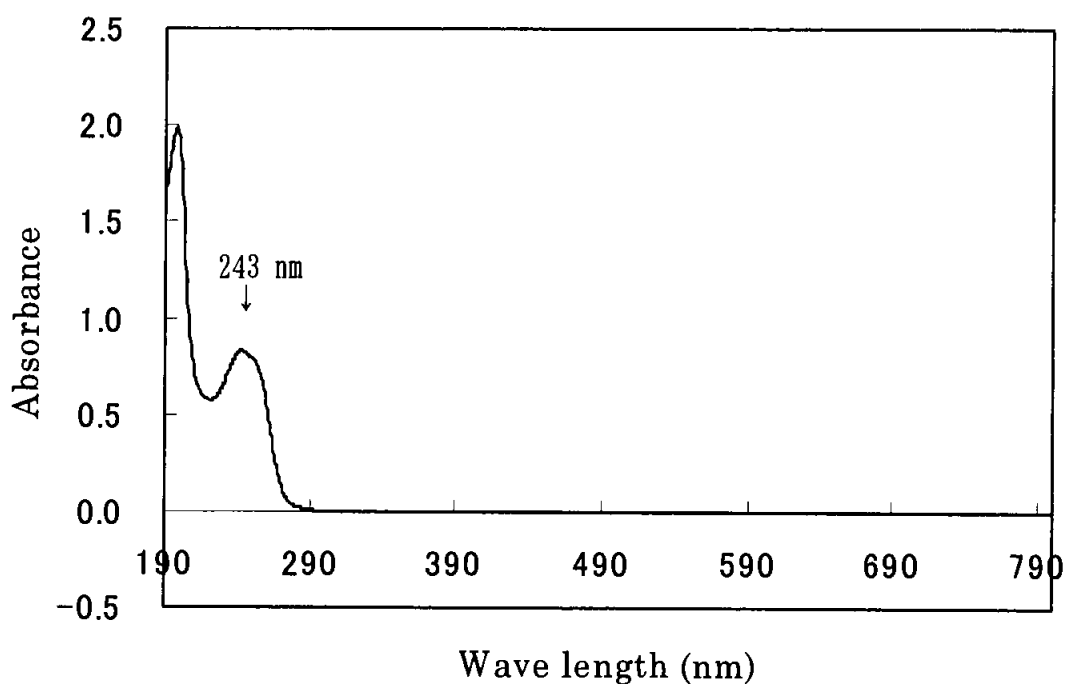


図4 紫外可視吸収スペクトル (アセトニトリル)  
 $\lambda_{\max}$  : 243 nm ( $\epsilon$  : 19800)

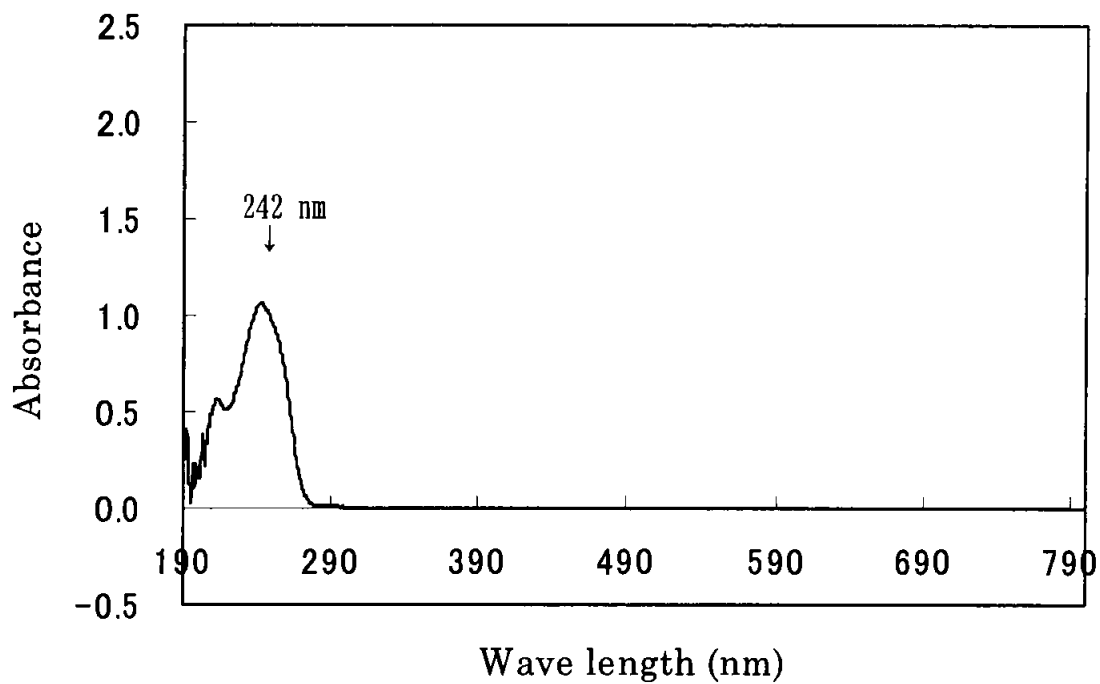


図5 紫外可視吸収スペクトル (アルカリ性条件下)  
 $\lambda_{\max}$  : 242 nm ( $\epsilon$  : 25200)

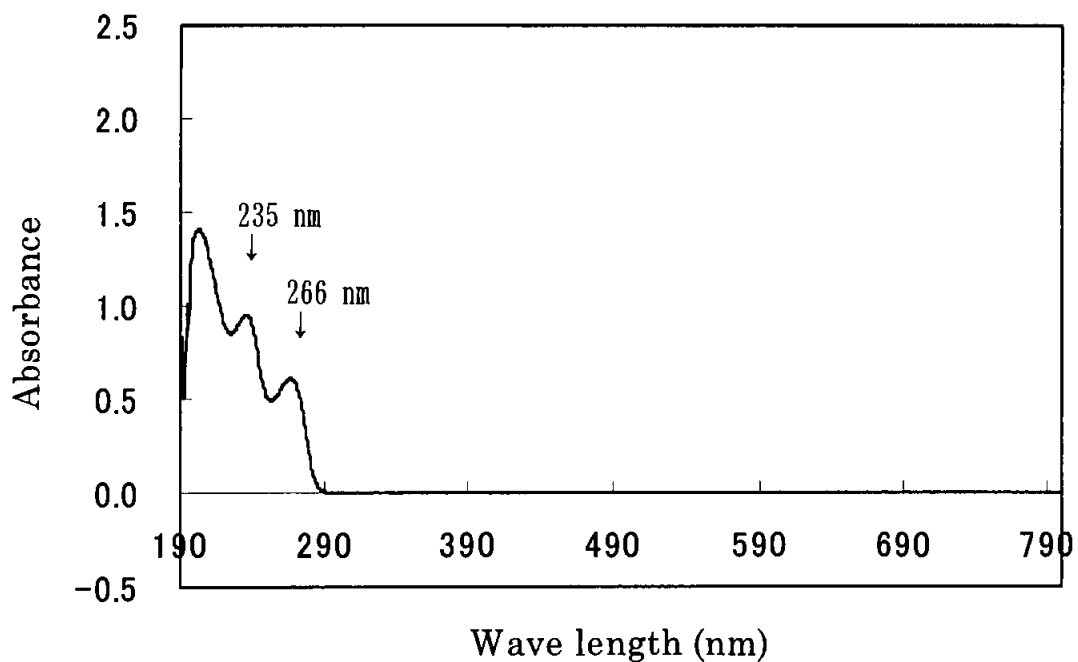


図6 紫外可視吸収スペクトル (酸性条件下)  
 $\lambda_{\max}$  : 235 nm ( $\epsilon$  : 22600)

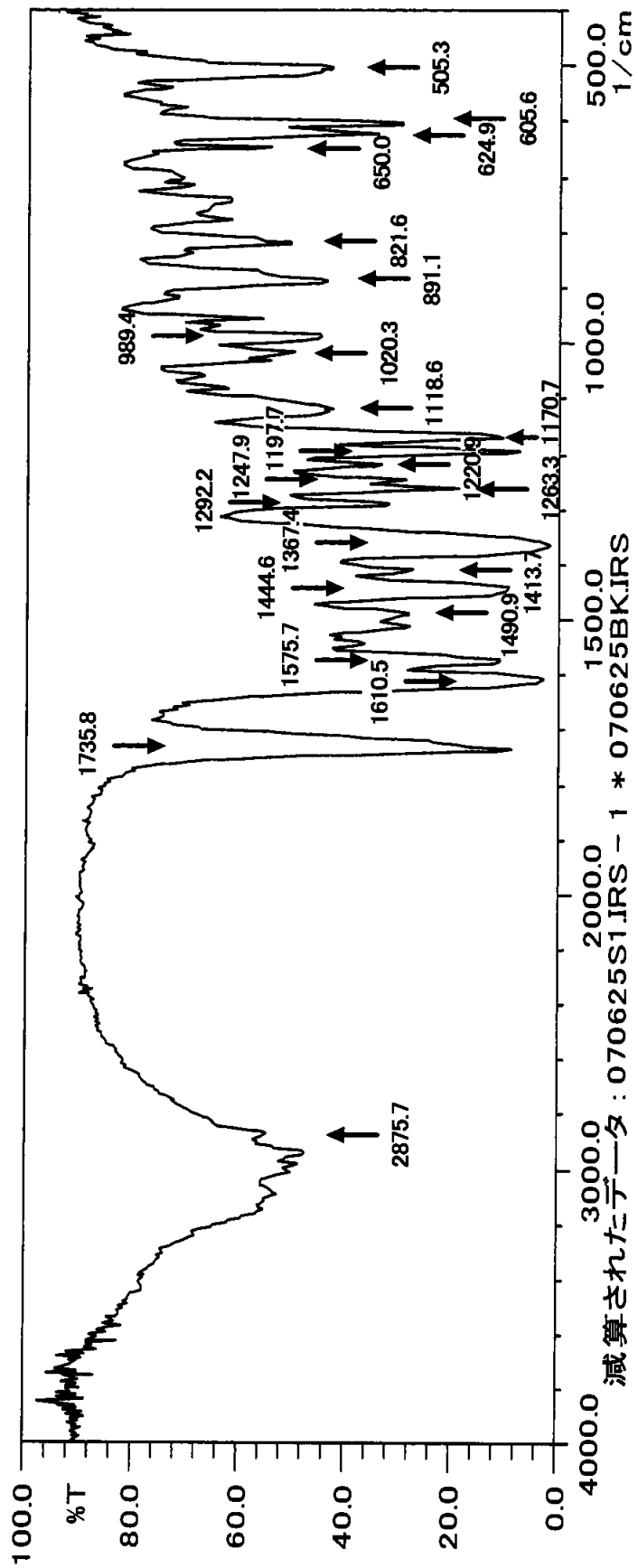


図7 赤外吸収スペクトル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

波数 (cm <sup>-1</sup> )	帰属 (推定)
3400-2600	C-H伸縮振動、N-H伸縮振動
1736-1576	C=N伸縮振動、C=O伸縮振動、N-H変角振動
1414-1292	S=O伸縮振動
1221-1171	環状C-O伸縮振動、S=O伸縮振動
1119-1020	C-Cl伸縮振動

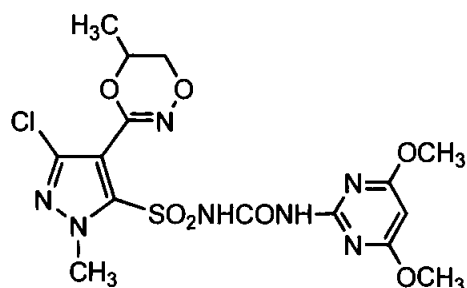
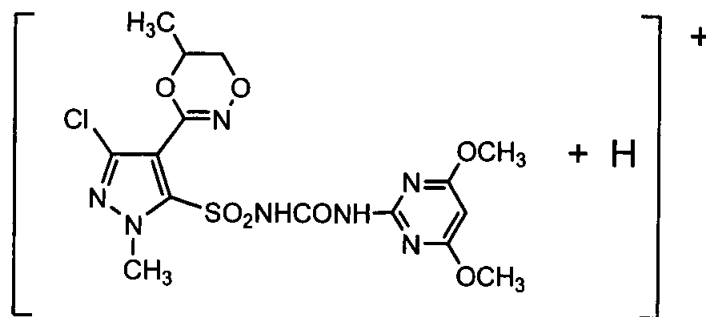
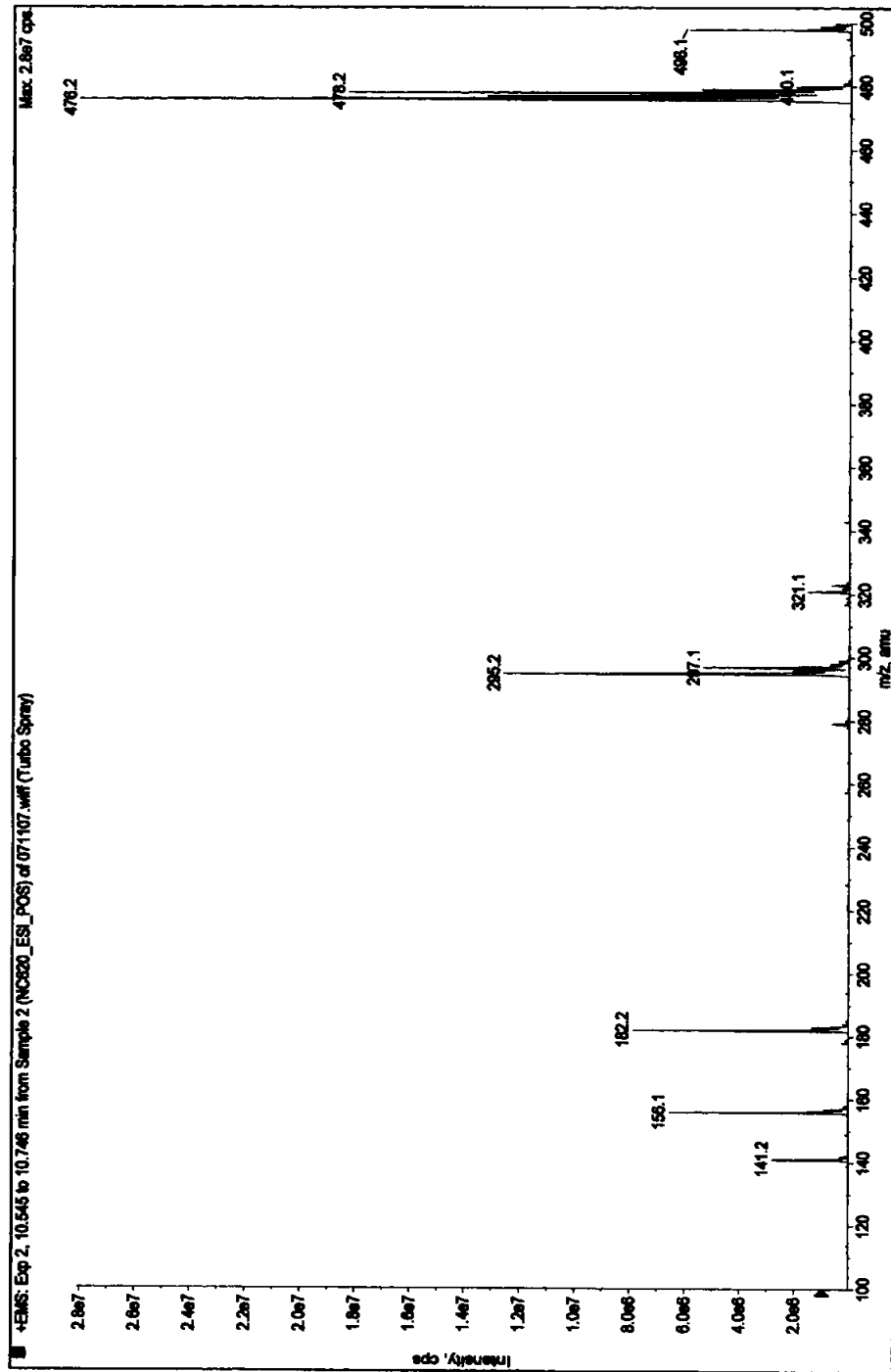


図8 主要な特性吸収帯の位置、帰属及びメタゾスルフロンの構造式



$$m/z = 476$$

図9 質量スペクトル (LC/MS: ESI) 及びメタゾスルフロンの構造式

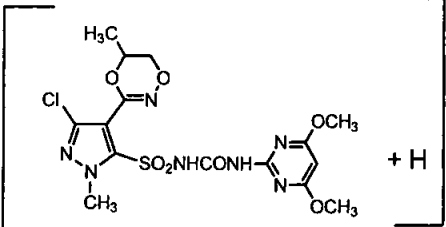
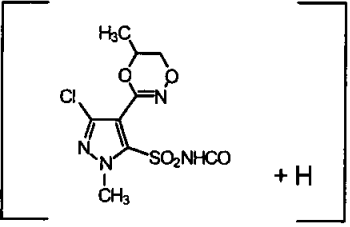
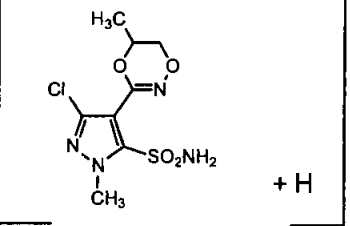
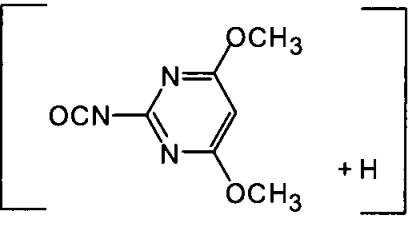
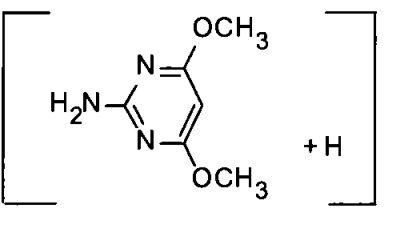
m/z	フラグメントイオンの帰属 (推定)
476	
321	
295	
182	
156	

図10 フラグメントイオンの帰属

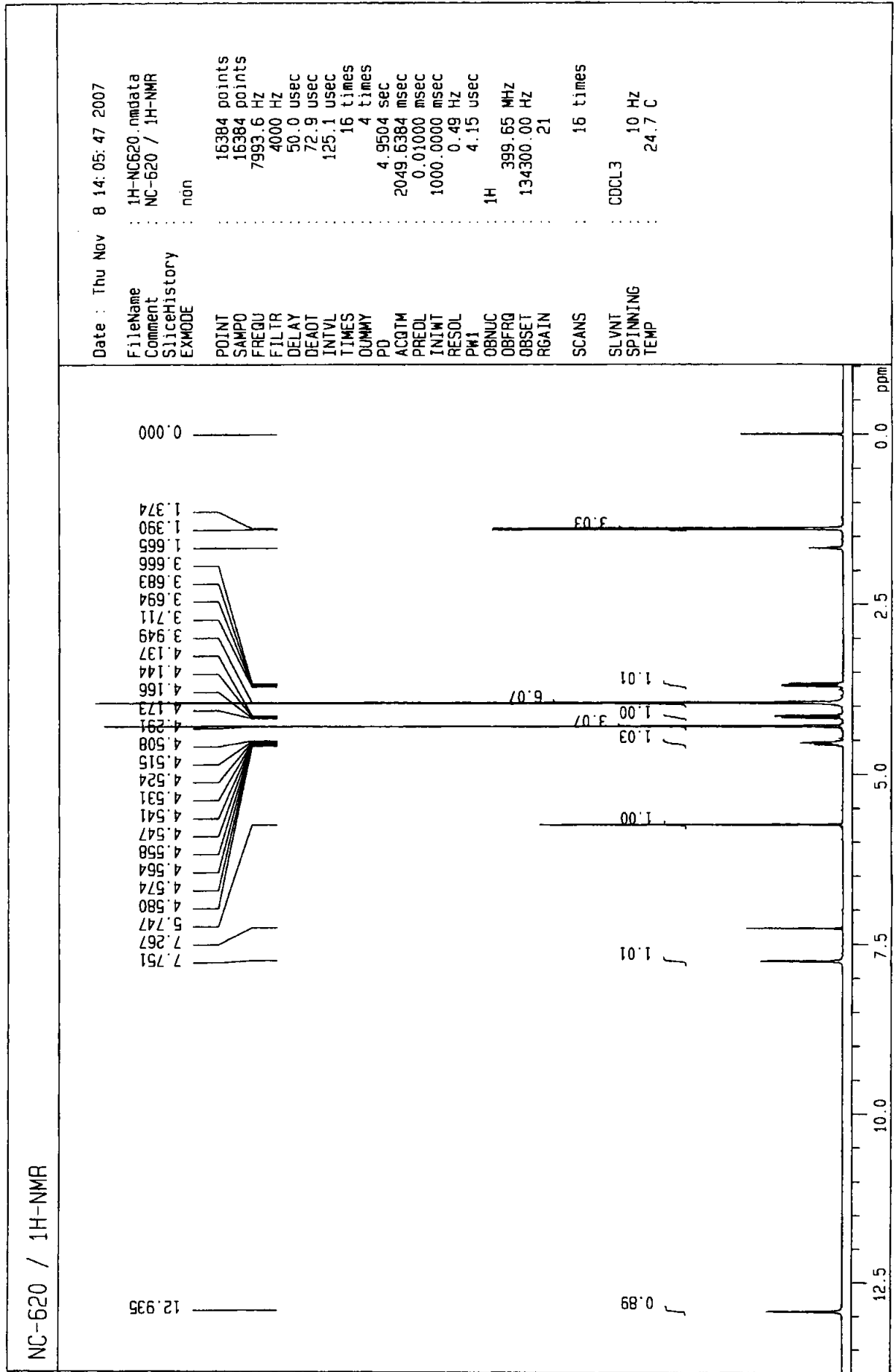


図11 1H-核磁気共鳴スペクトル



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

化学シフト (ppm)	多重度	プロトン数	帰属 (推定)
0.00	-	-	TMS
1.37 and 1.39	doublet	3	a
1.67	-	-	水
3.67~3.71	doublet of doublets	1	b
3.95	singlet	6	c
4.14~4.17	doublet of doublets	1	d
4.29	singlet	3	e
4.51~4.58	multiplet	1	f
5.75	singlet	1	g
7.27	-	-	溶媒
7.75	singlet	1	h
12.94	singlet	1	i

- : 帰属なし

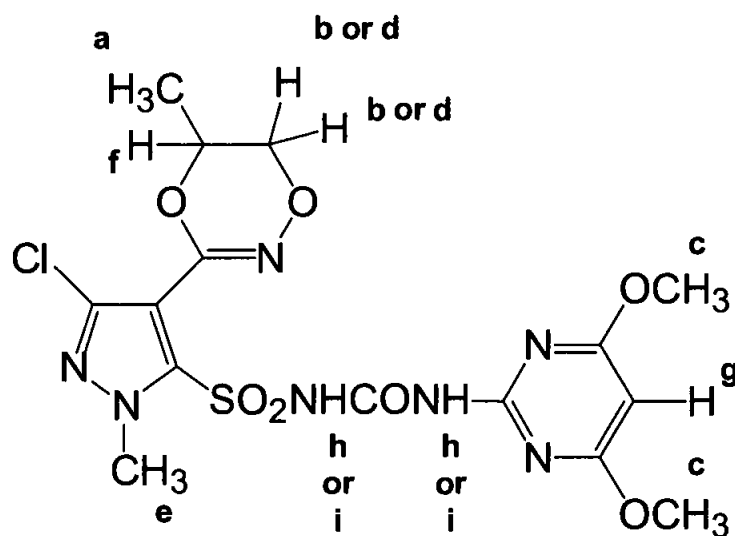


図12  $^1\text{H-NMR}$ のシグナルの帰属及びメタゾスルフロンの構造式

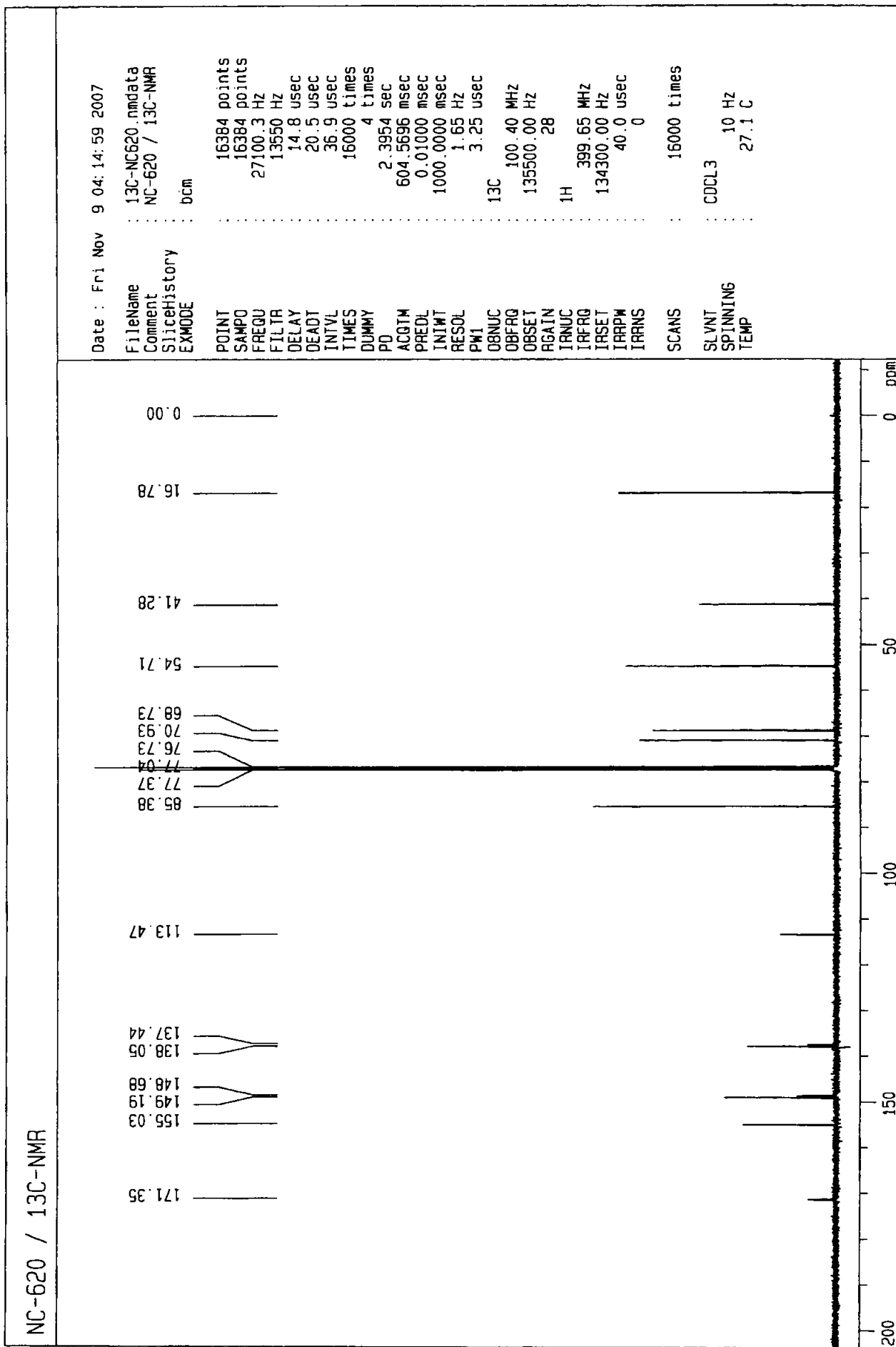


図13 <sup>13</sup>C-核磁気共鳴スペクトル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

化学シフト (ppm)	帰属 (推定)
0.0	TMS
16.8	1
41.3	2
54.7	3
68.7	4
70.9	5
76.7~77.4	溶媒
85.4	6
113.5	7
137.4	8
138.1	9
148.7	10
149.2	11
155.0	12
171.4	13

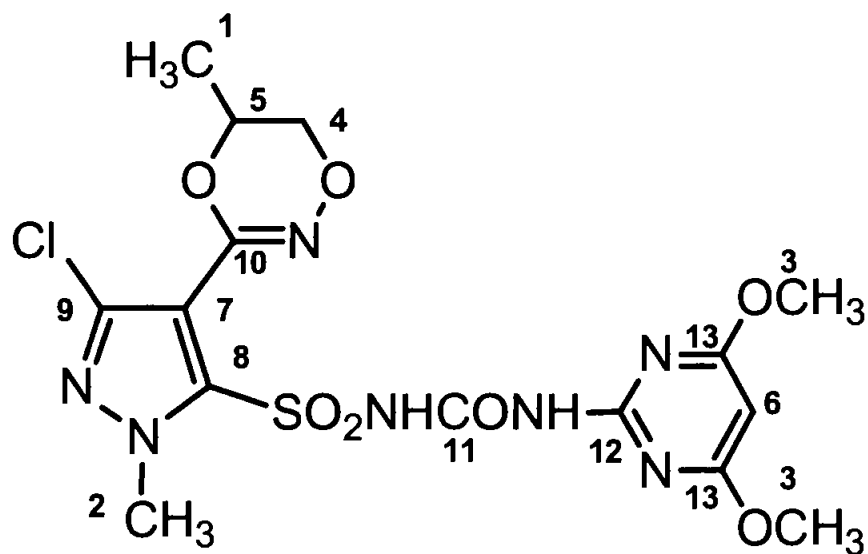


図14  $^{13}\text{C}$ -NMRのシグナルの帰属及びメタゾスルフロンの構造式

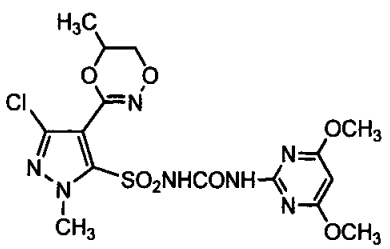
3. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量 (%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値
有効成分	メタリ' スルホン	1-[3-クロロ-1-メチル-4-[(5 <i>RS</i> )-5,6-ジヒドロ-5-メチル-1,4,2-ジオキサジン-3-イル]ピラゾール-5-イル]スルホニル-3-(4,6-ジメキシルリジン-2-イル)尿素	別表A	$C_{15}H_{18}ClN_7O_7S$	475.86		
原体混在物							

(つづき)

区分	名 称		構造式	分子式	分子量	含有量 (%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値
原体混在物							

別表

	名称		構造式
	一般名	化学名	
A	メタゾスルホロン	1-(3-クロロ-1-メチル-4-[(5 <i>R,S</i> )-5,6-ジヒドロ-5-メチル-1,4,2-ジオキサジン-3-イル]ピラゾール-5-イルスルホニル)-3-(4,6-ジメチルピリミジン-2-イル)尿素	

別表 (つづき)

	名称		構造式
	一般名	化学名	

別表 (つづき)

	名称		構造式
	一般名	化学名	



#### 4. 製剤の組成

(1) 1.0%粒剤 (ツインスター1キロ粒剤)

ダイムロン	10.0%
メタゾスルフロ	1.0%
界面活性剤、鉍物質微粉 等	89.0%

(2) 2.5%粒剤 (ツインスタージャンボ)

ダイムロン	25.0%
メタゾスルフロ	2.5%
界面活性剤、鉍物質微粉 等	72.5%

(3) 2.0%水和剤 (ツインスターフロアブル)

ダイムロン	20.0%
メタゾスルフロ	2.0%
界面活性剤、水 等	78.0%

### III. 生物活性

#### 1. 活性の範囲

メタゾスルフロン (NC-620) は、水田の一年生雑草、即ち、ノビエおよびコナギ、アゼナ、キカシグサ等の広葉雑草、又、ホタルイ、マツバイ、ウリカワ、オモダカ、ヘラオモダカ、ミズガヤツリ、クログワイ、コウキヤガラ、ヒルムシロ、セリなどの水田の多年生雑草に対して 10 アール当り 6~12g という低葉量で卓効を示し、一年生雑草と多年生雑草を同時に防除可能な除草剤有効成分である。

メタゾスルフロンの除草活性から見たもう一つの特徴は、各種雑草の発芽前から生育期までの幅広い時期に効果を示すことであり、このことは本剤が幅広い処理適期幅を実用上持つことに繋がるもので、重要な点である。

さらには、メタゾスルフロンと同系統のスルホニルウレア系除草剤に抵抗性を示すホタルイ、コナギ、オモダカ等に対してもメタゾスルフロンは高い効果を示す。

一方水稲に対するメタゾスルフロンの安全性は、多くの温室内試験および圃場試験から実用上問題ないことが実証されている。

#### 2. 作用機構

メタゾスルフロンを発生始期の水田雑草に処理すると、1~3日でその生長を停止させ、その後そのままの生長停止状態が続いた後、次第に雑草は黄化、濃緑化、あるいは黒色化し始める。これらの症状は雑草種によって多少異なるが、処理後 10 日~2 週間のうちに枯死に到る。これらの作用は既存のスルホニルウレア系除草剤同様に遅効的である。

雑草によるメタゾスルフロンの吸収部位は茎葉部および根部であり、処理後きわめて短時間のうちに植物体全体に分布する。吸収されたメタゾスルフロンは雑草地上部および根部の頂端分裂組織に作用し、地上部および根部の生長を停止させる。

その直接的作用は、分枝アミノ酸であるロイシン、イソロイシン、バリンの生合成系の鍵酵素であるアセト乳酸合成酵素 (アセトラクテートシンターゼ、以下 ALS) の活性を強く阻害することであり、その結果これら 3 種の分枝アミノ酸の生合成が阻害され雑草が枯死するものと考えられる。

また、既存のスルホニルウレア系除草剤に抵抗性を示すホタルイから抽出した ALS の活性をメタゾスルフロンは強く阻害することも確認されている。

イネと雑草間の選択性の理由については、スルホニルウレア系除草剤であることから、植物体内でのメタゾスルフロンの代謝速度の差、即ち、イネ体中ではメタゾスルフロンが速やかに代謝・分解され不活性化されるのに対して、雑草体中では代謝・分解が遅くメタゾスルフロンのままで長く存在するためと考えられる。

#### 3. 作用特性と防除上の利点等

メタゾスルフロン粒剤の各種基礎試験の結果から、以下のことが明らかとなっている。

本剤は、水稲栽培で問題となるノビエを含めた一年生雑草・各種の多年生雑草に対して、発生前から生育期まで高い効果を示し、処理適期幅を広く設定できる。例えばメタゾスルフロンを 10 アール当り 10g 処理した場合、発生前から 3 葉期以上のノビエを防除することが可能で

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

ある。このことは、天候に左右されやすい除草剤散布時期の考え方をより容易にするものである。即ち、除草剤の散布は、時として降雨や強風などの条件下では困難を極め、農家はできるだけこのような条件下での除草剤散布を避けて散布するが、処理適期幅の狭い除草剤では処理時期を失することとなる。また、水田に発生する多年生雑草は発生時期が不均一であるため、本剤のような処理適期幅の広い除草剤が望まれており、これらの意味で大きな利点を有している。

さらに、本剤は比較的水溶性が高く、処理後田面水中に拡散しやすい特徴を有する。従って、散布むら等による除草効果の振れ、あるいは重複散布などによる部分的な葉害の発生などが起こり難く、使用に当たってこれらの散布むらによる効果・葉害の問題は少ない。そのため、処理後の田面水への速やかな拡散が要求されるフロアブル剤にも適している。

#### IV 適用及び使用上の注意

##### 1. 適用病害虫の範囲および使用方法

[メタゾスルフロン2.5%粒剤(ツインスタージャンボ:ダイムロン25%・メタゾスルフロン2.5%)]

作物名	適用雑草名	使用時期	適用土壌	使用量	本剤の使用回数	使用方法	適用地帯
移植 水稲	水田一年生雑草及び マツバイ ホタルイ ウリカワ ミズガヤツリ (北海道を除く) ヘラオモダカ (北海道、東北、九州) ヒルムシロ セリ	移植後5日～ ノビエ3葉期 ただし、 移植後30日まで	砂壤土～ 埴土	小包装 (パック) 10個 400g/10a	1回	水田に 小包装 (パック)の まま 投げ入れる	全域(北海道、九州を除く)の普通期及び早期栽培地帯
			埴土～ 埴土				北海道、九州の普通期及び早期栽培地帯

ダイムロンを含む 農薬の総使用回数	メタゾスルフロンを含む 農薬の総使用回数
3回以内 (育苗箱散布は1回以内、 本田では2回以内)	2回以内

[メタゾスルフロン2%水和剤(ツインスターフロアブル:ダイムロン20%・メタゾスルフロン2.0%)]

作物名	適用雑草名	使用時期	適用土壌	使用量	本剤の使用回数	使用方法	適用地帯
移植 水稲	水田一年生雑草及び マツバイ ホタルイ ウリカワ ミズガヤツリ (北海道を除く) ヘラオモダカ (北海道、東北、九州) ヒルムシロ セリ	移植後5日～ ノビエ3葉期 ただし、 移植後30日まで	砂壤土～ 埴土	500mL/10a	1回	原液湛水 散布	全域(北海道を除く)の普通期及び早期栽培地帯
			埴土～ 埴土				北海道

ダイムロンを含む 農薬の総使用回数	メタゾスルフロンを含む 農薬の総使用回数
3回以内 (育苗箱散布は1回以内、 本田では2回以内)	2回以内

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

[メタゾスルフロン1%粒剤 (ツインスター1キロ粒剤:ダイムロン10%・メタゾスルフロン1.0%)]

作物名	適用雑草名	使用時期	適用土壌	使用量	本剤の使用回数	使用方法	適用地帯
移植 水 稲	水田一年生雑草 及び マツバイ ホタルイ ウリカワ ミズガヤツリ (北海道を除く) ヘラオモダカ (北海道、東北) ヒルムシロ セリ	移植後5日～ ノビエ3葉期 ただし、 移植後30日まで	砂壤土～ 埴土	1kg/ 10a	1回	湛 水 散 布	全域 (北海道を除く)の 普通期及び 早期栽培地帯
			壤土～ 埴土				北海道

ダイムロンを含む 農薬の総使用回数	メタゾスルフロンを含む 農薬の総使用回数
3回以内 (育苗箱散布は1回以内、 本田では2回以内)	2回以内

## 2. 使用上の注意事項

[メタゾスルフロン2.5%粒剤(ツインスタージャンボ:ダイムロン25%・メタゾスルフロン2.5%)]

- (1) 本剤は雑草の発生前から生育初期に有効なので、ノビエ3葉期までに時期を失しないように散布すること。なお、多年生雑草は生育段階によって効果にふれが出るので、必ず適期に散布すること。ホタルイ、ウリカワ、ミズガヤツリは3葉期まで、ヘラオモダカは2葉期まで、ヒルムシロは発生期まで、セリは再生始期までが本剤の散布適期である。
- (2) 本剤は、移植前に生育したミズガヤツリには効果が劣るので、物理的防除方法などを用いて移植前に防除してから使用すること。
- (3) 浅植え、浮き苗が生じないように、代かき、均平化及び植付作業は丁寧に行い、ワラくずなどの浮遊物はできるだけ取り除くこと。未熟有機物を施用した場合は、特に丁寧に行うこと。
- (4) 散布に当たっては、水の出入りを止めて5~6cmの湛水状態に保つこと。散布後は少なくとも3~4日間は通常の湛水状態を保ち、田面を露出させたり、水を切らしたりしないようにし、また、散布後7日間は落水、かけ流しはしないこと。
- (5) 本剤は小包装(パック)のまま10アール当たり10個の割合で水田に均等に投げ入れること。
- (6) 藻や浮草が多発している水田では、拡散が不十分となり、効果の劣る可能性があるので使用を避けること。
- (7) 梅雨期等、散布後に多量の降雨が予想される場合は除草効果が低下することがあるので使用を避けること。
- (8) 下記のような条件では薬害が発生する恐れがあるので使用を避けること。
  - ①砂質土壌の水田および漏水の激しい水田(減水深2cm/日以上)
  - ②軟弱な苗を移植した水田
  - ③極端な浅植えの水田および植付け不良で根が露出している水田
- (9) パックに使用しているフィルムは水溶性なので、濡れた手で作業したり、降雨で破袋することのないように注意すること。
- (10) 本剤はその殺草特性から、いぐさ、れんこん、せり、くわいなどの生育を阻害する恐れがあるので、これらの作物の生育期に隣接田で使用する場合は十分注意すること。
- (11) 本剤散布後の田面水を他作物に灌水しないこと。
- (12) いぐさの栽培予定水田では本剤を使用しないこと。
- (13) 本剤使用後の空き袋等は環境に影響を与えないよう適切に処理すること。
- (14) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法などを誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合や異常気象時は、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

[メタゾスルフロン2%水和剤(ツインスターフロアブル:ダイムロン20%・メタゾスルフロン2.0%)]

- (1) 使用前に容器をよく振ること。
- (2) 本剤は雑草の発生前から生育初期に有効なので、ノビエ3葉期までに時期を失しないように散布すること。なお、多年生雑草は生育段階によって効果にふれが出るので、必ず適期に散布すること。ホタルイ、ミスガヤツリ、ヘラオモダカは3葉期まで、ウリカワは2葉期まで、ヒルムシロは発生期まで、セリは再生始期までが本剤の散布適期である。
- (3) 本剤は、移植前に生育したミスガヤツリには効果が劣るので、物理的防除方法などを用いて移植前に防除してから使用すること。
- (4) 浅植え、浮き苗が生じないように、代かき、均平化及び植付作業は丁寧に行うこと。未熟有機物を施用した場合は、特に丁寧に行うこと。
- (5) 散布に当たっては、水の出入りを止めて湛水状態のまま本剤を水田全面にゆきわたるように散布し、少なくとも3~4日間は通常の湛水状態(水深3~5cm)を保ち、散布後7日間は落水、かけ流しはしないこと。
- (6) 梅雨期等、散布後に多量の降雨が予想される場合は除草効果が低下することがあるので使用を避けること。
- (7) 下記のような条件では薬害が発生する恐れがあるので使用を避けること。
  - ①砂質土壌の水田および漏水の激しい水田(減水深2cm/日以上)
  - ②軟弱な苗を移植した水田
  - ③極端な浅植えの水田および植付け不良で根が露出している水田
- (8) 本剤はその殺草特性から、いぐさ、れんこん、せり、くわいなどの生育を阻害する恐れがあるので、これらの作物の生育期に隣接田で使用する場合は十分注意すること。
- (9) 本剤散布後の田面水を他作物に灌水しないこと。
- (10) いぐさの栽培予定水田では本剤を使用しないこと。
- (11) 本剤使用後の空き袋等は環境に影響を与えないよう適切に処理すること。
- (12) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法などを誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合や異常気象時は、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

[メタゾスルフロン1%粒剤(ツインスター1キロ粒剤:ダイムロン10%・メタゾスルフロン1.0%)]

- (1) 本剤は雑草の発生前から生育初期に有効なので、ノビエ3葉期までに時期を失しないように散布すること。なお、多年生雑草は生育段階によって効果にふれが出るので、必ず適期に散布すること。ホタルイ、ウリカワ、ミスガヤツリは3葉期まで、ヘラオモダカは2葉期まで、ヒルムシロは発生期まで、セリは再生始期までが本剤の散布適期である。
- (2) 本剤は、移植前に生育したミスガヤツリには効果が劣るので、物理的防除方法などを用いて移植前に防除してから使用すること。
- (3) 浅植え、浮き苗が生じないように、代かき、均平化及び植付作業は丁寧におこなうこと。未熟有機物を施用した場合は、特に丁寧におこなうこと。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

- (4) 散布に当っては、水の出入りを止めて湛水のまま田面に均一に散布し、少なくとも3～4日間は通常の湛水状態（水深3～5cm）を保ち、散布後7日間は落水、かけ流しはしないこと。
- (5) 梅雨期等、散布後に多量の降雨が予想される場合は除草効果が低下することがあるので使用を避けること。
- (6) 下記のような条件では葉害が発生する恐れがあるので使用を避けること。
  - ①砂質土壌の水田および漏水の激しい水田（減水深2cm/日以上）
  - ②軟弱な苗を移植した水田
  - ③極端な浅植えの水田および植付け不良で根が露出している水田
- (7) 本剤はその殺草特性から、いぐさ、れんこん、せり、くわいなどの生育を阻害する恐れがあるので、これらの作物の生育期に隣接田で使用する場合は十分注意すること。
- (8) 本剤散布後の田面水を他作物に灌水しないこと。
- (9) いぐさの栽培予定水田では本剤を使用しないこと。
- (10) 本剤使用後の空き袋等は環境に影響を与えないよう適切に処理すること。
- (11) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法などを誤らないよう注意し、特に初めて使用する場合や異常気象時は、病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

### 3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

[メタゾスルフロン2.5%粒剤（ツインスタージャンボ：ダイムロン25%・メタゾスルフロン2.5%）]

[メタゾスルフロン2%水和剤（ツインスターフロアブル：ダイムロン20%・メタゾスルフロン2.0%）]

[メタゾスルフロン1%粒剤（ツインスター1キロ粒剤：ダイムロン10%・メタゾスルフロン1.0%）]

この登録に係る使用方法では該当がない。



## V. 残留性

### 1. 作物残留性試験

#### (1) 分析法の原理と操作概要

水稻（玄米及び稲わら）：

粉碎した試料を水で膨潤した後、含水アセトニトリルで抽出しグラファイトカーボンミニカラムで精製する。更にアルミナAミニカラムで精製し、高速液体クロマトグラフ/質量分析計（LC/MS/MS）で定量する。

定量限界は玄米0.01ppm、稲わら0.01ppm。

#### (2) 分析対象の化合物

親化合物 ; メタゾスルフロン

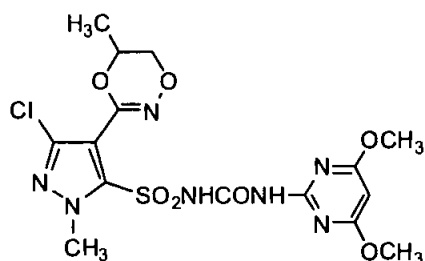
化学名 ; 1-[3-クロロ-1-メチル-4-[(5*R,S*)-5,6-ジヒドロ-5-メチル-1,4,2-ジオキサジン-3-イル]ピラゾール-5-イルスルホニル]-3-(4,6-ジメトキシピリジン-2-イル)尿素 (IUPAC)

化学式 ;  $C_{15}H_{18}ClN_7O_7S$

分子量 ; 475.86

代謝経路図中での記号 ; A

構造式 :



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(3) 残留試験結果

資料 番号	作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数又は 使用量 使用方法	試料調製 場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)				
						公的分析機関		社内分析機関		
						メタゾスルフロン		メタゾスルフロン		
						最高値	平均値	最高値	平均値	
1	水稻 (露地) (玄米) 平成 20 年度	粒剤 (1%) 1kg/10a 散布	日植調 研究所	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
				2	103	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
			日植調 福岡	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
				2	81	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
2	水稻 (露地) (稲わら) 平成 20 年度		粒剤 (1%) 1kg/10a 散布	日植調 研究所	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
					2	103	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
				日植調 福岡	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
					2	81	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

[参考資料]

代謝物の作物残留

(4) 代謝物の作残試験結果

資料 番号	作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数又は 使用量 使用方法	試料調製 場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)			
						公的分析機関		社内分析機関	
						最高値	平均値	最高値	平均値

## 2. 土壌残留性試験

### (1) 分析法の原理と操作概要

土壌を遠心分離で上清分離後、pH7 りん酸緩衝液を含むアセトニトリル、次いでりん酸酸性の含水アセトニトリルで振とう抽出し、グラファイトカーボンミニカラム精製後メタゾスルフロンの画分と画分に2分割し、メタゾスルフロンの画分は更にアルミナAミニカラムで精製する。それぞれ高速液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS/MS)を用いて定量する。

### (2) 分析対象の化合物

#### ①メタゾスルフロンの

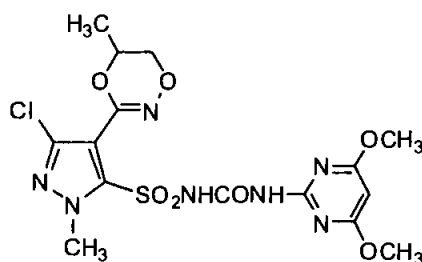
化学名 ; 1-(3-クロロ-1-メチル-4-[(5*R*S)-5,6-ジヒドロ-5-メチル-1,4,2-オキサジン-3-イル]ピラゾール-5-イルスルホニル)-3-(4,6-ジメチルピリジン-2-イル)尿素 (IUPAC)

化学式 ;  $C_{15}H_{18}ClN_7O_7S$

分子量 ; 475.86

代謝経路図中での記号 ; A

構造式 :



②

③

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(3) 残留試験結果

圃場試験

推定半減期：メタゾスルロン

火山灰・軽埴土（茨城） 10.9日

沖積・軽埴土（福岡） 20.6日

分析機関：

No.	試料調製及び採取場所	被験物質の処理方法		経過日数	測定値 (mg/kg)						
					メタゾスルロン						合計*)
		濃度	回数		最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	
1	(財) 日本植物調節剤研究協会 研究所 (茨城) (火山灰・軽埴土) 水田 平成20年度	粒剤 (1.2%)	0	-	<0.001	<0.001					
			1	0	0.356	0.354					
			1	1	0.143	0.140					
			1	3	0.141	0.140					
			1	7	0.075	0.075					
			1	14	0.048	0.048					
			1	30	0.013	0.013					
			1	64	0.004	0.004					
	(財) 日本植物調節剤研究協会 福岡試験地 (福岡) (沖積・軽埴土) 水田 平成20年度	1000 g/10a 1回施用	0	-	<0.001	<0.001					
			1	0	0.091	0.088					
			1	1	0.102	0.101					
			1	3	0.115	0.114					
			1	7	0.086	0.086					
			1	14	0.021	0.021					
1	31	0.016	0.016								
1	64	0.006	0.006								
1	120	0.002	0.002								

濃度は親化合物換算値、\*) メタゾスルロン及び の平均の合計値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

[参考資料]

容器内試験

推定半減期：マトリ スルホン

火山灰・軽埴土（茨城） 12.6日

沖積・軽埴土（福岡） 22.4日

分析機関：

No.	試料調製及び採取場所	被験物質の処理方法		経過日数	測定値 (mg/kg)						
		濃度	回数		マトリ スルホン						合計*)
					最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	
参考 1	(財) 日本植物調節剤研究協会 研究所 (茨城)  (火山灰・軽埴土) 水田  平成20年度	標準品 (%)	0	-	<0.001	<0.001					
			1	0	0.109	0.108					
			1	1	0.104	0.098					
			1	3	0.077	0.077					
			1	7	0.040	0.038					
			1	14	0.016	0.013					
			1	30	0.009	0.008					
			1	60	0.004	0.004					
	(財) 日本植物調節剤研究協会 福岡試験地 (福岡)  (沖積・軽埴土) 水田  平成20年度	2.4 µg/20 g  25 °C	0	-	<0.001	<0.001					
			1	0	0.112	0.110					
			1	1	0.114	0.114					
			1	3	0.101	0.098					
			1	7	0.065	0.064					
			1	14	0.033	0.031					
1	30	0.018	0.018								
1	60	0.007	0.007								
1	120	0.003	0.003								

濃度は親化合物換算値、\*) マトリ スルホン及び の平均の合計値

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

No.	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1群 当りの 供試数	試験 方法	試験 水温 (℃)	LC <sub>50</sub> 又は EC <sub>50</sub> 値 (mg/L) *1				試験機関 (報告年)	頁
						24h	48h	72h	96h		
水産-1 GLP	魚類急性毒性 原体(%)	コイ	10	半止水 式	21.5~ 23.4	>95.6	>95.6	>95.6	>95.6	(2009年)	39
水産-2 GLP	魚類急性毒性 原体(%)	ニジマス	10	半止水 式	14.0~ 14.9	>101	>101	>101	>101	(2009年)	40
水産-3 GLP	ミジンコ類 急性遊泳阻害 原体(%)	オミジンコ	20	止水式	20.3~ 20.8	>101	>101	-	-	(2009年)	41
水産-4 GLP	藻類生長阻害 原体(%)	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 濃度 10 <sup>4</sup> cells/mL	振とう 培養	23.7~ 24.0	ErC <sub>50</sub> (0~72h) : 0.0308 NOECr (0~72h) : 0.00502				(2009年)	42
水産-5 GLP	魚類急性毒性 粒剤(2.5%)	コイ	10	半止水 式	21.5~ 22.5	>1000	>1000	>1000	>1000	(2009年)	43
水産-6 GLP	ミジンコ類 急性遊泳阻害 粒剤(2.5%)	オミジンコ	20	止水式	19.7~ 20.3	>1000	241	-	-	(2009年)	44
水産-7 GLP	藻類生長阻害 粒剤(2.5%)	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 濃度 10 <sup>4</sup> cells/mL	振とう 培養	22.5	ErC <sub>50</sub> (0~72h) : 8.6 NOECr (0~72h) : 0.32				(2009年)	45
水産-8 GLP	魚類急性毒性 フロアブル(2.0%)	コイ	10	半止水 式	21.8~ 22.1	>1000	>1000	>1000	>1000	(2009年)	46
水産-9 GLP	ミジンコ類 急性遊泳阻害 フロアブル(2.0%)	オミジンコ	20	止水式	20.0~ 20.3	>1000	>1000	-	-	(2009年)	47
水産-10 GLP	藻類生長阻害 フロアブル(2.0%)	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 濃度 10 <sup>4</sup> cells/mL	振とう 培養	23.0~ 24.0	ErC <sub>50</sub> (0~72h) : 4.1 NOECr (0~72h) : 0.16				(2009年)	48
水産-11 GLP	魚類急性毒性 粒剤(1.0%)	コイ	10	半止水 式	21.7~ 22.1	>1000	>1000	>1000	>1000	(2009年)	49
水産-12 GLP	ミジンコ類 急性遊泳阻害 粒剤(1.0%)	オミジンコ	20	止水式	20.5	>1000	377	-	-	(2009年)	50
水産-13 GLP	藻類生長阻害 粒剤(1.0%)	<i>Pseudokirch neriella subcapitata</i>	初期 濃度 10 <sup>4</sup> cells/mL	振とう 培養	21.5~ 23.0	ErC <sub>50</sub> (0~72h) : 17.6 NOECr (0~72h) : 1.6				(2009年)	51

\*1 原体の試験データは実測濃度、製剤の試験データは製剤濃度で示した。



1. 水産動植物への影響に関する試験

(1) 魚類急性毒性試験 (原体)

① Ⅱを用いた急性毒性試験

(資料No. 水産-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：メゾメソロン原体 (純度 %)

供試生物：Ⅱ (*Cyprinus carpio*)、一群 10 尾、全長；平均 5.71cm、体重；平均 2.36g

方 法：

暴露期間；96 時間

暴露方法；半止水式 (24 時間毎換水)

希釈水；脱塩素水道水 (硬度 CaCO<sub>3</sub>として 168mg/L)

試験液量；48L/試験区 (48L×1 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；73~106% (飽和濃度に対する割合)

pH；7.31~7.89

試験液の調製方法；所定量の被験物質を希釈水に添加し超音波処理した後、最終液量になるように調製した。

試験水温：21.5~23.4℃

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	100	
	実測濃度	95.6	
LC <sub>50</sub> (mg/L) *	24h	>95.6	
	48h	>95.6	
	72h	>95.6	
	96h	>95.6	
NOEC (mg/L) *	95.6		

\*：平均実測値に基づく

対照区及び試験区ともに一般状態に異常は認められなかった。

試験液中の被験物質濃度の実測値は試験を通して設定濃度の 85~104%であった。

② ニジマスを用いた急性毒性試験

(資料No. 水産-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：メチルサルホン原体 (純度 %)

供試生物：ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)、一群 10 尾、全長；平均 6.25cm、体重；平均 2.63g

方 法：

暴露期間；96 時間

暴露方法；半止水式 (24 時間毎換水)

希釈水；脱塩素水道水 (硬度：CaCO<sub>3</sub>として 156mg/L)

試験液量；48L/試験区 (48L×1 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；75~98% (飽和濃度に対する割合)

pH；7.14~7.44

試験液の調製方法；所定量の被験物質を希釈水に添加し超音波処理した後、最終液量になるように調製した。

試験水温；14.0~14.9℃

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	100	
	実測濃度	101	
LC <sub>50</sub> (mg/L) *	24h	>101	
	48h	>101	
	72h	>101	
	96h	>101	
NOEC (mg/L) *	101		

\*：平均実測値に基づく

対照区及び試験区ともに一般状態に異常は認められなかった。

試験液中の被験物質濃度の実測値は、試験を通して設定濃度の 99~103%であった。

(2) ミンコ類急性遊泳阻害試験(原体)

材ミンコ急性遊泳阻害試験

(資料 No. 水産-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009年

被験物質：メチルサルフォ原体(純度 %)

供試生物：材ミンコ (*Daphnia magna*)、一群各 20 頭(生後 24 時間以内の幼体)

方法：

暴露期間；48 時間

暴露方法；止水式

希釈水；Elendt M4

試験液量；400mL/試験区(100mL×4 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；98~100%(飽和濃度に対する割合、100%を 9.09mg/L (20℃) とすると 8.91~9.09mg/L (申請者算出))

pH；7.00~7.66

試験液の調製方法；所定量の被験物質を秤量し、希釈水に直接添加して超音波処理により試験液を調製した。

試験水温；20.3~20.8℃

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	100	
	実測濃度	101	
EC <sub>50</sub> (mg/L) *	24h	>101	
	48h	>101	
NOEC (mg/L) *	101		

\*：平均実測値に基づく

対照区及び試験区ともに遊泳阻害及びその他異常は認められなかった。

試験液中の被験物質濃度の実測値は、試験期間を通して設定濃度の 99~104%であった。

(3) 藻類生長阻害試験(原体)

(資料 No. 水産-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：メゾルフロ原体 (純度 %)

供試生物：緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, CCAP278/4)

初期細胞濃度 10<sup>4</sup> cells/mL

方 法：

暴露期間 ; 72 時間

暴露方法 ; 振とう培養 (約 150 回/分)

培地 ; OECD 培地

試験液量 ; 600mL/対照区 (100mL×6 試験容器)、300mL/試験区 (100mL×3 試験容器)

照明 ; 蛍光灯による連続照明 (平均照度 : 6772Lux)

pH ; 7.41~8.11

試験液の調製方法 ; 必要量の被験物質を秤量し培地を用いて試験原液を調製した。これを順次希釈したものを試験容器に入れた培地に添加して試験液を調製した。

培養温度 : 23.7~24.0℃ (水温)

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.0005、0.0011、0.00242、0.00532、0.0117、 0.0258、0.0567
	実測濃度	0.000571、0.00123、0.00260、0.00502、0.0103、 0.0241、0.0560
ErC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)		0~72h : 0.0308 (0.0201~0.0518)
EbC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)		72h : 0.00634 (0.00499~0.00833)
NOECr (mg/L) *		0.00502
NOECb (mg/L) *		0.00260

\* : 平均実測値に基づく

顕微鏡下において藻類細胞に異常は認められなかった。

試験液中の被験物質濃度の実測値は、試験期間を通して設定濃度の 86~110%であった。

(4) 魚類急性毒性試験 (製剤)

㊦を用いた急性毒性試験

(資料 No. 水産-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：粒剤

(組成) マゾスルホン 2.5%  
 ダイロン 25.0%

供試生物：㊦ (*Cyprinus carpio*)、一群各 10 尾、全長；平均 4.3cm、体重；平均 0.8g

方 法：

暴露期間；96 時間

暴露方法；半止水式 (24 時間毎換水)

希釈水；脱塩素水道水

試験液量；20L/試験区 (10L×2 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；73.2~100.6% (飽和濃度に対する割合)

pH；7.64~8.13

試験液の調製方法；所定量の被験物質を秤量し、一定量の希釈水に直接添加して試験液を調製した。

試験水温：21.5~22.5℃

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、63、125、250、500、1000	
LC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	24h	>1000 (算出不能)
	48h	>1000 (算出不能)
	72h	>1000 (算出不能)
	96h	>1000 (算出不能)

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

1000mg/L 試験区において遊泳異常及び鼻上げが認められた。

(5) ジンコ類急性遊泳阻害試験 (製剤)

材ジンコ急性遊泳阻害試験

(資料 No. 水産-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：粒剤

(組成) マゾールフロン 2.5%  
ダイロン 25.0%

供試生物：材ジンコ (*Daphnia magna*)、一群各 20 頭 (生後 24 時間以内の幼体)

方 法：

暴露期間；48 時間

暴露方法；止水式

希釈水；Elendt M4

試験液量；400mL/試験区 (100mL×4 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；7.78~8.26mg/L

pH；8.05~8.34

試験液の調製方法；所定量の被験物質を秤量し、希釈水に直接添加して試験液を調製した。

試験水温；19.7~20.3℃

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、53、95、171、309、556、1000	
EC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	24h	>1000 (算出不能)
	48h	241 (189~308)

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

特記すべき異常な症状は観察されなかった。

(6) 藻類生長阻害試験 (製剤)

(資料 No. 水産-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：粒剤

(組成) ヌツノスルホン 2.5%  
          ダ イムン 25.0%

供試生物：緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, ATCC22662 株)

初期細胞濃度； $10^4$  cells/mL

方 法：

暴露期間；72 時間

暴露方法；振とう培養 (約 100 回/分)

培地；AAP 培地

試験液量；600mL/対照区 (100mL×6 試験容器)、300mL/試験区 (100mL×3 試験容器)

照明；蛍光灯による連続照明 (平均照度：5154~5204Lux)

pH；7.10~7.39

試験液の調製方法；必要量の被験物質を秤量し培地を用いて試験原液を調製した。これを順次希釈したものを試験容器に入れた培地に添加して試験液を調製した。

培養温度：22.5℃ (水温)

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、0.32、1.0、3.2、10、32
ErC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	0~72h： 8.6 (7.3~10.2)
NOECr (mg/L) *	0.32

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

異常な形態学的変化は観察されなかった。

(7) 魚類急性毒性試験 (製剤)

㊦を用いた急性毒性試験

(資料 No. 水産-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：7077<sup>®</sup>ル

(組成) メタゾ<sup>®</sup>スルホン 2.0%

ダイムン 20.0%

供試生物：㊦ (*Cyprinus carpio*)、一群各 10 尾、全長；平均 4.6cm、体重；平均 1.0g

方 法：

暴露期間；96 時間

暴露方法；半止水式 (24 時間毎換水)

希釈水；脱塩素水道水

試験液量；20L/試験区 (10L×2 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；77.8～105.2% (飽和濃度に対する割合)

pH；7.35～7.88

試験液の調製方法；所定量の被験物質を秤量し、一定量の希釈水に直接添加して試験液を調製した。

試験水温：21.8～22.1℃

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、63、125、250、500、1000	
LC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	24h	>1000 (算出不能)
	48h	>1000 (算出不能)
	72h	>1000 (算出不能)
	96h	>1000 (算出不能)

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

特記すべき症状は認められなかった。



(8) ジンコ類急性遊泳阻害試験 (製剤)

オミジンコ急性遊泳阻害試験

(資料 No. 水産-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：7077<sup>®</sup>ル

(組成) マゾスルホン 2.0%

ダイロン 20.0%

供試生物：オミジンコ (*Daphnia magna*)、一群各 20 頭 (生後 24 時間以内の幼体)

方 法：

暴露期間；48 時間

暴露方法；止水式

希釈水；Elendt M4

試験液量；400mL/試験区 (100mL×4 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；7.38~8.66mg/L

pH；7.77~8.51

試験液の調製方法；所定量の被験物質を秤量し、希釈水に直接添加して試験液を調製した。

試験水温：20.0~20.3℃

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、63、125、250、500、1000	
EC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	24h	>1000 (算出不能)
	48h	>1000 (算出不能)

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

特記すべき異常な症状は観察されなかった。

(9) 藻類生長阻害試験 (製剤)

(資料 No. 水産-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：70777

(組成) メタゾスルホン 2.0%  
          ダイムロン 20.0%

供試生物：緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, ATCC22662 株)  
          初期細胞濃度； $10^4$  cells/mL

方 法：

暴露期間；72 時間

暴露方法；振とう培養 (約 100 回/分)

培地；AAP 培地

試験液量；600mL/対照区 (100mL×6 試験容器)、300mL/試験区 (100mL×3 試験容器)

照明；蛍光灯による連続照明 (平均照度：5029~5317Lux)

pH；6.92~7.39

試験液の調製方法；必要量の被験物質を秤量し培地を用いて試験原液を調製した。これを順次希釈したものを試験容器に入れた培地に添加して試験液を調製した。

培養温度：23.0~24.0℃ (水温)

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、0.16、0.40、1.0、2.5、6.3、16
ErC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	0~72h： 4.1 (3.5~4.7)
NOEC <sub>r</sub> (mg/L) *	0.16

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

異常な形態学的変化は観察されなかった。

(10) 魚類急性毒性試験 (製剤)

㊦を用いた急性毒性試験

(資料 No. 水産-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：粒剤

(組成) マリツルフロン 1.0%  
          ダイムロン 10.0%

供試生物：㊦ (*Cyprinus carpio*)、一群各 10 尾、全長；平均 4.4cm、体重；平均 0.9g

方 法：

暴露期間；96 時間

暴露方法；半止水式 (24 時間毎換水)

希釈水；脱塩素水道水

試験液量；20L/試験区 (10L×2 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；69.2～100.1% (飽和濃度に対する割合)

pH；7.62～8.20

試験液の調製方法；所定量の被験物質を秤量し、一定量の希釈水に直接添加して試験液を調製した。

試験水温；21.7～22.1℃

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、63、125、250、500、1000	
LC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	24h	>1000 (算出不能)
	48h	>1000 (算出不能)
	72h	>1000 (算出不能)
	96h	>1000 (算出不能)

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

試験期間中、異常な症状は観察されなかった。

(11) ミジンコ類急性遊泳阻害試験 (製剤)

材ミジンコ急性遊泳阻害試験

(資料 No. 水産-12)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：粒剤

(組成) マゾスルホン 1.0%

ダイムロン 10.0%

供試生物：材ミジンコ (*Daphnia magna*)、一群各 20 頭 (生後 24 時間以内の幼体)

方 法：

暴露期間；48 時間

暴露方法；止水式

希釈水；Elendt M4

試験液量；400mL/試験区 (100mL×4 試験容器)

照明；16 時間明/8 時間暗

溶存酸素濃度；7.43~8.12mg/L

pH；7.99~8.50

試験液の調製方法；所定量の被験物質を秤量し、希釈水に直接添加して試験液を調製した。

試験水温：20.5℃

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、43、94、207、455、1000	
EC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	24h	>1000 (算出不能)
	48h	377 (284~518)

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

特記すべき異常な症状は観察されなかった。

(12) 藻類生長阻害試験 (製剤)

(資料 No. 水産-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：粒剤

(組成) マゾスルロン 1.0%  
          ダイロン 10.0%

供試生物：緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, ATCC22662 株)

初期細胞濃度； $10^4$  cells/mL

方 法：

暴露期間；72 時間

暴露方法；振とう培養 (約 100 回/分)

培地；AAP 培地

試験液量；600mL/対照区 (100mL×6 試験容器)、300mL/試験区 (100mL×3 試験容器)

照明；蛍光灯による連続照明 (平均照度：5157~5214Lux)

pH；7.15~8.32

試験液の調製方法；必要量の被験物質を秤量し培地を用いて試験原液を調製した。これを順次希釈したものを試験容器に入れた培地に添加して試験液を調製した。

培養温度：21.5~23.0℃ (水温)

結 果：

試験濃度 (mg/L) *	0、0.50、1.6、5.0、16、50
ErC <sub>50</sub> (mg/L) * (95%信頼限界)	0~72h： 17.6 (15.4~20.4)
NOECr (mg/L) *	1.6

\*：設定濃度 (製剤濃度) で示した。

異常な形態学的変化は観察されなかった。

## 2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

### 2-1. ミツバチ

No.	供試生物	1 試験区 当りの 供試虫数	供試薬剤	試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等	試験結果	試験機関* (報告年)
有用-1 GLP	セイヨウミツバチ 働き蜂	10頭 6連制	原体 ( ) (%)	経口毒性 100 μg/頭 接触毒性 100 μg/頭	LD <sub>50</sub> (48時間) : >100 μg/頭 LD <sub>50</sub> (48時間) : >100 μg/頭	(2008年)

### 2-2. 蚕

No.	供試生物	1 試験区 当りの 供試虫数	供試薬剤	試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等	試験結果	試験機関* (報告年)
有用-2	蚕 [朝日×東海] (4齢)	20頭 3連制	原体 ( ) (%)	桑葉浸漬処理 (20000ppm) 摂食期間：4齢期間中	死虫率 4日後：0% 虫重増加量がやや 減少し、5齢幼虫へ の脱皮時期及び上 蔭時期がやや遅く なったが実用上問 題なし。繭重、繭 層重に影響なし	(2008年)

\*日植防研：(社)日本植物防疫協会研究所

### 2-3. 天敵

No.	供試生物	1 試験区 当りの 供試虫数	供試薬剤	試験方法 投与方法、投与量、 試験条件等	試験結果	試験機関* (報告年)
有用-3	ウツキカサネ (2齢幼虫)	7頭 3連制	原体 ( ) (%)	5814倍希釈液を人工砂 を詰めた試験容器に6 μ l/cm <sup>2</sup> で散布 (10g a. i./10a相当)し、風乾 後、放虫した。	補正死虫率 48時間後：0%	(2008年)
有用-4	ナミントウ (3齢幼虫)	30頭 連制なし	原体 ( ) (%)	1938倍希釈液を試験容 器に2 μ l/cm <sup>2</sup> で散布 (10g a. i./10a相当) し、風乾後、放虫した。 (ドライフィルム法)	補正死虫率 48時間後：0%	(2008年)
有用-5	タイリクヒメハナカメシ (3齢幼虫)	10頭 3連制	原体 ( ) (%)	1938倍希釈液を試験容 器に2 μ l/cm <sup>2</sup> で散布 (10g a. i./10a相当) し、風乾後、放虫した。 (ドライフィルム法)	死虫率 48時間後：0%	(2008年)

2-4. 鳥類

No.	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1群当り の供試数	投与方法	投与量	LD <sub>50</sub> 又はLC <sub>50</sub> 値 及び無影響量	観察された 影響等	試験機関 (報告年)
有用-6 GLP	急性経口 毒性試験 原体( %)	コリンズラ (9ヶ月齢)	雌雄 各5羽	強制経口 投与	0 500 1000 2000 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> : >2000 NOEL: 2000 (mg/kg)	影響なし	(2009年)
有用-7 GLP	混餌投与 毒性試験 原体( %)	コリンズラ (10日齢)	10羽	5日間 混餌投与	0 156 313 625 1250 2500 5000 (ppm)	LC <sub>50</sub> : >5000 NOEC: 5000 (ppm)	影響なし	(2009年)

3. その他

No.	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1群当り の供試数	試験方法	投与量	LC <sub>50</sub> 値及び 無影響量	観察された 影響等	試験機関 (報告年)
有用-8 GLP	急性毒性 試験 (人工土壌) 原体( %)	ミミズ ( <i>Eisenia foetida</i> )	40匹 (10匹× 4連)	土壌混和 14日間 観察	0 95 171 309 556 1000 (ppm)	LC <sub>50</sub> : >1000 NOEC: 1000 (ppm)	影響なし	(2008年)

## VII 使用時安全上の注意、解毒法等

### 1. 使用時安全上の注意事項

[メタゾスルフロン2.5%粒剤(ツインスタージャンボ:ダイムロン25%・メタゾスルフロン2.5%)]

(1) 本剤は水溶性フィルムで小包装化されているため、通常の使用方法ではその該当がない。  
ただし、濡れた手で触らないこと。

(2) 水溶性フィルム包装が破袋した場合は以下の点に注意すること。  
本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。  
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。

[メタゾスルフロン2%水和剤(ツインスターフロアブル:ダイムロン20%・メタゾスルフロン2.0%)]

本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。

眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。使用後は洗眼すること。

[メタゾスルフロン1%粒剤(ツインスター1キロ粒剤:ダイムロン10%・メタゾスルフロン1.0%)]

本剤は眼に対して刺激性があるので、眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。

### 2. 解毒法及び治療法

農薬の一般的な救急治療法に準ずる。

### 3. 製造時、使用時等における事故例

なし。



VIII. 毒性

【毒性試験一覧表】

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	雌 3	経口	2000	雌 > 2000	HLS (2008年)	6
2 GLP		ラット	雌雄 5	経皮	2000	雌雄 > 2000	HLS (2008年)	7
3 GLP		ラット	雌雄 5	吸入	5.05 (mg/l)	雌雄 > 5.05 (mg/l)	Safepfarm (2008年)	8
4 GLP	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	雌 3	背部皮膚	0.5 g	刺激性なし	HLS (2008年)	10
5 GLP	眼刺激性 7日間観察	ウサギ	非洗眼 3 洗眼 3	眼瞼結膜 嚢内投与	0.1ml (約77 mg)	軽微刺激性あり	HLS (2008年)	11
6 GLP	皮膚感作性 Maximization法 24日間観察	モルモット	雌 20	感作皮内: 1% 感作経皮: 50% 惹起経皮: 20%		皮膚感作性なし	RTC (2008年)	13
7 GLP	急性神経毒性 14日間観察	ラット	雌雄 10	経口	0, 125, 500, 2000	雄125 雌500 神経系への永続的 作用なし	HLS (2009年)	15
-	急性遅発性 神経毒性	有効成分がリン酸エステル系ではなく、遅発性神経毒性を示唆する所見が認められないため試験省略。						-
8 GLP	反復経口投与 90日間	イヌ	雌雄 4	経口	0, 20, 100, 500/300	雌雄20	HLS (2009年)	19
9 GLP		イヌ	雌雄 4	経口	0, 30, 85, 250	雌雄30	HLS (2009年)	26
10 GLP		ラット	雌雄 10	飼料混入	0, 200, 2000, 10000, 20000 (ppm) 雄: 14.9, 150, 780, 1596 雌: 17.9, 165, 932, 1950	雄150 (2000ppm) 雌165 (2000ppm)	HLS (2008年)	34
11 GLP	反復経皮投与 21日間	ラット	雌雄 6	経皮	0, 100, 300, 1000	雌雄1000	ボゾ (2008年)	43
12 GLP	反復経口投与 神経毒性 90日間	ラット	雌雄 10	飼料混入	0, 2000, 4500, 10000 (ppm) 雄: 136, 308, 692 雌: 153, 365, 775	一般毒性 雄136 (2000ppm) 雌153 (2000ppm) 神経毒性 雄692 (10000ppm) 雌775 (10000ppm) 神経毒性なし	HLS (2009年)	46
-	反復投与遅発性 神経毒性	有効成分がリン酸エステル系ではなく、遅発性神経毒性を示唆する所見が認められないため試験省略。						-
13 GLP	1年間反復経口 52週間	イヌ	雌雄 4	経口	0, 10, 50, 125, 250	雄10 雌50	HLS (2009年)	50

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
14 GLP	1年間反復経口 /発がん性併合 104週間	ラット	反復経口 (慢性毒性)	飼料混入	0, 50, 150, 1500, 15000 (ppm)	雄2.75 (50ppm) 雌3.60 (50ppm)	HLS (2009年)	56
			雌雄 20		雄: 2.75, 8.13, 82.7, 874 雌: 3.60, 10.42, 105.7, 1066			
			発がん性		0, 50, 1500, 7500, 15000 (ppm)	MTDを超過した 15000ppm群で僅か に子宮腫瘍増加		
			雌雄 50		雄: 2.29, 68.9, 362, 755 雌: 3.10, 94.2, 488, 963			
15 GLP	発がん性 78週間	マウス	雌雄 51	飼料混入	0, 80, 800, 4000, 8000 (ppm)	雄9.89 (80ppm) 雌11.5 (80ppm)	HLS (2009年)	87
					雄: 9.89, 89.1, 475, 948 雌: 11.5, 103.5, 564, 1169	催腫瘍性なし		
16 GLP	2世代繁殖毒性	ラット	雌雄 28	飼料混入	0, 150, 500, 1500, 3000 (ppm)	親動物 雄1500ppm (F <sub>0</sub> :112, F <sub>1</sub> :141) 雌500ppm (F <sub>0</sub> :42, F <sub>1</sub> :49) 児動物 雄1500ppm (F <sub>0</sub> :112, F <sub>1</sub> :141) 雌1500ppm (F <sub>0</sub> :128, F <sub>1</sub> :145) 繁殖影響なし	HLS (2009年)	104
					F <sub>0</sub> 雄: 11, 37, 112, 223 F <sub>0</sub> 雌: 12, 42, 128, 247 F <sub>1</sub> 雄: 14, 47, 141, 287 F <sub>1</sub> 雌: 15, 49, 145, 300			
17 GLP	催奇形性 14日間	ラット	雌 22	経口	0, 100, 300, 1000	親 300 胎児 300 催奇形性なし	HLS (2009年)	114
18 GLP	催奇形性 23日間	ウサギ	雌 24	経口	0, 20, 40, 80, 160	親 80 胎児 160 催奇形性なし	HLS (2008年)	119
19 GLP	変異原性 (Ames)	サルモネラ菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537株 大腸菌: WP2uvrA株		<i>in vitro</i>	《1回目》(μg/plate) 0, 5-5000 《2回目》 0, 50-5000	陰性	HLS (2007年)	124
20 GLP	変異原性 (染色体異常)	ヒト末梢血リンパ球		<i>in vitro</i>	《短時間処理》(μg/ml) S-9(±); 0, 560-4760 《連続処理法》 S-9(-); 0, 560-4760	陰性	安評センター (2009年)	127
21 GLP	変異原性 (小核)	マウス	雄 6	経口	0, 500, 1000, 2000 (2回投与)	陰性	HLS (2007年)	129
22	変異原性 (コメット:子宮, 肝)	ラット	雌 5	経口	0, 500, 1000, 2000 (2回投与)	陰性	日産化学 (2009年)	131
23 GLP	《一般薬理試験》							
	一般症状	ラット	雄 5	経口	0, 200, 600, 2000	600	安評センター (2008年)	133
呼吸数、血圧、 心拍数、心電図	イヌ	雄 3	経口	0, 125, 500, 2000	2000			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
24								
25								
26								
27								
28								
29								

2. 原体中混在物及び代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	雌 3	経口	300, 2000	雌 > 2000	HLS (2009年)	150
2 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	雌 3	経口	2000	雌 > 2000	HLS (2009年)	151
3 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	雌雄 5	経口	625, 1250, 2500, 5000	雄 2806.2 雌 701.5	HLA (1988年)	152
4 GLP	変異原性 (Ames)	サルネラ菌： TA98、TA100、 TA1535、TA1537株 大腸菌： WP2uvrA株		<i>in vitro</i>	《1回目》(μg/plate) 0, 5-5000 《2回目》 0, 50-5000	陰性	HLS (2009年)	153
5 GLP	変異原性 (Ames)	サルネラ菌： TA98、TA100、 TA1535、TA1537株 大腸菌： WP2uvrA株		<i>in vitro</i>	《1回目》(μg/plate) 0, 5-5000 《2回目》 0, 50-5000	陰性	HLS (2009年)	156
6 GLP	変異原性 (Ames)	サルネラ菌： TA98、TA100、 TA1535、TA1537株 大腸菌： WP2uvrA株		<i>in vitro</i>	0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 (μg/plate)	陰性	化検協 (1989年)	159
7 GLP	変異原性 (小核)	マウス	雄 6	経口	0, 500, 1000, 2000 (2回投与)	陰性	HLS (2009年)	162
8 GLP	変異原性 (小核)	マウス	雄 6	経口	0, 500, 1000, 2000 (2回投与)	陰性	HLS (2009年)	164

### 3. 製剤を用いた試験成績

#### 3-1. 2.5%粒剤

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	雌 3	経口	2000	雌 > 2000	ホヅ (2009年)	166
2 GLP		ラット	雌雄 5	経皮	2000	雌雄 > 2000	ホヅ (2009年)	167
3 GLP	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	雌 3	背部皮膚	0.5 g	刺激性なし	ホヅ (2009年)	168
4 GLP	眼刺激性 14日間観察	ウサギ	非洗眼 3 洗眼 3	眼瞼結膜 囊内投与	0.1 g	中等度刺激性あり	ホヅ (2009年)	169
5 GLP	皮膚感作性 Buehler法 30日間観察	モルモット	雌 20	感作：50% 惹起：50%		皮膚感作性なし	ホヅ (2009年)	171

#### 3-2. 2.0%フロアブル剤

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	雌 3	経口	2000	雌 > 2000	ホヅ (2009年)	173
2 GLP		ラット	雌雄 5	経皮	2000	雌雄 > 2000	ホヅ (2009年)	174
3 GLP	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	雌 3	背部皮膚	0.5 ml	刺激性なし	ホヅ (2009年)	175
4 GLP	眼刺激性 72時間観察	ウサギ	非洗眼 3 洗眼 3	眼瞼結膜 囊内投与	0.1 ml	軽度刺激性あり	ホヅ (2009年)	176
5 GLP	皮膚感作性 Buehler法 30日間観察	モルモット	雌 20	感作：100% 惹起：100%		皮膚感作性なし	ホヅ (2009年)	178

#### 3-3. 1.0%粒剤

資料 No.	試験の種類 期間	供試動物	1群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1 GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	雌 3	経口	2000	雌 > 2000	ホヅ (2009年)	180
2 GLP		ラット	雌雄 5	経皮	2000	雌雄 > 2000	ホヅ (2009年)	181
3 GLP	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	雌 3	背部皮膚	0.5 g	刺激性なし	ホヅ (2009年)	182
4 GLP	眼刺激性 4日間観察	ウサギ	非洗眼 3 洗眼 3	眼瞼結膜 囊内投与	0.1 g	軽度刺激性あり	ホヅ (2009年)	183
5 GLP	皮膚感作性 Buehler法 30日間観察	モルモット	雌 20	感作：50% 惹起：25%		皮膚感作性なし	ホヅ (2009年)	185

注1) 試験機関名として以下の略称を用いた。

HLS : Huntingdon Life Sciences Ltd.

RTC : Research Toxicology Centre S. p. A.

Safepfarm : Safepfarm Laboratories Ltd.

HLA : Hazleton Laboratories America, Inc.

安評センター : 財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

日産化学 : 日産化学工業株式会社

ホヅ : 株式会社 ホヅリサーチセンター

化検協 : 財団法人 化学品検査協会

## 1. 原体

### (1) 急性毒性

#### ① ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 1-1)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)

報告書作成年 : 2008年

検体純度 :

供試動物 : SD (CrI:CD) ラット、8-12週齢、体重211-236g、1群雌3匹

観察期間 : 14日間観察 (投与日を1日として起算)

試験方法 : 毒性等級法

投与方法 : 検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁して200mg/mlとし、単回強制経口投与した。投与容量は10ml/kgとした。動物は投与前夜より投与約4時間後まで絶食させた。最初に雌3匹に2000mg/kgを投与したところ、死亡は認められなかったため、さらに雌3匹に2000mg/kgを同様に投与した。

観察・検査項目 : 生死の確認を少なくとも1日2回、一般状態観察を投与後最初の1時間までは少なくとも2回、その後は約1時間間隔、翌日以降は1日2回、14日間実施した。体重は投与開始前、投与後8及び15日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結果 :

投与経路	経口
性別	雌
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	> 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	投与直後から発現 投与後6時間に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

一般状態 ; 1匹で投与後約10分から流涎、呼吸数増加及び円背位が認められたが、投与後6時間には消失した。さらに別の1匹で投与直後から流涎が認められたが、投与後約30分には消失した。

体重 ; 体重推移に異常は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 異常は認められなかった。

② ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 1-2)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)  
報告書作成年 : 2008年

検体純度 :  
供試動物 : SD (CrI:CD)ラット、8-12週齢、体重；雄348-366g 雌247-255g、1群雌雄各5匹  
観察期間 : 14日間観察(投与日を1日として起算)  
投与方法 : 検体を1%メチルセロース水溶液に懸濁して666.67mg/ml溶液とし、前日刈毛した背部皮膚に直接塗布した。投与容量は3.0ml/kgとした。塗布部位(約5×5cm)はガーゼ及び耐水性被覆物で覆った。塗布24時間後、被覆物を取り除き、残余検体を温水で洗浄し、吸水紙で拭い乾燥させた。

観察・検査項目：生死の確認を少なくとも1日2回、一般状態観察を投与後最初の1時間までは少なくとも2回、その後は約1時間間隔、翌日以降は1日2回、14日間実施した。投与部位の刺激性変化を毎日、14日間観察した。体重を投与開始前、投与後8及び15日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結果 :

投与経路	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	> 2000	> 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	症状発現例なし	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

死亡；死亡は認められなかった。

一般状態；異常は認められなかった。

刺激性変化；投与後2日に雄2匹及び雌3匹で非常に軽度の紅斑が認められたが、投与後3日には消失した。

体重；投与後8日に雌1匹で軽度の体重減少、雄2匹及び雌1匹で体重増加量の減少が認められたが、投与後15日には十分な増加を示した。投与後15日に雌1匹で体重増加量の減少が認められた。他の全動物は十分な増加を示した。

肉眼的病理検査；異常は認められなかった。

③ ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料No. 1-3)

試験機関 : Safeparm Laboratories Limited (GLP対応)  
 報告書作成年 : 2008年

検体純度 :  
 供試動物 : SD (Cr1:CD IGS BR) ラット、8-12週齢、体重 ; 雄291-317g 雌221-252g、  
 1群雌雄各5匹  
 観察期間 : 14日間観察 (暴露日を0日として起算)  
 暴露方法 : 微粉碎した検体を用いて粉じん発生装置によりダストを発生させ、4時間鼻部暴露した。  
 暴露空気をガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実際濃度を算出した。

暴露条件 :

設定濃度 (mg/l)	5.0	
実際濃度 (mg/l)	5.05	
粒子径分布* (%)	< 9.8 μm	94.1
	< 6.9	81.1
	< 3.9	48.1
	< 1.4	29.2
	< 0.88	8.11
	< 0.28	2.16
空気力学的質量中位径 (μm)	2.74	
呼吸可能な粒子 (<4μm) の割合 (%)	65.0	
チャンバ <sup>o</sup> -容積 (l)	30	
チャンバ <sup>o</sup> -内通気量 (l/分)	40	
暴露条件	ダスト、4時間、鼻部暴露	

\*カセットインパクターを用いて3回測定した平均値

観察・検査項目 : 一般状態及び生死を暴露中、暴露終了直後及び暴露後1時間、翌日以降は1日1回14日間観察した。体重を暴露直前、7日及び14日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。



結果

:

投与経路	吸入	
	雄	雌
性別		
暴露濃度 (mg/l)	5.05	5.05
LC <sub>50</sub> (mg/l)	> 5.05	> 5.05
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	暴露中/4日	暴露中/4日
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/l)	5.05	5.05

死亡；死亡は認められなかった。

一般状態；呼吸数増加、円背位、立毛及び被毛湿潤が認められたが、これらは拘束処置を伴う吸入毒性試験で一般的に認められる反応であった。全ての症状は暴露後4日には消失した。

体重；体重推移に異常は認められなかった。

肉眼的病理検査；肺の退色及び暗色斑が認められたが、その他の異常は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

① ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 1-4)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)

報告書作成年 : 2008年

検体純度 :

供試動物 : ニュージーランド白色ウサギ、36-41週齢、体重3.87-4.71kg、1群雌3匹

観察期間 : 72時間観察

投与方法 : 刈毛した各動物の背部皮膚を逆浸透水0.5mlで湿らせ、検体0.5gを塗布し、2.5×2.5cmのガーゼ及び半閉塞性被覆物で覆った。暴露時間は4時間とし、残余検体は微温湯で洗い流した。

重度の刺激性あるいは腐食性がないことを確認するため、まず1匹の動物を用い、3ヶ所に同時に検体を適用し、それぞれ3分後、1時間後、4時間後に順番にガーゼを取り除き皮膚反応を観察した。その結果、4時間後においても刺激性変化が認められなかったため、残り2匹に検体を4時間暴露し、皮膚反応を観察した。

観察項目 : 暴露終了後1、24、48及び72時間に適用部位の刺激性変化(紅斑・痂皮、浮腫)の有無を観察し、Draize法に従って採点した。判定はECETOCの基準、EU指令及びEPAガイドラインに従った。

結果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

動物番号	項目	最高評点	暴露後時間				平均刺激性評点
			1h	24h	48h	72h	
50F	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
79F	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
80F	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
平均刺激性評点の合計						0	
皮膚一次刺激性指数 (P. I. I.)						0.0	

何れの動物においても刺激性変化は認められなかった。皮膚一次刺激性指数は0であり、刺激性なしと分類された。

以上の結果から、本剤はウサギ皮膚に対して刺激性はないものと判断された。

② ウキギ<sup>®</sup>を用いた眼刺激性試験

(資料No. 1-5)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)  
報告書作成年 : 2008年

- 検体純度 :  
供試動物 : ニュージーランド<sup>®</sup>白色ウキギ<sup>®</sup>、32-39週齢、体重3.97-4.40kg、非洗眼/洗眼群各雌3匹  
観察期間 : 7日間観察  
投与方法 : 検体0.1ml (約77mg) を直接右眼の下眼瞼結膜嚢内に適用し、1秒間眼瞼を閉じあわせた。  
左眼は無処理対照眼とした。  
非洗眼試験に先立ち、刺激性を確認するための予備試験として、まず1匹の動物を用いて適用30秒後に生理食塩水で洗眼したところ、重度の刺激性は認められなかった。続いて実施した非洗眼試験では刺激性変化が認められたため、さらに2匹の動物を用いて洗眼試験を実施した。予備試験に用いた動物も洗眼群の一部とした。
- 観察項目 : 適用後1、24、48、72時間及び7日に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。判定はKay & Calandra法、EU指令及びEPAガイドラインに従い行った。  
また一般状態は、適用後1時間は少なくとも2回、その後は一定の間隔で観察した。
- 結果 : 観察した刺激性変化の採点を次ページの表に示す。  
角膜及び虹彩の刺激性変化は、非洗眼群、洗眼群ともに認められなかった。  
結膜の刺激性変化として、非洗眼群では評点1-2の発赤、浮腫、分泌物が認められたが、適用後7日には消失した。洗眼群では評点1の発赤が認められたが、適用後7日には消失した。  
一般状態の変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤はウキギ<sup>®</sup>の眼粘膜に対して軽微な刺激性があるものと判断された。

群	項目		最高 評点	適用後時間					
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日	
非洗眼群	21F	角膜	混濁	4	0	0	0	0	-
			面積	4	0	0	0	0	-
		虹彩		2	0	0	0	0	-
		結膜	発赤	3	1	1	0	0	-
			浮腫	4	0	0	0	0	-
			分泌物*	3	0	0	0	0	-
	22F	角膜	混濁	4	0	0	0	0	-
			面積	4	0	0	0	0	-
		虹彩		2	0	0	0	0	-
		結膜	発赤	3	1	1	0	0	-
			浮腫	4	0	0	0	0	-
			分泌物*	3	0	0	0	0	-
	99F	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
			浮腫	4	1	1	0	0	0
			分泌物*	3	2	0	0	0	0
合計 <sup>†</sup>			330	14	10	2	2	0	
平均 <sup>‡</sup>			110	4.7	3.3	0.7	0.7	0	
洗眼群 <sup>§</sup> (3匹平均)	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	0.7	0.3	0.3	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	
		分泌物*	3	0	0	0	0	0	
	合計 <sup>§</sup>			110	2.0	1.3	0.7	0.7	0

\*: 農水省ガイドラインには記載なし。試験機関では、合計評点算出時の最高評点は原法通り3であるが、より重度の影響のための評点4を記録用に設けている。

#: 適用後時間毎の数値は、申請者が個体別採点表より算出した。

§: Draize法による評価点(1匹最高110点: 角膜混濁×面積×5+虹彩評点×5+結膜合計評点×2)

-: 観察せず

(3) 皮膚感作性

① エルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 1-6)

試験機関 : Research Toxicology Centre S. p. A. (GLP対応)

報告書作成年 : 2008年

検体純度 :

供試動物 : ハトレ-エルモット、約10-11週齢、体重509-634g、

検体投与群 ; 雌20匹、陰性対照群 ; 雌10匹

観察期間 : 感作開始から惹起終了後48時間観察まで (24日間)

試験操作 : (Maximization法)

処理方法を次表に示す。

群	匹数	処理		
		感作		惹起
		皮内投与	経皮投与	経皮投与
検体投与群	20	①FCA*と滅菌水の等量混合液 ②検体1%ジョン油溶液 ③FCA*と滅菌水の等量混合液中での検体1%溶液	検体50%ジョン油溶液	(1) 検体20%ジョン油溶液 (2) ジョン油
陰性対照群	10	①FCA*と滅菌水の等量混合液 ②ジョン油 ③FCA*と滅菌水の等量混合液中でのジョン油50%溶液	ジョン油	(1) 検体20%ジョン油溶液 (2) ジョン油

\* FCA : フォイント完全7ジユバント

感作皮内投与 : 肩部を約2×4cmの広さに刈毛し、感作皮内投与液①、②及び③をそれぞれ0.1mlずつ、左右対称に皮内注射した。

感作経皮投与 : 感作皮内投与後の試験7日に、10%ウリル硫酸ナトリウム含有ワセリン0.5mlを皮内投与部位の周囲に均一に塗布した。次いで8日に、同部位を温水で清拭した後、感作経皮投与液0.4mlを均一に塗布したパッチを48時間閉塞貼付した。

惹起経皮投与 : 試験22日に、左右腹側部を刈毛し、惹起経皮投与液(1)及び(2)0.2mlを均一に塗布したパッチ(2×2cm)を24時間閉塞貼付した。

投与量設定根拠 :

観察項目 : 惹起経皮貼付除去後24及び48時間に適用部位の紅斑及び浮腫の有無などを肉眼的に観察し、採点した。体重は試験開始日、惹起終了日に測定した。

採点及び評価方法；各観察時に下記の基準に従い採点した。検体投与群の30%以上の動物に紅斑あるいは浮腫が認められた場合を陽性と判定した。

皮膚反応の評価表 (Magnusson & Kligmanの基準：1969、1970年)

皮膚反応の程度	評価
肉眼的変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑	1
中等度びまん性の紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

結果：各観察時における結果を下表に示す。

群	処理			匹数	感作反応動物数								陽性動物数	感作率 (%)
	感作		惹起		皮膚反応評点									
	皮内投与	経皮投与	経皮投与		24時間後				48時間後					
					0	1	2	3	0	1	2	3		
検体投与群	①FCA*と滅菌水の等量混合液 ②検体1%ジョン油溶液 ③FCA*と滅菌水の等量混合液中での検体1%溶液	検体50% ジョン油溶液	(1) 検体20% ジョン油溶液	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
			(2) ジョン油	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	
陰性対照群	①FCA*と滅菌水の等量混合液 ②ジョン油 ③FCA*と滅菌水の等量混合液中でのジョン油50%溶液	ジョン油	(1) 検体20% ジョン油溶液	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
			(2) ジョン油	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	

\* FCA：ポイント完全アジュバント

検体投与群及び陰性対照群では、何れの濃度においても皮膚反応は認められず、感作率は0%であった。

なお、直近に実施した陽性対照物質  $\alpha$ -Hexylcinnamaldehyde を用いた感受性確認試験 (2007年9月17日実施) では、感作率が50%であり、試験系の感受性に問題はなかった。体重に検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

① ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料No. 1-7)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)  
報告書作成年 : 2009年

検体純度 :  
供試動物 : SD (CrI:CD)ラット、46-48日齢、体重；雄195-259g 雌135-194g、1群雌雄各10匹  
観察期間 : 14日間観察  
投与方法 : 検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、125、500及び2000mg/kgの用量で単回強制経口投与した。投与容量は10ml/kgとした。観察等の作業量を平準化するため、投与は20匹/日 (10匹/性) とし、4日間にわたって行った。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；投与当日は、投与前、投与後ケージに戻した時、神経行動学的検査時、就業時間終了時に観察した。その後は少なくとも1日2回目視により観察した。また、より詳細な状態観察 (触診) を週1回実施した。

試験終了時の死亡率を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	125	500	2000	0	125	500	2000
投与量 (mg/kg)	0	125	500	2000	0	125	500	2000
死亡率 (%)	0	0	0	0	0	0	0	10

投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。試験8日に2000mg/kg群の雌1匹が死亡したが、投与関連性は認められなかった。

体重変化；投与開始1週間前、投与当日、観察期間中は週1回 (試験8及び15日) 及び解剖前に全動物を対象に体重を測定した。

体重増加量の変化を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雄			雌		
	125	500	2000	125	500	2000
1-8日	103	97	88 ↓	100	106	106
8-15日	104	102	102	100	84	84
1-15日	104	100	93	100	98	102

Williams検定 ↓ ↑:  $p < 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

2000mg/kg群雄で試験1-8日に体重増加量の僅かな減少が認められたが、試験8-15日には対照群と同等であった。500及び2000mg/kg群雌では試験8-15日に体重増加量が僅かに減少したが、軽微であり、同様の変化が雄で認められなかったため投与関連性はないと考えられた。その他の群では投与に関連した変化は認められなかった。

摂餌量 ; 給餌量、残量及び推定散逸量を毎週測定し、平均週間摂餌量を算出した。

投与に関連した影響は認められなかった。

神経行動学的検査(機能観察バッテリー検査(FOB): Functional Observation Battery);

投与開始前、試験1(投与後約2時間[最大作用発現時間])、8及び15日に全動物を対象に以下の項目を検査した。

a) ホムージ観察

姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、眼瞼閉鎖、自然発声

b) ハンドリング観察

ホムージからの取り出し、流涎、流涙、眼球突出、立毛、被毛の状態、ハンドリング時の発声、ハンドリングに対する反応

c) アリゲ観察

警戒性、歩行、身繕い、活動性、立ち上がり回数、眼瞼閉鎖、姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、排糞、排尿

d) 用手法検査

接近反応、触覚反応、聴覚性驚愕反射、Tail pinch反応、握力、正向反射、体温、着地開脚幅、体重、瞳孔縮小反応

e) 自発運動量

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

ホムージ及びハンドリング観察では、投与による影響は認められなかった。

アリゲ観察では、500mg/kg群雄または2000mg/kg群雌雄で試験1日に円背位、挙上歩行、立毛及び警戒性の低下が認められ、投与に起因した変化と考えられた。

用手法検査では、雄の全投与群で試験8日に着地開脚幅が有意に増加したが、これらは対照群における平均値が試験1日より低下したためと考えられ、投与関連性はないと考えられた。

自発運動量では、125及び500mg/kg群雄並びに2000mg/kg群雌雄で試験1日に測定時間の最初30分間及び総量において高ドーム遮断回数の低下が認められ、この変化は雄でより顕著であった。また、2000mg/kg群でのみ、試験1日に測定時間の最初30分間及び総量において低ドーム遮断回数の低下が認められた。125mg/kg群雄における変化は測定期間中1回と限られ、またその値は背景対照範囲内(4.0-22.5)であったが、総量は背景対照範囲(205-228)より低く、用量相関性が認められたことから、投与による影響も示唆された。何れの変化も試験8及び15日には明らかでなかった。

その他、対照群と比較していくつかの項目で群間に統計学的有意差が認められたが、これらは散発的で用量相関性がない変化であることから、偶発的な変化と考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (mg/kg)	検査 時期	雄				雌				
		0	125	500	2000	0	125	500	2000	
ア-ナ観察 <sup>1)</sup>										
円背位	1日			3/10	3/10					2/10
拳上歩行				2/10	5/10	1/10	2/10	1/10		4/10
立毛					1/10					2/10
警戒性 (グレート2:低下)				1/10	2/10					
用手法検査 <sup>2)</sup>										
着地開脚幅 (mm)	投与前	77	89	77	86					
	1日	98	105	91	93					
	8日	83	110↑	90↑	97↑					
自発運動量 <sup>2)</sup>										
0-6分	高ビ-ム	1日	96.7	94.7	79.9	44.6▽				
	低ビ-ム	1日	265.5	271.0	234.3	154.1▽	231.7	243.4	218.6	173.7↓
6-12分	高ビ-ム	1日	58.2	36.2	29.0	8.1▽				
		1日	142.8	145.3	105.9	72.3▽	133.8	148.1	83.7↓	56.4▽
	低ビ-ム	15日					148.7	189.7	188.7↑	174.0↑
12-18分	高ビ-ム	1日	32.0	17.0	12.9↓	9.7▽	24.7	36.2	32.2	3.3↓
	低ビ-ム	1日	105.4	93.0	71.5	36.6▽	102.4	87.5	85.5	38.0↓
18-24分	高ビ-ム	1日	31.9	8.1↓	9.1↓	2.1▽				
	低ビ-ム	1日	70.6	58.9	51.5	22.9↓				
24-30分	高ビ-ム	8日					21.6	46.5	20.6	49.5↑
	低ビ-ム	15日					56.2	130.8↑	149.4↑	82.8↑
42-48分	高ビ-ム	15日					40.0	11.5	23.1	6.3↓
	低ビ-ム	1日	10.0	1.6	15.4↑	7.9↓				
48-54分	低ビ-ム	投与前	1.3	33.4↑	37.1	11.5				
		1日	3.2	8.7	3.0	24.1↑	4.8	31.1	34.6↑	29.6↑
		15日					121.4	42.0	68.7	32.7↓
54-60分	低ビ-ム	1日	0.7	21.4	19.6	17.6↑				
0-30分	高ビ-ム	1日	233	162	138	66	181	237	185	100
	低ビ-ム	1日	639	611	481	299	550	590	508	335
総量	高ビ-ム	1日	234.8	173.7	158.6↓	79.9▽	200.8	271.8	218.0	117.2
	低ビ-ム	1日	678.1	689.3	572.4	386.4▽	632.9	738.0	653.1	460.6

Williams、Shirley、Kruskal-Wallis検定(0-30分を除く) ↓↑: p<0.05、▽◇: p<0.01

1) 表中の数値は発現動物数/検査動物数を表す。 2) 表中の数値は実測値を表す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査；試験15日に全動物を対象に、グルタルアルデヒド：パラホルムアルデヒド固定液を用いて灌流固定し、以下項目について検査した。

全ての外表及び開口部、脳、下垂体、脳神経、頸部臓器及び組織、胸腔、腹腔、骨盤腔並びに内部臓器

投与による影響は認められなかった。

脳重量；試験15日に全動物を対象に、グルタルアルデヒド：パラホルムアルデヒド固定液を用いて灌流固定し、摘出した脳の重量を測定した。

投与による影響は認められなかった。

解剖学的計測；脳を脊髄から切断して嗅球を切除した後、大脳半球の吻側部から小脳の最尾側部までの長さ及び最大幅を計測した。

投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び2000mg/kg群の雌雄各5匹を対象に、以下の組織の病理組織標本を作製し鏡検した。なお、坐骨神経及び脛骨神経についてはリン包埋しトルジウムで染色した。その他組織についてはパラフィン包埋しヘマトキシリン染色を施した。

脳(横断面)：前脳、中脳、小脳、橋及び延髄

脊髄(横断及び縦断面)：頸部(C3～C6)及び腰部膨大部(L1～L4)

脊髄神経節：頸部(C3～C6)及び腰部(L1～L4)

脊髄神経背根(縦断面)：頸部(C3～C6)及び腰部(L1～L4)

脊髄神経腹根(縦断面)：頸部(C3～C6)及び腰部(L1～L4)

眼球(網膜：縦断面)

視神経(縦断面)

骨格筋(腓腹筋：横断面)

坐骨神経(坐骨切痕及び大腿中央部：横断及び縦断面)

脛骨神経(膝部及び腓骨筋分枝：横断及び縦断面)

投与による影響は認められなかった。

以上、本剤のラットを用いた経口投与による急性神経毒性試験において、125及び500mg/kg群雄並びに2000mg/kg群雌雄で円背位、挙上歩行、立毛及び警戒性の低下、自発運動量の低下等の神経行動学的症状が認められた。125mg/kg群雄は自発運動量の低下のみを示し、他に有害影響は認められなかった。2000mg/kg群雄では体重増加量の僅かな減少も認められた。しかし、脳重量及び大きさの変化、神経組織における病理組織学的変化は認められなかったため、本剤の神経系に対する影響は一過性と考えられた。

従って、神経毒性に対する無毒性量は雄125mg/kg、雌500mg/kgであると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(5) 90日間反復経口投与毒性

① 仮を用いたカ<sup>o</sup>セル投与による13週間反復経口投与毒性試験

(資料No. 1-8)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)

報告書作成年 : 2009年

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬、約5ヶ月齢、体重；雄7.2-9.9kg 雌5.7-9.6kg、1群雌雄各4匹

投与期間 : 13週間 (2007年5月29日-2007年8月29日)

投与方法 : 検体を0、20、100及び500mg/kg/日の用量となるようゼラチンカ<sup>o</sup>セルに充填し、1日1回、13週間にわたって強制経口投与した。高用量群では状態悪化により切迫殺の必要が生じたため、投与11日からは用量を300mg/kg/日に下げて投与し、一部動物(雄3匹及び雌2匹)には休薬期間を設けた。検体量は最新の体重をもとに算出した。対照群には空のゼラチンカ<sup>o</sup>セルのみを同様に投与した。検体を充填したカ<sup>o</sup>セルは毎週調製した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；少なくとも1日2回観察した。また、目視による詳細な観察をはじめの1週は毎日、投与2-4週は週2回、それ以降は週1回実施し、さらにより詳細な状態観察(触診)を週1回実施した。

試験期間中、500/300mg/kg/日群の雄全匹及び雌1匹では痙攣、不活発、食欲不振、異常歩行、散瞳、黄疸等の症状が認められ、状態が悪化したため投与5-45日に切迫殺した。同群のその他動物では雌1匹のみで不活発等が認められたが、用量を300mg/kg/日に下げた後は、投与に関連した症状は認められなかった。

20及び100mg/kg/日群では投与に関連した影響は認められなかった。

体重変化；投与開始前、投与開始日(0週)、投与期間中は週1回及び解剖前に全生存動物を対象に測定した。

体重増加量の変化を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
	20	100	500/300	20	100	500/300
0-13週	100	91	—	94	88	56

Williams検定

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

対照群及び500/300mg/kg/日群の個体別体重を次表に示す。

性別	投与量 (mg/kg/日)	個体番号	体重 (kg)		
			投与開始時	1週	屠殺時
雄	0	1031	8.2	8.7	11.6
		1033	9.2	9.6	12.7
		1035	9.4	9.8	12.6
		1037	9.2	9.6	13.2
	500/300	1055*	7.5	7.4	7.8 (45日)
		1057*	8.7	8.7	8.6 (37日)
		1059*	9.8	10.5	10.7 (28日)
		1061*	9.4	—	9.4 (5日)
雌	0	1032	5.7	6.2	9.5
		1034	8.0	8.2	10.5
		1036	8.0	8.5	11.7
		1038	9.3	9.4	11.9
	500/300	1040*	5.9	6.1	6.4 (28日)
		1042	7.0	7.0	9.5
		1060	8.5	8.2	10.6
		1062	9.1	9.1	9.9

\*:切迫殺動物

表中の数値は実測値を示す。 ( )内の数値は切迫殺時期を示す。

500/300mg/kg/日群の切迫殺動物の体重は、雌雄各1匹を除いて投与1週から減少あるいは停滞したが、その後屠殺に至るまで緩やかに増加した。同群の生存雌動物では対照群に比べ体重増加量が減少したが、統計学的有意差は認められず、1匹に起因した変化であった。

20及び100mg/kg/日群では投与に関連した影響は認められなかった。

摂餌量 ; 毎日の給餌量、残量及び推定散逸量の測定結果から、投与開始2週間前から投与期間中の週間摂餌量を個体別に算出した。

摂餌量の変化を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
	20	100	500/300	20	100	500/300
1週	100	98	83	96	98	82
2週	101	99	43	92	96	70
3週	99	99	66	97	100	90
4週	100	100	93	95	98	102
1-13週	100	100	—	96	98	97

Williams検定

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

500/300mg/kg/日群では投与初期に摂餌量の減少が認められたが、用量を300mg/kg/日に下げた後は対照群との差は認められなかった。

20及び100mg/kg/日群では投与に関連した影響は認められなかった。

眼科学的検査 ; 投与開始前及び投与13週に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査(末梢血) ; 投与開始前、投与4(500/300mg/kg/日群のみ)、6及び13週に全動物を対象として、頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

赤血球数、ヘムoglobin、ヘマトクリット、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数、血液像 (白血球百分率及び細胞形態)、血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄			雌		
		20	100	500/300	20	100	500/300
赤血球数	13週	107↑	(98)	—			
MCH	13週			—	105↑	106↑	105↑
MCV	13週			—		104↑	(100)
MCHC	13週			—	103↑	102↑	105↑
大型非染色球	6週	57↓	57↓	—			
	13週			—			170↑
APTT	13週			—			88↓

Williams, Dunnett検定 ↓↑: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

( )内の数値は比較のために算出。

500/300mg/kg/日群の個体別の血液学的検査結果を次表に示す。

性別	個体番号	検査時期	ヘマトクリット L/L	ヘムoglobin g/dL	赤血球数 x10 <sup>12</sup> /L	網状赤血球 %	MCV fL	白血球数 x10 <sup>9</sup> /L	好中球数 x10 <sup>9</sup> /L	血小板数 x10 <sup>9</sup> /L	APTT sec
雄	1055*	投与前	0.380	13.0	5.79	0.6	65.7	12.88	8.32	371	27.1
		4週	0.287	9.5	4.35	1.7	66.1	15.13	9.77	389	25.5
		6週	0.214	7.0	2.89	8.4	74.1	22.68	18.29	421	17.2
	1057*	投与前	0.384	13.3	5.54	1.4	69.3	16.43	10.10	394	31.4
		4週	0.346	11.1	4.81	4.7	71.8	21.03	13.67	523	29.8
	1059*	投与前	0.412	14.3	6.24	1.6	66.0	9.69	5.38	213	22.3
4週		0.321	10.9	4.80	1.7	66.9	8.73	3.08	28	19.0	
1061*	投与前	0.396	13.8	6.03	1.2	65.6	14.13	8.43	341	31.5	
雌	1040*	投与前	0.415	14.1	6.61	1.5	62.8	17.29	9.62	497	27.8
		4週	0.196	6.3	2.92	6.0	67.2	19.98	13.25	40	19.2
	1042	投与前	0.390	13.4	5.68	1.7	68.7	17.42	10.22	571	24.4
		4週	0.263	8.4	3.60	7.6	73.1	32.88	25.02	14	28.1
		6週	0.364	12.0	5.02	1.5	72.4	14.55	9.73	485	26.2
		13週	0.379	13.8	5.65	1.0	67.1	17.20	12.03	520	23.7
	1060	投与前	0.408	14.2	6.22	1.3	65.6	12.61	7.79	315	29.1
		4週	0.386	13.1	5.72	1.4	67.6	12.34	8.16	442	29.2
		6週	0.378	13.0	5.56	1.5	68.0	10.85	6.71	409	22.7
		13週	0.437	16.4	6.61	1.2	66.2	14.37	9.33	429	25.7
	1062	投与前	0.428	14.8	6.32	1.8	67.8	14.77	8.95	483	24.8
		4週	0.349	11.8	5.16	0.8	67.6	17.31	10.15	575	26.0
6週		0.381	12.8	5.38	3.5	70.8	10.00	5.22	386	20.6	
13週		0.391	14.0	5.77	1.3	67.8	12.61	8.43	439	22.0	

\*: 切迫殺動物

表中の数値は実測値を示す。

500/300mg/kg/日群では、投与4及び6週にヘマトクリット、ヘムoglobin及び赤血球数の減少、網

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

状赤血球数及びMCVの増加が認められた。特に顕著な反応を示した雌2匹では赤血球大小不同症及び大赤血球症も認められた。これらの赤血球系に対する変化は用量を下げた後に回復がみられ、投与13週には消失した。

また、投与4あるいは6週に好中球増加による白血球数の増加、血小板数の減少、APTTの短縮が認められたが、その後の検査において明らかな変化は認められなかった。その他の統計学的有意差の認められた変化並びに対照群及び投与前値からの差異は、検査間に一貫性がなく、また軽微であったことから、毒性学的意義はないと考えられた。20及び100mg/kg/日群では投与に関連した影響は認められなかった。

血液生化学的検査；投与開始前、投与4 (500/300mg/kg/日群のみ)、6及び13週に全動物を対象として、頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (γGT)、クレアチンホスホキナーゼ (CK)、総ビリルビン (Bili)、尿素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセリド (TG)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G比)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄			雌		
		20	100	500/300	20	100	500/300
CK	13週			—			61 ↓
クレアチニン	13週			—			79 ↓
ナトリウム	13週			—			98 ↓
塩素	13週			—			94 ↓
総蛋白	6週			—	(106)	(100)	(104)
	13週			—	(104)	(102)	(106)
アルブミン	13週			—			94 ↓
A/G	6週			—			80 ↓
	13週			—			79 ↓

Williams検定      ↓ ↑: p<0.05、↑ ↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

( )内の数値は比較のために算出。

500/300mg/kg/日群の個体別の血液生化学的検査結果を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

性別	個体番号	検査時期	ALP U/L	ALT U/L	AST U/L	gGT U/L	Bili μmol/L	尿素 mmol/L	クレアチン μmol/L
雄	1055*	投与前	144	22	26	3	2	3.56	38
		4週	160	9	29	2	1	2.23	28
		6週	107	8	24	1	2	4.96	40
	1057*	投与前	147	27	33	3	1	2.02	35
		4週	182	23	36	3	0	2.25	36
	1059*	投与前	120	18	24	3	2	4.35	44
4週		3758	542	169	33	135	6.49	66	
1061*	投与前	220	22	29	4	2	3.66	49	
雌	1040*	投与前	161	31	27	2	1	2.69	37
		4週	344	—	—	21	12	4.52	39
	1042	投与前	144	22	27	3	2	3.40	42
		4週	172	30	43	2	2	3.41	50
		6週	157	28	43	2	1	3.14	45
		13週	146	30	28	2	1	4.07	55
	1060	投与前	134	28	29	2	2	3.49	36
		4週	142	26	31	1	1	3.83	44
		6週	127	26	27	1	1	4.26	48
		13週	119	28	33	1	1	4.25	59
	1062	投与前	121	35	48	2	2	2.58	41
		4週	126	28	48	2	1	3.74	48
		6週	128	28	41	2	2	4.15	50
		13週	167	30	41	2	1	3.28	42

性別	個体番号	検査時期	グルコース mmol/L	総コレステロール mmol/L	TG mmol/L	無機リン mmol/L	アルブミン g/L	A/G比
雄	1055*	投与前	5.73	3.77	0.38	2.42	28	1.17
		4週	4.89	4.36	0.40	2.25	24	0.67
		6週	4.71	5.73	0.88	2.02	17	0.50
	1057*	投与前	6.78	3.78	0.36	2.57	28	1.22
		4週	5.66	3.84	0.52	2.66	25	0.83
	1059*	投与前	5.37	3.80	0.42	2.60	26	0.96
4週		3.89	7.32	0.66	2.43	24	0.92	
1061*	投与前	5.56	3.78	0.49	2.33	29	1.21	
雌	1040*	投与前	4.94	2.93	0.37	2.36	26	1.00
		4週	3.92	3.28	1.66	1.69	21	0.64
	1042	投与前	5.49	4.03	0.43	2.44	26	1.08
		4週	5.36	3.08	0.53	2.60	26	0.87
		6週	5.54	3.01	0.32	2.39	29	1.12
		13週	4.93	2.86	0.36	2.06	30	1.25
	1060	投与前	5.12	3.63	0.37	2.81	25	1.09
		4週	5.34	3.58	0.34	2.53	27	1.04
		6週	5.10	3.32	0.41	2.48	27	1.17
		13週	4.61	3.55	0.40	2.37	30	1.11
	1062	投与前	5.67	2.93	0.57	2.57	26	0.96
		4週	5.42	2.29	0.52	2.40	26	0.87
6週		5.57	2.79	0.44	2.28	26	0.87	
13週		4.99	2.98	0.43	1.74	28	0.97	

\*：切迫殺動物

表中の数値は実測値を示す。 —：有効データなし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

500/300mg/kg/日群では、投与4週に雄1匹 (No. 1059) でALP、ALT、AST、gGT、ビリルビン、尿素、クレアチニン、総コレステロール及びトリグリセリドの増加、グルコースの低下が認められ、雌1匹 (No. 1040) でALP、gGT、ビリルビン、尿素及びトリグリセリドの増加、グルコース、無機リン、アルブミンの低下が認められた。その後これらの動物は状態悪化により切迫殺した。同群の生存雌では対照群と比較して投与6及び13週にアルブミン及びA/G比の低下が認められたが、総蛋白に変化は認められなかった。また、投与13週にはナトリウム及び塩素の低下も認められた。これらの変化は検体の腎臓に対する影響を示唆するものと考えられた。その他の統計学的有意差の認められた変化並びに対照群及び投与前値からの差異は、検査間に一貫性がなく、また軽微であったことから、毒性学的意義はないと考えられた。20及び100mg/kg/日群では投与に関連した影響は認められなかった。

尿検査 ; 投与開始前、投与6及び13週に全動物を対象に、絶食絶水条件下で一夜尿を採取し、以下の項目について検査した。

外観/色、尿量、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、血色素、ウビリノーゲン、沈渣の鏡検

500/300mg/kg/日群の切迫殺動物では雌雄各1匹でビリルビンの増加が認められた。その他、投与による影響は認められなかった。

臓器重量 ; 投与13週に全動物を解剖し、以下の臓器重量を測定し、体重比 (相対) を算出した。また、最終体重を基に補正重量も求めた。

副腎、脳、精巣上部、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺 (上皮小体を含む)、子宮 (頸部を含む)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた臓器を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄			雌		
		20	100	500/300	20	100	500/300
腎臓	補正			—		(114)	128 $\uparrow$
	相対			—		116 $\uparrow$	131 $\uparrow$
肝臓	補正		117 $\uparrow$	—			136 $\uparrow$
	相対		116 $\uparrow$	—			137 $\uparrow$
脾臓	実	175 $\uparrow$	134 $\uparrow$	—			
	相対	172 $\uparrow$	138 $\uparrow$	—			
胸腺	実			—			44 $\downarrow$

Williams検定  $\downarrow \uparrow$ :  $p < 0.05$ ,  $\uparrow \downarrow$ :  $p < 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

( )内の数値は比較のため算出。

500/300mg/kg/日群雌及び100mg/kg/日群雄で肝臓の補正及び相対重量の増加、500/300mg/kg/日群雌で腎臓の補正及び相対重量の増加並びに胸腺の実重量の減少が認められた。100mg/kg/日群雌では腎臓の相対重量が僅かに増加し、1匹で胸腺の実重量が減少した。胸腺重量減少については、ストレスによる二次的変化と考えられた。その他、雄の脾臓重量が対照群と比較して高値を示し有意差が認められたが、雄のみの変化であり、用量との相関を欠き、また個々の値 (68.3-120.4g) が背景値 (40.4-158.7g) の範囲内であったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

肉眼的病理検査 ; 全動物を対象に、以下項目について検査した。

全ての外表及び開口部、脳、下垂体、脳神経、頸部臓器及び組織、胸腔、腹腔、骨盤腔並びに内部臓器



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

500/300mg/kg/日群の切迫殺動物では消化管、腎臓、肝臓及び肺等の暗調化が認められた。その他に投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象に、以下の組織の病理組織標本を作製し鏡検した。なお、肉眼的病変部についても全動物を検査した。

副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼球、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、下顎リッパ<sup>o</sup>節、腸間膜リッパ<sup>o</sup>節、乳腺、鼻、食道、視神経、卵巣、膵臓、咽頭、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、気管、膀胱、子宮(頸部を含む)、膣

計画殺動物における主な所見を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄				雌			
		0	20	100	500/ 300	0	20	100	500/ 300
検査動物数		4	4	4	0	4	4	4	3
肝臓	実質炎症性細胞巣			1	—			1	1
胸腺	退縮/萎縮				—			1	

表中の数値は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す。

500/300mg/kg/日群の雌1匹及び100mg/kg/日群の雌雄各1匹で肝実質に炎症性細胞巣が認められた。この変化は切迫殺動物でも観察され、検体投与に関連したものと考えられた。100mg/kg/日群の雌1匹では胸腺の退縮/萎縮が認められたが、高用量群に変化はみられず、ストレスに起因した二次的变化と考えられた。

上記所見に加え、500/300mg/kg/日群の切迫殺動物では、肺の間質性肺炎/気管支肺炎、胸膜炎及び肺泡マクロファージ集簇、腎臓の尿細管の好塩基性化及び壊死、間質性腎炎、うっ血及び皮質膿瘍、肝臓のアポトーシス、クッパー細胞過形成、胆管増生、類洞内マクロファージ増加及び髄外造血、心筋症等が認められた。

20mg/kg/日群では投与に関連した影響は認められなかった。

以上、本剤のⅠを用いたカ<sup>o</sup>投与による90日間反復経口投与毒性試験において、500/300mg/kg/日群では一般状態の悪化、体重増加抑制、摂餌量減少が認められ、雄4匹雌1匹が切迫殺された。血液学的検査では貧血を示唆する変化が認められたが、脾臓で対応する組織学的変化が認められなかったことから赤血球の破壊亢進とは考え難かった。また、投与4あるいは6週に白血球数(好中球数)の増加、血小板数の減少及びAPTTの短縮が認められたが、投与期間終了後の検査では影響は認められなかった。血液生化学的検査では肝臓及び腎臓に対する影響を示唆する変化が認められた。血漿及び尿中ビリルビンの増加は、肝細胞毒性に起因した変化と考えられた。臓器重量では肝臓及び腎臓重量の増加が認められた。病理組織学的検査では肝臓の実質炎症性細胞巣が認められた。

100mg/kg/日群では、雄で肝臓重量の増加、雌で腎臓重量の増加、雌雄で肝臓の実質炎症性細胞巣が認められた。

20mg/kg/日群では毒性学的意義のある変化は認められなかった。

従って、無毒性量は雌雄共に20mg/kg/日であると判断された。

② Ⅰを用いたカ<sup>o</sup>セル投与による13週間反復経口投与毒性試験

(資料No. 1-9)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)  
報告書作成年 : 2009年

検体純度 :  
供試動物 : ビーグル犬、約5ヶ月齢、体重；雄7.9-10.9kg 雌6.6-9.8kg、1群雌雄各4匹  
投与期間 : 13週間 (2007年12月17日-2008年3月19日)  
投与方法 : 検体を0、30、85及び250mg/kg/日の用量となるようゼラチンカ<sup>o</sup>セルに充填し、1日1回、13週間にわたって強制経口投与した。検体量は最新の体重をもとに算出した。対照群には空のゼラチンカ<sup>o</sup>セルのみを同様に投与した。検体を充填したカ<sup>o</sup>セルは毎週調製した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；少なくとも1日2回観察した。また、目視による詳細な観察をはじめの1週は毎日、投与2-4週は週2回、それ以降は週1回実施した。さらにより詳細な状態観察(触診)を週1回実施した。

250mg/kg/日群の雄1匹 (No. 1303) では投与8-10週に、後肢の腫脹及び異常、不活発、脱毛増加、高熱、消瘦及び蒼白等の症状が認められたが、投与11週から一部症状に回復傾向がみられた。85mg/kg/日群の雌1匹 (No. 1292) でも、投与13週に、不活発、高熱及び蒼白等の症状が認められた。

また、投与に関連した症状として、投与群動物の多くで投与8週から口腔内の発赤及び投与31日から第三眼瞼明瞭化が認められたが、関連する病理組織学的変化が認められなかったことから有害変化とは考えられなかった。

死亡は認められなかった。

体重変化；投与開始前、投与開始日(0週)、投与期間中は週1回及び解剖前に全生存動物を対象に測定した。

投与群における平均体重増加量を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
	30	85	250	30	85	250
0-13週	90	110	73	111	85	85

Williams検定

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

85mg/kg/日群雌及び250mg/kg/日群雌雄で体重増加抑制が認められた。

対照群並びに85及び250mg/kg/日群の一部動物の個体別体重増加量を次表に示す。

性別	投与量 (mg/kg/日)	個体番号	体重増加量 (kg)		
			3-13週	12-13週	0-13週
雄	0	1279	2.1	0.1	3.3
		1281	1.1	0.0	2.1
		1299	2.3	0.3	4.2
		1301	1.9	0.0	2.4
	250	1277	0.4	-0.2	1.7
		1303	0.5	0.0	1.7
雌	0	1276	1.8	0.0	2.2
		1278	2.2	0.0	3.4
		1280	1.7	0.1	2.6
		1282	2.0	0.1	2.4
	85	1292	0.5	-0.6	1.5
	250	1306	0.4	-0.4	1.5

表中の数値は実測値を示す。

250mg/kg/日群の雄2匹及び雌1匹で対照群に比べ総体重増加量の僅かな減少が認められ、これは投与3週からの体重増加量の減少に起因していた。また、85mg/kg/日群の雌1匹でも対照群に比べ総体重増加量の減少が認められたが、これは最終週の体重減少に起因していた。このうち2匹 (No. 1303及び1292) は投与による反応がとりわけ顕著であった動物で、体重変化は異常症状に関係していたと考えられた。

30mg/kg/日群雌雄及び85mg/kg/日群雄では投与に関連した影響は認められなかった。

摂餌量 ; 毎日の給餌量、残量及び推定散逸量の測定結果から、投与開始2週間前から投与期間中の週間摂餌量を個体別に算出した。

摂餌量の変化を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
	30	85	250	30	85	250
1-13週	100	100	95	101	99	98

Williams, Shirley検定

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

群平均に有意な変化は認められなかったが、投与による影響がとりわけ顕著であった250mg/kg/日群の雄1匹 (No. 1303) 及び85mg/kg/日群の雌1匹 (No. 1292) で、投与前値及び対照群値と比較して摂餌量が減少した。その他の投与群動物では、投与に関連した影響は認められなかった。

眼科学的検査 ; 投与開始前及び投与13週に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査 (末梢血) ; 投与開始前、投与6及び13週に全動物を対象として、頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。250mg/kg/日群の雄1匹 (No. 1303) については、健康状態の経過を観察するため、投与8-11週にも採血して検査した。

赤血球数、ヘマトクリット、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球数、血液像 (白血球百分率及び細胞形態)、血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄			雌		
		30	85	250	30	85	250
ヘマトクリット	6週						91 ↓
ヘモグロビン	6週						(92)
赤血球数	6週						89 ↓
好酸球数	投与前			(36)			
	6週			33 ↓			
好塩基球数	投与前			(140)			
	6週			186 ↑			
血小板数	投与前						(96) [425]
	13週						137 ↑ [429]

Williams検定 ↓ ↑: p<0.05, ↑ ↓: p<0.01

表中の上段の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものを。

( )内の数値は比較のために算出。 [ ]内数値は実測値を示す(×10<sup>9</sup>/L)。

250mg/kg/日群雌では、投与6週に貧血を示唆するヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の減少が認められ、投与に起因した変化と考えられた。

顕著な症状を示した250mg/kg/日群の雄No. 1303及び85mg/kg/日群の雌No. 1292の個体別の血液学的検査結果を次表に示す。

250mg/kg/日群の雄No. 1303では投与6週にヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の減少、白血球数及び血小板数の著しい減少、APTTの短縮が認められ、いくつかの変化は投与13週にも認められた。その後の検査で網状赤血球数、MCH及びMCVが増加し、回復傾向が認められた。85mg/kg/日群の雌No. 1292では投与13週に同様の変化が認められたが、その程度は雄より重度であった。

統計学的有意差の認められたその他の変化並びに対照群及び投与前値からの差異は、軽微で用量相関性がなく、検査間に一貫性がないか投与開始前に認められた変化を反映していたことから、投与による影響とは考えられなかった。

30mg/kg/日群雌雄及び85mg/kg/日群雄では検体影響は認められなかった。

性別	個体番号	検査時期	ヘマトクリット L/L	ヘモグロビン g/dL	赤血球数 x10 <sup>12</sup> /L	網状赤血球数 %	MCH pg	MCHC g/dL	MCV fL
雄	1303	投与前	0.356	11.8	5.18	1.8	22.8	33.2	68.7
		6週	0.214	7.4	3.23	1.6	22.9	34.6	66.3
		8週	0.206	6.9	3.05	1.0	22.5	33.4	67.4
		9週	0.186	6.1	2.69	2.5	22.7	32.8	69.3
		10週	0.269	8.6	3.63	8.3	23.8	32.1	74.2
		11週	0.308	9.8	4.10	3.1	24.0	31.9	75.0
		13週	0.338	11.6	4.60	2.2	25.3	34.5	73.4
雌	1292	投与前	0.361	11.8	5.72	0.9	20.6	32.6	63.2
		6週	0.350	11.9	5.54	2.1	21.4	33.9	63.1
		13週R	0.144	4.9	2.18	2.8	22.2	33.7	65.9
			0.108	3.3	1.49	7.4	22.2	30.6	72.6

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

性別	個体番号	検査時期	白血球数 x10 <sup>9</sup> /L	好中球数 x10 <sup>9</sup> /L	リンパ球数 x10 <sup>9</sup> /L	好酸球数 x10 <sup>9</sup> /L	好塩基球数 x10 <sup>9</sup> /L	単球数 x10 <sup>9</sup> /L	LUC x10 <sup>9</sup> /L
雄	1303	投与前	10.07	5.65	3.74	0.07	0.07	0.38	0.16
		6週	3.04	0.37	2.23	0.01	0.06	0.22	0.16
		8週	0.85	0.13	0.65	0.00	0.01	0.03	0.03
		9週	1.29	0.51	0.56	0.01	0.01	0.15	0.05
		10週	6.33	3.30	2.47	0.13	0.06	0.32	0.05
		11週	6.95	3.80	1.80	0.09	0.04	1.10	0.11
		13週	13.18	10.60	1.75	0.14	0.09	0.54	0.05
雌	1292	投与前	11.93	7.31	3.10	0.31	0.08	0.96	0.17
		6週	9.37	5.33	2.74	0.39	0.04	0.83	0.04
		13週R	0.67	0.27	0.17	0.08	0.01	0.10	0.04
			0.63	0.24	0.19	0.05	0.01	0.11	0.04

性別	個体番号	検査時期	血小板数 x10 <sup>9</sup> /L	PT sec	APTT sec	大小不同	小球性	大球性	低染色性	高染色性
雄	1303	投与前	570	6.2	28.9	-	-	-	-	-
		6週	52	5.9	23.4	-	-	-	-	-
		8週	25	6.0	13.3	+	-	-	-	-
		9週	36	5.9	15.3	++	-	+	-	-
		10週	294	6.3	19.0	+++	-	++	+	-
		11週	353	6.0	21.5	-	-	+	-	-
		13週	548	6.1	23.7	-	-	-	-	-
雌	1292	投与前	326	6.3	26.1	-	-	-	-	-
		6週	228	6.3	26.3	-	-	-	-	-
		13週R	17	6.0	15.9	+	-	-	-	-
			17			+++	-	++	-	-

LUC：大型非染色球数

表中の数値は実測値を示す。

血液塗抹標本観察結果 -：異常なし、+：軽度、++：中等度、+++：高度

R：血液試料凝固のため、再検査及び確認検査を計2回実施(PT及びAPTTを除く)。

血液生化学的検査；投与前、投与6及び13週に全動物を対象として、頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。250mg/kg/日群の雄1匹(No. 1303)については、健康状態の経過を観察するため、投与8-9週にも採血して検査した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、アミノアミトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミトランスフェラーゼ (AST)、γ-グルタミルトランスピプチダーゼ (γ-GT)、クレアチンホスホキナーゼ (CK)、総ビリルビン、尿素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセリド、ナトリウム、カルシウム、塩素、カルシウム、無機リン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G比)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄			雌		
		30	85	250	30	85	250
ALT	13週			65 ↓			
総ビリルビン	投与前			(100) [2]	(100) [3]	(67) [2]	(100) [3]
	6週				200 ↑ [2]	200 ↑ [2]	200 ↑ [2]
	13週			50 ↓ [1]			
総コレステロール	6週			(90)		(79)	(81)
	13週		(89)	(84)			(84)
カルシウム	6週			95 ↓			
	13週			(96)			
アルブミン	6週			(93)			(94)
	13週			91 ↓		(85)	(88)
A/G比	6週			80 ↓			87 ↓
	13週			81 ↓		(79)	(78)

Williams検定 ↓↑: p<0.05, ♀♂: p<0.01

表中の上段の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

( )内の数値は比較のために算出。 [ ]内数値は実測値を示す(μmol/L)。

250mg/kg/日群の雌雄で投与6及び13週に総コレステロール、アルブミン及びA/G比の低下、雄で投与6及び13週にカルシウムの低下が認められた。85mg/kg/日群の雄では投与13週に総コレステロールの低下が認められ、雌では投与6週に総コレステロールの低下、投与13週にアルブミン及びA/G比の低下が認められた。これらの変化は肝臓あるいは腎臓に対する影響を示唆するものと考えられた。

顕著な症状を示した250mg/kg/日群の雄No. 1303及び85mg/kg/日群の雌No. 1292の個体別の血液生化学的検査結果を次表に示す。

250mg/kg/日群の雄No. 1303では、投与6週から一過性のAST、トリグリセリド及び総蛋白の増加と、グルコース、カルシウム、無機リン、アルブミン、A/G比の低下が認められたが、投与13週にはある程度回復が認められた。一方、85mg/kg/日群の雌No. 1292では投与13週に総蛋白の増加及びアルブミンの低下が認められ、その結果A/G比が低下した。さらに、ALP及びトリグリセリドの増加、グルコース、カルシウム及び無機リンの低下が認められた。またこれら動物ではALT及びCKの低下が認められたが、これら酵素活性の低下に毒性学的意義はないと考えられた。

その他、統計学的に有意な変化として、250mg/kg/日群雄で投与13週にALTの低下が認められたが、対照群値の高値が原因であった。また、雌雄で総ビリルビンの変化が認められたが、個体値の全ては背景データ範囲内(1-3 μmol/L)にあったことから検体投与による影響とは考えられなかった。

30mg/kg/日群では投与に関連した影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

性別	個体番号	検査時期	ALP	ALT	AST	CK	グルコース	トリグリセリド
			U/L	U/L	U/L	U/L	mmol/L	mmol/L
雄	1303	投与前	162	28	33	333	6.62	0.28
		6週	157	19	33	176	6.26	0.50
		8週	165	17	52	98	4.87	0.59
		9週	160	11	28	147	5.44	0.50
		13週	124	25	35	208	6.31	0.29
雌	1292	投与前	109	24	26	341	6.11	0.13
		6週	104	30	35	375	5.94	0.28
		13週	147	14	32	104	4.95	0.54

性別	個体番号	検査時期	カルシウム	無機リン	総蛋白	アルブミン	A/G比
			mmol/L	mmol/L	g/L	g/L	
雄	1303	投与前	2.82	2.51	55	32	1.39
		6週	2.65	2.07	64	28	0.78
		8週	2.42	1.57	80	21	0.36
		9週	2.46	1.72	69	21	0.44
		13週	2.54	1.79	57	27	0.90
雌	1292	投与前	2.91	2.28	54	30	1.25
		6週	2.56	2.19	54	31	1.35
		13週	2.31	1.56	62	21	0.51

表中の数値は実測値を示す。

尿検査 ; 投与前開始前、投与6及び13週に全動物を対象に、絶食絶水条件下で一夜尿を採取し、以下の項目について検査した。

外観/色、尿量、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、血色素、ウロビリゲン、沈渣の鏡検

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄			雌		
		30	85	250	30	85	250
尿量	13週						171↑
	6週						99↓
比重	13週						(99)
	6週						50↓
蛋白	13週						55↓

Williams検定 ↓↑: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

( )内の数値は比較のために算出。

250mg/kg/日群雌で投与6及び13週に尿比重及び蛋白の低下が認められ、投与13週のみ尿量の増加を伴っていた。尿組成に投与による影響は認められなかった。

30及び85mg/kg/日群では投与による影響は認められなかった。

臓器重量 ; 投与13週に全動物を解剖し、以下の臓器重量を測定し、体重比(相対)を算出した。また、最終体重を基に補正重量も算出した。

副腎、脳、精巣上部、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、子宮(頸部を含む)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた臓器を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (mg/kg/日)		雄			雌		
		30	85	250	30	85	250
副腎	補正			142↑			
	相対			128↑			
腎臓	実		(118)	(113)		(116)	(109)
	相対		(115)	124↑		(120)	(111)
肝臓	実		(109)	(114)		(119)	(122)
	相対		(107)	125↑		(123)	(124)
胸腺	実			(83)			

Dunnett, Williams検定 ↓↑: p<0.05, ↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの、

( )内の数値は比較のために算出。

85及び250mg/kg/日群雌雄で、腎臓並びに肝臓の実及び相対重量の増加が認められた。腎臓においては血液生化学的検査及び尿検査で関連する変化が認められたものの、病理組織学的には認められなかったことから、検体またはその代謝物の排泄による腎機能の活性化に関連した適応性変化と考えられた。また、250mg/kg/日群雄では副腎の補正及び相対重量の増加、胸腺の実重量の減少が認められたが、関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、ストレスに起因した二次的変化と考えられた。

肉眼的病理検査；全動物を対象に、以下項目について検査した。

全ての外表及び開口部、脳、下垂体、脳神経、頸部臓器及び組織、胸腔、腹腔、骨盤腔並びに内部臓器

検体投与に起因すると考えられる主な所見を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄				雌			
		0	30	85	250	0	30	85	250
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
外観	削瘦				1			1	
内臓	退色						1	1	
肝臓	腫大				2		1	1	
脾臓	腫大						1		
	隆起部							1	
縦隔	うっ血						1		
リンパ節	腫大						1		

表中の数値は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す。

肝臓の腫大が250mg/kg/日群の雄2匹及び雌1匹、85mg/kg/日群の雌1匹で認められ、脾臓の隆起部が250mg/kg/日群の雌1匹で、腫大が85mg/kg/日群の雌1匹で認められた。また、縦隔リンパ節のうっ血/腫大が85mg/kg/日群の雌1匹で認められた。85または250mg/kg/日群では削瘦、内臓の退色も認められた。

上記以外の所見は偶発的であり、毒性学的意義はないと考えられた。

病理組織学的検査；全動物を対象に、以下の組織の病理組織標本作製し鏡検した。なお、肉眼的病変部についても全動物を検査した。

副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼球、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、腫瘤



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

近傍リンパ節、乳腺、鼻、食道、視神経、卵巣、膵臓、咽頭、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、気管、膀胱、子宮(頸部を含む)、膈

主な所見を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄				雌			
		0	30	85	250	0	30	85	250
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
肺	肺炎							1	
甲状腺	濾胞上皮細胞肥大				3				2
肝臓	炎症性細胞巣			1	2		1		
	髓外造血		1					1	1
脾臓	髓外造血							1	1

表中の数値は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す。

肝臓では85及び250mg/kg/日群雄で炎症性細胞巣、甲状腺では250mg/kg/日群雌雄で濾胞上皮細胞の肥大が認められた。また、85及び250mg/kg/日群雌では肝臓及び脾臓に髓外造血が認められた。この他に85mg/kg/日群の雌1匹で肺炎が認められ、用量相関性が認められないものの、投与との関連性は否定できなかった。

上記以外の所見は偶発的であり、毒性学的意義はなかった。

以上、本剤のⅡを用いたカ<sup>7</sup>投与による90日間反復経口投与毒性試験において、死亡は認められなかったが、検体投与に起因する種々の変化が認められた。

250mg/kg/日群では体重増加抑制に加え、血液学的検査(雌)で貧血、血液生化学的検査及び尿検査(雌)で肝臓及び腎臓に対する影響を示唆する変化が認められた。臓器重量では肝臓及び腎臓重量の増加が認められ、腎臓重量増加は適応性変化と考えられた。肉眼的病理検査では肝臓の腫大、病理組織学的検査では肝臓の炎症性細胞巣(雄)、肝臓及び脾臓の髓外造血(雌)、甲状腺の濾胞上皮細胞肥大が認められた。特に雄の1匹では、一般状態の悪化、摂餌量減少を伴う顕著な反応が認められた。

85mg/kg/日群では体重増加抑制(雌)に加え、血液生化学的検査で肝臓に対する影響を示唆する変化、肝臓及び腎臓重量の増加、肝臓及び脾臓の腫大(雌)、肝臓の炎症性細胞巣(雄)、肝臓及び脾臓の髓外造血(雌)、肺炎(雌)が認められた。特に雌の1匹では、250mg/kg/日群の雄と同様な顕著な反応が認められ、検体が特発性反応を引き起こす可能性を持つことが示唆された。

30mg/kg/日群では毒性学的意義のある変化は認められなかった。

従って、無毒性量は雌雄共に30mg/kg/日であると判断された。

③ ラットを用いた飼料混入投与による13週間反復経口投与毒性試験

(資料No. 1-10)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)  
報告書作成年 : 2008年

検体純度 :

供試動物 : Han Wistarラット、40-46日齢、体重；雄130-159g 雌105-131g、1群雌雄各10匹

投与期間 : 13週間 (2006年11月13日-2007年2月13日)

投与方法 : 検体を0、200、2000、10000及び20000ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

20000ppm群雌5匹で脱毛が認められたが、ケージのみに発生しており、同群の他の動物では観察されなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。死亡は認められなかった。

詳細な状態観察；投与開始前及び投与期間中は週1回、全動物を対象に以下の項目について詳細な状態観察(触診)及びアライ観察を実施した。

取扱操作時及び観察台での身体状態及び行動

検体投与による影響は認められなかった。

機能検査；投与開始前及び投与12週に全動物を対象に以下の項目を測定した。

感覚運動反応(視覚刺激、接触刺激、聴覚刺激及び痛覚刺激)、

握力(前肢、後肢)、自発運動量(6分毎、計1時間)

聴覚刺激、握力及び自発運動量で、対照群と比較して変化が認められた。

投与12週における聴覚刺激の変化を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	200	2000	10000	20000	0	200	2000	10000	20000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
グレード1									1	
グレード2				1	3	1	1			2
グレード3	8	9	10	9	6	9	9	10	8	8
グレード4	2	1			1				1	

表中の数値は発現動物数を示す。空欄は「0」を示す。

グレード1：反応なし、グレード2：弱い反応、グレード3：正常反応、グレード4：激しい反応

20000ppm群雄3匹でグレード2の反応が認められたが、対照群では認められなかった。他に関連する所見は認められず、検体投与による影響とは考えられなかった。

投与12週における統計学的有意差の認められた握力の変化を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
前肢	(94)	(99)	(85)	83 ↓				
後肢	(88)	(94)	78 ↓	82 ↓				

Williams検定 ↓↑: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

( )内の数値は比較のために算出。

10000及び20000ppm群雄で前肢及び後肢の握力が低下し、10000ppm群の前肢を除いて統計学的有意差が認められたが、これら群の体重は対照群と比較して低値であったことから、検体投与による直接影響とは考えられなかった。雄のみに認められた理由として、対照群に対する体重低下率としては雌雄でほぼ同等であったが、実際の重量変化量としては雄のほうが大きかったためと考えられた。

投与12週における統計学的有意差の認められた自発運動量の変化を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
低ドーム (ケージ 床活動)	6分					142 ↑ [263.9]	154 ↑ [286.5]	133 ↑ [248.0]	130 ↑ [242.1]
	24分					(162) [68.7]	(172) [73.1]	(150) [63.6]	223 ↑ [94.4]
	30分					(279) [54.2]	473 ↑ [91.8]	362 ↑ [70.2]	254 ↑ [49.3]

Williams, Shirley検定 ↓↑: p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

( )内の数値は比較のために算出。 [ ]内の数値は実測値を示す。

雌の全投与群で、用量と相関しない低ドーム遮断回数 of 有意な高値が認められたが、総量に影響は認められず、背景データから対照群の値(実測値: 6分=185.9、24分=42.4、30分=19.4)が例外的に低値であったと示唆されたことから、検体投与による影響とは考えられなかった。雄に同様の変化は認められなかった。

背景データを次表に示す。

項目	検査時期	性	動物数	時間		
				6分	24分	30分
低ドーム	12週	雌	10	239.7	70.6	52.4
	12週		15	214.9	95.9	65.1

体重変化; 投与開始前、投与開始日(0週)、投与期間中は週1回及び解剖前に全生存動物を対象に測定した。

体重増加量の変化を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
0-1週	95	103	68 ↓	24 ↓	95	100	68 ↓	42 ↓
1-12週	96	101	81 ↓	72 ↓	106	111	91	73 ↓
0-13週	96 [-10]	101 [2]	79 ↓ [-49]	65 ↓ [-84]	104 [4]	109 [9]	88 ↓ [-12]	67 ↓ [-34]

Williams検定 ↓↑: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

[ ]内は対照群の体重増加量(雄237g、雌103g)に対する重量変化量(g)を示す。申請者が算出。

検体投与による影響として、10000及び20000ppm群雌雄で体重増加量の有意な減少が認められた。特に投与1週で顕著な減少が認められたが、投与期間が経過するにつれ

対照群との差は小さくなる傾向にあった。

摂餌量；摂餌量を週1回測定した。

摂餌量の変化を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
1週	98	95	84	76	102	94	101	95
2週	97	99	93	88	101	98	101	106
1-13週	97	100	91	87	106	99	104	102

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。検定せず。

検体投与による影響として、投与1週に10000及び20000ppm群雄で摂餌量の減少が認められた。それ以降も減少は認められたが、その程度は小さかった。200、2000ppm群雄及び雌の全投与群に明らかな影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		200	2000	10000	20000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	14.9	150	780	1596
	雌	17.9	165	932	1950

眼科学的検査；投与開始前に全動物を、投与13週に対照群及び20000ppm群動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査(末梢血)；投与13週に全動物を対象に、一夜絶食後、舌下静脈より採血し、以下の項目について検査した。

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、網状赤血球数、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、白血球数、白血球百分率(好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、大型非染色球)、血液像(細胞形態)、血小板数、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)

10000ppm群雌及び20000ppm群雌雄でヘマトクリットの増加、20000ppm群雌雄でヘモグロビンの増加、20000ppm群雄で赤血球数の増加の有意な変化が認められたが、その他の赤血球系パラメータに影響は認められなかった。2000ppm群雌、10000及び20000ppm群雌雄で用量相関性を伴った好中球数の有意な減少が認められたが、2000及び10000ppm群雌は個体値が全て背景データ範囲内(背景値範囲:  $0.42-1.47 \times 10^9/L$ , 213例)にあったことから、毒性学的意義はないと考えられた。20000ppm群雌雄では好酸球数の有意な減少が認められた。しかしながら、好中球数及び好酸球数の変化による白血球数への影響は認められなかった。また、10000及び20000ppm群雌で血小板数の有意な減少が認められたが、PT及びAPTTに影響はなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

上記以外の統計学的有意差の認められた変化は、用量相関性がなく、軽微であったことから、生物学的変動範囲内の変化と考えられた。

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
ヘマトクリット				105 $\uparrow$			103 $\uparrow$	104 $\uparrow$
ヘモグロビン				105 $\uparrow$				104 $\uparrow$
赤血球数				104 $\uparrow$				
MCHC		103 $\uparrow$	102 $\uparrow$			99 $\downarrow$		
好中球数			72 $\downarrow$	60 $\downarrow$		76 $\downarrow$ [0.51-0.97]	76 $\downarrow$ [0.42-1.05]	52 $\downarrow$
リンパ球数			137 $\uparrow$	120 $\uparrow$				
好酸球数				55 $\downarrow$				50 $\downarrow$
単球数							73 $\downarrow$	82 $\downarrow$
大型非染色球			200 $\uparrow$	133 $\uparrow$				67 $\downarrow$
血小板数							88 $\downarrow$	87 $\downarrow$

Dunnett, Williams検定       $\downarrow \uparrow$ :  $p < 0.05$ ,  $\uparrow \downarrow$ :  $p < 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

[ ]内の数値は実測値(単位:  $10^3/L$ )を示す。

血液学的検査(骨髓); 投与13週(屠殺時)に全動物を対象に、脛骨あるいは大腿骨から骨髓液を採取し、対照群及び20000ppm群について、以下の項目を検査した。

骨髓の細胞密度、細胞分画及び形態

検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査; 投与13週に全動物を対象として、一夜絶食後、舌下静脈より採血し、以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アミノミトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ(gGT)、総ビリルビン、尿素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセリド、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比(A/G比)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
ALP				118 $\uparrow$				159 $\uparrow$
ALT			175 $\uparrow$	177 $\uparrow$			171 $\uparrow$	152 $\uparrow$
AST			164 $\uparrow$	117 $\uparrow$				
総ビリルビン				100 $\downarrow$			67 $\downarrow$	67 $\downarrow$
尿素	80 $\downarrow$							
クレアチニン			126 $\uparrow$	126 $\uparrow$				
グルコース			121 $\uparrow$	121 $\uparrow$			130 $\uparrow$	127 $\uparrow$
総コレステロール				63 $\downarrow$			68 $\downarrow$	58 $\downarrow$
トリグリセリド				52 $\downarrow$				
カリウム			109 $\uparrow$	113 $\uparrow$			115 $\uparrow$	108 $\uparrow$
カルシウム				96 $\downarrow$			96 $\downarrow$	92 $\downarrow$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

総蛋白			97↓	97↓			93↓	91↓
アルブミン							93↓	90↓
A/G比			113↑	116↑				

Dunnett, Williams, Shirley検定 ↓↑: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

20000ppm群雌雄でALPの有意な増加、10000及び20000ppm群雌雄でALT、雄でASTの有意な増加が認められた。ASTは10000ppm群で最も高く、中でも3/10匹は極めて高い値を示した。さらに、10000及び20000ppm群雌雄でグルコースの増加及び総蛋白の低下、雌でアルブミンの低下、雄でA/G比の増加、10000ppm群雌及び20000ppm群雌雄で総コレステロールの低下、20000ppm群雄でトリグリセリドの低下の有意な変化が認められ、検体の肝臓に対する影響が示唆された。また、10000ppm群雌及び20000ppm群雌雄でカルシウムの低下、10000及び20000ppm群雌雄でカリウムの増加、雄でクレアチニンの増加の有意な変化が認められ、検体の腎臓に対する影響も示唆された。

上記以外の統計学的有意差の認められた変化は、用量相関性がなく、軽微であったことから、生物学的変動範囲内の変化と考えられた。

尿検査 ; 投与13週に全動物を対象に、絶食絶水条件下で一夜尿を採取し、以下の項目について検査した。

外観/色、尿量、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、血色素、ウビリノーゲン、沈渣の鏡検

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
尿量		133↑						
比重				101↑				
蛋白								20↓

Dunnett, Williams検定 ↓↑: p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

尿の外観/色の変化を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	200	2000	10000	20000	0	200	2000	10000	20000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
淡黄色	8	4	7	5		6	9	9	4	5
黄色	2	6	3	5	7	4	1	1	6	5
黄褐色					3					

表中の数値は発現動物数を示す。空欄は「0」を示す。

20000ppm群雄で比重の有意な増加、雌で尿蛋白の有意な低下が認められた。また、20000ppm群雄では尿の暗調化が認められた。これらは検体あるいはその代謝物の排泄による腎代謝の軽微な変化を示唆するものと考えられた。2000ppm群雄の尿量の有意な増加は用量相関性が認められず、毒性学的意義はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

臓器重量；投与13週に全動物を解剖し、以下の臓器重量を測定し、体重比(相対)を算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、胸腺、  
甲状腺(上皮小体を含む)、子宮(頸部を含む)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		200	2000	10000	20000	200	2000	10000	20000
最終体重				87↓	78↓				87↓
副腎	相対				112↑				123↑
脳	実								104↑
	相対			112↑	125↑				119↑
精巣上体	実				87↓	-	-	-	-
	相対				112↑	-	-	-	-
心臓	相対			114↑	117↑			111↑	119↑
腎臓	実				87↓				
	相対			107↑	111↑				117↑
肝臓	実				88↓				
	相対	92↓			113↑			110↑	123↑
脾臓	実				84↓				
	相対								121↑
精巣	相対			114↑	125↑	-	-	-	-
胸腺	実				72↓				68↓
	相対								78↓

Dunnett, Williams, Shirley検定 ↓↑: p<0.05, ↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものを。

検体投与による影響として、10000ppm群雌及び20000ppm群雌雄で肝臓の相対重量増加、10000ppm群雄及び20000ppm群雌雄で腎臓の相対重量増加、20000ppm群雌雄で副腎の相対重量増加、雌で脾臓の相対重量増加並びに胸腺の実及び相対重量減少の有意な変化が認められた。

上記以外の統計学的有意差の認められた変化は、最終体重の減少による二次的变化あるいは生物学的変動範囲内の変化と考えられ、検体投与による直接的影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；全動物を対象に、以下項目について検査した。

全ての外表及び開口部、脳、下垂体、脳神経、頸部臓器及び組織、胸腔、  
腹腔、骨盤腔並びに内部臓器

10000ppm群雄及び20000ppm群雌雄で肺の退色部の発現頻度が増加した。200ppm群雌の退色部の発現頻度の有意な増加は用量相関性が認められず、検体投与による影響とは考えられなかった。20000ppm群雌5匹で脱毛が認められたが、この所見はケージのみに発生しており、同群の他の動物では観察されなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	200	2000	10000	20000	0	200	2000	10000	20000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
肺 退色部	1	1	1	3	3		4↑	1	2	6⇕
脱毛		1								5↑

Fisher検定 ↓↑: p<0.05、⇕↓: p<0.01

表中の数値は発現動物数を示す。空欄は「0」を示す。

病理組織学的検査；対照群及び20000ppm群の全動物を対象に、以下の組織の病理組織標本を作製し鏡検した。なお、副腎、腎臓、肝臓、肺、下顎リッパ節、腸間膜リッパ節、脾臓及び胸腺については200、2000及び10000ppm群でも検査した。肉眼的病変部については全動物を検査した。

副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巢上体、眼球、大腿骨、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、肝臓、肺、下顎リッパ節、腸間膜リッパ節、乳腺、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巢、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、気管、膀胱、子宮(頸部を含む)、膣

主な所見を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄					雌					
		0	200	2000	10000	20000	0	200	2000	10000	20000	
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
肺	泡沫肺胞 マクロファージ	軽微	1	3	4	5	3	1	4	2	4	4
		軽度		1			4				1	2
		合計	1	4	4	5	7↑	1	4	2	5	6↑
肝臓	びまん性 肝細胞肥大	軽微								1		
		軽度									2	
		合計								1	2	
	小葉中心性 肝細胞肥大	軽微		1	2	6	9				5	7
		軽度										1
		合計		1	2	6⇕	9⇕				5⇕	8⇕
腎臓	皮質尿細管 好塩基性化	軽微	1	2		6	3		2	1	5	2
		軽度									1	2
		合計	1	2		6↑	3		2	1	6⇕	4↑
	髓質尿細管 好塩基性化	軽微										3
		合計										3
	髓質 鉍質沈着	軽微	1							2	3	3
		軽度									1	1
		合計	1							2	4↑	4↑



脾臓	髓外造血	軽微	9	6	6	4	3		1		1	6
		軽度	1	4	4	6	7	8	8	10	9	4
		中等度						2	1			
		合計	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	ヘジデリン沈着	軽微	5	2	4	1	1					
		軽度	5	8	6	9	9	9	9	10	3	5
		中等度						1	1		7	5
		合計	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
腸間膜リンパ節	洞赤血球増加/赤血球貪食	軽微	2		1	2	5	1	4	3	2	3
		軽度					4					
		合計	2		1	2	9↑	1	4	3	2	3
	肥満細胞集簇	軽微	7	7	6	6	2	6	5	7	6	7
		軽度	2	2	3	4	7	3	4	2	4	2
		中等度					1					
		合計	9	9	9	10	10	9	9	9	10	9
	下顎リンパ節	洞赤血球増加/赤血球貪食	軽微	4	2	3	7	6	3	1	2	3
軽度			1	1			4					2
合計			5	3	3	7	10↑	3	1	2	3	5
胚中心形成		軽微	4	1	3	6	7	1	1	4	2	5
		軽度	5	9	7	4	3	8	8	6	7	5
		中等度	1					1	1		1	
		合計	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
胸腺		退縮/萎縮	軽微	1	1		1	5	2	1		
	合計		1	1		1	5	2	1			3
副腎	皮質肥大(束状帯/球状帯)	軽微	1	2		4	6	1	2	1	4	9
		軽度										1
		合計	1	2		4	6↑	1	2	1	4	10↑

Fisher検定 ↓↑: p<0.05、↑ ↓: p<0.01

表中の数値は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す。

肺、肝臓、腎臓、脾臓、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、胸腺及び副腎で検体投与に関連した変化が認められた。

肺では全ての検体投与群で泡沫肺胞マクロファージの増加が認められたが、用量相関性を示した10000及び20000ppm群のみが検体投与に関連した変化と考えられた。肝臓では10000及び20000ppm群雌雄で小葉中心性肝細胞肥大の増加、雌でびまん性肝細胞肥大の増加が認められ、適応性変化と考えられた。腎臓では10000及び20000ppm群雌雄で皮質尿細管好塩基性の増加、雌で髓質鉍質沈着の増加、20000ppm群雌で髓質尿細管好塩基性の増加が認められた。脾臓では10000及び20000ppm群雌雄で髓外造血の程度の増加、雌でヘジデリン沈着の程度の増加が認められ、赤血球破壊の増加が示唆された。腸間膜リンパ節では20000ppm群雌雄で洞赤血球増加/赤血球貪食の増加及び肥満細胞集簇の程度の増加が認められたが、雌では認められなかった。下顎リンパ節では10000ppm群雌雄及び20000ppm群雌雄で洞赤血球増加/赤血球貪食の増加の他、胚中心形成の程度の低下が認められたが、これは非特異的毒性によるストレスに起因した変化と考えられた。これらリンパ節での変化はリンパ系あるいは造血系全体に影響が認められないことから、毒性学的に重要とは考えられなかった。胸腺では20000ppm群雌雄で退縮/萎縮の増加、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

副腎では10000及び20000ppm群雌雄で束状帯/球状帯の皮質肥大の増加が認められたが、これらは非特異的毒性によるストレスに関連した変化と考えられた。

以上、本剤のラットを用いた90日間混餌投与による反復経口投与毒性試験において、特異的な神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

20000ppm群では、体重増加量及び摂餌量(雄)の減少が認められた。血液学的検査ではヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数(雄)の増加、並びに好中球数及び好酸球数の減少が認められ、血液生化学的検査ではALP、ALT、AST(雄)、グルコース、クレアチニン(雄)、カリウム及びA/G比(雄)の増加、並びに総コレステロール、トリグリセリド(雄)、カルシウム、総蛋白及びアルブミン(雌)の低下が認められた。尿検査では雄で比重、尿の暗調化が増加し、雌で尿蛋白が低下した。臓器重量では肝臓、腎臓及び副腎重量の増加、さらに雌で脾臓重量の増加及び胸腺重量の減少が認められた。肉眼的病理検査では肺の退色部の増加が認められ、病理組織学的検査では肺の泡沫肺泡マクロファージ、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、びまん性肝細胞肥大(雌)、腎臓の皮質尿細管好塩基性化、髄質鉍質沈着(雌)、髄質尿細管好塩基性化(雌)、脾臓の髓外造血(雄)及びヘモジリン沈着(雌)の増加が認められた。

10000ppm群では、体重増加量及び摂餌量(雄)の減少が認められた。血液学的検査ではヘマトクリット(雌)の増加及び好中球数(雄)の減少が認められ、血液生化学的検査ではALT、AST(雄)、グルコース、クレアチニン(雄)、カリウム及びA/G比(雄)の増加、並びに総コレステロール(雌)、カルシウム(雌)、総蛋白及びアルブミン(雌)の低下が認められた。臓器重量では腎臓(雄)及び肝臓(雌)重量の増加が認められた。肉眼的病理検査では肺の退色部(雄)の増加が認められ、病理組織学的検査では肺の泡沫肺泡マクロファージ、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、びまん性肝細胞肥大(雌)、腎臓の皮質尿細管好塩基性化、髄質鉍質沈着(雌)、脾臓の髓外造血(雄)及びヘモジリン沈着(雌)の増加が認められた。

2000ppm群では毒性学的意義のある変化は認められなかった。

従って、無毒性量は雌雄共に2000ppm(雄150mg/kg/日、雌165mg/kg/日)であると判断された。

(6) 21日間反復経皮投与毒性

① ラットを用いた21日間反復経皮投与毒性試験

(資料No. 1-11)

試験機関 : (株)ボゾリサーチセンター (GLP対応)

報告書作成年 : 2008年

検体純度 :

供試動物 : SD (Cr1:CD) ラット、8週齢、体重 ; 雄250-285g 雌185-217g、1群雌雄各6匹

投与期間 : 21日間 (2008年3月18日-2008年4月7日)

投与方法 : 検体を0、100、300及び1000mg/kg/日の投与量で1日1回約6時間、21日間にわたって経皮投与した。

電気バリカンで刈毛した背部皮膚に、蒸留水0.5mlで湿らせた検体をリト布 (約20cm<sup>2</sup>: 4×5cm) にのせ貼付した。貼付約6時間後に被覆物を除去し、温水及びびがーゼ等を用いて適用部位を清拭した。なお、刈毛は週1回以上の頻度で行った。

投与量設定根拠 ;

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 毎日3回 (投与前、投与直後及び投与約6時間後)、体外表 (投与時の適用部位を除く)、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態及び生死を観察した。

また、投与部位の皮膚状態を毎日1回、投与前に観察した。

検体投与による症状及び死亡は認められなかった。

体重変化 ; 投与1、4、7、10、14、17及び21日の投与前に全生存動物を対象に測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量 ; 投与1、4、7、10、14、17及び21日の投与前に測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査 ; 投与期間終了日の翌日に全動物を対象に、一夜絶食後、腹大動脈より採血し、以下の項目について検査した。

ヘマトクリット、ヘマトクリット、赤血球数、網状赤血球率、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、白血球数、白血球百分率 (好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、大型非染色球)、血小板数、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリンゲン量

なお、白血球百分率と白血球数から各分画の実数を算出した。

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
PT	112 ↑					
リンパ球 (%)			109 ↑			
リンパ球数			(133)			
好中球 (%)			69 ↓			
好中球数			(85)			
大型非染色球 (%)	50 ↓					

Dunnnett検定 ↓ ↑: p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

( )内の数値は比較のために算出。

1000mg/kg/日群雄で白血球百分率におけるリンパ球比率の有意な高値、好中球比率の有意な低値が認められたが、何れも軽度な変化であり、白血球数から算出した各分画の実数では有意な変化が認められていないことから、偶発的な変化と考えられた。

100mg/kg/日群雄でPTの有意な延長、白血球百分率における大型非染色球比率の有意な低値が認められたが、何れも高用量群で同様の変化が認められていないことから、偶発的な変化と考えられた。

血液生化学的検査; 投与期間終了日の翌日に全動物を対象に、一夜絶食後、腹大動脈より採血し、以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、アランミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、総ビリルビン (T-BIL)、尿素窒素 (BUN)、クレアチン、グルコース、総コレステロール、トリグリセリド、リン脂質、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、総蛋白質、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G比)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
ALP				135 ↑		
総コレステロール	72 ↓					

Dunnnett検定 ↓ ↑: p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

100mg/kg/日群雄で総コレステロールの有意な低下、雌でALPの有意な増加が認められたが、何れも高用量群で同様の変化が認められていないことから、偶発的な変化と考えられた。

尿検査 ; 投与3週に全動物を対象に、絶食絶水条件下で一夜尿を採取し、以下の項目について検査した。

外観/色、尿量、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウビリノーゲン、血色素、沈渣の鏡検

検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量 ; 投与期間終了後に全動物を解剖し、以下の臓器重量を測定し、体重比 (相対) を算出した。

副腎、肝臓、腎臓、精巣

検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

肉眼的病理検査；全動物を対象に、以下の項目について検査した。

体外表、頭部、胸部、腹部を含む全身の器官及び組織

検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象に、以下の組織及び投与部位の病理組織標本を作製し、対照群及び1000mg/kg/日群について鏡検した。また、肉眼病変が認められた動物についても検査した。

肝臓、腎臓、投与部位(背部皮膚)、皮膚(鼠径部)、肉眼的異常部位  
(副腎、脾臓、心臓、肺及び精巣は臓器を保存)

所見を次表に示す。

投与量 (mg/kg/日)		雄				雌			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査動物数		6	0	0	6	6	0	0	6
肝臓	検査動物数	6	0	0	6	6	0	0	6
	小葉辺縁帯 肝細胞空胞化	軽微				2			
	限局性壊死	軽微			1				
	微小肉芽腫	軽微	4		5	5			3
	動脈炎	軽微	1		1				
腎臓	検査動物数	6	0	0	6	6	0	0	6
	のう胞	軽微							1
	再生尿細管	軽微	2		3	2			2
	硝子円柱	軽微	1						
肺	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
	限局性出血	軽微			1				

表中の数値は発現動物数を示す。空欄は「0」を示す。

肝臓、腎臓及び肺でいくつかの軽微な所見が認められたが、出現状況あるいは病理組織学的性状から、何れも偶発的な変化と考えられた。

以上、本剤のラットを用いた21日間反復経皮投与毒性試験において、投与による影響は認められなかった。従って、無毒性量は雌雄ともに1000mg/kg/日であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(7) 90日間反復経口投与神経毒性

① ラットを用いた飼料混入投与による13週間反復経口投与神経毒性試験 (資料No. 1-12)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP対応)

報告書作成年 : 2009年

検体純度 :

供試動物 : SD (Cr1:CD) ラット、45-49日齢、体重 ; 雄201-266g 雌146-204g、1群雌雄各10匹

投与期間 : 13週間 (2008年7月14日-2008年10月16日)

投与方法 : 検体を0、2000、4500及び10000ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠 ;

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 少なくとも1日2回観察した。また、より詳細な状態観察 (触診) を週1回実施した。

投与に関連した症状及び死亡は認められなかった。

4500ppm群雌1匹は皮下に乳腺腫瘤を有していたため、投与41日に切迫殺されたが、投与関連性はないと考えられた。

体重変化 ; 投与開始1週間前、投与開始日 (0週)、投与期間中は週1回及び解剖前に測定した。体重増加量の変化を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	2000	4500	10000	2000	4500	10000
0-1週	93	76↓	28↓	96	74↓	43↓
1-13週	105	97	84↓	94	86	79↓
0-13週	103	93	75↓	95	84↓	72↓

Williams検定 ↓↑: p<0.05、⇕⇓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

4500及び10000ppm群雌雄では投与1週に体重増加量が統計学的に有意に減少した。その後も4500ppm群雄を除く群では対照群に比べ低値であったが、その差は投与1週より小さく回復がみられた。総体重増加量は4500ppm群雄を除いて統計学的に有意な減少を示した。

2000ppm群では投与に関連した変化は認められなかった。

摂餌量 ; 投与開始1週間前及び投与期間中は週1回測定し、平均週間摂餌量 (g/匹/週) を算出した。

摂餌量の変化を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	2000	4500	10000	2000	4500	10000
投与開始前	101	99	98	99	88	104
1週	97	93	67	91	85	77
2-13週	98	95	87	93	96	94
1-13週	98	95	86	93	96	93

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。検定せず。

4500ppm群雄及び10000ppm群雌雄では投与1週に摂餌量の減少が認められた。その後も10000ppm群雌雄では対照群に比べ低値であったが、その差は投与1週より小さく回復がみられた。4500ppm群雌でも投与1週に摂餌量が低値を示したが、この傾向は投与開始前からみられていたため、投与関連性はないと考えられた。

2000ppm群では投与に関連した変化は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		2000	4500	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	136	308	692
	雌	153	365	775

神経行動学的検査(機能観察バッテリー検査(FOB)：Functional Observation Battery)；

投与開始前、投与2、4、8及び13週に全動物を対象に以下の項目を検査した。

a) ホームジ観察

姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、眼瞼閉鎖、自然発声

b) ハンドリング観察

ホームジからの取り出し、流涎、流涙、眼球突出、立毛、被毛の状態、ハンドリング時の発声、ハンドリングに対する反応

c) アーチ観察

警戒性、歩行、身繕い、活動性、立ち上がり回数、眼瞼閉鎖、姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、排糞、排尿

d) 用手法検査

接近反応、触覚反応、聴覚性驚愕反射、Tail pinch反応、握力、正向反射、体温、着地開脚幅、体重、瞳孔縮小反応

e) 自発運動量

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

ホームジ観察では、投与による影響は認められなかった。4500ppm群の雌1匹で投与4、8及び13週に8の字型の反復活動が認められたが、中間用量群のみで認められた変化であり、投与関連性はないと考えられた。

ハンドリング観察では、投与による影響は認められなかった。

アーチ観察では、投与による影響は認められなかった。4500または10000ppm群雌で投与4週に立ち上がり回数の有意な低下がみられたが、用量相関性が認められなかったため、投与関連性はないと考えられた。また、10000ppm群雌で投与8週に身繕い回数の僅かな低下、4500及び10000ppm群雄で投与13週に排尿頻度が増加したが、何れも検査間に一貫性がなく、投与関連性はないと考えられた。

用手法検査では、平均体重が10000ppm群雄で投与2、4、8及び13週に対照群と比較し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

て14-16%減少し、4500及び10000ppm群雌で投与13週に約10%減少した。体重に対する影響は週1回の定期測定でも確認されており、投与に関連した変化であった。また、10000ppm群雄では前肢握力の低下及び全身性の振戦が認められたが、検査間に一貫性がない、あるいは対照群でも認められた変化であったため、投与関連性はないと考えられた。

自発運動量測定では、いくつかの有意な変化が認められたが、検査間に一貫性はなく、何れの検査時期においても総量に影響はみられなかったことから、投与関連性はないと考えられた。

投与量 (ppm)	検査時期	雄				雌			
		0	2000	4500	10000	0	2000	4500	10000
アリーナ観察									
立ち上がり回数 <sup>1)</sup>	4週					24.5	19.7	14.2↓	18.2↓
身繕い回数 <sup>2)</sup> (グレード0:なし)	8週					4/10	4/10	3/9	8/10
排尿 <sup>2)</sup> (グレード0:なし) (グレード1:少量) (グレード2:中量) (グレード3:大量)	13週	8/10 0/10 0/10 2/10	7/10 2/10 0/10 1/10	3/10 5/10 1/10 1/10	3/10 6/10 1/10 0/10				
用手法検査									
体重 <sup>3)</sup>	2週	100	99	97	86↓				
	4週	100	100	97	84↓				
	8週	100	101	96	84↓				
	13週	100	102	86	84↓	100	94	90↓	89↓
前肢握力 <sup>1)</sup>	2週	0.77	0.74	0.73	0.70↓				
	4週	0.91	0.89	0.87	0.79↓				
全身性の振戦 <sup>2)</sup>	2週	0/10	1/10	0/10	3/10				
	4週	0/10	0/10	1/10	3/10				
	8週	0/10	2/10	0/10	1/10				
	13週	1/10	1/10	0/10	0/10				
自発運動量 <sup>1)</sup>									
6-12分	高ドーム	13週				87.8	124.7	147.0↑	131.4↑
	低ドーム	2週				161.4	50.5↓	68.2↓	137.4
30-36分	高ドーム	8週	24.8	8.3↓	10.9↓	7.1↓			
		13週	38.3	27.6	41.2	4.1↓			
36-42分	低ドーム	4週				134.8	73.9	86.4	71.7↓
42-48分	低ドーム	8週	87.4	33.2	94.8	7.0↓			
48-54分	低ドーム	8週	52.7	44.5	54.6	1.6↓			

Williams, Dunnett, Shirley検定 ↓↑: p<0.05, ↓↑: p<0.01

1) 表中の数値は実測値を表す。2) 表中の数値は発現動物数/検査動物数を表す。

3) 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

肉眼的病理検査；投与期間終了後に全動物を対象に、グルタルアルデヒド：パラホルムアルデヒド固定液を用いて灌流固定し、以下項目について検査した。

全ての外表及び開口部、脳、下垂体、脳神経、頸部臓器及び組織、胸腔、

腹腔、骨盤腔並びに内部臓器

投与による影響は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

脳重量 ; 投与期間終了後に全動物をグルタルアルデヒド・パラホルムアルデヒド固定液を用いて灌流固定し、脳を脊髄から切断して嗅球を切除した後、脳重量を測定した。

脳重量の変化を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	2000	4500	10000	2000	4500	10000
最終体重	102	95	85↓	94	91	88↓
実重量	100	100	98	99	97	99
相対重量	98	105	116↑	105	107	111↑

Williams検定 ↓↑: p<0.05、↓↑: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

10000ppm群では対照群と比較して脳相対重量の有意な増加が認められたが、実重量に変化は認められなかったことから、低体重に伴う二次的影響と考えられた。

解剖学的計測 ; 大脳半球の吻側部から小脳の最尾側部までの長さ及び最大幅を計測した。

投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査 ; 対照群及び10000ppm群の雌雄各5匹を対象に、以下の組織の病理組織標本を作製し鏡検した。なお、坐骨神経及び脛骨神経についてはジン包埋しトルジウムで染色した。その他組織についてはパラフィン包埋しヘマトキシリン染色を施した。

脳(横断面) : 前脳、中脳、小脳、橋及び延髄

脊髄(横断及び縦断面) : 頸部(C3~C6)及び腰部膨大部(L1~L4)

脊髄神経節 : 頸部(C3~C6)及び腰部(L1~L4)

脊髄神経背根(縦断面) : 頸部(C3~C6)及び腰部(L1~L4)

脊髄神経腹根(縦断面) : 頸部(C3~C6)及び腰部(L1~L4)

眼球(網膜 : 縦断面)

視神経(縦断面)

骨格筋(腓腹筋 : 横断面)

坐骨神経(坐骨切痕及び大腿中央部 : 横断及び縦断面)

脛骨神経(膝部及び腓骨筋分枝 : 横断及び縦断面)

投与による影響は認められなかった。

以上、本剤のラットを用いた混餌投与による13週間反復経口投与神経毒性試験において、神経毒性または神経病理組織学的変化は認められず、4500及び10000ppm群雌雄では体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。

従って、神経毒性に対する無毒性量は10000ppm(雄692mg/kg/日、雌775mg/kg/日)、一般毒性に対する無毒性量は2000ppm(雄136mg/kg/日、雌153mg/kg/日)であると判断された。