

(資料 No. 22-2)

(2) ラットを用いた混飼投与による2年間反復経口投与/発がん性併合試験 (その2)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 1998年

検体の純度 :

供試動物: ラット CD 系 1 群雌雄各 70 匹 開始時約 6 週齢

52 週に雌雄各 20 匹を中間屠殺した。残りの動物は 104 週まで投与を継続した。

試験期間: 2 年間 (1995 年 12 月 6 日~1997 年 12 月 19 日)

投与方法: 検体を基礎飼料と混合し、プレミックスを調製した。これに基礎飼料を加えて希釈し、350、2800 及び 22400ppm (有効成分換算濃度は各 249、1994 及び 15949ppm) の各濃度の混飼飼料を調製した。飼料の調製は毎週行った。動物には混飼飼料を自由に摂食させた。

観察項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 外観及び異常行動の有無と生死は毎日観察した。

検体投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

52 週間までは、雌雄ともに、死亡に対する被験物質の影響は認めなかった。その後は、22400 ppm 群の雌雄で死亡率の低下がみられ、対照群を含む他の群よりも生存率が高くなった。これは、雄では 75 週目 (525 日目) 以降、雌では 71 週目 (497 日目) 以降、試験終了時まであきらかであった。

試験終了時の死亡数及び死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	350	2800	22400
死亡数/ (死亡率 %)	雄	26/(37)	29/(41)	26/(37)	17/(24)
	雌	36/(51)	36/(51)	35/(50)	18/(26)

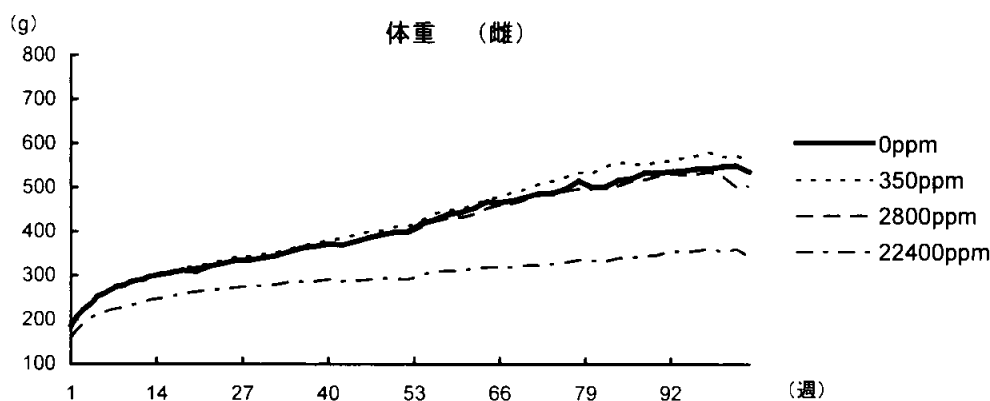
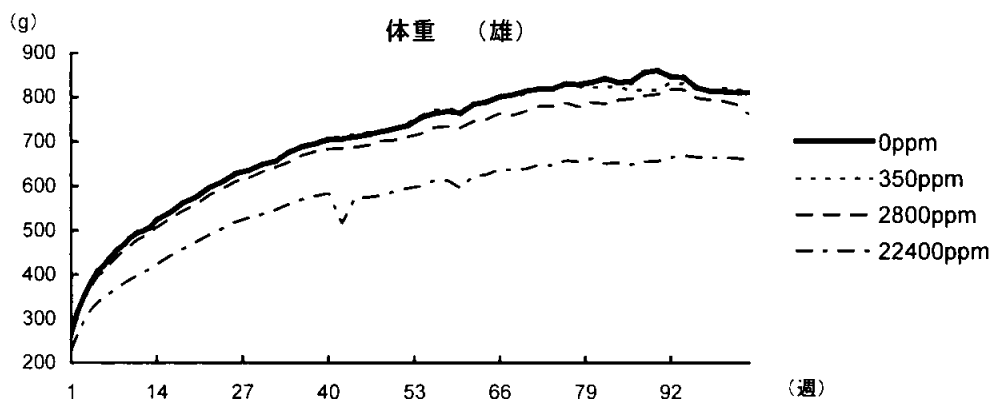
体重変化; 14 週までは毎週 1 回、その後は 2 週間に 1 回測定した。

22400 ppm において、体重が対照群に比して 52 週目で雄 19%、雌 27%、104 週では雄 19%、雌 36%、それぞれ下回った。この傾向は 1 週目から一貫しており、統計学的に有意 ( $p < 0.05$ ; Dunnett's test) に認められた。104 週間の投与期間を通じた体重増加量でみた場合では、雄で 25%、雌で 51%、それぞれ対照群を下回った。

350 および 2800 ppm では雌雄いずれにも、体重および体重増加量に対する投与の影響は

認められなかった。

以下に平均体重の推移のグラフと期間毎の体重増加量を示した。



投与期間 (週)	投与量 ppm	体重増加量 (g)							
		雄				雌			
		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
0-13		298	298 (100)	288 (97)	203* (68)	138	144 (104)	138 (100)	85* (62)
0-26		419	421 (100)	403 (96)	310* (74)	174	184 (106)	177 (102)	113* (65)
0-52		527	534 (101)	503 (95)	386* (73)	239	254 (106)	236 (99)	131* (55)
0-104		602	604 (100)	554 (92)	451* (75)	375	405 (108)	344 (92)	183* (49)

( ) 内の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

\*  $p < 0.05$  (Dunnnett's test)

摂餌量；摂餌量は、14週までは毎週1回、その後は4週間毎に測定した。

22400 ppm では、1週目の摂餌量が対照値を顕著に下回った(雄 36%、雌 42%)。その後も、摂餌量は対照群に比して試験期間を通して、有意 ( $p < 0.05$ ) に低かった。

以下に期間毎の平均摂餌量を示した。

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

投与期間 (週)	投与量 ppm	摂餌量 (g)							
		雄				雌			
		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
1-13	27.6	27.5 (100)	26.9 (97)	21.8 (79)	20.5	20.9 (100)	19.9 (97)	14.4 (70)	
1-27	27.6	27.5 (100)	27.1 (98)	22.4 (81)	20.5	20.8 (100)	20.0 (98)	14.6 (71)	
1-54	27.8	27.5 (99)	27.0 (97)	22.7 (82)	21.0	21.4 (99)	20.5 (98)	14.9 (71)	
1-102	27.8	27.6 (99)	26.9 (97)	23.2 (83)	22.2	22.8 (99)	22.0 (99)	16.0 (72)	

( ) 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を下表に示した。

投与量 (ppm)		350	2800	22400
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	14.6 (10.6)	118 (84)	958 (682)
	雌	19.6 (14.0)	158 (112)	1223 (871)

( ) は有効成分換算

飲水量；投与 9、16、32 及び 48 週目に各群 20 匹の動物について 4 日間にわたって測定した。

その結果、22400ppm ではすべての測定時点で雌雄ともに飲水量が減少した。(雄：13～21%、雌：21～32%)

2800ppm 以下では影響はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前は全動物について、その後は対照群及び最高濃度群

の全生存動物について中間屠殺及び最終屠殺の前に眼の検査を行った。

対照群と投与群に差は認められなかった。

臨床検査；投与後 3、6、12、18 及び 24 ヶ月時に雌雄各投与群の 10 匹について、エーテル麻酔下で

眼窩静脈叢より血液を採取した。また、10 匹について一晚採尿ケージに入れて採尿した。

血液学的検査；採取した血液について、以下の項目を検査した。

赤血球数 (RBC)、ヘマトクリット値 (HCT)、ヘモグロビン量 (HB)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、網状赤血球数 (RET)、白血球数 (WBC)、好中球 (NEUT)、リンパ球 (LYMP)、単球 (MONO)、好酸球 (EOS)、好塩基球 (BASO)、大型非染色性球 (LUC)、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)

以下に対照群と比し、統計学的有意差のみられた項目を次頁の表に示す。

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

性別	雄														
	350					2800					22400				
投与量 (ppm)	350					2800					22400				
検査時期 (月)	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
RBC						96 ↓									
HB						97 ↓	96 ↓								
HCT							96 ↓					96 ↓			
EOS		50 ↓			50 ↓							50 ↓			50 ↓
BASO		0 ↓ <sup>#</sup>										0 ↓ <sup>#</sup>			
MCHC								99 ↓							

性別	雌														
	350					2800					22400				
投与量 (ppm)	350					2800					22400				
検査時期 (月)	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
RET															63 ↓
HB											96 ↓				
HCT											95 ↓				
MONO	100* <sup>#2</sup>	100* <sup>#3</sup>					100* <sup>#2</sup>				150 ↑		150 ↑		
LUC	0 ↓ <sup>#2</sup>														
PT											106 ↑				
MCV													97 ↓		
WBC													135 ↑		
LYMP													143 ↑		
MCHC															103 ↑

↑ ↓ (または \*) : P<0.05、↑ ↓ : P<0.01、(Dunnnett's test)

数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものを。

<sup>#</sup> 対照群 0.1(×10<sup>9</sup>/L)に対して 0.0(×10<sup>9</sup>/L)

<sup>#2</sup> 対照群 0.1(×10<sup>9</sup>/L)に対して 0.0(×10<sup>9</sup>/L)

<sup>#3</sup> 対照群と平均値は同じだが、SDまたはn数が異なるため有意となった。

雌雄共に統計学的有意差が散見されたが、いずれも用量相関性が認められないか、対照群の値と比しても、変動幅は僅かのものであり、毒性学的に有意なものとは考えられず、検体に起因する影響とは思われなかった。

血液性化学的検査：採取した血液から、以下の項目を検査した。

総蛋白 (PROT)、アルブミン (ALB)、総グロブリン (GLOB)、A/G 比 (A/G)、カルシウム (CA)、リン (PO4)、ナトリウム (NA)、カリウム (K)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CREA)、グルコース (GLUC)、総コレステロール (CHOL)、総ビリルビン (TBIL)、クロール (CL)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ<sup>\*</sup> (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ<sup>\*</sup> (ALT)、アルカリホスファターゼ (AP)、G-グルタミルトランスアミナーゼ<sup>\*</sup> (GGT)、クレアチニンキナーゼ (CPK)

対照群と比し、統計学的有意差のみられた項目を次頁の表に示す。

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

性別	雄														
	350					2800					22400				
投与量(ppm)	350					2800					22400				
検査時期(月)	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
PROT	96↓		97↓			96↓		96↓							
GLOB	94↓		95↓			93↓		95↓					95↓		
A/G			113↑					113↑	113↑				113↑		
ALT						79↓					75↓				
AP											133↑				
PO4		87↓					86↓					90↓			
CHOL									92↓					63↓	78↓
UREA														65↓	78↓

性別	雌														
	350					2800					22400				
投与量(ppm)	350					2800					22400				
検査時(月)	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
PROT											90↓	91↓	92↓		109↑
ALB								94↓			91↓	90↓	93↓		111↑
GLOB											90↓	92↓	122↑		
A/G				111↑			91↓		111↑				110↑	111↑	111↑
GLUC		112↑									89↓				88↓
TBIL	129↑														
ALT											69↓	50↓	59↓		
AP	76↓													161↑	
UREA		125↑	117↑				118↑								85↓
CPK							65↓								
CREA		107↑					109↑					113↑			
PO4														89↓	86↓
NA														101↑	
CL															98↓

↑ ↓ : P<0.05、↑ ↓ : P<0.01、(Dunnnett's test)

数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

雌雄共に統計学的有意差が散見されたが、いずれも対照群の値と比して、変動幅はわずかなものであり、再現性や用量相関性を認めず、検体に起因する影響とは思われなかった。

尿検査：採取した尿について、以下の項目を検査した。

pH、蛋白、糖、ケトン、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、外観、尿量、比重、細菌、赤血球、上皮細胞、リン酸結晶、尿酸結晶、円柱、白血球、精子、沈渣物の色調

雌雄いずれについても、投与の影響はみられなかった。

剖検：52週に雌雄各群20匹(中間屠殺)について、104週の試験終了時は全生存動物について、エーテル麻酔下で腹部大動脈から放血して屠殺し、肉眼的に観察し、記録した。

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

雌雄のいずれにおいても、投与に起因すると思われる所見は認められなかった。

臓器重量：中間及び試験終了時の最終屠殺動物の以下の臓器について、重量を測定した。また、体体重比を求めた。

肝臓、精巣、脳、腎臓、卵巣、副腎、脾臓及び心臓

以下に対照群と比し、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別		雄						雌					
検査時期 (週)		52		104		52		104		52		104	
投与量 (ppm)		350	2800	22400	350	2800	22400	350	2800	22400	350	2800	22400
体重		100	98	84↓	101	94	81↓	102	100	71↓	107	96	65↓
脳	対体重比	119↑			124↑			138↑			150↑		
肝	重量	85↓			84↓			69↓			70↓		
心	重量	88↓			86↓			79↓			75↓		
	対体重比	104↑						109↑					
腎臓	重量				88↓						86↓		
	対体重比	111↑									130↑		
副腎	重量	92↓						77↓					
脾臓	重量							83↓			56↓		
	対体重比							112↑					
卵巣	重量							77↓					
精巣	対体重比	118↑			124↑								

↑ ↓ : P<0.05、↑↓ : P<0.01、(Dunnett's test)

数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

雌雄共に、22400ppmで臓器重量の低下と対体重比の増加が有意に認められた。これらはいずれも、体重低下に関連したものと考えられた。

肉眼的病理検査：雌雄いずれにおいても、投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

組織学的検査：全ての動物について、以下の臓器および組織を摘出し、10%中性緩衝ホルマリンに、眼については Davidson 固定液で固定し、ヘマトキシリン・エオシンで染色標本を作製して病理組織学的検査を行った。

さらに、雄の対照群および高用量群の最初の5匹については、脳脈絡叢の切片を作製し、ズダンブラック（凍結切片）、過ヨウ素酸 Schiff（パラフィン切片）またはトルイジンブルー（樹脂切片）で染色した。

副腎、大動脈（腹部）、脳、盲腸、凝固腺、結腸、横隔膜、十二指腸、精巣上部、眼球、大腿及び関節（骨）、ハーダー氏腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺（眼窩外）、肝臓、肺（注入固定）、リンパ節（頸部、腸間膜）、乳腺（雌）、中耳、筋肉（骨格筋）、食道、視神経、卵巣、卵管、睪臓、上皮小体、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下、舌下、耳下）、坐骨神経、精囊、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腹部）、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、気管、鼻甲介、膀胱、子宮（体部、子宮角、頸部）、膣、その他肉眼的異常部位

非腫瘍性病変；統計学的に有意な非腫瘍性病変については 64 頁に示した。

中間屠殺群（52 週）：

投与に関連すると考えられる唯一の所見として、最高投与量である 22400 ppm 群の全動物で脈絡叢上衣細胞空胞化が認められた。雌 1 匹についてのみ、軽度であったが、他の動物では全て中等度の変化が認められた。脈絡叢以外の臓器には空胞は認めなかった。

350 及び 2800 ppm 群では、投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

最高用量群の動物では、通常自然発生として見られる所見の発生率ないし重症度が対照群を有意に下回っていた。これらの変化としては、雌の甲状腺におけるび慢性 C 細胞過形成、また、雌雄の肝臓における小葉中心性脂肪沈着が挙げられる。

最終屠殺群（104 週）：

22400ppm 群において、脈絡叢上衣細胞の空胞化が、死亡した雌 1 匹を除く全動物で認められた。この所見の重症度は軽微が雄 1/50 匹、雌 7/50 匹、軽度が雄 10/50 匹、雌 11/50 匹、中等度が雄 29/50 匹、雌 23/50 匹、重度が雄 10/50 匹、雌 8/50 匹であった。この用量においては、他に投与に関連する所見は認めなかった。

350 及び 2800 ppm 群では、投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

脳の脈絡叢上衣細胞で認めた空胞化病変の程度と発生数を以下に示した。

性 別		雄				雌			
		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
52 週 (20)	中程度	0	0	0	20 **	0	0	0	19 **
	軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
	(合計)	0	0	0	20 **	0	0	0	20 **
104 週 (50)	重度	0	0	0	10 **	0	0	0	8 **
	中程度	0	0	0	29 **	0	0	0	23 **
	軽度	0	0	0	10 **	0	0	0	11 **
	軽微	0	0	0	1	0	0	0	7 **
	(合計)	0	0	0	50 **	0	0	0	49 **

( ) の数字は検査動物数

\*\* : P<0.01、(Fisher 検定/ 申請者により実施)

腫瘍性病変；腫瘍性病変の発生率については 65~71 頁に示した。

投与に関連する腫瘍の発生率の上昇はなかった。

22400 ppm では、乳腺または下垂体の腫瘍を有する雌の数が対照群を有意に下回り、雄では、腸間膜リンパ節の血管腫瘍の発生率も低かった。

プロパモカルブ塩酸塩を最高 22400ppm で 104 週間ラットに混餌投与したが、発がん性は認められなかった。

この試験における無毒性量は、22400ppm で認められた体重低下、摂餌量減少および脈絡叢上衣細胞の空胞化に基づき、雌雄共に 2800ppm (雄：118 mg/kg/日、雌：158 mg/kg/日) \* と考えられた。

\* ( )

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

非腫瘍性病変の発生数

検査時期	所見		性別及び投与群 (ppm)							
			雄				雌			
			0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
52週	臓器	/ 検査動物数	20 <sup>#1</sup>	20 <sup>#1</sup>	20	20	20 <sup>#2</sup>	20	20 <sup>#1</sup>	20 <sup>#1</sup>
	脳	脈絡叢上衣細胞空胞化 (中程度)	0	0	0	20**	0	0	0	19 <sup>#1**</sup>
		脈絡叢上衣細胞空胞化 (軽度)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	ヒマン性C細胞過形成	3	6	6	3	8 <sup>#1</sup>	12	9	2*
		限局性C細胞過形成	2	2	3	3	1	1	1	2 <sup>#1</sup>
	肝臓	小葉中心性脂肪沈着	11	12	10	5	14 <sup>#1</sup>	14	11	6**
	精巣	限局性間質細胞過形成	5	1	1	0*				
膣	発情休止期像					12 <sup>#2</sup>	11	10	5 <sup>#1*</sup>	
	発情期像					4	5	6	11*	
死亡・切迫	臓器	/ 検査動物数	25	28	26	17	34	36	34	17
	脳	脈絡叢上衣細胞空胞化 (合計)	0	0	0	17**	0	0	0	16**
	心臓	限局性心筋炎	23	23	23	11*	14	17	16	12*
	肝臓	好塩基性細胞巣 (虎斑状)	8	5	6	2	14	23*	21	9
	肝臓	明細胞/くもり硝子様細胞巣	5	8	3	2	11	6	3*	3
	脾臓	髄外造血亢進	11	20*	15	7	24	31	21	15
	膣	内腔炎症細胞					9	3*	7	1
最終屠殺	臓器	/ 検査動物数	25	22	24	33	16	14	16	33
	脳	脈絡叢上衣細胞空胞化 (合計)	0	0	0	33**	0	0	0	33**
	甲状腺	限局性C細胞過形成	14	10	6*	13	6	3	3	13
	心臓	限局性心筋炎	24	20	20	31	14	8	14	17*
	肝臓	小炎症巣	12	7	4*	12	2	5	2	4
	肝臓	小葉周辺性脂肪化	5	0*	4	4	0	0	2	0
	脾臓	髄外造血亢進	23	13**	20	24	16	13	14	26*
	精巣	動脈炎	5	1	6	1*	0	0	0	0
卵巣	セルトリ様細胞管状過形成					11	9	4*	7**	
全動物	臓器	/ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	脳	脈絡叢上衣細胞空胞化 (合計)	0	0	0	50**	0	0	0	49**
	肝臓	好塩基性細胞巣 (虎斑状)	18	17	20	22	28	35	37*	32
	精巣	動脈炎	7	3	8	1*				
	乳腺	腺胞増生					43	34*	42	39
	膣	内腔炎症細胞					10	3*	7	3*

<sup>#1</sup>死亡例1例を含む

<sup>#2</sup>死亡例2例を含む

\*: P<0.05、\*\*: P<0.01、(Fisher検定/申請者により実施)



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

腫瘍性病変の発生数 (1)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
	臓器	所見 / 検査動物数	20 <sup>♂1</sup>	20 <sup>♂1</sup>	20	20	20 <sup>♀2</sup>	20	20 <sup>♀1</sup>	20 <sup>♀1</sup>
52週	脳下垂体	腺腫 (b)	3	1	3	0	4 <sup>♀1</sup>	7	6	2
		中間部腺腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	血管腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	島細胞腺腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚	基底細胞腺腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	C細胞腺腫 (b)	1	1	1	0	1	1	0	1
	骨	骨肉腫 (m)	0	0	0	0	0	0	1 <sup>♀1</sup>	0
	造血組織	悪性リンパ腫 (m)	0	0	0	0	0	0	1	1
乳腺	線維腺腫 (b)	0	0	0	1	2	2	1	0	

(Fisher 検定 / 申請者により実施)

<sup>♂1</sup> 死亡例 1 例を含む

<sup>♀2</sup> 死亡例 2 例を含む

(b) : 良性

(m) : 悪性

腫瘍性病変の発生数 (2) -1

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400	
	臓器	所見 / 検査動物数	25	28	26	17	34	36	34	17	
死亡・ 切迫 屠殺	脳	良性顆粒細胞腫 (b)	0	1	0	0	1	0	0	0	
		星状膠細胞腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	
		血管腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	0	
	脳下垂体	腺腫 (b)	15	12	13	6	24	31	26	11	
		腺癌 (m)	0	0	0	0	2	1	2	1	
		悪性神経鞘腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	脊髄 (頸部)	星状膠細胞腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	心臓	血管肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	肝臓	肝細胞腺癌 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	
		移行上皮乳頭腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	腎臓	尿細管腺腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0	
		副腎	皮質腺腫 (b)	0	1	2	1	1	0	0	0
			皮質腺癌 (m)	1	1	0	0	0	0	0	0
			良性褐色細胞腫 (b)	3	3	1	1	1	0	0	0
			悪性褐色細胞腫 (m)	1	0	0	1	0	0	0	0
	盲腸	肉腫 NOS (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	腸間膜リンパ節	血管腫 (b)	0	3	1	0	0	0	0	1	
		血管肉腫 (m)	2	0	0	0	0	0	0	0	
	膵臓	島細胞腺腫 (b)	0	1	4	0	0	0	0	0	
		島細胞腺癌 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	骨	骨肉腫 (m)	0	3	0	0	0	0	0	0	
	造血組織	悪性リンパ腫 (m)	0	1	1	0	0	0	0	0	
		組織球性肉腫 (m)	1	1	1	1	0	1	0	1	
		顆粒性大リンパ球 (LGL) 白血病 (m)	1	1	1	2	2	1	0	0	
		骨髄性白血病 (m)	1	1	0	0	0	0	0	0	
	脾臓	血管肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	
	胸腺	悪性胸腺腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	
	上皮小体	腺腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	甲状腺	C細胞腺腫 (b)	2	4	7	3	4	3	9	7*	
		C細胞腺癌 (m)	0	0	0	1	0	1	1	0	
		濾胞細胞腺腫 (b)	0	1	1	0	0	0	0	1	
	膀胱	移行上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	腹腔	肉腫 NOS (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	
皮膚	基底細胞腺腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	1		
	良性角化棘細胞腫 (b)	0	3	3	2	0	0	0	0		
	皮脂腺腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0		
	脂肪腫 (b)	1	0	1	1	1	1	0	0		
	脂肪肉腫 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0		
	線維腫 (b)	2	3	2	1	1	3	3	0		
	線維肉腫 (m)	0	0	0	0	0	2	1	0		
	肉腫 NOS (m)	2	3	3	1	2	0	0	0		

\* : P<0.05、(Fisher 検定/ 申請者により実施)

(b) : 良性

(m) : 悪性

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

腫瘍性病変の発生数 (2) -2

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
	臓器	所見 / 検査動物数	25	28	26	17	34	36	34	17
死亡・ 切迫 屠殺	外耳道皮脂腺	腺癌 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	尾	良性神経鞘腫 (b)	0	0	0	0	0	0	1	0
	前立腺	腺癌 (m)	0	1	0	1				
	精巣	間細胞腺腫 (b)	0	1	0	2				
	精囊	腺癌 (m)	0	1	0	0				
	乳腺	線維腺腫 (b)					26	29	23	13
		腺癌 (m)					4	11	5	5
	卵巣	良性卵胞膜腫 (b)					1	0	0	0
	子宮	良性顆粒細胞腫 (b)					0	1	0	0
		内膜腺腫 (b)					0	1	0	0
内膜肉腫 (m)						0	0	0	1	
膣	上皮内癌 (m)					0	0	0	1	

(Fisher 検定/ 申請者により実施)

(b) : 良性

(m) : 悪性

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

腫瘍性病変の発生数 (3) -1

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
	臓器	所見 / 検査動物数	25	22	24	33	16	14	16	33
最 終 屠 殺	脳	良性顆粒細胞腫 (b)	0	0	0	2	1	0	0	2
		星状膠細胞腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
		血管腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	脳下垂体	腺腫 (b)	14	9	15	17	10	8	10	23
		腺癌 (m)	0	1	0	0	2	2	1	0
		中間部腺腫 (b)	0	2	0	0	0	0	0	1
	眼球	良性黒色腫 (b)	0	0	2	0	0	0	0	0
	肺	腺腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	1
	肝臓	肝細胞腺癌 (m)	1	0	0	1	0	0	0	0
		胆管腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1
	副腎	皮質腺腫 (b)	0	1	1	1	0	0	0	1
		皮質腺癌 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
		良性褐色細胞腫 (b)	4	1	4	4	0	0	1	0
		悪性褐色細胞腫 (m)	1	0	0	4	0	0	0	0
		神経節細胞腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	血管腫 (b)	1	5	0	1	1	0	0	1
		血管肉腫 (m)	3	5	2	0	0	0	0	2
	脾臓	島細胞腺腫 (b)	4	3	3	0*	0	0	1	0
		腺腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0
	造血組織	組織球性肉腫 (m)	0	0	3	0	0	0	0	0
		顆粒性大リンパ球 (LGL) 白血病 (m)	0	0	1	1	0	0	2	1
	脾臓	血管腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1
	胸腺	血管肉腫 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	上皮小体	腺腫 (b)	0	1	0	1	1	0	0	0
	甲状腺	C細胞腺腫 (b)	7	6	9	9	3	5	4	5
		C細胞腺癌 (m)	1	0	0	0	1	0	0	0
		濾胞細胞腺腫 (b)	1	0	0	1	0	0	0	0
		濾胞細胞腺癌 (m)	2	0	0	1	0	0	1	0
	膀胱	移行上皮乳頭腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	腸間膜	中皮腫 (m)	1	0	1	0	0	0	0	0
皮膚	基底細胞腺腫 (b)	1	0	1	2	0	0	0	0	
	扁平上皮乳頭腫 (b)	0	2	0	1	0	2	0	0	
	扁平上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	良性角化棘細胞腫 (b)	4	5	4	3	0	1	0	0	
	脂肪腫 (b)	0	1	1	2	0	1	1	0	
	線維腫 (b)	2	2	4	2	0	1	0	1	
	血管肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	
精巣	間細胞腺腫 (b)	3	3	2	1					
乳腺	線維腺腫 (b)	1	0	0	0	14	12	13	14**	
	腺癌 (m)					2	1	4	2	

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01、(Fisher 検定/ 申請者により実施)

(b) : 良性

(m) : 悪性

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

腫瘍性病変の発生数 (3) -2

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
	臓器	所見 / 検査動物数	25	22	24	33	16	14	16	33
最終屠殺	卵巣	良性卵胞膜腫 (b)					0	0	0	1
		悪性卵胞膜腫 (m)					1	0	0	0
	子宮	内膜腺腫 (b)					0	1	0	1
		内膜腺癌 (m)					0	0	0	1
		内膜肉腫 (m)					1	0	0	1

(Fisher 検定/ 申請者により実施)

(b) : 良性

(m) : 悪性

腫瘍性病変の発生数 (4) -1

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
	臓器	所見 / 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	脳	良性顆粒細胞腫 (b)	0	1	0	2	2	0	0	2
		星状膠細胞腫 (m)	0	0	2	0	0	0	0	0
		血管腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	0
	脳下垂体	腺腫 (b)	29	21	28	23	34	39	36	34
		腺癌 (m)	0	1	0	0	4	3	3	1
		中間部腺腫 (b)	0	2	0	0	0	0	0	1
		悪性神経鞘腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脊髄 (頸部)	星状膠細胞腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	眼球	良性黒色腫 (b)	0	0	2	0	0	0	0	0
	心臓	血管肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺	腺腫 (b)	0	0	0	1	0	0	0	1
	肝臓	肝細胞腺癌 (m)	1	0	0	2	0	0	0	0
		胆管腺腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	移行上皮乳頭腫 (b)	0	1	0	0	0	0	0	0
		尿細管腺腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
	副腎	皮質腺腫 (b)	0	2	3	2	1	0	0	1
		皮質腺癌 (m)	1	1	0	0	0	0	0	1
		良性褐色細胞腫 (b)	7	4	5	5	1	0	1	0
		悪性褐色細胞腫 (m)	2	0	0	5	0	0	0	0
		神経節細胞腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
	盲腸	肉腫 NOS (m)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	血管腫 (b)	1	8*	1	1	1	0	0	2
		血管肉腫 (m)	5	5	2	0	0	0	0	2
	膵臓	島細胞腺腫 (b)	4	4	7	0	0	0	1	0
		島細胞腺癌 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0
		腺腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0
	骨	骨肉腫 (m)	0	3	0	0	0	0	0	0
	造血組織	悪性リンパ腫 (m)	0	1	1	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (m)	1	1	4	1	0	1	0	1
		顆粒性大リンパ球 (LGL) 白血病 (m)	1	1	2	3	2	1	2	1
		骨髄性白血病 (m)	1	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓	血管腫 (b)	0	0	0	0	0	0	0	1
		血管肉腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
胸腺	血管肉腫 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	悪性胸腺腫 (m)	0	0	1	0	0	0	0	0	
上皮小体	腺腫 (b)	0	1	0	1	2	0	0	0	
甲状腺	C細胞腺腫 (b)	9	10	16	12	7	8	13	12	
	C細胞腺癌 (m)	1	0	0	1	1	1	1	0	
	濾胞細胞腺腫 (b)	1	1	1	1	0	0	0	1	
	濾胞細胞腺癌 (m)	2	0	0	1	0	0	1	0	

\* : P<0.05、(Fisher 検定/ 申請者により実施)

(b) : 良性

(m) : 悪性

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

腫瘍性病変の発生数 (4) -2

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	350	2800	22400	0	350	2800	22400
	臓器	所見 / 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	膀胱	移行上皮乳頭腫 (b)	0	0	1	0	0	0	0	0
		移行上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腹腔	肉腫 NOS (m)	0	0	1	0	0	0	0	0
	腸間膜	中皮腫 (m)	1	0	1	0	0	0	0	0
	皮膚	基底細胞腺腫 (b)	1	0	2	2	0	0	0	1
		扁平上皮乳頭腫 (b)	0	2	0	1	0	2	0	0
		扁平上皮癌 (m)	0	0	0	0	0	1	0	0
		良性角化棘細胞腫 (b)	4	8	7	5	0	1	0	0
		皮脂腺腫 (b)	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (b)	1	1	2	3	1	2	1	0
		脂肪肉腫 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維腫 (b)	5	5	6	3	1	5	3	1
		線維肉腫 (m)	0	0	0	0	0	2	1	0
		肉腫 NOS (m)	2	3	3	1	2	0	0	0
	血管肉腫 (m)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	外耳道皮脂腺	腺癌 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
	尾	良性神経鞘腫 (b)	0	0	0	0	0	0	1	0
	前立腺	腺癌 (m)	0	1	0	1	0	0	0	0
	精巣	間細胞腺腫 (b)	3	4	2	3	0	0	0	0
	精囊	腺癌 (m)	0	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	線維腺腫 (b)	1	0	0	0	40	41	36	27**
		腺癌 (m)	0	0	0	0	6	12	9	7
	卵巣	良性卵胞膜腫 (b)	0	0	0	0	1	0	0	1
		悪性卵胞膜腫 (m)	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮	良性顆粒細胞腫 (b)	0	0	0	0	0	1	0	0
		内膜腺腫 (b)	0	0	0	0	0	2	0	1
		内膜腺癌 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1
内膜肉腫 (m)		0	0	0	0	1	0	0	2	
陰	上皮内癌 (m)	0	0	0	0	0	0	0	1	
合計	腫瘍数	良性	68	75	84	65	92	102	92	87
		悪性	18	22	18	20	17	21	18	18
	腫瘍総数		86	97	102	85	109	123	110	105
	担腫瘍動物数	良性	29	24	27	22	35	31	33	29
		悪性	17	19	17	18	14	18	16	18
	担腫瘍動物総数		46	43	44	40	49	49	49	47

\*\* : P<0.01、(Fisher 検定/ 申請者により実施)

合計については有意差検定なし

(b) : 良性

(m) : 悪性

(3) マウスを用いた混餌投与による発癌性試験

(資料No.23)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体純度：

試験動物：CD-1マウス、1群雌雄各60匹、投与開始時5週齢

体重 雄20～28g、雌16～23g

試験期間：104週間(1978年6月1日～1980年5月29日)

投与方法：検体を0、20、100及び500ppmの濃度で飼料に混合し、24ヵ月間にわたって自由摂取させた。検体を混合した飼料は週に1回調製した。

(申請者注：投与量は有効成分表示)

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

投与に関連のある症状は認められなかった。対照群を含む全群で投与後26週目に闘争によると思われる泌尿生殖器周囲の潰瘍形成及び脱毛がみられた。

以下に投与終了時における死亡数(%)を示す。

投与量(ppm)	0	20	100	500
雄	43(72)	47(78)	45(75)	50(83)
雌	33(55)	32(53)	30(50)	36(60)

体重変化；投与開始時及び投与開始後は週1回測定した。

投与による影響はみられなかった。

摂餌量及び飼料効率；各ケージ毎に週1回測定し、投与開始後13週間については飼料効率も算出した。

対照群と比較して全投与群の摂餌量に差はみられなかった。投与期間後期に20及び500ppm群雄で一時的な摂餌量の増加がみられたが、この時期の摂餌量は各ケージ内の生存動物数の多少により影響されることから、投与による影響ではないと考えられた。飼料効率は全群で同等であった。

検体摂取量；摂餌量及び体重から得た平均検体摂取量(mg/kg/日)は以下の通りであった。

投与量(ppm)	20	100	500
雄	2.08	9.72	52.2
雌	2.14	10.83	54.1



肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺及び終了時の全生存動物について剖検を行った。  
投与による異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び500ppm群の全動物の下記の組織の病理組織標本を作成し、  
病理組織学的に検査した。

また、低及び中間投与群の全動物について、肉眼的検査で腫瘍と思われる異常  
組織の病理組織標本を作成し検査した。

副腎、大動脈、骨髄、脳、盲腸、結腸、十二指腸、眼球、大腿骨、  
胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、乳腺、食道、卵巣、  
膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、皮膚、脊髄、脾臓、  
胃、精巣、甲状腺、気管、膀胱、子宮、腫瘤及び肉眼的異常組織

(申請者注：発生率はFisher検定を用いて申請者が統計処理を行った)

非腫瘍性病変；主な非腫瘍性病変を頁57～59に示す。

死亡・切迫屠殺：57頁  
最終屠殺：58頁  
全動物：59頁

投与に関連した病変は認められなかった。

加齢に伴って認められる自然発生病変が雌雄の肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胃等  
に認めら、また、各臓器にアミロイド沈着が認められた。これらの病変は本系  
統のマウスにみられる病変であり、投与に起因するものとは考えられなかった。

腫瘍性病変；認められたすべての腫瘍性病変は頁60～65に示す。

死亡・切迫屠殺；60頁  
最終屠殺：62頁  
全動物：64頁

肝臓及び肺にみられた腫瘍病変を下表に示す。

性	雄				雌				
	0	20	100	500	0	20	100	500	
投与群(ppm)	0	20	100	500	0	20	100	500	
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	
肝臓	良性肝腫瘍	10	7	14	11		4	3	
	肝癌 M	13	20	10	14			1	2
	血管腫	2		1	1			1	1
肺	腺腫	4	1	2	6	7	1	1	3
	腺癌 M	8	10	7	7	5	4	6	5

M：悪性腫瘍、空欄は病変認められず

肝腫瘍が雄の投与群に、肺腫瘍が雌雄の投与群に認められたが、これらの腫瘍  
は対照群にも多く認められていることから、投与の影響とは考えられなかった。

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

腫瘍発生の総括を下表に示した。

性	雄				雌				
投与群(ppm)	0	20	100	500	0	20	100	500	
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	
腫瘍数	良性	19	10	18	22	19	10	11	12
	悪性	31	38	27	36	30	27	30	29
総腫瘍数	50	48	45	58	49	37	41	41	
腫瘍発生動物数 (%)	31 (52)	33 (55)	27 (45)	36 (60)	31 (52)	26 (43)	30 (50)	27 (45)	

各種腫瘍の発生頻度及び腫瘍総数に、投与の影響はみられなかった。

以上の結果、プロパモカルブ塩酸塩はマウスに対し、投与に起因すると考えられる変化は認められず、無毒性量は雌雄とも500ppm（雄52.2mg/kg/日、雌54.1mg/kg/日）と判断された。

また、催腫瘍性はないものと判断された。

非腫瘍性病変発生表

—マウス—

検査時期	性		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500
	検査動物数		43	47	45	50	33	32	30	36
死亡・ 切迫屠殺	心臓	心筋変性/心筋炎	5	2	1	2		1		3
		炎症細胞	1	1						1
		血栓		1	2	1				
		心外膜炎	1	1		2	1	1		
	肺	うっ血	8	3	3	10	2		1	2
		炎症細胞	4	1	2	5	5	1	2	3
		マクロファージ	4	1	1	5	1	1	1	3
	リンパ節	過形成	3	4	2	9*	4	3	2	3
	肝臓	空胞化	7		3	12	12	4	2	6
		炎症細胞	10	1	2	10	7	2	1	3
		脂肪滴	18			25	21			14
	脾臓	髄外造血	22	7	12	26	17	9	12	14
		リンパ小節過形成	6	1	5	5	4	2	2	3
	腎臓	尿細管拡張	7	1	4	4	8	1		4
		炎症細胞	14	7	7	15	9	1	4	8
		糸球体腎炎	1	1	1	1		1	1	1
		水腎症	2	1		3	2	2	1	
		アミロイド	13	5	6	6	9	3	6	13
	精嚢	拡張/炎症細胞	10	14	9	13				
	精巣	萎縮	2	1	1	3				
		鉍物質沈着	4		1	1				
	胃	腺過形成	7	6	2	8	4	2	4	4
	子宮	内膜過形成					2	3	5	5
内腔拡張						8	5	3	4	
ポリープ						2	1	1		
卵巣	嚢胞					18	9	9	11	
	出血性嚢胞					7	6	4	7	
	アミロイド					6	6	5	12*	

空欄は病変認められず。\* : P<0.05 (Fischer検定)

非腫瘍性病変発生表

—マウス—

検査時期	性		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500
	検査動物数		17	13	15	10	27	28	30	24
最終屠殺	心臓	心筋変性/心筋炎		2		2				
		炎症細胞				1				
		血栓		2						
		心外膜炎								
	肺	うっ血								1
		炎症細胞	4		1	1	3			7*
		マクロファージ	4	1			1	1		1
	リンパ節	過形成			2	1	1			
	肝臓	空胞化	5	1	1	5	15			17
		炎症細胞	3		2	1	9		1	7
		脂肪滴	9			7	21			14
	脾臓	髄外造血	7	3		4	16	2	4	14
		リンパ小節過形成	5	3		2	4		1	4
	腎臓	尿細管拡張	2			3	3			1
		炎症細胞	8	2	1	7	20	2		13
		糸球体腎炎		1	1					1
		水腎症		1	1					
		アミロイド		1		2	4	2	1	1
	精嚢	拡張/炎症細胞	3	3	3	2				
	精巣	萎縮		1	1					
		鉍物質沈着	1	2	1					
	胃	腺過形成	7	3	6	7	6	4	7	9
	子宮	内膜過形成					8	4	5	8
内腔拡張						13	14	16	12	
ポリープ							2	1		
卵巣	嚢胞					23	14	14	16	
	出血性嚢胞					3	1	5	2	
	アミロイド					1	1	3		

空欄は病変認められず。\* : P<0.05 (Fischer検定)

非腫瘍性病変発生表

—マウス—

検査時期	性		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500
	検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	心臓	心筋変性/心筋炎	5	4	1	4		1		3
		炎症細胞	1	1		1				1
		血栓		3	2	1				
		心外膜炎	1	1		2	1	1		
	肺	うっ血	8	3	3	10	2		1	3
		炎症細胞	8	1	3	6	8	1	2	10
		マクロファージ	8	2	1	5	2	2	1	4
	リンパ節	過形成	3	4	4	10	5	3	2	3
	肝臓	空胞化	12	1	4	17	27	4	2	23
		炎症細胞	13	1	4	11	16	2	2	10
		脂肪滴	27			32	42			28
	脾臓	髄外造血	29	10	12	30	33	11	16	28
		リンパ小節過形成	11	4	5	7	8	2	3	7
	腎臓	尿細管拡張	9	1	4	7	11	1		5
		炎症細胞	22	9	8	22	29	3	4	21
		糸球体腎炎	1	2	2	1		1	1	2
		水腎症	2	2	1	3	2	2	1	
		アミロイド	13	6	6	8	13	5	7	14
	精嚢	拡張/炎症細胞	13	17	12	15				
	精巣	萎縮	2	2	2	3				
		鉍物質沈着	5	2	2	1				
	胃	腺過形成	14	9	8	15	10	6	11	13
	子宮	内膜過形成					10	7	10	13
内腔拡張						21	19	19	16	
ポリープ						2	3	2		
卵巣	嚢胞					41	23	23	27	
	出血性嚢胞					10	7	9	9	
	アミロイド					7	7	8	12	

空欄は病変認められず。\* : P<0.05 (Fischer検定)

腫瘍性病変発生表

—マウス—

検査時期	性		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500	
	検査動物数		43	47	45	50	33	32	30	36	
死亡・ 切迫屠殺	肝臓	良性肝腫瘍	7	5	9	8		1			
		肝癌 M	10	13	7	11				1	
		血管腫	1		1						
		胆管腫									
	肺	腺腫	2		1	2	2	1			
		腺癌 M	4	7	5	5	3	3	3	3	
	リンパ 網内系	リンパ肉腫 M	2	4	4	3	10	13	8	6	
		細網細胞肉腫 M	2	1		1	2	3	2	3	
		骨髄性白血病 M			1	2	3			2	
		リンパ性白血病 M			1	1	1			2	
	皮下組織	線維肉腫 M		2	2	2	1	1	1	1	
		血管肉腫 M				1					
		脂肪腫				1					
		粘液肉腫 M							1		
	脾臓	血管肉腫 M	1		2	1					
	精巣	間質細胞腫									
	精囊	線維肉腫 M	1								
		卵巣	管腺腫					1			2
			乳頭嚢腫					1	1	1	
			顆粒膜細胞腫								
		血管腫							1		
	卵巣間膜	平滑筋肉腫 M								1	
	子宮	内膜腺腫									
		内膜肉腫 M							1		
		乳頭状腺腫								1	
		平滑筋腫					2				
		平滑筋肉腫 M									
		血管腫								1	
		血管肉腫 M							1		
甲状腺	濾胞細胞癌 M										
副腎	皮質腺腫	1									
	褐色細胞腫	1									
胃	腺癌 M	1									
乳腺	腺癌 M				1	3	2	1	1		

M：悪性腫瘍、空欄は病変認められず。\*：P<0.05 (Fischer検定)

腫瘍性病変発生表

—マウス—

(つづき)

検査時期	性		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500
	検査動物数		43	47	45	50	33	32	30	36
死亡・ 切迫 屠殺	皮膚	角化棘細胞腫				1				
		扁平上皮癌 M				1		1		
		毛嚢上皮腫								
	筋肉	骨肉腫 M							1	
	骨	骨腫			1			1		
		軟骨腫								
		骨膜線維肉腫 M								1
	口蓋	扁平細胞癌 M				1				
	下垂体	腺腫								
	ハダゲ腺	腺癌 M				1				
		乳頭嚢腺腫					1			
	胆管	腺癌 M							1	
リンパ節	血管腫									

M：悪性腫瘍、空欄は病変認められず。\*：P<0.05 (Fischer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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

腫瘍性病変発生表

—マウス—

検査時期	性		雄				雌				
	投与群 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500	
	検査動物数		17	13	15	10	27	28	30	24	
最終屠殺	肝臓	良性肝腫瘍	3	2	5	3		3	3		
		肝癌 M	3	7	3	3			1	1	
		血管腫	1			1			1	1	
		胆管腫								1	
	肺	腺腫	2	1	1	4	5		1	3	
		腺癌 M	4	3	2	2	2	1	3	2	
	リンパ網内系	リンパ肉腫 M	2					1	4	2	
		細網細胞肉腫 M					3		1	1	
		骨髄性白血病 M									
		リンパ性白血病 M									
	皮下組織	線維肉腫 M								1	
		血管肉腫 M		1					1		
		脂肪腫									
		粘液肉腫 M									
	脾臓	血管肉腫 M							1		
	精巣	間質細胞腫				1					
	精囊	線維肉腫 M									
		卵巣	管腺腫					2		1	1
			乳頭嚢腫					1			
			顆粒膜細胞腫								1
	血管腫						1				
	卵巣間膜	平滑筋肉腫 M									
	子宮	内膜腺腫						1			
		内膜肉腫 M									
		乳頭状腺腫									
		平滑筋腫							1		
		平滑筋肉腫 M						1			
		血管腫					2	1			
血管肉腫 M											
甲状腺	濾胞細胞癌 M	1				1					
副腎	皮質腺腫	1			1				1		
	褐色細胞腫										
胃	腺癌 M										
乳腺	腺癌 M						1		1		

M：悪性腫瘍、空欄は病変認められず。\*：P<0.05 (Fischer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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

腫瘍性病変発生表

—マウス—

(つづき)

検査時期	性		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500
	検査動物数		17	13	15	10	27	28	30	24
最終屠殺	皮膚	角化棘細胞腫								
		扁平上皮癌 M					1			
		毛嚢上皮腫							1	
	筋肉	骨肉腫 M								
	骨	骨腫								
		軟骨腫		1						
		骨膜線維肉腫 M								
	口蓋	扁平細胞癌 M								
	下垂体	腺腫						1		
	ハタゲ腺	腺癌 M								
		乳頭嚢腺腫								
	胆管	腺癌 M								
	リンパ節	血管腫					1			

M：悪性腫瘍、空欄は病変認められず。\*：P<0.05 (Fisher検定)

腫瘍性病変発生表

—マウス—

検査時期	性		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500
	検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
全動物	肝臓	良性肝腫瘍	10	7	14	11		4	3	
		肝癌 M	13	20	10	14			1	2
		血管腫	2		1	1			1	1
		胆管腫								
	肺	腺腫	4	1	2	6	7	1	1	3
		腺癌 M	8	10	7	7	5	4	6	5
	リンパ網内系	リンパ肉腫 M	4	4	4	3	10	14	12	8
		細網細胞肉腫 M	2	1		1	5	3	3	4
		骨髄性白血病 M			1	2	3			2
		リンパ性白血病 M			1	1	1			2
	皮下組織	線維肉腫 M		2	2	2	1	1	1	2
		血管肉腫 M		1		1			1	
		脂肪腫				1				
		粘液肉腫 M							1	
	脾臓	血管肉腫 M	1		2	1			1	
	精巣	間質細胞腫				1				
	精囊	線維肉腫 M	1							
	卵巣	管腺腫					3		1	3
		乳頭嚢腫					2	1	1	
		顆粒膜細胞腫								1
		血管腫					1		1	
	卵巣間膜	平滑筋肉腫 M								1
	子宮	内膜腺腫						1		
		内膜肉腫 M							1	
		乳頭状腺腫								1
		平滑筋腫					2		1	
		平滑筋肉腫 M						1		
		血管腫					2	1		1
		血管肉腫 M							1	
	甲状腺	濾胞細胞癌 M	1				1			
副腎	皮質腺腫	2			1				1	
	褐色細胞腫	1								
胃	腺癌 M	1								
乳腺	腺癌 M				1	3	3	1	2	

M：悪性腫瘍、空欄は病変認められず。\*：P<0.05（Fischer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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

腫瘍性病変発生表

—マウス—

(つづき)

検査時期	性		雄				雌			
	投与群(ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500
	検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
最終屠殺	皮膚	角化棘細胞腫				1				
		扁平上皮癌 M				1	1	1		
		毛嚢上皮腫							1	
	筋肉	骨肉腫 M							1	
	骨	骨腫			1			1		
		軟骨腫		1						
		骨膜線維肉腫 M								1
	口蓋	扁平細胞癌 M				1				
	下垂体	腺腫						1		
	ハタゲ腺	腺癌 M				1				
		乳頭嚢腺腫					1			
	胆管	腺癌 M							1	
リンパ節	血管腫					1				

M：悪性腫瘍、空欄は病変認められず。\*：P<0.05 (Fischer検定)

(4) イヌを用いた混餌投与による慢性毒性試験

(資料No.24)

試験機関：

報告書作成年：1985年

検体純度：

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各6匹、5～8ヵ月齢

投与開始時体重 雄4.0～8.2kg、雌3.4～5.9kg

試験期間：24ヵ月間（1982年5月5日～1984年5月3日）

高投与群の雌雄各1匹（雄No.24及び雌No.48）は、24ヵ月間の投与後、29週間（1984年5月2日～1984年11月21日）の回復期間を設けた。

投与方法：検体を0、1000、3000及び10000ppmの濃度で飼料に混合し、24ヵ月間にわたり摂取させた。1日に与える飼料の量は337日目までは250g、以降は300gとした。

検体を混合した飼料は月2回調製した。

（申請者注：投与量は設定濃度）

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

いずれの群でも死亡例はみられなかった。

嘔吐、軟便及び局所的な脱毛等の症状が対照群を含む全投与群にみられたが、いずれも投与によるものとは考えられなかった。10000ppm群の雌1匹に歩行失調及び痙攣が数回みられたが、これらの症状は散発的であり投与の影響とは考えられなかった。

体重変化；投与開始から終了時まで週1回測定した。

投与による影響はみられなかった。

摂餌量；摂餌量を毎日測定した。

投与による影響はみられなかった。

検体摂取量；平均検体摂取量（mg/kg/日）は以下の通りであった。

投与量(ppm)	1000	3000	10000
雄	(22.7)	(70.5)	(242.3)
雌	(22.6)	(72.6)	(227.3)

申請者注：（）は有効成分換算値

血液学的検査：投与開始前、投与後1、2、3、4、5、6、8、10、12、15、18、21及び24ヵ月目に全動物の頸静脈から採血し、下記の項目を検査した。

赤血球数、ヘモグロビン、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)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、網状赤血球数、有核赤血球数、白血球数、白血球百分率、塗抹標本による赤血球形態、トロンボプラスチン時間、部分的トロンボプラスチン時間、トロンビン時間(TT)。  
 対照群と比較し統計学的有意差の認められた項目、背景データを次表に示す。

性	雄														
	1000				3000					10000					
投与群(ppm)	1000				3000					10000					
検査時期(月)	6	12	18	24	6	10	12	18	24	6	10	12	18	21	24
ヘモグロビン					↓89										
ヘマトクリット					↓89										
血小板数										↑142	↑138			↑161	↑139
MCV												↓94		↓95	
MCH						↓96					↓95		↓95	↓96	↓95
TT					↑112		↑110			↑110		↑112	↑111	↑117	↑113

性	雌														
	1000					3000					10000				
投与群(ppm)	1000					3000					10000				
検査時期(月)	6	8	12	18	24	6	8	12	18	24	6	8	12	18	24
ヘモグロビン		↑117		↑114			↑112					↑116			
ヘマトクリット		↑112										↑110			
血小板数															↑143
赤血球数	↑113	↑121	↑115	↑116	↑118		↑111				↑116				
MCV	↓94	↓94	↓93	↓94	↓94	↓95	↓96	↓96		↓95	↓96	↓95	↓96	↓96	↓95
MCHC	↓95	↑103	↑104			↑103	↑105	↑105	↑105		↑103	↑104	↑105	↑104	↑105
網赤血球数	↓26	↓42	↓26	↓13	↓14	↓41			↓23		↓37		↓22	↓19	↓26
白血球数											↑128				
TT															↑107

↑ ↓ : P<0.05、↑↑↑ : P<0.01 (Student-t検定)

数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

血液学的背景データ

性	雄			雌			
	検査時期(月)	7ヶ月以下	7-12ヶ月	12ヶ月以上	7ヶ月以下	7-12ヶ月	12ヶ月以上
検査動物数		282	221	106	282	221	106
ヘモグロビン		6.6-10.7	5.6-11.5	7.8-11.7	6.7-10.9	7.0-11.2	6.1-11.8
ヘマトクリット		0.32-0.51	0.29-0.55	0.38-0.56	0.34-0.52	0.34-0.55	0.33-0.57
血小板数		174-1048	136-615	30-806	126-869	140-825	211-686
赤血球数		4.8-7.5	4.2-8.2	5.0-8.2	4.7-7.7	4.9-8.3	4.5-8.8
MCV		59.0-75.0	59.0-76.0	61.0-79.0	57.0-76.0	59.0-75.0	60.0-78.0
MCH		1.20-1.54	1.22-1.59	1.31-1.60	1.16-1.54	1.23-1.54	1.27-1.56
MCHC		18.4-22.5	18.6-23.3	19.4-22.6	18.3-22.3	18.8-22.8	18.2-22.4
網赤血球数		0.001- 0.088	0.001- 0.064	0.003- 0.110	0.002- 0.061	0.001- 0.058	0.001- 0.111
白血球数		4.8-29.7	6.1-63.8	6.4-19.9	5.6-31.7	6.0-28.2	4.9-17.3
TT		18.0-30.2	18.9-25.6	17.6-27.0	16.1-29.6	18.2-26.0	17.5-26.0

各投与群に有意差のみられた項目が散見されたが、いずれも生物学的変動の範囲内であり、投与に関連のある変化とは考えられなかった。

血液生化学検査；投与開始前、投与後1、2、3、4、5、6、8、10、12、15、18、21及び24ヵ月目に全動物の頸静脈から採血し、下記の項目を検査した。

血糖、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、総コレステロール、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、乳酸脱水素酵素(LDH)、アルカリホスファターゼ(ALP)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール、総蛋白、蛋白電気泳動分画、A/G比、プロモスルホフタレイン(BSP)。

対照群と比較し統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性	雄											
	1000				3000				10000			
	6	10	18	24	6	10	18	24	6	10	18	24
投与群(ppm)												
検査時期(月)	6	10	18	24	6	10	18	24	6	10	18	24
GOT									↑124	↑127	↑↑135	↑114
クロール	↑103							↑104				
無機リン							↑107			↑107	↑↑110	↑122
ナトリウム										↓99	↓99	
カルシウム								↓96	↓96	↑95	↓93	↑93
ビリルビン										↑155		
尿素窒素											↑120	↑128
LDH											↑141	
糖		↑108		↑111								
ALP				↑147								

性	雌											
	1000				3000				10000			
	8	15	18	21	8	15	18	21	8	15	18	21
投与群(ppm)												
検査時期(月)	8	15	18	21	8	15	18	21	8	15	18	21
クロール									↑102	↑↑105		
無機リン	↓122											
カルシウム									↓96			
カリウム												↓89
コレステロール										↓76		↓73
ビリルビン	↑156											↓74
クレアチニン									↑116			

↑↓：P<0.05、↑↑↑：P<0.01 (Student-t検定)

数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

各投与群に有意差のみられた項目が散見されたが、いずれも生物学的変動の範囲内であり、投与に関連のある変化とは考えられなかった。

血液生化学検査で有意差のみられた項目について同試験機関における約2年間の無処理対照群による背景データ次表に示した。

血液生化学背景データ

性	雄			雌		
	7ヶ月以下	7-12ヶ月	12ヶ月以上	7ヶ月以下	7-12ヶ月	12ヶ月以上
検査動物数	282	221	106	282	221	106
グルコース	4.89-7.41	3.68-7.83	4.47-6.60	4.54-7.50	4.17-7.11	3.77-6.34
GOT	0.30-1.44	0.28-1.62	0.32-1.10	0.11-1.39	0.29-1.11	0.39-1.13
クロール	103.6-150.1	106.1-124.0	105.4-127.1	101.5-124.0	108.1-123.2	104.5-124.9
無機リン	1.72-3.31	1.45-3.16	1.12-2.32	1.58-3.18	1.21-3.09	1.10-2.20
ナトリウム	139.7-155.8	137.8-155.4	139.0-153.7	141.0-157.8	141.4-157.5	140.5-155.0
カリウム	3.51-6.26	3.51-4.97	3.20-4.73	3.46-6.28	3.19-4.94	3.26-4.67
カルシウム	2.23-2.89	2.32-2.77	2.24-2.69	2.29-2.89	2.35-2.85	2.30-2.82
尿素窒素	1.98-9.36	2.12-13.86	2.96-13.84	2.43-11.18	2.91-10.35	2.99-12.48
コレステロール	2.09-6.64	2.01-7.34	1.78-4.44	1.66-6.02	1.77-4.92	2.00-6.68
ビリルビン	1.0-11.1	1.0-7.6	1.1-9.3	0.8-10.1	1.1-10.4	1.4-11.2
LDH	18.0-30.2	0.28-11.22	0.35-4.51	0.21-7.51	0.50-9.38	0.11-4.85
ALP	0.31-8.75	1.51-13.12	0.91-9.66	2.00-12.99	1.45-11.88	1.37-21.93
クレアチニン	30-98	17-95	39-140	23-131	44-101	41-103

尿検査;投与開始前、投与後1、2、3、4、5、6、8、10、12、15、18、21及び24ヵ月目に全動物から採尿し、下記の項目を検査した。

比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸、ウロビリノーゲン、沈渣、ナトリウム、カリウム及び塩素。

いずれの検査時期においても投与に関連のある変化は認められなかった。

眼科学的検査;投与開始前、投与後3、6、9、12、16、18、20及び24ヵ月目に全動物について検査した。投与後40週目以降、眼底異常が認められたため、投与後52週目から高投与群の眼底写真を撮った。高投与群の雌雄各1匹 (Nos.24、48) は、回復期間を設け投与終了後8及び29週目に眼科学的検査を行った。

認められた主な眼科学的所見を下表に示した。

性	雄				雌			
	0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
投与群(ppm)	0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
動物番号	1-6	7-12	13-18	19-24	25-30	31-36	37-42	43-48
角膜点状混濁	1	1	3		1		1	
膿様分泌物		1						
網膜メラニン色素減少							1	
白内障			1					
タベタム反射性減少		1	2	6				6

角膜、水晶体、網膜、タベタムの一側性あるいは両側性の変化が対照群を含めて認められた。これらとは異なり10000ppm群雌雄全匹にタベタムの淡褐色化、反射性減少等の変化が認められ、被験物質により起こされたものと考えられた。

タベタムは正常では黄緑色に見えるが、試験終了時では10000ppm群のほとんどの動物で淡褐色であり、ノントベタム領域と同じ色なので、散在したあるいは

数多くの小さな緑か黄色の領域としてしか確認できなかった。タペタムの反射性の減少、反射欠如は、被験物質に起因した変化と考えられた。

10000ppm群雄の1匹にタペタム領域に限界明瞭な網膜下出血が、局所性脈絡膜炎を疑わせる変化が認められた。しかし、この動物を除けば同群全動物のタペタムに隣接した網膜は検眼鏡検査では異常は認められなかった。

同様に、眼底の下方2分円及び他の眼球部位も眼科学的異常は認められなかった。

タペタム反射性は減少から欠如まで認められ、病変は40週間後初めて認められ、52週目から104週目まで認められた。タペタムの変化は緩慢で同群7匹では投与後52週目から104週目までタペタム病変の進行は認められなかった。

10000ppm群雌雄各1匹の回復群においても、タペタムの変化が認められた。

聴覚検査；投与開始前、投与後3、6、9、12、18及び24ヵ月目に全動物を検査した。投与に関連のある異常は認められなかった。

骨髄検査；24ヶ月目に大腿骨から採取した骨髄の塗抹標本を作成し、検査した。投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量；試験終了時に全生存動物の以下の臓器重量を測定した。

脳、心臓、肝臓、肺、腎臓、精巣、卵巣、副腎、下垂体、甲状腺  
対照群と比較し有意差のみられた臓器を次表に示す。

性	雄			雌		
	1000	3000	10000	1000	3000	10000
卵巣 絶対					↑158	
下垂体 絶対					↑130	
精巣 相対		↑↑185				
肝臓 相対			↑166			

↑↓：P<0.05、↑↑↑：P<0.01 (Student-t検定)

数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

認められた有意差は投与に関連のある変化とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時に全生存動物を剖検した。10000ppm群雌雄各1匹は投与終了後29週間目(約4ヶ月)に剖検した。

胃底部赤褐色巣が対照群に1匹、1000ppm群に3匹、3000ppm群に6匹及び10000ppm群に5匹認められた。10000ppm群雌雄各1匹の回復動物には胃底部赤褐色巣は認められなかった。その他に投与によると思われる変化は認められなかった。胃底部赤褐色巣の発生率を次表に示した。



性	雄				雌			
投与群(ppm)	0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
胃	胃低部赤褐色巣							
	0	3	5	4	1	0	1	1

病理組織学的検査：試験終了時に全動物の以下の組織を摘出し、病理組織標本を作成し、検査した。

副腎、大動脈、骨、骨髄、脳、精巣上体、食道、胆嚢、心臓、腎臓、大腸、小腸、肝臓、肺、リンパ節、眼球、乳腺、卵巣、膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、気管、膀胱、子宮及び肉眼的異常部位。

全動物の両眼について病理組織標本を作成し検査した。また、雌の対照群及び10000ppm群各1匹(Nos.25、43)の眼底領域を電顕的に検査した。腎臓系球体硬化症の発生数を下表に示した。

性	雄				雌			
投与群(ppm)	0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
腎臓	糸球体硬化症							
	2			3	1		1	1

軽微な糸球体硬化症が対照群を含み3000ppm群及び10000ppm群雌1匹、10000ppm群雄3匹に認められたが、10000ppm群に認められた病変は重度であり、投与との関連は否定できなかった。

その他に見られた病変は、いずれも自然発生的または加齢に伴う変化であり、投与に起因するものとは考えられなかった。

眼以外の病理組織病変発生表を頁92に示す。

眼に認められた病変を下表に示した。

性	雄				雌			
投与群(ppm)	0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
プレシヒのう胞	1	2	1			1	1	
網膜萎縮/層構造消失/色素沈着					1			
眼底平面のう胞		1						
虹彩石灰様結晶		1						
角膜瘢痕						1	1	
鋸状緑網膜萎縮			1					
色素上皮メラニン減少/脈絡膜炎細胞浸潤							1	
毛様体リンパ球浸潤							1	
タベタム層減少/タベタム細胞変性				3				1
第一ニューロン萎縮								1

顕微鏡では、10000ppm群にタペタム層の減少、腫大した蜂巢状の細胞質をもつタペタム細胞の変性が認められた。回復群の雌雄各1匹においてもタペタム層の減少及び細胞変性が認められた。

一側性あるいは両側性のタペタム層の減少が10000ppm群雄3匹、雌1匹に認められ、同群の全動物の検眼鏡検査で観察されたタペタムの色及び反射の変化と関連があった。この層のタペタム細胞は顕微鏡的には正常であるか、淡明あるいは蜂巢状に腫大した細胞質を有していた。これらの動物の他の眼球組織、特にタペタムと隣接した網膜、脈絡膜に病理組織学的異常は認められなかった。このことから以下のように考えられた。

- 1) 病変はタペタムに限局し、眼球に併発した病変はない。
- 2) タペタムの変化は、投与終了後の回復動物にも認められることから、不可逆性変化と考えられた。
- 3) 1000ppm群における検眼鏡検査所見（12匹）及び病理組織所見（4匹）の関連が乏しく、タペタムの障害を顕微鏡で判定するのは、適切な方法ではない。この種の細胞レベルの病変には電子顕微鏡を用いることが望ましいと考えられた。

#### 電顕による観察

犬の正常なタペタム細胞は特異的な細胞質内封入体として丸い断面の杆小体を有し、密な層状構造により網膜表面に平行に配列する。この副形質がタペタムの反射性を生む。切片の面によりこの特異的な封入体は、横断面では丸く、縦断面では杆状を呈する。グルタルアルデヒド固定横断切片では大部分の杆小体は2重膜にかこまれた微細顆粒状の基質からなる。

対照群動物のタペタム細胞は電顕的に正常であった。

10000ppm群の動物では電顕的にタペタム構造は正常であったが、タペタム細胞に変化が認められ、タペタム細胞杆小体の反射性はこのために変化した。

縦断切片では杆小体は融解、腫大、空胞が認められた。グルタルアルデヒド固定では、杆小体内部の顆粒状基質は認められなかった。細胞質内の杆小体の規則的な配列は失われていた。これらの変性したタペタム細胞は、杆小体に変化がみられるものの、ミトコンドリアや小胞体などの他の細胞小器官に変化はなかった。ただしこれらの細胞小器官は、杆小体が多数をしめるため、まれにしか認められない。これらの電顕所見はタペタム細胞の変性と解釈した。

細胞レベルでは杆小体の障害は不可逆性であるが、他の細胞小器官に異常がみられないことから、細胞としては生存していると考えられる。障害の進行が非常に遅いことから、タペタム細胞の壊死はないと考えられ、また電顕でも認められなかった。また、マクロファージや他の炎症細胞も認められなかった。

申請者注：タペタムには亜鉛やシステインが高濃度に存在し、タペタムに影響を及ぼす化学物質の多くは、亜鉛とキレートすることによってタペタムを障害するとの報告がある。例えば、EMB（Ethambutol；抗結核薬）はイヌにおいて、亜鉛とキレートをおこし、急速な、用量に依存した、タペタムの色調変化や反射減少を引き起こすことが知られており（Kaiser, 1964）、休薬により、色調は回復して亜鉛含有

量に増加がみられる (Figuroa ら, 1971)との報告がある。EMBは、タペタムに変化を誘発しながらも視力障害を導いたとの報告はない。一方で他の金属キレート剤DIT (Dithizone) 及びDTC (Diethyldithiocarbamate) ではイヌの眼に重度の障害を誘発したとの報告がある (Cloydら, 1978, Massaら, 1984)。Cloydら (1978)は亜鉛のキレートのみで眼の変化の程度の違いについて説明することはできないものと考え、DIT及びDTCは、スルフヒドリル類と相互作用を示すことが知られており、この性質が亜鉛のキレート作用に加え関与し、より強い毒性を示したものと考察している。この考えはMassaら(1984)の報告でも引用されており、タペタムには亜鉛の他にシステイン含量も多く、上記化合物とチオール基との反応によって、タペタムのシステイン含量が減少し、より重篤な眼の症状がみられるものと考察している。一方、EMBにはスルフヒドリル類との相互作用はないことも知られている。

また、タペタムにEMBと同様な変化をもたらすその他の化合物としては、Rasaramicin(マクロライド系抗生物質、CP-62,993 (アザライド系抗生物質)、1192U0 (抗精神病薬)などが報告されているが、これらには亜鉛とのキレート作用はないことから、これら化合物のタペタムに対する変化は別の作用によるものと考えられている。

プロパモカルブ塩酸塩はin vitro条件下で弱い亜鉛キレート作用を有しており、この作用がタペタムへの影響に関連している可能性もわかられる。しかしながら、亜鉛とのキレート作用を有する化合物全てがタペタムに影響を及ぼすとも限らないこと、キレート以外の作用によりタペタムへの影響を及ぼす化合物が認められていること、そしてin vivo条件では、キレートに係わるその他の生理的条件等を考慮に入れなければならないため、in vitro系において認められたプロパモカルブ塩酸塩の亜鉛との弱いキレート作用が、イヌでみられたタペタムの病変の原因であると断定することはできないものと考えられ、その詳細は明らかでなかった。しかし、タペタムに変化のみられたイヌの視神経、網膜などタペタム以外の視覚器官には影響はみられず、またタペタムをもたないラット、マウスではいずれも投与に関連する眼の病変は認められなかった。また、プロパモカルブ塩酸塩によると考えられる眼毒性を示したヒトでの例は今まで報告はなく、タペタムをもたないヒトにおいても、特異的な眼毒性症状の発現は免れるものと考えられた。

以上の結果から、10000ppm群で眼底のタペタム領域の変化及び腎系球体硬化症が認められたことから、無毒性量は3000ppm(雄 70.5mg/kg/日、雌 72.6mg/kg/日)であると判断される。本試験で認められた眼病変はタペタム領域に限定されており、ヒトにおいてはこのような眼構造がないことから、影響を与えないものと考えられる。

病理組織病変発生表

－イヌ－

性		雄				雌			
投与群(ppm)		0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
動物数		6	6	6	6	6	6	6	6
心臓	動脈炎				2				
	円形細胞浸潤					1			
肺	円形細胞浸潤		1						
	囲管細胞浸潤		1		1		1	1	
	気管支肺炎			1					
	肉芽腫					1			1
	充血								1
肝臓	クッパー細胞増殖	6	6	6	4	6	5	6	5
	ヘモジデリン沈着	3	1	2	2	3	2	2	
	円形細胞浸潤	1	1						
	壊死		1						
	うっ血				1				
	胆管炎				1				
脾臓	辺縁血腫	2		1					
	ヘモジデリン沈着	3	3	2	3	3	1	2	
	髄外造血	1	1	1		2			
	被膜肥厚	1	2		2				
腎臓	鉍物質沈着	6	6	6	6	6	6	6	6
	慢性腎炎	1	1		2				2
	慢性腎盂炎	2	3	2	1		3	2	2
	尿細管萎縮	1	1		1	1	1	3	
	尿細管拡張	2	4	4	4	6	2	4	4
	円形細胞浸潤	1	1			2	1	1	
	糸球体硬化症	2			3	1		1	1
	ヘモジデリン沈着	1	1	1	1				1
	線維症			1					
胸線	動脈炎	1			1				
	嚢胞	3	6	6	2	4	2	2	3
脾臓	脾炎					1			
副腎	空胞化			1	1				
	変性細胞巣							1	
唾液腺	円形細胞浸潤	3	4	1	1	2	1		1
	結石			1					
食道	円形細胞浸潤					1			2

空欄は病変認められず

病理組織病変発生表

(つづき)

—イヌ—

性		雄				雌			
投与群(ppm)		0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
動物数		6	6	6	6	6	6	6	6
腸間膜リンパ節	赤血球貪食				2	2	1		
胃	慢性潰瘍性胃炎		2	2	1	1		1	1
	濾胞過形成							1	
	急性胃粘膜びらん		3	3	4	1		1	1
結腸	充血				1				
精巢上体	動脈炎				1				
	精子肉芽腫				1				
前立腺	前立腺炎	4	4	5	6				
膀胱	膀胱炎		1						
甲状腺	嚢胞			2		1		1	
	甲状腺炎					1			1
上皮小体	嚢胞	1						1	1
	円形細胞浸潤								1
乳腺	嚢胞状管					4	2	4	3
脳	血管細胞浸潤						1		
脊髄	出血			2					
下垂体	嚢胞	5	6	6	5	5	5	5	4

空欄は病変認められず

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

## 12. 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

### (1) ラットにおける繁殖試験

(資料No.25)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体純度：

試験動物：Wistar系ラット、1群雌雄各25匹

体重 雄 218～229g、雌156～162g

試験期間：1979年3月～1980年12月

P世代：投与開始からF1B児動物離乳時まで

F1世代：離乳時からF2B児動物離乳時まで

F2世代：離乳時からF3B児動物離乳時まで

Aは1回目交配、Bは2回目交配を示す。

投与方法：検体を0、40、200及び1000ppmの濃度で飼料に混合し、自由摂取させた。

検体を混入した飼料は週2回調製した。

(申請者註：投与量は有効成分換算値)

方法及び試験項目：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

体重変化；生育期間では週1回、雌では妊娠0、6、15及び19日目ならびに分娩後1、4、12及び21日に体重を測定した。

摂餌量；各世代の交配前期間に毎週摂餌量を測定した。

検体摂取量；摂餌量により1日当たりの検体摂取量を計算した。

交配及び妊娠の確認；交配は雌雄1対1で14日間夜間のみ同居させ、毎日膣垢検査を行った。交尾を確認した日を妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；

交配、妊娠及び分娩時期の状況について観察した。

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交配した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}}$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}}$$

妊娠期間 = 交尾確認日から分娩日までの期間

同腹児に関する所見；選抜した母動物を妊娠19日目に屠殺し、胎児の催奇形性について検査した。卵巣及び子宮について以下の項目を検査した。

黄体数、生存胎児数、吸収胚数、胎児体重及び外表異常。

生存胎児は外表検査を行い、重量を測定し雌雄を判定した。F0母動物の半分の児動物は、骨格異常を検査し、残りの児動物は内臓異常を検査するためブアン液に固定した。F1B及びF2B同腹児はそれぞれ半分をエタノールに、残り半分をブアン液に固定した。

不妊が明らかな雌の子宮は、硫化アンモニウム溶液に浸した。

形態的異常は、次のように分類した：

奇形：まれにみるもの、ないしおそらくは致死性のものであるもの、例えば水頭症。

異常：正常からわずかに異なったもので、対照群にも比較的頻繁に認められるもの、ないしは対照群でも一般に認められる構造形態的な異常、例えば余分な胸部肋骨。

各群の残りの母動物には児動物を哺育させた。

分娩後1日目に児動物数を数え、外表異常を検査した。児動物の体重を測定し雌雄を判別した。児動物体重は分娩後4、12、21日目に測定した。上述の観察により以下の測定を行った。

a) 同腹児数：

1日目の出産総児動物数及び生存児動物数の平均値及び、分娩後4、12、21日目における生存児動物数の平均値。

b) 同腹児仔及び平均児動物体重：

同腹児体重は、個体別児動物体重から求めた。

c) 児動物死亡率：

児動物死亡率は、分娩後1日目、その後は累積的に4、12、21日目に、各同腹児の損失%として計算した。群平均値は、各同腹児の百分率から計算した。

分娩後4日目から、全児動物が次に示す発育段階に達した日齢を測定した。

体毛の発生、切歯の萌出、耳介の開展、眼瞼開裂

肉眼的病理検査；離乳後、F3B仔動物の肉眼的観察を行った。

臓器重量；F3B仔動物の以下の重量を測定した。

副腎、心臓、脾臓、脳、腎臓、肝臓、肺、卵巣、精巣、前立腺、子宮、胸腺。

病理組織学検査；F3B世代各同腹児から雌雄各2匹について、以下の組織を摘出しブアン固定した後、対照群及び1000ppm群について病理組織学的検査を行った。

副腎、心臓、卵巣、脾臓、膀胱、回腸、膵臓、胃、脳、空腸、下垂体、精巣、盲腸、副腎、前立腺、胸腺、結腸、肝臓、直腸、甲状腺、十二指腸、肺、貯精囊、子宮、大腿骨（骨髄を含む）、腔。

世代	期 間	作 業 手 順	試 験 項 目
P 雄25 雌25	生育 (100日)	7週齢から投与開始	一般状態、生死を毎日観察 体重は週1回測定、摂餌量は週3回測定
	F1A 1回目 交配 (2週間) 妊娠 (3週間) 分娩  哺育 (3週間) 離乳	雌雄1:1で交配。妊娠を膣垢 で確認し、確認日を妊娠0日と する。	交配終了時、雄を検査  妊娠0、6、15及び19日目に体重を測定  分娩状態を観察し同腹児数、死産児数 外表異常、性別及び同腹児体重を測定  母及び児動物の体重を1、4、12及び 21日に測定した。 離乳前の発育を観察した後、屠殺廃棄
	F1B 2回目 交配 (2週間) 妊娠 (3週間)  分娩  保育 (3週間) 離乳	F1A同腹児の離乳直後 雌雄1:1 で再交配、交尾を膣垢で確認 し確認日を妊娠0日とする。  妊娠19日目に各群10匹の母動 物を屠殺した。  残りの母動物は出産	妊娠0、6、15及び19日目に体重を測定 黄体数、吸収胚、胎児の体重測定、性 別、胎児数、外表異常等の催奇形性の 影響を観察し、半分の児動物は骨格検 査、残り半分は内臓検査を行った。  分娩状態を観察し同腹児数、死産児数 外表異常、性別を判定し、児動物体重 及び母動物の体重を1、4、12及び21日 目に測定した。  離乳前の発育を観察した。 離乳後の発育及び行動観察を行った。 瞳孔反射、驚愕反応、水迷路。



世代	期間	作業手順	試験項目
F1B	生育 (100日)	全F1B児動物を交配まで120日飼育した。	F1Aに準ずる
	F2A 1回目 交配 妊娠 分娩 保育 離乳	交配時に1群22匹、2群32匹、3群13匹、4群27匹とした。 残った児動物及びp世代親を屠殺廃棄した。 雌雄1:1で交配。確認日を妊娠0日とした。	
F2B	F2B 2回目 交配 妊娠 分娩 保育 離乳	F1Bに準ずる 妊娠19日目に1、2及び4群の母動物の半分を屠殺した。 残りの母動物は出産	F1Bに準ずる
	生育 (100日)	F2B児動物を交配まで120日飼育した。	F1Aに準ずる
F3A 1回目 交配 妊娠 分娩 保育 離乳	1群雌雄各25匹とした。 残った児動物及びF1世代親を屠殺した。		
F2B	F3B 2回目 交配 妊娠 分娩 保育 離乳	F1Bに準ずる 妊娠19日目に各群半分の母動物を屠殺した。 残りの母動物は出産  残った児動物及びF2世代親を屠殺した。	F1Bに準ずる  21日目まで飼育後、屠殺し、肉眼的観察を行った。臓器重量を測定。 対照群と1000ppm群各同腹児から雌雄各2匹について組織学的検査を行った。

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

試験結果：

	世 代		親：P		児：F1	
	投 与 群 (ppm)		0	40	200	1000
動物数	雄		25	25	25	25
	雌		25	25	25	25
親	一 般 状 態		投与による影響は認められなかった			
	死 亡		1			1
			1			1
	不妊動物 (1)	雄	1	2	2	2
		雌	1	3	1	1
		(2) 雄			1	2
		雌	1	2	1	1
	21日間哺育母動物数 (1)		20	18	17	22
	21日間哺育母動物数 (2)		19	18	15	17
	摂 餌 量					雌減少傾向
動物	体 重 変 化		投与による影響は認められなかった			
	交尾期間 (1)	(日)	3.0	3.0	3.0	3.0
		(2)	3.0	3.0	4.0	3.0
	交尾率 (1)	(%)	92	80	88	88
		(2)	96	92	92	80
	妊娠率 (1)	(%)	92.0	80.0	88.0	88.0
		(2)	96.0	92.0	92.0	87.5
	妊娠期間 (1)	(日)	21.9	22.1	22.0	22.0
		(2)	21.7	21.9	21.9	21.8
	同腹児損失 (1)		3	2	5	0
	(2)	2	4	8	3	
吸収胚 (2)		2	1	0	1	

	世 代		親：F1B		児：F2	
	投 与 群 (ppm)		0	40	200	1000
動物数	雄		22	32	13	27
	雌		22	32	13	27
親	一 般 状 態		投与による影響は認められなかった			
	死 亡		死 亡 例 な し			
	不妊動物 (1)	雄	5	3	2	2
		雌	1	4		2
		(2) 雄		1	1	1
		雌	2	4		2
	21日間哺育母動物数 (1)		15	22	6	19
	21日間哺育母動物数 (2)		19	21	9	20
	摂 餌 量					有意差ないが減少傾向
	動物	体 重 変 化		投与による影響は認められなかった		
交尾期間 (1)		(日)	3.5	3.0	3.0	2.0
		(2)	3.0	3.0	2.0	3.0
交尾率 (1)		(%)	68	75	85	81
		(2)	86	78	92	89
妊娠率 (1)		(%)	72.7	78.1	84.6	85.2
		(2)	90.9	84.4	92.3	88.9
妊娠期間 (1)		(日)	22.0	22.1	21.7	21.8
		(2)	21.6	21.8	21.8	21.9
同腹児損失 (1)			1	3	5	4
	(2)	1	6	3	2	
吸収胚 (2)				-	2	

(1)：1回目交配、(2)：2回目交配

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

世 代		親：F2B		児：F3	
投 与 群 (ppm)		0	40	200	1000
動物数	雄	25	25	25	25
	雌	25	25	25	25
一 般 状 態		投与による影響は認められなかった			
死 亡		死 亡 例 な し			
親	不妊動物 (1) 雄	3		1	
	雌	2	3	3	1
	(2) 雄	1			
	雌	2	3	1	1
21日間哺育母動物数 (1)		18	21	19	23
21日間哺育母動物数 (2)		18	18	20	22
摂 餌 量		有意差ないが減少傾向			
体 重 変 化		投与による影響は認められなかった			
動物	交尾期間 (1)	3.0	3.0	3.0	2.0
	(日) (2)	3.0	1.0	3.0	2.0
	交尾率 (1)	80	84	84	96
	(%) (2)	80	88	88	92
	妊娠率 (1)	80.0	88.0	84.0	96.0
	(%) (2)	88.0	88.0	96.0	96.0
	妊娠期間 (1)	21.9	21.9	21.8	21.8
	(日) (2)	21.4	22.2	21.6	21.5
	同腹児損失 (1)	2	1	2	1
	(2)	4	4	4	2
	吸収胚 (2)	0	0	0	0

(1) : 1回目交配 (2) : 2回目交配

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

試験結果：同腹児成績

世代	親:P	児:F1				親:F1B	児:F2				親:F2B	児:F3			
投与群(ppm)	0	40	200	1000	0	40	200	1000	0	40	200	1000			
動物数	雄	25	25	25	25	22	32	13	27	25	25	25	25		
	雌	25	25	25	25	22	32	13	27	25	25	25	25		
F1A 見動物	累積見動物死亡率(%)	出世時	1.7	5.6	6.8	4.1	2.8	4.2	2.9	4.7	1.6	1.4	1.8	2.1	
	4日	5.0	5.6	7.9	7.4	11.9	8.4	7.3	11.3	4.4	5.2	4.5	5.0		
	12日	15.3	12.4	17.6	18.6	17.9	19.6	19.8	14.7	9.3	17.6	10.4	11.8		
	21日	20.7	14.6	18.1	21.1	17.9	19.6	21.1	14.7	10.5	19.3	11.7	12.6		
	平均同腹児数	出世時	10.7	9.9	10.9	10.9	10.6	10.9	11.7	10.2	10.6	10.7	11.1	11.3	
	4日	10.3	9.4	10.1	10.0	9.3	9.9	10.8	8.9	10.1	10.2	10.6	10.6		
	12日	9.0	8.7	8.8	8.7	8.5	8.5	9.3	8.5	9.6	8.9	9.9	9.8		
	21日	8.4	8.4	8.7	8.5	8.5	8.5	9.2	8.5	9.4	8.7	9.7	9.7		
	平均同腹児体重(g)	出世時	64.9	59.5	62.8	63.0	61.2	60.4	63.3	53.4*	65.7	64.3	64.8	66.5	
	4日	85.4	85.0	83.2	82.4	77.8	77.8	76.5	68.7	87.6	87.2	88.4	89.1		
	12日	171.3	175.7	169.4	160.6	172.1	164.2	158.1	161.2	178.6	170.5	176.2	182.3		
	21日	314.2	324.6	318.3	295.8	324.5	314.5	300.4	298.9	309.4	294.9	305.5	321.0		
	平均体重(g)	出世時	6.2	6.4	6.3	6.1	6.0	5.8	5.6	5.6	6.3	6.1	6.0	6.1	
	4日	8.5	9.2	8.6	8.3	8.3	7.9	7.1*	7.8	8.7	8.4	8.4	8.4		
	12日	19.2	20.9	19.9	17.9	19.8	19.0	17.0	19.1	18.6	18.3	17.8	18.0		
	21日	38.1	40.1	36.9	34.7*	37.7	37.0	32.8	36.0	33.2	33.2	31.6	33.9		
	性比(雄/雌)	5.0/5.5	4.2/5.2	5.4/4.8	5.2/5.3	4.7/5.6	5.2/5.1	5.2/6.2	4.6/5.1	5.6/4.9	5.7/4.9	5.3/5.6	5.5/5.4		
	離乳前の発達(H)	毛生	12	11	12	12	10	11	10	12	8	10	11	9	
		切歯萌出	11	11	11	13	10	10	11	11	10	11	10	11	
		耳介展開	16	18	17	17	17	18	19	17	16	18	19	17	
眼瞼開裂		19	19	19	20	19	19	20	19	20	20	20	20		
F1B 見動物	累積見動物死亡率(%)	出世時	0.8	0	9.3	6.6	2.9	1.8	9.4	3.2	0	1.1	1.2	0	
	4日	13.4	2.8	17.1	14.9	11.6	10.3	18.1	16.5	7.3	6.0	10.9	11.5		
	12日	24.7	25.0	32.6	32.2	31.9	33.1	31.5	28.3	36.2	26.7	25.2	31.6		
	21日	25.5	27.6	38.2	40.2	31.9	33.7	33.3	29.6	39.7	27.5	27.5	34.1		
	平均同腹児数	出世時	8.1	9.8	9.2	11.4**	12.0	12.9	11.1	10.8	11.4	10.1	11.8	10.1	
	4日	6.7	9.5	7.3	9.9	10.4	11.6	9.1	9.2	10.5	9.4	10.7	8.9		
	12日	5.5	7.2	5.3	7.9	7.8	8.4	7.6	7.9	7.0	6.9	8.9	6.6		
	21日	5.5	6.9	4.8	7.0	7.8	8.3	7.3	7.8	6.6	6.8	8.7	6.3		
	平均同腹児体重(g)	出世時	47.4	58.6	48.6	64.1*	68.0	72.7	58.5	59.2	64.1	55.7	65.5	57.2	
	4日	51.0	70.0	50.9	72.5	72.2	77.2	63.7	67.4	69.2	61.7	71.9	62.7		
	12日	107.4	132.4	91.3	130.8	139.8	142.3	122.5	132.6	104.8	113.1	139.4	115.8		
	21日	206.0	246.9	161.5	238.5	256.6	276.7	227.0	241.5	220.7	234.9	260.9	220.7		
	平均体重(g)	出世時	6.0	6.0	6.0	6.0	5.9	5.8	5.7	5.6	5.7	5.7	5.7	5.7	
	4日	7.5	7.4	7.2	7.3	6.9	6.8	6.9	7.1	6.8	6.8	6.8	7.2		
	12日	18.1	17.9	16.4	15.8	16.4	16.5	16.0	16.0	14.8	16.3	15.4	16.0		
	21日	35.5	35.5	31.9	33.4	30.6	33.0	31.0	30.8	33.4	34.6	30.3	33.0		
	性比(雄/雌)	4.6/3.4	4.4/5.4*	5.0/3.2	6.1/4.7	5.5/6.2	6.6/6.1	4.9/5.3	5.2/5.3	5.0/6.4	5.5/4.5	6.1/5.6	4.4/5.7		
	離乳前の発達(H)	毛生	12	11	11	11	10	11	10	10	10	7	7	8	
		切歯萌出	11	12	10	11	10	11	10	11	11	12	12	11	
		耳介展開	18	18	17	18	18	18	18	18	18	17	19	17	
眼瞼開裂		19	19	19	19	19	20	19	19	20	20	20	19		
離乳前の発達(H)	検査動物数	56	66	27	60	75	89	63	85	見動物					
	解剖対応	100	100	100	100	100	100	100	100						
	瞳孔反射	100	100	100	100	100	100	100	100						
	迷宮学習		投与による影響は認められなかった					投与による影響はみとめられなかった							
臓器重量	見動物				見動物				見動物						
病理組織学的検査													投与による影響は認められなかった		

\*: P<0.05、 \*\*: P<0.01 (Kruskal Wallis検定)、 ↑↓: P<0.05 (William検定)、 数値は対照群の値に対するパーセント

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

試験結果：2回目交配19日目屠殺の同腹児成績

世 代		親：P		児：F1		親：F1B		児：F2		親：F2B		児：F3	
投 与 群 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000	0	40	200	1000
検査母動物数		8	8	9	8	8	9		8	10	10	11	12
児 動 物 F1B	同腹児数	11.6	12.5	10.9	9.6	10.6	12.1		10.3	8.1	8.7	10.0	11.6**
	性比(雄/雌)	7.0/4.6	6.6/5.9	5.6/5.3	4.5/5.1	5.9/4.8	6.0/6.1		4.6/5.6	4.3/3.8	3.7/5.0	5.0/5.0	5.4/6.2*
	初期吸収胚	0.4	1.6	1.3	1.4	0.4	1.1		1.0	1.9	0.9	1.3	1.0
	後期吸収胚	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0.2	0
	着床数	12.0	14.1	12.2	11.0	11.0	13.2		11.3	10.0	9.6	11.5	12.6
	黄体数	13.9	14.8	14.3	13.3	13.3	14.2		14.1	13.8	13.1	13.5	14.8
	着床前損失(%)	13.7	4.0	14.1	18.4	16.9	5.6*		21.0	27.9	27.9	15.7	14.8
	着床後損失(%)	3.7	12.0	9.6	11.3	3.1	8.6		9.3	15.8	10.9	13.1	8.3
	同腹児体重(g)	25.3	27.0	21.8	20.7	23.3	24.7		24.6	17.8	18.9	22.4	26.4**
	平均体重(g)	2.2	2.2	2.0	2.1	2.2	2.0		2.6	2.2	2.2	2.3	2.3
	検査胎児数	93	100	98	77	85	109		82	81	87	110	139
	外形異状(%) 水頭症									1.1			
	検査胎児数	45	44	42	47	42	56		40	37	43	52	67
	内臓異常(%) 腎盂拡張												3.1
	検査胎児数	48	56	56	30	43	53		42	43	44	58	72
	骨格異常(%)	12.3	48.1	55.3	30.2	12.9	6.9		12.9	17.0	15.3	18.3	10.0
	14肋骨	1	6	6	2	3	2		3	1	3	3	5
	二分後頭骨	5	15	16	2								
	二分脊髄		2										
	後頭骨骨化不全	1	1	2	6		1		1				
後頭骨骨化遅延		6	15						5	2	5	1	
頭頂骨骨化不全		1											
17脊椎二分						1					1		
18脊椎二分						1			2				
19脊椎骨化不全			1										
19脊椎二分			1	1	1					2	1		
20脊椎二分					1				1		1	1	
10.11肋骨奇形									1				

\* : P<0.05    \*\* : P<0.01 (Kruskal Wallis検定)

児動物F2Bの200ppmは母動物数が少ないことから、全動物を分娩させたため19日目屠殺による催奇形性の観察は除外した。

試験結果：

一般状態及び死亡；いずれの世代の親動物にも毒性症状は認められなかった。

P世代において対照群雌雄各1匹、1000ppm群雌1匹が死亡したが、これらの死亡は偶発的であると考えられた。

体重変化；

親動物；3世代にわたる2回の交配で、体重増加量に変化はみられなかった。

児動物；F1Aの1000ppm群の平均体重、F1B 1000ppm群の同腹児体重、F2A 200及び1000ppm群の平均体重及び同腹児体重に有意差がみられたが、いずれも散発的であり、投与の影響とは考えられなかった。

摂餌量；P世代の生育期間に雌の摂餌量が少ない傾向であった。F1及びF2世代では雌雄の摂餌量は対照群に比べ、わずかに少なかった。しかし、いずれも統計学的有意差は認められなかった。

繁殖性に関する成績；3世代の2回の交配とも、交配能、妊娠率に影響はみられなかった。妊娠期間は全群とも同様であった。

同腹児に関する成績；各世代の両交配において全同腹児損失がみられたが、投与量との関連がないと考えられた。P世代2回目交配200ppm群で全同腹児損失の増加がみられたが、1000ppm群では認められないことから、偶発的なものと考えられた。

保育ラットの同腹児では同腹児数、累積児動物死亡、同腹児体重、児動物体重に投与の影響は認められなかった。対照群と比べ有意差の散見された項目もみられたが、いずれも一貫した変化ではなかった。

児動物の発育に関して毛生、切歯萌出、耳介開裂等の達成日齢に差がみられたが、世代ごとの両交配を比べると影響はないものと考えられた。また、驚愕反応、瞳孔反射、水迷路を用いた学習能力には投与の影響は認められなかった。

妊娠19日目屠殺の同腹児による催奇形性検査では、黄体数、着床数、生存胎児数、性比、胎児体重等に投与の影響は認められなかった。

また、P及びF1世代の同腹児では、奇型ないし内臓異常は認められなかった。

F2世代では対照群に1匹水頭症が、1000ppm群の2匹に腎盂拡張が認められた。

骨格異常がP世代に多く認められたが、各所見は一貫せず投与量との関連はみられず投与の影響とは考えられなかった。F1及びF2世代では対照群と同様であった。

臓器重量；F3B児動物のみ実施した。

1000ppm群雄の脾臓重量の軽度増加がみられたが偶発的と考えられた。その他の臓器では変化はみられなかった。

病理組織学的検査；F3B同腹児の対照群及び1000ppm群各同腹児の雌雄各2匹について病理組織学的検査をした結果、投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果、親動物及びF3Bまでの児動物に対し、投与による影響は認められず、繁殖能に対して影響はみられなかった。

従って、親動物及び児動物に対する無毒性量は1000ppmと判断された。

繁殖については、最高投与量の1000ppmでも影響は認められなかった。

(2) ラットを用いた催奇形性試験

(資料No.26)

試験機関：

報告書作成年：1981年

検体純度：

試験動物：Wistar系妊娠ラット、1群雌25匹、  
開始時体重 180～230g

試験期間：投与期間14日間（妊娠6日～19日）  
（1980年11月25日～1981年10月29日）

試験方法：検体を水で稀釈し0、0.1、0.3、1及び3ml /kgの用量で妊娠6日から19日までの14日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には溶媒の水を同様に投与した。  
投与容量は10ml /kgとし、検体は投与当日新たに調製した。

観察・検査項目：

親動物：一般状態及び生死を毎日観察し、体重は妊娠0、6、15及び20日に測定した。  
妊娠20日目に帝王切開し、子宮重量、黄体数、着床数、着床位置、生存/死亡及び吸収胚・胎児数を検査した。

胎児：性別、体重及び外表異常の観察を行った。  
各同腹児の1/2の胎児は骨格標本を作製し、骨格異常を検査した。残りの1/2の胎児については内臓異常について検査した。

申請者註：投与量は原体（製剤有姿）表示。

0.1、0.3、1及び3ml /kgの有効成分換算値は、  
約70、210、700及び2100mg/kgである。

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

試験結果：結果を下表に示す

投与群 (ml / kg)	0	0.1	0.3	1	3		
1 群 当 り 動 物 数	25	25	25	25	25		
一般状態					鼻出血、 痙攣性歩行		
死亡・切迫動物数	0	1	0	1	5		
妊娠動物数 (%)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	23 (92.0)		
全胎児吸収	1	0	0	0	5		
検査動物数	25	24	25	24	20		
体重変化		投与による影響は認められず			増加抑制 85 ↓		
摂餌量							
親動物の着床所見	黄体数	13.3	13.7	13.1	13.9	13.8	
	1 吸収胚	1.4	0.5	0.6	1.1	3.2*	
	早期吸収胚 (%)	91.2	100	100	88.5	98.4	
	後期吸収胚 (%)	8.8	0	0	11.5	1.6	
	着床数	11.8	11.7	11.7	12.1	11.8	
	着床前損失率 (%)	10.9	12.9	12.1	12.0	14.9	
	着床後損失率 (%)	10.3	5.1	5.1	11.0	29.1*	
	生存胎児数	10.5	11.1	11.1	10.9	8.6	
	死亡胎児数	0	0.04	0	0.2	0.1	
	総胎児数	262	268	278	265	173	
胎児体重 (g)	雄	3.6	3.5	3.5	3.5	2.3*	
	雌	3.2	3.4	3.3	3.3	2.2*	
性比 (雄/雌)	48.5/51.5	41.2/58.8	53.6/46.4	46.7/53.3	48.8/51.2		
外表異常	検査胎児数	262	268	278	265	173	
	変異	後肢湾曲		1(0.4%)			
		尾曲			1(0.4%)		
		臍ヘルニア	1(0.4%)				1(0.6%)
骨格異常	検査胎児数	132	133	140	130	86	
	骨化遅延	骨化遅延	24 (18.2%)	35 (26.3%)	28 (20.0%)	114* (87.7%)	77* (89.5%)
		胸骨骨化遅延/ 非対照	98(74.2%)	100(75.2%)	110(78.6%)	29(22.3%)	19(22.1%)
	変異	14肋骨	25(18.9%)	36(27.1%)	59*(42.1%)	52*(40.0%)	26*(30.2%)
	奇形	脊椎湾曲、肋骨癒合	1(0.8%)				
		肋骨癒合				1(0.8%)	
内臓異常	検査胎児数	130	135	137	135	87	
	異常	腎盂拡張	4 (3.1%)	4 (3.0%)	3 (2.2%)	6 (4.4%)	2 (2.3%)
		腎盂拡張/ 腹腔内出血	32 (24.6%)	37 (27.4%)	78* (56.9%)	49* (36.3%)	(21.8%)

↑ ↓ : P < 0.05 Dunnettのt検定(体重、黄体数、着床数、胎児数、胎児体重)

\* : P ≤ 0.05、Fisherの確立検定(死亡胎児数、吸収胚、性比、異常胎児)



親動物；

- 一般状態：3ml /kg群では鼻出血、痙攣性歩調、体重増加抑制などが19例にみられた。  
4匹は妊娠11～19日目に死亡した。1匹は誤投与により死亡した。  
1ml /kg群以下の投与群では中毒症状は認められなかったが、1ml /kg群の1匹は妊娠9日目に死亡した。
- 体 重：3ml /kg群で群平均体重が有意に減少した。
- 繁 殖：3ml /kg群で5例が全胎児吸収を示した。又、吸収胚数及び着床後損失率が増加し有意差がみられた。  
3及び1ml /kg群で死亡胎児数の増加が認められた。  
黄体数、着床数、生存胎児数等に投与の影響は認められなかった。

胎 仔；

- 体 重：3ml /kg群で平均胎児体重が有意に減少した。
- 外表検査：対照群及び3ml /kg群に臍ヘルニア、0.1ml /kg群に後肢湾曲、0.3ml /kg群に尾曲りが各1例認められた。これらは各1例ずつの発生であり、用量相関もみられず、自然発生的と考えられた。
- 内臓検査：マイナーな内臓異常として腎盂の重度な拡張が対照群を含む全群に認められたが増加はみられなかった。内臓変異として軽度の腎盂拡張が、0.3及び1ml /kg群で有意に増加したが、用量相関が明らかでなく、3ml /kg群では対照群より低いことから、偶発的であると考えられた
- 骨格検査：肋骨癒合が1ml /kg群1例認められたが、対照群に1例みられていることから自然発生的と考えられた。マイナーな骨格異常として胸骨等の骨化遅延が1及び3ml /kg群で増加し有意差がみられた。  
14肋骨を示す胎児数が0.3ml /kg群以上で増加し、有意差がみられた。

以上の結果、母動物3ml /kg群で鼻出血、痙攣性歩調、体重増加抑制等の症状が認められ、死亡または切迫屠殺した動物が5匹認められた。1ml /kg群では1匹に死亡が認められた。

また、3ml /kg群では母動物5匹に全胎児吸収がみられ、吸収胚数及び着床後損失率が有意に増加した。

胎児では、3ml /kg群で胎児体重の減少、3ml /kg及び1ml /kg群で骨化遅延が認められ、14肋骨が3ml /kg群から0.3ml /kg群で増加し有意差が認められた。これらのことから、母動物の無毒性量は0.3ml /kg、胎児に対する無毒性量は0.1ml /kgと判断された。

なお、最高投与量の3ml /kgにおいても催奇形性は認められなかった。

(3) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料No.27)

試験機関：

報告書作成年：1981年

検体の純度：

試験動物：New Zealand White種ウサギ、1群 妊娠雌18～22匹

開始時体重 2.7～4.3kg

試験期間：投与期間13日間（妊娠6日～18日）

（1980年3月26日～11月5日）

投与方法：検体を水で希釈し0、の用量で妊娠6日から18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には溶媒の水を同様に投与した。投与容量は5ml/kgとし、投与液は投与当日新たに調製した。

試験項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、18及び28日に体重を測定した。妊娠28日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数、吸収胚を検査した。

生存胎児：性別、体重及び外表異常について観察した。

各同腹児の約半数の胎児についてブアン液で固定し、Wilson法により内臓異常の有無を検査し、残りの半数については内臓を除去しアルコールにつけた後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

申請者註：投与量は原体（ ）表示。

0.02、0.06、0.2、0.4及び0.8ml/kgの有効成分換算値は、約14、42、140、280及び560mg/kgである。

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

試験結果：

投与群(mg/kg/日)		0	0.02	0.06	0.2	0.4	0.8	
1群当り動物数		18	21	20	20	22	20	
親	死亡数	6	6	7	7	8	3	
	妊娠動物数	13	18	16	13	17	17	
	流産動物数	0	0	3	1	6*	2	
	妊娠死亡動物数	0	3	3	0	2	0	
	不妊動物数	5	3	4	7	5	3	
	妊娠28日目全胎児死亡のみられた動物数	1	1	0	1	1	2	
動物	検査親動物数	12	15	10	12	8	15	
一般症状		投与による影響は認められず						
動物	体重					減少 89↓	減少 92↓	
	1着 腹床 当所 り見 の	黄体数	9.9	11.1	12.3	10.8	11.5	10.9
		着床数	7.4	9.8	9.7	7.9	8.8	8.8
		吸収胚数	0.8	1.0	0.7	0.8	0.6	1.7
		着床前損失(%)	25.4	11.2	19.9	27.5	19.9	19.1
		着床後損失(%)	17.6	15.2	6.8	15.1	22.2*	28.3*
		生存胎児数	6.6	8.5	8.9	7.2	6.6	6.7
		死亡胎児数	0	0.3	0.1	0	1.5	0.3
胎	総胎児数	79	132	90	86	65	106	
胎	同腹児体重 (g)	247.3	281.4	281.0	246.2	244.3	239.1	
	胎児体重 (g)	33.5	31.7	32.1	33.2	33.8	31.0	
	性比(雄/雌:%)	41.8/58.2	54.7/45.3*	56.2/43.8*	55.8/44.2*	56.6/43.4	51.5/48.5	
	検査胎児数	79	132	90	86	65	106	
仔	外表異常形	奇 片側ヘルニア		1(1.1%)	1(1.2%)			
	検査胎児数	39	63	44	42	28	49	
	動物	内臓異常	異常	胃拡張	1(2.6%)			
			腎盂拡張	1(2.6%)	2(3.2%)	1(2.3%)	1(2.4%)	
			生殖腺发育不全		1(2.3%)			
動物	検査胎児数	40	65	45	44	25	52	
	骨格異常	奇形	肋骨癒合			1(2.3%)		
		骨化遅延	頭頂骨	2(5%)			1(2.3%)	1(1.9%)
	舌骨		2(5%)				1(1.9%)	
	後頭骨			1(1.5%)				
	第5胸骨分節			1(1.5%)	1(2.2%)	1(2.3%)		
	変異	頭頂/前頭骨			1(2.2%)			
		胸骨分節非対称			1(2.2%)			
胸骨分節癒合				1(2.2%)	2(4.5%)			
	第2,5,3,4胸骨分節癒合/非対称				1(2.3%)			

Dunnett 検定 (体重、体重増加量、黄体数、着床数、胎児数、生存胎児重量) ; ↑ ↓ : P<0.05、

Fisher の確立検定法 (死亡胎児率、吸収率、性比、異常胎児率) : \*;P<0.05、\*\*;P≤0.01

内臓及び骨格異常は所見別に発生率を記載した。

親動物：

一般状態；対照群を含む全投与群の数匹は、肺炎、又は腸炎による死亡／切迫屠殺した。

一般状態の変化は全投与群で認められなかった。

0.4ml /kg群に流産動物数の有意な増加が認められ、投与による影響と考えられた。

体重；0.4及び0.8ml /kg群で妊娠6～18日間に有意な体重減少がみられた。

繁殖データ；着床後損失率が0.4及び0.8ml /kg群で有意に増加した。これは0.4ml /kg群では、死亡胎児数に増加がみられ、0.8ml /kg群では、吸収胚数の増加が認められたことに関連し、これらは投与に起因した影響と考えられた。黄体数、着床数、着床前損失及び生存胎児数に投与に起因する差は認められなかった。

胎児；胎児数、同腹児体重及び胎児体重に影響は認められなかった。

投与群で雄胎児の比率が高かったが、これは対照群の雄が低いことによるもので、投与による影響とは考えられなかった。

外表検査、内臓及び骨格検査においても、いずれも対照群と同等であり、投与の影響は認められなかった。

以上の結果、母動物では0.8及び0.4ml /kg群で体重増加抑制、着床後損失の増加、0.4ml /kg群で流産の増加がみられ、0.8及び0.4ml /kg群は母動物に軽度の毒性影響を示したことから、母動物に対する無毒性量は0.2ml /kg /日、胎児では投与の影響は認められず胎児に対する無毒性量は0.8ml /kg /日と判断された。

また、最高投与量の0.8ml /kgでも催奇形性は認められなかった。

### 13. 変異原性

#### (1) 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No.28)

試験機関：

報告書作成年：1981年

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 Salmonella typhimurium (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 Escherichia coli WP2 uvrA 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らの方法を用いて変異原性を検討した。検体を蒸留水に希釈し、有効成分量として5～5000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲で7用量を用いた。

陽性対照としてAF-2;2-(2-フリル)-3-(3-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、ENNG;1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン、ACR;アミノアクリジン、2-NF;ニトロフルオレン、B( $\alpha$ )P;3,4-ベンツピレン及び 2-AT;2-アミノアントラセンを用いた。

試験結果：結果を次表に示した。

検体はS-9mixの有無にかかわらず、5000  $\mu\text{g}$ /プレートの最高濃度でも、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照ではいずれも、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、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を有しないものと判断された。

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

(平均値; n=3)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	106	3	15	55	10	20
検体	5	-	103	3	17	48	13	15
	10	-	111	3	20	43	7	18
	50	-	110	4	14	47	9	16
	100	-	107	3	14	46	12	20
	500	-	97	3	16	48	9	19
	1000	-	95	6	18	55	12	20
	5000	-	96	3	16	60	9	20
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	99	16	17	40	15	36
検体	5	+	92	13	18	45	15	29
	10	+	108	17	13	35	15	41
	50	+	94	15	14	44	14	38
	100	+	103	17	15	37	19	30
	500	+	102	18	22	40	13	35
	1000	+	98	17	14	36	12	36
	5000	+	98	11	16	44	14	44
陽性対照								
AF-2	0.01	-	698		386	388		
	0.1	-						
ENNG	5	-		381				
ACR	80	-					623	
2-NF	2	-						228
B( $\alpha$ )P	5	+	881			576	121	203
2-AT	4	+		174				
	40	+			1194			

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(3-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

ENNG : 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン

ACR : 9-アミノアクリジン

2-NF : 2-ニトロソフルオレン

B( $\alpha$ )P : 3,4-ベンツピレン

2-AT : 2-アミノアントラセン

(2) 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No.29)

試験機関:

報告書作成年: 1984年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichiacoli* WP2 *uvrA* 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らの方法を用いて変異原性を検討した。

検体を蒸留水で希釈した。

試験濃度(原体有姿)は5000~100000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲で4用量とした。

陽性対照としてAF-2;2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、9AA;9-アミノアクリジン、ENNG;N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、4NOPD;4-ニトロ-0-フェニレンジアミン、2AA;2-アミノアンスラセン、B( $\alpha$ )P;ベンゾ( $\alpha$ )ピレンを用いた。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体はS-9mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高濃度(33850  $\mu\text{g}$ /プレート)で、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性系を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断された。

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

(平均値；n=2)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	123	12	23	19	9	10
検体	5000	-	134	11	27	14	8	16
	10000	-	140	11	30	20	5	11
	50000	-	125	14	26	16	7	7
	100000	-	0*	0*	0*	0*	0*	0*
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	120	16	26	41	16	26
検体	5000	+	137	14	25	45	14	30
	10000	+	131	7	27	48	19	26
	50000	+	103	13	26	29	11	15
	100000	+	53*	8*	5*	13*	2*	10*
陽性対照								
AF-2	0.01	-	491		179			
	0.02	-				140		
ENNG	5	-		890				
9AA	10	-					58	
4NOPD	5	-						1364
B( $\alpha$ )P	5	+	405			131	54	82
2-AA	2	+		38				
	80	+			295			

\* 生育障害あり

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン

4NOPD : 4-ニトロ-O-フェニレンジアミン

B( $\alpha$ )P : ベンゾ( $\alpha$ )ピレン

2-AA : 2-アミノアンスラセン



(3) 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No.30)

試験機関:

報告書作成年: 1977年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求型のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検討した。検体を蒸留水で希釈した。試験濃度 (原体有姿) は  $3.5 \sim 1750 \mu\text{g}/\text{プレート}$  の範囲で5用量とした。陽性対照として2-アミノアントラセン (2-AT) を用いた。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体はS-9mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高濃度 ( $1750 \mu\text{g}/\text{プレート}$ ) で、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた2-アミノアントラセンのS-9mix 存在下では、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認められた。

以上の結果から、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を有しないものと判断される。

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

(平均値；n=3)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照(水)	0.2 $\mu\text{g}$	-	94	15	16	9	22
検体	3.5	-	114	14	18	13	19
	17.5	-	100	9	16	10	23
	87.5	-	99	10	21	9	26
	350	-	107	10	23	11	21
	1750	-	114	13	25	12	25
溶媒対照(水)	0.2 $\mu\text{g}$	+	111	15	19	9	17
検体	3.5	+	131	16	19	11	16
	17.5	+	116	14	22	11	20
	87.5	+	132	16	21	13	19
	350	+	138	16	24	12	24
	1750	+	132	16	28	13	22
陽性対照 2-AT	0.5	-	101	14	23	13	25
陽性対照 2-AT	0.5	+	226	42	219	27	274

2-AT : 2-アミノアントラセン

(4) ヒトのリンパ細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.31)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 1987年

検体純度:

試験方法: *in vitro* で S-9mix の存在下及び非存在下におけるヒトリンパ細胞に対する染色体異常誘発性を評価した。

検体は滅菌蒸留水を用いて希釈した。

ヒトの血液を無菌的に採取し、RPMI 1640培地で希釈した。リンパ細胞を遠沈、分離し、洗浄及び遠沈を繰り返した後、RPMI 1640培地+ウシ胎仔血清+PHA(植物性血球凝縮素)中に懸濁し、細胞分裂を誘発し、37°C、48時間培養した。培地に検体または対照物質及びS-9mixを添加し、20時間培養後、2時間のコルヒチン添加により、有糸分裂を中期で休止させ低張処理後、固定した。各培養について約100個の分裂中期像を検査した。

この結果に基づき本試験に用いる濃度(原体有姿)を以下の通りとした。

S-9mix非存在下では 110、550、825、1100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、

S-9mix存在下では470、2350、4700  $\mu\text{g}/\text{ml}$  とした。

陰性対照には、無処理対照群と溶媒(滅菌蒸留水)対照群を設けた。

陽性対照としてS-9mix非存在下では、エチルメタンサルホネート(500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、S-9mix存在下ではシクロホスファミド(20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を用いた。

染色体異常を有する細胞数に濃度相関性のある統計的に有意な増加を示すものを陽性反応とした。

試験結果: 結果を次頁に示す。

検体はS-9mix存在下ではいずれの濃度でも染色体損傷の有意な増加は認められなかった。S-9mix非存在下では、軽微な増加が最高濃度の1100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  でみられ、溶媒対照と比べ有意差が認められたが、無処理対照では有意差は認められなかった。

一方、陽性対照では、S-9mix非存在下及び存在下とも有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体は *in vitro* 細胞遺伝学的試験で、代謝活性化の存在下及び非存在下のいずれにおいても、染色体異常を誘発しなかった。

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

試験結果：

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	処理 時間	観察 細胞 数	S-9 mix	染色体異常を有する細胞数						平均異常細胞(%)		分裂 指数 (%)	
					染色体型			染色体型		その他	ギャップ除 く	ギャップ含 む		
					欠片	切断	交換	欠片	切断					
無処理対照	—		100 100 100 100			2			1			0.75	1.25	7.1
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	10 $\mu\text{l/ml}$	24 時間	100 100 100 100	—	1	1						0.25	0.25	7.8
検体	110		100 100									0	0	8.8
	550		100 100			1						0.5	0.5	5.4
	825		100 100		2							0	1	5.15
	1100		100 100			3 1						2*	2*	3.15
陽性対照 (エチルメタンサルホネート)	500		100 100		2	34 29	11 6	1		3 1	*** 18.5	*** 18.5	—	
無処理対照	—		100 100 100 100		1							0.75	1	5.93
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	10 $\mu\text{l/ml}$	24 時間	100 100 100 100	+			1					0.75	1.5	5.33
検体	470		100 100		1							1	1.5	5.75
	2350		100 100		1	1						1	1.5	5.25
	4700		100 100		1	1						2	2.5	4.95
	陽性対照 (シクロホスファミド)	20		81 62		4 1	23 14	6 3	1		7 1	*** 13	*** 15	—

\*:  $P < 0.05$ , \*\*\*:  $P < 0.001$  (Fisher検定)

その他: (染色体断片化等)

(5) 枯草菌を用いたDNA修復試験

(資料No.32)

試験機関：

報告書作成年：1981年

検体純度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復保持株 (H-17、rec<sup>+</sup>) 及び欠損株 (M-45 rec<sup>-</sup>) を用い、DNAの損傷の誘発性を検討した。

検体を滅菌蒸留水に溶解し、有効成分量としてディスク当り500、1000、5000、10000  $\mu$ gとなるよう調製した。

陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてマイトマイシンCを用いた。

試験結果：結果は次の通りであった。

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ディスク)	阻止帯(mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	50 $\mu$ l / ディスク	0	0	0
検体	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	5000	0	0	0
	10000	0	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	13	13	0
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1	13	2	11

検体はいずれの濃度においても、両菌株に生育阻止を認めなかった。

陽性対照では、両菌株間に明かな生育阻止の差が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において検体は、枯草菌に対しDNA損傷を誘発しないと判断された。

(6) マウスを用いた小核試験

(資料No.33)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体の純度：

① 1回目の試験

試験動物：CFLP系マウス、1群雌雄各5匹、体重 19～23g

試験方法：検体を1%メチルセルロース溶液で希釈し、1250、2500及び5000mg/kgの用量を、24時間間隔で2回に分けて強制経口投与した。

2回目の投与後6時間目に、屠殺して骨髄を摘出し骨髄塗沫標本を作製し、1匹当たり2000個の多染性赤血球と正染性赤血球について小核数を検査した。

陰性対照は1%メチルセルロース、陽性対照としてマイトマイシンCを用いた。  
( )。

試験結果：結果を次表に示した。

いずれの群においても毒性症状は認められなかった。5000mg/kg群で雄が1匹死亡したが、肉眼的観察では異常は認められなかった。

投与群において小核数の有意な増加は認められなかった。

陽性対照群では統計学的に有意な増加が認められた。

多染性赤血球数に対する正染性赤血球数の比率が、陽性対照群、2500及び5000mg/kg群で陰性対照群に比べ有意に増加した。

以上の結果、検体は変異原性を示さないと結論された。

しかし、高投与群で骨髄抑制が認められたことから、再度の試験を行った。

試験結果

処理時間	薬物	投与量 (mg/kg)	性	動物数	MNPCE出現頻度		PCE/NCE	
24	陰性対照 (1%メチルセルロース)	—	雄	5	2.8	2.8	1.07	1.09
			雌	5	2.8		1.11	
	検体	1250	雄	5	2.2	2.1	1.60	1.66
			雌	5	2.0		1.73	
		2500	雄	5	2.4	2.5	4.39	4.14**
			雌	5	2.6		3.90	
		5000	雄	5	2.0	2.4	11.01	10.55***
			雌	5	2.8		10.18	
	陽性対照 (マイトマイシンC)	14	雄	5	89.0	89.5***	9.57	10.46***
			雌	5	90.0		11.35	

\*\* P<0.01、 \*\*\* P<0.001 (Bartlett検定、Kruscal-Wallis meanrank)

② 2回目の試験

試験動物：CD-1マウス、1群雌雄各5匹、 体重 23~25g

試験方法：検体を1%メチルセルロース溶液で希釈し、2500mg/kgの用量を24時間間隔で2回に分けて強制経口投与した。用量は1回目の試験の中間投与量を用いた。2回目の投与後12、24、36及び48時間目に各群雌雄各5匹を屠殺して骨髄を摘出し、骨髄塗沫標本を作製し、1匹当り2000個の多染性赤血球及び正染性赤血球について小核数を検査した。

陰性対照は1%メチルセルロース、陽性対照にはメソトレキセートを用いた。

試験結果：結果を次表に示した。

投与群では陰性対照に比べ、いずれの検査時期においても小核数の有意な増加はみられなかった。陽性対照群では統計学的に有意な増加が認められた。12時間目の投与群で、多染性赤血球に対する正染性赤血球の比率に有意な増加がみられたが、投与後24、36及び48時間目では対照群と同等であった。陽性対照群では、投与後12、24及び36時間目に小核数及び多染性赤血球に対する正染性赤血球の比率が有意に増加した。投与後48時間目では多染性赤血球は少なく計測できなかった。このことは陽性対照として用いたメソトレキセートの骨髄毒性が強いためと考えられた。

以上の結果、検体は変異原性を示さないと結論された。  
骨髄抑制が投与後12時間目に認められた。

試験結果

処理時間	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	MNPCE出現頻度		PCE/NCE	
12	陰性対照	—	雄	5	2.4	2.4	0.94	0.97
			雌	5	2.4		0.99	
	検体	2500	雄	5	2.4	2.5	3.64	3.58***
			雌	5	2.6		3.51	
	陽性対照 (メトトレキセート)	40	雄	5	14.2	14.2***	2.10	2.07***
			雌	5	14.2		2.03	
24	陰性対照		雄	5	2.6	2.6	1.02	1.01
			雌	5	2.6		0.10	
	検体	2500	雄	5	2.2	2.3	0.79	0.82
			雌	5	2.4		0.86	
	陽性対照 (メトトレキセート)	40	雄	5	19.6	19.6***	10.5	10.76***
			雌	5	19.6		11.01	
36	陰性対照		雄	5	2.8	2.6	1.01	1.01
			雌	5	2.4		1.01	
	検体	2500	雄	5	2.8	2.6	1.00	0.99
			雌	5	2.4		0.98	
	陽性対照 (メトトレキセート)	40	雄	5	41.6	42.3***	19.02	19.18***
			雌	5	43.0		19.34	
48	陰性対照		雄	5	2.6	2.3	1.04	1.06
			雌	5	2.0		1.08	
	検体	2500	雄	5	2.0	2.1	1.06	1.04
			雌	5	2.2		1.02	
	陽性対照 (メトトレキセート)	40	雄	5	—	—	—	—
			雌	5	—		—	

\*\*\*:  $P < 0.001$  (Bartlett検定、Kruskal-Wallis meabrank)、—: 測定不能

2回の試験の結果から、骨髄抑制が認められたが、検体は本試験系では変異原性を誘発しないことが確認された。



(7) マウスを用いた優性致死試験

(資料No.34)

試験機関：

報告書作成年：1979年

検体純度：

試験動物：ICR/SIMマウス、雄8週齢、雌10週齢、1群雄25匹、雌40匹

体重 雄27～30g、雌30～35g、

(予備試験として行った急性経口及び最大耐量設定試験は1群雄10匹)

投与期間：予備試験；1979年7月2日～8月22日

本試験；1979年8月27日～11月14日

試験方法：投与に用いた検体は原体( )。

本試験

優性致死試験：最大耐量試験の結果を検討した後、検体濃度を2000、4000及び8000ppmに決定した。検体を飲料水に0、2000、4000及び8000ppmの濃度で混合し、8週間にわたって与えた。試料は週2回調製した。

陽性対照群にはTEM(トリエチレンメラミン)を0.16ppmの濃度で混合し同様に与えた。

体重は週1回、摂水量は週2回(但しTEM群は毎日)測定した。8週間後に投与群から20匹を選び2週間雌と交配させた(各週雄1匹：雌2匹で同居させた)。

試験項目：

雄：2週間の交配後、屠殺した。

雌：雄と同居させた最初の日から16日目に屠殺し、剖検した。着床数、妊娠率、生存胎仔数、初期及び後期胎仔死亡数を調べた。

試験結果：

急性経口試験；死亡例はみられず、一般症状及び体重増加量は変化はみられなかった。  
従って、ICR/SIM マウスにおけるLD<sub>50</sub>値は2858mg/kg以上と考えられた。

最大耐量設定試験；8000ppm群では体重増加量が対照群に比べ少なかったが、他の投与群は対照群より増加した。1000ppm以上の投与群では、摂水量の減少が認められた。交配の結果、妊娠率、平均着床数及び平均死胚数は全群とも対照群とほぼ同等であった。  
交配の結果を以下に示す。

投与群 (ppm)		0	500	1000	2000	4000	8000
妊娠率 (%)	1	80	82	75	85	70	75
	2	100	83	90	75	75	95
平均着床数	1	11.69	11.56	12.80	14.11	13.29	12.13
	2	12.75	14.30	13.83	12.87	11.33	13.37
平均死胚数	1	0.38	0.56	0.53	0.53	0.79	0.60
	2	0.50	0.20	0.33	0.60	0.33	0.63

1：1週目交配    2：2週目交配

優性致死試験；結果を下表に示す。

投 与 群 (ppm)		0	2000	4000	8000	TEM 0.16
動 物 数		25	25	25	25	25
死 亡 動 物 数		0	0	0	0	2
体 重 増 加 量 (g) (%)		14.9	11.4 (77%)	10.9 (73%)	9.7 (65%)	12.8 (86%)
平 均 摂 水 量 (g/マウス/日)		9.5	8.4	7.4	6.1	9.3
同居させた雌の数	1	40	40	40	40	40
	2	40	40	40	40	40
妊娠動物数	1	34	27	29	35	35
	2	25	31	26	27	33
平均総胎仔数	1	13.26	14.19	13.83	13.11	13.09
	2	14.64	12.77**	12.38*	14.67	13.58
平均死胚数	1	0.59	0.33	0.31	1.20	1.60**
	2	0.56	0.55	0.23	1.59	1.03
平均生存胎仔数	1	12.68	13.85	13.52	11.91	11.49
	2	14.08	12.23*	12.15*	13.07	12.55*

\* P<0.05    \*\* P<0.01    (studentのt検定)

1：1週目交配    2：2週目交配    TEM：トリエチレンメラミン

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

全投与群で体重増加量の減少及び摂水量の減少がみられた。2週目の交配で2000及び4000ppm群で総胎仔数と生存胎仔数の統計学的に有意な減少がみられたが、いずれの場合も正常範囲内の数値であり、生物学的には有意とは考えられなかった。8000ppm群では2回の交配とも死胚数の増加がみられたが、2～3匹の雌での死胚数の増加によるもので有意差はみられなかった。

一方、TEM群では胎仔に優性致死の影響が総じてみられ、1週目の交配の平均死胚数に統計学的有意差がみられた。

以上の結果から、プロパモカルブは雄マウスに対して優性致死を示さないと判断された。

(8) 酵母を用いた変異原性試験

(資料No.35)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体純度：

試験期間：1980年 2月28日～ 4月 1日

試験方法：検体（原体；製剤有姿）をDMSOに溶解し、薬物代謝活性化系（S-9mix）の存在下及び非存在下で、酵母*Saccharomyces cerevisiae*を用いて *in vitro* で遺伝子変換、復帰変異及び有糸分裂組換え試験を行った。

2倍体株のD<sub>4</sub>菌株は、アデニン2及びトリプトファン5の遺伝子座に異質対立遺伝子を持っており、これを用い有糸分裂期の遺伝子変換誘発性を検査した。陽性対照はS-9mix非存在下では、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、S-9mix存在下では2-アントラミンを用いた。

メチオニン要求性のフレームシフト変異株S138及び塩基対置換変異株S211cを用いメチオニン非要求株への復帰変異原性を検査した。

陽性対照はS-9mix非存在下では、S138株；キナクリンマスタード、S211c株；エチルメタンスルホナート。

S-9mix存在下では、2-アントラミンを用いた。

2倍体真核酵母D<sub>5</sub>菌株を用いて、有糸分裂組換えの誘発を検査した。D<sub>5</sub>株の変化は酵母細胞中の色素生産により検出される。

陽性対照はS-9mix非存在下では、エチルメタンスルホナート、S-9mix存在下ではジメチルニトロソアミンを用いた。

本試験の用量は、1

000、2500、5000及び10000  $\mu$ g/プレートとした。

S-9mixはAroclor 1254で誘導した雄のSD系ラットの肝臓より調製した肝ホモジネートによるS-9mixを用いた。

試験結果：結果の表を次頁に示す。

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下において、遺伝子に対する作用がなく、また遺伝子変換を誘発しないと判断された。

予備毒性試験の結果：


溶媒：

D<sub>4</sub>、S138及びS211c菌株を用いた試験結果を下表に示す。

(平均値：n=3)

薬物		濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 mix	変異数/プレート		
				D <sub>4</sub>	S138	S211c
溶媒対照 (DMSO)		50	-	26	14	33
		50		53	16.3	39
検体		1000		37.3	17.7	25.7
		2500		35	15	26.7
		5000		36.3	14.3	27.7
		10000		38.7	13.7	33
陽性対照	N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	10		867.3		
		キナクリンマスタード		50		249.3
		エチルメタンスルホナート		10		270.7
溶媒対照 (DMSO)		50		+	38.3	29
		50	31		28	36.7
検体		1000	30		28	33
		2500	33.7		26	36
		5000	40		26.7	34
		10000	31.7		25.3	30
陽性対照 (2-アントラミン*)		2.5	42.3			
		50			34.7	52

\* 本試験条件下では有効な陽性対照は知られていない。

溶媒：50  $\mu\text{l}$  /プレート

D<sub>4</sub>：トリプトファン変換数

S138、S211c：メチオニン復帰変異数

D<sub>4</sub>株を用いた試験では、溶媒対照値の2倍を示す3濃度で用量相関を示す場合、有糸分裂期の遺伝子変換を誘発すると考える。S138及びS211c株を用いた試験では、溶媒対照値の2倍を示す3濃度で用量相関を示す場合、復帰変異を示すと考える。

検体は薬物代謝活性化系の存在下及び非存在下において陰性であった。

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

D<sub>5</sub> 菌株を用いた試験結果を下表に示す。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 mix	生存率 (%)	全組換え現象/ $10^4$ 生存株	発現頻度/ $10^5$ 生存株
溶媒対照 (DMSO)	50	-	100	14	4.24
検体	1000		100	22	6.63
	2500		96.42	20	6.29
	5000		100	15	4.29
	10000		100	20	5.99
陽性対照 (エチルメタンサルホナート)	$27.8 \mu\text{g}/\text{ml}$		9.11	319	106.12
溶媒対照 (DMSO)	50	+	100	29	4.67
検体	1000		100	37	3.84
	2500		100	40	5.24
	5000		86.26	27	5.04
	10000		100	31	4.44
陽性対照 (ジメチルニトロソアミン)	$277.8 \mu\text{g}/\text{ml}$		2.03	57	45.24

溶媒：50  $\mu\text{l}$  /プレート

全組換え現象が自然発生的組換え現象と同等または2倍以上を陽性とする。

D<sub>5</sub>株を用いた試験では、検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下で有糸分裂組換えを誘発しないものと判断される。

(9) 酵母を用いた変異原性試験

(資料No.36)

試験機関:

報告書作成年: 1985年

検体純度:

試験期間: 1985年 7月12日～ 9月 3日

試験方法: 検体(原体; 製剤有姿)を蒸留水に希釈し薬物代謝活性化系(S-9mix)の存在下で、酵母*Saccharomyces cerevisiae*を用いてin vitroで遺伝子変換及び復帰変異について試験を行った。本試験は先に行われた試験(資料No.35)においてS-9mixの存在下で陽性対照が十分な反応を誘発しなかったことから、これらの試験を再実施した。

D<sub>4</sub>菌株を用いて有糸分裂期の遺伝子変換、S138及びS211 $\alpha$ 株を用いて復帰変異性について、S-9mix存在下で試験を行った。S211 $\alpha$ 株に対する予備毒性試験を行って用量を設定した。

S-9mixはAroclor 1254で誘導した雄のSD系ラットの肝臓より調製した肝ホモジネートによるS-9mixを用いた。

陽性対照として全菌株にステリグマトシチンをDMSOで希釈し、10及び30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で用いた。

予備毒性試験の結果:


試験結果：

D<sub>4</sub>株を用いた遺伝子変換誘発試験：

D<sub>4</sub>株に関して4回試験を開始したが、そのうち最初の2回分は、最少培地が用いたD<sub>4</sub>株に対し非選択性だったため、評価に使用しなかった。この最初の2回の試験では、検体がS211αよりD<sub>4</sub>に対し毒性が弱かったので、3回目では10.0～25.0 μl/ml の濃度を用いた。これらの濃度では変換株数が僅かに増加し、その結果変換頻度もやや増加した。

25.0 μl/ml における変換頻度は技術上のミスにより生存株数が計測できなかったため計算できず、33.3 μl/ml までの濃度で試験を再度実施した。この試験では検体について生存率が35%近く減少する毒性がみられ、そのためトリプトファン変換数が溶媒対照値に近似した。30.0 μl/ml での変換頻度は溶媒対照頻度の倍だったが、変換数が大きく増加しておらず、また用量との相関性もないので、検体による影響とは考えられなかった。

一方、陽性対照では変換数に有意な増加がみられた。

また、溶媒対照群の数値は全て正常範囲内であった。

結果を下表に示す。

	薬 物	S-9 mix	濃 度 ( μl / ml )	生存率 ( % )	トリプトファン 変 換 数	変換数/ 10 <sup>6</sup> 生存株
試験 3	溶媒対照 (蒸留水)	+	75 μl / 3ml	100.0	6	9.04
	検体		10.0	91.4	5	8.24
			12.5	90.1	11	18.39
			15.0	86.7	10	17.36
			20.0	65.8	9	20.59
			25.0	—	7	—
陽性対照 (ステリグマトシチン)	10 μg/ml	68.7	597	1309.21		
	30	54.7	617	1699.27		
試験 4	溶媒対照 (蒸留水)	—	100	100.0	9	14.47
	検体		10.0	96.1	11	18.39
			15.0	98.1	9	14.75
			20.0	80.4	6	12.00
			25.0	78.9	5	10.18
			30.0	66.4	12	29.06
33.3	67.0	7	16.79			
陽性対照 (ステリグマトシチン)	10 μg/ml	65.0	388	960.40		
	30	40.8	733	2885.83		

—：技術的ミスにより計測できなかった



S138株及びS211 $\alpha$ 株を用いた復帰変異試験；

両菌株について2回の試験を行った。1回目の試験では1.0～15.0の濃度で復帰変異数または復帰変異率のいずれにおいても投与量に関連した増加はみられなかったが、毒性が殆ど示されなかったため、これらの結果が決定的なものとは考えられなかった。従って、濃度を5.0～25.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ で2回目の試験を実施した。これらの濃度では検体は溶媒対照より高い復帰変異数を誘発しなかった。最高濃度では極度に高い毒性がみられたため復帰変異数がやや増加したが、この増加は復帰変異株数の増加を伴っておらず、検体の変異原性の証拠とは考えられなかった。いずれの試験においても、溶媒対照の数値は正常範囲内であり、陽性対照では有意な増加が認められた。

	薬 物	濃 度 ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ )	S138株を用いた 復帰変異試験			S211 $\alpha$ 株を用いた 復帰変異試験		
			生存率 (%)	ミチオニン復 帰変異数	復帰数/ $10^6$ 生存株	生存率 (%)	ミチオニン復 帰変異数	復帰数/ $10^6$ 生存株
試験 1	溶媒対照 (蒸留水)	50 $\mu\text{l}/3\text{ml}$	100.0	50	0.14	100.0	40	0.14
	検体	1.0	90.2	47	0.15	95.7	62	0.22
		5.0	94.5	30	0.09	94.9	48	0.17
		10.0	92.9	34	0.10	96.1	48	0.17
		12.5	92.6	41	0.13	94.7	35	0.13
		15.0	95.9	48	0.14	102.9	30	0.10
陽性対照 (ステリグマトシチン)	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	20.7	182	2.49	25.7	141	1.87	
	30	23.0	125	1.54	22.3	122	1.86	
試験 2	溶媒対照 (蒸留水)	75 $\mu\text{l}/3\text{ml}$	100.0	16	0.05	100.0	15	0.05
	検体	5.0	34.3	9	0.08	38.6	9	0.08
		10.0	17.2	9	0.16	33.6	3	0.03
		15.0	10.4	3	0.09	28.6	8	0.10
		20.0	4.8	2	0.13	10.7	2	0.06
		25.0	4.2	0	0.00	4.3	3	0.24
	陽性対照 (ステリグマトシチン)	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	13.4	71	1.58	13.4	55	1.41
30		10.1	37	1.09	12.6	35	0.96	

以上の結果から、検体は代謝活性化系の存在下においてD<sup>4</sup>、S138及びS211 $\alpha$ 株に遺伝子変換及び復帰変異を誘発しないものと判断された。

14. 生体機能への影響に関する試験

プロパモカルブにおける薬理試験

(資料No.37)

試験機関:

報告書作成年: 1983年

検体の純度:

1. 中枢神経系に対する作用

1) 一般状態に及ぼす影響

試験動物: ICR系マウス、体重22~26g、1群雌雄3匹

試験方法: 検体の3、10、30、100、175及び300mg/kgを尾静脈内投与した。投与後30分、4及び24時間目に一般状態を観察した。

試験結果: 30及び100mg/kg群で不安運動性増加がみられ、10~30分後には回復した。175mg/kg群では3匹とも間代性痙攣を示し、2匹死亡した。残る1匹は振戦、散腫がみられたが4時間後には回復した。300mg/kg群では間代性痙攣を示し、3匹とも死亡した。3及び10mg/kg群では異常は認められなかった。

2) 電撃痙攣に及ぼす影響

試験動物: ICR系マウス、体重22~24g、1群雌雄3匹

試験方法: 検体の3、10、30及び100mg/kgを尾静脈内投与し、5分後に角膜を介し、Shockerにより刺激電流(AC 800V.16mA、0.2秒)を与え、誘発される強直性痙攣及び間代性痙攣の有無を観察した。

試験結果: 静脈内投与5分後において、電撃痙攣反応に投与群と対照群に差は認められなかった。

3) 鎮痛作用に及ぼす影響

試験動物: ICR系マウス、体重22~25g、1群雌雄3匹

試験方法: 検体の3、10、30及び100mg/kgを尾静脈内投与し、30分、4及び24時間目にHaffner法(尾根部に圧刺激を加えて反応を観察)及びHot-plate法(58℃前後の銅版上にマウスをおいて反応を観察)により鎮痛作用の有無を観察した。

試験結果: いずれの試験でも鎮痛作用は認められなかった。

4) バルビタールによる睡眠誘発に及ぼす影響

試験動物: ICR系マウス、体重23~25g、1群雄9匹

試験方法: バルビタールの睡眠誘発閾下量(125mg/kg)を尾静脈内投与し、50分後に検体の10及び100mg/kgの用量を静脈内投与し、さらに10分後に温板上で正向反射消失の有無を観察した。正向反射が5分以上消失した場合を睡眠誘発作用とみなした。

試験結果: 睡眠誘発作用は認められなかった。

5) 体温に及ぼす影響

試験動物：日本白色種ウサギ、体重2.3~2.7kg、1群雄5匹

試験方法：検体の10及び100mg/kgを尾静脈内投与した。投与前1時間、30分、1、2及び3時間目に直腸体温を測定した。

試験結果：いずれの検査時期においても、直腸体温に変化は認められなかった。

6) 自発脳波に及ぼす影響

試験動物：日本白色種ウサギ、体重2.6~2.7kg、1群雄3匹

試験方法：d-ツボクラリンで不動化し、脳固定装置に固定した。脳の各部位に皮質電極としてステンレス製ネジ電極を硬脳膜上に、皮質下電極には針電極を挿入した。

検体の1、10及び100mg/kgを順次30分間隔で大腿静脈内投与した。試験終了後、電極挿入部位は組織学的に確認した。

試験結果：100mg/kg群では投与直後に顕著な同期速波を示し、数分後には逆に徐波化を示し、音刺激に対する反応も不明瞭であったが30分後にはほぼ正常に回復した。

1及び10mg/kgでは影響はみられなかった。

2. 末梢神経系に対する影響

1) 運動、感覚神経系

① 反射、筋弛緩作用に及ぼす影響

試験動物：ICR系マウス、体重22~25g、1群雌雄3匹

試験方法：i) 反射：検体の3、10、30及び100mg/kgを尾静脈内に投与し、経時的に耳介反射及び角膜反射を観察。

ii) 筋肉弛緩：同様に投与し、経時的に懸垂法により筋弛緩作用及び協調運動性を観察。

試験結果：いずれの試験も影響は認められなかった。

② 神経筋伝達に対する影響

i) 摘出横隔膜神経筋標本

試験動物：SD系ラット、体重雄約380g、1群5匹

試験方法：Bulbringの方法で横隔膜神経筋標本を作成し、Magnus槽に懸垂し、電気刺激及び経壁刺激を与えて惹起される横隔膜筋の収縮を記録した。

検体は $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 及び $10^{-3}$ g/mlの濃度とした。

試験結果： $10^{-3}$ g/mlの濃度は筋収縮を抑制した。洗浄後速やかに回復した。 $10^{-5}$ 及び $10^{-4}$ g/mlの濃度では影響は認められなかった。経壁刺激では、いずれの濃度も影響は認められなかった。

ii) 生体位坐骨神経骨格筋標本

試験動物：SD系ラット、体重雄約300g、1群4匹

試験方法：urethane麻醉し、坐骨神経に電気刺激を与えて惹起される同側腓腹筋の収縮を記録した。検体は1、10、100mg/kgの用量で順次30分間隔で大腿静脈内投与した。

試験結果：いずれの投与量でも影響は認められなかった。

2) 自律神経系

① 摘出回腸に及ぼす影響

試験動物：Hartley系モルモット、体重 雄 410～550g、1群5匹

試験方法：検体の濃度を $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 及び $10^{-4}$ g/ml とし、摘出回腸に作用させた。モルモット回腸を摘出し、95%  $O_2$ +5%  $CO_2$ ガス通気下でTyrode液を満した浴槽中に懸垂し、筋の収縮をトランスデューサを介して記録した。アゴニストとしてアセチルコリン (Ach)、ヒスタミン (His) 及び高張カリウムを用い、各アゴニストの収縮に対するプロパモカルブの影響を検討した。

試験結果：結果を以下に示す。

アゴニスト	プロパモカルブ (g/l)	収縮率 (%)
Ach	$10^{-6}$	99.2
	$10^{-5}$	75.8**
	$10^{-4}$	26.6**
His	$10^{-6}$	101.2
	$10^{-5}$	87.8*
	$10^{-4}$	39.0**
高張カリウム	$10^{-6}$	98.6
	$10^{-5}$	95.8
	$10^{-4}$	94.8

\*  $P < 0.05$ 、\*\* $P < 0.01$  (両側 t 検定)

#：検体適用直前のアゴニスト単独での発生張力を100%として、検体適用後の収縮を%表示した。

プロパモカルブは $10^{-6}$ ～ $10^{-4}$ g/ml は摘出回腸の筋緊張度にはほとんど影響しなかった。アセチルコリン及びヒスタミンによる収縮は $10^{-6}$ g/ml では影響はみられないが、 $10^{-5}$ 及び $10^{-4}$ g/ml では用量依存的な抑制作用を示した。高張カリウム収縮に対しては影響は認められなかった。

② 摘出輸精管に及ぼす影響

試験動物：SD系ラット、体重 雄 560～640g、1群4～5匹

試験方法：検体の濃度を $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 及び $10^{-3}$ g/ml とし、摘出した輸精管をKrebs-Henseleit液槽に懸垂し、発生張力を記録した。

また、ノルエピネフリン収縮に対するプロパモカルブの影響を検討した。

試験結果：結果を以下に示す。

プロパモカルブ (g/ml)	ノルエピネフリン 収縮率 (%)
$10^{-6}$	102.0
$10^{-5}$	104.8**
$10^{-4}$	111.0**
$10^{-3}$	123.8**

\*\* $P < 0.01$  (両側 t 検定)

ラット摘出輸精管に対し、プロパモカルブ $10^{-6}$ ～ $10^{-4}$ g/ml では影響はみられなかったが、 $10^{-3}$ g/ml では軽度の緊張増加が認められた。ノルエピネフリン収縮に対しては $10^{-6}$ g/ml では影響はみられなかったが、 $10^{-5}$ ～ $10^{-3}$ g/ml は軽度の用量依存的な収縮作用を示した。

③ 摘出子宮に及ぼす影響

試験動物：SD系ラット、体重 雌 230～270g、1群5匹

試験方法：検体の濃度を $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 及び $10^{-3}$ g/ml とし、発情期のラットの子宮を摘出し、Tyrode液槽に懸垂し発生張力を記録した。

また、オキソトシン収縮反応に対するプロパモカルブの影響を検討した。

試験結果：投与による影響は認められなかった。

④ 摘出気管に及ぼす影響

試験動物：日本白色種ウサギ、体重 雄 3.6～4.2kg、1群4～5匹

試験方法：検体の濃度を $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 及び $10^{-3}$ g/ml とし、軟骨2個を含む気管リング2個を用いて鎖状標本を調製し、Krebs-Henseleit液槽に懸垂し、発生張力を記録した。気管平滑筋の緊張度及びアセチルコリンによる収縮反応に対するプロパモカルブの影響を調べた。

試験結果：結果を以下に示す。

プロパモカルブ (g/ml)	アセチルコリン 収縮率 (%)
$10^{-6}$	102.0
$10^{-5}$	94.6*
$10^{-4}$	69.6**
$10^{-3}$	59.6**

\* P<0.05、\*\*P<0.01 (両側 t 検定)

摘出気管に対し、プロパモカルブ $10^{-6}$ ～ $10^{-4}$ g/ml は影響がみられなかったが、 $10^{-3}$ g/ml では軽度緊張増加が認められた。アセチルコリン収縮に対しては $10^{-6}$ g/ml では影響はみられなかったが、 $10^{-5}$ ～ $10^{-3}$ g/ml は用量依存的に抑制作用を示した。

⑤ 摘出胃底条片に及ぼす影響

試験動物：SD系ラット、体重 雄 330～650g、1群4匹

試験方法：検体の濃度を $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 及び $10^{-3}$ g/ml とし、胃底部より粘膜のヒダに沿って切り取った条片を、Tyrode液槽に懸垂し、発生張力を記録した。気管平滑筋の緊張度及びセロトニンによる収縮反応に対する検体の影響を調べた。

試験結果：結果を以下に示す。

プロパモカルブ (g/ml)	セロトニン 収縮率 (%)
$10^{-6}$	100.3
$10^{-5}$	90.0
$10^{-4}$	75.3**
$10^{-3}$	67.0**

\*\*P<0.01 (両側 t 検定)

胃底条片に対し、プロパモカルブはいずれの濃度でも影響はみられなかった。セロトニン収縮に対しては $10^{-5}$ ～ $10^{-3}$ g/ml で抑制作用を示した。

⑥ 瞳孔に及ぼす影響

試験動物：ICR系マウス、体重22～25g、1群雌雄3匹

試験方法：検体を3、10、30及び100mg/kgの用量で尾静脈内投与し、静注後30分、4時間、24時間に瞳孔径を実体顕微鏡下で測定した。同時に光りに対する瞳孔の収縮反応も観察した。

試験結果：投与による影響は認められなかった。

3. 呼吸及び循環系に及ぼす影響

1) 呼吸、血圧、心拍数及び左心室内圧最大変化率に及ぼす影響

試験動物：日本白色種ウサギ、体重 雄 3.1～3.4kg、1群5匹

試験方法：ウサギをurethane麻醉し、呼吸は気管に挿入したカニューレに、血圧は大腿動脈に挿入した血管カテーテルを介して記録した。心拍数は心電図のR波から算出した。右頸動脈から左心室に挿入したカテーテルを介して心室内最大変化率を記録した。

検体は1、10、30及び100mg/kgの各用量を順次25分間隔で大腿静脈内に投与した。

試験結果：結果を下表に要約した。

投与量 (mg/kg)	1	10	30	100
呼吸	—	—	直後に増加、5分後に回復	直後に増加、15分後に回復
血圧	—	—	直後に低下、5分後に回復	直後に低下、15分後に回復
心拍数	—	—	直後に減少、1分後に回復	直後に減少、徐々に回復
左心室内 最大変化率	—	—	直後に低下、5分後に回復	直後に低下、20分後に回復

—：影響は認められず

2) 摘出心房に及ぼす影響

試験動物：Hartley系モルモット、体重 雄 400-570g、1群5匹

試験方法：検体の濃度を $10^{-5}$ 及び $10^{-4}$ g/ml とした。摘出した心房をKrebs-Henseleit液槽に懸垂し、心房の自動収縮及びイソプロテレノールによる収縮亢進に対する検体の影響を調べた。

試験結果：心房の自動収縮に対してプロパモカルブ $10^{-5}$ g/ml では影響は認められなかったが、 $10^{-4}$ g/ml では軽度低下させた。

イソプロテレノールに対しては影響はみられなかった。

4. 血液に及ぼす作用

1) in vivoでの凝固能に及ぼす影響

試験動物：SD系ラット、体重 雄 200～280g、1群5～6匹

試験方法：検体100mg/kgを尾静脈内投与し、投与10及び30分後に頸動脈から採血し、活性部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、プロトロンビン時間 (PT)、トロンビン時間 (TT) 及びフィブリノーゲン量を測定した。

試験結果：結果を下表に示す。

検 体	検査時期	血液凝固時間 (秒)			
		APTT	PT	TT	フィブリノーゲン量
生理食塩水	10分	10.5	24.7	25.1	191
	30分	9.4	24.0	24.0	200
プロパモカルブ 100mg/kg	10分	10.6	25.0	23.2*	184
	30分	10.4**	24.5*	24.2	198

\* P<0.05、\*\*P<0.01 (両側 t 検定)

トロンビン時間、活性-PPT及びプロトロンビン時間については対照群との間に統計的に有意な差が見られたが、いずれも正常範囲内の変動であった。いずれの測定時間にもFibrinogen量には統計的な有意差は認められなかった。

2) in vitroでの凝固系に及ぼす影響

試験動物：日本白色種ウサギ

試験方法：検体を $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 及び $10^{-2}$ g/mlの濃度になるよう生理食塩水で希釈した試料

0.1mlを37°Cに加熱し、ウサギの血液1mlと混和し、3分間静置後、血液流動性を観察した。

試験結果：結果を下表に示す。

プロパモカルブ (g/ml)	凝固時間 (分)
生理食塩水	5.4
$10^{-4}$	5.6
$10^{-3}$	5.7
$10^{-2}$	10.2**

\*\*P<0.01 ( t 検定)

$10^{-2}$ g/mlで有意な凝固時間の延長が認められた。

3) 溶血作用

試験動物：日本白色種ウサギ

試験方法：検体を生理食塩水で希釈し、 $10^{-3}$ 及び $10^{-2}$ g/mlとし、その1mlを37°C、2分間加熱し、3.2%クエン酸ナトリウム加ウサギ全血0.1mlを混和し、30分間加熱後、遠心分離し溶血について調べた。

試験結果：いずれの濃度でも溶血作用は認められなかった。

以上の結果より、プロパモカルブ塩酸塩を大量に静脈内投与すると中枢神経系に作用し、呼吸不規則、運動性の減少後増加、歩行低調、間代性痙攣がみられ、自発脳波に一過性の変化を与える。また、心拍数の減少並びに血圧の一過性の低下も認められる。摘出標本を用いた試験では、神経筋伝達系の抑制、Ach、ヒスタミン及びセロトニンに対する拮抗作用、弱いアドレナリン増強作用が認められた。

しかしながら鎮痛作用、バルビタール睡眠誘発作用、筋弛緩作用、瞳孔への作用、血液に対する作用はないと考えられる。

生体の機能に及ぼす影響に関する試験の総括

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg) (g/l)	動物 数/群	無作用量 (mg/kg) (g/l)	作用量 (mg/kg) (g/l)	結果の概要
<b>中枢神経系に及ぼす影響</b>						
一般状態 マウス	尾静脈	3、10、30、 100、175、 300	♂+♀ 3	10	30	30、100mg/kgでは不安、 運動性増加。175及び300 mg/kgでは痙攣がみられ、 各2匹及び3匹死亡した。
電撃痙攣 マウス	尾静脈	3、10、30、 100	♂+♀ 3	10	—	影響は認められなかった
鎮痛作用 マウス	尾静脈	3、10、30、 100	♂+♀ 3	100	—	影響は認められなかった
睡眠誘発 マウス	尾静脈	10、100	♂ 9	100	—	影響は認められなかった
体温 ウサギ	尾静脈	10、100	♂ 5	100	—	影響は認められなかった
自発脳波 ウサギ	大腿静脈	1、10、100	♂ 3	10	100	100mg/kgで脳波の変動が みられたが30分後には回 復した。1及び10mg/kgで は影響は認められなかつ た。
<b>末梢神経系に及ぼす影響</b>						
反射及び 筋弛緩 マウス	尾静脈	3、10、30、 100	♂+♀ 3	100	—	影響は認められなかった
横隔膜神経 ラット	<i>in vitro</i>	$10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ (g/ml)	♂ 5	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$ g/ml で抑制
坐骨神経 ラット	大腿静脈	1、10、100	♂ 4	100	—	影響は認められなかった
<b>自律神経系に及ぼす影響</b>						
摘出回腸 モルモット	<i>in vitro</i>	$10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ (g/ml)	♂ 5	$10^{-6}$	$10^{-5}$	ACh. Hisでは $10^{-5}$ 及び $10^{-4}$ g/ml で抑制
摘出輸精管 ラット	<i>in vitro</i>	$10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ (g/ml)	♂ 4~5	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$ g/ml で軽度緊張増 加。ノルエピネフリンで は $10^{-5}$ ~ $10^{-3}$ g/ml で収 縮。
摘出子宮 ラット	<i>in vitro</i>	$10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ (g/ml)	♀ 5	$10^{-3}$	—	影響は認められなかった
摘出気管 ウサギ	<i>in vitro</i>	$10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ (g/ml)	♂ 4~5	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-3}$ g/ml で軽度緊張増 加。ACh.では $10^{-5}$ ~ $10^{-3}$ g/ml で抑制。
摘出胃底条片 ラット	<i>in vitro</i>	$10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ (g/ml)	♂ 4	$10^{-3}$	—	緊張影響は認められず。 セロトニン収縮に対し $10^{-5}$ ~ $10^{-3}$ g/ml で抑制
瞳孔への影響 マウス	尾静脈	3、10、30、 100	♂+♀ 3	100	—	影響は認められなかった



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

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg) (g/l)	動物 数/群	無作用量 (mg/kg) (g/l)	作用量 (mg/kg) (g/l)	結果の概要
呼吸及び循環系に及ぼす影響						
呼吸数、血 圧、心拍数 及び左心室 内圧変化率 ウサギ	大腿静脈	1、10、30、 100	♂ 5	1	10	30、100mg/kgで低下また は減少。心拍数のみ 10mg/kgから減少。
摘出心房 モルモット	<i>in vitro</i>	$10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ (g/ml)	♂ 5	—	$10^{-4}$	$10^{-4}$ g/ml で軽度低下
血液に及ぼす影響						
凝固能 ラット	尾静脈	100	♂ 5~6	100	—	影響は認められなかった
凝固時間 ウサギ	<i>in vitro</i>	$10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$ (g/ml)		$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$ g/ml で延長
溶血作用 ウサギ	<i>in vitro</i>	$10^{-3}$ 、 $10^{-2}$ (g/ml)	♂ 5~6	$10^{-2}$	—	影響は認められなかった

### 15. コリンエステラーゼ活性に対する影響試験

#### (1) ラットを用いたコリンエステラーゼ活性に対する影響試験

(資料No.38)

試験機関:

報告書作成年:1978年

検体純度:

試験動物: SD系ラット、4週齢、1群 雌雄各10匹、

試験開始時体重 雄216.5g、雌175.5g

試験期間: 11日間投与(1978年6月29日～7月11日)

試験方法: 検体(原体; 製剤有姿)を蒸留水で希釈し、3000mg/kgの用量をゴム製カテーテルで強制経口投与した。対照群には蒸留水を投与した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡; 一般状態及び死亡は毎日観察した。

投与7日目から9日目に3000ppm群で11匹(雄3匹、雌8匹)の死亡が認められた。

3000ppm群では、1回目の投与直後から流涎が見られ、3日目～4日目以降には腹部膨満、褐色被毛、尿でそまった被毛等が認められた。

体重変化; 投与開始1週間前、投与開始日、投与後1週目及び終了日に測定した。

投与期間中の体重増加量は、対照群に比べ雌雄とも少なかった。

コリンエステラーゼ活性の測定:

i) 全血: 投与7日目に麻酔下で眼窩静脈叢から、投与前、投与後30分、1及び2時間目に採血し、Elman, G.L.ら(Biochem. Pharm., 7, pp88-95)の方法でコリンエステラーゼ活性を測定。

ii) 脳: 最終投与終了30分後に二酸化炭素を吸入させてラットを屠殺し、直ちに脳を摘出し、Elman, G.L.らの方法でコリンエステラーゼ活性を測定。

結果を下表に示す。

i) 全血コリンエステラーゼ活性: (umol/ml /分)

経過時間 (hrs)	雄		雌	
	0	3000	0	3000
0	3.04	3.81	3.15	4.84
0.5	3.07	3.47	3.36	4.43
1.0	3.15	3.40	3.43	4.51
2.0	3.71	3.27	3.74	4.08
3.0	3.61	3.29	3.65	4.22

投与に起因するコリンエステラーゼ活性の阻害は認められなかった。

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

ii) 脳のコリンエステラーゼ活性: ( $\mu\text{mol/g/分}$ )

経過時間 (hrs)	雄		雌	
	0	3000	0	3000
0.5	17.0	15.4	15.1	19.5

雄では対照群と比べ低かったが、これは1匹が低かったことによるもので、他は対照群と同等であり、また雌では高いことから、投与によるものとは考えられなかった。

以上の結果から、プロパモカルブ塩酸塩はラットの全血または脳コリンエステラーゼ活性を阻害しないものと判断された。

2) ラット及びイヌを用いたコリンエステラーゼ活性に対する影響試験 (資料No.39)

試験機関:

報告書作成年: 1981年

検体純度:

試験動物: In vitro試験: ラット及びイヌの血漿、

In vivo試験: ビーグル犬、14~29ヶ月齢、1群 雄1匹、雌2匹、

投与時体重 7.1~13.1kg

申請者註: 本剤は吸湿性を有し安定性を保つため %以上の有効成分を含む水溶液で原体=製剤(プレビクールN)である。純度の高い原体は潮解性のため、そのままでは保存不可能である。

試験方法:

In vitro試験:

ラット及びイヌの血漿に検体を、有効成分として0、0.925、9.25、18.5、37及び74mg/mlの濃度になるように加え、37℃で10分間培養した後、コリンエステラーゼ活性を測定した。

結果を下表に示した。

試験結果:

濃度 mg/ml	in vivo 換算 濃度 g/kg*	検体 (98.5%原体)				検体 (67.5%原体=製剤)			
		イヌ		ラット		イヌ		ラット	
		コリンエステ ラーゼ活性 U/100ml	阻害 %	コリンエステ ラーゼ活性 U/100ml	阻害 %	コリンエステ ラーゼ活性 U/100ml	阻害 %	コリンエステ ラーゼ活性 U/100ml	阻害 %
0	0	121.5	-	43.7	-	121.5	-	43.7	-
0.925	0.056	146.5	-	47.0	-	149.9	-	46.2	-
9.25	0.56	126.4	-	41.4	5	127.4	-	42.5	3
18.5	1.11	108.4	11	38.4	12	108.6	11	38.4	12
37	2.22	81.0	33.3	33.4	23.5	86.8	28.5	34.4	21.5
74	4.44	48.6	60	23.6	46	64.7	53	26.5	39.5

\*: 有効成分の全量が結晶に分布し、かつ血漿量を体重の約6%とした換算濃度

37mg/ml の濃度以上でアセチルコリンエステラーゼ活性の阻害が認められた。

37mg/ml の濃度は In vivo換算濃度 (有効成分の全量が結晶に分布し、かつ血漿量を体重の約6%) とした場合、約2.2gに相当すると考えられた。

試験方法：

In vivo試験：

イヌに検体 ( ) の0.925ml /kg (有効成分0.674g/kg相当) を1回強制経口投与した。対照群には0.9%生理食塩水0.925ml を同様に投与した。投与後22~36分及び35~56分に血漿及び赤血球アセチルコリンエステラーゼ活性を測定した。投与後35分及び43分に2匹死亡し、この2匹については脳アセチルコリンエステラーゼ活性も測定した。結果を下表に示した。

	平均コリンエステラーゼ活性 U/100ml						
	投与前		投与後22-36時間		投与34-56時間後		死亡動物
	血漿	赤血球	血漿	赤血球	血漿	赤血球	脳
対照群 (0.9%生理食塩水)	162.1	265.0	166.2	253.3	168.7	291.3	検査せず
検体 ( ) 0.925ml /kg	194.5	295.3	205.8	188.7	192.7	311.0	0.47

血漿及び赤血球は3匹、脳は2匹の平均値

血漿、赤血球アセチルコリンエステラーゼ活性は対照群と同等であった。2匹の脳について行った脳のアセチルコリンエステラーゼ活性は、Dr G Frank\*の述べている参考値の範囲内であり、阻害は認められなかった。

\* : Dr.G.Frank, Bayer AG:

Determination of Cholinesterase activity in plasma, erythrocytes and brain of experimental animals with a centrifugal analyzer, paper presented at the X international congress of clinical chemistry on the 2nd of March, 1978, Mexico City

以上の結果、In vitro試験において、高濃度でアセチルコリンエステラーゼ活性阻害が認められた。しかし、これらの濃度は有効成分の674mg/kgを投与し、完全に吸収されたと仮定した前提に基づいた計算による予想濃度 (イヌの体重 10kg; 血漿60ml /kg; 血漿中有効成分濃度 11.2mg/ml ) より高濃度であり、非現実的な濃度であると考えられた。