

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

(資料 No.T-27)

①ラットにおける2世代繁殖試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度：

試験動物：SDラット、投与開始時5週齢、1群雄各15匹、雌30匹

投与開始時平均体重 雄188.1g、雌141.0g

投与期間：1983年3月1日～1984年5月31日

P世代；交配前期間（12週間）及び交配期間～第2産児の離乳時まで、計18週間

F世代；交配前期間（12週間）及び交配期間～第2産児の離乳時まで、計18週間

投与方法：検体を0、100、500及び2500ppmの濃度で含有した飼料を自由摂取させた。

[用量設定根拠]

方法及び結果：試験方法の概要を表1に示す。

一般状態及び死亡率；全動物について全検査時期に一般状態及び生死を毎日観察した。結果を表2および3に示す。

一般状態には異常は認められなかった。

分娩中または分娩終了後に2500ppm投与群のP世代1匹及びF1b世代2匹が死亡し、検体投与に関連するものと考えられた。

[申請者注]

体重変化； 育成期間中は全動物について毎週 1 回測定し、その後雌雄とも最終屠殺時まで毎月 1 回測定した。結果を表 2 および 3-1 に示す。

親動物では、投与に関連する変化として 2500ppm 投与群では P 及び F1 世代の雌で、ほぼ全試験期間を通して対照群に比べ体重が有意に減少した。

児動物では、投与に関連する変化として F1 児及び F2 児において 2500ppm 投与群で体重が有意に減少し、投与の影響と考えられた。なお、100 及び 500ppm 投与群においても体重変化に統計学的な有意差が散見されたが、投与群間及び各世代の同腹児間で一定した変化が認められず、検体投与による影響とは考えられなかった。

[申請者注]

摂餌量；育成期間中は、全動物について毎週測定した。結果を表2に示す。

2500ppm 投与群ではP及びF1世代の雌親動物で、生育期間における摂餌量が減少した。

検体摂取量；摂餌量及び検体の飼料中理論濃度から1日当たりの平均検体摂取量 (mg/kg/日) を算出した。結果を表2に示す。

交配方法及び交尾・妊娠の確認；交配は雌雄2対1で同居させ、翌朝膣栓形成及び膣垢中の精子の有無により、交尾を確認した (妊娠0日)。また、触診及び胎盤徴候により妊娠を確認した。

繁殖性に関する指標；出産時に、各雌親動物について出産児数、生存児数及び性別を調査した。また、児動物については、生死を1日2回観察し、哺育0、4、7、14及び21日目に個体別体重及び生存児数を調べた。また、外表異常を出産時及び離乳時に検査した。交配、妊娠、出産及び哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。結果を表2に示す。

$$\text{交尾率 (\%)} = (\text{交尾が確認された雌動物数} / \text{交配に用いた雌動物数}^*) \times 100$$

(\*1 交尾期間は5日間)

$$\text{妊娠率 (\%)} = (\text{妊娠した雌動物数} / \text{交尾が確認された雌動物数}) \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = (\text{出産した雌動物数} / \text{妊娠した雌動物数}) \times 100$$

$$\text{雌の受精率 (\%)} = (\text{妊娠した雌動物数} / \text{交尾した雌動物数}) \times 100$$

$$\text{雄の妊孕率 (\%)} = (\text{雌を妊娠させた雄動物数} / \text{交尾が確認された雄動物数}) \times 100$$

$$\text{生存産児率 (\%)} = (\text{生存産児数} / \text{新生児合計}) \times 100$$

$$\text{哺育4日目の生存率 (\%)} = (\text{哺育4日目の生存児数} / \text{生存出産児数}) \times 100$$

$$\text{哺育21日目の生存率 (\%)} =$$
$$[\text{哺育21日目の生存児数} / \text{哺育4日目の生存児数 (動物数調整後)}] \times 100$$

$$\text{雌の性比 (\%)} = \text{雌生存児} / \text{全生存児数} \times 100 \text{ (哺育4日の間引き前)}$$

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

親動物では、交尾率、妊娠率及び出産率等の親動物の交配成績には、第 1 及び第 2 回目交配のいずれにおいても検体投与の影響は認められなかった。

児動物では、投与に関連する変化として 2500ppm 投与群の F2a で出産児数、生存児数及び哺育 4 日目の生存児数が有意に減少した。同群 F2b では哺育 7, 14 及び 21 日目の生存率が有意に減少した。

**臓器重量**；試験終了時の全生存親動物及び F1a、F1b、F2a 及び F2b の児動物雌雄各 10 匹について、脳（脳幹を含む）及び卵巣または精巣（精巣上体を含む）の重量を測定し、体重比及び脳重比を算出した。結果を表 2 および 3-1 に示す。

親動物では、投与に関連する変化として 2500ppm 投与群 P 及び F1 世代の雌で、脳体重比の有意な増加が認められた。

児動物では、投与に関連する変化として 2500ppm 投与群の F1a, F2a 及び F2b の雄で脳体重比の増加、F1a 及び F2a 雄で精巣重量の減少、F1a 雄及び F2b 雌で脳重量の減少が認められ、いずれも低体重に起因する変化と考えられた。

[申請者注]

**肉眼的病理検査**；試験終了時の全生存親動物、途中死亡動物、F1a、F1b、F2a 及び F2b 児動物雌雄各 10 匹を対象として、体表、全ての開口部、頭蓋腔、脳の外表及び断面、脊髓、胸腹腔及び骨盤腔内の内臓、子宮について、肉眼的病理検査を実施した。また、哺育期間中に死亡した児動物は、胸腹腔及び骨盤腔内の内臓の異常及び脳、口蓋の発達異常を検査した。結果を表 2 および表 3-2 に示す。

親および児動物ともに、検体投与に関連すると考えられる変化はなかった。

[申請者注]

**病理組織学的検査**；試験終了時の全生存親動物、F1b、F2b 及び肉眼的病理検査で発育異常が認められた児動物を対象として、肝、精巣（精巣上体を含む）、精囊、前立腺、卵巣（黄体を含む）、子宮、腔及びその他異常が認められた全組織及び臓器について検査した。結果を表 2 および 3-2 に示す。

親動物では、投与に関連する変化として 500 及び 2500ppm 投与群の P 及び F1 世代で、肝細胞肥大及び明細胞性変化の発生頻度が有意に増加した。

児動物では、投与に関連する変化として 2500ppm 投与群の F1b 及び F2b で肝細胞肥大の発生頻度が有意に増加した。

以上の結果から、本剤の 2 世代繁殖試験において、500ppm 以上の投与群の親動物に肝細胞肥大及び明細胞性変化の発生頻度の増加が認められたことから、雌雄親動物に対する無毒性量は 100ppm (F0 雄 8.01mg/kg/日、F0 雌 9.36mg/kg/日、F1 雄 9.20mg/kg/日、F1 雌 10.1mg/kg/日) と判断された。繁殖性への影響はなかった。

また、2500ppm 投与群の児動物で、体重減少、脳体重比の増加、精巣重量の減少及び肝細胞肥大の発生率の増加、500ppm 投与群の児動物で体重減少が認められたことから、児動物に対する無毒性量は 100ppm (F0 雄 8.01mg/kg/日、F0 雌 9.36mg/kg/日、F1 雄 9.20mg/kg/日、F1 雌 10.1mg/kg/日) と判断された。

表 1. 試験方法の概要

世代	期間 (週間)	作業手順	項目	
P	生育 (12 週)	1 群 雄 15 匹 雌 30 匹	一般状態、生死を毎日観察。 体重、摂餌量を週 1 回測定。	
	1 回目交配 (3 週)	雌雄 2 対 1 で交配。交尾は膣垢中の精子の有無または膣栓で確認 (妊娠 0 日)。	交配状況の観察。	
	妊娠 (3 週) F1a 出産		出産状況の観察。 出産児数、生存児数、死産児数、外表異常及び同腹生存児体重測定。	
	哺育 (3 週)	出産後 4 日目に各同腹児数を雌雄各 4 匹に調整 (不可能な場合、雌雄計 8 匹)。	哺育 4, 7, 14 及び 21 日目に生存児数、児体重測定。 なお、途中死亡例及び 4 日目屠殺例について異常の検査。	
	離乳		児動物屠殺、各群雌雄各 10 匹について肉眼的病理検査。 出産 1 カ月目に母動物の体重測定。	
	生育 (2 週)		一般状態、生死を毎日観察。	
	2 回目交配 (3 週)	(1 回目交配に準ずる。)	(1 回目交配に準ずる。)	
	F1b 出産 哺育 (3 週) 離乳	(F1a に準ずる。) 継代用に各群雄 15 匹、雌 30 匹を無作為に選抜。	(F1a に準ずる。) (F1a に準ずる。) 親動物屠殺、病理組織学的検査。 継代用以外の児動物を屠殺し、各群雌雄各 10 匹について病理組織学的検査。	
	F1	生育 (12 週) 1 回目交配 (3 週) 妊娠 (3 週) F2a 出産	(P 世代に準ずる。)	(P 世代に準ずる。)  (F1a に準ずる。)
		哺育 (3 週) 離乳	(F1a に準ずる。)	(F1a に準ずる。)
F2		生育 (2 週) 2 回目交配 (3 週) 妊娠 (3 週) F2b 出産	(P 世代に準ずる。)	(P 世代に準ずる。)  (F1a に準ずる。)
		哺育 (3 週) 離乳	(F1a に準ずる。)	(F1a に準ずる。) (F1a に準ずる。)

表 2. 親動物の結果

世 代		親 : P				親 : F <sub>1</sub> b				
投 与 量 (ppm)		対照	100	500	2500	対照	100	500	2500	
供試動物数	雄	15	15	15	15	15	15	15	15	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
生育期間中の平均検体 摂取量 (mg/kg/日)	雄	—	8.01	41.8	194	—	9.20	45.7	238	
	雌	—	9.36	46.8	224	—	10.1	51.7	264	
一般状態	雄	検体投与に起因すると思われる症状は認められなかった。								
	雌									
死亡率 (%)	雄	1 (6.7)	0	0	0	0	0	1 (6.7)	0	
	雌	0	1 (3.3)	1 (3.3)	1 (3.3)	0	0	0	2 (6.7)	
生育期間中の体重 増加量 (g) <sup>1)</sup>	雄	369.0	350.7	339.9	339.7	434.3	440.9	439.7	396.1	
	雌	172.7	173.1	168.4	137.0**	225.8	220.6	206.2**	191.6**	
生育期間の平均摂 餌量 (g/匹/日) <sup>1)</sup>	雄	26.7	25.1	26.7	25.1	27.7	28.0	28.1	25.7	
	雌	20.0	19.5	19.1	17.3a)	20.0	19.5	19.3	17.5a)	
3) 交配成績	交尾率 (%)	a	67.4	57.4	83.3	75.0	61.7	83.3	85.7	83.3
		b	62.9	78.6	77.8	81.5	67.6	100.0	73.0	73.1
配	妊娠率 (%)	a	82.8	81.5	73.3	73.3	86.2	86.7	90.0	73.3
		b	72.7	90.9	85.7	81.8	87.0	73.1	96.3	94.7
成	出産率 (%)	a	100.0	100.0	100.0	90.9	96.0	96.2	96.3	100.0
		b	93.8	95.0	100.0	100.0	95.0	89.5	92.3	100.0
績	雌の受精率 (%)	a	80.0	75.9	73.3	73.3	83.3	86.7	90.0	73.3
		b	66.7	90.9	85.7	81.8	80.0	73.1	96.3	90.0
物	雄の妊孕率 (%)	a	93.3	86.7	80.0	86.7	93.3	93.3	100.0	93.3
		b	66.7	93.3	86.7	80.0	93.3	93.3	100.0	93.3
物	妊娠期間 (日)	a	23	22	23	23	22	22	22	22
		b	22	22	23	22	22	22	22	22
臓器重量 <sup>2)</sup>		雌	—	—	—	脳体重比 120%**	—	—	—	脳体重比 122%**
肉眼的病理検査		雄	検体投与に起因すると思われる所見は認められなかった。							
		雌								
<sup>3)</sup> 病理 組織 学的 検査	肝細胞肥大	雄	7/15	3/15	13/15*	14/15*	0/15	1/15	5/15*	15/15*
		雌	4/30	3/29	6/30	29/30*	0/30	2/30	15/30*	29/30*
	肝細胞の 明細胞性変化	雄	0/15	2/15	3/15	14/15*	2/15	5/15	8/15*	11/15*
		雌	1/30	1/29	1/30	1/30	2/30	4/30	7/30	10/30*

1) 多重比較検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01)

2) Kruskal-Wallis の検定 (\*\*p<0.01)

3) Fisher の検定 (\*p<0.05)

— : 異常なし

a) : 表中の数字は全期間の平均値を示す。有意差検定は週ごとに実施し、ほぼ全期間に有意差が認められた。

表 3-1. 児動物の結果

世 代		親 : P				児 : F <sub>1</sub>				親 : F <sub>1</sub> b				児 : F <sub>2</sub>						
投 与 量 (ppm)		対照	100	500	2500	対照	100	500	2500	対照	100	500	2500	対照	100	500	2500			
児	出産児数	a	12.5	12.2	11.5	12.1	12.8	13.0	11.0	10.0*	12.8	13.0	11.0	10.0*	12.9	13.5	12.7	11.7		
		b	11.7	12.8	13.3	12.8	12.9	13.5	12.7	11.7	12.5	13.0	10.8	9.2**	12.8	13.4	12.7	11.3		
	生存児数	a	12.2	11.7	11.2	11.8	12.5	13.0	10.8	9.2**	12.8	13.4	12.7	11.3	12.8	13.4	12.7	11.3		
		b	11.4	12.7	13.2	12.4	12.8	13.4	12.7	11.3	12.8	13.4	12.7	11.3	12.8	13.4	12.7	11.3		
	i) 体重 (g)	出生時	a	6.1	6.0	6.1	6.2	5.4	5.3	5.7*	5.4	5.3	5.7*	5.4	5.4	5.8	5.4**	5.5**	5.4**	
			b	6.1	6.0	6.4**	6.1	5.8	5.4**	5.5**	5.4**	5.8	5.4**	5.5**	5.4**	5.8	5.4**	5.5**	5.4**	
		哺育 4 日	a	8.9	8.8	9.2	8.1**	8.5	7.9**	8.3	7.5**	8.8	8.6	8.5	7.3**	8.8	8.6	8.5	7.3**	
			b	8.8	9.2	9.5**	8.6	8.8	8.6	8.5	7.3**	8.8	8.6	8.5	7.3**	8.8	8.6	8.5	7.3**	
		離乳時	a	雄	48.0	44.1**	47.7	35.8**	43.8	42.5	42.5	31.5**	43.8	42.5	42.5	31.5**	43.8	42.5	42.5	31.5**
				雌	46.1	42.5**	44.9	34.7**	41.1	40.4	39.8	30.2**	41.1	40.4	39.8	30.2**	41.1	40.4	39.8	30.2**
			b	雄	44.3	46.1	47.7	35.6**	48.8	48.6	45.1**	36.7**	48.8	48.6	45.1**	36.7**	48.8	48.6	45.1**	36.7**
				雌	40.1	43.5	43.5	32.5**	46.2	46.6	42.3**	33.3**	46.2	46.6	42.3**	33.3**	46.2	46.6	42.3**	33.3**
	生存産児率 (%)	a	97.3	95.9	98.0	97.9	97.7	99.7	97.6	92.3	97.7	99.7	97.6	92.3	97.7	99.7	97.6	92.3		
		b	97.7	98.8	99.2	97.4	99.2	99.6	100.0	97.1	99.2	99.6	100.0	97.1	99.2	99.6	100.0	97.1		
	哺育 4 日目の生存率 (%)	a	90.4	96.9	98.0	96.2	96.7	88.9	96.4	83.9	96.7	88.9	96.4	83.9	96.7	88.9	96.4	83.9		
		b	90.6	97.1	97.9	98.1	97.1	98.7	98.7	93.1	97.1	98.7	98.7	93.1	97.1	98.7	98.7	93.1		
	哺育 7 日目の生存率 (%)	a	99.4	98.8	99.4	95.6	98.9	98.9	95.4	97.0	98.9	98.9	95.4	97.0	98.9	98.9	95.4	97.0		
		b	97.0	98.6	99.3	94.0	99.3	100.0	100.0	84.8*	99.3	100.0	100.0	84.8*	99.3	100.0	100.0	84.8*		
	哺育 14 日目の生存率 (%)	a	98.8	95.8	98.2	92.5	98.9	98.9	93.3	92.5	98.9	98.9	93.3	92.5	98.9	98.9	93.3	92.5		
		b	96.0	98.6	97.9	92.5	99.3	100.0	100.0	78.0**	99.3	100.0	100.0	78.0**	99.3	100.0	100.0	78.0**		
哺育 21 日目の生存率 (%)	a	98.8	95.8	98.2	92.5	98.9	98.3	92.8	92.5	98.9	98.3	92.8	92.5	98.9	98.3	92.8	92.5			
	b	96.0	98.6	97.2	92.5	99.3	100.0	100.0	78.0**	99.3	100.0	100.0	78.0**	99.3	100.0	100.0	78.0**			
哺育 4 日目の性比 ((雌%))	a	51.5	58.6	48.8	57.3	50.9	51.4	53.3	48.1	50.9	51.4	53.3	48.1	50.9	51.4	53.3	48.1			
	B	49.0	44.4	54.3	51.0	48.9	54.2	55.4	46.8	48.9	54.2	55.4	46.8	48.9	54.2	55.4	46.8			
動物	外表異常 <sup>3)</sup>	a	血腫 (4 例) 矮小児 (3 例)	血腫 (2 例) 内反足 / 無尾 (1 例) 矮小児 (3 例) 口唇裂 (1 例)	血腫 (1 例) 矮小児 (2 例)	眼瞼異常 (1 例) 眼球異常 (1 例) 矮小児 (5 例)	血腫 (4 例) 腹部皮膚の隆起 (1 例) 矮小児 (4 例)	血腫 (3 例) 矮小児 (6 例)	血腫 (1 例) 矮小児 (6 例)	血腫 (2 例) 矮小児 (5 例)	血腫 (4 例) 矮小児 (3 例)	血腫 (1 例) 内反足 (1 例) 矮小児 (2 例)	眼瞼異常 (1 例) 矮小児 (5 例)	血腫 (2 例) 矮小児 (11 例)*	血腫 (3 例) 矮小児 (3 例)	血腫 (1 例) 内反足 (1 例) 矮小児 (2 例)	眼瞼異常 (1 例) 矮小児 (5 例)	血腫 (2 例) 矮小児 (11 例)*		
		b	血腫 (3 例) 矮小児 (4 例)	血腫 (1 例) 矮小児 (3 例)	矮小児 (3 例)	眼瞼異常 (1 例) 眼球異常 (1 例) 矮小児 (6 例)	血腫 (2 例) 矮小児 (3 例)	血腫 (1 例) 内反足 (1 例) 矮小児 (2 例)	眼瞼異常 (1 例) 矮小児 (5 例)	血腫 (2 例) 矮小児 (11 例)*	血腫 (2 例) 矮小児 (3 例)	血腫 (1 例) 内反足 (1 例) 矮小児 (2 例)	眼瞼異常 (1 例) 矮小児 (5 例)	血腫 (2 例) 矮小児 (11 例)*	血腫 (1 例) 内反足 (1 例) 矮小児 (2 例)	眼瞼異常 (1 例) 矮小児 (5 例)	血腫 (2 例) 矮小児 (11 例)*			
動物	外表異常がみられた個体の肉眼的病理検査結果	a	-	2 部に分離した脾臓 (1 例)	-	左眼球の縮小 (1 例)	腎盂拡張 (1 例) 膈ヘルニア (1 例)	-	心臓肥大 (1 例)	-	-	-	左眼球の収縮 (1 例)	-	-	-	-			
		b	-	-	-	脳の拡張 (1 例) 左眼球の腫脹 (1 例) 腎盂拡張 (1 例)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
動物	臓器重量 <sup>2)</sup>	a	雄	-	-	-	脳重量 ↓89% 脳体重比 ↑137% 精巣重量 ↓66%	-	-	-	-	-	-	脳体重比 ↑128% 精巣重量 ↓73% 精巣 脳重量 ↓77%	-	-	-	脳体重比 ↑121%		
			雌	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	脳重量 ↓92.4%	-	-	-		
		b	雄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			雌	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

1) 多重比較検定 (\*p<0.05, \*\*p<0.01)  
 2) Kruskal-Wallis の検定 (↓↑p<0.05, ↓↓↑↑p<0.01)  
 3) Fisher の検定 (\*p<0.05)  
 - : 異常なし



表 3-2. 児動物の結果

世代		親 : P				児 : F <sub>1</sub>				親 : F <sub>1b</sub>				児 : F <sub>2</sub>				
投与量 (ppm)		対照		100		500		2500		対照		100		500		2500		
肉眼的病理検査 <sup>1)</sup>		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
a	腎臓	のう胞	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
		陥凹	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		腎盂拡張	0	1	2	3	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	
		退色	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	肝臓	陥凹	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		変形	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		赤色巣	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	肺	退色	0	1	1	1	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		赤色巣	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0	0	
	精巣	肥大	0	/	0	/	1	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/
		小型化	0	/	0	/	0	/	0	/	1	/	0	/	0	/	0	/
	精巣上体	萎縮	0	/	1	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/
	卵巣	のう胞	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1	/	0	/	0	/	0
	子宮	拡張及び液体充満	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	2	/	1	/	1
	b	腎リンパ節	肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		心臓	陥凹	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
腎臓		のう胞	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		腎盂拡張	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	
		退色	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結節	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
肺		退色	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
肝臓		赤色斑	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
精巣		小型化	1	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/
		肥大	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1	/	0	/	0	/
卵巣		蒼白	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1
		小型化	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1
子宮		拡張及び液体充満	/	0	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1	/	0	/	0
胸腺		退色	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
尿管		拡張	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
膀胱		結石	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
病理組織学的検査		b		雄		2/10		1/10		2/10		10/10*		0/10		0/10		
肝細胞肥大 <sup>1)</sup>		雌		1/10		1/10		2/10		8/10*		0/10		0/10		1/10		

1) Fisher の検定 (\*p<0.05)

②ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T-28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987 年

検体の純度：

試験動物：SD (CrI : COBS CD (SD)BR) 系ラット (週齢不明)、1 群交尾確認雌 24 匹  
交配時体重 約 256g

投与期間： 妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間  
(1985 年 4 月 29 日～1985 年 5 月 8 日)

投与方法： 検体を 0.5%Tween80 を含む 3%コーンスターチ溶液に懸濁し、0、30、90 及び 360/300mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与 6 日目 (妊娠 11 日) に高用量群で嗜眠、運動失調、流涎、虚脱、低体温、緩徐呼吸等の重度の毒性症状が観察されたため、用量を 360mg/kg から 300mg/kg に下げた。なお、交尾は膣洗浄液中の精子により確認し、この日を妊娠 0 日とした。

[用量設定根拠]

観察・検査及び結果：

母動物： 生死を 1 日 2 回、一般状態を毎日観察した。体重は妊娠 0、6、8、12、16 及び 20 日に、摂餌量は妊娠 0 及び 6 日、並びにそれ以後は毎日測定した。

妊娠 20 日に帝王切開し、子宮重量、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

結果を表 1 に示す。

360/300mg/kg 投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められ、運動失調、嗜眠及び流涎の発現頻度が有意に上昇し、有意差はないもののラ音、活動性低下、低体温、緩徐呼吸もみられた。90mg/kg 投与群で妊娠 6～8 日に有意な体重増加抑制がみられ、妊娠 8～11 日に有意な摂餌量の減少が認められ、1 匹でラ音がみられた。

対照群 1 匹は妊娠 20 日に早産の合併症により死亡した。

子宮重量、黄体数、生存及び死亡・吸収胎児数には投与の影響は認められなかった。

生存胎児； 全ての胎児について、性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹児の半数については骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

着床後死亡率 (%) = 着床後死亡数 / 着床数 × 100

生存胎児率 (%) = 生存胎児数 / 着床数 × 100

性比 (%) = 生存雄胎児数 / 全生存胎児数

結果を表 2 に示す。

360/300mg/kg 投与群で腎乳頭短小・欠損及び尿管拡張が、また 90 及び 360/300mg/kg 投与群で胸骨の未骨化の発現頻度が統計学的に有意に上昇し、360/300mg/kg 投与群で有意差はないものの肋骨痕跡が増加した。これらは、いずれも母動物に対する毒性の二次的影響を示す変化であり、投与に関連すると考えられた。

なお、90 及び 360/300mg/kg 投与群で胎児の口蓋裂がそれぞれ 1 及び 2 例認められたが有意差はなかった<sup>申請者注</sup>。

[申請者注]

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに妊娠 6～15 日にわたり連日強制経口投与した場合、母動物では 360/300 および 90mg/kg 投与群で摂餌量の減少、360/300 および 90mg/kg 投与群で体重増加抑制が認められ、胎児動物では 360/300mg/kg 投与群で腎乳頭短小・欠損及び尿管拡張、90 及び 360/300mg/kg 投与群で肋骨痕跡あるいは胸骨の未骨化の発現頻度が増加したことから、無毒性量は母動物で 30mg/kg/日、胎児動物で 30mg/kg/日であった。

また最高投与量の 360/300mg/kg/日においても催奇形性は認められなかった。

[申請者注]

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

表 1. 親動物の結果

投与量 (mg/kg/日)		0	30	90	360/300
1 群当り動物数		24	24	24	23 <sup>a)</sup>
死亡動物数 (%)		1 (4.17)	0	0	0
体重変化 <sup>b)</sup>		異常なし	異常なし	有意な増加抑制： 妊娠 6~8 日 44%*	有意な増加抑制： 妊娠 6~8 日 38%* 妊娠 6~16 日 86%*
摂餌量 <sup>b)</sup>		異常なし	異常なし	有意な減少： 妊娠 8~9 日 89%* 妊娠 10~11 日 87%*	有意な減少： 妊娠 7~8 日 80%* 妊娠 8~9 日 84%* 妊娠 9~10 日 77%*
母動物 一般状態 <sup>c)</sup>	運動失調	0	0	0	3*
	嗜眠	0	0	0	9**
	流涎	0	0	0	4**
	ラ音	0	0	1	1
	活動性低下	0	0	0	2
	低体温	0	0	0	1
	緩徐呼吸	0	0	0	2
妊娠動物数		23/24	21/24	22/24	22/23
流産動物数		0	0	0	0
黄体数		16.9	16.7	17.3	16.5
着床所見 <sup>d)</sup>	着床数	13.5	14.2	14.3	14.0
	初期死胚数	1.1	0.7	0.5	1.0
	後期死胚数	0.0	0.0	0.0	0.1
	死亡胎児数	0.0	0.0	0.0	0.0
	計 (%)	1.1 (8.1)	0.7 (4.9)	0.6 (4.2)	1.1 (7.9)
生存胎児数 (%)		12.3 (91.1)	13.5 (95.1)	13.7 (95.8)	13.0 (92.9)

a) : 機械的エラーによりデータベースに解剖データが入力されなかった 1 例を除外した。

b) : 表中の数字は対照群に対する変動率 (%)、統計解析法 : Dunnett の検定 (\*p<0.05)

c) : 統計解析法 : Fisher の検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01)

d) : 統計解析法 : Healy の検定 (有意差なし)

表 2-1. 胎児動物の結果

投与量 (mg/kg/日)	0	30	90	360/300					
1群当たり動物数	24	24	24	23					
胎児重量 (g) <sup>a)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5					
性比 (雄%) <sup>b)</sup>	51.9	49.3	48.3	46.0					
異常の発現頻度	胎児数(%) 腹数(%)	胎児数(%) 腹数(%)	胎児数(%) 腹数(%)	胎児数(%) 腹数(%)					
c) 外表奇形	検査数	270	22	284	20	302	22	285	22
	全身浮腫	0	0	0	0	0	0	1(0.4) <sup>d)</sup>	1(4.5)
	口唇裂	0	0	0	0	1(0.3) <sup>d)</sup>	1(4.5)	0	0
	口蓋裂	0	0	0	0	1(0.3) <sup>d)</sup>	1(4.5)	0	0
	内反足	0	0	0	0	1(0.3) <sup>d)</sup>	1(4.5)	0	0
	小肢	0	0	0	0	1(0.3) <sup>d)</sup>	1(4.5)	0	0
e) 内臓奇形	検査数	141	22	148	20	156	22	148	22
	口唇裂	0	0	0	0	1(0.6) <sup>d)</sup>	1(4.5)	0	0
	口蓋裂	0	0	0	0	0	0	2(1.4) <sup>d)</sup>	2(9.1)
	水脊髄	0	0	0	0	0	0	1(0.7) <sup>d)</sup>	1(4.5)
c) 骨格奇形	検査数	129	22	136	20	146	22	137	22
	涙骨無形成	0	0	0	0	1(0.7) <sup>d)</sup>	1(4.5)	0	0
e) 内臓異常	検査数	141	22	148	20	156	22	148	22
	異常総数	44(31.2)	17(77.3)	29(19.6)	9(45)	58(37.2)	21(95.5)	80(54.1)	21(95.5)
	腎乳頭短小	32(22.7)	16(72.7)	27(18.2)	9(45)	40(25.6)	18(81.8)	57*(38.5)	19(86.4)
	腎乳頭欠損	4(2.8)	4(18.2)	4(2.7)	3(15)	8(5.1)	5(22.7)	16*(10.8)	12*(54.5)
	尿管拡張	38(27.0)	16(72.7)	21(14.2)	8(40)	38(24.4)	16(72.7)	63*(42.6)	20(90.9)
f) 骨格異常	検査数	129	22	136	21	146	22	137	22
	異常総数	129(100)	22(100)	134(98.5)	21(100)	145(99.3)	22(100)	137(100)	22(100)
	指骨を除いた数	115(89.1)	21(95.5)	118(86.8)	21(100)	128(87.7)	22(100)	135(98.5)	22(100)
	頭骨:								
	前頭骨不完全骨化	0	0	1(0.7)	1(4.8)	1(0.7)	1(4.5)	0	0
	舌骨不完全骨化	21(16.3)	8(36.4)	16(11.8)	9(42.9)	11(7.5)	5(22.7)	1(0.7)	1(4.5)
	舌骨未骨化	1(0.8)	1(4.5)	5(3.7)	3(14.3)	2(1.4)	2(9.1)	0	0
	頭頂間骨不完全骨化	4(3.1)	4(18.2)	24(17.6)	11(52.4)	21(14.4)	9(40.9)	15(10.9)	8(36.4)
	上顎骨不完全骨化	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)	0	0
	鼻骨不完全骨化	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)	0	0
	後頭骨不完全骨化	4(3.1)	4(18.2)	18(13.2)	11(52.4)	7(4.8)	4(18.2)	3(2.2)	2(9.1)
	頭頂骨不完全骨化	2(1.6)	2(9.1)	6(4.4)	5(23.8)	5(3.4)	3(13.6)	0	0
	前上顎骨不完全骨化	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)	0	0
	副蝶形骨不完全骨化	0	0	1(0.7)	1(4.8)	0	0	1(0.7)	1(4.5)
	側頭鱗不完全骨化	1(0.8)	1(4.5)	4(2.9)	3(14.3)	2(1.4)	2(9.1)	0	0
歯未骨化	2(1.6)	1(4.5)	2(1.5)	2(9.5)	1(0.7)	1(4.5)	3(2.2)	3(13.6)	
頬骨不完全骨化	2(1.6)	2(9.1)	1(0.7)	1(4.8)	3(2.1)	2(9.1)	0	0	

c): 胎児数の統計解析法: Fisher の検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01、オリジナル報告書、腹数の解析は未実施)

d): 1例は同一胎児

e): 腹数の統計解析法: Fisher の検定 (\*p<0.05、申請者が実施)

f): 胎児および腹数の統計解析: Fisher の検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01、オリジナル報告書)

表 2-2. 胎児動物の結果

投与量 (mg/kg/日)		0		30		90		360/300	
異常の発現頻度		胎児数(%)	腹数(%)	胎児数(%)	腹数(%)	胎児数(%)	腹数(%)	胎児数(%)	腹数(%)
胎児動物	椎体/脊椎:								
	過剰	0	0	1(0.7)	1(4.8)	0	0	0	0
	二分	1(0.8)	1(4.5)	5(3.7)	4(19.0)	0	0	2(1.5)	2(9.1)
	配列異常	0	0	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)
	不完全骨化	42(32.6)	17(77.3)	40(29.4)	16(76.2)	40(27.4)	16(72.7)	19(13.9)	12(54.5)
	未骨化	2(1.6)	2(9.1)	9(6.6)	4(19.0)	2(1.4)	1(4.5)	3(2.2)	3(13.6)
	肋骨:								
	頸肋	0	0	0	0	0	0	2(1.5)	2(9.1)
	浮遊	0	0	0	0	0	0	2(1.5)	2(9.1)
	痕跡	0	0	1(0.7)	1(4.8)	4(2.7)	4*(18.2)	53(38.7)	16**(72.7)
	波状	1(0.8)	1(4.5)	0	0	0	0	0	0
	胸骨分節:								
	二分	0	0	1(0.7)	1(4.8)	0	0	4(2.9)	3(13.6)
	配列異常	9(7.0)	7(31.8)	11(8.1)	8(38.1)	11(7.5)	8(36.4)	8(5.8)	5(22.7)
	不完全骨化	95(73.6)	21(95.5)	86(63.2)	21(100)	83(56.8)	22(100)	78(56.9)	22(100)
	未骨化	49(38.0)	17(77.3)	54(39.7)	17(81.0)	83*(56.8)	20(90.9)	99**(72.3)	21(95.5)
	骨盤:								
	腸骨不完全骨化	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)	0	0
	坐骨不完全骨化	0	0	2(1.5)	2(9.5)	3(2.1)	3(13.6)	0	0
	坐骨未骨化	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)	0	0
	恥骨不完全骨化	0	0	3(2.2)	2(9.5)	2(1.4)	2(9.1)	0	0
	恥骨未骨化	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)	0	0
	指骨:								
	中手骨不完全骨化	42(32.6)	17(77.3)	35(25.7)	14(66.7)	28(19.2)	12(54.5)	34(24.8)	15(68.2)
	中手骨未骨化	54(41.9)	17(77.3)	58(42.6)	17(81.0)	67(45.9)	16(72.7)	48(35.0)	13(59.1)
	末節骨未骨化	0	0	0	0	1(0.7)	1(4.5)	2(1.5)	1(4.5)
	基節骨不完全骨化	23(17.8)	7(31.8)	26(19.1)	8(38.1)	18(12.3)	4(18.2)	25(18.2)	8(36.7)
	基節骨未骨化	110(85.3)	20(90.9)	113(83.1)	20(95.2)	126(86.3)	20(90.9)	115(83.9)	21(95.5)
	趾骨:								
	中足骨不完全骨化	0	0	0	0	0	0	3(2.2)	2(9.1)
	中足骨未骨化	0	0	1(0.7)	1(4.8)	1(0.7)	1(4.5)	3(2.2)	3(13.6)
	末節骨未骨化	0	0	1(0.7)	1(4.8)	1(0.7)	1(4.5)	2(1.5)	1(4.5)

f) : 胎児および腹数の統計解析 : Fisher の検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01、オリジナル報告書)

③ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T-29)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987 年

試験目的：

検体の純度：

試験動物：SD ラット (Cri:COBS CD (SD)BR)、交尾確認雌、交配時体重 約 251g  
対照群；178 匹、投与群；189 匹

投与期間： 妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間 (1986 年 7 月 28 日～8 月 6 日)

投与方法： 検体を 0.5%Tween80 を含む 3%コーンスターチ溶液に懸濁し、0 及び 300mg/kg の  
投与量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、交  
尾は膣洗浄液中の精子により確認し、精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

[用量設定根拠]

観察・検査及び結果：

母動物；生死を 1 日 2 回、一般状態を毎日観察した。体重は妊娠 0、6、8、12、16 及び  
20 日に、摂餌量は妊娠 0 及び 6 日、並びにそれ以後は毎日測定した。

妊娠 20 日に帝王切開し、子宮重量、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児  
数を検査した。

結果を表 1 に示す。

検体投与に関連する変化として 300mg/kg 投与群で 2 匹の死亡、体重増加量及び  
摂餌量の減少、並びに運動失調、昏睡、虚脱等の症状の発現頻度が有意に増加し  
た。

なお、300mg/kg 投与群の 1 匹は誤投与により死亡し、別の 1 匹は早産により切迫  
屠殺した。これらは投与とは無関係と考えられた。



表 1. 母動物の所見

投与量 (mg/kg/日)		0	300	
1 群当り動物数		178	189	
死亡動物数 (%)		0	2 (1.1) <sup>a)</sup>	
体重変化 <sup>b)</sup>		異常なし	有意な増加抑制： 妊娠 0～20 日 83%*	
摂餌量 <sup>b)</sup>		異常なし	有意な減少： 妊娠 6～16 日；60～94%* 有意な増加： 妊娠 18～19 日 111%*	
母動物 一般状態 <sup>c)</sup>	運動失調	0	79**	
	昏睡状態	0	17**	
	嗜眠	0	83**	
	活動性低下	0	5*	
	あえぎ呼吸	0	7**	
	呼吸困難	0	220**	
	流涎	0	37**	
妊娠数		155	161	
流産数		0	0	
着床所見 <sup>d)</sup>	黄体数	16.93	17.01	
	着床数	14.5	14.2	
	着床後死亡数	初期死胚数	0.8	1.0
		後期死胚数	0.1	0.1
		死亡胎児数	0.0	0.0
	計 (%)		0.9 (6.2)	1.1 (7.7)

a) 誤投与による死亡 1 匹及び早産による切迫屠殺 1 匹は含まない。

b) 表中の数字は対照群に対する変動率 (%) を示す。統計解析法：Dunnet の検定 (\*p<0.05)

c) 統計解析法：Fisher の検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01)

d) 母動物 1 匹当たりの値を示す。統計解析法：Healy の検定 (有意差なし)

生存胎児； 全ての胎児について、性別、体重及び外表異常の観察を行い、口蓋を検査した。

着床後死亡率 (%) = 着床後死亡数 / 着床数 × 100

生存胎児率 (%) = 生存胎児数 / 着床数 × 100

性比 (%) = 生存雄胎児数 / 全生存胎児数 × 100

結果を表 2、背景データを表 3 及び 4 にそれぞれに示す。

検体投与に関連する所見として、300mg/kg 投与群で体重の低下及び平均生存数の有意な減少が認められた。

外表異常として、投与群の胎児 2 例 (異なる母動物由来) に口蓋裂 (0.1%) が認められたが、その発現頻度は、同一系統のラットの背景データの範囲内 (0～0.35%) にあった。また、試験施設で実施した他剤の催奇形性試験において、母動物に毒性が発現する用量でみられた口蓋裂の発現頻度内 (0～0.70%) にあった。口蓋裂の発生は、母動物での毒性発現が原因であるとは断定できないが、本剤及び他剤の催奇形性試験において、母動物に毒性が発現しなかった用量では、口蓋裂は認められなかった。

表 2. 胎児動物の所見

投与量 (mg/kg/日)		0	300
1 群当り母動物数		178	189
胎児動物	胎児重量 (g) <sup>a)</sup>	3.5	3.3*
	生存胎児数 (%) <sup>a)</sup>	13.7 (94.5)	13.1 (92.3) *
	性比 (%) <sup>b)</sup>	49	50
	外表異常 <sup>c)</sup>	血腫 (4 例) 無顎 (1 例) 糸状尾 (2 例) 二分脊椎 (1 例)	血腫 (9 例) 蒼白 (2 例) 口蓋裂 (2 例)
	検査例数	2122	2064

a) 統計解析法: Healy の検定 (\*p<0.05)

b) 統計解析法: Mantel の検定 (有意差なし)

c) 統計解析法: Fisher の検定 (有意差なし)

表 3. 同一系統のラットの背景データ

試験	口蓋裂の発現頻度 (%)		
	対照群	母動物に毒性が発現しなかった用量	母動物に毒性が発現した用量
1	1/284 (0.35)	0/280 (0.0)	2/539 (0.37)
2	0/311 (0.0)	0/295 (0.0)	0/643 (0.0)
3	0/301 (0.0)	0/598 (0.0)	3/214 (1.4)a)
4	0/304 (0.0)	0/683 (0.0)	0/304 (0.0)
5	0/351 (0.0)	—	0/985 (0.0)
6	0/312 (0.0)	—	2/946 (0.21)
7	0/339 (0.0)	0/638 (0.0)	0/254 (0.0)
8	0/242 (0.0)	0/377 (0.0)	—
9	0/353 (0.0)	0/680 (0.0)	0/571 (0.0)
10	0/274 (0.0)	0/785 (0.0)	—
11	0/252 (0.0)	0/480 (0.0)	1/268 (0.37)
12	0/296 (0.0)	0/791 (0.0)	—
13	0/261 (0.0)	0/853 (0.0)	—
14	1/1250 (0.08)	0/4035 (0.0)	2/997 (0.2)
15	0/698 (0.0)	0/995 (0.0)	0/897 (0.0)
16	0/210 (0.0)	0/619 (0.0)	0/251 (0.0)
17	0/161 (0.0)	0/160 (0.0)	0/245 (0.0)
18	0/163 (0.0)	0/152 (0.0)	0/238 (0.0)
19	0/270 (0.0)	0/267 (0.0)	0/840 (0.0)
20	1/945 (0.11)	0/2179 (0.0)b)	
21	0/1313 (0.0)	1/3454 (0.03)b)	
22	1/16632 (0.006)	—	—

表中の数字は発現胎児 1/16632 数/検査胎児数及び発現率 (%) を示す。

a): 同一母動物の胎児

b): 母動物への毒性発現を明確にできなかった。

表 4. 試験施設で実施した他剤の催奇形性試験のデータ

試験	口蓋裂の発現頻度 (%)			
	対照群	低用量群	中用量群	高用量群
1	0/222 (0.0)	0/257 (0.0)	0/316 (0.0)	0/247 (0.0)
2	0/340 (0.0)	0/282 (0.0)	0/355 (0.0)	0/262 (0.0)
3	0/271 (0.0)	0/287 (0.0)	0/284 (0.0)	0/285 (0.0)
4	0/283 (0.0)	0/283 (0.0)	0/302 (0.0)	0/301 (0.0)
5	0/298 (0.0)	0/299 (0.0)	0/312 (0.0)	0/280 (0.0)
6	0/292 (0.0)	0/314 (0.0)	0/349 (0.0)	0/21 (0.0)
7	0/314 (0.0)	0/294 (0.0)	0/268 (0.0)	0/175 (0.0)
8	0/305 (0.0)	0/273 (0.0)	0/326 (0.0)	0/250 (0.0)
9	0/270 (0.0)	0/246 (0.0)	0/269 (0.0)	0/72 (0.0)
10	0/267 (0.0)	0/281 (0.0)	0/312 (0.0)	0/271 (0.0)
11	0/288 (0.0)	0/304 (0.0)	0/300 (0.0)	0/275 (0.0)
12	0/298 (0.0)	0/258 (0.0)	0/296 (0.0)	0/284 (0.0)
13	0/281 (0.0)	0/319 (0.0)	0/301 (0.0)	0/295 (0.0)
14	0/281 (0.0)	0/333 (0.0)	0/329 (0.0)	0/314 (0.0)
15	0/323 (0.0)	0/342 (0.0)	0/274 (0.0)	0/70 (0.0)
16	0/281 (0.0)	0/271 (0.0)	0/325 (0.0)	0/305 (0.0)
17	0/327 (0.0)	0/311 (0.0)	0/306 (0.0)	1/182 (0.55)
18	0/270 (0.0)	0/284 (0.0)	1/302 (0.33)	2/285 (0.70)
19	0/220 (0.0)	0/215 (0.0)	0/285 (0.0)	0/205 (0.0)

以上より、本剤の投与による口蓋裂の発生について、再現性を確認した結果、母動物に明確な毒性がみられた 300mg/kg 用量において、胎児に外表異常が認められたが、口蓋裂の発生頻度は背景データの範囲内であった。

④ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.T-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

検体の純度：

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、1 群雌 19 匹、開始時体重；3.14～4.15 kg

投与期間： 妊娠 7 日～19 日の 13 日間（1985 年 6 月 17 日～1985 年 6 月 29 日）

投与方法： 検体を 0.5%Tween80 を含む 3%コーンスターチ溶液に懸濁し、0、100、250 及び 400mg/kg/日の投与量で妊娠 7～19 日に毎日 1 回強制経口投与した。投与液量は 5mL/kg とした。対照群には溶媒を投与した。

同系の雄動物から採取した精液を雌動物に人工授精し、その日を妊娠 0 日とした。

[用量設定根拠]

観察・検査及び結果：

母動物；一般状態、行動、中毒症状を 1 日 1 回観察し、生死を 1 日 2 回観察した。体重は妊娠 0、7、10、14、20、24 及び 29 日目に、摂餌量は妊娠 5～29 日目まで毎日測定した。妊娠 29 日目に帝王切開し、妊娠の有無、黄体数、着床数、子宮重量、生存胎仔数、死亡胎仔数、早期及び後期吸収胎仔数を検査した。

結果を表 1 に示す。

検体投与に関連する死亡はなかったが、250mg/kg 投与群 1 匹が誤投与により死亡した。100mg/kg 投与群でも 1 匹が死亡し、死因は不明であったが、肉眼的病理検査において胃潰瘍、小型の脾臓及び臍ヘルニアが認められた。

検体投与に関連する一般状態の変化として、400mg/kg 投与群で糞量減少/無糞及び流産/早産の発現頻度が増加した。

検体投与の影響と考えられる体重増加抑制及び摂餌量の有意な減少が 250 及び 400mg/kg 投与群で投与期間中にみられた。投与終了後の期間には体重および摂餌量ともに有意に増加した。

着床所見では、検体投与の影響は認められなかった。なお、400mg/kg 投与群で総死胚数の増加がみられたが、1 腹の全胎児が吸収された動物が 1 匹存在したことによるものであった。

生存胎児； 性別判定、体重測定、外表異常、内臓異常及び骨格異常の検査を行った。  
結果を表 2 に示す。  
検体投与に関連する所見として、400mg/kg 投与群で完全形成された第 13 肋骨の  
発生頻度が有意に増加した。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに妊娠 7～19 日にわたり連日強制経口投与した場合、母動物  
では 250mg/kg 以上の投与群で摂餌量の低下及び体重増加抑制が認められ、糞量減少/無糞及び流  
産/早産の発現頻度が増加した。胎児動物では、400mg/kg 投与群で完全形成された第 13 肋骨の発  
現頻度が増加した。したがって、無毒性量は母動物で 100mg/kg/日、胎児動物で 250mg/kg/日と判  
断された。

また、最高投与量の 400mg/kg/日においても、催奇形性は認められなかった。

表 1. 母動物及び胎児動物の所見

投与量 (mg/kg/日)		0	100	250	400		
1 群当り動物数		19	19	19	19		
母動物	一般状態 <sup>1)</sup> 糞量減少/無糞 /軟便	11	10	11	18*		
	死亡動物数 (%)	0 (0)	1 (5)	1 (5)	0 (0)		
	体重変化 <sup>2)</sup>	異常なし	異常なし	有意な増加抑制 妊娠 7~10 日、e)* 有意な増加量の増加 妊娠 20~24 日、257%*	有意な減少 妊娠 20 日 93%* 有意な増加抑制 妊娠 7~24 日、11~44%* 有意な増加量の増加 妊娠 20~24 日、346%*		
	摂餌量 <sup>2)</sup>	異常なし	異常なし	有意な減少 妊娠 7~20 日、58~77%* 有意な増加 妊娠 24~25 日、157%*	有意な減少 妊娠 7~20 日、42~61%* 有意な増加 妊娠 23~28 日、155~181%*		
	妊娠数	15/19	18/19	17/19	18/19 <sup>3)</sup>		
	流産/早産 <sup>1)</sup>	1	0	1	5*		
	着床所見 <sup>3)</sup>	黄体数	11.6	12.6	13.3	13.5	
		着床数	8.4	9.4	10.0	9.2	
		着床率 (%)	72.4	74.6	75.2	68.1	
		着床後死亡数	初期死胚数	0.1	0.4	0.4	1.3
			後期死胚数	0.6	0.4	0.3	0.8
			総死胚数	0.7	0.8	0.7	2.1*
	死亡胎仔数	0.4	0.1	0.6	0		
	生存胎仔数 (%)	7.2 (86.7)	8.6 (90.5)	8.7 (87.0)	7.2 (78.3)		
	肉眼的病理検査	肺：帯赤色海綿状	0	0	1 <sup>e)</sup>	0	
		腸管：液体充満	0	0	0	1	
		胃：潰瘍形成	0	1 <sup>d)</sup>	0	0	
		腎臓：陥凹	0	1	0	0	
		臍ヘルニア	0	1 <sup>d)</sup>	0	0	
脾臓：小型		0	1 <sup>d)</sup>	0	0		
羊水退色		0	1	2	1		
生存胎仔	胎仔重量 (g) <sup>3)</sup>	雄	43.0	44.4	42.8	42.8	
		雌	44.2	43.1	41.1	43.2	
	性比 (%雄) <sup>1)</sup>	55	49	50	41		
	外表異常 <sup>1)</sup>	なし	なし	臍ヘルニア：1 <sup>b)</sup> 口唇裂：1 <sup>b)</sup>	なし		
	検査例数	101	146	130	93		
	内臓異常 <sup>1)</sup>	なし	なし	尿管水腫を伴う水腎症：1 <sup>b)</sup>	なし		
	検査例数	101	146	130	93		
	骨格異常 <sup>1)</sup>	なし	なし	なし	なし		
	骨格変異 <sup>1)</sup>	第 13 肋骨の完全形成：35 第 13 肋骨痕跡：32	第 13 肋骨の完全形成：63 第 13 肋骨痕跡：20	第 13 肋骨の完全形成：58 第 13 肋骨痕跡：22	第 13 肋骨の完全形成：63** 第 13 肋骨痕跡：11		
		検査例数	101	146	130	93	

a)：1 腹の全胎仔が吸収されていた 1 匹を含む。

b)：同一胎仔に認められた。

c)：誤投与による途中死亡例 1 匹の所見

d)：途中死亡例 1 匹の所見

e)：実測値が負の値のため、変動率は算出不能

1)：統計解析法；Fisher の検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01)

2)：表中の数字は対照群に対する変動率 (%) を示す。統計解析法；Bartlett の検定 (\*p<0.05)

3)：統計解析法；Healy の検定 (\*p<0.05)

(13) 変異原性

① 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 No.T-31)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*S. typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100) 及びトリプトファン要求性大腸菌 (*E. coli* WP2uvrA) を用い、ラット肝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プレート法で変異原性を検討した。検体は、DMSO に溶解し、1 濃度当たり 2 枚のプレートを設けた。陽性対照として S-9 mix 非存在下で 2- (2-フリル) -3- (5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ )、及び 2-メトキシ-6-クロロ-9- [3- (2-クロロエチル) -アミノプロピルアミノ] アクリジン・2HCl (ICR-191)、S-9 mix 存在下で 2-アミノアントラセン (2-AA) を処理した。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

溶媒対照及び陽性対照の復帰変異コロニー数が背景データの範囲内にある場合に試験が成立するものとみなした。

復帰変異コロニー数の 2 枚のプレートの平均値が溶媒対照値の 2 倍以上で、かつ用量段階に伴う増加が認められた場合に陽性と判定した。

結果: 結果は表 1 及び 2 に示した。

プロピコナゾールは代謝活性化系の有無にかかわらず、最高濃度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 AF-2,  $\text{NaN}_3$ , ICR-191 及び 2-AA は全ての試験菌株で明らかに復帰変異コロニーを増加させた。

以上の結果から、検体は本試験条件下において代謝活性化系の有無にかかわらず、復帰変異誘発性を示さないものと判断される。

表 1. サルモネラ菌の試験結果

薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix	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	
溶媒対照 (DMSO)	—	—	94	8	23	6	
検体	62.5	—	91	9	22	7	
	125	—	90	8	20	7	
	250	—	87	7	25	6	
	500	—	72	6	22	3	
	1000	—	19*	0*	9*	0*	
溶媒対照 (DMSO)	—	+	95	8	31	11	
検体	62.5	+	81	6	27	11	
	125	+	88	3	29	10	
	250	+	82	6	34	10	
	500	+	73	6	30	10	
	1000	+	37*	1*	16*	2*	
	2000	+	0*	0*	9*	0*	
陽性 対 照	AF-2	0.01	—	408			
		0.1	—			531	
	NaN <sub>3</sub>	0.5	—		173		
	ICR-191	1	—			1049	
	2-AA	0.5	+			405	
		1	+	1532			
	2	+		333		228	

数値は2連の平均値

\*生育阻害が認められた。

—測定せず。

表 2. 大腸菌の試験結果

薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異コロニー数/プレート	
		塩 基 置 換 型	
		WP2uvrA	
		S-9mix (—)	S-9mix (+)
溶媒対照 (DMSO)	—	31	40
検体	313	29	41
	625	25	42
	1250	25	35
	2500	26	27
	5000	28	19
陽性 対 照	AF-2	0.1	197
	2-AA	20	1419

数値は2連の平均値

— : 測定せず



②細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-32)

試験機関：

報告書作成年：1983年

報告書補遺作成年：1988年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 株) を用い、マウス肝から調製した代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、プレート法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、1 濃度当たり 3 枚のプレートを設定した。

S-9 mix は、アラクロール 1254 で酵素誘導したもの、及び検体を 7 日間連続投与して酵素誘導したものを使用した。いずれについても、再現性を確認するために実験は 2 回行った。

陽性対照として S-9 mix 非存在下でダウノルピシン・HCl (DNR)、4-ニトロキノリン-N-オキシド (4NQO)、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)、9(5)-アミノアクリジン・HCl (9-AA) 及び 2-ニトロフルオレン (2-NF)、S-9 mix 存在下でシクロホスファミド (CPA) を処理した。

[用量設定根拠]

[判定基準]

TA98、TA1535、TA1537 または TA1538 で、復帰変異コロニー数が溶媒対照の 2 倍を上回るか、または TA100 の復帰変異コロニー数が溶媒対照の 1.5 倍を上回り、かつ、溶媒対照の値が以下の範囲内にある場合に、試験が成立したとみなした。

菌株	S-9 mix 非存在下	S-9 mix 存在下
TA98	12~50	20~70
TA100	80~220	70~220
TA1535	7~30	7~35
TA1537	3~20	5~30
TA1538	5~25	5~35

試験結果：結果を表 1～4 に示した。

S-9 mix の非存在下、およびアラクロール 1254 または検体で酵素誘導した S-9 mix の存在下における各 2 回の試験で、いずれの菌株についても復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。生育阻害が高濃度群で認められた。

なお、S-9 mix 非存在下で、アラクロール 1254 の 2 回目の試験において、TA 1537 の 20 $\mu$ g/プレートのみで復帰変異コロニー数が増加したが、より高濃度及び他の 3 回の試験では復帰変異コロニー数の増加はなかった。検体で酵素誘導した S-9 mix 存在下の 1 回目の試験において、TA 1538 の 80 $\mu$ g/プレートで復帰変異コロニー数が増加したが、より高濃度及び 2 回目の試験では増加はなかった。

一方、陽性対照として用いたダウノルビシン・HCl、4-ニトロキノリン-N-オキシド、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9(5)-アミノアクリジン・HCl、2-ニトロフルオレン、シクロホスファミドではすべての検定菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下において復帰変異誘発性を有しないと判断される。

表 1. アラクロール 1254 で酵素誘導した S-9 mix による試験 (1 回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA 100	TA 1535	TA 98	TA 1537	TA 1538	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	134	6	16	4	8	
検体	20		122	9	22	4	10	
	80		118	11	18	4	10	
	320		120	4	18	4	10	
	1280		91	10	17	0 a)	0 a)	
	5120		1a)	1 a)	1 a)	0 a)	0 a)	
陽性 対照	DNR		0			17		
			5			434		
			10			827		
	4NQO		0	120				
			0.125	656				
			0.25	1066				
	MNNG		0		9			
			3		2293			
			5		2879			
	9-AA		0				6	
			50				33	
			100				1213	
2-NF	0						13	
	5						684	
	10						1342	
溶媒対照 (DMSO)	0		+	82	9	30	10	12
検体	20			85	6	36	10	19
	80			84	12	40	9	19
	320			84	9	33	7	17
	1280	73		11	31	7	12	
	5120	9		1	6	0	1	
陽性 対照	CPA	0			12			
		250			308			

表中の数値は 3 枚のプレートの平均値を示す。

a) : 生育阻害がみられた。

表 2. アラクロール 1254 で酵素誘導した S-9 mix による試験 (2 回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA 100	TA 1535	TA 98	TA 1537	TA 1538	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	147	11	22	7	17	
検体	20		155	12	28	14	14	
	80		165	10	29	12	17	
	320		160	15	28	9	16	
	1280		45	11	23	0 a)	4 a)	
	5120		6 a)	6 a)	2 a)	0 a)	0 a)	
陽性 対照	DNR		0			26		
			5			570		
			10			984		
	4NQO		0	153				
			0.125	695				
			0.25	1129				
	MNNG		0		15			
			3		1422			
			5		2603			
	9-AA		0				6	
			50				41	
			100				300	
	2-NF		0					15
			5					812
			10					1342
溶媒対照 (DMSO)	0		+	105	11	45	29	37
検体	20			120	12	44	20	26
	80			104	9	49	15	34
	320			86	11	48	25	31
	1280	85		15	44	16	31	
	5120	22		2	2	1	2	
陽性 対照	CPA	0			19			
		250			323			

表中の数値は 3 枚のプレートの平均値を示す。

a) : 生育阻害がみられた。

表 3. 検体で酵素誘導した S-9 mix による試験 (1 回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA 100	TA 1535	TA 98	TA 1537	TA 1538	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	150	13	24	8	11	
検体	20		141	8	24	5	12	
	80		127	8	13	7	15	
	320		111	12	24	6	7	
	1280		75	19	16	2 a)	0 a)	
	5120		7 a)	2 a)	2 a)	0 a)	0 a)	
陽性 対照	DNR		0			22		
			5			669		
			10			1072		
	4NQO		0	152				
			0.125	761				
			0.25	1148				
	MNNG		0		10			
			3		1588			
			5		2730			
	9-AA		0				5	
			50				34	
			100				734	
	2-NF		0					15
			5					736
			10					1186
溶媒対照 (DMSO)	0		+	91	8	30	11	9
検体	20			114	4	34	4	15
	80			104	6	36	12	19
	320			124	9	27	8	15
	1280	97		9	31	8	11	
	5120	4		0	2	1	0	
陽性 対照	CPA	0			11			
		250			271			

表中の数値は 3 枚のプレートの平均値を示す。

a) : 生育阻害がみられた。

表 4. 検体で酵素誘導した S-9 mix による試験 (2 回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA 100	TA 1535	TA 98	TA 1537	TA 1538	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	115	9	22	5	7	
検体	20		132	12	14	4	12	
	80		117	15	20	6	12	
	320		121	10	16	7	7	
	1280		72	7	13	2 a)	1 a)	
	5120		1 a)	3 a)	1 a)	0 a)	0 a)	
陽性 対照	DNR		0			24		
			5			311		
			10			582		
	4NQO		0	115				
			0.125	733				
			0.25	1298				
	MNNG		0		12			
			3		951			
			5		2093			
	9AA		0				6	
			50				56	
			100				429	
	2NF		0					10
			5					644
		10					1033	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	99	15	33	6	22	
検体	20		99	10	32	6	18	
	80		108	11	36	6	18	
	320		92	13	25	7	12	
	1280		101	11	25	7	7	
	5120		7	2	2	1	0	
陽性 対照	CPA		0		10			
			250		253			

表中の数値は 3 枚のプレートの平均値を示す。

a) : 生育阻害がみられた。

③ L5178Y/TK<sup>+</sup>マウスリンフォーマ細胞を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 No.T-33)

試験機関：

報告書作成年：1982年

報告書補遺作成年：1986年

検体の純度：

試験方法：L5178Y/TK<sup>+</sup>マウスリンフォーマ細胞を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の非存在下および存在下で突然変異誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。細胞は  $3 \times 10^5$  細胞/mL の濃度で Fischer 培地中に播種し、検体を加えて 5 時間培養した。検体処理した細胞を洗浄して検体を除去後、新たな培地に再播種して変異発現期間として 3 日間培養した。発現期間終了後、変異体数を検定するため培養基に  $4 \times 10^5$  細胞を再播種し、5-ブロモデオキシウリジン (BUdR) 0.005% を添加して 14 日間培養した。培養基は変異体数検定用に各濃度 8 本を用いた。培養期終了後、コロニー数を計測し、それぞれ得られた値から播種細胞の生存率を 100% とした場合の変異体数を算出し、結果を変異頻度 (TK<sup>+</sup>変異体数/ $10^6$  生存細胞) として表した。

陽性対照群として、S-9 mix の非存在下ではメタンスルホン酸エチル (EMS) を、S-9 mix の存在下ではジメチルニトロソアミン (DMN) を用い、溶媒対照及び陰性対照 (培地のみ) を設定した。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

変異係数 (処理群の変異頻度 / 溶媒対照の変異頻度) を算出し、検体処理群の変異係数が 2.5 を上回った場合に陽性と判定した。

試験結果：結果を表 1 に示す。

S-9 mix 存在下及び非存在下において、いずれの濃度でも、変異係数 2.5 を上回ることにはなかった。

陽性対照群の変異係数は EMS で 4.29、DMN で 2.72 であり、陰性対照群に対し明らかな増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下において、突然変異誘発性はないと判断される。

表 1. 試験結果

S-9 mix	濃度 (µg/mL)	相対浮遊細胞増殖率 (%)	変異体数の合計	生育コロニー数の合計	相対コロニー形成率 (%)	相対増殖率 <sup>a)</sup> (%)	変異頻度 <sup>b)</sup> x 10 <sup>-6</sup>	変異 <sup>c)</sup> 係数	
-	溶媒対照 (DMSO)	100	89	720	100	100	30.9	1	
	陰性対照 (培地)	93.13	122	768	106.67	99.34	39.7		
	陽性対照 (EMS) 0.5 µL/mL	80.66	373	548	71.35	57.55	170.2	4.29	
	検体	7.81	83.53	120	686	95.28	79.59	43.7	1.41
		15.62	68.01	104	689	95.69	65.08	37.7	1.22
		31.25	90.33	122	669	92.92	83.93	45.6	1.48
62.50		76.63	145	776	107.78	82.59	46.7	1.51	
	125.00	35.18	135	768	106.67	37.53	44.0	1.42	
+	溶媒対照 (DMSO)	100	314	403	100	100	195	1	
	陰性対照 (培地)	88.26	262	350	86.85	76.65	187		
	陽性対照 (DMN) 0.5 µL/mL	69.87	471	232	66.29	46.32	508	2.72	
	検体	7.81	90.68	388	414	102.73	93.16	234	1.20
		15.62	77.81	444	474	117.62	91.52	234	1.20
		31.25	87.92	456	376	93.30	82.03	303	1.55
62.50		83.85	470	442	109.68	91.97	266	1.36	
	125.00	79.84	361	281	69.73	55.67	321	1.65	

- a) 相対増殖率：(相対浮遊細胞増殖率 x 相対コロニー形成率) / 100  
 b) 変異頻度：(変異体コロニー数 x 800 / 生育コロニー数 / 3.2 x 10<sup>-6</sup>)  
 c) 変異係数：(処理群の変異頻度 / 溶媒対照の変異頻度)



④ マウス線維芽細胞 (BALB/3T3) を用いた形質転換試験

(資料 No.T-34)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：

試験方法： 検体を DMSO に溶解し、1.16、2.31、4.63、9.25 および 18.50 $\mu$ g/mL の用量で用いた。5 $\times$ 10<sup>3</sup> 個の BALB/3T3 細胞をペトリ皿に播種 (密度 10<sup>3</sup> 細胞/mL $\cdot$ 5mL/皿) し 48 時間インキュベーションした後、検体を添加し 72 時間インキュベーションした。その後検体を除去し、細胞を洗浄してさらに 4 週間インキュベーションした。形成された細胞層をメタノール固定しギムザ染色を施し、単層増殖細胞上に重層形成されたコロニー (形質転換コロニー) を顕微鏡下で観察し、計数した。試験は対照群 (溶媒対照及び陰性対照)、試験群ともそれぞれ 15 枚のペトリ皿を用いて行った。陽性対照群にはメチルコラントレン 1.5 および 3.0 $\mu$ g/mL を用いた。

形質転換試験と並行して、細胞の生存率を求めるために 5 mL 容のペトリ皿 1 枚当たり 200 個の細胞を播種し、各群 3 枚のペトリ皿を用い上述と同様の処理を行った。処理後の培養期間は 3 日間とした。ここで得られた生存率から、生存細胞 10<sup>4</sup> 個あたりの形質転換コロニー数を算出し、形質転換頻度とした。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

二項検定で溶媒対照群と検体投与群を比較し、さらに傾向検定で用量反応性の有無を調べ、いずれかで有意差がみられた場合に陽性と判定した。

試験結果： 形質転換試験の結果を表 1 に示す。

いずれの濃度の試験群においても、溶媒対照群と比較し形質転換頻度 (形質転換細胞数/10<sup>4</sup> 生存細胞) に有意な増加は認められなかった。

メチルコラントレンを用いた陽性対照群では、陰性対照と比較し形質転換頻度に明らかな増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体の形質転換誘発性は陰性と判断される。

表 1. 形質転換試験

供試薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	生存率 (%)	形質転換試験		
			平均形質転換コロ ニー数/テ <sup>3</sup> ィッシュ	形質転換細胞数 / $10^4$ 播種細胞	形質転換頻度 <sup>a)</sup>
陰性対照 (培地)	0	37.2	0.40	0.80	2.15
陰性対照 (DMSO)	0	45.5	0.20	0.40	0.88
陽性対照 (メチルアントレン)	1.5	18.5	2.13	4.26	23.03*
	3.0	15.3	2.47	4.94	32.29*
検体	1.16	36.5	0	0	0
	2.31	37.0	0	0	0
	4.63	34.2	0	0	0
	9.25	29.0	0.13	0.26	0.90
	18.50	20.2	0.067	0.13	0.64

表中の数字は3枚の平均値を示す。

a) : 形質転換細胞数/ $10^4$ 生存細胞

統計解析法：二項検定及び傾向検定 (\* $p < 0.05$ )

⑤ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.T-35)

試験機関:

報告書作成年: 1984年

検体の純度:

方法: 健常者から採取した新鮮血液からリンパ球細胞を分離し、薬物代謝酵素系 (S-9mix) の非存在下及び存在下において、染色体異常誘発性を検討した。  
検体を含む培地で3時間処理後、細胞を洗浄し、検体を含まない培地に換えて43.5時間培養した。培養終了後、細胞をスライドグラスに塗抹し、各濃度で100個の分裂中期像を観察した。陽性対照として、直接法ではマイトマイシンC、代謝活性化法ではシクロホスファミドを用い、また溶媒対照群 (DMSO) を設け、それぞれ同様に試験した。1用量につきフラスコ2本を用いた。

[用量設定根拠]

結果: 検体処理群では細胞毒性を示す濃度を含め、染色体異常の発現頻度に処理濃度と相関した増加または溶媒対照と比較して明確な増加は認められなかった。  
なお、180 $\mu$ g/mLでは、細胞毒性が強く発現したため、観察可能な細胞数はS-9 mix存在下では6個、S-9 mix非存在下では34個であった。  
一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCはS-9 mix非存在下で、またシクロホスファミドはS-9 mix存在下でそれぞれ染色体異常の発生頻度を顕著に増加させた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体には染色体異常誘発性がないと判断される。

S-9mix の有無	薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	異 常 を 有 す る 細 胞 数										
			染色分体型異常					染色体型異常					
			切断	交換	断片	微小断片	ギャップ	切断	断片	細粉	ギャップ	環状	二/多動原体
-	溶媒対照 (DMSO)	—	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0
	検 体	11.25	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
		22.5	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		45.0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
		90.0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		180 <sup>c)</sup>	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0
陽性対照 <sup>a)</sup>	0.8	13	2	5	3	6	1	3	7	0	0	0	
+	溶媒対照 (DMSO)	—	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	検 体	11.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		22.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		45.0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		90.0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
		180 <sup>d)</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照 <sup>b)</sup>	10	7	4	7	1	1	0	1	0	1	0	10	

a) : マイトマイシン C

b) : シクロホスファミド

c) : 細胞毒性が強く発現し、観察可能な細胞は 34 個であった。

d) : 細胞毒性が強く発現し、観察可能な細胞は 6 個であった。

統計解析は実施していない。

⑥マウスを用いた優性致死試験

(資料 No. T-36)

試験機関：

報告書作成年：1979年

報告書補遺作成年：1988年

検体の純度：

供試動物：ICR マウス (Tif: MAG f)、1 群雄 20 匹、雌各交配期 118 匹

試験方法：被験物質をカルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁し、0 (溶媒対照)、165 および 495 mg/kg の用量を 20mL/kg の液量で雄動物に 1 回経口投与した。投与の約 6 時間後に各雄を未投与の未交配雌と 1:2 で同居させた。

毎朝膣栓の有無によって交尾の確認を行い、膣栓が確認された日を妊娠 0 日と起算した。1 週間後に別の雌 2 匹と交換し、計 6 週間、同様の手順を繰り返し行った。

[用量設定根拠]

検査項目および結果：

一般状態及び生死；

検体投与後 1 週間にわたり一般状態及び生死を観察した。

死亡は発現しなかった。

495mg/kg 投与群の 20 匹中 6 匹で投与後 2 日間に腹臥及び呼吸困難が認められたが、その後は消失した。

なお、495mg/kg 投与群の 1 匹は浸潤性湿疹皮膚炎のために交尾ができず、交配期間の 4 週目に屠殺した。

優性致死試験；

雌は妊娠 14 日目に剖検を行い、生存胚数および死亡胚数を記録した。さらに、早期吸収胚の痕跡を検出するため子宮を硫酸アンモニウム溶液中に浸漬した。

本試験の結果を表 1、陽性対照群の結果を表 2 に示す。陽性対照群のデータは、試験機関で 1976 年に同系統のマウスを用いて tris (1-aziridinyl) phosphine sulfide を 3.65 および 11.0 mg/kg の用量で投与したものである。

検体投与群と交配した雌では、交尾率、着床数および死亡胚数に関して、溶媒対照群との間に有意な差は認められなかった。

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

陽性対照群では、妊娠動物数の減少、着床数の減少及び着床後胚の死亡率の増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下で、検体は優性致死作用を有しないと判断される。

表 1. 検体投与群の試験結果

交配 時期 (週)	用量 (mg/kg)	供試雌 動物数	交尾雌動物数 <sup>a)</sup>		脱落膜腫のみを 有する雌動物数		妊娠雌動物 <sup>a)</sup>		着床数 <sup>b)</sup>		生存胚数		死亡胚数 <sup>a)</sup>	
			計	(%)	計	(%)	計	(%)	計	平均±標準偏差	計	(%)	計	(%)
1	0	40	33	82.5	0	0	30	90.9	334	11.1±2.98	299	89.5	35	10.5
	165	40	34	85.0	1	2.9	29	85.3	319	11.0±2.39	284	89.0	35	11.0
	495	38	30	79.0	0	0	27	90.0	307	11.4±1.78	277	90.2	30	9.8
2	0	40	36	90.0	0	0	30	83.3	307	10.2±3.11	289	94.1	18	5.9
	165	40	35	87.5	0	0	33	94.3	333	10.1±2.13	299	89.8	34	10.2
	495	38	35	92.1	0	0	30	85.7	322	10.7±2.74	293	91.0	29	9.0
3	0	40	39	97.5	1	2.6	33	84.6	355	10.8±2.89	316	89.0	39	11.0
	165	40	36	90.0	0	0	33	91.7	348	10.5±2.72	317	91.1	31	8.9
	495	38	36	94.7	0	0	30	83.3	341	11.4±1.83	314	92.1	27	7.9
4	0	40	38	95.0	0	0	35	92.1	351	10.0±3.14	323	92.0	28	8.0
	165	40	35	87.5	0	0	29	82.9	301	10.4±2.29	282	93.7	19	6.3
	495	38	34	89.5	0	0	27	79.4	274	10.2±2.14	257	93.8	17	6.2
5	0	40	36	90.0	0	0	30	83.3	321	10.7±2.93	298	92.8	23	7.2
	165	40	35	87.5	1	2.9	28	80.0	287	10.3±3.05	262	91.3	25	8.7
	495	38	38	100	0	0	32	84.2	363	11.3±2.32	344	94.8	19	5.2
6	0	40	37	92.5	0	0	37	100	428	11.6±2.02	399	93.2	29	6.8
	165	40	35	87.5	0	0	32	91.4	361	11.3±2.19	323	89.5	38	10.5
	495	38	34	89.5	0	0	29	85.3	297	10.2±3.74	275	92.6	22	7.4

a) : Fisher の検定 (有意差なし)

b) : Mann-Whitney の U 検定 (有意差なし)

表 2. 陽性対照群の試験結果

交配 時期 (週)	tris (1-aziridinyl) phosphine sulfide (mg/kg)	供試雌 動物数	交尾雌動物数 <sup>a)</sup>		脱落膜腫のみを 有する雌動物数		妊娠雌動物数 <sup>a)</sup>		着床数 <sup>b)</sup>		生存胚数		死亡胚数 <sup>a)</sup>	
			計	(%)	計	(%)	計	(%)	計	平均±標準偏差	計	(%)	計	(%)
1	0	40	34	85.0	0	0	30	88.2	335	11.17±2.39	306	91.3	29	8.7
	3.65	40	34	85.0	0	0	26	76.5	239	9.19±3.75	139	58.2	100	41.8*
	11.0	40	38	95.0	0	0	24	63.2	157	6.54±4.05*	70	44.6	87	55.4*
2	0	40	37	92.5	0	0	33	89.2	416	12.61±2.42	386	92.8	30	7.2
	3.65	40	35	87.5	8	26.7	22	73.3	98	4.45±2.41*	19	19.4	79	80.6*
	11.0	40	37	92.5	0	0	3	8.1*	3	1.00±0.00*	0	0	3	100*
3	0	39	38	97.4	0	0	35	92.1	439	12.54±2.03	408	92.9	31	7.1
	3.65	40	36	90.0	1	2.8	33	91.7	324	9.82±3.28*	224	69.1	100	30.9*
	11.0	40	40	100	4	10.0	23	57.5*	111	4.83±3.71*	32	28.8	95	71.2*
4	0	40	37	92.5	0	0	34	91.9	436	12.82±2.59	403	92.4	33	7.6
	3.65	40	33	82.5	0	0	30	90.9	352	11.73±2.45	317	90.1	35	9.9
	11.0	40	40	100	1	2.5	31	77.5	315	10.16±4.02*	256	81.3	59	18.7*
5	0	40	37	92.5	0	0	33	89.2	380	11.52±2.72	352	92.6	28	7.4
	3.65	40	33	82.5	1	3.0	30	90.9	392	13.07±3.33	362	92.3	30	7.7
	11.0	40	39	97.5	0	0	30	76.9	344	11.47±2.97	305	88.7	39	11.3
6	0	40	37	92.5	0	0	31	83.8	376	12.13±2.53	354	94.2	22	5.8
	3.65	40	34	85.0	0	0	30	88.2	368	12.27±1.93	343	93.2	25	6.8
	11.0	40	39	97.5	0	0	29	74.4	229	7.90±4.31*	214	93.5	15	6.5
7	0	39	34	87.2	0	0	25	73.5	292	11.68±3.97	272	93.2	20	6.8
	3.65	40	32	80.0	0	0	31	96.9	354	11.42±2.81	313	88.4	41	11.6
	11.0	40	38	95.0	0	0	23	60.5	190	8.26±4.86*	171	90.0	19	10.0
8	0	40	36	90.0	0	0	33	91.7	420	12.73±1.70	398	94.8	22	5.2
	3.65	40	33	82.5	0	0	31	93.9	380	12.26±1.73	357	94.0	23	6.0
	11.0	40	37	92.5	0	0	32	86.5	350	10.94±3.93	324	92.6	26	7.4

a) : Fisher の検定 (\*p<0.05)

b) : Mann-Whitney の U 検定 (\*p<0.05)



⑦チャイニーズハムスターの骨髓細胞を用いた小核試験

(資料 No.T-37)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

報告書補遺作成年：1990年

検体の純度：

供試動物：チャイニーズハムスター、1群雌雄各5匹

体重；実験1) 雄 25～35 g、雌 25～34 g、実験2) 雄 25～35 g、雌 22～33 g)、

開始時週齢；雄 4～9 週齢、雌 6～10 週齢

試験方法：検体は落花生油に懸濁し、実験を2回実施した。

(実験1)

0及び1230.0 mg/kgを1回経口投与し、16、24および48時間後に屠殺して大腿骨骨髓から塗抹標本作製した。陽性対照としてシクロホスファミド 64 mg/kgを投与し、24時間後に屠殺した。

(実験2)

0、307.5、615.0及び1230.0 mg/kgを1回経口投与し、24時間後に屠殺して大腿骨骨髓の塗抹標本作製した。陽性対照として、シクロホスファミド 64 mg/kgを経口投与し、24時間後に屠殺した。

(標本観察)

各群雌雄各5匹の標本を選定して採点した。各動物につき1000個の多染性赤血球から小核を有する細胞の出現頻度を評価した。正染性赤血球に対する多染性赤血球の比率については、各動物1000個の赤血球を計数して判定した。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

多染性赤血球と正染性赤血球が明確に区別できる状態にあり、陽性対照群で小核を有する多染性赤血球の明確な増加が認められた場合に、試験が成立したとみなす。

検体処理群で小核を有する多染性赤血球の統計学的に有意な増加がみられた場合に、陽性と判定する。

結果： 小核試験の結果を表 1（実験 1）および表 2（実験 2）、統計解析結果を表 3（実験 1）および表 4（実験 2）に示す。

検体処理群ではいずれの用量および採取時間においても対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミドでは、両試験とも小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下において、検体には染色体異常誘発性はないと判断される。

表 1. 小核試験 (実験 1)

採取時間	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	観察動物数	MNPCE (%)	P/N 比 <sup>2)</sup>
16	検体	0 <sup>1)</sup>	雄	5	0.016	1.4
			雌	5	0.006	1.1
		1230	雄	5	0.004	1.3
			雌	5	0.006	1.1
24	検体	0 <sup>1)</sup>	雄	5	0.006	1.0
			雌	5	0.012	1.3
		1230	雄	5	0.012	1.4
			雌	5	0.012	1.1
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>3)</sup> )	0 <sup>1)</sup>	雄	5	0.006	1.0
			雌	5	0.012	1.3
		64	雄	5	0.198	1.0
			雌	5	0.048	1.0
48	検体	0 <sup>1)</sup>	雄	5	0.012	1.2
			雌	5	0.008	1.1
		1230	雄	5	0.004	1.1
			雌	5	0.008	1.1

1): 溶媒対照 (落花生油)

2): P/N 比: P; 多染性赤血球 (PCE)、N; 正染性赤血球 (NCE)

統計解析: 表 3 を参照

表 2. 小核試験 (実験 2)

採取時間	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	観察動物数	MNPCE (%)	P/N 比 <sup>2)</sup>
24	検体	0 <sup>1)</sup>	雄	5	0.004	1.3
			雌	5	0.008	1.4
		307.5	雄	5	0.006	1.7
			雌	5	0.002	1.7
		615	雄	5	0.002	1.6
			雌	5	0.006	1.4
		1230	雄	5	0.004	1.1
			雌	5	0.006	1.5
	陽性対照 (シクロホスファミド <sup>3)</sup> )	64	雄	5	0.116	0.8
			雌	5	0.078	1.4

1): 溶媒対照 (落花生油)

2): P/N 比: P; 多染性赤血球 (PCE)、N; 正染性赤血球 (NCE)

統計解析: 表 4 を参照

表 3. 実験 1 の統計解析

採取時間	薬物	用量 (mg/kg)	MNPCE (%) <sup>1)</sup>	P/N 比 <sup>2)</sup>
16	検体	0 <sup>3)</sup>	0.11	1.25
		1230	0.05	1.2
24	検体	0 <sup>3)</sup>	0.09	1.15
		1230	0.12	1.25
	陽性対照 (シクロホスファミド)	0 <sup>3)</sup>	0.09	1.15
		64	1.23*	1.00
48	検体	0 <sup>3)</sup>	0.10	1.15
		1230	0.06	1.10

表中の数字は雌雄の平均値を示す。

統計解析法：カイ二乗検定 (\* $p < 0.05$ )

1)：多染性赤血球 1000 個中の小核を有する細胞の割合を百分率で示す。

2)：P/N 比：P；多染性赤血球 (PCE)、N；正染性赤血球 (NCE)

3)：溶媒対照 (落花生油)

表 4. 実験 2 の統計解析

処理時間	薬物	用量 (mg/kg)	MNPCE (%) <sup>1)</sup>	P/N 比 <sup>2)</sup>
24	検体	0 <sup>3)</sup>	0.06	1.35
		307.5	0.04	1.70
		615	0.04	1.50
		1230	0.05	1.30
	陽性対照 (シクロホスファミド)	64	0.97*	1.10

表中の数字は雌雄の平均値を示す。

統計解析法：カイ二乗検定 (\* $p < 0.05$ )

1)：多染性赤血球 1000 個中の小核を有する細胞の割合を百分率で示す。

2)：P/N 比：P；多染性赤血球 (PCE)、N；正染性赤血球 (NCE)

3)：溶媒対照 (落花生油)

⑧マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験

(資料 No.T-38)

試験機関：

報告書作成年：1999年

[GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：Ico:CD1(CRL)系マウス、投与時週齢；7～8週齢

用量設定試験；1群雌雄各1匹、体重範囲（雌27～29g、雄35～38g）

小核試験；1群雌雄各5匹、体重範囲（雌24～29g、雄33～39g）

試験方法：検体を落花生油に懸濁し、80, 160 および 320 mg/kg の用量で雌雄各5匹に単回強制経口投与した。さらに別の群に溶媒のみ、あるいは陽性対照としてシクロホスファミド（64mg/kg）を投与した。

高用量群および溶媒対照は投与24および48時間後に、中用量群、低用量群および陽性対照は投与24時間後に屠殺した後、大腿骨骨髄細胞を採取し塗抹標本作製した。

各動物2000個の多染性赤血球について小核の発現頻度を検査し、多染性赤血球と正染色性赤血球の比を算出した。

投与量設定の根拠（用量設定試験）：

結果：結果の概要を表に示す。

320 mg/kg 投与ではいずれも姿勢、横臥位及び筋緊張低下が認められた。160及び80 mg/kg 投与では毒性症状は認められなかった。

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

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加が認められた。

表

投与後の時間 (h)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	p/n 比	小核を有する多染性赤血球数 (10000 個中) <sup>c)</sup>	小核を有する多染性赤血球の出現率 (%)
24	溶媒対照 <sup>a)</sup>	—	雄	0.89	7	0.07
			雌	0.96	8	0.08
	検体	80	雄	0.81	4	0.04
			雌	0.96	10	0.10
			雄	0.86	11	0.11
			雌	0.81	8	0.08
	陽性対照 <sup>b)</sup>	64	雄	0.52	179	1.79*
雌			0.65	180	1.80*	
48	溶媒対照 <sup>a)</sup>	—	雄	0.87	8	0.08
			雌	0.85	11	0.11
	検体	320	雄	0.85	13	0.13
			雌	0.77	11	0.11

a) : 落花生油

p : 多染性赤血球

b) : シクロホスファミド

n : 正染性赤血球

c) : 多染性赤血球 5 匹の合計値 (10000 個)

\* :  $\chi^2$  検定、有意水準  $p < 0.05$

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

⑨ラット肝臓の初代培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験

(資料 No.T-39)

試験機関：

報告書作成年：1982年

報告書補遺作成年：1985年、1990年、1995

年

検体の純度：

試験方法：SD雄ラットの肝臓の初代培養細胞を用い、以下の通り試験を行った。

検体を DMSO に溶解し、0.67、3.34、16.69 および 83.47  $\mu\text{g/mL}$  の用量について検査した。生体内コラゲナーゼ灌流を行って摘出したラットの肝臓から肝細胞を単離し、ウィリアムズ E 培地中で 37°C で 1.5~2 時間培養し、カバースリップに付着させた。その後 BBS で細胞を洗浄し、新たな培地で一夜培養した。検体添加後、直ちに  $^3\text{H}$ -チミジンを添加しさらに 5 時間培養した後、細胞を洗浄してエタノール/酢酸で固定した。肝細胞のオートラジオグラフを作製し、ヘマトキシリン-エオシン染色を行った。試験は陰性対照群（培地のみ）、溶媒対照群及び検体投与群ともに各 4 培地を用いた。評価は各濃度について 3 枚のスライド標本を用い、1 標本につき 50 個、計 150 個の細胞を観察した。それぞれの細胞について核内総銀粒子数、細胞質内銀粒子数（核と同面積の 3 領域について計測し平均値を算出）を計測し、正味の核内銀粒子数（核内総銀粒子数 - 細胞質内銀粒子数）を算出した。

陽性対照群にはジメチルニトロソアミン (DMN) 100 mmol/L を用い、同様の処理を行った。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

①試験成立の基準

溶媒対照群では核内総銀粒子数が 8 以下及び正味の核内銀粒子数が 2 以下、陽性対照群では正味の核内銀粒子数が明確に増加し、かつ最高用量群では細胞毒性が認められる場合に、試験が成立したとみなす。

②陽性の判定

検体投与群の核内総銀粒子数が溶媒対照群の値の2倍を上回り、正味の核内銀粒子数が2.0以上かつ溶媒対照値との差が2.0以上の場合に陽性とみなす。

試験結果：結果を表1、背景データを表2に示す。

いずれの用量でも、溶媒対照群と比較して核内総銀粒子数および正味の核内銀粒子数の増加は認められなかった。

陽性対照群では、溶媒対照と比較して核内総銀粒子数及び正味の核内銀粒子数の明確な増加が認められた。

表1. 結果

薬剤	用量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察 細胞数	核内総銀粒子数		細胞質内銀粒子数 <sup>a)</sup>		正味の核内銀粒子数 <sup>a)</sup>	
			平均値	$\pm\text{SD}$	平均値	$\pm\text{SD}$	平均値	$\pm\text{SD}$
陰性対照 (培地)	0	150	2.83	1.65	3.47	1.77	-0.64	2.47
陰性対照 (DMSO)	0	150	3.40	2.22	2.90	1.67	0.50	2.43
検 体	0.67	150	4.43	2.72	3.89	2.22	0.54	3.17
	3.34	150	4.69	2.80	3.55	1.95	1.14	3.03
	16.69	150	4.59	2.75	3.89	1.91	0.70	3.04
	83.47	150	5.04	2.88	4.15	2.23	0.89	2.93
陽性対照 (DMN)	100mmol/L	150	13.65	4.61	4.34	2.45	9.30	4.69

a)：1990年に実施した標本の再評価結果を示す。  
統計解析は実施していない。

表2. 背景データの範囲

実施年	薬剤	核内総銀粒子数 <sup>a)</sup>	細胞質内銀粒子数	正味の核内銀粒子数
1982年 (11試験)	陰性対照(培地)	3.06~7.12		
	陰性対照(DMSO)	3.23~7.79		
	陽性対照(DMN)	16.5~53.2		
1985年 (20試験)	陰性対照(培地)	0.89~3.01		
	陰性対照(DMSO)	1.27~4.23		
	陽性対照(DMN)	11.9~34.7		

a)：当時は、細胞質内銀粒子数は計測していなかった。

以上の結果から、本試験条件下において、検体にはDNA損傷誘発性はないと判断される。



⑩枯草菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No.T-40)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* H17 及び M45 株を用いて、ラット肝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 DNA 損傷誘発性の有無を検討した。  
検体は、DMSO に溶解した。  
陰性対照としてカナマイシン、陽性対照として 2-(2-フリル-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2、S-9 mix 非存在下)、2-アミノアントラセン (2-AA、S-9 mix 存在下) を用いた。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

回帰分析で最小生育阻止濃度 (MICrec+ 及び MICrec-) を求め、DNA 傷害度 (MICrec+/MICrec-) が 2 以上の場合に陽性と判定する。

結果：結果を表 I に示した。

検体は S-9 mix 存在下及び非存在下ともに、100µg/disk 以上の濃度で両菌株に対して生育阻止帯を示したが、最高濃度の 400µg/disk でも両菌株の間に明らかな生育阻止帯の差が認められなかった。

なお、ペーパーディスク上に検体の析出が認められたため、回帰分析は適用できなかったが、MICrec+ 及び MICrec- は、S-9 mix 存在下及び非存在下ともに 50~100µg/disk の間にあると考えられた。

一方、陰性対照のカナマイシンは、両菌株に同程度の生育阻止帯を示し、陽性対照の AF-2 (直接法) 及び 2-AA (代謝活性化法) では両菌株の間に明らかな生育阻止帯の差が生じた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体は DNA 損傷誘発性を示さないものと判断される。

表 1. 結果

S-9mix の有無	薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M45	H17	
-	溶媒対照 (DMSO)	—	0	0	0
	検体	25	0	0	0
		50	0	0	0
		100	1.0	1.0	0
		200	1.2	1.3	0.1
		400	1.5	1.7	0.2
	陰性対照 (カナマイシン)	10	9.0	8.5	0.5
陽性対照 (AF-2)	0.001	5.0	0	5.0	
+	溶媒対照 (DMSO)	—	0	0	0
	検体	25	0	0	0
		50	0	0	0
		100	1.0	0.7	0.3
		200	1.8	1.9	0.1
		400	2.4	2.2	0.2
	陰性対照 (カナマイシン)	10	9.0	8.5	0.5
陽性対照 (2-AA)	5	4.6	0	4.6	

(14) 生体機能影響

(資料 No.T-41)

① 一般薬理試験

試験機関：

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

1) 中枢神経系に対する作用

〈マウスの筋弛緩作用と運動協調性に対する作用〉

試験動物：Slc：ICR マウス、1 群雄 8～12 匹、体重範囲 22.6～30.2g

方法：Rota-rod 法を用いた。

検体はコーン油に溶解し、10mL/kg の液量で経口投与した。マウスを回転棒にのせ、投与後 30、60、120、180、240 及び 300 分に、1 分以内に落下する匹数を観察した。陽性対照物質としてクロルプロマジン蒸留水に溶解し、10mg/kg を経口投与し、同様に試験した。

結果：結果を下表に示す。

薬剤	用量 (mg/kg)	投与後時間 (分)					
		30	60	120	180	240	300
溶媒対照 <sup>a)</sup>	0	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
検 体	30	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	100	0/12	0/12	2/12	0/12	0/12	0/12
	300	5/11*	10/11**	10/11**	9/11**	9/11**	9/11**
陽性対照 <sup>b)</sup>	10	5/8**	7/8**	8/8**	7/8**	5/8**	4/8*

表中の数字は落下匹数/総動物数を示す。

a)：コーン油

b)：クロルプロマジン

統計解析法：Fisher の検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01)

300mg/kg 群で投与後 30 分に 11 匹中 5 匹、60 及び 120 分には 10 匹、180、240 及び 300 分には 9 匹の有意な落下例の増加がみられた。

30mg/kg では回転棒からの落下例はみられなかった。100mg/kg 群では投与後 120 分に 12 匹中 2 匹の落下が認められたが、有意差はなく、偶発的な所見と考えられた。

陽性対照群では、投与後 30 分から 300 分まで落下例の有意な増加がみられた。

2) 呼吸及び循環器系に対する作用 (イヌの呼吸、血圧、血流量、心拍数及び心電図に対する作用)

試験動物：雑種イヌ、4匹、体重範囲 9.0~14.0 kg

方法：

検体はコーン油に溶解し、腹腔内投与した。ペントバルビタール麻酔下で呼吸、血圧、血流量、心拍数及び心電図を記録した。

結果：結果を下表に示す。

測定項目	投与量 (mg/kg)	投与後時間 (分)						
		0	15	30	60	120	180	
呼吸数/分	0	11.0	11.0	11.4	11.2	10.3	9.7	
	600	10.3	8.8	7.0	6.3	4.5	4.7	
心電図 (msec)	0	P-Q 間隔	81.0	78.9	74.9	79.9	78.6	78.6
		QRS 間隔	80.7	82.4	83.1	81.3	83.0	86.2
		Q-T 間隔	268.5	265.2	266.7	274.3	277.9	286.4
心電図 (msec)	600	P-Q 間隔	90.5	90.3	88.1	92.4	87.3	78.2
		QRS 間隔	74.7	79.0	79.2	81.4	75.9	70.9*
		Q-T 間隔	279.6	292.0	293.8	308.5*	305.0	291.5
心拍数/分	0	136.8	136.0	138.5	131.0	124.3	119.5	
	600	130.3	128.0	123.0	108.3	108.7	118.5	
血圧 (mmHg)	0	収縮期	158.1	154.4	158.1	150.0	151.3	152.5
		拡張期	107.5	105.6	106.3	102.5	102.5	104.4
		平均	121.9	118.1	120.6	114.4	114.4	116.9
血圧 (mmHg)	600	収縮期	160.0	160.6	158.8	139.4	146.7	185.0**
		拡張期	105.0	104.4	100.6	85.6	90.0	93.8
		平均	121.3	120.0	117.5	102.5	108.3	121.3
血流量 (mL/分)	0	25.0	21.3	20.0	21.3	18.5	13.8	
	600	33.5	30.3	22.3	19.5	40.3*	32.5*	
アセチルコリンの降圧 反応に対する影響	0	100.0	95.5	97.2	82.6	87.5	83.2	
	600	100.0	91.3	84.8	61.7	50.8	72.3	

表中の数字は測定値の平均を示す。

統計解析法：Student の t 検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01)

呼吸数は投与後 15 分から漸次減少する傾向にあり、60 分および 120 分後の呼吸数は投与前値と比較して約 39 および 50%減少した。

心電図では投与後 15 分より Q-T 時間の延長傾向がみられ、60 分後には投与前と比較して 10%の延長がみられた。

心拍数は投与後 60 分には 17%減少した。

血圧は投与後 30 分より下降する傾向がみられ、60 分には平均血圧は 15%低下した。

血流量は投与後 30 分より減少傾向にあり、60 分には 42%減少したが、120 分では逆に 20%の有意な増加がみられた。

アセチルコリンによる降圧反応には抑制傾向がみられ、投与後 120 分には投与前値と比較して約 49%抑制された。

なお、4 匹中 2 匹は投与後 90 及び 180 分に死亡した。

3) 自律神経系に対する作用 (ネコの瞬膜に対する作用)

試験動物：雑種ネコ、4匹、体重範囲 2.0～3.5 kg

方法：

検体はコーン油に溶解し、3mL/kg の液量で腹腔内投与した。ペントバルビタール麻酔下で上頸交感神経刺激、迷走神経刺激ならびにノルアドレナリン及びアセチルコリンにより惹起される瞬膜、血圧及び心拍数に及ぼす影響を検討した。

結果：結果を下表に示す。

測定項目		投与量 (mg/kg)	投与後時間 (分)			
			30	60	120	180
瞬膜の収縮	上頸交感神経節前刺激	0	94.6	92.7	96.2	93.4
	上頸交感神経節前後刺激		95.3	95.0	95.7	93.3
	ノルアドレナリン刺激		96.8	94.1	94.5	94.3
	上頸交感神経節前刺激	1000	92.4	80.8	75.7	68.7
	上頸交感神経節前後刺激		93.9	81.5	71.9*	65.4**
	ノルアドレナリン刺激		100.8	110.0	89.2	58.9
血圧	無刺激	0	96.5	96.0	91.9	92.3
	迷走神経刺激		102.4	102.6	103.0	97.8
	アセチルコリン刺激		96.1	98.2	97.1	92.0
	無刺激	1000	93.3	86.0	75.3	71.9
	迷走神経刺激		79.1*	75.7*	74.5	66.4
	アセチルコリン刺激		83.3	78.5	72.5	68.7
心拍数	無刺激	0	93.0	92.1	91.7	86.6
	迷走神経刺激		100.1	101.2	100.2	95.1
	無刺激	1000	99.0	95.1	88.8	86.6
	迷走神経刺激		93.3	87.5	83.4	77.6

表中の数字は投与前値に対する割合 (%) を示す。  
統計解析法：Student の t 検定 (\*p<0.05、\*\*p<0.01)

上頸交感神経刺激及びノルアドレナリン投与による瞬膜収縮、また、迷走神経刺激及びアセチルコリン投与による降圧反応はともに抑制される傾向がみられた。なお、4 匹中 1 匹は投与後 160 分に死亡した。

#### 4) 消化器系に対する作用 (小腸輸送能に対する作用)

試験動物：Slc：ICR マウス、1 群雄 12 匹、体重範囲 23.5～30.6g

方法：

検体はコーン油に溶解し、10mL/kg の液量で経口投与した。陽性対照物質としてアトロピンを蒸留水に溶解して、100mg/kg を経口投与した。

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

検体投与群では投与後 60 分に、陽性対照物質投与群では投与後 10 分に炭末・アラビアゴム (5%+10%) の水懸濁液を経口投与し、その 20 分後に小腸の炭末輸送率を測定した。

結果：結果を下表に示す。

薬剤	投与量 (mg/kg)	炭末輸送率 (%)
溶媒対照	0	52.5
検 体	30	43.5
	100	42.2
	300	54.1
	陽性対照(アトロピン)	100

表中の数字は測定値の平均を示す。

統計解析法：Student の t 検定 (\*\*p<0.01)

いずれの検体投与群とも対照群と比較して輸送率に有意な差は認められなかった。一方、アトロピン投与群では輸送能の抑制がみられた。

試験結果の総括を下表に示した。

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 [Rota-rod 法]	マウス	経口 (コーン油)	0、30、100、 300	8~12	300	100	300mg/kg で落下例の有意な増加
呼吸および循環器系 [呼吸、血圧、血流量、 心拍数、心電図]	イヌ	腹腔内 (コーン油)	0、600	4	600 <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	600mg/kg で呼吸数、心拍数および血流量の減少傾向、血圧低下、心電図で Q-T 時間の延長傾向
自律神経系 [瞬膜収縮、血圧、心 拍数]	ネコ	腹腔内 (コーン油)	0、1000	4	1000 <sup>1)</sup>	— <sup>1)</sup>	上顎交感神経刺激およびノルアドレナリン投与による瞬膜収縮の抑制 迷走神経刺激およびアセチルコリン投与による降圧反応の抑制
消化器系 [小腸輸送能]	マウス	経口 (コーン油)	0、30、100、 300	12	>300	300	影響なし

1) : 1 用量のみの試験

②一般薬理試験

(資料 No.T-42)

試験機関:

報告書作成年: 1992 年

検体の純度:

1) 中枢神経系に対する作用

試験動物: ICR マウス (Crj: CD-1)、6 週齢、体重; 雄 28.9~35.14g、雌 21.06~25.59g

- ・一般症状; 1 群雌雄 5 匹、
- ・ヘキソバルビタール睡眠; 1 群雄 40 匹

日本白色種ウサギ

- ・一般症状・体温; 1 群雄 3 匹、2.55~3.03 kg
- ・脳波; 1 群雄 3 匹、2.80~3.50 kg

投与方法: 検体はポリエチレングリコール 400 (PEG) で調製し、薬理作用を観察しやすい方法として静脈内投与を選択した。

①マウスの一般症状;

0、12、20、30、45 及び 70mg/kg を静脈内投与後、Irwin の多次元観察法に基づいて一般症状を観察した。

結果を下表にまとめる。

投与量 (mg/kg)	結 果
12	影響なし
20	投与直後から自発運動の抑制、異常歩調、眼裂狭小及び呼吸数の低下。 2 時間後には回復。
30	20mg/kg 群の症状に加え、警戒性等の認知力の低下、反応性等の運動性の低下、運動失調、握力低下及び耳介反射の低下。 2 時間後には回復。
45	30mg/kg 群の症状が強くみられ、さらに姿勢異常、筋緊張低下及び反射抑制。 2~4 時間後には回復。
70	各抑制的症状が強くみられ、雄 3 例、雌 1 例が死亡。生存例は 6 時間後にほぼ回復。

②ウサギの一般症状;

0、10、25 及び 60mg/kg を静脈内投与後、一般症状を多角的に観察した。

結果を下表にまとめる。

投与量 (mg/kg)	結 果
10	影響なし
25	自律運動等の行動抑制、筋緊張低下及び瞳孔反射抑制等の体性神経系症状並びに運動失調、散瞳、呼吸数低下。 2時間以内に回復。
60	25mg/kg 群の症状が強く認められ、さらに眼裂狭小、苦悶症状及び皮膚の白色化。 死亡例なく4時間以内に回復。

③脳波に対する作用；

麻酔下で不動化したウサギに5、10、20及び30mg/kgを30分～1時間の間隔で累積的に静脈内投与し、皮質脳波、深部脳波及び心電図を記録した。

全ての用量で投与後5分より皮質及び深部脳波の高振幅、徐波化の傾向がみられたが、30分以内に回復した。

④体温に対する作用；

0、10、25及び60mg/kgを静脈内投与、体温測定及び耳介毛細血管の観察を行った。結果を下表に示す。

<体温>

投与量 (mg/kg)	投与後時間					
	0	30分	1時間	2時間	3時間	5時間
0	38.86	38.98	39.04*	38.90	39.08	39.10
10	38.93	38.90	38.88	38.96	39.09	39.09
25	38.63	38.47	38.52	38.84	38.74	38.85
60	38.52	38.63	38.27	38.29	38.45	38.33

表中の数字は測定値の平均値を示す。  
統計解析法：Paired t 検定 (\*p<0.05)

投与の影響を示唆するような変化はなかった。

溶媒対照群で投与後1時間に、体温の有意な上昇がみられたが、偶発的な変化であった。

⑤ヘキソバルビタール睡眠に対する作用；

1群40匹のマウスに各々0、2及び8mg/kgを静脈内投与後、1、12、24及び48時間に各群各々10匹のマウスにヘキソバルビタール100mg/kgを腹腔内投与し、正向反射が消失してから回復するまでの時間を測定した。

結果を下表に示す。



<睡眠時間>

投与量 (mg/kg)	投与後時間			
	1 時間	12 時間	24 時間	48 時間
0	52.8	36.1	38.2	38.1
2	61.3	43.4	37.7	40.8
8	185.0**	43.3	38.8	39.7

表中の数字は測定値の平均値を示す。

統計解析法：Student の t 検定 (\*\*p<0.01)

8mg/kg 投与群で睡眠時間の延長が認められたが、12 時間後には影響は消失した。  
2mg/kg 投与群では変化はなかった。

2) 呼吸・循環器系に対する作用

試験動物：日本白色種ウサギ (2.55~3.03 kg)、雄 5 匹

方法：投与量は、一般症状の観察 [1] 中枢神経系に対する作用の②ウサギの一般症状] において、死亡することなく影響がみられた 25mg/kg 及び影響がみられなかった 10mg/kg を設定した。

検体を PEG で調製し、ウレタン麻酔下で 0、10 及び 25mg/kg を 1 時間間隔で累積的に静脈内投与した。呼吸、血流量、血圧、心拍数及び心電図について観察し、記録した。

結果：結果を下表に示す。

<呼吸・循環器系項目>

項目	投与量 <sup>a)</sup> (mg/kg)	投与後時間				
		0	投与直後	10 分後	30 分後	60 分後
拡張期血圧 (mmHg)	0	60.0	68.0	68.0	65.2	63.4
	10	64.4	44.0	69.6	74.8	73.4
収縮期血圧 (mmHg)	0	94.8	101.4	104.0	104.4	101.6
	10	100.8	73.2	106.0	110.6	107.4
心拍数/分	0	253.2	249.8	250.0	247.4	242.6
	10	238.8	207.6	224.6	225.2	223.4
血流量/分	0	80.4	65.6	73.0	79.6	83.6
	10	84.6	66.6	78.2	77.2	80.4
呼吸 (ホリグラフの波形)	0	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
	10	変化なし	呼吸振幅の抑制			変化なし

a) 25mg/kg 投与群は全例が死亡した。

表中の数字は測定値の平均値を示す。

統計解析は実施していない。

25mg/kg 投与群は全例が死亡した。

10mg/kg 投与群では呼吸振幅の抑制が投与直後から 30 分後に、血流量の低下が投与直後から 10 分後に、心拍数の低下が投与直後から 10 分後にみられた。血圧は、投与直後から低下したが、30 分後に大きく上昇したのち、60 分後には回復した。心電図には

影響はなかった。

### 3) 自律神経系に対する作用

試験動物：日本白色種ウサギ（2.80～3.50 kg）、1群雄3匹  
 Std Hartley系モルモット（450～500g）、雄3匹  
 SDラット（Crj：CD）（280～350g）、雄3匹

瞳孔に対する作用；検体はPEGで調製した。ウサギへの投与量は、静脈内投与時のおおよその50%致死量であった60mg/kgを高用量、無影響量であった10mg/kgを低用量とし、中間用量として25mg/kgを設定した。  
 投与後5時間まで経時的に瞳孔径を測定した。  
 結果を下表に示す。

#### <瞳孔径>

投与量 (mg/kg)	眼	投与後時間							
		0	5分	15分	30分	1時間	2時間	3時間	5時間
0	右	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.67
	左	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.67
10	右	7.00	7.00	7.00	7.00	7.17	7.17	7.17	7.17
	左	7.00	7.00	7.00	7.00	7.17	7.17	7.17	7.17
25	右	6.17	6.50	7.50*	7.17	6.83	6.50	6.33	6.33
	左	6.17	6.50	7.50*	7.17	6.83	6.50	6.33	6.33
60	右	6.83	7.50*	8.00**	8.00**	7.67*	7.33	7.17	7.00
	左	6.83	7.50*	8.00**	8.00**	7.67*	7.33	7.17	7.00

表中の数字は測定値の平均値を示す。  
 統計解析法：Paired t検定（\*p<0.05、\*\*p<0.01）

60mg/kg投与群で投与後5分～1時間に有意な散瞳がみられたが、2時間後には回復した。25mg/kg投与群では投与後15分のみ有意な散瞳がみられた。  
 10mg/kg投与群では、投与の影響はみられなかった。

摘出回腸に対する作用；モルモットから摘出した回腸をタイロード液を満したマグヌス管に懸垂し、検体をPEGに溶解させて $1 \times 10^{-4}$ ～ $1 \times 10^{-10}$ g/mLの最終濃度になるよう添加した。検体の単独作用及び前処理によるヒスタミン(His、 $2 \times 10^{-7}$ g/mL)及びアセチルコリン(Ach、 $8 \times 10^{-7}$ g/mL)の収縮作用に対する影響も検討した。  
 検体単独では影響はみられなかった。Ach及びHisの収縮作用に対し、 $1 \times 10^{-6}$ g/mL以上及び $1 \times 10^{-7}$ g/mL以上の前処理で抑制作用がみられた。

摘出輸精管に対する作用；ラットから摘出した輸精管をタイロード液を満したマグヌス管に懸垂し、検体をPEGに溶解させて $1 \times 10^{-4}$ ～ $1 \times 10^{-9}$ g/mLの最終濃度となるよう添加した。検体の単独作用及び前処理によるアドレナリン(AD、 $2 \times 10^{-6}$ g/mL)の収縮に対する影響を検討した。

検体単独では影響はみられなかった。アドレナリンの収縮作用に対し、 $1 \times 10^{-7}$ g/mL 以上の前処理で抑制作用がみられた。

#### 4) 消化器系に対する作用

試験動物：Crj：CD (SD) 系ラット (152.7~178.8g)、小腸輸送能；1群雄6匹、  
肝機能；1群雄16匹

方法：検体はPEGに調製して静脈内に投与した。

小腸輸送能に対する作用；0、2、4、8及び16mg/kgを静脈内投与し、30分後に炭末・アラビアゴム懸濁液を経口投与した。さらに30分後に動物を屠殺し、小腸の全長に対する炭末の移動率を求めた。陽性対照群には硫酸アトロピン2.5mg/kgを経口投与した。

##### <炭末の移動率>

薬剤	投与量 (mg/kg)	30分後の炭末移動率 (%)
溶媒対照	0	91.23
検体	2	81.75*
	4	82.20*
	8	74.07**
	16	74.60**
陽性対照 <sup>a)</sup>	2.5	20.45**

a) 硫酸アトロピン

統計解析法：Studentのt検定 (\* $p < 0.05$ 、\*\* $p < 0.01$ )

全ての投与量で20~25%の輸送能抑制が認められた。

陽性対照群では約80%の輸送能抑制が認められた。

肝機能に対する作用；インドシアニングリーン (ICG) 排泄能では、1群16匹のラットに0、16及び32mg/kgを静脈内投与し、24及び48時間後に各群各々8匹にICG 5mg/kgを静脈内投与した。5分後に腹部大動脈より採血を行い、血漿中のICG濃度を求めた。

血漿ChE、GOT及びGPTの測定では、1群16匹のラットに0、16及び32mg/kgを静脈内投与し、24及び48時間後に各群各々8匹から採血を行い、血漿中の酵素活性を測定した。

結果を下表に示す。

<肝機能の測定結果>

投与量 (mg/kg)	ICG 排泄能 (%)		GOT (IU/L)		GPT (IU/L)		ChE (IU/L)	
	24 時間後	48 時間後	24 時間後	48 時間後	24 時間後	48 時間後	24 時間後	48 時間後
0	3.8	3.6	121.0	102.1	52.8	50.8	525.1	551.0
16	4.2	3.6	128.8	92.1	61.1	552.6	538.3	494.0
32	4.4	3.6	179.9*	86.9*	78.5*	56.9	445.6	497.3

表中の数字は測定値の平均値を示す。

統計解析法：Student の t 検定 (\*p<0.05)

32mg/kg 投与群で、24 時間後に GOT 及び GPT の有意な増加がみられ、48 時間後に GOT の有意な減少がみられた。

16mg/kg 投与群では影響はなかった。

5) 骨格筋に対する作用

試験動物：日本白色種ウサギ (2.55~3.03 kg)、雄 3 匹

方法：検体を PEG で調製し、ウレタン麻酔下で 0、10 及び 25mg/kg を 1 時間間隔で静脈内に累積的に投与し、前脛骨筋の収縮を記録した。

結果：いずれの投与群においても変化は認められなかった。

6) 血液に対する作用

試験動物：日本白色種ウサギ (2.55~3.03 kg)、1 群雄 3 匹

方法：検体を PEG で調製し、0、5、10 及び 25mg/kg を静脈内投与した。投与前、投与 10、30 及び 60 分後に耳動脈から採血し、約 37℃の恒温槽中での凝固時間を測定した (Lee-White の変法)。

結果を下表に示す。

<血液凝固時間>

投与量 (mg/kg)	投与後時間 (分)			
	0	10	30	60
0	370.0	370.0	370.0	370.0
5	370.0	400.0	410.0	400.0
10	350.0	350.0	400.0*	390.0
25	360.0	350.0	400.0	370.0

表中の数字は測定値の平均値 (秒) を示す。

統計解析法：Paired t 検定 (\*p<0.05)

結果：投与に影響した変動は認められなかった。

「一般薬理試験」の総括表

試験項目 (動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無影響量 (mg/kg)	影響量 (mg/kg)	結 果	
中枢神経系	一般症状 Irwin 法 (マウス)	静脈内 (PEG*)	0、12、20、30、 45、70	♂ 5 ♀ 5	12	20	認知力、運動性、筋緊張及び反射性の低下。姿勢異常。 70mg/kg 投与群で♂3/5、♀1/5が死亡。
	一般症状 (ウサギ)	静脈内 (PEG*)	0、10、25、60	♂ 3	10	25	行動、筋緊張、瞳孔反射の抑制。散瞳、体性神経症状等。
	脳波 麻酔下 (ウサギ)	静脈内 (累積) (PEG*)	5、10、20、30	♂ 3	<5	5	皮膚及び深部脳波の高振幅、徐波化傾向。
	体温 (ウサギ)	静脈内 (PEG*)	0、10、25、60	♂ 3	60	>60	影響なし。
	ヘキソバルビタール睡眠 (マウス)	静脈内 (PEG*)	0、2、8	♂ 40	2	8	睡眠時間の延長。 12時間で影響消失。
呼吸・循環器系 麻酔下 (ウサギ)	静脈内 (累積) (PEG*)	0、10、25	♂ 5	<10	10	呼吸抑制、血圧、血流量及び心拍数の低下。 25mg/kg 投与群で5/5が死亡。	
自律神経系	瞳孔 (ウサギ)	静脈内 (PEG*)	0、10、25、60	♂ 3	10	25	散瞳
	摘出回腸 (モルモット)	<i>in vitro</i>	$1 \times 10^{-10}$ , $1 \times 10^{-9}$ , $1 \times 10^{-8}$ , $1 \times 10^{-7}$ , $1 \times 10^{-6}$ , $1 \times 10^{-5}$ , $1 \times 10^{-4}$ (g/mL)	♂ 3	$1 \times 10^{-8}$ g/mL	$1 \times 10^{-7}$ g/mL	単独作用なし。 ヒスタミン及びアセチルコリンによる収縮を抑制。
	摘出輸精管 (ラット)	<i>in vitro</i>	$1 \times 10^{-9}$ , $1 \times 10^{-8}$ , $1 \times 10^{-7}$ , $1 \times 10^{-6}$ , $1 \times 10^{-5}$ , $1 \times 10^{-4}$ (g/mL)	♂ 3	$1 \times 10^{-8}$ g/mL	$1 \times 10^{-7}$ g/mL	単独作用なし。 アドレナリンによる収縮を抑制。
消化器系	小腸輸送能 (ラット)	静脈内 (PEG*)	0、2、4、8、16	♂ 6	<2	2	軽度な抑制。
	肝機能 (ラット)	静脈内 (PEG*)	0、16、32	♂ 16	16	32	ICG 排泄に影響なし。 GOT 及び GPT の上昇。
骨格筋 麻酔下 (ウサギ)	静脈内 (累積) (PEG*)	0、10、25	♂ 3	25	>25	影響なし。	
血液凝固 (ウサギ)	静脈内 (PEG*)	0、5、10、25	♂ 3	25	>25	影響なし。	

\*: ポリエチレングリコール

(15) その他の試験

(資料 No.T-43)

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

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



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

これらのことから、本剤はフェノバルビタール様の肝酵素誘導作用が示された。

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

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

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

(資料 No.T-44)

以上のことから、  
亢進は認められなかった。

肝細胞の増殖能に

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

(資料 No.T-45)

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



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

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

検体はマウスの肝臓においてフェノバルビタールに類似した細胞分裂を引き起こすことが示された。

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

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

(資料 No.T-50)

以上の結果より、

ヒト CAR の結合活性はマウスおよびラットに比べて極めて弱いと判断された。

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

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

(資料 No.T-51)



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

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

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

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

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

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

以上、  
*Cyp2b10* 及び *Cyp3a11* 遺伝子の発現上昇が認められた。

細胞増殖の亢進並びに

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

(資料 No.T-52)

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



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

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

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

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

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

以上、Cyp2b6 及び Cyp3a4 遺伝子の発  
現上昇が認められた一方、RDS の亢進は認められなかった。

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

(資料 No.T-53)

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

以上の結果より、本試験  
条件下では、陰性対照であるオクチルトリエトキシシランも結合活性を有すると判定された。



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

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

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

(資料 No.T-54)

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

以上の結果より、  
本試験条件下でラット ER に対する結合活性を有さないと考えられた。

検体は

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

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

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

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



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

(資料 No.T-55)

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

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

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

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

以上の結果から、

本試験条件下において、検体のエストロゲン様活性は陰性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シンジェンタジャパン株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

化合物名	分子式	分子量

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

化合物名	分子式	分子量

1) 代謝物の急性経口毒性

(資料No.T-46)

①代謝物

のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検 体:

試験動物: SD (Tif: RAIf) 系ラット (6~8 週齢)、1 群雌雄各 5 匹、  
平均体重 雄 206g、雌 191g

試験期間: 14 日間観察

方 法: 検体を落花生油と混合し、一夜絶食させた動物に 10mL/kg の液量で 1 回強制経口投与した。

観察項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7、14 日及び死亡発見時に測定した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を実施した。

結 果:

投与方法 性 別	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	1000、2000	500、1000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	>1000、<2000	>1000
死亡開始時間 及び終了時間	2 日後に発現 5 日後に終了	死亡例なし
症状発現時期 及び消失時期	1 時間後に発現 7 日後に消失	1 時間後に発現 6 日後に消失
死亡例が認められなかった 最高用量 (mg/kg)	1000	1000

中毒症状としては、全投与群の雌雄で立毛、うずくまり、自発運動の減少及び呼吸困難が認められ、2000mg/kg 投与群の雄 1 例で出血様の鼻汁がみられた。

体重変化では、全群で観察終了日に体重増加が認められた。

肉眼的病理検査では、2000mg/kg 投与群雄の死亡例で肺及び胸腺の斑点、胃及び小腸の拡張が認められ、生存例 1 匹で肺出血が認められた。雌では異常所見はみられなかった。



②代謝物

のラットにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-47)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検 体:

試験動物: SD (Tif: RAIf) 系ラット (6~8 週齢)、1 群雌雄各 5 匹、  
平均体重 雄 198g、雌 187g

試験期間: 14 日間観察

方 法: 検体を 2%カルボキシメチルセルロース溶液に懸濁し、一夜絶食させた動物に 10mL/kg  
の液量で 1 回強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7、14 日及び死亡発見時  
に測定した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を実施した。

結 果:

投与方法	経口	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	1000	100、500、1000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	>1000	439 (234-824)
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	2 時間後に発現 3 時間後に終了
症状発現時期 及び消失時期	1 時間後に発現 6 日後に消失	1 時間後に発現 6 日後に消失
死亡例の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	1000	100

中毒症状としては、全投与群の雌雄で立毛、うずくまり及び呼吸困難がみられ、500 及び  
1000mg/kg 投与群の雌で自発運動の減少が認められた。

体重変化では、全群で観察終了日に増加が認められた。

肉眼的病理検査では、死亡動物及び生存動物ともに異常所見は認められなかった。

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

(資料 No.T-60)

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

(資料 No.T-61)

2) 代謝物の変異原性

(資料No.T-48)

①代謝物

の細菌を用いた復帰変異性試験

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1989 年

検 体:

方 法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100) 及びトリプトファン要求性大腸菌 (*E. coli* WP2*uvrA*) を用い、ラット肝から調整した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下でプレート法で変異原性を検討した。プレートは3連制とし、実験は2回実施した。

検体は、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

陽性対照物質としてアジ化ナトリウム (NaN<sub>3</sub>)、4-ニトロキノリン-N-オキシド (4NQO)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、9-アミノアクリジン (9-AA)、シクロホスファミド (CPA)、2-アミノアントラセン (2-AA)、溶媒対照として DMSO を用いた。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

全菌株の溶媒対照群の復帰変異体数値が以下の範囲内にあり、かつ陽性対照群では復帰変異体数の明確な増加が認められた場合に、試験は成立するとみなす。

菌 株	TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 <i>uvrA</i>
S-9 mix 存在下	20~70	70~220	7~35	5~30	8~50
S-9 mix 非存在下	12~50	80~220	7~30	3~20	8~40

TA98、TA1535、TA1537 または WP2*uvrA* で溶媒対照群の2倍を上回る復帰変異体数の増加が2回の実験でみられた場合、または TA100 で溶媒対照群の1.5倍を上回る復帰変異体数の増加がみられた場合に、陽性と判定する。

結 果: 結果を表1及び2に示す。

S-9 mix 存在下及び非存在下ともに、最高濃度においても復帰変異体数の増加は認められなかった。

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

一方、陽性対照として用いた  $\text{NaN}_3$ , 4-NQO, 2-NF 及び 9-AA では全ての検定菌株で明らかな復帰変異体数の増加がみられた。

以上の結果から、  
は、本試験条件下において代謝活性化系の有無にかかわらず、復帰変異誘発性を示さないものと判断される。

表 1. 1 回目の実験

薬 剂	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	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	175	13	25	18	8	
検 体	313		168	11	16	17	10	
	625		157	10	15	15	8	
	1250		142	10	9*	17	10	
	2500		142	13	9*	15	9	
	5000		82*	5*	3*	6*	3*	
陽 性 対 照	NaN <sub>3</sub>		2.0	1053	996			
	4-NQO		1.0			185		
	2-NF		10.0				1010	
	9-AA		150.0					2103
溶媒対照 (DMSO)	0	+	155	14	26	31	13	
検 体	313		162	17	17	19	19	
	625		146	14	20	25	11	
	1250		146	14	13*	25	13	
	2500		160	11	9*	26	12	
	5000		96*	7*	4*	12*	6*	
陽 性 対 照	CPA		400.0		379			
	2-AA		2.5	1776			1755	
			5.0					91
			50.0			1210		

数値は3連の平均を示す。  
統計解析は実施していない。  
\*: 生育阻害が認められた。

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

表 2. 2 回目の実験

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}$ /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	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	158	11	17	13	8	
検体	313		147	10	14	15	12	
	625		146	11	16	16	11	
	1250		146	11	10	9	9	
	2500		143	7	8*	12	8	
	5000		139	3*	5*	2*	3*	
陽性 対 照	NaN <sub>3</sub>		2.0	955	1064			
	4-NQ		1.0			262		
	2-NF		10.0				1332	
	9-AA		150.0					1236
溶媒対照 (DMSO)	0	+	107	10	22	25	16	
検体	313		94	12	17	24	10	
	625		106	14	21	27	7	
	1250		110	4*	16	23	6	
	2500		90	4*	13	18	10	
	5000		71	3*	5*	13	5*	
陽性 対 照	CPA		400.0		437			
	2-AA		2.5	1111			1542	
			5.0					88
			50.0			1080		

数値は3連の平均を示す。  
統計解析は実施していない。  
\*: 生育阻害が認められた。

②代謝物

の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No.T-49)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検 体:

方 法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*S. typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100) 及びトリプトファン要求性大腸菌 (*E. coli* WP2uvrA) を用い、ラット肝から調整した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下でプレート法で変異原性を検討した。プレートは3連制とし、実験は2回実施した。

検体は、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

陽性対照物質としてアジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ )、4-ニトロキノリン-N-オキシド (4NQO)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、9-アミノアクリジン (9-AA)、シクロホスファミド (CPA)、2-アミノアントラセン (2-AA)、溶媒対照として DMSO を用いた。

[用量設定根拠]

[結果の判定基準]

全菌株の溶媒対照群の復帰変異体数値が以下の範囲内にあり、かつ陽性対照群では復帰変異体数の明確な増加が認められた場合に、試験は成立するとみなす。

菌 株	TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
S-9 mix 存在下	20~70	70~220	7~35	5~30	8~50
S-9 mix 非存在下	12~50	80~220	7~30	3~20	8~40

TA98、TA1535、TA1537 または WP2uvrA で溶媒対照群の2倍を上回る復帰変異体数の増加が2回の実験でみられた場合、または TA100 で溶媒対照群の1.5倍を上回る復帰変異体数の増加がみられた場合に、陽性と判定する。

結 果: 結果を表1及び2に示す。

S-9 mix 存在下及び非存在下ともに、最高濃度においても復帰変異体数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた  $\text{NaN}_3$ 、4-NQ、2-NF 及び 9-AA では全ての検定菌株で明らか



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

な復帰変異体数の増加がみられた。

以上の結果から、  
は、本試験条件下において代謝活性化系の有無にかかわらず、復帰変異誘発性を示さないものと判断される。

表 1. 1 回目の実験

薬 剤	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	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	113	24	13	12	7	
検体	313		120	21	18	8	8	
	625		154	20	23	16	10	
	1250		150	19	16	13	4	
	2500		151	23	12	20	6	
	5000		129	16	16	9	3*	
陽 性 対 照	NaN <sub>3</sub>		2.0	468	536			
	4-NQO		1.0			232		
	2-NF		10.0				1404	
	9-AA		150.0					2449
溶媒対照 (DMSO)	0	+	145	10	24	36	11	
検体	313		142	10	19	35	8	
	625		123	10	17	30	8	
	1250		109	8	22	25	5	
	2500		102	11	19	32	9	
	5000		97	6	20	28	6	
陽 性 対 照	CPA		400.0		481			
	2-AA		2.5	909			2023	
			5.0					145
			50.0			1048		

数値は3連の平均を示す。  
統計解析は実施していない。  
\*: 生育阻害が認められた。

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

表 2. 2 回目の実験

薬 剤	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	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	141	9	15	15	9	
検体	313		102	10	21	7	10	
	625		168	10	18	9	2*	
	1250		166	7	12	8	0*	
	2500		164	8	16	10	0*	
	5000		151	6	15	5	0*	
陽 性 対 照	NaN <sub>3</sub>		2.0	408	662			
	4-NQO		1.0			273		
	2-NF		10.0				1386	
	9-AA		150.0					1939
溶媒対照 (DMSO)	0	+	150	10	16	28	10	
検体	313		125	7	20	26	9	
	625		151	10	24	33	7	
	1250		131	11	22	29	7	
	2500		121	9	16	35	6	
	5000		95	11	20	31	7	
陽 性 対 照	CPA		400.0		404			
	2-AA		2.5	1423			1485	
			5.0					70
			50.0			1171		

数値は3連の平均を示す。  
統計解析は実施していない。  
\*: 生育阻害が認められた。

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

(資料 No.T-62)

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

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

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

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

(資料 No.T-63)



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

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