

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

8. 繁殖毒性および催奇形性

1) 繁殖毒性

(1) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 T-14)

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：2000年[GLP 対応]

検体の純度 :

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット(Jcl:SD)、5 週齢、体重;雄 189~211g、雌 144~163g、1 群雌雄各 24 匹

投与期間 : P 世代; 投与開始から F1 児離乳までの約 18 週間、F1 世代; 離乳から F2 児離乳までの約 18 週間(交配できなかった雄、交尾の証拠が得られなかった雌雄および児の得られなかった雌雄の組については妊性確認試験終了まで投与を継続)
(試験期間: 1999 年 6 月 29 日~2000 年 9 月 29 日)

投与方法 : 検体を 0、80、600 および 5000ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂取させた。なお、対照群には基礎飼料のみを同様に摂取させた。
【投与量設定根拠】

方法および試験項目: 次頁の表に概要をまとめた。

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目	
P	育成 (10)	<ul style="list-style-type: none"> 一般状態の観察 (投与期間中毎日) 体重および摂餌量の測定 (投与期間中毎週) 	一般状態および死亡、 体重、体重増加量、 摂餌量、検体摂取量、 発情周期	
	交配 (3)	<ul style="list-style-type: none"> 発情周期の観察 (交配前 2 週間以上) 雌雄 1 対 1 で 1 晩同居交配、翌朝腔栓/腔垢中の精子で交尾を確認 (妊娠 0 日) 	交尾率	
F1	妊娠 (3)		受胎率、妊娠期間	
	出産 ………	<ul style="list-style-type: none"> 出産状況の観察 (哺育 0 日) …………… 	出産率	
	哺育 (3)	<ul style="list-style-type: none"> 出産児の生死、性、外表所見、生存数 (哺育 0、4、21 日) の観察、体重測定 (哺育 0、4、7、14、21 日)、死亡児の肉眼的病理検査、臓器重量測定 (脳、脾臓、胸腺) 同腹児数の調整 (哺育 4 日、原則として雌雄各 4 匹) 選抜されなかった哺育 4 日齢児の肉眼的病理検査 	児の一般状態および 死亡、産児数、性比、 生存率、体重、肉眼的 病理検査、臓器重量 (脳、脾臓、胸腺)	
	……	離乳 ………	哺育 21 日 ……………	
			<ul style="list-style-type: none"> F1 親動物の選抜 (全群を通じて最も多く出産の見られた日を含む 5 日間の期間中に出産した腹から、各腹各性 1 または 2 匹を選抜) 選抜されなかった F1 離乳児の肉眼的病理検査 P 親動物の精子検査、肉眼的病理検査、臓器重量測定、病理組織学的検査 <p>(下記の手順および項目以外は P 親動物および F1 児動物に準ずる)</p>	精子頭部数、精子数、 精子の運動性および 形態、着床数、肉眼的 病理検査、臓器重量、 病理組織学的検査
		育成 (10)	<ul style="list-style-type: none"> (兄妹交配を避けた) 	性成熟 (雄: 包皮分離、雌: 腔開口) の観察
		交配 (3)	<ul style="list-style-type: none"> 児の得られなかった雌雄動物を無処理動物と交配 	妊性の確認
		妊娠 (3)		
		出産 ………	……………	
		哺育 (3)		哺育 0 日の肛門生殖突起間距離 (AGD) の測定
	……	離乳 ………	……………	病理組織学的検査 (胸腺)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

親動物

一般状態および死亡：全動物の一般状態を試験期間中毎日ケージの外から、また体重測定の際には手に取り詳細に観察した。死亡動物または瀕死の動物は速やかに肉眼的病理検査を行い所見を記録した。

体重、体重増加量および摂餌量：体重については、雄および育成期間の雌では試験開始時ならびにそれ以降は毎週および肉眼的病理検査時に測定した。妊娠期間中の雌では妊娠0、7、14および20日に、哺育期間中の雌では哺育0、7、14および21日に測定した。体重増加量を、雄は試験開始時を基準として、雌の交配前は雄と同様に、妊娠および哺育期間中はそれぞれ妊娠0日および哺育0日を基準として求めた。肉眼的病理検査時の体重増加量を、雌雄とも試験開始時を基準として算出した。摂餌量については、雌雄とも交配期間中の第1週を除く毎週(妊娠および哺育期間中の雌は、それぞれ妊娠0-7日、7-14日、14-20日および哺育0-7日、7-14日、14-21日)測定した。

検体摂取量：体重、摂餌量および飼料中の設定検体濃度から、妊娠および哺育期間を含む全投与期間の1日当り、体重1kg当りの検体摂取量(mg/kg/日)を算出した。

交配および妊娠の確認：腔垢像の観察により雌の発情周期を調べ、発情前期または発情期の状態にある雌を同群の雄と1対1で一晩同居させて交配を行った。F1動物については兄妹交配を避けた。同居の翌朝、腔栓および腔垢中の精子の有無を調べ、いずれかが認められた場合に交尾が成立したものと判断した。

妊娠については、分娩により、また肉眼的病理検査時に子宮内の着床痕の有無を調べることで確認した。

繁殖性に関する指標：育成、交配、妊娠および哺育の各期間と肉眼的病理検査時に以下の指標について調べた。

性成熟(日齢)：雄の包皮分離と雌の腔開口(F1動物のみ)

哺育0日の肛門生殖突起間距離(AGD:絶対値および相対値)(F2動物のみ)

正常発情周期を示した雌の頻度＝発情前期または発情期を示した雌数／発情周期を観察した雌数

交尾率＝交尾が認められた雄(雌)数／交配に用いた雄(雌)数

受胎率＝妊娠雌数／交尾を認めた雌数

出産率＝正常出産雌数／妊娠雌数

妊娠期間(日)：交尾が認められた日(妊娠0日)から分娩完了日(哺育0日)までの期間

着床数：子宮内の着床痕の数

精子数：精巣上体尾当りおよび精巣上体尾1g当りの数

精子の運動性：自動性を示す精子の百分率

精子の形態：200個当りの正常形態精子の百分率

肉眼的病理検査：全てのPおよびF1親動物について肉眼的病理検査を行った。

臓器重量：最終肉眼的病理検査時まで生存した全てのPおよびF1親動物の脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺とともに分泌物を含む)および前立腺(腹側葉)の重量を測定した。臓器重量については、絶対重量と対体重比で表した。交配不成立、妊娠不成立および

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

生存離乳児の得られなかった雌雄については、妊性確認のため屠殺時期がずれたことから、評価対象外とした。

病理組織学的検査：以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。また、肉眼的異常部位が認められた組織についても同様に検鏡した。

[対照群および 5000ppm 群のすべての P および F1 親動物]

生殖器官(精巣および精巣上体(原則として左側)、精嚢、凝固腺、前立腺、卵巣、卵管、子宮(角部および頸部)および膈)、下垂体、副腎および重量に変化の見られた臓器(雄では P 親動物の脳、肝臓、F1 親動物の肝臓、雌では P および F1 親動物の脳、肝臓、腎臓)

[80 および 600ppm 群のすべての P および F1 親動物]

肝臓(5000ppm群で検体投与に起因すると思われる異常が認められたため)

[対照群を含む各群の交尾または妊娠の証拠が得られなかった雌雄の組、異常出産が見られた雌]

生殖器官、下垂体、副腎

児動物

一般状態および死亡：全動物の一般状態を哺育期間中毎日ケージの外から、また体重測定の際には手に取り詳細に観察した。

産児数：出産日(哺育0日)における生存児と死亡児の合計

平均産児数=総産児数/正常出産雌数

性比=総雄産児数/総産児数

生存率：哺育0日の生存率(%)=(哺育0日の生存児数/産児数)×100

哺育4日の生存率(%)=(哺育4日の生存児数/哺育0日の生存児数)×100

哺育21日の生存率(%)=(哺育21日の生存児数/哺育4日に選抜した児数)×100

体重：哺育0日については雌雄別に1腹分まとめて、哺育4、7、14 および 21 日については個体別に測定して、各性の平均体重を求めた。

肉眼的病理検査：全ての F1 および F2 児動物について肉眼的病理検査を行った。

臓器重量：各群の F1 および F2 離乳児のうち、原則として各群雌雄それぞれ 1 匹について、肉眼的病理検査後、脳、脾臓および胸腺の重量を測定した。

病理組織学的検査：5000ppm 群の F2 離乳児の胸腺の対体重比において、対照群と比較して統計学的に有意な低値が見られた。従って、検体の免疫系への影響を明らかにするために胸腺をヘマトキシリン・エオジン染色法、TUNEL 法および抗 PCNA 抗体を用いた免疫染色法で染色し、病理組織学的に検査した。検査は、対照群を含む各群で対体重比の値が最も小さい雌雄それぞれ 10 匹から抽出した胸腺について実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

結 果 : 概要を下記以降の表に示した。

世代		親:P、児:F1				親:F1、児:F2				
投与量 (ppm)		0	80	600	5000	0	80	600	5000	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
一般状態	雄	検体投与に起因する異常所見なし								
	雌	検体投与に起因する異常所見なし								
死亡数 ()は切迫屠殺を示す	雄	0	1	0	0	0	0	1	0	
	雌	2	0	0	0	(1)	0	0	1	
体重 増加量 (g) ^a	雄	試験期間	431	431	429	↓369	546	542	551	510
		育成期間	139	145	139	↓111	224	219	226	↓193
	雌	妊娠期間	145	154	149	141	151	150	146	154
		哺育期間	34	28	33	49	31	31	25	↑51
		試験期間	173	180	179	↓152	259	259	275	239
摂餌量	雄	試験期間		↓↑↑ 投与 2、7 ~9 週		↓↓↓ 投与 1、3 ~10 週		↓ 投与 2~ 3 週	↑ 投与 8 週	↓↓ 投与 3~ 6 週
		育成期間				↓↓ 投与 1~ 10 週			↑ 投与 8 週	↓↓↓ 投与 3~ 10 週
	雌	妊娠期間				↓ 妊娠 0~ 7 週				
		哺育期間				↓ 哺育 7~ 14 週				
検体摂取量 ^b (mg/kg/日)	雄	—	4.90	36.4	300	—	5.63	42.2	353	
	雌	—	7.15	53.6	448	—	7.72	58.4	489	
肉眼的病理検査 ^c (肝臓/暗調化)	雌	0	0	0	↑22	0	0	0	↑18	

↑↓: p<0.001、↓: p<0.01、↑↓: p<0.05

多重比較法(Dunnett または Scheffé 法): 体重、体重増加量、摂餌量

Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理所見

a: 平均値

b: 育成および繁殖期間を通じた全投与期間の平均値

c: 死亡例を含む検査全動物数 24 匹の中で所見が見られた動物数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(続き)

世代			親:P、児:F1				親:F1、児:F2					
投与量 (ppm)			0	80	600	5000	0	80	600	5000		
親動物	臓器重量 ^a	雄	対象動物数		24	23	24	24	16	18	15	18
			肝臓	対体重比				↑111				↑114
			精巢	対体重比				↑114				
			精巢上体	対体重比				↑110				
		雌	対象動物数		17	22	22	24	17	20	19	19
			肝臓	絶対重量				↑120				
				対体重比				↑128				↑117
			脳	対体重比				↑108				↑109
	腎臓	対体重比				↑113				↑108		
	病理組織学的検査 ^b	小葉中心性肝細胞肥大	雄	0	0	0	↑24	0	0	0	↑24	
			雌	0	0	0	↑24	0	0	0	↑23	
	繁殖能力	雄	交尾数		21/24	24/24	23/24	23/24	22/23	21/24	20/24	22/23
			精子数	×10 ^{6c}	199	222	209	212	188	191	187	211
				×10 ^{6/g^d}	552	599	594	601	586	594	616	639
			精子運動率(%)	70.4	70.4	68.6	72.2	74.5	73.1	71.3	76.8	
正常形態精子(%)			98.3	97.8	97.9	97.7	97.1	97.3	94.9	98.2		
雌		正常発情周期		22/24	24/24	24/24	24/24	23/23	24/24	24/24	23/23	
		交尾数		22/24	24/24	24/24	24/24	23/23	23/24	23/24	23/23	
		受胎数		19/22	22/24	22/24	24/24	18/23	20/23	19/23	19/23	
		出産数		19/19	22/22	22/22	24/24	17/18	20/20	19/19	19/19	
		妊娠期間(日) ^e		22.2	22.2	22.1	22.1	22.1	22.2	22.2	22.1	
着床数 ^e		16.1	17.4	16.6	15.0	15.5	16.0	15.6	14.7			

↑: p<0.001、↑: p<0.01、↑: p<0.05

多重比較法(DunnettまたはScheffé法): 臓器重量、精子数、着床数

Fisherの直接確率計算法: 肉眼的病理所見、病理組織学的所見、正常発情周期、交尾率、受胎率、出産率

Mann-WhitneyのU検定: 精子運動率、正常形態精子、妊娠期間

a: 対照群を100とした時の相対値

b: 死亡例を含む検査全動物数24匹の中で所見が見られた動物数

c: 精巢上体尾1g当りの精子数の平均値

d: 精巢上体尾当りの精子数の平均値

e: 平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業㈱にある。

(続き)

世代				親:P、児:F1				親:F1、児:F2					
投与量 (ppm)				0	80	600	5000	0	80	600	5000		
一般状態				検体投与に起因する異常所見なし									
産児数 ^a				14.4	15.0	13.2	13.2	14.3	14.1	12.7	13.3		
性比 (雄/産児数)				0.509	0.485	0.528	0.521	0.496	0.493	0.508	0.454		
生存率 (%)		哺育 0 日		98.3	97.1	94.7	99.1	98.3	97.5	97.9	99.5		
		哺育 4 日		95.5	97.4	97.6	98.8	98.9	98.3	99.6	100.0		
		哺育 21 日		99.3	97.2	99.4	100.0	100.0	100.0	99.3	99.3		
体重 (g) ^a		雄		哺育 0 日	6.7	6.8	6.8	6.6	7.0	6.9	7.3	6.8	
				哺育 4 日	11.3	11.8	↑12.3	11.1	12.0	11.9	12.9	11.3	
				哺育 7 日	18.7	19.4	20.5	18.3	20.7	20.0	21.1	19.2	
				哺育 14 日	39.0	40.2	40.5	36.9	42.5	40.3	42.9	↓38.9	
				哺育 21 日	62.2	63.0	63.1	↓55.6	66.3	62.0	67.3	↓58.6	
		雌		哺育 0 日	6.3	6.4	6.4	6.3	6.5	6.6	6.9	6.6	
				哺育 4 日	11.0	11.2	11.8	10.7	11.4	11.5	12.5	11.1	
				哺育 7 日	18.7	18.4	19.9	17.7	19.8	19.4	20.4	18.8	
				哺育 14 日	38.6	38.5	40.1	35.8	41.2	39.9	41.3	38.2	
				哺育 21 日	60.8	59.9	61.9	↓53.6	63.8	61.2	64.3	↓57.0	
児動物	性成熟	雄	包皮分離 ^a	日齢	40.9	40.7	41.0	↑42.4	/				
			体重(g)	207.8	↓196.3	203.9	208.8						
	雌	膈開口 ^a	日齢	30.2	30.8	31.2	↑33.6						
		体重(g)	105.7	106.0	110.9	↑118.3							
AGD ^b		雄	絶対値	/				2.76	↑2.90	2.90	2.80		
			相対値					1.448	↑1.525	↑1.499	1.474		
		雌	絶対値					1.34	1.43	↑1.46	1.44		
			相対値					0.719	0.763	0.769	0.768		
肉眼的病理検査				検体投与に起因する異常所見なし									
臓器重量 ^c		脳	雄	相対重量				↑114				↑111	
			雌	絶対重量				↓96					
		胸腺	雄	相対重量				↑113					↑108
				絶対重量				↓78					↓74
			雌	絶対重量				↓76					↓72
				相対重量									↓80
		脾臓	雄	絶対重量				↓84					
			雌	絶対重量				↓82					

↑↓: p<0.001、↑↓: p<0.01、↑↓: p<0.05

多重比較法 (Dunnnett または Scheffé 法): 産児数、体重

Fisher の直接確率計算法: 性比

Mann-Whitney の U 検定: 一般状態、生存率、包皮分離、膈開口

a: 平均値、

b: 相対値: 絶対値/(体重)^{1/3}

c: 対照群を 100 とした時の相対値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(続き)

世代			親:P、児:F1				親:F1、児:F2				
投与量 (ppm)			0	80	600	5000	0	80	600	5000	
児動物	F2 胸腺の 病理 組織 学的 検査	異常 所見	雄	/				なし	なし	なし	なし
			雌					なし	なし	なし	なし
		皮質域/ 髓質域	雄					22.1/ 77.9	22.4/ 77.6	19.0/ 81.0	22.5/ 77.6
			雌					21.3/ 78.7	21.6/ 78.4	20.8/ 79.2	21.4/ 78.6
		PCNA	雄					20.8	19.0	24.6	17.4
			雌					22.3	↑26.5	20.5	18.1
		Apoptosis	雄					0.47	0.49	0.49	0.57
			雌					0.41	0.41	0.49	0.52

↑: p<0.05

Mann-Whitney の U 検定

親動物の一般毒性的指標において、5000ppm 群では P および F1 両世代の雌雄親動物の平均体重、体重増加量および摂餌量に低値が見られた。600ppm 群以下の雌雄において摂餌量に一過性の高値あるいは低値がみられたが、一過性の変化であり用量相関も明確ではないことから検体投与の影響ではないと考えられた。肉眼的病理検査では、肝臓の暗調化が P および F1 雌のほぼ全例に見られた。肝臓の対体重比が P および F1 世代の雌雄で、P 世代の雌では絶対重量も増加が見られ、脳および腎臓の体重比の増加が P および F1 世代の雌で見られた。P 世代の雄では精巣および精巣上体に対体重比の増加が見られた。精巣、精巣上体および脳の対体重比の有意な差は、それらの臓器の絶対重量は対照群とほぼ同じであったことから、体重増減の影響が比較的少ない臓器にしばしば観察される見かけ上の変動と判断された。肝臓の病理組織学的検査では、P および F1 世代の雌雄のほぼ全例に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。80 および 600ppm 群では、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、試験終了時の肉眼的病理検査、臓器重量および病理組織学的検査のいずれにも認められなかった。

親動物の繁殖成績を示す指標(正常発情周期を示す雌の頻度、発情周期長、交尾率、同居開始から交尾までの日数、受胎率、出産率、妊娠期間、着床数、精巣の精子頭部数ならびに精巣上体の精子数、運動性および形態)のいずれにも検体の影響は認められなかった。

F1 親動物の性成熟に関し、5000ppm 群では、雄の包皮分離および雌の膣開口の完了が有意に遅延し、雌における膣開口完了時の体重は有意に高かった。600ppm 群ではそのような変化が見られず、80ppm 群の雄における包皮分離時体重の有意な低値は摂餌量の一時的な低下を反映した偶発的な変動と考えられた。80ppm 群では、雌の性成熟に関する指標に変化は見られなかった。

5000ppm 群で認められた雄の包皮分離および雌の膣開口の完了日齢の延長の詳細を知る目的で、F2 児の哺育 0 日における肛門生殖突起間距離(AGD)を測定した。その結果、80ppm 群では雄の AGD の絶対値および相対値に有意な延長が、600ppm

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

群では雄の AGD の相対値と雌の AGD の絶対値に有意な延長が認められた。しかし、5000ppm 群の雌雄には有意な差が見られなかったことから、これら AGD に関する変動は検体投与による影響ではないと考えられた。従って、雄の包皮分離の完了日齢が早まることがなかったことを考え合わせ、包皮分離の遅延はアンドロゲン作動系を介した影響ではないと考えられた。また、膣開口の遅延についても、F1 の雌において発情周期あるいは繁殖能力に影響が認められなかったことを考え合わせ、エストロゲン作動系を介した影響ではないと考えられた。

F1 および F2 児動物において 5000ppm 群では、F1 哺育児の平均体重が哺育 21 日の雌雄で、F2 哺育児については哺育 14 日の雄と哺育 21 日の雌雄で、それぞれ有意に低かった。F1 離乳児においては雄の胸腺と脾臓、ならびに雌の脳、胸腺および脾臓の絶対重量が、F2 離乳児においては雌雄の胸腺の絶対重量が、それぞれ有意に低かった。対体重比については、脾臓ではいずれの世代においても対照群とほぼ同じであったが、胸腺では対照群と比較して低く、F2 離乳児では有意な差が認められた。また、F1 および F2 離乳児の雌雄において脳の対体重比が有意に高かったが、その絶対重量には対照群との差が認められなかったことから、この変化は低体重に伴う見かけ上の変動と判断された。80 および 600ppm 群では、一般状態、産児数、性比、生存率、体重、臓器重量および病理組織学的検査のいずれの指標にも見られなかった。

5000ppm 群における F2 離乳児の胸腺重量(絶対重量および対体重比の両者)に有意な低値が見られ、検体の免疫系への影響が疑われたため、各投与群の F2 離乳児の胸腺について病理組織学的検査を実施した。ヘマトキシリン・エオジン染色標本では、いずれの投与群においても病理組織学的異常は認められなかった。また、形態計測的手法で調べた胸腺の皮質域および髄質域の占める割合(%)についても、対照群と各投与群の値はほぼ同じであった。抗 PCNA 抗体を用いた免疫染色法および TUNEL 法による染色標本において計測した PCNA labeling index (細胞増殖活性)と apoptotic index (生理的細胞死出現率)については、80ppm 群の雌における PCNA labeling index の値が有意に高かったことを除き、対照群と各投与群との間に有意な差は認められなかった。従って、5000ppm 群 F2 世代の離乳児で見られた胸腺重量の低下は、検体による免疫系細胞への影響に依存するのではないと推察された。

以上の結果から、本試験における無毒性量(NOEL)は、親動物に対する一般毒性的影響に関しては 600ppm (P:雄 36.4mg/kg/日、雌 53.6mg/kg/日、F1:雄 42.2mg/kg/日、雌 58.4mg/kg/日)、親動物の繁殖能力に対しては 5000ppm (P:雄 300mg/kg/日、雌 448mg/kg/日、F1:雄 353mg/kg/日、雌 489mg/kg/日)、また、F1 および F2 児動物に対しては 600ppm であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業㈱にある。

2) 催奇形性

(1) ラットにおける催奇形性試験

(資料 T-15)

試験機関: (財)残留農薬研究所

報告書作成年: 2000 年[GLP 対応]

検体の純度 :

試験動物 : Sprague-Dawley 系妊娠雌ラット(Jcl:SD)、13 週齢、体重: 207~279g、1 群各 24 匹

試験期間 : 投与期間: 14 日間(2000 年 4 月 24 日~2000 年 5 月 11 日)

方 法 : 検体を 0、30、150 および 750mg/kg/日の用量で 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、妊娠 6 日から 19 日(交尾が認められた日を妊娠 0 日とした)までの 14 日間、1 日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には、1%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。
【投与量設定根拠】

試験項目 :

母動物 : 試験期間中、母動物の一般状態を毎日観察し、異常の有無を記録した。体重を妊娠 0、6、9、12、15、18 および 20 日に測定した。これらの測定値から妊娠 6 日の体重値を減じて、体重増加量を求めた。摂餌量については、雌の体重測定時に飼料の給与量または残量を測定し、飼料消費量を給与日数で除して 1 日当りの平均摂餌量を算出した。妊娠 20 日に母動物を安楽死させ、帝王切開を行った。妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数および胚・胎児死亡が見られた腹数を数えた。黄体数、着床数および死亡胚・胎児数から、着床前胚死亡率および胚・胎児死亡率を求めた。妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じた値を補正体重とした。帝王切開終了後、母動物の肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

生存胎児 : 生存胎児の性を調べ、体重と胎盤の重量を測定した。外表と内臓の奇形学的検査を行った後、偶数番号の胎児について胸部および腹部の軟組織を検査後ブアン液で固定し、粗大切片を作成して眼球、脳、鼻腔および舌を検査した。奇数番号の胎児については骨格をアリザリン・レッドSおよびアルシアン・ブルーで染色し、骨格異常について検査した。

結果 : 概要を下表に示した。

投与量 (mg/kg/日)		0	30	150	750	
1 群当り動物数		24	24	24	24	
母動物	妊娠雌数	24	24	24	24	
	死亡雌数	0	0	0	0	
	生存胎児の得られた雌数	24	24	24	24	
	一般状態	検体投与に起因する異常所見なし				
	体重増加量 (g) ^a	妊娠 6-9 日	4	2	↓-0	↓-7
		妊娠 6-12 日	16	15	13	↓4
		妊娠 6-20 日	110	106	112	↓93
	摂餌量 (g/日) ^a	妊娠 0-6 日	19.9	20.6	20.5	20.7
		妊娠 6-9 日	18.7	18.9	17.9	↓13.8
		妊娠 9-12 日	19.2	20.0	19.2	↓17.1
		妊娠 12-15 日	20.7	20.8	20.3	↓18.6
		妊娠 15-18 日	23.3	24.3	23.6	22.3
	妊娠 18-20 日	22.3	22.1	22.6	21.5	
	肉眼的病理検査	検体投与に起因する異常所見なし				
	妊娠子宮重量 (g) ^a	89	85	94	85	
	妊娠 20 日の補正体重 (g) ^a	298	299	297	288	
	着床所見	黄体数 ^a	16.6	17.6	17.9	17.9
着床数 ^a		15.9	16.0	16.5	16.4	
着床前胚死亡率 (%)		4.1	8.8	7.5	8.7	
生存胎児数 ^a		14.5	13.8	15.1	14.4	
死亡胚・胎児数 ^a		1.38	2.17	1.38	2.00	
胚・胎児死亡率 (%)		8.5	15.8	8.4	13.3	
死亡胚・胎児の認められた雌数	19	21	20	21		
胎児	胎児体重 (mg) ^a	雄	4068	4027	4142	3909
		雌	3790	3775	3883	3667
	胎盤重量 (mg) ^a	503	526	502	470	
性比 (雄数/総数)	0.499	0.483	0.496	0.516		

↓: p<0.01、↓: p<0.05

多重比較法 (Dunnett または Scheffé 法): 体重増加量、摂餌量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数、胎児重量、胎盤重量

Fisher の直接確率計算法: 一般状態、肉眼的病理検査、死亡胚・胎児の認められた雌数、性比

Mann-Whitney の U 検定法: 着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率

a: 平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

		投与量 (mg/kg/日)	0	30	150	750
胎児	奇形学的検査	検査腹数	24	24	24	24
		奇形胎児の認められた母動物数 (%)	2 (8.3)	2 (8.3)	3 (12.5)	6 (25.0)
		変異胎児の認められた母動物数 (%)	20 (83.3)	20 (83.3)	24 (100.0)	24 (100.0)
		検査胎児数	349	331	363	345
	外表所見	奇形胎児数	0	1	1	1
		頭蓋脊髄裂	0	1 ^a	0	0
		小眼球(右側)	0	1 ^a	0	0
		眼瞼開存(左側)	0	1 ^a	0	0
		臍帯ヘルニア	0	0	1 ^b	0
		胸裂	0	0	1 ^b	0
		欠指(右前肢第5指)	0	0	1 ^b	0
		内反足(右側後肢)	0	0	1 ^b	0
		鎖肛	0	0	0	1 ^c
		痕跡尾	0	0	0	1 ^c
	内臓所見	検査胎児数	167	158	176	167
		奇形胎児数	0	0	1	1
		肺葉の癒合	0	0	0	1
		横隔膜欠損	0	0	1	0
		脾臓の低形成	0	0	1	0
		腎臓欠損(左側)	0	0	1	0
		卵巣位置異常	0	0	1	0
		変異胎児数	0	↑5	↑7	↑5
		胸腺頸部残留	0	4	4	2
		腎盂拡張	0	1	1	3
		上行大動脈から起始する右鎖骨下動脈	0	1	0	0
		左側臍動脈	0	0	2	0
		骨格所見	検査胎児数	182	173	187
	奇形胎児数		4	2	4	5
	頭蓋骨低形成		0	1 ^e	0	0
	外後頭骨と第1頸椎弓の癒合		3 ^d	1 ^e	0	0
	胸骨分節癒合		2 ^d	0	0	0
	胸骨分節裂		0	1 ^e	1	0
	肋骨部分的欠損		0	0	0	1 ^f
肋骨癒合	0		0	0	1	
肋軟骨癒合	2 ^d		0	0	1	
肋軟骨分岐	0		0	0	1	
肋軟骨胸骨接合異常	0		0	0	1	
第二第三頸椎弓間過剰骨化片	3 ^d		0	0	0	
胸椎弓癒合	0		1 ^e	0	1	
胸椎体軟骨分離	1	2 ^e	1	1		

↑: p<0.01、↑: p<0.05 (Fisherの直接確率計算法)

a、b、c、e、f: 同一胎児に発生

d: 2例は同一胎児に発生

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	30	150	750	
胎児	骨格所見	胸椎体ダンベル状軟骨	0	0	2	2
		胸椎体癒合	0	1 ^e	0	0
		椎骨欠損(胸椎～尾椎)	0	0	0	1 ^f
		椎弓裂(第一胸椎～第四仙椎)	0	1 ^e	0	0
		変異胎児数	72	70	71	78
		胸骨分節配列異常	0	0	0	3
		頸肋	0	0	1	0
		過剰肋骨	59	49	58	58
		胸椎体二分骨化	2	7	↑9	5
		胸椎体ダンベル状骨化	15	19	9	20
		腰椎体ダンベル状骨化	0	1	0	0
		腰仙移行椎	4	0	2	0
		仙椎前椎骨数 27	4	3	1	2

↑: $p < 0.05$ (Fisher の直接確率計算法)

e、f: 同一胎児に発生

母動物に対する検体の影響は 750mg/kg/日群で認められ、平均体重増加量に試験期間を通じて有意な低値が認められた。また、妊娠 6 から 15 日にかけての平均摂餌量も有意に低かった。150mg/kg/日群では妊娠 6-9 日の平均体重増加量に有意な低値が認められたが、投与開始直後に一過性の変化として見られたものであり、妊娠 12 日以降の平均体重増加量は対照群とほぼ同じであったことあるいは検査したその他の指標には試験期間を通じて対照群との間で差が認められないことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。30mg/kg/日群の母動物には検体の影響は認められなかった。妊娠 20 日の帝王切開時の検査では、いずれの投与群にも異常は認められなかった。各投与群の平均妊娠子宮重量、平均黄体数および平均着床数は、いずれも対照群とほぼ同じであった。

胎児に関する指標のうち、各投与群の着床前胚死亡率、平均生存児数、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比、平均体重ならびに平均胎盤重量は、いずれも対照群とほぼ同じであった。外表、内臓および骨格の奇形学的検査においても、全ての投与群に検体投与によると考えられる奇形や変異は認められなかった。内臓検査では、何らかの内臓変異を持つ胎児の出現率が全ての投与群において有意に高かった(0、30、150 および 750mg/kg/日群でそれぞれ 0、3.2、4.0 および 3.0%)が、それらはいずれも(財)残留農薬研究所において実施した同系統のラットを用いた過去 3 試験における背景対照値の範囲内(2.8~5.6%)にあったことから、本試験の対照群に内臓変異が 1 例も見られなかったことに起因する偶発的な変動と考えられた。また、骨格検査では変異である胸椎体二分骨化の出現頻度が 150mg/kg/日群で有意な高値を示したが、750mg/kg/日群ではこのような増加傾向が見られなかったことから、偶発的な変化であると考えられた。

以上の結果から、本試験におけるラットの母動物および胎児に対する無毒性量(NOEL)は、それぞれ 150mg/kg/日および 750mg/kg/日と結論された。また、本試験条件下では、SV-89601 原体の発生毒性および催奇形性はいずれも陰性であると結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(2) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 T-16)

試験機関: (財)残留農薬研究所

報告書作成年: 2000年[GLP 対応]

検体の純度 :

試験動物 : 日本白色種妊娠雌ウサギ(Kbl:JW)、18週齢、体重: 3.41~4.26kg、1群各22匹

試験期間 : 投与期間: 22日間(2000年3月12日~2000年4月6日)

方法 : 検体を0、30、150および600mg/kg/日の用量で1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、妊娠6日から27日(人工授精を行った日を妊娠0日とした)までの22日間、1日1回強制経口投与した。なお、対照群には、1%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。

【投与量設定根拠】

試験項目 :

母動物 : 試験期間中、母動物の一般状態を毎日観察し、異常の有無を記録した。体重は妊娠0、6、9、12、15、18、21、24、27および28日に測定した。これらの測定値から妊娠0日あるいは妊娠6日の体重値を減じて、妊娠0日基準の体重増加量と妊娠6日基準の体重増加量をそれぞれ求めた。摂餌量については、飼料の給与量または残量を妊娠0、3、6、9、12、15、18、21、24、27および28日に測定し、飼料消費量を給与日数で除して1日当りの平均摂餌量を算出した。妊娠28日に母動物を安楽死させ、帝王切開を行った。妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、生存胎児数および死亡胚・胎児数を数えた。黄体数と着床数から着床前胚死亡率を、着床数および死亡胚・胎児数から胚・胎児死亡率を求めた。妊娠28日の体重から妊娠子宮重量を減じた値を補正体重とした。帝王切開終了後、母動物の肉眼的病理検査を行った。

生存胎児 : 全ての胎児について体重と胎盤の重量を測定し、外表および内臓異常の有無を検査し、胎児の性を調べた。偶数番号の胎児の頭部について、眼球および脳を未固定の状態では検査し、奇数番号の胎児では切断した頭部をブアン固定し、粗大切片を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

作成して眼球、脳、鼻腔および舌を観察した。胎児の骨格をアリザリン・レッドSならびにアルシアン・ブルーで染色し、骨格異常について検査を行った。

試験結果 : 概要を下表に示した。

投与量 (mg/kg/日)		0	30	150	600	
1 群当り動物数		22	22	22	22	
母動物	妊娠雌数 ^a	22	21	22	22	
	流産雌数	0	0	1	0	
	死亡雌数	0	0	0	1	
	肉眼的に着床が認められた雌数	22	21	17	21	
	生存胎児の得られた雌数	22	21	16	19	
	一般状態	検体投与に起因する異常所見なし				
	体重増加量 (g) ^b	妊娠 6-12 日	42	7	14	↓-30
		妊娠 6-28 日	254	↓108	163	↓22
	摂餌量 (g/日) ^b	妊娠 6-9 日	183	176	185	166
		妊娠 9-12 日	171	171	176	151
		妊娠 15-18 日	166	154	163	138
	肉眼的病理検査	検体投与に起因する異常所見なし				
	妊娠子宮重量 (g) ^b	443	405	427	↓305	
	補正体重 (g)	3772	3650	3696	3662	
	着床所見	黄体数 ^b	11.1	10.4	10.6	10.1
着床数 ^b		8.7	8.0	8.5	7.1	
着床前胚死亡率 (%) ^c		20.9	23.0	20.7	33.4	
生存胎児数 ^b		8.2	7.3	8.0	6.0	
死亡胚・胎児数 ^b		0.55	0.67	0.53	1.14	
胚・胎児死亡率 (%)		6.7	8.0	10.9	23.7	
死亡胚・胎児の認められた雌数	9	10	6	13		
胎児	胎児体重 (g) ^b	雄	38.3	38.1	38.1	34.4
		雌	37.8	37.1	34.7	34.9
	胎盤重量 (mg) ^b	5413	5417	5210	5329	
	性比 (雄数/総数)	0.494	0.468	0.559	0.496	
	奇形学的検査	検査腹数	22	21	16	19
		奇形胎児の認められた母動物数 (%)	6 (27.3)	1 (4.8)	3 (18.8)	6 (31.6)
		変異胎児の認められた母動物数 (%)	21 (95.5)	18 (85.7)	16 (100.0)	18 (94.7)
	外表所見	検査胎児数	180	154	136	125
		奇形胎児数	1	0	1	0
		局所性浮腫	1	0	0	0
爪の欠損		0	0	1	0	

↓: p<0.01、↓: p<0.05 (多重比較法、Dunnett または Scheffé 法)

a: 染色による着床痕を含む

b: 平均値

c: (黄体数-着床数)/黄体数×100 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(続き)

投与量 (mg/kg/日)		0	30	150	600			
胎児	内臓所見 (頭部:ブ アン固定)	検査胎児数	96	82	71	67		
		奇形胎児数	1	0	0	0		
胎児	内臓所見 (体部)	橋の低形成	1	0	0	0		
		検査胎児数	180	154	136	125		
		奇形胎児数	4	1	1	4		
		心室中隔膜性部欠損	1 ^a	1 ^c	0	0		
		大動脈弓離断	1 ^b	0	0	0		
		右大動脈弓	0	1 ^c	0	0		
		肺動脈幹の狭窄	1 ^a	0	0	1		
		肺の低形成	1 ^b	0	1 ^d	0		
		横隔膜ヘルニア	0	0	1 ^d	0		
		腎乳頭欠損	0	0	0	1 ^e		
		腎臓位置異常	0	0	0	1 ^e		
		精巣位置異常	2	0	0	2		
		変異胎児数	17	10	9	↓3		
		左総頸動脈起始異常	11	↓2	5	↓1		
		胸腺頸部残留	5	7	4	0		
		右鎖骨下動脈起始異常	0	1	0	0		
		腎盂拡張	0	0	0	1		
		卵巣嚢水腫	1	0	0	1		
		胎児	骨格所見	検査胎児数	180	154	136	125
				奇形胎児数	4	1	3	5
胸骨分節癒合	2 ^{fs}			1 ^h	2 ⁱ	1		
肋軟骨分岐	1 ^f			0	1 ⁱ	2		
肋軟骨癒合	1 ^g			0	0	0		
肋軟骨胸骨接合異常	2 ^f			1 ^h	1 ⁱ	0		
肋骨の短小	1 ^g			0	0	0		
頸椎癒合	0			0	0	1		
胸椎半椎体	0			0	0	1 ^j		
尾椎弓の癒合	1			0	0	1 ^j		
後肢第5趾末節骨欠損	0			0	1	0		
変異胎児数	69			69	64	58		
胸骨配列異常	1			0	0	0		
頸肋	5			↓0	1	2		
過剰肋骨	57			64	↑62	52		
胸椎体二分骨化	0			0	0	1		
胸椎体ダンベル状骨化	4			0	0	2		
仙椎前椎骨数 25	1			1	0	1		
仙椎前椎骨数 27	7	14	7	11				
腰仙移行椎	4	4	2	0				

↑↓: $p < 0.05$ (χ^2 検定あるいはFisherの直接確率計算法)

a, b, c, d, e, h: 同一胎児に発生

f, g, i: 1例は同一胎児に発生

母動物に対し、600mg/kg/日群では、投与期間中1匹の母動物に死亡が認められ、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

平均体重、平均体重増加量および妊娠子宮重量が有意に低かった。150mg/kg および 30mg/kg/日群には、検体投与に関連する変化は認められなかった。150mg/kg/日群で流産が1例観察されたが、この動物の体重、体重増加量、および摂餌量には流産以前に変化が認められていないことから、流産は偶発的なものと考えられた。30mg/kg/日群では、妊娠 6-28 日の平均体重増加量が有意に低かったが、150mg/kg/日群における母動物の体重増加量には試験期間を通じて有意な差が見られていないことから、この所見は偶発的な変動と考えられた。また、600mg/kg/日群では生存胎児数、胚・胎児死亡率ならびに胎児体重に有意な差ではないが軽微な変化が認められた。胎児体重の変化に関しては、母動物の摂餌量および体重増加量に対する検体の影響が強く認められた腹に胎児体重の抑制が見られたものであり、胎児に対する直接的な影響ではないと考えられた。150mg/kg/日群の胎児体重に関しては、雌について対照群の値よりもやや低かったが、その差は有意ではなく、また、雄の体重は対照群の値とほぼ同じであったことから、偶発的な変動と考えられた。

生存胎児の奇形学的検査においては、いずれの投与群にも奇形胎児の増加は認められなかった。変異に関しては、600mg/kg/日群の内臓変異が認められた頻度(胎児:3/125;2.4%)、30 および 600mg/kg/日群の左総頸動脈起始異常(それぞれの胎児:2/154;1.3%および 1/125;0.8%)、ならびに 30mg/kg/日群の頸肋の頻度(0%)が有意に低く、また、150mg/kg/日群の過剰肋骨の頻度(胎児:62/136;46%)が有意に高かった。しかし、内臓変異および左総頸動脈起始異常の頻度に関しては投与群の値は試験実施機関の背景対照値の範囲(内臓変異胎児:1.3~7.4%、左総頸動脈起始異常胎児:0.0~2.5%)に収まるものであった。また、頸肋の頻度に関しては、投与群の値は背景対照値の範囲(0.6~3.3%)を下回るものの、その差はわずかであった。従って、これらの所見の頻度に関して認められた有意差は、偶発的に生じた偏りに起因するものであると考えられた。150mg/kg/日群に見られた過剰肋骨の頻度の上昇は、背景対照値の範囲(17.7~40.4%)を外れるものであったが、150mg/kg/日群で胎児の奇形学的検査を行うことができた腹の数が最も少なかったことによる出現頻度の見かけ上の偏りが生じた可能性と、600mg/kg/日群では出現頻度の上昇が見られないことから、検体投与に関連するものではないと考えられた。

以上の結果から、本試験におけるウサギの母動物に対する無毒性量は、150mg/kg/日、胚および胎児に対する無毒性量は 600mg/kg/日であり、催奇形性は陰性であると結論された。

9. 変異原性

1) 復帰突然変異性

(1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料T-17)

試験機関: (株)実医研

報告書作成年: 2000年[GLP対応]

検体の純度 :

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株(TA100、TA1535、TA98、TA1537)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* 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(S9 mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法を用いて変異原性を検索した。

検体は水に難溶であるため、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。

5000 μ g/プレ

ートを最高用量として6用量で各々実施した。試験は各用量3枚のプレートを用い、陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37 $^{\circ}$ Cで48時間培養後、肉眼またはコロニーカウンターを用いて復帰変異コロニー数を計数した。

結果の判定にあたっては、統計学的解析を行わず、各用量のプレートにおけるコロニー数の平均値を基に以下の3基準を全て満たす場合を陽性とした。

- (1) 検体処理群において溶媒対照値の2倍以上の復帰変異コロニーが出現する。
- (2) 検体の濃度の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する(用量-反応効果)。
- (3) この復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。

結 果 : 結果を次頁以降の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

予備試験(プレインキュベーション法)

S9 mix の有無	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					
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>	
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537		
-	溶媒対照 (DMSO)	0	149	11	23	12	38	
	検 体	5	149	15	22	11	41	
		10	147	8	19	13	40	
		50	129	10	24	11	28	
		100	122	8	17	8	29	
		500	0*	0*	0*	0*	0*	
		1000	0*	0*	0*	0*	0*	
		5000	0*	0*	0*	0*	0*	
	陽性対照物質	AF-2	0.01	476	—	—	—	240
			0.1	—	—	504	—	—
NaN ₃		0.5	—	478	—	—	—	
9-AA		80	—	—	—	627	—	
+	溶媒対照 (DMSO)	0	156	13	34	15	40	
	検 体	5	156	8	32	14	37	
		10	149	11	33	13	34	
		50	128	11	24	17	40	
		100	138	8	23	11	33	
		500	0*	0*	0*	0*	0*	
		1000	0*	0*	0*	0*	0*	
		5000	0*	0*	0*	0*	0*	
	陽性対照物質	2-AA	0.5	—	—	560	—	—
			1	911	—	—	—	—
		2	—	189	—	213	—	
		10	—	—	—	—	1000	

数値は3枚のプレートの平均値

*: 生育阻害が認められた。

—: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、9-AAおよび2-AAはDMSOに、NaN₃は蒸留水に溶解して使用

本試験(プレインキュベーション法)

S9 mix の有無	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				
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>
			TA100		TA98	TA1537	
-	溶媒対照 (DMSO)	0	149	11	27	10	31
	検 体	15.6	128	11	31	12	24
		31.3	137	9	29	9	24
		62.5	125	10	32	9	37
		125	133	7	23	7	29
		250	0*	0*	0*	0*	0*
		500	0*	0*	0*	0*	0*
	陽性対照物質						
	AF-2	0.01	547	—	—	—	259
		0.1	—	—	492	—	—
NaN ₃	0.5	—	607	—	—	—	
9-AA	80	—	—	—	526	—	
+	溶媒対照 (DMSO)	0	151	11	41	18	39
	検 体	15.6	141	13	39	12	33
		31.3	136	10	43	14	30
		62.5	153	11	42	11	35
		125	136	11	38	9	33
		250	143	12	35	5	32
		500	0*	0*	21*	0*	14*
	陽性対照物質						
	2-AA	0.5	—	—	546	—	—
		1	843	—	—	—	—
	2	—	246	—	180	—	
	10	—	—	—	—	1063	

数値は3枚のプレートの平均値

*: 生育阻害が認められた。

—: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、9-AAおよび2-AAはDMSOに、NaN₃は蒸留水に溶解して使用

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

確認試験(プレート法)

S9 mix の有無	薬剤	濃度 (μg /プレート)	復帰変異コロニー数/プレート					
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>	
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537		
-	溶媒対照 (DMSO)	0	141	14	24	11	31	
	検 体	15.6	148	10	25	10	30	
		31.3	151	13	26	7	36	
		62.5	144	9	30	11	31	
		125	150	10	27	8	39	
		250	146	8	26	10	24	
		500	140	7	24	5	28	
	陽性対照物質	AF-2	0.01	547	—	—	—	216
			0.1	—	—	545	—	—
		NaN ₃	0.5	—	530	—	—	—
9-AA		80	—	—	—	597	—	
+	溶媒対照 (DMSO)	0	144	16	37	18	38	
	検 体	15.6	142	14	35	18	32	
		31.3	148	14	37	17	39	
		62.5	153	11	37	17	40	
		125	158	19	35	17	40	
		250	158	16	37	19	37	
		500	141	12	34	15	34	
	陽性対照物質	2-AA	0.5	—	—	607	—	—
			1	898	—	—	—	—
			2	—	210	—	211	—
		10	—	—	—	—	960	

数値は3枚のプレートの平均値

—: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、9-AAおよび2-AAはDMSOに、NaN₃は蒸留水に溶解して使用

再確認試験(プレート法)

S9 mix の有無	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					
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>	
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537		
-	溶媒対照 (DMSO)	0	131	8	21	6	38	
	検 体	500	98	5	18	5	20	
		1000	0*	0*	0*	0*	0*	
		2000	0*	0*	0*	0*	0*	
		3000	0*	0*	0*	0*	0*	
		4000	0*	0*	0*	0*	0*	
		5000	0*	0*	0*	0*	0*	
	陽性対照物質	AF-2	0.01	539	—	—	—	160
			0.1	—	—	528	—	—
		NaN ₃	0.5	—	492	—	—	—
9-AA		80	—	—	—	601	—	
+	溶媒対照 (DMSO)	0	154	11	28	10	36	
	検 体	500	146	12	26	6	30	
		1000	0*	0*	0*	0*	8*	
		2000	0*	0*	0*	0*	0*	
		3000	0*	0*	0*	0*	0*	
		4000	0*	0*	0*	0*	0*	
		5000	0*	0*	0*	0*	0*	
	陽性対照物質	2-AA	0.5	—	—	548	—	—
			1	930	—	—	—	—
			2	—	252	—	217	—
		10	—	—	—	—	1080	

数値は3枚のプレートの平均値

*: 生育阻害が認められた。

—: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、9-AAおよび2-AAはDMSOに、NaN₃は蒸留水に溶解して使用

本試験において、検体はS9 mix存在の有無に関わらず、いずれの菌株および処理濃度においても溶媒対照に比べて2倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。S9 mixの非存在下では250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量で、S9 mixの存在下では500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で生育阻害が認められたが、結晶析出は認められなかった。

確認試験において、検体はS9 mix存在の有無に関わらず、いずれの菌株および処理濃度においても溶媒対照に比べて2倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さず、結晶析出ならびに生育阻害は認められなかった。

再確認試験では、検体はS9 mix存在の有無に関わらず、いずれの菌株および処理濃度においても溶媒対照に比べて2倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さず、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

1000 μ g/プレート以上で生育阻害が認められた。結晶析出は認められなかった。
一方、陽性対照群では、溶媒対照に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、試験に用いた菌液、検体溶液、S9 mixに雑菌の汚染がないことおよび各菌株の溶媒対照においてその菌株特有の自然復帰変異コロニー数が出現することから、本試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本試験条件下における検体の細菌に対する突然変異誘発性は陰性であると判断された。

2) 染色体異常誘発性

(1) チャイニーズ・ハムスター肺由来の細胞株CHLを用いた染色体異常試験 (資料T-18)

試験機関: 日本農薬㈱

報告書作成年: 2000年[GLP対応]

検体の純度 :

方 法 : チャイニーズ・ハムスター肺由来の細胞株CHLを用いて、検体の染色体異常誘発性をラットの肝臓より調製した薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下および非存在下で検索した。検体は水に難溶であるため、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。培地中でのDMSOの最終濃度は0.5%とした。検体の処理濃度を決定するため濃度設定試験を行い、溶媒対照に対する相対細胞密度(細胞増殖率)が50%減少する濃度を最高濃度に設定した。

直接法(S9 mix非存在下)による染色体異常試験では、検体を細胞に24または48時間連続処理した後、染色体標本作製した。処理濃度には、細胞増殖試験の結果に基づき24時間処理群では10.1、20.1および40.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、48時間処理群では7.4、14.8および29.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の各3濃度を設定した。

代謝活性化法による染色体異常試験では、細胞をS9 mix存在下で6時間検体処理した後新しい培地に交換し、18時間培養後に染色体標本作製した。S9 mix添加の影響を見るために、S9 mixを加えずに検体のみを同じ時間処理する群(S9 mix無添加群)も同時に設定した。処理濃度は、細胞増殖試験の結果に基づきS9 mix添加群では29.5、58.9および117.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S9 mix無添加群では14.7、29.5および58.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の各3濃度とした。再試験においては、S9 mix添加群では58.9、88.4および117.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S9 mix無添加群では29.5、44.2および58.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の各3濃度を設定した。陽性対照として、直接法の場合はマイトマイシンC(MMC)を0.07 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化法の場合はS9 mix無添加群にはMMCを0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ およびS9 mix添加群にはシクロホスファミド(OP)を10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の各濃度で用いた。また、無処理対照および溶媒対照を設けた。なお、直接法および代謝活性化法とも試験には各濃度あたり2枚のプレートを用いた。

染色体標本作製後、各プレート当り100個、各濃度当り計200個のよく広がった中期分裂像を顕微鏡で観察し、構造的染色体異常の各型について分類し、計数した。また、数的染色体異常として、倍数性細胞の出現数を計数した。統計学的解析にはFisherの直接確率計算法を用い、構造的染色体異常を有する細胞の出現数(ギャップを除く)および倍数性細胞の出現数について集計し、溶媒対照群と検体処理群の間で検定を行った。染色体異常誘発性の判定は構造的染色体異常と数的異常のそれぞれについて行った。染色体異常を有する細胞の出現頻度に統計学的に有意な増加が認められた場合、再試験を実施することとした。そして出現頻度に用量依存性を伴う有意な増加が認められ、再現性が確認された場合に検体は陽性であると判定した。

結 果 : 結果を次頁以降の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

直接法 (24 および 48 時間処理)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (hr)	代謝 活性化 の有無	倍数性 細胞の 出現 頻度 (%)	判 定	各染色体異常出現数(個)					異常細胞の 出現頻度 (%)		判 定	
						Gap	染色体型		そ の 他	+	-			
							切断	交換				切断		交換
無処理対照	0	24	—	0	—	0	0	0	0	0	2	1.0	1.0	—
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	24	—	0	/	1	2	0	0	1	1	2.5	2.0	/
検 体	10.1	24	—	0	—	0	1	0	0	0	2	1.5	1.5	—
	20.1			0	—	1	1	0	0	0	2	2.0	1.5	—
	40.2			0	—	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.5
陽性対照 (MMC)	0.07	24	—	0	—	2	34	65	0	11	16	35.5***	35.0***	+
無処理対照	0	48	—	0	—	3	3	0	0	1	0	3.0	2.0	—
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	48	—	0	/	0	0	0	0	0	3	1.5	1.5	/
検 体	7.4	48	—	0	—	0	1	1	0	0	1	1.5	1.5	—
	14.8			0	—	0	0	0	0	0	1	0.5	0.5	—
	29.5			0	—	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.5
陽性対照 (MMC)	0.07	48	—	0.5	—	3	34	60	0	14	30	44.0***	43.0***	+

***: $p < 0.001$ (Fisher 直接確率計算法)

+Gap: ギャップを含む

-Gap: ギャップを含まない

判定: —; 陰性、+; 陽性 (-Gap で有意差のある場合を陽性とした。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

代謝活性化法 (S9 mix添加群、S9 mix無添加群、1回目)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (hr)	代謝 活性化の 有無	倍数性 細胞の 出現 頻度 (%)	判 定	各染色体異常出現数(個)					異常細胞の 出現頻度 (%)		判 定	
						Gap	染色体型		そ の 他	+	-			
							切断	交換				切断		交換
無処理対照	0	6 ^a	-	0.5	-	2	2	0	1	0	1	3.0	2.0	-
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	6 ^a	-	0	/	2	4	0	0	0	1	3.0	2.5	/
検 体	14.7	6 ^a	-	1.0	-	0	2	0	0	0	0	1.0	1.0	-
	29.5			0.5	-	0	1	1	0	0	3	2.5	2.5	-
	58.9			1.0	-	2	13	42	0	3	2	16.5***	16.0***	+
陽性対照 (MMC)	0.1	6 ^a	-	0	-	1	12	17	0	1	5	14.5***	14.0***	+
無処理対照	0	6 ^b	+	0.5	-	1	2	2	0	0	0	2.5	2.0	-
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	6 ^b	+	0	/	1	2	0	0	0	1	2.0	1.5	/
検 体	29.5	6 ^b	+	0	-	2	2	0	0	0	3	3.0	2.0	-
	58.9			0.5	-	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	-
	117.8			1.5	-	2	9	14	0	7	2	12.0***	11.0***	+
陽性対照 (CP)	10	6 ^b	+	0	-	0	20	48	0	9	14	27.0***	27.0***	+

***: $p < 0.001$ (Fisher直接確率計算法)

+Gap: ギャップを含む

-Gap: ギャップを含まない

判定: -; 陰性、+; 陽性 (-Gapで有意差のある場合を陽性とした。)

a: 検体をS9 mix非存在下で6時間処理し、培地交換後さらに18時間培養した。

b: 検体をS9 mix存在下で6時間処理し、培地交換後さらに18時間培養した。

代謝活性化法 (S9 mix添加群、S9 mix無添加群、2回目)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (hr)	代謝 活性化 の有無	倍数性 細胞の 出現 頻度 (%)	判 定	各染色体異常出現数(個)					異常細胞の 出現頻度 (%)		判 定	
						Gap	染色分体型		染色体型		そ の 他	+		-
							切断	交換	切断	交換				
無処理対照	0	6 ^a	-	0.5	-	0	0	0	0	0	2	1.0	1.0	-
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	6 ^a	-	0	/	0	1	0	0	0	3	2.0	2.0	/
検 体	29.5	6 ^a	-	0.5	-	0	0	0	0	0	1	0.5	0.5	-
	44.2			1.5	-	2	1	0	0	2	7	6.0	5.0	-
	58.9			1.5	-	1	0	2	1	0	13	7.5*	7.0*	+
陽性対照 (MMC)	0.1	6 ^a	-	0	-	2	14	8	0	0	13	14.5***	13.5***	+
無処理対照	0	6 ^b	+	0	-	2	0	0	0	0	1	1.5	0.5	-
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	6 ^b	+	0.5	/	0	1	0	0	0	3	2.0	2.0	/
検 体	58.9	6 ^b	+	1.5	-	0	1	0	0	0	5	2.0	2.0	-
	88.4			0.5	-	1	2	5	1	0	7	6.5*	6.0	-
	117.8			0.5	-	3	6	3	0	1	8	8.5**	7.0*	+
陽性対照 (CP)	10	6 ^b	+	0	-	2	11	34	2	6	10	23.0***	22.0***	+

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ (Fisher直接確率計算法)

+Gap: ギャップを含む、-Gap: ギャップを含まない

判定: -;陰性、+;陽性(-Gapで有意差のある場合を陽性とした。)

a: 検体をS9 mix非存在下で6時間処理し、培地交換後さらに18時間培養した。

b: 検体をS9 mix存在下で6時間処理し、培地交換後さらに18時間培養した。

直接法による染色体異常試験では、検体の24あるいは48時間処理により構造的染色体異常を有する細胞の出現頻度および倍数性細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

代謝活性化法による染色体異常試験では、S9mix非存在下で $58.9 \mu\text{g}/\text{mL}$ および存在下で $117.8 \mu\text{g}/\text{mL}$ において、6時間の検体処理で構造的染色体異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加が認められ、再現性も確認された。S9 mix非存在下および存在下において、倍数性細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。従って、検体は構造的染色体異常を誘発するが、数的異常を誘発しないものと考えられた。一方、陽性対照として用いたMMCについては直接法および代謝活性化法で、CPIについては代謝活性化法でいずれも染色体異常を有する細胞の出現率は10%以上であり、本試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本検体は薬物代謝酵素系存在の有無に関わらず、細胞を6時間検体処理した後新しい培地に交換し、18時間後に染色体標本作製する試験条件下において、高濃度域で構造的染色体異常誘発性を有すると結論された。また、本試験条件下において、検体は薬物代謝酵素系の有無に関わらず、数的染色体異常誘発性を有しないと結論された。

3) 小核誘発性

(1) マウスを用いた小核試験

(資料T-19)

試験機関：日本農薬㈱

報告書作成年：2000年[GLP対応]

検体の純度 :

方 法 : ICR系雄マウスを用いて、骨髓細胞における検体の小核誘発性を検索した。検体は0.5% カルボキシメチルセルロース(CMC)溶液に懸濁させて投与した。

500、1000 および 2000mg/kg の 3 濃度を設定した。1 群 5 匹のマウスに単回強制経口投与し、24 および 48 時間後に骨髓塗抹標本を作製した。陰性対照群には 0.5% CMC 溶液を 10mL/kg の容量で、陽性対照群にはマイトマイシン C(MMC)を 3mg/kg の用量で投与した。

1動物につき1枚の塗抹標本について、Schmidの方法に従って顕微鏡下にて赤血球の観察を行った。すなわち多染性赤血球2000個を観察し、小核を有する多染性赤血球の頻度を求めた。また、赤血球を多染性と正染性に区別しながら1000個観察し、骨髓毒性の指標となる多染性赤血球の割合について求めた。統計学的解析には Kastenbaum & Bowmanの数表を用い、検体の各用量群と陰性対照の間で検定を行った。

結 果 : 以下の表に結果を示した。

薬剂	用量 (mg/kg)	匹 数	投与後 時間 (時間)	小核を有する 多染性赤血球の割合 (%)		多染性赤血球の割合 (%)
				平均値(範囲)	判定 ^a	平均値(範囲)
陰性対照群 (0.5% CMC溶液)	0	5	24	0.12 (0.10-0.15)		50.5 (41.3-57.8)
			48	0.09 (0.05-0.20)		53.2 (43.4-61.3)
検 体	500	5	24	0.16 (0.10-0.25)	—	54.3 (50.4-63.1)
	1000	5		0.15 (0.10-0.25)	—	54.2 (47.2-62.0)
	2000	5		0.08 (0.05-0.10)	—	55.0 (46.6-58.3)
	500	5	48	0.16 (0.10-0.25)	—	58.5 (52.8-63.4)
	1000	5		0.13 (0.05-0.20)	—	57.1 (55.6-58.7)
	2000	5		0.13 (0.05-0.20)	—	50.4 (45.1-53.5)
陽性対照群 (MMC)	3	5	24	3.33 (2.60-5.25)	+ ^b	34.8 (19.8-51.7)

a: Kastenbaum-Bowmanの数表による検定を用いて判定

b: Kastenbaum-Bowmanの数表の数値を越えているため統計学的解析は行っていないが、陰性対照群と比較して明らかに増加

検体投与群では、いずれの用量においても小核を有する多染性赤血球の頻度に有意な増加は認められなかった。一方、MMCを投与した陽性対照群では、小核を有する多染性赤血球の頻度に明らかな増加が認められた(平均出現頻度は3.33%)。また、陰性対照群の小核を有する多染性赤血球の平均出現頻度は0.12%以下であった。よって、本小核試験は有効であると判断された。

以上の結果より、本試験条件下において、検体はマウスに小核を誘発しないものと判断された。

10. 生体機能への影響

1) マウスおよびラットにおける生体機能への影響に関する試験 (資料 T-20)

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：2000年[GLP対応]

検体の純度 :

(1) 中枢神経系に対する作用

① マウスの一般状態

供試動物 : ICR系雌雄マウス、6週齢、体重；雄 26.1～35.0g、雌 21.6～27.0g、1群雌雄各3匹

方法 : 検体を1% Tween 80水溶液に懸濁させ、0、128、320、800、2000および5000mg/kgの用量で腹腔内投与し、投与前、投与1、6時間後、1、2、3および7日後にIrwin法に従って行動を多元観察した。体重については投与前、投与1、2、3および7日後に測定した。

結果 : 雌雄マウスともに、320mg/kg以上の投与群に、用量に依存して認知力、運動性、姿勢、運動失調、筋緊張、反射、自律神経系の項目に非特異的な抑制性の徴候が投与1時間以降に認められた。雌雄マウスともに2000mg/kg以上の投与群の全例が投与2日後までに死亡した。試験終了まで生存した雌雄マウスで認められた徴候は、投与1日後までに正常に回復した。雌雄マウスともに全投与群の体重および128mg/kg群の一般状態に検体の影響は認められなかった。

② ラットの一般状態

供試動物 : Sprague-Dawley系雄ラット、6週齢、体重；224～254g、1群各5匹

方法 : 検体を1% Tween 80水溶液に懸濁させ、0、800、2000および5000mg/kgの用量で経口投与し、投与1日前、投与1、7時間後、1、2、3および7日後にケージ外から行動を観察した。体重については投与前、投与1、2、3および7日後に測定した。

結果 : 全投与群の一般状態に検体の影響は認められず、死亡例は見られなかった。5000mg/kg群の体重に一過性の有意な低値が認められたが、2000mg/kg以下の投与群には検体の影響は認められなかった。

③ マウスのヘキソバルビタール睡眠に対する作用

供試動物 : ICR系雄マウス、6週齢、体重；30.2～38.2g、1群各8匹

方法 : 検体を1% Tween 80水溶液に懸濁させ、0、51.2、128、320、800、2000および5000mg/kgの用量で腹腔内投与した。2000および5000mg/kg群のうち検体投与により正向反射の消失が認められた個体(2000mg/kg群は5匹、5000mg/kg群は7匹)を除き、その1時間後にヘキソバルビタールを100mg/kgの用量で皮下投与し睡眠時間を測定した。

結果 : 320mg/kg以上の投与群に用量に依存した有意な睡眠時間の延長が認められ、800mg/kg群では対照群に比べて約6倍に、2000および5000mg/kg群では6.5倍以上に延長された。128mg/kg以下の投与群には検体の影響は認められなかった。

④ラットの体温に対する作用

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、6 週齢、体重;224~254g、1 群各 5 匹
方 法 : 検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁させ、0、800、2000 および 5000mg/kg の用量で経口投与し、投与 1 日前、投与 1、7 時間後、1、2、3 および 7 日後に直腸温を測定した。
結 果 : 5000 mg/kg 群において、投与 1 時間~1 日後に軽度ではあるが有意な体温低下が認められた。2000 mg/kg 以下の投与群には検体の影響は認められなかった。

(2)循環器系に対する作用

①ラットの血圧、心拍数に対する作用

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、6 週齢、体重;222~250g、1 群各 5 匹
方 法 : 検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁させ、0、800、2000 および 5000mg/kg の用量で経口投与し、投与 1 日前、投与 1、7 時間後、1、2、3 ならびに 7 日後に最高血圧と心拍数を測定した。
結 果 : 全投与群の最高血圧および心拍数に検体の影響は認められなかった。

(3)自律神経系に対する作用

①ラットの瞳孔径に対する作用

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、6 週齢、体重;224~254g、1 群各 5 匹
方 法 : 検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁させ、0、800、2000 および 5000mg/kg の用量で経口投与し、投与 1 日前、投与 1、7 時間後、1、2、3 および 7 日後に瞳孔径を測定した。
結 果 : 全投与群の瞳孔径に検体の影響は認められなかった。

(4)消化器に対する作用

①マウスの小腸炭末輸送能に対する作用

- 供試動物 : ICR 系雄マウス、6 週齢、体重;24.0~31.2g、1 群各 8 匹
方 法 : 検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁させ、0、51.2、128、320、800、2000 および 5000mg/kg の用量で腹腔内投与した。その 1 時間後に炭末懸濁液を経口投与し、30 分後に屠殺し炭末の小腸内移動率(全小腸の長さに対する小腸開始部から炭末先端までの長さの百分率)を測定した。
結 果 : 320mg/kg 以上の投与群に、用量に依存した有意な小腸炭末輸送能の抑制が認められ、2000 および 5000mg/kg 群では対照群の約 10%に減少した。128mg/kg 以下の投与群には検体の影響は認められなかった。

(5)骨格筋に対する作用

①ラットの握力に対する作用

- 供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、6 週齢、体重;224~254g、1 群各 5 匹
方 法 : 検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁させ、0、800、2000 および 5000mg/kg の用量で経口投与した。投与 1 日前、投与 1、7 時間後、1、2、3 および 7 日後に、握力測定装置(室町機械株式会社製)にて握力を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

結 果 : 全投与群の握力に検体の影響は認められなかった。

(6)腎機能に対する作用

①ラットの尿量、尿中電解質排泄量、浸透圧、pH、潜血、蛋白、ケトン体およびグルコースに対する作用

供試動物 : Sprague-Dawley 系雄ラット、6 週齢、体重;184~218g、1 群各 5 匹

方 法 : 検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁させ、0、800、2000 および 5000mg/kg の用量で経口投与した。その 1 日後に生理食塩液 25ml/kg を 2 回経口投与し、その直後から 3 時間の尿を採取し各項目について測定した。

結 果 : 全投与群の測定項目に検体の影響は認められなかった。

以上のように、検体を雌雄マウスに腹腔内投与した結果、320mg/kg 以上の用量で非特異的な抑制性の徴候が観察され、2000mg/kg 以上の投与群では全例死亡した。雄マウスにおいては、320mg/kg 以上の用量でヘキサバルビタール睡眠時間の延長および小腸炭末輸送能の抑制が認められた。また、雄ラットに経口投与したところ、5000mg/kg の用量で一過性の体重増加抑制ならびに体温低下が認められたが、一般状態、血圧、心拍数、瞳孔径、握力および腎機能に明確な変化は認められなかった。2000mg/kg の用量では何ら影響は認められなかった。本試験結果ならびに既に実施された各種急性毒性試験の結果から、検体の急性毒性作用は弱く、検体が散布作業に伴ってヒトに摂取された場合あるいは誤って摂取された場合に、急性中毒が発現する可能性は低いと推測された。

「マウスおよびラットにおける生体機能への影響に関する試験」の総括表

	試験項目 (試験動物)	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	一般状態 [Irwin 法] (雌雄マウス)	腹腔内 (1% Tween 80 水溶液)	0、128、320、 800、2000、 5000	3	320	128	320mg/kg 以上の投与群に 非特異的な抑制性の徴候 が観察された。体重に検体 の影響は認められなかつ た。雌雄マウスともに 2000mg/kg 以上の投与群 の全例が死亡した。
	一般状態 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0、800、 2000、5000	5	5000	2000	一般状態に検体の影響は 認められず、死亡例はなかつ た。5000 mg/kg 群の体重 に一過性の低値が認めら れた。
	ヘキソバルビタ ール睡眠 (雄マウス)	腹腔内 (1% Tween 80 水溶液)	0、51.2 128、320、 800、2000、 5000	8	320	128	320mg/kg 以上の投与群に 睡眠時間の延長が認めら れた。
	体温 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0、800、 2000、5000	5	5000	2000	5000mg/kg 群に体温低下 が観察された。
循環 器系	血圧、心拍数 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0、800、 2000、5000	5	5000	5000	検体の影響なし
自律 神経系	瞳孔径 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0、800、 2000、5000	5	5000	5000	検体の影響なし
消化 器	小腸炭末輸送 能 (雄マウス)	腹腔内 (1% Tween 80 水溶液)	0、51.2、 128、320、 800、2000 5000	8	320	128	320mg/kg 以上の投与群で 炭末輸送能の抑制が認め られた。
骨 格筋	握力 (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0、800、 2000、5000	5	5000	5000	検体の影響なし
腎 機能	尿量、尿中電解 質排泄量、浸透 圧、pH、潜血、 蛋白、ケトン体、 グルコース (雄ラット)	経口 (1% Tween 80 水溶液)	0、800、 2000、5000	5	5000	5000	検体の影響なし

11. 代謝物の毒性

1)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-21)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

報告書作成年：2000年[GLP対応]

検体の純度 :

試験動物 : Sprague-Dawley系ラット(Crj:CD)、7週齢、体重；雄187～197g、雌154～169g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方 法 : 検体を0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁させて単回強制経口投与した。動物は、投与約16時間前より投与6時間後まで絶食させた。

試験項目 : 一般症状および生死を14日間観察し、投与時、投与1、2、3、7、10および14日後に体重測定を行った。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共に0および2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時期 および終了時期	死亡例なし
症状発現および 消失時期	症状発現例なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

一般症状では、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。
肉眼的病理検査では、検体投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。
体重測定の結果、雌雄共投与翌日に有意な増加抑制が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(2) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料T-22)

試験機関：日本農薬㈱

報告書作成年：2000年[GLP対応]

検体の純度 :

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株(TA100、TA1535、TA98、TA1537)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* 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(S9 mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法を用いて変異原性を検索した。
検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。

5000 μ g/プレートを最高用量として5用量で試験を実施した。試験は各用量3枚のプレートを用いてプレインキュベーション法で実施した。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37 $^{\circ}$ Cで48時間培養後、コロニーカウンターを用いて復帰変異コロニー数を計数した。結果の判定にあたっては、統計学的解析を行わず、各用量のプレートにおけるコロニー数の平均値を基に以下の3基準を全て満たす場合を陽性とした。

- (1) 検体処理群において溶媒対照値の2倍以上の復帰変異コロニーが出現する。
- (2) 検体の濃度の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する(用量-反応効果)。
- (3) この復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。

結 果 : 結果を次頁以降の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

予備試験

S9 mix の有無	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				
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	
-	溶媒対照 (DMSO)	0	144	11	17	10	17
	検 体	4.88	133	11	20	8	20
		19.5	151	10	12	9	20
		78.1	145	9	20	7	21
		313	150	16	16	7	18
		1250	146	10	27	13	22
		5000	146	10	18	12	18
	陽性対照物質						
	AF-2	0.01	626	—	—	—	—
		0.02	—	—	—	—	319
	NaN ₃	0.5	—	331	—	—	—
2-NF	1	—	—	183	—	—	
9-AA	80	—	—	—	330	—	
+	溶媒対照 (DMSO)	0	127	9	26	18	20
	検 体	4.88	136	8	24	15	23
		19.5	139	9	27	11	26
		78.1	145	9	27	14	21
		313	136	8	21	14	18
		1250	142	13	22	12	20
		5000	160	8	29	10	17
	陽性対照物質						
	2-AA	0.5	—	—	286	—	—
		1	799	—	—	—	—
		2	—	191	—	269	—
	10	—	—	—	—	1018	

数値は3枚のプレートの平均値

—: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、2-NF、9-AAおよび2-AAはDMSOに、NaN₃は滅菌蒸留水に溶解して使用

本試験

S9 mixの 有無	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					
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>	
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537		
-	溶媒対照(DMSO)	0	141	12	24	10	24	
	検 体	313	150	12	23	7	23	
		625	140	8	26	10	22	
		1250	156	13	16	6	22	
		2500	146	15	18	10	21	
		5000	139	15	29	8	23	
	陽性対照物質	AF-2	0.01	644	—	—	—	—
			0.02	—	—	—	—	333
		NaN ₃	0.5	—	361	—	—	—
		2-NF	1	—	—	272	—	—
		9-AA	80	—	—	—	520	—
+	溶媒対照(DMSO)	0	139	8	30	18	18	
	検 体	313	130	9	34	22	21	
		625	146	4	33	15	21	
		1250	161	8	32	17	24	
		2500	147	9	30	17	21	
		5000	150	7	35	18	24	
	陽性対照物質	2-AA	0.5	—	—	297	—	—
			1	699	—	—	—	—
			2	—	212	—	324	—
			10	—	—	—	—	1007

数値は3枚のプレートの平均値

—: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、2-NF、9-AAおよび2-AAはDMSOに、NaN₃は滅菌蒸留水に溶解して使用

検体はS9 mix存在の有無に関わらず、いずれの菌株および処理濃度においても溶媒対照に比べて2倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さず、結晶析出ならびに生育阻害は認められなかった。

一方、陽性対照群では、溶媒対照に比べて2倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、試験に用いた菌液、検体溶液、S9 mixに雑菌の汚染がないことおよび各菌株の溶媒対照においてその菌株特有の自然復帰変異コロニー数が出現したことから、本試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本試験条件下における検体の細菌に対する突然変異誘発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日本農薬㈱にある。

2)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-23)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

報告書作成年：2000年[GLP対応]

検体の純度 :

試験動物 : Sprague-Dawley系ラット(Crj:CD)、7週齢、体重；雄191～202g、雌159～172g、
1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方 法 : 検体を0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁させて単回強制経口投与した。動物
は、投与約16時間前より投与6時間後まで絶食させた。

試験項目 : 一般症状および生死を14日間観察し、投与時、投与1、2、3、7、10および14日後に
体重測定を行った。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共に0および2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時期 および終了時期	死亡例なし
症状発現および 消失時期	症状発現例なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

一般症状では、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。
肉眼的病理検査では、検体投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。
体重測定の結果、雌雄共投与翌日に増加抑制傾向が認められた。

(2) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T-24)

試験機関：日本農薬㈱

報告書作成年：2000年[GLP対応]

検体の純度 :

方 法 : ヒステジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株(TA100、TA1535、TA98、TA1537)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* 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(S9 mix)の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検索した。
検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。

5000 μ g/プレートを最高用量として 5 用量で試験を実施した

大腸菌 WP2 *uvrA*

株のみ、さらに 5000 μ g/プレートを最高用量として 7 用量で試験を実施した。試験は各用量 3 枚のプレートを用いてプレインキュベーション法で実施した。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37 $^{\circ}$ Cで 48 時間培養後、コロニーカウンターを用いて復帰変異コロニー数を計数した。

結果の判定にあたっては、統計学的解析を行わず、各用量のプレートにおけるコロニー数の平均値を基に以下の 3 基準を全て満たす場合を陽性とした。

- (1) 検体処理群において溶媒対照値の 2 倍以上の復帰変異コロニーが出現する。
- (2) 検体の濃度の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する(用量-反応効果)。
- (3) この復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。

結 果 : 結果を次頁以降の表に示した。

予備試験

S9 mix の有無	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				
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	
-	溶媒対照 (DMSO)		148	11	21	9	23
	検 体	4.88	138	7	25	7	19
		19.5	142	14	24	10	16
		78.1	141	13	22	5	16
		313	139	10	24	13	19
		1250	128	12	19	6	17
		5000	154	9	31	7	13
	陽性対照物質						
	AF-2	0.01	578	—	—	—	—
		0.02	—	—	—	—	191
	NaN ₃	0.5	—	341	—	—	—
2-NF	1	—	—	254	—	—	
9-AA	80	—	—	—	350	—	
+	溶媒対照(DMSO)	0	145	9	32	16	12
	検 体	4.88	132	6	30	19	19
		19.5	124	11	33	15	19
		78.1	130	13	28	17	24
		313	118	14	28	13	18
		1250	144	14	31	12	27
		5000	144	13	35	11	23
	陽性対照物質						
	2-AA	0.5	—	—	447	—	—
		1	738	—	—	—	—
		2	—	186	—	280	—
	10	—	—	—	—	1012	

数値は3枚のプレートの平均値

—: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、2-NF、9-AAおよび2-AAはDMSOに、NaN₃は滅菌蒸留水に溶解して使用

本試験 1 および 2

S9 mix の有無	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					
			<i>Salmonella typhimurium</i>				<i>E. coli</i>	
			塩基対置換型		フレームシフト型		WP2 <i>uvrA</i>	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	1回目	2回目
-	溶媒対照 (DMSO)	0	134	10	19	6	26	-
	検 体	78.1	-	-	-	-	29	-
		156	-	-	-	-	25	-
		313	141	11	23	7	25	-
		625	130	11	26	5	22	-
		1250	130	11	29	4	22	-
		2500	130	11	23	8	22	-
		5000	145	10	27	9	21	-
	陽性対照物質							
	AF-2	0.01	584	-	-	-	-	-
		0.02	-	-	-	-	283	-
	NaN ₃	0.5	-	361	-	-	-	-
	2-NF	1	-	-	264	-	-	-
9-AA	80	-	-	-	465	-	-	
+	溶媒対照 (DMSO)	0	147	7	41	14	21	26
	検 体	78.1	-	-	-	-	23	24
		156	-	-	-	-	21	25
		313	131	10	30	18	28	22
		625	141	9	38	14	30	22
		1250	144	10	40	13	21	21
		2500	139	9	43	13	27	27
		5000	143	8	36	13	21	26
	陽性対照物質							
	2-AA	0.5	-	-	439	-	-	-
		1	899	-	-	-	-	-
		2	-	295	-	424	-	-
		10	-	-	-	-	1137	821

数値は 3 枚のプレートの平均

-: 試験を行っていない。

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

NaN₃: sodium azide

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2、2-NF、9-AAおよび 2-AAはDMSOに、NaN₃は滅菌蒸留水に溶解して使用

検体は S9 mix 存在の有無に関わらず、いずれの菌株および処理濃度においても溶媒対照に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さなかった(本試験 1)。さらに、大腸菌 WP2 *uvrA* 株のみについて S9 mix の存在下における試験を別途実施した(本試験 2)。その結果、いずれの処理濃度においても溶媒対照に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さず、予備試験で認められた用量依存性のない復帰変異コロニーの増加は偶発的な変化であったことが確認された。また、本試

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

験 1 および 2 のいずれにおいても結晶析出ならびに生育阻害は認められなかった。一方、陽性対照群では、溶媒対照に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、試験に用いた菌液、検体溶液、S9 mix に雑菌の汚染がないことおよび各菌株の溶媒対照においてその菌株特有の自然復帰変異コロニー数が出現したことから、本試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本試験条件下における検体の細菌に対する突然変異誘発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日本農薬㈱にある。

12. 製剤の毒性

1) チアジニル粒剤

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-25)

試験機関：日本農薬㈱

報告書作成年：2000年[GLP 対応]

検体の純度 : 12%粒剤

[組成] チアジニル: 12.94%
鋳物質微粉等: 87.06%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、6 週齢、体重: 雄 144~155g、雌 110~119g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 蒸留水に懸濁させた検体を単回強制経口投与した。動物は、投与約 17 時間前より投与約 3 時間後まで絶食させた。

試験項目 : 一般症状および生死を 14 日間観察し、投与時、投与 1、7 および 14 日後に体重測定を行った。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共に 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時期 および終了時期	死亡例なし
症状発現および 消失時期	症状発現例なし
無影響量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

一般症状では、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。
肉眼的病理検査では、検体投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。
体重減少例は認められなかった。

(2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 T-26)

試験機関：日本農薬㈱

報告書作成年：2000 年[GLP 対応]

検体の純度 : 12%粒剤

[組成] チアジニル: 12.94%

鋳物質微粉等: 87.06%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、雄 7 週齢、雌 11 週齢、体重; 雄 258~273g、雌 217~243g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 蒸留水に懸濁させた検体をリント布に均一に塗布し、剪毛した皮膚(約 4cm × 5cm)に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目 : 一般症状および生死を 14 日間観察し、投与時、投与 1、7 および 14 日後に体重測定を行った。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共に 0 および 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時期 および終了時期	死亡例なし
症状発現および 消失時期	投与に起因すると考えられる症状発現例なし
死亡例の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

一般症状では、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。
肉眼的病理検査では、検体投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。
検体投与に起因すると考えられる体重減少例は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3) ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 T-27)

試験機関：日本農薬株式会社

報告書作成年：2000年[GLP 対応]

検体の純度 : 12%粒剤

[組成] チアジニル: 12.94%

鋳物質微粉等: 87.06%

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ、9週齢、体重; 1.93~2.20kg、1群6匹

試験期間 : 3日間(貼付除去後72時間)観察

方法 : 微粉末化した検体 0.5g を蒸留水で湿らせ、剪毛した動物の背部皮膚(2.5cm×2.5cm)に4時間閉塞貼付した。貼付除去後、皮膚に残った検体は水を含ませた脱脂綿で清拭した。

観察項目 : 貼付除去 1、24、48 および 72 時間後に貼付部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize の方法に従って採点した。

結果 : 観察した刺激性変化の評点は以下の通りである。

項目	最高評点 ^a	貼付除去後の時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0.17	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0.17	0	0	0

表の点数は6匹の平均値

a: 判定基準の最高評点

貼付除去1時間後に非常に軽度の紅斑(評点1)が認められたが、24時間後に消失した。浮腫は認められなかった。

以上の結果から、EPAの基準に従い、検体はウサギの皮膚に対して軽度刺激物に分類された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(4) ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 T-28)

試験機関：日本農薬㈱

報告書作成年：2000年[GLP 対応]

検体の純度 : 12%粒剤
 [組成] チアジニル: 12.94%
 鋳物質微粉等: 87.06%

試験動物 : 日本白色種雄ウサギ、9週齢、体重: 1.88~2.49kg、非洗眼群 6匹、洗眼群 3匹

試験期間 : 非洗眼群; 5日間観察、洗眼群; 3日間(投与後 72時間)観察

方法 : 微粉末化した検体 74mg(0.1mL 相当)を左眼に投与した。3匹については投与 30秒後に洗眼した。

観察項目 : 投与 1、24、48、72時間、4および5日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draizeの方法に従って採点した。

結果 : 観察した刺激性変化の評点は以下の通りである。

項目		最高 評点 ^a	投与後時間						
			1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日	
非洗眼群 (6匹平均)	角膜	混濁程度	4	0	0.17	0.17	0	0	0
		混濁面積	4	0	0.33	0.17	0	0	0
	虹彩	2	0	0.67	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1.67	1	0.5	0.5	0
		浮腫	4	0.5	1.5	0.83	0.33	0.17	0
		分泌物	3	2.33	1.17	0.17	0	0	0
	合計 ^b	110	7.7	13.7	4.8	1.7	1.3	0.0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	/	
		混濁面積	4	0	0	0	0		
	虹彩	2	0	0	0	0			
	結膜	発赤	3	1	0.67	0.33	0		
		浮腫	4	0	0	0	0		
		分泌物	3	0	0	0	0		
	合計 ^b	110	2.0	1.3	0.7	0.0			

a: 判定基準の最高評点

b: Draizeの方法による評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

角膜の刺激性変化については、非洗眼群において、散在性またはびまん性の混濁(程度:評点 1、面積:評点 2)が投与 24 時間後に認められたが、72 時間後には消失した。洗眼群では認められなかった。虹彩の刺激性変化については、非洗眼群において評点 1 の変化が投与 24 時間後に認められたが、48 時間後には消失した。洗眼群において、角膜および虹彩の刺激性変化は認められなかった。結膜の刺激性変化は、非洗眼群では、一部の血管が明らかに充血する程度の発赤(評点 1)、正常よりわずかな腫脹(評点 1)、眼瞼とその近くの毛および眼の周囲のかなりの部分を濡らす分泌物(評点 1 および 2)が投与 1 時間後に認められたが、72 時間から 5 日後までに消失した。洗眼群では、評点 1 の発赤が投与 1 時間後に認められたが、72 時間後までに消失した。

以上の結果から、AFNOR の基準に従い、検体はウサギの眼に対して軽度刺激物に分類された。また、洗眼効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(5) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 T-29)

試験機関：日本農薬㈱

報告書作成年：2000年[GLP 対応]

検体の純度	: 12%粒剤 [組成] チアジニル: 12.94% 鉱物質微粉等: 87.06%
試験動物	: Hartley 系雌モルモット、6 週齢、体重: 350~457g、検体投与群 20 匹、溶媒対照群 10 匹、陽性対照試験: 陽性対照群 10 匹、溶媒対照群 10 匹
試験期間	: 30 日間観察
方 法	: Buehler 法 【投与量設定根拠】
感 作	: 試験開始前日に剪毛した肩甲骨上の皮膚に、2cm×3cm のリントパッチに塗布した検体の 50%懸濁液を 6 時間閉塞貼布した。7 および 14 日後に同じ手順を繰り返した。一方、陽性対照群には、2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)の 0.5%(w/v)エタノール溶液を同様に適用した。各感作終了 24 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の程度を Draize の方法により評価した。
惹 起	: 最終感作の 14 日後に、予め剪毛した左側腹部に検体の 50%懸濁液を感作時と同様に 6 時間閉塞貼布した。陽性対照群には、DNCB の 0.1%(w/v)エタノール溶液を同様に適用した。
観察項目	: 惹起貼付除去 24 および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、Draize の方法により採点した。紅斑の評点の平均値を重篤度として算出した。
結 果	: 各観察時間において紅斑が認められた動物数およびその評点を次頁に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

投与群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	供試動物数	惹起後時間 (時間)	感作反応動物数				重篤度	感作陽性動物数 ^a (感作陽性率(%)) ^b	
					皮膚反応評点						
					0	1	2	3			
検体	感作	50	50	20	24	20	0	0	0	0	0
					48	20	0	0	0	0	(0)
	溶媒対照	0	50	10	24	10	0	0	0	0	0
					48	10	0	0	0	0	(0)
陽性対照	感作	0.5	0.1	10	24	1	1	8	0	1.7	8
					48	1	7	2	0	1.1	(80)
	溶媒対照	0	0.1	10	24	9	1	0	0	0.1	0
					48	10	0	0	0	0	(0)

a: 検体投与群は評点 1 以上を、陽性対照投与群は評点 2 以上を陽性と判定した。

b: (感作陽性動物数/供試動物数) × 100

本試験において検体投与群の皮膚感作陽性率は0%であり、Magnussonらの基準に従い軽微に分類された。一方、陽性対照である DNCB 投与群は 80%の皮膚感作陽性率を示し強度に分類されたことから、本試験の信頼性を十分保証しているものと考えられる。

以上の結果から、検体のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

2) チアジニル水和剤

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-30)

試験機関: (株)ボゾリサーチセンター

報告書作成年: 2001年 [GLP 対応]

検体の純度 : 30%フロアブル

[組成] チアジニル : 30.0%

水、界面活性剤等 : 70.0%

試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、7 週齢、体重: 雄 203~217g、雌 154~163g
2 群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 被験物質を蒸留水に懸濁させ、一夜絶食させたラットに 1 回強制経口投与した。

試験項目 : 一般状態および死亡例の有無を 14 日間観察した。体重は投与前(投与0日)、投与1~3、7、10および14日後に測定した。試験終了時の全ての生存動物について剖検し、器官および組織の肉眼的病理検査を行った。試験は『農薬の登録申請に係る試験成績について(12 農産第 8147 号, 農林水産省 2000 年)』に準じて実施した。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時期 および終了時期	死亡例なし
症状発現および 消失時期	投与4時間後 投与1日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

雌雄とも死亡例は認められなかった。体重推移では投与翌日に増加抑制が認められた。一般状態では自発運動の減少が見られた。剖検所見に異常は認められなかった。

結 論 : 本剤のラットにおける LD₅₀ は、雌雄とも 2000mg/kg 以上であった。

(2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 T-31)

試験機関: ㈱ボゾリサーチセンター

報告書作成年: 2001年 [GLP 対応]

- 検体の純度 : 30%フロアブル
 [組成] チアジニル : 30.0%
 水、界面活性剤等 : 70.0%
- 試験動物 : Sprague-Dawley 系ラット、雌雄 7 週齢、体重; 雄 232~247g、雌 165~178g
 2 群雌雄各 5 匹
- 試験期間 : 14 日間観察
- 方 法 : 検体をリント布(4×5cm)に取り、刈毛したラット背部皮膚に閉塞貼付した。24 時間後リント布を除去し、適用部位を温水を含ませたガーゼで清拭し、残存する検体を除去した。
- 試験項目 : 一般状態および死亡例の有無を 14 日間観察した。体重は投与前(投与 0 日)、投与 1~3、7、10 および 14 日後に測定した。試験終了時の全ての生存動物について剖検し、器官および組織の肉眼的病理検査を行った。試験は『農薬の登録申請に係る試験成績について(12 農産第 8147 号, 農林水産省 2000 年)』に準じて実施した。

結 果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時期 および終了時期	死亡例なし
症状発現および 消失時期	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	2000

雌雄とも死亡例は認められず、体重推移、一般状態および剖検所見に被験物質投与に起因すると思われる異常は認められなかった。

結 論 : 本剤のラットにおける LD₅₀ は、雌雄とも 2000mg/kg 以上であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(3) ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 T-32)

試験機関: ㈱ボゾリサーチセンター

報告書作成年: 2002 年 [GLP 対応]

- 検体の純度 : 30%フロアブル
[組成] チアジニル : 30.0%
水、界面活性剤等 : 70.0%
- 試験動物 : 日本白色種雌ウサギ、18 週齢、体重: 3.20~3.41kg、1 群 3 匹
- 試験期間 : 3 日間(貼付除去後 72 時間)観察
- 方 法 : 検体 0.5mL をリント布(2.5×2.5cm)に取り、刈毛した背部皮膚に半閉塞貼付した。4 時間後リント布を除去し、適用部位を注射用水を含ませた脱脂綿で清拭し、残存する検体を除去した。
- 観察項目 : 被験物質暴露終了 1、24、48 および 72 時間後に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮および浮腫)の有無等を観察した。試験は『農薬の登録申請に係る試験成績について(12 農産第 8147 号, 農林水産省 2000 年)』に準拠し、刺激性の分類は Draize の方法を参考に行った。
- 結 果 : 観察した刺激性変化の評点は以下の通りである。

項目	最高評点 ^a	貼付除去後の時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

観察期間を通して、全例において刺激性変化は認められなかった。皮膚一次刺激指数は 0 であった。

- 結 論 : 本剤はウサギの皮膚に対して刺激性を示さず、無刺激物であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

(4) ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 T-33)

試験機関: ㈱ボゾリサーチセンター

報告書作成年: 2002 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 30%フロアブル

[組成] チアジニル : 30.0%

水、界面活性剤等 : 70.0%

試験動物 : 日本白色種雌ウサギ、14 週齢、体重: 2.43~2.75kg、非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹

試験期間 : 非洗眼群: 3 日間観察、洗眼群: 3 日間(投与後 72 時間)観察

方法 : 検体 0.1mL を左眼の下眼瞼結膜囊内に適用し、検体の漏出を避けるため約 1 秒間両瞼を合わせた。右眼は対照眼とし、処置を行わなかった。洗眼群は、適用 30 秒後に注射用水で洗眼した。右眼は対照眼とし、洗眼のみ行った。

観察項目 : 被験物質適用 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察した。試験は『農薬の登録申請に係る試験成績について(12 農産第 8147 号、農林水産省 2000 年)』に準拠し、刺激性の分類は Kay and Calandra の方法に従った。

結果 : 観察した刺激性変化の評点は以下の通りである。

項目		最高 評点	投与後時間				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0
		混濁面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0.33	0	0	0
	合 計*		110	0.7	0	0	0
洗眼群 (3 匹平均)	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0
		混濁面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計*		110	0	0	0	0

*: Draize 法による評価(最高 110 点)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

非洗眼群では、被験物質適用1時間後に1例の結膜に分泌物(評点1)が認められたが、24時間後までに消失した。最大平均評点は0.7であった。

洗眼群では、いずれの観察時点においても刺激性変化は認められなかった。最大平均評点は0であった。

結 論 : 本剤はウサギの眼に対して實際上刺激性はないと判断された。

(5) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 T-34)

試験機関: ㈱ボゾリサーチセンター

報告書作成年: 2002年 [GLP 対応]

- 検体の純度 : 30%フロアブル
[組成] チアジニル : 30.0%
水、界面活性剤等 : 70.0%
- 試験動物 : Hartley 系雌モルモット、6 週齢、体重: 304~369g
検体投与群: 感作群 20 匹、刺激対照群 10 匹
陽性対照群: 感作群 10 匹、刺激対照群 5 匹
- 試験期間 : 30 日間観察(48 時間観察)
- 試験操作 : Buehler 法
【投与量設定根拠】 感作には軽度の刺激性変化が認められた原液(100%)を、惹起には皮膚反応が認められない最高濃度として 25%(w/v)を設定した。
【感作】 検体 0.2mL をリント布(φ 2.5cm)に含ませ、刈毛した左側腹部に 6 時間閉塞貼付した。7 および 14 日後にも同様に処理し、感作を行った。陽性対照として、1% 2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)エタノール溶液 0.2mL で同様に感作を行った。また、各々の刺激対照群には注射用水またはエタノールを同様に貼付した。
【惹起】 最終感作より 14 日後、被験物質 25%懸濁液 0.2mL をリント布(φ 2.5cm)に含ませ、刈毛した右側腹部に 6 時間閉塞貼付した。陽性対照として、0.25% DNCB エタノール溶液 0.2mL で同様に惹起を行った。
- 観察項目 : 惹起のための閉塞貼付 24 および 48 時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等を観察し、下式により感作陽性率(%)を求めた。

$$\text{感作陽性率(\%)} = \frac{\text{各群の陽性反応を示した動物数}}{\text{各群の動物数}} \times 100$$

試験は『農業の登録申請に係る試験成績について(12農産第8147号, 農林水産省2000年)』に準じて実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

結 果 :

投与群		感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	供試動物数	惹起後時間 (時間)	感作反応動物数				感作陽性動物数 (感作陽性率(%))
						皮膚反応評点				
						0	1	2	3	
検体	感作	50	50	20	24	20	0	0	0	0
					48	20	0	0	0	(0)
検体	溶媒対照	0	50	10	24	10	0	0	0	-
					48	10	0	0	0	(-)
陽性対照	感作	0.5	0.1	10	24	0	0	8	2	100
					48	0	6	2	2	(100)
陽性対照	溶媒対照	0	0.1	10	24	5	0	0	0	-
					48	5	0	0	0	(-)

検体投与群

惹起 24 および 48 時間後の観察における感作群の感作陽性率は 0%であった。

陽性対照群

惹起 24 および 48 時間後の観察において感作群に明らかな陽性反応が認められ、感作陽性率は 100%であった。

結 論 : 本剤のモルモットの皮膚に対する感作性は陰性であると判断された。

Ⅸ. 動植物および土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-1 GLP	動物代謝	ラット ♂♀	単回経口 2 mg/kg	<u>血中濃度:</u> T _{max} ; 1 時間 T _{1/2} ; 5~7 時間 C _{max} ; 0.20~0.38µg eq./g AUC; 1.78~2.02µg eq.hr/g <u>体内分布 (168 時間):</u> 血液; 検出限界以下 肝臓; 0.014µg eq./g 腎臓; 0.007µg eq./g <u>代謝 (24 時間):</u> 尿; 糞; <u>排泄 (168 時間):</u> 尿; 36~48% 糞; 45~58% 呼気; 1%	日本農薬(株) (1999 年)	199
		¹⁴ C	単回経口 200 mg/kg	<u>血中濃度:</u> T _{max} ; 3 時間 T _{1/2} ; 4~5 時間 C _{max} ; 12~20µg eq./g AUC; 175~241µg eq.hr/g <u>体内分布 (168 時間):</u> 血液; 0.4µg eq./g 肝臓; 0.6µg eq./g 腎臓; 0.3µg eq./g <u>代謝 (24 時間):</u> 尿; 糞; A (33%) <u>排泄 (168 時間):</u> 尿; 28~37% 糞; 57~62% 呼気; 1%以下		

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-2 GLP	動物代謝	ラット ♂♀	単回経口 2 mg/kg	<u>血中濃度:</u> T_{max} : 1 時間 $T_{1/2}$: 4~7 時間 C_{max} : 0.18~0.40 $\mu\text{g eq./g}$ AUC: 1.00~1.39 $\mu\text{g eq.hr/g}$ <u>体内分布 (168 時間):</u> 血液: 0.005~0.006 $\mu\text{g eq./g}$ 肝臓: 0.007~0.008 $\mu\text{g eq./g}$ 腎臓: 0.003~0.004 $\mu\text{g eq./g}$ <u>代謝 (24 時間):</u> 尿; 糞; <u>排泄 (168 時間):</u> 尿: 48~56% 糞: 43~48% 呼気: 0%	日本農薬㈱ (2001 年)	206
		¹⁴ C	単回経口 200 mg/kg	<u>血中濃度:</u> T_{max} : 3~9 時間 $T_{1/2}$: 4~5 時間 C_{max} : 12~19 $\mu\text{g eq./g}$ AUC: 191~214 $\mu\text{g eq.hr/g}$ <u>体内分布 (168 時間):</u> 血液: 0.5 $\mu\text{g eq./g}$ 肝臓: 0.3~0.4 $\mu\text{g eq./g}$ 腎臓: 0.2~0.3 $\mu\text{g eq./g}$ <u>代謝 (24 時間):</u> 尿; 糞: A (18~29%) <u>排泄 (168 時間):</u> 尿: 30~46% 糞: 45~61% 呼気: 0%		
M-3 GLP	動物代謝	ラット ♂ ¹⁴ C-フェニル標識体	胆管カニューレ 単回経口 2 mg/kg	<u>代謝 (24 時間):</u> 胆汁; <u>排泄 (48 時間):</u> 尿: 22% 糞: 0.4% 胆汁: 67~70% <u>吸収率 (48 時間):</u> 89~92% (尿と胆汁の合計)	日本農薬㈱ (2001 年)	213

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-4	動物代謝	ラット ♂ ¹⁴ C	単回経口 2 mg/kg	代謝 (6 時間): 尿: 排泄 (24 時間): 尿; 34% 糞; 53%	日本農薬㈱ (2000 年)	216
M-5 GLP	植物代謝	水稻 ¹⁴ C ¹⁴ C	水面処理 180g ai/10a	玄米中代謝物 (102 日後): 藁中代謝物 (102 日後): A (0.001ppm)	日本農薬㈱ (2000 年)	219
M-6	植物代謝	水稻 ¹⁴ C ¹⁴ C	水耕液処理 3.6 ppm	茎葉部代謝物 (14 日後): A (0.03~0.97%)	日本農薬㈱ (2001 年)	225
E-1 GLP	土壌代謝	好氣的湛水状態 ¹⁴ C ¹⁴ C	添加 180g ai/10a	土壌中濃度: T _{1/2} (25°C); 3~5 日 土壌中代謝物 (180 日後): A (2~3%) 揮散性代謝物 (180 日後): 7~8% 非抽出性放射能 (180 日後): 5~10% (¹⁴ C) 49~66% (¹⁴ C)	日本農薬㈱ (2000 年)	232
E-2 GLP	土壌代謝	好気状態 ¹⁴ C	添加 180g ai/10a (チアジニル換算)	土壌中濃度: T _{1/2} (25°C); 27~189 日 土壌中代謝物 (180 日後): 複数の未同定代謝物 (5%以下) 揮散性代謝物 (180 日後): 17~47% 非抽出性放射能(180 日後): 18~26%	日本農薬㈱ (2001 年)	237
E-3 GLP	土壌吸着	4 種土壌 ¹⁴ C	濃度: 0.05~5ppm	K _F (25°C): 9.6~28.4 K _{Foc} (25°C): 998.3~1263.7	日本農薬㈱ (2001 年)	241

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
E-4 GLP	土壌吸着	4種土壌 ¹⁴ C	濃度: 0.07~3.40 ppm	高知土壌* $K_F = 0.045$, $K_{FOC} = 3.65$ 北海道土壌 $K_F = 0.987$, $K_{FOC} = 40.31$ 茨城土壌 $K_F = 0.347$, $K_{FOC} = 15.41$ 宮崎土壌 $K_F = 0.182$, $K_{FOC} = 19.03$ (試験温度 25°C) * 低吸着性のため相関係数が低く、 正確には求められていない	NOTOX ^a (2001年)	243
E-5 GLP	水中光分解	蒸留水 自然水 ¹⁴ C ¹⁴ C	濃度: 1.0ppm キセノンアークランプ	$T_{1/2}(25^\circ\text{C})$: 蒸留水; 36.4~39.6 時間 自然水; 33.6~41.7 時間 分解物: 添加濃度の 10%を超える分解物は 認められなかった。	日本農薬㈱ (1999年)	245
E-6	水中光分解(分解生成物の構造推定)	蒸留水 自然水 ¹⁴ C ¹⁴ C	濃度: 10ppm キセノンアークランプ	水中光分解試験(25°C)の主分解物をチオール体(代謝物一覧表を参照)と推定した。	日本農薬㈱ (2001年)	248
E-7 GLP	水中光分解	蒸留水 自然水 ¹⁴ C	濃度: 0.54ppm キセノンアークランプ	$T_{1/2}(25^\circ\text{C})$: 蒸留水; 67.4 時間 自然水; 62.8 時間 分解物: 添加濃度の 10%を超える分解物が 認められた。	日本農薬㈱ (2001年)	250
E-8	水中光分解(分解生成物の構造推定)		誘導化(メチル化、アセチル化)	水中光分解試験(25°C)で 10%を超えた分解物はチアジアゾール環の開裂された化合物であることが示唆された。	日本農薬㈱ (2001年)	253
E-9 GLP	加水分解	3種 緩衝液 純品 (99.9%)	濃度: 5ppm	$T_{1/2}$: pH 4.0; 安定 (50°C、5日後) pH 7.0; 866 日 (25°C) pH 9.0; 286 日 (25°C) 分解物: D、F	日本農薬㈱ (2000年)	254

a: NOTOX Safety and Environmental Research B.V.(オランダ)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記 載 頁
E-10 GLP	加水分解	3種緩衝液 代謝物標品 (99.5%)	濃度: 326~358 ppm	pH 4.0、7.0 および 9.0 で安定 (50°C、5 日後)	NOTOX ^a (2001 年)	256

a: NOTOX Safety and Environmental Research B.V.(オランダ)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称	化学名	構造式
A	親化合物 (チアゾニル)	SV-89601	3'-クロロ-4,4'-ジメチル-1,2,3- チアジアゾール-5-カルボキサニリド	
B				
C				
D				
E				
F				
G				
H				
I				
J				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式
K				
L				
M				
N				
O				