

12. 繁殖毒性に及ぼす影響および催奇形性

(1) トラロメトリンのラットを用いた二世世代繁殖毒性試験

(資料 No. 原体-32)

試験機関：

報告書作成年：1985年 [GLP 対応]

当該試験は下記の2試験から構成されている。

(I) ラットの二世世代繁殖毒性試験

(II) ラットの周産期および出産後試験

(I) ラットの二世世代繁殖毒性試験

検体の純度：98.5%

試験動物：COBS CD系ラット
1群雄12匹 40日齢（平均体重162g）、雌24匹 40日齢（平均体重141g）

投与期間：F₀ 交配約14週間前から屠殺時まで 約31週間
F₁ 生後40～42日から屠殺時まで 約29週間
(試験期間：1980年11月11日～1982年2月16日)

投与方法：検体をコーンオイルに溶解し、0.75、3.0および12.0mg/kg/日を強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを投与した。投与容量は、F₀世代は10mL/kg、F₁世代は5mL/kgとした。F₀世代は雌雄共交配前約14週間前に投与を開始した。F₁世代は雌雄共に生後22日に投与開始する予定であったが、高用量群で死亡が多発したため一時休止し、生後40～42日より投与を開始した。投与液は毎週1回調製した。

投与量設定根拠：投与量は既に実施したラットの催奇形性試験（資料No. 参考-1）および13週間亜急性毒性試験（資料No. 原体-21）の結果に基づいて設定した。ラットの催奇形性試験では、18mg/kg/日投与群で雌の1例に立毛、鎮静の症状を示し第21日には死亡に至った。また、同群の雌10例において投与第1週に体重減少あるいは顕著な体重増加抑制が認められた。ラット亜急性毒性試験では、18mg/kg/日投与群で雄15/20、雌17/20が死亡した。

したがって、繁殖試験ではF₀、F₁世代ともに投与期間が長期に渡るため、最高用量を12mg/kg/日とし、公比4で以下の投与量を設定した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態および死亡率； 生死および一般状態を毎日2回観察した。詳細な状態観察を親動物および離乳児について行い1週毎に行った。

体重； 雌雄とも週1回測定した。雌は、さらに妊娠0、6、15および20日ならびに哺育0、7、14および21日に測定した。

摂餌量； 雌雄とも交配期間を除き、世代終了時まで週1回測定した。性別群平均摂餌量をg/ラット/日およびg/体重kg/日の単位で算出した。

交配および妊娠の確認； F_0 世代は、投与開始100日目以降に交配を開始した。雌雄2対1で、膣栓が認められるまでかまたは最長15日間同居させた。 F_1 世代については、 F_1 世代は生後40~42日に投与を開始し120日間投与以降に F_0 世代と同様に交配させた。膣栓が認められた日を妊娠0日とした。

なお、 F_0 世代の最初の交配でEPAの指針が定める1群当たり20腹の F_1 産児が得られなかったため、この産児 F_{1a} を各検査後離乳時に屠殺・廃棄した。 F_0 親動物を10日以上休ませた後再交配し F_{1b} を得た。

精子形成能検査； 全 F_0 雄動物については屠殺時に全例について精巣を精巣上体とともに摘出し、精巣重量を測定後、精巣上体尾部に切開し精液サンプルを採取した。これを0.9%生理食塩水と混和し、スライドガラスに滴下後鏡検した。また、全 F_0 雄動物から採取した精巣は病理組織検査に供するため保存した。

妊娠検査； 交配後出産しなかった母動物全てについて子宮を検査し、10%硫化アンモニウム水溶液に浸漬して妊娠を確認した。

病理学検査； F_0 および F_1 親動物各群雌雄各10匹、 F_{1b} および F_2 児動物各群各5匹、各世代の全死亡動物について剖検後主要臓器および組織を採取した。なお、 F_0 および F_1 世代の親動物雌雄は屠殺時（ F_0 では F_1 親の継代用児選抜後および F_1 では F_2 離乳後30日目）まで検体を投与した後に、剖検した。いずれの動物も心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および精巣（精巣上体を含む）について重量を測定後、下記の臓器・組織を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

脳、眼球、末梢神経、甲状腺、下垂体、副腎、脾臓、心臓、大動脈、唾液腺、食道、胃、結腸、十二指腸、回腸、空腸、肝臓、腎臓、膀胱、肺、気管、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、乳腺、卵巣、子宮、子宮頸管、精巣（精巣上体含む）、精囊、前立腺、皮膚、骨格筋、異常部位および組織塊。

F_1 親動物各群雌雄各10匹、 F_1 および F_2 児動物各群各5匹、 F_0 および F_1 の全死亡動物から採取した上記臓器・組織（下線部を付したもの）ならびに全 F_0 雄動物の精巣についてパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン-エオシン染色を施した後鏡検した。なお、組織塊についても組織学的検査を実施した。

児動物； 哺育期間中に死亡した児動物は可能な限り剖検した。児数調整のために間引かれた児動物は病理学的検査を実施せずに屠殺した。

世代		期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
親	児			
F ₀		生育 (約 14 週間)		一般状態・生死を毎日 2 回観察。 体重を週 1 回測定。 交配期を除き、摂餌量を週 1 回測定。
		交配 (最長 15 日間)	雌雄 2 : 1 で交配。交尾は膣栓で確認 (妊娠 0 日)。	交配状況の観察。 交配期間中は摂餌量を測定せず。
F _{1a}		妊娠 (3 週間)	妊娠 0 日に母動物を個別ケージに移す。	分娩末期に毎日 2 回分娩状況観察。 妊娠 0、6、15 および 20 日に体重を測定。 出産状況の観察。
		出産		同腹児数、死産児数、生存産児数および肉眼的奇形の観察。 交尾後出産しなかった母動物全てについて子宮を検査し、10%硫化アンモニウム水溶液に浸漬して妊娠を確認した。
		哺育 (3 週間)		哺育 0、7、14 および 21 日に母動物体重を測定。 哺育 0、4、7、14 および 21 日に児動物の体重測定および異常行動、外観を観察。
		離乳	(F _{1a} では、20 匹/腹が得られなかったため離乳時麻酔後廃棄した。)	
F _{1b}		生育 (約 10 日間)		
		交配 (最長 15 日間)	雌雄 2 : 1 で交配。交尾は膣栓で確認 (妊娠 0 日)。	交配状況の観察。 交配期間中は摂餌量を測定せず。
		妊娠 (3 週間)	妊娠 0 日に母動物を個別ケージに移す。	分娩末期に毎日 2 回分娩状況観察。 妊娠 0、6、15 および 20 日に体重を測定。
		出産		(F _{1a} に準ずる)
		哺育 (3 週間)	出産後 3 日以上経過後に、F _{1b} から各群無作為にまず、雄 24 匹および雌 48 匹を選抜した。(選抜から外れた児については屠殺後廃棄)	(F _{1a} に準ずる)
		離乳	F ₁ 親の継代用に各群雄 12 匹および雌 24 匹を無作為に選抜。 F _{1b} では離乳後第 1 週に 12.0mg/kg/日群において死亡が多発したため、補充動物を追加選抜した。	F _{1b} 児選抜後、F ₀ 親動物は屠殺した。 この時無作為に選抜した各群の雌雄各 10 匹について剖検を行い、病理組織学検査に備え主要臓器および組織を保存した。また、F ₀ 雄動物については同時に全例について精巣を精巣上体とともに摘出し、精巣については重量を測定し、精巣上体については成熟精子の有無を調べた。 無作為に選抜した各群の F _{1b} 児雌雄各 5 匹について剖検を行い、病理組織学検査に備え主要臓器および組織を保存した。残りの F _{1b} 児は屠殺した。

世代		期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
親	児			
F ₁	F ₂	生育 (約 23 週間)	生後 40 から 42 日に投与開始した。	(F ₀ 世代に準ずる)
		交配 (最長 15 日間)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
		妊娠 (3 週間)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
		出産	-----	(F _{1b} に準ずる)
		哺育 (3 週間)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F _{1b} に準ずる)
		離乳	(F ₁ 世代に準ずる)	(F _{1b} に準ずる) ただし、F _{2b} 児離乳後 30 日目に F ₁ 親動物は屠殺した。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{妊娠率 (\%)} = \frac{\text{妊娠した動物数}}{\text{同居させた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{雄の授胎率 (\%)} = \frac{\text{雌を妊娠させた雄動物数}}{\text{同居させた雄動物数}} \times 100$$

$$\text{生存率 (\%)} = \frac{\text{調査日における全生存児数}}{\text{全胎児数 (4 日目以降について 前回調査日における全生存児数)}} \times 100$$

結果：概要を次頁の表に示した。

1) 親動物

1. 死亡率 : F₀およびF₁世代ともに、対照群を含む各群で散発的に死亡が認められたが、用量関連性がなく、病理学的検査によりこれらは挿管ミスによる投与過誤または偶発的な死亡と判断され、検体投与による影響とは考えられなかった。
2. 体重 : F₀およびF₁世代ともに、雄の12.0mg/kg/日群ならびにF₁雄の3.0mg/kg/日群で体重増加抑制が認められた。F₁雄の3.0mg/kg/日群の体重増加抑制は一過性の変化であったため偶発的と考えられるが、12.0 mg/kg/日群の変化は検体投与の影響によると考えられた。しかし、雌ではF₀およびF₁世代ともに、体重に変化は認められなかった。[申請者追記] F₀世代雄の12.0mg/kg/日群の体重増加抑制は第3週より抑制され始め、第1週目の体重は対照群と比較してほとんど差がないことから(対照群を100とした場合96)単回投与による急性毒性影響とは考えなかった。

3. 摂餌量 : 体重当りの摂餌量が12.0mg/kg/日群のF₀およびF₁世代雌雄で増加した。
 4. 一般状態 : 12.0mg/kg/日群のF₀雄において軟便、脱毛、同雌において流涎が対照群に比して多く認められた。その他、F₁世代においても種々の所見が認められたが、いずれも一過性あるいは用量関連性のない変化でありいずれも偶発的な所見と判断した。
[申請者追記]12.0mg/kg/日群のF₀雌にみられた流涎は、投与3週から9週にかけて観察されたので単回投与による急性毒性影響とは考えなかった。
 5. 剖 検 : F₀およびF₁世代ともに、検体投与による影響と考えられる肉眼的所見は認められなかった。
 6. 臓器重量 : F₀世代の3.0ないし12.0mg/kg/日群雄を中心に肝臓、腎臓、脾臓、精巣（精巣上体含む）、副腎および心臓の対体重比に統計学的に有意な増加が認められたが、これらは体重低下に伴う影響と判断され、検体投与による影響は認められなかった。F₁世代でも同様に、3.0および12.0mg/kg/日両群雄に肝臓の対体重比に統計学的に有意な増加が認められたが、体重低下に伴う影響と判断された。また、3.0mg/kg/日群雌の肝臓および副腎の実重量増加は用量関連性がないことから投与による変化とは考えられなかった。
 7. 病理組織学的検査 : F₀およびF₁世代ともに、いずれの組織にも検体投与に起因する病変は認められず、自然発生あるいは偶発的所見かあるいは投与の際の挿管による損傷であった。
 8. 雄の授精率・精子形成能 : 授精率についてはF₀およびF₁世代ともに、いずれの投与群においても、検体投与による影響は認められなかった。F₀雄動物を対象とした精子形成能の検査では投与による影響は認められなかった。
 9. 雌の妊娠率・妊娠期間・分娩過程・哺育 : F₀およびF₁世代ともに、いずれの投与群においても、検体投与による影響は認められなかった。
- 2) 児動物
1. 体重 : F_{1a}では、出生時体重には対照群と投与群で差はなかったが、0.75mg/kg/日投与群では哺育14日と21日（雌）に、3.0 mg/kg/日投与群では哺育14日以降12.0mg/kg/日投与群では哺育4および7日に統計学的に有意な体重低下が認められた。F_{1b}では、12.0mg/kg/日投与群で哺育4日に統計学的に有意な低下が認められた。また、F₂では全投与群で哺育期間のいずれかに対照群と比較して統計学的に有意な体重低下が認められた。これらは投与による影響と考えられた。

[申請者追記]

対照群と比較した時に全投与群に認められた統計学的に有意な体重低下について以下のように考察した。

以下の表に当該研究機関の背景データ（1977年～1980年）と本試験における児動物の体重を示す。

			0日	4日	7日	14日	21日(雄)	21日(雌)
			体重	体重	体重	体重	体重	体重
背景データ		平均値 (範囲)						
本 試 験	対照群	I F _{1a}	6.5	10.9	16.2	31.0	49.4	48.6
		F _{1b}	6.9	11.3	16.1	29.2	48.1	47.3
		F ₂	7.0	12.3	17.9	30.6	50.8	48.7
		II F	6.0	9.5	13.5	24.5	38.4	37.3
	0.75 mg/kg/日群	I F _{1a}	6.3	10.1	15.0	27.5*	44.2	42.9*
		F _{1b}	6.9	11.1	15.4	27.5	47.0	46.0
		F ₂	6.6	10.8*	15.3*	27.2	43.3	41.8
		II F	5.8	9.1	12.9	25.1	38.7	37.8
	3 mg/kg/日群	I F _{1a}	6.2	10.0	14.6	27.0*	43.8*	42.5*
		F _{1b}	6.5	9.9	13.8	25.1	42.1	40.7
		F ₂	6.5	10.7*	15.1*	25.6*	43.0	42.0
		II F	6.1	10.0	14.8	26.9*	42.3*	40.9
	12 mg/kg/日群	I F _{1a}	6.3	8.7**	13.5**	27.2	44.8	42.5
		F _{1b}	6.2**	9.5*	13.9	27.0	45.2	42.8
		F ₂	6.6	10.0*	14.4*	26.1*	43.5	41.0*
		II F	5.4*	8.2**	12.1	23.8	37.3	36.2

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Dunnettの多重比較検定)

表に示すように本試験（I）における各世代の対照群の平均体重は背景データと比較すると高い傾向にあった。0.75mg/kg/日群において、認められた統計学的に有意に低下している体重は全て背景データの範囲内であった。これらのことから児動物の体重低下は統計学的に有意差が認められたものの毒性学的意味はないものと考えられた。なお、これを確認するために試験（II）を実施したものであるが、0.75 mg/kg/日投与群では児動物の体重に影響は認められなかった。また、3.0mg/kg/日群においても、F₂世代の14日目のみで背景データの範囲外であったが、4日、7日さらに21日目もすべての世代で背景データの範囲内であったことから離乳までに十分に生育していると考えられた。したがって、これらの変化も毒性学的に意味のないものと考えられた。

2. 新生児数・死産児数： F_{1a}、F_{1b}およびF₂産児ともにいずれの投与群においても、検体投与による影響は認められなかった。
3. 生存率： 生後4日の生存率が対照群と比較して12.0mg/kg/日群のF_{1a}およびF_{1b}産児で統計学的な有意差はないもののやや低下した。F₂では差は認められなかった。また、生後7、14および21日の生存率に検体投与の影響は認められなかった。

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

4. 一般症状：F_{1b}、F_{1b}およびF₂産児ともにいずれの投与群においても、検体投与による影響と考えられる所見は認められなかった。
5. 剖 検：F_{1b}およびF₂産児ともにいずれの投与群においても、検体投与による影響と考えられる所見は認められなかった。
6. 臓器重量：F_{1b}およびF₂産児ともにいずれの投与群においても、検体投与による影響と考えられる所見は認められなかった。
7. 病理組織学的検査：F_{1b}およびF₂産児ともにいずれの投与群においても、検体投与による影響と考えられる所見は認められなかった。

以上の結果、哺育期間中に出生児の体重増加抑制が、0.75、3.0および12.0mg/kg/日群で認められ、また、12.0 mg/kg/日群では生後4日目の生存率が低下し、検体投与による影響と考えられた。

[申請者追記]

以上の結果、親動物では12.0 mg/kg/日群に体重増加抑制、摂餌量の増加、一般症状（流涎等）が認められた。

児動物では12.0 mg/kg/日群に体重増加抑制および生後4日目の生存率の低下が認められた。繁殖への影響はいずれの世代でも認められなかった。

したがって、無毒性量は親動物、児動物ともに3.0 mg/kg/日と考えられた。

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

試験結果：(I)

世代		親：F ₀				親：F ₁ 、 児：F ₂				
投与量 (mg/kg/日)		0	0.75	3.0	12.0	0	0.75	3.0	12.0	
動物数	♂	12	12	12	12	12	12	12	12	
	♀	24	24	24	24	24	24	24	24	
一般状態	♀	-			流産 8/24	-				
死亡数	♂	0	0	3	1	0	0	0	1	
	♀	1	0	1	3	2	1	0	1	
体重 T	14週/52週	♂			↓90			↓93	↓88	
		♀								
	33週/66週	♂				↓82			↓82	
		♀								
妊娠中の母動物 の体重増加量 (g) (0-20日) T	a	115	119	120	113	109	108	113	120	
	b	119	115	126	126					
哺育中の母動物 の体重増加量 (g) (0-21日) T	a	1	-11	-1	16	-8	3	-1	9	
	b	-26	-22	-21	-4					
摂餌量 (g/kg/日)	♂	32.6	33.0	33.4	39.9	43.9	43.9	47.3	49.1	
	♀	58.4	61.9	65.0	63.2	65.7	64.2	66.8	71.4	
剖検所見	♂♀	-				-				
最終体重	♂				84			90	85	
	♀				95					
臓器重量 体比 (%) T 親動物	脾臓	♂			↑111			↑127(実重量)		
		♀								
	肝臓	♂			↑114	↑117			↑122	↑123
		♀								
	腎臓	♂				↑109				↑120
		♀								
	心臓	♂				↑115				
		♀								
	副腎	♂				↑126				↑128
		♀				↑120			↑119(実重量)	
	精巣	♂				↑120				
		♀								
妊娠期間 (日)	a	22.2	22.0	22.2	22.3	22.4	22.3	22.1	22.3	
	b	22.7	22.7	22.3	22.6					
妊娠率 (%) C	a	69.6 (16/23)	75.0 (18/24)	79.2 (19/24)	61.9 (13/21)	70.8 (17/24)	66.7 (16/24)	70.8 (17/24)	75.0 (18/24)	
	b	52.2 (12/23)	75.0 (18/24)	70.8 (17/24)	71.4 (15/21)					
雄の授精率 (%) C	a	83.3 (10/12)	100.0 (12/12)	60.0 (6/10)	72.7 (8/11)	91.7 (11/12)	66.7 (8/12)	83.3 (10/12)	90.9 (10/11)	
	b	66.7 (8/12)	91.7 (11/12)	80.0 (8/10)	81.8 (9/11)					
精子形成能検査	♂	-				検査せず				
病理組織学的検査	♂♀	-				-				

T: ANOVA + Bartlett + t検定、C: Yatesの補正を加えたカイ二乗検定またはFisher検定

↑ ↓ : p < 0.05, ↑ ↓ : p < 0.01 体重と臓器重量体比の数値は、対照群を100としたときの値を示す。

空白は、異常なしを示す。 - : 検体投与に関連した変化なしを示す。

a: F₀を産出した最初の交配時、b: F₀を産出した再交配時

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

試験結果：(I)

世代		親：F ₀ 、 児：F _{1a} 、 F _{1b}				親：F ₁ 、 児：F ₂				
投与量 (mg/kg/日)		0	0.75	3.0	12.0	0	0.75	3.0	12.0	
妊娠母体数	a	16	18	19	13	17	16	17	18	
	b	12	18	17	15					
新生児総数 (0日目)	a	177	241	257	148	156	192	205	205	
	b	146	203	206	166					
死産児総数	a	17	3	5	11	6	3	11	10	
	b	5	6	15	22					
新生児数/腹T	a	11.1	13.4	13.5	11.4	9.8	12.0	12.1	11.4	
	b	12.2	11.3	12.1	11.1					
生存率 (%) U										
0日	a	91.2	98.8	98.1	93.1	96.3	98.5	94.9	95.3	
	b	96.7	97.1	93.2	88.3					
4日	a	91.5	98.8	98.1	85.8	98.7	97.9	98.0	95.6	
	b	100	100	98.5	86.7					
7日	a	100	99.6	99.6	97.6	99.4	100	98.0	99.5	
	b	100	100	99.0	98.6					
14日	a	100	100	99.2	100	100	99.5	99.0	99.0	
	b	100	100	99.0	100					
21日	a	100	100	100	100	100	100	100	99.0	
	b	100	99.5	99.0	99.3					
体重 (g) T										
0日	a	6.5	6.3	6.2	6.3	7.0	6.6	6.5	6.6	
	b	6.9	6.9	6.5	↓6.2					
4日	a	10.9	10.1	10.0	↓8.7	12.3	↓10.8	↓10.7	↓10.0	
	b	11.3	11.1	9.9	↓9.5					
7日	a	16.2	15.0	14.6	↓13.5	17.9	↓15.3	↓15.1	↓14.4	
	b	16.1	15.4	13.8	13.9					
14日	a	31.0	↓27.5	↓27.0	27.2	30.6	27.2	↓25.6	↓26.1	
	b	29.2	27.5	25.1	27.0					
21日	a	♂	49.4	44.2	↓43.8	44.8	50.8	43.3	43.0	43.5
		♀	48.6	↓42.9	↓42.5	42.5	48.7	41.8	42.0	↓41.0
	b	♂	48.1	47.0	42.1	45.2				
		♀	47.3	46.0	40.7	42.8				
一般状態	a, b	-				-				
剖検所見	b	-				-				
臓器重量T	b	-				-				
病理組織学検査	b	-				-				

T: ANOVA + Bartlett + t検定、U: Mann-WhitneyのU検定 ↑ ↓ : p < 0.05、↑ ↓ : p < 0.01

- : 検体投与に関連した変化なしを示す。

a : F_{1a}を産出した最初の交配時、b : F_{1b}を産出した再交配時

(II) ラットの周産期および出産後試験

目的：試験(I)において出生児の体重増加抑制が、0.75mg/kg/日では哺育期間の後期に、3.0および12.0mg/kg/日群では哺育期間を通じて認められ、検体が出生児の成長に影響を及ぼすと考えられたため、試験(II)では妊娠15日から哺育20日まで親動物に検体を投与し、児動物の成長への影響を確認した。

検体の純度：98.5%

試験動物：Sprague Dawley COBS CD系ラット
1群 妊娠雌20匹 84日齢(妊娠0日目の平均体重235g)

投与期間：妊娠15日から哺育20日(未出産の場合は妊娠24日まで)
(試験期間：1983年5月23日～1983年7月10日)

投与方法：検体をコーンオイルに溶解し、0.5、0.75、3.0および12.0mg/kg/日を強制経口投与した。対照群は、コーンオイルのみとし、投与容量は10mL/kgとした。投与液は毎週1回調製した。

交配および観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態および死亡率；投与の開始前に雌動物の生死および一般状態を毎日2回観察した。また、妊娠15日から哺育21日目まで、雌動物の生死を毎日2回、一般状態を毎日1回観察した。

体重；各母動物の体重を妊娠0、6、15および20日ならびに哺育0、7、14および21日に測定した。臍栓が認められた日を妊娠0日とした。

剖検；哺育21日に生存した全母動物を二酸化炭素吸入により屠殺し、直ちに子宮および卵巣を摘出し着床数を観察した。腹部および胸腔の内容物を肉眼観察し、死体を廃棄した。交尾後25日目に交尾したが分娩しなかった全雌動物を屠殺し、子宮を検査し、10%硫化アンモニウム水溶液に浸漬して妊娠を確認した。肉眼的に認められた病変部位は10%中性緩衝ホルマリン液中に保存した。

分娩の観察；全ての母動物に自然分娩させ、分娩予定期間中は産児の有無を毎日2回観察した。全産児が認められ、分娩が完了した日を哺育0日とした。妊娠期間を計算し、分娩に際して生じたすべての異常を記録した。

児動物の観察；分娩後、全産児について肉眼的に奇形を調べた。同腹児数、生存産児数および死産数を母動物毎に観察した。各産児の体重を、哺育0、4、7、14および21日に測定し外観を検査した後、性別を哺育21日目に検査した。哺育期間中に死亡した児動物は可能な限り剖検した。離乳後21日を経過した時点で全産児を屠殺した。

世代		期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
親	児			
F ₀	F ₁	交配	雌雄 1:1 で交配。交尾は膣栓で確認 (妊娠 0 日)。	一般状態・生死を毎日 2 回観察。 交配状況の観察。
		妊娠 (3 週)	妊娠 0 日に母動物を個別ケージに移す。	妊娠 15 日から F ₀ 雌の生死を毎日 2 回、一 般状態を毎日 1 回観察。 分娩期間中に毎日 2 回分娩状況観察。 妊娠 0、6、15 および 20 日に体重を測定。
		出産 ----- 哺育 (3 週)	-----	出産状況の観察。生じたすべての異常を記 録。 同腹児数、死産児数、生存産児数および肉 眼的奇形の観察。 哺育 0、7、14 および 21 日に母動物体重を 測定。 哺育 0、4、7、14 および 21 日に児動物の体 重測定および異常行動、外観を観察。 交尾後出産しなかった母動物全てについて 子宮を検査し、10% 硫化アンモニウム水溶液 に浸漬して妊娠を確認した。 哺育 21 日目に、各産児の性別を検査した。
		離乳-----	-----	F ₁ 児離乳後 21 日経過時点で、各児動物は屠 殺した。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{妊娠率 (\%)} = \frac{\text{妊娠した動物数}}{\text{同居させた雌動物数}} \times 100$$

結果：概要を次頁の表に示した。

1) 親動物

1. 死亡率 ; いずれの投与群においても死亡動物は認められず、死亡率は0%であった。

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

試験結果：(II)

世 代		親：F ₀ 、 児：F ₁				
投与量 (mg/kg/日)		0	0.5	0.75	3.0	12.0
妊娠動物数		20	20	20	20	20
死亡率 (%)		0	0	0	0	0
一般症状		—				3匹に流涎
体重増加量 (g) †						
妊娠期間	0~6日	23	21	22	23	21
	6~15日	40	41	40	40	42
	15~20日	57	57	58	54	38
	0~20日	119	120	121	117	100
哺育期間	0~7日	19	26	16	23	22
	7~14日	5	3	12	6	7
	14~21日	-3	-6	-6	-7	3
	0~21日	21	23	22	22	32
妊娠率 (%) c		100	100	95	100	100
妊娠期間 (日)		21.9	21.8	21.7	21.9	22.0
剖検所見						
子宮所見 (腹)	総着床数	14.3	14.1	13.8	13.6	13.4
	出産数	12.5	12.8	13.0	12.0	12.3
	残留着床数	1.8	1.3	0.8	1.6	1.2
出産時の生存児数/腹†		12.2	12.7	12.9	11.9	11.5
出産時の死産児数/腹		0.3	0.1	0.1	0.2	0.8
生存率 (%) u						
生後0日	生存児数/出産数	97.6	99.2	99.2	98.8	93.5
生後4日	生存児数/0日生存児数	97.5	99.2	99.2	98.7	79.9
生後7日	生存児数/4日生存児数	99.6	100	99.2	99.6	100
生後14日	生存児数/7日生存児数	100	100	99.6	100	99.5
生後21日	生存児数/14日生存児数	99.6	100	100	100	100
生存胎児体重 (g) †						
生後	0日	6.0	5.8	5.8	6.1	↓5.4
	4日	9.5	9.4	9.1	10.0	↓8.2
	7日	13.5	13.5	12.9	14.8	12.1
	14日	24.5	25.5	25.1	↑26.9	23.8
21日	♂	38.4	38.4	38.7	↑42.3	37.3
	♀	37.3	37.3	37.8	40.9	36.2
外観および死亡児の剖検		—				

C: Yatesの補正を加えたカイ二乗検定またはFisher検定

T: ANOVA + Bartlett + t検定

U: Mann-WhitneyのU検定 ↑↓: p < 0.05、↑↓: p < 0.01

—: 検体投与に関連した変化なしを示す。

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

2. 一般状態； 12.0mg/kg/日投与群で、少数例に流涎が認められた。その他の群では異常所見は認められなかった。[申請者追記]
 3. 体重； 12.0mg/kg/日投与群では、妊娠期間中の体重増加量が低値を示した。同群の哺育期間およびその他の群では対照群と同等であった。[申請者追記]
12.0mg/kg/日投与群にみられた15～20日の体重増加量の減少については、20日の体重は対照群の10%未満の低下(対照群を100としたとき、12.0mg/kg群は95)であったこと、さらに5日間毎に測定していることを踏まえて、単回投与による急性毒性影響とは考えなかった。
 4. 妊娠率・妊娠期間； いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。
 5. 剖検および子宮所見； いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。
- 2) 児動物
1. 出生児数・死産児数； 12.0mg/kg/日投与群では出産時の生存児数/腹の減少が認められたが、統計学的には有意ではなかった。これに伴い、死産児数の増加が認められたが、これは1腹で全11匹が死産であった親の影響であった。その他の群の生存児数は対照と同等であった。
 2. 生存率； 12.0mg/kg/日投与群で生後4日目の生存率に低下が認められたが、統計学的には有意ではなかった。これは3腹で生後4日以内に産児が死亡した影響であった。その他の群の生存率は対照と同等であった。
 3. 外観および死亡児の剖検；いずれの投与群においても検体投与の影響による異常所見は認められなかった。
 4. 生存児の体重； 12.0mg/kg/日投与群では、生後0および4日(哺育期間初期)の体重が対照群と比較し統計学的に有意な低値を示したが、生後7日以後は統計的な有意差は認められなかった。また、3.0mg/kg/日以下の用量では生存児体重に影響は認められなかった。

以上の結果、親動物では、12.0 mg/kg/日投与群で流涎、体重増加抑制が認められた。児動物では、12.0 mg/kg/日投与群で、生産児数/腹の軽度の減少、生後4日目の生存率に低下および哺育期間初期の体重増加抑制が認められた。したがって無毒性量は親動物、児動物共に3.0 mg/kg/日と考えられた。

なお、試験(Ⅱ)において離乳時に体重が低値を示した場合には、児動物を無処置のまま9週間飼育し、体重測定をする予定であった。しかし、上述のように12.0mg/kg/日投与群でのみ出産時および生後4日目の体重に有意な低値が認められたが、離乳時には対照群と同程度であったため9週間の回復試験は実施しなかった。

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

[申請者追記]

以上の二つの試験結果より、親動物では12.0 mg/kg/日群に体重増加抑制、摂餌量の増加、流涎が認められた。児動物では12.0 mg/kg/日群に生存児数/腹の軽度の減少、生後4日目の生存率の低下および体重増加抑制が認められた。繁殖への影響は認められなかった。

したがって、これら二つの試験を併せた無毒性量は、親動物および児動物に対しては3.0 mg/kg/日、繁殖に対しては12.0 mg/kg/日と考えられた。

(2) トラロメトリンのラットを用いた催奇形性試験

(資料 No. 原体-33)

試験機関：

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度：98.5%

試験動物：CrL:COBS CD(SD)BR系妊娠ラット (7~8週齢)、1群25匹

投与期間：妊娠6日~15日 10日間 (1983年9月28日~1983年10月17日)

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、0、2、6及び18mg/kg/日の用量で、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。投与液量は体重100gあたり1.0mLとした。

なお、対照群にはコーンオイルのみを投与した。投与液は用時調製した。

用量設定理由：記載なし。

観察・検査項目：

親動物；膣栓あるいは膣垢中に精子が認められた日を妊娠0日とし、妊娠1日にコンピュータによる階層化無作為化法で群分けした。一般症状を毎日観察し、妊娠1、3、6、10、14、17及び20日に体重と摂餌量を測定した。妊娠20日目に解剖し、親性器官の先天性異常及び肉眼的病理学的変化の有無を検査した後、黄体数、生存児動物数、初期あるいは後期死亡数について検査した。着床がみられない子宮については、10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し、ごく初期の児死亡の痕跡について検査した。

腹毎に着床前胚損失率 [(黄体数-着床数) / 黄体数 × 100]、
着床後胚損失率 [(着床数-生存胎児数) / 着床数 × 100] を算出した。

胎児動物；外表検査を実施した後、体重を測定した。腹毎に性比 [雄 / (雄+雌) × 100] を算出した。各腹の半数の胎児についてブアン液で固定後、Wilson法により内臓異常を検索した。残りの半数の胎児について性別決定後、Dawson変法によりアリザリン染色骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果：概要を次表に示した。

親動物；

死亡は認められなかった。投与の影響による一般状態の変化として、流涎が用量関連性に認められ、その程度・頻度は投与期間後半により増加した。しかしながら、同様の変化は対照群にも投与後半に認められていること、別のラットを用いた催奇

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

形性試験（資料 No. 参-1）では最高濃度の 18mg/kg/日まで認められていないこと、また、繁殖試験においても 3mg/kg/日群では認められていないことから、少なくとも 2mg/kg/日群で認められた変化は毒性学的に意味のないものと考えられた[申請者追記]。

体重では、18mg/kg/日群で投与期間中の体重増加量が軽度に減少した。6 及び 2mg/kg/日群の妊娠 6 から 9 日の体重増加量もごく軽度に減少したが、投与の影響と判断されるほど明確ではなかった。

摂餌量では、18mg/kg/日群で妊娠 6 から 9 日の摂餌量が軽度に減少した。

着床所見では、投与による影響は認められなかった。18mg/kg/日群の着床後胚損失率が対照群と比較して増加したが統計学的有意差は認められなかった。これは主として一腹で大きな損失（70%）が認められたことによるものであった。

胎児動物；

投与の影響によると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果より、親動物では流涎がみられたことから全投与量で影響が認められた。また、本検体は最高投与量の18mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を示さなかった。

[申請者追記]親動物においては、18mg/kg/日群で一般症状（流涎）、体重増加抑制および摂餌量の減少、6mg/kg/日群では一般症状（流涎）が認められたことから、無毒性量は2mg/kg/日と判断した。胎児動物においては無毒性量を18mg/kg/日と判断した。催奇形性は認められなかった。

[申請者追記]

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

結果の概要(親動物)

投与量 (mg/kg/日)		0	2	6	18	
1 群当り動物数		25	25	25	25	
妊娠動物数		22	22	22	20	
親動物	死亡数	0	0	0	0	
	一般症状					
	流涎	妊娠6-10日 (軽度)	0/22	6/22	18/22	18/20
		(重度)	0/22	0/22	0/22	2/22
	妊娠11-15日 (軽度)		22/22	22/22	20/22	15/20
		(重度)	0/22	0/22	2/22	5/20
	摂餌量 (g/日) *b	妊娠1-2日	21.3	21.8	21.0	20.7
		妊娠3-5日	23.2	23.1	22.4	22.1
		妊娠6-9日	19.2	19.2	19.6	17.2
		妊娠10-13日	19.8	19.7	18.7	19.1
		妊娠14-16日	20.5	21.5	20.1	19.9
		妊娠17-19日	24.4	24.8	24.3	23.8
	体重増加量(g) *b	妊娠1-6日	48.6	48.7	47.5	44.7
		妊娠6-14日	52.1	53.0	50.4	48.0
		妊娠6-17日	81.9	82.1	78.9	73.7
妊娠6-20日		116.3	117.5	115.9	108.0	
剖検所見		-	-	-	-	
着床所見 (一腹あたり)	黄体数K	12.8	13.0	12.7	12.7	
	着床数K	11.3	11.8	11.5	11.2	
	着床前胚損失率 (%) K	12.0	8.4	10.0	13.3	
	着床後胚損失率 (%) K	4.7	7.4	4.5	10.7	
	吸収胚K	早期	0.5	0.8	0.5	0.9
		後期	0.1	0.1	0.0	0.4
		早期+後期	0.5	0.9	0.5	1.2
生存胎児数 K		10.7	10.9	10.9	10.0	

*: 平均値、b: Bartlett 検定 (申請者で実施) 後 t 検定実施 (有意差なし)

K: Kruskal-Wallis 検定実施 (有意差なし)

-: 異常なし

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

結果の概要 (胎児動物)

投与量 (mg/kg/日)		0	2	6	18	
胎児動物	性比 (雄%) K	49.7	49.8	51.0	50.2	
	児重量 (g/腹) K	36.86	37.79	38.03	35.61	
	平均胎児体重 (g) K	3.47	3.47	3.49	3.59	
	奇形	検査胎児数	236 (22)	240 (22)	240 (22)	200 (20)
		奇形を有する胎児数 (腹数) F	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
		奇形発生率 (%) K	0.4	0.4	0.4	0.4
		臍ヘルニア F	1 (1)	0	0	0
		水頭 F	0	1 (1)	0	0
		心室中隔欠損 F	0	1 (1)	0	0
		小眼球 F	0	1 (1)	0	0
複合奇形 (血管系) F		0	0	1 (1)	0	
肺分葉異常 F		0	0	1 (1)	0	
副腎位置異常 F	0	0	1 (1)	0		
内臓逆位 F	0	0	0	1 (1)		
内臓	異常	検査胎児数	117 (22)	119 (22)	119 (22)	100 (20)
		異常を有する胎児数 (腹数) F	7 (6)	9 (7)	8 (7)	3 (3)
		異常発生率 (%) K	6.0	7.6	6.7	3.0
		腎盂拡張 F	1 (1)	3 (2)	4 (4)	1 (1)
		尿管拡張 F	1 (1)	1 (1)	2 (2)	0
		前眼房出血 F	1 (1)	1 (1)	0	0
		眼球サイズの変異 F	1 (1)	0	1 (1)	0
		精巣位置異常 F	3 (3)	2 (2)	1 (1)	2 (2)
		腕頭動脈欠損 F	0	1 (1)	1 (1)	0
骨格	異常	検査胎児数	118 (22)	120 (22)	120 (22)	99 (19)
		異常を有する児数 (腹数) F	11 (10)	11 (10)	11 (11)	5 (3) ↓
		異常発生率 (%) K	9.3	8.3	9.2	5.1
		胸椎体蝶形骨化 F	1 (1)	3 (3)	2 (2)	1 (1)
		胸椎体二分骨化 F	3 (3)	3 (3)	3 (3)	1 (1)
		肋骨短小 F	3 (2)	0	1 (1)	1 (1)
		頸肋 F	0	1 (1)	0	1 (1)
	胸骨癒合 F	0	1 (1)	1 (1)	0	
	仙尾椎弓骨化不全 F	3 (3)	3 (3)	3 (3)	1 (1)	
	変異	胸骨分節変異発生率 (%) K	55.5	47.3	50.5	34.6 ↓
14肋骨発生率 (%) K		1.5	1.1	0.0	3.0	

骨格変異: Kruskal-Wallis 検定 ↓; $p \leq 0.05$

K: Kruskal-Wallis 検定実施 (有意差なし)

F: Fisher 検定 (申請者で実施) ↓; $p \leq 0.05$

(3) トラロメトリンのウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No. 原体-34)

試験機関：

報告書作成年：1989年 [GLP 対応]

検体の純度：95.9%

試験動物：New Zealand White系妊娠ウサギ（交配時6ヶ月齢）、1群16匹
体重 3310～4953g（妊娠0日）

投与期間：妊娠7～19日 13日間（1989年2月7日～1989年2月19日）

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、0、6.25、12.5および25.0mg/kg/日の用量で、妊娠7日から19日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。投与液量は体重1kgあたり1.0 mLとし、最新の体重に基づいて算出した。なお、対照群にはコーンオイルのみを投与した。

用量設定理由：投与量は先に実施した用量設定試験の結果に基づいて決定した。すなわち、10、25、50、75および100mg/kg/日の用量で、妊娠7日から19日まで13日間1日1回強制経口投与した結果、25、50、75および100mg/kg/日群では、死亡および流産等の親体毒性が認められ、さらに、検体投与に関連した症状の変化として糞の減少および軟便が観察された。また、同群では体重も減少しており、特に75および100mg/kg/日では妊娠期間を通して認められた。胎児の発育に関連する毒性影響はいずれの投与群においても認められなかった。したがって、本試験においては、6.25、12.5および25.0mg/kg/日を設定した。

観察・検査項目：

親動物；検疫期間の最終日の体重を基に各群16匹を群分けした。人工授精させた日を妊娠0日とし、妊娠0、7、13、20、24および29日に体重を測定した。試験期間中は、動物の生死および行動の変化を毎日2回観察し、投与期間中については、毒性症状を毎日1回記録した。

死亡動物は剖検して死因を検索した。また、胎児については外表を観察後、10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。流産動物は、認められた日に剖検し、娩出胎児および親動物の器官・組織を観察後、10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。生存親動物は妊娠29日に解剖し、妊娠子宮重量を測定し、生存胎児、死亡胎児、早期あるいは後期吸収胚の位置および総着床数並びに黄体数を記録した。着床がみられない子宮については、10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し、着床について検査した。

親動物の器官・組織は肉眼的病理学的変化の有無を検査した後、10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。

腹毎に着床前胚損失率〔(黄体数－着床数)／黄体数×100〕、着床後胚損失率〔(着床数－生存胎児数)／着床数×100〕を算出した。

胎児動物；個別に体重測定後、外表検査を実施した。開腹して性別を判定するとともに内臓異常を検査した。脳については冠状面中央でスライスして検査し、心臓についてはStaplesの変法で検査した。内臓を除去した胎児はアルコールに固定した後、Dawson法によりアリザリン染色骨格標本を作成し、骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次表に示した。

親動物；

対照群の1例が誤投与により、また、25.0mg/kg/日群の1例が原因不明で死亡した。25.0mg/kg/日群の死亡例には、自発運動減少、呼吸困難、削瘦および無便が認められ、全体的に衰弱状態であったことから、投与の間接的な影響と考えられた。25.0mg/kg/日群では、上記の死亡例を含む3例が流産し、投与の影響と考えられた。また、糞の減少が対照群を含む全ての投与群で認められたが、投与群で用量関連性に発生数が増加し、検体投与の影響と考えられた。他には、検体投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。

[申請者追記]糞の減少については、対照群においても半数近くに認められている所見であり、投与群と対照群の間に統計学的な有意差は認められなかったことから、毒性学的に意味のない変化と考えられた。

体重では、25.0mg/kg/日群において投与期間中の体重増加量が減少し、統計学的な有意差は認められないものの投与の影響と考えられた。他の検体投与群には対照群と比べて明らかな体重変化は認められなかった。

着床所見では、いずれの検体投与群においても対照群とほぼ同等で投与に関連する変化は認められなかった。

剖検では、いずれの検体投与群においても投与に関連する変化は認められなかった。

胎児動物；

いずれの投与群においても投与に関連する変化は認められなかった。

以上の結果より、25 mg/kg/日では死亡、流産および体重増加抑制がみられたことから、親動物に対する無毒性量は12.5 mg/kg/日、胎児動物に対する無毒性量は25.0mg/kg/日であった。また、最高投与量の25.0mg/kg/日でも児動物に対して催奇形性を示さないと判断される。

結果の概要(親動物)

投与量 (mg/kg/日)		0	6.25	12.5	25.0	
1 群当り動物数		16	16	16	16	
妊娠動物数		13	14	12	12	
親動物	死亡数	1	0	0	1	
	流産数	0	0	0	3	
	一般状態	糞の減少	6	9	9	11
		自発運動減少	0	0	0	1
		呼吸困難	0	0	0	1
		削瘦	0	0	0	1
		無便	3	1	3	5
	体重 (g) *b	妊娠0日	3948	3984	3968	3997
		妊娠20日	4236	4235	4214	3957
		妊娠29日	4294	4342	4287	4211
		妊娠29日U	3941	3916	3854	3776
	体重増加量 (g) *b	妊娠0-7日	185	173	192	152
		妊娠7-20日	40	78	54	-191
		妊娠0-29日	293	359	320	262
		妊娠0-29日U	-60	-68	-114	-173
	剖検所見		-	-	-	-
	生存胎児の認められた親動物数		12	14	12	9
	着床所見	黄体数+b	12.0	13.1	13.8	15.0
		着床数+b	5.9	7.8	8.2	8.3
着床後損失数+b		0.3	0.6	1.2	0.9	
生存胎児数+b		5.6	7.2	7.0	7.4	
着床前胚損失率 (%) m		50.7	40.8	41.0	44.4	
着床後胚損失率 (%) m		5.6	7.3	14.3	10.7	

*: 平均値、-: 検体投与に関連した変化なし

U: 妊娠 29 日の補正体重=妊娠 29 日の体重-受胎産物重量、

b: Bartlett 検定後 t 検定実施 (有意差なし)、c: Yates 補正を行ったカイ二乗検定または Fisher 検定 (有意差なし)、m: Mann-Whitney の U 検定 (有意差なし)

+: 一腹あたり

結果の概要(胎児動物)

胎児動物	性比(雄%) c	44.8	43.6	41.7	50.7	
	妊娠子宮重量(g) b	353	427	434	435	
	胎児体重(g) b	45.2	43.5	42.7	40.0	
	奇形	検査数	67 (12)	101 (14)	84 (12)	67 (9)
		奇形を有する胎児数(腹数) c	1 (1)	2 (1)	5 (4)	1 (1)
		外表				
		ドーム状頭部	0	0	1 (1)	0
		内臓				
		心臓肥大	0	0	0	1 (1)
		骨格				
頭骨癒合		0	2 (1)	0	0	
脊椎奇形		0	0	1 (1)	0	
肋骨の骨化中断	0	0	1 (1)	0		
胸骨分節癒合	1 (1)	0	2 (2)	0		
胎児動物	検査数	67 (12)	101 (14)	84 (12)	67 (9)	
	変異を有する胎児数(腹数) c	59 (12)	87 (14)	73 (12)	59 (9)	
	内臓					
	腕頭動脈からの左頸動脈起始	3 (2)	4 (3)	3 (1)	6 (3)	
	胆嚢低形成	0	2 (1)	1 (1)	0	
	肺の分葉欠損	1 (1)	0	1 (1)	0	
	骨格					
	舌骨彎曲	10 (4)	4 (3)	5 (3)	3 (3)	
	仙椎前椎体数27	18 (6)	25 (12)	26 (9)	24 (6)	
	頸肋	1 (1)	0	1 (1)	2 (1)	
13肋骨	42 (10)	67 (13)	54 (11)	45 (9)		
痕跡状13肋骨	11 (7)	18 (10)	14 (8)	9 (5)		
過剰胸骨分節	2 (2)	0	1 (1)	0		
胎児動物	検査数	67 (12)	101 (14)	84 (12)	67 (9)	
	化骨遅延を有する胎児数(腹数) c	8 (3)	2 (1)	2 (3)	3 (2)	
	化骨遅延発生率(%) c	11.9	2.0↓	2.3↓	4.2	
	舌骨未骨化	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0	
	第5又は6胸骨分節未骨化	8 (3)	2 (1)	2 (2)	1 (1)	
	尾骨未骨化	3 (1)	0	1 (1)	0	

c : Yates 補正を行ったカイ二乗検定または Fisher 検定 ↓ ; p ≤ 0.05

13. 変異原性

(1) トラロメトリンの細菌を用いた変異原性試験 (Rec Assay および Ames 試験)

(資料 No. 原体-35)

試験機関 :

報告書作成年 : 1981 年

検体の純度 : 97%以上

1) Rec-assay

試験方法 : 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、この両株の -80°C 保存株を融解後、小型ピペットを用いてB-II寒天培地上に出発点が接触しないようにストリークした。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) で希釈した (溶解可能な最高濃度 : 1000mg/mL 、 20mg/ディスク 相当)。直径 10mm の濾紙 (ディスク) に 0.02mL を添加し、ストリークの開始点を覆うように置き、 37°C で一夜培養後、阻止帯の長さを測定した。そしてH-17株に $0\sim 1\text{mm}$ の阻止帯を示す濃度でM-45株の阻止帯が 4mm 以上の場合を陽性と判定した。なお陰性対照としてKanamycin、陽性対照としてMitomycin Cを用いた。

試験結果 :

薬剤	濃度 ($\mu\text{g/ディスク}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO) *	—	0	0	0
トラロメトリン	6	0	0	0
	20	0	0	0
	60	0	0	0
	200	0	0	0
	600	0	0	0
	2000	0	0	0
	6000	0	0	0
	20000	0	0	0
Kanamycin (陰性対照)	10	8.5	7.5	1
Mitomycin C (陽性対照)	0.1	10	2	8

* : dimethylsulfoxide

表に示したように、検体処理群で両株に全く生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照として用いた Mitomycin C では組換修復機構保持株に比し修復機構欠損株に著明な生育阻止帯を生じ、陰性対照として用いた Kanamycin では両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上の Rec-assay の結果からトラロメトリンの DNA 損傷性は陰性と考えられた。

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

2) 復帰変異試験 (Ames試験)

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の5株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100) およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli*) の1株 (WP2 hcr(uvrA)) を用い、Aroclor 1254で酵素誘導したラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下でプレート法による復帰変異試験を行った。検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は0.1mL/プレートとした。各用量2枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37°Cで48時間培養後、復帰変異コロニーを計数し、再現性と用量反応関係のある復帰変異コロニー数の増加を変異原性の陽性判定の基準とした。

用量設定根拠: 予備試験において50000 μ g/プレートで結晶析出がみられたため、最高濃度は25000 μ g/プレートとし、本試験は50~25000 μ g/プレートの7濃度で実施した。

試験結果: 代謝活性化の有無に係わらず、いずれの菌株においても、対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた、AF-2 [2- (2-furyl) -3- (5-nitro-2-furyl) acrylamide] 、ENNG (N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine) 、9-AA (9-aminoacridine) 、2-NF (2-nitrofluorene) 及び2-AA (2-aminoanthracene) では対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上のAmes試験の結果からトラロメトリンの復帰変異誘発性はないと考えられた。

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

薬剤	濃度 (μ g/ プレート)	S9-Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538	
溶媒対照 (DMSO)	—		109	3	15	20	10	12	
			129	9	16	25	7	14	
トラロメトリン	50	—	114	5	15	28	5	10	
			124	4	9	29	3	5	
	100		121	14	11	25	2	15	
			129	4	11	31	7	10	
	500		100	6	6	19	5	8	
			122	5	13	17	5	14	
	1000		132	8	12	18	9	10	
			131	10	13	25	4	11	
	5000		139	6	10	40	8	12	
			131	9	11	22	5	13	
	10000		135	4	10	15	12	9	
			166	5	16	12	3	17	
	25000		166	7	13	16	3	6	
			151	11	13	19	12	10	
溶媒対照 (DMSO)	—		95	6	14	36	10	34	
トラロメトリン	50	+	93	6	21	33	7	32	
			76	6	20	28	6	36	
	100		79	2	12	15	10	25	
			110	9	13	38	6	33	
	500		105	5	18	26	5	29	
			93	6	12	40	11	25	
	1000		107	4	12	36	6	19	
			114	5	16	28	7	24	
	5000		121	9	22	30	8	27	
			83	6	16	14	5	24	
	10000		114	5	15	26	6	40	
			99	6	22	32	4	21	
	25000		117	11	15	36	7	29	
			107	8	15	25	4	21	
			124	6	14	38	6	31	
陽性 対照	S9-Mixを必要と しないもの	名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA	2-NF	
		μ g/プレート	0.01	10	0.04	0.1	80	2	
		コロニー数 /プレート	404	706	154	158	>2000	434	
			658	655	119	167	>2000	344	
	S9-Mix を必要と するもの	S9-Mix の有無	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
			μ g/プレート	0.5	2	40	0.5	2	0.5
		+	コロニー数 /プレート	394	142	>2000	239	127	217
				384	133	>2000	173	115	198
		—	コロニー数 /プレート	160	11	16	41	9	17
				129	16	16	32	7	22

AF-2: 2-(2-furyl)-3-5-nitro-2-furyl) acrylamide、ENNG:N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、
9-AA: 9-aminoacridine、2-NF: 2-nitrofluorene、2-AA: 2-aminoanthracene、DMSO: ジメチルスルホキシド

(2) トラロメトリンの変異原性試験 (DNA 損傷試験、Ames 試験および小核試験)

(資料 No. 原体-36)

試験機関：

報告書作成年：1980 年

検体の純度：96.5%

1) 細菌を用いたDNA損傷試験

試験方法：大腸菌 *Escherichia coli* の野生株 (W3110 と WP2) と、組換修復能欠損株 (P3478 と CM611) を用い、Slaterの拡散試験法によってDNAの損傷の誘発性を検定した。すなわち各試験菌株を含む寒天培地に小穴をあけ、そこに0.1mLの検体溶液を挿入して37°Cで18時間培養した。その後、阻止帯の直径を計測し、組換修復能欠損株と野生株の面積比 (P3478:W3110 および CM611:WP2) を求めた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) で希釈し、濃度は500~10000 μ g/mLとした。なお陰性対照としてchloramphenicol、陽性対照としてMNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)を用いた。面積比が1より有意に大きい比率の場合陽性とした。

試験結果：

薬剤	濃度 (μ g/mL)	阻止帯直径 (mm)		面積比 $\frac{\phi^2 P3478}{\phi^2 W3110}$
		P3478 (pol A ⁻)	W3110 (pol A ⁺)	
溶媒対照 (DMSO)	—	traces	traces	1
トラロメトリン	500	traces	traces	1
	1000	traces	traces	1
	5000	traces	traces	1
	10000	traces	traces	1
Chloramphenicol (陰性対照)	50	18.7	18.7	1
MNNG (陽性対照)	100	24.7	22.9	1.15
	200	28.2	25.7	1.22

薬剤	濃度 (μ g/mL)	阻止帯直径 (mm)		面積比 $\frac{\phi^2 PCM611}{\phi^2 WP2}$
		CM611 (uvrA ⁻ , exrA ⁻)	WP2 (uvrA ⁺ , exrA ⁺)	
溶媒対照 (DMSO)	—	traces	traces	1
トラロメトリン	500	traces	traces	1
	1000	traces	traces	1
	5000	traces	traces	1
	10000	traces	traces	1
Chloramphenicol (陰性対照)	50	22.0	21.6	1.03
MNNG (陽性対照)	100	26.7	20.7	1.66
	200	31.0	23.2	1.79

exrA⁻：エラープロンrec依存性のDNA修復欠損株

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

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

検体においては *E. coli* の2種の野生株、組換え修復機能欠損株共に、生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたMNNGでは、両株の間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、トラロメトリンのDNA損傷誘発性はないと考えられた。

2) 復帰変異試験 (Ames試験)

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の5株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100) を用い、Aroclor 1254で酵素誘導したラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下でプレート法による復帰変異試験を行った。検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は0.1mL/プレートとした。検体の濃度は2~5000 μ g/プレートの6用量で2回実施し、各用量2枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37°Cで2、3日間培養後、復帰変異コロニーを計数し、用量相関性のある復帰変異コロニー数の増加が認められた場合に変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠: 200~5000 μ g/プレートの濃度範囲で各菌株に対する毒性を調べた。この試験では最高濃度の5000 μ g/プレートでも全ての菌株にわずかな毒性しか示さなかった。この結果をもとに最高濃度を5000 μ g/プレート、6濃度を設定した。

試験結果:

薬剤	濃度 (μ 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		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)	—	—	17 \pm 6	18 \pm 8	15 \pm 5	31 \pm 10	19 \pm 8
トラロメトリン	2	—	19 \pm 6	14 \pm 7	15 \pm 7	29 \pm 15	13 \pm 9
	10		18 \pm 6	20 \pm 5	18 \pm 3	31 \pm 11	16 \pm 7
	50		16 \pm 7	16 \pm 6	14 \pm 1	32 \pm 4	18 \pm 8
	200		12 \pm 5	14 \pm 9	20 \pm 5	32 \pm 12	17 \pm 11
	500		18 \pm 6	21 \pm 8	17 \pm 5	30 \pm 7	25 \pm 7
	1000		22 \pm 3	15 \pm 3	20 \pm 5	32 \pm 4	16 \pm 6
5000	14 \pm 6	17 \pm 6	19 \pm 6	21 \pm 3	24 \pm 6		
溶媒対照 (DMSO)	—	—	16 \pm 5	25 \pm 7	15 \pm 3	45 \pm 10	52 \pm 13
トラロメトリン	2	+	24 \pm 9	19 \pm 5	12 \pm 4	46 \pm 6	49 \pm 17
	10		20 \pm 6	22 \pm 5	12 \pm 3	44 \pm 6	35 \pm 11
	50		18 \pm 3	24 \pm 6	12 \pm 5	44 \pm 9	41 \pm 16
	200		21 \pm 8	23 \pm 6	16 \pm 2	48 \pm 10	34 \pm 7
	500		17 \pm 2	17 \pm 3	16 \pm 5	43 \pm 8	44 \pm 16
	1000		19 \pm 3	22 \pm 4	11 \pm 5	45 \pm 8	38 \pm 7
5000	21 \pm 9	18 \pm 6	11 \pm 3	36 \pm 4	32 \pm 7		
陽性対照	S9-Mixを 必要とし ないもの	名称	MNNG	MNNG	9-AA	2-NF	2-NF
		μ g/プレート	2	2	200	2	2
		コロニー数/プレート	>1000	>1000	>500	128 \pm 33	125 \pm 17
	S9-Mixを 必要とす るもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		μ g/プレート	2	2	2	2	2
		コロニー数/プレート	161 \pm 28	>1000	205 \pm 52	>1000	>1000

数値は計4枚プレートにおける平均値 \pm 標準偏差 (2回実施、各2枚プレート)

MNNG: N-methyl N'-nitro N-nitrosoguanidine、9-AA: 9-amino acridine、2-NF: 2-nitrofluorene、
2-AA: 2-amino anthracene

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

代謝活性化の有無に係わらず、いずれの菌株においても、陰性対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた、MNG (N-methyl N'-nitro N-nitrosoguanidine)、9-AA (9-amino acridine)、2-NF (2-nitrofluorene) および 2-AA (2-amino anthracene) では溶媒対照群と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、トラロメトリンの復帰変異誘発性はないと考えられた。

3) マウス骨髄を用いた小核試験

試験動物：Swiss CD-1系マウス（体重28～30g）1群雌雄各5匹

試験方法：検体をゴマ油に溶かし雌雄共3、6および12mg/kgを24時間間隔で、2回強制経口投与した。陰性対照としてはゴマ油のみを同様に強制経口投与した。陽性対照としてはMitomycin Cを生理食塩水に溶かし、0.5mg/kgを24時間間隔で2回腹腔内に注射した。

2回目の投与6時間後に屠殺、大腿骨を摘出し、骨髄の塗抹標本（メタノール固定、May-Grunwald液とGiemsa液染色）を作製し、1動物につき2,000個の多染性赤血球中の小核の出現頻度を計測した。

試験結果：

- a. 死亡と一般症状；全群共に死亡例はみられなかった。また検体の投与による毒性症状は認められなかった。
- b. 小核を有する多染性赤血球の頻度

群	投与量 (mg/kg)	小核を有する多染性赤血球の頻度		
		雄	雌	合計
溶媒対照	0	1.8±0.45	2.2±0.45	2.0±0.47
トラロメトリン	3	2.2±1.30	2.4±0.55	2.3±0.95
	6	2.4±0.89	2.0±0.71	2.2±0.79
	12	2.8±1.48	2.0±1.0	2.4±1.26
Mitomycin C (陽性対照)	0.5	18.0±6.40	22.6±5.94	20.3±6.31

数値は2000個の多染性赤血球に対する頻度（平均値±標準偏差）

△：p<0.01 溶媒対照と陽性対照群の統計処理（Student t検定、申請者実施）

▽：溶媒対照と検体投与群の統計処理（Dunnett検定、申請者実施）

検体の3、6および12mg/kgを24時間間隔で2回経口投与した場合、雌雄共に小核を有する多染性赤血球の増加は認められなかった。一方陽性対照のMitomycin Cでは対照群と比べ明らかな増加がみられた。

以上の結果から、トラロメトリンのマウス骨髄の多染性赤血球に対する小核誘発作用はないと考えられた。

(3) トラロメトリンの *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No. 原体-37)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：98.5%

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した卵巢細胞 (CHO-WBI) を用いた。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) で希釈した。非代謝活性化法における検体処理時間は8.5~10時間とし、洗浄後コルセミドを加え、2~2.5時間後に中期分裂細胞を含む標本を作製、これを鏡検した。代謝活性化法ではS9-Mixによる細胞毒性を考慮し、検体処理時間は2時間とし、洗浄後さらに8~10時間の培養後、同様にコルセミド処理して標本を作製、これを鏡検した。各濃度について計100個の細胞を観察した。指標として1細胞当たりの異常数、異常を有する細胞の%、複数の異常を有する細胞の%を結果から算出した。

用量設定根拠：濃度設定のために1000、500および200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で実施した溶解性試験から、本試験の最高濃度は非代謝活性化法では33.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化法では100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とし、各々計5濃度を設けた。

試験結果：次表に示した。

検体投与群において代謝活性化の有無に係わらず、染色体異常の発生頻度は無処理、溶媒対照と変わらず、染色体異常の増加は認められなかった。

一方、陽性対照のMitomycin C、Cyclophosphamideでは顕著な染色体異常の増加がみられた。

以上のトラロメトリンのハムスター卵巢細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験の結果は陰性と考えられた。

染色体異常試験成績

代謝活性化の有無	処理	濃度 (μg/mL)	観察細胞数	構造異常の型と数													1細胞当たりの異常数	異常を有する細胞の%	複数の異常を有する細胞の%	判定	
				染色分体型					染色体型				その他								
				TB	F	TR	QR	CR	SB	AF	D	R	PU	E	>	その他					
非代謝活性化	無処理	—	100		1							2					0.03	2.0	1.0	—	
	溶媒対照		100								1						0.01	1.0	0.0	—	
	陽性対照 MC	1	100	8	2	5	4	1		2		1				10 ID 1 CI	0.34	26.0	4.0	+	
	トラロメトリン	0.1	100									4						0.04	4.0	0	—
		1.0	100							3	1							0.04	2.0	1.0	—
		3.3	100							1								0.01	1.0	0.0	—
		10.0	100	1							1							0.02	2.0	0.0	—
33.3	33			1												0.03	3.0	0.0	—		
代謝活性化	無処理	—	100							3	1		2				>0.06	4.0	3.0	—	
	溶媒対照		100								3						0.03	3.0	0.0	—	
	陽性対照 CP	25	100	7	1	5	3	1			2		2		1	8 ID	>0.39	26.0	5.0	+	
	トラロメトリン	1.0	100		1									1				>0.02	2.0	1.0	—
		3.3	100		1						1							0.02	2.0	0.0	—
		10.0	100		1	1								1				>0.03	3.0	1.0	—
		33.3	100	1								2						0.03	3.0	0.0	—
100.0	100	1								2						0.03	3.0	0.0	—		

無処理：培養液のみ、溶媒対照：DMSO (Dimethylsulfoxide)、陽性対照：MC= Mitomycin C、CP= Cyclophosphamide

検体処理時間：非代謝活性化 8.5~10時間、代謝活性化 2時間

∗：P<0.01、細胞当たりの異常数についてStudent t検定

TB：染色分体型切断、F：断片、TR：三放射状、QR：四放射状、CR：複雑再配列、SB：染色体型切断、AF：無動原体断片、D：二動原体、R：環状、PU：粉末状染色体、E：内部重複、>：10個以上の異常を有する細胞、ID：間質の欠失、CI：染色体内部変換

(4) トラロメトリンの *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No. 原体-38)

試験機関：

報告書作成年：1988 年 [GLP 対応]

検体の純度：96.6%

試験方法：チャイニーズハムスターの卵巣由来の培養細胞を用い、染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下で検索した。検体に最も適した溶媒としてアセトンを選択した。試験濃度は S9-mix の非存在下では 0.7～10 μ g/mL の範囲で 5 濃度、S9-mix 存在下で 7～50 μ g/mL の範囲で 4 濃度とした。検体処理時間は S9-mix の非存在下では 18 時間とし、コルセミド処理 2 時間後に染色体標本を作製した (検体処理開始から 20 時間)。また S9-mix の存在下では検体を 2 時間処理し、新しい培地に交換後さらに 8 および 16 時間培養し、コルセミド処理 2 時間後に染色体標本を作製した (検体処理開始から 12 および 20 時間)。また、無処理、溶媒対照ならびに陽性対照 (トリエチレンメラミン (-S9) およびシクロホスファミド (+S9)) を同時に試験した。すべて各濃度あたり 2 系列で培養した。1 用量あたり 200 個の分裂中期像を観察した。そして用量相関性があり、かつ統計学的有意な染色体異常率の増加が認められた場合、陽性と判定した。

用量設定根拠：溶解限度を最高濃度とし 0.005～50 μ g/mL の範囲で予備試験を行ない、分裂指数と細胞分裂期を調べた。その結果、S9-mix 非存在下 (6 時間処理) では 15 μ g/mL 以上で分裂が全く認められなかった。一方 S9-mix 存在下 (2 時間処理) では 50 μ g/mL で細胞分裂 M2 期像の明らかな減少がみられたが、分裂指数は溶媒対照の 42% 減であった。以上より、本試験では S9-mix の非存在下では 0.7, 1.3, 2.5, 5, 10 μ g/mL の 5 濃度、存在下では 7, 13, 25, 50 μ g/mL の 4 濃度を設定した。

試験結果：次表に示した。

代謝活性化の有無に係わらず、染色体異常率は溶媒対照との間に差を認めず、検体処理による染色体異常の増加は認められなかった。

一方、陽性対照のエチレンメラミン (-S9) およびシクロホスファミド (+S9) では顕著な染色体異常率の増加がみられた。

以上のトラロメトリンのハムスター卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験の結果は陰性と考えられた。

染色体異常試験成績

処理	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	S9- mix の有無	処理 時間	回収 時間	分裂 指数 (%)	観 察 細 胞 数	構造異常の型と数						1細胞 当 た り 異 常 数	染 色 体 異 常 率 (%)	判 定				
							ギ ャ ッ プ	染 色 分 体 型		染 色 体 型						複 合 異 常 細 胞			
								切 断	交 換	切 断	二 動 原 体	環							
無処理 溶媒対照	0	-	18	2	4.7	200	1	0	0	0	0	0	0	0.000	0	-			
					3.7	200	0	2	0	0	1	0	0	0.015	2	-			
検体	0.7				4.3	200	2	0	0	0	3	0	0	0.015	2	-			
	1.3				4.3	200	0	1	0	0	1	0	0	0.010	1	-			
	2.5				3.6	200	0	0	0	0	1	1	0	0.010	1	-			
	5				2.1	200	3	0	0	0	1	0	0	0.005	1	-			
	10				0														
陽性対照 (TEM)	0.5				2.0	200	33	27	3	0	4	1	0	0.175	15	+			
無処理 溶媒対照	0				+	2	10	4.1	200	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0	-
								5.1	200	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0	-
検体	7	4.3	200	0				1	0	0	0	0	0	0.005	1	-			
	13	2.2	200	0				0	0	0	0	0	0	0.000	0	-			
	25	2.8	200	0				0	0	0	0	0	0	0.000	0	-			
	50	3.4	200	1				2	0	0	0	0	0	0.010	1	-			
	陽性対照 (CP)	50	2.0	200				0	28	7	0	0	0	0	0.175	12	+		
無処理 溶媒対照	0	+	2	18				3.8	200	0	1	0	0	0	0	0.005	1	-	
								3.2	200	0	1	0	0	0	0	0	0.005	1	-
検体	7							3.9	200	0	0	0	1	0	0	0	0.005	1	-
	13				5.3	200	0	4	0	0	1	0	0	0.025	3	-			
	25				4.3	200	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0	-			
	50				4.0	200	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0	-			

無処理：培養液のみ、溶媒対照：アセトン

陽性対照：TEM = トリエチレンメラミン (-S9)、CP = シクロホスファミド (+S9)

※：P<0.01、染色体異常率について Student t 検定

(5) トラロメトリンのマウスリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験

(資料 No. 原体-39)

試験機関：

報告書作成年：1982年[GLP 対応]

検体の純度：98.5%以上

試験方法：マウスリンパ腫細胞 L5178Y(TK+/-)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S9-mix) の存在下および非存在下で、TK(Thymidine kinase) 遺伝子座の前進性遺伝子突然変異試験を行った。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) で溶解し、非代謝活性化では 0.244~3.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化では 1.95~31.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で試験を実施した。この濃度は細胞毒性をみた予備試験の結果から設定した。なお、代謝活性化法では高度な毒性範囲 (相対生存率 10~15%) の濃度が含まれなかったことから、5.0~40.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で再度試験を実施した。処理時間は 4 時間とし、検体処理後、洗浄しさらに 2~3 日培養した。その後細胞を 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を含む選択培養液を入れた寒天板上に接種し、耐性を有する (突然変異体) コロニーを 10 日間培養後に計数した。各用量 2 枚のプレートを用いた。併せて BrdU を含まない培地に細胞を播種し同様の処理後にコロニー形成率を求めた。

陰性対照として無処理と溶媒対照を用い、陽性対照としては非代謝活性化法では Ethylmethane sulfonate (EMS) 0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ を、代謝活性化法では Dimethyl nitrosamine (DMN) 0.3 $\mu\text{L}/\text{mL}$ を用いた。

試験結果：

	処理	濃度	クローニング効率 (%)	相対生存率 (%)	突然変異率 ($\times 10^{-6}$)
非代謝活性化	溶媒対照	—	85.0	100.0	21.4
	無処理対照	—	82.0	66.7	17.1
	陽性対照 (EMS)	0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$	35.7	17.1	491.6
	トラロメトリン	0.244 $\mu\text{g}/\text{mL}$	84.3	32.9	23.3
		0.488	103.5	41.3	20.1
		0.977	88.2	30.3	17.3
		1.95	106.7	14.1	13.2
3.91	59.5	2.6	11.0		
代謝活性化	溶媒対照	—	74.4	100.0	30.9
	無処理対照	—	85.3	117.1	25.4
	陽性対照 (DMS)	0.3 $\mu\text{L}/\text{mL}$	31.0	28.3	152.7
	トラロメトリン	1.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$	107.5	121.0	27.5
		3.91	96.8	106.8	31.9
		7.81	121.0	77.0	24.1
		15.6	100.8	59.7	31.6
31.3	100.8	23.9	36.4		

非代謝活性化法において検体の相対生存率は2.6~41.3%と、高濃度で細胞毒性が認められたが、突然変異率は陰性対照群とほぼ同等であった。一方、陽性対照(EMS)では明らかな突然変異率の増加がみられた。

代謝活性化法でも突然変異率の増加はみられなかった。しかし最高濃度31.3 μ g/mLでもその相対生存率は23.9%であり、基準とする高度な毒性範囲(相対生存率10~15%)に至らなかったことから、濃度を上げて再度試験を行なった。その結果は次の通りであった。

	処理	濃度	クローニング効率(%)	相対生存率(%)	突然変異率($\times 10^{-6}$)
代謝活性化	溶媒対照	—	82.7	100.0	26.7
	無処理対照	—	122.0	98.2	29.2
	陽性対照(DMS)	0.3 μ L/mL	19.5	8.2	217.7
	トラロメトリン	5.0 μ g/mL	121.3	63.3	34.2
		10.0	108.8	46.3	44.8
		15.0	89.1	39.1	40.3
		20.0	83.8	24.1	55.3
		30.0	74.6	21.6	53.0
40.0	67.3	8.0	73.7		

検体濃度5~40 μ g/mLにおける相対生存率は8~63%であり、高濃度で明らかな細胞毒性が認められた。突然変異率は20.0 μ g/mL以上では陰性対照の1.9~2.7倍と増加傾向を示した。一方、陽性対照(DMS)では明らかな突然変異率の増加がみられた。

以上の結果、トラロメトリンはマウスのリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験において、非代謝活性化下では変異原性は認められなかった。しかし代謝活性化条件では細胞毒性がみられる範囲において軽度の変異原性があると考えられた。

[申請者追記]

突然変異の頻度が対照に対して2倍になるということは、陽性反応の1つの判断基準と考えられるが、それは細胞に極めて強い毒性を示した(92%致死)最高濃度(40 μ g/mL)のみにみられた。

他の濃度(10、20及び30 μ g/mL)では溶媒のみの対照群に比べて変異数は増加したが、投与量に比例した効果は認められなかった。

代謝活性化による両試験から考えると、その反応には再現性がみられなかった。

(6) トラロメトリンの雄ラットを用いた優性致死試験

(資料 No. 原体-40)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：98.5%

試験動物： Sprague Dawley 系 (CD Cr1:CD(SD)BR) ラット、体重：雄/投与時6週齢、160～200g)、1群動物数：雄 20匹(予備2匹)、雌 80匹

投与期間： 70日 (雄のみ)

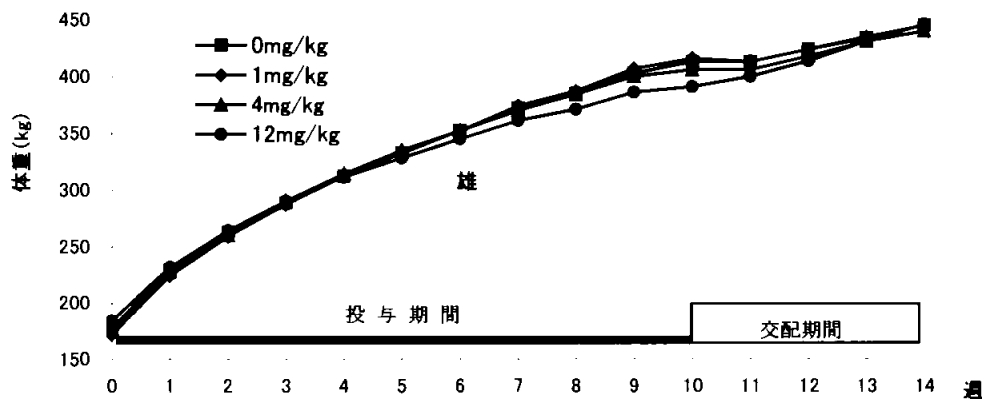
試験方法： 検体をコーン油に溶解し、雄ラットに対し、1、4および12mg/kgを毎日1回10週間強制経口投与した。対照群としてコーン油5mL/kgを同様に投与した。

投与終了後、投与雄と未投与雌を1対1で最高7日間同居、交配させた。交配は週毎に別の雌4匹と同居させ、計4週間にわたり実施した。毎日膣栓または精子の存在により妊娠の確認をし、これを妊娠0日とした。なお同居1週間で妊娠しなかった場合は、次週に別の雌と同居させた。

観察項目および結果：

一般状態および死亡率：全動物・全期間にわたり、一般状態および生死を毎日観察した。12mg/kg群において、流涎が大部分の雄ラットで投与後半に認められたが、前半にも少数に散見された。投与2回目以降から散発的に歩行異常、振せん等が認められた。4mg/kg群の多くの個体と1mg/kg群の少数の個体では投与後期に流涎が認められた。死亡は対照群で3匹、1mg/kg群で1匹にみられたが、いずれも検体投与に関連しなかった。(対照群2匹、1mg/kg群1匹については予備動物で代替した。)

体重の変化：雄は投与期間中、および交配期間を通じて週2回測定した。また雌は同居時と妊娠0、6、9および13日に測定した。以下に雄の体重推移を示した。



雄の12mg/kg群では投与期間の後半で体重増加の抑制がみられた。しかし投与終了後の交配期間では回復し、最終時は対照群とほぼ同等であった。他の群の体重は対照群との間に差はみられなかった。

妊娠期間における雌の体重については、4回の交配共に各投与群と対照群との間に差はみられなかった。

雄の交配能：各雄に対して異なる雌を用い4回の交配が行なわれた。観察結果から妊娠成立させた雄数の分布および交尾までの日数を下表に示した。

投与量 (mg/kg/日)		0	1	4	12
交配雄数		20	20	20	20
妊娠 成 立 雄 数	4回成立	13	15	17	15
	3回成立	2	3	2	4
	2回成立	2*	0	0	1
	1回成立	1	2	1	0
	成立せず	2	0	0	0
交 尾 日 数	1回目交配	3.0	3.5	3.0	3.0
	2回目交配	3.5	3.0	3.0	3.5
	3回目交配	4.0	3.0	3.5	3.0
	4回目交配	2.0	2.0	3.0	2.0

*：うち1匹は2回目交配後に死亡。

交尾までの日数は各群各交配における中央値

表にみられるように4回の交配を通じて、妊娠成立させた雄数の分布および交尾までの日数に検体による影響はみられなかった。

妊娠率：各交配における妊娠率を下表に示した。

投与量 (mg/kg/日)		0	1	4	12
妊 娠 率 (%)	1回目交配	85 (17/20)	75 (15/20)	95 (19/20)	90 (18/20)
	2回目交配	80 (16/20)	90 (18/20)	85 (17/20)	90 (18/20)
	3回目交配	79 (15/19)	90 (18/20)	100 (20/20)	90 (18/20)
	4回目交配	79 (15/19)	100 (20/20)	95 (19/20)	100 (20/20)

妊娠率 = 妊娠動物数 / 交配した雌動物数 × 100

()：妊娠動物数 / 交配した雌動物数

各交配における妊娠率に検体投与の影響はみられなかった。

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

同腹児成績：妊娠第13日に屠殺し、同腹児について検査した。結果を以下に示した。

投与量 (mg/kg/日)		0	1	4	12
1 回 目 交 配	妊娠動物数	17	15	19	18
	生存児数	13.2	12.9	12.5	12.3
	早期吸収胚数	0.6	0.4	0.7	1.1
	後期吸収胚数	0.1	0.1	0.1	0.1
	総吸収胚数	0.7	0.5	0.7	1.2
	着床数	13.9	13.3	13.3	13.5
	黄体数	14.5	14.7	15.1	15.3
	着床前損失率	5.8	11.3	15.2	11.9
	着床後損失率	4.9	3.5	6.1	9.5
2 回 目 交 配	妊娠動物数	16	18	17	18
	生存児数	12.4	13.6	12.1	13.3
	早期吸収胚数	0.5	0.3	0.6	0.7
	後期吸収胚数	0	0.1	0	0.1
	総吸収胚数	0.5	0.3	0.6	0.7
	着床数	12.9	13.9	12.6	14.0
	黄体数	14.5	14.8	14.9	15.3
	着床前損失率	10.9	6.0	14.9	11.3
	着床後損失率	3.6	2.4	7.1	4.8
3 回 目 交 配	妊娠動物数	15	18	20	18
	生存児数	13.4	13.5	12.9	12.8
	早期吸収胚数	0.7	0.5	0.9	0.7
	後期吸収胚数	0	0.1	0.1	0.1
	総吸収胚数	0.7	0.6	1.0	0.8
	着床数	13.7	14.1	13.9	13.6
	黄体数	14.1	14.9	15.3	14.7
	着床前損失率	2.6	5.5	10.7	7.9
	着床後損失率	4.5	3.8	6.7	6.2
4 回 目 交 配	妊娠動物数	15	20	19	20
	生存児数	12.0	11.6	12.5	12.6
	早期吸収胚数	0.9	0.9	0.8	0.6
	後期吸収胚数	0.1	0	0.1	0
	総吸収胚数	1.0	0.9	1.0	0.6
	着床数	13.0	12.5	13.4	13.2
	黄体数	14.2	13.2	14.2	13.8
	着床前損失率	7.5	8.6	6.6	4.3
	着床後損失率	8.5	15.3	7.8	5.2

着床前損失率 = (黄体数 - 着床数) / 黄体数 × 100

着床後損失率 = (着床数 - 生存児数) / 着床数 × 100

統計学的有意差なし (Kruskal-Wallis 検定、Jonckheere 検定)

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

いずれの項目についても各投与群と対照群との間に有意の差はみられず、検体投与による影響は認められなかった。

剖 検：雄は4回の交配後に屠殺し剖検した。その結果、検体投与によると思われる肉眼的異常所見は認められなかった。

以上の結果により、トラロメトリンの雄ラットに対する優性致死作用はないと考えられた。

14. 生体機能に及ぼす影響

(1) トラロメトリンの薬理試験

(資料 No. 原体-41)

試験機関：

報告書作成年：1983年 [GLP 対応]

検体の純度：96%

1) マウスにおける抗電撃痙攣試験

供試動物：CD-1系マウス（4～5週齢）、体重：21～24g、1群 雄10匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、10および20mg/kgの用量で一晩絶食させたマウスに強制経口投与した（投与容量：10mL/kg）。陽性対照としてフェノバルビタールナトリウム（以下、フェノバルビタール）を用い、同様にコーン油に溶解、経口投与した。また溶媒対照としてコーン油のみを同量経口投与した。

投与1時間後に運動失調の有無を観察、直ちに超最大電気ショック（単相1msecの矩形パルスで16mA、毎秒300パルス）を0.2秒与えた。そしてショック後1分間における強直性屈曲、後肢の伸展および間代性痙攣の有無について観察した。

試験結果：

薬 剤	投与量 (mg/kg)	強直性伸展 反射を示した 動物数	後肢の強直性 屈曲を示した 動物数	間代性痙攣を 示した動物数	運動失調指数 (max=40)*
溶媒対照 (コーン油)	—	9/10	10/10	10/10	0
検体 (トラロメリン)	5	9/10	10/10	9/10	0
	10	9/10	10/10	10/10	0
	20	8/10	9/10	9/10	0
陽性対照 (フェノバルビタール)	30	1/10	2/10	10/10	1

： P<0.01（線形ロジスティック回帰に2項誤差を適用）

*：運動失調の最大指数 4 × 10匹

表に示したように検体の経口投与により運動失調はおこらず、また電撃ショックにより生じる強直性および間代性痙攣を抑制する作用は認められなかった。一方、陽性対照であるフェノバルビタールでは強直性痙攣に対し、明らかに抑制を示した。間代性痙攣に対する効果はみられなかった。

2) マウスにおける抗メトラゾール痙攣試験

供試動物：CD-1系マウス（4～5週齢）、体重：20～22g、1群 雄10匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、10および20mg/kgの用量で一晩絶食させたマウスに強制経口投与した（投与容量：10mL/kg）。陽性対照としてフェノバルビタールナトリウム（以下、フェノバルビタール）を用い、同様にコーン油に溶解、経口投与した。また溶媒対照としてコーン油のみを同量経口投与した。

投与45分後に運動失調の有無を観察、直ちに85mg/kgのメトラゾール（一般名：ペンタメチレンテトラゾール）を皮下注射した。

その後60分間にわたり全身性の間代性痙攣発作を観察した。5秒間以上持続する痙攣を発作とし、発作発生までの時間、その発生動物数、強直性の屈曲又は伸展を示した動物数、および死亡した動物数について記録した。

試験結果：

薬 剤	投与量 (mg/kg)	第1回目の痙攣発作が発現するまでの平均時間(分)	痙攣発作を示した動物数	強直性伸展を示した動物数	運動失調指数 (max=40)*	死亡動物数
溶媒対照 (コーン油)	—	>13.4	9/10	3/10	0	2/10
検体 (トロメリン)	5	>16.8	8/10	1/10	1	1/10
	10	6.8	10/10	1/10	1	1/10
	20	6.8	10/10	2/10	0	1/10
陽性対照 (フェノバルビタール)	30	^>55.5	∇1/10	0/10	^9	0/10

^: P<0.01（第1回目の痙攣発作が発現するまでの平均時間については逆数に変換して分散分析、但し60分以上については60分として処理、運動失調のスコアについては自由分布の分散分析、他は線形ロジスティック回帰に2項誤差を適用）

*：運動失調の最大指数 4 × 10匹

検体の経口投与により運動失調は観察されなかった。またメトラゾールによる間代性痙攣を抑制する作用もみられなかった。

一方、陽性対照であるフェノバルビタールでは、軽度の運動失調がみられ、さらにメトラゾールによる間代性痙攣を明らかに抑制した。

3) マウスにおける抗ストリキニーネ痙攣試験

供試動物：CD-1系マウス（4～5週齢）、体重：21～24g、1群 雄10匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、10および20mg/kgの用量で一晩絶食させたマウスに強制経口投与した（投与容量：10mL/kg）。陽性対照としてフェノバルビタールナトリウム（以下、フェノバルビタール）を用い、同様にコーン油に溶解、経口投与した。また溶媒対照としてコーン油のみを同量経口投与した。

投与45分後に運動失調の有無を観察、直ちに0.75mg/kgの塩酸ストリキニーネを、尾静脈注射し、間代性痙攣と後肢の強直性屈曲の有無を観察した。

試験結果：

薬 剤	投与量 (mg/kg)	間代性痙攣を 示した動物数	強直性伸展を 示した動物数	運動失調指数 (max=40)*
溶媒対照 (コーン油)	—	10/10	10/10	0
検体 (トラロメリン)	5	10/10	9/10	0
	10	10/10	10/10	1
	20	10/10	9/10	2
陽性対照 (フェノバルビタール)	30	4/10	2/10	8

注：P<0.01（線形ロジスティック回帰に2項誤差を適用、運動失調のスコアについては自由分布の分散分析）

*：運動失調の最大指数 4 × 10匹

検体の経口投与により運動失調はみられなかった。またストリキニーネによる間代性痙攣および強直性屈曲を抑制する作用も認められなかった。

一方、陽性対照のフェノバルビタールは明白な抗痙攣作用を有し、中等度の運動失調を示した。

4) 麻酔ネコにおける心臓血管系と瞬膜の反応に対する影響試験

供試動物：ネコ、体重：2.15～2.75kg、雄2匹、雌4匹

試験方法：16時間絶食させたネコをエーテル麻酔した後、頭部静脈に挿入したカテーテルから α -クロラロース60～80mg/kgを投与し麻酔を維持した。また同静脈よりノルアドレナリンを投与した。

検体はコーン油に溶解して1%(w/v)液を調製し20mg/kgの用量で4匹（雄1匹、雌3匹）に十二指腸内に投与した。溶媒対照としてコーン油のみを2匹（雄1匹、雌1匹）に対して同様に十二指腸投与した。

血圧は大腿動脈に装着した圧トランスデューサーにより記録し、両側頸動脈閉

鎖およびノルアドレナリン(原則、1 μ g)の静脈注射に対する反応をみた。また同時に心拍数を計測した。さらに頸部交感神経幹の神経節前部と後部に各一对の電気刺激端子をつけ、これらの神経に交互に2分間隔で各々10秒間の刺激(50Hz、パルス幅1msec)を加え、瞬膜の外縁にストレインゲージをつけ、瞬膜の収縮を記録した。

測定は投与30分前から投与4時間後まで15分間隔で継続して行った。

試験結果：検体の十二指腸内投与により両側頸動脈閉鎖時とノルアドレナリン投与時における血圧および心拍数の変化は、対照と有意な差はみられず、また電気刺激による瞬膜反応にも有意な差はなかった。

以上の結果より、検体は麻酔したネコの圧受容器経路、神経節伝達、遠心性神経終末、あるいは α -アドレナリン受容器に対し影響を示さないと考えられた。

5) マウスにおける腸管の炭末輸送能試験

供試動物：CD-1系マウス、体重：21~24g、1群 雄10匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、10および20mg/kgの用量で一晩絶食させたマウスに強制経口投与した(投与容量：10mL/kg)。また溶媒対照としてコーン油のみを同量経口投与した。

投与30分後各動物に、医薬用炭末の5% (w/v) 蒸留水懸濁液を0.25mL経口投与した後、60分後に屠殺して消化管を摘出した。そして炭末が幽門部より盲腸に移動した距離を測定し、腸の全長に対する比率を算出した。

試験結果：検体投与による炭末の腸内移動距離の腸全長に対する比率の変動は観察されなかった。この結果から腸管の炭末輸送能に対して影響を及ぼさないと考えられた。

6) 麻酔イヌにおける胃腸管の運動機能に対する影響試験

供試動物：ビーグル犬、体重8.9~10.9kg、雄2匹、雌3匹

試験方法：16時間絶食させたイヌにチオペンタールナトリウムとクロラロースを静注し麻酔した後、頭部静脈にカニューレを挿入し、クロラロースにより麻酔を持続させた。また大腿動脈に装着した圧トランスデューサーを介して血圧を測定し、同時に心拍数を計測した。胃および回腸の運動機能の測定は、胃および腸管にバルーンを入れ、低圧トランスデューサーを用いて行った。

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

検体はコーン油に溶解して1%(w/v)液を調製し20mg/kgの用量で3匹(雄1匹、雌2匹)に十二指腸内に投与した。溶媒対照としてコーン油のみを2匹(雄1匹、雌1匹)に対して同様に十二指腸投与した。投与容量は2ml/kgとした。

そして上記検査項目について、投与前30分から投与後240分にわたり記録した。

試験結果：

項目	薬 剤	投与量 (mg/kg)	投与後時間 (分)					
			30	60	90	120	180	230
血圧* (mmHg)	溶媒対照 ¹⁾ (コーン油)	—	-3.7	-4.2	-17	-18	-10	-13
	検体 ²⁾ (トラロメリン)	20	-5.2	-10	-16	-23	-25	-33
心拍数* (回/分)	溶媒対照 ¹⁾ (コーン油)	—	-8.7	-32	-45	-42	-17	-26
	検体 ²⁾ (トラロメリン)	20	↑+6.3	-1.0	-8.0	-24	-15	+6.0
胃運動**	溶媒対照 ¹⁾ (コーン油)	—	+0.5	+0.8	+0.7	+0.5	-0.3	-0.2
	検体 ²⁾ (トラロメリン)	20	-0.1	+0.1	+0.7	+0.2	-0.1	+0.1
回腸運動**	溶媒対照 ¹⁾ (コーン油)	—	+0.7	+0.3	+1.3	+1.2	0.0	+0.2
	検体 ²⁾ (トラロメリン)	20	-0.2	-0.4	+0.1	+0.2	-0.2	-0.6

*: 投与前の値に対する投与後の値との差

** : 投与前のスコアに対する投与後のスコアとの差

↓ ↑ : p<0.05、< /> : p<0.01 (分散分析)

検体は麻酔したイヌの血圧、心拍数および胃の運動機能に影響を与えなかった。回腸の運動機能に対しては投与90分後には、統計学的に有意な差が認められた。しかしながら、回腸の運動性は非常に変化しやすいことから、この差の生物学的意義はないと考えられた。

[申請者註：心拍数において投与30分後に統計学的有意な増加がみられたが、一過性であること、個体変動が大きいこと、また血圧では明らかな変動がみられていないことから、偶発的な変動と考えられた。]

(2) ウサギの脳波への影響試験

(資料 No. 原体-42)

試験機関：

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度：96%

供試動物：New Zealand White種ウサギ（12～14週齢）、体重2.6～2.7kg、雄3匹

試験方法：Bradley-Elkes法により脳皮質に慢性電極（6チャンネル）を埋め、7日間の回復期間経過後に脳波測定のための拘束訓練を最低3回行った。検体はコーン油に溶解、調製した。そして3匹のウサギを用い、0（溶媒対照）、5.0及び20mg/kgの用量を1週間の間隔で、1匹の動物に対してそれぞれの用量を1回ずつ計3回、経口投与した（投与容量：5.0mL/kg）。投与前は各々少なくとも18時間絶食させた。

脳波は投与前、投与後30、60、120及び180分にとり、波形、全電位及び周波数等について解析した。

試験結果：検体の経口投与により、臨床上または行動上の異常は認められなかった。

脳波記録中は、溶媒および検体投与群ともに比較のおとなしく、時として眠気がみられ、脳波の波形としては低電圧の速い波形と睡眠紡錘波の突発、高振幅低周波として表われた。前痙攣発作を示すスパイクや異常波形は認められなかった。

溶媒及び検体投与後の波形、頻度あるいは電位には、投与前と比して有意な差は認められなかった。

睡眠中に認められた紡錘波の発生周期は、溶媒を含むいずれの投与においても、投与後30分または1時間後に減少する傾向がみられた。この変化は、動物に経口投与するという行為による物理的刺激によると考えられた。

また、周波数解析においても溶媒、5.0及び20mg/kg投与の間で特記すべき差は観察されなかった。

以上の結果より、覚醒ウサギの皮質脳波に対し、検体は有意な影響を与えないと考えられた。

(3) ラットの体温への影響試験

(資料No. 原体-43)

試験機関：

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度：96%

供試動物：Wistar系ラット(COBS)、1群雄8匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、10及び20mg/kgの用量で18時間絶食させたラットに強制経口投与した(投与容量：10mL/kg)。対照としてコーン油のみ10mL/kgを投与した。陽性対照としてはアミノピリンを用い、1%カルボキシメチルセルロース(CMC)により調製して50mg/kgを強制経口投与した(投与容量：10mL/kg)。またその対照として1%CMCを同量投与した。
投与直前、投与後1、2、3、5及び7時間に直腸温を測定した。

試験結果：

薬剤	投与量 (mg/kg)	体温(直腸温) (°C)					
		投与直 前 0h	投与後の経過時間				
			1h	2h	3h	5h	7h
溶媒対照 (コーン油)	—	36.9	37.0	37.0	36.8	37.4	37.3
検体 (トラマトリン)	5	37.2	36.9	37.0	36.6	37.4	37.2
	10	36.8	37.0	36.9	36.5	37.5	37.3
	20	36.9	37.1	37.0	37.0	37.6	37.6
溶媒対照 (1%CMC)	—	37.2	37.1	36.8	36.9	37.4	37.1
陽性対照 (アミノピリン)	50	36.9	36.6	36.4	36.4	36.8	37.1

※：P<0.01 (分散分析、各々溶媒で比較)

検体の経口投与後の直腸温に変動はみられなかった。一方、陽性対照のアミノピリンでは、投与後1~5時間に直腸温の統計学的有意な低下が認められた。

以上、検体の経口投与は、ラット体温に影響を与えないと考えられた。

(4) ウサギの瞳孔径に及ぼす影響試験

(資料No. 原体-44)

試験機関：

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度：96%

供試動物：New Zealand White種 ウサギ、体重1.75~2kg (到着時)、1群 雄6匹

試験方法：検体をコーン油に溶解し、5、10及び20mg/kgの用量で一晩絶食させたウサギに強制経口投与した (投与容量：5mL/kg)。溶媒対照としてコーン油のみを同量経口投与した。また、陽性対照として硫酸モルヒネ30mg/kg経口投与した。実験に先立ち、3日間は光の強くない室内で木の台に軽く拘束させる訓練を行なった。

投与前1時間、投与前直前、投与後1、2、4及び6時間に左右両眼の瞳孔を観察し、評点した。評点は以下の基準で行った。

+2=著しい散瞳

+1=わずかな散瞳

0 = 普通

-1=わずかな縮瞳

-2=著しい縮瞳

各検査時期の両眼の評点の平均値を求め、さらに移動平均を算出し、投与前との比較を行なった。移動平均は投与前1時間及び投与前直前を投与前とし、投与後は投与後1及び2時間、投与後2及び4時間、投与後4及び6時間について求めた。

試験結果：

薬剤	投与量 (mg/kg)	投与前との平均評点の差		
		1及び2時間	2及び4時間	4及び6時間
溶媒対照 (コーン油)	—	-0.208	-0.042	-0.042
検体 (トクロメリン)	5	-0.208	-0.167	-0.083
	10	0.042	-0.042	0.042
	20	-0.167	0.000	0.083
陽性対照 (硫酸モルヒネ)	30	-0.958	-1.167	-0.833

○：P<0.01 (一元配置分散分析、Student t検定)

検体投与群と対照群の瞳孔径には有意の差はなかった。一方、陽性対照としての硫酸モルヒネ投与群では有意な縮瞳が認められた。

以上、検体の経口投与は、ウサギの瞳孔径に影響を与えないと考えられた。

(5) 麻酔ウサギの子宮筋収縮に及ぼす影響試験

(資料No. 原体-45)

試験機関：

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度：98.5%

供試動物：New Zealand White種 ウサギ、体重2.5~3.1kg、雌5匹

試験方法：麻酔したウサギに耳静脈カニューレを挿入し、ペントバルビタールナトリウムにより麻酔を維持した。

検体はコーン油に溶解して1%(w/v)液を調製し20mg/kgの用量で3匹に十二指腸内に投与した(投与容量：2mL/kg)。溶媒対照としてコーン油のみを2匹に対して同様に十二指腸投与した。

頸動脈にカニューレを挿入し、圧トランスデューサにより血圧を測定した。またカニューレを子宮角接合部の前方に挿入し、低圧トランスデューサにより子宮圧を記録し、5分毎の子宮収縮回数と収縮幅を求め、30分の移動平均を求めた。測定は投与前60分から投与後4時間にわたり実施した。

試験結果：血圧に対しては、検体投与による影響はみられなかった。

子宮の収縮幅と収縮回数の投与後30分毎の平均値は以下のとおりであった。

収縮幅 (mm)

薬剤	投与量 (mg/kg)	投与後の経過時間 (分)							
		0-30	30-60	60-90	90-120	120-150	150-180	180-210	210-240
溶媒対照 (コーン油)	—	32	36	42	45	36	40	36	90
検体 (トロメリン)	20	56	51	65	60	40	43	56	26

(共分散分析にて有意な差なし)

5分間当りの収縮回数

薬剤	投与量 (mg/kg)	投与後の経過時間 (分)							
		0-30	30-60	60-90	90-120	120-150	150-180	180-210	210-240
溶媒対照 (コーン油)	—	4.8	6.3	6.6	6.4	5.3	5.9	4.9	5.00
検体 (トロメリン)	20	5.1	4.1	4.6	3.7	3.1	2.8	3.7	4.17

(共分散分析にて有意な差なし)

対照群と比して投与群に統計学的な有意な差はみられなかった。

以上、検体の十二指腸投与は、ウサギの子宮筋収縮に影響を与えないと考えられた。

(6) ラット摘出輸精管のアドレナリン及びアセチルコリンによる収縮に対する試験
(資料No. 原体-46)

試験機関：

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度：98.5%

供試動物：Wistar系(COBS) 雄ラット、体重 400~500g

試験方法：ラットの摘出輸精管を37°C Krebs液中に懸垂し、等張トランスデューサーにより輸精管の収縮を記録した。検体を最終濃度1、10及び100 μ g/mLになるよう添加し、30秒後に、アドレナリン(10 μ g/mL)またはアセチルコリン(10 μ g/mL)を加え、輸精管の収縮を記録し検体投与時における収縮の抑制率を求めた。

試験結果：

収縮薬	収縮の抑制率 (%)		
	1 μ g/mL	10 μ g/mL	100 μ g/mL
アドレナリン (10 μ g/mL)	6.2	3.2	22.0
アセチルコリン (10 μ g/mL)	0	35.4	0

アドレナリンによる輸精管の収縮に対して検体100 μ g/mLは、わずかに抑制したが、1及び10 μ g/mLでは抑制しなかった。

アセチルコリンによる輸精管の収縮に対して検体10 μ g/mLは、わずかな抑制を示したが、100 μ g/mLでは認められなかった。したがって10 μ g/mLにおける収縮は検体添加には関連しないものと考えられた。

以上、検体はアドレナリンによるラット輸精管の収縮に対して、弱い抑制作用を有すると考えられた。しかしアセチルコリンによる輸精管の収縮に対しては影響を及ぼさなかった。

(7) トラロメトリンの薬理試験

(資料 No. 原体-47)

試験機関：

報告書作成年：1984年

検体の純度：96%

1) ウサギの前脛骨筋収縮に対する作用

供試動物：日本白色ウサギ、体重2.3～2.7kg、雄3匹

試験方法：ウレタン麻酔下で背位固定し、右側坐骨神経を出来るだけ上部で切断した後、総腓骨神経を分離し、同側の前脛骨筋を剥離後、その末端部を筋力測定用ストレーンゲージに接続した。間接刺激は総腓骨神経に接続した双極白金電極により、直接刺激は約1.5cmの間隔で同筋に刺入した白金線電極により交互に行った。刺激条件は超最大電圧0.1Hz、間接刺激は0.5msec、直接刺激は1msecの短形波刺激とした。これらの刺激による筋収縮曲線をポリグラフに記録すると共にデータレコーダーに収録した。

検体はジメチルホルムアミド (DMF) に溶解し、30、100及び300mg/kgを60分間隔で耳静脈内に投与した (漸次投与方法、投与容量：0.04～0.1mL/kg)。なお、対照としてDMF 0.1mL/kgを投与した。

試験結果：検体30、100及び300mg/kgにより3例とも、直接刺激及び間接刺激共に筋収縮に対する影響はみられなかった。

溶媒として使用したDMFも0.1mL/kgでは筋収縮に対して何ら影響はみられなかった。

2) ウサギの生体位子宮運動に対する作用

供試動物：日本白色ウサギ、体重3.0～3.5kg、雌3匹

試験方法：ウレタン麻酔下で背位固定し、気管カニューレを装着し、開腹後、子宮を露出し、ついで一側の子宮角の先端より生理食塩水を満たした小型バルーンを子宮体部に挿入し、圧測定用トランスデューサーに接続し、開腹部を縫合し、子宮自発運動を子宮の内圧の変化として記録した。

検体はDMFに溶解し、30、100及び300mg/kgを60分間隔で耳静脈内に投与した (漸次投与方法、投与容量：0.04～0.1mL/kg)。なお、対照としてDMF 0.1mL/kgを投与した。

試験結果：検体30、100mg/kgでは3例とも影響はみられなかった。300mg/kgでは投与直後、わずかに自発運動が抑制された。

しかし、3～4分後にはほぼ正常に回復した。

溶媒DMFも0.1mL/kgでは子宮の自発運動に対して影響がみられなかった。

3) 血液に対する作用

i) 血液凝固に対する作用

供試動物：日本白色ウサギ、体重3.0～3.5kg、雄5匹

試験方法：血液は心臓穿刺により採血した。

検体は1%CMC水溶液で懸濁し、最終濃度 10^{-4} 、 3×10^{-4} 、 10^{-3} 及び 3×10^{-3} g/mLの液または対照1%CMC液を0.1mLずつ試験管内に分注し、37℃に保温後新鮮血液を1mLずつ加え、その後15分間隔で傾斜して凝固の有無を観察し、採血直後より凝固の観察された時間を凝固時間として求めた。

試験結果：

検体濃度 (g/mL)	対照	10^{-4}	3×10^{-4}	10^{-3}	3×10^{-3}
平均凝固時間	4分19秒	4分11秒	4分13秒	4分23秒	4分14秒

血液凝固時間に検体各濃度液と対照との間に差は認められなかった。

ii) 溶血作用

供試動物：日本白色ウサギ、体重3.0～3.5kg、雄5匹

試験方法：血液は心臓穿刺によりヘパリン処理した注射器で採血し、遠心分離して赤血球を分離し、3回生理食塩水で洗浄後10%赤血球浮遊生理食塩水溶液を調製した。検体は1%CMC水溶液で懸濁し、最終濃度 3×10^{-4} 、 10^{-3} 及び 3×10^{-3} g/mLとし、この検体液10mLに赤血球浮遊液0.5mLを加え、38℃で2時間インキュベーション後、遠心分離して上清の溶血度を肉眼的に観察した。

試験結果： 3×10^{-4} g/mLの検体液では全く溶血は見られなかったが、 10^{-3} g/mL液では5例中3例、 3×10^{-3} g/mL液では5例全例に極く軽度の溶血がみられた。
一方、担体として用いた1%CMCでは溶血はみられなかった。

4) 摘出平滑筋に対する作用

i) モルモット摘出回腸に対する作用

供試動物：Hartley系モルモット、体重400～500g、雄5匹

試験方法：回腸を摘出し、約1cm位の長さに切り、セルフインをつけ、タイロード液を満たしたマグヌス管に懸垂し、その運動を張力トランスデューサーを介してレクチコーダーに記録した。タイロード液は常に95% O_2 +5% CO_2 混合ガスで飽和し、液温を25℃に保持し、腸管には約1.0gの負荷をかけて測定した。

検体は0.5%CMC水溶液に懸濁し、最終濃度 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mLになるように7

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

～8分間隔でタイロート液に滴下した。

なお、対照としてアセチルコリンの 10^{-9} 及び 3×10^{-8} g/mL液を同様に滴下して腸管の反応性を確認した。

試験結果： 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mLの検体はモルモット摘出回腸平滑筋に対して何ら影響を与えなかった。アセチルコリンの 3×10^{-8} g/mLでは明らかに収縮がみられた。

ii) ラット摘出輸精管に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、体重 250～300g、雄5匹

試験方法：輸精管を摘出し、i) の摘出回腸に対する方法と同様の方法により試験した。

検体は0.5%CMC水溶液に懸濁し、最終濃度 3×10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 3×10^{-4} g/mLの濃度となるよう滴下し影響をみた。その後アドレナリン (10^{-5} g/mL) による収縮に対する上記濃度の検体の作用を調べた。同様の方法でアセチルコリン (10^{-4} g/mL) による収縮に対する上記濃度 (3×10^{-4} は実施せず) での検体の作用を調べた。

試験結果：

検体濃度 (g/mL)	3×10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	3×10^{-4}
トラロメトリンのみ				影響なし
アドレナリン (10^{-5} g/mL) の収縮に対する作用	影響なし	13% 抑制	19% 抑制	29% 抑制
アセチルコリン (10^{-4} g/mL) の収縮に対する作用	15% 抑制	49% 抑制	45% 抑制	—

トラロメトリンは輸精管の平滑筋に対して単独での作用はないが、アドレナリン及びアセチルコリンの収縮を抑制する作用があると考えられた。

5) コリンエステラーゼ活性に対する作用

i) *in vivo* 試験

供試動物：ddy系マウス、体重 20～26g、1群雄20匹

試験方法：検体はDMFで溶解し、一晚絶食させたマウスに検体10または25mg/kgを強制経口投与した。投与前、投与後3、6及び24時間に各5匹ずつを軽麻酔下で腹大動脈より瀉血し、さらに脳を摘出した。全血と血漿のコリンエステラーゼ (ChE) 活性および脳ホモジネートのChE活性をDTNB法により測定した。

試験結果：投与前の各試料のChE活性を100とした時、投与後の各時間のChEは次のとおりであった。

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

試料	投与量 mg/kg	投与前	投与後		
			3時間	6時間	24時間
全血	10	100	97.8	107.5	86.2
	25	100	93.3	106.3	97.0
血漿	10	100	99.1	115.1	98.4
	25	100	100.3	109.1	106.6
脳	10	100	95.0	96.1	101.9
	25	100	92.4	97.1	99.7

検体10と25mg/kgの経口投与では血液および脳内ChE活性を阻害しなかった。
 なお、25mg/kg群の投与後6～24時間に5例中1例が死亡した。

ii) *in vitro* 試験

供試動物：日本白色ウサギ、体重 2.5kg

試験方法：ウサギの耳静脈より採血し、遠心分離後赤血球を3回生理食塩水にて洗浄した。

調製した赤血球浮遊液に等張1%CMC水溶液で懸濁した検体を最終濃度 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} Mとなるように加え、DTNB法により赤血球ChEを測定した。

試験結果：

トラロメトリン濃度 (M)	検体数	ChE (μ mol/mL/min)	比 (%)
対照	5	1.63	100
担体 (0.2%CMC)	5	1.58	96.9
10^{-5}	4	1.78	109.2
10^{-4}	4	1.93	118.4
10^{-3}	4	1.86	114.1

検体の 10^{-5} ～ 10^{-3} Mではウサギの赤血球ChE活性を阻害しなかった。

以上、検体はウサギの生体位子宮運動に対して一過性（投与直後）の自発運動の抑制を示し、ウサギ血液に対して極く軽度の溶血作用を有し、ラット摘出輸精管において、直接平滑筋には影響を及ぼさないが、アセチルコリン、アドレナリンの収縮に対して抑制作用を示したことから、軽度に交感神経または副交感神経作用を抑制を示すものと考えられた。ウサギの前脛骨筋収縮、モルモットの摘出回腸、ウサギ血液の凝固およびウサギ、マウスのコリンエステラーゼ活性に対しては影響を示さなかった。

トラロメトリンの一般薬理試験結果の要約

項目	投与経路	投与量 mg/kg	動物数	無作用量 mg/kg	作用量 mg/kg	結果の概要	資料 No	
中枢神経系	ウサギ脳波への作用	経口	0, 5, 20	♂3	20	-	作用なし	42
	ラット体温への作用	経口	0, 5, 10, 20	1群 ♂8	20	-	作用なし	43
	マウス/抗電撃痙攣作用	経口	0, 5, 10, 20	1群 ♂10	20	-	作用なし	41
	マウス/抗メトラゾール痙攣作用	経口	0, 5, 10, 20	1群 ♂10	20	-	作用なし	41
	マウス/抗ストリキニーネ痙攣作用	経口	0, 5, 10, 20	1群 ♂10	20	-	作用なし	41
心臓・血管系	麻酔ネコの血圧・心拍への作用 (頸動脈閉鎖及びノルアドレナリンに対する反応)	十二指腸	0, 20	♂2, ♀4	20	-	作用なし	41
	麻酔イヌの血圧・心拍への作用	十二指腸	0, 20	♂2, ♀3	20	-	作用なし	41
	麻酔ウサギの血圧への作用	十二指腸	0, 20	♀5	20	-	作用なし	45
自律神経系	麻酔ネコの瞬膜への作用	十二指腸	0, 20	♂2, ♀4	20	-	作用なし	41
	ウサギの瞳孔への作用	経口	0, 5, 10, 20	1群 ♂6	20	-	作用なし	44
体性神経系	麻酔ウサギの前脛骨筋収縮に対する作用	耳静脈	0, 30, 100, 300	♂3	300	-	作用なし	47
消化管	麻酔イヌの生体位胃及び腸管への作用	十二指腸	0, 20	♂2, ♀3	20	-	作用なし	41
	マウスの炭末輸送への作用	経口	0, 5, 10, 20	1群 ♂10	20	-	作用なし	41
平滑筋	麻酔ウサギの生体位子宮に対する作用	十二指腸	0, 20	♀5	20	-	作用なし	45
	麻酔ウサギの生体位子宮に対する作用	耳静脈	0, 30, 100, 300	♀3	100	300	一過性の自発運動の抑制	47

(続き) トラロメトリンの一般薬理試験結果の要約

項目		投与経路	投与量 mg/kg	動物数	無作用量 mg/kg	作用量 mg/kg	結果の概要	資料 No
平滑筋	ラット摘出輸精管への作用	<i>in vitro</i>	1, 10, 100 μ g/mL	♂ (記載なし)	10 μ g/mL	100 μ g/mL	Ad 収縮に対して弱い抑制作用	46
	ラット摘出輸精管への作用	<i>in vitro</i>	3×10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 3×10^{-1} g/mL	♂5	3×10^{-4} g/mL	-	単独で作用なし	47
					3×10^{-6} g/mL	10^{-5} g/mL	Ad 収縮に対して抑制作用	
	-	3×10^{-6} g/mL	Ach 収縮に対して抑制作用					
モルモット摘出回腸への作用	<i>in vitro</i>	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-1} g/mL	♂5	10^{-4} g/mL	-	単独で作用なし	47	
血液	ウサギ血液への凝固作用	<i>in vitro</i>	10^{-1} , 3×10^{-4} , 10^{-3} , 3×10^{-3} g/mL	♂5	3×10^{-3} g/mL	-	作用なし	47
	ウサギ血液に対する溶血作用	<i>in vitro</i>	3×10^{-4} , 10^{-3} , 3×10^{-3} g/mL	♂5	3×10^{-1} g/mL	10^{-3} g/mL	極く軽度の溶血作用	47
その他	マウス/コリンエステラーゼ活性への作用	経口	10, 25	1群 ♂20 (経時的屠殺)	25	-	作用なし	47
	ウサギ/コリンエステラーゼ活性への作用	<i>in vitro</i>	10^{-5} , 10^{-1} , 10^{-3} M	(記載なし)	10^{-3} M	-	作用なし	47

15. 解毒および治療

(1) トラロメトリンのラットにおける急性中毒に対する治療効果試験

(資料 No. 原体-48)

試験機関：

報告書作成年：1985年

検 体：トラロメトリン 2%(Glycerolformalに溶解)

供試動物：Wistar系雄ラット、体重 280~350g、供試動物数不明

試験方法：トラロメトリンは生体内でデルタメトリンに代謝される。そのデルタメトリンの中毒に対して、アトロピン、ジアゼパムおよびクロメチアゾールの投与が有効とされている。そこで、トラロメトリンの静脈内投与後におけるこれら3薬剤の治療効果を検討した。

ラットに対してペントバルビタール(50mg/kg 腹腔内注射)麻酔後、左頸静脈にカテーテルを装着した。そして検体および3薬剤はこのカテーテルより投与した。検体の投与量は6、8、10および12mg/kgとし、比較のためのデルタメトリンの投与量は、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5および5mg/kgとした。

薬剤は次のようなスケジュールで投与した。

- 1) アトロピン：トラロメトリンまたはデルタメトリンの一定量を各投与群に静注後、コリン作動症状出現時に3mg/kgを投与した。
- 2) ジアゼパム：次いで1mg/kgを投与した。
- 3) クロメチアゾール：同上薬剤投与後、舞踏病アテトーゼ出現時に2.25mg/kgを投与し、その後再び興奮症状が出現する度に同量を繰返し投与し、総量50mg/kgまで投与した。

生存例の観察は投与後24時間とした。

この間、症状の推移および生死の状況を観察し、各投与群の死亡率よりLD₅₀値を算出し、効果を判定した。

試験結果：

各投与量における死亡率およびLD₅₀値を以下に示した。

検体	投与量 (mg/kg)	死亡率 (%)	
		無処置	薬剤処置
トラロメトリン	6	0	
	8	14.3	0
	10	66.6	20
	12	100	100
	LD ₅₀	9.3 (mg/kg)	10.7 (mg/kg)
デルタメトリン	1.5	0	
	2	0	
	2.5	2.9	
	3	14.3	0
	3.5	62.5	8.3
	4	91.4	33.3
	4.5	100	77.7
	5		100
	LD ₅₀ 値	3.4 (mg/kg)	4.2 (mg/kg)

3薬剤投与によりLD₅₀値は検体のトラロメトリンおよび比較剤のデルタメトリン共に大となるが、十分な効果とはいえず、これら薬剤の救命としての有効性は低かった。しかし、トラロメトリンはデルタメトリンより発症期間が長く数時間続くことから、症状に対応して適切に用いれば、アトロピン、ジアゼパムおよびクロメチアゾールは有効と考えられる。特に10mg/kg以下の群における死亡時間は無処置では45～60分であるが、薬剤処置により2～3時間後と延長した。

以上の結果より、アトロピン、ジアゼパムおよびクロメチアゾールはトラロメトリン中毒に対しては有効であるが、救命としての有効性は低いと考えられた。一方トラロメトリンはデルタメトリンより中毒症状の進行が遅いので、これら3剤を適切に用いれば、より有効と思われる。

(2) トラロメトリンのラットにおける急性中毒に対する実験的治療法

(資料 No. 原体-49)

試験機関：

報告書作成年：1988年

検体の純度：96%

供試動物：Slc-SD系ラット（5週齢）、体重 雄155～175g、雌132～154g
 一群雌雄各10匹

試験期間：14日間観察

試験方法：トラロメトリン投与におけるメトカルバモール又は硫酸アトロピンの単独、さらに両薬剤の併用投与による治療効果について検討した。

トラロメトリンはオリーブ油（1.5w/v%）に溶解し、15時間絶食したラットに1.0mL/100gの容量で強制経口投与した。薬剤は生理食塩水に溶解し、この所定量を尾静脈内投与した。

2薬剤の静脈内注射は、トラロメトリンの経口投与後30～60分以内に行った。

トラロメトリンの投与量は150mg/kg（LD₅₀値：予備試験の結果より）とした。

解毒剤の投与量

- 1) メトカルバモール：100mg/kg（臨床常用量の10倍量）
- 2) 硫酸アトロピン：0.3mg/kg（臨床常用量の10倍量）
- 3) 混合投与：メトカルバモール（50mg/kg）
 +硫酸アトロピン（0.15mg/kg）

死亡および中毒症状を14日間にわたり観察した。また体重を投与後0、3、7および14日間に測定した。死亡動物および試験終了時の生存動物について剖検を行った。

試験結果：次表にトラロメトリンの150mg/kg経口投与後の死亡状況を示した。

	経時的死亡数					累積 死亡率*
	0～4h	4～8h	8～24h	24～48h	48h～14d	
雄						
無処理区	1	1	6	1		9 / 10
メトカルバモール処理区			4			4 / 10
アトロピン処理区			6			6 / 10
併用処理区			7			7 / 10
雌						
無処理区	1	2	7			10 / 10
メトカルバモール処理区			5	1		6 / 10
アトロピン処理区			6	1		7 / 10
併用処理区			6	2		8 / 10

*：累積死亡数/供試動物数

トラロメトリン（150mg/kg）投与後、無処理区では投与1～2時間後より雌雄共に自発運動の低下、さらに失調性歩行、時には強直性痙攣や振せんを示し、4時間後より死亡動物を認めた。

これに対しトラロメトリン経口投与後30～60分以内の解毒剤静脈内注射処理区では、症状および発現時間については無処理区と同様であったが、死亡は8時間以降であった。また、死亡の大半は8～24時間以内に認められた。

無処理区での生存率が雄で10%、雌で0%であったのに対して、メトカルバモールおよび硫酸アトロピン処理区では各々生存率がそれぞれ雄60%、雌40%、および雄40%、雌30%であった。

投与後の生存動物の体重推移については、無処理区の生存動物が雄の1例のみであったことから処理区との比較ができなかったが、いずれの処理区においても投与3日以降、雌雄共に順調な体重増加が認められた。死亡および生存動物に対する剖検の結果、特記すべき肉眼的異常所見は認められなかった。

以上、トラロメトリン経口投与後30～60分以内で解毒剤を静脈注射した結果、いずれも死亡時間が明らかに遅延し、死亡率の抑制が認められた。

したがって、トラロメトリン経口投与に伴う急性中毒に対して、解毒剤としてメトカルバモールおよび硫酸アトロピンの適用による治療効果はある程度期待できると考えられた。

2. 代謝物

(1) 動物、植物、土壌代謝物

デルタメトリン（代謝物 C）のラットにおける急性経口毒性試験

（資料 No. 代・混-1）

試験機関：

報告書作成年：1976 年

検体の純度：99.5%

供試動物：Sprague Dawley CD1系ラット（4～5週齢）、1群雌雄各10匹

体重：雌雄100～110g

試験期間：8日間観察

試験方法：検体をゴマ油に溶解し、胃ゾンデを用いて体重1kgあたり10mL強制経口投与した。投与前6時間は絶食させた。

試験項目：中毒症状、生死および体重を14日間観察・記録した。

死亡動物および試験終了時の生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀共 66.7、100.0、150.0、 225.0及び337.5
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂128.5 ♀138.7 (104.9～156.5) (114.2～168.2)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後1日から開始 投与後4日に終了
症状発現及び 消失時期	投与直後から発現 投与後3日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂♀共 66.7

中毒症状としては、投与後間もなく、運動失調、痙攣、呼吸異常がみられた。24時間後および48時間後には痙攣と運動性の低下がみられたが3日後には正常に回復した。剖検は実施しなかった。

(2) 動物、植物、土壌代謝物

デルタメトリン (代謝物C) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 代・混-2)

試験機関：

報告書作成年：1996年 [GLP対応]

検体の純度：98%

供試動物：Sprague-Dawley Crl:CD®BR系ラット (6、7週齢)、1群雌雄各5匹
体重：雄187~234g、雌144~213g

試験期間：14日間観察

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、体重1kgあたり5mL強制経口投与した。

試験項目：中毒症状を生死14日間観察・記録した。体重は投与日、投与後7日および14日に測定した。
死亡動物および試験終了時の生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀共 50、75、100及び150
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂95 ♀87 (74~122) (77~97)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後2時間から開始 投与1日後に終了
症状発現及び 消失時期	投与1時間後から発現 投与3日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂♀共 75

中毒症状としては、投与後間もなく、苦悶、歩行異常、痙攣、流涙及び流涎等がみられた。全生存動物の体重は順調に増加した。

試験終了時の剖検では投与に関連した変化は認められなかった。

(3) 動物、植物、土壌代謝物

デルタメトリン (代謝物 C) の細菌を用いた変異原性試験

(資料 No. 代・混-3)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体の純度：デルタメトリン (RU22974) 99%

1) DNA 損傷試験

試験方法：チミン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (W3110, P3478) 及びトリプトファン要求性大腸菌

(WP2, CM611) を用い、37°C 18時間後培養し、阻止帯直径を測定し、*E. coli*

CM611/*E. coli* WP2 及び *E. coli* P3478/*E. coli* W3110の阻止域の面積比を求め判定し

た。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、5,000、2,500、1,250 µg/mLを用

い、陰性対照としてクロラムフェニコール及び陽性対照としてMNNG (N-methyl-N'-

nitro-N-nitrosoguanidine) を用いた。

検体最大濃度は溶解可能な5000 µg/mLとしたが、培地中では一部沈澱を生じた。

試験結果：

薬 剤		濃度 (µg/mL)	阻止帯直径(mm)		面積比 $\frac{P3478}{W3110}$	阻止帯直径(mm)		面積比 $\frac{CM611}{WP2}$
			P3478 ^a	W3110 ^b		CM611 ^c	WP2 ^d	
陰性 対照	クロラムフ ェニコール	50	17.7	19.0	0.88	19.0	18.6	1.04
		100	20.8	23.6	0.81	21.6	23.1	0.86
陽性 対照	MNNG	50	28.0	19.3	2.10	21.1	16.7	1.59
		100	29.9	22.0	1.85	24.1	20.6	1.17
		200	32.5	25.2	1.66	27.5	24.4	1.25
溶媒	DMSO	—	痕跡	痕跡	≠1	痕跡	痕跡	≠1
検体		1250	痕跡	痕跡	≠1	痕跡	痕跡	≠1
		2500	痕跡	痕跡	≠1	痕跡	痕跡	≠1
		5000	痕跡	痕跡	≠1	痕跡	痕跡	≠1

注：遺伝的特徴： a ; polA⁻ b ; polA⁺ c ; uvrA⁻ exrA⁻ d ; uvrA⁺ exrA⁺

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

DMSO : ジメチルスルホキシド

検体では5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でも各菌株において阻止帯は認められなかった。陰性対照物質のクロラムフェニコールは阻止帯の比が約1であり、陽性対照物質のMNNGでは >1 であった。

以上の結果より、検体は本試験の条件下ではDNA損傷の誘発性はないものと判断される。

2) 復帰変異性試験

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100) を用い、ラットの肝臓より調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下及び非存在下で、Ames等の方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解したが、200 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上のものは懸濁液として使用した。

陽性対照としてMNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine)、9-AA (9-amino acridine)、2-NF (2-nitro fluorene) 及び2-AA (2-amino antheracene) を用いた。

試験結果：4プレートの平均値を示す (平均値 \pm S.D.)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix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			
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照	DMSO*	—	—	16 \pm 6	133 \pm 26	5 \pm 4	22 \pm 4	40 \pm 10
検体	2	—	19 \pm 6	138 \pm 16	9 \pm 4	28 \pm 6	46 \pm 5	
	10	—	17 \pm 3	123 \pm 19	9 \pm 3	30 \pm 3	45 \pm 9	
	50	—	22 \pm 10	140 \pm 20	10 \pm 5	28 \pm 7	46 \pm 7	
	200	—	17 \pm 8	132 \pm 9	7 \pm 3	21 \pm 10	32 \pm 5	
	500	—	28 \pm 4*	129 \pm 10	11 \pm 5	30 \pm 9	36 \pm 7	
	1000	—	15 \pm 4	138 \pm 24	10 \pm 5	25 \pm 8	40 \pm 7	
	5000	—	17 \pm 3	113 \pm 21	8 \pm 5	18 \pm 9	37 \pm 7	
対照	DMSO	—	—	29 \pm 3	144 \pm 18	13 \pm 9	80 \pm 4	31 \pm 12
検体	2	+	30 \pm 4	119 \pm 21	7 \pm 3	70 \pm 18	38 \pm 5	
	10	+	29 \pm 6	135 \pm 21	12 \pm 5	58 \pm 19	33 \pm 8	
	50	+	33 \pm 6	134 \pm 29	12 \pm 3	79 \pm 15	34 \pm 5	
	200	+	25 \pm 4	118 \pm 17	10 \pm 2	61 \pm 21	30 \pm 4	
	500	+	29 \pm 7	134 \pm 11	9 \pm 2	73 \pm 6	33 \pm 7	
	1000	+	26 \pm 6	124 \pm 13	12 \pm 4	80 \pm 13	31 \pm 6	
	5000	+	33 \pm 5	145 \pm 12	9 \pm 2	59 \pm 10	36 \pm 7	
陽性対照	S-9 Mix 無	名称	MNNG	MNNG	9-AA	2-NF	2-NF	
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$	2	2	200	2	2	
		コロニー数 /プレート	>1000	>1000	247 \pm 61	161 \pm 49	179 \pm 47	
	S-9 Mix 有	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$	2	2	2	2	2	
		コロニー数 /プレート	259 \pm 46	>1000	72 \pm 15	>1000	>1000	

*dimethylsulfoxide

※ $p < 0.05$ で有意差あり

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、9-AA : 9-amino acridine、

2-NF : 2-nitro fluorene、2-AA : 2-amino antheracene

検体はS-9による代謝活性化を含め、5,000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度でも復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたMNNG、2-amino anthracene, 9-amino acridineおよび2-nitrofluorene では、それぞれすべての検定菌株で、復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

(4) 動物、植物、土壌代謝物

デルタメトリン（代謝物 C）の細菌を用いた変異原性試験

（資料 No. 代・混-4）

試験機関：

報告書作成年：2005 年 [GLP 対応]

検体の純度：98.8%

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* の 1 株 (WP2 uvrA/pKM101) を用い、Phenobarbital および 5,6-Benzoflavone で酵素誘導した雄ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下でプレインキュベーション法による復帰変異試験を行った。検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。

まず、濃度設定試験を 5~5000 μ g/プレートの範囲で 6 濃度を設定して実施した。その結果、5000 μ g/プレートで結晶析出がみられたものの、抗菌作用はみられなかった。そこで本試験では 313~5000 μ g/プレートの 5 濃度で実施した。

各濃度 3 枚のプレートを用いた。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、復帰変異コロニーを計数し、溶媒対照に比し 2 倍以上でかつ用量相関性のある復帰変異コロニー数の増加が認められた場合に変異原性を有すると判定した。

結果：結果を次表に示した。

2 回の独立した復帰突然変異試験の結果、検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照では各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、デルタメトリンは代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられた。

表 1 復帰突然変異試験成績 (濃度設定試験: プレインキューベーション法)

(表中の値は3枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA /pKM101	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	(0.1mL)	-	113	10	69	17	8	
検 体	5		111	10	79	18	5	
	20		101	10	71	17	5	
	80		71	8	78	16	6	
	313		113	10	74	19	8	
	1250		106	11	75	19	8	
	5000#		114	11	83	18	8	
陽性対照								
NaN ₃	0.5		NT	259	NT	NT	NT	
AF-2	0.01		707	NT	1596	NT	NT	
	0.1		NT	NT	NT	396	NT	
9-AA	80		NT	NT	NT	NT	348	
溶媒対照 (DMSO)	(0.1mL)		+	101	13	110	29	7
検 体	5			116	10	102	34	8
	20	114		11	115	22	9	
	80	96		12	105	27	10	
	313	112		10	107	25	9	
	1250	117		10	102	20	7	
	5000#	107		10	110	21	11	
陽性対照								
2-AA	0.5	NT		NT	NT	251	NT	
	1	658		NT	NT	NT	NT	
	2	NT	237	337	NT	178		

NaN₃: アジ化ナトリウム

AF-2: フリルフラマイド

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

#: 結晶析出

NT: 未実施

表 2 復帰突然変異試験成績 (本試験: プレインキューベーション法)

(表中の値は3枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA /pKM101	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	(0.1mL)	-	119	10	65	19	7	
検 体	313		116	8	76	18	7	
	625		113	7	66	18	5	
	1250		122	8	66	21	5	
	2500		115	10	67	18	7	
	5000#		110	11	67	20	6	
陽性対照								
NaN ₃	0.5		NT	251	NT	NT	NT	
AF-2	0.01		898	NT	1591	NT	NT	
	0.1		NT	NT	NT	378	NT	
9-AA	80		NT	NT	NT	NT	482	
溶媒対照 (DMSO)	(0.1mL)		+	114	10	118	26	8
検 体	313			112	7	110	28	7
	625			105	10	102	20	6
	1250			106	8	108	25	8
	2500	112		9	104	20	8	
	5000#	109		8	106	20	8	
陽性対照								
2-AA	0.5	NT		NT	NT	258	NT	
	1	712		NT	NT	NT	NT	
	2	NT	271	378	NT	169		

NaN₃: アジ化ナトリウム

AF-2: フリルフラマイド

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

#: 結晶析出

NT: 未実施

3. 製剤

(1)-1 1.6%乳剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 製剤-1)

試験機関：

報告書作成年：1984 年

検体の純度：1.6%乳剤

組成 トラロメトリン原体：1.6%

有機溶媒、界面活性剤等：98.4%

供試動物：Slc-Wistar系ラット（5週齢）、1群 雌雄各10匹

体重；雄 100g前後、雌90g前後

試験期間：14日間観察（1984年2月22日～1984年3月26日）

試験方法：検体を蒸留水で希釈し、胃ゾンデを用いて体重1kg当り10ml強制経口投与した。
投与前6時間および投与後3時間まで絶食した。

試験項目：中毒症状、生死および体重を14日間観察・記録した。

死亡動物および試験終了時の生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀共 897、1122、1399、 1749、2189 および 2736
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 1624 ♀ 1990 (1354～1946) (1624～2439)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後6時間から開始 投与後24時間に終了
症状発現及び 消失時期	投与後3時間から発現 投与後72時間に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂♀共 897

中毒症状として、洗顔様動作と間代性痙攣、さらに痙攣が強くなり体を回転させる動作がみられた。重度の場合、これらの症状から腹臥状態となり、死に至った。

体重変化は、投与後1～4日目まで増加抑制ならびに減少するのがみられたが、5日目からは正常と思われる増加推移を示した。

解剖所見としては、早期死亡例では胃および小腸内に検体の停滞がみられたが、生存例では胸腔内および腹腔内の諸臓器に、特記すべき変化はみられなかった。

(1)-2 1.6%乳剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤-2)

試験機関：

報告書作成年：1984年

検体の純度：1.6%乳剤

組成 トラロメトリン原体：1.6%

有機溶媒、界面活性剤等：98.4%

供試動物：Slc-ICR系マウス（5週齢）、1群 雌雄各10匹

体重；雄 23g前後、雌21g前後

試験期間：14日間観察（1984年2月22日～1984年3月19日）

試験方法：検体を蒸留水で希釈し、胃ゾンデを用いて体重1kg当り20ml強制経口投与した。
投与前6時間より、投与後3時間まで絶食させた。

試験項目：中毒症状、生死および体重を14日間観察・記録した。
死亡動物および試験終了時の生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀共 270、337、422、527、 659 および 824
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 386 ♀ 493 (332~449) (422~574)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後4時間から開始 投与後24時間に終了
症状発現及び 消失時期	投与後3時間から発現 投与後72時間に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂270 ♀337

中毒症状として、洗顔様動作と間代性痙攣、さらに痙攣が強くなり体を回転させる動作がみられた。重度の場合、これらの症状から腹臥状態となり、死に至った。

体重変化は、投与後1～3日目まで増加抑制ならびに減少するのがみられたが、4日目からは正常と思われる増加推移を示した。

解剖所見としては、早期死亡例では胃および小腸内に検体の停滞がみられたが、生存例では胸腔内および腹腔内の諸臓器に、特記すべき変化はみられなかった。

(1)-3 1.6%乳剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 製剤-3)

試験機関：

報告書作成年：1984年

検体の純度：1.6%乳剤

組成 トラロメトリン原体：1.6%

有機溶媒、界面活性剤等：98.4%

供試動物：Slc-Wistar系ラット（5週齢）、1群 雌雄各10匹

体重；雄 100g前後、雌 90g前後

試験期間：14日間観察（1984年2月22日～1984年3月26日）

試験方法：剪毛したラットの背部に原液をリント布に塗布したものを24時間適用した。適用時間終了後、適用部位の検体を温湯で洗浄し除去した。

試験項目：中毒症状、生死および体重を14日間観察・記録した。

試験終了時の全生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	♂♀共 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ >5000 ♀ >5000 (—) (—)
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	投与後1日から発現 投与後3日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂♀共 5000

中毒症状として、自発運動の減少、軽度の立毛がみられ、また雌雄ともに約半数に歩行時に背中を曲げる、緩慢な歩行という歩行異常がみられた。

体重変化は、5日目まで減少ならびに増加抑制がみられたが、6日目以降は増加推移を示した。

解剖所見としては、胸腔内および腹腔内臓器に、特記すべき変化は観察されなかった。また、塗布部位に発赤、浮腫等の刺激性反応は認められなかった。

(1)-4 1.6%乳剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料No. 製剤-4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度：1.6%乳剤

組成 トラロメトリン原体：1.6%

有機溶媒、界面活性剤等：98.4%

試験動物：日本白色種ウサギ、約3ヶ月齢（体重2.30～2.55kg）1群雌6匹

試験期間：14日間観察（1985年2月19日～3月5日）

試験方法：検体の原液または1,000倍希釈液0.5mlを各動物の刈毛した背部の皮膚（3cm四方）に塗布した。塗布時間は4時間とした。

観察項目：投与終了30分、1、2、3、4、7および14日後に塗布部分の刺激性変化（紅斑、痂皮および浮腫）について観察しDraize法に従って評価した。

試験結果：

<トラロメトリン1.6%乳剤・原液>

動物 番号	項目	最高 評点	塗布終了後時間						
			0.5時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	14日
1	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	2	2	0
	浮腫	4	1	2	2	2	2	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	2	1	0
	浮腫	4	1	1	2	1	1	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	3	3	4	4	1	0
	浮腫	4	2	2	2	2	2	0	0
4	紅斑・痂皮	4	1	2	2	3	3	1	0
	浮腫	4	1	2	2	2	2	0	0
5	紅斑・痂皮	4	1	1	1	2	2	1	0
	浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0
6	紅斑・痂皮	4	1	2	2	3	3	1	0
	浮腫	4	1	2	2	2	2	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	6	12	12	16	16	7	0
	浮腫	24	7	10	11	10	10	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2.67	2.67	1.17	0
	浮腫	4	1.17	1.67	1.83	1.67	1.67	0	0
皮膚一次刺激指数						3.2			

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

<トラロメトリン1.6%乳剤・1,000倍希釈液>

(表の点数は6匹の平均値)

項目		最高 評点	塗布終了後時間						
			0.5 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	7 日	14 日
希 釈 液	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	0	0	0
	一次刺激指数		-						

検体原液では検体除去30分、1日後は軽度の紅斑および浮腫が、3日後には痂皮形成がみられたが、4日以降は軽減し、14日目では正常に回復した。

検体1,000倍希釈液では、異常は認められなかった。

以上の結果より、検体の皮膚一次刺激性は原液で軽度～中程度、1,000倍希釈液では刺激性はないと判断される。

(1)-5 1.6%乳剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料No. 製剤-5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度：1.6%乳剤

組成 トラロメトリン原体：1.6%

有機溶媒、界面活性剤等：98.4%

試験動物：日本白色種ウサギ、約3ヵ月齢（体重2.24~2.54kg）

雌9匹（洗眼群3匹、非洗眼群6匹）

試験期間：21日間観察（1985年2月19日~3月12日）

試験方法：検体原液0.1mlを各動物の右眼に点眼し2~3分後、3匹について生理食塩水200mlによって洗浄した。

6匹については洗浄しなかった。

観察項目：投与1時間、1、2、3、4、7、10、13および21日後に角膜、虹彩および結膜について観察し、Draize法に従って評価した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の方の通りである。

項目	最高		投与後時間										
	評点		1時間	1日	2日	3日	4日	7日	10日	13日	21日		
非洗眼群	動物番号1	角膜混濁 程度	4	0	0	1	1	1	2	2	2	1	
		面積	4	0	0	2	3	3	3	4	4	4	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	2	1	1	0
			浮腫	4	3	2	2	3	4	4	2	2	1
			分泌物	3	3	2	2	2	2	2	2	2	1
	合計(MTS) [#]	110	16	12	22	29	31	46	50	50	24		
	動物番号2	角膜混濁 程度	4	0	0	2	2	2	2	2	2	2	
		面積	4	0	0	2	3	3	4	4	4	4	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	2	1	1	0
			浮腫	4	3	2	2	3	3	3	2	1	0
分泌物			3	3	3	2	2	2	2	1	1	0	
合計(MTS) [#]	110	16	14	32	44	44	54	48	46	40			
動物番号3	角膜混濁 程度	4	0	0	2	2	2	2	2	2	1		
	面積	4	0	0	2	2	2	3	4	4	4		
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	2	1	0	0	
		浮腫	4	3	2	3	3	3	2	2	2	0	
		分泌物	3	3	2	2	2	1	1	1	1	0	
合計(MTS) [#]	110	16	12	34	34	32	40	48	46	20			

項目			最高	投 与 後 時 間									
			評点	1時間	1日	2日	3日	4日	7日	10日	13日	21日	
非 洗 眼 群	動物 番号 4	角膜混濁	程度	4	0	0	1	2	2	2	2	2	1
			面積	4	0	0	2	3	3	3	3	3	4
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0
		浮腫	4	3	2	2	2	2	2	2	1	0	0
		分泌物	3	3	2	3	3	2	1	1	0	0	
	合 計(MTS) [#]		110	16	12	14	14	12	10	6	0	0	
	動物 番号 5	角膜混濁	程度	4	0	0	1	2	2	2	2	2	2
			面積	4	0	0	2	3	3	3	3	4	4
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	2	2	3	3	2	1	1	1	0	
		浮腫	4	3	2	2	2	2	2	2	1	0	
		分泌物	3	3	2	2	2	2	1	1	0	0	
	合 計(MTS) [#]		110	16	12	24	44	42	38	38	44	40	
	動物 番号 6	角膜混濁	程度	4	0	0	1	1	1	1	2	3	4
面積			4	0	0	2	2	2	3	4	4	2	
虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
結 膜	発赤	3	2	2	3	3	2	2	2	2	1		
	浮腫	4	3	2	2	2	2	1	1	1	1		
	分泌物	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2		
合 計(MTS) [#]		110	16	12	24	24	22	25	50	70	48		
合 計		660	96	74	160	219	213	243	270	286	192		
平 均		110	16	12.3	26.7	36.5	35.5	40.5	45	47.6	32		
洗 眼 群	3 匹 平均	角膜混濁	程度	4	0	0	1	1.3	1.3	1.7	2	2	2.3
			面積	4	0	0	2	2	2	2	2	2.6	1.7
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	2	2	2	2	2	1.3	1.3	0.7	0.3	
		浮腫	4	3	3	2.3	2	2	1.7	1.3	1.3	0.7	
		分泌物	3	3	2.3	2	2.3	1.7	1.3	1.3	1	1	
	合 計(MTS) [#]		110	16	14.7	22.7	26	24.6	25.3	28	34.3	25.7	

#: Draize 法による評価点 (最高 110 点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

非洗眼群、洗眼群共に1時間後には結膜に紅斑、浮腫および分泌物がみられ、24時間後は結膜の浮腫、分泌物は軽減したが、48~72時間後には角膜の混濁が認められた。角膜混濁は13日以降軽減したが、21日後には角膜周辺より血管増殖がみられた。

以上の結果より検体のウサギの眼粘膜に対する一次刺激性は、中~強度と考えられる。

[申請者追記]

洗眼効果は認められなかった。

(1)-6 1.6%乳剤希釈液のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料No. 製剤-6)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度：1.6%乳剤

組成 トラロメトリン原体：1.6%

有機溶媒、界面活性剤等：98.4%

試験動物：New Zealand White系カイウサギ、3ヵ月齢

(体重2.49~2.74kg) 雄9匹

試験期間：72時間観察(1985年6月24日~6月28日)

試験方法：検体1,000倍希釈液0.1mlを右眼に点眼し、3匹について点眼後殺菌生理食塩水200mlで1分間洗浄し、6匹は洗浄しなかった。

なお左眼は無処置対照とした。

観察項目：投与1時間、24、48および72時間後に角膜、虹彩および結膜の一次刺激性変化を観察し、24時間後にはフルオレセイン染色により角膜損傷について観察した。

なお、Draizeの判定基準により評点した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

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
			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(MTS) [#]		110	0	0	0	0	
洗眼群	3匹平均	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
			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(MTS) [#]		110	0	0	0	0	

#: Draize法による評価点(最高110点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

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

非洗眼群・洗眼群共に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化は全例に認められなかった。

以上の結果より検体の1000倍希釈液はウサギの眼粘膜に対し刺激性はないと判断される。

(1)-7 1.6%乳剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 製剤-7)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度：1.6%乳剤

組成 トラロメトリン原体：1.6%

有機溶媒、界面活性剤等：98.4%

試験動物：ハートレイ系モルモット雌（体重 344～413g）

検体投与群 1群20匹（感作群、非感作群各10匹）

陽性対照群 1群10匹（感作群、非感作群各5匹）

試験期間：惹起後48時間観察（1985年2月13日～1985年3月8日）

試験方法：[Maximization法]

投与量設定；予備試験結果から、皮内投与1%、塗布25%とした。しかしながら、感作の塗布濃度25%は軽度の皮膚一次刺激性が認められたので、惹起の塗布濃度は5%とした。

感作；感作は2段階で行った。第1段階は皮内注射、第2段階は塗布によった。

1) 皮内注射による感作

肩甲骨上を刈毛し

①adjuvant

②検体の1%生理食塩水希釈液

③検体、生理食塩水、adjuvant混合液

（検体の最終濃度は1%）

を各0.05mlずつ、2ヶ所に皮内注射した。

一方、陽性対照として、

①adjuvant

②DNCB 0.1%コーンオイル懸濁液

③DNCB、生理食塩水、adjuvant混合液

（DNCBの最終濃度は0.1%）

を同様に0.05mlずつ2ヶ所に皮内注射した。

2) 塗布による感作

皮内注射による感作1週間後肩甲骨上を刈毛し、検体の25%生理食塩水希釈液を皮内注射部位に48時間閉塞塗布した。一方、陽性対照として、DNCBの1.0%親水軟膏混合剤を同様に閉塞塗布した。

惹起；塗布による感作2週間後に検体の5%生理食塩水希釈液を感作部位と異なる腹側部に24時間閉塞塗布した。一方陽性対照群には、DNCBの1.0%親水軟膏混合剤を同様に閉塞塗布した。

観察；惹起のための塗布除去後、24及び48時間目に惹起部位の紅斑および浮腫を観察した。また、投与開始時および観察終了時に体重測定を行なった。

試験結果：被験物質および陽性物質の惹起後の皮膚反応評価点数は次の通りであった。

試験群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)		
				惹起後 24 時間				惹起後 48 時間				24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	
				皮膚反応評点														
				0	1	2	3	0	1	2	3							
検体投与群	感作	皮内;1塗布;25	5	10	0	10	0	0	10	0	0	0	1.0	0	10	0	100	0
	非感作	皮内;0塗布;0	5	10	0	10	0	0	10	0	0	0	1.0	0	10	0	100	0
陽性対照群	感作	皮内;0.1塗布;1	0.1	5	0	0	1	4	0	0	5	0	2.8	2.0	5	5	100	100
	非感作	皮内;0塗布;0	0.1	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0

検体投与の感作群において、惹起24時間後にごく軽度の紅斑が全例に認められたが、48時間後には皮膚反応は認められなかった。非感作群においても惹起24時間後にごく軽度の紅斑が全例に認められた。これらの皮膚反応は感作群および非感作群での反応に差がないことから皮膚一次刺激性と考えられた。

陽性対照の感作群では、惹起24時間後に強度の紅斑およびごく軽度の浮腫が認められ、48時間後には紅斑の軽減が観察された。非感作群では、惹起後のいずれの時間にも変化は認められなかった。

投与開始時および観察終了時に体重を測定したが、各試験群とも全例が増加していた。

以上の結果より、検体のモルモットにおける皮膚感作性は極めて弱いか、ないものと判断される。

(2)-1 1.4%フロアブルのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 製剤-8)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1988年

検体の純度: 1.4%フロアブル

組成 トラロメトリン原体: 1.4%

水、界面活性剂等 : 98.6%

供試動物 : Wistar系ラット (6週齢)、1群 雌雄各10匹

体重; 雄 160g前後、雌136g前後

試験期間 : 14日間観察 (1988年9月28日~1988年12月6日)

試験方法 : 検体を蒸留水で希釈し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。

投与前16時間および投与後2時間まで絶食した。

試験項目 : 中毒症状、生死および体重を14日間観察・記録した。

死亡動物および試験終了時の生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀共 1820、2550、3570、5000、7000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 3150 (2500~3920) ♀ 3600 (2900~4460)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後2時間から開始 投与後2日に終了
症状発現及び 消失時期	投与後10分から発現 投与後4日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂♀共 1820

中毒症状として、流涙、流涎、立毛、振顫、間代性痙攣、体捻転および後肢痙攣の症状が認められ、尿失禁および下痢を伴い2時間後から死亡例が認められた。

体重変化は投与後3日目まで増加抑制ならびに減少するのがみられたが、徐々に回復傾向を示し、5日目からは増加推移を示した。

解剖所見としては投与によると考えられる変化はみられなかった。

(2)-2 1.4%フロアブルの Maus における急性経口毒性試験

(資料No. 製剤-9)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1988年

検体の純度: 1.4%フロアブル

組成 トラロメトリン原体: 1.4%
水、界面活性剤等: 98.6%

供試動物 : ICR系 Maus (7週齢)、1群 雌雄各10匹
体重; 雄 34g前後、雌29g前後

試験期間 : 14日間観察 (1988年9月28日~1988年12月6日)

試験方法 : 検体を蒸留水で希釈し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。
投与前16時間より、投与後2時間まで絶食させた。

試験項目 : 中毒症状、生死および体重を14日間観察・記録した。
死亡動物および試験終了時の生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀共 650、910、1275、1785 および 2500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 1080 ♀ 1200 (845~1380) (895~1610)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後1時間から開始 投与後2日に終了
症状発現及び 消失時期	投与後10分から発現 投与後4日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂♀共 650

流涙、流涎、立毛、振顫、間代性痙攣、挙尾および後肢痙攣などの症状が認められ、尿失禁および下痢を伴い1~2時間後から死亡例が認められた。

生存例の中毒症状は、3~4日目には消失し、対照群に比べて抑制がみられた体重も徐々に回復の傾向がみられた。

解剖所見としては投与によると考えられる変化は認められなかった。

(2)-3 1.4%フロアブルのラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 製剤-10)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1988年

検体の純度：1.4%フロアブル

組成 トラロメトリン原体：1.4%
水、界面活性剤等：98.6%

供試動物：Wistar系ラット（6週齢）、1群 雌雄各10匹
体重；雄 160g前後、雌 136g前後

試験期間：14日間観察（1984年9月28日～1988年12月6日）

試験方法：剪毛したラットの背部中央（4×5cm）に検体を塗布し、ガーゼで覆い24時間適用した。適用時間終了後、適用部位の検体を中性洗剤を用いて除去した。

試験項目：中毒症状、生死および体重を14日間観察・記録した。
試験終了時の全生存動物につき剖検した。

試験結果

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	♂♀共 2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ >2000 ♀ >2000 (—) (—)
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	♂♀共 5000

中毒症状および死亡は認められなかった。

体重変化は順調に増加推移を示した。

解剖所見としては特記すべき変化は観察されなかった。また、塗布部位に発赤、浮腫等の刺激性反応は認められなかった。

(2)-4 1.4%フロアブルのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料No. 製剤-11)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度：1.4%フロアブル

組成 トラロメトリン原体：1.4%

水、界面活性剤等：98.6%

試験動物：日本白色種ウサギ、約3.5ヶ月齢（体重2.52～3.02kg）1群雄6匹

試験期間：3日間観察（1985年11月6日～11月9日）

試験方法：検体の原液0.5mlを各動物の刈毛した背部にリント布（2.5×2.5cm）を用いて4時間貼付した。適用後は蒸留水で適用部位を清拭した。

観察項目：適用終了1、24、48および72時間後に適用部分の刺激性変化（紅斑、痂皮および浮腫）について観察し評価法に従って評価した。

試験結果：

（表の点数は6匹の平均値）

項目	最高 評点	貼付終了後時間			
		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
皮膚一次刺激指数		0			

いずれの観察時期においても検体による一般状態および皮膚における異常は認められなかった。

以上の結果より検体の皮膚一次刺激性はないと判断される。

(2)-5 1.4%フロアブルのウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料No. 製剤-12)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1985年

検体の純度：1.4%フロアブル

組成 トラロメトリン原体：1.4%

水、界面活性剤等：98.6%

試験動物：日本白色種ウサギ、約3.5ヵ月齢（体重2.52~3.02kg）

雄9匹（洗眼群3匹、非洗眼群6匹）

試験期間：4日間観察（1985年11月5日~11月9日）

試験方法：検体原液0.1mlを各動物の左眼に点眼し2~3分後、3匹について微温湯200mlによって1分間洗浄した。6匹については洗浄しなかった。

観察項目：投与1時間、1、2、3および4日後に角膜、虹彩および結膜について観察し、評価法に従って評価した。また1日後には2%フルオレセインナトリウム水溶液を点眼し角膜の染色斑の有無も観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の方の通りである。

項目		最高 評点	投 与 後 時 間						
			1時間	1日	2日	3日	4日		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角 膜	4	0	1	1	0	0	
		虹 彩	2	0	1	0	0	0	
		結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
			浮 腫	4	1	0	0	0	0
		合 計	10	1	2	1	0	0	
	動物 番号 2	角 膜	4	0	1	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
			浮 腫	4	1	0	0	0	0
		合 計	10	1	1	0	0	0	
	動物 番号 3	角 膜	4	1	1	1	0	0	
		虹 彩	2	1	1	0	0	0	
		結 膜	発 赤	3	0	1	1	1	0
			浮 腫	4	1	1	0	0	0
		合 計	10	3	4	2	1	0	

項目		最高	投与後時間						
		評点	1時間	1日	2日	3日	4日		
非洗眼群	動物番号4	角膜	4	0	1	1	0	0	
		虹彩	2	0	1	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	1	1	1	0
			浮腫	4	1	1	0	0	0
		合計	10	1	4	2	1	0	
	動物番号5	角膜	4	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	1	1	0	0
			浮腫	4	2	1	0	0	0
		合計	10	2	2	1	0	0	
	動物番号6	角膜	4	0	1	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	1	1	0	0
			浮腫	0	1	1	0	0	0
		合計	10	1	3	1	0	0	
合計		60	9	16	7	2	0		
平均		10	1.5	2.7	1.2	0.3	0		
洗眼群	3匹平均	角膜	4	0	0.3	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0.3	1	0.7	0.7	0
			浮腫	4	1.3	1	0.3	0	0
		合計	10	1.6	2.3	1.0	0.7	0	

非洗眼群では、閉眼、分泌物が観察され、角膜においては散在性または慢性の混濁、虹彩の充血、そして結膜の発赤・腫脹が認められた。洗眼群でも、閉眼が観察され、角膜において散在性または慢性発赤・腫脹が認められた。これらの刺激反応は時間の経過とともに軽減し、4日後に正常に回復した。

以上の結果より検体のウサギの眼粘膜に対する一次刺激性は軽度であり、投与後の速やかな洗眼は刺激の程度をわずかながら軽減するものと考えられた。

(2)-6 1.4%フロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 製剤-13)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度：1.4%フロアブル

組成 トラロメトリン原体：1.4%

水、界面活性剤等：98.6%

試験動物：ハートレイ系モルモット雌（体重 303～423g）

検体投与群 1群20匹

陽性対照群 1群20匹

試験期間：惹起後72時間観察（1985年12月3日～1985年12月27日）

試験方法：[Maximization法]

投与量設定；原液、30、10、3、1および0.1%水溶液を皮内投与し、投与後24、48時間および7日に観察した結果、1および0.1%水溶液では皮膚反応がみられなかったため、皮内投与は1%とした。また、同濃度の溶液を刈毛した側胴部に24時間閉塞貼付し、貼付除去後1、24時間および7日後に観察した。各濃度ともに皮膚反応は見られなかったため貼付の濃度は原液とした。

感作；感作は2段階で行った。第1段階は皮内投与、第2段階は貼付によった。

1) 皮内投与による感作

肩甲骨上を刈毛し

①adjuvantと蒸留水の等量混合液

②検体の1%水溶液

③検体の2%水溶液とadjuvantの等量混合液（検体の最終濃度は1%）

を各0.05mlずつ、2ヶ所に皮内注射した。

一方、陽性対照として、

①adjuvantと蒸留水の等量混合液

②DNCB 0.1%オリーブオイル懸濁液

③DNCBのadjuvant溶液と蒸留水の等量混合液（DNCBの最終濃度は0.1%）

を同様に0.05mlずつ2ヶ所に皮内注射した。

2) 貼付による感作

皮内投与による感作6日後に同部位を刈毛し、10%ラウリル硫酸ナトリウムワセリン液0.2gを、皮内投与した部位の内側に塗布し24時間放置した。翌日この部位をエーテルでふきとり、検体の原液または陽性対照としてDNCBの1%オリ-

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

ブ油溶液0.2mlを48時間閉塞貼付した。

惹起;閉塞貼付14日後に検体原液0.1mlを感作部位と異なる腹側部に24時間閉塞貼付した。

一方陽性対照群には、DNCBの0.01%オリーブ油溶液0.1mlを同様に閉塞塗布した。

観察;惹起のための貼付除去後、24、48および72時間目に惹起部位の紅斑および浮腫を

観察し、Magnusson et al(1969)の評価表に従って評価した。

試験結果:被験物質および陽性物質の惹起後の皮膚反応評価点数は次の通りであった。

試験群	感作濃度(%)	惹起濃度(%)	動物数	感作反応動物数												平均評点			感作陽性率(%)			
				惹起後 24 時間				惹起後 48 時間				惹起後 72 時間				24時間	48時間	72時間	24時間	48時間	48時間	
				皮膚反応評点																		
				0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3							
検体投与群	感作	皮内; 1 貼付; 100	100	20	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照群	感作	皮内; 0.1 貼付; 1	0.01	20	0	3	9	8	0	2	15	3	0	7	12	1	2.3	2.1	1.7	100	100	100

検体投与群では全ての観察時期において、全動物の皮膚に反応が認められず陽性率は0%であった。

一方陽性対照群では24時間後に軽度から強度の紅斑および浮腫が全例に認められ、時間の経過とともに徐々に軽減する傾向が認められた。陽性率は100%であった。各試験群とも観察期間中一般状態に特記すべき異常は観察されなかった。

以上の結果より、検体のモルモットにおける皮膚感作性はないものと判断される。

4. 参考

トラロメトリンに関する催奇形性試験

(資料 No. 参考-1)

試験機関：

報告書作成年：1980年

本試験を参考とした理由：現行のガイドラインと一致していないこと（投与期間）および胎児所見の分類が不明瞭であることから参考扱いとした。

検体の純度：98.5%

1. トラロメトリンのラットを用いた催奇形性試験

試験動物：Sprague Dawley CD1系ラット（6ヶ月齢）、体重約200g、
1群雌25匹

投与期間：妊娠6～17日、12日間投与（試験期間 1980年1月15日～4月30日）

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、投与量2、6及び18mg/kgを投与容量10mL/kgとして、妊娠6日目より第17日目まで毎日1回強制経口投与した。対照群としてコーンオイルのみを10mL/kg同様に投与した。妊娠0日は膈垢内に精子が確認された日とした。

用量設定根拠：投与量は1群雌10匹を用いた予備試験結果（4、8、16および24mg/kg投与）に基づいて決定した。この試験では24mg/kg投与で、痙攣、四肢の麻痺がみられ2匹が死亡し、生存動物では体重増加抑制が認められた。8mg/kg投与では1匹が痙攣後死亡した。16および4mg/kg投与では投与による変化は認められなかった。

試験項目：

親動物；妊娠期間中の一般症状・死亡率の観察

妊娠0、6、9、12、18及び21日目に体重を測定した。

妊娠21日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数を検査し、着床前胚損失率および着床後胚損失率を算出した。

児動物；全生存胎児の体重を測定し外表検査および性別の検査を行った。各腹の半数の胎児について内臓異常を検査し、残りの半数の胎児について骨格標本作製して骨格検査を行った。

試験結果：

投与量 (mg/kg)		0 (対照群)	2	6	18		
動物数		25	25	25	25		
親動物	一般症状	正常	正常	正常	1匹立毛、鎮静		
	誤投与による死亡数	1	2	0	1		
	妊娠動物数	21	21	22	21		
	妊娠率 (%)	87	91	88	84		
	死亡数	0	0	0	1		
	妊娠21日目検査動物数	21	21	22	20		
	妊娠中の体重増加量 (g)	162.6	16.6	159.9	157.7		
	実体重増加率 (%) ①	+17.5	+18.0	+17.5	+16.5		
	着床所見／腹	黄体数	15.8	16.0	14.2	15.3	
		着床数	12.1	11.9	11.8	11.4	
		着床前胚損失率 (%) ②	23.2	25.4	16.9	25.5	
		着床後胚損失率 (%) ③	0.4	4.4**	6.5**	3.9**	
		胎児損失数(吸収胚+死亡胎児)	0.05	0.52	0.77	0.45	
		生存胎児数	12.10	11.38	11.05	10.95	
児動物	検査胎児数	254	239	243	219		
	体重 (g/腹)	5.09	5.19	5.29	5.29		
	性比 (雄%)	49	46	47	50		
	外表異常	検査児数	254 (21)	239 (21)	243 (22)	219 (20)	
		胸部皮下出血	0	1	0	0	
		曲尾	0	1	0	0	
		臍帯ヘルニア (奇形)	0	0	1	0	
	内臓異常	検査児数	123 (21)	115 (21)	119 (22)	108 (20)	
		内臓逆位 (奇形)	0	0	1	1	
	骨格異常	検査児数	131 (21)	124 (21)	124 (22)	111 (20)	
		過剰肋骨	0	3 (1)	1	1	
		化骨遅延	胸骨分節未骨化	3 (3)	7 (6)	0	3 (3)
			胸骨分節不完全骨化	34 (16)	27 (9)	20 (12)	26 (14)
		指節骨未骨化	29 (14)	16 (7)	9 (7)	9 (5)	

** : P<0.01で有意差あり (Dunnett検定) () : 腹数 児動物所見はFisherの直接確率検定(申請者実施)

注) ① (妊娠21日の体重 - 子宮重量) - 妊娠第6日の体重

$$\frac{\text{妊娠第6日の体重}}{\text{妊娠第6日の体重}} \times 100$$

②
$$\frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

③
$$\frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

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

親動物：18mg/kg投与群の1匹が妊娠20日目に立毛、鎮静の症状を示し、21日目に死亡した。体重の変化は投与第1週に体重減少あるいは明らかな体重増加抑制がみられたが、それ以降は対照群と同様であった。

剖検では肺・肝・腸には組織学的な異常は認められなかった。

着床所見では、全投与群の着床後胚損失率が統計学的に有意であったが、用量関連性もなく、背景データの範囲内（1.4～12.2%）であることから、投与による変化とは考えられなかった。その他の所見に対照群との差はみられなかった。

児動物：全投与群において体重及び性比は対照群と同等であった。

外表および内臓の奇形または異常を有した胎児数には投与群と対照群との間に統計上の有意差はなかった。また骨格所見においても、投与に関連した所見は認められなかった。

以上の結果より検体の親動物に対する無毒性量は6mg/kg/日、児動物に対する無毒性量は18mg/kg/日であった。また、最高投与量の18mg/kg/日でも児動物に対して催奇形性を示さないと判断される。

2. トラロメトリンのウサギにおける催奇形性試験

試験動物：New Zealand White種ウサギ（6ヶ月齢）、体重約3.5kg、

1群 雌15匹

投与期間：妊娠6～18日 13日間投与（試験期間 1980年2月2日～3月23日）

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、2、8及び32mg/kgを投与容量1ml/kgとして妊娠6日目より妊娠18日目まで、毎日1回強制経口投与した。対照群としてコーンオイルのみを同様に投与した。妊娠0日は肉眼による交尾確認日とした。

用量設定根拠；投与量は1群雌4～5匹を用いた予備試験（10、30および60mg/kg投与）結果に基づいて決定した。この試験では、60mg/kg投与で1匹死亡し生存動物でも著しい体重の減少が認められた。30mg/kg投与では一過性の体重減少と弱い痙攣が認められた。10mg/kg投与では投与による変化は認められなかった。

試験項目：

親動物；妊娠期間中一般症状・死亡を観察した。

妊娠0、6、13、19、24および28日目に体重測定した。

妊娠28日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胎数を検査し、着床前胚損失率および着床後胚損失率を算出した。

児動物；全生存胎児の体重を測定し、外表および性別検査を行った。各腹の半数の胎児について内臓異常を検査し、残りの半数の胎児について骨格検査を行った。

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

試験結果：

投与量 (mg/kg)		0 (対照群)	2	8	32		
動物数		15	15	15	15		
親動物	妊娠動物数	15	14	14	14		
	妊娠率 (%)	100	93	93	93		
	一般症状	正常	正常	正常	正常		
	生存胎児を持たなかった親動物数	1	0	0	0		
	妊娠中の平均体重増加量 (g)	316.7	411.4	363.5	282.8		
	妊娠第1週の平均体重増加量 (g)	34.0	145.0	45.7	-10.0		
	実体重増加率 (%) ①	-4.5	-0.5	-3.4	-5.1		
	着床所見	黄体数	9.5	10.1	10.1	10.1	
		着床数	8.5	8.9	9.1	9.4	
		着床前胚損失率 (%) ②	10.5	12.1	9.2	7.7	
着床後胚損失率 (%) ③		7.8	6.5	4.7	7.6		
胎児損失数(吸収胚+死亡胎児)		0.67	0.57	0.43	0.71		
生存胎児数		7.87	8.29	8.71	8.64		
児動物	検査胎児数		118	116	122	121	
	体重 (g/腹)		32.29	31.81	31.81	31.13	
	性比 (雄%)		51	49	45	49	
	外表異常	検査児数	118 (14)	116 (14)	122 (14)	121 (14)	
		後頭部髄膜瘤	0	1	0	0	
		無尾	0	0	1	1	
	内臓異常	検査児数	58 (14)	58 (14)	62 (14)	62 (14)	
		腎盂拡張	0	0	1	0	
	骨格異常	検査児数		60 (14)	58 (14)	60 (14)	59 (14)
		奇形変異	肋骨分岐	0	0	1	0
			過剰肋骨	47 (13)	31 (11)	36 (11)	43 (13)
		化骨遅延	泉門拡張化	0	1	0	0
			胸骨分節未骨化	1	1	7* (6)*	1
			胸骨分節不完全骨化	18 (10)	16 (9)	14 (9)	19 (11)
指節骨未骨化	7 (5)		11 (6)	4 (3)	8 (4)		

(Dunnett検定) ():腹数 児動物所見*: P<0.05で有意差あり(Fisher直接確率検定、申請者実施)

注) ① $\frac{(\text{妊娠18日の体重} - \text{子宮重量}) - \text{妊娠第6日目の体重}}{\text{妊娠第6日の体重}} \times 100$

② $\frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$

③ $\frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$

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

親動物；特に注目すべき一般症状及び死亡例は認められなかった。

32mg/kg群で投与第1週目に体重の減少がみられた他は、投与群は対照群と体重増加について差はなかった。

着床所見では、生存胎児数、吸収胚、死亡胎児数等、投与群と対照群では差は認められなかった。

児動物；平均胎児体重及び性比は、対照群と同等であった。

8mg/kg群において胸骨分節の未骨化が統計学的に有意に増加したが、用量関連性がないことから投与による変化とは考えられなかった。

この他に認められた外表、内臓および骨格異常は、投与群と対照群との差はなく、また投与量との関連性も認められなかった。

以上の結果より検体の親動物に対する無毒性量は8mg/kg、児動物に対する無毒性量は32 mg/kg/日であった。また、最高投与量の32mg/kg/日でも児動物に対して催奇形性を示さないと判断される。