

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 皮膚刺激性

①ウサギを用いた急性経皮毒性及び皮膚刺激性試験

(資料No.4)

検体の純度：

試験動物：ニュージーランド白色ウサギ 1群雄雌 各3匹

試験方法：動物の背部の毛を刈り込み，3匹はかたいブラシでこすり，他の3匹はそのままの状態，検体 2 g/kgを24時間適用した。

観察項目：貼布後，毎日1回14日間，中毒症状及び皮膚刺激性を観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の評点は下表の通りである。

(Draizeによる評点)

性	変化	貼 布 後 時 間 (日)													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
♂	紅斑	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
♀	紅斑	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

試験期間中，中毒症状は認められず，皮膚刺激性も1日後に2例に軽度な紅斑を認めたもののその後は全く異常なかった。

以上の結果から，トリシクラゾールのウサギの皮膚に対する刺激性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

1) 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料No.82)

検体の純度：

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ、1群雄1匹、雌2匹

試験期間： 72時間観察

方法： 検体0.5gを、等重量の蒸留水を用いて（50% w/w）ドライペーストの状態にして、刈毛した皮膚6 cm²に4時間閉鎖貼付した。

観察項目： 検体適用後72時間塗布部位を観察した。また、試験期間中全動物を対象として詳細な一般症状を含む中毒症状及び生死を少なくとも1日1回観察した。

結果： 検体群の観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。なお、判定はDraizeの基準によった。

変 化	最 高 評 点	投与後観察期間			
		30～60分	24時間	48時間	72時間
紅斑、痂皮	4.0	3.0	2.0	1.0	0.0
浮腫	4.0	2.0	1.0	0.0	0.0
合 計	8.0	5.0	3.0	1.0	0.0

注) 表の点数は3匹の平均値である。

検体除去1時間以内に、中等度から重度の紅斑、軽度の浮腫が全例に認められ、その後適用後72時間までに全ての動物で皮膚刺激性は消失した。

以上より、本剤は中等度の皮膚刺激性を有するものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2) 眼刺激性

①ウサギに用いた眼刺激性試験

(資料No.4)

検体の純度：

試験動物：ニュージーランド白色ウサギ 1群雄雌各3匹

試験方法：動物の片側の眼に検体0.1ml (78mg) を適用した。

洗眼は行わなかった。

観察項目：処理後1時間、1日、2日、3日及び7日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の評点は下表の通りである。

(Draizeによる評点)

項 目		処 理 後 時 間				
		1時間	1日	2日	3日	4日
非洗淨 (6匹平均)	角 膜	0	0.3	0	0	0
	虹 彩	0	0.3	0	0	0
	結 膜	1	1	0.3	0	0
	結 膜 浮 腫	0.3	0.5	0	0	0

結膜に軽度の充血が全例に認められた。2日後には4例が回復した。結膜浮腫は軽度で2例に認められ2日後には回復した。

1日後に2例の動物に軽度の虹彩炎と角膜混濁を認めたが、2日後には回復した。

以上の結果から、トリシクラゾールのウサギの眼に対する刺激性は軽度であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(3) 皮膚感作性

① トリシクラゾール原体及び水和剤 (75%) のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料No.26)

検体の純度 :

試験動物 : 白色モルモット (345~437g) , 1群雌10匹

試験期間 : 5週間観察

試験方法 : 感 作 ; 刈毛した背部皮膚に, トリシクラゾールの1%アセトン溶液あるいはトリシクラゾール75%水和剤の1:25希釈液の0.1mlを週3回, 3週間連続塗布して感作した。塗布直前に塗布部皮膚に擦過傷をつけ皮膚の吸収を促進させた。

誘 発 ; 最終感作の2週間後に, 感作と同側に0.1mlと感作とは反対側に0.1mlの検体を6時間塗布した。

観察項目 ; 誘発24時間後に紅斑, 浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

試験結果 : いずれの検体においても, 皮膚の反応は感作時においても, 誘発時においても, すべて陰性であった。

以上の結果から、トリシクラゾール原体及びトリシクラゾール75%水和剤の皮膚感作性は、陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

②モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No.64)

検体の純度：

供試動物： Dunkin Hartley 系 SPF 雌白色モルモット、試験開始時約 5 週齢

主試験； 体重 271~329 g、検体処理群 10 匹、非処理群 5 匹

陽性対照試験； 陽性対照群 5 匹、陽性対照非処理群 3 匹

観察期間： 48 時間

試験操作： [Maximization test]

投与量設定根拠；

感作； 肩甲骨部を刈毛し、検体処理群にはフロイントの完全アジュバント (FCA) /生理食塩液 (1:1)、検体の 0.3%コーンオイル溶液及び検体の 0.3%FCA/コーンオイル (1:1) 溶液各 0.1 mL を皮内注射し、1 週間後検体の 30%コーンオイル溶液を塗布、約 48 時間閉塞貼付した。

非処理群には、FCA/生理食塩液 (1:1)、コーンオイルのみ及び FCA/コーンオイル (1:1) 溶液各 0.1 mL を皮内注射し、1 週間後コーンオイルを塗布、約 48 時間閉塞貼付した。

一方、陽性対照群には FCA/生理食塩液 (1:1)、 α -hexylcinnamaldehyde (HCA) の 20%生理食塩液及び HCA の 20%FCA 溶液/生理食塩液 (1:1)、陽性対照非処理群には FCA/生理食塩液 (1:1)、生理食塩液及び FCA/コーンオイル (1:1) 溶液各 0.1 mL を皮内注射し、1 週間後陽性対照群には無希釈 HCA、陽性対照非処理群には非処理パッチで同様に処置した。

惹起； 局所感作 14 日後、動物の刈毛した腹側部に、各検体処理群及び検体非処理群には検体の 1%コーンオイル溶液及びコーンオイルのみ、陽性対照群及び陽性対照非処理群には HCA の 10%及び 20%生理食塩液を約 24 時間閉塞貼付した。

観察項目； 惹起 24 時間及び 48 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。
皮膚反応の評価表を次に示す。

局所適用後の皮膚反応評価基準 (Magnusson)

	評点
肉眼的変化なし	0
散在性又は斑状 (軽度) の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑及び浮腫	3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果：惹起後の各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

試験期間中、検体処理群動物 1 匹の死亡が発見された。死亡の推定原因は解明できなかったが、モルモットの偶発的な死亡は異常ではない。その他すべての動物の健康状態は良好で、正常に体重が増加した。

局所適用後、コーンオイルのみの検体非処理群に皮膚反応は観察されなかった。30%検体局所適用 48 時間後、検体の残りが黄変したため、試験動物の皮膚反応を採点できなかった。惹起 24 時間後、検体処理群及び検体非処理群の動物共に、検体及びコーンオイル処理でわずかに反応が見られた。反応の程度及び頻度は、検体処理群及び検体非処理群の動物で同程度であった。従って、これら軽度の反応は、感作性の徴候ではなく皮膚一次刺激性の徴候と考えられた。

一方、陽性対照試験では、全動物に明瞭な紅斑がみられた。

以上の結果から、本検体の皮膚感作性は陰性であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

急性神経毒性試験の提出除外理由書

(資料No.56)

ダウ・ケミカル日本株式会社 (2005年)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

(資料No.57)

ダウ・ケミカル日本株式会社 (2005年)

以下の理由により、当該試験成績を提出しなかった。

根拠条文	具体的理由
13生産第3986号-4- (2)-⑧-イ	有効成分はりん酸エステル系ではなく、かつ、 コリンエステラーゼ阻害性を有さない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(6) 90日間反復経口投与毒性

①ラットを用いた飼料混入投与による3か月亜急性毒性試験

(資料No.5)

検体の純度：

試験動物：ウイスター系ラット，検体投与群は1群雄雌各15匹，対照群雄雌各20匹，
試験開始時4週齢

投与期間：3か月間（1973年4月10日～1973年7月10日）

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群），282，635及び1640 ppm含有する飼料を3か月間摂食させた。飼料は週1回調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日2回観察した。

ダニの寄生，脱毛，斜頸，血尿，眼球突出，着色流涙過多及び着色鼻汁過多がみられたがトリシクラゾール投与による影響は認められなかった。

試験終了時の死亡数を以下に示す

このうち，雄の635 ppm群の1例は飲水を忌避し脱水症状により投与8日目に死亡した。雌の282 ppm群の死亡例は尿路感染症で投与19日目に、635 ppm群の1例は7日目に死亡したが死因は不明であった。雌の1640 ppm群の死亡例は投与64日目に死亡し膀胱中に血液貯留が認められた。いずれの群においても死亡数は少なく，投与による影響は認められなかった。

体重変化；毎週1回全生存動物の体重を測定した。

635及び1640 ppm投与群雄雌で試験期間を通じて体重増加抑制が認められた。

摂餌量及び飼料効率；摂餌量を週1回測定し，飼料効率を算出した。

635 ppm投与群雄雌では試験期間を通じて対照群に比して摂餌量が低く，635及び1640 ppm投与群雄雌の飼料効率は減少した。

検体摂取量；摂餌量，飼料中トリシクラゾール濃度及び体重から週毎に算出した。

1日当りの平均検体摂取量は282，635及び1640 ppm投与群の雄で各々20.5、46.7、135.3 mg/kg/day，また雌で各々22.5、54.2、186.8 mg/kg/dayであった。

血液学的検査；試験終了時に，全生存動物を対象として，動脈血を採血し，赤血球数，白血球数，ヘモグロビン濃度（Hb），ヘマトクリット値（Ht），白血球分

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

画、赤血球の形態及びプロトロンビン時間について検査した。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

1640 ppm投与群の雄におけるリンパ球の増加及び同群雌におけるプロトロンビン時間の短縮及び単球の減少が認められたが、共に片性のみであり、また関連する病理所見が認められなかったため、毒性学的に意味のある所見ではないと考えられた。

血液生化学的検査；試験終了時に全生存動物の半数を対象として、血清中の血糖、血中尿素窒素（BUN）及びSGPTを測定した。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

1640 ppm投与群の雄におけるSGPTの軽度の上昇及び同群雌におけるBUNの軽度の上昇が認められた。

また、試験終了時に、各群雄雌各5匹について、in Vitroでp-nitroanisole代謝機能を測定した。

635 ppm投与群の雌及び1640 ppm投与群雄雌においてp-nitroanisole代謝機能の亢進が認められた。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として、解剖の後、心、甲状腺、肝、脾、腎、副腎、前立腺、精巣、卵巣及び子宮の重量を測定した。また、各臓器重量の対体重比を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

1640 ppm投与群の雄で腎，心，脾，前立腺及び精巣の各重量が減少し，肝，腎，心，甲状腺及び副腎の各重量の対体重比が増加した。また，同群雌で心，子宮及び卵巣の各重量の減少と，肝，腎，脾及び甲状腺の各重量の対体重比の増加が認められた。

635 ppm投与群雄雌で肝及び腎の各重量の対体重比の増加が認められた。さらに，282 ppm投与群雄雌における肝重量の対体重比の増加が認められた。臓器重量の減少は体重増加抑制と関連していた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として，検査を行った。

1640 ppm投与群雄の死亡例（1/15）に膀胱内出血が認められ，また生存例に成育不良に伴う精巣の発育不全（3/15）及び前立腺の発育不全（2/15）が認められた。

病理組織学的検査；上記肉眼的病理検査を実施した動物を対象として，重量測定臓器を含む組織瘤，乳腺，唾液腺，肺，胃，十二指腸，空腸，結腸，胸腺，脾，膀胱，回腸，腸間膜リンパ節，骨格筋及び肉眼的病変部について，病理標本を作製し，鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以下に主要な非腫瘍性病変を示す。

1640 ppm投与群雄6/15例に検体投与に関連した肝の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

635及び1640 ppm投与群雄雌において肝及び腎の脂肪変性が減少した。

これらの減少は栄養状態の不良に起因していると考えられた。

以上の結果から、トリシクラゾールの3か月間飼料混入投与による亜急性毒性試験における影響として、282 ppm以上の投与群雄雌に肝の対体重比の増加及び同群雄で心の対体重比の増加が、635 ppm以上の投与群の雌雄で体重増加抑制、腎の対体重比の増加が、雄で心重量の減少、副腎の対体重比の増加が、雌でp-nitroanisole代謝機能亢進が、1640 ppm群雌雄で甲状腺重量の増加、p-nitroanisole代謝機能亢進、肝及び腎の死亡変性の発生頻度減少が、同群雄で腎重量の減少、前立腺重量の減少、精巣の発育不全、小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度増加が、雌で心重量の減少、脾の対体重比の増加、子宮重量・対体重比の減少、卵巣重量の減少が認められたので、本試験における無毒性量は判定できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

②マウスを用いた飼料混入投与による3か月亜急性毒性試験

(資料No.6)

検体の純度：

試験動物：ICR-JCL系マウス，1群雄雌各20匹，試験開始時6週齢

試験期間：3か月間

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群），40，200，1000及び5000 ppm含有する飼料を3か月間摂食させた。なお，検体をそのまま基礎飼料に混入し，よく混合した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

対照群を含む全群の雄雌とも試験期間中に特記すべき一般状態の変化はなく，また，死亡も認められなかった。

体重変化；毎週1回全生存動物の体重を測定した。

5000 ppm投与群雄で1，2，11及び12週時に，また同群雌で9～13週時に体重増加抑制が認められた。一方，1000 ppm投与群雌では1，2，4及び6週時に対照群に比較して明らかな体重増加が認められた。その他の群においては対照群との間に差は認められなかった。

摂餌量，飲水量及び飼料効率；摂餌量及び飲水量を週2回測定し，飼料効率を算出した。

摂餌量及び飲水量には検体投与群及び対照群との間に著しい差は認められなかった。

飼料効率は5000 ppm投与群雄雌で対照群に比較して著しく低下した。

検体摂取量；摂餌量，飼料中トリシクラゾール濃度及び体重から週毎及び試験期間中の平均検体摂取量を算出した。

1日当りの平均検体摂取量は40，200，1000及び5000 ppm投与群の雄で4.67、23.9、121、678 mg/kg/day、また雌で5.58、26.6、136、748 mg/kg/dayであった。

尿検査；試験終了時に全生存動物を対象としてpH，蛋白質，糖，ケトン体及び潜血を検査した。

検体投与による影響は認められなかった。

性周期検査；試験84日から91日までの8日間全生存動物を対象に膣垢検査による性周期の観察を行った。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；試験終了時に全生存動物を対象として赤血球数，白血球数，ヘモグロビン濃度（Hb），ヘマトクリット値（Ht）及び白血球分画について検査した。なお，採血は，白血球分画に尾静脈血を使用した以外は，後大動脈より行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

5000 ppm投与群雄でH t, H b及び赤血球数の減少, 白血球数の軽度の増加が認められた。
また1000 ppm投与群雄で白血球数の減少が認められた。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査における同一検査時期, 動物を対象として,
その血漿を用いて総蛋白, アルカリホスファターゼ (ALP), 血糖, 尿素窒
素 (BUN), GOT, GPT, コレステロール及びカルシウム (Ca) を測定
した。

対照と比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

5000 ppm投与群雌雄でGPTの増加, 同群雄でALPの増加, 血糖の減少, GOTの増
加が, 雌で蛋白質及びBUNの増加が認められた。1000 ppm投与群雌雄で総蛋白の増加,
雌で血糖及びGOTの増加が, またALPの減少が認められた。また, 200 ppm投与群
雌で血糖の増加及びALPの減少が認められた。

このうち, 5000 ppm群の雌雄で認められたGPTの増加, 同群雄で認められたALPの
増加, 血糖の減少, GOTの増加, 1000 ppm群の雌で認められたGOTの増加は病理組
織学的検査における肝障害の所見と一致し, 検体投与の影響と判断された。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として解剖ののち, 脳, 下垂体, 甲状腺,
心, 肺, 胸腺, 肝, 腎, 脾, 副腎, 精巣, 卵巣及び左後肢下腿三頭筋の重量
を測定した。また, 各臓器重量の対体重比を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

5000 ppm投与群雄雌で肝、脾の重量及び対体重比の増加、胸腺の対体重比の増加が、同群雄で下垂体重量の減少、心重量及び対体重比の減少、副腎重量及び対体重比の減少が、雌で甲状腺重量及び対体重比の増加、心の対体重比の増加、腎の対体重比の増加、卵巣の対体重比の増加が認められた。

1000 ppm投与群雄では、雌雄で肝重量及び対体重比の増加が、雄で精巣重量の減少が、雌で心重量及び対体重比の増加、胸腺重量及び対体重比の増加、腎重量の増加、副腎重量及び対体重比の増加、卵巣重量及び対体重比の増加が認められた。また、200 ppm投与群雄で精巣重量の減少が、雌で肝重量及び対体重比の増加が、40 ppm投与群雄で筋重量及び対体重比の増加が、雌で肝の対体重比の増加が認められた。

このうち、1000 ppm以上の投与群で認められた肝及び脾重量及び対体重比の変化及び雌の200 ppm投与群で認められた肝重量及び対体重比の増加は、血液学的・血液生化学的検査結果ないし病理検査結果と一致し、検体投与関連性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

その他の変化は検体投与の影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物を対象として検査を行った。

臓器重量の変化と一致した所見がみられた。

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物を対象として、重量測定臓器を含む、脾、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、精嚢、前立腺、子宮、大腿骨骨髓及び肉眼的病変部について病理標本作製し鏡検した。

5000 ppm投与群雌雄で肝細胞のび慢性腫大が全例にみられ、小葉周辺帯の肝細胞に核の大型化を伴う好酸性膨化及び単細胞性壊死が顕著に認められた。また、グリソン氏鞘における核の大型化を伴う胆管増生、リポフスチン沈着および線維増生が明瞭に認められた。同群雄雌の脾にヘモジデリン沈着の軽度の増加が認められた。

1000 ppm投与群で肝細胞の好酸性腫大が雄で14/20例、雌で10/20例に認められ、そのうちグリソン氏鞘にリポフスチン沈着を伴う例も認められた。

200 ppm以下の投与群には検体投与による変化は認められなかった。

以上の結果から、トリシクラゾールの3か月間飼料混入投与による亜急性毒性試験における影響として、200 ppm以上の投与群の雌で肝重量の増加が、1000 ppm以上の投与群で雌雄において体重増加抑制、肝小葉周辺帯の肝細胞の好酸性腫大が、同群雄で肝重量の増加が、5000 ppm群雌雄でGPTの増加、脾重量の増加、肝細胞のび慢性腫大、胆管増生、脾のヘモジデリン沈着の発生頻度の増加が、同群雄でGOTの増加、赤血球関連項目の減少などが認められたので、無毒性量は雄で200 ppm(23.9 mg/kg/day)、雌で40 ppm(5.58 mg/kg/day)と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

③マウスを用いた飼料混入投与による3か月亜急性毒性試験（参考資料）

（資料No.7）

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス，1群雄雌各15匹，試験開始時6～7週齢

試験期間：3か月間

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群），400，1000，2500及び3600 ppm含有する飼料を3か月間摂食させた。なお，検体をそのまま基礎飼料に混合しペレットとした。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日2回観察した。

1000，2500及び3600 ppm投与群雄雌の数匹に削瘦及び立毛が認められた。

試験終了時の死亡率は0（対照群），400，1000，2500及び3600 ppm投与群の雄で各々0/15，0/15，2/15，2/15及び3/16，また，雌で各々0/15，0/15，0/15，1/15及び1/14であった。

体重変化；毎週1回全生存動物の体重を測定した。

3600 ppm投与群雄で3週時に，また，雌で4週時に体重増加抑制がみられ，

2500 ppm投与群雄で2，3，4週時に，また雌で3週時に体重増加抑制が認められた。

摂餌量及び飲水量；毎週1回測定した。

3600 ppm投与群雄雌及び2500 ppm投与群雌でみられた摂餌量の増加は、ケージからの飼料のとりこぼしの量が多かったことに起因していた。

飲水量には検体投与群及び対照群との間に著しい差は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量，飼料中トリシクラゾール濃度及び体重から週毎の検体摂取量を

算出した。飼料のこぼれが多かったため、さらに同じ系統のマウスを用いて摂餌量測定のため3か月間を行った。その結果、対照群雄、対照群雌、400 ppm投与群雄及び同群雌でそれぞれ3.2～4.3、3.0～3.9、3.7～4.6及び3.0～3.7gであったことから、検体投与に関連した摂餌量の差はなかった。したがって、400 ppm投与群の摂餌量平均（3.9及び3.3g）を用いて再計算した所、1日当りの検体摂取量は400，1000，2500及び3600 ppm投与群の雄で41.2～87.0、97.9～225.4、255.4～577.2及び371.0～819.0mg/kg/day、雌で40.7～71.0、105.3～202.3、262.4～522.2及び383.7～728.2mg/kg/day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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

血液学的検査；試験終了時に全生存動物を対象として、心臓穿刺により採血し、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、白血球分画、血小板数及び赤血球の形態について検査した。

対照群と比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

2500及び3600 ppm投与群雄で血小板の増加が認められた。

400, 1000及び2500 ppm投与群雌, 2500 ppm投与群雄でHbの減少が認められたが、検体投与による影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査；上記血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清中の血糖、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ(ALP)及びSGPTを測定した。

対照群と比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

上記のうち1000及び3600 ppm投与群雄におけるSGPTの増加以外の変化は検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として解剖ののち、心、肝、腎、精巣、卵巣及び脳の重量を測定した。また、各臓器重量の対体重比を算出した。対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示した。

2500 ppm以上の投与群雄雌及び400, 1000 ppm投与群雌で肝重量及びその対体重比が増加し、また、1000 ppm以上の投与群雌で卵巣重量及びその対体重比が増加した。これらは、検体投与によるものと考えられる。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物を対象として検査を行った。少数例の肺に充血などが散見されたが、検体投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物を対象として、重量測定臓器を含む、乳腺、唾液腺、肺、甲状腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、骨格筋、胸腺、膵、脾、膀胱、前立腺、子宮及び胸骨骨髓について病理標本作製し、鏡検した。

3600 ppm投与群雌雄で肝に軽度の細胆管の増生が認められた以外は、いずれの変化も検体投与によるものとは考えられなかった。

以上の結果から、トリシクラゾールの3か月間飼料混入投与による亜急性毒性試験における影響として、2500 ppm以上の投与群雄における血小板数の増加、1000及び3600 ppm投与群雌におけるSGPTの増加が認められた。しかし、400 ppm投与群を含む全投与群における肝重量と、その対体重比の増加が認められたので、無毒性量は判定できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

④イヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料No.47)

検体の純度：

試験動物： ビーグル大
雌雄各 4 匹

投与期間： 3 ヶ月間
1973 年 4 月 5 日～1973 年 7 月 5 日

方法： 設定濃度 7, 17, 40 mg/kg (実際用量 7.5, 17.2, 43 mg/kg/日) をゼラチンカプセルに入れ、3 ヶ月間にわたって 1 日 1 回、動物に経口投与した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

原因不明であるが対照群の雄 1 例が投与開始後 7 週時に飼育管理が不可能な状態になり、65 日に屠殺した。その他、一般症状に異常は認められられず、死亡例もなかった。

体重変化；全動物について、週 1 回体重を測定した。

40mg/kg 投与群の雌雄において試験期間を通じて、全例で 0.1～0.7 kg の体重値減少が認められた。

その他の投与群では検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査；投与後 1, 3, 5, 7, 9, 11 及び 13 週時、各群雄雌全動物を対象に採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数、血小板数、プロトロンビン時間、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球色素濃度(MCHC)、沈降割合(赤血球沈降速度)、全血の凝固時間、白血球百分率及び赤血球の形態異常。

検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学的検査；血液検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目を測定を行った。

血糖、尿素窒素、尿酸、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酵素(LDH)、GOT、無機リン、カルシウム、総蛋白、アルブミン、コレステロール。

対照群と比べ統計学的に有意差が認められた項目を下表に示した。

17 及び 40 mg/kg/日投与群で投与 1 週間後、乳酸脱水素酵素が減少し、検体投与の影響と考えられた。

その他、検体投与に関連した変化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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

尿検査；血液検査と同時期に、以下の項目の測定を行った：比重，pH，蛋白，糖，潜血。

検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量；投与13週時に全動物を対象として最終体重及び以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳，肝，腎，心，脾臓，副腎，精巣，甲状腺，卵巢。

対照群と比べ統計学的に有意差が認められた項目を下表に示した。

17及び40 mg/kg 投与群で肝対体重比が増加した以外に検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時、全動物を対象として剖検を行った。

検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象として以下の組織について病理標本を作成し検鏡を行った。

腎，膀胱，肝，心，肺，脾，リンパ節，胸腺，唾液腺，膵，胃，十二指腸，胆のう，空腸，回腸，結腸，卵巢，子宮，精巣，前立腺，皮膚，乳腺，横紋筋，骨髄，副腎，甲状腺，上皮小体，下垂体，脳。

検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤の3ヶ月間カプセル投与による反復経口投与毒性試験における影響として、17 mg/kg 以上の投与群雌雄で乳酸脱水素酵素の減少及び肝重量の増加が、また40 mg/kg 群で体重値の減少が認められた。以上により、本剤の無毒性量は雌雄とも7 mg/kg/日と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(7) 反復経皮投与毒性

①ラットを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験

(資料No.65)

検体純度：

供試動物： ウィスター異系交配ラット、1 群雌雄各 5 匹、試験開始時約 9 週齢、体重（投与開始時）；雄 225.7～265.9 g、雌 147.2～182.4 g

投与期間： 28 日間（2003 年 5 月 5 日～6 月 2 日）

投与方法： 馴化期間終了時、背部及び側腹部の約 5×5 cm の領域を剪毛した。投与開始後は週 2 回剪毛した。検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、約 2.3、6.8 又は 23 cm²の領域に 0.33、1 又は 3.33 mL/kg（100、300 又は 1000 mg/kg 体重相当）を毎日少なくとも 6 時間、週 5 日、4 週間反復して塗布した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

皮膚反応； 皮膚反応を、投与期間中週 3 回（月、水、金曜日）Draize らの方法により評価した。

時折適用部位の毛に検体による黄色染色が見られたが、皮膚観察及び採点の障害にはならなかった。

いずれの動物の適用試験部位にも皮膚刺激性の徴候は観察されなかった。

一般状態； 一般状態及び生死を投与期間中及び投与後毎日 2 回、週末及び祝祭日は 1 日 1 回観察した。

死亡はなかった。検体投与に関連のある症状も認められなかった。

体重； 馴化期間中、投与開始時に 1 回、その後は週 1 回、各動物の体重を記録した。

検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量； ケージ当たりの摂餌量を、餌箱の重量を測って測定し、g/動物/日で表した。7 日連続測定し、飼料変換効率を算出して g 体重増加量/g 摂餌量で表した。

1000 mg/kg 群雄の試験第 7 日の平均摂餌量の低値（P<0.01）を除き、摂餌量及び飼料変換効率に統計学的に有意な投与関連の変化は認められなかった。主に 2 例の動物で摂餌量の低値が生じ、第 7 日に軽度の体重減少も認められたが、変化はわずかで一過性であったことから、毒性学的に有意ではなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

血液学検査；投与第 23 日に、全動物から眼窩穿刺により血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、赤血球沈層容積、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網状赤血球数、血小板数、プロトロンビン時間、総白血球数、白血球分画 [好酸球、好中球、リンパ球、単球及び好塩基球]

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

対照群と比較して、100 mg/kg 群雌の平均ヘモグロビン濃度の統計学的に有意な高値を除き、統計学的有意差は認められなかった。用量反応関係がないため、このわずかな変化は検体投与と関連しないと考えられた。

臨床化学検査；投与第 23 日に、全動物から眼窩穿刺により血液採取して血漿を得、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、ガンマグルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、総タンパク、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、グルコース、尿素、総ビリルビン、クレアチニン、総コレステロール、乳酸脱水素酵素 (LDH)、リン脂質、トリグリセリド、カルシウム、カリウム、ナトリウム、塩素、無機リン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

1000 mg/kg 群雄の平均総ビリルビン濃度の有意な高値及び平均乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性の低値を除き、雌雄の臨床化学検査項目に統計学的有意差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

臓器重量；試験終了時の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、副腎、腎臓、精巣、卵巣、心臓、脾臓

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

1000 mg/kg 群雌雄の平均相対肝臓重量の有意な高値を除き、雌雄の絶対及び相対臓器重量に統計学的有意差は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全動物について剖検を行った。

投与関連の肉眼的変化は観察されなかった。

病理組織学検査；試験終了時の全ての対照群及び 1000 mg/kg 群動物を対象として以下の組織について病理標本

を作製し、検鏡した。さらに、全群の動物の肉眼的病変部の病理組織学検査を行った。

肝臓、副腎、腎臓、精巣、卵巣、心臓、脾臓、処置及び無処置の皮膚

認められた主要な病理組織学的所見を表に示す。

主要な病理組織学的所見

顕微鏡検査では、検体投与に関連すると思われる病理組織学的変化は認められなかった。観察されたすべての変化は、この週齢及び系統のラットで一般的に認められるものであり、群間におおむね均等に認められた又は動物 1 匹のみの発生であった。

以上の結果から、本剤のラットに対する 28 日間反復経皮投与毒性試験における影響として、1000 mg/kg 群雄の肝臓重量の増加を伴う平均総ビリルビン濃度のわずかな増加及び LDH 活性の減少が認められた。1000 mg/kg 群雌にも肝臓重量の増加が認められたが、臨床化学検査項目に明白な変化はなかった。ALAT、ASAT 及び GGT など他の肝臓酵素には影響がなく、肝臓の病理組織学検査では投与関連の変化は認められなかったことから、検体の全身毒性に対する無毒性量 (NOAEL) は 300 mg/kg/日体重、局所経皮毒性に対する無毒性量は 1000 mg/kg 体重/日であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(8) 90 日間反復吸入毒性

(資料No.58)

ダウ・ケミカル日本株式会社 (2005 年)

以下の理由により、当該試験成績は提出しなかった。

根拠条文	具体的理由
13 生産第 3986 号-4-(2)-⑪-イ	急性吸入毒性試験の結果から他の暴露経路による急性毒性に較べ著しく強い吸入毒性が認められない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

反復経口投与神経毒性試験の提出除外理由書

(資料No.59)

ダウ・ケミカル日本株式会社 (2005 年)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性

(資料No.60)

ダウ・ケミカル日本株式会社 (2005年)

以下の理由により、当該試験成績は提出しなかった。

根拠条文	具体的理由
13 生産第 3986 号-4-(2)-⑬	有効成分はりん酸エステル系でなく、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有さない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(1 1) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性試験

①イヌを用いた経口投与による1年間反復経口投与毒性試験

(資料No.47)

検体の純度 :

試験動物 : ビーグル犬、1群雌雄各4匹、試験開始時4-6か月齢
(体重;雄 6.6、雌 6.1 kg)

投与期間 : 52週間 (1980年 1月30日~1981年 1月30日)

投与方法 : 検体をゼラチンカプセルに封入し、0、5、15及び45 mg/kg/dayの投与量で、1日1回
イヌに投与した。

用量設定根拠 ;

試験項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を少なくとも1日1回観察した。

粘液便、軟便あるいは水様便が全投与群にまれに発現した。時々、おう吐と食欲減退が対
照群を含む全投与群に認められた。高用量群の雄1頭が試験第1日目の投与後に軽度の振
せんを示したが、この症状はその後再び認められなかった。

全てのイヌが投与期間の1年間生存した。

体重変化 ; 投与開始時及び試験期間中は週1回、体重を測定した。

体重及び増体重には検体投与に関連した影響は認められなかった。

眼検査 ; 試験前及び試験終了時に検眼鏡検査を行った。

検体投与に関連する所見は全く認められなかった。

血液学的検査 ; 試験開始前、試験開始1、2、4週及びその後は毎月1回血液学的検査を行った。

頸静脈より採血し、次の項目を調べた。

赤血球(PCV)、ヘモグロビン濃度(Hb)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素
量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、赤血球数(RBC)及び赤血球像、総白血
球数、白血球分画、血小板数、網赤血球数。M:E比を含む骨髓塗抹標本の細胞学的検査を
試験終了時に実施した。

45 mg/kg投与群雌雄各2頭に総白血球数の軽度の増加(雄152493で9.4~27.2、雄153073で
8.9~20.5、雌151823で13.1~20.4、雌151873で8.9~21.0)が認められたが、一時的なも
のであり、毒性学的意義はないと考えられた。(申請者注:参考までに対照群の総白血球
数は雄で9.3~17.1、雌で8.5~15.8でした。また、高値を示したのは、いずれの動物でも
1検査時期のみでした。)

検査した項目のいずれにも検体投与に関連した影響は認められなかった。

血液生化学的検査 ; 上記の血液学的検査と同一時期にその血清を用いて次の項目について検査した。

血糖、尿素窒素(BUN)、クレアチニン及び総ビリルビンレベル、アルカリホスファターゼ(A
LP)、ALT、LDH及びAST、カルシウム、コレステロール、総蛋白、アルブミン及び
リン酸レベル。

各投与群いずれの項目にも投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

投与終了時において、5、15及び45 mg/kg投与群の各々、1、3及び6頭のイヌのLDH酵素活性が軽度増加したが、この変化は一時的なものであり毒性学的意義は認められなかった。

尿 検 査 ; 試験開始前及び1、2、4週及びその後は月1回採尿し、次の項目について検査した。尿比重、pH、蛋白含量、糖、潜血、ケトン体及びビリルビン。
全項目とも検体投与の影響は認められなかった。

生化学的毒性検査 :

酵素誘導試験 ; 血清中アンチピリンの半減期を試験開始前、投与1、3、6及び12か月時に検査した。また、部検時に全てのイヌから肝の1部を採取し、*in vitro*で肝細胞のp-ニトロアニソール-O-デメチラーゼ活性及び肝のミクロゾーム p-450含量を測定した。

1年間の試験期間を通じて各投与群間のアンチピリン $T_{1/2}$ 値に差は認められなかった。全期間中、各投与群内には統計学的に有意な半減期の増加が認められたが、これは本試験におけるイヌの老齢化に起因すると考えられた。また、p-ニトロアニソールの代謝及びチトクローム p-450含量の有意な減少が15及び45mg/kg投与群の雄動物に観察された。

トリシクラゾールの血清中濃度 ; 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により、投与1、42、105、196及び365日目の投与後0、1、2、3、4及び6時間目にトリシクラゾールの血清中濃度を測定した。

45 mg/kg投与群において、投与0から3時間後までの間に血清中約5 μ g/mlまでのピークが検出されたが、投与4時間後には最小値かあるいは検出不能にまで減少した。他の投与群ではいずれの検査時においても血清中にトリシクラゾールは検出されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

臓器重量 ; 試験終了後、全生存動物を屠殺し、部検の後、次の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。脳、下垂体、肝、腎、心、甲状腺、副腎、精巣、前立腺、卵巣及び子宮。

肝及び腎の重量及びそれらの対体重比に軽度の用量に相関した増加が認められ、この変化は45 mg/kg投与群で統計学的に有意であり検体投与の影響と判断された。5 mg/kg投与群の雌1頭の卵巣及び子宮重量が異常に高かったが、小数例であり、この所見は検体投与に起因するものではないと考えられた。その他の臓器に検体投与に関連した変化は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 試験終了後の全生存動物を対象とした肉眼的病理検査により、各動物の一般状態、体開口部、外部及び内部器官の組織について検査した。

認められた所見は散在性であり、検体投与との関連性は認められなかった。

病理組織学的検査 ; 上記の肉眼的病理検査を行った後、次の組織について病理組織標本を作製し、その検査を行った。腎、肝、心、肺、脾、胸腺、リンパ腺、唾液腺、膵、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、卵巣、子宮、副腎、甲状腺、精巣、前立腺、皮膚、乳腺、骨格筋、膀胱、大脳、小脳、脳幹、下垂体、骨、骨髄、眼球、胆のう、気管、食道、大動脈及び坐骨神経。

上記の臓器及び組織に、検体投与に関連した病理組織学的病変は認められなかった。

以上の結果、15及び45 mg/kg投与群雄におけるp-ニトロアニソール活性及び肝チトクロームP-450 含量の減少、及び45 mg/kgの雌雄における肝及び腎の重量の増加がみられたことから、トリシクラゾールのイヌに対する1年間経口投与による慢性毒性試験の無毒性量は5 mg/kg/day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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

②ラットを用いた飼料混入投与による12か月間反復経口投与毒性試験

(資料No.10)

目 的 :

検体の純度 :

試験動物 : ウィスター系ラット、1群雌雄各15匹 (試験開始時体重雄135g、雌116g)

投与期間 : 12か月 (379~381日)

投与方法 : トリシクラゾールを0 (対照群)、100、275、620及び1600 ppm含有する飼料を12か月間摂食させた。なお、検体を混入した飼料は毎週1回調製した。投与量の設定は3か月亜急性毒性試験の結果を参考にした。

試験項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。

一般状態に検体投与による影響は認められなかった。

試験終了時の死亡率は0 (対照群)、100、275、620及び1600 ppm投与群の雄で各々2/15、0/15、2/15、1/15、2/15、また雌で0/15、0/15、0/15、0/15、1/15であった。

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化 ; 毎週1回全生存動物の体重を測定した。

1600 ppm投与群の雌雄で試験期間を通じ体重増加抑制が認められた。

摂餌量 ; 毎週1回測定した。

特記すべき変化は認められなかった。

検体摂取量 ; 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		100	275	620	1600
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	4.2	12.4	27.9	80.0
	雌	5.8	14.7	40.6	125.3

血液学的検査 ; 試験終了時に全生存動物を対象として、赤血球数、白血球数、白血球分画、血小板数、ヘモグロビン濃度 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht) 及び赤血球の形態について検査した。また、半数の動物の血清についてプロトロンビン時間を測定した。なお、採血は眼窩静脈より行った。
すべての項目について検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査 ; 上記の血液学的検査における同一動物の半数を対象として、血清中のクレアチニン、アルカリホスファターゼ (ALP)、ビリルビン、蛋白、GOT、GPT、尿素窒素 (BUN) 及び血糖を測定した。
1600 ppm投与群雄でBUNの増加、同群雌でクレアチニンの減少が認められた。これらの変化には毒性学的意義はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

尿検査；試験終了時に1群雌雄各5匹を対象として比重、pH、糖、蛋白、血液及び沈渣を検査した。

各検査項目には検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として解剖ののち肝、腎、心、脾、甲状腺、副腎、脳、下垂体、前立腺、精巣、子宮及び卵巣の重量を測定した。また、対体重比を算出した。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

620、1600 ppm投与群雄及び275 ppm以上の投与群雌で肝重量の対体重比が増加した。これらは検体投与による影響と判断された。1600 ppm投与群雌雄で上記以外の臓器重量及び対体重比に対照群と比較して有意な増減が認められたが、これらは体重増加抑制によるもので検体投与の影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物を対象として、重量測定臓器を含む、結腸、十二指腸、回腸、空腸、肺、リンパ節、乳腺、膵臓、上皮小体、唾液腺、胃、骨格筋、胸腺、膀胱及び大腿骨骨髓の病理標本を作製し、鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以下に主要な非腫瘍病変を示す。

620及び1600 ppm投与群雌雄で肝細胞の小葉中心性肥大の発生頻度の増加がみられ、これは検体投与によるものと考えられた。

対照群を含む各群に進行性糸球体腎症、腎の脂肪変性及び脂肪肝がみられたが、これらには毒性学的意義がないものと考えられた。

以上の結果から、トリシクラゾールの12か月飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、275 ppm以上の投与群に肝重量の対体重比の増加、また、620 ppm以上の投与群雌雄に肝細胞の小葉中心性肥大がみられたので、無毒性量は100 ppm（雄4.2 mg/kg/day、雌5.8 mg/kg/day）であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

③ラットを用いた飼料混入投与による24か月慢性毒性・発がん性併合試験

(資料No.13及び14)

検体の純度：

試験動物：ウィスター系ラット、投与群は各試験で1群雌雄各40匹、対照群は雌雄各60匹、試験開始時4～5週齢。開始時体重：雄 140±0.8 g、雌 121±0.7 g

投与期間：24か月間（A：1974年8月12日～1976年8月18日、B：1974年8月26日～1976年8月20日）

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群）、100、275及び620 ppm含有する飼料を24か月間摂食させた。また、1600ppm投与群にはトリシクラゾールを1600ppm含有する飼料を3か月間与え、検体投与からの回復をみるため、その後、21か月間無添加の対照飼料を給与した。なお、検体はそのまま基礎飼料に添加し、良く混合した。飼料は毎週1回調製した。

投与量の設定の根拠：投与量の設定はラット3か月亜急性毒性試験（資料No.6）の結果にもとづいて行った。1群雌雄各15～20匹を用いて、検体を0、282、635、1640 ppmの濃度で含有する飼料を3ヶ月間与えた。その結果、635ppm以上の投与群の雄と1640 ppm群の雌で平均体重値の減少、1640ppm群雌雄で飼料効率の低下、SGOT、BUNなどの臨床生化学検査項目の変化、282ppm以上の投与群では肝、腎、心などの臓器重量の変化が散見された。病理組織学的検査では、1640ppm群で肝細胞軽度肥大、精巣未熟及び小型前立腺が認められたため、本試験を0、100、275及び620 ppmで、また動物の回復状態を調べるため1600 ppm（3か月間投与）を設けることとした。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日2回観察した。

ダニの寄生、皮膚炎、脱毛、踵の腫瘍、斜頸、多尿、立毛、血涙などが認められたが、いずれも検体投与によるものとは考えられなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化；毎週1回すべての生存動物の体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以下に各群の体重平均値を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

620 ppm投与群の雌雄で試験期間を通じ体重増加抑制が認められた。そのうち雄は投与開始後87日から試験終了時まで、雌では投与開始後87日から452日まで統計学的有意差が認められた。1600 ppm投与群においても試験期間を通じて、投与期間（試験開始後3ヶ月間）は雌雄ともに統計学的に有意な体重抑制が認められたが、試験Aでは雄は452日以降、雌では178日以降、試験Bでは雄は366日以降、雌では268日以降統計学的有意差は認められ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

ず回復傾向がみられた。

摂餌量及び飼料効率；全生存動物の摂餌量を週1回測定し飼料効率を算出した。

摂餌量は、試験Aの雄の620 ppm投与群で試験開始7、87及び452日目に、同群雌で試験開始178日目に対照群と比べて減少した。1600 ppm投与群の雄で試験開始7日目に、雌では7及び178日目に減少した。試験Bでは、雄の620 ppm投与群で試験開始7、177及び268日目で減少が認められた。1600 ppm投与群の雄では試験開始7及び268日目に、雌で7日目に減少した。

飼料効率は、両試験ともに620及び1600 ppm投与群雌雄で90日目に減少した。

飲水量；1群雌雄各5匹を対象として、試験開始10、92、211、316、406、526、598及び696日目に24時間の飲水量を測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

血液学的検査；試験終了時の全生存動物を対象として、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度（Hb）、ヘマトクリット値（Ht）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、白血球分画、血小板数、赤血球の形態を測定し、また、生存動物の約半数についてプロトロンビン時間を検査した。なお、採血は心臓穿刺により行った。

275 ppm投与群雌で血小板数の増加がみられたが、投与群に相関性がなく、検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

620 ppm投与群の雄で白血球数で統計学的に有意な増加がみられたが、雌では白血球数の統計学的有意な減少がみられ、変化の方向が一致していないため、検体投与による影響ではないと考えられた。雌の620 ppm群でMCHCの減少が認められたが軽度であり、検体投与による影響ではないと考えられた。

赤血球の形態についての検査結果（発生頻度）を以下に示す

また、低色素性赤血球症、赤血球大小不同症、変形赤血球症などが散見されが、これらの発生頻度あるいは程度に検体投与による影響は認められなかった。

その他赤血球大小不同症、変形赤血球症などが散見されたが、これらの発生頻度あるいは程度に検体投与の影響は認められなかった。

血液生化学的検査；試験終了時に生存動物の約半数を対象として、その血清を用いて、血糖、尿素窒素（BUN）、クレアチニン、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ（ALP）、SGPT、SGOT及び総蛋白について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

275及び620 ppm投与群の雌で血糖の増加がみられたが、片性のみであり、動物が老齢化し、値の変動が大きくなったため統計学的有意差がみられたものと思われる。毒性学的に意味がない変化と考えられた。

620 ppm群雄で総ビリルビンの上昇及び100 ppm投与群雌でクレアチニンの上昇が認められたが、これらの変化には毒性学的に意義がないものと考えられた。

尿検査；試験終了時に1群雌雄各5匹の尿を採取し、比重、糖、pH、蛋白、潜血、白血球、円柱、沈渣を検査した。

試験Aでは、対照群を含む全群に蛋白尿、血尿、白血球、赤血球及び円柱が散見されたが、検体投与による影響は認められなかった。試験Bでは、275 ppm投与群雄及び275、620 ppm投与群雌で血尿がみられたが、その発生頻度及び程度に検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち、心、甲状腺、脾、腎、副腎、前立腺、精巣、卵巣、子宮、脳、肝及び下垂体の重量を測定した。対照群に比較して統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す

620 ppm投与群の雌雄で肝重量の対体重比の増加、同群雄で脳重量の対体重比の増加が、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

1600 ppm群の雌で腎重量の減少、同群雌雄で脳重量の減少が認められた。このうち、肝重量の変化に関しては、肉眼的病理検査において認められた肝腫大の影響と考えられる。その他は体重の変化にともなった影響と考えられる。

275 ppm以下の群では検体投与による影響は認められなかった。

620 ppm投与群の雄で肝、精巣及び前立腺重量の対体重比の増加、同群雌で脾及び肝重量の対体重比の増加がみられ、1600 ppm投与群雄で脳重量の減少が認められた。275 ppm以下の群では検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査した。

対照群を含む全群に下垂体、肝、脾、腎の腫大、膀胱の拡張などがみられたが、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として重量測定臓器を含む組織瘤、乳腺、唾液腺、肺、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、骨格筋、胸腺、脾、眼球、脊髄、坐骨神経、胸骨骨髓及び肉眼的病変部について、病理標本作製し、鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以下に主要な非腫瘍性病変を示す

気管支拡張症、化膿性気管支炎及び急性の上部気道感染症などが対照群を含む全群に認められた。これらは呼吸器感染によるものであった。加齢によると考えられる進行性糸球体腎症及び精巣萎縮が全群に認められた。また、1600 ppm投与群を除く他の投与群及び対照群で肝の細胆管増生が認められた。

これらの病変の発現率には検体投与による影響は認められなかった。

腫瘍性病変としては、下垂体の色素嫌性腺腫及び乳腺の線維腺腫が対照群を含む全群にみられた。

肺炎、化膿性中耳炎、急性上部気道感染及び気管支拡張症などが対照群を含む全群に認められた。これらは呼吸器感染によるものであった。加齢によると考えられる進行性糸球体腎症及び精巣萎縮が全群に認められた。また、細胆管の増生が対照群を含む全群に認められた。

腫瘍性変化としては、下垂体の色素嫌性腺腫及び乳腺の線維腺腫が対照群を含む全群にみられた。

認められた全ての腫瘍性病変を次頁の表1に示す。

各群における悪性及び良性腫瘍を持った動物数、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

影響は認められなかった。

以上の結果から、トリシクラゾールの24か月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、620 ppm群雌雄に体重増加抑制、摂餌量の減少、飼料効率の減少、肝重量対体重比の増加が、また同群雄で精巣及び前立腺重量対体重比の増加が認められたので、無毒性量は275 ppm（雄 11.3 mg/kg/day、雌 14.9 mg/kg/day）であると判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑤マウスを用いた慢性毒性／発がん性併合試験

(資料No.31)

検体の純度：

試験動物： ICR系 (Jcl:ICR) マウス，1群雄雌各64匹，試験開始時5週齢。
投与後12か月時に各試験群雄雌各10匹を中間屠殺した。投与開始後22か月時に全生存動物を屠殺した。

試験期間： 22か月間 (1982年6月22日～1984年4月27日)

投与方法： 検体を 25, 75, 250及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し，22か月間にわたって自由摂取させた。

なお，対照群には基礎飼料のみを同様に投与した。試験飼料は週1～2回調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間中，検体投与に関連すると考えられる一般状態の異常は認められなかった。試験終了時における死亡率は次の通りであった。

いずれの試験群においても雄雌ともに特に異常は認められなかった。

体重変化；投与開始時から26週時までは週1回，その後は隔週に1回，全生存動物の体重を個別別に測定した。

いずれの試験群においても雄雌ともに特に異常は認められなかった。

飼料摂取量；投与期間中週2回，投与開始時に定めた雄雌各8ケージについて飼料摂取量をケージ別に測定し，投与開始後26週時では週1回，以後は隔週に1回，1日1匹当りの飼料摂取量を算出した。雌の一部の投与群で投与3週時まで時折有意な増加が認められたが，その他は雄雌とも対照群との間に差異は認められなかった。

飼料効率；各投与群雄雌の平均体重をそれぞれの及び平均飼料摂取量で除し，100を乗じてパーセントとして算出した。

各投与群の飼料効率は雄雌とも対照群の値と同等であった。

飲水量；投与開始時に定めた各試験群雄雌各8ケージについて，投与期間中週2回，飲水量を測定した。各試験群の平均飲水量は，投与開始後26週時までは週1回，以後は隔週に1回の頻度で，総飲水量をケージ内の収容動物数と日数で除し算出した。雄雌とも一部の投与群で飲水量の有意な増加を示す週が散見されたものの，それ以外は各群の飲水量は投与期間を通じ概ね対照群の値と同様であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

尿 検 査；投与開始後12か月時に雄雌とも各群10匹を対象に，また投与22か月時に全生存動物を対象に下腹部圧迫法により尿を採取し，比重，pH，蛋白質，ブドウ糖，ケトン体及び潜血の検査を行った。

いずれの試験群においても雄雌とも検体投与に関連づけられる異常は認められなかった。

検 体 摂 取 量；飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量は25，75，250及び1000 ppm投与群の雄で各々2.59，7.98，24.9及び101 mg/kg/day，また雌で各々2.20，6.67，21.8及び91 mg/kg/dayであった。

血液学的検査；投与12か月時及び22か月間投与終了時に尿検査に供した動物と同じ動物を対象に，後大動脈より採血し，ヘマトクリット値（Ht），血色素量（Hb），赤血球数（RBC），平均赤血球容積（MCV），平均赤血球血色素量（MCH），平均赤血球血色素濃度（MCHC），網赤血球数及び白血球百分比を測定した。

対照群に比較し，統計学的に有意差のみられた項目は次表の通りである。

12か月時に，1000 ppm投与群雄でHt，Hb及びリンパ球数の減少が認められ，250 ppm投与群雄においても貧血性変化と考えられるHt，Hb及びRBCの減少が認められた。しかし，他の群には異常は認められなかった。

血液生化学的検査；投与12か月時及び22か月間投与終了時に尿検査に供した動物と同じ動物を対象に，前項の血液学的検査の項で用いた血液の血漿を用いて次の項目について測定した。総蛋白，アルカリホスファターゼ，尿素窒素，血糖，総コレステロール，GOT，GPT及びCa。

いずれの投与群においても雄雌とも特に異常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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

臓器重量；中間計画殺動物（12か月時）及び最終計画殺動物（24か月時）の全例について、部検の後、次の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重量比を算出した。脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣及び卵巣。但し、胸腺については生理的退縮が顕著なため、投与22か月時には秤量を行わなかった。12か月時において対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

投与12か月時、肝臓の絶対重量及び同対体重比ならびに対脳重量比の有意な増加が1000 ppm投与群雄及び250 ppm投与群の雄動物に認められた。投与22か月時、1000 ppm投与群雄雌において肝臓重量及びその対体重比の増加傾向が認められたが、その他に有意な変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；投与開始後12か月時の中間屠殺動物及び22か月時の試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象に、検査を行った。

雄では、1000 ppm投与群において、脾臓の結節・腫瘤、肝臓の変色点及び膀胱の尿うっ滞の総発生頻度が対照群に比し有意に増加した。このうち、肝臓の病変は途中死亡・切迫殺動物においてのみ認められた。また、膀胱の尿うっ滞は75及び25 ppm投与群においても対照群に比し有意に増加した。

雌では、1000、75及び25 ppm投与群において、リンパ節の腫大及び子宮角の壁肥厚が対照群に比し高頻度に認められた。さらに、1000 ppm投与群の最終計画殺動物では触毛脱毛の発生頻度も増加した。

なお、250 ppm投与群では雌雄とも検体投与に関連づけられる異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

病理組織学的検査： 上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、下記の臓器組織について病理標本を作製し、鏡検した。大脳、小脳、脳幹、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾、骨・骨髓（胸骨、大腿骨）、リンパ節（頸部、腸間膜）、心、大動脈、唾液腺、食道、胃、肝、脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、気管、肺、腎（両側）、膀胱、精巣（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮、眼球及び付属腺（両側）、骨格筋（下腿三頭筋、片側）皮膚、乳腺及び肉眼的異常部位。

〔非腫瘍性病変〕

病理組織学的検査では1000及び250 ppm投与群の雌雄において小葉周辺性肝細胞脂肪化及び小葉周辺性肝細胞好酸性変性が観察された。

〔腫瘍性病変〕

腫瘍性病変としては発生した各腫瘍の種類、型、発生時期及び発生頻度において投与群と対照群との間に特に差異はなかった。各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表の通りであり、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。

以上の結果から、本剤の22か月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として250 ppm投与群以上の雄において投与12か月後にヘマトクリット値、血色素量、赤血球数の有意な減少及び肝重量及びその対体重比の有意な増加が認められ、病理組織学的検査では雌雄とも小葉周辺性肝細胞脂肪化及び小葉周辺性肝細胞好酸性変性などの肝病変が観察されたので、無毒性量は75 ppm（雄 7.98 mg/kg/day, 雌 6.67 mg/kg/day）であると判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑥マウスを用いた飼料混入投与による10か月間慢性毒性試験（肝に及ぼす影響）（参考資料）

（資料No.8）

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス，1群雄雌各40匹，試験開始時3～4週齢

投与6か月時（投与終了時）に1群雄雌各20匹を，また，投与終了後3か月目に1群雄雌各10匹を中間屠殺し，残りをさらに1か月後に最終屠殺した。

試験期間：6か月間（1975年7月10日～1976年4月9日）

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群），400，1000，2500及び3600 ppm含有する飼料を6か月間摂食させたのち，検体を含まない基礎飼料を4か月間給与した。

なお，検体をそのまま基礎飼料に混合し，ペレットとした。飼料の調製は3か月に1回行った。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日2回観察した。

脱毛，皮膚病，削瘦，衰弱，尾部の腫瘤，後肢脱力，多尿，眼の膨張及び刺激性変化などが対照群を含む全群に散見されたが，いずれも検体投与によるものとは考えられなかった。

検体投与終了時（6か月時）の死亡数は0（対照群），400，1000，2500及び3600 ppm投与群の雄で各々28/40，3/40，1/41，3/40及び3/39による影響は認められなかった。

体重変化；毎週1回全生存動物の体重を測定した。

2500及び3600 ppm投与群雄雌で投与開始後1か月間体重増加抑制がみられたが，これらは試験開始時における低体重のためであり，検体投与によるものではないと判断された。

摂餌量及び飲水量；本試験では測定しなかった。

臓器重量；6か月間の投与終了時，投与中止後3か月時及び4か月時（試験終了時）に屠殺，解剖し肝重量を測定した。

400 ppm投与群を除く1000 ppm以上の投与群雄雌で肝重量及びその対体重比の増加が認められた。

しかし，投与中止後，3か月時及び4か月時（試験終了時）における肝重量と，その対体重比は対照群を含む全群の間に差が認められなかった。

代謝機能検査；6か月間の投与終了時及び投与中止後3か月時に肝を摘出し，ホモジ

ネート後遠沈により分離したマイクロソーム画分を用いて *in vitro* における *p*-nitroanisoleの代謝試験を実施した。投与終了時における1000 ppm投与群とそれ以上の投与群で代謝機能の亢進が認められたが，投与中止3か月時における検査では検体投与による代謝への影響は認められなかった。

なお，検体投与による肝細胞のマイクロソーム蛋白濃度の変化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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

病理組織学的検査；途中死亡動物及び上記の部検時における動物を対象として、肝の病理標本を作製し、鏡検した。

1000 ppm投与群及びそれ以上の投与群で6か月間の投与終了時に細胆管の増生が認められ、また肝の門脈周囲に脂肪細胞の出現頻度の増加が全ての投与群に観察された。これらの変化は基礎飼料に切替えた3か月後では顕著に減少し、さらに4か月後では対照群の発生率と同等になった。

その他、肝の脂肪変性、限局性壊死、肉芽腫、腫瘍、ヘモジデリン沈着などが、対照群を含む全群に散見されたが、検体投与に関連したものではなかった。

以上の結果から、トリシクラゾールの6か月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として400 ppm以上の全投与群にみられた肝病変は極めて軽度であり、投与を中止することにより回復するものと判断される。なお、本試験における無毒性量は判定できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑦マウスを用いた飼料混入投与による12か月慢性毒性試験（参考資料）

（資料No.9）

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス，1群雄雌各15匹（試験開始時体重雄26.2g，雌22.4g）

投与期間：12か月（1975年5月5日～1976年5月4日）

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群），50，140，400及び620 ppm含有する飼料を12か月間摂食させた。なお検体をそのまま基礎飼料に混合し，ペレットとした。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日2回観察した。

脱毛，皮膚病変及び攻撃性の増加がみられたが検体投与に関連したものではなかった。試験終了時の死亡率は0（対照群），50，140，400及び620 ppm投与群の雄で各々7，70，13及び27%，また，雌で各々7，7，7，20及び0%であった。検体投与による影響は認められなかった。

体重変化；毎週1回全生存動物の体重を測定した。

620 ppm投与群で試験開始より3か月間，体重増加抑制が認められたが，これは試験開始時の体重が低かったことによるものと考えられた。また，400 ppm投与群雄で統計学的に低い値が散見されたが，これも偶発的なものであり検体投与による影響とは考えられなかった。

摂餌量及び飲水量；本試験では測定しなかった。

血液学的検査；試験終了時に全生存動物を対象として赤血球数，白血球数，ヘモグロビン濃度（Hb），ヘマトクリット値（Ht），白血球分画及び赤血球の形態について検査した。また，1群雄雌各3匹の血小板数を測定した。なお，採血は心臓穿刺により行った。

統計学的に有意差のみられた項目はなく，検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査で血小板数の測定に使用した動物以外の全生存動物を対象として，血清を用いて，血糖，BUN，クレアチニン，総蛋白，アルカリホスファターゼ（ALP）及びSGPTを測定した。140 ppm以上の投与群の雄でBUNの減少及び620 ppm投与群の雌で総ビリルビンの減少が認められたが，これらの変化は毒性学的に意義がないものと考えられた。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として，解剖ののち，心，肝，脾，副腎及び腎，精巣，子宮及び卵巣，脳の重量を測定した。

620 ppm投与群で心重量の減少及び同群雌で卵巣を含む子宮重量の減少がみられたが，検体投与によるものではないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。

検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物を対象として、重量測定臓器を含む、乳腺、唾液腺、肺、甲状腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、下垂体、骨格筋、胸腺、脾、膀胱、前立腺、腸間膜リンパ節及び骨髄について病理標本作製し、鏡検した。620 ppm投与群を除く、投与群及び対照群に肝の脂肪変性が認められたが毒性学的には重要ではないと考えられた。

以上の結果、トリシクラゾールの1年間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響は認められなかったことから、最大無作用量は620 ppmであると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑧マウスを用いた飼料混入投与による24か月慢性毒性・発がん性試験（参考資料）

（資料No.11）

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス，投与群は1群雄雌各40匹，対照群は雄雌各60匹，試験開始時4～5週齢

投与期間：24か月（1975年4月18日～1977年4月19日）

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群），50，140及び400 ppm含有する飼料を24か月間摂食させた。

なお検体をそのまま基礎飼料に混合しペレットとした。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日2回観察した。

脱毛，皮膚の潰瘍，咬創，眼球混濁，多尿，呼吸困難，攻撃的な挙動などがみられたがいずれも検体投与によるものと考えられなかった。

試験終了時の死亡率は0（対照群），50，140及び400 ppm投与群の雄で各々70，68，70及び65%，また，雌で各々65，75，65及び72%であった。

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化；投与開始から5週間は毎週1回，その後は2～3週に1回全ての生存動物の体重を測定した。

9週時に50 ppm投与群雌でみられた低下及び65週時に140 ppm投与群でみられた増加以外に変化はみられず，検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量；本試験では測定しなかったが，ICR系マウスの12か月時及び18か月時における1日1匹当りの平均摂餌量は雄で各々3.8～4.3 g，4.0～4.8 g，また，雌で各々3.8～4.4 g，4.1～4.7 gであった。

飲水量；1群雄雌各15匹を対象として，1ケージ3匹の飲水量を測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；ICR系マウスの90日間亜急性毒性試験及び長期毒性試験における1

日当りの平均摂餌量及び本試験における平均体重，餌料中濃度及び飼料の調製，保存中におけるトリシクラゾールの減少を考慮して算出した。

1日当りの平均検体摂取量は，50，140及び400 ppm投与群の雄で各々3.5～5.6，10.1～15.9，28.3～44.8 mg/kg/day，また雌で3.8～5.9，10.2～15.6，31.0～45.7 mg/kg/day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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

血液学的検査；試験終了時に全生存動物を対象として、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度（Hb）、ヘマトクリット値（Ht）、白血球分画、血小板数、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球色素量（MCH）、平均赤血球色素濃度（MCHC）及び赤血球形態を測定した。なお、採血は心臓穿刺により行った。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められたのは50 ppm投与群におけるMCHCの減少のみであり、検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査に用いた動物の約半数を対象として、血糖、尿素窒素（BUN）、クレアチニン、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ（ALP）、SGPTを測定した。なお一部の動物についてSGOTを測定した。

いずれの投与群においても対照群に比較して統計学的に有意差のみられた項目はなく、検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として、解剖の後、脳、心、肝、腎（副腎を含む）脾、精巣、卵巣及び子宮を測定した。また、対体重比を算出した。400 ppm投与群雌で肝重量及びその対体重比の増加傾向が認められたが統計学的に有意な差はなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。

対照群を含む全群に膀胱拡張、精巣萎縮、子宮嚢胞形成、皮膚の潰瘍などが認められたが、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として重量測定臓器を含む、組織瘤、乳腺、唾液腺、肺、甲状腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、皮膚、眼球、下垂体、骨格筋、胸腺、脾、膀胱、前立腺、胸骨骨髓及び肉眼的病変部について、病理標本を作製し、鏡検した。進行性糸球体ネフローゼ、アミロイドーシス、精巣萎縮、卵嚢胞、子宮の嚢胞形成、皮膚の潰瘍などが対照群を含む全群に認められた。これらの変化はいずれも加齢によるもの、あるいは自然発生的なものであり、検体投与に起因するものとは考えられない。リンパ肉腫は対照群を含む全群にみられたが、トリシクラゾール投与によりその発生率が減少した。

各群における悪性及び良性腫瘍を持った動物数は次表の通りであり、腫瘍の発生頻度には検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以上の結果から、トリシクラゾールの24か月間飼料混入投与による慢性毒性試験におけるマウスに対する影響はなく、最大無作用量は400 ppm（雄28.3～44.8 mg/kg/day，雌31.0～45.7 mg/kg/day）であると判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑨マウスを用いた飼料混入投与による24か月慢性毒性・発がん性試験（参考資料）

（資料No.12）

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス，投与群は1群雄雌各40匹，対照群は雄雌各60匹，試験開始時4～5週齢

投与期間：24か月間（1975年4月30日～1977年5月4日）

投与方法：トリシクラゾールを0（対照群），50，140及び400 ppm含有する飼料を24か月間摂食させた。なお，検体をそのまま基礎飼料に混合しペレットとした。

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日2回観察した。

脱毛，皮膚の潰瘍，咬創，眼球混濁，眼球突出，斜頸，攻撃的な挙動などがみられたが，いずれも検体投与によるものと考えられなかった。

試験終了時の死亡率は0（対照群），50，140及び400 ppm投与群の雄で各々73，70，62及び75%，また雌で各々78，70，78及び82%であった。

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化；投与開始から5週間は毎週1回，その後は2～3週間に1回全ての生存動物の体重を測定した。

試験期間を通じ，対照群と投与群との間に統計学的に有意差はみられず，検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量；本試験では測定しなかったが，ICR系マウスの12か月及び18か月時における1日1匹当りの平均摂餌量は雄で各々3.8～4.3 g，4.0～4.8 g また，雌で各々3.8～4.4 g，4.1～4.7 gであった。

飲水量；本試験では測定しなかった。

検体摂取量；ICR系マウスの90日間亜急性毒性試験及び長期毒性試験における1日当りの平均摂餌量及び本試験における平均体重，餌料中濃度及び飼料の調製，保存中におけるトリシクラゾールの減少率を考慮して算出した。

1日当りの平均検体摂取量は，50，140及び400 ppm投与群の雄で各々3.5～5.5，10.2～15.7，29.6～45.0 mg/kg/day，また，雌で各々3.8～5.9，10.4～15.9，29.1～45.9 mg/kg/dayあった。

血液学的検査；試験終了時に全生存動物を対象として，赤血球数，白血球数，ヘモグロビン濃度（Hb），ヘマトクリット値（Ht），白血球分画，血小板数，平均赤血球容積（MCV），平均赤血球血色素量（MCH），平均赤血球血色素濃度（MCHC）及び赤血球の形態を測定した。なお，採血は心臓穿刺により行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

いずれの投与群においても対照群に比較して統計学的に有意差のみられた項目はなく、検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査に用いた動物の約半数を対象として、血糖、尿素窒素（BUN）、クレアチニン、総ビリルビン、アルカリホスファターゼ（ALP）及びSGPTを測定した。

いずれの投与群においても対照群に比較して統計学的に有意差のみられた項目はなく、検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象として、解剖の後、脳、心、肝、腎、脾、精巣及び卵巣と子宮の重量を測定した。また、対体重比を算出した。

いずれの投与群においても対照群に比較して統計学的に有意差のみられた臓器重量及び対体重比はなかったが、検体を投与した雌マウスの肝重量には増加の傾向が認められた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。対照群を含む全群に膀胱拡張、肺の硬化、精巣萎縮、肝、腎、脾の肥大、皮膚の腫瘍などが認められたが、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として重量測定臓器を含む、組織瘤、乳腺、肺、甲状腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、腸間膜リンパ節、皮膚、眼球、下垂体、骨格筋、胸腺、脾、膀胱、前立腺、胸骨骨髄及び肉眼的病変部について、病理標本を作製し、鏡検した。

進行性糸球体ネフローゼ、アミロイドーシス、精巣萎縮、卵胞嚢胞、子宮の嚢胞形成、皮膚の潰瘍などが対照群を含む全群に認められた。これらの変化はいずれも加齢によるもの、あるいは自然発生的なものであり、検体投与に起因するものとは考えられなかった。

リンパ肉腫は対照群を含む全群にみられたが、トリシクラゾール投与によりその発生率が減少した。

各群における悪性及び良性腫瘍を持った動物数は次表の通りであり、腫瘍の発生頻度には検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、トリシクラゾールの24か月間飼料混入投与による慢性毒性試験におけるマウスに対する影響はなく、最大無作用量は400 ppm（雄29.6～45.0 mg/kg/day、雌29.1～45.9 mg/kg/day）であると判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性①ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料No.66)

検体純度：

供試動物：Wistar 系雌雄ラット(Crl(WI)WU BR)、1 群雄 28 匹、雌 28 匹、投与開始時 5~6 週齢

投与期間：P 世代；交配の約 10 週間前から雄は交配後、雌は F₁ 児離乳時まで、F₁ 世代；

離乳時から雄は交配後、雌は F₂ 児離乳時まで

(2003 年 4 月 7 日~2003 年 12 月 15 日)

投与方法：検体を 0、30、100、400 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。

[投与量設定根拠]

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

親動物；

一般状態及び死亡；すべての親動物について、ケージサイドからの観察を毎日行った。

眼科学的検査；試験開始前に P 世代の全動物、F₁ 世代交配前期間 1 週目に F₁ 世代対照

群及び 400 ppm 群の全動物、剖検数日前に P 世代及び F₁ 世代の対照群及び 400

ppm 群の雄動物、剖検日に P 世代及び F₁ 世代の全群の雌動物について眼科学的

的検査を行った。

体重及び摂餌量；雄動物の体重及び摂餌量は、試験期間を通して週 1 回の頻度で測定

した。雌の体重は、全動物について交配前及び交配期間は週 1 回の頻度で、

交尾成立雌動物については妊娠 0、7、14、21 日及び哺育 1、4、7、14、21 日

に測定した。交尾不成立の雌の体重は毎週測定し、屠殺日にすべての動物の

体重を測定した。雌の摂餌量は、全動物について交配前期間は週 1 回の頻度

で、交尾成立雌動物については妊娠 0、7、14、21 日及び哺育 1、4、7、14 日

に測定した。

交配及び妊娠の確認；雌を同群の雄と 1 対 1 で最長 2 週間同居させて交配を行った。

膣垢中に精子が確認されるか膣栓が認められた場合に交尾成立と判断し、妊

娠 0 日とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。性周期；交配期間前の3週間に各雌から膣垢を採取して検査し、性周期を調べた。

交尾成立までの日数；同居開始から交尾成立日（妊娠 0 日）までの期間

妊娠期間；妊娠 0 日から出産日（哺育 0 日）までの日数

交尾率（%）＝（交尾成立雌数／同居させた雌数）×100

雄授精率（%）＝（交尾した雌が妊娠した雄数／同居させた雄数）×100

雌受精率（%）＝（妊娠雌数／同居させた雌数）×100

雌受胎率（%）＝（妊娠雌数／交尾成立雌数）×100

妊娠率（%）＝（生存児動物を出産した雌数／妊娠雌数）×100

着床後損失率＝（（着床痕数－出産児数）／着床痕数）×100

精子検査；全群の雄動物について精巣上体精子の運動性及び精巣上体尾部の精子貯蔵を測定し、対照群及び 400 ppm 群雄の精子塗抹標本の 200 精子について形態を検査した。また、均質化抵抗性精子細胞数は対照群及び 400 ppm 群、ならびに F₁ 世代の 30 及び 100 ppm 群について測定した。

病理学的検査；雄動物は交配期間終了後、雌親動物は児動物の離乳後、児動物を出産しなかった雌動物は交配期間終了から約 3 週間後に屠殺した。すべての親動物について、詳細な剖検を行い、以下の臓器重量を測定した。

卵巣、子宮及び子宮頸部、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、脳、肝臓、腎臓、脾臓、下垂体、甲状腺、副腎

また、対照群と高用量群の全動物を対象として、以下の臓器の病理標本を作成し、検鏡した。

膣、卵巣、子宮及び子宮頸部、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、肝臓、肉眼的病変部

児動物：

一般状態及び死亡；哺育期間中は、毎日 1 回生死を確認し、以下の指標を算出した。

生児出産率（%）＝（出産生存児数／出産児数）×100

生後 4 日死亡率＝（生後 1-4 日の死亡児数／生後 4 日の生存児数）×100

生後 21 日生存率＝（生後 21 日の生存児動物数／間引き後生存児数）×100

性比；（生存雄児数／全生存児数）×100

体重；生後 1、4、7、14 及び 21 日に個体別に測定した。

性成熟；F₁ 世代動物について、雌の膣開口開始及び雄の包皮分離開始が確認された日齢を記録した。F₂ 世代雌雄動物については肛門生殖突起間距離（AG 距離）を測定し、相対 AG 距離（生後 1 日体重の立方根に対する比）を算出した。

病理学的検査；離乳時に F₁ 及び F₂ 児動物から無作為に一腹当たり雌雄各 3 匹を選抜し、肉眼的病理検査に供し、以下の臓器重量を測定した。また、肉眼的異常組織については病理標本を作成し、検鏡した。

脳、脾臓、胸腺

結 果：概要を表 1 に示した。

親動物；

死 亡；試験期間中に瀕死状態のため、P 世代の対照群雌 1 例と F₁ 世代の高用量群雄 1 例を切迫屠殺した。これらの動物における瀕死状態の原因は明らかでなかったが、瀕死状態となったのは 2 例のみで、うち 1 例は対照群であったことから、投与に関連がある所見ではないと考えられた。

一般状態；投与に関連する変化はみられなかった。

眼科学的検査；投与に関連する変化はみられなかった。

体重及び体重増加量；P 及び F₁ 世代の 400 ppm 投与群の雌雄に投与に関連すると考えられる低値が認められた。

摂餌量；P 及び F₁ 世代の 400 ppm 投与群の雌雄に投与に関連すると考えられる低値が認められた。

性周期；投与に関連する差は認められなかった。

繁殖性；両世代とも、いずれの投与量でも交尾率、受（授）精率、受胎率、妊娠率、出産率、着床後損失率、交尾成立までの期間及び妊娠期間に影響は認められなかった。

臓器重量；P 及び F₁ 世代の 400 ppm 投与群の雌雄に肝臓相対重量の高値が、F₁ 世代の 400 ppm 投与群の雌に子宮の絶対及び相対重量の低値が認められた。

他の臓器重量の変化は体重の低値に起因すると考えられた。

肉眼的病理検査及び病理組織学的検査；投与に関連する変化はみられなかった。

精子検査；両世代とも、いずれの用量でも精巣上体の精子運動性、精巣上体及び精巣の精子数ならびに精巣上体の精子形態に投与の影響は認められなかった。

精子運動性について、F₁ 世代の 30 ppm 投与群で BCF が統計学的に有意な低値を示したが、100 及び 400 ppm 投与群に影響がみられなかったことから偶発的所見と考えられた。

精巣柔組織 1 g 当たりの精子数及び 1 日当たりの精子生産数は、F₁ 世代の 400 ppm 投与群で対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。このため、30 及び 100 ppm 投与群についても精巣精子数を検査したところ、これらの群では精巣柔組織 1 g 当たりの精子数及び 1 日当たりの精子生産数が対照群と比較して有意な高値を示し、対照群と 400 ppm 投与群間の差は有意でなくなった。背景データの精巣柔組織 1 g 当たりの精子数は 247.25、1 日当たりの精子生産数は 56.92 であることから、対照群と 400 ppm 投与群の値はかなり低い。また、精巣の病理組織学的検査では投与の影響がみられなかったことから、これらの所見は投与に関連しないと考えられた。

精巢上体精子形態については、P 世代においてバナナ様フックを示す精子細胞の発現率が統計学的に有意に減少し、破損鞭毛を有する精子細胞の発現率が有意に増加したが、一貫性がないことから、偶発的な所見であり、投与との関連はないと考えられた。

児動物；

同腹児数及び性比；同腹児数、死産児数、哺育期間中の死亡児数及び性比に投与に関連する影響は認められなかった。

100 ppm 投与群では F₁ 世代の死産児数が統計学的に有意に高値であったが、400 ppm 投与群では死産児数がむしろ低く、影響がみられなかったことから、この所見は投与に関連しない偶発的な所見であると考えられた。

一般状態；投与に関連する変化はみられなかった。

小型児動物数に対照群と投与群間で統計学的有意差が散見されたが、一貫性がないため投与との関連については結論には至らなかった。

体重及び体重増加量；両世代とも 400 ppm 投与群の体重及び体重増加量に投与に関連すると考えられる低値が認められた。

性成熟；F₁ 世代の 400 ppm 投与群雌雄における膣開口及び包皮分離の遅延、ならびに F₂ 世代の 400 ppm 投与群雄における絶対及び相対 AG 距離の低値は検体投与による影響と考えられた。

F₂ 世代の 100 ppm 投与群雄にも絶対及び相対 AG 距離の統計学的に有意な低値がみられたが、F₁ 世代の 100 ppm 投与群には膣開口及び包皮分離の遅延は認められなかったことから、この群の AG 距離短縮は悪影響とは考えられなかった。

臓器重量；F₁ 世代の 400 ppm 投与群雌雄において脾臓の絶対及び相対重量の低値が認められた。

他の臓器重量の変化は児動物体重の低値に起因すると考えられた。

肉眼的病理検査及び病理組織学的検査；検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、400 ppm 投与群では親動物に体重及び摂餌量の低値、肝臓重量の増加、子宮重量の減少が、児動物雌雄に体重及び体重増加量の低値、包皮分離及び膣開口の遅延、脾臓重量の低値、雄に肛門生殖突起間距離の低値が認められた。繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。したがって、無毒性量は親動物及び児動物に対して 100 ppm (雄 7.0 mg/kg/day、雌 6.0 mg/kg/day) と判断される。繁殖については最高投与量の 400 ppm でも影響がなかった。

(申請者注)：無毒性量は、各世代、各期間(雄…生育期、雌…生育期、妊娠期間、授乳期間)ごとの検体摂取量を比較し、最小値(雄は P 世代の生育期の 7.0 mg/kg/day、雌は P 世代の妊娠期の 6.0 mg/kg/day)を記載した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

②ラットを用いた繁殖試験（催奇形性試験を含む）（参考資料）

（資料No.15）

検体の純度：

試験動物：ウィスター系ラット，1群雄雌各50匹

投与期間：3世代

F₀世代－153日（投与開始からF₁児離乳時まで）

F₁世代－194日（離乳時からF₂児離乳時まで）

F₂世代－119日（離乳時からF₃児離乳時まで）

投与方法：検体を0，50及び275 ppm含有した飼料を自由に摂取させた。

方法及び試験項目：概要は次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は雄雌1対1で同居させ，膣栓の形成が認められた日を妊娠0日と決めた。

催奇形性試験；膣栓形成のあった20匹の雌を雄から離し，妊娠20日目まで別途飼育した。（資料16とした）

繁殖性に関する指標；妊娠，出産及び離乳時までの観察に基づき次の指標を算出した。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した雌の数}}{\text{交配に供試した雌の数}} \times 100$$

$$\text{出産時生存率} = \frac{\text{出産時の生存児数}}{\text{出産時の生存及び死亡児数}} \times 100$$

$$\text{1日後の生存率} = \frac{\text{生後1日目の生存児数}}{\text{出産時の生存児数}} \times 100$$

（7日後及び14日後の生存率も同様の方法で算出）

$$\text{21日後（離乳時）の生存率} = \frac{\text{生後21日目の生存児数}}{\text{出産時の生存児数}} \times 100$$

病理解剖；発育期及び繁殖期の途中死亡した親動物や授乳期に死亡した児動物及び離乳児動物につき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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

全試験期間中に対照群を含め合計15匹の親動物が死亡したが、検体投与に関連するものではなかった。一般症状で皮膚炎、毛づくろい行動の減弱、尾のねじれ、矮小例などが認められたが、検体投与と関連するとは考えられなかった。

検体投与群のF₁の生存率が対照群より低かったので、第二次繁殖を行ったところ、検体投与群に影響は認められなかった。

F₃の体重推移をみると、1日目では275 ppm群で、7日目では50及び275 ppm群で対照群より有意に低い値を示した。しかし、14日目以降は対照群と同等の値となった。

各世代の離乳児動物の部検の結果、対照群で精巣の萎縮が2例認められたほか、水腎症が対照群6例、50 ppm群5例、275 ppm群4例に各々認められた。また、F₃の顕微鏡的検査でも水腎症が50 ppm群1例、275 ppm群3例に各々認められた。

これらは、検体投与に起因するものではないと判断された。

以上の結果より、3世代にわたってトリシクラゾールを飼料中に混入して投与した場合、ラットの親動物の生殖能や児動物の発育及び生存率に対し影響を示さないと考えられる。

従って、無毒性量は親動物、児動物ともに275 ppm(雄14.0~15.8 mg/kg, 雌19.3~21.0 mg/kg)と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2) 催奇形性

①ラットにおける催奇形性試験

(資料No.67)

検体の純度：

試験動物：SD系妊娠ラット、1群28匹（交尾動物）

妊娠0日において12週齢（体重 178～227 g）

投与期間：妊娠期間20日間

試験方法：検体を1%CMC水溶液に懸濁し、0（対照）、5、20および50 mg/kgの投与量で妊娠0日から20日まで1日1回強制経口投与した。対照群には1%CMC水溶液のみを同様に投与した。

雌／雄各動物を1：1で同居させ交配し、膣垢中に精子が確認された日を妊娠0日とした。

投与量設定根拠；

試験項目：

親動物； 一般状態および生死を毎日観察し、体重を妊娠0, 3, 7, 10, 14, 17および21日に測定した。また、摂餌量を妊娠0～3、3～7、7～10、10～14、14～17および17～21日の各期間に測定した。

妊娠21日に帝王切開し、黄体数、着床痕数、早期および後期吸収胚数、着床前及び着床後胚損失率、生存および死亡胎児数、胎盤異常、胎児の性比、外部異常等を検査した。さらに、卵巣、子宮（総重量および胎盤・胎児摘出後重量）、胎児、胎盤重量を測定した。

生存胎児； 各腹の約半数の胎児についてブアン固定後内臓検査を行った。残りの胎児については、内臓を除去し70%エタノールで固定後、水酸化カリウムで透徹、Alizarin Red SのDawson変法で染色し骨格異常を検査した。

内臓検査は対照群と50 mg/kg体重/日群でのみ実施したが、骨格異常は全群の胎児について検査した。内臓検査および骨格異常検査は各群の最初の20例について行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験結果：以下に母動物及び児動物の主要成績を記載する。

母動物；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

母動物への影響：妊娠 0-5 日に 50 mg/kg 体重/日群で多くの動物が元気喪失、体温低下および立毛を示したが、その後の一般状態に投与群と対照群に差はみられなかった。帝王切開時の肉眼所見に検体投与の影響はなかった。

平均体重が 50 mg/kg 体重/日群で妊娠 3-21 日に低下した。平均体重増加量も 20 mg/kg 体重/日群で妊娠 0-7 日、50 mg/kg 体重/日群で妊娠 0-3, 7-10 および 14-17 日に低下したが、一方、増加が 20 mg/kg 体重/日群の妊娠 17-21 日、50 mg/kg 体重/日群では妊娠 10-14 および 17-21 日に認められた。

摂餌量が 20 mg/kg 体重/日群で妊娠 0-10 日、50 mg/kg 体重/日群で妊娠 0-17 日に低下したが、一方、増加が 50 mg/kg 体重/日群で妊娠 17-20 日に認められた。

黄体数、着床数、生存および死亡胎児数、着床前胚死亡および着床後胎児死亡数、初期および後期吸収胚数を含め繁殖および妊娠関連項目に対照群と投与群間に差はなかった。胎児の性比に群間差はなかった。

子宮総重量が 50 mg/kg 体重/日群で低下したが、卵巣重量に群間差はなかった。

5 mg/kg 体重/日群に検体投与の影響はなかった。

胎児への影響：

50 mg/kg 体重/日群では対照群に比し小型胎児数が有意に増加し平均体重が減少した。

胎盤に検体投与の影響はなかった。

内臓および骨格奇形は各群に観察されなかった。

内臓観察では胎児の軟部組織に検体投与の影響はなかった。

骨格観察では多くの骨に骨格変異と骨化変異 [骨化遅延/未骨化]が 50 mg/kg 体重/日群において観察され、20 mg/kg 体重/日群でも程度はより低かったものの認められた。

5 mg/kg 体重/日群に検体投与の影響はなかった。

以上の結果から、母動物では 20 mg/kg 体重/日以上投与群において体重および摂餌量への影響が観察されたところから、無影響量 (NOEL) は 5 mg/kg 体重/日と判断した。胎児では 20 mg/kg 体重/日以上投与群において骨格変異と骨化状態への影響が観察されたところから、無影響量は 5 mg/kg 体重/日と判断した。催奇形性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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

②ラットにおける催奇形性試験（参考資料）

（資料No.16）

検体の純度：

試験動物：ウィスター系妊娠ラット，1群20匹

試験期間：各世代22日間（F₀：1975年7月15日～8月6日，F₁：11月20日～12月12日，F₃：1976年3月30日～4月21日）

試験方法：本試験は資料15繁殖性試験に含まれて実施したものである。

検体を0，50及び275 ppm含有した飼料を自由に摂取させ，F_{1a}，F_{2a}

及びF_{3a}を得る繁殖性試験のうち，各世代ごとに妊娠雌各群20匹を別途飼育して，妊娠20日目に屠殺し，奇形学的検査を行った。

試験項目：

母体；外見，行動変化の観察を毎日行い，毎週，体重，飼料摂取量を測定した。

妊娠20日目に屠殺し，黄体数，吸収胚数，着床数及び生存胎児数を調べた。

また，妊娠率も算出した。

生存胎児；性比，体重，外部異常，内臓検査及び骨格検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験結果：

内臓検査の結果、F₂世代の275 ppm群の胎児において水腎症が14%発生した。

これはウイスターラットに自然発生するもので、本研究所の背景データ範囲内にあり、かつ、各世代間で用量依存症もないことから、検体投与に起因するとは考えられなかった。

胎児動物に幾つかの骨格変異も散見されたが、いずれも検体投与によるものではないと考えられた。

以上の結果より、トリシクラゾールを妊娠ラットに投与したとき、母動物及び胎児に対して最高投与量275 ppm (16.2~20.9 mg/kg) でも影響を及ぼさず、催奇形性を示さなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

③ウサギにおける催奇形性試験

(資料 73)

検体純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ
(約 6 カ月齢；体重 2902～3630 g)、1 群 25 匹

投与期間： 妊娠 7～28 日の 22 日間 (2008 年 9 月 23 日～2008 年 10 月 16 日)

投与方法： 0.5%メチルセルロース水溶液を媒体とし、検体を、7.5、25 及び 75 mg/kg/日の投与レベルで妊娠 7～28 日の 22 日間毎日、2 mL/kg 体重の容量で毎日 1 回強制経口投与した (交配が確認された日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群に 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、体重を、妊娠 0 (供給者による)、4 及び 7～29 日に毎日測定した。子宮とその内容物を除いた妊娠 29 日の体重を正味体重とする。摂餌量は妊娠 4～29 日に毎日測定した。

妊娠 29 日に腹式子宮摘出術を行い、子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、全着床数及び黄体数を記録した。妊娠子宮重量、腎臓及び肝臓 (胆嚢を含む) の重量測定を行い、内臓及び子宮内容物の検査を含む肉眼的病理検査を行った。

生存胎児；全生存胎児の体重、性別及び外表異常、内臓及び骨格異常の観察並びに発達変異の評価を行い、頭部は冠状中央断面で切断し、病理検査を行った。外表、内臓及び骨格所見を発達変異又は奇形として記録した。

結果：概要を後記の表に示した。

親動物； 7.5 mg/kg/日群 1 例が妊娠 25 日に死亡し、他の 1 例も妊娠 22 日に流産した。高用量群には見られなかったため、この群で見られた死亡及び流産は検体関連性ではないと考えられた。対照群 1 例が妊娠 29 日に出産した。他の雌動物は全て計画剖検の妊娠 29 日まで生存した。投与期間中、75 mg/kg/日群の雌 25 匹中 14 匹に排糞減少が認められた。この所見は、投与期間中にこの群に見られた摂餌量減少と関連していた。その他、いずれの用量にも毎日の検査又は投与約 1 時間後に異常臨床所見は認められなかった。

妊娠 7-29 日の全投与期間では、75 mg/kg/日群で検体関連の平均体重増加量及び摂餌量の減少が見られ、投与期間中、平均体重が対照群と比べて有意に低値であった。また、75 mg/kg/日群で平均正味体重が対照群より大きく減少した。7.5 及び 25 mg/kg/日群の母動物の平均体重、体重増加量、正味体重増加量及び摂餌量並びに 7.5、25 及び 75 mg/kg/日群の平均正味体重及び妊娠子宮重量に検体投与による影響はなかった。

死亡、流産、出産に関して、又は妊娠 29 日の計画剖検まで生存した雌動物に、検体関連の肉眼的所見は認められなかった。

75 mg/kg/日群で、肝及び腎の対体重比が対照群と比べて統計学的に有意に増加した。肝に関しては、他の試験において肝重量及び対体重比の増加が、ラットとマウスでは肝 p-nitroanazole 代謝活性が報告された。しかし、イヌでは反対に本酵素活性減少が認められた。また病理組織学的所見では、ラットで軽度の小葉中心性肝細胞肥大が、マウスでは胆管増生がみられイヌでは肝に検体投与の所見は認められなかった。本試験では病理組織学的検査を実施していないが、これらの試験結果より、肝の対体重比の増加は生体の適応反応 (代謝活性化) であり、毒性所見あるいは悪影響ではないと考え

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

られた。腎重量、あるいは腎に対する病理組織学的所見は、上述した他の試験においても認めらず、腎は標的臓器ではなかったため、本試験における腎の対体重比の減少は、75 mg/kg/日群における体重値減少の影響であり、検体投与の腎への影響ではないと考えられた。7.5 及び 25 mg/kg/日群の臓器重量は対照群の値と同等であった。

胎児； 75 mg/kg/日群の平均胎児体重が対照群と比べて有意に低値であった。7.5 及び 25 mg/kg/日群の子宮内発育及び生存に、検体投与による影響は認められなかった。

外表異常はいずれの動物にも認められなかった。

内臓奇形は、75 mg/kg/日及び 25 mg/kg/日群に肺動脈幹狭窄、心室中隔欠損症及び肺の小葉形成不全が、それぞれ 1 例ずつみられた。これらは発生頻度が少く統計学的有意差もなかったため検体投与の影響ではないと判断された。

内臓変異として、心臓の過剰乳頭筋、胆嚢欠損又は小型化、副脾、主要血管変異、大静脈後尿管が対照群を含む全ての群で認められた。また、心臓小型化が対照群及び 75 mg/kg/日群でそれぞれ 2 例及び 1 例に、腎臓退色が 7.5、25 及び 75 mg/kg/日群でそれぞれ 1、1、3 例に、腎乳頭発生不完全及び／又は拡張尿管が 75 mg/kg/日群で 1 例に認められた。これらの所見の発生頻度に統計学的有意差は認められず検体投与関連性ではないと判断された。

骨格奇形として、脊椎奇形が対照及び 25 mg/kg/日群で 1 例ずつ、7.5 mg/kg/日群で胸骨分節不整、胸骨分節癒合及び肋骨奇形が 1 例ずつ認められたが、発生頻度は少なく、統計学的有意差もなかったもので、検体関連性の所見ではないと判断された。

骨格変異として、胸骨分節未骨化、第 13 痕跡状過剰肋骨、胸骨分節不整、舌弓弯曲、第 13 完全肋骨、第 27 前仙骨椎、第 1 胸骨分節に前部骨化の余剰部、過剰頭蓋骨が対照群も含めすべての群に認められた。また、第 7 頸肋が対照群及び 7.5 mg/kg/日にそれぞれ 2 例ずつに、舌骨体及び／又は弓未骨化が対照群、7.5 及び 75 mg/kg/日にそれぞれ 1、2、1 例に、頭蓋骨の骨化減少が 75 mg/kg/日に 1 例、第 25 前仙骨椎が対照群及び 7.5 mg/kg/日でそれぞれ 1 及び 2 例に、第 7 胸骨分節が 7.5 及び 75 mg/kg/日でそれぞれ 1 例ずつに、恥骨非骨化が 75 mg/kg/日に 1 例、第 1 頸部頸椎前部に骨化過剰部分が 7.5 mg/kg/日に 1 例認められた。これらの所見の発生頻度に統計学的有意差は認められず検体投与関連性ではないと判断された。

以上のことから、本試験のいずれの胎児にも、検体関連の奇形及び発達変異は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したとき、投与用量 75 mg/kg/日における母動物の摂餌量減少及び排糞減少に対応する平均体重増加量の低値並びに平均胎児体重減少に基づき、母動物及び胎児動物における無毒性量は 25 mg/kg/日であった。また、最高用量の 75 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結果の概要①

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

④ウサギにおける催奇形性試験（参考資料）

（資料No.28）

検体の純度：

試験動物：ダッチベルテッド系妊娠ウサギ（体重1.70～3.04kg），1群15匹。

試験期間：投与期間13日間（妊娠6～18日），妊娠28日に屠殺。

試験方法：トリシクラゾールを5%アラビアゴム溶液に懸濁し，2，10及び50 mg/kg/dayの投与レベルで妊娠6日から18日までの13日間，毎日1回経口投与した。投与量は体重変化に合わせて3日毎に調整した。なお，対照群には5%アラビアゴム溶液を同様に投与した。

試験項目：

母体；一般状態及び生死を毎日観察し，摂餌量は毎日測定した。体重は人工授精日，妊娠6，12，18，21及び27日目に測定した。

妊娠28日目に帝王切開し，黄体数，着床数，生存児数及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別，体重及び外形異常について観察した。

各同腹仔の胎児について内臓異常の有無を検査し，次に骨格標本作製して骨格異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試 験 結 果

:

親動物の検査において、2 mg/kg投与群の生存胎児数がやや低下した。また、すべての検体投与群で吸収胚数が対照群より高い値を示したが、用量相関性は認められなかった。

胎児の検査において、すべての検体投与群の胎児体重が対照群に比較して低値を示した。

胎児奇形の型および頻度には対照群と投与群の間に毒性学的に有意な差は認められなかった。

以上の結果より、トリシクラゾールを妊娠ウサギに投与した場合の母体における無毒性量は50 mg/kg/日以上と考えられる。また、最高投与量の50 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を示さないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(13) 変異原性

①細菌を用いた復帰変異試験

(資料No.17)

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (5株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (1株) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 S-9 Mix の存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるためにジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。

試験結果：次頁に示した。

検体は代謝活性化を含め最高濃度である5000 μ g /プレートにおいても対照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, β -Propiolactone, 9-aminoacridine, 2-nitrofluorene では対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また、2-aminoanthraceneは S-9 Mix を加える事により活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。しかし、供試薬物ではいずれの場合においても対照に比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果から、トリシクラゾールは代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

②細菌を用いたDNA修復試験

(資料No.17)

検体の純度：

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、賀田らの rec-assay 法でDNA損傷の誘発性を検定した。検体を溶解させるため、DMSOを用いた。

試験結果：次頁に示した。

検体は組換修復機構保持株 (H-17) にはすべての濃度において全く阻止帯を誘起せず、修復機構欠損株 (M-45) には高濃度で2.5mm以内の弱い阻止帯を示した。

本試験におけるこの程度の差は、DNAに対する損傷誘起性を断定できる程のものではなく、また、代謝活性化を含む復帰変異試験においても陰性であり、本試験条件下における供試薬物の変異原性は陰性であると結論できる。

一方、陽性対照として用いたMitomycinCでは、H-17に比べM-45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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

Rec-Assay 試験成績

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

③チャイニーズハムスター骨髄細胞における生体内姉妹染色分体交換試験

(資料No.29)

検体の純度：

試験動物：近交系のチャイニーズハムスター雌（体重32～40 g）

トリシクラゾール投与群では1群各3匹, 陰性対照群2匹, 陽性対照群1匹

試験方法：

試験結果：次頁に示した。

トリシクラゾール170 mg/kg投与群では細胞毒性が認められたが、すべての投与群においてSCEの頻度は陰性対照と同等であった。

一方、陽性対照のシクロホスファミド投与群ではSCE頻度が有意に高い値を示した。

以上の結果から、トリシクラゾールはチャイニーズハムスター骨髄細胞の生体内姉妹染色分体交換試験で陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

④チャイニーズハムスター肺線維芽細胞における *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.41)

検体の純度：

方 法：チャイニーズハムスターの継代培養した肺線維芽細胞を用いた。検体をジメチルスルホキシドに溶解した。

各濃度で200個の分裂中期像を観察した。

染色体の異常を染色分体型ギャップ(染色体型ギャップを含む)、染色分体型切断、染色体型切断、染色分体型交換、染色体型交換(二動原体、環状染色体等)、その他(断片化等)に分類し計測した。さらに、数的異常(倍数性、核内倍化)も観察した。

ギャップを含めた異常を有する細胞の出現頻度が5%未満を陰性、5%以上10%未満を擬陽性、10%以上を陽性とした。

陽性対照として、直接法ではマイトマイシンC(MMC)を、代謝活性化法ではジメチルニトロサミン(DMN)を用いた。

結 果：次ページに示す。

検体は、直接法24時間処理の140、280 μ g/ml及び代謝活性化法の全濃度において染色体異常の増加が認められ、用量相関性を示した。

なお、直接法にくらべ染色体異常は代謝活性化により増強された。

また、陽性対照として用いたMMC及びDMNでは顕著な染色体異常の増加が認められた。

以上の結果から、本剤はチャイニーズハムスターの肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験で陽性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑤マウスにおける小核試験

(資料No.49)

検体の純度：

試験動物：Cr1：ICR(CD-1)系マウス，1群雄雌各5匹，試験開始時8週齢

試験方法：検体を10%アラビアゴム溶液に懸濁して，100，200及び300 mg/kgの投与量で単回強制経口投与した。陽性対照としてシクロホスファミド100 mg/kgを同様に投与した。陰性対照として10%アラビアゴム溶液を用いた。検体の投与量はLD₅₀値の1/2，1/4及び1/8に設定した。投与後24，48及び72時間目に屠殺し，骨髓細胞を大腿骨より採取し，各個体につき作製したスライド標本2枚をライト染色したのち，ライトーギムザ染色を施し，各個体当り多染性赤血球(PCE)及び正染性赤血球(NCE)の合計1000個を計測し，PCE/NCE比を算出した。陰性対照群におけるPCE/NCE比に対する減少をもって骨髓細胞毒性の指標とした。また，各個体につき多染性赤血球を1000個観察し，その中に含まれる小核を有する多染性赤血球(MCPE)数を計測した。

試験結果：試験結果を次頁に示した。

トリシクラゾール投与群ではPCE/NCE比の変化はなく、MCPE出現頻度は陰性対照群との間で有意差はなかった。一方，陽性対照のシクロホスファミド投与群ではMCPE出現頻度が有意に高い値を示した。

以上の結果から，トリシクラゾールはマウス骨髓細胞の小核試験で陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑥マウスにおける小核試験

(資料No.50)

検体の純度：

試験動物：ICR系(Crj:CD-1)マウス，1群雄5匹，試験開始時，7週齢

試験方法：検体を乳鉢で細粉化した後，生理食塩溶液に懸濁し，37.5，75および150 mg/kgの投与量で腹腔内に24時間間隔で2回連続投与した。陽性対照としてマイトマイシンCを2 mg/kgで1回投与とした。陰性対照には生理食塩溶液を10 ml/kgの用量で同様に2回連続投与した。

骨髄は頸椎脱臼により屠殺し，大腿骨より摘出し，骨髄塗抹標本を作成した。標本は各個体より各2枚作りギムザ染色した。各標本より，赤血球1000個を観察し，多染性赤血球の割合を求めた。また，多染性赤血球1000個中における小核を有する比率を求めた。多染性白血球の割合は，全赤血球〔多染性赤血球と正染性赤血球の和〕1000個に占める割合として求めた。

試験結果：本剤のいずれの用量においても，小核を有する多染性赤血球の有意な増加は認められず，用量依存性もみられなかった。陽性対照群では有意な増加が認められた。また，多染性赤血球の全赤血球に対する割合に有意な減少は認められず，骨髄細胞の増殖に対して抑制はみられなかった。陽性対照群でも多染性赤血球の割合に有意な減少はみられなかった。

以上の結果から，本試験条件下における，小核試験では，骨髄細胞に対して増殖抑制を示さず，小核も誘発しないことから陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑦チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO 細胞）を用いた前進突然変異試験

（資料No.68）

検体純度：

試験方法：

試験結果：結果を次頁の表に示した。初期試験では、S-9 の存在下 80 及び 100 μ g/mL で強度の毒性が見られたので、変異頻度を確認するための播種を行わなかった。確認試験では、S-9 非存在下は検体濃度 100、300、500、700 及び 900 μ g/mL で実施した。2 回の試験とも、S-9 の存在下及び非存在下、検体処理した培養液での変異頻度は陰性対照値と有意差がなく、背景値の範囲内であった。

変異頻度の背景値（過去 10 年間）：S-9 非存在下 $2.5 \pm 2.62 \sim 9.6 \pm 4.90$

S-9 存在下 $3.2 \pm 2.74 \sim 9.7 \pm 7.03$

一方、陽性対照では変異頻度が有意な増加を示した。

以上の結果より、検体は S-9 の存在下及び非存在下の本試験条件下で突然変異誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑧哺乳動物培養細胞（L5178Y 細胞）を用いた前進変異性試験

（資料No.69）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑨哺乳動物培養細胞（L5178Y 細胞）を用いた前進変異性試験

（資料No.70）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑩マウスリンパ腫細胞（L5178Y）を用いた変異原性試験

（資料No.71）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑩ラット初代培養肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料No.72)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(14) 生体機能影響

(1) トリシクラゾールの薬理試験—ウサギの全身症状，呼吸，血圧及び心電図に及ぼす影響—

(資料No.32)

検体の純度：

供試動物： 日本白色種ウサギ，体重2.5～3.5kg，1群雄3～5匹

①全身症状に及ぼす影響

試験方法： トリシクラゾールを2%アラビアゴム水溶液に懸濁し，160，320及び640 mg/kgを経口投与した。投与後14日間全身症状を外部より詳細に観察した。観察方法は吐山らの生体機能に及ぼす試験法に従った。

試験結果：

②呼吸，血圧，心電図に及ぼす影響

試験方法： トリシクラゾールを2%アラビアゴム水溶液に懸濁し，ウレタン麻酔したウサギに対し，5，20，80及び320 mg/kg経口投与した。投与後，次の方法で測定した。

呼吸；気管カニューレを着け，サーミスタ型呼吸ピックアップを接続して測定した。

血圧；左股動脈にヘパリン含有生理食塩水をみたしたカニューレを挿入し，高圧トランスジューサーを接続してデジタルメーターで測定した。

心電図；四肢より肢第Ⅱ誘導法により記録した。

心拍数；血圧変化から心拍数を測定した。

試験結果：

以上の結果より，トリシクラゾールはウサギに対し血圧低下の作用があるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(2) トリシクラゾールの薬理作用と治療

(資料No.48)

検体の純度：

①コリンエステラーゼ (ChE) 活性阻害作用

供試材料： アセチルコリンエステラーゼ (AChE) はヒト赤血球由来TypeXIIIを、また、ブチリルコリンエステラーゼ (BuChE) はヒト血漿由来Type V IIを用い、基質としてヨードアセチルチオコリン (ATCh) 及びヨードブチリルチオコリン (BuTCh) を用いた。

方 法： ChEの活性阻害をEllman法で測定した。

結 果： ATChを基質としたAChE活性はトリシクラゾールにより濃度依存的に阻害された。これは拮抗的な阻害でもあって、阻害定数 K_i 値は $1.8 \times 10^{-4} M$ であった。BuChE活性もまた、トリシクラゾールの存在下で濃度依存的に阻害され拮抗的な阻害作用が認められた。トリシクラゾール $5 \times 10^{-4} M$ 存在下で $K_i = 2.0 \times 10^{-4} M$ 、 $2.5 \times 10^{-4} M$ 存在下で $K_i = 3.0 \times 10^{-4} M$ であり、平均 K_i 値は $2.5 \times 10^{-4} M$ であった。文献によるとAChEの阻害剤であるエゼリンの K_i 値は $2.3 \times 10^{-8} M$ であり、トリシクラゾールのAChE阻害作用は極めて弱いと判断される。

②マウスの腸管輸送能に及ぼす影響

供試動物： Jcl: 1CR系マウス雄 (5週齢) 1群2~5匹

方 法： 24時間絶食したマウスに10%アラビアゴム水溶液に懸濁し炭素粉末液0.2 mlを経口投与し、投与30分後にエーテル麻酔下で屠殺、開腹して、小腸を摘出した。小腸全長(幽門部から回盲部まで)と幽門部からの炭素粉末移動距離を測定し、移動率を算出した。トリシクラゾール及び陽性対照薬であるエゼリン(腸管輸送能促進剤)は炭素粉末液投与1時間前に経口あるいは腹腔内投与した。また、硫酸アトロピンあるいはPAM(プラリドキシムヨウ化メチル)はトリシクラゾールあるいはエゼリンを投与する、さらに30分前に腹腔内投与あるいは皮下投与を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果： 対照群の炭素粉末移動距離に対する各試験群の移動距離を指数で示すと次表の通りである。

トリシクラゾール320 mg/kg以上の経口投与あるいは80 mg/kgの腹腔内投与によりマウスの腸管輸送能を抑制した。

トリシクラゾールによる腸管輸送能の抑制はPAM投与により改善されたが、硫酸アトロピン投与では改善されず、かえって抑制を増強した。一方、陽性対照薬、エゼリンはマウスの腸管輸送能を促進し、硫酸アトロピン及びPAMがこれを抑制した。

③ウサギの血圧に及ぼす影響

供試動物： 日本白色種ウサギ雄（体重，約1.5kg）11頭

方 法： 24時間絶食させたウサギを25%ウレタン4 ml/kg腹腔内投与により麻酔し、背位に固定した。ウサギの左総頸動脈にポリエチレン製カニューレを装着して、トランスジューサーに介し、血圧変化を電位的にマルチパーパスポリグラフで記録した。

トリシクラゾールは経口投与あるいは腹腔内に投与した。血圧低下に対する改善薬として硫酸アトロピン，PAM，塩酸フェニレフリン，メチラポン，ノルエピネフリン，アンギオテンシンII及びSKF 525-A（プロアデフェン塩酸塩）を用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

- 結 果： トリシクラゾールの160 mg/kg以上を経口投与あるいは腹腔内投与することによりウサギの血圧は低下した。トリシクラゾールの血圧低下に対して、各種改善薬の効果は次の通りであった。
- a) S K F 525-A, 3~5 mg/kgの静脈内投与により, 低下した血圧は正常レベルに回復した。
 - b) P A M 25 mg/kgの腹腔内投与により, 低下しつつある血圧をさらに低下させることなく, 維持させる傾向を示した。
 - c) 塩酸フェニレフリン25 mg/kg静脈内投与により, 投与数分後に低下した血圧は正常レベルに回復した。塩酸フェニレフリンの最少有効量は約0.2 mg/kg (静脈内投与) と考えられる。
 - d) ノルエピネフリン及びアンギオテンシンⅡの静脈内投与により, 低下した血圧は一過性の上昇を示したが, 速やかにもとの値に低下した。
 - e) メチラポン及び硫酸アトロピンの投与はトリシクラゾールによる血圧低下を改善しなかった。

以上の結果から, トリシクラゾールには弱いC h E阻害作用, 腸管輸送能の抑制作用及び血圧低下作用があり, 腸管輸送能の抑制作用には改善薬としてP A Mが有効であり, また, 血圧低下作用に対しては塩酸フェニレフリンが有効であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(3) トリシクラゾールの一般薬理試験

(資料No.53)

検体の純度：

① 中枢神経系に対する作用

i) マウスの一般症状

供試動物：slc：ICR系雄マウス，体重 24.1～29.1 g，1群9または12匹。

方 法：検体を 0.5%CMC水溶液に懸濁し，15，50，150 および500 mg/kgの用量で経口投与して一般状態をIrwinの多次元観察法に準じた方法で経時的に観察した。

結 果：15 mg/kg では影響はみられなかったが，50mg/kg 以上では有意な体温下降，150 mg/kg以上では，認知力・反応性・身づくろいの低下などの抑制反応がみられた。500 mg/kgでは，認知力の低下，散瞳，攣縮，体温上昇，流涎などがみられた。

ii) 運動協調性に及ぼす影響

供試動物：slc：ICR系雄マウス，体重 21.2～26.9 g，1群6または11匹。

方 法：検体を 0.5%CMC水溶液に懸濁し，50，150 および500 mg/kgの用量で，また陽性対照物質のジアゼパム10 mg/kgを経口投与し，ロータロッド回転棒上に乗せ，その後経時的に1分以内に落下する動物数を観察した。

結 果：150 mg/kgで落下例の有意な増加をみた。

iii) マウスにおける睡眠延長作用

供試動物：slc：ICR系雄マウス，体重 25.0～29.5 g，1群8～12匹。

方 法：検体を 0.5%CMC水溶液に懸濁し，15，50および150 mg/kgの用量で，また陽性対照物質のクロルプロマジン10 mg/kgを経口投与し，その30分後にペントバルビタール50 mg/kgを腹腔内投与して正向反射の消失から回復までの時間を睡眠時間として測定した。

結 果：50および150 mg/kg投与群では対照群と比べそれぞれ1.5および2.5 倍に睡眠時間が延長した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

② 自律神経系に対する作用

i) 摘出回腸に及ぼす影響

供試動物：Hartley系モルモット，体重 520～578 g，4匹。

方 法：モルモットの回腸を摘出し， O_2 95% + CO_2 5%の混合ガスを通気した $32 \pm 1^\circ C$ のTyrode液を充たしたマグヌス槽内に懸垂した。検体はtween 80で乳化し， 10^{-6} ， 10^{-5} ， 10^{-4} および $10^{-3} g/ml$ の濃度で処置し，5分間観察した。その後添加したアセチルコリンおよびヒスタミンによって惹起された回腸の収縮に対する影響も併せて観察した。

結 果：検体の 1×10^{-4} ならびに $1 \times 10^{-3} g/ml$ の濃度では，アセチルコリンにより惹起された収縮反応に対し，検体 $10^{-4} g/ml$ では亢進する傾向が， $10^{-3} g/ml$ では抑制がみられた。ヒスタミンにより惹起された収縮反応に対して，検体 $10^{-4} g/ml$ では有意に抑制し， $10^{-3} g/ml$ では収縮反応は消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

③骨格筋に対する作用

i) 坐骨神経-腓腹筋標本に及ぼす影響

供試動物：slc：Wister/ST 系雄ラット，体重 228～286 g，1群5または7匹。

方 法：ウレタン麻酔後，左側坐骨神経-腓腹筋標本を作製し，0.5% CMC 添加生理食塩液で懸濁した検体150 mg/kgを腹腔内投与し，坐骨神経末梢への電気刺激により誘発される攣縮を記録した。なお，陽性対照にはd-ツボクラリンを100 mg/kg静脈内投与した。

結 果：検体投与直後より腓腹筋の収縮は増大し，15分後には対照群と比べ有意差がみられて，30分後も持続したが，60分後には回復する傾向がみられ，120分以降は対照群と差はみられなかった。なお，検体投与群では，5匹中1匹が88分後に死亡した。

④血液に対する作用

i) 血液凝固能に及ぼす影響

供試動物：slc：Wister/ST 系雌ラット，体重 130～157 g，1群6～9匹。

方 法：検体を0.5% CMC水溶液で懸濁し，50，150及び500 mg/kgの用量で経口投与し，30分後に採血してクエン酸ナトリウム添加後血漿を得，プロトロンビン時間及び活性部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結 果：検体による影響はなかった。

ii) コリンエステラーゼ (ChE) 活性に及ぼす影響

供試動物：slc：Wister/ST 系雌ラット，体重 130～157 g，1群6～9匹。

方 法：検体を0.5% CMC水溶液で懸濁し，50，150 および500 mg/kgの用量で経口投与し，30分後に採血してヘパリン添加後血漿を得，血中ChE活性をアセチルチオコリンを基質とするDTNB法で測定した。陽性対照にはフィゾスチグミン 10 mg/kgを経口投与した。

結 果： 検体による影響はなかった。

以上のように，トリシクラゾール原体で血液凝固能および血中のコリンエステラーゼ活性への影響はみられなかったが，中枢神経系への抑制作用によると思われる体温下降等の症状，回転棒からの落下ならびにペントバルビタール睡眠の増強等が認められた。また，致死量では毒性症状によると思われる体温上昇，散瞳，攣縮，流涎，握力の低下ならびに体緊張等の症状がみられ，これらに起因した回転棒からの落下も認められた。摘出回腸ではコリン作動性様の直接作用とともにアセチルコリンおよびヒスタミンによる摘出回腸の収縮に対する反応の抑制がみられ，骨格筋に対してはニコチン様作用によると思われる腓腹筋の収縮の増大が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(15) 解毒及び治療

①トリシクラゾールのコリンエステラーゼ阻害作用ならびに解毒試験

(資料No.54)

検体の純度：

①コリンエステラーゼ (ChE) 活性阻害試験

供試動物：slc：ICR系雄マウス，体重 21.8～28.6 g，1群24～26匹。

方 法：マウスを3群に分け，0.5% CMC (溶媒対照)，0.5% CMCに懸濁した検体 600 mg/kg (予備試験で求めたLD₅₀概算値) およびフィゾスチグミン (陽性対照) 1 mg/kgを各々1回経口投与した。投与後15，30，60分に各群7～10匹からヘパリン処理注射筒を用いて採血し，血中ChE活性についてアセチルチオコリンを基質とするDTNB法で測定した。

結 果：検体投与マウスの赤血球および血漿ChE活性は，溶媒対照群と比較していずれも差は認められなかった。一方，陽性対照群では溶媒対照群と比較して赤血球，血漿ChE活性は各々43～50%および23～46%有意に抑制された。

②解毒試験

供試動物：slc：ICR系雄マウス，体重 22.6～28.6 g，1群6または12匹。

方 法：解毒薬としてatropine (i. v.)，PAM (i. p.) および筋弛緩剤であるdantrolene (i. p.)を用いた。動物をI～VII群に分け，次のように処理し，死亡状況および一般状態の観察を7日間実施した。

結 果：死亡状況，各群の死亡動物数／処置動物数は次の通り

I	II	III	IV	V	VI	VII
12/12		10/12	9/12	12/12	4/6	4/6 0/12

V, VI群は, I群に比べ有意 (カイ 2 乗検定, $p < 0.05$) に低い死亡率を示した。

一般状態として, I群では投与10分後より筋硬直、流涎、流涙および攣縮が認められ、20分後から呼吸困難もみられた。一般状態の改善がみられたのはII、IV～VI群で、IIおよびIV群では一時的な流涎、流涙の消失が認められた。また、V群では筋硬直の消失、VI群ではそれに加え流涎、流涙の消失が認められた。

以上のように、トリシクラゾールは血液中のコリンエステラーゼ活性に影響を与えなかった。

また、一般的なコリンエステラーゼ阻害薬の解毒剤であるatropineおよびPAM 処置のうち、atropineにのみ軽度の症状改善がみられたが、明らかな解毒効果は認められなかった。

しかし、悪性高熱症の治療薬あるいは筋弛緩剤として知られるdantroleneにより毒性の軽減がみられたことから、dantroleneはトリシクラゾール中毒に対する解毒剤の1つとなりうる可能性が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2. 代謝物・不純物

(1) 急性毒性

① のマウスにおける急性経口及び腹腔内毒性試験

(資料No.19)

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス（4～5週齢）1群雄雌各10匹

試験期間：14日間観察

試験方法：経口投与では3%の検体と10%のアラビアゴムを水に懸濁させ、また、腹腔内投与では2%の検体と10%のアラビアゴムを水に懸濁させて各々投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。

試験結果：

投与方法	経口	腹腔内
投与量 (mg/kg)	♂♀共に 365, 500, 700, 1000	♂ : 200, 275, 365, 500 ♀ : 140, 225, 330, 500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 655 ♀ 730	♂ 275 ♀ 379
死亡開始時間 及び終了時間	1日～14日	1日～14日
症状発現及び 消失時期	1時間～14日	1時間～14日
死亡例の認められ なかった最高投与 量 (mg/kg)	♂♀-	♂♀-

中毒症状としては、活動低下、眼瞼下垂、脚の衰弱、音に対する過敏反応、呼吸困難、正向反射の消失、被毛状態不良、削瘦が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

② のマウスにおける急性経口及び腹腔内毒性試験

(資料No.20)

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス（3～4週令）1群雌5匹

試験期間：7日間観察

試験方法：経口及び腹腔内投与とも検体を5%のアラビアゴム水溶液に懸濁し投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を7日間観察した。この間増体重を記録した。

試験結果：

供試検体		
投与方法	経口	腹腔内
投与量 (mg/kg)	♀：100, 200, 400	♀：2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>400	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	異常なし	異常なし
死亡例の認められ なかった最高投与 量 (mg/kg)	400	2000
供試検体		
投与方法	経口	腹腔内
投与量 (mg/kg)	♀：100, 200, 400	♀：250, 500, 1000, 2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>400	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	〔7日目で250mg/kg群の 1例のみ死亡〕
症状発現及び 消失時期	異常なし	異常なし
死亡例の認められ なかった最高投与 量 (mg/kg)	400	2000

以下の通り、
さなかった。

本試験条件下では特記すべき異常な症状は呈

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(2) 変異原性

① の細菌を用いた復帰変異試験

(資料No.18)

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (5株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (1株) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 S-9 Mixの存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるためにジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。

試験結果：次頁に示した。

検体は代謝活性化を含め最高濃度である5000 μ g/プレートにおいても対照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, ENNG, 9-AA, 2-NFではS-9 Mixの添加なしで、2-AAではS-9 Mixの添加により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、 は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

② のチャイニーズハムスター骨髄細胞における生体内姉妹染色分体交換試験

(資料No.30)

以上の結果から、
はチャイニーズハムスター骨髄細胞の生体内姉妹染色分体
交換試験で陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。