

## 8. 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

### (1) バリダマイシン原体のラットを用いた繁殖毒性/催奇形性併合試験

(資料 8-1)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

報告書作成年：1977年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

供試動物：Wistar系ラット、投与開始時5週齢、体重；雄 95~120 g、雌 95~118 g

PおよびF<sub>1</sub>世代；1群雄30匹、雌60匹、F<sub>2</sub>世代；1群雄15匹、雌30匹

投与期間：

P世代雄；F<sub>1b</sub>交配前までの17週間およびF<sub>1b</sub>交配からF<sub>1b</sub>児離乳時までの7週間

P世代雌；F<sub>1b</sub>交配前までの16週間およびF<sub>1b</sub>交配からF<sub>1b</sub>児離乳時までの7週間

F<sub>1</sub>世代雄；F<sub>2b</sub>交配前までの18週間およびF<sub>2b</sub>交配からF<sub>2b</sub>児離乳時までの8週間

F<sub>1</sub>世代雌；F<sub>2b</sub>交配前までの18週間およびF<sub>2b</sub>交配からF<sub>2b</sub>児離乳時までの7週間

F<sub>2</sub>世代；離乳時から13週間

投与方法：検体を0、500および10000 ppm含有した基礎飼料を自由に摂取させた。

投与量設定根拠；

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を次表にまとめた。

一般状態および死亡率；試験期間中、全動物の一般状態および生死を毎日観察した。

体重；各世代の親動物については週1回測定した。

また、児動物については生後0、3、7、14および21日齢には同腹児体重の合計値を、生後21日には個別体重を記録した。

摂餌量；交配時を除く各世代の投与開始から終了時まで週1回測定し、1日あたりの摂取量(g/匹/日)を求め、検体摂取量(mg/kg/日)および飼料効率(%)を算出した。

摂水量；交配時を除く各世代の投与開始から終了時まで週1回測定し、1日あたりの摂取量(mL/匹/日)を求めた。

交配および妊娠の確認；同群内の雄と雌を1対1で同居させ、膣栓および膣垢中の精子の存在により交尾を確認し、交尾確認日を妊娠0日とした。

妊娠の確認は出産をもって行った。

試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成期間 (雄:8週、雌:7週)		一般状態および死亡を毎日観察 体重、摂餌および摂水量測定を週1回
	1回目交配	雌1対雄1で同居開始。交配は膣栓 及び膣垢中の精子で確認(交尾確 認日を妊娠0日)	
	妊娠(3週)		体重を妊娠0、7、14および20日に測定 摂餌量を週1回測定
	分娩	----- 【F <sub>1a</sub> 】	分娩状況観察、妊娠期間、生産児数および 死産児数、交尾率、受胎率、分娩率、児 動物体重測定
	哺育(3週)	F <sub>1a</sub> 離乳児を3日齢に各同腹児を8匹 (可能な限り雌雄各4匹)に調整、 その他は屠殺・廃棄	一般状態、生死を毎日観察 体重を0、3、7、14および21日齢に測定 哺育児死亡率
	離乳	F <sub>1a</sub> 児を21日齢時に離乳、屠殺	離乳児数、哺育率、離乳率
	育成期間(2週)		
	2回目交配	(1回目交配に準ずる)	
	妊娠(3週)		一部の母動物について妊娠20日に屠殺 し、催奇形性試験を実施
	分娩	----- 【F <sub>1b</sub> 】	(1回目交配に準ずる)
F <sub>1</sub>	哺育(3週)	(1回目交配に準ずる)	(1回目交配に準ずる)
	離乳	F <sub>1b</sub> 児を21日齢時に離乳、出生日が近 く体重がほぼ群平均値の健康な 個体をF <sub>1</sub> 親動物として1群雄30 匹、雌60匹を選抜	親動物を剖検し、臓器重量測定、肉眼的お よび病理組織学検査、尿検査、血液学的 検査、血液生化学検査
	育成期間 (雄:9週、雌:9週)	離乳時より投与開始	(P世代に準ずる)
	1回目交配(2週)	(P世代に準ずる)	
	妊娠(3週)		(P世代に準ずる)
	分娩	----- 【F <sub>2a</sub> 】	(P世代に準ずる)
	哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳	(P世代に準ずる)	
	育成期間(2週)		
	2回目交配(2週)	(P世代に準ずる)	
F <sub>2</sub>	妊娠(3週)		(P世代に準ずる)
	分娩	----- 【F <sub>2b</sub> 】	(P世代に準ずる)
	哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳	生後21日に離乳 1群雄15匹、雌30匹を選抜	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
	育成期間(13週)	離乳後13週間投与後屠殺	体重および摂餌量を週1回測定。16週齢 で剖検し、臓器重量測定、肉眼的および 病理組織学検査、尿検査、血液学的検査、 血液生化学検査を実施

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

$$\text{交尾率 (\%)} = (\text{のべ交尾雄数} / \text{のべ同居雄数}) \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = (\text{妊娠雌数} / \text{交尾雌数}) \times 100$$

$$\text{分娩率 (\%)} = (\text{分娩雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$$

平均妊娠期間

平均生産児数

$$\text{哺育率 (\%)} = (\text{離乳母動物数} / \text{哺育3日母動物数}) \times 100$$

$$\text{哺育児死亡率 (\%)} = (\text{哺育0~3日死亡数} / \text{総生産児数}) \times 100$$

$$\text{離乳率 (\%)} = (\text{離乳児数} / \text{3日齢哺育児数}) \times 100$$

$$\text{平均離乳児数} = \text{離乳児数} / \text{出産母数}$$

血液学的検査；PおよびF<sub>1</sub>世代の親動物は繁殖終了後、F<sub>2</sub>世代動物は16週齢で屠殺後剖検時に採血し、全生存例について赤血球数（RBC）、白血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球百分率（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球）を検査した。

血液生化学的検査；血液学検査において採取した血液を対象に、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリホスファターゼ、尿素窒素、グルコース、総蛋白質を検査した。

尿検査；屠殺時に採取した尿について、pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血を定性的に検査した。

病理組織学的検査；各世代動物を屠殺後以下の組織を採取し、肉眼的病理検査を行い、臓器重量の測定および病理組織標本作製し、検鏡した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、膵臓、脳、下垂体、胸腺、副腎、甲状腺、卵巣、精巣、子宮、精嚢、前立腺腹葉、腓腹筋（左側）

催奇形性に関する観察・検査項目；

母動物；PおよびF<sub>1</sub>世代の2回目妊娠親動物の各世代5~7匹の妊娠0、7、14および20日に体重を測定し、妊娠20日に帝王切開して黄体数、着床数、生存胎児数、胎児死亡吸収率を検査した。

生存胎児；生存胎児について体重測定および外表異常の観察を行い、内臓異常（固定法不明）を検査した後、アリザリンレッドS染色による透明骨格標本作製して、骨格異常の有無、化骨の進行状態を検査した。

## 結 果：

親動物；結果を表 1 に示した。

P および  $F_1$  世代で高い死亡率であったが、検体投与による影響と思われる死亡例はなく、いずれも上部気道疾患によるものであった<sup>申請者注 1</sup>。また、一般症状においても検体投与によると思われる中毒症状は認められなかった。

体重、血液学的検査、血液生化学的検査および臓器重量では、いくつかの項目で対照群と投与群間に有意差が認められたが、これらの差はいずれも世代間および投与群間における関連性はなく、上部気道疾患の影響あるいは出産日の相違に基づくものと考えられた<sup>申請者注 2</sup>。

## 申請者注 1：死亡原因について

P および  $F_1$  世代で認められた死亡および切迫殺の発現例数に用量相関性はなく、対照群でも投与群と同程度の発現頻度で散見されていた。また、病理組織学的検査においては全観察例に慢性気管支肺炎が認められていることから、死亡原因は報告書の記載通り上部気道疾患によるものであり、検体投与の影響ではないと考えた。報告書中に記載はなかったが、 $F_2$  世代においても死亡あるいは切迫殺が対照群を含む全投与群に認められていた。これも P および  $F_1$  世代と同様の理由により、検体投与の影響とは考えなかった。

## 申請者注 2：親動物における体重、血液学的検査、血液生化学的検査および臓器重量で認められた変化について

報告書中では上部気道疾患の影響あるいは出産日の相違に基づくものと判断されていたが、各項目について検体投与との関連性を詳細に記した。

## ①体重について：

雄の  $F_1$  および  $F_2$  世代、ならびに雌の全世代で対照群との間に統計学的な差が散発的に認められたが、報告書の記述にあるように世代間および投与群間における関連性の欠如に加え、片性のみの変化であるか変動に一貫性がなかったことから、検体投与とは関連しない変化と判断した。

## ②血液学的検査について：

血液学的検査では 10000 ppm 群の雌雄で RBC の変動が認められたが、報告書の記述にあるように世代間における関連性の欠如に加え、変動の一貫性もなかったことから検体投与とは関連しない変化と判断した。

## ③血液生化学的検査について：

500 ppm 群の雌でのみ ALT の低値が認められたが、報告書の記述にあるように世代間および投与群間における関連性の欠如に加え、片性のみの変化であることから検体投与とは関連しない変化と判断した。

## ④臓器重量について：

雄においては P および  $F_1$  世代の脳および副腎、 $F_1$  世代の心臓、腎臓、精囊、下垂体、胸腺および腓腹筋、 $F_2$  世代の肝臓、腎臓、甲状腺および脾臓に、雌においては P、 $F_1$  および  $F_2$  世代の肝臓、脾臓および脳、 $F_2$  世代の腎臓、子宮および甲状腺に対照群との間に統計学的な差が認められた。これらの変化は、報告書の記述にあるように世代間および投与群間における関連性の欠如に加え、軽度あるいは片性のみの変化もしくは変動に一貫性がなかった。また、本試験より高用量にて実施したラット 3 ヶ月亜急性毒性試験（投与量：0、0.1、1 および 10%）（資料 5-1、5-2）においてもこれらの臓器重量に影響はみられないことから、検体投与とは関連しない変化と判断した。

摂餌量においては、P世代の10000 ppm群の雄で減少傾向が認められた<sup>申請者注1,2</sup>。尿検査、肉眼的病理検査および病理組織学的検査では、全世代において検体投与に起因した変化は認められなかった。

繁殖成績に関しては、500 ppm群のF<sub>1a</sub>および10000 ppm群のF<sub>2b</sub>で交尾率の高値が認められた<sup>申請者注3</sup>。受胎率、分娩率、妊娠期間および哺育率においては、対照群との間に差は認められなかった。

児動物；結果を表1に示した。

一般状態、平均生産児数、哺育児死亡率および離乳率に検体投与の影響は認められなかった。10000 ppm群のF<sub>1a</sub>および500 ppm群のF<sub>2a</sub>で平均離乳児数の低値が認められたが、投与量との間に一定の関連性は認められなかった<sup>申請者注4</sup>。哺育児体重が10000 ppm群のF<sub>1a</sub>で哺育期間を通して低値を示した<sup>申請者注5</sup>。

---

申請者注1：親動物における摂餌量の減少傾向について

摂餌量減少は軽度かつ片性のみの変動であり、世代間における関連性がなかったことから、検体投与とは関連しない変化と判断した。食餌効率については報告書に明記されていないが、対照群との間に統計学的な差はなく、検体投与の影響は認められなかった。

申請者注2：親動物における飲水量について

飲水量についての記載は報告書にないが、対照群との間に統計学的な差はなく、検体投与の影響は認められなかった。

申請者注3：親動物における交尾率の高値について

投与群間および2回の繁殖間(a, b)における関連性はなく、いずれも上昇性の変化であることから、検体投与に関連しない偶発的変化と考えられた。

申請者注4：児動物における平均離乳児数の低値について

投与量との間に一定の関連性がないことに加え、2回の繁殖間(a, b)および世代間に関連性が認められなかったことから検体投与の影響ではないと判断した。

申請者注5：児体重の低値について

報告書に明記されていないが、2回の繁殖間(a, b)および世代間に関連性が認められなかったことから検体投与の影響とは考えられなかった。10000 ppm群のF<sub>1b</sub>においても有意な低値が認められたが、哺育3日のみの変化であり、世代間にも関連性がみられないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

催奇形性への影響；結果を表2に示した。

母動物；いずれの世代にも、着床数および生存胎児数に群間差は認められなかった<sup>申請者注1</sup>。

児動物；胎児体重に検体投与の影響は認められなかった。F<sub>1b</sub>の500 ppm群で頸椎椎弓の分離、10000 ppm群で頸椎椎弓の分離および癒合、ならびに腰椎椎弓先端部の欠損がそれぞれ1例ずつに認められたが、発現例数が低頻度であり、F<sub>2b</sub>では認められないことから、偶発的なものと考えられた<sup>申請者注2</sup>。

以上の結果より、ラットの2世代にわたって検体を飼料に混入して投与した場合、最高用量の10000 ppmでも繁殖能力に対して何ら影響がみられなかった。また、催奇形作用もみられなかった。

従って、バリダマイシン原体の無毒性量は、親および児動物の一般毒性、繁殖能および催奇形について10000 ppm

と判断された

---

申請者注1：母動物に対する影響について

報告書に記載されていないが、いずれの群においても死亡は認められず、体重への影響も認められなかった。帝王切開時検査では、F<sub>2b</sub>の10000 ppm群で吸収胚数の高値に伴う胎児生存率の低値が認められたが、吸収胚は一部の腹に偏ったものであり、世代間にも関連性は認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。その他、黄体数および性比に検体投与の影響は認められなかった。

申請者注2：児動物の観察について

内臓観察および化骨進行度について報告書に記載されていないが、対照群との間に統計学的な差はなく、検体投与の影響は認められなかった。

表1 繁殖性試験結果の概要

世代		親:P	児:F <sub>1a</sub> , F <sub>1b</sub>	親:F <sub>1</sub>	児:F <sub>2a</sub> , F <sub>2b</sub>			
投与群 (ppm)		0	500	10000	0	500	10000	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	
	雌	60	60	60	60	60	60	
一般状態		検体投与に起因する異常は認められなかった						
死亡数	雄	上部気道疾患	1	1	0	2	0	2
	雌	上部気道疾患	3	0	3	2	2	2
		難産	0	3	1	0	0	1
		合計	3	3	4	2	2	3
切迫殺数 (上部気道疾患による)		雄	6	5	3	6	9	3
		雌	20	9	14	15	12	18
体重	雄		有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	↓: 0、3、6、13、14週 ↓: 2、7~9週 ↓↓: 1週	
	雌	—	有意差なし	↓: F <sub>1a</sub> 妊娠 20日 ↓: F <sub>1a</sub> 哺育 0日 ↑: F <sub>1a</sub> 哺育 21日、 F <sub>1b</sub> 哺育 14、21日	—	有意差なし	↑: F <sub>2b</sub> 哺育 0日	
摂餌量	雄	—	有意差なし	↓: 1~24週の 平均値	—	有意差なし	有意差なし	
	雌	—	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	—	34.6	656.8	—	33.8	697.9	
	雌	—	47.3	970.5	—	47.6	911.7	
食餌効率 (%)	雄	—	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
	雌	—	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
摂水量	雄	—	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
	雌	—	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
血液学的検査	雄	—	有意差なし	↓: RBC	—	有意差なし	有意差なし	
	雌	—	有意差なし	↑: RBC	—	有意差なし	有意差なし	
血液生化学的検査	雄	—	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	
	雌	—	有意差なし	有意差なし	—	↓: ALT	有意差なし	
臓器重量	絶対	雄	—	有意差なし	↓: 脳、副腎	—	↑: 腎臓 ↑: 精囊 ↑: 下垂体 ↓: 胸腺	↑: 心臓 ↑: 脳、副腎
		雌	—	有意差なし	有意差なし	—	↑: 脳 ↓: 脾臓	↓: 肝臓 ↓↓: 脾臓
	相対	雄	—	有意差なし	↓: 副腎	—	↑: 下垂体、 精囊 ↓: 胸腺	↑: 心臓 ↑: 脳、下垂体、 腓腹筋 ↑: 副腎
		雌	—	↑: 肝臓、 脾臓、脳	有意差なし	—	↓: 脾臓	↓: 肝臓 ↓↓: 脾臓

—: 対照群

対照群との有意差の検定 (↑ ↓: p < 0.05, ↑ ↓: p < 0.01, ↑ ↓ ↓: p < 0.001)

t 検定: 体重、摂餌量、食餌効率、摂水量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量

申請者注: 臓器重量 (相対) については、申請者が t 検定を実施した。

(つづく)

表1 繁殖性試験結果の概要 (つづき)

世代		親 : P 児 : F <sub>1a</sub> , F <sub>1b</sub>			親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2a</sub> , F <sub>2b</sub>				
投与群 (ppm)		0	500	10000	0	500	10000		
親動物	肉眼的病理検査	検体投与に起因する異常は認められなかった							
	病理組織学的検査	検体投与に起因する異常は認められなかった							
	交配数	a	50	58	58	48	50	49	
		b	36	44	44	42	48	42	
	交尾率 (%)	a	72.5	↑92.1	80.6	90.6	92.6	79.0	
		b	87.8	86.3	88.0	80.8	85.7	↑97.7	
	受胎数 (%)	a	96.0	94.8	98.3	100	100	100	
		b	91.7	90.9	88.6	95.2	81.3	83.3	
	出産率 (%)	a	100	96.4	98.2	100	100	100	
		b	100	96.8	100	100	100	96.6	
妊娠期間 (日)	a	21.5	21.5	21.5	21.7	21.7	21.7		
	b	21.7	21.6	21.6	21.7	21.7	21.4		
哺育率 (%)	a	89.1	95.6	97.5	100	97.8	100		
	b	100	100	100	93.5	94.1	100		
兒動物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった							
	平均生産児数	a	11.9	11.1	10.7	12.6	12.6	13.2	
		b	12.1	11.7	11.8	13.3	12.7	12.8	
	哺育児死亡率 (%)	a	14.4	23.9	22.8	4.6	4.4	10.3	
		b	6.1	1.4	9.3	8.5	2.6	2.4	
	離乳率 (%)	a	86.5	90.8	84.7	97.4	92.0	95.1	
		b	99.5	98.7	100	89.5	84.8	97.5	
	平均離乳児数	a	6.3	5.7	↓4.8	7.7	↓6.9	7.1	
		b	7.2	7.5	7.0	6.9	6.4	7.5	
	兒動物体重 (g)	哺育 0日	a	5.33	5.23	↓5.07	5.59	5.55	5.62
			b	5.70	5.77	5.70	5.75	5.79	5.64
		哺育 3日	a	7.75	7.66	7.26	8.25	8.16	8.45
			b	9.08	8.69	↓7.62	8.20	8.35	8.33
		哺育 7日	a	14.41	13.84	↓13.10	14.71	13.95	14.99
			b	16.40	16.06	15.53	14.09	13.98	15.38
哺育 14日		a	27.91	26.74	↓25.18	28.18	26.37	28.20	
		b	28.67	29.29	28.10	26.83	24.63	28.22	
哺育 21日		a	45.08	43.35	↓↓39.67	42.78	40.51	41.92	
		b	42.77	43.99	42.80	37.90	35.34	37.60	

— : 対照群

対照群との有意差の検定 (↑ ↓ : p < 0.05, ↑ ↓ : p < 0.01, ↑ ↑ ↓ ↓ : p < 0.001)

カイ二乗検定または順位和検定 : 交尾率、受胎率、妊娠期間、哺育率、哺育児死亡率

t 検定 : 兒動物体重

(つづく)



表1 繁殖性試験結果の概要 (つづき)

世代		F <sub>2</sub>			
投与群 (ppm)		0	500	10000	
親動物	動物数	雄	15	15	15
		雌	30	30	30
	死亡児数 (上部気道疾患による)	雄	0	0	0
		雌	2	0	0
	切迫殺数 (上部気道疾患による)	雄	0	0	0
		雌	0	1	2
	体重	雄	—	有意差なし	↑: 2、3週 ↑↑: 0、1週
		雌	—	↑: 12週 ↓: 1週	↑: 1、9~13週 ↑↑: 0週
	摂餌量	雄	—	有意差なし	有意差なし
		雌	—	有意差なし	有意差なし
	平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	—	36.6	762.4
		雌	—	39.8	764.2
	飼料効率 (%)	雄	—	有意差なし	有意差なし
		雌	—	有意差なし	有意差なし
	摂水量	雄	—	有意差なし	有意差なし
		雌	—	有意差なし	有意差なし
	血液学的検査	雄	—	有意差なし	有意差なし
		雌	—	有意差なし	有意差なし
	血液生化学的検査	雄	—	有意差なし	↓: 総蛋白質
		雌	—	有意差なし	有意差なし
臓器重量	絶対	雄	—	↑: 甲状腺 ↓: 脾臓	
		雌	—	有意差なし ↑: 脳、子宮	
	相対	雄	—	↓: 腎臓 ↓: 脾臓 ↑: 甲状腺	
		雌	—	↓: 腎臓 ↓: 肝臓、脾臓 ↓: 甲状腺	
肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常は認められなかった			
病理組織学的検査		検体投与に起因する異常は認められなかった			

—: 対照群

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05, ↑↑↓: p<0.01, ↑↑↓↓: p<0.001)

↑ 検定: 体重、摂餌量、飼料効率、摂水量、血液学的検査、血液生化学検査、臓器重量

申請者注: 臓器重量 (相対) については、申請者が↑ 検定を実施した。

表 2 催奇形性試験結果の概要

世代		親 : P 児 : F <sub>1b</sub>			親 : F <sub>1</sub> 児 : F <sub>2b</sub>			
投与群 (ppm)		0	500	10000	0	500	10000	
1群当たりの動物数		6	7	7	6	5	6	
母動物	死亡数	0	0	0	0	0	0	
	体重変化 (g)	妊娠 0-7 日	30	21.1	20.4	25.9	24.8	28.5
		妊娠 7-14 日	29.3	28.6	25.6	30.6	33.6	28.0
		妊娠 14-20 日	61.7	66.7	62.1	64.5	57.0	58.9
		妊娠 1-20 日	121.0	116.4	108.1	121.0	115.4	115.4
	着床所見	検査親動物数	6	7	7	6	5	6
		平均黄体数	16.7	15.1	16.4	14.2	15.0	15.8
		平均着床数	15.0	14.0	15.7	13.7	14.2	14.3
		早期吸収胚率 (%)	6.7	3.1	3.6	3.7	1.4	8.1
		後期吸収胚率 (%)	2.2	2.0	2.7	0	2.8	7.0
		吸収胚合計 (%)	8.9	5.1	6.4	3.7	4.2	↑15.1
		生存胎児数	13.8	13.3	14.7	13.2	13.6	12.2
		胎児生存率 (%)	92.2	94.9	93.6	96.3	95.8	↓84.9
	児動物	平均生存胎児体重 (g)	3.76	3.70	3.55	3.91	3.84	3.71
性比 (雄胎児数/雌胎児数)		0.98	0.86	0.81	1.03	1.27	1.03	
検査胎児数		83	93	103	79	68	73	
外表異常発現数 (%)		腹	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		児	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨格異常発現数 (%)		腹	0 (0)	1 (14.3)	1 (14.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		児	0 (0)	1 (1.1) *	1 (1.0) **	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨格変異発現数 (%)		腹	0 (0)	0 (0)	1 (14.3)	0 (0)	0 (0)	1 (16.7)
		児	0 (0)	0 (0)	1 (1.0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.4)
化骨進行度		後頭鱗 (化骨率 : %)	95.2	95.7	96.1	100	100	100
		尾椎骨数	3.9	4.0	3.9	4.5	4.3	4.1
	第1指骨数 (化骨率 : %)	0.5 (6.2)	0.8 (10.0)	1.1 (12.3)	1.8 (22.9)	0.9 (11.6)	1.1 (14.2)	
	中手骨数 (化骨率 : %)	7.2 (90.1)	7.4 (92.2)	7.1 (87.9)	7.6 (95.6)	7.6 (95.6)	7.5 (94.4)	
	中足骨数 (化骨率 : %)	8.0 (99.9)	7.9 (99.3)	8.0 (100)	8.0 (100)	8.0 (100)	8.0 (100)	
	胸骨数 (化骨率 : %)	6.0 (99.2)	5.9 (99.1)	6.0 (99.2)	6.0 (99.6)	6.0 (100)	6.0 (99.5)	
内臓異常発現数 (率 : %)	腹	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	児	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	

着床率 (%) = (総着床数/総黄体数) × 100

異常発現腹数 (%) = (異常腹数/検査腹数) × 100

異常発現児動物数 (%) = (異常児動物数/検査児動物数) × 100

\* : 頸椎椎弓分離, \*\* : 頸椎椎弓分離、癒合および腰椎椎弓先端部欠損

対照群との有意差の検定 (↑ ↓ : p < 0.05)

カイ二乗検定または順位和検定 : 異常児出現率、化骨率

(2) バリダマイシン原体のラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 8-2)

試験機関：(一財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2019 年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

供試動物：Wistar Hannover (BrlHan:WIST@Jcl [GALAS]) 系ラット、投与開始時 5 週齢、  
体重；雄 154~184 g、雌 120~141 g、P および F<sub>1</sub> 世代；1 群雌雄各 24 匹

投与期間：P 世代；交配の 10 週間前から雄は剖検までの約 18 週間、雌は F<sub>1</sub> 児動物の離乳  
時までの約 18~19 週間、F<sub>1</sub> 世代；離乳時から F<sub>2</sub> 児離乳時までの約 18~19 週間  
(2017 年 9 月 19 日~2018 年 6 月 1 日)

投与方法：検体を 0、2000、6000 および 20000 ppm の濃度で飼料に混入し自由に摂食させ  
た。なお、対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与量設定根拠；

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を次表にまとめた。

一般状態および死亡；全動物について生死および一般状態をケージ外から毎日観察し、  
体重測定時には個別別に詳細な観察を行った。

体重および摂餌量；全親動物の体重は投与初日に測定し、その後、雄は剖検日まで、雌  
は交尾確認までの間、週 1 回の頻度で測定し、剖検日にも測定した。また、交  
尾成立雌については、妊娠 0、7、14 および 20 日ならびに哺育 0、4、7、14 お  
よび 21 日に測定した。摂餌量は雌雄ともに体重測定日に測定した（ただし、哺  
育 4 日を除く）。児動物の体重は、哺育 0、4、7、14 および 21 日に個別別に測  
定して雌雄ごとの平均体重を算出した。

交配および妊娠の確認；発情前期の膣垢を示した雌から同群内の雄と1対1で最長2週間同居させて交配を行った。膣垢像に明確な周期性がみられない雌は投与第10週終了の翌日から同居を開始した。膣垢中に精子が確認されるか、または膣栓が認められた場合を交尾成立と判断し、妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠およ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；投与第7週終了後から3週間、各雌から膣垢を採取して検査し、性周期を調べた。

交尾所要日数；同居開始から交尾成立日（妊娠0日）までの日数

雄の交尾率（%）=（交尾を認めた雄動物数／交配に用いた雄動物数）×100

雌の交尾率（%）=（交尾を認めた雌動物数／交配に用いた雌動物数）×100

受胎率（%）=（妊娠雌動物数／交尾を認めた雌動物数）×100

出産率（%）=（正常出産雌動物数／妊娠雌動物数）×100

妊娠期間；妊娠0日から分娩完了までの日数

着床数；剖検時に子宮内の着床痕の数を計数

産児数；哺育0日の正常に出産した腹毎の生存児数および死亡児数を計数

性比 = 総雄産児数／総産児数

哺育0日生存率（%）=（哺育0日生存児数／産児数）×100

哺育4日生存率（%）=（哺育4日生存児数／哺育0日生存児数）×100

哺育7、14、21日生存率（%）=（哺育7、14、21日の生存児数／哺育4日に選抜した児数）×100

病理学的検査；PおよびF<sub>1</sub>世代の親動物はそれぞれの児動物の離乳後に安楽死させ、肉眼的病理検査を行い、以下の臓器の重量を測定した。

脳、甲状腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、卵巣、子宮（頸部および卵管を含む）、精巣、精巣上体、精囊（凝固腺を含む）、前立腺（腹葉）

対照群と20000 ppm群の全ての親動物の以下の臓器について病理標本作製し、検鏡した。

生殖器官（卵巣、卵管、子宮（子宮角および頸部）、膣、精巣、精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺）、下垂体、副腎

2000および6000 ppm群の雌雄、交配しなかった動物および児を得られなかった動物の生殖器官、下垂体および副腎についても同様に検査を行った。

さらに、対照群および20000 ppm群のPおよびF<sub>1</sub>世代の雄動物の肝臓および全群のPおよびF<sub>1</sub>世代の雄動物の腎臓についても同様に検査を行った。

児数調整時に除外された児動物は哺育4日に、継代用には選抜されなかったF<sub>1</sub>離乳児および全てのF<sub>2</sub>離乳児は生後26日に安楽死させ、肉眼的病理検査を行った。さらに、哺育期間中に死亡した児動物も発見後直ちに肉眼的病理検査を行った。また、F<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>離乳児の各腹雌雄各1匹の以下の臓器の重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺、子宮

精子検査；剖検時に、全雄親動物を対象として、精巣および右精巣上体尾部を採取し、精巣の精子頭部数および精巣上体尾部の精子数を測定した。また、精巣上体尾部から採取した精子については運動性および形態について検査した。精子頭部数および精子数は、総数および組織1gあたりの数として、精子の運動性は精子の総数に対して運動性を示す精子を百分率で示した。精子の形態は、観察した200個あたりの正常形態精子の出現率として示した。

卵胞数；F<sub>1</sub>世代の対照群および20000 ppm群を対象に、原始卵胞の数を計測した。

性成熟；F<sub>1</sub>世代動物を対象として、雌の膈開口および雄の包皮分離が確認された日の日齢および体重を記録した。

試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成期間 (10 週間)		生死および一般状態の観察を毎日 詳細な臨床観察を週 1 回 体重、摂餌量測定を週 1 回 投与第 7 週終了後から 3 週間膈垢検査
	交配 (最長 14 日間)	雌 1 対雄 1 で同居。交尾は膈栓 または膈垢中の精子で確認 (交尾確認日を妊娠 0 日)	膈垢検査、交尾成立までの日数を記録
	妊娠 (約 3 週間)		妊娠 0、7、14、20 日に体重、摂餌量測定
	出産		分娩状況観察、妊娠期間、産児数 (生存児数および死亡児数)、児動物体重、性比、一般状態を記録
	哺育 (21 日間)	生後 4 日に各同腹児数を 8 匹 (可能な場合は雄 4 匹雌 4 匹) に調整	親動物; 哺育 0、4、7、14、21 日に 体重および摂餌量 (哺育 4 日は除く) 測定 児動物; 生後 0、4、7、14、21 日に 体重測定
F <sub>1</sub>	離乳	F <sub>1</sub> 児動物から継代用の各群雌 雄各 24 匹を選抜、その他は 安楽死  P 世代親動物の安楽死	選抜されなかった児動物の肉眼的病理検査、臓器重量測定  親動物の肉眼的病理検査、臓器重量測定、病理組織学的検査 雄親動物の精子検査
	育成期間 (10 週間)		膈開口および包皮分離時の日齢および体重の記録 生死および一般状態の観察を毎日 詳細な臨床観察を週 1 回 体重、摂餌量測定を週 1 回 投与第 7 週終了後から 3 週間膈垢検査
	交配 (最長 14 日間) 妊娠 (約 3 週間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
	哺育 (21 日間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
F <sub>2</sub>	離乳	F <sub>2</sub> 離乳児の安楽死  F <sub>1</sub> 親動物の安楽死	F <sub>2</sub> 児動物の肉眼的病理検査、臓器重量測定 F <sub>1</sub> 親動物の肉眼的病理検査、臓器重量測定、病理組織学的検査、雄親動物の精子検査、雌親動物の卵胞数検査

結 果：概要を表1に示した。

親動物；P および F<sub>1</sub> 世代のいずれの投与群においても雌雄ともに死亡はなく、一般状態に検体投与に起因する異常は認められなかった。P および F<sub>1</sub> 世代の 20000 ppm 群の雄では試験期間を通して、雌では育成期間および妊娠 0 日に体重あるいは体重増加量の低値が認められた。その他、雌では、妊娠および哺育期間の体重増加量が P および F<sub>1</sub> 世代の 20000 ppm 群で変動したが、いずれも体重の回復過程における増加方向への軽微な変化であり、毒性学的意義のない変化と考えられた。摂餌量については、P および F<sub>1</sub> 世代の 20000 ppm 群の雄で低値あるいは高値が、P 世代の 20000 ppm 群の雌で低値がみられたが、いずれも軽微な変化が一過性に生じたのみであり、毒性学的意義のない変化と考えられた。肉眼的病理検査では、盲腸の膨満が P 世代の 20000 ppm 群の雌雄および F<sub>1</sub> 世代の雄で認められ、検体の殺菌作用による変化と考えられた。臓器重量では、肝臓の体重比相対重量の増加が P および F<sub>1</sub> 世代の 2000 ppm 以上の群の雄に認められたが、明確な用量反応性のない軽微な変化であり、20000 ppm 群の病理組織学的検査において関連した変化は認められなかったことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。また、腎臓の体重比相対重量の増加が P および F<sub>1</sub> 世代の 20000 ppm 群の雄に認められ、病理組織学的検査では、腎臓の好塩基性尿細管、尿細管拡張、石灰化および単核細胞浸潤が認められた。さらに、同群の P 世代の雄 1 例に腎臓の結石が認められた。試験施設の背景データにおける当該所見の発現頻度や、上記の如く腎臓の石灰化が同群で発現していることを考慮すると検体投与の影響である可能性も考えられた。腎臓の体重比相対重量の増加は、P 世代の 2000 ppm 群の雄でも認められたが、用量反応性および世代間の共通性がないことに加え、当用量および 6000 ppm 群の腎臓には関連した病理組織学的病変を認めないことから偶発性の変化と考えられた。その他、雌雄のいくつかの臓器重量で統計学的に有意な変化がみられたが、剖検時の体重の低値に起因するものであり、世代間に共通性もないことから毒性学的意義はないと考えられた。F<sub>1</sub> 世代の性成熟では、20000 ppm 群の雄で陰茎包皮分離完了時体重の低値が認められたが、児動物の哺育期間中および離乳後の体重増加抑制に関連する影響であると考えられた。また、雌の膈開口には検体投与の影響は認められなかった。

繁殖性；両世代ともに交尾能、受胎、妊娠、分娩のいずれの項目にも検体投与に関連した変化は認められず、性周期および精子検査の各項目に変化は認められなかった。また、F<sub>1</sub> 世代の雌では、原始卵胞数に検体投与の影響は認められなかった。

児動物；産児数、性比、一般状態、生存率および肉眼的病理検査所見に検体投与に関連した変化は認められなかったが、P および F<sub>1</sub> 世代の 20000 ppm 群の雌雄で哺育期間に体重増加抑制が認められた。臓器重量では、20000 ppm 群の F<sub>1</sub> 世代雌の

子宮絶対重量および F<sub>2</sub> 世代雄の胸腺の絶対重量が低値を、F<sub>1</sub> 世代雌および F<sub>2</sub> 世代雌雄の脳の体重比相対重量が高値を示したが、いずれも児動物体重の低値に起因する二次的な影響と考えられた。その他、2000 ppm 群の F<sub>2</sub> 世代雌の胸腺の体重比相対重量が低値を示したが、用量反応性のない偶発的な変化と考えられた。

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、20000 ppm 群の両世代の雌雄の親動物および児動物に一般毒性影響が認められた。また、繁殖性に対する影響は、20000 ppm 群でも認められなかった。

したがって、本試験条件下での無毒性量 (NOAEL) は、親動物の一般毒性および児動物に対して 6000 ppm、繁殖性については 20000 ppm と考えられた。



表1 結果の概要

世代		親:P 児:F <sub>1</sub>				親:F <sub>1</sub> 児:F <sub>2</sub>				
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
死亡	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	
一般状態		検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし				
体重	雄	-	有意差なし	有意差なし	↓: 5~6、 8~16週 ↓: 17~18週	-	有意差なし	有意差なし	↓: 2~5、 10~12週 ↓: 6~9、 13~18週	
	雌	育成期	-	有意差なし	有意差なし	↓: 8~9週 ↓: 10週	-	有意差なし	有意差なし	↓: 2、4、6、9 ~10週
		妊娠	-	有意差なし	有意差なし	↓: 0日	-	有意差なし	有意差なし	↓: 0日
		哺育	-	有意差なし	有意差なし	↑: 21日	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし
体重増加量	雄	-	有意差なし	有意差なし	↓: 3~4、 6~8、12週 ↓: 5、9~11、 13~18週	-	有意差なし	有意差なし	↓: 2~5、 7~8、 10~14週 ↓: 6、9、 15~18週	
	雌	育成期	-	有意差なし	有意差なし	↓: 8~10週	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし
		妊娠	-	有意差なし	有意差なし	↑: 20日 ↑: 7、14日	-	有意差なし	↑: 20日 ↑: 14日	↑: 7日 ↑: 14日
		哺育	-	有意差なし	有意差なし	↑: 7日 ↑: 14、21日	-	有意差なし	有意差なし	↑: 21日
摂餌量	雄	-	有意差なし	有意差なし	↓: 1週 ↑: 12週	-	有意差なし	有意差なし	↓: 1、6週	
	雌	育成期	-	有意差なし	有意差なし	↓: 2週 ↓: 1週	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし
		妊娠	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし
		哺育	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし

- : 対照群

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: P<0.05, ↑↓: P<0.01)

Dunnnett 検定あるいは Dunnnett-type 検定: 体重、体重増加量、摂餌量

(つづく)

表1 結果の概要 (つづき)

世代		親 : P				親 : F <sub>1</sub>			
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000
育成期検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	—	123	371	1253	—	153	460	1536
	雌	—	156	456	1489	—	175	521	1763
最終体重 (g)		463	452	459	↓432	474	460	465	↓436
脳	重量 (mg)	2017	2013	2008	2018	2040	2039	2038	2046
	体重比	0.438	0.447	0.439	↑0.468	0.432	0.446	0.440	↑0.472
脳下垂体	重量	11.1	10.9	11.1	10.4	10.7	10.7	11.0	10.6
	体重比	0.00240	0.00242	0.00243	0.00240	0.00225	0.00232	0.00238	↑0.00243
肝臓	重量 (mg)	13920	14887	↑15482	14054	14589	15215	15627	14134
	体重比	3.01	↑3.29	↑3.37	↑3.25	3.08	↑3.30	↑3.36	↑3.23
副腎	重量 (mg)	57.3	58.2	58.8	58.0	62.3	61.6	63.2	61.6
	体重比	0.01238	0.01288	0.01285	↑0.01342	0.01319	0.01341	0.01361	0.01412
腎臓	重量 (mg)	2893	2976	2986	2950	2912	2934	2960	2978
	体重比	0.628	↑0.658	0.651	↑0.684	0.615	0.638	0.638	↑0.683
精巣	重量 (mg)	3520	3496	3579	3496	3393	3496	3575	3499
	体重比	0.762	0.776	0.781	↑0.811	0.717	0.764	0.772	↑0.805
精巣上体	重量 (mg)	1200	1215	1229	1194	1156	1174	1191	1178
	体重比	0.260	0.269	0.268	↑0.277	0.245	0.257	0.257	↑0.271
精囊	重量 (mg)	2041	2118	2032	1899	1892	1948	1952	1872
	体重比	0.443	0.469	0.443	0.440	0.400	0.426	0.422	0.430
前立腺	重量 (mg)	467	490	484	442	454	447	444	420
	体重比	0.1020	0.1088	0.1061	0.1028	0.0960	0.0975	0.0955	0.0968
脾臓	重量 (mg)	675	652	671	641	727	687	721	683
	体重比	0.146	0.144	0.146	0.149	0.153	0.149	0.155	0.157
甲状腺	重量 (mg)	21.9	22.3	21.7	22.3	22.9	24.2	23.1	21.8
	体重比	0.00475	0.00494	0.00474	0.00518	0.00485	0.00527	0.00498	0.00501
最終体重 (g)		266	268	264	265	273	271	271	↓260
脳	重量 (mg)	1830	1810	1804	1806	1821	1837	1835	1845
	体重比	0.689	0.676	0.685	0.682	0.671	0.680	0.680	↑0.712
下垂体	重量 (mg)	14.5	14.3	14.2	14.4	13.6	13.3	13.2	13.5
	体重比	0.00546	0.00535	0.00541	0.00544	0.00498	0.00491	0.00490	0.00523
肝臓	重量 (mg)	10642	11124	10945	↑11594	11594	11818	11419	11148
	体重比	4.00	4.14	4.15	↑4.37	4.25	4.35	4.22	4.28
副腎	重量 (mg)	74.8	74.8	76.7	77.7	78.7	80.9	80.4	80.4
	体重比	0.02813	0.02794	0.02915	0.02932	0.02888	0.02991	0.02979	0.03093

— : 対照群

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓ : P&lt;0.05, ↑↓ : P&lt;0.01)

Dunnnett 検定あるいは Dunnnett-type 検定 : 最終体重、臓器重量

(つづく)

表1 結果の概要 (つづき)

世代		親:P				親:F <sub>1</sub>					
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000		
臓器重量	腎臓	重量 (mg)	2150	2170	2144	2167	2172	2208	2198	2121	
		体重比	0.808	0.809	0.813	0.817	0.797	0.816	0.812	0.816	
	卵巣	重量 (mg)	108.8	100.3	111.9	110.7	108.5	107.9	114.7	113.3	
		体重比	0.0410	0.0374	0.0425	0.0419	0.0399	0.0401	0.0424	↑0.0437	
	子宮	重量 (mg)	490	533	492	501	546	533	571	532	
		体重比	0.184	0.199	0.187	0.189	0.200	0.197	0.212	0.205	
	脾臓	重量 (mg)	516	516	510	559	570	542	555	555	
		体重比	0.194	0.192	0.194	↑0.210	0.209	0.200	0.204	0.213	
	甲状腺	重量 (mg)	17.4	17.3	17.1	18.2	18.4	19.5	19.3	18.1	
		体重比	0.00656	0.00646	0.00649	0.00689	0.00674	0.00719	0.00714	0.00699	
	親動物	肉眼的病理検査:雄		(23)	(24)	(24)	(24)	(18)	(20)	(23)	(23)
		皮膚;脱毛		0	1	0	2	0	0	0	1
		盲腸;膨満		0	0	0	↑14	0	0	0	↑6
		肝臓;肝横隔膜面結節		0	0	1	0	0	0	0	0
腎臓;腎盂拡張		4	4	↓0	4	3	1	3	4		
膀胱;赤色尿		1	0	0	0	0	0	0	0		
凝固腺;小型		0	2	1	0	1	0	0	1		
精囊;小型		0	0	0	0	0	1	0	0		
肉眼的病理検査:雌		(22)	(24)	(24)	(24)	(19)	(21)	(23)	(23)		
盲腸;膨満		0	0	0	↑12	0	0	0	0		
腎臓;嚢胞		0	1	0	0	0	0	0	0		
腎盂拡張		1	2	2	2	4	1	1	3		
肥大		0	0	0	0	0	0	1	1		
卵管;嚢胞		0	0	0	0	1	0	0	0		
病理組織学的検査:雄											
腎臓;		(23)	(24)	(24)	(24)	(18)	(20)	(23)	(23)		
好塩基性尿細管											
+		0	0	0	2	0	0	0	0		
++		0	0	0	1	0	0	0	2		
合計		0	0	0	3	0	0	0	2		
平均グレード		0	0	0	0.2	0	0	0	0.2		

病理組織学的検査所見の程度;+:軽度、++:中等度、+++:重篤  
( ):検査数

対照群との有意差の検定 (↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01)

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

Dunnett 検定あるいは Dunnett-type 検定:臓器重量

Fisher 直接確率検定:肉眼的病理検査所見、病理組織学的検査 (合計発現数)

Wilcoxon 順位和検定:病理組織学的検査 (グレードスコア)

(つづく)

表1 結果の概要 (つづき)

世代		親:P		児:F <sub>1</sub>		親:F <sub>1</sub>		児:F <sub>2</sub>	
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000
親動物	病理組織学的検査:雄								
	腎臓;								
	結石								
	+	0	0	0	1	0	0	0	0
	合計	0	0	0	1	0	0	0	0
	平均グレード	0	0	0	0.0	0	0	0	0
	腎盂拡張								
	+	2	3	1	2	3	1	3	2
	++	0	0	0	0	0	0	0	1
	合計	2	3	1	2	3	1	3	3
	平均グレード	0.1	0.1	0.0	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2
	尿管拡張								
	+	0	0	0	1	0	0	0	1
	合計	0	0	0	1	0	0	0	1
平均グレード	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	
単核細胞浸潤									
+	0	0	0	2	0	1	0	0	
合計	0	0	0	2	0	1	0	0	
平均グレード	0	0	0	0.1	0	0.1	0	0	
石灰化									
+	0	0	0	2	0	0	0	1	
++	0	0	0	0	0	0	0	1	
合計	0	0	0	2	0	0	0	2	
平均グレード	0	0	0	0.1	0	0	0	0.1	
尿路上皮過形成									
+	1	0	1	0	0	0	0	0	
合計	1	0	1	0	0	0	0	0	
平均グレード	0.0	0	0.0	0	0	0	0	0	
皮質嚢胞									
+	0	0	0	0	0	0	1	0	
合計	0	0	0	0	0	0	1	0	
平均グレード	0	0	0	0	0	0	0.0	0	

病理組織学的検査所見の程度; +:軽度、++:中等度、+++:重度

( ):検査数

対照群との有意差の検定 (↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01)

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

Fisher 直接確率検定: 病理組織学的検査 (合計発現数)

Wilcoxon 順位和検定: 病理組織学的検査 (グレードスコア)

(つづく)

表1 結果の概要 (つづき)

世代		親:P				親:F <sub>1</sub>			
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000
親動物	病理組織学的検査:雄								
	精巣;	(23)	(0)	(0)	(24)	(18)	(0)	(0)	(23)
	精細管萎縮								
	+	0			1	0			0
	++	0			0	0			1
	合計	0			1	0			1
	平均グレード	0			0.0	0			0.1
	精巣上体;	(23)	(0)	(0)	(24)	(18)	(0)	(0)	(23)
	単核細胞浸潤								
	+	0			0	1			1
	合計	0			0	1			1
	平均グレード	0			0	0.1			0.0
	凝固腺;	(23)	(0)	(0)	(24)	(18)	(0)	(0)	(23)
	分泌物減少								
	+	0			0	1			1
	合計	0			0	1			1
	平均グレード	0			0	0.1			0.0
	前立腺;	(23)	(0)	(0)	(24)	(18)	(0)	(0)	(23)
	単核細胞浸潤								
	+	3			3	2			2
合計	3			3	2			2	
平均グレード	0.1			0.1	0.1			0.1	
下垂体;	(23)	(0)	(0)	(24)	(18)	(0)	(0)	(23)	
前葉嚢胞									
+	1			2	1			1	
合計	1			2	1			1	
平均グレード	0.0			0.1	0.1			0.1	
中葉嚢胞									
+	1			0	1			0	
合計	1			0	1			0	
平均グレード	0.0			0	0.1			0	
副腎;	(23)	(0)	(0)	(24)	(18)	(0)	(0)	(23)	
皮質細胞限局性脂肪変化									
+	0			0	0			1	
合計	0			0	0			1	
平均グレード	0			0	0			0.0	

病理組織学的検査所見の程度; +:軽度、++:中等度、+++:重篤  
( ):検査数

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: P < 0.05, ↑↓: P < 0.01)

Fisher 直接確率検定: 病理組織学的検査所見 (合計発現数)

Wilcoxon 順位和検定: 病理組織学的検査所見 (グレードスコア)

(つづく)

表1 結果の概要 (つづき)

世代		親:P				児:F <sub>1</sub>				
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000	
親動物	病理組織学的検査: 雌									
	卵巣;		(22)	(0)	(0)	(24)	(19)	(0)	(0)	(23)
	セルトリ細胞過形成									
	+		1			0	0			0
	合計		1			0	0			0
	平均グレード		0.0			0	0			0
	卵管;		(22)	(0)	(0)	(24)	(19)	(0)	(0)	(23)
	嚢胞									
	+		0			0	1			0
	合計		0			0	1			0
	平均グレード		0			0	0.1			0
	下垂体;		(22)	(0)	(0)	(24)	(19)	(0)	(0)	(23)
	前葉嚢胞									
	+		0			0	1			1
	合計		0			0	1			1
平均グレード		0			0	0.1			0.0	
卵巣の定量的病理検査		原始卵胞数				204	/		217	
性成熟	包皮分離	日齢	/				41.2	41.1	41.5	41.1
		体重 (g)	/				188	189	188	↓179
	膈開口	日齢	/				29.9	29.8	30.2	30.6
		体重 (g)	/				97	96	96	96
性周期	平均日数 (日)		4.0	4.0	4.0	4.0	4.2	4.1	4.0	4.0
	正常周期率 (%)		95.8	100.0	100.0	100.0	100.0	95.8	95.8	100.0

病理組織学的検査所見の程度; +: 軽度、++: 中等度、+++ : 重篤

( ): 検査数

/: 検査せず

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01)

Fisher 直接確率検定: 病理組織学的検査所見 (合計発現数)

Wilcoxon 順位和検定: 病理組織学的検査所見 (グレードスコア)

Student の t 検定あるいは Aspin-Welch 検定: 原始卵胞数

(つづく)

表1 結果の概要 (つづき)

世代		親:P				親:F <sub>1</sub>				
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000	
親動物	精子検査	精子頭部数								
		(10 <sup>6</sup> /精巢)	234	224	233	229	242	246	244	247
		(10 <sup>6</sup> /g)	143	139	141	141	148	151	147	151
		精子数								
		(10 <sup>6</sup> /精巢上体尾部)	195	194	209	188	158	172	174	174
		(10 <sup>6</sup> /g)	861	859	880	830	770	840	818	809
		運動精子率 (%)	95.1	93.6	94.4	94.0	94.2	92.9	94.8	94.3
		正常形態精子率 (%)	98.1	97.4	98.3	98.1	98.1	98.0	97.8	97.7
	交尾所要日数	1.3	1.1	1.0	1.0	1.8	1.6	1.0	1.0	
	交尾率 (%)	雄	100.0	100.0	100.0	100.0	91.7	95.8	100.0	100.0
		雌	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	受胎率 (%)	95.8	100.0	100.0	100.0	79.2	87.5	95.8	95.8	
	出産率 (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
	妊娠期間 (日)	22.1	22.0	22.0	22.0	22.1	22.1	22.0	21.9	
着床数	12.7	12.5	12.6	11.9	13.2	11.7	13.3	12.3		
産児数	11.2	11.8	11.7	11.3	12.2	11.0	12.4	11.7		
性比*	0.477	0.479	0.463	0.518	0.509	0.543	0.575	0.493		
生存率 (%)	生後0日	99.1	99.4	99.7	99.7	100.0	99.7	100.0	99.7	
	生後4日	95.7	99.2	100.0	100.0	100.0	99.6	99.1	99.6	
	生後7日	100.0	100.0	100.0	100.0	99.3	99.4	99.5	100.0	
	生後14日	100.0	100.0	100.0	100.0	99.3	99.4	99.5	100.0	
	生後21日	99.4	100.0	100.0	100.0	99.3	99.4	99.5	100.0	
児動物	一般状態		検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし			
	哺育0日	雄	6.1	6.2	6.3	6.3	6.1	6.3	6.3	6.2
		雌	5.8	5.8	6.0	6.0	5.8	6.0	6.0	5.9
	哺育4日	雄	10.9	10.8	11.0	10.8	10.7	11.0	10.9	10.7
		雌	10.6	10.4	10.6	10.4	10.4	10.7	10.5	10.4
	哺育7日	雄	17.6	17.5	17.9	17.0	17.4	17.4	17.1	17.1
		雌	17.2	16.8	17.2	16.4	16.9	16.8	16.7	16.5
	哺育14日	雄	35.5	35.4	35.3	↓33.1	35.5	35.0	34.2	33.8
		雌	34.6	34.2	34.1	↓32.1	34.5	33.9	33.4	33.0
	哺育21日	雄	56.8	56.1	55.6	↓52.6	57.1	56.5	54.6	↓52.5
		雌	55.3	53.8	53.6	↓51.1	54.7	54.1	53.2	↓50.8

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

\* : 総雄産児数/総産児数

対照群との有意差の検定 (↑↓: P<0.05, ↑↓: P<0.01)

Dunnnett-type 検定: 包皮分離・膈開口時日齢、性周期日数、交尾所要日数、運動精子率、正常形態精子率、妊娠期間、生存率

Dunnnett 検定あるいは Dunnnett-type 検定: 体重、精子頭部数、精子数、着床数、産児数

Fisher 直接確率検定: 交尾率、受胎率、性比

(つづく)

表1 結果の概要 (つづき)

世代		親:P				親:F <sub>1</sub>					
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000		
児動物	雄	最終体重 (g)	81	83	81	79	84	82	80	↓76	
		脳	重量 (mg)	1485	1498	1481	1482	1498	1505	1481	1490
			体重比	1.85	1.82	1.84	1.89	1.80	1.85	1.86	↑1.96
		脾臓	重量 (mg)	309	310	297	289	300	305	304	282
			体重比	0.382	0.376	0.368	0.367	0.359	0.374	0.380	0.369
		胸腺	重量 (mg)	306	298	290	277	322	291	298	↓283
	体重比		0.377	0.361	0.360	0.353	0.385	0.356	0.371	0.369	
	雌	最終体重 (g)	77	75	76	↓73	76	77	76	72	
		脳	重量 (mg)	1441	1426	1438	1428	1450	1450	1453	1451
			体重比	1.88	1.90	1.90	↑1.95	1.90	1.91	1.93	↑2.04
		脾臓	重量 (mg)	265	259	267	258	269	269	281	258
			体重比	0.344	0.344	0.353	0.352	0.351	0.352	0.370	0.359
		胸腺	重量 (mg)	293	277	281	280	303	278	282	275
	体重比		0.382	0.368	0.371	0.381	0.395	↓0.363	0.372	0.382	
	子宮	重量 (mg)	74.8	69.0	71.9	↓62.9	65.4	67.3	70.1	63.3	
		体重比	0.0977	0.0920	0.0953	0.0858	0.0854	0.0883	0.0927	0.0882	
	肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし				

太枠内は検体投与の毒性影響であることを示す。

対照群との有意差の検定 (↑↓: P<0.05, ↑↓: P<0.01)

Dunnnett 検定あるいは Dunnnett-type 検定: 体重、臓器重量



(3) バリダマイシン原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 8-3)

試験機関：International Research and  
Development Corporation

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検 体：バリダマイシン原体

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト系 SPF 妊娠ウサギ、1 群 16 匹

初回試験；妊娠 0 日時体重 3538～5540 g、妊娠 0 日時月齢 8 ヲ月齡

追加試験；妊娠 0 日時体重 3495～5195 g、妊娠 0 日時月齡 7.5 ヲ月齡

投与期間：妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間（初回試験；1986 年 11 月 19 日～1986 年 12 月 12 日、追加試験；1987 年 2 月 11 日～1987 年 3 月 6 日）

投与方法：検体を脱イオン水に溶解し、初回試験は 0、125、500 および 2000 mg/kg/日、追加試験では 0、1000 および 2000 mg/kg/日の投与量で妊娠 7 日<sup>\*</sup> から妊娠 19 日まで、毎日 1 回強制経口投与した。投与用量は個体別の最新体重をもとに 5.0 mL/kg の割合で投与した。

なお、対照群には脱イオン水のみを同様に投与した。

\*): 人工授精日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠；

観察・検査項目；

母動物；試験期間を通じ、死亡および一般症状を毎日 2 回観察し、毒性症状の発現と発症期間を妊娠 7 日～29 日まで毎日 1 回観察した。妊娠 0、7、13、20、24 および 29 日に体重を測定した。また、個体別摂餌量および摂水量を妊娠 7 日から 29 日まで毎日記録した。妊娠 29 日に母動物を帝王切開し、生存および死亡胎児数および位置、早期および後期吸収胚数、総着床数および黄体数、胎盤重量を記録した。また、胸腔および腹腔内臓器の形態学的変化の有無について肉眼的に検査した。

生存胎児；内生殖器にて性別を判定後、体重を測定し、外表および未固定の状態内で臓器

察を行った。また、剥皮した胎仔は、アルコール固定し、水酸化カリウムで浸軟して、アリザリンレッドSで染色した透明化骨格標本を作製し、骨格異常の有無、化骨進行状態を検査した。

結 果：概要を次表に示した。

母動物；死亡が初回試験では対照および2000 mg/kg 群の1および2例に、追加試験では対照、1000 および2000 mg/kg 群の1、2 および4例に認められた。死亡例の剖検では、追加試験の2000 mg/kg 群で2/4例に急性腸炎または肺炎が認められた以外に肉眼的病変は見られなかった。流産が初回試験では対照、125、500 および2000 mg/kg 群の1、1、1 および8例に、追加試験では対照、1000 および2000 mg/kg 群の1、3 および2例に認められた。これら1000 mg/kg 以上の群における死亡および流産の増加は母動物毒性を示しているものと考えられた。糞便の異常が初回試験の2000 mg/kg 群で増加したが、追加試験では対照群を含む全ての群が初回試験の2000 mg/kg 群と同じ頻度で認められており、剖検においても対照群との差はみられないことから、生物学的な関連性は不明であった。

体重については、両試験とも投与期間中対照群を含む全群で体重減少がみられ、2000 mg/kg 群で顕著であったが、他の群は対照群と同程度であった。摂餌量は初回試験の125 mg/kg 群で対照群と同等であったが、初回試験の500 mg/kg 以上ならびに追加試験の1000 mg/kg 以上の群で用量依存的な減少傾向がみられた<sup>申請者注1</sup>。摂水量も投与期間中の全投与群で対照群と比較して用量依存的な減少傾向を示した。初回試験の125 mg/kg 群では対照群との差は大きくなかったが、生物学的な関連が示唆された<sup>申請者注2</sup>。

帝王切開観察では、初回試験の500 mg/kg 群で着床後損失の軽微な増加および総着床数の軽微な減少による平均生存胎児数の軽微な減少がみられたが、1000 mg/kg 群で影響はみられなかった。2000 mg/kg 群においては、初回および追加試験で3 および6例の妊娠動物を得て、帝王切開でそれぞれ1 および2例の全胚吸収を認めたが、母動物および児動物ともに十分な動物数が得られなかった

申請者注1：母動物における摂餌量の減少傾向について

投与期間中の摂餌量に関して、500 mg/kg 以上の群で用量依存的な減少傾向が認められたと報告書に記載されていたが、500 および1000 mg/kg 群に明らかな傾向はみられないことから、検体投与に起因した減少は両試験の2000 mg/kg 群のみと判断した。投与開始から帝王切開前日まで（妊娠7～28日）の摂餌量について報告書に記載はなかったが、投与期間中と同様に各2000 mg/kg 群で検体投与に起因した減少が認められた。

申請者注2：母動物における飲水量の減少傾向について

投与期間中の摂水量に関して、125 mg/kg 以上の群で用量依存的な減少傾向が認められたと報告書に記載されていたが、500 および1000 mg/kg 群に明らかな傾向はみられないことから、検体投与に起因した減少は両試験の2000 mg/kg 群のみと判断した。投与開始から帝王切開前日まで（妊娠7～28日）の摂水量について報告書に記載はなかったが、追加試験の2000 mg/kg 群でのみ検体投与に起因すると考えられる減少が認められた。

ことから、評価できなかった。

生存胎児；胎児の形態学的観察において、初回試験の 125 および 500 mg/kg 群ならびに追加試験の 1000 mg/kg 群に検体投与の影響は認められなかった。2000 mg/kg 群では、両試験で合計 9 腹を検査し、追加試験の 2 腹では全胎児に肋骨奇形を含む複数の奇形が認められた。これらの奇形は遺伝的要因を示唆しているが、水頭、全身浮腫および小眼球といった奇形については母動物毒性との関連を示唆しているものと考えられた<sup>申請者注 1</sup>。両試験の標本数と奇形発現の頻度から 2000 mg/kg 群において催奇形性は認められないものと思われるが、無影響量は設定できなかった。変異についても、2000 mg/kg 群では利用できる標本数が少なかったため評価できなかった。

以上の結果より、バリダマイシン原体を妊娠ウサギに経口投与したところ、母動物では 1000 mg/kg 以上の群で死亡および流産の発現頻度が増加した。従って、母動物に対する無毒性量は 500 mg/kg/日（バリダマイシン A の純度換算で 459.5mg/kg/日）と判断した<sup>申請者注 2</sup>。胎児では 1000 mg/kg 群まで検体投与の影響は認められないことから無毒性量は 1000 mg/kg/日 であり、この用量では胎児に対して催奇形作用を及ぼさないと判断された。最高用量の 2000 mg/kg/日は顕著な母動物毒性のために標本数が少なく、胎児に対する催奇形作用は明らかにできなかった。

---

申請者注 1：奇形（水頭、全身浮腫および小眼球）について

これらの奇形について報告書では母動物毒性との関連性を示唆しているが、その根拠が不明確であるため、当該奇形が母動物毒性との関連性があるかどうかは不明であった。

## 結果の概要

					追加試験				
投与群 (mg/kg/日)	0	125	500	2000	0	1000	2000		
1群当たり動物数	16	16	16	16	16	16	16		
母動物	死亡数 (%)	1 (6.3)	0 (0)	0 (0)	2 (12.5)	1 (6.3)	2 (12.5)	4 (25.0)	
	流産数 (%)	1 (6.3)	1 (6.3)	1 (6.3)	8 (50)	1 (6.3)	3 (18.8)	2 (12.5)	
	切迫殺 (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (6.3)	0 (0)	1 (6.3)	
	出産数 (%)	3 (18.8)	1 (6.3)	2 (12.5)	1 (6.3)	1 (6.3)	2 (12.5)	2 (12.5)	
	妊娠数 (%)	13 (81.3)	16 (100)	13 (81.3)	14 (87.5)	15 (93.8)	15 (93.8)	15 (93.8)	
	一般状態								
	糞便異常 (%)	6 (37.5)	6 (37.5)	9 (56.3)	14 (87.5)	13 (81.3)	15 (93.8)	15 (93.8)	
	摂餌量*	妊娠 7-19 日	/	97	79	37	/	71	28
		妊娠 7-28 日	/	92	86	42	/	102	29
	摂水量*	妊娠 7-19 日	/	87	77	69	/	85	55
		妊娠 7-28 日	/	76	74	83	/	112	58
	体重変化 (g)	妊娠 0-7 日	149	143	111	121	98	63	198
		妊娠 7-13 日	6	6	-23	-119	29	-11	-167
		妊娠 13-20 日	-115	-84	-124	-242	-118	-142	-230
妊娠 20-24 日		-29	-34	-12	-78	-92	-84	-155	
妊娠 24-29 日		-70	-67	-52	-277	-123	-102	-190	
妊娠 7-29 日		-109	-78	-147	-361	-54	-154	-397	
	妊娠 0-29 日	62	-4	-19	-542	-74	-66	-428	
肉眼的病理検査	/	検体投与に起因する異常は認められなかった			/	検体投与に起因する異常は認められなかった			

/ : 対照群

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

\* : 摂餌量、摂水量 (g/kg/日) の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値 (統計解析は実施せず)

(つづく)

結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	125	500	2000	追加試験				
		0	125	500	2000	0	1000	2000		
母動物	着床所見	検査親動物数	11	14	13	5	12	9	7	
		妊娠動物数	8	14	10	3	11	8	6	
		全吸収胚腹数	0	0	0	1	0	0	2	
		生存胎児を有する母動物数	8	14	10	2	11	8	4	
		平均生存胎児数	8.0	8.1	6.0	5.3	6.7	7.3	3.7	
		平均黄体数	12.5	14.5	12.3	14.5	12.7	16.3	13.5	
		平均着床後損失数	0.6	1.4	1.7	4.7	0.7	0.9	4.5	
		平均総着床数	8.6	9.6	7.7	10.0	7.5	8.1	8.2	
		平均着床前損失率 (%)	31.0	34.0	37.4	37.9	41.4	50.0	40.7	
		平均着床後損失率 (%)	7.2	14.9	22.1	46.7	9.8	10.8	55.1	
胎児動物	胎児	検査胎児数 (腹)	90 (11)	120 (15)	77 (12)	26 (4)	82 (12)	69 (10)	29 (5)	
		平均体重 (g)	37.2	36.8	37.6	30.9	36.5	36.7	31.7	
		性比 (雄/雌)	1.00	1.07	1.00	0.60	0.90	0.74	0.69	
		胎盤重量 (g)	4.75	5.25	4.99	4.52	4.91	5.08	4.38	
		奇形を有する胎児数 (腹)	1 (1)	5 (3)	2 (2)	2 (2)	2 (2)	0	11 (2)	
		変異を有する胎児数 (腹)	77 (11)	83 (15)	59 (11)	16 (4)	49 (10)	55 (10)	23 (4)	
	外表異常数 (腹)	奇形	水頭	0	0	0	0	0	0	7 (1)
			全身浮腫	0	0	0	0	0	0	3 (1)
			小眼球	0	0	1 (1)	0	0	0	0
			小顎	0	2 (1)	0	0	0	0	0
変異	異常	臍帯ヘルニア	0	0	0	1 (1)	0	0	0	
		小肢	0	0	0	0	0	0	4 (1)	
変異	異常	手根骨屈曲	0	0	0	0	0	0	6 (1)	
		足根骨屈曲	0	0	0	0	0	1 (1)	0	

群平均着床前損失率 (%) = ((総黄体数 - 総着床数) / 総黄体数) × 100

群平均着床後損失率 (%) = ((総着床数 - 総生存胎児数) / 総着床数) × 100

対照群との有意差の検定

Dunnett の多重検定を用いた t 検定: 生存胎児数、黄体数、総着床数、平均胎児体重

Mann-Whitney の U 検定: 吸収胚率および死亡胎児率、着床後損失率

2 × 2 分割表における Yates の修正によるカイニ乗検定: 性比

Fisher 直接確率検定: 奇形を有する児を持っていた腹の比率

(つづく)

## 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	125	500	2000	追加試験			
						0	1000	2000	
検査胎児数 (腹)		90 (11)	120 (15)	77 (12)	26 (4)	82 (12)	69 (10)	29 (5)	
内臓異常数 (腹)	奇形	大動脈弓離断	0	1 (1)	0	0	0	0	
		食道後方動脈弓	0	0	0	0	1 (1)	0	0
		腎無形成	0	1 (1)	0	0	0	0	0
		腎臓位置異常	0	0	0	0	1 (1)	0	0
	変異	過剰鎖骨下動脈	2 (1)	0	0	0	1 (1)	0	0
		腕頭動脈起始頸動脈	4 (1)	8 (4)	1 (1)	1 (1)	7 (4)	10 (3)	0
		肺奇静脈欠損	1 (1)	1 (1)	0	0	2 (2)	2 (2)	0
		小型胆嚢	2 (2)	6 (3)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	6 (2)
		尿管拡張	0	0	0	0	1 (1)	0	0
		胎児動物	脊椎奇形	1 (1)	2 (1)	0	0	0	0
骨格異常数 (腹)	奇形	椎弓の化骨不全	0	1 (1)	0	0	0	0	
		肋骨の球状肥大	0	0	1 (1)	1 (1)	0	0	0
		肋骨奇形	0	0	0	0	0	0	11 (2)
		分岐肩甲骨	0	0	0	0	1 (1)	0	0
		肩甲骨奇形	0	0	0	0	0	0	4 (1)
		四肢骨奇形	0	0	0	0	0	0	4 (1)
		頭蓋副骨	0	0	3 (2)	0	1 (1)	0	0
	変異	舌骨弯曲	5 (3)	4 (4)	4 (2)	0	0	0	0
		仙骨前椎骨数 27	21 (7)	29 (8)	15 (7)	8 (2)	6 (4)	6 (5)	11 (3)
		脊椎化骨過剰部位	0	0	1 (1)	0	0	0	0
第7頸肋		0	0	0	0	4 (2)	0	0	
第13痕跡状過剰肋骨		11 (5)	17 (10)	14 (9)	2 (2)	19 (7)	15 (7)	5 (3)	
12対を超える過剰肋骨		55 (10)	56 (13)	35 (11)	7 (3)	20 (9)	24 (8)	17 (4)	
肋骨分節癒合		1 (1)	5 (4)	1 (1)	0	2 (2)	0	0	
化骨遅延	肋骨分節不整	1 (1)	0	0	0	0	2 (2)	1 (1)	
	肋骨分節化骨の過剰部位	0	1 (1)	0	0	0	0	0	
	舌骨未化骨	12 (4)	5 (3)	11 (5)	2 (2)	3 (2)	10 (3)	4 (2)	
	第5/第6胸骨分節未化骨	14 (8)	11 (5)	15 (6)	3 (2)	11 (7)	15 (6)	9 (4)	
	恥骨未化骨	1 (1)	0	1 (1)	3 (2)	0	2 (2)	1 (1)	
距骨未化骨	7 (3)	3 (3)	12 (4)	4 (2)	2 (1)	2 (2)	2 (2)		

対照群との有意差の検定

Fisher 正確確率検定：奇形を有する腹の比率

(4) バリダマイシン原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 8-4)

試験機関：(一財) 残留農業研究所  
[GLP 対応]

報告書作成年：2019 年

検 体：バリダマイシン原体

検体純度：

供試動物：Wistar Hannover (BrlHan:WIST@Jcl [GALAS]) 系妊娠ラット、1 群 24 匹、交配時  
13 週齢、体重 197~248 g

投与期間：妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間 (2018 年 5 月 14 日~2018 年 5 月 30 日)

投与方法：検体を蒸留水に溶解し、0、100、300 および 1000 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日<sup>\*)</sup>  
から 19 日までの 14 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には蒸留水  
を同様に投与した。

<sup>\*)</sup> 交尾を認めた日を妊娠 0 日として起算した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物；全動物について、一般状態および生死を少なくとも 1 日 1 回、投与期間中は投  
与前および投与後 1~3 時間の 1 日 2 回観察した。さらに体重測定時および投与  
時には詳細な観察を行った。体重は妊娠 0、6、9、12、15、18 および 20 日に測  
定し、摂餌量は妊娠 0~6 日、6~9 日、9~12 日、12~15 日、15~18 日および  
18~20 日に測定した。妊娠 20 日に全母動物を帝王切開し、肉眼的病理変化の有  
無を検査し、子宮および卵巣を摘出して妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎  
児数および吸収胚・死亡胎児数ならびに子宮内の位置を検査した。吸収胚・死亡  
胎児は、発生上の死亡時期の早い順に着床痕、胎盤遺残および浸軟胎児に分類し  
た。

生存胎児；性別判定、体重測定および外表異常の観察を行った。各同腹児の約半数につ  
いては未固定の状態では胸部および腹部の内臓検査を行った後、ブアン液で固定し  
た。頭部は、固定後に切片を作製し異常の有無を検査した。また、残りの胎児に  
ついては、アルコール固定した後、アリザリン・レッド S およびアルシアン・ブ  
ルーで染色した透明化骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次表に示した。

母動物；いずれの投与群においても死亡動物はなく、一般状態に検体投与に関連した影

響は認められなかった。試験期間中の体重、体重増加量および摂餌量においても検体投与の影響は認められなかった。また、剖検、妊娠子宮重量および子宮内所見（黄体数、着床数、着床前損失率、生存胎児数および吸収胚・死亡胎児発現率）に検体投与の影響は認められなかった。

生存胎児；性比、胎児体重および胎児の異常または変異の発現頻度に検体投与による影響は認められなかった。なお、腎臓の欠損、精巣の位置異常および指骨の癒合が1000 mg/kg/日群でみられたが、これらは1腹の母動物にのみ偏って発現した所見であり、その他の母動物の胎児には同様の所見が一切みられていないことから、遺伝的な要因によって生じたものと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに経口投与したときの母動物および胚・胎児動物における無毒性量は1000 mg/kg/日であった。また、最高投与量の1000 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。



結果の概要

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	
1 群あたり動物数		24	24	24	24	
妊娠動物数		24	23	24	23	
母動物	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	検体投与に起因する異常なし				
	体重変化	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	妊娠 20 日補正体重 (g)	268	269	266	269	
	妊娠子宮重量 (g)	64	72	69	70	
	摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	肉眼的病理検査	検体投与に起因する異常なし				
	着床所見	検査母動物数	24	23	24	23
		平均黄体数	14.5	14.3	14.5	14.5
		平均着床数	12.6	13.6	13.3	13.3
		着床前損失率 (%)	13.3	4.6	7.7	7.9
		平均着床痕数	0.6	0.7	0.7	0.5
		平均胎盤遺残数	0.2	0.0	0.0	0.1
		平均浸軟胎児数	0.1	0.0	0.0	0.0
吸収胚・死亡胎児発現率 (%)		6.9	4.8	5.2	4.9	
胎児動物	平均生存胎児数	11.8	12.9	12.6	12.7	
胎児動物	性比		0.504	0.475	0.469	0.550
	胎児体重 (mg)	雄	3600	3672	3617	3656
		雌	3381	3495	3450	3470

着床前損失率 (%) = ((黄体数 - 着床数) / 黄体数) × 100

性比 = 雄胎児総数 / 生存胎児総数

Dunnett 検定あるいは Dunnett-type 検定：体重増加量、妊娠 20 日補正体重、摂餌量、妊娠子宮重量、胎児体重、黄体数、着床数、生存胎児数

Dunnett-type 検定：着床前損失率、吸収胚・死亡胎児発現率

$\chi^2$  検定あるいは Fisher 直接確率検定：性比

(つづく)

結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	1000
外表検査	検査胎児〔腹〕数	282 [24]	297 [23]	303 [24]	291 [23]
	異常を有する胎児	0.00	0.33 (1)	0.00	0.00
	短尾	0.00	0.33 (1)	0.00	0.00
内臓検査	検査胎児〔腹〕数	148 [24]	156 [23]	156 [24]	153 [23]
	異常を有する胎児	0.83 (1)	0.00	0.00	1.24 (2)
	小眼球症	0.83 (1)	0.00	0.00	0.00
	腎臓欠損	0.00	0.00	0.00	1.24 (2)
	精巣位置異常	0.00	0.00	0.00	0.62 (1)
	変異を有する胎児	24.43 (36)	15.05 (23)	18.43 (28)	20.11 (31)
	左側臍帯動脈	24.43 (36)	15.05 (23)	17.24 (26)	18.62 (29)
	腎盂拡張	0.00	0.00	1.19 (2)	0.62 (1)
	尿管拡張	0.00	0.00	0.60 (1)	0.62 (1)
	胸腺頸部残留	0.00	0.00	0.00	0.87 (1)
胎児動物	検査胎児〔腹〕数	134 [24]	141 [23]	147 [24]	138 [23]
	異常を有する胎児	2.08 (3)	0.72 (1)	1.39 (2)	3.21 (5)
	頸椎体のダンベル状軟骨	0.00	0.00	0.00	0.62 (1)
	頸椎体の分離軟骨	0.69 (1)	0.00	0.00	0.72 (1)
	頸椎体の癒合軟骨	0.69 (1)	0.00	0.69 (1)	0.00
	頸椎弓の癒合	0.69 (1)	0.00	0.69 (1)	0.62 (1)
	胸椎体の分離軟骨	0.00	0.00	0.00	0.62 (1)
	指骨癒合 (前肢および後肢)	0.00	0.00	0.00	1.24 (2)
	胸骨裂	0.69 (1)	0.00	0.00	0.00
	脊椎骨複合奇形 (仙椎の半椎、仙椎体の半椎、仙椎弓の癒合および尾椎体の癒合)	0.00	0.72 (1)	0.00	0.00
	変異を有する胎児	84.62 (117)	90.43 (128)	87.15 (127)	91.16 (127)
	頬骨と上顎骨の癒合	0.52 (1)	0.00	0.69 (1)	0.00
	頸肋	1.98 (3)	1.49 (2)	2.08 (3)	2.73 (4)
	胸椎体のダンベル状骨化	0.83 (1)	0.00	0.00	1.24 (2)
	胸椎体の二分骨化	0.00	0.62 (1)	0.00	0.00
	胸骨分節の二分骨化	0.00	0.00	0.69 (1)	0.00
	肋軟骨の不連続 (仮肋)	44.70 (61)	53.27 (76)	45.38 (66)	57.04 (79)
	波状肋骨	0.00	0.72 (1)	0.00	0.00
	過剰肋骨	78.79 (111)	76.83 (108)	77.81 (114)	80.86 (114)
	腰仙移行椎	8.02 (11)	6.75 (9)	8.80 (12)	11.37 (16)
仙椎前椎骨数 27	16.79 (20)	11.04 (15)	9.33 (14)	7.66 (11)	

表中の数値は異常または変異を認めた腹ごとの出現率の群平均値 (Dunnett-type 検定)

( ): 出現した胎児数

## 9. 変異原性

### (1) バリダマイシン原体の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 9-1)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

報告書作成年：1977年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli* WP2 *hcr* 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は蒸留水に溶解し、10、50、100、500、1000 および 3000  $\mu\text{g}$ /プレートの6濃度で実施した (ただし、3000  $\mu\text{g}$ /プレートは S9 mix 非存在下でのみ実施)。試験は2連制とし、プレート法で1回行った。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S9 mix の有無にかかわらず、全ての濃度で、いずれの菌株においても復帰突然変異コロニー数を増加させることはなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド、 $\beta$ -プロピオラクトン、9-アミノアクリジンおよび 2-ニトロフルオレンでは、各菌株で著しい復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、2-アミノアントラセンは S9 mix 存在下で各菌株に著しい復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、バリダマイシン原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないと判断された。

(表中の数値は2連の平均値<sup>1)</sup>)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ 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			
			WP2 <i>hcr</i>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	22	9	153	7	14	45	
バリダマイシン 原体	10	-	13	4	139	10	16	44	
	50	-	19	7	141	12	18	50	
	100	-	18	6*	179	10	15	52	
	500	-	19	10	142	9	10	53	
	1000	-	17	5	137	7	12	40	
	3000	-	21	7	158	8	18	47	
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	10	13	147	5	22	27	
バリダマイシン 原体	10	+	18	5	155	6	17	27	
	50	+	14	8	136	9	21	19	
	100	+	22	9	150	8	13	23	
	500	+	16	10	148	13	16	29	
	1000	+	18	6	117	10	17	30	
陽 性 対 照	2AA	10	-	/	2	164	16	16	64
		10	+	/	278	5000	691	5000	4000
	AF-2	0.05	-	/	/	1250	/	/	/
		0.1	-	/	/	/	/	/	406
		0.25	-	1106	/	/	/	/	/
	$\beta$ -PL	50	-	/	734	/	/	/	/
	9-AA	200	-	/	/	/	>10000	/	/
2-NF	50	-	/	/	/	/	3000	/	

\*: 1連の値

/: 試験を行っていない

2AA : 2-アミノアントラセン

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

 $\beta$ -PL :  $\beta$ -プロピオラクトン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

申請者注1: 2連の平均値は報告書には記載されていないが、個別データより算出して記載した。

(2) バリダマイシン原体のチャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO) を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 9-2)

試験機関：NOTOX

[GLP 対応]

報告書作成年：1985 年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞 (CHO) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で検体の染色体異常誘発性を検定した。

検体は Hanks 緩衝液に溶解し、S9 mix 存在下および非存在下ともに 2 時間細胞を処理した。その後新鮮培地で 19~20 時間培養し、染色体標本を作製した。試験は 2 連制とし、各群について 200 個 (1 連あたり 100 個) の分裂中期像を観察した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

S9 mix 非存在下において、染色体の構造異常を有する細胞数および細胞当たりの構造異常数が溶媒対照群と比較して有意に増加し、用量相関性が認められた。S9 mix 存在下では有意な増加は認められなかった。陽性対照化合物のジメチルニトロソアミン (S9 mix 存在下) およびメタンスルホン酸エチル (S9 mix 非存在下) では、構造異常を有する細胞の出現頻度の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、バリダマイシン原体は代謝活性化非存在下で染色体異常誘発性を有すると判断された。

試験結果

(表中の数値は2連の平均値<sup>申請者注</sup>)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S9 mixの有無	有糸分裂細胞 (%)	染色体構造異常細胞		細胞当たりの構造異常数								
							+G (%)	判定*	染色体分体切断	染色体切断	染色体分体キヤップ	染色体キヤップ	染色体分体断片	染色体断片	染色体分体交換	合計	判定*
溶媒対照 (Hanks 緩衝液)	0	2	21 ~ 22	100 × 2	無	4.3	6.5	/	0.03	0.01	0.01	0.02	0.02	0.00	0.00	0.07	/
バリダマイシン 原体	100			100 × 2		3.0	10.5	+	0.04	0.01	0.03	0.03	0.02	0.00	0.00	0.12	+
	1000			100 × 2		3.7	14.0		0.06	0.01	0.02	0.04	0.01	0.03	0.00	0.16	
	5000			100 × 2		3.4	13.0		0.03	0.03	0.02	0.03	0.03	0.01	0.00	0.15	
陽性対照 (EMS)	2 mM			100 × 2		3.5	20.5	+	0.07	0.02	0.05	0.05	0.04	0.02	0.00	0.23	+
溶媒対照 (Hanks 緩衝液)	0	2	21 ~ 22	100 × 2	有	2.9	10.5	/	0.03	0.00	0.02	0.04	0.02	0.01	0.01	0.12	/
バリダマイシン 原体	100			100 × 2		3.5	12.0	-	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02	0.01	0.00	0.12	-
	1000			64, 58		2.4	14.4		0.04	0.02	0.03	0.01	0.02	0.02	0.00	0.16	
	5000			100 × 2		3.9	15.5		0.07	0.01	0.03	0.05	0.04	0.00	0.00	0.19	
陽性対照 (DMN)	0.5 mM			100 × 2		1.6	19.0	+	0.08	0.05	0.02	0.00	0.04	0.05	0.00	0.23	+

\* : 検体処理群については分散分析 (ANOVA) を行った ( $p < 0.05$ )。

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMN : ジメチルニトロソアミン

+G : キヤップを含む異常

申請者注 : 2 連の検査の平均値は報告書には記載されていないが、個別データより算出して記載した。

(3) バリダマイシン原体のチャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL) を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 9-3)

試験機関：化学品検査協会

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で検体の染色体異常誘発性を検定した。検体は純水に溶解し、S9 mix 存在下では 6 時間、非存在下では 6 時間、24 時間および 48 時間細胞を処理した。試験は 2 連制とし、観察は 1 濃度あたり 200 個 (1 連あたり 100 個) の分裂中期像について行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

S9 mixの有無にかかわらず、いずれの濃度においても、溶媒対照群と比較して染色体の構造異常を有する細胞あるいは数的異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (S9 mix 非存在下) およびシクロホスファミド (S9 mix 存在下) では、染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度に明らかな増加が認められた。

以上の結果より、バリダマイシン原体は代謝活性系の有無にかかわらず染色体異常誘発性は有しないと判断された。

試験結果

(表中の数値は2連の平均値)

薬物	S9 mixの有無	処理時間(h)	標本作製時間(h)	濃度(μg/mL)	観察細胞数	数的異常		染色体構造異常細胞の出現数と出現頻度(%)*								判定
						出現数と出現頻度(%)*	判定	ギャップ	染色体分体型		染色体型		その他	合計		
									切断	交換	切断	交換		-g	+g	
溶媒対照(純水)	無	24	24	0	200	0 (0.0)	-	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.0)	-
		48	48	0	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
バリダマイシン原体	無	24	24	1250	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				2500	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				5000	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
	無	48	48	1250	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				2500	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				5000	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
陽性対照(MMC)	無	24	24	0.05	200	0 (0.0)	-	1 (0.5)	25 (12.5)	34 (17.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	54 (27.0)	55 (27.5)	+
		48	48	0.05	200	0 (0.0)	-	2 (1.0)	9 (4.5)	26 (13.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	37 (18.5)	39 (19.5)	+

\*: 異常をもつ細胞の出現頻度%を( )に示した。ギャップには染色体分体型と染色体型の両者を含めた。合計(-g)にはギャップのみをもつ細胞を除いた総数と(%)を、(+g)にはギャップのみをもつ異常細胞を含む総数と(%)を示した。

MMC: マイトマイシンC

数的異常: 倍数体および核内倍化細胞

判定: -陰性(5%未満) ±疑陽性(5%以上10%未満) +陽性(10%以上)



試験結果

(表中の数値は2連の平均値)

薬物	S9 mixの有無	処理時間(h)	標本作製時間(h)	濃度(μg/mL)	観察細胞数	数的異常		染色体構造異常細胞の出現数と出現頻度(%)*								判定
						出現数と出現頻度(%)*	判定	ギャップ	染色体分体型		染色体型		その他	合計		
									切断	交換	切断	交換		-g	+g	
溶媒対照(純水)	無	6	24	0	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
	有	6	24	0	200	1 (0.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
バリダマイシン原体	無	6	24	1250	200	3 (1.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				2500	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				5000	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
	有	6	24	1250	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				2500	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
				5000	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
陽性対照(CP)	無	6	24	10	200	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	
	有	6	24	10	200	1 (0.5)	-	2 (1.0)	19 (9.5)	71 (35.5)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	85 (42.5)	86 (43.0)	+

\*: 異常をもつ細胞の出現頻度%を( )に示した。ギャップには染色体分体型と染色体型の両者を含めた。合計(-g)にはギャップのみをもつ細胞を除いた総数と(%)を、(+g)にはギャップのみをもつ異常細胞を含む総数と(%)を示した。

CP: シクロホスファミド

数的異常: 倍数体および核内倍化細胞

判定: -陰性(5%未満) ±疑陽性(5%以上10%未満) +陽性(10%以上)

(4) バリダマイシン原体のマウスリンパ腫細胞 (L5178Y) を用いた遺伝子突然変異試験  
(資料 9-4)

試験機関：NOTOX

[GLP 対応]

報告書作成年：1985年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

試験方法：マウスリンパ腫由来の培養細胞 (L5178Y) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、プロモデオキシウリジン (BrdU) 存在下でのコロニー増殖を指標とするチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子座の突然変異誘発性を検定した。

検体は Hanks 緩衝液に溶解し、S9 mix 存在下および非存在下ともに細胞を 2 時間処理した。洗浄後、細胞を新鮮培地で 3 日間培養し、BrdU を含むシャーレ 10 枚に播いて 10~13 日間培養し、形成されるコロニー数を計数した。試験は 1 濃度あたり 1 カルチャーを用いて 1 回行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、検体による突然変異頻度の増加は全く認められなかった。一方、陽性対照であるメタンサルホン酸エチル (S9 mix 非存在下) およびジメチルニトロソアミン (S9 mix 存在下) では明らかな突然変異頻度の増加が認められた。

以上の結果より、バリダマイシン原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下において遺伝子突然変異誘発性を有しないと判断された。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 mix の有無	相対細胞 生存率 (%)	突然変異頻度 <sup>a)</sup> (変異細胞数/ $10^5$ 生存細胞)
溶媒対照 (Hanks 緩衝液)	0	-	100	2.39
バリダマイシン 原体	150		105	1.75
	500		93	1.68
	1500		85	2.31
	5000		85	2.29
陽性対照 (EMS)	2 mM		78	25.00
溶媒対照 (Hanks 緩衝液)	0	+	100	2.00
バリダマイシン 原体	150		118	1.64
	500		124	2.64
	1500		126	1.17
	5000		122	1.89
陽性対照 (DMN)	0.5 mM		70	9.16

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMN : ジメチルニトロソアミン

a) : シャーレ 10 枚の平均値

## (5) バリダマイシン原体の細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 9-1)

試験機関：(財) 残留農薬研究所  
 報告書作成年：1977 年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の DNA 組換え修復能保持株 ( $rec^+$ , H17) と欠損株 ( $rec^-$ , M45) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の非存在下で、賀田らの Rec-assay 法により DNA 修復試験を行った。

検体を蒸留水に溶解し、溶液 0.02 mL を直径 10 mm のろ紙に添加して、ストリークの開始点に置いた。一晚培養後、菌の生育阻止帯の長さを測定した。検体は 20、100、200、500、1000 および 2000  $\mu\text{g}/\text{ディスク}$  の 6 濃度とし、溶媒対照群には蒸留水、陰性対照群にはカナマイシン、陽性対照群にはマイトマイシン C を用いた。溶媒対照と検体は 1 連制、陰性対照と陽性対照は 2 連制とし、試験を 1 回実施した。

試験結果：結果を次表に示した。

(表中の数値：陰性対照、陽性対照は 2 連の平均値<sup>申請者注</sup>)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45 株	H17 株	
溶媒対照 (蒸留水)	0 <sup>a)</sup>	0	0	0
バリダマイシン原体	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	7.5	5.5	2
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	11.5	2	9.5

a) 20  $\mu\text{L}/\text{ディスク}$

申請者注：2 連の平均値は報告書には記載されていないが、個別データより算出して記載した。

検体は、いずれの濃度においても H17 株および M45 株ともに生育阻止帯を認めなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では、両株の間に顕著な生育阻止の差を生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは、両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上の結果より、バリダマイシン原体は本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有しないと判断された。

(6)バリダマイシン原体のマウスを用いた宿主経由試験および細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 9-1)

試験機関：(財)残留農業研究所

報告書作成年：1977年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

供試動物：ICR系雄マウス、7週齢、平均体重；31.8 g、1群各6匹

試験方法：検体を1000および5000 mg/kgの用量でマウスに24時間間隔で2回強制経口投与した。2回目の検体投与直後、対数期のヒスチジン要求性ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* G46株)を腹腔内に注入し、3時間後に腹腔内菌液を回収し、突然変異率を求めた。陰性対照群には蒸留水、陽性対照群にはジメチルニトロソアミン (DMN、50 mg/kg、1回経口投与)を用いた。

また、ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* G46株)を用いて薬物代謝酵素系 (S9 mix)の非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。試験は2連制とし、10、50、100、500、1000および3000 µg/プレート の6濃度で、プレート法で1回行った。陽性対照としてβ-プロピオラクトンを用いた。

用量設定根拠：

結果：結果を次表に示した。

検体投与群では溶媒対照群と比較して突然変異率の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群として用いたDMNでは溶媒対照群と比較して突然変異率の有意な増加が認められた。また、G46株を用いた *in vitro*における復帰突然変異試験の結果は陰性であった。

以上の結果より、バリダマイシン原体は本試験条件下で突然変異誘発性を有しないと判断された。

## 宿主経由試験結果

薬物	投与量 (mg/kg) × 投与回数	復帰変異 菌数/mL	生存菌数 × 10 <sup>8</sup> /mL	復帰変異菌数/10 <sup>8</sup> 生存菌数 (平均値±S. D.)
溶媒対照 (蒸留水)	0 <sup>a)</sup>	15.8	54.8	0.29
		17.5	58.2	0.30
		12.5	42.6	0.29
		8.3	50.8	0.16
		4.2	53.3	0.08
		16.7	42.1	0.40
バリダマイシン原体	1000 × 2	12.5	52.3	0.24
	1000 × 2	16.7	73.5	0.23
	1000 × 2	16.7	54.8	0.30
	1000 × 2	14.2	48.9	0.29
	1000 × 2	9.2	58.8	0.16
	1000 × 2	14.2	76.5	0.19
	5000 × 2	13.3	40.1	0.33
	5000 × 2	10.8	57.1	0.19
	5000 × 2	16.7	79.5	0.21
	5000 × 2	25.8	52.0	0.50
	5000 × 2	10.8	50.0	0.22
	5000 × 2	6.7	59.6	0.11
陽性対照 (DMN)	50	3810	46.0	82.8
	50	2047	40.9	50.0
	50	2693	52.7	51.1
	50	3763	46.9	80.2
	50	4140	69.6	59.5
	50	2107	45.7	46.1

a) 20 mL/kg

\*\*\* : p &lt; 0.001 (Aspin-Welch の t 検定、両側)

DMN : ジメチルニトロソアミン

復帰突然変異試験結果 (*S. typhimurium* G46 株)

薬物	バリダマイシン原体							β-プロピオラクトン
	濃度 (μg/プレート)	0	10	50	100	500	1000	
復帰変異コロニー数/プレート	1	2	5	2	4	2	1	81
	2	2	7	6	6	7	2	118

(7) バリダマイシン原体のマウスを用いた小核試験

(資料 9-5)

試験機関: BioReliance

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体: バリダマイシン原体

検体純度:

供試動物: ICR 系マウス、6~8 週齢、体重; 雄 24.8~28.4 g、雌 25.4~29.5 g、  
1 群雌雄各 5 匹

試験方法: 検体を蒸留水に溶解し、500、1000 および 2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。溶媒対照群には蒸留水のみ、陽性対照群にはシクロホスファミド 50 mg/kg を同様に投与した。

投与 24 時間後 (500、1000 および 2000 mg/kg) および 48 時間後 (2000 mg/kg) に各動物から大腿骨の骨髓を採取して、スライドグラス上にメタノールで固定後、ギムザ染色して骨髓標本を作製した。

各個体あたり 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。また、骨髓細胞に対する毒性を調べるため、各個体あたり 1000 個の全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

投与量設定根拠;

試験結果: 結果を次表に示した。

雄の 2000 mg/kg 投与群において立毛が認められたが、その他の投与群の動物では毒性症状は認められなかった。また、いずれの投与群においても死亡は認められなかった。

いずれの検体投与量、標本採取時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は雌雄共に認められなかった。また、全赤血球中の多染性赤血球の明らかな減少も認められず、骨髓細胞に対する検体による毒性は認められなかった。

一方、陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果より、バリダマイシン原体は本試験条件下において、マウス骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断された。

## 観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	PCE/全赤血球 <sup>a)</sup> (平均値±SD)	MNPCE/PCE <sup>b)</sup>
24	溶媒対照 (蒸留水)	20 mL/kg	雄 5	0.476±0.03	4/10000
			雌 5	0.473±0.06	5/10000
	バリダマイ シン原体	500	雄 5	0.462±0.04	4/10000
			雌 5	0.484±0.03	4/10000
		1000	雄 5	0.471±0.03	5/10000
			雌 5	0.425±0.02	5/10000
		2000	雄 5	0.416±0.02	5/10000
			雌 5	0.465±0.05	6/10000
陽性対照 (CP)	50	雄 5	0.359±0.05	210/10000 *	
		雌 5	0.333±0.02	223/10000 *	
48	溶媒対照 (蒸留水)	20 mL/kg	雄 5	0.498±0.07	6/10000
			雌 5	0.466±0.05	5/10000
	バリダマイ シン原体	2000	雄 5	0.455±0.02	3/10000
			雌 5	0.455±0.02	2/10000

Kastenbaum-Bowman の方法を用いて溶媒対照群との有意差検定を行った。

\* :  $P < 0.05$

PCE : 多染性赤血球      MNPCE : 小核を有する多染性赤血球

CP : シクロホスファミド

a) 1 個体につき 1000 個の全赤血球を観察した。

b) 1 個体につき 2000 個の多染性赤血球を観察した。



10. 生体機能への影響に関する試験  
バリダマイシン原体における薬理試験

(資料 10)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

報告書作成年：1990年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

マウスの中樞神経系に対する作用

マウスの一般状態に対する作用

供試動物：ICR系雄マウス、5週齢、体重25.1~30.4g、1群12匹

投与方法：検体を蒸留水に溶解し、1500、5000および15000mg/kgを強制経口投与し、一般状態を、投与前、投与30、60、120および180分後にIrwinの多次元観察法に準じて観察した。

結果：有意差のみられた変化を次表に示した。

投与群 (mg/kg)		0	1500	5000	15000	
検査動物数		12	12	12	12	
体温 (℃)	投与前値	37.1	37.0	37.5	37.2	
	投与前値 との差	30分後	0.3	0.2	0.0	0.2
		60分後	0.1	0.1	-0.3	0.2
		120分後	-0.3	-0.2	↓-0.9	-0.3
		180分後	-0.2	-0.1	↓-0.9	↓-0.6

Studentのt検定またはWelchの検定による投与前値との差の対照群との有意差の検定 (↓: p < 0.05, ↓↓: p < 0.01)

1500 mg/kg群には投与による影響は認められなかったが、5000 mg/kg群では投与前と比較して、投与120分および180分後に0.9℃、15000 mg/kg群では180分後に0.6℃体温が下降した。

## イヌの呼吸、循環器系に対する作用

イヌの呼吸、血圧、心拍数、心電図および血流量に対する作用

供試動物：雌ビーグル犬、体重 8.0~9.0 kg、各群 3 匹

投与方法：生理食塩水に溶解した検体の 300、1000 および 3000 mg/kg を、ペントバルビタールナトリウム 25~30 mg/kg の静脈内注射による麻酔下、30 分間隔で低用量より順に 30 分間隔でインフュージョンポンプを用いて 3 mL/分の速度で静脈内投与した。各投与 15 および 30 分後、並びに 3000 mg/kg 投与後 120 分間（投与 15、30、60 および 120 分後）、以下の項目について測定した。呼吸は気管カニューレに接続したサーミスタ式呼吸ピックアップ、心電図は四肢第 II 誘導法、血圧は右大腿動脈圧を圧力トランスデューサー、心拍数は心電図の R 波を瞬時タコメーター、血流量は左大腿動脈に設置したプローブを介した矩形波電磁血流量計を用いて測定し、ポリグラフに記録した。

なお、対照群動物には生理食塩水のみを同様の方法で投与した。

結果：有意差のみられた変化を次表に示した。

投与群 (mg/kg)		300		1000		3000	
		対照	検体	対照	検体	対照	検体
検査動物数		3	3	3	3	3	3
大腿収縮期血圧 (mmHg)	0 分後	101	101	100	97	100	107
	15 分後	101	98	97	96	100	99
	30 分後	98	97	94	95	100	↓91
	60 分後	/	/	/	/	100	88
	120 分後	/	/	/	/	104	88
大腿血流量 (mL/分)	0 分後	102	109	104	111	114	130
	15 分後	101	109	98	93	113	96
	30 分後	91	104	95	↓85	109	76
	60 分後	/	/	/	/	113	76
	120 分後	/	/	/	/	89	79

Student の t 検定または Welch の検定による投与前値に対する変化率 (%) の対照群との有意差の検定 (↓:  $p < 0.05$ )

表中の数値は変動の目安として投与前値を 100 とした場合の値

/: 測定せず

300 mg/kg 群では、呼吸、循環器系に影響は認められなかった。1000 mg/kg 群では血流量が投与 30 分後に投与前値と比較して有意に減少 (15%) した。3000 mg/kg 群では、血流量および血圧が経時的に下降および減少傾向を示

した。また、心電図は投与直後から 30 分後に QRS 波の増高が認められた。

以上の試験結果より、バリダマイシン原体は大量投与によりマウスでは軽度の体温下降、が生じ、イヌでは投与直後に QRS 波の増高、血圧の下降および血流量の減少傾向が認められた。しかし、これらの反応はいずれも軽度の作用であり、毒性は極めて低いものと考えられた。

## バリダマイシン原体の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目		動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢 神経 系	一般状態 [Irwin法]	マウス	経口 (蒸留水)	1500、 5000、 15000	雄 12	5000	1500	5000 および 15000 mg/kg に おける体温の下降
	呼吸 ・ 循環 器 系	イヌ (麻酔下)	静脈内 (生理食塩水)	300、 1000、 3000	雌 3	1000	300	1000 mg/kg における血流量 の減少 3000 mg/kg における QRS 波の 増高ならびに血圧および血 流量の下降および減少傾向

## 11. 参考資料

### (1) バリダマイシン原体投与によるマウスの腸内細菌叢および盲腸重量の変化

(資料 11-1)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1974年

検体：バリダマイシン原体

検体純度：

供試動物：ddY系雄マウス、4週齢、体重20~21g、1群3匹

方法：バリダマイシン原体を50g/Lおよび陽性対照としてペニシリンGを0.3g/Lの濃度で水道水に溶解して給水ビンに入れ、それぞれ14および15日間マウスに自由摂取させた。対照群は水道水を給与した。

試験項目：投与期間中、飲水量および体重を測定し、経時的に糞便中菌叢の変化の観察、盲腸重量（内容物を含む）の測定および盲腸の組織学的検査を行った。

試験結果：結果の概要を次表に示した。

マウス1匹、1日当たりの薬剤摂取量はバリダマイシン原体投与群で約400mg、陽性対照のペニシリンG投与群で約2.4mgであった。

両薬剤投与群とも軟便が認められたが、飲水量および体重増加などに特に影響は認められなかった。

バリダマイシン原体投与群では糞便中の培養可能な細菌数に大きな変化は認められなかったが、ペニシリンG投与群では投与1日後に糞便中の全菌数が減少し、*Bacteroides*、*Lactobacilli*が消失し、*Enterobacteriaceae*、*Streptococci*が急増した。

盲腸の湿重量（内容物を含む）は、両薬剤投与群とも投与1日後から急激に増加し、試験終了時まで持続した。しかし、盲腸乾燥重量（内容物を含む）はほとんど増加せず、湿重量の増加は盲腸内容物の水分の増加によるものと判断された。

盲腸の組織学的検査では、両薬剤投与群とも粘膜固有層に著変は認められなかった  
申請者注1。

また、盲腸の組織細菌学的検査では、Gram-negative tapered rods-fusiform bacteriaがバリダマイシン原体投与マウスでは減少し<sup>申請者注2</sup>、ペニシリンG投与マウスでは検出できなかった。

---

申請者注1：盲腸の組織学的検査結果について

腸粘膜の脱落や出血などの障害性変化を示す所見は認められなかった。

申請者注2：バリダマイシンにおける組織学的な腸粘膜の菌観察における増減について

報告書では、組織学的検査における定量的な判定は行われていない。

## 結果の概要

投与薬剤		無投与	バリダマイシン原体	ペニシリンG	
薬剤摂取量 (mg/日/匹)		0	400	2.4	
動物数		3	3	3	
一般状態		-	翌日より軟便	翌日よりやや軟便	
平均飲水量 (mL)		8.4	8.1	8.3	
盲腸：組織細菌学的検査		-	Fusiform bacteriaの減少	Fusiform bacteria不検出	
盲腸：病理組織学的検査		-	内輪走筋の部分的菲薄化		
盲腸湿重量 対体重比 (内容物を 含む)	体重 (g)	投与1日	20.0	20.0 (100)	21.0 (105)
		投与5日	23.6	25.6 (108)	24.0 (102)
		投与10日	27.3	27.6 (101)	28.0 (103)
		投与14日	30.0	29.6 (99)	28.0 (93)
	湿重量 (mg)	投与1日	323	473 (146)	673 (208)
		投与5日	386	993 (257)	696 (180)
		投与10日	420	983 (234)	763 (182)
		投与14日	476	976 (205)	806 (169)
	湿重量 対体重比 (%)	投与1日	1.6	2.3 (144)	3.2 (200)
		投与5日	1.6	3.8 (238)	2.9 (181)
		投与10日	1.5	3.5 (233)	2.7 (180)
		投与14日	1.5	3.2 (213)	2.8 (187)
盲腸乾燥重量 対湿重量比 (内容物を 含む)	体重 (g)	投与5日	26.6	25.0 (94)	27.6 (104)
		投与10日	30.0	29.3 (98)	29.0 (97)
		投与15日	29.6	30.0 (101)	27.6 (93)
	湿重量 (mg)	投与5日	373	790 (212)	526 (141)
		投与10日	460	1186 (258)	903 (196)
		投与15日	540	1036 (192)	803 (149)
	乾燥重量 (mg)	投与5日	95	118 (124)	98 (103)
		投与10日	143	230 (161)	206 (144)
		投与15日	133	253 (190)	176 (132)
	乾燥重量対 湿重量比 (%)	投与5日	25.4	14.9 (59)	18.6 (73)
		投与10日	31.0	19.3 (62)	22.8 (74)
		投与15日	24.6	24.4 (99)	21.9 (89)

( ) の数値は変動の目安として無投与群を100とした場合の値

## (2) バリダマイシンとアミノサイクリトール系抗生物質との間の交叉耐性に関する試験

(資料 11-2)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1970年

検体：バリダマイシン

検体純度：

試験方法：アミノサイクリトール系の抗生物質であるバリダマイシンと同系統に属する下記4種抗生物質 (KM、DM、DSM および ZM-A) との間の交叉耐性の有無を調べるため、バリダマイシン A あるいは B を 10 mg/mL 含有する、適した斜面培地で下記3種の菌を20代継代培養し、20代目の試験菌の4種抗生物質に対する感受性を寒天希釈法で調べた。

供試抗生物質：

バリダマイシン A、バリダマイシン B

カナマイシン硫酸塩 (KM)、デキストロマイシン塩酸塩 (DM)

ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩 (DSM)、ジゴマイシン (ZM-A)

供試菌：

*Staphylococcus aureus* (*Stap. aureus*)*Escherichia coli* (*E. coli*)*Mycobacterium smegmatis* ATCC607 (*Mycob. smegmatis* ATCC607)

結果：バリダマイシン含有培地上で継代培養した細菌の4種抗生物質に対する耐性はまったく認められなかった。

	最小生育阻止濃度 (μg/mL)			
	KM	DM	DSM	ZM-A
<i>Stap. aureus</i>	0.7	0.1	1~3	0.5
<i>Stap. aureus</i> -VM-A*	0.7	0.1	1~3	0.5
<i>Stap. aureus</i> -VM-B**	0.7	0.1	1~3	0.5
<i>E. coli</i>	1	1	1~3	7
<i>E. coli</i> -VM-A*	1	1	1~3	7
<i>E. coli</i> -VM-B**	1	1	1~3	7
<i>Mycob. smegmatis</i> ATCC607	1	0.3	0.5	1
<i>Mycob. smegmatis</i> ATCC607-VM-A*	1	0.3	0.5	1
<i>Mycob. smegmatis</i> ATCC607-VM-B**	1	0.3	0.5	1

注) \*：VM-A はバリダマイシン A 含有培地で継代培養したもの

\*\*：VM-B はバリダマイシン B 含有培地で継代培養したもの

以上のごとく、バリダマイシンは *in vitro* で抗菌性がなく、また、上記4種の細菌のカナマイシン硫酸塩、デキストロマイシン塩酸塩、ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩およびジゴマイシンに対する耐性を獲得させなかった。

B. 代謝物を用いた試験成績

(1) バリダマイシン代謝物バリドキシルアミンAの細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 代1)

試験機関：住友化学株式会社

報告書作成年：2014年

検体：バリダマイシン代謝物バリドキシルアミンA

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。  
検体は滅菌精製水に溶解し、試験は2連制とし、プレインキュベーション法により用量設定試験および本試験を各1回実施した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS9 mixの有無にかかわらず、5000 µg/プレートの濃度まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を溶媒対照群の2倍以上にかつ用量依存的に増加させることはなかった。

一方、陽性対照として用いた2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジンおよび2-アミノアントラセンでは各試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、バリダマイシン代謝物バリドキシルアミンAは代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断された。



用量設定試験

(表中の数値は2反復の平均値)

薬物	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	
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537
溶媒対照 (滅菌精製水)	0	-	17	95	6	18	9
バリドキシ ルアミンA	15.0	-	17	94	7	14	11
	50.0	-	13	107	7	20	5
	150	-	17	92	7	19	7
	500	-	14	91	7	18	8
	1500	-	14	91	4	15	8
	5000	-	19	87	5	17	3
溶媒対照 (滅菌精製水)	0	+	17	96	9	26	12
バリドキシ ルアミンA	15.0	+	24	86	6	30	13
	50.0	+	21	90	8	33	12
	150	+	23	84	6	32	16
	500	+	25	87	6	30	9
	1500	+	23	96	7	33	13
	5000	+	21	109	9	28	16
陽性 対照	AF-2	0.01	-	115	577		
		0.1	-			327	
	Na-azide	0.5	-			275	
	9-AA	80	-				430
	2-AA	10	+	405			
		1	+		636		
		2	+			187	120
0.5		+			220		

陽性対照物質

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

Na-azide : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

本試験

(表中の数値は2反復の平均値)

薬物	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	
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537
溶媒対照 (滅菌精製水)	0	-	22	78	11	16	7
バリドキシ ルアミンA	156	-	14	94	6	24	5
	313	-	17	85	5	18	3
	625	-	23	82	7	18	6
	1250	-	15	86	4	13	3
	2500	-	20	81	4	12	4
	5000	-	22	91	6	12	8
溶媒対照 (滅菌精製水)	0	+	22	89	7	29	11
バリドキシ ルアミンA	156	+	23	101	5	26	8
	313	+	23	92	7	31	9
	625	+	20	89	8	27	14
	1250	+	26	93	7	36	7
	2500	+	17	93	4	29	12
	5000	+	18	100	6	34	11
陽性 対照	AF-2	0.01	-	91	480		
		0.1	-			291	
	Na-azide	0.5	-			276	
	9-AA	80	-				415
	2-AA	10	+	232			
		1	+		662		
		2	+			207	144
0.5		+			245		

陽性対照物質

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

Na-azide : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

C. 製剤を用いた試験成績

1. バリダマイシン 3%液剤

(1) バリダマイシン 3%液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製1-1)

試験機関：慶應義塾大学薬化学研究所

日本実験医学研究社

報告書作成年：1978年

検体：バリダマイシン 3%液剤 (バリダシン液剤)

検体純度：3%液剤

[組成]	バリダマイシン	3.0%
	展着剤、色素、水等	97.0%

供試動物：Wistar系雄ラット、11週齢、体重230~260g、1群10匹

観察期間：7日間

投与方法：検体を単回強制経口投与した。投与液量は5 mL/kgとした。(申請者注：投与前の絶食の有無については報告書に記載がなかった。)

観察・検査項目：症状および生死を7日間観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5088
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 5088
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	投与後10~15分から発現 投与後5時間に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5088
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5088

症状として、一過性の自発運動低下が認められた。

剖検では異常は認められなかった。

## (2) バリダマイシン 3%液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製1-2)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体：バリダマイシン 3%液剤 (バリダシン液剤)

検体純度：3%液剤

[組成]	バリダマイシン	3.0%
	展着剤、色素、水等	97.0%

供試動物：SD系ラット、6週齢、平均体重；雄 226.9 g、雌 165.4 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を蒸留水で希釈し、金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。(申請者注：投与前の絶食の有無については報告書に記載がなかった。)

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検では異常は認められなかった。

(3) バリダマイシン 3%液剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製1-3)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体：バリダマイシン 3%液剤 (バリダシン液剤)

検体純度：3%液剤

[組成]	バリダマイシン	3.0%
	展着剤、色素、水等	97.0%

供試動物：ICR系マウス、6週齢、平均体重；雄 32.6 g、雌 25.1 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を蒸留水で希釈し、金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。(申請者注：投与前の絶食の有無については報告書に記載がなかった。)

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検では異常は認められなかった。

(4) バリダマイシン 3%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製1-4)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体：バリダマイシン 3%液剤 (バリダシン液剤)

検体純度：3%液剤

[組成]	バリダマイシン	3.0%
	展着剤、色素、水等	97.0%

供試動物：SD系ラット、7週齢、平均体重；雄 250.2 g、雌 178.5 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を塗布した綿布 (4 × 5 cm) を剪毛した背部 (5 × 6 cm) に貼付し、絆創膏で固定した。適用 24 時間後に綿布を除去し、適用部位を微温湯で洗浄しガーゼで拭き取った。対照群には検体を除き同様の処置をした。

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

症状および死亡は認められなかった。

体重では異常は認められなかった。

剖検では適用部位の皮膚を含め異常は認められなかった。

## (5) バリダマイシン 3%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製1-5)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1985年

検体：バリダマイシン 3%液剤 (バリダシン液剤)

検体純度：3%液剤

[組成]	バリダマイシン	3.0%
	展着剤、色素、水等	97.0%

供試動物：日本白色種雄ウサギ、週齢は報告書に記載なし、体重 2.22~2.35 kg、1群6匹

観察期間：検体除去後 72 時間

投与方法：動物の背部を剪毛し、2 cm × 3 cm の試験部位を左右 2 ヶ所に設定した。右側には検体 0.5 mL を塗布したガーゼ (2 cm × 3 cm) を、左側には対照としてガーゼのみを適用し、ともにサージカルテープで閉塞貼付した。検体は適用 4 時間後に除去した。

観察項目：検体除去 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、浮腫) の有無等を観察し、農林水産省のガイドライン (59 農蚕第 4200 号) に示された判定基準に従って採点した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、検体除去 24、48 および 72 時間後に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点の結果を次項の表に示した。

非常に軽微な紅斑が検体除去 24 時間後では 6 例中 5 例に、48 時間後では 6 例中 3 例に認められたが、72 時間後には消失した。

一般状態および体重で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、バリダマイシン 3%液剤はウサギの皮膚に対して、ごく軽度の刺激性があると判断された<sup>申請者注</sup>。

## 申請者注：刺激性の判定について

Draize 法<sup>1, 2, 3)</sup>に従うと『ごく軽度の刺激性あり』に分類されるため、本剤はウサギの皮膚に対してごく軽度の刺激性ありと判断した。

<sup>1)</sup> Draize, J. H., Woodard, G. and Calvery, H. O. : J. Pharmacol. Exp. Therap., 82, 377-390, (1944)

<sup>2)</sup> G. A. Nixon et al. Toxicological and Applied Pharmacology. 31, 481-490, (1975)

<sup>3)</sup> J. H. Draize, Dermal Toxicity, Appraisal of the safety of chemicals in foods, drugs, and cosmetics, Association of food and drug officials of the United States, Texas State Department of Health, 46-59, Texas, 1959.

表 バリダマイシン 3%液剤のウサギの皮膚に対する局所反応の強さ

動物 番号	項 目	最高 評点	検体除去後経過時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	5	3	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0.8	0.5	0
	浮腫	4	0	0	0	0



(6) バリダマイシン 3%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製 1 - 6)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1985年

検 体：バリダマイシン 3%液剤 (バリダシン液剤)

検体純度：3%液剤

[組成]	バリダマイシン	3.0%
	展着剤、色素、水等	97.0%

供試動物：日本白色種雄ウサギ、週齢は報告書に記載なし、体重 2.24~2.55 kg、  
非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体 0.1 mL を右眼に適用し、左眼は対照とした。洗眼群 3 匹は適用 2 分後に約  
20 mL の生理食塩水で洗眼した。非洗眼群 6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農  
林水産省のガイドライン (59 農蚕第 4200 号) に示された判定基準に従って採点  
した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、適用 24、48 および 72 時間  
後に測定した。

結 果：観察した刺激性変化の採点の結果を表 1 および 2 に示した。

非洗眼群では、適用 1 時間後に結膜における多少の血管の充血が 6 例全例に、  
また結膜におけるわずかな腫脹が 6 例中 5 例に認められたが、適用 48 時間後  
には全て消失した。

洗眼群では、適用 1 時間後に結膜における多少の血管の充血およびわずかな腫  
脹が 3 例中 2 例に認められたが、適用 24 時後に結膜浮腫が、適用 48 時間後  
に結膜発赤が、それぞれ全て消失した。

一般症状および体重に異常は認められなかった。

以上の結果から、バリダマイシン 3%液剤はウサギの眼に対して軽微な結膜の発赤 (充血)  
および腫脹がみられたが、一次刺激性はないと考えられた<sup>申請者注</sup>。

申請者注：刺激性の判定および洗浄効果について

報告書では刺激性はないと結論されているが、Kay & Calandra の評価基準<sup>1)</sup>に従うと『ごく軽度の刺激性あり』に分類されるため、本剤はウサギの眼に対してごく軽度の刺激性ありと判断した。

洗眼群では、非洗眼群に比べ、反応が低減していたことから、洗浄効果はあると判断した。

1) J. H. Kay, and J. C. Calandra, Journal of the society of cosmetic chemists, 13: 281-289, 1962.

表1 バリダマイシン3%液剤のウサギの眼に対する局所反応の強さ(非洗眼群)

項 目		最高 評点	適用後経過時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 2	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 3	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 4	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	0	0
	動物 番号 5	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 6	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
合 計		78	11	6	0	0		
平 均		13	1.8	1.0	0	0		

表2 バリダマイシン3%液剤のウサギの眼に対する局所反応の強さ(洗眼群)

項 目		最高 評点	適用後経過時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	4	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0.7	0.3	0	0
		浮腫	4	0.7	0	0	0
	合 計		13	4	1	0	0

2. バリダマイシン 5%液剤

(1) バリダマイシン 5%液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製2-1)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体：バリダマイシン 5%液剤 (バリダシン液剤 5)

検体純度：5%液剤

[組成] バリダマイシン 5.0%  
水、界面活性剤、色素等 95.0%

供試動物：Wistar系ラット、6週齢、平均体重；雄 175.0 g、雌 144.2 g、1群雌雄各 10匹  
観察期間：14日間

投与方法：検体を蒸留水で希釈し、金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与量は 10 mL/kg とした。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。(申請者注：投与前の絶食の有無については報告書に記載がなかった。)

観察・検査項目：症状および生死を 14日間観察した。体重は投与前、投与後 3、7、10 および 14日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検では異常は認められなかった。

## (2) バリダマイシン 5%液剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製2-2)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体：バリダマイシン 5%液剤 (バリダシン液剤 5)

検体純度：5%液剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	水、界面活性剤、色素等	95.0%

供試動物：ICR系マウス、6週齢、平均体重；雄 34.0 g、雌 26.0 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を蒸留水で希釈し、金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。(申請者注：投与前の絶食の有無については報告書に記載がなかった。)

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検では異常は認められなかった。

(3) バリダマイシン 5%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製 2-3)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検 体：バリダマイシン 5%液剤 (バリダシン液剤 5)

検体純度：5%液剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	水、界面活性剤、色素等	95.0%

供試動物：Wistar系ラット、7週齢、平均体重；雄 217.0 g、雌 165.6 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を塗布したリント布 (4 × 5 cm) を剪毛した背部 (5 × 6 cm) に貼付し、サージカルテープで固定した。適用 24 時間後にリント布を除去し、適用部位を微温湯で洗浄しガーゼで拭き取った。対照群には検体を除き同様の処置をした。

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

症状および死亡は認められなかった。

体重では異常は認められなかった。

剖検では、適用部位の皮膚を含め異常は認められなかった。

## (4) バリダマイシン 5%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製2-4)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体：バリダマイシン 5%液剤 (バリダシン液剤 5)

検体純度：5%液剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	水、界面活性剤、色素等	95.0%

供試動物：日本白色種雄ウサギ、11~13週齢、体重 2.22~2.50 kg、1群6匹

観察期間：検体除去後 72 時間

投与方法：動物の背部を剪毛し、2 cm × 3 cm の試験部位を左右 2 ヶ所に設定した。右側には検体 0.5 mL を塗布したリント布 (2 cm × 3 cm) を、左側には対照としてリント布のみを適用し、ともにサージカルテープで閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚表面に付着した検体は蒸留水を含ませた脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目：検体除去 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、浮腫) の有無等を観察し、農林水産省のガイドライン (59 農蚕第 4200 号) に示された判定基準に従って採点した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、検体除去 24、48 および 72 時間後に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点の結果を次項の表に示した。

適用部位に、検体によると思われる着色が全例で認められたが、その他の異常は認められなかった。

一般状態および体重で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、バリダマイシン 5%液剤はウサギの皮膚に対して、刺激性なしと判断された。

表 バリダマイシン 5%液剤のウサギの皮膚に対する局所反応の強さ

動物 番号	項 目	最高 評点	検体除去後経過時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
11	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
12	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
13	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
14	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
15	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
16	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

(5) バリダマイシン 5%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製2-5)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体：バリダマイシン 5%液剤 (バリダシン液剤 5)

検体純度：5%液剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	水、界面活性剤、色素等	95.0%

供試動物：日本白色種雄ウサギ、11~13週齢、体重 2.21~2.70 kg、非洗眼群 6匹、洗眼群 3匹

観察期間：72時間

投与方法：検体 0.1 mL を右眼に適用し、左眼は対照とした。洗眼群 3匹は適用 2分後に約 20 mL の生理食塩水で洗眼した。非洗眼群 6匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省のガイドライン (59 農蚕第 4200 号) に示された判定基準に従って採点した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、適用 24、48 および 72 時間後に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点の結果を表 1 および 2 に示した。

洗眼群、非洗眼群ともに適用 1 時間後、全例に結膜における多少の血管の明らかな充血が認められたが、24 時間後に全て消失した。

一般症状および体重に異常は認められなかった。

以上の結果から、バリダマイシン 5%液剤はウサギの眼に対して、結膜の充血がみられたが、陽性効果に至らない軽微なものと考えられ、眼一次刺激性はないと判断された<sup>申請者注</sup>。

申請者注：刺激性の判定および洗浄効果について

報告書では刺激性はないと結論されているが、Kay & Calandra の評価基準<sup>1)</sup>に従うと『實際上刺激性なし』に分類されるため、本剤はウサギの眼に対して實際上刺激性なしと判断した。

洗眼群の反応は、非洗眼群と同等であったことから洗眼効果はなしと判断した。

<sup>1)</sup> J. H. Kay, and J. C. Calandra, Journal of the society of cosmetic chemists, 13: 281-289, 1962.



表1 バリダマイシン5%液剤のウサギの眼に対する局所反応の強さ（非洗眼群）

項 目		最高 評点	適用後経過時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 4	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 5	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 6	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0
合 計		78	6	0	0	0		
平 均		13	1.0	0	0	0		

表2 バリダマイシン5%液剤のウサギの眼に対する局所反応の強さ（洗眼群）

項 目		最高 評点	適用後経過時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	4	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	合 計		13	3	0	0	0

## (6) バリダマイシン 5%液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製2-6)

試験機関: Safeparm Laboratories Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体: バリダマイシン 5%液剤 (バリダシン液剤 5)

検体純度: 5%液剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	水、界面活性剤、色素等	95.0%

供試動物: Hartley 系雌モルモット、投与開始時週齢: 約 6~8 週齢、

投与開始時体重 271~342 g、1 群 20 匹 (検体処置群) および 10 匹 (無処置群)

観察期間: 感作開始後 30 日間

試験操作: [Buehler 法]

投与量設定根拠; 予備試験では蒸留水を用いて 4 用量 (100、75、50、25%) とした検体を局所適用した結果、感作時の適用濃度は過度の炎症または刺激性を生じさせなかった最高濃度である検体の原液、惹起時の適用濃度は炎症または刺激性を生じさせなかった最高濃度である検体の原液とした。

感作; 肩部を剪毛し、検体 0.5 mL をしみこませたリント布 (約 1.5 × 3.5 cm) を 6 時間閉塞貼付した。感作処置は、週 1 回の割合で、合計 3 回実施した。無処置群には検体を除き同様の処置を行った。

惹起; 最終感作の 2 週間後、剪毛した両腹側部 (約 5 × 7 cm) の右側に検体 0.2 mL をしみこませた濾紙 (約 2 × 2 cm) を左側には対照パッチを 6 時間閉塞貼付した。

観察項目: 惹起貼付除去後 24 時間および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察して、以下の基準に従って採点した。体重は投与開始前および試験終了時に測定した。

評点	判定基準
0	反応なし
1	散在している軽度の発赤
2	中等度のび慢性発赤
3	強度の発赤および腫脹

結果:各観察時間における感作変化が認められた動物数およびその評点を次表に示した。  
 検体処置群および無処置群では、惹起 24 および 48 時間後のいずれの観察においても適用部位に紅斑、浮腫等の皮膚反応は認められなかった。  
 体重では検体処置群と無処置群の増加量は同程度であった。  
 なお、陽性対照（40%ホルムアルデヒド水溶液）を用いた試験（Safepharm Laboratories Ltd.、試験期間 1988 年 6 月 21 日～1988 年 7 月 21 日、感作 50%、惹起 40%の濃度で実施）において、陽性対照処置群の陽性率は 100%であった。

以上の結果から、バリダマイシン 5%液剤は本試験条件下で皮膚感作性陰性と判定した。

	群			感作反応動物数										陽性率 (%)		
	供試動物数	感作	惹起	24 時間					48 時間					時間		合計
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	24	48	
				0	1	2	3		0	1	2	3				
検体	20	検体	検体	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
		検体	—	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
対照	10	—	検体	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0
		—	—	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0

検体：バリダマイシン 5%液剤

—：パッチのみ適用

### 3. バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル)

#### (1) バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) のラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 製3-1)

試験機関：(株) ポゾリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検 体：バリダマイシン 5%水和剤 (ブラシンバリダゾル)

検体純度：5%水和剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	フェリムゾン	20.0%
	フサライド	15.0%
	水、界面活性剤等	60.0%

供試動物：SD 系雌ラット、8 週齢、体重 173~185 g、1 群 3 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体を蒸留水で希釈して所定濃度に調製後、投与前に約 16 時間絶食させた動物に、胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。

試験方法：毒性等級法

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 1、3、7 および 14 日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	300、300、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000
死亡開始時間 および終了時間	投与後 4 時間から開始 投与後 6 時間に終了
症状発現時間 および消失時間	投与後 15 分から発現 投与翌日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	< 300 (全ての投与群で症状が認められた。)
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

2000 mg/kg 投与群は投与後約 4 から 6 時間に全例が死亡した。症状としては、

自発運動減少、よろめき歩行が全例に、腹臥／横臥および呼吸数の減少が認められた。

300 mg/kg 投与群では投与 2 時間までに自発運動減少やよろめき歩行が認められたが投与翌日には回復した。

生存例の体重ならびに剖検所見に異常は認められなかった。

(2) バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 製3-2)

試験機関：(株) ポソリサーチセンター  
[GLP 対応]

報告書作成年：2007年

検体：バリダマイシン 5%水和剤 (ブラシンバリダゾル)

検体純度：5%水和剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	フェリムゾン	20.0%
	フサライド	15.0%
	水、界面活性剤等	60.0%

供試動物：SD系ラット、8週齢、体重；雄 271~283 g、雌 215~226 g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間観察

投与方法：検体を、刈毛した背部皮膚約 30 cm<sup>2</sup> (5 × 6 cm) にリント布約 20 cm<sup>2</sup> (4 × 5 cm) を用いて塗布した後、粘着性伸縮テープで24時間被覆固定した。塗布24時間後に皮膚に残った検体を温水で湿らせたガーゼを用いて拭き取った。

観察・検査項目：症状および生死を14日間観察した。体重は投与直前、投与後3、7および14日に測定した。死亡動物および試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

死亡および症状は認められなかった。

体重および投与部位の皮膚を含めた剖検所見にも異常は認められなかった。

(3) バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製3-3)

試験機関：(株) ポゾリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検 体：バリダマイシン 5%水和剤 (ブラシンバリダゾル)

検体純度：5%水和剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	フェリムゾン	20.0%
	フサライド	15.0%
	水、界面活性剤等	60.0%

供試動物：日本白色種雌ウサギ、18 週齢、体重 2.92~3.22 kg、1 群 3 匹

観察期間：検体除去後 72 時間

投与方法：検体 0.5mL をリント布 (2.5 cm × 2.5 cm) に均一に塗布して、背部皮膚に貼付し適用した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚表面に付着した検体は注射用水を用いて拭き取った。

観察項目：検体除去 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、浮腫) の有無等を観察し、Draize 法の基準に従って採点した。また、一般状態を適用直後、1、4、5 時間後に、その後は適用 3 日後まで 1 日 1 回、観察した。体重は検体適用前および適用 3 日後に測定した。

結 果：観察した刺激性変化の採点の結果を次項の表に示した。

観察期間を通じて、皮膚の刺激性変化は認められなかった。また、試験期間中、一般状態および体重に異常は認められなかった。

以上の結果より、バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) はウサギの皮膚に対して、刺激性はないと判断された。

表 バリダマイシン 5%水和剤(ゾル)のウサギの皮膚に対する局所反応の強さ

動物番号	項目	最高 評点	検体除去後経過時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
1101	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0



## (4) バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製3-4)

試験機関：(株) ポソリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検 体：バリダマイシン 5%水和剤 (ブラシンバリダゾル)

検体純度：5%水和剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	フェリムゾン	20.0%
	フサライド	15.0%
	水、界面活性剤等	60.0%

供試動物：日本白色種雌ウサギ、1群各3匹

非洗眼群；使用時週齢；15週齢、使用時体重；2.43～2.51 kg

洗眼群；使用時週齢；15週齢、使用時体重；2.38～2.43 kg

観察期間：96時間

投与方法：検体 0.1mL を、非洗眼群および洗眼群の各3匹、計6匹の左眼に適用した。洗眼群については適用30秒後に100mLの注射用水で30秒間洗眼した。各群の右眼は対照眼とした。

観察項目：適用1、24、48、72および96時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法の基準に従って採点し、Kay and Calandraの方法に従って刺激性を評価した。また、一般状態を適用6時間後まで1時間ごとに、その後は適用4日後まで1日1回、観察した。体重は検体適用前および適用4日後に測定した。

結 果：観察した刺激性変化の採点の結果を表1および2に示した。

非洗眼群では、適用1時間後に結膜発赤(評点1)、結膜浮腫(評点1)および分泌物(評点2)が全例に認められた。適用24時間後には上記の変化に加えて、角膜混濁(評点程度；1、面積；1)が2/3例に認められた。しかし、適用48時間後に結膜浮腫が、適用72時間後に角膜混濁および分泌物が、適用96時間後に結膜発赤が、それぞれ全て消失した。虹彩の異常は認められなかった。眼のその他の変化では、投与直後に閉眼が全例で認められた。非洗眼群の平均合計評点の最大値(MMTS)は投与24時間後の10.0であったが、投与48時間後までに刺激反応が消失しなかったため、Kay and Calandraの区分による検体の刺激性の程度は「軽度の刺激性あり」と評価された。

洗眼群では、適用1時間後に結膜発赤(評点1)および分泌物(評点1)が全例に、結膜浮腫(評点1)が2/3例に認められた。しかし、これらの結膜の変化は適用24時間後に全て消失した。角膜と虹彩に異常は認められず、眼のその他の

変化も認められなかった。洗眼群の MMTS は投与 1 時間後の 5.3 であった。洗眼群の刺激反応は非洗眼群に比べて軽度であり、回復性も良好であったことから、洗眼効果があると判断された。

以上の結果から、バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) はウサギの眼に対して軽度の刺激性があると判断されたが、洗眼により刺激性が軽減するものと考えられた。

表 1 バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) のウサギの眼に対する局所反応の強さ (非洗眼群)

項	目	最高 評点※	適用後経過時間						
			1時間	24時間	48時間	72時間	96時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 1101	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0
			面積	4	0	1	1	0	0
		虹	彩	2	0	0	0	0	0
			結膜	発赤	3	1	2	1	1
		浮腫		4	1	1	0	0	0
		分泌物		3	2	2	1	0	0
	動物 番号 1102	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0
		虹	彩	2	0	0	0	0	0
			結膜	発赤	3	1	1	1	0
		浮腫		4	1	0	0	0	0
		分泌物		3	2	1	0	0	0
	動物 番号 1103	角膜 混濁	程度	4	0	1	0	0	0
			面積	4	0	1	0	0	0
		虹	彩	2	0	0	0	0	0
			結膜	発赤	3	1	1	1	0
		浮腫		4	1	1	0	0	0
		分泌物		3	2	1	0	0	0
3匹の合計点			330	24	30	13	2	0	
平均合計点 (MTS) *			110	8.0	10.0	4.3	0.7	0	

※ : 判定基準の最高評点

\* : Draize 法による点数 (最高 110 点/匹)

表 2 バリダマイシン 5%水和剤(ゾル)のウサギの眼に対する局所反応の強さ (洗眼群)

項 目			最高 評点※	適用後時間 (時間)				
				1	24	48	72	96
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	0	0	0	0
		浮腫	4	0.7	0	0	0	0
		分泌物	3	1.0	0	0	0	0
	平均合計点 (MTS) *			110	5.3	0	0	0

※ : 判定基準の最高評点

\* : Draize 法による点数 (最高 110 点/匹)

## (5) バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 製3-5)

試験機関：(株) ポゾリサーチセンター  
[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検 体：バリダマイシン 5%水和剤 (ブラシンバリダゾル)

検体純度：5%水和剤

[組成]	バリダマイシン	5.0%
	フェリムゾン	20.0%
	フサライド	15.0%
	水、界面活性剤等	60.0%

供試動物：Hartley 系雌モルモット、投与開始時週齢：5~6 週齢、

投与開始時体重：305~380g、1 群 20 匹 (検体処置群) および 10 匹 (対照群)

観察期間：感作開始後 30 日間

試験操作：[Buehler 法]

投与量設定根拠；

感作； 前日に動物の左側胸部を 5×5cm の大きさに刈毛・剃毛し、その翌日、検体の原液 0.2mL を直径 2.5cm のパッチに塗布して 6 時間閉塞貼布した。初回感作より 7 日および 14 日後に同様に処置して、計 3 回感作を行った。対照群は注射用水で感作処置した。

惹起； 最終感作の 13 日後に動物の右側胸部を 5×5cm の大きさに刈毛・剃毛し、その翌日、検体の原液 0.2mL を直径 2.5cm のパッチに塗布して 6 時間閉塞貼布した。

観察項目：惹起貼付除去後 24 時間および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察して、以下の Magnusson & Kligman 法の評価基準により採点した。また、一般状態を観察終了日まで 1 日 1 回観察し、体重を感作開始日、最終感作日、惹起日および観察終了日に測定した。

評点	判定基準
0	肉眼的変化なし
1	散在又は斑状の紅斑
2	中等度びまん性紅斑
3	強い紅斑と浮腫

結果:各観察時間における感作変化が認められた動物数およびその評点を次表に示した。  
 検体処置群および対照群では、惹起 24 および 48 時間後のいずれの観察においても適用部位に紅斑および浮腫等の皮膚反応は認められなかった。  
 一般状態および体重には検体適用による影響は認められなかった。  
 なお、陽性対照 (DNCB: 1-Chloro-2, 4-dinitrobenzene) を用いた試験 (株式会社ボゾリサーチセンター、試験期間: 2006 年 7 月 6 日~2006 年 9 月 29 日、感作 1%、惹起 0.25%の濃度で実施) において、DNCB 処理群の陽性率は 100%であった。

以上の結果から、バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) は本試験条件下で皮膚感作性陰性と判定した。

	群		供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)				
	感作	惹起		24 時間					48 時間					時間		合計		
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	24	48			
				0	1	2	3		0	1	2	3						
検体	検体	検体	20	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0
対照	注射用水	検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0	0	

検体:バリダマイシン 5%水和剤 (ゾル) 原液 (100%)

## 4. バリダマイシン 0.3%粉剤

## (1) バリダマイシン 0.3%粉剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製4-1)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体：バリダマイシン 0.3%粉剤 (バリダシン粉剤 DL)

検体純度：0.3%粉剤

[組成]	バリダマイシン	0.3%
	鉱物質微粉、凝集剤等	99.7%

供試動物：Wistar系ラット、6週齢、平均体重；雄 185.8 g、雌 141.1 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁し、金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 20 mL/kg とした。対照群には 0.5% CMC-Na 溶液のみを同様に投与した。(申請者注：投与前の絶食の有無については報告書に記載がなかった。)

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検では異常は認められなかった。

(2) バリダマイシン 0.3%粉剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製4-2)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体：バリダマイシン 0.3%粉剤 (バリダシン粉剤 DL)

検体純度：0.3%粉剤

[組成]	バリダマイシン	0.3%
	鋳物質微粉、凝集剤等	99.7%

供試動物：ICR系マウス、6週齢、平均体重；雄 31.9 g、雌 26.9 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁し、金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 20 mL/kg とした。対照群には 0.5% CMC-Na 溶液のみを同様に投与した。(申請者注：投与前の絶食の有無については報告書に記載がなかった。)

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検では異常は認められなかった。

(3) バリダマイシン 0.3%粉剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製4-3)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体：バリダマイシン 0.3%粉剤 (バリダシン粉剤 DL)

検体純度：0.3%粉剤

[組成]	バリダマイシン	0.3%
	鋳物質微粉、凝集剤等	99.7%

供試動物：Wistar系ラット、7週齢、平均体重；雄 215.5 g、雌 161.6 g、1群雌雄各 10匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を蒸留水で湿らせて綿布 (4 × 5 cm) に塗布し、剪毛した背部 (5 × 6 cm) に貼付して絆創膏で固定した。適用 24 時間後に綿布を除去し、適用部位を微温湯で洗浄しガーゼで拭き取った。対照群には検体を除き同様の処置をした。

観察・検査項目：症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7、10 および 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

症状および死亡は認められなかった。

体重では異常は認められなかった。

剖検では、適用部位の皮膚を含め異常は認められなかった。



(4) バリダマイシン 0.3%粉剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製4-4)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1985年

検体：バリダマイシン 0.3%粉剤 (バリダシン粉剤 DL)

検体純度：0.3%粉剤

[組成]	バリダマイシン	0.3%
	鉱物質微粉、凝集剤等	99.7%

供試動物：日本白色種雄ウサギ、週齢は報告書に記載なし、体重 2.20~2.45 kg、1群6匹

観察期間：検体除去後 72 時間

投与方法：動物の背部を剪毛し、2 cm × 3 cm の試験部位を左右 2 ヲ所に設定した。右側には検体 0.5 g を蒸留水で湿らせ塗布したガーゼ (2 cm × 3 cm) を、左側には対照としてガーゼのみを適用し、ともにサージカルテープで閉塞貼付した。検体は適用 4 時間後に除去した。

観察項目：検体除去 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、浮腫) の有無等を観察し、農林水産省のガイドライン (59 農蚕第 4200 号) に示された判定基準に従って採点した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、検体除去 24、48 および 72 時間後に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点の結果を次項の表に示した。

非常に軽微な紅斑が検体除去 24 時間後では 6 例中 3 例に、48 時間後では 6 例中 2 例に認められたが、72 時間後には消失した。

一般状態および体重で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、バリダマイシン 0.3%粉剤はウサギの皮膚に対して、ごく軽度の刺激性ありと判断された<sup>申請者注</sup>。

申請者注：刺激性の判定について

Draize 法<sup>1, 2, 3)</sup>に従うと『ごく軽度の刺激性あり』に分類されるため、本剤はウサギの皮膚に対してごく軽度の刺激性ありと判断した。

<sup>1)</sup> Draize, J. H., Woodard, G. and Calvery, H. O. : J. Pharmacol. Exp. Therap., 82, 377-390, (1944)

<sup>2)</sup> G. A. Nixon et. al. Toxicological and Applied Pharmacology. 37, 481-490, (1975)

<sup>3)</sup> J. H. Draize, Dermal Toxicity, Appraisal of the safety of chemicals in foods, drugs, and cosmetics, Association of food and drug officials of the United States, Texas State Department of Health, 46-59, Texas, 1959.

表 バリダマイシン 0.3%粉剤のウサギの皮膚に対する局所反応の強さ

動物 番号	項 目	最高 評点	検体除去後経過時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	3	2	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0.5	0.3	0
	浮腫	4	0	0	0	0

(5) バリダマイシン 0.3%粉剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製4-5)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1985年

検体：バリダマイシン 0.3%粉剤 (バリダシン粉剤 DL)

検体純度：0.3%粉剤

[組成]	バリダマイシン	0.3%
	鉱物質微粉、凝集剤等	99.7%

供試動物：日本白色種雄ウサギ、週齢は報告書に記載なし、体重 2.20~2.43 kg、

非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体 0.1 g を右眼に適用し、左眼は対照とした。洗眼群 3 匹は適用 2 分後に約 20 mL の生理食塩水で洗眼した。非洗眼群 6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省のガイドライン (59 農蚕第 4200 号) に示された判定基準に従って採点した。一般状態もあわせて観察し、体重を適用前、適用 24、48 および 72 時間後に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点の結果を表 1 および 2 に示した。

非洗眼群では、適用 1 時間後に結膜における多少の血管の充血が 6 例全例に、また結膜におけるわずかな腫脹が 6 例中 5 例に認められた。しかし、適用 24 時間後に結膜発赤が、適用 72 時間後に結膜浮腫が、それぞれ全て消失した。

洗眼群では、適用 1 時間後に結膜における多少の血管の充血およびわずかな腫脹が 3 例全例に認められた。しかし、適用 24 時間後に結膜浮腫が、適用 48 時間後に結膜発赤が、それぞれ全て消失した。

一般症状および体重に異常は認められなかった。

以上の結果から、バリダマイシン 0.3%粉剤はウサギの眼に対して軽微な結膜の発赤 (充血) および腫脹がみられたが、眼一次刺激性はないと判断された<sup>申請者注</sup>。

申請者注：刺激性の判定および洗浄効果について

報告書では刺激性はないと結論されているが、Kay & Calandra の評価基準<sup>1)</sup>に従うと『軽度の刺激性あり』に分類されるため、本剤はウサギの眼に対して軽度の刺激性ありと判断した。

洗眼群では、非洗眼群に比べ、反応は低減し、回復時期も 1 日早かったことから、洗浄効果はあると判断した。

<sup>1)</sup> J. H. Kay, and J. C. Calandra, Journal of the society of cosmetic chemists, 13: 281-289, 1962.

表1 バリダマイシン 0.3%粉剤のウサギの眼に対する局所反応の強さ（非洗眼群）

項 目		最高 評点	適用後経過時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 2	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 3	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	0
			浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 4	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 5	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
	動物 番号 6	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
合 計		78	11	5	2	0		
平 均		13	1.8	0.8	0.3	0		

表2 バリダマイシン 0.3%粉剤のウサギの眼に対する局所反応の強さ（洗眼群）

項 目		最高 評点	適用後経過時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	4	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	0.7	0	0
		浮腫	4	1.0	0	0	0
	合 計		13	6	2	0	0

(6) バリダマイシン 0.3%粉剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製4-6)

試験機関：(株)臨床医科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1988年

検体：バリダマイシン 0.3%粉剤 (バリダシン粉剤 DL)

検体純度：0.3%粉剤

[組成]	バリダマイシン	0.3%
	鋳物質微粉、凝集剤等	99.7%

供試動物：Hartley系雄モルモット、投与開始時週齢：5週齢、投与開始時体重 270~338 g、  
1群 15匹 (検体処置群、検体対照群および無処置群) および 10匹 (陽性対照物質処置群および陽性対照物質対照群)

観察期間：感作開始後 31日間

試験操作：[Buehler法]

投与量設定根拠；

感作； 前日に左腹側部 (5 × 5 cm) を刈毛・剃毛し、検体処置群には検体の 25%白色ワセリン混合物を、陽性対照物質処置群には 1% DNCB の白色ワセリン混合物を、検体対照群および陽性対照物質対照群には白色ワセリンを、いずれも 0.5 g 塗布したリント布 (2 × 2 cm) を 6 時間閉塞貼付した。感作処置は、週 1 回の割合で、合計 3 回実施した。無処置群に対しては感作処置を行わなかった。

惹起； 最終感作の 2 週間後、前日に刈毛・剃毛した右腹側部 (5 × 5 cm) に、検体処置群、検体対照群および無処置群は検体の 1%白色ワセリン混合物 0.5 g を、陽性対照物質処置群および陽性対照物質対照群は 0.1% DNCB の 40%エタノール溶液 0.5 mL をリント布 (2 × 2 cm) に塗布し、24 時間閉塞貼付した。

観察項目：惹起貼付除去後 24 時間および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察して、以下の基準に従って採点した。

評点	判定基準
0	無反応
1	まばらな軽い紅斑
2	中等度の紅斑
3	強度の紅斑および浮腫

検体処置群および陽性対照物質処置群の動物について、皮膚反応を示した動物の比率（皮膚反応の出現率）を求め、この値から皮膚刺激のみにて惹起されたそれぞれの対照群である検体対照群および陽性対照物質対照群の皮膚反応出現率を差し引いた値を感作率とし、下表に従って皮膚感作性の強さを評価した。また、一般症状を毎日観察し、体重を週2回測定した。

感作率 (%)	感作程度	分類
0 - 8	A	弱い
9 - 28	B	軽度
29 - 64	C	中等度
65 - 80	D	強度
81 - 100	E	極めて強度

結果: 各観察時間における感作変化が認められた動物数およびその評点を次表に示した。

検体処置群、検体対照群および無処置群では、惹起 24 および 48 時間後のいずれの観察においても適用部位に紅斑、浮腫等の皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照物質処置群では、惹起 24 および 48 時間後においてまばらな軽い紅斑あるいは中等度の紅斑が全例に認められた。陽性対照物質対照群では、適用部位に皮膚反応は認められなかった。一般症状および体重の推移では何ら異常は認められなかった。

以上の結果から、バリダマイシン 0.3%粉剤は本試験条件下で皮膚感作性陰性と判定した。

	群		供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)		分類	
	感作	惹起		24 時間					48 時間					時間			
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	24	48		
				0	1	2	3		0	1	2	3					
検 体	25%検体	1%検体	15	15	0	0	0	0/15	15	0	0	0	0/15	0	0	0	A
	白色ワリソ	1%検体	15	15	0	0	0	0/15	15	0	0	0	0/15	0	0	0	-
	処置なし	1%検体	15	15	0	0	0	0/15	15	0	0	0	0/15	0	0	0	-
陽 性 対 照	1% DNCB	0.1% DNCB	10	0	7	3	0	10/10	0	4	6	0	10/10	100	100	100	E
	白色ワリソ	0.1% DNCB	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0	-

検体：バリマイシン 0.3%粉剤

-:分類せず