

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

8) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

8-1) ラットを用いた二世世代繁殖毒性試験

(資料 T-13)

試験機関: EXXON BIOMEDICAL SCIENCE (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

被験物質:

供試動物: CrI:CD®BR 系ラット、開始時雄約 7 週齢、雌約 6~7 週齢、1 群雌雄各 35 匹  
体重; 雄 229.1~290.7 g、雌 152.3~197.1 g

投与期間: P<sub>1</sub> 世代雄; 投与開始から解剖までの 18 週間

P<sub>1</sub> 世代雌; 投与開始から F<sub>1</sub> 児動物の離乳までの 19 週間

P<sub>2</sub> 世代雄; 離乳から解剖までの 17 週間

P<sub>2</sub> 世代雌; 離乳から F<sub>2</sub> 児動物の離乳までの 19 週間

(1993 年 10 月 18 日~1994 年 8 月 3 日)

投与方法: 被験物質を 0、100、1000 及び 3000 ppm の濃度で基礎飼料と混合し、二世世代にわたり自由に摂取させた。対照群には基礎飼料のみを与えた。

用量設定根拠:

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を下表に示す。なお、最初の親世代を P<sub>1</sub> 世代、その児動物を F<sub>1</sub> 世代とし、継代繁殖用に選抜した F<sub>1</sub> 児動物を離乳以降 P<sub>2</sub> 世代とし、その児動物を F<sub>2</sub> 世代とした。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

一般状態及び死亡率；全動物の生死を毎日 1 回観察した。雄の一般状態は、選抜前及び試験開始日、それ以降は解剖日まで週 1 回観察した。雌の一般状態は、選抜前及び試験開始日、それ以降は交尾確認日まで週 1 回、交尾確認後は妊娠 0、7、14 及び 21 日、分娩後 0、4、7、10、14 及び 21 日に観察した。また哺育中は哺育行動を毎日観察した。

体重；一般状態観察と同じ日及び最終屠殺日に測定した。

摂餌量；試験期間中は一般状態観察と同じ日に測定を行ったが、交配期間中は測定しなかった。

被験物質摂取量；雌雄の交配前の生育期間中、雌の妊娠及び哺育期間中について、体重、摂餌量及び飼料中の設定被験物質濃度から被験物質摂取量 (mg/kg/day) を算出した。

交尾及び妊娠の確認；P<sub>1</sub>動物は同群内の雌雄を 1 対 1 で同居させ、P<sub>2</sub>動物は兄妹交配を避けて同群内の雌雄を 1 対 1 で同居させ、朝、陰栓及び陰スミア中に精子を認めた場合に交尾成立とし、その日を妊娠 0 日とした。交配期間は 3 週間までとした。この間に交尾が確認されなかった雌動物は、他の雌との交尾を成功させた雄動物と再交配させた。

児動物数の調整及び継代繁殖用動物の選抜；生後 4 日に各同腹児数を雌雄各 4 匹になるように調整した。離乳時に各群から雌雄各 10 匹を無作為に抽出し、内臓検査に供した。残った児動物のうち、無作為に各同腹児から雌雄各 2 匹を選抜し、1 群各 35 匹を P<sub>2</sub>世代用とした。

繁殖性に関する指標；育成、交配、妊娠及び哺育の各期間の観察に基づき、次の指標について調べた。

雄の交尾率 (%)；  $(\text{交尾確認雄動物数} / \text{交配に用いた雄動物数}) \times 100$

雄の受胎率 (%)；  $(\text{妊娠させた雄動物数} / \text{交配に用いた雄動物数}) \times 100$

雌の受精率 (%)；  $(\text{交尾確認雌動物数} / \text{交配に用いた雌動物数}) \times 100$

雌の受胎率 (%)；  $(\text{妊娠雌動物数} / \text{交尾確認雌動物数}) \times 100$

出産率 (%)；  $(\text{生存児を出産した雌動物数} / \text{妊娠雌動物数}) \times 100$

出生率 (%)；  $(\text{出産生存児数} / \text{出産児数}) \times 100$

出産雌動物について、妊娠期間を算出し、出産時の同腹児数を計数した。

哺育中の児動物の観察；出生児動物について以下の項目を検査した。なお、出生日を生後 0 日とした。

出生日観察；生存児数、死産児数、生存児の体重、外表検査、性比  
生存率；

1 日生存率 (%)；  $(\text{生後 1 日の生存児数} / \text{生後 0 日の生存児数}) \times 100$

4 日生存率 (%)；  $(\text{生後 4 日の生存児数} / \text{生後 1 日の生存児数}) \times 100$

7 日生存率 (%)；  $(\text{生後 7 日の生存児数} / \text{生後 4 日の生存児数}) \times 100$

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

14日生存率(%) ; (生後14日の生存児数 / 生後7日の生存児数) × 100

21日生存率(%) ; (生後21日の生存児数 / 生後14日の生存児数) × 100

哺育率(離乳率、%) ; (生後21日の生存児数 / 生後4日(調整後)の生存児数) × 100

一般状態 ; 全ての児動物について生死及び異常を毎日2回観察した。また体重測定時に外表検査を行った。

体重 ; 生後1、4、7、14及び21日に個体別に測定した。

性比 ; 体重測定日と同じ日に各群の生存児について雄対雌の比率を算出した。

剖検 ;

親動物 ; 全動物について剖検した。各世代の雄親動物は出産終了時、雌親動物は児動物の離乳後屠殺し、剖検した。交配に用いた雌動物で妊娠しなかった動物については着床痕を調べた。

児動物 ; 剖検は途中死亡動物及び離乳時に剖検のために選抜した各群雌雄各10匹について実施した。なお生後4日の調整時に淘汰した児動物及び離乳時に選抜されなかった児動物については、外表検査を実施し、異常が見られなかった場合は廃棄した。

臓器重量 ; P<sub>1</sub>世代及びP<sub>2</sub>世代の交配に用いたすべての動物について、剖検後に以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

前立腺及び精囊、精巣及び精巣上体(両側)、卵巣(両側)

病理組織学的検査 ; P<sub>1</sub>世代及びP<sub>2</sub>世代の交配に用いた全ての動物並びに剖検に供したF<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代児動物について以下の組織を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液に保存した。P<sub>1</sub>及びP<sub>2</sub>世代の対照群及び3000ppm投与群親動物について病理標本作製し、鏡検した。

膣、子宮(頸部を含む)、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、凝固腺、乳腺(成熟雌動物のみ)、下垂体、腫瘤/肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

〔試験方法の概要〕

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
親: P <sub>1</sub>	生育 (10週) 交配 (3週)	雄7週齢、雌6~7週齢より試験開始 雌雄1対1で3週間交配、未交尾の 場合は別の交尾確認雄と再交 配。交尾は膣栓及び膣スメア中 の精子の存在で確認する (妊娠0 日)	生死: 毎日観察 雄: 最終屠殺時まで一般状態観察、体重、摂餌 量を週1回測定 雌: 交配期間終了まで一般状態観察、体重、摂 餌量を週1回測定 雌雄の交尾率、受胎率
	妊娠 (3週)		雌: 妊娠 0, 7, 14, 21 日に一般状態観察、体重、 摂餌量測定 雄: 全雌の出産完了後剖検、臓器重量測定、病 理組織学的検査 (0, 3000 ppm 投与群)
児: F <sub>1</sub>	出産	生後4日目に各同腹児数を雌雄 各4匹に調整	出産状況の観察 妊娠期間、同腹児数、出産率、生存児数、死産 児数、外表異常、性別、出生率及び生存児の個 別体重測定
	哺育 (3週)		親: 哺育行動観察 (毎日)、分娩後 0, 4, 7, 14, 10, 21 日に一般状態観察、体重、摂餌量測定 児: 一般状態観察 (毎日)、1, 4, 7, 14, 21 日生 存率、生後 1, 4, 7, 14, 21 日に外表検査、性比、 体重測定
親: P <sub>2</sub>	離乳 (生後21日)	剖検用に各群雌雄各10匹を無作 為に選抜 継代繁殖用に各群雌雄各35匹を 各腹から雌雄2匹ずつ無作為に 選抜	P <sub>1</sub> 雌の剖検 (離乳後実施)、臓器重量測定、病 理組織学的検査 (0, 3000 ppm 投与群) 剖検用動物を屠殺、検査 選抜されなかった残余児動物の外表検査を実 施し、屠殺、廃棄
	生育 (10週) 交配 (3週) 妊娠 (3週)	(P <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(P <sub>1</sub> 世代に準ずる)
児: F <sub>2</sub>	出産 哺育 (3週)	(P <sub>1</sub> 、P <sub>2</sub> 、F <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(P <sub>1</sub> 、P <sub>2</sub> 、F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
	離乳 (生後21日)	P <sub>2</sub> 親、F <sub>2</sub> 児動物を全例屠殺	F <sub>2</sub> 児動物から各群雌雄各 20 匹を選抜し、剖検

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

結 果：結果の概要を繁殖試験結果概要に示す。

被験物質摂取量；各投与群の被験物質摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)	世代	雄 (mg/kg/day)				雌 (mg/kg/day)			
		生育期間		生育期間		妊娠期間		哺育期間	
100	P <sub>1</sub>	5.4~10.3 (7.0)		6.8~10.8 (8.3)		6.8~7.8 (7.3)		7.9~18.7 (13.2)	
	P <sub>2</sub>	5.7~12.0 (7.9)		7.0~11.7 (8.7)		6.6~8.1 (7.5)		8.0~19.6 (13.7)	
1000	P <sub>1</sub>	54~101 (69)		67~105 (80)		65~76 (21)		82~192 (138)	
	P <sub>2</sub>	57~120 (79)		71~118 (87)		66~73 (70.7)		75~189 (132)	
3000	P <sub>1</sub>	162~308 (210)		202~299 (239)		198~217 (210)		231~571 (397)	
	P <sub>2</sub>	181~378 (248)		211~363 (265)		206~227 (220)		213~505 (365)	

範囲 (平均値)、平均値は申請者の計算値

P<sub>1</sub>及びF<sub>1</sub>世代；

#### 3000 ppm 投与群親動物

- ・ 雌において、生育期 7 日~77 日 (5~11%)、妊娠中 (12~14%)、哺育期間中 (6~16%) の体重が有意に低かった。
- ・ 雌の体重増加量の有意な低下が生育期 0~21 日、妊娠後期及び分娩 0~4 日にみられたが、哺育期間中は対照群より高かった。
- ・ 雄でも体重増加量の低下がみられたが、体重に変化がみられなかったこと及び一貫性がなかったことから、生物学的あるいは毒性学的に有意性はないものと考えられた。
- ・ 雌の摂餌量には、生育期 (8~12%)、妊娠中 (14~18%)、分娩 0~4 日 (27%) に有意な低下が認められた。
- ・ 雄の摂餌量も生育期 16 及び 17 週に有意に低下したが、対照群との差は小さく (<0.7%)、一過性であったため、生物学的あるいは毒性学的に有意性はないものと考えられた。
- ・ 臓器重量において、雌の卵巣絶対重量の低下が認められたが、相対重量に影響がみられず、最終体重の有意な低下がみられ、さらに相当する病理組織学的変化がなかったことから、被験物質投与による影響ではなく、体重低下に起因する変化であると判断された。
- ・ 同腹児数、生存児数のわずかな低下が認められたが、対照群との間に有意差は認められず、また背景データ (同腹児数：12.4~16.8、生存児数：12.2~16.1) の範囲内であったため、生物学的に有意性はないものと判断された。
- ・ 雌 1 例の前肢の指が癒合し、正常より短かった。次世代への遺伝を防ぐために交尾前に屠殺した。

#### 3000 ppm 投与群児動物

- ・ 生後 4、7、14 日の生存率が有意に低下し、これは生後 4~7 日の間に 2 同腹児から 10 匹の児動物が死亡したのが一因と考えられたが、これらの差は小さく、背景データ (4 日生存率：88.9~99.7%、7 日生存率：92.8~100%、14 日生存率：93.7~100%) の

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

範囲内であった。しかし対照群より一貫して低かった。さらに同群でみられた哺育率の有意な低下も 2 同腹児の死亡に関連すると考えられる。これらの変化は、被験物質投与とは関連しない偶発的なものであると推定される。

- ・ 生後 21 日までの体重が有意に低かった (14~19%)。

#### 1000 ppm 投与群親動物

- ・ 雌雄の体重増加量に一過性の有意な低下あるいは増加がみられたが、相当する体重に変化がなく、また一貫性もみられなかったため、偶発的な変化であり、被験物質投与の影響ではないと判断された。

#### 1000 ppm 投与群児動物

- ・ いずれの検査においても被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

#### 100 ppm 投与群親動物及び児動物

- ・ 親動物及び児動物のいずれの検査においても被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

P<sub>2</sub>及びF<sub>2</sub>世代；

#### 3000 ppm 投与群親動物

- ・ 雌 1 例が妊娠 23 日に死亡した。この動物は 13 例の胎児を有していたことから分娩異常により死亡したものと考えられた。
- ・ 雄で生育期 21~119 日に体重が有意に低かった (7~9%)。体重増加量も 0~7 日 (10%)、7~14 日 (9%)、14~21 日 (13%) 及び 42~49 日 (24%) に有意に低下した。
- ・ 雌の体重は分娩 21 日を除く全期間で有意に低く、体重増加量も生育期 0~7 日 (18%)、14~21 日 (25%)、28~35 日 (47%)、56~63 日 (53%)、妊娠 0~7 日 (28%)、14~21 日 (24%)、0~21 日 (23%) に有意に低かったが、分娩 4~7 日、14~21 日及び 0~21 日では逆に有意に高かった。
- ・ 雄で摂餌量の低下が散発的に認められたが、一貫性がなかったため、毒性学的に有意性はないものと判断された。
- ・ 雌では全期間を通じて摂餌量が有意に低下した。
- ・ 雌雄の最終体重が対照群より有意に低かったが、臓器重量に対する影響はなかった。
- ・ 病理組織学的検査において、雌に子宮内腔膨満の発現頻度がわずかに増加した。しかし、この所見は P<sub>1</sub> 世代の対照群の発現頻度とほぼ同数であったことから、被験物質投与に関連する変化ではないと判断された。
- ・ 平均同腹児数と生存児数がわずかに低下したが、対照群との間に有意差は認められず、また背景データ (同腹児数 : 12.4~16.8、生存児数 : 12.2~16.1) の範囲内であったため、生物学的に有意性はないものと判断された。

#### 3000 ppm 投与群児動物

- ・ 生後 1、4、7 日の生存率が有意に低下したが、その差は小さく、背景データ (1 日生存

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

率：96.2～100%、4日生存率：88.9～99.7%、7日生存率：92.8～100%）の範囲内、あるいはわずかに下回っていた。生存率は全体的に低かった。

- ・ 生後、哺育期間中の平均体重は対照群より14～30%低かった。

#### 1000 ppm 投与群親動物

- ・ 雌雄で体重増加量の有意な低下が散発的に認められたが、一貫性がなく、また相当する体重に影響がみられなかったため、偶発的な変化であり、被験物質投与によるものではないと判断された。
- ・ 雌の摂餌量が妊娠中（7～14日、14～21日、0～21日）、有意に低下したが、妊娠中のみの変化であり、全期間について一貫性がなかったため、生物学的あるいは毒性学的に有意性はないものと判断された。

#### 1000 ppm 投与群児動物

- ・ いずれの検査においても被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

#### 100 ppm 投与群親動物

- ・ 雌の体重増加量に有意な低下が散発的に認められたが、一貫性がなく、また相当する体重に影響がみられなかったため、偶発的な変化であり、被験物質投与によるものではないと判断された。

#### 100 ppm 投与群児動物

- ・ いずれの検査においても被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果、二世代にわたって本剤を飼料混入投与した場合、3000 ppm 投与群で親動物に摂餌量の低下及び体重増加抑制が認められた。また、児動物に生存率の低下及び体重増加抑制が認められた。これら児動物の変化は、親動物の影響に起因するものと考えられた。また、親動物より強い影響を示すことはなかった。繁殖能に対しては影響がみられなかった。したがって、生育に対する無毒性量は1000 ppm (P<sub>1</sub>世代:雄 69 mg/kg/day、雌 80 mg/kg/day、P<sub>2</sub>世代:雄 79 mg/kg/day、雌 87 mg/kg/day) と判断される。繁殖毒性に対する無毒性量は3000 ppm (P<sub>1</sub>世代:雄 210 mg/kg/day、雌 239 mg/kg/day、P<sub>2</sub>世代:雄 248 mg/kg/day、雌 265 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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

[繁殖試験結果概要]

世代		親 : P <sub>1</sub> 児 : F <sub>1</sub>				親 : P <sub>2</sub> 児 : F <sub>2</sub>					
投与量 (ppm)		0	100	1000	3000	0	100	1000	3000		
親動物	動物数	雄	35	35	35	35	35	35	35	35	
		雌	35	35	35	35	35	35	35	35	
	一般状態	雄	-	-	-	-	-	-	-	-	
		雌	-	-	-	-	-	-	-	-	
	死亡数	雄	0	0	0	0	0	1	0	0	
		雌	0	0	0	1*	0	0	0	1	
	体重	雄		-	-	-	-	-	-	-	21日↓ 28~105日↓ 112,119日↓
			生育期	-	-	-	7~77日↓	-	-	-	7日↓ 14~70日↓
		雌	妊娠	-	-	-	全期間↓	-	-	-	全期間↓
			哺育中	-	-	10日↓	0~14日↓ 21日↓	-	-	-	0~14日↓
	体重増加量	雄		-	7~14日↑	105~112日↓	0~7日↓ 105~112日↓ 112~119日↓	-	-	14~21日↓	0~7日↓ 7~14日↓ 14~21日↓ 42~49日↓
			生育期	-	-	0日↓ 0~7日↓	0~7日↓ 7~14日↓ 14~21日↓	-	14~21日↓ 28~35日↓ 56~63日↓	0~7日↓ 21~28日↑ 28~35日↓	0~7日↓ 14~21日↓ 28~35日↓ 56~63日↓
		雌	妊娠	-	-	-	7~14日↓ 14~21日↓ 0~21日↓	-	-	-	0~7日↓ 14~21日↓ 0~21日↓
			哺育中	-	-	7~10日↑	0~4日↓ 7~10日↑ 14~21日↑ 0~21日↑	-	-	0~4日↓ 4~7日↑ 14~21日↑	4~7日↑ 14~21日↑ 0~21日↑

↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (DunnetあるいはKruskal-Wallisの検定)

- : 影響なし

\* : 前肢の指が癒合し、正常より短かったため、次世代への遺伝を防ぐために交尾前に屠殺



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

世 代		親 : P <sub>1</sub> 児 : F <sub>1</sub>				親 : P <sub>2</sub> 児 : F <sub>2</sub>				
投与量 (ppm)		0	100	1000	3000	0	100	1000	3000	
親 動物	摂 餌 量	雄	-	-	16週 ↓ 17週 ↓	-	-	-	2,7,15週 ↓	
		雌	生育中	2週 ↑ 4,6,7週 ↑	-	全期間 ↓	-	-	全期間 ↓	
			妊娠中	-	-	全期間 ↓	-	7/14日 ↓ 14/21日 ↓ 0/21日 ↓	全期間 ↓	
			哺育中	-	-	0/4週 ↓	-	-	0/4日 ↓ 4/7日 ↓ 7-21日 ↓ 0/21日 ↓	
	臓 器 重 量	最終 体重*	雄	-	-	-	-	-	-	↓93
		雌	-	-	-	↓94	-	-	-	↓83
	卵 巢*	絶対	-	-	-	↓82	-	-	-	-
		剖検所見	雄	-	-	-	-	-	-	-
	雌	-	-	-	-	-	-	-	-	
	病理組織所見	子宮内腔膨満	9			6	5			10
	雄	交尾率 (%)	85.7	97.1	88.6	88.2	65.7	88.6 ↑	71.4	85.7
		受胎率 (%)	71.4	80.0	80.0	67.6	62.9	68.6	68.6	65.7
	雌	受精率 (%)	85.7	97.1	88.6	88.2	65.7	88.6 ↑	71.4	85.7
		受胎率 (%)	76.7	82.4	90.3	73.3	87.0	74.2	92.0	76.7
出産率 (%)		100	100	96.4	100	95.5	95.8	100	95.7	
不妊動物数		10	7	7	11	13	7	7	12	
平均妊娠期間	22.6	22.4	22.4	22.2	22.2	22.3	22.4	22.4		
平均同腹児数	14.0	14.2	14.4	12.9	14.9	16.1	15.0	13.0		

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01 (Dunnet あるいは Kruskal-Wallis の検定、但し繁殖指標はカイ二乗検定、Fisher の直接確率検定及び Armitage 検定)

\* : 臓器重量の数値 (%) は対照群に対する変動率

- : 影響なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

世 代		親 : P <sub>1</sub> 児 : F <sub>1</sub>				親 : P <sub>2</sub> 児 : F <sub>2</sub>					
投与量 (ppm)		0	100	1000	3000	0	100	1000	3000		
児 動 物	生存児	平均数	13.8	13.9	14.1	12.8	14.1	15.9	14.5	12.6	
		(%)	98.3	97.7	98.5	99.3	95.2	98.4↑	96.7	96.9	
	死亡児	平均数	0.2	0.3	0.2	0.1	0.7	0.3	0.5	0.4	
		(%)	1.7	2.3	1.5	0.7	4.8	1.6↓	3.3	3.1	
	性比 (雄%)		52.6	54.2	48.7	52.7	54.5	50.4	50.6	53.8	
	出生率 (%)		98.3	97.7	98.5	99.3	95.2	98.4↑	96.7	96.9	
	生存率 (%)	1日	98.5	97.2	95.0↓	97.6	97.3	98.4	97.4	91.7↓	
		4日	97.9	92.6↓	97.2	92.7↓	97.6	96.9	98.5	90.1↓	
		7日	98.9	97.0	98.5	93.5↓	99.4	97.8	99.5	94.0↓	
		14日	100	99.0	99.5	95.6↓	98.1	97.2	98.9	98.6	
		21日	98.9	100	100	98.7	100	100	100	100	
	哺育率 (%)		97.8	96.1	98.0	88.2↓	97.5	94.7	98.4	92.7	
	体 重 (g)	雄	生後0日	6.86	6.65	6.61	5.76↓	6.65	6.48	6.45	5.70↓
			生後1日	7.41	7.09	7.21	6.07↓	7.19	7.04	6.85	5.82↓
			生後4日	10.47	10.21	10.28	8.50↓	10.43	9.90	9.88	7.87↓
			生後7日	16.88	16.63	16.56	13.96↓	16.97	15.36↓	15.99	12.11↓
			生後14日	34.16	34.20	34.63	29.35↓	36.60	33.85↓	33.92↓	25.74↓
			生後21日	56.03	55.77	55.20	46.41↓	59.88	55.95	56.21	43.08↓
		雌	生後0日	6.34	6.50	6.31	5.38↓	6.25	6.03	6.06	5.35↓
			生後1日	6.91	7.00	6.83	5.84↓	6.72	6.66	6.56	5.66↓
生後4日			9.77	9.97	9.75	8.41↓	9.73	9.25	9.54	7.81↓	
生後7日			15.97	16.09	16.02	13.04↓	16.16	15.28	15.29	11.88↓	
生後14日			32.35	33.38	33.95	27.69↓	34.31	33.30	32.78	25.37↓	
生後21日			54.50	54.32	53.25	45.04↓	56.47	54.66	54.36	42.38↓	
剖検所見		—	—	—	—	—	—	—	—		

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (カイ二乗検定、Fisherの直接確率検定及び Armitage 検定、体重は ANOVA 及び LSD)

— : 影響なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

8-2) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 T-14)

試験機関: Central Toxicology Laboratory (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

被験物質:

供試動物: Alpk:AP<sub>0</sub>SD (Wistar 系由来) 系妊娠ラット、交配時 10~12 週齢、1 群雌 24 匹  
体重: 219~296 g、

投与期間: 妊娠 5~21 日の 17 日間

試験方法: 交配は、同機関の繁殖施設で実施し、交尾が確認された雌のみを試験機関に搬入した。膈スミア中に精子を確認した日を妊娠 1 日とした。被験物質を水に溶解し、0、15、50 及び 150 mg/kg の用量を妊娠 5~21 日までの 17 日間毎日 1 回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とし、対照群には水を同様に投与した。投与量は、最新の体重に基づいて算出した。投与液は 3~4 日毎に調製した。

用量設定根拠:

試験項目:

母動物: 一般状態は毎日、死亡は 1 日 2 回観察した。

体重は妊娠 1 及び 3 日、並びに 5~21 日の間は毎日測定し、帝王切開日 (妊娠 22 日) にも測定した。摂餌量は妊娠 1~3、3~5、5~8、8~11、11~14、14~17、17~20、20~22 日に測定した。全動物を妊娠 22 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行うとともに卵巣及び子宮を摘出し、妊娠の有無、妊娠子宮重量、黄体数、着床痕数と分布、生存胎児数、死亡吸収胚数 (早期及び後期) の検査を実施した。

生存胎児: 摘出後、各胎児の体重を測定し、性別を判定するとともに、口腔内を含む外表異常を肉眼的に観察した。その後、胎児をペントバルビタールの腹腔内注射によって安楽死させ、各胎児の内臓異常について観察後、内臓を除去し、70%メタノールで 18 時間以上固定した。固定後、各胎児の頭部を頭頂縫合線に沿って切開し、脳の観察を行った。次にアリザリンレッド S 及びアルシアンブルー染色により骨格標本を作成し、軟骨を含む骨格異常の有無及び手足の化骨程度を検査した。なお外表、内臓及び骨格異常については以下の通り分類した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

大異常；奇形を含む致死性あるいは極く稀にみられる構造あるいは機能異常。小異常の複合所見もこの分類にあてはまることがある。

小異常及び変異；一般的にみられる非致死性の異常及び発育遅延を示す軽度な一過性の変化。このうち、小異常は、対照群で 10%以下の低い発生頻度の所見を表す。変異は 10%以上の発現頻度の所見を表す。

試験結果：結果の概要を下表に示す。

#### 親動物：

一般症状観察：被験物質投与による影響はみられなかった。また、死亡もみられなかった。

体重変化：150 mg/kg 投与群の妊娠 6～17 日の体重は対照群より有意に低かった。また、50 mg/kg 投与群でも妊娠 6～10 日及び 16 日の体重は有意に低かった。15 mg/kg 投与群には被験物質投与の影響は認められなかった。体重から妊娠子宮重量を差し引いた補正体重については、いずれの投与群にも被験物質投与の影響はみられなかった。

摂餌量：150 mg/kg 投与群では妊娠 20～22 日を除いて、投与期間中の摂餌量は対照群より低く、妊娠 5～8 及び 11～14 日には有意な低下が認められた。50 mg/kg 投与群では妊娠 14～17 日にのみ有意な低下がみられた。15 mg/kg 投与群では摂餌量に対する被験物質投与の影響は認められなかった。

剖検所見：いずれの投与群にも被験物質投与に関連した剖検所見はみられなかった。

生殖成績に関連した検査項目：いずれの投与群においても母動物の生殖能力に対する被験物質投与の影響はみられなかった。150 mg/kg 投与群で認められた着床前胚死亡率の有意な低下は、毒性学的に有意性のない変化と考えられた。

#### 胎児動物：

体重：150 mg/kg 投与群において雌雄の平均胎児体重の有意な低下が認められた。

外表及び内臓検査：

大異常；被験物質投与の影響はみられなかった。

小異常；全投与群の外表及び内臓の小異常を有する胎児の割合に、被験物質投与の影響はみられなかった。50 及び 150 mg/kg 投与群において、軽度な尿管拡張を有する胎児数及び同腹数が有意に増加した。

変異；被験物質投与の影響はみられなかった。

骨格検査：

大異常；被験物質投与の影響はみられなかった。

小異常；全投与群の小異常を有する胎児の割合について、被験物質投与の影響はみられなかった。被験物質投与の影響として、第 5 頸椎体の未化骨、第 7 頸椎弓軟骨と第 6 頸椎弓軟骨の癒合、第 10 胸肋軟骨切断及び第 7 頸肋長伸の有意な増加が 150 mg/kg 投与群にみられた。その他の統計学的有意差を伴った小異常として頭頂間骨化骨不全、頭頂骨化骨不全、頭頂骨／頭頂間骨縫合骨、歯突起化骨不全及び第 10 胸肋軟骨短縮が認められたが、いずれも用量相関性がみられなかったため偶発的な所見であり、被験物質投与に起因するもので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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

変異；全投与群の変異を有する胎児の割合には影響がみられなかった。第 7 頸肋短縮が 50 及び 150 mg/kg 投与群で有意に増加した。150 mg/kg 投与群の踵骨化骨率が対照群より低かったが、これは、同群における化骨遅延を意味している。

四肢の化骨進行度；150 mg/kg 投与群における四肢の化骨の程度が統計学的に有意に低かった。50 mg/kg 投与群では後肢の化骨の程度が有意に低かった。15 mg/kg 投与群に影響はみられなかった。

胎児動物にみられた上記の影響は、母動物の体重低下に起因する変化であり、被験物質の直接影響ではないと考えられた。

以上のように、妊娠ラットに妊娠 5～21 日まで本剤を経口投与したところ、150 mg/kg 投与群で母動物の体重増加抑制、摂餌量低下、胎児体重の低下、化骨遅延及び軽度な尿管拡張がみられた。胎児体重の低下を除く同様な変化が、50 mg/kg 投与群でも認められた。したがって、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児動物における無影響量は 15 mg/kg/day と判断された。また、最高投与量の 150 mg/kg/day でも胎児動物に対して催奇形性はないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

〔催奇形性試験結果概要 (ラット)〕

投与量 (mg/kg/day)		0	15	50	150	
供試動物数		24	24	24	24	
親動物	死亡数	0	0	0	0	
	妊娠数	24	24	24	24	
	不妊数	0	0	0	0	
	早産・流産発現数	0	0	0	0	
	生存胎児を有する母動物数	24	24	24	24	
	全胚・胎児死亡発現母動物数	0	0	0	0	
	一般状態	被験物質投与の影響なし				
	体重 (g) <sup>a)</sup>	妊娠 1 日	259	262	261	260
		妊娠 6 日	285	285	282 $\downarrow$	278 $\downarrow$
		妊娠 9 日	296	297	292 $\downarrow$	288 $\downarrow$
		妊娠 12 日	313	312	310	306 $\downarrow$
		妊娠 15 日	330	329	327	324 $\downarrow$
		妊娠 18 日	359	356	355	355
		妊娠 22 日	389	383	388	396
妊娠 22 日 <sup>b)</sup>		304	302	308	311	
摂餌量 (g/day)	妊娠 1~3 日	19.8	20.0	19.5	18.7	
	妊娠 5~8 日	22.5	22.1	20.8	17.7 $\downarrow$	
	妊娠 8~11 日	24.1	23.8	23.7	22.6	
	妊娠 11~14 日	28.2	27.0	28.2	25.9 $\downarrow$	
	妊娠 14~17 日	30.3	29.1	27.3 $\downarrow$	28.1	
	妊娠 17~20 日	31.0	29.8	30.2	30.0	
	妊娠 20~22 日	21.5	18.8	20.9	22.3	
肉眼的病理所見		被験物質投与の影響なし				
妊娠子宮重量 (g)		84.7	82.1	79.9	84.0	
着床所見	検査親動物数	24	24	24	24	
	黄体数	14.8	15.0	14.6	14.6	
	着床数	12.9	12.9	12.3	13.6	
	着床前胚死亡率 (%)	13.2	14.7	16.6	7.4 $\downarrow$	
	着床後胚死亡率 (%)	合計 (%)	7.6	9.0	9.1	6.7
		早期吸収胚 (%)	6.1	7.1	6.7	5.9
	後期吸収胚 (%)	1.5	1.9	2.3	0.8	
生存胎児数		12.0	12.0	11.5	12.7	
胎児動物	平均体重 (g)	同腹児合計	60.2	58.3	56.4	58.9
		雄	5.24	5.11	5.20	4.80 $\downarrow$
		雌	5.00	4.80	4.83	4.52 $\downarrow$
性比 (雄%)		50.3	54.7	49.7	50.6	

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

<sup>a)</sup> : 妊娠 1 日以外は妊娠 1 日の体重で補正した体重、<sup>b)</sup> : 最終体重から妊娠子宮重量を減じた補正体重

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	15	50	150	
1群当たり動物数		24	24	24	24	
胎 児 動 物	外表・内臓 検査	検査胎児数	287	287	275	304
		大異常胎児数	2	2	0	0
		小異常胎児数	15	13	22	28
		変異胎児数	34	35	37	42
	骨格検査	検査胎児数	287	287	275	304
		大異常胎児数 (%)	1 (0.3)	7↑ (2.5)	2 (0.6)	3 (1.0)
		小異常胎児数 (%)	159 (54.2)	170 (59.7)	169 (61.8)	187 (61.9)
		変異胎児数 (%)	209 (76.3)	211 (77.2)	220↑ (80.6)	241 (79.9)
	内臓・骨格 大異常の 種類 <sup>c)</sup>	内水頭症	1 (1)	1 (1)	0	0
		重度尿管拡張	0	1 (1)	0	0
		外後頭骨/第1頸椎弓癒合、過剰胸椎弓、第6/7肋骨間過剰肋骨	0	1 (1)	0	0
		第3・4胸骨軟骨分裂	0	0	0	1 (1)
		第6胸骨分裂	0	1 (1)	1 (1)	0
		剣状軟骨分裂	0	4 (3)	1 (1)	2 (2)
		後肢過剰指骨 (中足骨及び末節骨)	1 (1)	0	0	0
		後肢脛骨腓骨の太化短縮	0	1 (1)	0	0
	内臓小異常 の種類 <sup>c)</sup>	尿管拡張 (軽度)	3 (3)	7 (7)	13 (10↑)	17↑ (11↑)
		骨格小異常 の種類 <sup>c)</sup>	頭頂間骨化骨不全	2 (2)	34↑ (11↑)	33↑ (12↑)
	頭頂骨化骨不全		2 (1)	8 (7↑)	14↑ (6)	2 (2)
	頭頂骨/頭頂間骨縫合		7 (5)	0↓ (0↓)	4 (3)	0↓ (0↓)
	歯突起化骨不全		20 (11)	37↑ (14)	18 (12)	22 (12)
	第10胸肋軟骨の短縮		1 (1)	1 (1)	10↑ (3)	6 (4)
	第5頸椎体未化骨		0 (0)	4 (2)	1 (1)	6↑ (4)
	第6/7頸椎弓軟骨癒合		11 (7)	4 (4)	14 (10)	34↑ (16↑)
	第10胸肋軟骨切断		9 (8)	11 (8)	11 (7)	22↑ (10)
	骨格変異の 種類 <sup>c)</sup>	第7頸肋伸長	1 (1)	4 (3)	2 (1)	15↑ (6)
		胸椎弓二分化骨	60 (19)	84↑ (24↑)	73 (20)	89↑ (22)
第7頸肋短縮		53 (19)	65 (19)	79↑ (20)	148↑ (24↑)	
	後肢踵骨化骨	137 (20)	100↑ (21)	111 (22)	73↑ (17)	
	前肢の化骨進行度の平均評点	2.01	2.23	2.29	2.68	
	後肢の化骨進行度の平均評点	3.20	3.45	3.55↑	3.95↑	

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Fisherの直接確率検定)

<sup>c)</sup> : カッコ内は観察された母動物数

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

8-3) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 T-15)

試験機関: Central Toxicology Laboratory (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

被験物質:

供試動物: ニュージーランド白色種妊娠ウサギ、交配時約 16 週齢、1 群雌 24 匹、体重 3.3~4.5 kg

投与期間: 妊娠 5~29 日の 25 日間

試験方法: 交配は同系の雄ウサギを用いて供給元の Harlan Interfauna で実施され、交尾が確認された雌のみが同試験機関に搬入された。交尾が確認された日を妊娠 1 日とした。被験物質を水に溶解し、0、30、100 及び 300 mg/kg の用量を妊娠 5~29 日までの 25 日間毎日 1 回強制経口投与した。投与容量は 1 mL/kg とし、対照群には水を同様に投与した。投与量は、最新の体重に基づいて算出した。投与液は 3~4 日毎に調製した。

用量設定根拠:

試験項目:

母動物: 一般状態は毎日、死亡の有無は 1 日 2 回観察した。体重は搬入時、投与開始前の妊娠 3 及び 4 日、並びに 5~29 日の間は毎日投与直前に測定し、さらに妊娠 30 日の帝王切開時にも測定した。摂餌量は妊娠 3~5、5~8、8~11、11~14、14~17、17~20、20~23、23~26、26~30 日に測定した。全生存動物を妊娠 30 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行うとともに卵巣と子宮を摘出し、妊娠の有無、妊娠子宮重量、黄体数、着床痕数と分布、生存胎児数、死亡吸収胚数(早期及び後期)の検査を実施した。

生存胎児: 摘出後、各胎児の重量を測定し、性別、口腔を含む外表の肉眼的観察を実施した。その後、各胎児の内臓検査を行い、内臓を摘出した。半数の各同腹児を 70%メタノールで 18 時間以上固定した後、各胎児の頭部を頭頂骨縫合に沿って切開し、脳の検査をした。残りの半数の胎児については、頭部を切断し、ブアン液で固定後、連続切片を作成して形態を観察した。体部は 70%メタノールで固定し、アリザリンレッド S 及びアルシアンブルー染色により骨格標本を作成、軟骨を含む骨格異常の有無及び手足の化骨の程度を検査



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

した。なお外表、内臓及び骨格異常については以下の通り分類した。

大異常；奇形を含む致死性あるいは極く稀にみられる構造あるいは機能異常で、小異常の複合所見もこの分類にあてはまることがある。

小異常及び変異；一般的にみられる非致死性の異常及び発育遅延を示す小さな一過性の変化である。このうち、小異常は、対照群で 10%以下の低い発生頻度の所見を表す。変異は 10%以上の発現頻度の所見を表す。

試験結果：結果の概要を下表に示す。

#### 親動物：

一般状態：300 mg/kg 投与群において、糞排泄量低下あるいは粘液便の発現数がわずかに増加した。対照群及び 300 mg/kg 投与群各 1 例が死亡した。対照群の 1 例は投与用カテーテルを嚙切り飲んだため、妊娠 24 日に安楽死させた。300 mg/kg 投与群の 1 例は妊娠 22 日の投与後、まもなく死亡し、剖検で全肺葉の赤色化及び胸腔内出血が認められたため、誤投与による死亡と判断された。

体重変化：300 mg/kg 投与群において、妊娠 5～9 日に体重低下が認められ、その後徐々に増加し、妊娠後半の体重増加量は対照群と同等であった。統計学的有意差が妊娠 5～27 日まで認められた。30 及び 100 mg/kg 投与群には被験物質投与による影響は認められなかった。

帝王切開時の体重から妊娠子宮重量を引いた補正体重には、いずれの投与群にも被験物質投与の影響はみられなかった。

摂餌量：300 mg/kg 投与群において、妊娠 5～11 日に有意な摂餌量の低下が認められた。100 mg/kg 投与群では妊娠 5～8 日に有意な低下がみられたが、対照群との差はわずかであった。これらの群のその後の摂餌量は対照群と同等であった。30 mg/kg 投与群の摂餌量に被験物質投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査：300 mg/kg 投与群において、腺胃の赤色／暗色化あるいは病変部が 6 例に認められた。被験物質投与による他の所見はみられなかった。30 及び 100 mg/kg 投与群では被験物質投与に関連した剖検所見はみられなかった。

生殖成績に関連した検査項目：100 及び 300 mg/kg 投与群では後期死亡吸収胚数の有意な増加がみられ、30 及び 100 mg/kg 投与群では後期死亡吸収胚を有する母動物数が有意に増加したが、これらの変化は、一貫した変化ではなかったこと及び全投与群の生存胎児数は対照群より多かったことから、被験物質投与に起因する変化ではないと考えられた。不妊動物は、対照群 3 例、30 mg/kg 投与群 2 例、100 mg/kg 投与群 1 例及び 300 mg/kg 投与群 3 例で、不妊動物数には被験物質投与の影響はみられなかった。母動物の生殖能力に対するその他の影響はみられなかった。

#### 胎児動物：

体重及び性比：300 mg/kg 投与群において平均胎児体重の有意な低下が認められた。その他の投与群の胎児体重には被験物質投与の影響はみられなかった。

性比には被験物質投与の影響がみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

ブアン固定した頭部の検査：大異常、小異常及び変異発現率の統計学的に有意な変化はみられなかった。

外表及び内臓検査：大異常、小異常及び変異発現率に、統計学的に有意な変化はみられなかった。

骨格検査：

大異常；被験物質投与の影響はみられなかった。

小異常；300 mg/kg 投与群において小異常を有する胎児の発現率が統計学的に有意に増加し、個々の所見では第7胸椎のダンベル型化骨のみが有意に増加した。

変異；全投与群の骨格変異を有する胎児の発現率が統計学的に有意に増加し、第10肋軟骨伸長も全投与群で有意に増加した。しかしこれらの変異には用量相関性がみられなかったこと及び特定の変異の増加がみられなかったことから、自然発生的変化と考えられ、被験物質投与の影響によるものではないと判断された。300 mg/kg 投与群において、第13肋骨伸長が有意に増加し、さらに第27腰椎の有意な増加もみられた。300 mg/kg 投与群にみられたこれらの変異は被験物質投与の影響と考えられた。

手足の化骨進行度の評価；300 mg/kg 投与群で手骨の化骨の有意な遅延が認められた。

以上のように、本剤を妊娠ウサギに経口投与したところ、300 mg/kg 投与群で母動物に糞排泄量低下及び粘液便、体重及び摂餌量の低下、腺胃の異常が認められた。同群の胎児では、胎児体重の低下、第7胸椎のダンベル型化骨、過剰腰肋骨、第27腰椎及び四肢の化骨遅延がみられた。したがって、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児動物における無影響量は100 mg/kg/day と判断された。また、最高投与量の300 mg/kg/day でも胎児動物に対して催奇形性は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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

[催奇形性試験結果概要 (ウサギ)]

投与量 (mg/kg/day)		0	30	100	300	
供試動物数		24	24	24	24	
親動物	死亡動物数	1	0	0	1	
	妊娠動物数	21	22	23	21	
	不妊動物数	3	2	1	3	
	早産・流産数	0	0	0	0	
	生存胎児を有する母動物数	20	22	23	20	
	全胚・胎児死亡発現動物数	0	0	0	0	
	一般状態	糞排泄量低下	1	2	2	6
		粘液便	3	1	1	6
		糞排泄欠如	0	0	0	1
	体重 (g) <sup>a)</sup>	妊娠 3 日	3591	3543	3596	3746
		妊娠 6 日	3707	3693	3693	3618 $\downarrow$
		妊娠 10 日	3712	3700	3674	3564 $\downarrow$
		妊娠 15 日	3763	3781	3745	3644 $\downarrow$
		妊娠 20 日	3821	3810	3839	3706 $\downarrow$
		妊娠 25 日	3919	3946	3962	3799 $\downarrow$
		妊娠 30 日	4006	4073	4034	3929
		妊娠 30 日 <sup>b)</sup>	3531	3538	3517	3457
	摂餌量 (g/day)	妊娠 3~5 日	151	146	146	159
		妊娠 5~8 日	169	153	147 $\downarrow$	63 $\downarrow$
		妊娠 8~11 日	141	136	138	106 $\downarrow$
妊娠 14~17 日		135	132	130	111	
妊娠 20~23 日		144	147	160	140	
妊娠 26~30 日		102	110	102	110	
肉眼的病理検査	腺胃赤色/暗色化	0	0	0	2	
	腺胃の赤色/黒色斑または部位	0	1	1	4	
妊娠子宮重量 (g)		473	531	516	483	
着床所見	検査対象動物数	20	22	23	20	
	黄体数	9.4	10.2	9.8	10.6	
	着床数	8.05	9.27	8.70	8.95	
	着床前胚死亡率 (%)	14.8	9.5	11.4	15.1	
	着床後胚死亡率 (%)	合計	8.2	14.2	8.8	12.9
		早期	6.2	4.5	2.0 $\downarrow$ <sup>c)</sup>	5.2
		後期	2.0	9.8 $\uparrow$	6.8 $\uparrow$ <sup>d)</sup>	7.7 $\uparrow$ <sup>c)</sup>
生存胎児数		7.30	7.91	7.91	7.75	

$\uparrow$   $\downarrow$  :  $p < 0.05$ ,  $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.01$  (Fisher の直接確率検定)

<sup>a)</sup> : 妊娠 3 日以外は補正体重、<sup>b)</sup> : 最終体重から妊娠子宮重量を減じた補正体重、<sup>c)</sup> : 死亡吸収胚数の解析結果、<sup>d)</sup> : 死亡吸収胚発現母動物数の解析結果

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	30	100	300	
供試親動物数		24	24	24	24	
胎 児 動 物	平均体重 (g)	同腹児合計	322	335	341	305
		雄	44.4	42.4	43.5	40.6↓
		雌	45.0	42.6	43.2	39.3↓
	性 比 (雄%)		53.0	46.9	46.6	41.1
	ブアン固定頭 部の検査	検査胎児数	79	94	95	82
		大異常胎児数	0	2	1	2
		小異常胎児数	9	9	9	2↓
		変異胎児数	0	0	0	0
	外表・ 内臓検査	検査胎児数	146	174	182	155
		大異常胎児数	3	2	6	3
		小異常胎児数	16	15	18	13
		変異胎児数	0	0	0	0
	骨格検査 <sup>○)</sup>	検査胎児数	146	174	182	155
		大異常胎児数	1 (1.0)	2 (1.2)	3 (1.5)	2 (2.3)
		小異常胎児数	53 (35.1)	80 (45.4)	73 (38.7)	83↑ (53.9↑)
		変異胎児数	95 (68.2)	133↑ (76.5)	147↑ (81.4↑)	128↑ (80.9↑)
	大異常 胎児数 <sup>○)</sup>	心血管系大異常	3 (1)	3 (2)	4 (2)	1 (1)
		腹部大異常	0	1 (1)	1 (1)	0
		頭部大異常	0	2 (2)	2 (2)	5 (2)
		脊椎大異常	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)
		複合型大異常	0	1 (1)	2 (2)	0
	ブアン固定頭部 の小異常 <sup>○)</sup>	網膜褶曲	9 (6)	8 (6)	10 (8)	2↓ (2)
	内臓の小異常 <sup>○)</sup>	総頸動脈欠損	4 (3)	0↓	3 (1)	2 (2)
骨格小異常の 種類 <sup>○)</sup>	第7胸椎ダンベル 状化骨	0	0	1 (1)	9↑ (6↑)	
	第13肋軟骨伸長	0	7↑ (2)	1 (1)	0	
骨格変異の種類 <sup>○)</sup>	第10肋軟骨伸長	18 (9)	52↑ (15)	49↑ (15)	43↑ (16↑)	
	第13肋骨伸長	32 (15)	51 (16)	42 (12)	73↑ (20↑)	
	第27腰椎	10 (3)	24↑ (11↑)	24 (10)	49↑ (13↑)	
前肢の化骨進行度平均評点		1.21	1.33	1.23	1.47↑	
後肢の化骨進行度平均評点		1.02	1.07	1.03	1.09	

↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)、<sup>○)</sup> : カッコ内は観察された母動物数

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

## 9) 変異原性試験

### 9-1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T-16)

試験機関: Central Toxicology Laboratory (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

被験物質:

試験方法: ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* (pKM101) 株を用い、フェノバルビタール及びβ-ナフトフラボンを前処理したラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質は脱イオン水に溶解し、100、200、500、1000、2500 及び 5000 µg/plate の 6 用量で、溶媒対照群は 5 枚、被験物質及び溶媒対照群は 3 枚のプレートを用いて実施した。試験は、プレート法 (実験 1 及び実験 2 の-S9) 及びプレインキュベーション法 (実験 2 の+S9) を用いて 37°C で 3 日間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。

復帰変異コロニー数が溶媒対照の 2 倍以上に増加し、用量依存性、かつ再現性が認められた場合に陽性と判断した。

用量設定根拠:

試験結果: 各試験区の平均復帰変異コロニー数を下表に示す。

2 回の試験において、被験物質は S9 の有無に拘らず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/plate) まで、いずれの菌株にも復帰突然変異コロニー数の増加が認められなかった。

一方、陽性対照物質 (アジ化ナトリウム (NaZ)、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG)、ダウノマイシン塩酸塩 (DR)、ICR 191 (ICR)、2-アミノアントラセン (2AA) 及びベンゾ[a]ピレン (BP)) では、全ての試験菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、被験物質は代謝活性化系を含む本試験条件下で、細菌に対して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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

実験 1: プレート法

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の 有無	復帰突然変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$ (pKM101)	TA98	TA1537	
対照 (脱イオン水)	0	-	116.4	13.4	143.6	26.0	14.2	
被験物質	100	-	103.0	14.7	146.3	32.3	14.3	
	200		111.3	13.7	144.0	26.7	18.3	
	500		96.7	11.0	140.7	29.0	22.7	
	1000		107.3	14.3	141.3	27.7	14.0	
	2500		101.7	8.7	144.3	26.7	17.7	
	5000		101.0	7.3*	31.7*	17.3	13.7	
対照 (脱イオン水)	0	+	136.0	8.8	181.2	35.0	15.4	
被験物質	100	+	144.7	12.0	183.7	28.7	20.0	
	200		133.0	9.0	177.7	36.3	19.3	
	500		106.3	7.0	191.0	30.0	16.7	
	1000		120.7	14.7	167.3	45.3	15.0	
	2500		101.7	7.3	178.3	27.7	16.3	
	5000		88.3	3.7	148.0	26.3	7.7	
陽性 対照	NaZ	2	-	752.7	677.3			
	ENNG	1				381.3		
	DR	1					806.3	
	ICR	2						226.3
	2AA	1	+	781.3			1609.0	
		2			118.3			182.3
	BP	5				990.7		

NaZ : Sodium Azide、ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、DR : Daunomycin HCl、ICR : Acridine Mutagen ICR191、2AA : 2-Aminoanthracene、BP : Benzo[a]pyrene、\* : 希薄/不完全なバックグラウンドローン

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

実験 2 : プレート法 (-S9 Mix)、プレインキュベーション法 (+S9 Mix)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の 有無	復帰突然変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$ (pKM101)	TA98	TA1537
対 照 (脱イオン水)	0	-	124.6	8.6	164.4	30.0	17.0
被験物質	100	-	106.3	9.0	166.3	31.7	21.0
	200		112.7	10.7	182.0	29.0	18.7
	500		102.7	15.0	140.0	18.0*	18.0*
	1000		97.0	9.7	141.7	22.7*	17.0
	2500		98.0	11.7	144.0	26.3	10.0
	5000		92.3	7.0	39.7*	15.0	11.0
対 照 (脱イオン水)	0	+	137.8	12.4	230.6	35.8	21.4
被験物質	100	+	132.3	12.0	192.7	36.0	17.3
	200		130.7	9.0	182.3	26.3	20.3
	500		117.7	9.7*	140.7*	34.0*	15.3*
	1000		111.3	8.0	174.3	21.0*	21.0
	2500		94.3	9.3	210.3	18.7	14.3
	5000		94.0	8.0	66.7*	21.7	10.3*
陽 性 対 照	NaZ	2	-	635.3	594.7		
	ENNG	1			506.3		
	DR	1				516.7	
	ICR	2				394.3	
	2AA	1	+	596.0			820.3
		2			93.3		129.3
	BP	5			835.7		

NaZ : Sodium Azide、ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、DR : Daunomycin HCl、ICR : Acridine Mutagen ICR191、2AA : 2-Aminoanthracene、BP : Benzo[a]pyrene、\* : 希薄/不完全なバックグラウンドローン

9-2) ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 T-17)

試験機関: Central Toxicology Laboratory (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

被験物質:

試験方法: 健常な非喫煙女性 (実験 1) 及び男性 (実験 2) 各 2 名のボランティアから採取したヘパリン処理静脈血を培養液に浮遊させ、細胞分裂を刺激するため、培養液にフィトヘマグルチニン (PHA) を加え、37°C で 48 時間培養した。この培養リンパ球を用いて、フェノバルビタール及び  $\beta$ -ナフトフラボンを前処理したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、染色体異常誘発性を検討した。被験物質は脱イオン水に溶解して用いた。S9 の存在下及び非存在下でリンパ球に被験物質を 3 時間処理し、さらに 17 時間、被験物質を除いた状態で培養を続けた。培養終了の 2 時間前にコルセミドで細胞分裂を停止させ、処理開始から 20 時間後に分裂中期染色体標本を作製した (実験 1)。陽性対照として、S9 の非存在下ではマイトマイシン C (MC) を 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S9 の存在下ではシクロホスファミド (CPP) を 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で用いた。各濃度あたり 2 枚のプレートを使用した。その結果、S9 非存在下における試験結果が陽性であったため、S9 の存在下による確認試験 (実験 2) を実施した。

1 プレートあたり約 1000 個のリンパ球を観察し、分裂指数を算出するとともに、1 プレートあたり 100 個、各濃度あたり 200 個の分裂中期像について、染色体の数及び形態を観察記録した。

用量設定根拠:

試験結果: 分裂指数及び異常染色体発現率を下表に示す。

実験 1 では S9 の有無に係わらず、分裂指数の低下がみられた。

S9 の存在下では、いずれの濃度でも染色体構造異常は認められなかった。S9 の非存在下では 1000 及び 2090  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の用量で、ギャップを除く染色体異常発現率の有意な増加が認められた。

一方、陽性対照物質、MC (-S9) 及び CPP (+S9) では、それぞれ明らかな染色体異常細胞発現率の増加が認められた。

実験 1 において、S9 の非存在下で染色体異常発現率の有意な増加が認められたため、別のボランティアから採取したリンパ球を用いて、S9 の存在下において確認試験を実施した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

実験 1 と同様、分裂指数の低下がみられた。

分裂中期像の観察では、染色体異常発現率の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質 CPP では、明らかな染色体異常発現率の増加がみられた。

以上の結果から、本剤は本試験条件下で、ヒトリンパ球に対して代謝活性化系 (S9 Mix) の非存在下において染色体異常誘発性を有すると判断される。一方、本剤は代謝活性化系 (S9 Mix) の存在下において染色体異常誘発性を示さないと判断される。

[分裂指数及び染色体異常細胞発現数]

	薬物	処理 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観 察 細胞数	S9 Mix の有無	分裂 指数 (%)	構造異常細胞発現数								
						ギャップ	切断	フラグメント	複合型	染色体 交 換	その他 / 転位	-g (%)	判定	
実験 1	溶媒	—	200	—	14.4	0	1	0	0	0	0	0.5	—	
	被 験 物 質	500	200		9.5	0	5	0	0	0	0	0	2.5	—
		1000	200		9.4	0	12	0	0	0	0	0	6.0 $\uparrow$	+
		2090	75		10.0	1	21	2	0	1	1	1	30.7 $\uparrow$	+
	MC	0.5	25		7.0	0	6	0	0	6	0	40.0 $\uparrow$	+	
	溶媒	—	200	+	8.9	0	2	0	0	0	0	1.0	—	
	被 験 物 質	500	200		8.2	0	1	1	0	0	0	0	1.0	—
		1000	200		10.6	1	0	0	0	0	0	0	0.0	—
		2090	200		7.6	1	7	0	0	0	0	0	3.5	—
	CPP	50	25		5.4	0	9	2	0	2	0	48.0 $\uparrow$	+	
実験 2	溶媒	—	200	+	5.9	0	1	0	0	0	0	0.5	—	
	被 験 物 質	500	200		3.3	0	1	0	0	0	0	0	0.5	—
		1000	200		3.5	1	1	0	0	0	0	0	0.5	—
		2090	200		2.1	2	0	1	0	0	0	0	0.5	—
	CPP	50	25		2.0	0	3	4	0	3	0	40.0 $\uparrow$	+	

$\uparrow$  :  $p < 0.05$ ,  $\uparrow\downarrow$  :  $p < 0.01$  (Fisher の直接確率検定)、MC ; mitomycin C、CPP ; cyclophosphamide

-g : ギャップを含まない染色体異常細胞発現率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

### 9-3) ラットを用いた小核試験

(資料 T-18)

試験機関: Central Toxicology Laboratory (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

被験物質:

供試動物: Alpk:AP<sub>r</sub>SD 系雄性ラット、6~7 週齢、1 群雄 5 匹、体重範囲; 281~322 g

試験方法: 被験物質を脱イオン水に溶解し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量を単回経口投与した。陰性対照群には脱イオン水を同様に投与し、陽性対照群には脱イオン水に溶解した 20 mg/kg のシクロホスファミド (CPP) を単回経口投与した。投与後 24 時間に動物を屠殺し、大腿骨骨髓の塗抹標本作製、メタノール固定後、アクリジン・オレンジで染色した。対照群及び高用量群については、被験物質投与後 48 時間にも標本作製を行った。動物 1 例について標本 1 枚を作製し、各動物について 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、1000 個の赤血球を観察し、正染性赤血球と多染性赤血球の比率を計数した。

#### 用量設定根拠

試験結果: 各群の多染性/正染性赤血球比及び小核赤血球発現率を下表に示す。

被験物質投与群に、被験物質投与による毒性症状並びに剖検における肉眼的異常は認められなかった。

いずれの被験物質投与群にも小核赤血球数の統計学的に有意な増加は認められなかった。

また、多染性赤血球の割合にも変化は認められなかった。

一方、陽性対照 (CPP) 投与群では、小核を有する多染性赤血球数の統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において、本剤はラットの骨髓の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る。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

[多染性/正染性赤血球比及び小核赤血球発現率]

検査時期 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	MNPCN (%)	PCE/(PCE+NCE) (%)
24	溶媒対照 (脱イオン水)	—	雄	5	1.3	49.3
	被験物質	500	雄	5	0.9	43.6
		1000	雄	5	1.2	54.9
		2000	雄	5	0.9	43.5
	陽性対照 (CPP)	20	雄	5	27.9↑	46.9
48	溶媒対照 (脱イオン水)	—	雄	5	1.8	41.7
	被験物質	2000	雄	5	0.9	46.1

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Student の t 検定)

MNPCN : 多染性小核赤血球、PCE : 多染性赤血球、NCE : 正染性赤血球

CPP ; cyclophosphamide

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

9-4) ラット肝細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 T-19)

試験機関: Central Toxicology Laboratory (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

被験物質:

供試動物: Alpk:AP<sub>1</sub>SD 系雄ラット、7~9 週齢、1 群各 3 匹 (溶媒対照及び陽性対照は各 1 匹)  
体重 284~410 g

試験方法:

〔被験物質投与〕 被験物質を脱イオン水に溶解し、0、1000 及び 2000 mg/kg の用量を単回経口投与した。溶媒対照群には脱イオン水、陽性対照群には脱イオン水に溶解した 10 mg/kg の N-ニトロソジメチルアミン (N-DMA) を単回経口投与した。

〔肝細胞採取及び培養〕 被験物質投与の 2 及び 16 時間後に各動物から肝細胞を採取した。即ち、麻酔下で肝門脈と上大静脈にカテーテルを挿入し、先ずコラゲナーゼと塩化カルシウムを含まない緩衝液で灌流し、肝臓内の血液及びデスモゾームからカルシウムを取り除いた。次にコラゲナーゼと塩化カルシウムを含む緩衝液で灌流した。その後、肝臓を摘出し、細切、滅菌ろ過し、遠心分離により肝細胞を単離した。William's E 培養液中に  $1.5 \times 10^5$  細胞/mL の濃度で肝細胞を浮遊させ、37°C、湿度 100%、95%空気/5%CO<sub>2</sub> の条件で 90 分間培養し、細胞をカバースリップに付着させた。細胞を William's E 培養液で洗浄後、<sup>3</sup>H-チミジンを含む William's E 培養液を加え、さらに 37°C で 4 時間培養した。その後、<sup>3</sup>H を標識していないチミジンの William's E 溶液で洗浄し、余剰の <sup>3</sup>H-チミジンを除き、さらに 12 時間培養した。

〔標本作製及び観察〕 培養終了後、酢酸/アルコール (1:3) で固定し、<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みについて、オートラジオグラフィ法により観察した。各動物あたり 2 枚のスライドから、1 枚あたり 30 個の細胞を観察し、核内銀粒子数及び細胞質内銀粒子数を計数した。これらの値から正味核内銀粒子数 (核内銀粒子数 - 細胞質内銀粒子数) 及び DNA 修復細胞 (正味核内銀粒子数が 5 個以上) の割合を算出した。

また、スライドの品質及び細胞毒性を確認するため鏡検した。

判定は、正味核内銀粒子数が 0 以上で再現性が認められた場合に陽性と判断した。

用量設定根拠:

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

試験結果：各群の平均正味核内銀粒子数及び修復細胞発現率を下表に示す。

被験物質投与群では、いずれの用量においても平均正味核内銀粒子数あるいは修復細胞発現率の増加はみられなかった。また、いずれの投与群にも細胞毒性を示唆する所見は認められなかった。

一方、陽性対照群では平均正味核内銀粒子数及び修復細胞発現率の著しい増加がみられた。

以上の結果から、本試験条件下において、本剤はラット肝細胞における *in vivo* 不定期 DNA 合成を誘発しないものと判断される。

[各群の平均正味核内銀粒子数及び修復細胞発現率]

曝露時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	核内 銀粒子数	細胞質中 銀粒子数	正味核内 銀粒子数	修復細胞 発現率 (%)
2	溶媒対照	—	雄	1	3.8	6.0	- 2.2	0.0
	被験物質	1000	雄	3	3.2	5.0	- 1.8	1.1
		2000	雄	3	3.4	5.1	- 1.7	0.0
	N-DMA	10	雄	1	15.5	4.7	10.8	81.7
16	溶媒対照	—	雄	1	2.5	4.9	- 2.4	0.0
	被験物質	1000	雄	3	2.0	3.9	- 1.9	0.0
		2000	雄	3	2.0	3.9	- 1.7	0.0
	N-DMA	10	雄	1	8.6	3.0	5.6	60.0

N-DMA : N-nitrosodimethylamine

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

## 10) 生体機能への影響に関する試験

一般薬理試験

(資料 T-20)

試験機関：食品農医薬品安全性評価センター  
〔GLP 対応〕  
報告書作成年：2005 年

被験物質：

### 1. ラットの症状観察

供試動物；Crj:CD(SD)IGS 系雄ラット、7 週齢、1 群雄 5 匹、体重 209～223 g

試験方法；被験物質を注射用水に溶解して 0、120、400 及び 1200 mg/kg の用量を経口投与し、投与前、投与後 15、30、60、120、180 分、24 時間、48 時間、72 時間及び 96 時間に Irwin の多次元観察法を参考にした以下の項目について観察した。ラットは投与前に 18 時間絶食させた。

体位：腹臥位、側臥位、背臥位、うずくまり

行動：攻撃性、不隠、啼鳴、旋回、回転、歩行失調、歩行異常、身づくろい、あくび、排糞数、排尿数

自律神経系：眼瞼下垂、眼瞼閉鎖、眼球突出、流涎、立毛、身震い、筋攣縮、振戦、強直性痙攣、間代性痙攣、頻呼吸、呼吸困難

反射等：眼瞼反射、耳介反射、軀幹筋の緊張、四肢の緊張、握力、瞳孔径

その他：死亡、他に認められた症状

結果；1200 mg/kg 投与群において、投与 30 分～24 時間後に腹臥位、投与 60 分～24 時間に体温低下が認められた。腹臥位は投与 60 分～24 時間まで 4 例に認められ、体温低下は 24 時間後に 4 例に認められ、いずれも統計学的に有意に高かった。これら症状の発現数の経時的変化を下表に示した。投与 120 分～24 時間の間に、少数例（1～2 例）に発現した他の症状として、腹臥位に関連した眼瞼下垂、耳介反射の消失、軀幹筋・四肢の緊張・握力の低下がみられ、筋攣縮及び歩行異常もみられた。さらに、48 時間後にはうずくまり姿勢及び立毛、72 時間後に軟便も観察された。なお、投与 48 時間後までに 2 例が死亡し、生存例ではいずれも投与 96 時間後には正常に回復した。

400 mg/kg 投与群では、投与後 180 分に立毛が 1 例に観察されたが、他の症状の変化は認められず、明らかな被験物質投与による変化とは判断されなかった。

120 mg/kg 投与群には一般症状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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 1 : 観察された主な症状発現数の経時的推移

投与量 (mg/kg)	動物数	投与後の時間						
		15分	30分	60分	120分	180分	24時間	48時間
横 臥 位								
0	5	0	0	0	0	0	0	0
120	5	0	0	0	0	0	0	0
400	5	0	0	0	0	0	0	0
1200	5	0	1	4↑	4↑	4↑	4↑	0
体 温 低 下								
0	5	0	0	0	0	0	0	0
120	5	0	0	0	0	0	0	0
400	5	0	0	0	0	0	0	0
1200	5	0	0	1	3	3	4↑	0

↑ ↓ :  $p < 0.05$ 、↑↓ :  $p < 0.01$  (Fisher の直接確率法)

## 2. マウスの中枢神経系に対する作用

### 1) マウスの自発運動量に及ぼす影響

供試動物 ; Crj:CD-1(ICR)系雄マウス、6週齢、1群5匹、体重 24.1~29.5 g

試験方法 ; 被験物質を注射用水に溶解し、0、100、300 及び 1000 mg/kg の用量を経口投与した。投与前 30 分、投与直後から投与 180 分後まで継続して自発運動量測定装置で自発運動量を測定し、30 分毎の総自発運動量を集計した。陽性対照群には塩酸クロルプロマジン (CPZ) 10 mg/kg を投与した。マウスは投与前に 18 時間絶食させた。

結 果 ; 各群の自発運動量推移を下表に示す。

1000 mg/kg 投与群において、投与後 180 分間まで自発運動量の有意な低値が認められた。300 mg/kg 投与群では投与後 30 分、150 分及び 180 分の自発運動量が有意な低値を示し、他の時間においても低値傾向を示した。100 mg/kg 投与群では影響はみられなかった。陽性対照群では全ての集計時間において自発運動量が有意な低値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 2 : 各群の自発運動量推移 (累積値)

試験群	投与量 (mg/kg)	投与後の時間 (分)						
		投与前	~30	~60	~90	~120	~150	~180
溶媒対照	—	9176	6882	12106	14944	17248	19668	22729
被験物質	100	8738	4327	7474	10020	11645	12520	12530
	300	9024	3022 ↓	3696	3745	3760	3783 ↓	3862 ↓
	1000	8490	1181 ↓	1622 ↓	1883 ↓	2051 ↓	2170 ↓	2280 ↓
陽性対照群	10	9104	2160 ↓	2321 ↓	2342 ↓	2379 ↓	2383 ↓	2412 ↓

↑ ↓ :  $p < 0.05$ , ↑ ↓ :  $p < 0.01$  (Dunnett あるいは Steel の検定、但し陽性対照は Aspin-Welch あるいは Student の t 検定)

## 2) マウスにおける痙攣誘発作用

供試動物 ;

本試験 ; Crj:CD-1(ICR)系雄マウス、6 週齢、1 群 5 匹、体重 25.8~29.0 g

確認試験 ; Crj:CD-1(ICR)系雄マウス、6 週齢、1 群 8 匹、体重 25.7~29.1 g

試験方法 ;

本試験 ; 被験物質を注射用水に溶解して、0、100、300 及び 1000 mg/kg の用量を経口投与し、30 分後に両耳介より小型動物用電撃刺激装置を用いて 9 mA の電流を 0.8 秒間通電し、後肢痙攣の発現及び死亡の有無を観察した。陽性対照群にはカフェイン 150 mg/kg を経口投与した。マウスは投与前に 18 時間絶食させた。

確認試験 ; 本試験において、用量と相関しない痙攣発現数の低下が 100 mg/kg 投与群に認められたため、同濃度を用いた確認試験を実施した。試験方法は本試験と同じ方法を用いて実施し、投与量は 0 及び 100 mg/kg とした。

結 果 ; 各群の痙攣発現数を下表に示す。

本試験では高用量群及び中用量群に被験物質投与と関連する痙攣発現数の変化は認められなかったが、低用量群で痙攣発現が認められなかった。確認試験では低用量群の痙攣発現数は溶媒対照群と同等であった。

陽性対照群では、強直性伸展痙攣及び死亡が 5 例全例に認められ、死亡数は統計学的に有意な高値を示した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 3 : 痙攣発現数及び死亡数

	投与群	投与量 (mg/kg)	動物数	痙攣発現動物数				
				間代性 痙攣	強直性 屈曲	強直性 伸展	強直性痙攣 (後弓反張)	死 亡
本試験	溶媒対照	—	5	3	3	3	0	1
	被験物質	100	5	0	0	0	0	0
		300	5	3	3	2	0	1
		1000	5	4	4	3	0	0
	陽性対照	150	5	0	3	5	0	5↑
確認試験	溶媒対照	—	8	1	6	6	0	1
	被験物質	100	8	0	6	5	0	3

↑↓ :  $p < 0.05$ 、↑◇ :  $p < 0.01$  (Fisher の直接確率法)

### 3. ラットの循環器系に対する作用

#### 1) 無麻酔ラットの血圧及び心拍数の測定

供試動物 ; Crj:CD(SD)IGS 系雄ラット、7 週齢、1 群 5 匹、体重 214~249 g

試験方法 ; 被験物質を注射用水に溶解して 0、120、400 及び 1200mg/kg の用量を経口投与し、投与前、投与 60、120 及び 180 分後に収縮期血圧及び心拍数を非観血式自動血圧測定装置で測定した。それぞれ 3 回測定し、平均値を算出した。ラットは投与前に 18 時間絶食させた。

結 果 ; 各群の平均血圧及び心拍数の推移を下表に示す。

1200 mg/kg 投与群の投与後 120 分に心拍数の有意な低値が認められたが、180 分後には回復傾向が認められた。

全投与群の血圧に統計学的有意差が散見されたが、実測値の変化と投与前値からの変化量に関連性がなく、いずれも投与前値に比べて軽微な変化と考えられたことから、被験物質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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 4：各群の血圧及び心拍数の推移

検査項目	投与量(mg/kg)	0	120	400	1200
	動物数	5	5	5	5
収縮期血圧 (mmHg)	投与前	118.3	110.8	115.0	122.5
	60分	113.1	119.9	129.5 ↑	128.7 ↑
	120分	116.5	121.7	124.5	131.0
	180分	117.5	115.5	118.3	126.1
拡張期血圧 (mmHg)	投与前	92.1	82.0	89.1	93.5
	60分	88.8	90.7	98.9	96.5
	120分	84.7	92.4	88.5	97.3 ↑
	180分	93.7	85.3	87.7	98.7
平均血圧 (mmHg)	投与前	100.7	91.4	97.6	103.1
	60分	96.7	100.3	108.9	107.1
	120分	95.3	102.1	100.5	108.4 ↑
	180分	101.5	95.3	97.8	107.8
心拍数(／分)	投与前	369.6	346.4	381.9	376.7
	60分	379.2	365.8	389.3	342.5
	120分	373.9	374.9	384.8	319.9 ↓
	180分	385.7	368.2	381.4	335.3

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett あるいは Steel の検定、但し陽性対照は Aspin-Welch あるいは Student の t 検定)

#### 4. ラットの腎機能に対する作用

##### 1) ラットの尿量、尿中電解質及び尿浸透圧の測定

供試動物 ; Crj:CD(SD)IGS 系雄ラット、7 週齢、1 群 5 匹、体重 195~223 g

試験方法 ; 生理食塩液を体重 100 g につき 2.5 mL の割合で経口投与し、その後注射用水に溶解した被験物質を 0、120、400 及び 1200 mg/kg の用量で経口投与した。被験物質投与後直ちに 1 匹ずつ採尿ケージに収容し、無給餌、無給水条件で被験物質投与後 6 時間まで尿を採取した。採取した尿について以下の項目を検査した。陽性対照群にはフロセミド 50 mg/kg を経口投与した。ラットは投与前に 18 時間絶食させた。

尿量、尿浸透圧、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>

結 果 ; 各群の尿量、尿中電解質及び浸透圧を下表に示す。

1200 mg/kg 投与群において、尿量、Na<sup>+</sup>及びK<sup>+</sup>の排泄量が統計学的に有意な高値を示し、

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

Cl<sup>-</sup>の排泄量及び浸透圧が高値傾向を示した。採尿中に2例が死亡した。

400 mg/kg 投与群では K<sup>+</sup>の排泄量が有意な高値を示し、尿量、Na<sup>+</sup>及び Cl<sup>-</sup>の排泄量及び浸透圧が高値傾向を示した。

120 mg/kg 投与群には被験物質投与の影響は認められなかった。

陽性対照群では尿量及び尿中電解質のいずれもが有意な高値を示した。

表5：各群の尿量、電解質及び浸透圧

	溶媒対照 (蒸留水)	被験物質			陽性対照 (Furosemide)
	—	120	400	1200	50
動物数	5	5	5	5	5
尿量 (mL/6hr)	3.8	4.4	5.0	9.0 ↑	14.8 ↑
Na <sup>+</sup> (mmol/6hr)	0.36	0.65	0.81	2.13 ↑	1.82 ↑
K <sup>+</sup> (mmol/6hr)	0.09	0.13	0.30 ↑	0.50 ↑	0.38 ↑
Cl <sup>-</sup> (mmol/6hr)	0.46	0.33	0.62	1.97	2.10 ↑
浸透圧 (mOsm/kg)	519	648	711	815	382

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett あるいは Steel の検定、但し陽性対照は Aspin-Welch あるいは Student の t 検定)

以上の結果から、本剤の高用量投与により、中枢神経系の抑制作用、循環器系では心拍数の低下、腎機能では尿量、尿中電解質の排泄量及び尿浸透圧の増加作用を有することが明らかになった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 6：生体機能への影響に関する試験の総括表

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
症状 観察	一般症状 観察	ラット		0	雄 5 匹	1200	400	1200 mg/kg 群で 2 例 死亡、腹臥位、体温低 下、筋攣縮、眼瞼下垂、 耳介反射の消失、躯幹 筋・四肢の緊張・握力 の低下
				120				
中 枢 神 経 系	自発運動量	マウス	経 口 (注射用水)	0	雄 5 匹	300	100	300 mg/kg 群以上で 投与 0~180 分後の自 発運動量が低下
	痙攣誘発 作用			300	雄 5 匹	>1000	>1000	いずれの投与群でも 影響は認められなか った
循 環 器 系	血 圧 心拍数	ラット		0	雄 5 匹	1200	400	1200 mg/kg 群で心拍 数が低下
腎 機 能	尿量、尿中 電解質、 浸透圧			120	雄 5 匹	400	120	1200 mg/kg 群で尿 量、Na <sup>+</sup> 、K <sup>+</sup> の増加、 Cl <sup>-</sup> 、浸透圧の増加傾 向 400 mg/kg 群で K <sup>+</sup> の 増加、尿量、Na <sup>+</sup> 、Cl <sup>-</sup> 、 浸透圧の増加傾向
		400						

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

## 2. 製剤を用いた試験成績

### (1) 22%水溶剤を用いた試験

#### ①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-21)

試験機関：食品農医薬品安全性評価センター  
[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

被験物質：1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22%水溶剤

[組成]

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	22.0%
界面活性剤 等	78.0%

供試動物：Slc:Wistar 系雌ラット、8 週齢、1 群 5 匹、体重 126~139 g

観察期間：14 日間観察

投与方法：被験物質を蒸留水に懸濁して、16 時間絶食させた動物に 1 回強制経口投与した。試験は固定用量法で実施した。被験物質の毒性が明らかでなかったため、初回には 300 mg/kg を投与し、死亡がみられなかったため、次に 2000 mg/kg を投与した。

観察・検査項目：一般状態は、投与当日は投与後 30 分以内に 1 回、その後投与 6 時間後まで 1 時間に 1 回、投与翌日以降は 1 日 1 回 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について剖検した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌：300、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌：>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	投与直後から開始 投与後 1 日に終了
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌：300
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌：2000

中毒症状としては、2000 mg/kg 投与群全例に投与直後から歩行異常、投与 1 時間後から自発運動の低下がみられ、さらに投与後 1~2 時間から 4 例に下痢が認められたが、翌日には全て回復した。体重においては、300 mg/kg 投与群の 1 例で投与後 14 日の体重が投与後 7 日の体重より低値を示したが、その他の動物は観察期間を通じて順調な体重増加を示した。剖検では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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

②ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 T-22)

試験機関：食品農医薬品安全性評価センター  
〔GLP 対応〕

報告書作成年：2005 年

被験物質：1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22%水溶剤

〔組成〕

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	22.0%
界面活性剤 等	78.0%

供試動物：Slc:Wistar 系ラット、10 週齢、1 群雌雄各 5 匹、体重：雄 220～239 g、雌 145～156 g

観察期間：14 日間観察

投与方法：被験物質を 4 × 5 cm のパッチの上に均一に広げた後、適当量の注射用水で湿らせて、24 時間前に刈毛した躯幹背部 (6 × 7 cm) の皮膚に貼付し、2 インチのサージカルテープで固定した。曝露 24 時間後にパッチを取り除き、投与部位の残存被験物質を超純水を用いて取り除いた。

観察・検査項目：一般状態は投与当日については投与直後から 6 時間後まで 1 時間に 1 回、投与翌日以降は 1 日 1 回 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について剖検した。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雄雌：2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄：> 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄：2000

中毒症状及び投与部位の皮膚反応は認められなかった。雌 1 例で投与後 7 日の体重が投与時の体重より低値を示したが、その他の動物は観察期間を通じて順調な体重推移を示した。剖検でも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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

③ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 T-23)

試験機関: 食品農医薬品安全性評価センター  
〔GLP 対応〕

報告書作成年: 2005 年

被験物質: 1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22%水溶剤

〔組成〕

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	22.0%
界面活性剤 等	78.0%

供試動物: Kbl: NZW 雌ウサギ、18 週齢、3 匹、体重 3.64~3.92 kg

観察期間: 72 時間観察

投与方法: 被験物質 0.5 g を 2.45 × 2.45 cm のフランネルパッチに均一に広げた後、約 0.5 mL の注射用水で湿らせ、投与 12 日前に躯幹背部 (12 × 20 cm) について除毛した 3 匹のウサギの無傷皮膚に貼付した。このパッチを紙絆創膏で固定した後、リント布で被覆し、医療用テープで固定した。曝露時間は 4 時間とし、曝露終了時にパッチを取り除き、投与部位の残存被験物質を蒸留水で取り除いた。

観察項目: 被験物質除去 1、24、48 及び 72 時間後に、紅斑、痂皮及び浮腫について刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインにしたがって採点した。また、被験物質除去 24、48、72 時間後における紅斑・痂皮及び浮腫の各点数を合計し、これを 9 で除して一次刺激性インデックス (P.D.I.I.) を算出し、Gad & Chengelis の皮膚刺激反応分類法にしたがって刺激性を評価した。刺激性の観察と同時に一般状態についても観察した。

結 果: 観察した刺激性変化の平均評点を下表に示す。

項 目	最高評点	投 与 後 時 間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	1.0	0	0	0
浮 腫	4	0.3	0	0	0
合 計	8	1.3	0	0	0

全ての動物で被験物質除去後 1 時間に紅斑 (評点 1) が認められ、1 例では浮腫も観察されたが、24 時間後には全て回復していた。また、P.D.I.I. は 0 であり、Gad & Chengelis の皮膚刺激反応分類法では無刺激性と判定された。いずれの動物も観察期間中に一般状態の異常は認められなかった。

以上の結果から、1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22%水溶剤は、ウサギの皮膚に対して、刺激性は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および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

④ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 T-24)

試験機関: 食品農医薬品安全性評価センター  
[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

被験物質: 1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22%水溶剤

[組成]

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	22.0%
界面活性剤 等	78.0%

供試動物: Kbl: NZW 雌ウサギ、11 週齢、1 群 3 匹、体重 2.08~2.32 kg

試験期間: 非洗眼群は 10 日間観察、洗眼群は 5 日間観察

投与方法: 被験物質 0.1 g を投与前に実施した眼検査において異常のみられなかった 3 匹のウサギの右眼結膜嚢内に投与し、上下の眼瞼を閉じて約 1 秒間保持した。別の 3 匹にも同様に被験物質処理を行い、約 30 秒後に生理食塩液で約 30 秒間洗眼した。

観察項目: 投与後 1、24、48 及び 72 時間、それ以降は回復がみられるまで毎日観察し、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を農水省ガイドラインにしたがって採点した。刺激性の観察と同時に一般状態についても観察した。

結 果: 刺激性変化の平均評点を下表に示す。

項 目	最高 評点	投 与 後 時 間												
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日	10 日		
非 洗 眼 群	角膜混濁	4	1.0	0.7	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹 彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結 膜	発赤	3	2.7	2.3	2.0	2.0	2.0	1.7	1.0	1.0	1.0	0.7	0.0
		浮腫	4	1.7	1.3	1.3	1.3	1.3	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合 計	13	5.4	4.3	4.0	3.3	3.3	2.7	2.0	1.0	1.0	0.7	0.0	
洗 眼 群	角膜混濁	4	1.0	0.7	0.3	0.0	0.0	0.0						
	虹 彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0						
	結 膜	発赤	3	1.3	1.7	1.0	1.0	1.0	0.0					
		浮腫	4	1.3	1.3	0.3	0.0	0.0	0.0					
	合 計	13	3.6	3.7	1.6	1.0	1.0	0.0						

非洗眼群では、投与 1 時間後から全例に角膜混濁 (評点 1) が観察され、結膜発赤 (評点 2~3) 及び浮腫 (評点 1~2) も認められた。角膜及び結膜の反応はその後漸次軽減し、1



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

例は投与 9 日後に、2 例は投与 10 日後に全て回復した。その他の所見として全例に分泌物が投与 1 時間後から 4 もしくは 5 日後まで認められた。

洗眼群でも全例に投与 1 時間後から角膜混濁（評点 1）が観察され、結膜発赤（評点 1～2）及び結膜浮腫（評点 1～2）も認められたが、角膜及び結膜の反応は投与 5 日後に全て回復し、洗眼効果が認められた。分泌物は投与 1～24 時間後まで 2 例に認められた。これら刺激性反応は可逆的なものであり、腐食性はないと判断された。

なお、いずれの動物も観察期間中に一般状態の異常は認められなかった。

以上の結果から、1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22%水溶剤は、ウサギの眼に対して刺激性があるが、被験物質投与直後に洗眼することで刺激性が軽減されると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

⑤モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-25)

試験機関:食品農医薬品安全性評価センター  
[GLP 対応]

報告書作成年:2005年

被験物質:1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22%水溶剤

[組成]

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	22.0%
界面活性剤 等	78.0%

供試動物:Std:Hartley系雌モルモット、5週齢、1群20匹(対照群は10匹)、体重324~385g

観察期間:惹起処理後48時間観察

試験方法:Buehler法

用量設定根拠;

感 作;動物の左腹側部5×5cmについて剃毛し、試験群には被験物質50%w/v懸濁液を2×2cmのリント布に0.2mL含ませ、剃毛した皮膚に適用、サージカルテープを用いて6時間閉塞貼付した。陽性対照群には0.2%DNCBエチルアルコール溶液を同様に貼付し、陰性対照群には蒸留水のみを貼付した。この閉塞貼付処理は7日間隔で計3回行った。

惹 起;最終感作後14日に動物の右腹側部を5×5cmの広さに剃毛し、試験群及び陰性対照群には、6.25%w/vの被験物質懸濁液0.2mLを2×2cmのリント布に含ませて皮膚に適用し、サージカルテープを用いて6時間閉塞貼付した。陽性対照群には0.05%DNCBエチルアルコール溶液を同様に貼付した。

観察項目:惹起処理時のパッチを除去後24及び48時間に惹起処理部位の皮膚反応を肉眼的に観察し、農水省ガイドラインにしたがって採点した。感作性の評価は、惹起曝露のパッチ除去24及び48時間後の点数の内、各動物の最高点をその動物の評点とし、試験群において陰性対照群で認められた最高評点より高い評点を示した動物を感作陽性動物とした。また、一般状態は毎日1回観察し、体重は感作開始時、惹起曝露後の観察期間終了時に測定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

結果:各観察時間において皮膚反応の認められた動物数及び評点並びに感作陽性率を下表に示す。

群	感作濃度	惹起濃度	動物数	感作反応動物数										
				皮膚反応評点								陽性動物数	感作陽性率 (%)	
				24 時間				48 時間					24 時間	48 時間
0	1	2	3	0	1	2	3							
試験群	被験物質 50%	被験物質 6.25%	20	14	6	0	0	11	9	0	0	0	0	0
対照群	蒸留水	被験物質 6.25%	10	8	2	0	0	7	3	0	0	0	0	0
陽性 対照群	DNCB 0.2%	DNCB 0.05%	10	0	1	7	2	0	3	7	0	10	100	100

試験群では、24 及び 48 時間の観察において、それぞれ 6 及び 9 例に評点 1 の皮膚反応が認められた。対照群でも 24 及び 48 時間後にそれぞれ 2 及び 3 例に評点 1 の皮膚反応が認められた。試験群で認められた皮膚反応は対照群でみられた皮膚反応と同程度であることから被験物質の一次刺激性による反応と考えられ、皮膚感作陽性率は 0% と算出された。

一方、陽性対照群の皮膚感作陽性率は 100% であった。

いずれの動物においても一般状態及び体重に異常は認められなかった。

以上の結果から、1-ナフタレン酢酸ナトリウム 22% 水溶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および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

(2) 0.2%液剤を用いた試験

①ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-26)

試験機関:食品農医薬品安全性評価センター

[GLP 対応]

報告書作成年:2005年

被験物質:1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液剤

[組成]

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	0.2%
水、界面活性剤等	99.8%

供試動物:Slc:Wistar系雌ラット、8週齢、1群5匹、体重126~131g

観察期間:14日間観察

投与方法:被験物質を蒸留水に溶解して、16時間絶食させた動物に1回強制経口投与した。試験は固定用量法で実施した。被験物質の毒性が明らかでなかったため、初回投与量として300mg/kgを投与したところ、死亡がみられなかったため、次に2000mg/kgを投与した。

観察・検査項目:一般状態は、投与当日は投与後30分以内に1回、その後は投与6時間後まで1時間に1回、投与翌日以降は1日1回14日間観察した。体重は投与直前、投与後7及び14日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について剖検した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌:300、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌:>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	投与直後から開始 投与後1日に終了
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌:300
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌:2000

中毒症状としては、2000mg/kg投与群全例に投与直後から歩行異常、投与1時間後から自発運動の低下がみられたが、翌日には全て回復した。体重及び剖検には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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

②ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 T-27)

試験機関: 食品農医薬品安全性評価センター  
[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

被験物質: 1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液剤

[組成]

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	0.2%
水、界面活性剤 等	99.8%

供試動物: Slc:Wistar 系ラット、10 週齢、1 群雌雄各 5 匹、体重: 雄 235~249 g、雌 153~164 g

観察期間: 14 日間観察

投与方法: 被験物質を 24 時間前に刈毛した躯幹背部 (6 × 7 cm) の皮膚に滴下した後、4 × 5 cm のパッチで覆い、サージカルテープで固定した。曝露 24 時間後にパッチを取り除き、投与部位の残存被験物質を超純水で取り除いた。

観察・検査項目: 一般状態は投与直後から 6 時間後まで 1 時間に 1 回、投与翌日以降は 1 日 1 回 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について剖検した。

結 果:

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雌雄: 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄: > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄: 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄: 2000

中毒症状及び皮膚反応は認められなかった。雌 3 例で投与 7 日に体重増加抑制がみられたが、その他の動物は観察期間を通じて順調な体重推移を示した。剖検でも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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

③ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 T-28)

試験機関: 食品農医薬品安全性評価センター  
〔GLP 対応〕

報告書作成年: 2005 年

被験物質: 1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液剤

〔組成〕

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	0.2%
水、界面活性剤 等	99.8%

供試動物: Kbl:NZW 雌ウサギ、18 週齢、3 匹、体重 3.46~3.94 kg

観察期間: 72 時間観察

試験方法: 被験物質 0.5 mL を 2.45 × 2.45 cm のフランネルパッチに均一に広げ、投与前に除毛した 3 匹のウサギの躯幹背部 (12 × 20 cm) の無傷皮膚に貼付した。このパッチを紙絆創膏で固定した後、リント布で被覆し、医療用テープで固定した。曝露時間は 4 時間とし、曝露終了時にパッチを取り除き、投与部位に残存する被験物質を蒸留水で取り除いた。

観察項目: 被験物質除去 1、24、48 及び 72 時間後に、紅斑、痂皮及び浮腫について刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインにしたがって採点した。また、被験物質除去 24、48、72 時間後における紅斑・痂皮及び浮腫の各点数を合計し、これを 9 で除して一次刺激性インデックス (P.D.I.I.) を算出し、Gad & Chengelis の皮膚刺激反応分類法にしたがって刺激性を評価した。刺激性の観察と同時に一般状態についても観察した。

結 果: 観察した刺激性変化の平均評点を下表に示す。

項 目	最高評点	被験物質除去後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮 腫	4	0	0	0	0
合 計	8	0	0	0	0

被験物質除去 1、24、48 及び 72 時間後の観察で、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。P.D.I.I. は 0 であり、Gad & Chengelis の皮膚刺激反応分類法による評価区分で無刺激性と判定された。いずれの動物も観察期間中に一般状態の異常は認められなかった。

以上の結果から、1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液剤は、ウサギの皮膚に対して、刺激性及び腐食性は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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

④ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 T-29)

試験機関: 食品農医薬品安全性評価センター  
[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

被験物質: 1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液剤

[組成]

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	0.2%
水、界面活性剤 等	99.8%

供試動物: Kbl: NZW 雌ウサギ、11 週齢、1 群雌 3 匹、体重 2.18~2.36 kg

観察期間: 非洗眼群は 5 日間観察、洗眼群は 72 時間観察

投与方法: 被験物質 0.1 mL を投与前に行った眼検査で異常のみられなかった 3 匹のウサギの右眼の結膜囊内に投与し、上下の眼瞼を閉じて約 1 秒間保持した。別の 3 匹にも同様の処理を行い、約 30 秒後に生理食塩液で約 30 秒間洗眼した。

観察項目: 投与後 1、24、48 及び 72 時間、それ以降は回復がみられるまで毎日観察し、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を農水省ガイドラインにしたがって採点した。刺激性の観察と同時に一般状態についても観察した。

結 果: 観察した刺激性変化の平均評点を下表に示す。

項 目		最高 評点	投 与 後 時 間						
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	
非洗眼群	角膜混濁	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹 彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	1.0	0.7	0.7	0.3	0.3	0.0
		浮腫	4	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合 計	13	2.0	0.7	0.7	0.3	0.3	0.0	
洗眼群	角膜混濁	4	0.0	0.0	0.0	0.0			
	虹 彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0			
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	0.7	0.0		
		浮腫	4	1.0	0.0	0.0	0.0		
	合 計	13	2.0	1.0	0.7	0.0			

非洗眼群では、投与 1 時間後に全例に結膜発赤 (評点 1) 及び 2 例に浮腫 (評点 1~2) も認められた。結膜の反応はその後漸次軽減し、5 日後には全て回復した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

洗眼群では全例に投与 1 時間後に結膜発赤 (評点 1) 及び浮腫 (評点 1) が観察されたが、1 例は 48 時間後、残りの 2 例も 72 時間後には回復した。

これら刺激性反応は可逆的なものであり、腐食性はないと判断された。

なお、いずれの動物も観察期間中に一般状態の異常は認められなかった。

以上の結果から、1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液剤は、ウサギの眼に対して軽微な眼刺激性があるものと思われる。また、刺激性が弱かったため、明らかな洗眼効果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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

⑤モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-30)

試験機関:食品農医薬品安全性評価センター  
[GLP 対応]

報告書作成年:2005年

被験物質:1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液剤

[組成]

1-ナフタレン酢酸ナトリウム	0.2%
水、界面活性剤 等	99.8%

供試動物:Std:Hartley 系雌モルモット、5週齢、1群20匹(対照群は10匹)、体重333~387g

観察期間:惹起処理後48時間

試験方法:Buehler 法

用量設定根拠;

感 作;動物の左腹側部 5 × 5 cm について剃毛し、試験群には被験物質 50%v/v 懸濁液を 2 × 2 cm のリント布に 0.2 mL 含ませて皮膚に適用し、サージカルテープを用いて6時間閉塞貼付した。陰性対照群には蒸留水のみを同様に貼付した。この閉塞貼付処理は7日間隔で計3回行った。

惹 起;最終感作の14日後に動物の右腹側部を5 × 5 cm について剃毛し、試験群及び陰性対照群に被験物質 50%v/v 懸濁液を2 × 2 cm のリント布に0.2 mL 含ませて適用し、サージカルテープを用いて6時間閉塞貼付した。

陽性対照群;陽性対照群については、同時に実施した22%水溶剤の皮膚感作性試験(資料 T-24)の陽性対照群の結果を引用した。陽性対照物質にはDNCBを使用し、感作濃度は0.2%、惹起濃度は0.05%であった。

観察項目:惹起処理後24及び48時間に惹起処理部位の皮膚反応を肉眼的に観察して農水省ガイドラインにしたがって採点した。感作性の評価は、惹起処理後24及び48時間後の点数の内、各動物の最高点をその動物の評点とし、試験群において陰性対照群で認められた最高評点より高い評点を示した動物を感作陽性動物とした。一般状態は毎日1回観察し、体重は感作開始時、惹起後の観察期間終了時に測定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

結 果：各観察時間における皮膚評点及び感作陽性率を下表に示す。

群	感作 濃度	惹起 濃度	動物 数	感作反応動物数										感作陽性率 (%)	
				皮膚反応評点								陽 性 動物数	24 時間	48 時間	
				24 時間				48 時間							
0	1	2	3	0	1	2	3								
試験群	被験物質 50%	被験物質 50%	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
対照群	蒸留水	被験物質 50%	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
陽 性 対照群	DNCB 0.2%	DNCB 0.05%	10	0	1	7	2	0	3	7	0	10	100	100	

試験群及び対照群とも、惹起処理のパッチ除去 24 及び 48 時間後のいずれの観察においても皮膚反応は認められず、感作陽性率は 0%であった。

一方、陽性対照群では、感作陽性率は 100%であった。

いずれの動物にも一般状態及び体重に異常は認められなかった。

以上の結果から、1-ナフタレン酢酸ナトリウム 0.2%液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および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

### IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

#### <代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-1 (GLP)	動物体内運命に関する試験	ラット	<ul style="list-style-type: none"> <li>・単回強制経口投与 (3 及び 300 mg/kg)</li> <li>・薬物動態試験 (低用量 24 時間、高用量 72 時間)</li> <li>・吸収排泄試験 (低用量 72 時間、高用量 96 時間)</li> <li>・体内分布試験 (3 時点)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・投与後 96 時間で、投与量の 91～98%が糞、尿及びケージ洗浄液から回収された。</li> <li>・主な排泄経路は尿で、ケージ洗浄液を含め、投与量の 67～82%が 96 時間以内に尿中に排泄された。96 時間の高用量の雌では尿排泄が遅れた。</li> <li>・血漿中濃度は低用量で 0.6 時間、高用量で 1.5～1.7 時間で最高濃度に達し、消失半減期は低用量で 1 時間、高用量で 4.9～5.7 時間であった。</li> <li>・体内では主に血漿、肝臓、腎臓に高濃度で分布した。蓄積傾向が認められる臓器・組織は無かった。</li> </ul>	PTRL WEST (2006)	181
						192
						200

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-2 (GLP)	植物体内運命に関する試験	メロン	<ul style="list-style-type: none"> <li>・露地栽培 (米国CA州)</li> <li>・水溶剤を慣行施用量で散布</li> <li>・2回散布後 0、14、28日に果実(及び28日後の葉)を収穫</li> <li>・果実は表面洗浄液、果皮、果肉、種子を分析</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・AKD-8147 は急速に代謝され、処理直後の果実中残留量は TRR の約 20%であった。</li> </ul>	PTRL WEST (2006)	207
M-3 (GLP)		りんご	<ul style="list-style-type: none"> <li>・露地栽培 (米国CA州)</li> <li>・標識 NAAEt 水溶液を 1 回塗布、標識 NAD 水溶液を 1回散布、標識 NAA 水溶液を 2 回散布</li> <li>・合計 4 回処理し、最終処理の 2 日後に果実を収穫</li> <li>・果実は表面洗浄液、果皮、果肉を分析</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・果実中 TRR の約 55%が果皮から、果肉及び表面洗浄液中から各約 22～23%が回収された。果実全体の残留放射能濃度は 0.010 ppm であった。</li> </ul>	ABC Laboratories (1996)	212
M-4 (GLP)		オリーブ	<ul style="list-style-type: none"> <li>・露地栽培 (米国CA州)</li> <li>・標識 NAAEt 水溶液を 1 回塗布、標識 NAA 水溶液を 1回散布</li> <li>・合計 2 回処理し、最終処理の約 4 ヶ月後に果実を収穫</li> <li>・果実は表面洗浄液、果肉を分析</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・果実中 TRR の約 16.1%が表面洗浄液から、約 83.9%が果肉から回収された。果実全体(種子除く)の残留放射能濃度は 0.018 ppm であった。</li> </ul>	ABC Laboratories (1996)	217



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-5 (GLP)	好氣的土壤中運命試験	日本土壌；砂壤土 (非滅菌、滅菌) 米国土壌；壤質砂土 (非滅菌)	<ul style="list-style-type: none"> <li>試験濃度：3.1 mg/kg (慣行施用量相当)</li> <li>温度 (暗所)：25±1℃ (日本土壌)、20±1℃ (米国土壌)</li> <li>水分：最大容水量の 50±10% (日本土壌)、1/3 bar での圃場容水量の 75±5% (米国土壌)</li> <li>培養期間：30 日 (滅菌土壌)、59 日 (非滅菌日本土壌)、274 日 (非滅菌米国土壌)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>AKD-8147 は土壌微生物によって急速に代謝された。</li> <li>非滅菌土壌における DT<sub>50</sub> は日本土壌で 4.6 日、米国土壌では 44.4 日であり、DT<sub>90</sub> はそれぞれ、13.2 日及び 147.6 日であった。</li> <li>滅菌日本土壌における分解はほとんど認められなかった。</li> </ul>	PTRL WEST (2006)	224
M-6 (GLP)	土壌吸着性試験	土壌 5 種類	<ul style="list-style-type: none"> <li>土壌と被験物質を含む CaCl<sub>2</sub> 溶液を混合し、24 時間振とう培養し、溶液及び土壌中放射エネルギーを測定して吸着係数を算出</li> <li>温度：25±1℃</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>被験物質濃度 0.008～5 mg/L</li> <li>土壌/溶液比 1：0.5～5</li> <li>K<sub>FOC</sub>=85～291</li> </ul>	PTRL WEST (2006)	233
M-7 (GLP)	加水分解運命試験	滅菌緩衝液	<ul style="list-style-type: none"> <li>温度：25±1℃</li> <li>pH：4、5、7 及び 9</li> <li>試験濃度：5.7 mg/L</li> <li>培養期間：31 日間</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>いずれの pH でも、31 日間で有意の分解は認められず、半減期は 1 年以上と推定された。</li> </ul>	PTRL WEST (2006)	243
M-8 (GLP)	水中光分解運命試験	滅菌緩衝液 (pH 5、7、9) 及び滅菌自然水 (湖水)	<ul style="list-style-type: none"> <li>試験濃度：5 mg/L</li> <li>温度：25±1℃</li> <li>光源：キセノンショートアーク灯 (&gt;290 nm)</li> <li>照射期間：96 または 142 時間連続照射</li> <li>量子収率測定</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>AKD-8147 は直接的な光分解を受けた他、湖水中成分による光増感作用を受けた。</li> <li>光分解は pH に僅かに影響された。</li> <li>多数の分解物を生じ、最終的に <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> にまで無機化された。</li> <li>東京の春季太陽光下での光分解推定 DT<sub>50</sub>：4.3 日 (湖水)</li> <li>量子収率：0.00102</li> </ul>	PTRL WEST (2006)	246

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

抄録中で用いる代謝物等の名称・略称

No	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
1	試験化合物	AKD-8147	1-ナフタレン酢酸ナトリウム	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。


本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

## 1. 動物体内運命に関する試験

### (1) AKD-8147 のラットにおける代謝運命

(資料 M-1)

試験機関: PRTL West (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

放射能標識化合物: [<sup>14</sup>C] AKD-8147

化学名: [<sup>14</sup>C] 1-ナフタレン酢酸ナトリウム

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置選定理由:

供試動物: Sprague-Dawley CD(SD) IGSBR 雌雄ラット、7~9 週齢 (投与時の体重は下表参照)

飼育環境: 温度 18~26°C、湿度 50±20%、12 時間明暗サイクルの空調室内で、水及びげっ歯類用飼料を自由に摂取させて飼育した。

試験方法:

[<sup>14</sup>C] AKD-8147 への変換と投与液調製: 標識化合物に炭酸水素ナトリウム溶液及び非標識 AKD-8147 を加え、[<sup>14</sup>C] 1-NAA をナトリウム塩 ([<sup>14</sup>C] AKD-8147) に変換するとともに放射能希釈して、投与液 (水溶液) とした。

投与量・投与経路・投与回数: 低用量は 3 mg/kg、高用量は 300 mg/kg とし、ゾンデで胃内に単回強制経口投与した。投与液量は 5 mL/kg とした。

投与量設定根拠:

試験項目・試験群: 予備試験及び本試験における試験群を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 1：予備試験及び本試験の試験設計概要

試験項目		試験群	性、動物数	最終屠殺時点 (hr)	主たる採取試料	体重範囲 (g)	
						雄	雌
予備試験	薬物動態	低用量	雌雄各 2 匹	120	血液/血漿	231~241	194~211
		高用量	雌雄各 2 匹	120		230~240	185~200
	排泄	低用量	雌雄各 1 匹	120	尿、糞、呼気、ケージ洗液、カーカス、消化管+内容物	277	207
		高用量	雌雄各 1 匹	120		275	195
本試験	薬物動態	低用量	雌雄各 12 匹	24	血液/血漿	220~267	191~206
		高用量	雌雄各 12 匹	72		239~263	187~207
	体内分布	低用量	雌雄各 6 匹	0.67、6、72	雌雄各 23 臓器・組織、カーカス	302~318 <sup>b</sup>	203~216 <sup>b</sup>
		高用量	雌雄各 6 匹	4、24 (雄)、30 (雌)、96		268~290 <sup>b</sup>	196~205 <sup>b</sup>
	体内分布/排泄バランス/代謝物分析	低用量	雌雄各 4 匹 <sup>a</sup>	72	同上及び、尿、糞、ケージ洗液	302~318 <sup>b</sup>	203~216 <sup>b</sup>
		高用量	雌雄各 4 匹 <sup>a</sup>	96		268~290 <sup>b</sup>	196~205 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>：最終屠殺時点の体内分布を兼ねる。<sup>b</sup>：体内分布用と体内分布/排泄バランス/代謝物分析用の計 10 匹

薬物動態パラメーター：頸静脈にカニューレを施し、12 時間以上飼育環境に馴化した個体を使用した。各用量群当たり雌雄各 12 匹を 3 グループに分け、個体別にケージに収容し、下表の各時点で約 0.7 mL を採血して血漿を採取した。

表 2：各血液採取時点における採取動物のまとめ

用量・群		動物数	採血時点 (投与後時間)													
			0	0.33	0.5	0.67	1	2	3	4	6	9	12	24	48	72
低用量 (3 mg/kg)	1A	雌雄各 4 匹		●				●				●				
	1B	雌雄各 4 匹				●			●			●				
	1C	雌雄各 4 匹					●				●		●			
高用量 (300 mg/kg)	2A	雌雄各 4 匹			●					●		●				●
	2B	雌雄各 4 匹					●			●		●		●		
	2C	雌雄各 4 匹	●					●				●			●	

排泄バランス：投与後、用量群当たり雌雄各 4 匹を個体別にガラス代謝ケージで飼育し、氷冷した容器に尿と糞を分別採取した。尿採取と合わせてケージを水で洗い、ケージ洗液とした。次の各時点で尿及び糞を採取し、投与後 72 時間 (低用量) または 96 時間 (高用量) に屠殺して、次の臓器・組織を採取した。予備試験では呼気を調査するため、投与後 72 時間までケージの呼気を 10%KOH 溶液 (250 mL × 2 連) に通気し、24 時間ごとに KOH 溶液を交換した。

低用量 尿：6、12、24、48、72 時間

糞：24、48、72 時間

高用量 尿：6、12、24、48、72、96 時間

糞：24、48、72、96 時間

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

体内分布：低用量投与後 0.67、6、72 時間及び高用量投与後 4、24 (雄)、30 (雌)、96 時間の各時点で雌雄各 3 匹を屠殺し、24 臓器/組織とカーカスを採取した。

#### 分 析：

総放射エネルギーの測定；液体試料は直接または水で希釈して、血液、血球、骨及び糞抽出残渣は燃焼処理し、それ以外の臓器組織は細切し、組織溶解剤で溶解した後、いずれも液体シンチレーション計測 (LSC) した。

代謝物等の分析；体内分布/排泄バランス/代謝物分析群の各採取時点の尿、ケージ洗液及び糞試料のうち、投与量の 5%以上の放射能が検出されたものを、1 群あたり 4 匹分をまとめ、各採取時点及び雌雄別の代謝物等の分析用試料とした。糞はアセトニトリル (AcCN) /水 (50:50) で 2 回、AcCN で 1 回、1NHCl 含有 AcCN で 2 回、それぞれ振とう抽出し、全ての抽出液を合わせて試料とした。代謝物等は、逆相系 HPLC の溶出液を LSC 分析して定量し、標準品との HPLC 及び TLC コクロマトグラフィー及び負イオンモードによる LC/MS(MS)により同定した。 $\beta$ -グルクロニドの確認は、尿を  $\beta$ -グルクロニダーゼで酵素加水分解して行った。

#### 試験結果：

排泄バランス：表 3 に示すように、雌雄各 1 匹に低用量または高用量を単回経口投与後 5 日間調査した排泄予備試験で 72 時間までに呼気中に有意な放射能が検出されず、投与量の 90%以上が尿、糞、ケージ洗液、カーカスから回収された。このため、本試験では呼気の捕集及び分析を実施しなかった。

表 3：排泄予備試験結果 (N=1；投与量%)

採取試料及び間隔	低用量(3 mg/kg)		高用量(300 mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌
呼気 (CO <sub>2</sub> ) 0~72hr	0.00	0.00	0.00	0.00
糞 0~120hr	31.02	12.82	62.56	11.33
尿 0~120hr	63.64	75.40	26.62	76.21
ケージ洗液 0~120hr	2.11	3.02	8.15	3.77
カーカス	0.28	0.30	0.68	0.95
消化管+内容物	0.03	0.03	0.08	0.11
総回収率	97.08	91.57	98.09	92.37

一群 4 匹で構成された本試験では、表 4 及び表 5 に示すように、すべての試験群で投与放射能の 90%以上が回収された。排泄は急速で、低用量では 48 時間 (雌雄) で投与量の約 95%以上、高用量では 1 匹の雌を除いて 48 時間で 90%以上が排泄され、投与後 72 時間 (低用量) または 96 時間 (高用量) の体内残存量は、低用量で投与量の 0.5%以下、高用量で 0.9%以下であった。低用量と高用量のいずれにおいても、また雌雄のいずれにおいても、主排泄経路は、尿への排泄であり、投与放射能の 60~69%が 72 時間または 96 時間までの尿から回収された。糞から投与量の 14% (雌) または 21~31% (雄) が、ケージ洗液には 7~19%が回収された。ケージ洗液中放射能は主に尿に由来すると考えられる。高用量では尿への排泄が雌で特に遅れ、2 日後に最高となった。また、糞への排泄量は雌よりも雄の方が高かった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 4 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後の総 <sup>14</sup>C 排泄量 (投与量%)

採取日	低用量 (3 mg/kg)		高用量 (300 mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌
1 日	88.68	87.32	79.40	41.25
2 日	6.76	8.40	17.50	44.02
3 日	0.72	0.83	0.55	4.35
4 日	NA	NA	0.21	0.45

NA : 試料採取なし

表 5 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後の <sup>14</sup>C 排泄バランス (投与量%)

採取試料	採取間隔 (hr)	低用量 (3 mg/kg)		高用量 (300 mg/kg)	
		雄	雌	雄	雌
尿	0~6	29.87	44.09	12.37	6.26
	6~12	20.68	8.92	14.99	7.98
	12~24	13.33	8.58	23.81	16.89
	24~48	2.29	1.67	8.85	34.45
	48~72	0.17	0.29	0.24	2.77
	72~96	NA	NA	0.10	0.24
	Σ	66.33	63.55	60.36	68.60
糞	0~24	16.08	7.33	22.05	5.22
	24~48	4.27	6.55	8.24	7.67
	48~72	0.49	0.44	0.25	1.36
	72~96	NA	NA	0.06	0.15
	Σ	20.84	14.31	30.60	14.40
ケージ洗液	0~6	5.07	13.50	1.61	1.91
	6~12	2.52	3.51	1.98	0.92
	12~24	1.13	1.39	2.59	2.07
	24~48	0.20	0.18	0.41	1.90
	48~72	0.06	0.10	0.06	0.22
	72~96	NA	NA	0.05	0.06
	Σ	8.98	18.68	6.70	7.07
カーカス		0.20	0.37	0.29	0.69
消化管+内容物		0.08	0.08	0.04	0.36
総回収率		96.43	96.99	97.98	91.12

NA : 試料採取なし

薬物動態パラメーター：予備試験における血漿中放射能濃度は、低用量投与後 24 時間で雌雄とも最高濃度 (Cmax) の 1%以下に、高用量の雄では 36 時間以内で、雌では 72 時間で Cmax の 1%以下に低下したことから、本試験では低用量については 24 時間、高用量では 72 時間の血漿中濃度について検討した。

表 6 と 7 及び図 1 に示すように、血漿中濃度は、雌雄とも低用量では投与後 40 分 (0.67 時間)、高用量では 1 時間で Cmax に達した。Cmax は低用量では雄より雌で高かったが、高用量では性差は無かった。しかし、Cmax 付近で高濃度が持続される時間は、雄が投与

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

後 4 時間迄であるのに対して雌では少なくとも投与後 24 時間であった。従って、曲線下面積 (AUC) についても性差が認められ、雌は雄より 2.3 倍高かった。血漿からの消失半減期 (DT<sub>50</sub>) は低用量と高用量のいずれにおいても雌雄で類似していた (低用量 : 1.5 ~ 1.7 時間、高用量 4.9 ~ 5.7 時間)。雌雄とも試験終了時の血漿中濃度は C<sub>max</sub> の 1% 以下であった。

表 6 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後の血漿中 <sup>14</sup>C 濃度 (μg/g EQ) の推移

投与後時間 (hr)	低用量 (3 mg/kg)		高用量 (300 mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌
0.33	2.183	5.339	NA	NA
0.5	NA	NA	211.3	202.9
0.67	3.708	6.571	NA	NA
1	2.804	4.047	217.0	236.0
2	1.128	3.134	199.3	235.4
3	0.710	1.055	NA	NA
4	NA	NA	226.9	230.2
6	0.212	0.348	192.7	238.7
9	0.120	0.129	162.9	262.4
12	0.071	0.066	157.8	258.9
24	0.011	0.012	35.9	239.3
48	NA	NA	0.5	3.6
72	NA	NA	0.3	0.7

NA : 試料採取なし

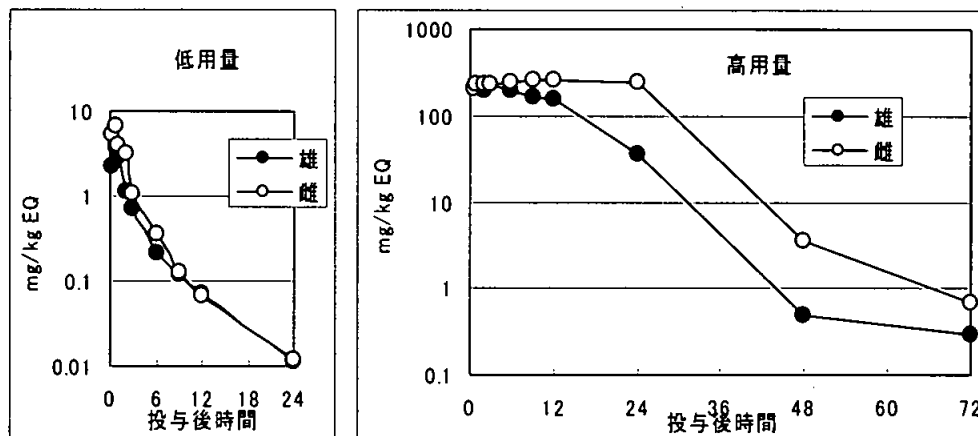


図 1 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後の血漿中 <sup>14</sup>C 濃度の推移



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 7 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後薬物動態パラメーター

	性	T <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> (μg/g EQ)	DT <sub>50</sub> (hr)	AUC (μg/mL EQ·hr)
低用量 (3 mg/kg)	雄	0.67	3.708	1.7	8.007
	雌	0.67	6.571	1.5	14.724
高用量 (300 mg/kg)	雄	1	226.9	4.9	3839
	雌	1	262.4	5.7	8834

T<sub>max</sub> : 最高濃度到達時間 (プラトーに達したと思われる最初の時点)

DT<sub>50</sub> : この間の消失を 1 相性の一次減衰と見なして 50%が消失するまでの時間

体内分布 : 表 8 及び 9 に示すように、低用量では調査した全時点で、放射能残留物の体内分布のパターンは雌雄の間で類似していた。また、低用量の雌雄及び高用量の雄では調査した全ての臓器・組織から放射能物質は経時的に消失し、蓄積する傾向の認められる臓器・組織は無かった。高用量の雌ではほぼ全ての臓器・組織で 4 時間後よりも 30 時間後の濃度が高くなった。96 時間後には 30 時間後の 1/50~1/100 以下であった。膵臓と甲状腺はその例外で、どちらも経時的に低下し、甲状腺では 96 時間後には 4 時間後の約 1/50 に、膵臓では約 1/4 になった。

血液中放射能は主に血漿に分布していた。

低用量投与後 0.67 及び 6 時間では消化管、肝臓及び腎臓に比較的高濃度の放射能が検出されたが、いずれも血漿中放射能濃度を上回ることはなく、これらの組織に蓄積する可能性のないことが示唆された。72 時間における血液及び組織中放射能濃度はいずれも非常に低かった。高用量における放射能残留パターンは低用量と同様であり、96 時間後の組織中残留量はピーク時の 5% 以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネシヨウ株式会社にある。

表 8 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後の <sup>14</sup>C の体内分布 (μg/g EQ)

臓器/ 組織	低用量 (3 mg/kg)						高用量 (300 mg/kg)					
	雄			雌			雄			雌		
	0.67hr	6hr	72hr	0.67hr	6hr	72hr	4hr	24hr	96hr	4hr	30hr	96hr
血漿	4.448	0.927	0.004	6.856	1.688	0.003	221.71	60.92	0.23	277.34	346.86	0.38
赤血球	0.817	0.165	0.002	1.152	0.376	0.002	74.22	14.21	0.25	94.80	141.51	0.46
全血	2.289	0.485	0.003	3.782	0.846	0.002	124.22	29.87	0.20	182.23	264.17	0.48
脂肪	0.556	0.117	0.003	0.519	0.197	0.008	41.48	11.74	1.83	48.38	39.48	21.28
筋肉	0.408	0.105	0.002	0.712	0.162	0.003	32.41	5.55	0.16	46.07	63.28	1.04
脳	0.171	0.034	0.001	0.219	0.054	0.001	19.34	2.53	0.01	31.68	45.13	0.09
脊髄	0.183	0.053	0.002	0.317	0.100	0.001	23.02	3.42	0.03	37.30	54.18	0.17
腎臓	8.898	3.829	0.023	8.349	4.699	0.025	124.05	35.72	0.96	137.38	144.98	2.67
肝臓	9.665	2.527	0.028	11.480	3.595	0.024	153.66	54.06	1.93	169.73	243.41	2.69
肺	1.335	0.274	0.004	1.971	0.525	0.004	82.46	15.81	0.32	114.98	137.74	0.66
心臓	0.968	0.198	0.002	1.424	0.379	0.002	62.76	12.66	0.21	94.15	115.88	0.44
膵臓	1.091	0.487	0.004	1.929	0.561	0.005	103.66	13.03	0.48	190.99	93.44	5.65
脾臓	0.585	0.127	0.003	1.020	0.293	0.003	35.86	6.59	0.19	60.57	76.08	0.83
胃	50.679	12.369	0.008	52.975	9.501	0.017	4886.08	64.53	0.26	6904.72	1384.83	0.48
小腸	10.978	13.700	0.018	8.842	12.943	0.011	1555.88	229.32	0.69	763.20	869.85	1.67
盲腸	0.344	27.171	0.040	0.582	24.122	0.021	395.10	398.77	0.86	172.13	398.36	6.59
大腸	0.368	7.761	0.045	0.586	3.683	0.028	66.73	595.39	1.07	67.60	328.46	32.45
胸腺	0.546	0.123	0.001	0.774	0.252	0.001	45.53	10.09	0.17	58.97	68.83	1.18
副腎	1.009	0.254	0.004	1.539	0.504	0.004	79.29	16.34	1.23	87.92	106.38	16.42
下垂体	1.005	0.330	0.002	2.136	0.576	0.005	63.54	17.99	0.04	99.64	160.22	0.87
甲状腺	1.138	0.217	0.021	1.392	0.330	0.032	52.05	11.05	0.17	118.57	88.00	1.42
骨	0.281	0.059	0.002	0.463	0.224	0.002	30.41	7.90	0.61	44.61	66.44	1.61
骨髄	0.674	0.251	0.002	1.483	0.253	0.003	54.73	11.17	0.48	61.53	126.85	2.11
前立腺	1.768	7.635	0.004	NA	NA	NA	171.86	29.32	0.62	NA	NA	NA
精巣	0.434	0.106	0.001	NA	NA	NA	38.85	10.84	0.84	NA	NA	NA
子宮	NA	NA	NA	1.764	0.668	0.022	NA	NA	NA	117.21	131.82	1.05
卵巣	NA	NA	NA	1.539	0.452	0.005	NA	NA	NA	85.85	106.16	6.39
カーカス	0.521	0.243	0.009	0.838	0.311	0.007	37.66	8.61	0.77	52.64	67.69	2.65

NA: 試料なし。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 9 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後の <sup>14</sup>C の体内分布 (投与量%)

臓器/ 組織	低用量 (3 mg/kg)						高用量 (300 mg/kg)					
	雄			雌			雄			雌		
	0.67hr	6hr	72hr	0.67hr	6hr	72hr	4hr	24hr	96hr	4hr	30hr	96hr
血漿	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
赤血球	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
全血	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
脂肪	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
筋肉	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
脳	0.037	0.007	0.000	0.061	0.014	0.000	0.04	0.01	0.00	0.09	0.14	0.00
脊髄	0.009	0.003	0.000	0.013	0.005	0.000	0.01	0.00	0.03	0.02	0.04	0.00
腎臓	2.520	1.083	0.006	2.385	1.307	0.007	0.34	0.10	0.00	0.43	0.42	0.01
肝臓	15.074	3.603	0.042	16.837	5.11	0.040	2.19	0.80	0.03	2.74	3.09	0.05
肺	0.212	0.039	0.002	0.324	0.088	0.001	0.13	0.02	0.00	0.25	0.27	0.00
心臓	0.120	0.023	0.000	0.181	0.045	0.000	0.08	0.01	0.03	0.13	0.14	0.00
膵臓	0.281	0.131	0.000	0.435	0.130	0.001	0.17	0.02	0.01	0.56	0.10	0.00
脾臓	0.045	0.010	0.000	0.078	0.020	0.000	0.03	0.00	0.05	0.04	0.05	0.00
胃	47.022	6.745	0.009	34.762	3.575	0.021	41.29	0.73	0.00	60.42	4.48	0.00
小腸	15.841	15.782	0.017	14.05	16.523	0.018	24.16	3.29	0.01	11.19	12.37	0.03
盲腸	0.353	19.768	0.033	0.469	18.762	0.020	3.029	3.52	0.01	1.62	2.67	0.06
大腸	0.147	4.929	0.024	0.320	2.074	0.023	0.46	3.39	0.00	0.42	1.98	0.36
胸腺	0.039	0.007	0.000	0.075	0.023	0.000	0.03	0.01	0.00	0.06	0.06	0.00
副腎	0.009	0.002	0.000	0.015	0.006	0.000	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00
下垂体	0.001	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲状腺	0.021	0.004	0.000	0.040	0.006	0.003	0.06	0.02	0.00	0.07	0.15	0.00
骨	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
骨髄	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
前立腺	0.107	0.715	0.000	NA	NA	NA	0.26	0.05	0.00	NA	NA	NA
精巣	0.132	0.031	0.000	NA	NA	NA	0.17	0.05	0.00	NA	NA	NA
子宮	NA	NA	NA	0.168	0.078	0.002	NA	NA	NA	0.10	0.10	0.00
卵巣	NA	NA	NA	0.030	0.010	0.000	NA	NA	NA	0.03	0.03	0.00
カーカス	11.469	5.623	0.207	18.002	6.984	0.174	8.39	1.93	0.19	12.29	15.70	0.63

NA: 試料なし。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

代謝物及び代謝経路：

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

表 10 : [<sup>14</sup>C] AKD-8147 単回経口投与後の排泄物中放射能代謝物組成 (投与量%)

試料	採取時間 (hr)	回収放射能	同定代謝物等				未同定代謝物	
					AKD-8147		糞抽出残渣	その他*
低用量雄	尿	0~6	29.87		0.57		-	3.65
		6~12	20.68		0.25			2.85
		12~24	13.33		0.15			2.06
	ケージ洗液	0~6	5.07		0.14			0.62
	糞抽出液	0~24	13.14		5.37		2.94	1.45
		24~48	3.52		1.53		0.75	0.62
	小計		85.61		8.01		3.69	8.21
低用量雌	尿	0~6	44.09		0.66		-	1.99
		6~12	8.92		0.08			0.99
		12~24	8.58		0.06			0.71
	ケージ洗液	0~6	13.50		0.20			1.11
	糞抽出液	0~24	6.30		1.22		1.03	3.97
		24~48	5.59		1.36		1.21	3.38
	小計		86.98		3.58		2.24	12.15
高用量雄	尿	0~6	12.37		0.73		-	0.6
		6~12	14.99		0.61			2.5
		12~24	23.81		1.93			2.9
		24~48	8.85		0.29			0.9
	糞抽出液	0~24	19.39		15.25		2.66	1.2
		24~48	7.05		5.00		1.19	0.0
	小計		86.46		23.81		3.85	8.0
高用量雌	尿	0~6	6.26		0.54		-	0.6
		6~12	7.99		0.85			0.1
		12~24	16.89		1.64			0.0
		24~48	34.45		3.48			0.5
	糞抽出液	0~24	4.60		4.60		0.62	0.0
		24~48	6.47		6.47		1.20	0.0
	小計		76.66		17.58		1.82	1.2

\* : その他 = (<sup>14</sup>C 放射能 - 同定代謝物小計 (含む AKD-8147 抱合体 1)、申請者計算値)

NA : 分析せず、ND : 未検出

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

図 2 : [ $^{14}\text{C}$ ] AKD-8147 のラットにおける主要代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

参考 1)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロ カネショウ株式会社にある。