

DCIP のマウスにおける慢性毒性試験

(資料 5-1)

試験機関：

報告書作成年：

報告書改訂年：

検体の純度：

供試動物： ICR 系マウス (5 週令) 1 群雌雄各 56 匹

投与期間： 24 ヶ月

投与方法： DCIP を 0, 80, 400, 2000, 10000 ppm 含有した粉末飼料を 24 ヶ月 (104 週) 間摂取させた。DCIP はオリーブオイル (飼料の 5 %) で希釈した後粉末飼料に加え、混合機で攪拌した。

なお、試験開始後計画的 (投与 13, 26, 52, 78 週時) に各群の動物雌雄それぞれ原則として 7 匹ずつ (78 週では 6 匹) を、また試験終了時 (投与 104 週後) には、生存動物全例をと殺し検査した。また、途中死亡・切迫殺動物についても可能な限り諸検査を実施した。

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；投与期間中毎日動物の症状、生死を観察した。

104 週時の死亡率を表に示す。

投与量 (ppm)		0	80	400	2000	10000
死亡率 (%)	雄	72.4	82.8	72.4	82.8	79.3
	雌	82.8	69.0	69.0	75.9	96.6

2000 ppm 以上の投与群で雌雄とも体重増加抑制に伴う体型の小型化および削瘦が認められ、10000 ppm 群では 2~4 週頃より行動の不活発な個体が観察された。

104 週時の死亡率は表のごとくであり、対照群との間で大差はなかった。なお、10000 ppm 群では雌雄とも明らかに低栄養が主な原因と考えられる死亡が投与初期に認められた。

体重変化；投与開始後 26 週までは毎週 1 回、52 週までは 2 週に 1 回、その後 104 週まで 4 週に 1 回の頻度で測定した。

結果を表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

性別	雄				雌			
	週\投与量 (ppm)	80	400	2000	10000	80	400	2000
1				↓ 82			↑ 106	↓ 85
4				↓ 68			↑ 107	↓ 82
13				↓ 66				↓ 62
26				↓ 67				↓ 57
52				↓ 65				↓ 52
76				↓ 77				↓ 53
104				↓ 77				( 68 )

Dunnett または Scheffe 検定 ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

104 週における 1000 ppm 群雌の生存は 1 匹のため参考データとして ( ) 内に示す。

10000 ppm 群では、雌雄ともに著るしい体重増加抑制がみられたが、2000 ppm 以下の投与群では雌雄ともに対照群の値を上下する一定しない変動を示した。また、体重増加抑制はマウスの飼料忌避及び 10000 ppm 群ではそれに加え検体摂取の影響によりもたらされたものと推察された。

**摂餌量** ; 各投与群雌雄とも投与開始時に定めた 4 ケージ (16 匹) について毎週 2 回摂餌量を測定した。1 日 1 匹の平均摂餌量を投与開始後 26 週までは週 1 回、その後 52 週までは 2 週に 1 回、その後 104 週まで 4 週に 1 回の頻度で算出した。  
平均摂餌量を表に示す。

性別	雄				雌				
	週\投与量 (ppm)	80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
1		118	106	108	53	96	94	98	44
4		100	114	111	49	96	89	89	70
13		115	113	113	67	93	82	89	47
26		121	118	108	74	89	91	93	43
52		114	121	119	79	100	86	93	50
76		100	105	107	86	92	92	97	72
104		100	97	95	85	95	90	92	(78)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

104 週における 1000 ppm 群雌の生存は 1 匹のため参考データとして ( ) 内に示す。

雄の 400 ppm 以上の投与群および雌の全投与群で、検体濃度と関連した摂餌量の減少が認められたが、これは強い刺激臭を有する検体を混じた飼料に対するマウスの忌避によるものと推察された。

**食餌効率** ; 各投与群雌雄の平均体重増加をそれぞれの平均摂餌量で除し、100 を乗じてパーセントとした。

各投与群の食餌効率は雌雄ともに対照群のそれを上下する一定しない変動を示したが、10000 ppm 群では雌雄とも 33 % という低値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

検体摂取量；摂餌量に投与濃度を乗じて検体摂取量を算出した。

算出された各投与群雌雄の総平均検体摂取量は表の通りであった。

投与量 (ppm)		80	400	2000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	8.41	40.1	198	927
	雌	7.58	35.8	194	961

飲水量；各投与群雌雄とも投与開始時に定めた4ケージ(16匹)について毎週2回飲水量を測定した。

1日1匹の平均飲水量を平均摂餌量の場合と同様に算出した。

10000 ppm 群の雌雄で飲水量の低下傾向を認めたが、これは摂餌量の減少に伴う二次的な変化と推察された。

血液学的検査；投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物を対象として、ヘモグロビン濃度 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、白血球百分率の測定を行った。採血は開腹した後大静脈より行ったが、白血球百分率検査用の血液は尾静脈血を用いた。

統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

検査時期	検査項目	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
13 週	RBC				↓71				
	Ht	↓90			↓83				↓91
	Hb	↓84		↓89	↓82				↓82
	WBC	↓66	↓52	↓52	↓23				
	白血球百分率								↓33
26 週	RBC				↓86				↓84
	Ht								↓84
	Hb				↓89				↓80
	WBC			↓53	↓47	↓61			↓54
	白血球百分率							↑133	
52 週	RBC								↓82
	Ht				↓88				
	Hb								↓84
	白血球百分率							↓0	↓0
		単球							

Dunnett または Scheffe 検定 ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

これらの変動のうち 10000 ppm 投与群の雌雄で 13 及び 26 週に認められた赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度の変動については、病理組織学的検査で認められた脾臓のヘモジデリン沈着及び髓外造血亢進と関連しており、検体の特異的な作用と考えられる。

また、雄では投与 13 週時に全投与群において、また、投与 26 週時に 2000 および 10000 ppm 投与群において統計学的に有意な白血球数の減少が観察された。雌では投与 13 週時に 2000 および 10000 ppm 投与群において統計学的有意差はなかったものの白血球数の減少傾向がみられ、26 週時には 400 および 10000 ppm 投与群において白血球数の有意な減少が観察された。投与 52 週以降では雌雄ともに、いずれの用量群においても有意な変化は認められなかった。

これらの投与群における白血球数の減少については、以下の様に考察した。

最高用量である 10000 ppm 投与群では、雌雄ともに摂餌量の減少を伴う顕著な体重増加抑制(対照群に比べ 20 ~30 %前後)が投与開始時から終了時まで認められた。摂餌量と白血球数との関係については、制限食モデルを用い種々検討<sup>1-3)</sup>されている。一般に摂餌量の減少を伴う顕著な体重減少がみられた場合、白血球数が減少することが知られており、低栄養状態を反映する所見と考えられている。従って、本試験の 10000 ppm 投与群雌雄にみられた白血球数の減少も摂餌量の減少に伴う二次的変化と推察された。一方、その他の投与群における白血球数の減少[雄: 3.2~4.3 ( $10^3/\text{mm}^3$ )、雌: 2.5 ( $10^3/\text{mm}^3$ )]については、いずれも背景データの正常範囲[雄: 2.1~5.1 ( $10^3/\text{mm}^3$ )、雌: 2.1~4.4 ( $10^3/\text{mm}^3$ )]内にあり、また、摂餌量および体重に異常は認められず、病理組織学的検査を含む諸検査においても白血球数の減少を示唆する対応所見が観察されなかったことから、偶発所見と解釈された。

血液生化学的検査; 投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物を対象として、次の項目について検査した。

GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ (ALP)、血糖、総蛋白 (TP)、尿素窒素 (BUN)、総コレステロール (T. Chol)、総ビリルビン (T. Bil)

また、投与 104 週時には血清蛋白分画の測定も行なった。

統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

- 1) 原田孝則・平野雅裕・吉川正子・臼井敏仁: 粉末セルロースの飼料混入による体重減少と毒性検査値 J Toxicol Sci 1(1):78-79, 1976
- 2) Oishi S, Oishi H, and Hiraga K: The effect of food restriction for 4 weeks on common toxicity parameters in male rats. Toxicol Appl Pharmacol 47: 15-22, 1979
- 3) Levin S, Semler D, and Ruben Z: Effects of two weeks of feed restriction on some common toxicologic parameters in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol 21(1): 1-14, 1993

検査時期	検査項目	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		80	400	2000	10000	80	400	2000	10000
13 週	GOT				↑ 193				
	GPT				↑ 246				
	TP				↓ 90				
	BUN								↑ 140
26 週	ALP								↑ 226
	血糖	↓ 74			↓ 68				↓ 51
	TP				↓ 88				↓ 90
	BUN								↑ 189
	T. Chol	↓ 82							↑ 164
	T. Bil								↑ 150
52 週	ALP				↑ 243				
	血糖				↓ 60				
	TP				↓ 83				↓ 85

Dunnett または Scheffe 検定 ↑ ↓ :  $p < 0.05$ , ↑ ↓ :  $P < 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

10000 ppm 群の雄では 13 週に GOT と GPT の軽度増加、10000 ppm 群の雌では 13 及び 26 週に尿素窒素の軽度増加が認められたが、中期以降は回復したことから、肝に対する検体の何らかの作用が示唆されたが、極めて軽度と推察された。一方、10000 ppm 群の雌雄で 52 週まで認められた総蛋白及び/または血糖値の減少は、低栄養状態による生理活性の低下を反映した変化と推察され、検体の毒性によるものではないと判断された。78 及び 104 週には有意な変動は認められなかった。

2000 ppm 以下の投与群の雌雄では、用量相関性はみられず、検体投与に関連する有意な変動はないと判断された。

尿検査： 投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物を対象として、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血の検査を行なった。

統計学的有意差が認められたのは、13 週に 80 ppm 群の雌に認められた pH の上昇、26 週に 2000 ppm 群の雌雄と 80 ppm 群の雌に認められた尿蛋白の増加、104 週に 10000 ppm 群の雄に認められた尿蛋白の減少であった。

2000 ppm 以下の群に認められた尿蛋白の増加と 80 ppm 群の雌に認められた pH の上昇には用量相関性は認められず、検体投与に起因した変動とは考えられなかった。

10000 ppm 群の雄に認められた尿蛋白の減少については、血漿総蛋白値や泌尿器系組織に異常がなかったことから検体による変動とは考えられなかった。

臓器重量： 投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物を対象として、剖検後、下記の重量(絶対重量)を測定した。

脳、下垂体、甲状腺、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、生殖腺(精巣、卵巣)、骨格筋(左後肢下腿三頭筋)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

また、各臓器について相対重量(比体重値)を求めた。

統計学的有意差が認められた臓器重量を表に示す。

表：統計学的有意差が認められた臓器重量変化

性別		雄									雌				
投与量 (ppm)		80		2000		10000					10000				
臓器	検査時期 (週)	13	26	26	52	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104
体重						↓71	↓59	↓59		↓77	↓64	↓59	↓61	↓59	(68)
脳	絶対重量						↓91				↓87	↓85	↓86		(85)
	相対重量					↑136	↑156	↑163		↑128	↑145	↑144	↑139	↑165	(123)
下垂体	絶対重量				↓60	↓62		↓40			↓27	↓39	↓43	↓64	(76)
	相対重量				↓61			↓73			↓39	↓65			
甲状腺	絶対重量							↓61				↓66	↓65		
	相対重量														
心臓	絶対重量					↓71	↓59	↓54	↓81		↓64	↓66	↓67	↓70	(72)
	相対重量	↑115													
胸腺	絶対重量		↓38	↓42							↓41				
	相対重量		↓40	↓40		↑150									
肝臓	絶対重量						↓60	↓52	↓77		↓65			↓68	(54)
	相対重量					↑126							↑134		
腎臓	絶対重量					↓68	↓56	↓49		↓80	↓59	↓60		↓75	(76)
	相対重量														
脾臓	絶対重量						↓56				↓48	↓67			
	相対重量														
副腎	絶対重量										↓58	↓59	↓66		(88)
	相対重量					↑163	↑175								
精巣	絶対重量														
	相対重量						↑137	↑151							
卵巢	絶対重量										↓19	↓22	↓26		(61)
	相対重量										↓36	↓38	↓44		(87)
骨格筋	絶対重量					↓66	↓68	↓67			↓65	↓56	↓63		(106)
	相対重量									↑131	↑147			↑152	(154)

Dunnett または Scheffe 検定 ↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものを。

104 週における 1000 ppm 群雌の生存は 1 匹のため参考データとして ( ) 内に示す。

10000 ppm 群の雌雄および 2000 ppm 群の雄で試験初期または中期に下垂体の重量が低下したが、用量相関性はみられず病理組織学的な異常もみられなかったことから検体投与による影響とは考えられなかった。10000 ppm 群の雌で卵巣重量が著しく低下し、病理組織学的にも閉鎖卵胞出現や萎縮性病変が試験前半期で、褐色・消毛色素変性が試験後半期でそれぞれ増加したことから、検体の卵巣に対する何らかの作用が示唆されたが、その詳細は不明であった。

また、2000 ppm 以下の群の雄で試験 26 週に胸腺重量の低下が認められたが、用量相関性はみられず検体投与による影響とは考えられなかった。

その他の臓器でみられた重量の変化はいずれも体重増加抑制に伴う体型の小型化によるもので、検体投与による臓器障害を示唆するものではないと判断された。

肉眼的病理検査；投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物及び途中死亡、切迫殺動物を対象として肉眼的病理検査を実施した。

10000 ppm 群の雌雄で、体型および全身諸臓器の小型化がみられたが、体重増加抑制に伴うものと考えられた。

病理組織学的検査；投与 13, 26, 52, 78 週時の計画殺動物と投与 104 週時の全生存動物及び途中死亡・切迫殺動物を対象として、下記の臓器について病理組織学的検査を実施した。

大脳、小脳、延髄、下垂体、甲状腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、膵臓、胃、腸、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、骨髄(大腿骨)、筋肉(下腿三頭筋)、リンパ節、唾液腺、膀胱、皮膚、乳腺および肉眼的異常部位。

非腫瘍性病変；血液検査で貧血に係る項目の変動と関連し 10000 ppm 群の雌雄で脾臓のヘモジデリン沈着及び雄で脾臓の髓外造血亢進の発生頻度増加が観察された。その他、10000 ppm 群の雌雄で肝細胞萎縮、肝間質リポフスチン沈着、雌で肝胆管増生が観察されたが、これらの所見は摂餌量の低下に伴う低栄養状態を反映したものと推察され、検体の毒性によるものではないと判断された。2000 ppm 以下の投与群雌雄でいずれも検体濃度と関連する有意な増加はみられなかった。

腫瘍性病変；雌雄ともいずれの投与群においても、対照群に比べてその発生頻度において有意な増加を示したものはなかった。

次頁に、各群における腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発生頻度を示す。また、すべての腫瘍性病変発生数を別紙 1~2、主な非腫瘍性病変発生数を別紙 3 として示す。

以上の様に本慢性毒性試験では、検体投与による影響と考えられる変化は、10000 ppm 群の雌雄でみられた食餌効率の低下を伴う体重増加抑制、貧血に係わる血液学的検査項目での変動およびこの貧血と関連して 10000 ppm 群の雌雄でみられた脾臓のヘモジデリン沈着と雄での髓外造血亢進であった。以上の結果から、本試験の無毒性量は雄で 2000 ppm (198 mg/kg/日)、雌で 2000 ppm (194 mg/kg/日)であると判断した。

腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発生頻度

性別	投与量 (ppm)	0	80	400	2000	10000	
雄	検査動物数	56 (35/21)	54 (32/22)	56 (35/21)	54 (32/22)	52 (33/ 9)	
	腫瘍数	良性	16 (11/5)	10 ( 6/4)	21 (12/ 9)	16 (10/ 6)	8 ( 7/ 1)
		悪性	5 ( 0/ 5)	8 ( 1/ 7)	5 ( 1/ 4)	6 ( 0/ 6)	2 ( 1/ 1)
	腫瘍総数	21 (11/10)	18 ( 7/11)	26 (13/13)	22+1 <sup>*</sup> (10/12)	10 ( 8/ 2)	
	腫瘍動物数	20 (10/10)	16 ( 6/10)	21 ( 8/13)	19+1 <sup>*</sup> (8/11+1)	8 ( 6/ 2)	
	非腫瘍性病変 動物数	86 (70/16)	48 (33/15)	67 (49/18)	67 (45/22)	84 (68/16)	
雌	検査動物数	56 (32/24)	56 (36/20)	56 (36/20)	56 (34/22)	55 (28/27)	
	腫瘍数	良性	10 ( 5/ 5)	14 ( 9/ 5)	9 ( 7/ 2)	15 ( 8/ 7)	1 ( 1/ 0)
		悪性	8 ( 0/ 8)	7 ( 1/ 6)	14 ( 4/10)	11 ( 5/ 6)	3 ( 0/ 3)
	腫瘍総数	18 ( 5/13)	21 (10/11)	23 (11/12)	26 (13/13)	4 ( 1/ 3)	
	腫瘍動物数	16 ( 5/11)	19 ( 9/10)	20 ( 9/11)	17 ( 8/ 9)	4 ( 1/ 3)	
	非腫瘍性病変 動物数	71 (46/25)	76 (59/17)	70 (53/17)	73 (54/19)	99 (73/26)	

表中の数値： 合計(計画殺による検査結果/死亡・切迫殺による検査結果)

\* 死後変化のため診断が困難な腎臓の腫瘍が1例で認められた。



別紙1 雄マウスの腫瘍性病変発生数

臓器	所見	投与量 (ppm)		0		80		400		2000		10000	
		計画殺 (A) / 死亡・切迫殺 (B)		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
		検査動物数		35	21	32	22	35	21	32	22	33	19
肺	腺腫 (良)	7	2	4	3	5	9*	7	5	4	1		
	腺癌/癌 (悪)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0		
肝臓	時節性肥大/腺腫 (良)	1	1	0	0	4	0	1	0	2	0		
リンパ・造血器系	胸腺腫/リンパ腫 (良)	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0		
	リンパ性白血病/リンパ肉腫 (悪)	0	3	0	3	0	1	0	3	0	0		
	細網細胞肉腫 (悪)	0	1	0	3	0	1	0	1	1	0		
	骨髄性白血病 (悪)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
	死変のため診断困難な白血病 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
消化器系	前胃乳頭腫 (良)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
腎臓	死変のため診断困難な腫瘍	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
精巣	間細胞腫 (良)	1	0	2	0	0	0	2	1	0	0		
副腎	皮質明細胞腺腫 (良)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
甲状腺	腺腫 (良)	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0		
皮下	脂肪肉腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	平滑筋肉腫 (悪)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
	骨形成性肉腫 (悪)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
	未分化腫瘍 (悪)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
死後融解のため病理組織学的検索せず		0	0	0	2	0	0	0	2	0	4		

(良) ; 良性腫瘍 (悪) ; 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : \* ; p < 0.05

別紙 2 雌マウスの腫瘍性病変発生数

臓器	所見	投与量 (ppm)		0		80		400		2000		10000	
		計画殺 (A) / 死亡・切迫殺 (B)		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
		検査動物数		32	24	36	20	36	20	34	22	28	27
肺	腺腫 (良)	3	1	3	0	3	1	6	3	1	0		
肝臓	結節性肥大 (良)	0	1	2	1	1	0	1	2	0	0		
リンパ・ 造血器系	リンパ腫 / 胸腺腫 (良)	0	1	3	0	1	0	0	1	0	0		
	リンパ性白血病 / リンパ肉腫 (悪)	0	5	0	5	3	3	3	4	0	2		
	細網細胞肉腫 (悪)	0	2	1	0	0	3	2	1	0	1		
	骨髄性白血病 (悪)	0	0	0	1	0	2	0	1	0	0		
消化器系	腹膜未分化腫瘍 (悪)	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0		
卵巣	腺腫 (良)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0		
	顆粒膜細胞腫 (良)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
子宮	平滑筋腫 (良)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
	未分化転移性腫瘍 (悪)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
乳腺	良性腫瘍 (良)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
	癌 (悪)	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0		
下垂体	腺腫 (良)	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0		
甲状腺	腺腫 (良)	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0		
皮下	神経線維腫 (良)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
死後融解のため病理組織学的検索せず		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		

(良) ; 良性腫瘍 (悪) ; 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 :  $p < 0.05$  で有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別紙3 主な非腫瘍性病変発生数

臓器	所見	性別		雄										雌									
		投与量 (ppm)		0		80		400		2000		10000		0		80		400		2000		10000	
		計画殺 (A) / 死亡・切迫殺 (B)		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
		検査動物数		35	21	32	22	35	21	32	22	33	19	32	24	36	20	36	20	34	22	28	27
肺	気管支肺炎	0	2	0	2	3	2	0	1	3	3	0	4	1	1	2	2	2	0	0	1		
	大葉性肺炎	0	1	0	0	0	4	0	1	0	2	0	3	0	1	0	1	0	3	0	2		
肝臓	胆管増生	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	9 <sup>*3</sup>	0		
	肝細胞萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	14 <sup>*3</sup>	0	0	0	2	0	1	0	1	0	13 <sup>*3</sup>	0		
	間質リポフチン沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	6 <sup>*1</sup>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	10 <sup>*3</sup>	0		
	巣状肝細胞壊死	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
	肝細胞肥大 <sup>*4</sup>	0	0	0	0	2	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0		
脾臓	ヘモジデリン沈着	0	0	0	0	0	0	1	0	11 <sup>*3</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7 <sup>*2</sup>	0		
	髓外造血亢進	2	0	1	0	4	0	1	0	9 <sup>*1</sup>	0	4	0	2	0	1	0	0	0	7	0		
	萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	5 <sup>*1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
膵臓	ラ氏島過形成	6	0	2	0	5	0	8	0	4	0	4	0	3	0	0	0	1	0	1	0		
卵巣	閉鎖卵胞目立つ/萎縮性											0	0	0	0	0	0	0	0	12 <sup>*3</sup>	0		
	褐色/消耗色素変性											0	0	2	0	0	0	4	0	5 <sup>*1</sup>	0		
皮膚	皮膚炎 <sup>*5</sup>	1	4	0	3	1	4	1	7	2	0	0	2	2	3	0	3	0	4	0	0		
全身	低栄養	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10 <sup>*3</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22 <sup>*3</sup>		
死後融解のため病理組織学的検索せず		0	0	0	2	0	0	0	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		

Fisherの直接確率計算法：\*1；p<0.05、\*2；p<0.01、\*3；p<0.001

\*4；雌は限局性肝細胞肥大であった。

\*5；雌は皮膚炎にあわせて皮下膿瘍がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

イヌを用いたカプセル経口投与による慢性毒性試験

(資料 5-3)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ビーグル犬、1群雌雄各4頭、開始時約6カ月齢、  
投与開始時体重 ♂：7.3～10.5 kg、♀：6.1～8.4 kg

投与期間： 52週間

投与方法： 最近時の各動物の体重に基づいて秤量した検体をゼラチンカプセルに充填し、2、10  
および50 mg/kg/日の用量で52週間、1日1回連日経口投与した。対照群には空カプセルを同様に投与した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；臨床症状検査、死亡及び瀕死状態の有無を1日2回確認した。全身の身体検査を毎週1回行った。

試験期間中に動物の死亡はなかった。

検体投与群と対照群でみられた臨床症状の性状あるいは発生頻度に差はなく、検体投与に関連した症状は認められなかった。

体重変化；群分け前、投与開始1週間前、投与開始前日に各1回、投与期間中は投与13週までは週1回、その後は4週間に1回、さらに剖検の1～2日前および剖検日に体重を測定した。

検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量；投与開始直前の1週間、投与期間中ともに毎日測定した。

検体投与の影響は認められなかった。

血液学的検査；全動物について、投与開始前、投与第4、13、26および52週に、一晚絶食の後、頸静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (HGB)、ヘマトクリット (HCT)、赤血球指数 [平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)]、血小板数 (PLT)、白血球分画 (相対値および絶対値)、細胞形態学的検査、網状赤血球数 (RETIC)

検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液凝固系検査；血液学的検査と同時に採取した血液を用い、以下の項目の測定を行った。  
プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学検査；血液学的検査と同時に採取した血液を用い、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ、無機リン、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、ガンマグルタミルトランスフェラーゼ、総コレステロール、総ビリルビン、リン脂質、総蛋白、アルブミン、グロブリン (計算値)、A/G 比、カルシウム、塩素、カリウム、ナトリウム、トリグリセリド、遊離脂肪酸

検体投与に関連した変化は認められなかった。

尿検査；血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。  
尿量、性状 (色調および外観)、比重、グルコース、ビリルビン、ケトン体、亜硝酸塩、潜血、pH、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣の顕微鏡検査

検体投与に関連した変化は認められなかった。

眼科学的検査；全動物について、投与開始前に 1 回、投与 26 および 52 週に検眼鏡 (倒像検眼鏡) 検査およびスリットランプ検査を実施した。

検体投与と関連した所見は認められなかった。

臓器重量；全動物について下記の臓器を摘出し、脂肪を除去した後に重量を測定した。両側性の臓器は合わせて重量測定した。絶対および相対 (対最終体重比および対最終脳重量比) 臓器重量を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺 (気管を含む)、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺 (上皮小体を含む)、子宮

統計学的有意差の認められた項目を表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		2	10	50	2	10	50
肝	脳重量比			↑121			
脾	絶対重量				↓69		
	脳重量比				↓64		

Dunnnett 検定 ↑、↓ :  $p < 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

50 mg/kg/日群雌雄で平均肝重量 (絶対重量および対脳重量比) が軽微に増加し、雄の対脳重量比でのみ統計学的有意差がみられた。しかし、この重量増加を説明できる様な、特異的な病理所見、ならびに肝酵素、コレステロールあるいはトリグリセライドの明らかな変化はなかったため、この重量変化に毒性学的な意義があるとは考えられなかった。

平均脾臓重量の絶対重量および対脳重量比が 2 mg/kg/日群雌で有意に低下した ( $p < 0.05$ )。しかし、用量相関性がみられないことから、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；すべての動物について剖検を行った。

投与に起因した所見は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、大動脈 (胸部)、脳 (大脳皮質、中脳、小脳および髄質)、盲腸、結腸、精巣上体、食道、眼球、大腿骨および骨髄、胆嚢、心臓、腎臓、肝臓 (2 葉のサンプル)、肺 (気管支を含む、2 葉)、リンパ節 (下顎、腸間膜)、乳腺 (鼠径部)、視神経、卵巣、直腸、脾臓、下垂体、前立腺、唾液腺 (下顎)、坐骨神経、骨格筋、皮膚および皮下組織 (鼠径部)、十二指腸、回腸、空腸、脊髄 (中胸部、頸部および腰部)、脾臓、胸骨および骨髄、胃 (噴門部、底部、幽門部)、精巣、胸腺、甲状腺および上皮小体、気管、膀胱、子宮 (角および体部)、膣、すべての肉眼的異常/腫瘍

検査結果 (主な病変) を表 1 に示す。

観察された所見はすべて偶発的で自然発生的なものと考えられ、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、本剤のビーグル犬を用いたカプセル経口投与による 52 週間慢性毒性試験において実施した諸検査項目への影響は認められなかったため、本試験における無毒性量は 50 mg/kg/日と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表1：病理組織学的検査結果（主な病変）

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg/日)		0	2	10	50	0	2	10	50
最終 計画 殺 (全 動物)	臓器	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	副腎	球状帯空胞化	0	1	3	0	0	0	1	2
	眼	網膜囊胞	3	2	4	2	3	2	2	1
	大腿骨及び骨髄	壊死	0	2	0	1	1	2	1	3
	腎臓	乳頭鉍質化	3	3	4	4	3	2	2	2
	肝臓	炎症	1	0	1	2	3	1	1	2
	腸間膜リンパ節	うっ血	3	1	1	2	3	0	0	0
	下顎リンパ節	組織球色素	3	1	3	3	2	1	2	0
	肺	間質性肺炎	4	4	3	4	3	4	2	4
	脾臓	組織球色素	1	3	3	3	1	1	1	1
	胸骨及び骨髄	軟骨変性	1	2	3	2	3	2	3	3
	胸腺	萎縮	3 <sup>a)</sup>	2	4	3	3	2	3	2

a)：検査動物数 = 3 (1例試料なし)

統計検定：Fisher直接確率検定： $p < 0.05$  で有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参 考 資 料 ]

DCIP の発がん性試験

(資料 R8)

試験機関：

報告年：

被験物質：DCIP 原体

試験動物：Fischer 344 系ラット 1 群雌雄各 50 匹

投与期間：103 週間

試験方法：DCIP のコーン油溶液を 1 週 5 回 100 または 200 mg/kg/day で経口投与した。

試験結果：平均体重は試験期間の大部分を通して雌雄ラットの投与群で対照群より低下しており、投与量に依存していた。

生存率は高薬量の雄および高・低両薬量の雌で対照より低く、投与量に対応していた。高薬量群のほとんどすべての動物が、試験の最後までに死亡した。

腫瘍発生率は両性の投与群で対照群に比して有意差はなかった。

従って本被験物質は本試験条件下では両性の F 344 系ラットに対して発癌性がないと結論された。



(9) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

DCIP のラットにおける三世代繁殖試験

(資料 6-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： SD 系ラット

F0, F1 世代 1 群♂30 匹 (うち世代繁殖試験に 12 匹)

♀30 匹 ( " )

F2 世代 1 群♂20 匹

♀20 匹

試験期間：

投与方法： DCIP を 30, 100 及び 300 ppm 含有した粉末飼料を F0 世代親動物より、F3 世代第 2 産  
児の離乳に至る全期間を通して摂取させた。所定量の DCIP を粉末飼料に添加混合し、  
投与飼料を調製した。 調製は 1 週間  
毎に行った。

投与用量設定根拠：

交配・調整・選抜及び観察・試験項目：概要を図 1 に示す。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配については、各世代とも親動物が 100 日齢に達した時点から、同群の  
雌雄を通常 1 対 1 で同居させ交配を行った。10 日 (5 日を 1 性周期として 2 性周期) 間  
隔で雄を取り替え、妊娠が確認されるまで通常 3 匹までの雄と同居させた。交配確認  
の検査は毎日行なった。膣垢中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

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

$$a) \text{ 交尾指数 (Mating Index) } = \frac{\text{交尾した回数}}{\text{交配に要した性周期数}}$$

(交尾の回数は、ラットの 1 性周期を 5 日とし、1 性周期に交尾は 1 回以内であるとして各雌の交尾の回数を  
数え、各群におけるその合計数で表す。)

$$b) \text{ 繁殖指数 (Fecundity Index) } = \frac{\text{妊娠した雌数}}{\text{交尾の回数}}$$

$$c) \text{ 雄妊性指数 (Male Fertility Index) } = \frac{\text{配偶雄数}}{\text{妊性のある雌と交尾した雄数}}$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

$$d) \text{ 雌妊性指数 (Female Fertility Index)} = \frac{\text{妊娠雌数}}{\text{妊性のある雄と交尾した雌数}}$$

$$e) \text{ 出産率 (Incidence of Parturition)} = \frac{\text{出生雌数}}{\text{妊娠雌数}}$$

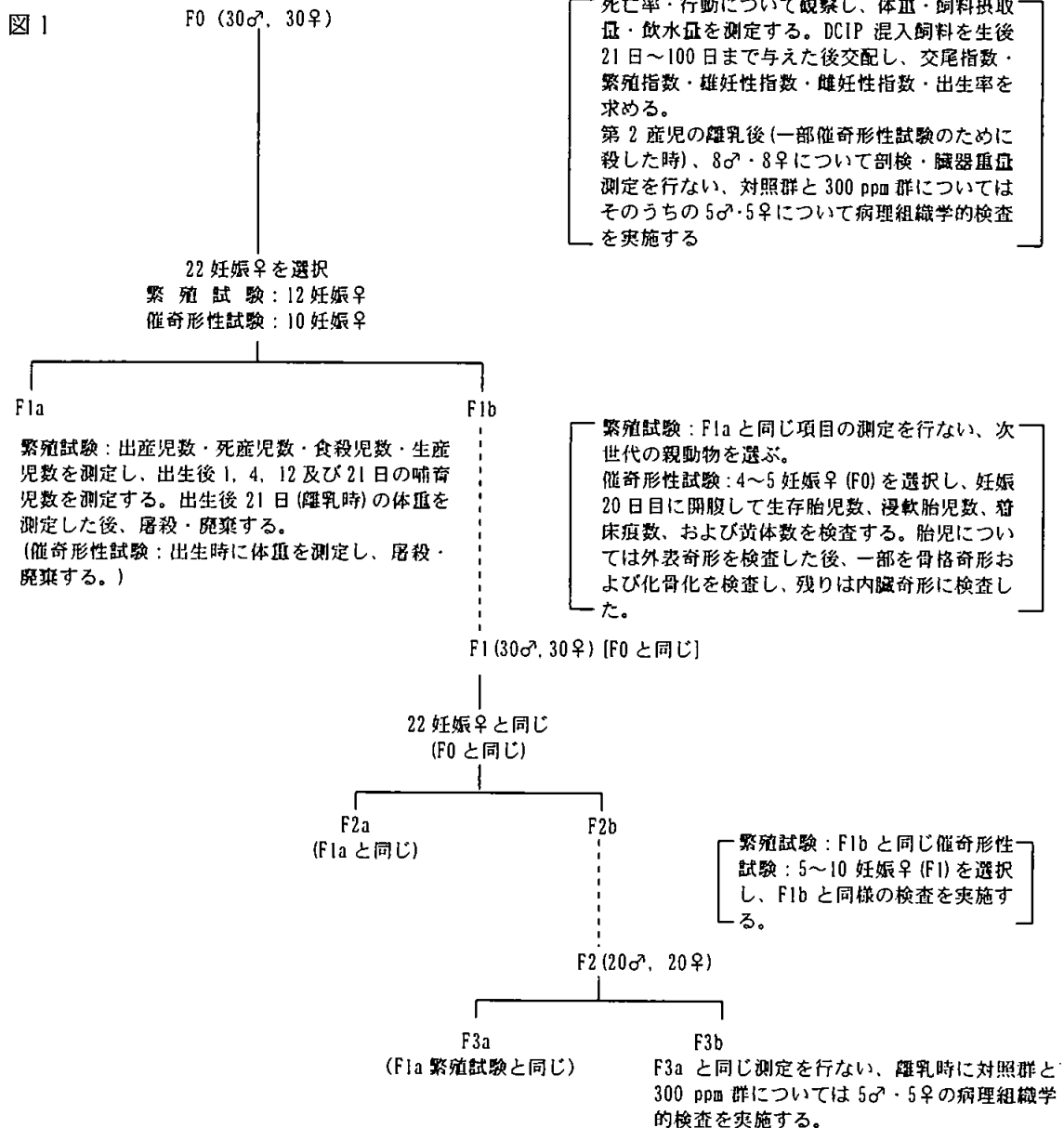
注 1) F0, F1 世代において、供試動物中より選択されなかった雌およびそれと交配した雄のデータは削除してある。

注 2) 第 1 産児 (a) 交配において不妊の雌は第 2 産児 (b) 交配には使用していない。

臓器重量；肝臓、腎臓、脾臓、生殖器、心臓及び脳について行い、絶対重量に加え各臓器の体重比および脳重量比を求めた。

肉眼的病理検査；試験期間中に親動物が死亡した場合は検査を行った。また、第 2 回目の同腹児が離乳した後、各群の生存しているすべての雄ならびに 8 匹の雌をと殺し検査した。

病理組織学的検査；対照群と 300 ppm 群の雌雄 5 頭について病理組織学的検索を行った。対象臓器および組織は、臓器重量測定臓器に加えて、皮膚、気管、肺、脾臓、食道、胃、腸管、リンパ節、膀胱、唾液腺、副腎、下垂体、甲状腺、骨格筋、骨、末梢神経、眼球、胸腺、視神経、大動脈、上皮小体であった。



結果： 概要を表 1 に示す。

一般状態および死亡率；F0、F1、F2 世代とも親動物の死亡が対照群を含めた各群の各世代で認められたが、検体投与に起因した肉眼的、病理組織学的異常は認められなかった。主な死因は肺の炎症によるものであった。一般状態にも異常はみられなかった。

F1、F2、F3 世代児動物に行動の異常は認められなかった。

体重変化；F0、F1、F2 世代とも、親動物において対照群との間に有意差は認められなかった。

児動物の 21 日後雄体重では、F1a 世代において、30 ppm および 100 ppm 群で有意な低下が認められたが、同世代の 300 ppm 群は対照群と同等であり、F1b 世代の 300 ppm 群は対照群と比較して有意に増加していた。また、児の 21 日後雌体重では、F1a 世代において 100 ppm 群で有意な低下が認められ、F1b 世代においては投与群はすべてに有意な増加が認められた。F2a 世代以降は有意な差を示す群は認められず、投与量、世代、産次に一定の変化は認められなかった。

摂餌量および飲水量；F0、F1、F2 世代とも、親動物において対照群との間に摂餌量についての有意差は認められなかった。

また、F2 世代親動物について測定した飲水量についても、対照群との間に有意差は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量から求めた平均検体摂取量を表 A に示す。

表 A 平均検体摂取量 (mg/kg/日)

投与量 (ppm)	F0 世代		F1 世代		F2 世代	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		交配前		交配前		交配前
30	2.5	2.5	2.7	3.9	3.5	3.2
100	10.2	8.6	12.0	14.6	9.1	12.6
300	27.4	27.2	29.5	41.1	31.5	32.6

臓器重量；300 ppm 群 F0 世代の雄において肝臓重量の統計学的に有意な低下が認められたが、雌に有意差は認められず、同群の F1、F2 世代では有意な差は認められなかった。

300 ppm 群 F0 世代の雄の肝臓についての病理組織学的検査では異常は認められなかった。

肉眼的および病理組織学的検査；気管炎、肺炎、腎間質リンパ球浸潤、腎尿細管拡張などの病変が認められたが、これらの所見は対照群を含むすべての群の各世代に認められ、検体に起因する変化ではないと判断された。

繁殖性に関する指標；親動物の繁殖能力に関する交尾指数、繁殖指数、雄・雌妊性指数および出産率は各群でほぼ同様の数値が得られ、検体投与群と対照群の間に繁殖能力の差異は認められなかった。

産児に関する指標；300 ppm 群の F1a 世代で生後 21 日まで生存率がやや減少していったが、F1b 以後の各世代では減少は認められなかった。また、同群の F1b 世代では出産時生存率がやや低かったが、その他の世代では対照群と差は認められなかった。

以上から、DCIP の繁殖性に関する無毒性量は 300 ppm (雄 27.4 mg/kg/日、雌 27.2 mg/kg/日) 以上であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1

世 代		親 : F0			児 : F1a, F1b			親 : F1			児 : F2a, F2b			親 : F2		児 : F3a, F3b		
投 与 量 (ppm)		対照群	30	100	300	対照群	30	100	300	対照群	30	100	300	対象群	30	100	300	
動物総数	♂	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	20	20	20	20	
	♀	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	20	20	20	20	
親	一般症状																	
	死亡数	♂	1	4	3	0	2	6	5	5	3	5	3	6	3	5	3	6
		♀	0	0	0	2	5	3	3	6	2	2	3	3	2	2	3	3
	体重変化																	
	摂餌量																	
	飲水量																	
	臓器重量																	
	肉眼的病理所見																	
	病理組織所見																	
動物	交配♂数	a	22	22	21	23	28	25	27	24	16	16	16	18	16	16	16	18
		b	18	20	16	19	19	12	13	13	11	12	9	11	11	12	9	11
動物	交配♀数	a	22	22	22	22	22	22	22	22	18	18	18	19	18	18	18	19
		b	22	22	22	22	17	21	11	9	13	16	14	17	13	16	14	17
動物	交尾指数	a	22/23	22/25	22/29	24/32	27/87	25/76	24/78	24/86	14/52	21/57	17/47	20/55	14/52	21/57	17/47	20/55
		b	22/41	25/36	22/28	23/36	15/64	21/38	20/38	19/42	13/40	16/38	11/40	17/48	13/40	16/38	11/40	17/48
動物	繁殖指数	a	22/22	22/22	22/22	22/24	22/27	22/25	22/24	22/24	13/14	16/21	15/17	18/20	13/14	16/21	15/17	18/20
		b	21/22	22/25	22/22	21/23	14/15	21/21	20/20	18/19	11/13	14/16	10/11	16/17	11/13	14/16	10/11	16/17
動物	雄妊性指数	a	22/22	22/22	20/21	20/23	15/28	15/25	14/27	17/24	12/16	11/16	11/18	10/18	12/16	11/16	11/18	10/18
		b	16/18	16/20	16/16	18/19	11/19	12/12	13/13	12/13	7/11	9/12	8/9	8/11	7/11	9/12	8/9	8/11
動物	雌妊性指数	a	22/22	22/22	22/22	22/22	22/22	22/22	22/22	22/22	13/18	16/18	15/18	18/19	13/18	16/18	15/18	18/19
		b	20/22	22/22	22/22	21/22	14/17	21/21	20/20	18/20	11/13	14/16	10/14	16/17	11/13	14/16	10/14	16/17
動物	出産率	a	21/22	22/22	22/22	22/22	19/22	21/22	20/22	20/22	13/13	16/16	15/15	17/18	13/13	16/16	15/15	17/18
		b	14/15	17/17	17/17	16/17	10/10	11/11	10/11	9/9	11/11	14/14	9/10	15/15	11/11	14/14	9/10	15/15

空欄：検体投与に起因する変化なし

#：対照群を100とした場合、肝絶対重量74\*、肝相対重量77\*\* (t検定：\* ; p < 0.05, \*\* ; p < 0.01)

交配♂数・♀数：繁殖試験と催奇形性試験に使用した♀数とそれに同居させた♂数。

出産率：F1b, F2bにおいては催奇形性試験における胎児検査用に用いた妊娠雌は除いてある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

世 代		親 : F0			児 : F1a, F1b			親 : F1			児 : F2a, F2b			親 : F2		児 : F3a, F3b	
投 与 量 (ppm)		対照群	30	100	300	対照群	30	100	300	対象群	30	100	300	対象群	30	100	300
母動物数	a	11	12	12	12	10	11	11	11	13	16	15	17				
	b	10	12	12	11	10	11	10	9	11	14	9	15				
出産児数	a	123	132	130	133	81	100	101	93	134	137	141	168				
	b	118	147	149	117	98	102	82	88	118	124	104	153				
死産児数	a	0	3	2	5	1	3	2	3	3	3	1	6				
	b	0	3	2	10	6	7	1	0	13	5	3	12				
食殺児数	a	0	0	0	2	0	0	3	1	0	1	0	2				
	b	0	0	1	3	1	0	1	0	0	1	1	0				
出産時生存率	a	100	97.7	98.4	94.7	98.8	97.0	95.0	95.7	97.8	97.1	99.3	95.2				
	b	100	97.9	97.9	88.8	92.9	93.1	97.6	100	89.0	95.2	96.2	92.2				
24時間生存率	a	100	99.2	99.2	99.2	98.8	95.9	92.7	89.9	100	91.7	98.6	98.1				
	b	100	99.3	100	99.0	98.9	100	98.8	100	100	100	99.0	96.5				
4日後生存率	a	97.5	97.6	99.2	84.9	87.5	90.7	92.7	89.9	99.2	90.2	97.1	93.1				
	b	93.2	97.9	97.9	98.0	98.9	98.9	96.2	100	99.0	99.2	98.0	95.0				
12日後生存率	a	97.9	92.1	100	86.0	97.0	85.7	100	100	95.8	84.7	89.1	92.3				
	b	97.7	80.3	96.5	98.8	93.9	97.7	97.3	93.6	89.6	98.2	93.2	96.7				
21日後生存率	a	92.7	91.1	97.3	62.7	71.6	51.2	94.3	89.0	79.0	75.4	81.4	88.8				
	b	78.8	66.0	76.5	81.6	82.9	94.2	93.2	78.2	83.3	85.6	85.2	89.3				
21日後♂体重(g)	a	51	46*	44**	52	39	42	36	39	46	46	48	48				
	b	42	45	43	50**	45	43	44	41	47	43	43	45				
21日後♀体重(g)	a	47	46	42**	48	39	40	32	38	43	44	45	45				
	b	40	45*	45*	49**	43	41	42	40	47	42	43	43				
病理組織検査		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

空欄：検体投与に起因する変化なし、 - : 検査せず

t検定： \* ; p < 0.05, \*\* ; p < 0.01

母動物数：繁殖試験として用いた雌動物から、死亡・胎児吸収した動物等を除いた出産雌数。

DCIP のラットにおける催奇形性試験

(資料 6-2)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Wistar 系妊娠ラット (13 週令以上)、1 群 24 匹 (全て妊娠末期に開腹)

投与期間： 10 日間

投与方法： DCIP をオリーブオイルに溶解し、2、10 及び 50 mg/kg の投与レベルで妊娠 6 日から妊娠 15 日までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群にはオリーブオイルのみを同様に投与した。

なお、膈栓または膈垢中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

投与用量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物： 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0 日、6-15 日までの毎日及び 20 日に体重を測定した。また、摂餌量についても測定した。妊娠 20 日目に帝王切開し、着床数、生存胎児数及び死亡胎児数 (着床痕、胎盤遺残及び浸軟胎児数) 及び妊娠黄体数を検査した。

生存胎児： 体重、胎盤重量、性別、外表奇形、骨格及び内臓異常の有無を検査した。

結果： 概要を表 1 に示す。

母動物では、50 mg/kg 群において飼料摂取量の低下を伴った体重増加量の低下が認められた。その他に検体投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。胎児動物では、骨格検査において 10 mg/kg 群に頸肋骨および腰肋骨出現頻度の有意な高値がみられたが、用量相関が認められず、偶発的な変化と考えられた。また、内臓検査で、2 および 10 mg/kg 群に腎盂拡張出現頻度の有意な高値がみられたが、試験に用いた系統のラットに自然発生的にみられる変化であり用量相関も認められないことから、偶発的な変化と考えられた。胎児動物に検体投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

以上の結果より、50 mg/kg 群で母動物の体重増加に影響が認められたことから、本剤を妊娠ラットに投与した時の母動物における無毒性量は 10 mg/kg/日と判断される。胎児動物に影響は認められなかったことから、胎児動物における無毒性量は 50 mg/kg/日以上であると判断される。また、最高投与量の 50 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

試験結果：

投与量 mg/kg/day		溶媒対照群	2	10	50	
1群あたり動物数		24	24	24	24	
母動物	一般症状					
	死亡数	0	0	0	0	
	体重変化	妊娠 1 1 日				97 *
		1 2 日				97 **
		1 3 日				96 **
		1 4 日				96 **
		1 5 日				96 ***
		2 0 日				(98)
	飼料摂取量	妊娠 6 - 9 日				86 ***
		9 - 12 日				80 ***
		12 - 15 日				87 ***
		15 - 20 日				(100)
	妊娠数		23	22	24	24
着床所見	黄体数(平均)	15.8	15.1	15.2	16.0	
	着床数(平均)	15.0	14.6	14.6	15.0	
	生存胎児数(平均)	14.3	13.5	13.6	13.9	
	死亡胎児数 %	4.9	8.0	6.9	7.6	
胎児動物	胎盤重量 mg(平均)	447	442	455	452	
	胎児体重 g(平均) ♂	3.18	3.05	3.16	3.20	
	" g(平均) ♀	2.89	2.88	2.96	3.01	
	外表奇形数	検査動物数	328	296	327	333
		左後肢第4指短縮	0	1	0	0
		小下顎症	0	0	1	0
		臍帯ヘルニア	0	0	1	0
		肛門周囲陥凹	0	0	0	1
	骨格奇形数	検査動物数	164	140	153	170
		第5胸骨分節分離	1	0	0	0
		下顎骨減形成	0	0	1	0
		下顎骨中部癒合	0	0	1	0
		肋骨癒合	0	0	1	0
		第5腰椎椎体化骨中心の分離	0	0	1	0
		第1仙椎左側椎弓と椎体の癒合	0	0	0	1
	骨格変異数	検査動物数	164	140	153	170
		頸肋骨	0	4 ↑	1	2
		腰肋骨	0	7 ⇕	1	2
	内臓変異数	検査動物数	164	156	174	163
		胸腺の頸部残留	2	2	1	1
腎盂拡張		2	9 ↑	16 ↑	8	
左側臍動脈		3	1	4	4	

Student または Aspin-Welch の t 検定 : \* : p<0.05 ; \*\* : p<0.01 ; \*\*\* : p<0.001

Fisher の直接確率計算法 : ↑ : P<0.05 ; ⇕ : P<0.01 ; ⚡ : P<0.001

母動物の体重変化および飼料摂取量の数値は変動の対照群を 100 とした場合のもの。

また、母動物の検査項目における空欄は異常がみられなかったことを示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP のウサギにおける催奇形性試験

(資料 6-3)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ニュージーランド白色雌ウサギ (6 月令) 1 群 19 匹

投与期間： 13 日間投与

投与方法： 検体をオリーブ油に溶解し、5, 25 および 125 mg/kg の投与レベルで妊娠 6 日目から 18 日目までの 13 日間、毎日 1 回経口投与した。

なお、人工受精日を妊娠 0 日とした。

投与用量設定根拠：1 群 4 匹の雌ウサギを用い、上記の投与方法に従って 5, 50, 100 及び 200 mg/kg の用量で予備試験を行った。

その結果、200 mg/kg 群で体重減少を伴った死亡が 1 例認められた。他の群には検体投与の影響は認められなかった。

この結果から、本試験での投与用量を上記のごとく設定した。

なお、対照群にはオリーブ油のみを同様に投与した。

観察・検査：

親動物： 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0, 6, 12, 18, 24 及び 29 日目に体重を測定した。

妊娠 29 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児： 性別、体重及び外表異常の観察を行った。

各胎児の骨格異常の有無及び内臓異常の有無を検査した。

結果： 概要を表にまとめた。

親動物の 125 mg/kg 投与群の摂餌量が、対照群と比較してわずかに抑制された。

胎児動物の形態学的観察においても、対照群と投与群との間に統計学的有意差はなく、自然発生の範囲内にあるものと考えられる。

以上の結果より、125 mg/kg 投与群の摂餌量がわずかに抑制されたことから、本剤を妊娠ニュージーランド白色ウサギに投与した時の母動物に対する無毒性量は 25 mg/kg/日と判断される。胎児動物についての影響は認められず、胎児動物に対する無毒性は 125 mg/kg/日と判断される。また、最高投与量の 125 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る。

投与群 (mg/kg/day)		対 照*	溶媒対照	5	25	125	
1 群当り動物数		937	19	19	19	19	
親動物	一般状態 [投与開始日以降発症数]		軟便 2 例 [軟便 2 例]	軟便 4 例 [軟便 4 例]	軟便 2 例 [軟便 2 例]	軟便 9*例 [軟便 8*例]	
	死亡数 (率)	17 (1.8)	0 (0)	1 (5.2)	0 (0)	0 (0)	
	体重変化						
	摂餌量 妊娠 6-12 日					80 ↓	
	妊娠数 (率)	784 (83.7)	15 (78.9)	13 (68.4)	14 (73.7)	13 (68.4)	
	妊娠 29 日目に剖 検した母胎数	888	17	16	18	16	
	着床所見	検査親動物数	757	15	13	14	13
		黄体数	10.9/母胎	159	122	109	117
		着床数 (率)	7.9/母胎 (72.5)	109 (68.6)	92 (75.4)	70 (64.2)	76 (65.0)
		生存胎児数 (率)	7.0/母胎 (88.6)	96 (88.1)	79 (85.9)	49 (70.0)	67 (88.2)
吸収胚数 (率)		0.9/母胎 (11.4)	13 (11.9)	13 (14.1)	21 (30.0)	9 (11.8)	
死亡胎児数		-	0	0	0	0	
胎児動物	体 重 (g)	40.9	45.4	45.1	48.3	46.2	
	性比 (雄/雌)	1.04	1.04	1.08	1.13	1.58	
	検査胎児数	-	96	79	49	67	
	外表異常	8 例臍帯ヘルニア 3 例脊椎破裂 /5324 例	1 例臍帯ヘルニア、 無頭蓋、 手根骨曲	1 例脊椎破裂、 肛門閉鎖を伴 う追跡尾	1 例指短縮	1 例指短縮	
	内臓異常	12 例心臓ある いは血管異常 10 例水頭症 2 例腎及び尿管 の欠損/4872 例		1 例腎臓癒合	6 例血管異常	1 例腎及び 尿管欠損	
	骨格異常	67 例胸骨異常 21 例胸骨癒合 11 例胸骨分節 の不整列/5082 例	1 例第 2 胸骨 分節の不整列	1 例曲尾 2 例肋骨異常 1 例椎骨異常	1 例胸骨癒合 2 例胸骨異常 及び第 2 胸骨 分節の不整 列 3 例第 1 胸骨 分節の化骨 数異常	1 例椎骨異 常	

ANOVA+Dunnnett 法: ↓: P<0.05、 Fisher の正確確率検定法: \*: P<0.05

親動物の摂餌量に記載の数値は変動の目安として溶媒対照群の値を 100 とした場合の値を表したもの。  
胎児動物を含め親動物の摂餌量以外の項目については統計検定 ( $\chi^2$  検定、Fisher の直接確率計算法、Mann-Whitney の U 検定、ANOVA+Dunnnett 法) を行ったが、有意差は認められなかった。

※: Control Data (New Zealand White Rabbits)  
までに試験実施機関で行われたニュージーランド白色種ウサギを

用いた 47 試験、合計 917 匹のデータ  
(注) 空欄は変動が認められなかったことを示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(10) 変異原性

DCIP の Rec-assay

(資料 7-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

試験方法： 枯草菌の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、賀田らの Rec-assay 法で DNA の損傷の誘発性を検定した。

結果：

薬物	濃度 ( $\mu$ L/disk)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照 (DMSO)		0	0	0
DCIP	0.2	0	0	0
	1	0	0	0
	2	0	0	0
	5	0	0	0
	10	<1	0	<1
	20	1	<1	<1
Kanamycin	10 $\mu$ g/disk	7	6	1
Mitomycin C	0.1 $\mu$ g/disk	10	1	9

DCIP 存在下においては、両株の生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照として用いた Mitomycin C では両株の間に著明な生育阻止の差が生じ、陰性対照として用いた Kanamycin では両株の同程度の生育阻止を認めた。

以上の結果より、DCIP の DNA の損傷性は認められないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## 復帰変異性試験

(資料 7-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 (WP2 hcr-株) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

試験結果： 全体の結果を次頁の表にまとめた。

DCIP 存在下ではいずれの変異株においても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2,  $\beta$ -propiolactone, 9-aminoacridine 及び 2-nitrofluorene では対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、2-aminoanthracene は S-9 Mix を加える事により活性化され、TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 株に著明な復帰変異を誘起した。

以上の結果から、DCIP の復帰変異誘発性は認められなかった。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 hcr	TA1535	TA 100	TA1537	TA1538	TA 98
対照 (DMSO)		-	9	24	98	3	6	20
			19	29	104	5	13	23
DCIP	10	-	21	14	104	4	15	16
			29	17	85	8	7	23
	100	-	22	6	78	7	9	24
			25	13	86	8	18	29
	500	-	17	31	128	2	12	10
			30	34	114	3	13	10
1000	-	18	7	98	4	11	19	
		26	14	82	5	8	14	
2500	-	19	27	110	4	7	10	
		20	39	122	5	12	13	
10000	-	10	29	*	*	0	3	
		13	48	74	*	2	9	
陽性対照		-	1092a	1178b	1228c	>10000d	3616e	57f
			1191	1928	1632	>10000	2815	133
陽性対照 (2AA)	20	-		12	134	12	16	44
				20	185	20	23	53
陽性対照 (AF-2)		-	1773g		949h			373i
			1774		921			324
対照 (DMSO)		+	17	10	106	6	9	26
			19	12	105	10	11	16
DCIP	10	+	17	11	97	11	13	32
			26	14	108	6	14	23
	100	+	21	7	72	5	13	21
			19	13	97	8	17	27
	1000	+	23	14	121	2	7	10
			30	21	104	7	12	19
陽性対照 (2AA)	20	+		351	1214	374	1576	1539
				409	1314	385	2054	1322

2AA : 2-amino-anthracene

\* ; 菌株の生育阻止を認めた

- a ; 0.25  $\mu\text{g}/\text{plate}$  AF-2
- b ; 50  $\mu\text{g}/\text{plate}$   $\beta$ -propiolactone
- c ; 0.05  $\mu\text{g}/\text{plate}$  AF-2
- d ; 200  $\mu\text{g}/\text{plate}$  9-aminoacridine
- e ; 50  $\mu\text{g}/\text{plate}$  2-nitrofluorene
- f ; 0.25  $\mu\text{g}/\text{plate}$  AF-2
- g ; 0.25  $\mu\text{g}/\text{plate}$
- h ; 0.05  $\mu\text{g}/\text{plate}$
- i ; 0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$

宿主経由試験

(資料 7-1)

試験機関：  
報告書作成年：

検体の純度：

試験方法： DCIP を投与した ICR 系雄マウスの腹腔内にヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (G46 株) を注入し、3 時間後に回収した腹腔内菌液を培養し、復帰変異コロニー数および生存菌数を計測した。

なお、マウスへの投与量の決定は、LD<sub>50</sub> を基準として数段階の量を経口投与し、観察された臨床症状に基づき行われた。

試験結果：

試験群 (匹数)	投与薬剤	総投与量 (mg/kg)	復帰変異菌数 / 10 <sup>8</sup> 生存菌数 (Mean ± S. D.)
対照群 (5)	コーンオイル		0.53 ± 0.14
処置群 (6)	DCIP	50×2	0.42 ± 0.21
処置群 (6)	DCIP	150×2	0.56 ± 0.25
陽性対照群 (6)	DMN <sup>a</sup>	50×1	156.36 ± 54.28***

a : Dimethylnitrosamine  
(検定法不明) \*\*\* : p < 0.001

DCIP 投与群では、対照群と比較して復帰変異菌数の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 DMN 投与群では対照群と比較して著明な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果から、DCIP の復帰変異性誘発性は認められなかった。

## 染色体異常誘発性

チャイニーズ ハムスター肺細胞を用いた in vitro 細胞遺伝学的試験

(資料 7-2)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

試験方法： チャイニーズ ハムスター肺細胞 (CHL 細胞) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下及び非存在下で染色体異常検定を行った。

検体は DMSO に溶解して用いた。

観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について行い、試験は 2 連で行った。

用量設定根拠：

以上の結果より、S9mix の非存在下で検体を 6 時間処理する場合は

1000  $\mu\text{g/mL}$  を最高用量とし、以下公比 2 を用いて希釈し、1000, 500, 250, 125  $\mu\text{g/mL}$ 、S9mix 存在下で検体を 6 時間処理する場合は 30  $\mu\text{g/mL}$  を最高用量とし、公比 2 で 30, 15, 7.5 及び 3.75  $\mu\text{g/mL}$ 、検体を 24 及び 48 時間処理 (S9mix 非存在下) する場合は 500  $\mu\text{g/mL}$  を最高用量とし、公比 2 で 500, 250, 125 及び 62.5  $\mu\text{g/mL}$  の各々 4 濃度で試験を実施した。

陽性対照として S9mix 非存在下ではマイトマイシン C (MMC)、S9mix 存在下ではシクロフォスファミド (CP) を用いた。また、陰性対照として DMSO を用いた。

なお、試験結果の判定基準は以下の通りとした。

- ・ギャップを含まない異常細胞の出現率が 5 %未満の場合陰性、5 %以上 10 %未満の場合疑陽性、10 %以上の場合陽性と判定した。
- ・倍数性細胞については、その出現率が 10 %を越えた場合陽性とした。

結果： 結果を表に示す。

DCIP は、S9mix 存在下で細胞毒性を発現する 30  $\mu\text{g/mL}$  (最高用量) において顕著な染色体異常、主に染色体切断誘発性を示した。S9mix 非存在下では、62.5~500  $\mu\text{g/mL}$  の 24, 48 時間処理において陰性であったが、S9mix 非存在下で細胞毒性を発現する 1000  $\mu\text{g/mL}$  (最高用量) 6 時間処理区で陽性を示した。

なお、S9mix 存在下及び非存在下の両陽性反応ともに、その用量は大きく異なるものの閾値の存在が明らかであった。

以上の結果により、DCIP は染色体切断誘発性を有し、同時に閾値を有すると考えられる。

染色体異常試験(代謝活性化法) 結果

薬物	代謝活性化の有無	処理時間(h)	処理濃度(μg/ml)	観察細胞数	細胞数		染色体構造異常細胞の出現数と出現頻度(%) <sup>*</sup>								
					倍数体数	判定	ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	合計		判定
								g	ctb	cle	csb		cse	-g	
溶媒対照(DMSO)	-	6 <sup>a)</sup>	0	200	1 (0.5)	-	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	-
DCIP			125	200	6 (3)	-	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	2 (1)	3 (1.5)	-
			250	200	8 (4)	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
			500	200	5 (2.5)	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
			1000	200	10 (5)	-	8 (4)	6 (3)	13 (6.5)	5 (2.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	20 (10)	26 (13)	+
陽性対照(CP)			10	200	5 (2.5)	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	-
溶媒対照(DMSO)	+	6 <sup>a)</sup>	0	200	3 (1.5)	-	4 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	5 (2.5)	-
DCIP			3.75	200	5 (2.5)	-	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	-
			7.5	200	2 (1)	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	2 (1)	2 (1)	-
			15	200	14 (7)	-	0 (0)	2 (1)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	5 (2.5)	5 (2.5)	-
			30	200	6 (3)	-	25 (12.5)	60 (30)	51 (25.5)	10 (5)	2 (1)	34 (17)	118 (59)	124 (62)	+
陽性対照(CP)			10	50	1 (2)	-	11 (22)	19 (38)	30 (60)	14 (28)	2 (4)	8 (16)	44 (88)	45 (90)	+

<sup>\*</sup> g: ギャップ、ctb: 染色分体型切断、cle: 染色分体型交換、csb: 染色体型切断、cse: 染色体型交換、その他: 断片化など(細粉化は除く)  
左の値は異常細胞の出現数、( )内の値は出現頻度(単位: %)を示す。

a): 検体を S9mix 存在下、非存在下で 6 時間処理し、無処理の培地に交換後さらに 18 時間培養した。



染色体異常試験(直接法) 結果

薬物	代謝活性化の有無	処理時間(h)	処理濃度(μg/ml)	観察細胞数	細胞数		染色体構造異常細胞の出現数と出現頻度(%) <sup>※</sup>								判定	
					倍数体数	判定	ギャップ	染色分体型		染色体型		その他	合計			
								g	ctb	cte	csb		cse	-g		+g
溶媒対照(DMSO)	-	24 <sup>b)</sup>	0	200	3 (1.5)	-	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	3 (1.5)	-	
DCIP			62.5	200	0 (0)	-	2 (1)	1 (0.5)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	5 (2.5)	-
			125	200	4 (2)	-	4 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (2)	-
			250	200	8 (4)	-	0 (0)	2 (1)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	4 (2)	4 (2)	-	
			500	200	2 (1)	-	2 (1)	1 (0.5)	2 (1)	3 (1.5)	1 (0.5)	0 (0)	7 (3.5)	9 (4.5)	-	
陽性対照(MMC)		0.075	100	2 (2)	-	5 (5)	18 (18)	16 (16)	9 (9)	1 (1)	0 (0)	37 (37)	41 (41)	+		
溶媒対照(DMSO)	-	48 <sup>b)</sup>	0	200	1 (0.5)	-	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	3 (1.5)	4 (2)	-	
DCIP			62.5	200	3 (1.5)	-	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	-
			125	200	2 (1)	-	6 (3)	2 (1)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	9 (4.5)	-	
			250	200	4 (2)	-	6 (3)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	8 (4)	-	
			500	200	9 (4.5)	-	2 (1)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	2 (1)	0 (0)	5 (2.5)	7 (3.5)	-	
陽性対照(MMC)		0.075	50	1 (2)	-	8 (16)	20 (40)	20 (40)	15 (30)	3 (6)	5 (10)	41 (82)	42 (84)	+		

※ g: ギャップ、ctb: 染色分体型切断、cte: 染色分体型交換、csb: 染色体型切断、cse: 染色体型交換、その他: 断片化など(細粉化は除く)

左の値は異常細胞の出現数、( )内の値は出現頻度(単位: %)を示す。

b): 検体をS9mix非存在下で24もしくは48時間連続処理後、標本を作製した。

マウスにおける小核試験

(資料 7-4)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR系雄マウス(7週令、体重29.2~37.4g)

1群5匹(毒性試験では1群3匹、小核予備試験では1群6匹)

試験方法： DCIPを局方オリーブ油に溶解し、37.5、75及び150mg/kgの用量で2回強制経口投与した(24時間間隔、投与容量10mL/kg/1回)。なお、対照群には局方オリーブ油を同様に投与した。

最終投与24時間後に動物を屠殺し、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固定後、ギムザ染色し骨髓標本を作製した。

陽性対照群にはマイトマイシンCを10mg/kgの用量で単回経口投与(投与容量20mL/kg)し、投与24時間後に動物を屠殺した。

各標本について、細胞毒性を調べるために1000個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した後、引き続き1000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。

用量設定根拠：

結果： 結果を表に示す。

DCIPを投与したいずれの用量群においても、小核を有する多染性赤血球の発生頻度に有意な増加及び用量依存性は認められず、また、全赤血球に対する多染性赤血球の割合の減少も認められなかった。

一方、マイトマイシンCを投与した陽性対照群では、小核を有する多染性赤血球の発生頻度に有意な増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下では、DCIPはマウスの骨髓細胞に対して増殖抑制を示さず、また小核も誘発しないものと考えられた。

小核試験結果

薬物	投与量 (mg/kg)	MNPCE (%)				PCE/(PCE+NCE) (%)	
		mean±SD (range)	S <sup>k</sup>	S <sup>r</sup>	S <sup>j</sup>	mean±SD (range)	S <sup>r</sup>
対照 (局方剤-ブ油)	- (2回)	0.08±0.08 (0.0~0.2)	-	-	N. S.	50.6±6.5 (44.7~60.1)	-
DCIP	37.5× 2回	0.04±0.09 (0.0~0.2)	N. S.	N. S.		50.4±6.4 (42.9~56.6)	N. S.
	75 × 2回	0.04±0.05 (0.0~0.1)	N. S.	N. S.		57.7±5.1 (51.9~62.7)	N. S.
	150 × 2回	0.04±0.05 (0.0~0.1)	N. S.	N. S.		55.2±5.9 (48.9~64.5)	N. S.
陽性対照 (マイタインC)	10 × 1回	3.98±1.28 (2.5~5.6)	-	※	-	42.7±9.5 (30.3~55.7)	N. S.

- MNPCE : 小核を有する多染性赤血球の発生頻度 (%)  
 PCE/(PCE+NCE) : 全赤血球に対する多染性赤血球の割合 (%)  
 S<sup>k</sup>, S<sup>r</sup>, S<sup>j</sup> : Kastenbaum-Bowman の数表、Wilcoxon の順位和検定、Jonckheere の傾向検定  
 ※ : 有意差あり (p ≤ 0.01)  
 N. S. : 有意差なし (p > 0.05)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(11) 生体の機能に及ぼす影響

Irwin 法を用いた一般症状観察 (経口投与)

(資料 8-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR 系マウス、体重 19~22 g、1 群雄 4 匹

方法： 検体はオリーブ油を用いて希釈し、投与液量を 10 mL/kg として薬用量 3, 10, 30, 100, 300 mg/kg となる様に各濃度を調製し経口投与した。この他溶媒対照群を設けた。投与後 30, 90, 150 および 300 分に詳細な観察を行い Irwin 法による評価を行なった。

結果： 300 mg/kg 投与群では穏やかな抑制が 1 日中認められ、投与後 90 分および 150 分で著明であった。症状は無反応、体姿勢異常 (背弯姿勢)、歩行異常 (よたつき歩行)、眼瞼下垂、腹式呼吸であった。100 mg/kg 投与群の 1 匹で投与後 150 分に軽度の無反応と背弯姿勢が認められた。無反応は投与後 300 分まで持続した。  
30 mg/kg 以下の投与群では異常行動あるいは毒性症状は観察されなかった。

表 DCIP 経口投与後の一般状態観察結果

DCIP 投与量 (mg/kg 体重)	投与後の時間			
	30 分	90 分	150 分	300 分
3	Nr	Nr	Nr	Nr
10	Nr	Nr	Nr	Nr
30	Nr	Nr	Nr	Nr
100	Nr	Nr	A (1/4)、H (1/4)	A (1/4)
300	A (4/4)、R (4/4) H (4/4)、W (2/4) P (4/4)	A (4/4)、R (4/4) H (4/4)、W (3/4) P (3/4)	A (4/4)、R (4/4) H (4/4)、W (3/4) P (3/4)	A (4/4)、R (2/4) H (4/4)、W (3/4) P (3/4)

A：無反応、 R：腹式呼吸、 H：背弯姿勢、 W：よたつき歩行、 P：眼瞼下垂、

Nr：著変なし

( )内の数値は発症例数を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

Irwin 法を用いた一般症状観察 (静脈内投与)

(資料 : 8-1b)

試験機関 :

報告書作成年 :

検体の純度 :

供試動物 : ICR 系 (CD-1) マウス、体重 23~28 g、約 6 週令、1 群雄 4 匹 計 20 匹

方法 : マウスに、20 % (v/v) ポリエチレングリコール 400 に懸濁させた検体を 3, 10, 30, 及び 100 mg/kg の用量で静脈内投与した (投与容量 10 mL/kg、注入速度約 1 mL/分)。投与後 15, 30, 60, 120 及び 240 分に、一般症状を観察し体温 (直腸温) を測定した。生死については、投与後 7 日間観察した。

結果 : 最高投与量 100 mg/kg で、投与直後から約 10 分間、軽度で一過性の呼吸深度の増加が認められた。30 mg/kg 以下の投与量には変化は認められなかった。

体温 (直腸温) については、溶媒処理群を含む全群で投与当日わずかな変動が見られたが、いずれの検体処理群も溶媒処理群に対して有意な差は認められなかった。

また、投与後 7 日間の観察期間中に死亡または遅延毒性症状は観察されなかった。

表 DCIP 静脈内投与後の一般状態観察結果

DCIP 投与量 (mg/kg 体重)	投与後の時間				
	15 分	30 分	60 分	120 分	240 分
3	Nr	Nr	Nr	Nr	Nr
10	Nr	Nr	Nr	Nr	Nr
30	Nr	Nr	Nr	Nr	Nr
100	SIR (4/4)	Nr	Nr	Nr	Nr

SIR : 軽度の呼吸深度増加 (投与直後~10 分後)、 Nr : 著変なし

( ) 内の数値は発症例数を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ウサギの血液に対する溶血作用

(資料 8-2)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ニュージーランドホワイト系ウサギ 3匹

方法： 血液を各ウサギより採取し、EDTA で処理後遠心分離し、3%赤血球懸濁生理食塩水溶液を調製した。

検体の等張食塩水中乳化物の各濃度 4, 13.3, 40, 133 mg/100 mL 各々3 mL を 1 mL の上記赤血球懸濁液に加え、転倒混和した後 37 °C で 2 時間インキュベートした。

それぞれの試料を遠心分離した後、波長 540 nm における吸光度を測定し、陰性対照 (等張食塩水) の測定値を差し引いた検体試料、陽性対照 (蒸留水) の測定値より溶血率を算出した。

結果： 検体の最終濃度 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 mg/mL においてウサギの赤血球の溶血は認められなかった。

表 DCIP による溶血率 (in vitro)

DCIP 濃度 (mg/mL)	血液試料 (動物番号)			平均
	1	2	3	
0.03	0	0	0	0
0.1	0	0	0	0
0.3	0	0	0	0
1.0	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ヘキソバルビタール誘発睡眠時間に及ぼす影響

(資料 8-3)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR系(CD-1)マウス、体重 雄25~30 g、雌22~26 g、約6週令  
1群雌雄各5匹 計50匹

方法： マウスに、20% (v/v) ポリエチレングリコール400に懸濁させた検体10、30及び100 mg/kg、また陽性対照物質として塩酸クロルプロマジン1.0 mg/kgを静脈内投与した(投与容量10 mL/kg、注入速度1 mL/分)。各薬物投与後直ちに100 mg/kgのヘキソバルビタールナトリウムを腹腔内投与し(投与容量10 mL/kg)、37℃に保温したプレート上に置き睡眠時間を測定した。睡眠は正向反射の有無で判定した。

結果： 10、30及び100 mg/kgの投与用量では、雌雄マウスともに睡眠時間に影響を認めなかった。

一方陽性対照物質である塩酸クロルプロマジン1.0 mg/kgの静脈内投与では、明らかに睡眠時間を延長させ(47~62%)、統計学的にも有意であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

運動協調性に及ぼす影響(回転棒法)

(資料 8-4)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR系(CD-1)マウス、体重19 g~25 g、約5週令、1群雄10匹 計50匹

方法： 加速回転棒の上を歩行する訓練を行ったマウスに、20%(v/v)ポリエチレングリコール400に懸濁させた検体10, 30及び100 mg/kg、陽性対照物質としてメフェネシン80 mg/kgを静脈内投与した(投与容量10 mL/kg、注入速度約1 mL/分)。静脈内投与後直ちに加速回転棒試験を3回行い、運動継続時間を測定した。最長運動継続時間を平均結果の計算に使用した。動物の運動継続時間は、回転棒に止どまることができる時間とし、最長試験時間は5分間とした。

結果： 10, 30及び100 mg/kgの投与量では、対照群と比較して回転棒での運動継続時間に影響は認められなかった。

一方陽性対照物質であるメフェネシン80 mg/kgの静脈内投与では、明らかに(93%)運動継続時間を短縮させ、統計学的にも有意であった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

横隔膜/横隔膜神経摘出標本における作用

(資料 8-5)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Wistar系ラット、体重300g、約6~9週令、雄4匹

方法： 頸部脱臼により屠殺したラットから、横隔膜及び横隔膜神経を注意深く取りだし、双極性電極をつけて Tyrode's 溶液を満たした栄養液槽内に吊した。検体は 10% (v/v) エタノールで規定の濃度に調製し、最終槽濃度が 0.3, 3.0, 10 及び 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  となるよう槽に加えた (投与容量 0.2 mL)。神経に 0.5 ミリ秒の刺激を 12 回/分の割合で与え、収縮幅を測定した。

結果： 検体 0.3, 3, 10 及び 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (最終槽濃度) の処理では、横隔膜/横隔膜神経標本の収縮に影響を与えなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

循環器及び呼吸に及ぼす影響

(資料 8-6)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Wistar系ラット、体重雄 245 g、雌 195~200 g、約 8 週令、雌雄各 2 匹

方法： Sagatal 麻酔下で、20% (v/v) ポリエチレングリコール 400 に溶解させた検体 0, 3, 10, 30 及び 100 mg/kg (投与容量 1 mL/kg) を最低 20 分の間隔をおいて累積的に静脈内投与し、血圧・心拍数・呼吸 (頻度及び深度)・心電図について継続的に記録した。

結果： 動物 1 で血圧が比較的安定であったことを除いて、血圧及び心拍数については用量依存性の減少を引き起こした。

呼吸深度については、全例が増加を示した。呼吸頻度については、検体 100 mg/kg の投与後 20 分に呼吸不全で死亡した動物 4 を除いて、比較的安定であった。

ECG については、動物 1 は正常であったが、動物 2 は P 波の非同期性、動物 3 は振幅の減少、動物 4 は死亡前に波形全体の非同期性を示した。

投与量 (mg/kg 体重)	検査項目				
	血圧	心拍数	呼吸深度	呼吸頻度	心電図
3	Nr	Nr	Nr	Nr	Nr
10	Nr	Nr	Nr	Nr	Nr
30	低下 (2/4)	低下 (2/4)	増加 (3/4)	Nr	Nr
100	低下 (3/4)	低下 (3/4)	増加 (4/4)	増加 (1/4) *	P 波非同期性 (1/4) P 波振幅減少 (1/4) 波形全体の非同期性 (1/4) *

Nr：著変なし、( )内の数値は発症例数を示す。

\*：DCIP 100 mg/kg の投与後 20 分に死亡した動物 4 の死亡前に認められた症状。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

摘出回腸における誘発収縮に及ぼす影響

(資料 8-7)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Dunkin-Hartley系モルモット、体重 175~200 g、約 2 か月令  
各作働薬に対して 1 組織

方 法： モルモットを頸部脱臼で屠殺後、回腸を摘出し、約 2 cm の摘出回腸標本を作製した。Krebs 液で満たし、32 °C に保温した栄養液槽に 95 %O<sub>2</sub>-5 %CO<sub>2</sub> を通気しながら、標本の一端を槽内に固定した。標本の他端に糸を結び、等張トランスデューサーを介して、回腸の収縮反応を記録した。標本の評価は、10 % (v/v) エタノールに溶解した検体で調製した 0.3, 3, 及び 30 µg/mL の最終槽濃度で処理し、2 分後にアセチルコリン (15 mg/mL)、ヒスタミン (15 mg/mL)、塩化バリウム (150 mg/mL) のいずれかの作働薬で回腸を収縮させ、検体処理前の各作働薬の収縮反応と比較した。

結 果： 検体は 0.3, 3 及び 30 µg/mL の処理濃度において、モルモット摘出回腸の収縮活性を示さなかった。また、各作働薬による回腸収縮についても影響を及ぼさなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

小腸運動に及ぼす影響 (炭末輸送試験)

(資料 8-8)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR系 (CD-1) マウス、体重 雄 21~25 g、雌 16~23 g、約 6 週令  
1 群雌雄各 5 匹、計 50 匹

方 法： 一夜絶食したマウスに、20 % (v/v) ポリエチレングリコール 400 で調製した検体 10, 30 及び 100 mg/kg、陽性対照物質として硫酸アトロピン 5 mg/kg を静脈内投与した (投与容量 10 mL/kg、注入速度 1 mL/分)。投与後直ちに水で希釈した 5 % (w/v) 炭末懸濁液 0.25 mL を強制経口投与した。炭末投与 30 分後、頸部脱臼によりマウスを屠殺し全胃腸管を摘出した。炭末が胃幽門括約筋から盲腸間で達した距離を測定し、腸全長に対する百分率として表した。

結 果： 10, 30 及び 100 mg/kg の投与用量では、溶媒対照群と比較して腸管運動に対して影響を示さなかった。

一方陽性対照物質である硫酸アトロピン 5 mg/kg の静脈内投与では、明らかに腸管運動を阻害し、統計学的にも有意であった。

尿量及び尿中電解質排泄に及ぼす影響

(資料 8-9)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Wistar系ラット、体重 雄 157~202 g、雌 135~161 g、約7週令  
1群雌雄各4匹、計40匹

方法： 投与前18時間絶食及び投与前2時間絶水したラットに、20% (v/v) ポリエチレングリコール400で調製した検体10、30及び100 mg/kg、陽性対照物質としてフロセミド5 mg/kgを静脈内投与した(投与容量1 mL/kg、注入速度~1 mL/分)。投与後直ちにラットに25 mL/kgの蒸留水を強制経口投与した。その後24時間尿を採取した。1、2、3、4、5及び24時間の時点の尿量を記録し、5時間の時点の尿サンプルについて、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 及び総タンパク含量の分析を行った。

結果： 測定結果を表1、2に示す。

100 mg/kgの用量では、投与後2~5時間に雌雄両動物、投与後24時間には雌で、尿量が統計学的に有意に増加した。30 mg/kgの用量では、投与後2~5時間に雄のみで統計学的に有意に増加した。

また、100 mg/kgの用量でのみ、雌雄両動物の $\text{Na}^+$ 及び $\text{Cl}^-$ 排泄に著明な増加が認められ、統計学的にも有意であった。タンパク排泄については、どの投与用量においても影響を及ぼさなかった。

一方、陽性対照物質のフロセミドは、尿量、 $\text{Na}^+$ 及び $\text{Cl}^-$ 排泄で著明な増加を引き起こし、タンパク濃度の減少も認められた。

表1 静脈内投与後の尿量推移

投与量 (mg/kg 体重)	投与後の時間 (h)					
	0-1	0-2	0-3	0-4	0-5	0-24
DCIP 10	♂					
	♀					
DCIP 30	♂					
	♀					
DCIP 100	♂		↑↑189	↑↑186	↑↑192	↑↑194
	♀		↑↑153	↑↑178	↑↑187	↑↑187
フロセミド 5	♂	↑503	↑316	↑265	↑264	↑265
	♀	↑226	↑213	↑208	↑217	↑206
						↑167

Williams 検定： ↑ ; p<0.05、 ↑↑ ; p<0.01

Student の t 検定： ↑ ; p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

表 2 静脈内投与 5 時間後の電解質およびタンパク排泄

投与量 (mg/kg 体重)	電解質			タンパク
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	
DCIP 10	♂			
	♀			
DCIP 30	♂			
	♀			
DCIP 100	♂	↑↑418		↑↑304
	♀	↑↑646		↑↑413
アゼミド 5	♂	↑1242	↑150	↑750
	♀	↑781		↑558
				↓35
				↓50

Williams 検定： ↑↑ ; p < 0.01

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

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

「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 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数/1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
Irwin (マウス)	経口 (オリーブ油)	3, 10, 30 100, 300	♂ 4匹	30	100	100 mg/kg: 軽度の無反応、背弯姿勢 300mg/kg: 無反応、体姿勢異常、歩行異常、眼瞼下垂、腹式呼吸
Irwin (マウス)	静脈内 (20 %PEG400)	3, 10, 30 100	♂ 4匹	30	100	100 mg/kg: 投与直後にわずかな呼吸深度の増加 直腸温に著変なし
溶血 (ウサギ)	in vitro	0.03, 0.1 0.3, 1.0 ※1	3匹 (各群ともすべて同じ3匹の赤血球を使用)	1.0 ※1	-	溶血作用なし
睡眠時間 (マウス)	静脈内 (20 %PEG400)	10, 30, 100	♂♀ 各5匹	100	-	誘発睡眠時間に影響なし
回転棒 (マウス)	静脈内 (20 %PEG400)	10, 30, 100	♂ 10匹	100	-	運動継続時間に影響なし
横隔膜/横隔膜神経 (ラット)	in vitro	0.3, 3.0 10, 30 ※2	♂ 4匹 (各群ともすべて同じ4匹の組織を使用)	30 ※2	-	横隔膜/横隔膜神経の収縮に影響なし
循環器及び呼吸 (ラット)	静脈内 (20 %PEG400)	3, 10, 30 100	♂♀ 各2匹	10	30	血圧・心拍数: 用量依存性の低下 呼吸深度: 増加 (以上 30 mg/kg 以上) 心電図: P波の非同期性・振幅減少 (100 mg/kg) 死亡1例 (100 mg/kg)
摘出回腸 (モルモット)	in vitro	0.3, 3, 30 ※2	♂ 3匹 (各群ともすべて同じ3匹の組織を使用)	30 ※2	-	腸管収縮に影響なし
炭末輸送 (マウス)	静脈内 (20 %PEG400)	10, 30, 100	♂♀ 各5匹	100	-	腸管運動に影響なし
尿量/尿中電解質排泄 (ラット)	静脈内 (20 %PEG400)	10, 30, 100	♂♀ 各4匹	10	30	30 mg/kg: 雄のみ尿量増加 100 mg/kg: 雌雄共に尿量増加, Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> 排泄の増加

※1 : 最終濃度 mg/mL

※2 : 最終槽濃度 μg/mL

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

## (12) 解毒及び治療法

DCIP 投与ラットに対する治療法についての検討

(資料 9-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： Wistar 系ラット、体重 182~217 g、約 6 週令、雄 74 匹

方法： 5 群を設定し、各群について以下のような処置を行った。

I 群(対照群 11 匹)	: 1 % Tween 80 水溶液 20 mL/kg	経口投与
II 群(検体単独群 12 匹)	: DCIP 原体 500 mg/kg	経口投与
III 群(胃洗浄処置群 12 匹)	: DCIP 原体 500 mg/kg	経口投与 + 1 時間後胃洗浄(蒸留水 5 mL×2)
IV 群(下剤処置群 12 匹)	: DCIP 原体 500 mg/kg	経口投与 + 1 時間後腸洗浄(硫酸マグネシウム 3 g/20 mL/kg) + 6 時間後補液(1 % グルコース水溶液 20 mL/kg)
V 群(利尿剤処置群 12 匹)	: DCIP 原体 500 mg/kg	経口投与 + 1, 3 時間後強制利尿(フゼミド 50 mg/kg×2) + 3, 6 時間後補液(1 % グルコース水溶液 20 mL/kg)

新たに 3 群を設定し、利尿剤の種類及び胃洗浄の処置時間を変えた追加試験を行った。

VI 群(検体単独群 5 匹)	: DCIP 原体 500 mg/kg	経口投与
VII 群(利尿剤処置群 5 匹)	: DCIP 原体 500 mg/kg	経口投与 + 1 時間後強制利尿(マンニトール 2 g/kg) + 1 時間後補液(1 % グルコース水溶液 20 mL/kg)
VIII 群(胃洗浄処置群 5 匹)	: DCIP 原体 500 mg/kg	経口投与 + 3 時間後胃洗浄(蒸留水 5 mL×2)

これらの群について、観察期間を 7 日間とし、死亡状況、一般状態の観察及び体重測定を行った。

結果： 検体単独投与の II 群及び VI 群ではともに、一般症状として流涎、異常歩行、鼻汁、流涙、自発運動の低下、及び鎮静が観察された。また、検体投与後 2 日目までに II 群では 12 例全例、VI 群では 5 例中 4 例が死亡した。

胃洗浄処置を行った III 群及び VIII 群では、毒性症状がやや軽減された。検体投与後 2 日目までに、III 群では死亡例なし、VIII 群では 5 例中 1 例が死亡しただけで、死亡率の低下が認められた。

下剤及び利尿剤の投与では、救命効果は見られなかった。検体投与後 2 日目までに、IV 群では 12 例中 11 例、V 群では 12 例全例、VII 群では 5 例中 4 例が死亡した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

以上 DCIP 中毒に対する治療法として、胃洗浄により胃内に残留している検体を強制的に除去する方法が、有効な救命効果を得られるものとする。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

## 2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

原体混在物

のマウスを用いた単回投与による小核試験

(資料 7-3)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

供試動物： ICR 系マウス 1 群雄 6 匹 (予備試験は 3 匹)、7 週令、体重 30.8~36.1 g (本試験)

試験方法： 検体を蒸留水に溶解し、45、90 及び 180 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した。投与容量は一定 (10 mL/kg) とした。なお、対照群には蒸留水を同様に投与した。  
最終投与 24 時間後に動物を屠殺し、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固定後、ギムザ染色し骨髓標本を作製した。  
陽性対照群にはマイトマイシン C を 2 mg/kg の用量で単回腹腔内投与 (投与容量 10 mL/kg) し、投与 24 時間後に動物を屠殺した。  
各標本について、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した後、引き続き 1000 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。

用量設定根拠：

結果： 次頁の表に示す。  
小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、検体投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。一方、陽性対照のマイトマイシン C は著しく小核を誘発した。

以上の結果、 に小核を誘起する作用はないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

試験群	標本作製時期 (hr)	投与量 (mg/kg)	動物番号	投与時の体重 (g)	観察多染性赤血球数	全赤血球中の多染性赤血球の割合 (%) <sup>*1</sup>	小核を有する多染性赤血球の割合 (%)	判定	
対照 (蒸留水)	24	0	1	35.0	1000	54.5	0.3	(-)	
			2	31.7	1000	55.2	0.3		
			3	33.8	1000	53.2	0		
			4	33.2	1000	69.4	0.2		
			5	33.7	1000	51.7	0.3		
			6	33.1	1000	60.4	0.2		
			平均値±標準偏差		33.4±1.08	—	57.4±6.58	0.22±0.12	
			最大値/最小値		35.0/31.7	—	69.4/51.7	0.3/0.0	
	24	45	7	34.3	1000	68.6	0.0	(-)	
			8	32.3	1000	62.5	0.3		
			9	30.8	1000	62.8	0.5		
			10	33.6	1000	76.6	0.2		
			11	34.1	1000	54.9	0.2		
			12	34.8	1000	60.7	0.1		
			平均値±標準偏差		33.3±1.50	—	64.4±7.44	0.22±0.17	
			最大値/最小値		34.8/30.8	—	76.6/54.9	0.5/0.0	
	24	90	13	32.0	1000	51.6	0.1	(-)	
			14	35.2	1000	63.6	0.2		
			15	33.6	1000	66.8	0.5		
			16	31.5	1000	62.8	0.1		
			17	33.9	1000	57.8	0.4		
			18	34.0	1000	56.3	0.0		
			平均値±標準偏差		33.4±1.38	—	59.8±5.58	0.22±0.19	
			最大値/最小値		35.2/31.5	—	66.8/51.6	0.5/0.0	
	24	180	19	33.8	1000	66.9	0.4	(-)	
			20	35.6	1000	55.2	0.0		
			21	33.6	1000	39.9	0.1		
			22	31.8	1000	44.4	0.2		
			23	35.4	1000	56.0	0.1		
			24	33.5	1000	44.5	0.2		
			平均値±標準偏差		34.0±1.40	—	51.2±10.0	0.17±0.14	
			最大値/最小値		35.6/31.8	—	66.9/39.9	0.4/0.0	
陽性対照 (MMC)	24	2	25	34.9	1000	31.2	3.2	(+)	
			26	31.5	1000	41.9	5.2		
			27	35.1	1000	43.7	3.9		
			28	33.1	1000	26.6	2.5		
			29	36.1	1000	24.0	4.6		
			30	34.3	1000	46.2	7.5		
			平均値±標準偏差		34.2±1.64	—	35.6±9.5	4.48±1.76 <sup>*2</sup>	
			最大値/最小値		36.1/31.5	—	46.2/24.0	7.5/2.5	

\*1 赤血球 1000 個/動物を観察

\*2  $p < 0.001$ ; Kastenbaum and Bowman, 1970 による有意差検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[参考資料]

の復帰変異試験

(資料 R9)

出典 :

サルモネラ菌を用いた復帰変異試験の結果は、下表の通りであった。

薬 物		復帰変異コロニー数/plate							Revertants/ nanomole
		Amount per plate ( $\mu$ g)	TA1535		TA100		TA1538		
			-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	
検体		0	14	12	195		7	0.00474	
		0.11	20						
		1.1	54						
		2.2	139	129	263				
		5.5	262			6			
		11	564			5			
陽性 対照	Sodium azide	0.5	447		594				
	2-Aminoanthracene	1	13	72		12	961		
	2-Nitrofluorene	1				257			
	2-Aminofluorene	25				23	497		

表記の様に、  
したがって、

は TA1535 株に対し、復帰変異コロニー数の増加を示した。  
は復帰変異誘発性を有する可能性があると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参考資料 ]

の急性毒性

(資料 R7)

出典：

- ・ のラットにおける急性経口毒性  $LD_{50}$  218 mg/kg
- ・ 下記 Mixture のラットにおける急性経口毒性  $LD_{50}$  381 mg/kg

上記のデータから

の単品としての  $LD_{50}$  は 435 mg/kg と推定される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参考資料 ]

の急性毒性

(資料 R1)

出典：

ラットにおける急性経口毒性	LD <sub>50</sub>	320 mg/kg
ラットにおける急性吸入毒性	最小致死濃度	1000 ppm/4 時間
イヌにおける急性経口毒性	最小致死量	200 mg/kg
ウサギにおける急性経皮毒性	LD <sub>50</sub>	1770 mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参考資料 ]

の急性毒性

(資料 R2)

出典：

ラットにおける急性経口毒性	LD <sub>50</sub>	110 mg/kg
ラットにおける急性吸入毒性	最小致死濃度	125 ppm/4 時間
ウサギにおける急性経皮毒性	LD <sub>50</sub>	800 mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参考資料 ]

の急性毒性

(資料 R3)

出典：

ラットにおける急性経口毒性	LD <sub>50</sub>	4290 mg/kg
ラットにおける急性吸入毒性	LC <sub>50</sub>	2000 ppm/4 時間



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参考資料 ]

の急性毒性

(資料 R4)

出典：

ラットにおける急性経口毒性	LD <sub>50</sub>	220 mg/kg
ラットにおける急性吸入毒性	最小致死濃度	500 ppm/4時間
イヌにおける急性経口毒性	最小致死量	200 mg/kg
ウサギにおける急性経皮毒性	LD <sub>50</sub>	480 mg/kg
モルモットにおける急性経口毒性	LD <sub>50</sub>	720 mg/kg

[ 参考資料 ]

の急性毒性

(資料 R5)

出典：

ヒトにおける急性吸入毒性	最小作用濃度	440 $\mu$ /m <sup>3</sup> /6 分
ヒトにおける急性吸入毒性	最小作用濃度	10 mg/ m <sup>3</sup> /6 時間
ヒトにおける急性吸入毒性	最小作用濃度	500 ppm
ヒトにおける急性吸入毒性	最小作用濃度	12000 ppm/4 時間
ラットにおける急性経口毒性	LD <sub>50</sub>	9750 mg/kg
ラットにおける急性吸入毒性	最小致死濃度	16000 ppm/4 時間
ラットにおける腹腔内投与急性毒性	最小致死量	500 mg/kg
マウスにおける急性経口毒性	LD <sub>50</sub>	3000 mg/kg
マウスにおける急性吸入毒性	最小致死濃度	110000 mg/ m <sup>3</sup> /62 分
マウスにおける腹腔内投与急性毒性	LD <sub>50</sub>	1297 mg/kg
イヌにおける急性経口毒性	最小致死量	24 g/kg
イヌにおける腹腔内投与急性毒性	最小致死量	8 g/kg
イヌにおける皮下投与急性毒性	最小致死量	5 g/kg
ウサギにおける急性経皮毒性	LD <sub>50</sub>	20 g/kg
モルモットにおける皮下投与急性毒性	最小致死量	5000 mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参考資料 ]

の急性毒性

(資料 R6)

出典：

ヒトにおける急性吸入毒性	最小致死濃度	605 ppm/10分
ラットにおける急性経口毒性	最小致死量	50 mg/kg
ラットにおける急性経皮毒性	最小致死量	100 mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

### 3. 製剤を用いた試験成績

DCIP 乳剤のラットにおける急性経口、腹腔内並びに皮下毒性試験

(資料 1-5)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： Wistar 系ラット、体重 180～230 g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 7 日間

投与方法： 経口；DCIP 80 %、有機溶剤・乳化剤等 20.0 %の乳剤を調製し、蒸留水で希釈して、胃ゾンデによる強制経口投与。

皮下；DCIP 80 %、有機溶剤・乳化剤等 20.0 %の乳剤を調製し、蒸留水で希釈して、背部皮下への注射による投与。

腹腔内；DCIP 80 %、有機溶剤・乳化剤等 20.0 %の乳剤を調製し、蒸留水で希釈して、下腹部中央への注射による投与。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を 7 日間観察。死亡動物及び試験終了時の主な動物につき適用部位を含む全身の組織、器官の肉眼的病理観察。

結果：

投与方法	経口	腹腔内	皮下
投与量 (mg/kg)	780, 936, 1123 1348, 1617	333, 400, 480 576, 691	690, 830, 1000 1200, 1440
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	♂1170 (1026 ? ) 1334 ) ♀1210 (1063 ? ) 1377 )	♂445 (394 ? ) 503 ) ♀535 (461 ? ) 621 )	♂865 (757 ? ) 988 ) ♀990 (859 ? ) 1140 )
死亡開始時間 及び終了時間	4 時間～4 日	(記載なし)～ 3 日	(記載なし)～ 4 日
症状発現及び 消失時期	15 分～7 日	5 分～ (記載なし)	20 分～ (記載なし)
毒性徴候の認められ なかった最高投 与量 (mg/kg)	記載なし	最低投与量でも 毒性徴候あり	最低投与量でも 毒性徴候あり
死亡例の認められ なかった最高投与 量 (mg/kg)	雌雄とも 780	雌雄とも 400	最低投与量でも 死亡あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

中毒症状としては、雌雄に関係なく歩行麻痺、自発運動減少、呼吸抑制、脱力、正向反射消失、痙攣が観察された。各投与方法において性差は認められなかった。

解剖所見では、経口、腹腔内及び皮下投与で肺、腸の血様変化及び肝、腎の退色変化が死亡例に認められ、生存例にも腸の血様変化、糜爛及び肝の退色変化が見られた。

(申請者註)

試験結果の表中、投与量及びLD<sub>50</sub>はDCIP量として示されているので、以下にこれを80%乳剤量として示す。

投与方法	経口	腹腔内	皮下
投与量(mg/kg)	917.6, 1101.2, 132.1 1585.9, 1902.4	391.8, 470.6, 564.7 677.6, 812.9	811.8, 976.5, 1176.5 1411.8, 1694.1
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂1376.5 ♀1423.6 (1207.1) (1250.6) ( ) ( ) (1569.4) (1620.0)	♂523.5 ♀629.4 (463.5) (542.4) ( ) ( ) (591.8) (730.6)	♂1017.6 ♀1164.7 (890.6) (1010.6) ( ) ( ) (1162.4) (1341.2)

DCIP 乳剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1-11)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット、5 週齢、体重 雄 136～153 g、雌 107～128 g  
1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 17 時間の絶食後、検体を精製水(自家製)に溶解して投与した。投与量設定のため 400、600、900、1350 及び 2025 mg/kg を雌雄各 5 匹に投与し予備試験を行った。その結果から雌雄とも公比 1.15 により雄は 338、389、447、515、592 及び 681 mg/kg、雌は 447、515、592、681、783 及び 900 mg/kg、及び精製水投与の対照群を設定した。

観察・検査項目：一般症状、死亡率、体重測定、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査(24 時間以降の死亡 2 例/群を限度に剖検で異常が認められた臓器)

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 0、338、389、447、515、592、681 雌 0、447、515、592、681、783、900
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	雄 436 (415～458) 雌 620 (488～787)
死亡開始時間及び終了時間	雌雄とも投与後 24 時間から試験 3 日の間
症状発現及び消失時期	症状発現：雌雄とも投与後 10 分 消失時期：雌雄とも投与後 3 時間から試験 8 日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも最低用量で毒性徴候あり
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 389、雌 最低用量で死亡例あり

検体投与群の一般症状は、雌雄ともに投与後 30 分から試験 5 日までの間に自発運動の減少、流涎、流涙、昏睡、歩様踳踳及び歩行困難、立毛、耳介及び四肢末端皮膚の蒼白、口吻部及び鼠径部被毛の汚染が対照群に比して有意に高頻度で観察された。

死亡動物の剖検では、口吻部及び鼠径部被毛汚染、肝臓の退色、腫大及び混濁、腎臓の鬱血、退色、腫大及び混濁、心臓の心房拡張、肺の鬱血、胸腺の点状出血及び膀胱の赤色尿貯留が認められた。

死亡動物の病理組織学的検査では、肝臓の鬱血、巣状壊死及び出血、脾臓の鬱血及び白髄の萎縮、腎臓の鬱血及びネフローシス、肺の鬱血及び胸腺の新鮮出血が認められた。

また、雄ラットの  $LD_{50}$  は雌ラットのそれに比し有意 ( $P < 0.05$ ) に低かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 乳剤のマウスにおける急性経口及び皮下毒性試験

(資料 1-4)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%

有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： マウス(系統、週齢不明) (体重 16~21g)、1群 8匹雄のみ

観察期間： 72時間

投与方法： 経口；DCIP を 80 %含有した乳剤を蒸留水にて希釈し、胃ゾンデを用いて投与。

皮下；DCIP を 80 %含有した乳剤を蒸留水にて希釈し、背部皮下への注射により投与。

観察・検査項目： 中毒症状及び死亡を投与後 72 時間観察。LD<sub>50</sub> 値は Van der Waerdam 面積法により求めた。

結果：

投与方法	経口	皮下
投与量 (mg/kg)	200, 260, 340, 442, 575	118, 154, 200, 260, 340, 442, 575, 748
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	♂296 (260~338)	♂278 (248~312)
死亡開始時間 及び終了時間	3時間目~24時間	3時間目~6時間
症状発現及び 消失時期	1時間~ (記載なし)	記載なし
死亡例の認められ なかった最高投与 量 (mg/kg)	雌雄とも 200	雌雄とも 200

中毒症状は、投与経路に関係なく発現し、その主なものは中枢麻痺であった。また麻痺進行中に中枢興奮症状も観察された。なお、中毒症状は経口投与の場合よりも皮下投与の場合の方がより早く経過した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(申請者註)

試験結果の表中、投与量及びLD<sub>50</sub>はDCIP量として示されているので、以下にこれを80%乳剤量として示す。

投与方法	経口	皮下
投与量 (mg/kg)	235.3, 305.9, 400.0, 520.0 676.5	138.8, 181.2, 253.3, 305.9, 400.0 520.0, 676.5, 880.0
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂348.2 (305.9~397.6)	♂327.1 (291.8~367.1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 乳剤のマウスにおける急性経口、皮下及び静脈内毒性試験

(資料 1-6)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： dd 系マウス (体重 20~26 g 雌雄の区別, 週齢記載なし) 1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 7 日間

投与方法： 経口；DCIP 80 %、有機溶剤・乳化剤等 20.0 %の乳剤を調製し、蒸留水で希釈して、胃  
ゾンデによる強制経口投与。

皮下；DCIP 80 %、有機溶剤・乳化剤等 20.0 %の乳剤を調製し、蒸留水で希釈して、背  
側頸部への注射による投与。

静脈内；DCIP 80 %、有機溶剤・乳化剤等 20.0 %の乳剤を調製し、蒸留水で希釈して、  
尾静脈への注射による投与。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を投与後 7 日間観察。死亡動物及び試験終了時の主な動物につ  
き適用部位を含む全身の組織、器官の肉眼的病理検査。

結果：

投 与 経 路	経 口	皮 下	静 脈 内
投与量 (mg/kg)	200, 260, 338, 439, 571	200, 230, 265, 305, 350	176, 195, 214, 236, 260
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	♂300 ♀318 (251) (275) ( ) ( ) (359) (368)	♂252 ♀277 (227) (249) ( ) ( ) (280) (309)	♂214 ♀217 (196) (199) ( ) ( ) (234) (237)
死亡開始時間 及び終了時間	2 時間~2 日	(記載なし) ~ 3 日	投与直後~3 日
症状発現及び 消失時期	投与後 5 分頃~2 日	投与後 15 分頃 ~(記載なし)	投与中~60 分
毒性徴候の認められ なかった最高投与量 (mg/kg)	記載なし	記載なし	最低投与量でも毒 性徴候あり
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 200	雌雄とも 200	最低投与量でも 死亡あり

中毒症状としては、雌雄に関係なくジャンピング、自発運動の減少、呼吸困難、脱力あるいは痙攣などの症状が観察された。各投与経路における毒性を比べた場合ほとんど差はなかったが、静脈内投与において最も強く現われる傾向があった。

剖検所見では、経口及び皮下投与における死亡例では肺、腸および腹腔内脂肪組織の血様変化、腸に糜爛および帯黄色化、肝、脾、腎の退色などが観察された。加えて、経口投与では胃の出血性変化、皮下投与では投与部位の充・出血が認められた。静脈内投与における死亡例では、心肥大、肺、腸および腹腔内脂肪組織の血様変化、腸糜爛、肝の退色が観察された。なお、投与7日後の生存例の剖検所見では、いずれの投与経路においても特記すべき変化は認められなかった。

(申請者註)

試験結果の表中、投与量及びLD<sub>50</sub>はDCIP量として示されているので、以下にこれを80%乳剤量として示す。

投与方法	経口	皮下	静脈内	
投与量(mg/kg)	235.3, 305.9, 397.6 516.5, 671.8	235.3, 270.6, 311.8 358.8, 411.8	207.1, 229.4, 251.8 277.6, 305.9	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂352.9 (295.3) ? ) 422.4	♀374.1 (323.5) ? ) 432.9	♂296.5 (267.1) ? ) 329.4	♀255.3 (234.1) ? ) 278.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 乳剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 1-12)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

{組成} ; DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物 : ICR系マウス 体重 雄 22.6~28.1 g、雌 18.1~21.9 g  
5 週齢 1群雌雄各 10 匹

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 17 時間の絶食後、検体を精製水 (自家製) に溶解して投与した。投与量設定のため 178、267、400、600 及び 900 mg/kg を雌雄各 5 匹に投与し予備試験を行った。その結果から雌雄共に公比 1.2 により 251、301、361、433、520 及び 624 mg/kg 及び精製水投与の対照群を設定した。

観察・検査項目：一般症状、死亡率、体重測定、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査 (24 時間以降の死亡 2 例/群を限度に剖検で異常が認められた臓器)

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、251、301、361、433、520、624
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	雄 313 (292~335) 雌 388 (355~424)
死亡開始時間及び終了時間	雌雄とも投与後 6 時間から試験 4 日の間
症状発現及び消失時期	症状発現：雌雄とも投与後 30 分 消失時期：雌雄とも 3 時間から 24 時間
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 251
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 251

検体投与群の一般症状は雌雄とも投与後 30 分から一過性の流涎あるいは流涙、自発運動の減少、歩様蹣跚、眼瞼閉鎖あるいは昏睡を示した。

これらの症状は 251 及び 301 mg/kg 群の雌を除く投与群全てで投与後 60 分から 6 時間の間に対照群に比して有意に高頻度で観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

剖検では生存例に異常は認められず、死亡例において肝臓の退色及び混濁、腎臓の退色及び混濁、心臓の心房拡張及び肺の鬱血が認められた。

死亡例の病理組織学的検査では、肝臓、腎臓及び肺に鬱血あるいは出血、肝臓の巣状壊死、腎臓の近位尿細管上皮細胞の硝子滴変性及びネフローシスが認められた。

また、雄マウスは雌マウスに比し、検体に対して有意に高い感受性 ( $P < 0.05$ ) をもっていると判断された。

DCIP 乳剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 1-13)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット、体重 雄 249～284 g、雌 167～199 g、  
7 週齢 1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体はラットの背部皮膚に 1 回 24 時間にわたって適用した。投与量設定のため、2000 mg/kg、1000 mg/kg を雌雄各 5 匹に投与し予備試験を行った。その結果、両用量群の全ラットが耐過生存した。  
従って、本試験では 2000 mg/kg を最高用量とし、他に 1000 mg/kg 群及び精製水 (自家製) 投与の対照群を設定した。

観察・検査項目： 一般症状、死亡率、体重測定、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査 (病理解剖において異常の認められた 2000 mg/kg 群の雄 1 匹の脾臓)

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、1000、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄共に >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時期	症状発現せず
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

死亡例もなく、いずれの投与群においても全動物共に異常はなく、皮膚の適用部位にも異常は観察されなかった。

剖検では、偶発性変化とみられる水腎症及び脾臓の結節が各々 1 例みられた以外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及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 乳剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 2-4)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%

有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： ニュージーランドホワイト系ウサギ、雌 12 週齢、体重 2.39～2.48 kg、1 群 6 匹

観察期間： 12 日間

投与方法： 検体 (0.5 mL) を刈毛した動物の背部の皮膚 1 インチ (2.54 cm) 平方に閉鎖貼付した。  
貼付時間は 4 時間とし皮膚に残った検体は水で洗い流して取り除いた。

観察事項： 貼付終了後 1, 24, 48, 72 時間および 6, 9, 12 日に貼付部位の刺激性変化 (紅斑, 浮腫) を肉眼的に観察し、農林水産省の指針及び Draize 法に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は、以下のとおりである。

(非擦過)

動物番号	項目	最高 評点	暴露後時間						
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	6 日	9 日	12 日
1	紅斑	4	0	2	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	1	1	1	0	0	0
2	紅斑	4	0	1	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	1	0	0	0	0
3	紅斑	4	0	1	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	1	1	1	0	0	0
4	紅斑	4	0	1	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	1	1	0	0	0
5	紅斑	4	0	1	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	1	0	0	0
6	紅斑	4	0	1	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	1	1	1	0	0	0
合計	紅斑	24	0	7	6	6	0	0	0
	浮腫	24	0	3	5	5	0	0	
平均	紅斑	4	0.00	1.17	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
	浮腫	4	0.00	0.50	0.83	0.83	0.00	0.00	0.00

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(擦過)

動物番号	項目	最高 評点	暴 露 後 時 間						
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	6 日	9 日	12 日
1	紅 斑	4	1	2	1	1	0	0	0
	浮 腫	4	0	1	1	1	0	0	0
2	紅 斑	4	1	1	1	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0
3	紅 斑	4	1	1	1	1	0	0	0
	浮 腫	4	0	1	1	1	0	0	0
4	紅 斑	4	1	2	1	1	0	0	0
	浮 腫	4	0	1	1	1	0	0	0
5	紅 斑	4	1	1	1	1	0	0	0
	浮 腫	4	0	1	1	1	0	0	0
6	紅 斑	4	1	1	1	1	0	0	0
	浮 腫	4	0	1	1	1	0	0	0
合計	紅 斑	24	6	7	6	5	0	0	0
	浮 腫	24	0	5	5	5	0	0	0
平均	紅 斑	4	1.00	1.50	1.00	0.83	0.00	0.00	0.00
	浮 腫	4	0.00	0.83	0.83	0.83	0.00	0.00	0.00

貼布終了後 24～72 時間に弱い紅斑及び浮腫が擦過、非擦過皮膚を問わず観察されたが、6 日には消失した。

以上の結果から、DCIP 80 % 乳剤はウサギの皮膚に対して微弱から軽度の刺激性を有するものと思われた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 乳剤のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料 2-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： ニュージーランドホワイト系ウサギ (雌 12 週齢)、  
非洗眼群 6 匹 (体重 2.28~2.73 kg)  
洗眼群 (投与後 2~3 分) 3 匹 (体重 2.36~2.41 kg)  
洗眼群 (投与後 24 時間) 3 匹 (体重 2.25~2.37 kg)

観察期間： 7 日間

投与方法： 検体 0.1 mL を片側に投与し、3 匹ずつそれぞれ 2~3 分後及び 24 時間後に洗眼した。  
6 匹については洗眼しなかった。

観察事項： 投与後 1, 3 時間、1, 2, 3, 4, 7 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農  
林水産省の指針及び Draize 法に従って採点した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果： 観察した刺激性変化の採点は、以下のとおりである。

項目		最高 <sup>a</sup> 評点	適用後時間								
			1時間	3時間	1日	2日	3日	4日	7日		
非洗眼群	動物 番号 1	角膜	80	0	0	5	5	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
			分泌物	6	2	4	2	2	2	0	0
	動物 番号 2	角膜	80	0	0	20	20	40	40	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	2	4	2	2	2	0	0
			分泌物	6	2	2	2	2	2	0	0
	動物 番号 3	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	4	2	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
			分泌物	6	4	2	4	2	2	0	0
	動物 番号 4	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	8	2	2	2	2	2	0	0
			分泌物	6	4	4	4	2	2	0	0
	動物 番号 5	角膜	80	0	0	10	20	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	4	4	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
分泌物			6	2	2	2	2	0	0	0	
動物 番号 6	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0		
	虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0	
		浮腫	8	2	2	2	0	0	0	0	
		分泌物	6	2	2	4	2	2	0	0	
合計 <sup>b</sup>		660	40	42	100	81	66	50	0		
平均		110	6.7	7.0	16.7	13.5	11.0	8.3	0.0		

a: 判定基準の最高評点、 b: Draize法による評価点(最高110点/匹)

項目			最高 <sup>a</sup> 評点	適用後時間							
				1時間	3時間	1日	2日	3日	4日	7日	
洗 <sup>c</sup> 眼 群 I	動物 番号 7	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	0	0	0	0
			分泌物	6	2	2	2	2	2	0	0
	動物 番号 8	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
			分泌物	6	2	2	2	2	2	0	0
	動物 番号 9	角膜	80	0	0	10	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
			分泌物	6	2	2	2	2	0	0	0
合計 <sup>b</sup>			330	18	18	38	16	10	6	0	
平均			110	6.0	6.0	12.7	5.3	3.3	2.0	0.0	
洗 <sup>d</sup> 眼 群 II	動物 番号 10	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	4	0	0	0	0
	動物 番号 11	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
			分泌物	6	2	2	2	2	0	0	0
	動物 番号 12	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	8	2	2	2	2	0	0	0
			分泌物	6	2	4	4	2	0	0	0
合計 <sup>b</sup>			330	20	22	32	16	6	4	0	
平均			110	6.7	7.3	10.7	5.3	2.0	1.3	0.0	

a: 判定基準の最高評点、b: Draize法による評価点(最高110点/匹)

c: 投与2~3分後に洗眼、d: 投与24時間後に洗眼

結膜に充血及びわずかな腫脹がみられた他、角膜の混濁が認められた。

これらの変化は投与後2日目より回復傾向を示し、投与後7日目にはこれらの変化は完全に消失した。

投与2~3分後または24時間後に洗眼した群も非洗眼群とほぼ同等であった。

以上の結果から、DCIP80%乳剤はウサギの眼粘膜に対して、中等度の刺激性があるものと思われた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 乳剤のモルモットを用いた皮膚感作性

(資料 3-1)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： ハートレイ系モルモット (雌、体重 340～453 g) (週例記載なし)  
試験群 (検体投与群)；25 匹、 検体に対する陰性対照群 ；25 匹  
陽性対照群 ；10 匹、 陽性物質に対する陰性対照群 ；10 匹

観察期間： 72 時間

試験操作： (Maximization 法)  
投与量設定根拠；

感作； 肩部を刈毛し、検体を滅菌生理食塩水に懸濁し 5 %に調製したもの、検体を滅菌生理食塩水に懸濁させた後 FCA (フロイントの完全アジュバンド) と乳化させ 5 %に調製したものと及び FCA と滅菌生理食塩水の乳化物を各々 0.1 ml 皮内投与した。その 7 日後検体 25 %と白色ワセリンの混合物を 48 時間閉塞貼付し経皮投与とした。

一方、陽性対照群には DNCB を使い、皮内投与濃度 0.1 %、塗布濃度を感作で 1 %、惹起で 0.5 %とした。皮内投与薬液として DNCB を流動パラフィン液に懸濁し 0.1 %に調製したもの、DNCB を滅菌生理食塩水に懸濁させた後 FCA と乳化させ 0.1 %に調製したものを各々 0.1 ml 皮内投与した。その 7 日後 DNCB の濃度が 1 %となるように調製した白色ワセリンとの混合物を 48 時間閉塞貼付し経皮投与とした。

惹起； 最終感作 2 週間後に刈毛した側胴部へ検体の濃度が 25 %となるように調製した白色ワセリンとの混合物を、陽性対照群では DNCB の濃度が 0.5 %となるように調製した白色ワセリンとの混合物を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目： 惹起貼付除去後 24、48 及び 72 時間目に適用部位の紅斑及び浮腫について肉眼的に観察し、以下に示す評点基準に従い採点した。

評点 0：肉眼的に変化なし  
評点 1：軽度またはまばらな紅斑  
評点 2：中等度の紅斑  
評点 3：強度の紅斑および浮腫

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作	惹起	供試動物数	皮膚反応が認められた動物数						陽性率		
				24 時間後		48 時間後		72 時間後		24 時間	48 時間	72 時間
				皮膚反応評点 0 1 2 3	計	皮膚反応評点 0 1 2 3	計	皮膚反応評点 0 1 2 3	計			
検体	検体 皮内 (5%) 塗布 (25%)	25% 検体	25	25 0 0 0	0/25	25 0 0 0	0/25	25 0 0 0	0/25	0	0	0
	FCM	25% 検体	25	24 0 0 0	0/24*	24 0 0 0	0/24*	24 0 0 0	0/24*	—	—	—
陽性 対照	DNCB 皮内 (0.1%) 塗布 (1%)	0.5% DNCB	10	0 0 8 2	10/10	0 0 8 1	9/9*	0 0 0 9	9/9*	100%	100%	100%
	FCM	0.5% DNCB	10	10 0 0 0	0/10	10 0 0 0	0/10	10 0 0 0	0/10	—	—	—

\*：死亡した動物を採点対象から除外した。

検体陰性対照群及び陽性物質陰性対照群では全例評点0であった。

試験群においても全例評点0であったので皮膚感作率は0%であった。

一方、陽性対照群では、全例で評点2～評点3(強度の紅斑及び浮腫)の変化が認められ皮膚感作率は100%であった。

以上の結果から、DCIP 80%乳剤の皮膚感作性は、Maximization法において、陰性であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 乳剤のマウスにおける亜急性経口毒性試験

(資料 4-5)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：80 %乳剤

[組成]；DCIP 80.0%  
有機溶剤、乳化剤等 20.0%

供試動物： dd 系マウス、1 群雌雄各 10 匹 (体重 18~25 g)

投与期間： 3 ヶ月

投与方法： DCIP 換算で 25, 50, 100, 200 mg/kg を 1 日 1 回、1 週 6 日胃ゾンデにより強制的に投与した。なお、体重 20 g 当り 0.2 mL の容量で投与した。

試験項目及び結果：

一般症状；投与開始から終了時まで一般症状・日常行動の変化を観察した。  
特記すべきものは認められなかった。

死亡率； 生死を試験期間中毎日観察した。  
試験終了時の死亡率を表に示す。

投与量 (mg/kg)		0	25	50	100	200
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0	20
	雌	0	0	0	0	30

200 mg/kg 投与群で雄 2 例、雌 3 例の死亡がみられた。死亡は、雌雄とも投与 10 週目から認められた。それ以外のいずれの群においても死亡例はなかった。

体重変化；投与期間中週に 1 回体重を測定した。

100 及び 200 mg/kg 投与群において体重増加の抑制が認められた。

摂餌量及び飲水量；摂餌量及び飲水量を毎週 2 日間全投与期間を通して測定した。

摂餌量は雄では対照群に比し投与群が低い傾向にあり、特に 100 及び 200 mg/kg 投与群で顕著であった。雌でも高用量群で減少傾向にあった。

飲水量は雌雄共に高用量群で減少傾向がみられた。

血液学的検査；投与終了時に 1 群につき 3 例について左心室より採血し、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量及び白血球百分比を測定した。

検体投与の影響は全く認められなかった。

血液生化学的検査；投与終了時に各群 5 例について左心室より採血し、血清中のアルカリフォスファターゼ活性、GPT 活性及び総蛋白量を測定した。

対照群と比較して有意差が認められた項目を表に示す。

性別	雄				雌			
	25	50	100	200	25	50	100	200
投与量 (mg/kg/日)								
アルカリフォスファターゼ				↑ 158				
GPT				↑ 169				

検定法不明：↑ ↓；p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

アルカリフォスファターゼ活性と GPT 活性で 200 mg/kg 投与群の雄においてのみ両活性値に増加が認められた。

尿検査； 投与が終了する週に群ごとに 1 晩採尿し、蛋白、糖、pH について検査した。  
検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量； 投与終了時に脳、下垂体、甲状腺、心、胸腺、肺、肝、脾、腎、副腎、精巣/卵巣の臓器を摘出し、その重量を測定した。  
特記すべき変化は認められなかった。

肉眼的病理検査； 生存例について剖検を行った。  
特記すべきことは認められなかった。

病理組織学的検査； 投与終了時に摘出した臓器（臓器重量の項に記載）を 10%ホルマリン液で固定、パラフィン包埋し、ヘマトキシリン-エオジン染色標本を作製し、200 mg/kg 投与群の雌雄各 5 例について病理組織学的検査を行った。  
主な所見を表に示す。

性別		雄	雌
投与量 (mg/kg)		200	200
臓器	所見\検査動物数	5	5
肝臓	類洞拡張	0	1
	出血性壊死巣	4	3
	び慢性肝細胞壊死	2	0

200 mg/kg 投与群において、肝に、類洞の拡張、出血性壊死巣、び慢性の肝細胞壊死が認められた。この肝における変化とアルカリフォスファターゼ及び GPT 活性の間には平行関係が認められた。

100 mg/kg 投与群の雄 1 例の精巣に一側性の精細管萎縮が認められたが、片側は正常であること、200 mg/kg 投与群では認められないことから、自然発生病変であり検体投与に起因しない変化と考えられた。

また、検体投与群、対照群を問わず少数例に腎盂炎、肺胞中隔肥厚、無気肺胞、気管支炎が認められた。対照群動物にも認められていること、所見に検体投与群と対照群の差がないことから検体投与とは関係がない変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

以上の様に DCIP によると思われる 200 mg/kg 投与群における死亡例、100 mg/kg 以上の投与群における体重増加抑制、肝機能悪化、肝の病理組織学的変化が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 50 mg/kg/日 (DCIP 乳剤として 62.5 mg/kg/日) であると判断する。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 粒剤を用いたラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1-7)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：30 %粒剤

[組成]；DCIP	30.0%
鋳物質等	70.0%

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット、6 週齢、  
          体重 雄 121～145 g、雌 102～120 g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体をオリーブ油に懸濁し、ラット用胃管を用いて投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与日(投与前)、試験 2, 4, 7, 11 及び 14 日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、全身諸臓器の組織の肉眼的病理検査を行なった。また、死亡動物の少数例について組織病理検査を行なった。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	0, 1790, 2058, 2367, 2722, 3130, 3600
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	雄：2532 (2167-2956) 雌：3239 (2608-4768)
死亡開始時間及び終了時間	24 時間～試験及び 5 日目
症状発現時間及び消失時間	10 分～試験 6 日目
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも最低投与量で毒性徴候あり
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：最低投与量で死亡例あり 雌：1790

中毒症状として、雌雄に関係なく自発運動の抑制、眼瞼下垂、一過性の流涎、歩様踴躍、口吻部及び鼠径部被毛の湿潤、耳介皮膚の蒼白が観察され、体重の減少あるいは増加抑制が認められた。

剖検では、死亡した動物で肝臓のうっ血、出血及び混濁、肺のうっ血及び出血、胸腺の出血、膀胱赤色尿貯留及び胃内被験物質の残留が観察され、これらの組織病理所見では、肝臓のうっ血、出血及び肝細胞の変性、脾臓の白髄の萎縮、腎臓の尿細管上皮細胞の変性、肺のうっ血、胸腺の出血、膀胱の移行上皮の変性剥離が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 粒剤を用いたマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 1-9)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：30 %粒剤

[組成]；DCIP 30.0%  
 鋳物質等 70.0%

供試動物： ICR系マウス、6週齢、体重 雄 23.3～27.4 g、雌 18.5～22.1 g、1群雌雄各 10匹

観察期間： 14日間

投与方法： 検体をオリーブ油に溶解し、マウス用胃管を用いて投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。体重を投与日(投与前)、試験2, 4, 7, 11及び14日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行なった。また、死亡動物の少数例について組織病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、895、1029、1184、1361、1565、1800
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	雄：1044 (836-1217) 雌：1337 (1170-1546)
死亡開始時間及び終了時間	3時間～試験5日目
症状発現及び消失時期	3時間～試験5日目
毒性徴候が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともく895
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：最低投与量で死亡例あり 雌：895

中毒症状として、自発運動の抑制、眼瞼下垂、鼠径部被毛の汚染、耳介あるいは全身皮膚の蒼白、歩様踴躍、または高用量では嗜眠および昏睡が観察された。体重は、最低用量の雌群を除いて減少や増加抑制が認められた。

剖検では、死亡動物で肝臓のうっ血、退色及び混濁腫脹、腎臓の退色、肺のうっ血及び出血、膀胱の尿停滞による膨満及び胃内被験物質の残留が観察された。生存動物では雌マウスの一部で肝臓に黄白色巣及び葉間の癒着が観察された他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及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 粒剤を用いたラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 1-8)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：30 %粒剤

[組成]；DCIP	30.0%
鉱物質等	70.0%

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット、8 週齢、  
          体重 雄 258～280 g、雌 163～195 g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体をオリーブ油に懸濁し、背部中央に 24 時間閉塞貼布した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与日(投与前)、試験 2, 4, 7, 11 及び 14 日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行なった。また、死亡動物の少数例について組織病理検査を行なった。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	0、1000、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95 %信頼限界)	雌雄とも >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	試験 4 日～7 日
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも最低投与量で毒性徴候あり
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

一般状態では、投与部皮膚に落屑が一過性に認められた以外は何らの変化も認められなかった。経皮投与では毒性が弱く、皮膚より吸収され難いことが示唆された。剖検では、薬物に起因すると思われる異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

DCIP 粒剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 2-5)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：30 %粒剤

[組成]；DCIP 30.0%  
 鉱物質等 70.0%

供試動物： ニュージーランドホワイト系ウサギ、雌 12 週齢、体重 2.12~2.64 kg、1 群 6 匹

観察期間： 3 日間

投与方法： 検体 (0.5 g) を蒸留水で湿らせ、刈毛した動物の背部の皮膚 1 インチ (2.54 cm) 平方に閉鎖貼付した。

貼付時間は 4 時間とし皮膚に残った検体は水で洗い流して取り除いた。

観察事項： 貼付終了後 1, 24, 48 および 72 時間に貼付部位の刺激性変化(紅斑, 浮腫)を肉眼的に観察し、農林水産省のガイドラインに従って採点した。

結果：

動物番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑	4	0.00	0.00	0.00	0.00
	浮腫	4	0.00	0.00	0.00	0.00

観察の全期間を通して紅斑、浮腫ともに認められなかった。

以上の結果から、DCIP 30 %粒剤はウサギの皮膚に対し、刺激性を有しないものと思われた。

DCIP 粒剤のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験  
(洗眼効果確認のための追加試験を含む)

(資料 2-2, 2-3)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：30 %粒剤

[組成]；DCIP	30.0%
鉍物質等	70.0%

供試動物： ニュージーランドホワイト系ウサギ(雌 12 週齢)

非洗眼群 6 匹 (体重 2.11~3.02 kg)、洗眼群 3 匹 (体重 2.30~2.55 kg)

追加試験；非洗眼群 3 匹 (体重 2.58~2.70kg)、洗眼群 3 匹 (体重 2.49~2.88 kg)

観察期間： 7 日間

投与方法： 検体 100 mg を片側に投与し、3 匹は 24 時間後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。追加試験では、投与 2-3 分後に 3 匹について洗眼し、3 匹は洗眼しなかった。

観察事項： 投与後 1, 3 時間 1, 2, 3, 4, 7 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省の指針及び Draize 法に従って採点した。

結 果： 観察した刺激性変化の採点を表に示す。

結膜の充血、腫脹が著明で、刺激性変化は角膜や虹彩に、および角膜の混濁や虹彩の雑壁形成亢進、うっ血および腫脹が認められた。

これらの変化は投与後 2 日目より回復傾向を示すが、投与 24 時間後に洗眼した群は非洗眼群に比較して若干遅れる傾向がみられた。しかし、両群とも投与後 7 日目にはこれらの変化は完全に消失した。

一方、追加試験で行った投与 2-3 分後に洗眼した群では、変化は角膜や虹彩では認められず、結膜にみられた変化も非洗眼群に比較して軽く、また、消失時期も早かった。

なお、追加試験における死亡例 1 例は検体によるものではないと判断された。

以上の結果から、DCIP 30 %粒剤はウサギの眼粘膜に対して、中等度の刺激性があるものと思われた。また、投与 2-3 分後の洗眼は、これらの刺激性変化を減少させ回復を早める効果のあることが確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

項目			最高 <sup>a</sup> 評点	適用後時間							
				1時間	3時間	1日	2日	3日	4日	7日	
非洗眼群	動物 番号 1	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	8	4	4	6	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	0	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜	80	0	0	5	5	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	8	4	4	2	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	0	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	8	4	4	2	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	4	0	0	0	0
	動物 番号 4	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	4	2	2	0	0
			浮腫	8	4	6	4	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	4	0	0	0	0
	動物 番号 5	角膜	80	0	0	5	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	4	2	2	0	0
			浮腫	8	4	6	4	2	0	0	0
分泌物			6	4	2	4	4	0	0	0	
動物 番号 6	角膜	80	0	0	20	5	5	5	0		
	虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0		
	結膜	発赤	6	2	2	4	2	2	2	0	
		浮腫	8	4	4	4	2	0	0	0	
		分泌物	6	4	4	2	2	0	0	0	
合計 <sup>b</sup>			660	60	60	116	40	17	7	0	
平均			110	10.0	10.0	19.3	6.7	2.8	1.2	0.0	

a:判定基準の最高評点、b:Draize法による評価点(最高110点/匹)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

項目		最高 <sup>a</sup> 評点	適用後時間								
			1時間	3時間	1日	2日	3日	4日	7日		
洗 眼 群	動物 番号 7	角膜	80	0	0	20	20	5	5	0	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	2	0
			浮腫	8	4	6	6	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	4	2	0	0	0
	動物 番号 8	角膜	80	0	0	20	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	4	4	2	2	0
			浮腫	8	4	6	6	2	2	2	0
			分泌物	6	4	4	2	2	0	0	0
	動物 番号 9	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	0	
		結 膜	発赤	6	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	8	4	4	4	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	2	2	0	0	0
	合計 <sup>b</sup>		330	30	34	87	40	13	11	0	
	平均		110	10.0	11.3	29.0	13.3	4.3	3.7	0.0	

a:判定基準の最高評点、b:Draize法による評価点(最高110点/匹)

追加試験結果:

項目		最高 <sup>a</sup> 評点	適用後時間								
			1時間	3時間	1日	2日	3日	4日	7日		
非洗眼群	動物 番号 1	角膜	80	0	0	0	0	0	0	-	
		虹彩	10	0	0	5	0	0	0	-	
		結膜	発赤	6	2	2	2	0	0	0	-
			浮腫	8	2	4	4	2	0	0	-
			分泌物	6	4	4	4	0	0	0	-
	動物 番号 2	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	5	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	0	0	0
			浮腫	8	2	4	4	2	0	0	0
			分泌物	6	4	4	4	2	0	0	0
	動物 番号 3	角膜	80	0	0	15	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	5	5	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	2	0	0	0
			浮腫	8	2	8	6	4	0	0	0
			分泌物	6	4	4	4	2	0	0	0
	合計 <sup>b</sup>		330	24	34	62	26	0	0	0*	
	平均		110	8.0	11.3	20.7	8.7	0.0	0.0	0.0	
	洗眼群	動物 番号 4	角膜	80	0	0	0	0	0	0	0
虹彩			10	0	0	0	0	0	0	0	
結膜			発赤	6	2	2	2	0	0	0	0
			浮腫	8	2	4	2	0	0	0	0
			分泌物	6	2	4	2	0	0	0	0
動物 番号 5		角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	0	0	0	0
			浮腫	8	2	4	2	0	0	0	0
			分泌物	6	2	4	2	0	0	0	0
動物 番号 6		角膜	80	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	10	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	6	2	2	2	0	0	0	0
			浮腫	8	2	4	2	0	0	0	0
			分泌物	6	2	4	2	0	0	0	0
合計 <sup>b</sup>		660	18	30	18	0	0	0	0		
平均		110	6.0	10.0	9.0	0.0	0.0	0.0	0.0		

a:判定基準の最高評点、b:Draize法による評価点(最高110点/匹)

-:動物死亡のため評価しなかった、\*:1匹死亡のため2匹についての値



DCIP 粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性

(資料 3-2)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：30 %粒剤

[組成]；DCIP	30.0%
鉍物質等	70.0%

供試動物： ハートレイ系モルモット、雌 7～8 週齢、体重 367～522 g、  
試験群(検体投与群)；20 匹      検体に対する陰性対照群      ；20 匹  
陽性対照群                    ；10 匹      陽性物質に対する陰性対照群；10 匹

観察期間： 72 時間

試験操作： [Maximization 法]

投与量設定根拠；予備試験の結果から、感作皮内投与濃度を 5 %、感作および惹起塗布濃度を 25 %とした。

感作； 肩部を刈毛し、検体を滅菌生理食塩水に懸濁し 5 %に調製したもの、検体を滅菌生理食塩水に懸濁させた後 FCA(フロイントの完全アジュバンド)と乳化させ 5 %に調製したものと及び FCA と滅菌生理食塩水の乳化物を各々 0.1 mL 皮内投与した。その 7 日後検体 25 %と白色ワセリンの混合物を 48 時間閉塞貼付し経皮投与とした。

一方、陽性対照群には DNCB を用い、皮内投与濃度 0.1 %、塗布濃度を感作で 1 %、惹起で 0.5 %とした。皮内投与薬液として DNCB を流動パラフィン液に懸濁し 0.1 %に調製したもの、DNCB を滅菌生理食塩水に懸濁させた後 FCA と乳化させ 0.1 %に調製したものを各々 0.1 mL 皮内投与した。その 7 日後 DNCB の濃度が 1 %となるように調製した白色ワセリンとの混合物を 48 時間閉塞貼付し経皮投与とした。

惹起； 最終感作 2 週間後に刈毛した側胴部へ検体の濃度が 25 %となるように調製した白色ワセリンとの混合物を、陽性対照群では DNCB の濃度が 0.5 %となるように調製した白色ワセリンとの混合物を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目： 惹起貼付除去後 24, 48 及び 72 時間目に適用部位の紅斑及び浮腫について肉眼的に観察し、以下に示す評点基準に従い採点した。

- 評点 0：肉眼的に変化なし
- 評点 1：軽度またはまばらな紅斑
- 評点 2：中等度の紅斑
- 評点 3：強度の紅斑および浮腫

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群		供試動物数	皮膚反応が認められた動物数									陽性率		
			24時間後				48時間後				72時間後			
			感作	惹起	皮膚反応評点 0 1 2 3	計	皮膚反応評点 0 1 2 3	計	皮膚反応評点 0 1 2 3	計	24時間	48時間	72時間	
検体	検体 皮内 (5%) 塗布 (25%)	25% 検体	20	0 0 1 0	1/20	19 1 0 0	1/20	19 1 0 0	1/20	5%	5%	5%		
	FCM	25% 検体	20	20 0 0 0	0/20	19 1 0 0	1/20	19 1 0 0	1/19	—	—	—		
陽性 対照	DNCB 皮内 (0.1%) 塗布 (1%)	0.5% DNCB	10	0 3 2 5	10/10	0 0 2 8	10/10	0 0 2 8	10/10	100%	100%	100%		
	FCM	0.5% DNCB	10	9 1 0 0	1/10	8 2 0 0	2/10	9 1 0 0	1/10	—	—	—		

検体陰性対照群及び陽性物質陰性対照群のそれぞれ1例及び2例に評点1の軽度の紅斑が認められた。

試験群においては、1例のみに評点2の中等度の紅斑が認められた。

一方、陽性対照群では、全例で評点2～評点3(強度の紅斑及び浮腫)の変化が認められた。

以上の結果から、DCIP 30%粒剤の皮膚感作性は、Maximization法において、最低の範囲であるGrade I(微弱)に相当していると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[ 参 考 資 料 ]

(10) DCIP 粒剤の

(資料 R10)

試 験 機 関 :

報 告 書 作 成 年 :


本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。



