

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジエンタジャパン株式会社にある。

(2) ラットにおける催奇形性試験

(資料No. T-16)

試験機関： Central Toxicology Laboratory

Zeneca(英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1994年(CTL/P/3633)

検体の純度： %

試験動物： Alpk:APfSD系妊娠ラット (Wistar由来)、搬入時約12週齢、体重：176～271g、
1群雌24匹

試験期間： 妊娠7～16日目までの10日間 (1991年9月～10月)

投与方法： 検体をコーン油に懸濁し、0、25、100および300mg/kg/dayの用量で、毎日1回強制経口
投与した (膺スミア中に精子が検出された日を妊娠1日目とした)。コーン油の液量
は0.1mL/kg体重とした。

なお、各投与群の24匹の動物は12匹の2グループに分けて投与した。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物；一般状態および生死を毎日1回観察し、妊娠1、4、7～16 (毎日)、19および22日目に
体重を測定した。妊娠1、4、7、13、16および19日目の飼料重量を測定し、妊娠1～4、
4～7、7～11、11～13、16～19および20～23日の摂餌量を算出した。

途中死亡動物は、肉眼的病理検査を行い、妊娠状況について検査した。

妊娠22日目に動物を屠殺して肉眼的病理検査を行い、帝王切開を行って妊娠子宮を摘
出し、妊娠子宮重量、黄体数、着床数および着床位置、生存胎児数、早期および後期
死亡胎児数および吸収胚数について検査した。

生存胎児；胎児重量を測定し、外表異常および口腔について検査した。次いで内臓異常を検査
し性別を判定した。内臓を除去し、メタノールで固定した。各胎児の頭部を前頭頭頂
縫合に沿って切開し、脳の肉眼的異常を検査した。次いで胎児をアリザリンレッドS
で染色して骨格標本作製し骨格検査を行い、さらに前後肢の骨化 (骨形成) の程度
を調べた。

結果：結果を表1～2に示した。

親動物；

300mg/kg/day投与群で、12匹のうち3匹が2回目の投与後に死亡し、さらに他の1匹を切迫屠殺した。この用量は最大耐量を越えていたため、残りの8匹への投与を中止した。300mg/kg/day投与群でみられた体重減少、下痢および尿失禁の徴候は検体投与に関連したものであった。同群残りの8匹の生存動物は回復し、試験終了時まで生存した。同群で死亡および毒性がみられた後、同群の12匹への投与を中止した。

100mg/kg/day投与群で、試験期間中に下痢および尿失禁がみられ、24匹中17匹で妊娠9～16日に投与後の流産がみられた。また、投与期間中に対照群と比較して統計学的に有意な体重の減少がみられた。体重低値は投与終了後にも継続し、妊娠22日に対照群と同等になったが、これは対照群の雌3匹の体重増加が異常に遅かったことによるものであった。また、同群で、対照群と比較して有意な摂餌量の減少が投与期間中（妊娠7～10日）にみられ、その減少率は23%であった。剖検では、100mg/kg/day投与群の2例の胃に出血域がみられた。

25mg/kg/day投与群で、24匹中7匹に妊娠11～16日に流産がみられたが、発生頻度は高くはなかった。また、投与後期間（妊娠19～22日）に体重増加がみられたが、これは対照群の3匹の体重増加率が小さかったことによるものであり、検体投与に関連した影響とは考えられなかった。

児動物；

100mg/kg/day投与群で、性比（雄%）に統計学的に有意な増加（55.0%）がみられたが、この変化は背景データ（45.0～56.2%）の範囲内であり、検体投与に関連した影響とは考えられなかった。また、同群で、骨格異常が認められた胎児数に増加がみられたが、統計学的に有意な差はみられなかった。しかし、頭頂骨/頭頂間骨間に縫合骨を持つ胎児数の統計学的に有意な増加がみられた。

他にみられた骨格変異の増加には統計学的に有意な差はみられなかった。総合的にみて、これらの変化は骨化の低下を示しており、胎児に対する検体のごく軽度の毒性を示すものと考えられた。

100および25mg/kg/day投与群では、子宮内胎児数、生存および発育に対する影響および催奇形性を示唆する所見はみられなかった。

(申請者注)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

以上の結果より、本剤をラットの器官形成期に妊娠動物に経口投与すると、300mg/kg/day投与群で母動物の死亡および重篤な毒性症状がみられたため、投与を中止し、発生毒性の評価は行わなかった。

100mg/kg/day投与群で、投与期間中に下痢、尿失禁、体重増加の抑制および摂餌量の減少などの母動物に対する毒性がみられ、また、胎児動物では軽度の毒性である骨化遅延がみられた。しかし、100および25mg/kg/day投与群のいずれにおいても催奇形性はみられなかった。

従って、本試験の無毒性量（NOAEL）は、母動物および胎児のいずれに対しても25mg/kg/dayであると考えられる。また、本剤に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及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表1. 試験結果

投与量(mg/kg/day)		0	25	100	300		
1群当たりの動物数		24	24	24	12		
親	非妊娠動物数	0	3	0	評価せず		
	途中死亡動物数	0	0	0	4		
	終了時生存胎児がみられた母動物数	24	21	24	評価せず		
	一般状態	流産	0	7	17	0	
		下痢	0	0	10	10	
		尿失禁	0	0	4	5	
	体重(g)	投与前	妊娠1日	221.3	225.6	219.6	評価せず
			妊娠4日	241.3	246.8	240.1	
			妊娠7日	253.5	259.9	252.5	
		投与期間中	妊娠8日	257.1	257.6	254.0**	
			妊娠9日	262.4	263.4	259.6*	
			妊娠10日	267.2	268.1	264.1*	
			妊娠11日	272.4	273.3	270.0	
			妊娠12日	277.2	279.5	273.2*	
			妊娠13日	282.6	285.4	278.5*	
妊娠14日			289.7	290.6	284.1**		
妊娠15日			296.1	297.5	290.6**		
妊娠16日			303.5	303.5	298.2*		
後	妊娠19日	336.3	335.1	330.5			
	妊娠22日	368.4	371.9	369.2			
動物	摂餌量(g/day)	妊娠1-4日	22.0	22.8	22.1	評価せず	
		妊娠4-7日	24.0	24.8	24.2		
		妊娠7-10日	21.9	22.1	16.8**		
		妊娠10-13日	22.6	23.3	19.3**		
		妊娠13-16日	24.1	25.4*	22.3**		
		妊娠16-19日	29.4	31.7*	30.7		
		妊娠19-22日	28.7	31.9**	31.8*		
肉眼の病理所見	盲腸：赤色域	0	0	0	1		
		空腸：変色	0	0	0	1	
		異常内容物	0	0	0	1	
		胃：出血域	0	0	2	0	
		壁肥厚	0	0	0	3	
		赤色域	0	0	0	3	
		肺：斑点化	0	0	0	2	
妊娠子宮重量(g)		76.9	74.5	75.3	評価せず		
同腹児重量(g)		52.7	51.2	51.4			
胎児体重(g)		4.77	4.86	4.77			
性比(雄%)		47.3	52.1	55.0*			
着床所見(1/腹)	黄体数	13.6	13.6	13.3			
	着床数	11.9	11.0	11.4			
	胎児数	11.3	10.7	10.8			
	着床前胚損失率(%) ^a	40/326 (12.9)	56/286* (20.1)	45/318 (14.0)			
	着床後胚損失率(%) ^b	15/286 (5.5)	5/230 (4.0)	14/273 (5.5)			
	早期胎児死亡率(%) ^c	14/286 (5.1)	5/230 (4.0)	11/273 (4.5)			
	後期胎児死亡率(%) ^c	1/286 (0.4)	0/230 (0.0)	3/273 (1.0)			

Student's t-test、* : p<0.05、** : p<0.01

$$^a : \text{着床前胚損失率}(\%) = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$^b : \text{着床後胚損失率}(\%) = \frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

^c : 数字は該当する所見がみられた数 / 総数 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表2. 試験結果

投与量(mg/kg/day)		0	25	100	300		
胎 児 動 物 格 検 査	総胎児数	271	225	259	評価せず		
	外表・内臓検査	検査胎児数	273	225		259	
		奇形胎児数	1 (0.3)	0		0	
		異常胎児数	0	1 (4.8)		0	
	変異胎児数	24 (9.3)	19 (11.4)	30 (11.1)			
	主要所見	後肢異常回転(奇形)	1 (0.4)	0		0	
		後肢浮腫(異常)	0	1 (0.4)		0	
		尿管蛇行(変異)	24 (8.9)	18 (8.0)		29 (11.2)	
	骨格検査	検査胎児数	271	225		259	評価せず
		奇形胎児数	0	0		0	
		異常胎児数	89 (30.2)	85 (37.7)	103 (43.4)		
		変異胎児数	241 (87.6)	191 (84.5)	237 (90.8)		
		異常・変異主要所見	頭頂骨間と頭頂骨の間に縫合骨	0	0	6* (2.3)	
			第2頸椎突起未骨化	76 (28.0)	32** (14.2)	55 (21.2)	
第2頸椎椎体未骨化			123 (45.4)	45** (20.0)	91* (35.1)		
第4胸骨分節二分			26 (9.6)	45** (20.0)	35 (13.5)		
前後肢の骨化の程度	踵骨未骨化	208 (76.8)	150* (66.7)	210 (81.1)			
	前肢の評点	4.22	4.25	4.34			
	後肢の評点	4.74	4.78	4.94			

Student's t-test、 * : p<0.05 ** : p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. T-17)

試験機関 : Central Toxicology Laboratory
Zeneca(英国) [GLP 対応]
報告書作成年 : 1995 年(CTL/P/4757)

検体の純度 : %

試験動物 : New Zealand White種妊娠ウサギ、週齢の記載なし。搬入時の体重 ; 3139~4154g、

1 群雌 21 匹、動物は搬入前に Interfauna UK Limited で同種の雄と時限交配されていた。

投与期間 : 妊娠 8~20 日目までの 13 日間 (雄ウサギとの交配の日を妊娠 1 日目とした)

投与方法 : 検体をコーン油に懸濁し、0、50、150 および 500mg/kg/day の用量で、毎日 1 回強制経口投与した。コーン油の液量は 1mL/kg 体重とした。

用量設定根拠 :

試験項目 :

母動物 ; 一般状態および生死を毎日少なくとも 1 回観察した。搬入日、妊娠 4、8~20 (毎日)、23、26 および 30 日に体重を測定した。妊娠 4、8、11、14、17、20、23、26 および 30 日に飼料重量を測定し、妊娠 4~8、8~11、11~14、14~17、17~20、20~23 および 26~30 日の摂餌量を算出した。

途中死亡動物は肉眼的病理検査を行い、妊娠状況を検査した。妊娠 30 日目に動物を屠殺して肉眼的病理検査を行った。着床の兆候がみられない動物は子宮を摘出して硫化アンモニウムで染色して着床の有無を調べた。妊娠動物は帝王切開を行って子宮を摘出し、妊娠子宮重量、黄体数、着床数および着床位置、生存胎児数、早期および後期死亡胎児数および吸収胚数について検査した。

生存胎児 ; 胎児体重を測定し、外表異常および口腔異常について検査した。次いで内臓異常を検査し、性別を判定した。内臓を除去し、メタノールで固定した。各胎児の頭部を開き、脳の肉眼的異常を検査した。次いで胎児をアリザリンレッド S で染色して骨格標本作製し、骨格検査を行い、さらに前後肢の化骨 (骨形成) の程度を調べた。

結果：結果を表1および表2に示した。

母動物；

途中死亡動物；いずれの群においても検体投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態の変化；500、150 および 50mg/kg/day 投与群で、投与期間中に対照群と比較して下痢、下痢の兆候および/または生殖器周辺の汚れを認める動物の発生頻度の増加(対照群の1匹に対して50、150 および 500mg/kg/day 投与群で7、15 および 18 匹) がみられた。特に500 および 150mg/kg/day 投与群ではこれらの兆候は主として妊娠9および10日、すなわち投与開始直後にみられた。

体重；500mg/kg/day 投与群で、投与期間中に対照群と比較して統計学的に有意な体重減少がみられた。投与後期間には体重の増加がみられたが、初期の体重で補正した体重が対照群の数値を上回ることにはなかった。

50 および 150mg/kg/day 投与群では投与初期に有意な体重減少がみられた。

摂餌量；全投与群で投与最初の3日間に摂餌量の減少がみられた。しかし、50mg/kg/day 投与群ではこの減少に対照群と比較して統計学的に有意な差はみられなかった。

肉眼的病理所見；いずれの変化も検体投与に関連したものとは考えられなかった。

同腹児データ；子宮内の胎児数、発育および生存率に対する検体の影響はみられなかった。

胎児の評価：

- (A) 奇形；奇形を有する胎児数は、対照群、50、150 および 500mg/kg/day 投与群でそれぞれ4/163、4/159、1/177 および 1/180 であった。奇形は単発性のものであるいは対照群でもみられるものであり、いずれも検体投与に関連したものとは考えられなかった。
- (B) 異常；500mg/kg/day 投与群で、外表 / 内臓異常を有する胎児の比率に軽度増加がみられたが、対照群と比較して統計学的に有意な差はみられなかった。この増加は肝に付着した嚢胞数の軽度の増加が原因であったが、背景データ (0~7.0%) の範囲内であり、検体投与に関連したものとは考えられなかった。
軽度の骨格奇形を有する胎児の比率は全群で同程度であり、検体投与に関連したものとは考えられなかった。
- (C) 変異；いずれの胎児にも外表 / 内臓変異はみられなかった。
大多数の胎児に一つ以上の骨格変異が認められたが、いずれの変異も検体投与に関連するものとは考えられなかった。
- (D) 四肢の評価；前肢の骨化 (骨形成) に対する検体の影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに経口投与した場合、母動物では用量の増加に伴って毒性の増加がみられた。500mg/kg/day 投与群で、下痢 / 下痢の兆候および/または生殖器周辺の汚れ、母動物体重の減少および摂餌量の減少がみられた。この影響は投与開始時にみられ、その後は回復した。

150mg/kg/day 投与群では、500mg/kg/day 投与群と類似した影響がより軽度でより短期（投与最初の3日間のみ）にみられた。

50mg/kg/day 投与群では投与開始後に母動物の体重の軽度の減少がみられ、減少の程度は150mg/kg/day 投与群と類似していた。また、投与に関連した一般状態の変化を有する動物数が増加したが、その発生数は150mg/kg/day 投与群より少なかった。

子宮内の胎児数、発育、生存率および発生に対する検体の影響は、いずれの投与群でもみられず、同腹児データ、奇形および変異の発生頻度に対する影響もみられなかった。

したがって、本試験の母動物に対する無毒性量（NOAEL）は設定されなかったが、胎児に対する無毒性量（NOAEL）および無影響量（NOEL）は500mg/kg/day であると考えられる。また、アゾキシストロピンはウサギに対して催奇形性がないものと判断される。

表 1. 試験結果

投与量(mg/kg/day)		0	50	150	500		
1 群当たりの母動物数		21	21	21	21		
親	妊娠動物数	18	19	20	20		
	途中死亡動物数	0	0	2	1		
	終了時生存胎児がみられた母動物数	18	19	18	19		
	一般状態	下痢	2	3	2	3	
		下痢の兆候	0	9	15	17	
		生殖器周囲の汚れ	1	3	4	15	
	動物	体重(g)	妊娠 4 日	3710	3828	3814	3868
			妊娠 8 日	3755	3919	3898	3982
			妊娠 9 日	3878	3827*	3830*	3776**
			妊娠 10 日	3893	3833	3832	3731**
			妊娠 11 日	3938	3869*	3864*	3751**
			妊娠 12 日	3957	3906	3893*	3744**
			妊娠 13 日	3966	3931	3922	3771**
			妊娠 14 日	4001	3964	3948	3809**
			妊娠 15 日	4055	4009	4007	3845**
			妊娠 16 日	4108	4056	4048	3867**
			妊娠 17 日	4112	4074	4088	3888**
			妊娠 18 日	4119	4092	4113	3894**
			妊娠 19 日	4123	4100	4132	3893**
妊娠 20 日			4111	4109	4140	3905**	
動物	摂餌量 (g/day)	妊娠 4-8 日	159	189	187	209	
		妊娠 8-11 日	138	118	93*	67**	
		妊娠 11-14 日	130	160*	128	107	
		妊娠 14-17 日	124	147	121	119	
		妊娠 17-20 日	137	153	144	120	
		妊娠 20-23 日	166	176	181	174	
		妊娠 23-26 日	156	179*	190*	203**	
肉眼的病理所見	腎: 蒼白	0	0	1	0		
	表面粗糙	0	0	2	0		
	圧迫域	0	0	0	1		
	肺: 赤色斑点	0	1	2	3		
	脾: 副脾	1	1	6	6		
妊娠子宮重量(g)		590	557	623	585		
同腹児重量(g)		388	364	411	387		
胎児体重(g)		43.4	44.5	42.2	42.0		
性比(雄 %)		45.4	47.5	47.4	46.2		
着床所見	黄体数	11.3	11.2	11.6	12.5		
	着床数	10.1	9.3	10.6	10.5		
	生存胎児数	9.1	8.4	9.8	9.5		
	着床前胚損失率(%) ^a	10.2	16.8	8.7	15.3		
	着床後胚損失率(%) ^b	10.1	9.1	6.9	10.1		
	早期胎児死亡率(%) ^c	5.0	5.2	2.3	3.9		
	後期胎児死亡率(%) ^c	5.1	3.9	4.6	6.1		

Student's t-test, * : p<0.05 , ** : p<0.01

- a : 着床前胚損失率 (%) = $\frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$
- b : 着床後胚損失率 (%) = $\frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$
- c : 数字は該当する所見がみられた数 / 総数 (%)

表 2. 試験結果

		投与量(mg/kg/day)	0	50	150	500	
胎 児	外表・内臓検査	総胎児数	163	159	177	180	
		検査胎児数	163	159	177	180	
		奇形胎児数	2 (1.5) ^a	3 (2.1)	0	1 (0.5)	
		異常胎児数	8 (4.5)	10 (6.2)	11 (5.9)	15 (7.6)	
		変異胎児数	0	0	0	0	
		奇形 主要 所見	重度の内臓複合奇形	1 (0.6)	0	0	0
			二分脊椎および髄膜瘤	0	0	0	1 (0.6)
			髄膜瘤	0	1 (0.6)	0	0
			大動脈拡張	1 (0.6)	2 (1.3)	0	0
			肺動脈狭窄	1 (0.6)	2 (1.3)	0	0
			肺全葉低形成	1 (0.6)	0	0	0
			肺全葉肥厚	1 (0.6)	0	0	0
			肺への嚢胞付着	1 (0.6)	0	0	0
		異常 所見	肝への嚢胞付着	3 (1.8)	6 (3.8)	7 (4.0)	10 (5.6)
		動 物	骨格 主要 検査 所見	検査胎児数	154	159	154
奇形胎児数	3 (2.2)			2 (1.5)	1 (0.8)	0	
異常胎児数	64 (42.2)			79 (49.5)	71 (45.0)	67 (41.0)	
変異胎児数	131 (85.2)			135 (85.9)	136 (88.2)	148 (88.6)	
奇形 主要 所見	頭骨無発生			1 (0.6)	0	0	0
	頭頂間骨・後頭骨一体化			0	1 (0.6)	0	0
	頸椎椎体未骨化			1 (0.6)	0	0	0
	第4腰椎椎弓未骨化			1 (0.6)	0	0	0
	第11胸椎・第3腰椎間配列異常			0	1 (0.6)	0	0
	第11・12胸椎椎弓癒合			0	0	1 (0.6)	0
	第12胸椎・第1腰椎椎弓癒合			0	1 (0.6)	0	0
	第11・12肋骨癒合			0	1 (0.6)	0	0
異常・ 変異 所見	舌骨形態異常			8 (5.2)	1* (0.6)	2 (1.3)	3 (1.8)
	第7頸椎横突起不完全骨化			1 (0.6)	8* (5.0)	2 (1.3)	2 (1.2)
	椎骨数 27 (頸椎・胸椎・腰椎)			49 (31.8)	27** (17.0)	61 (39.6)	54 (32.3)
	第5胸椎未骨化	16 (10.4)	36** (22.6)	19 (12.3)	16 (9.6)		
前後肢の 骨化の程度	前肢の評点	2.9	2.7	2.9	3.0		
	後肢の評点	1.1	1.0	1.0	1.1		

Student's t-test, * : p<0.05 ** : p<0.01
a : 数字は該当する所見数 (%)

(4) 妊娠ウサギにおける母毒性試験

(資料No. T-18)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1997年(CTL/P/5161)

検体の純度： %

試験動物： New Zealand White種妊娠ウサギ (未交配、週齢の記載なし、体重の記載なし)、
1群雌15匹

試験期間： 1996年5月20日～1996年6月19日

投与期間： 妊娠8～20日 (交配が確認された日を妊娠1日とした)

投与方法： 検体をコーン油に懸濁し、0、25、40あるいは150mg/kg/dayの用量で強制経口投与した。対照群の動物にはコーン油のみを投与した。コーン油の液量は1mg/kg体重とした。

投与量設定根拠；

試験項目： 一般状態および生死を毎日観察した。

各動物の体重は、搬入時および4、8～20 (毎日)、23、26および30日に測定した。また、各動物について妊娠4、8、11、14、17、20、23、26および30日に給餌量を測定し、妊娠8、11、14、17、20、23、26および30日に残餌量を測定して摂餌量を算出した。試験終了時に外表、胸腔内および腹腔内器官・組織の検査を含む、肉眼的病理検査を実施した。

結果： 結果を表1に示した。

一般状態および死亡率； 途中死亡動物は認められなかった。

非妊娠動物数は、対照群および25mg/kg/day投与群で各1例、40mg/kg/day投与群で3例であり、150mg/kg/day投与群では全例妊娠動物であった。

150mg/kg/day投与群で、投与開始後、下痢および生殖器周囲の汚れが高頻度でみられた。40mg/kg/day投与群でも同様の所見がみられたが、頻度はより少く、持続期間も短かった。25mg/kg/day投与群でも同様の所見がみられたが、その頻度および持続期間はさらに少なかった。

また、150mg/kg/day投与群の2例に投与期間中粘液便がみられた。

体重； 150mg/kg/day投与群で、妊娠9～16日 (毎日) に、対照群と比較して統計学的に有意な体重の低値がみられ、試験終了時まで体重は低値のまま推移した (対照群の95～97%であった)。

40mg/kg/day投与群で、妊娠9および10日に、対照群と比較して統計学的に有意な体重の低値がみられたが、減少の程度は対照群の98%であった。

摂餌量； 150mg/kg/day投与群で、妊娠8～11および11～14日に対照群と比較して統計学的に有意な摂餌量の減少がみられた。

肉眼的病理所見； 検体投与に関連した変化は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギの胎児器官形成期に投与した場合、150mg/kg/day投与群で投与期間中に体重および摂餌量の減少がみられ、一般状態の変化として下痢および/あるいは生殖器周囲の汚れなどが観察された。

40mg/kg/day投与群では、妊娠9および10日に、統計学的に有意な体重の低値がみられたが、減少の程度は非常に軽度でかつ一過性の変化であり、摂餌量の減少程度、並びに下痢・生殖器周囲の汚れの発生頻度は150mg/kg/day投与群よりも軽度であった。

25mg/kg/day投与群で少数の動物に、下痢および生殖器周囲の汚れがみられたが、これらは偶発的と考えられた。

従って、本試験の無毒性量（NOAEL）は25mg/kg/dayであると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表1. 母動物の毒性試験結果

投与量(mg/kg/day)		0	25	40	150
供試動物数		15	15	15	15
妊娠動物		14	14	12	15
一般状態	下痢 (発生頻度 ^a 、観察された期間)	5 (17、12-30)	9 (27、9-30)	13 (38、8-30)	13 (75、9-30)
	生殖器周囲の汚れ (発生頻度 ^a 、観察された期間)	0	2 (12、10-27)	6 (49、8-30)	10 (66、9-30)
体重(g) (補正值)	妊娠4日	3853	3874	3875	3846
	妊娠8日	3917	3964	3938	3912
	妊娠9日	3938	3886	3876*	3807**
	妊娠10日	3964	3921	3883*	3784**
	妊娠11日	3965	3950	3911	3815**
	妊娠12日	3984	3973	3916	3844**
	妊娠13日	4007	4019	3936	3873**
	妊娠14日	4060	4065	3972	3897**
	妊娠15日	4104	4127	4025	3929**
	妊娠16日	4121	4184	4074	3975*
	妊娠17日	4129	4188	4084	3996
	妊娠18日	4136	4199	4114	4012
	妊娠19日	4153	4194	4119	4025
	妊娠20日	4181	4213	4142	4046
	妊娠23日	4254	4326	4248	4163
	摂餌量	妊娠4-8日	164	194	181
妊娠8-11日		152	141	122	67**
妊娠11-14日		155	149	131	122*
妊娠14-17日		130	154	136	111
妊娠17-20日		146	180	156	158
妊娠20-23日		183	199	203	197
妊娠23-26日		152	180	191**	194**
妊娠26-30日		149	143	148	154
肉眼的病理所見		—	—	—	—

Student's t-test * : p<0.05、** : p<0.01

— : 著変なし

^a : 投与前に観察された所見は除外した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(5) ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. T-参考3)

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シンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

従って、本試験の無毒性量 (NOAEL) および無影響量 (NOEL) は、母動物では7.5mg/kg/day であり、胎児動物では20mg/kg/dayと判断された。また、催奇形性 (発生毒性) は陽性と考えられるが、この所見に対する無影響量 (NOEL) は20mg/kg/dayであると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

(6)ウサギの催奇形性試験に用いる溶媒の比較試験

(資料No. T-参考4)

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シンジェンタジャパン株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

結論：PEG 300、PEG 400およびコーン油は、2mL/kg以上の液量でウサギに溶媒として用いることは適切ではないと判断された。0.5% CMCあるいは0.5% キサンタンは母動物に悪影響を示さなかったため、以後の試験に用いる溶媒の候補になりうると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

9) 変異原性

(1) 遺伝子突然変異原性

① 細菌を用いた復帰変異試験

(資料No. T-19)

試験機関： Central Toxicology Laboratory

ICI(英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1992年(CTL/P/3790)

検体の純度： %

投与方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535およびTA1537株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2PおよびWP2 PuvrA株) を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の非存在下および存在下で Gatehouseらの方法を用いて復帰変異の有無を検定した。検体はDMSOに溶解し、5000 μ g/プレートを最高用量として第1回目の試験を実施した結果、試験菌株に対して抗菌活性が認められなかったのでこの5000 μ g/プレートを本試験の試験の最高用量とした。試験濃度は100~5000 μ g/プレートの範囲で6用量とした。試験は3連制とし、2回行った。

試験結果：結果を次頁の表1および表2に示した。

2回の試験において検体はS-9Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない用量 (5000 μ g/プレート) においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたアジ化ナトリウム、マイトマイシンC、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(ENNG)、アクリジン変異原ICR191、ダウノマイシン、2-アミノアントラセン(2-AA)では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表1. 1回目試験

薬 剤	濃度 (µg/プレ- ート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA1535	TA100	WP2P	WP2P <i>uvrA</i>	TA1537	TA98	
溶媒対照(DMSO)		-	10.2	80.4	46.4	91.8	2.8	14.0	
アゾキシストロビン	100	-	10.0	75.7	33.0	89.3	2.0	13.0	
	200	-	13.3	88.7	30.3	94.0	4.0	14.0	
	500	-	10.7	73.0	36.7	85.3	2.7	16.7	
	1000	-	8.7	72.7	28.7	98.0	1.7	14.3	
	2500	-	9.3	74.7	25.3	74.3	2.3	11.3	
	5000	-	10.3	59.0	32.0	75.3	1.0	10.7	
陽性 対照	アジ化ナトリウム	0.5	-	246.0	400.0	-	-	-	-
		1.0	-	347.5	489.5	-	-	-	-
		2.0	-	433.5	525.5	-	-	-	-
	マイトマイシンC	0.2	-	-	-	161.0	-	-	-
		0.5	-	-	-	186.5	-	-	-
		1.0	-	-	-	212.5	-	-	-
	ENNG	0.2	-	-	-	-	237.5	-	-
		0.5	-	-	-	-	1200.0	-	-
		1.0	-	-	-	-	1970.0	-	-
	ICR191	0.5	-	-	-	-	-	82.5	-
		1.0	-	-	-	-	-	103.5	-
		2.0	-	-	-	-	-	133.5	-
	ダウノマイシン	0.2	-	-	-	-	-	-	30.0
		0.5	-	-	-	-	-	-	56.5
		1.0	-	-	-	-	-	-	121.5
	溶媒対照(DMSO)		+	18.0	99.8	43.4	112.8	3.4	28.2
	アゾキシストロビン	100	+	15.0	112.3	39.7	124.3	5.3	26.3
		200	+	16.0	110.0	47.0	121.7	7.0	26.5
500		+	12.0	83.0	44.3	124.3	8.0	26.7	
1000		+	17.3	90.7	38.7	131.3	6.3	11.3	
2500		+	10.0	85.3	41.0	102.7	6.7	26.7	
5000		+	10.0	94.0	42.7	109.0	6.7	32.0	
陽性 対照	2-AA	0.2	+	-	318.5	-	-	-	195.0
		0.5	+	99.0	488.0	-	-	-	464.0
		1.0	+	168.0	2221.5	-	358.0	-	1902.5
		2.0	+	246.5	-	-	1988.0	235.5	-
		5.0	+	-	-	101.5	3363.0	-	-
		10.0	+	-	-	172.5	-	-	-
		20.0	+	-	-	178.0	-	-	-
溶媒対照(DMSO)		-	15.2	75.8	37.2	130.4	4.0	20.4	
アゾキシストロビン	100	-	10.7	74.7	42.5	115.7	2.7	18.7	
	200	-	10.7	76.0	36.7	118.0	3.0	16.7	
	500	-	10.7	75.7	39.0	98.3	5.0	16.3	
	1000	-	13.7	67.7	28.7	97.7	3.0	15.3	
	2500	-	10.7	76.0	41.7	92.3	2.7	22.0	
	5000	-	9.0	72.7	37.7	77.7	1.0	20.0	
陽性 対照	窒化ナトリウム	0.5	-	270.0	331.0	-	-	-	-
		1.0	-	341.5	464.0	-	-	-	-
		2.0	-	524.0	649.0	-	-	-	-
	マイトマイシンC	0.2	-	-	-	105.0	-	-	-
		0.5	-	-	-	155.5	-	-	-
		1.0	-	-	-	182.5	-	-	-
	ENNG	0.2	-	-	-	-	401.5	-	-
		0.5	-	-	-	-	668.0	-	-
		1.0	-	-	-	-	1858.0	-	-
	ICR191	0.5	-	-	-	-	-	58.0	-
		1.0	-	-	-	-	-	124.5	-
		2.0	-	-	-	-	-	186.0	-
	ダウノマイシン	0.2	-	-	-	-	-	-	30.0
		0.5	-	-	-	-	-	-	66.0
		1.0	-	-	-	-	-	-	169.0
	溶媒対照(DMSO)		+	14.4	87.4	53.8	142.4	7.0	32.6
	アゾキシストロビン	100	+	10.3	83.3	50.7	114.7	5.7	28.7
		200	+	13.0	72.3	48.3	143.3	6.3	30.0
500		+	12.0	73.0	48.3	122.3	6.0	28.0	
1000		+	11.0	82.7	45.7	137.0	6.3	31.3	
2500		+	11.3	71.3	51.7	137.3	6.0	31.0	
5000		+	14.3	71.7	40.0	150.3	4.3	24.0	
陽性 対照	2-AA	0.2	+	-	250.5	-	-	-	257.5
		0.5	+	-	434.0	-	-	-	479.5
		1.0	+	-	1217.5	-	473.0	-	1767.0
		2.0	+	245.0	-	-	1027.0	190.0	-
		5.0	+	-	-	75.5	1504.5	-	-
		10.0	+	-	-	93.0	-	-	-
		20.0	+	-	-	95.5	-	-	-

ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン 2-AA: 2-アミノアントラセン
-: 検査せず C: 細菌汚染がみられたプレートを示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

表2.2. 2回目試験

薬 剤	濃度 (μg /プレ ート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			TA1535	TA100	WP2P	WP2P <i>uvrA</i>	TA1537	TA98	
溶媒対照(DMSO)		—	15.2	75.8	37.2	130.4	4.0	20.4	
アノキシストロピン	100	—	10.7	74.7	42.5	115.7	2.7	18.7	
	200	—	10.7	76.0	36.7	118.0	3.0	16.7	
	500	—	10.7	75.7	39.0	98.3	5.0	16.3	
	1000	—	13.7	67.7	28.7	97.7	3.0	15.3	
	2500	—	10.7	76.0	41.7	92.3	2.7	22.0	
	5000	—	9.0	72.7	37.7	77.7	1.0	20.0	
陽性 対照	アジ化ナトリウム	0.5	—	270.0	331.0	—	—	—	—
		1.0	—	341.5	464.0	—	—	—	—
		2.0	—	524.0	649.0	—	—	—	—
	マイトマイシンC	0.2	—	—	—	105.0	—	—	—
		0.5	—	—	—	155.5	—	—	—
		1.0	—	—	—	182.5	—	—	—
	ENNG	0.2	—	—	—	—	401.5	—	—
		0.5	—	—	—	—	668.0	—	—
		1.0	—	—	—	—	1858.0	—	—
	ICR191	0.5	—	—	—	—	—	58.0	—
		1.0	—	—	—	—	—	124.5	—
		2.0	—	—	—	—	—	186.0	—
	ダウノマイシン	0.2	—	—	—	—	—	—	30.0
		0.5	—	—	—	—	—	—	66.0
		1.0	—	—	—	—	—	—	169.0
	溶媒対照(DMSO)		+	14.4	87.4	53.8	142.4	7.0	32.6
	アノキシストロピン	100	+	10.3	83.3	50.7	114.7	5.7	28.7
		200	+	13.0	72.3	48.3	143.3	6.3	30.0
500		+	12.0	73.0	48.3	122.3	6.0	28.0	
1000		+	11.0	82.7	45.7	137.0	6.3	31.3	
2500		+	11.3	71.3	51.7	137.3	6.0	31.0	
5000		+	14.3	71.7	40.0	150.3	4.3	24.0	
陽性 対照	2-AA	0.2	+	—	250.5	—	—	—	257.5
		0.5	+	—	434.0	—	—	—	479.5
		1.0	+	—	1217.5	—	473.0	—	1767.0
		2.0	+	245.0	—	—	1027.0	190.0	—
		5.0	+	—	—	75.5	1504.5	—	—
		10.0	+	—	—	93.0	—	—	—
		+	—	—	95.5	—	—	—	

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

— : 検査せず

C : 細菌汚染がみられたプレートを示す

②マウスリンパ種細胞(L5178Y)を用いた*in vitro*変異原性試験 (資料No. T-20)

試験機関： Central Toxicology Laboratory

Zeneca(英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1993年(CTL/P/3963)

検体の純度： %

試験方法：チミジンキナーゼ遺伝子座がヘテロ (TK+/-) のL5178Yマウスリンパ腫細胞を用い、代謝活性化 (S9-Mix添加) および非活性化によって変異原性の有無を検定した。突然変異の評価は、トリフルオコチミジン添加培養液中で増殖できるTK-/-遺伝子型の出現を指標として判定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して用いた。処理時間は4時間、発現時間は3日とした。

用量設定のために実施した細胞毒性試験の結果より、本試験の濃度は非活性化および活性化法において8~80µg/mLとした。各試験はマイクロプレートを用いて1濃度当たり2連制でそれぞれ3回実施した。

陽性対照物質としてエチルメタンサルホン酸 (EMS) およびN-ニトロソジメチルアミン (NDMA) を用いた。2回目の試験で、非活性化法において溶媒対照群の突然変異発生頻度が本試験系の許容範囲を越えていたため、これらのデータの評価を行わなかった。

試験結果：結果を表1に示した。

検体は、S9-Mix非存在下および存在下で同等の細胞毒性を示した。検体の最高濃度における細胞生存率は、第1回目試験で約30%、第2回および3回目の試験で約10%であった。いずれの試験においても用量相関性のある細胞毒性がみられた。

軽度であるが、統計学的に有意な突然変異頻度の増加がいくつかの試験濃度でみられた。また、評価した全ての試験で突然変異頻度に用量相関性がみられた。

変異体コロニーの大きさを検査することにより、本試験でみられた突然変異の発現頻度の増加は、主として小型のコロニー数の増加によるものであることが示された。本試験でみられた小型のコロニーの誘発は、総合的な染色体損傷 (Applegateら、1990) に関連していると考えられている。

本試験の陽性対照物質は、いずれの試験においても統計学的に有意な突然変異の頻度を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で変異原性を有すると判断される。

表1. マウスリンパ腫細胞を用いた変異原性試験成績

試 験					第1回		第2回		第3回		
薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9-Mix の有無	処理 時間 (時間)	発現 時間 (時間)	細胞 生存率 (%)	突然変異 誘発頻度 ($\times 10^{-4}$)	細胞 生存率 (%)	突然変異 誘発頻度 ($\times 10^{-4}$)	細胞 生存率 (%)	突然変異 誘発頻度 ($\times 10^{-4}$)	
対照 (DMSO)	10 $\mu\text{L/mL}$	—	4	72	100	1.8 NS	100	a	100	1.2	
ア ン キ ス ト ロ ビ ン	8	—	4	72	67	1.8 NS	—	—	—	—	
	15	—			78	4.5 **	—	—	—	—	—
	26	—			—	—	—	—	—	37	1.7 *
	30	—			65	2.1 NS	—	—	—	—	—
	33	—			—	—	—	—	—	30	1.4 NS
	34	—			—	—	55	a	—	—	—
	41	—			—	—	—	—	—	24	2.1 **
	45	—			—	—	68	a	—	—	—
	51	—			—	—	—	—	—	19	2.9 **
	60	—			30	3.9 **	58	a	—	—	—
	64	—			—	—	—	—	—	18	1.9 **
80	—	—	—	10	a	12	6.1 **	—			
EMS	750	—	4	72	45	14.8**	21	a	38	25.1**	
対照 (DMSO)	10 $\mu\text{L/mL}$	+	4	72	100	2.1	100	1.5	100	1.3	
ア ン キ ス ト ロ ビ ン	8	+	4	72	91	2.5 NS	—	—	—	—	
	15	+			82	3.7 **	—	—	—	—	—
	26	+			—	—	—	—	—	48	1.7 NS
	30	+			68	3.9 **	—	—	—	—	—
	33	+			—	—	—	—	—	38	1.7 NS
	34	+			—	—	47	1.7 NS	—	—	—
	41	+			—	—	—	—	—	29	4.9 **
	45	+			—	—	23	2.7 **	—	—	—
	51	+			—	—	—	—	—	22	2.5 **
	60	+			26	3.5 **	7	5.4 **	—	—	—
	64	+			—	—	—	—	—	21	2.4 **
80	+	—	—	—	—	b	—	3.6 **			
NDMA	600	+	4	72	68	23.6**	82	21.2**	26	26.2**	

傾向検定 * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

DMSO : ジメチルスルホキシド、 EMS : エチルメタンサルホン酸

NDMA : N-ニトロソジメチルアミン

a : 許容範囲を越える偶発性の変異頻度のため、データが無効と判定されたので表示せず。

b : 過度の細胞毒性 (生存率5%未満) のため、プレートのカウントせず。

— : 試験せず

(2) 染色体異常誘発性

①培養ヒトリンパ球を用いた*in vitro*染色体異常試験

(資料No. T-21)

試験機関： Central Toxicology Laboratory

ICI(英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1992年(CTL/P/3607)

検体の純度： %

試験方法： 健常な非喫煙者の男女各1名(ドナーAおよびB)から得られた末梢血リンパ球を用い、代謝活性化(S-9 Mix添加)および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。検体は、DMSOに溶解して用いた。

本試験の濃度は、代謝非活性化法においては1.0~50 μ g/mLの8用量、代謝活性化法においては25~200 μ g/mLの8用量とした。

検体処理群および溶媒対照群では、1濃度当り200個の分裂中期像を観察し、陽性対照群では1濃度当り100個の細胞を観察した。処理時間は72あるいは96時間とした。試験は2回行った。

結果： 本試験の結果を次頁の表1に示した。

最高濃度を処理した細胞で、溶媒対照と比較して平均有糸分裂指数の有意な減少がドナーA(非活性化法で68%、活性化法で64%)およびドナーB(非活性化法で78%、活性化法で71%)でみられた。

72時間後に非活性化法で、ドナーAでは20 μ g/mL、ドナーBでは5、20および50 μ g/mLの濃度の検体を処理した場合に、染色体異常を有する細胞の割合が、溶媒対照と比較して有意に増加した。96時間後には、統計学的に有意な異常を有する細胞の増加はみられなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシンCおよびシクロホスファミドは、染色体異常を有する細胞の割合を有意に増加させた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、培養ヒトリンパ球に対して染色体異常誘発性を有すると考えられる。

表 1. 細胞遺伝学的試験成績

供血者	薬 剤	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理 後時間	観 察 細胞数	S-9 Mix の有無	染色体異常を有する細胞数						異常を有する 細胞の割合(%)		有糸 分裂 指数
						ギ ャ ッ プ	切 断	断片 / 点状 断片	複 合 損 傷	分 体 交 換	そ の 他	全異常	ギャップ 以外の 異常	
1	溶媒対照 (DMSO)	—	72	200	—	7	0	0	0	0	0	3.5	0.0	7.3
	アゾキシスト ロビン	1		200		3	1	2	0	0	0	3.0	1.0	5.5
		10		200		6	0	4	0	0	0	5.0	2.0	3.3
		20		200		7	3	8	0	0	0	9.0	4.5**	2.3
	陽性対照 (マイトマイシンC)	0.2		100		9	6	37	0	3	3	58.0	43.0**	5.8
	溶媒対照 (DMSO)	—		200	+	3	0	0	0	0	0	1.5	0.0	4.5
	アゾキシスト ロビン	25		200		5	2	1	0	0	0	5.5	1.5	6.0
		100		200		6	1	4	0	0	0	5.5	2.5*	3.8
		200		200		14	16	12	0	0	1	21.5	11.5**	1.6
	陽性対照 (シクロホスファミド*)	50		100		5	6	16	0	0	4	31.0	20.0**	4.4
2	溶媒対照 (DMSO)	—	72	200	—	6	1	2	0	0	0	4.5	1.0	7.3
	アゾキシスト ロビン	5		200		13	5	4	0	0	0	11.0	4.5*	8.0
		20		200		12	3	14	0	0	0	14.5	8.0**	1.7
		50		200		6	6	6	0	0	0	9.0	6.0**	1.6
	陽性対照 (マイトマイシンC)	0.2		100		29	11	51	0	0	19	110.0	59.0**	5.1
	溶媒対照 (DMSO)	—		200	+	5	0	1	0	0	0	3.0	0.5	4.9
	アゾキシスト ロビン	25		200		9	3	2	0	0	0	7.0	2.5	4.2
		100		200		7	2	0	0	0	0	4.5	1.0	3.0
		200		200		10	11	2	0	1	1	12.5	6.5**	1.4
	陽性対照 (シクロホスファミド*)	50		100		16	13	3	0	3	3	38.0	18.0**	2.6
溶媒対照 (DMSO)	—	96	200	—	1	2	1	0	0	0	2.0	1.5	11.5	
アゾキシスト ロビン	20		200		3	1	1	0	0	0	2.5	1.0	19.6	
溶媒対照	—		200	+	4	0	1	0	0	0	2.5	0.5	13.8	
アゾキシスト ロビン	200		200		8	2	0	0	0	1	5.5	1.0	7.1	

溶媒対照および検体処理群では2培養の合計、陽性対照群では1培養の数値
Fisherの直接法、* : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

②小核試験

(資料No. T-22)

試験機関： Central Toxicology Laboratory

ICI(英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1992年(CTL/P/3647)

検体純度： %

試験動物： C57BL/6JfBL10/AlpK系マウス、9～12週齢、体重：雄15.4～25.2g、雌15.7～26.0g、
1群雌雄各5匹

試験期間：2日間

方法：1群雌雄各5匹のマウスの群にコーン油（溶媒対照）、シクロホスファミド（陽性対照、65mg/kg）あるいは5000mg/kgの検体を1回経口投与した。投与24および48時間後に頸椎脱臼により動物を屠殺した。各動物から大腿骨骨髓を採取し、スライド標本を作製した。スライドを乾燥して多染性メチレンブルーおよびエオジンで染色して観察した。各動物ごとに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。また、骨髓に対する細胞毒性を調べるために、各動物ごとに1000個の赤血球を観察し、多染性赤血球に対する正染赤血球の割合を算出した。
投与量の設定根拠として、

試験結果：結果を表1～表3に示した。

検体を投与した雌では、投与日に鎮静化、爪先立ち歩行、立毛、下痢および尿失禁などの投与に関連する中毒症状がみられたが、投与翌日には消失した。雄では投与48時間後に、多染性赤血球出現率に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な減少がみられ、検体あるいは検体の代謝物が骨髓細胞に毒性を誘発して細胞増殖抑制がみられたことが示された。

雌雄いずれにおいても、またいずれの標本採取時期においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加はみられなかった。陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加がみられた。

以上の結果より、検体は本試験条件下において染色体異常誘発性を有さないものと判断される。

表 1. 小核試験成績 (雄)

薬 剤	投与量 (mg/kg)	小核出現率 ¹⁾		多染性赤血球出現率 ²⁾	
		投与後24時間	投与後48時間	投与後24時間	投与後48時間
溶媒対照 (コーン油)	20mL/kg	1.0±1.22	2.4±1.14	39.6±2.85	42.6± 2.27
アゾキシストロビン	5000	2.0±1.22	2.4±1.34	40.1±4.43	34.7±7.17**
陽性対照 (シクロホスファミド)	65	12.6±3.78**	—	35.8±4.98	—

Student's t-test ** : p<0.01

値は全て各群雌雄5匹の平均値

¹⁾多染性赤血球1000個中の小核を有する赤血球数±標準偏差(SD)

²⁾赤血球1000個中の小核を有する多染性赤血球の割合(%)標準偏差(SD)

— : 検査せず

表 2. 小核試験成績 (雌)

薬 剤	投与量 (mg/kg)	小核出現率 ¹⁾		多染性赤血球出現率 ²⁾	
		投与後24時間	投与後48時間	投与後24時間	投与後48時間
溶媒対照 (コーン油)	20mL/kg	0.7±1.15#	1.8±1.50##	40.3±3.31	42.7±2.97
アゾキシストロビン	5000	1.4±1.14	1.4±1.14	41.7±4.40	39.3±5.21
陽性対照 (シクロホスファミド)	65	8.4±4.16**	—	36.1±4.11	—

Student's t-test ** : p<0.01

値は全て各群雌雄5匹の平均値

¹⁾多染性赤血球1000個中の小核を有する赤血球数±標準偏差(SD)

²⁾赤血球1000個中の小核を有する多染性赤血球の割合(%)標準偏差(SD)

: 3匹の平均値

: 4匹の平均値

— : 検査せず

(3) DNA損傷誘発性

①細菌を用いたDNA修復試験

(資料No. T-23)

試験機関： (財) 残留農薬研究所
[GLP対応]

報告書作成年： 1995年(IET 94-0131)

検体の純度： %

方 法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復能保持株 (H-17、rec+) および欠損株 (M-45、rec-) を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下でアゾキシストロピンのDNA損傷誘発性の有無を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。本試験の用量は検体の最高溶解濃度であり、H17株の生育を阻害しない2500 μ g/ディスクを上限として6用量とした。

試験結果： 結果を表1に示した。

検体はM45株に対し、S-9Mixの有無にかかわらず最高用量である2500 μ g/ディスクで1mmの生育阻止帯を誘起した。H17株に対しては、S-9Mix非存在下では最高用量である2500 μ g/ディスクで1mmの生育阻止帯を誘起したが、S-9Mix存在下では全く生育阻止帯を誘起しなかった。この用量における両株の生育阻止帯の差は0~1mmであった。一方、陰性対照のカナマイシンでは、両菌株の生育阻止帯の差は2mmであった。また、陽性対照のマイトマイシンCはS-9Mixの非存在下で、Trp-P-1は、S-9Mix存在下でH17株に比べ、M45株に著名な生育阻止帯を誘起し、その差はマイトマイシンCでは20~21mm、Trp-P-1では9~11mmであった。なお、溶媒対照では両菌株に生育阻止帯は全く認められなかった。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下でDNA損傷の誘発性を有しないものと判断される。

表1. 細菌を用いたDNA修復試験成績

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S-9Mix の有無	阻止帯の径* (mm)		差** (mm)
			M45	H17	
溶媒対照(DMSO)		—	0	0	0
			0	0	0
アゾキシストロビン	78	—	0	0	0
			0	0	0
	156	—	0	0	0
			0	0	0
	313	—	0	0	0
			0	0	0
	625	—	0	0	0
			0	0	0
	1250	—	0	0	0
			0	0	0
	2500	—	1	1	0
			1	1	0
カナマイシン	0.2	—	9	7	2
			9	7	2
マイトマイシンC	0.01	—	21	0	21
			21	1	20
溶媒対照(DMSO)		+	0	0	0
			0	0	0
アゾキシストロビン	78	+	0	0	0
			0	0	0
	156	+	0	0	0
			0	0	0
	313	+	0	0	0
			0	0	0
	625	+	0	0	0
			0	0	0
	1250	+	0	0	0
			0	0	0
	2500	+	1	0	1
			1	0	1
Trp-P-1	5	+	12	1	11
			10	1	9

* : 生育阻止帯円の直径からディスクの直径(8mm)を引いた値

** : M45株の阻止帯から17株の阻止帯を引いた値

②ラット肝細胞を用いた不定期DNA合成誘発試験

(資料No. T-24)

試験機関： Central Toxicology Laboratory

ICI(英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1992年 (CTL/P/3682)

検体の純度： %

供試動物： Alpk:APfSD系ラット、6～8週齢、体重155～228gの肝から2段階のコラゲナーゼ灌流法を用いて採取した単離肝細胞。

試験方法： 検体をコーン油に懸濁して1250および2000mg/kgの用量で1回経口投与した。

投与2あるいは16時間後に動物を屠殺して、コラゲナーゼ灌流法を用いて肝細胞を単離した。各用量/採取時期ごとに合計5匹の動物を用いて4回の試験を行った。各動物ごとに少なくとも3つの培養肝細胞を各動物から採取して $[^3\text{H}]$ -チミジンで4時間処理した。培養細胞を洗浄し、非標識チミジンを含む培養液中で一晩培養した。次いで細胞を洗浄して固定し、写真乳剤中でオートラジオグラフィを行った。

14日間の露光後、乳剤を現像して細胞を染色した。プレパレートを検査して核中の放射エネルギー[N]を細胞質中の放射エネルギー[C]と比較した。正味の核粒子数である[N-C]は不定期DNA合成の指標となる。各動物ごとに2枚のスライドおよび30の細胞を検査した。同時に処理を行った動物で、また独立した反復検定試験で正味の核粒子数が0以上であるような場合を陽性とした。

試験結果： 結果を表1に示した。

正味の核上粒子数あるいは修復中の細胞の割合(%)の測定結果から、検体はいずれの用量あるいは標本採取時においても不定期DNA合成を誘発しないことが示された。

一方、陽性対照として用いた2-アセチルアミノフルオレン (2-AAF)、1,2-ジメチルヒドラジンジヒドロクロリド (DMH) あるいはN-ニトロソジメチルアミン (NDMA) は予期された不定期DNA合成誘発を示した。

以上の結果より、本試験条件下で限界用量 (2000mg/kg) で試験した場合に、ラットの肝細胞に対し、不定期DNA合成を誘発しないと結論される。

表1. 不定期DNA合成誘発試験成績

標本 採取 時期	薬物	用量 (mg/kg)	動物数	平均核内 粒子数 (N)±SD	平均 細胞質内 粒子数 (C)±SD	実質核内 粒子数 (N-C)±SD	DNA 修復中の 細胞の 比率 ¹⁾	
2時間	溶媒対照 (コーン油)	—	2	5.5	10.2	-4.6	0	
	アゾキシストロビン	1250	5	4.5±0.6	7.9±0.9	-3.4±0.6	1	
		5000	5	5.3±0.9	9.9±1.3	-4.6±0.5	0	
	陽性 対照	NDMA	10	2	35.0	9.8	+25.2	77
		DMH・2HCl	1	2	15.9	8.6	7.3	60
16時間	溶媒対照 (コーン油)	—	2	4.9	7.3	-2.4	1	
	アゾキシストロビン	1250	5	4.8±1.5	7.0±1.8	-2.2±0.4	0	
		5000	5	5.1±1.1	7.5±1.2	-2.4±0.5	0	
	陽性 対照	2-AAF	25	2	18.6	7.5	+11.1±0.7	78
		DMH・2HCl	20	1	17.9	7.7	+10.2	72

¹⁾実質核内粒子数が5以上の細胞の割合(%)

SD : 標準偏差

NDMA : N-ニトロソジメチルアミン

DMH.2HCl : 1,2-ジメチルヒドラジンジヒドロクロリド

2-AAF : 2-アセチルアミノフルオレン

10) 生体の機能に及ぼす影響

アゾキシストロビンにおける薬理試験

(資料No. T-25)

試験機関：(株)イナリサーチ

報告書作成年：1995年 (IC94152)

検体の純度： %

1) マウスの中樞神経系に対する作用

①マウスにおける一般症状

供試動物：Cj:CD-1(ICR)系マウス、6~7週齢、体重雄28.0~34.1g、1群雄9匹

方法：検体にコーン油に懸濁して、500、1500および5000mg/kgの用量を1回経口投与した。投与前、投与後30、60、120、180および300分および24時間目にIrwinの多次元観察法に準じて動物の一般状態を観察した。

結果：5000mg/kg投与群で、投与60~120分後に9匹中7匹に反応性の軽度の低下、投与30~120分後に9匹全例に軟便がみられた。また、投与30~120分後に9匹中8匹に立毛がみられた。

1500mg/kg投与群で、投与60分後に9匹中2匹に反応性の軽度の低下、投与30~120分後に9匹全例に軟便がみられた。

500mg/kg投与群で、投与後30~60分に9匹中6匹に軟便がみられた。

なお、溶媒対照群では投与30分~60分後に9匹中6匹に軟便がみられた。

②マウスにおける睡眠延長作用

供試動物：Cj:CD-1(ICR)系マウス、6~7週齢、体重雄25.6~31.2g、1群雄10匹

方法：検体をコーン油に懸濁して、500、1500および5000mg/kgの用量を1回経口投与した。投与60分後にヘキソバルビタールを75mg/20mL/kgの用量で腹腔内に投与し、正向反射が消失してから回復するまでの時間を睡眠時間として測定した。

結果：結果を表1に示した。

表1. マウスにおける睡眠時間に及ぼす影響

薬剤	用量(mg/kg)	睡眠時間(分)
コーン油	-	17.6±11.3
アゾキシストロビン	500	20.7±11.1
	1500	16.0±9.9
	5000	16.1±9.8
クロルプロマジン	10	121.9±20.5**

数値は平均値±標準偏差
Student's t-test、**：p<0.01

検体はいずれの投与群においても、ヘキソバルビタールによる睡眠時間に影響を及ぼさなかった。

一方、陽性対照のクロルプロマジンは、溶媒対照群と比較して、ヘキソバルビタールの睡眠時間を有意(溶媒対照群の約6.9倍)に延長させた。

③マウスにおけるペンテトラゾール痙攣に及ぼす作用

供試動物：Cj:CD-1(ICR)系マウス、6~7週齢、体重雄26.8~32.0g、1群雄10匹

方 法：検体をコーン油に懸濁して、500、1500および5000mg/kgの用量で1回経口投与した。投与60分後に0.5%のペンテトラゾール添加生理食塩水を尾静脈より0.3mL/分の速度で持続注入した。注入開始から強直性伸展痙攣の発現および死亡までに要した時間を測定し、この時間からペンテトラゾールの注入量を算出した。

結 果：結果を表2に示した。

表2. ペンテトラゾール痙攣に及ぼす影響

薬 剤	用 量 (mg/kg)	ペンテトラゾールの用量(mg/kg)	
		強直性伸展痙攣	死 亡
コーン油		110.6±24.2	125.4±23.7
アゾキシストロピン	500	104.5±20.5	120.8±20.2
	1500	113.3±22.8	128.7±23.0
	5000	106.3±27.5	121.4±26.6
ピクロトキシン	5	53.9±27.5 **	67.8±28.0**

数値は平均±標準偏差
Student's t-test、** : p<0.01

検体はいずれの投与群においても、強直性伸展痙攣および死亡発現に要するペンテトラゾール量に、影響を及ぼさなかった。一方、陽性対照であるピクロトキシンは、強直性伸展痙攣および死亡発現に要するペンテトラゾール量を有意に減少させた。

④マウスにおける電撃痙攣に及ぼす作用

供試動物：Cj:CD-1(ICR)系マウス、6~7週齢、体重雄27.1~32.7g、1群雄10匹

方 法：検体をコーン油に懸濁して、500、1500および5000mg/kgの用量を1回経口投与した。投与60分後に動物に電気刺激を両眼より0.1秒間与え、強直性伸展痙攣および死亡の発現の有無を観察した。

結 果：結果を表3に示した。

表3. 電撃痙攣に及ぼす影響

薬 剤	用 量(mg/kg)	強直性伸展痙攣	死 亡
コーン油	—	2/10 ^{a)}	2/10 ^{b)}
アゾキシストロピン	500	4/10	2/10
	1500	4/10	2/10
	5000	3/10	2/10
ペンテトラゾール	50	10/10**	8/10*

a) : 痙攣がみられた動物数/供試動物数

b) : 死亡がみられた動物数/供試動物数

χ^2 -test * : p<0.05 ** : p<0.01

検体は、いずれの投与群においても、強直性伸展痙攣および死亡の発現に影響を及ぼされなかった。一方、陽性対照であるペンテトラゾールは、強直性伸展痙攣の発現数および死亡動物数を有意に増加させた。

⑤マウスにおける運動協調性および筋弛緩作用に及ぼす作用

供試動物：Crj:CD-1(ICR)系マウス、7週齢、体重雄27.9~32.0g、1群雄10匹

方法：検体をコーン油に懸濁して、500、1500および5000mg/kgの用量で1回経口投与した。投与後、マウスを1分間に14回転する直径3cmの回転棒（ロータロッド）上および一定角度に傾斜した傾斜板上に乗せ、回転棒に1分間以上、傾斜板上に10秒間以上留まることができるか否かを観察した。観察は、投与前、投与後30、60、120、180および300分に実施した。

結果：結果を表4および5に示した。

検体はいずれの投与群、いずれの試験においても、運動協調性および筋弛緩作用に影響を及ぼさなかった。一方、陽性対照であるジアゼパムの場合、ロータロッドテストにおいて投与後180分まで全例が、投与後300分までに2例が落下した。また、傾斜板テストにおいて投与後30~180分までにほぼ全例が落下した。

表4. マウスの運動協調性に及ぼす影響（ロータロッドテスト）

薬 剤	用量 (mg/kg)	投 与 後 の 時 間(分)					
		投与前	30	60	120	180	300
コーン油	—	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
アゾキシストロビン	500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	5000	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ジアゼパム	25	0/10	10/10**	10/10**	10/10**	10/10**	2/10

表中の数値は落下のみられた動物数/供試動物数

χ^2 -test * : p<0.05, ** : p<0.01

表5. マウスの運動協調性に及ぼす影響（傾斜板テスト）

薬 剤	用量 (mg/kg)	投 与 後 の 時 間(分)					
		投与前	30	60	120	180	300
コーン油	—	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
アゾキシストロビン	500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	5000	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
ジアゼパム	25	0/10	10/10**	10/10**	9/10**	8/10**	0/10

表中の数値は落下のみられた動物数/供試動物数

χ^2 -test * : p<0.05, ** : p<0.01

2) モルモットの自律神経系に対する作用

供試動物：Crj:Hartley系モルモット（6~8週齢、体重302~406g、雄10匹）から摘出した回腸条片標本。

方法：回腸条片標本をTyrode液を入れたマグナス槽内に懸垂させ、収縮を等張性に記録した。検体を 1×10^{-4} ~ 1×10^{-6} g/mLの濃度となるように投与し、投与5分後にアセチルコ

リン(ACh)あるいはヒスタミン(His)をいずれも $1 \times 10^{-9} \sim 3 \times 10^{-5} M$ の濃度で累積的に添加し、検体の直接作用および各アゴニストによる回腸の収縮に及ぼす影響について検討した。各アゴニストごとに5匹の異なる動物から採取した標本を用いた。

結 果：結果を表6および7に示した。

$1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4} g/mL$ の検体を投与したところ、回腸の収縮あるいは弛緩はみられず、検体による直接作用は認められなかった。しかし、検体の 1×10^{-5} および $1 \times 10^{-4} g/mL$ の適用により用量相関性のある収縮抑制がみられた。検体の $1 \times 10^{-5} g/mL$ の適用では、AChあるいはHisを $3 \times 10^{-8} \sim 3 \times 10^{-5} M$ 作用させた場合に、回腸の収縮が溶媒対照群のそれぞれ約23～50%あるいは約9～35%に有意に減少した。検体の $1 \times 10^{-4} g/mL$ の適用では、AChを $1 \times 10^{-7} \sim 3 \times 10^{-5} M$ 作用させた場合に、溶媒対照群の約1～18%に、またHisを $3 \times 10^{-7} \sim 3 \times 10^{-5} M$ 作用させた場合には溶媒対照群の約1～11%に、回腸収縮がそれぞれ有意に減少した。

3) イヌの呼吸・循環器系に及ぼす作用

供試動物：ビーグル犬、7～15か月齢、体重 雌7.30～9.70kg、投与群雌4匹、溶媒対照群雌4匹

方 法：動物をペントバルビタール麻酔下で背位に固定し、心電図、心拍数、血圧および血流量を測定した。心電図は第II誘導により、心拍数は心電図のR波を瞬時計数ユニットにより、血圧は右大腿カニューレに接続した血圧トランスデューサーにより、血流量は左大腿動脈カニューレに留置したプローブを介して電磁血流計により、呼吸は気管カニューレに装着した呼吸ピックアップによりそれぞれ測定し、ポリグラフに記録した。検体を30、100および300mg/kgの用量で30分間隔で投与群雌の腹腔内に投与し、最終投与の2時間後まで動物を観察した。溶媒対照群には、0.5% CMC-Na生理食塩水を投与した。

結 果：結果を表8に示した。

30mg/kg投与後では、溶媒対照群と比較して特記すべき変化はみられなかった。100mg/kgの投与5分後に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な呼吸数の増加がみられた。300mg/kg投与後には、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な心拍数の増加が30～60分にみられた。なお、300mg/kg投与後に、全身の軽度の痙攣が4匹中3匹に継続してみられた。

4) マウスの消化器系に対する作用

供試動物：Crj:CD-1(ICR)系マウス、7週齢、体重 雌26.4～32.2g、1群雌10匹

方 法：検体をコーン油に懸濁して、500、1500および5000mg/kgの用量を1回経口投与した。投与60分後にアラビアゴムに懸濁した炭素末溶液を0.2mL経口投与した。炭素末懸濁液投与30分後に動物を屠殺し、胃幽門部から回腸末端までの腸の長さに対する炭素末の移動率を求めた。

試験結果：結果を表9に示した。

いずれの投与群においても、溶媒対照群と比較して炭素末の移動率に統計学的に有意な差はみられなかった。一方、陽性対照のアトロピンは溶媒対照群と比較して、炭素末の移動率を有意に減少させた。

表9. 胃腸管内輸送能に及ぼす影響

薬 剤	用 量(mg/kg)	腸管の炭素末移動率(%)
コーン油	—	52.7±13.0
アゾキシストロピン	500	49.3±16.2
	1500	50.4±17.5
	5000	48.9±9.6
アトロピン	10	32.4±12.0**

数値は平均値±標準偏差
Student's t-test ** : p<0.01

5) ラットの骨格筋に及ぼす影響

供試動物：Crj:Wistar系ラット、6~8週齢、体重 雄346~455g、1群雄5匹

方 法：動物をウレタン麻酔下で背位に固定し、右側坐骨神経/腓腹筋標本を作成した。坐骨神経を剥離切断後、末梢側に電極を設置して電気刺激を行い、この刺激により誘発された腓腹筋の単収縮をピックアップを介して記録した。検体を300、1000および3000mg/kgの用量で30分間隔で腹腔内に投与し、最終投与の2時間後まで観察した。溶媒対照として0.5%CMC-Na生理食塩水溶液を投与した。

検体投与群および溶媒対照群の全例について、観察終了時にツボクラリン0.075mg/kgを静脈内に投与し、標本の反応確認を行った。

結 果：結果を表10に示した。

表10. 腓腹筋収縮に及ぼす影響

C M C 生理食塩水	用量(ml/kg)	2			2			6				
	時間(分) ^{a)}	0	15	30	0	15	30	0	15	30	60	120
	収縮率(%)	99.2±1.6 ^{b)}	99.0±5.1	100.5±0.8	100.5±0.8	100.7±2.4	100.0±4.6	100.1±0.6	99.3±2.7	101.7±4.6	100.1±5.5	103.9±6.1
検 体	用量(mg/kg)	300			1000			3000				
	時間(分) ^{a)}	0	15	30	0	15	30	0	15	30	60	120
	収縮率(%)	99.5±1.2 ^{b)}	103.0±3.0	104.4±3.1	100.0±0.5	102.3±1.9	102.4±3.6	100.6±0.8	102.9±2.1*	103.6±3.0	102.8±4.8	104.6±6.0

^{a)}投与後の時間(分)

^{b)}数値は平均値±標準偏差

Student's t-test * : p<0.05

いずれの投与群においても、溶媒対照群と比較して腓腹筋の収縮に差はみられなかった。

6) ラットの血液に対する作用

供試動物：Crj:Wistar系ラット、9～13週齢、体重 雄283～312g、1群雄7匹

方 法：検体をコーン油に懸濁して、500、1500および5000mg/kgの用量を1回経口投与した。投与60分後にエーテル麻酔下で後大静脈より血液を採取して遠心分離し、得られた血漿を用いてプロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結 果：結果を表11に示した。

いずれの投与群においても、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な変化はみられなかった。

表11. 血液凝固に及ぼす影響

薬 剤	用 量 (mg/kg)	凝固時間 (秒)	
		PT	APTT
コーン油	—	12.2±1.8	25.6±6.0
アゾキシストロビン	500	11.1±0.6	21.8±3.7
	1500	11.4±2.0	21.2±2.7
	5000	10.9±1.3	21.5±3.8

PT：プロトロンビン時間

APTT：活性化部分トロンボプラスチン時間

数値は平均値±標準偏差

以上の結果より、本剤は、無麻酔動物あるいは麻酔動物の生体機能に対して、高用量あるいは中用量(濃度)以上の処理量で、反応性の低下および立毛などの一般症状に対する作用、心拍数および呼吸数の増加などの呼吸・循環器系に対する作用、およびアセチルコリンおよびヒスタミンによる回腸収縮を抑制する作用を認めた。

表 6. アセチルコリンにより誘発された回腸の収縮に及ぼすアゾキシストロピンの影響

薬剤	濃度	収 縮 率 (%) a)									
		3×10^{-9} b)	1×10^{-8}	3×10^{-8}	1×10^{-7}	3×10^{-7}	1×10^{-6}	3×10^{-6}	1×10^{-5}	3×10^{-5}	
Tween 80	1×10^{-4} %	1.9±1.3 c)	12.1±6.5	31.2±14.5	61.9±8.9	80.4±3.6	88.5±5.5	94.0±3.4	98.4±3.5	98.4±3.5	
	1×10^{-3} %	2.3±2.1	7.9±8.8	21.7±9.6	50.4±6.7	71.7±6.9	86.0±4.6	94.6±3.8	94.6±3.8	98.6±4.4	
	1×10^{-2} %	0.2±0.4	0.9±0.8	2.5±2.0	14.8±9.7	35.3±10.2	50.6±9.4	63.2±9.5	63.2±9.5	71.2±12.1	
検 体	1×10^{-6} g/mL	4.0±2.6	11.7±7.2	36.8±13.9	64.8±6.5	81.8±7.1	91.7±5.1	95.3±2.6	95.3±2.6	99.0±3.3	
	1×10^{-5} g/mL	0.0±0.0	0.7±0.3	5.0±3.2**	16.2±5.9**	27.0±7.7**	39.9±9.7**	47.5±16.2**	47.5±16.2**	47.3±16.1**	
	1×10^{-4} g/mL	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.1±0.3*	0.9±1.0**	4.2±6.5**	7.3±8.4**	7.3±8.4**	13.1±7.1	

a) : 3×10^{-5} Mのアセチルコリンにより誘発された溶媒対照群に対する割合(%)

b) : アセチルコリンの濃度(M)

c) : 数値は平均値±標準偏差(n=5)

Student's t-test * : p<0.05、** : p<0.01

表 7. ヒスタミンにより誘発された回腸の収縮に及ぼすアゾキシストロピンの影響

薬剤	濃度	収 縮 率 (%) a)									
		3×10^{-9} b)	1×10^{-8}	3×10^{-8}	1×10^{-7}	3×10^{-7}	1×10^{-6}	3×10^{-6}	1×10^{-5}	3×10^{-5}	
Tween 80	1×10^{-4} %	0.0±0.0 c)	2.1±0.4	6.1±2.2	6.1±2.2	51.3±9.8	79.1±7.4	87.7±7.0	96.4±2.2	101.2±2.5	
	1×10^{-3} %	0.0±0.0	2.0±1.2	5.9±2.7	5.9±2.7	45.9±14.7	71.2±9.2	85.8±4.0	93.1±5.7	95.8±5.0	
	1×10^{-2} %	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	13.6±8.0	38.7±13.8	53.6±20.5	61.4±22.2	65.4±24.1	
検 体	1×10^{-6} g/mL	0.0±0.0	1.8±0.3	1.8±0.3	6.1±3.2	52.7±20.1	70.1±12.9	81.0±8.5	89.0±8.1	92.5±9.8	
	1×10^{-5} g/mL	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.6±0.9**	8.4±5.4**	19.2±13.3**	27.7±19.0**	32.4±22.0**	32.4±22.0**	
	1×10^{-4} g/mL	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.2±0.4*	0.8±0.8**	3.3±3.3**	5.5±5.0**	7.0±6.1**	

a) : 3×10^{-5} Mのヒスタミンにより誘発された溶媒対照群に対する割合(%)

b) : ヒスタミンの濃度(M)

c) : 数値は平均値±標準偏差(n=5)

Student's t-test * : p<0.05、** : p<0.01

表 8. 呼吸・循環器系に及ぼす影響

C	測定項目	投与前		5		15		30		投与前		5		15		30		投与前		5		15		30		60		120	
		5 ^{a)}	5 ^{b)}	151±20	153±22	177±21	175±21	119±13	119±13	121±13	121±13	140±15	140±16	44.8±20.8	40.1±19.9	41.8±9.3	38.8±21.6	38.8±21.6	29.1±12.4	29.1±13.8	29.1±13.8	11.3±7.0	11.3±7.0	11.3±6.9	11.3±6.9	22.8±21.8	20.0±18.7	16.3±19.5	16.3±19.5
M	心拍数(回/分)			151±20	153±22	177±21	175±21	119±13	119±13	121±13	121±13	140±15	140±16	44.8±20.8	40.1±19.9	41.8±9.3	38.8±21.6	38.8±21.6	29.1±12.4	29.1±13.8	29.1±13.8	11.3±7.0	11.3±7.0	11.3±6.9	11.3±6.9	22.8±21.8	20.0±18.7	16.3±19.5	16.3±19.5
C	生理食塩水	収縮期		177±21	175±21	119±13	119±13	121±13	121±13	140±15	140±16	44.8±20.8	40.1±19.9	41.8±9.3	38.8±21.6	38.8±21.6	29.1±12.4	29.1±13.8	29.1±13.8	11.3±7.0	11.3±7.0	11.3±6.9	11.3±6.9	11.3±6.9	11.3±6.9	22.8±21.8	20.0±18.7	16.3±19.5	16.3±19.5
		拡張期		177±21	175±21	119±13	119±13	121±13	121±13	140±15	140±16	44.8±20.8	40.1±19.9	41.8±9.3	38.8±21.6	38.8±21.6	29.1±12.4	29.1±13.8	29.1±13.8	11.3±7.0	11.3±7.0	11.3±6.9	11.3±6.9	11.3±6.9	11.3±6.9	22.8±21.8	20.0±18.7	16.3±19.5	16.3±19.5
		平均		177±21	175±21	119±13	119±13	121±13	121±13	140±15	140±16	44.8±20.8	40.1±19.9	41.8±9.3	38.8±21.6	38.8±21.6	29.1±12.4	29.1±13.8	29.1±13.8	11.3±7.0	11.3±7.0	11.3±6.9	11.3±6.9	11.3±6.9	11.3±6.9	22.8±21.8	20.0±18.7	16.3±19.5	16.3±19.5
検 体	用量(mg/kg)			30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	測定項目			5 ^{a)}	5 ^{a)}	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	
	心拍数(回/分)			144±29	145±26	181±11	181±11	179±15	179±15	116±13	116±13	119±6	119±6	142±11	142±11	142±11	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10
	収縮期			181±11	181±11	179±15	179±15	116±13	116±13	119±6	119±6	142±11	142±11	142±11	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10
	拡張期			181±11	181±11	179±15	179±15	116±13	116±13	119±6	119±6	142±11	142±11	142±11	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10
	平均			181±11	181±11	179±15	179±15	116±13	116±13	119±6	119±6	142±11	142±11	142±11	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10	143±10
血流量(mL/分)			46.6±11.2	51.8±10.1	10.0±5.6	10.0±5.6	9.3±4.7	9.3±4.7	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	
呼吸数(回/分)			10.0±5.6	10.0±5.6	9.6±5.1	9.6±5.1	9.3±4.7	9.3±4.7	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	9.0±3.6	

a) : 投与後の時間(分)

b) : 数値は平均値±標準偏差

Student's t-test * : p<0.05

「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 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
[中枢神経系] (マウス) 一般症状に及ぼす 影響	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂9匹	1500	500	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：反応性の軽度の低下 5000mg/kg：反応性の軽度の低下 および立毛
[中枢神経系] (マウス) ペキパルビタル麻酔 に及ぼす影響	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂10匹	なし	5000	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：影響なし 5000mg/kg：影響なし
[中枢神経系] (マウス) ペンテトラゲル痙攣に 及ぼす影響	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂10匹	なし	5000	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：影響なし 5000mg/kg：影響なし
[中枢神経系] (マウス) 電撃痙攣に及ぼす 影響	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂10匹	なし	5000	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：影響なし 5000mg/kg：影響なし
[中枢神経系] (マウス) 運動強調性に及ぼ す影響	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂10匹	なし	5000	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：影響なし 5000mg/kg：影響なし
[中枢神経系] (マウス) 筋弛緩に及ぼす 影響	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂10匹	なし	5000	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：影響なし 5000mg/kg：影響なし
[自律神経系] (モルモット) 摘出回腸に及ぼす 影響	<i>in vitro</i>	1×10^{-6} ～ 1×10^{-4} g/mL	♂5匹	1×10^{-5} g/mL	1×10^{-6} g/mL	直接作用なし 抗AChおよび抗His： 1×10^{-5} g/mL以上で抑制作用
[呼吸・循環器系] (イヌ) 呼吸・血圧・心拍 数・心電図・血流量 に及ぼす影響	腹腔内 (CMC-Na生理食塩水)	30 100 300 (複数回 投与) ^{a)}	♀4匹	100	30	30mg/kg：影響なし 100mg/kg：心拍数の増加傾向 300mg/kg：心拍数の増加、 呼吸数の増加傾向
[消化器系] (マウス) 胃腸管内輸送に 及ぼす影響	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂10匹	なし	5000	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：影響なし 5000mg/kg：影響なし
[骨格筋] (ラット) 坐骨神経-腓腹筋 標本	腹腔内 (コーン油)	300 1000 3000 (複数回 投与) ^{a)}	♂9匹	なし	3000	300mg/kg：影響なし 1000mg/kg：影響なし 3000mg/kg：影響なし
[血液] (ラット) 血液凝固	経口 (コーン油)	500 1500 5000	♂9匹	なし	5000	500mg/kg：影響なし 1500mg/kg：影響なし 5000mg/kg：影響なし

a)：各用量(300、1000および3000mg/kg)をそれぞれ一定間隔で単回投与

2. 原体混在物および代謝物の毒性

(1) 原体混在物()のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料No. T-26)

試験機関: Central Toxicology Laboratory
Zeneca(英国) [GLP対応]

報告書作成年: 1995年(CTL/P/4775)

検体の純度: %

試験動物: CD-1系マウス、雄5~9週齢、雌6~8週齢、体重: 雄30.2~39.2g、雌28.1~31.4g、1群
雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方法: 検体をコーン油に懸濁して2500mg/kgの用量を2時間間隔で2回経口投与した。
投与前5時間絶食させた。

試験項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。絶食開始前、投与直後および投与3、6、8
および15日目に体重を測定し、死亡動物(1匹)および試験終了時の全生存動物につ
いて組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000 (2500mg/kgを2回投与)
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 雌 > 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	投与1日目から発現 投与4日目に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

中毒症状としては、雌雄に関係なく下痢、立毛および尿失禁(死亡動物では、これら
の他に活動性の低下および脊椎の湾曲)などの軽度の全身性の毒性症状が観察された。
体重には投与に関連する変化はみられなかった。

死亡動物の剖検所見で心および肺に乳白色/黄色に付着物がみられ、これらは誤投与に
よるものと判断した。生存した動物の剖検所見では、主要な組織器官には特記すべき
変化はみられなかった。

(2) 代謝物 () のラットにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-28)

試験機関：RCC (スイス国)

報告書作成年：2005年〔GLP対応〕

検体の純度： %

試験動物：Wistar系ラット (HanRcc:WIST)、雌3匹

開始時の週齢および体重；11～13週齢、196～205g

観察期間：14日間観察

試験方法：検体をコーン油に溶解し、約18～19時間絶食させた動物に単回強制経口投与した。
毒性ガイドライン「上げ下げ法」に従って、まず1例に5000mg/kgを投与して観察を行い、死亡がみられなかったため5000mg/kgの用量を順じ2例に投与した。投与液量は20mLとした。

試験項目：一般状態の観察は、投与後0.5、1、2、および5時間後、その後観察期間終了日までは1日1回観察した。生死の観察は、投与後0.5、1、2、および5時間後、その後観察期間終了日までは1日2回観察した。

体重は、投与直前、投与7および14日後に測定した。

肉眼的病理検査は、観察期間終了後に全動物について実施した。

結果：

投与方法	経口
性別	雌
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時期 および消失時期	発現時間：投与後30分 消失時間：投与後6日目
死亡が認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

死亡例はなかった。一般状態の変化として、3例で立毛（投与後30分から）およびうずくまり姿勢（投与後2～5時間）、1例で鎮静（投与後2～3時間）が観察され、投与後6日までに全て消失した。

体重変化および肉眼的病理検査には異常所見は認められなかった。

(3) 原体混在物 () の細菌を用いた復帰変異試験 (資料No. T-27)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca(英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1995年(CTL/P/4711)

検体純度： %

投与方法 ヒステジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535およびTA1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2PおよびWP2P *uvrA*株)を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の非存在下および存在下でMaronおよびAmesらの方法を用いて復帰変異の有無を検定した。

検体はDMSOに溶解し、5000 μ g/プレートを最高用量として第1回目の試験を実施した結果、試験菌株に対して抗菌活性が認められなかったのでこの5000 μ g/プレートがこの試験の最高用量とした。試験濃度は100~5000 μ g/プレートの範囲で6用量とした。試験は3連制とし、2回行った。

試験結果：結果を表1および表2に示した。

2回の試験において検体は、S-9Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない用量 (5000 μ g/プレート) においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたアジ化ナトリウム、マイトマイシンC、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG)、アクリジン変異原ICR191、ダウノマイシン・HCl、2-アミノアントラセン (2-AA) では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

表1. 1回目試験

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型				フレームシフト型		
			TA1535	TA100	WP2P	WP2P	TA1537	TA98	
溶媒対照(DMSO)			10.8	46.0	46.0	152.4	4.2	20.4	
	100	—	10.7	82.3	43.7	154.3	4.3	17.7	
	200	—	12.0	77.0	39.0	136.3	4.7	17.7	
	500	—	11.0	82.3	34.7	140.3	5.3	20.7	
	1000	—	15.7	76.7	37.3	144.3	3.7	19.0	
	2500	—	11.7	74.7	41.7	122.3	2.7	19.3	
	5000	—	12.0	64.3	31.3	135.7	2.3	11.7	
陽 性 対 照	アジ化ナトリウム	0.5	—	183.5	379.0
		1.0	—	825.0	786.0
		2.0	—	1264.0	1280.0
	マイトマイシンC	0.2	—	.	.	116.5	.	.	.
		0.5	—	.	.	184.5	.	.	.
		1.0	—	.	.	220.5	.	.	.
	ENNG	0.2	—	.	.	.	278.0	.	.
		0.5	—	.	.	.	481.0	.	.
		1.0	—	.	.	.	946.5	.	.
	ICR191	0.5	—	13.0	.
		1.0	—	36.0	.
		2.0	—	98.5	.
ダウノマイシン	0.2	—	156.5	
	0.5	—	329.0	
	1.0	—	1107.0	
溶媒対照(DMSO)			17.0	93.4	51.0	166.4	6.4	23.0	
	100	+	17.7	90.7	52.0	156.7	6.3	21.3	
	200	+	15.0	92.0	54.0	139.3	4.3	24.0	
	500	+	17.3	98.7	52.7	163.7	8.7	24.0	
	1000	+	14.7	88.7	56.3	150.0	7.7	23.0	
	2500	+	16.3	90.0	55.7	140.3	9.3	19.7	
	5000	+	14.3	94.0	57.0	154.0	6.3	21.7	
陽 性 対 照	2-AA	0.2	+	.	156.0	.	.	.	134.5
		0.5	+	46.5	293.0	.	.	18.5	172.0
		1.0	+	140.5	519.0	.	330.5	63.0	337.5
		2.0	+	216.0	.	.	977.0	116.0	.
		5.0	+	.	.	104.5	1900.5	.	.
		10.0	+	.	.	158.5	.	.	.
		20.0	+	.	.	216.5	.	.	.

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

. : 検査せず

表2. 2回目試験

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート							
			塩基置換型				フレームシフト型			
			TA1535	TA100	WP2P	WP2P	TA1537	TA98		
溶媒対照(DMSO)			9.0	79.4	40.2	155.2	3.8	24.0		
			100	10.7	84.3	43.7	147.7	3.3	24.3	
			200	10.0	79.7	37.7	146.0	2.7	17.7	
			500	10.3	83.3	37.3	148.7	3.0	21.7	
			1000	10.3	83.7	41.3	145.7	4.7	22.7	
			2500	10.7	89.7	39.3	152.0	3.7	22.7	
			5000	11.0	75.3	39.3	137.0	2.7	16.3	
陽 性 対 照	アジヒナトリウム	0.5	—	175.0	256.5	
		1.0	—	724.0	918.0	
		2.0	—	1050.0	1567.0	
	マイトマイシンC	0.2	—	.	.	130.0	.	.	.	
		0.5	—	.	.	186.5	.	.	.	
		1.0	—	.	.	205.0	.	.	.	
	ENNG	0.2	—	.	.	.	356.5	.	.	
		0.5	—	.	.	.	904.0	.	.	
		1.0	—	.	.	.	1629.5	.	.	
	ICR191	0.5	—	23.5	.	
		1.0	—	74.0	.	
		2.0	—	141.5	.	
	ダウノマイシン	0.2	—	96.0	
		0.5	—	308.0	
		1.0	—	427.0	
溶媒対照(DMSO)			+	17.8	82.8	57.6	185.6	5.6	23.6	
			100	+	15.7	84.3	57.0	175.7	5.3	20.7
			200	+	15.0	85.3	53.0	170.7	3.7	23.5
			500	+	17.7	84.7	54.5	151.3	4.3	23.3
			1000	+	15.5	92.0	55.0	160.0	4.5	25.0
			2500	+	10.7	81.7	55.7	173.0	5.0	24.0
			5000	+	15.0	84.0	48.7	136.3	6.3	15.7
陽 性 対 照	2-AA	0.2	+	.	230.0	.	.	.	141.0	
		0.5	+	76.0	456.0	.	.	22.0	262.0	
		1.0	+	170.0	3757.0	.	500.0	131.0	2109.5	
		2.0	+	205.0	.	.	1069.5	167.0	.	
		5.0	+	.	.	85.0	1631.5	.	.	
		10.0	+	.	.	99.0	.	.	.	
		20.0	+	.	.	120.5	.	.	.	

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

. : 検査せず

(4) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異試験 (資料No. T-29)
試験機関 : Central Toxicology Laboratory
Syngenta(英国) [GLP対応]
報告書作成年 : 2005年(YV7083-REG)

検体純度 : %

投与方法 ヒステジンを要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535 および TA1537 株) およびトリプトファンを要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2P および WP2P *uvrA* 株) を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の非存在下および存在下で Maron および Ames らの方法を用いて復帰変異の有無を検定した。検体は DMSO に溶解し、

5000 μ g/プレート を本試験の最高用量とした。試験濃度は 100~5000 μ g/プレートの範囲で 6 用量とした。試験は 3 連制とし、2 回行った。

試験結果 : 結果を表 1 および表 2 に示した。

2 回の試験において検体は、S-9Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない用量 (5000 μ g/プレート) においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたアジ化ナトリウム (NaZ)、マイトマイシン C (MMC)、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG)、アクリジン変異原 ICR191 (ICR191)、ダウノマイシン塩酸塩 (DR)、2-アミノアントラセン (2-AA)、ベンゾ[a]ピレン (BP) では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

表1. 1回巨試験 (プレート法)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型				フレームシフト型		
			TA1535	TA100	WP2P	WP2PuvrA	TA1537	TA98	
溶媒対照(DMSO)	-	-	9.2	110.4	60.6	141.0	11.6	18.6	
	100	-	11.7	125.3	54.0	117.7	8.3	18.3	
	200	-	5.3	120.3	39.7	118.3	7.7	24.3	
	500	-	9.7	113.3	45.3	133.0	6.0	18.0	
	1000	-	9.3	109.3	41.7	135.0	7.3	16.7	
	2500	-	9.3	106.7	44.0	107.0	7.0	16.3	
	5000	-	8.0	100.3	41.3	107.7	6.0	14.3	
陽性対照	NaZ	2	-	929.3	776.7	-	-	-	-
	ICR191	2	-	-	-	-	-	161.7	-
	DR	1	-	-	-	-	-	-	292.0
	MMC	1	-	-	-	237.0	-	-	-
	ENNG	1	-	-	-	-	701.7	-	-
溶媒対照(DMSO)	-	+	9.0	115.4	45.4	141.6	7.4	30.0	
	100	+	9.7	124.0	42.7	125.7	8.7	25.0	
	200	+	9.0	129.0	43.7	117.7	8.3	28.7	
	500	+	13.7	118.7	39.7	130.7	7.7	28.3	
	1000	+	9.3	122.0	57.0	141.0	5.3	32.3	
	2500	+	6.0	136.7	41.7	158.7	5.7	32.0	
	5000	+	4.7	121.0	48.0	135.3	5.0	26.3	
陽性対照	2AA	1	+	-	427.3	-	-	-	408.0
		2	+	68.3	-	-	-	133.0	-
		20	+	-	-	146.0	-	-	-
	BP	5	+	-	-	-	895.3	-	-

MMC: マイトマイシンC

DR: ダウノマイシン塩酸塩

2-AA: 2-アミノアントラセン

BP: ベンゾ[a]ピレン

NaZ: アジ化ナトリウム

ICR191: アクリジン変異原ICR191

ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

-: 検査せず

表2. 2回目試験 (-S-9 Mix : プレート法、+S-9 Mix : プレインキュベーション法)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型				フシームシフト型		
			TA1535	TA100	WP2P	WP2P _{uvrA}	TA1537	TA98	
溶媒対照(DMSO)		-	-	10.0	106.0	41.0	129.2	9.4	23.8
		100	-	7.7	101.0	45.3	146.3	9.3	24.3
		200	-	4.0	84.7	41.0	118.0	9.3	19.3
		500	-	6.3	92.0	42.0	130.3	10.0	16.7
		1000	-	13.3	101.3	43.3	84.7	12.0	18.7
		2500	-	9.0	86.0	35.0	106.0	14.7	25.0
		5000	-	6.7	92.3	34.3	139.0	7.7	19.0
陽性対照	NaZ	2	-	618.3	689.7	-	-	-	-
	ICR191	2	-	-	-	-	-	319.0	-
	DR	1	-	-	-	-	-	-	592.3
	MMC	1	-	-	-	158.0	-	-	-
	ENNG	1	-	-	-	-	329.0	-	-
溶媒対照(DMSO)		-	+	8.4	117.0	94.6	227.2	19.4	32.6
		100	+	12.0	125.7	107.7	236.0	17.0	28.7
		200	+	12.3	136.0	122.0	218.7	16.0	33.0
		500	+	8.3	131.0	105.0	210.7	10.0	31.0
		1000	+	7.7	115.7	119.3	205.3	11.7	33.0
		2500	+	10.3	111.3	103.3	208.7	9.3	27.7
		5000	+	8.7	122.3	85.3	183.7	8.7	18.3
陽性対照	2AA	1	+	-	1470.0	-	-	-	1297.0
		2	+	270.7	-	-	-	361.3	-
		20	+	-	-	99.3	-	-	-
	BP	5	+	-	-	-	977.0	-	-

MMC : マイトマイシンC

DR : ダウンマイシン塩酸塩

2-AA : 2-アミノアントラセン

BP : ベンゾ[a]ピレン

NaZ : アジ化ナトリウム

ICR191 : アクリジン変異原ICR191

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン

- : 検査せず

3. 製剤

1. 製剤毒性

(1) 50%顆粒水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.F-1)

試験機関：Central Toxicology Laboratory

Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年：1994年 (CTL/P/4327)

検体：50%顆粒水和剤

[組成] アゾキシストロピン ; 50.0%

鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 50.0%

試験動物：Alpk:APfSD系ラット (Wistar由来)、若齢成獣、体重：雄 305～325g、
雌227～240g、雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を脱イオン水に溶解して1回経口投与した。動物は投与前24時間絶食させた。

試験項目：中毒症状および生死を投与2時間以内、投与4～7時間後、その後は毎日1回観察した(投与日を投与1日目とした)。投与1(投与直前)、3、6、8および15日目に体重を測定した。
試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	5000	
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000	
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	
症状発現時間および消失時間	投与開始日に発現 3日目に消失	投与開始日に発現 3日目に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	

死亡はみられなかった。また、有意な毒性症状はみられなかった。全動物で投与前の絶食による体重低下がみられたが、8日目までに投与時の体重を上回り、その後は試験終了時まで体重の増加がみられた。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化はみられなかった。

(2) 50%顆粒水和剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. F-2)

試験機関：Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年：1997年 (CTL/P/5551)

検体：50%顆粒水和剤

[組成] アゾキシストロビン ; 50.0%

鋳物質微粉、界面活性剤等 ; 50.0%

試験動物：SPF CD-1マウス、投与8~12週齢、体重：雄24.1~27.4g、

雌23.8~25.0g、雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を脱イオン水に調製して経口投与した。動物は投与前4時間絶食させた。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した(投与日を投与1日目とした)。投与前、投与1(投与時)、8および15日目に全動物の体重を測定した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡動物なし
症状発現時間および消失時間	投与2日目に発現 投与2日目に消失
無毒性量 (mg/kg)	>5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

死亡および中毒症状はみられなかった。全動物で投与1日目に絶食による体重低下がみられたが、雌1匹を除き、8日目までに投与時の体重を上回った。

雌1匹で8~15日目に軽度の体重低下がみられたが、15日間全体では体重が増加した。

剖検では、主要な組織器官に特記すべき変化はみられなかった。

(3) 50%顆粒水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.F-3)

試験機関：Central Toxicology Laboratory

Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年：1994年 (CTL/P/4326)

検体：50%顆粒水和剤

[組成] アゾキシストロピン ; 50.0%

鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 50.0%

試験動物：Alpk:APfSD系ラット (Wistar由来)、若齢成獣、体重：雄300から329g、雌218~233g、雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.2mlの脱イオン水でペースト状にし、剃毛した背腰部皮膚(10×5cm)に塗布し、四重のガーゼパッチ(約4×6cm)で覆い、閉塞性包帯を用いて24時間固定した。その後、清潔な微温湯に浸した脱脂綿で検体を清拭した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した(投与日を投与1日目とした)。投与直前、投与3、6、8および15日目に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	> 2000	
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	
症状発現時間および消失時間	投与2日目に発現 投与5日目に消失	投与2日目に発現 投与10日目に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

中毒症状はみられなかった。雌雄で軽度の皮膚刺激性(紅斑、浮腫、肥厚および皮膚新生)がみられた。大部分の動物で1~3日目に軽度の体重減少がみられたが、全動物で6~8日までに投与開始時の体重を上回った。剖検所見では主要な組織器官に特記すべき変化はみられなかった。

(4) 50%顆粒水和剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料No. F-4)

試験機関 : Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]
報告書作成年 : 1994年 (CTL/P/4370)

検 体 : 50%顆粒水和剤

[組成] アゾキシストロビン ; 50.0%
鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 50.0%

試験動物 : Alpk:APFSD系ラット (Wistar由来)、若齢成獣、体重 : 雄 333~358g、雌 242~255g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方 法 : 検体をWrightダスト発生装置および粒径選択型サイクロンを用いて霧雰気を発生させ、4時間鼻部を暴露させた。

設定濃度 ; 5.0mg/L

実際濃度 ; 4.67mg/L

暴露空気を捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件 ;

設定濃度 (mg/L)	5
実際濃度 (mg/L)	4.67
粒子径分布(%)	
≥ 9.8 (μm)	3.1
9.8~6.0	23.2
6.0~3.5	29.4
3.5~1.55	30.2
1.55~0.93	9.7
0.93~0.52	1.7
≤ 0.52	2.7
空気力学的質量中位径 (μm)	3.41
チャンバー容積 (L)	27.6
チャンバー内通気量 (L/分)	10
暴露条件	ダスト、4時間、鼻部暴露

試験項目 : 暴露期間中、暴露直後および暴露後14日間、中毒症状および生死を観察した。暴露前日、暴露前、暴露2、3、8および15日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行い、肺 (気管および咽頭を含む) の重量を測定した。

注 : 本試験成績はアゾキシストロビンの毒物および劇物評価用資料の一部として提出された (平成8年10月31日提出)。

試験結果：

投与方法	吸 入	
	雄	雌
性別		
実際暴露濃度 (mg/L)	4.67	
LC ₅₀ (mg/L)	>4.67	
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	1日目に開始 2日目に終了
症状発現および消失時間	1日目に発現 10日目に消失	1日目に発現 10日目に消失

1日目の暴露後に雌1例が死亡した。中毒症状としては、暴露期間中に雌雄で、検体投与に関連する流涎、呼吸深大、呼吸数減少、不規則呼吸、流涙および聴覚反応減少がみられた。暴露直後に雌雄で中等度の毒性および気管に対する刺激を示す症状、つまり活動性低下、眼瞼下垂、呼吸音異常、振せん、鼻汁分泌物、呼吸深大、呼吸数減少、流涎の兆候（雌のみ）、歩行異常および聴覚反応減少がみられた。

検体投与に関連する体重減少が全例で暴露2および3日目にみられたが、大多数の動物で暴露8日目までに暴露時のレベルまで体重が回復し、全動物で観察期間終了時までには体重が増加した。

肉眼的病理検査では、肺の絶対および相対重量のいずれにも変化はみられなかった。暴露1日目に死亡した雌1例の肺（左右）に暗黒色化がみられたが、他の動物では異常所見はみられなかった。

(S) 50%顆粒水和剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No.F-5)

試験機関：Central Toxicology Laboratory

Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年：1994年 (CTL/P/4335)

検 体：50%顆粒水和剤

[組成] アゾキシストロビン ; 50.0%

鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 50.0%

試験動物：New Zealand White種ウサギ、若齢成獣雌、体重：4042～4530g、非洗眼群雌6匹

試験期間：7日間観察

方 法：検体約100mgをウサギの左結膜嚢内に投与し、右眼は対照とした。

観察項目：投与直後にウサギの初期痛を評価した。また、投与1時間および投与1、2、3、4および7日後に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項 目		最高 評点	投 与 後 時 間					
			2時間後	1日後	2日後	3日後	4日後	7日後
非洗眼群 (6匹平均)	角 膜	80	3.3	8.3	2.5	0.0	0.0	0.0
	虹 彩	10	0.8	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	結 膜	20	10.7	8.7	5.3	3.0	1.7	0.0
	合 計	110	14.8	19.5	7.8	3.0	1.7	0.0

動物は、軽度の初期痛を示した。角膜への影響(軽度の混濁)が投与2日後までみられた。軽度の虹彩炎が投与1日後までみられた。中等度の発赤、軽度の結膜水腫および軽度から重度の分泌物等の結膜への影響が投与4日後までみられた。

以上の結果から、50%顆粒水和剤はウサギの眼粘膜に対して中等度の眼刺激性があるものと考えられた。

(6) 50%顆粒水和剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.F-6)

試験機関：Central Toxicology Laboratory

Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年：1994年 (CTL/P/4325)

検 体：50%顆粒水和剤

[組成] アゾキシストロビン ; 50.0%

鉱物質微粉、界面活性剤等 ; 50.0%

試験動物：New Zealand White種ウサギ、若齢成獣雌、体重：4225～5065g、1群雌6匹

試験期間：4日間観察

方 法：検体約500mgを、0.5mLの脱イオン水で湿らせ、剃毛した動物の腹側部の皮膚(2.5cm四方)に塗布した。塗布時間は4時間とし、塗布時間終了後に皮膚に残った検体を微温湯に浸した脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目：塗布時間終了約30～60分後および投与1(投与日)、2、3および4日目に塗布部位の刺激性変化(紅斑および浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。また、その他の皮膚刺激性の兆候についても観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点(平均値)は以下の表のとおりである。

項 目	最高 評点	投与後時間				
		30～60分後	1日目	2日目	3日目	4日目
紅 斑	4	1.0 (6/6)	1.0 (6/6)	0.8 (5/6)	0.3 (2/6)	0.0 (0/4)
浮 腫	4	0.8 (5/6)	1.0 (5/6)	0.7 (4/6)	0.3 (2/6)	0.0 (0/4)
合 計	8	1.8	2.0	1.5	0.6	0.0

カッコ内の数字は、刺激性のみられた動物数/試験動物数

全動物で、投与30～60分後に軽微な紅斑が、また5匹で極軽微な浮腫がみられたが、いずれも投与4日目までに回復した。他に刺激性の兆候はみられなかった。

以上の結果から、50%顆粒水和剤はウサギの皮膚に対して、軽微な刺激性があるものと考えられる。

(7) 50%顆粒水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料 No.F-7)

試験機関 : Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年 : 1994年 (CTL/P/4349)

検体 : 50%顆粒水和剤

[組成] アゾキシストロピン ; 50.0%
鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 50.0%

試験動物 : Dunkin Hartley系モルモット、若齢成獣雌、体重 : 検体投与群473~693g、
陽性対照群 393~517g、検体投与群雌30匹および陽性対照群雌30匹

試験期間 : 48時間

方法 : Buehler法を用いて皮膚感作性を評価した。陽性対照物質として2-メルカプトベンゾチアゾール(2MBT)を用いた。

投与量設定根拠 :

感作 ; 肩甲部皮膚 (5×5cm) を剃毛し、投与群には脱イオン水で75%に希釈した検体溶液 0.4mL を塗布したリント布 (2×2cm) を、陰性対照群には脱イオン水を塗布したリント布を、陽性対照群には2MBTの75%コーン油溶液を塗布したリント布をそれぞれ6時間閉塞貼付した。すべての群で初回感作の1および2週後に、再度同様の感作を合計3回行った。

惹起 ; 最終感作の2週間後に、動物の左右側腹部の皮膚 (15×5cm) を剃毛し、検体の75%希釈液投与群および陰性対照群では、左側には検体の75%希釈液0.1~0.2mLを、右側には脱イオン水で30%に希釈した検体0.1~0.2mLを塗布したリント布 (1×2cm) を6時間閉塞貼付した。陽性対照群では、右側に2MBTの1%、左側に2MBTの75%コーン油溶液を6時間閉塞貼付した。

観察項目 : 感作用リント布除去1日後および次回感作1日前に、刺激性変化の有無を観察した。また、惹起用リント布除去24および48時間後に紅斑性の反応を観察し、以下の4段階に採点した。

- 0 - 反応なし
- 1 - 軽度の散在性発赤
- 2 - 中等度の瀰漫性の発赤
- 3 - 強度の発赤および肥厚

試験結果 : 各観察時間における感作変化が認められた動物数を表1に示す。

投与群および陰性対照群では惹起後のすべての動物で皮膚反応はみられなかった。陽性対照群では、惹起後19匹中6匹に散在性の軽度の発赤がみられた。感作陽性率は32%であった。対照群ではいずれの動物でも紅斑はみられなかった。

以上の結果から、50%顆粒水和剤の皮膚感作性は陰性であると考えられる。

表1. 50%顆粒水和剤の皮膚感作性試験結果

群	感 作 惹 起		供試動物数	感 作 反 応 動 物 数												
				24時間					感 作 陽 性 率 *	48時間				感 作 陽 性 率 *		
				皮膚反応評点				合 計		皮膚反応評点					合 計	
				0	1	2	3			0	1	2	3			
検体	75%検体	75%検体	20	20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
		30%検体		20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
対照群	脱イソ水	75%検体	10	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0
		30%検体		10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0
陽性対照	2MBT 75%	2MBT 75%	19#	19	0	0	0	0	0	0	13	6	0	0	6	2
	コーン油	2MBT 75%	10	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0

2MBT : 2-メルカプトベンゾチアゾール

* : 感作陽性動物数/供試動物数×100(%)

: 1例が感作処置後に死亡した。

(8) 20%フロアブルのラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. F-8)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1995年 (CTL/P/4768)

検 体： 20%フロアブル

試験動物： Alpk:APfSD系ラット (Wistar由来)、若齢成獣、体重：雄232～251g、雌200～258g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方 法： 検体を脱イオン水で調製して経口投与した。動物は投与前に1夜絶食させた。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。投与前日、投与前、投与3、4、8および15日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	3000、4000、4500、 5000、6000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000	4300 (1547～7374)
死亡開始時間および終了時間	雄：死亡せず	1日目に開始 2日目に終了
症状発現時間および消失時間	1日目に発現 3日目に消失	1日目に発現 5日目に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	3000

中毒症状としては、雄に下痢、挙尾および円脊位がみられた。雌に、下痢、挙尾および円脊位、両側の陥凹および下垂がみられた。4500mg/kg投与群の雌1匹に4から8日の間に体重の減少がみられた。6000mg/kg投与群の雌1匹に4日目にわずかな体重の減少がみられた。

肉眼的病理検査で得られた所見は、検体投与に関連あるとは考えられなかった。

(9) 20%フロアブルのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. F-9)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1995年 (CTL/P/4733)

検 体：20%フロアブル

試験動物：SPF CD-1マウス、若齢成獣、体重：雄26.6～31.7g、雌24.5～26.5g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方 法：検体を脱イオン水で調整して経口投与した。動物は投与前3時間絶食させた。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。投与直前、投与3、6、8および15日目に全生存動物の体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 5000 雌
死亡開始時間および終了時間	投与1時間30分後に雌1例が死亡
症状発現時間および消失時間	投与日に発現 2日目に消失
無毒性量 (mg/kg)	5000

投与約1時間30分後に雌1例が死亡した。中毒症状としては、雌雄に関係なく立毛および下痢などの軽度の毒性症状がみられた。体重には影響はみられなかった。剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化はみられなかった。

(10) 20%フロアブルのラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. F-10)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1995年 (CTL/P/4735)

検 体： 20%フロアブル

試験動物： Alpk:APfSD系ラット (Wistar由来)、若齢成獣、体重：雄264～292g、雌205～232g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方 法： 検体2mL/kgを剃毛した背腰部皮膚に塗布し、四重のガーゼパッチ (約7×7cm) で覆い、閉塞性包帯を用いて24時間固定し、その後、清潔な微温湯に浸した脱脂綿で検体を清拭した。

試験項目： 中毒症状および生死を、14日間観察した。投与前、投与3、6、8および15日目に体重を測定した。死亡動物およ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った。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 2000 雌
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	2日目から発現 3日目に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状としては、雌雄に関係なく投与1あるいは2日後に軽度の尿失禁および/あるいは下痢、紅涙および鼻孔周囲の汚れがみられた。これらは、包帯で固定する経皮毒性試験に共通する所見であり、毒性学的に有意ではないと考えられる。また、1匹の雄に軽度の紅斑がみられた。皮膚刺激性は全くみられなかった。雌1匹に体重の減少がみられた。

(11) 20%フロアブルのラットにおける急性吸入毒性試験 (4時間暴露)

(資料No.F-11)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences社
(英国) [GLP対応]

報告書作成年 : 1995年 (ZCA 026/972964)

検 体 : 20%フロアブル

試験動物 : SD系ラット、7~8週齢、体重 : 雄 253~272g、雌 202~228g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方 法 : 検体をダスト発生装置を用いて霧団気を発生させ、4時間鼻部暴露を行った。

設定濃度 ; >5.0mg/L

実際濃度 ; 2.42mg/L

暴露空気を捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件 ;

設定濃度 (mg/L)	>5.0
実際濃度 (mg/L)	2.42
粒子径分布 (%)	
≥ 9.8 (μm)	7.8
9.8~6.0	24.6
6.0~3.5	34.5
3.5~1.55	29.7
1.55~0.93	1.3
0.93~0.52	0.4
≤ 0.52	1.7
空気力学的質量中位径 (μm)	4.2
チャンバー容積 (L)	30
チャンバー内通気量 (L/分)	2
暴露条件	ダスト、4時間、鼻部暴露

試験項目 : 暴露期間中、暴露直後および暴露後14日間、中毒症状および生死を観察した。
体重を毎日測定した。試験終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を実施し、肺の重量を測定した。

注 : 本試験成績はアゾキシストロビンの毒物および劇物評価用資料の一部として提出した (平成8年10月31日提出)。

結 果：

投与方法	吸 入	
	雄	雌
性別		
実際暴露濃度 (mg/L)	2.42	
LC ₅₀ (mg/L)	>2.42	
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	
症状発現および消失時間	1日目に発現 1日目に消失	1日目に発現 3日目に消失
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	2.42	

死亡例はなかった。暴露期間中に全例で呼吸数増加がみられた。暴露直後に全例で呼吸深大、嗜眠および被毛の濡れがみられ、雄2例で呼吸音異常、雌1例で喘ぎ呼吸、雄4例と雌全例で粗毛がみられた。

体重変化に投与による影響はみられなかった。

また、肝重量に投与による影響はみられず、肉眼的病理検査でも検体投与に関連する異常所見はみられなかった。

(12) 20%フロアブルのラットにおける急性吸入毒性試験 (1時間暴露)

(資料NaF-12)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]
報告書作成年： 1997年 (CTL/P/5562)

検 体： 20%フロアブル

試験動物： Alpk:APfSD系ラット (Wistar由来)、若齢成獣 (8~12週齢)、
体重： 雄 313~325g、雌 211~225g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方 法： 検体をダスト発生装置を用いて雰囲気を発生させ、1時間鼻部暴露を行った。

設定濃度； >5.0mg/L

実際濃度； 8.27mg/L

暴露空気を捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件；

設定濃度 (mg/L)	>5.0
実際濃度 (mg/L)	8.27
粒子径分布(暴露30分後；%)	
≥ 9.8 (μm)	25.6
9.8~6.0	32.3
6.0~3.5	25.5
3.5~1.55	12.2
1.55~0.93	2.9
0.93~0.52	0.8
≤ 0.52	0.8
空気力学的質量中位径 (μm)	7.79
チャンバー容積 (L)	36.8
チャンバー内通気量 (L/分)	27
暴露条件	ダスト、1時間、鼻部暴露

試験項目： 暴露期間中、暴露直後および暴露後14日間、中毒症状および生死を観察した。
暴露前日、暴露前、暴露8および15日目に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

注：本試験成績はアゾキシストロピンの毒物および劇物評価用資料の一部として提出した (平成8年10月31日提出)。

結 果：

投与方法	吸 入	
	雄	雌
性別		
実際暴露濃度 (mg/L)	8.27	
LC ₅₀ (mg/L)	>8.27	
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	
症状発現および消失時間	1日目に発現 6日目に消失	1日目に発現 6日目に消失
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	8.27	

死亡例はなかった。暴露期間中に全例で聴覚反応低下、呼吸深大および呼吸数増加/減少がみられた。暴露直後に雌雄各1例で呼吸音異常がみられた。体重変化に投与による影響はみられなかった。肉眼的病理検査では検体投与に関連する異常所見はみられなかった。

(13) 20%フロアブルのウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No.F-13)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1995年 (CTL/P/4769)

検 体： 20%フロアブル

試験動物： New Zealand White種アルビノウサギ、若齢成獣、体重：1952～3782g、1群雌6匹

試験期間： 3日間観察

方 法： 検体0.1mLをウサギの左結膜嚢内に投与し、右眼は対照眼とした。

観察項目： 投与直後にウサギの初期痛を評価した。また、投与後1時間、投与1、2および3日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項 目		最高 評点	投与後時間				
			1時間後	1日後	2日後	3日後	
非洗眼群 (6匹平均)	角 膜	80	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹 彩	10	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発 赤	6	2.0	0.0	0.0	0.0
		浮 腫	8	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	6	2.0	0.0	0.0	0.0
	合 計		110	4.0	0.0	0.0	0.0

角膜および虹彩への刺激性変化はみられなかった。結膜の刺激性変化として、投与1時間後に軽度の発赤および僅かな分泌物がみられたが、これらの変化は投与1日後には消失した。ウサギは事実上無～軽度の初期痛を示した。

以上の結果から、アゾキシストロビン20%フロアブルはウサギの眼粘膜に対して軽微刺激性があるものと考えられる。

(14) 20%フロアブルのウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No.F-14)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]

報告書作成年： 1995年 (CTL/P/4770)

検体の純度：20%フロアブル

試験動物：New Zealand White種アルビノウサギ、若齢成獣、体重：2132～2746g、1群雌6匹

試験期間：3日間観察

方法：検体約0.5mLを剃毛した動物の腹側部の皮膚（2.5cm四方）に塗布した。塗布時間は4時間とし、塗布時間終了後に皮膚に残った検体は微温湯に浸した脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目：塗布終了約30～60分後、1、2および7日後に塗布部分の刺激性変化（紅斑および浮腫）の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。その他の皮膚刺激性の兆候についても観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点（平均値）は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投与後時間			
		30～60分後	1日後	2日後	3日後
紅斑	4	0.0 (0/6)	0.0 (0/6)	0.0 (0/6)	0.0 (0/6)
浮腫	4	0.0 (0/6)	0.0 (0/6)	0.0 (0/6)	0.0 (0/6)
合計	8	0.0	0.0	0.0	0.0

カッコ内の数字は、刺激性のみられた動物数/試験動物数

すべての動物に紅斑、浮腫およびその他の刺激性の兆候はみられなかった。

以上の結果から、アズキシストロピン20%フロアブルはウサギの皮膚に対して、刺激性はないものと考えられる。

(15) 20%フロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料No. F-15)

試験機関： Central Toxicology Laboratory
Zeneca (英国) [GLP対応]
報告書作成年： 1995年 (CTL/P/4755)

検体の純度：20%フロアブル

試験動物：CrI(HA)BR系モルモット、若齢成獣、体重：雄365～469g、雌342～480g、
投与群雌20匹、対照群雌10匹、陽性対照群雄30匹

試験期間：48時間

方法：Buehler法を用いて皮膚感作性を評価した。陽性対照物質として1-クロ-2,4-ジニトロベンゼン(DNCB)を用いた。

投与量設定根拠；

感作；肩甲部皮膚(5×5cm)を剃毛し、投与群には検体0.4mLを塗布したリント布を、陰性対照群に脱イオン水を塗布したリント布を、陽性対照群にはDNCBの3%コーン油溶液を塗布したリント布をそれぞれ6時間閉塞貼付した。すべての群で初回感作の1および2週後に、再度同様の感作を行った。

惹起；左右側腹部の皮膚(15×5cm)を剃毛し、投与群および陰性対照群では、左側には検体0.1～0.2mLを、右側には脱イオン水で30%に希釈した検体0.1～0.2mLを塗布したリント布(1×2cm)を6時間閉塞貼付した。陽性対照群では、右側にDNCBの1%コーン油溶液を6時間閉塞貼付した。

観察項目；感作用リント布除去1日後および次回感作1日前に、刺激性変化の有無を観察した。また、惹起用リント布除去24および48時間後に紅斑性の反応を観察し、以下の4段階に採点した。

- 0 - 反応なし
- 1 - 軽度の散在性発赤
- 2 - 中等度の瀰漫性の発赤
- 3 - 強度の発赤および肥厚

試験結果；各観察時間における感作変化が認められた動物数を次頁の表1に示す。

投与群および陰性対照群のすべての動物に、刺激性の反応および紅斑性の反応はみられず、陽性率は0%であった。

陽性対照群では、感作後すべての動物に紅斑、落屑、痂皮および皮膚の肥厚など軽微な皮膚刺激性の兆候がみられた。

また、すべての動物に軽度の散在性の発赤がみられた。紅斑はみられなかった。DNCBの陽性率は44% (DNCB 1%) および100% (DNCB 3%) であった。

以上の結果から、アゾキシストロピン20%フロアブルの皮膚感作性は陰性であると考えられる。

表1. アゾキシストロビン20%フロアブルの皮膚感作性試験結果

群			供試動物数	感作反応動物数												
				24時間					感作陽性率*	48時間					感作陽性率*	
				皮膚反応評点				合計		皮膚反応評点				合計		
				0	1	2	3			0	1	2	3			
検体	100%検体	100%検体	20	20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
		30%検体		20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
対照群	-	100%検体	10	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0
		30%検体		10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0
陽性対照	DNCB 3%	DNCB 1%	19#	9	7	0	0	7	44	9	7	0	0	7	44	
		DNCB 3%		0	13	4	0	21	100	0	12	5	0	22	100	
	コーン油	DNCB 1%	10	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0
		DNCB 3%		6	4	0	0	0	40	6	4	0	0	0	40	

DNCB : 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン

* : 感作陽性動物数/供試動物数×100(%)

: 供試した20匹のうち1例が死亡した。他の19匹のうち3例は包帯がはずれたため、惹起後に反応がみられなかった3例(DNCB 1%)あるいは2例(DNCB 3%)が判定から除外された。