

(12) 繁殖毒性および催奇形性

ラットを用いた繁殖毒性試験 (1) - 3 世代、2 産児で継代 -

毒性資料 No. 原体-29

試験機関：

報告書作成年：1983 年

検体の純度：90.4% (平均値；5 バッチ使用)

供試動物：Wistar ラット (BOR:WISW strain, SPF-Cpb)、5~6 週齢 (投与開始時平均
体重：雄 90g、雌 85g)、1 群雄 10 匹、雌 20 匹

投与期間：P 世代：投与開始から、交配まで少なくとも 100 日、交配/妊娠期間 (少なくとも 3 週間) および哺育期間 (4 週間)。2 回目交配前期間 (2 週間)、交配/妊娠および哺育期間 (同上)。

F1 世代：離乳後、交配まで少なくとも 100 日、交配/妊娠期間 (少なくとも 3 週間) および哺育期間 (4 週間)。2 回目交配前期間 (2 週間)、交配/妊娠および哺育期間 (同上)。

F2 世代：離乳後、交配まで少なくとも 100 日、交配/妊娠期間 (少なくとも 3 週間) および哺育期間 (4 週間)。2 回目交配前期間 (2 週間)、交配/妊娠および哺育期間 (同上)。

[投与開始 1980 年 11 月]

投与方法：検体を Wessalon S と混合して、50%プレミックスを作製し、このプレミックスに粉末飼料を加え、攪拌、混合し、0、50、150 および 450ppm の添加飼料を調製した。飼料調製は毎週行った。

交配・調整・選抜および観察・検査項目の概要を表 1 にまとめた。

交配：3 週間、雌 2 対雄 1 で同居させた。この間、各雌が異なる 3 匹の雄と同居できるようにした。3 日毎に交配雌の体重を測定し、交配後 35g 以上の体重増加を示した個体を妊娠動物とみなした。

調整および選抜：出生後、直ちに同腹児の数と重量を計測した。出生後 5 日に 1 腹当り 10 匹 (可能な限り雄 4 匹、雌 4 匹以上) に淘汰、調整した。

初産児 (F1a, F2a, F3a) については出生後 4 週間哺育し、その後屠殺した。2 産児 (F1b, F2b) については初産児と同様に出生後 4 週間哺育し、離乳後に雌雄に分けて飼育した。離乳後 4 週で次世代の親動物として 1 群雄 10 匹、雌 20 匹を選抜し、さらに 10 週間飼育後に交配を開始した。F2b の 2 産児 (F3b) については出生後 4 週間哺育し、その後屠殺した。なお、親動物は雄については 2 産児の出生段階で、雌については 2 産児の離乳後の段階で屠殺した。

表 1 交配・調整・選抜および観察・検査項目

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(100日)		毎日臨床観察、体重、摂餌量は週1回計測
P /F1a	交配(3週) および妊娠	雄1雌2で交配 (異なる3匹の雄と同居)	毎日臨床観察、体重計測(3日毎)
	出産		出産状況の観察。同腹児数および重量、外表観察
	哺育(4週)	哺育5日に同腹児数を10匹に調整	母動物、児動物の体重は週1回計測、児動物の外表観察
	離乳		離乳時にすべてのF1a児の屠殺
P	生育(2週)		臨床観察、体重は週1回計測
P /F1b	交配(3週) および妊娠	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	出産		P/F1a世代に準ずる、雄親(P)を屠殺
	哺育(4週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳	離乳後4週に雄10匹 雌20匹を選抜(F1b)	雌親(P)を屠殺
F1b	生育(離乳 後100日)		P世代に準ずる
F1b /F2a	交配(3週) および妊娠	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	出産		P/F1a世代に準ずる
	哺育(4週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳		離乳時にすべてのF2a児の屠殺
F1b	生育(2週)		P世代に準ずる
F1b /F2b	交配(3週) および妊娠	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	出産		P/F1a世代に準ずる、雄親(F1b)を屠殺
	哺育(4週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳	離乳後4週で雄10匹 雌20匹の選抜	雌親(F1b)を屠殺
F2b	生育(離乳 後100日)		P世代に準ずる
F2b /F3a	交配(3週) および妊娠	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる P/F1a世代に準ずる
	出産		P/F1a世代に準ずる
	哺育(4週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳		離乳時にすべてのF3a児の屠殺
F2b	生育(2週)		P世代に準ずる
F2b /F3b	交配(3週) 妊娠	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる P/F1a世代に準ずる
	出産		P/F1a世代に準ずる、雄親(F2b)を屠殺、剖検
	哺育(4週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳		雌親(F2b)を屠殺、剖検、F3b児の剖検、病理組織学検査(雌雄各10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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

死亡および一般状態：投与期間を通じて全動物の一般状態および生死を毎日観察した。

体重：すべてのP、F1 および F2 親を対象として週 1 回、交配期間は 3 日毎に測定した。また、F1、F2 および F3 児（同腹毎）の体重も週 1 回測定した。

摂餌量：すべてのP、F1 および F2 親を対象として初回の交配前まで毎週測定した。

検体摂取量：摂餌量と体重から算出した初回交配前の生育期間における検体摂取量を次表に示した。

検体摂取量 (mg/kg/日)

	P			F1b			F2b		
投与量 (ppm)	50	150	450	50	150	450	50	150	450
雄	3.80	11.4	34.7	3.95	13.6	37.6	3.74	11.8	39.6
雌	5.14	14.0	46.9	5.53	16.0	48.6	5.40	15.4	50.2

児動物検査：計 6 回の交配から得られた児動物について以下の項目を調べた。

同腹児数および同腹児重量

(出生時、出生 5 日の調整前および後、哺育 1、2、3 および 4 週時)

生存児数、死産児数および性比 (出生時)

外表異常 (出生時、哺育期間)

繁殖性に関する指標：交配、妊娠、分娩、哺育、および離乳時期の観察に基づき、次の指標を求めた。

受胎率 = (着床確認雌数 / 交配雌数) × 100

妊娠率 = (生存児分娩雌数 / 着床確認雌数) × 100

生存率 = (生後 5 日の生存児数 / 出生児数) × 100

哺育率 = (生後 28 日の生存児数 / 生後 5 日の生存児数) × 100

肉眼的病理検査：試験期間中に死亡した動物、すべての F2b 親動物 (離乳後 2 週) および一部の F3b 児 (離乳後各群 10 匹の母動物から出生した雄 1 匹雌 1 匹) について剖検を行った。また F2b 親の肝臓、腎臓、精巣および卵巣重量を測定した。

病理組織学的検査：F3b 児 (各群 10 匹の親から雄 1 匹雌 1 匹) を対象として、下記の組織について病理標本を作製した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、骨格筋、骨、骨髄、甲状腺、副腎、胸腺、卵

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

巢、精巢、子宮、胃、空腸、膵臓、膀胱、精巢上体、脾臓、リンパ節、眼
および肉眼的異常部位

すべての組織について鏡検を行った。なお、本検査は Experimental Pathology
Services AG (スイス) にて実施された。

結 果：概要を表 2～4 に示した。

1. 親動物 (P、F1b および F2b) に対する一般毒性

各世代において、雌雄共各投与群で検体投与による外徴や行動の変化は観察されなかった。また死亡率の明らかな増加も認められなかった。

体重は 450ppm 群の雌雄で明らかな影響がみられ、各世代で体重増加抑制を示した。また 150ppm 群でも F1b 世代の雄、F2b 世代の雌で統計学的有意な体重増加抑制がみられ、投与に関連した変動と考えられた。

摂餌量については P および F2b 世代で影響がみられなかったものの、F1b 世代において 150 および 450ppm 群の雄で対照群に比べて低い摂餌量を示した。F2b 世代の離乳後の親に対して行われた剖検においては特記すべき肉眼的異常所見は観察されなかった。また臓器重量測定の結果、統計学的有意な減少を観察したが、いずれも対照群に比べて低体重であることに起因している、または用量に依存した変動ではないとの理由から、検体投与による直接の影響ではないと判断した。

2. 繁殖成績 (P/F1a, P/F1b, F1b/F2a, F1b/F2b, F2b/F3a および F2b/F3b の計 6 回)

450ppm 群では 6 回のうち 1 回 (F1b の 2 回目) の受胎率に統計学的有意ではなかったものの、その低下傾向がみられた。しかし、次世代では全くそのような傾向がみられなかったことから投与に関連しない偶発的な結果と判断した。妊娠率には明らかな変動はみられなかった。

3. 児動物 (F1a、F1b、F2a、F2b、F3a および F3b) への影響

各世代共に出生時の同腹児数および体重、死産児数、性比については対照と各投与群との間に明らかな差は認められなかった。

出生時体重は明らかな影響がみられなかったが、哺育期間中の体重増加については 150ppm 以上の投与群で明らかな影響がみられ、検体投与による結果と考えられた。50ppm でも児動物の体重増加の抑制を窺わせる結果が散見されたが、明らかな用量依存がみられなかった、また同腹児数が対照群に比べ多く出生時体重で減少がみられたことから毒性影響とは捉えられなかった。

生存率 (出生後 5 日) および哺育率の統計学的有意な減少を 450ppm 群で 2 回以上の交配後に認め、投与の影響を否定できなかった。また 150ppm 群でも F3a 児の生存率 (出生後 5 日)、および F2b 児の哺育率が有意に減少し、検体投与の影響が窺われた。なお、50 及び 150ppm 群でみられた F3b 児の統計学的有意な生存率の減少については、F1b 児や F2b 児の対照群の生存率と変わ

りないことから検体投与に関連しない偶発的な変動と考えられた。
 児動物の出生から離乳までの期間における一般観察では、450ppm 群の F1b 児 3 例、150 および 450ppm 群の F2a 児各 1 例に痙攣を散見した。

児動物に対する外表検査で異常児は観察されず、F3b 児に対して行われた肉眼的病理検査および病理組織学的検査でも特記すべき所見は認められなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

投与群		雄	雌
親動物	450ppm	・体重増加抑制 ・摂餌量減少 (F1b のみ)	・体重増加抑制
	150ppm	・体重増加抑制 (F1b のみ) ・摂餌量減少 (F1b のみ)	・体重増加抑制 (F2b のみ)
	50ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	450ppm	・生存率(出生後 5 日)および哺育率の減少 ・体重増加抑制 ・痙攣を散見	
	150ppm	・生存率(出生後 5 日)および哺育率の減少 (各 1 交配のみ) ・体重増加抑制 ・痙攣を観察 (1 例のみ)	
	50ppm	毒性所見なし	

以上、シフルトリンのラットを用いた飼料混入投与による 3 世代繁殖試験 (2 産児で継代) において、親動物への毒性影響としては 450ppm で明らかな体重増加抑制を認め 150ppm でもその傾向がみられた。繁殖指標としての受胎率、妊娠率については 450ppm でも投与の影響はみられなかった。児動物への影響としては 150ppm 以上で生存率および哺育率の減少傾向、哺育期間中の体重増加抑制が観察され、また痙攣を一般観察で散見した。

従って、本試験において、親動物に対する無毒性量は P 世代で 150ppm (雄 11.4、雌 14.0mg/kg/日)、F1 世代で雄 50ppm (3.95mg/kg/日)、雌 150ppm (16.0mg/kg/日)、F2 世代で雄 150ppm (11.8mg/kg/日)、雌 50ppm (5.4mg/kg/日)であった。また、児動物における無毒性量はどの世代も 50ppm であった。

繁殖性については、最高用量の 450ppm でも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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表2 P世代～F1世代

世代/ 性	P/ 雄				P/ 雌			
投与量(ppm)	0	50	150	450	0	50	150	450
一般症状	特記すべき所見なし				特記すべき所見なし			
死亡率	0/10	0/10	1/10	0/10	0/20	1/20	1/20	0/20
体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]								
初回交配前				↓93				
初回交配後				↓93				
2回交配前				↓92				
2回交配後				↓92				↓93
摂餌量	対照群との間に差はみられず				対照群との間に差はみられず			
親 : 児	親P : 児 F1a				親P : 児 F1b			
投与量(ppm)	0	50	150	450	0	50	150	450
交配雌数	20	19	20	20	20	19	20	20
着床確認雌数	20	19	20	20	20	19	18	18
生存児分娩雌数	20	19	20	20	20	19	17	17
受胎率 (%)	100	100	100	100	100	100	90	90
妊娠率 (%)	100	100	100	100	100	100	94	94
生存児数	206	200	213	209	215	202	166	163
死産児数	0	3	2	1	0	0	1	6
性比 (雄%)	48	50	47	49	47	44	49	49
同腹児数(0日)	10.3	10.5	10.6	10.4	10.7	10.6	9.2	9.1
(5日)	10.3	10.5	10.0	10.1	9.8	10.4	9.0	8.3
生存率 (%)	100	100	↓94	↓97	91	↑98	↑98	91
哺育率 (%)	100	98	97	↓87	96	96	91	↓84
出生児体重(g)	5.9	5.9	5.5	↓5.5	5.6	5.9	5.8	5.6
児動物/症状	投与に関連した所見認めず							痙攣3例 認める
哺育児体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]								
7日後				↓77				↓85
14日後			↓90	↓74				↓82
21日後			↓87	↓72				↓82
28日後			↓89	↓74				↓85
外表異常	異常所見なし				異常所見なし			

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 Wilcoxon 順位和検定
(死亡率、受胎率、妊娠率については Fisher 直接確率計算法で申請者実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 1-1、P 親の体重

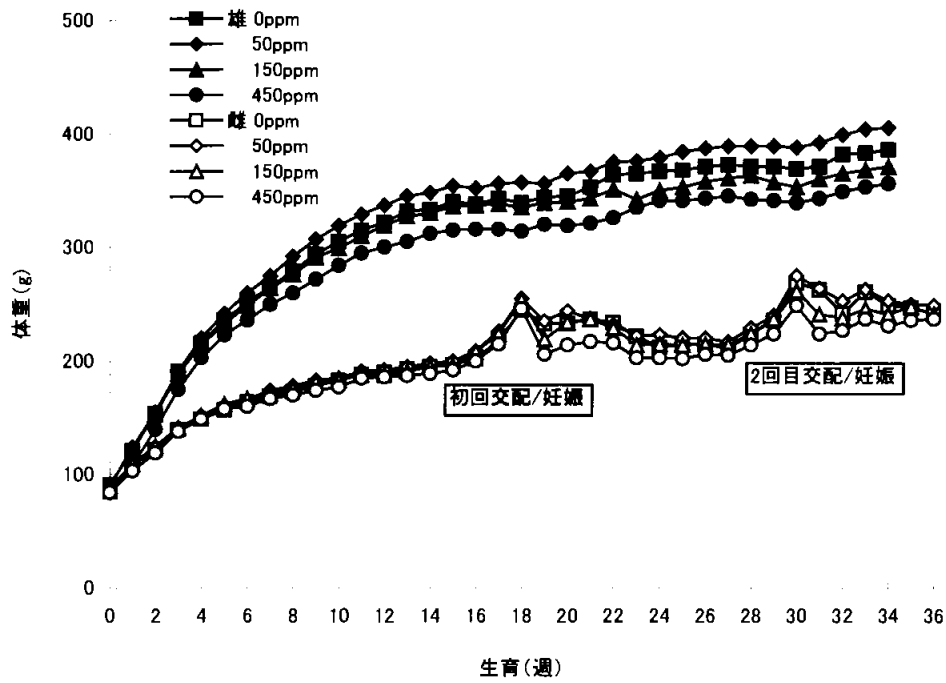


図 1-2. F1a 児の哺育期間中の体重

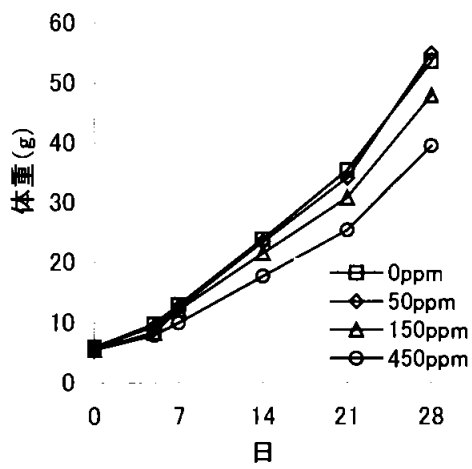


図 1-3. F1b 児の哺育期間中の体重

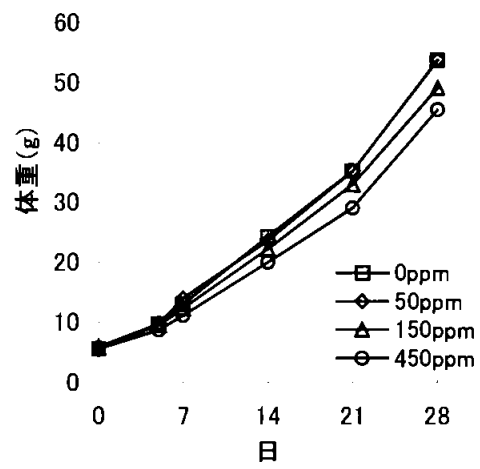


表3 F1b世代～F2世代

世代/ 性	F1b/ 雄				F1b/ 雌			
投与量(ppm)	0	50	150	450	0	50	150	450
一般症状	特記すべき所見なし				特記すべき所見なし			
死亡率	0/10	0/10	0/10	0/10	0/20	0/20	0/20	1/20
体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]								
初回交配前			↓77	↓78				↓91
初回交配後			↓78	↓80				↓91
2回交配前			↓79	↓80				↓88
2回交配後			↓80	↓81				↓88
摂餌量			14%減	19%減	対照群との間に差はみられず			
親 : 児	親 F1b : 児 F2a				親 F1b : 児 F2b			
投与量(ppm)	0	50	150	450	0	50	150	450
交配雌数	20	20	20	20	20	20	20	20
着床確認雌数	18	20	18	17	17	18	17	13
生存児分娩雌数	17	20	17	17	16	15	16	12
受胎率 (%)	90	100	90	85	85	90	85	65
妊娠率 (%)	94	100	94	100	94	83	94	92
生存児数	146	208	169	149	117	126	161	100
死産児数	6	2	1	2	2	4	4	2
性比 (雄%)	51	50	49	58	50	60	45	52
同腹児数(0日)	8.1	↑10.4	9.4	8.8	6.9	7.0	↑9.5	7.7
(5日)	8.0	↑10.0	8.8	8.1	6.1	6.6	7.9	6.8
生存率 (%)	99	96	94	↓92	88	94	83	88
哺育率 (%)	95	92	92	↓80	93	93	↓76	↓72
出生児体重(g)	6.1	↓5.6	5.9	↓5.5	5.9	5.9	5.5	5.6
児動物/症状			痙攣1例 認める	痙攣1例 認める	投与に関連した所見認めず			
哺育児体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]								
7日後		↓88	↓86	↓82			↓78	↓74
14日後		↓86	↓88	↓79			↓80	↓79
21日後		↓88		↓76			↓85	↓79
28日後				↓75			↓82	↓76
外表異常	異常所見なし				異常所見なし			

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 Wilcoxon 順位和検定
(死亡率、受胎率、妊娠率については Fisher 直接確率計算法で申請者実施)

図 2-1、F1b 親の体重

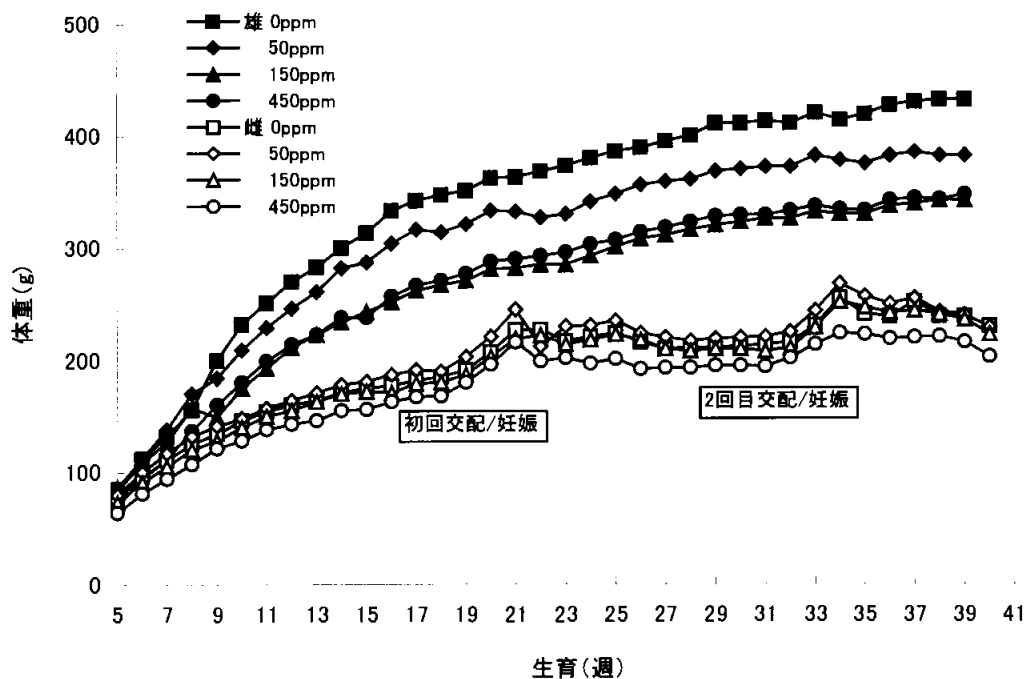


図 2-2. F2a 児の哺育期間中の体重

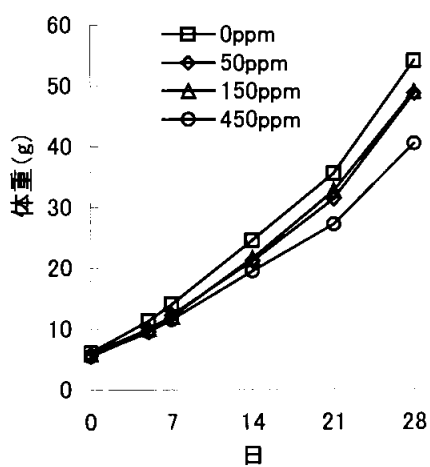


図 2-3. F2b 児の哺育期間中の体重

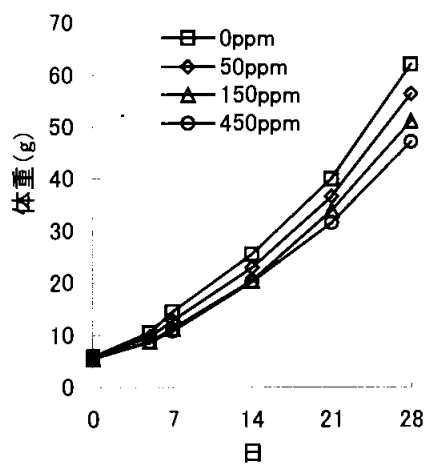


表4 F2b 世代～F3 世代

世代/ 性	F2b/ 雄				F2b/ 雌			
投与量(ppm)	0	50	150	450	0	50	150	450
一般症状	特記すべき所見なし				特記すべき所見なし			
死亡率	0/10	0/10	0/10	0/10	0/20	1/20	2/20	0/20
体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]								
初回交配前				↓85			↓94	↓88
初回交配後				↓84				↓92
2 回交配前				↓87			↓95	↓92
2 回交配後				↓86				↓93
摂餌量	対照群との間に差はみられず				対照群との間に差はみられず			
剖検	投与に関連した肉眼的異常認めず				投与に関連した肉眼的異常認めず			
臓器重量 [数値は対照に対する相対値 (%)]								
最終体重				↓88			(97)	↓91
肝臓実重量				↓86			↓90	↓91
対体重比							↓93	
腎臓実重量							↓93	↓92
対体重比							↓96	
親 : 児	親 F2b : 児 F3a				親 F2 : 児 F3b			
投与量(ppm)	0	50	150	450	0	50	150	450
交配雌数	20	20	20	20	20	20	20	20
着床確認雌数	19	20	19	19	19	19	18	19
生存児分娩雌数	19	20	19	19	19	19	16	19
受胎率 (%)	95	100	95	95	95	95	90	95
妊娠率 (%)	100	100	100	100	100	100	89	100
生存児数	179	204	183	153	191	183	146	159
死産児数	0	3	0	1	4	11	1	1
性比 (雄%)	53	52	48	46	54	55	45	54
同腹児数(0日)	9.4	10.2	9.6	8.1	10.1	9.6	8.1	8.4
(5日)	9.1	9.6	7.4	↓6.3	9.9	8.9	7.2	↓6.5
生存率 (%)	96	94	↓77	↓78	99	↓92	↓89	↓77
哺育率 (%)	94	94	90	92	98	95	98	↓92
出生児体重(g)	6.0	5.8	5.8	5.5	5.8	5.4	5.4	5.7
児動物/症状	投与に関連した所見認めず				投与に関連した所見認めず			
哺育児体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]								
7 日後			↓81	↓75			↓89	
14 日後		↓94	↓85	↓80			↓90	
21 日後			↓87	↓82			↓89	
28 日後			↓88	↓87			↓92	
外表異常	異常所見なし				異常所見なし			
剖検	投与に関連した肉眼的異常認めず				投与に関連した肉眼的異常認めず			
病理組織検査	投与に関連した異常所見認めず				投与に関連した異常所見認めず			

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 Wilcoxon 順位和検定
(死亡率、受胎率、妊娠率については Fisher 直接確率計算法で申請者実施)

図 3-1、F2b 親の体重、生育期間

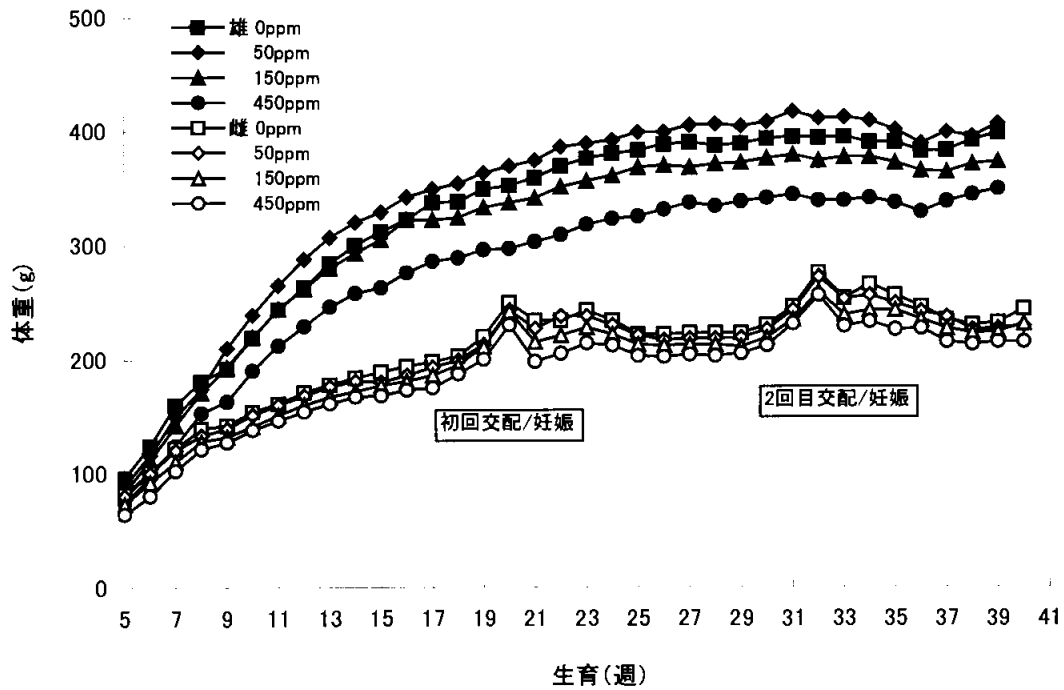


図 3-2. F3a 児の哺育期間中の体重

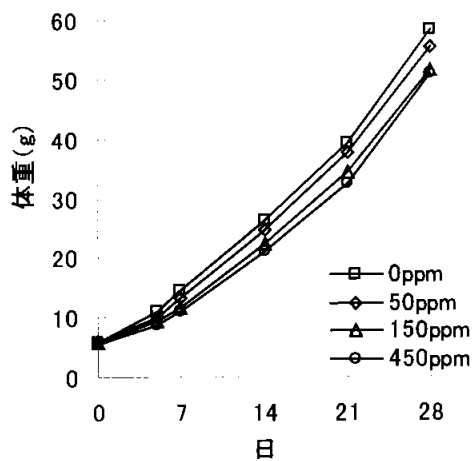
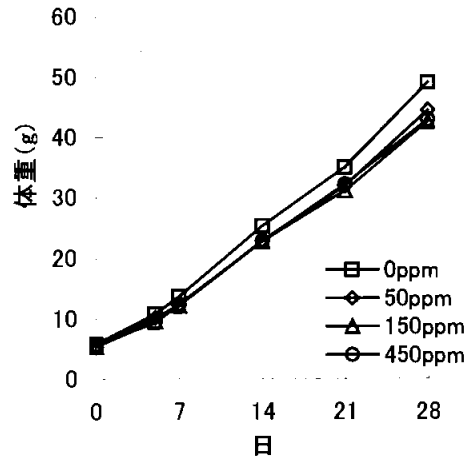


図 3-3. F3b 児の哺育期間中の体重



ラットを用いた繁殖毒性試験（２）－ ２世代、初産児で継代 －

毒性資料 No. 原体-30-1

試験機関：

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体の純度：95.4% (3回の分析平均)

供試動物：Sprague-Dawley ラット (CD; SD, SASCO)、7週齢 (投与開始時体重：雄 178～249g、雌 134～186g)、1群雌雄各 30匹

投与期間：P 世代：投与開始から、交配まで少なくとも 10 週、および妊娠および哺育期間。計少なくとも 16 週間。

F1 世代：離乳時から少なくとも 2 週、さらに交配まで 10 週、および妊娠および哺育期間。計少なくとも 18 週間。

[投与開始 1993 年 9 月、投与終了 1994 年 6 月]

投与方法：検体を 0、50、125 および 400ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：本試験に先立ち実施された用量設定試験では検体を 0、50、150、400 および 600ppm の濃度で飼料に混入し、雌雄各 10 匹のラットに交配 4 週間前から児動物の離乳まで摂取させた。その結果、母動物については後脚伸展が哺育期間中 400ppm 以上の群でみられ、また 150ppm 以上の群で児動物に哺育期間中の体重増加抑制および振せんがみられた。よって親動物に対する無毒性量は 150ppm、児動物に対する無毒性量は 50ppm と考えられた。以上より本試験における用量を 50、125 および 400ppm と設定した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

交配および妊娠の確認：雌の発情を膣スミアで確認し、雌雄を 1 対 1 で同居させ、膣栓または膣スミア中の精子により交尾を確認した。

妊娠の確認は分娩の有無または子宮内の着床痕の有無によって行った。

交尾が確認された日を妊娠 0 日とし、分娩が認められた日を哺育 0 日または生後 0 日とした。

調整および選抜：F1 児および F2 児の出生 4 日に 1 腹当り 8 匹 (可能な限り雄 4 匹、雌 4 匹) に淘汰、調整した。また、F1 児については哺育期間終了時に F1 世代の親動物として 1 腹当り 2 匹 (可能な限り雄 1 匹、雌 1 匹) を選抜した。

一般状態および死亡率：投与期間を通じ全動物の一般状態および生死を毎日観察した。

体重および摂餌量：すべての P および F1 親を対象として、雄について体重は毎週、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

摂餌量は交配期間を除き毎週測定した。雌について交配前は体重、摂餌量共に毎週、妊娠期間および哺乳期間の体重は妊娠 0, 6, 13 および 20 日、哺育 4, 7, 14, 21 日に、摂餌量については妊娠期間は毎週、哺育 1 週目は週 2 回、哺育 2 および 3 週は週 1 回測定した。

また、F1、F2 児の体重は生後 0, 4, 7, 14 および 21 日に測定した。

発情周期：P、F1 の各群 10 匹の雌について、交配前 3 週間にわたり発情周期を観察した

繁殖性に関する指標：交配、妊娠、分娩、哺育、および離乳時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

交尾率 = (交尾雌数 / 同居雌数) × 100

受胎率 = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率 = (生存児分娩雌数 / 着床確認雌数) × 100

交尾までの日数、妊娠期間、着床数 (1 腹当り)、出産児総数、出産児数 (1 腹当り)、生存児数 (1 腹当り)、死産児総数

出産率^s = (出産児数 / 着床数) × 100

生存児出産率^s = (生存児数 / 出産児数) × 100

4 日生存率^s = (生後 4 日淘汰前生存児数 / 生存児数) × 100

哺育率^s = (生後 21 日の生存児数 / 生後 4 日淘汰後の生存児数) × 100

^s: 各腹の平均

剖検および臓器重量：すべての P および F1 親について、雄は最後の交配後、雌は離乳後に屠殺し、肉眼的病理検査を行った。また精巣または卵巣重量を記録した。雌については着床を確認するために子宮を精査した。

また、出生後死亡あるいは出生 4 日目に調整のため間引きされた F1、F2 児、継代に選抜されなかった離乳後の F1 児およびすべての離乳後の F2 児について肉眼的病理検査を行った。

病理組織学的検査：すべての P および F1 親を対象として、下記の組織について病理標本作製し、すべての組織について鏡検を行った。

子宮頸部、精巣上体、卵巣、前立腺、精巣、精囊 / 凝固腺、子宮、膈、下垂体、脳、脊髄、坐骨神経、肉眼的異常部位

表 1、交配・調整・選抜および観察・検査項目

世代	期間（週間）	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 （10週）		雌雄の体重、摂餌量は週1回記録。交配前3週間、発情周期を検査
	交配 （21日以内）	雌雄1対1で交配 交配は膣栓または精子で確認	交配状況の観察 雄については最終の交配後、死後検査（剖検、精巣重量、病理組織学的検査）
	妊娠		母動物の体重は妊娠0、6、13および20日 摂餌量は毎日記録
	出産		出産状況の観察（同腹児数、出生児数、死産児数および性比）
P/F1	哺育 （21日）	哺育4日に各同腹児数を8匹に調整 （可能な場合は雌雄各4匹）	母動物の体重は哺育0、4、7、14および21日、摂餌量は週1回記録 児動物の体重は生後0、4、7、14および21日、摂餌量は週1回記録（哺育1週は2回）
	離乳	継代用に各群雌雄各30匹を無作為に選抜	すべてのP雌を屠殺し、肉眼的病理検査（着床数確認）、卵巣重量の測定および病理組織学的検査 残りのF1児を屠殺し、肉眼的病理検査
F1	生育（10週）		6～8週齢時から親動物として観察を開始（P世代に準ずる）
	交配（21日以内）	（P世代に準ずる）	（P世代に準ずる）
	妊娠		（P世代に準ずる）
	出産		（P世代に準ずる）
F1/F2	哺育（21日）	（P世代に準ずる）	（P世代に準ずる）
	離乳		（P世代に準ずる） 離乳後、F2児を屠殺し、肉眼的病理検査

結 果：概要を表 2～4 に示した。体重推移は図 1～3 に示した。

1. P および F1 親動物の一般毒性 (表 2)

両世代の雌雄共に、投与に起因した死亡は試験期間を通じてみられなかった。一般症状観察について雄では両世代共に特記すべき所見は認められなかった。雌では交配前生育期間および妊娠期間では症状は観察されなかったが、哺育期間において後肢伸展が 400ppm 群の P 世代で 30 例中 15 例、F1 世代で 30 例中 9 例に認められた。哺育期間では摂餌量が他の期間に比べて明らかに増加したことから、次表にみられるように検体摂取量も他の期間に比べて倍に増加したため、検体投与に起因した症状がみられたと考えられる。

体重の推移を図 1-1～6 と表 2 に示した。生育期間においては雄の P 世代、雌の両世代で検体投与の明らかな影響はみられなかった。しかし雄の F1 世代では 125ppm 以上で影響がみられ、対照群に比べ 125ppm 群で 5～8%減、400ppm 群では 6～8%減で推移し、統計学的に有意差を伴っていた。

妊娠期間では P 世代の雌 400ppm 群で妊娠 20 日に対照群の 7%減、また体重増加量も対照群に比べ統計学的に有意差を伴って低下した。それ以外の群では妊娠期間中の体重に投与に関連した変化はみられなかった。

哺育期間では P 世代および F1 世代の雌 400ppm 群で対照群に比べ統計学的に有意差を伴って低下しそれぞれ 7～14%減および 9～11%減であった。その他の群では投与に関連した変化はみられなかった。

生育期間中の摂餌量は両世代、雌雄共に投与の明らかな影響はみられなかった。また妊娠期間についても両世代共に影響はみられなかった。しかし哺育期間の摂餌量は両世代共に 400ppm 群で統計学的有意に減少し投与に関連したものの考えられた。

摂餌量と体重から算出した交配前期間、妊娠期間および哺育期間中の検体摂餌量を次表に示した。

検体摂取量 (mg/kg/日)

投与量 (ppm)		P 世代			F1 世代		
		50	125	400	50	125	400
雄	交配前期間	3.4	8.9	28.8	3.3	9.1	30.1
	交配前期間	3.9	9.9	33.2	3.8	10.6	33.7
雌	妊娠期間	3.5	9.3	31.9	3.9	10.2	33.7
	哺育期間	8.0	21.1	67.8	8.4	21.6	69.0

数値はいずれも各期間の平均検体摂取量 (申請者算出)

精巣および卵巣重量の測定では 400ppm 群で統計学的有意な変動が散見されたが、病理組織学的検査で特記すべき所見は認められず、いずれも低体重に

伴う二次的な変動と考えられ、毒性影響とは捉えられなかった。

肉眼的病理検査、病理組織学的検査においては、両世代共に検体投与に関連したと思われる特記すべき所見は認められなかった。

2. P および F1 親動物の繁殖成績 (表 3)

両世代共に交尾率、受胎率、妊娠率、発情回数、および交尾までの日数や妊娠期間に検体投与によると思われる変動はみられなかった。また出産率や生存児出産率についても影響はみられなかった。わずかに P 世代の 50ppm 群で発情周期の増加が統計学的有意に認められたが、用量に依存した変動はみられず投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

3. F1 および F2 児動物への影響 (表 4)

同腹児数と生存児数、死産児数および性比に検体投与に関連した変化はみられなかった。さらに出生 4 日後の生存率と哺育率 (21 日生存率) においても検体投与による影響はみられなかった。

哺育期間の一般症状観察では両世代共に 125ppm 以上の群で振せんを示す児動物を観察し、表 4 に示すように振せんを示す児動物を有する母動物数の増加が統計学的有意にみられた。振せんは、早くも哺育期間 5 日にはみられたが、哺育期間 18 日までに消失した。

児動物の体重推移を表 4 および図 2、3 に示した。

出生時体重については F1 児では明らかな差はみられなかったが F2 児の出生時体重は 50ppm* および 400ppm 群で統計学的に有意に低値であった。しかし、50ppm 群については 125ppm 群で統計学的有意ではなく用量との明らかな関連がみられないこと、および F1 児動物では同様の変化が 50ppm 群でみられていないことから偶発的な変化と考えられた。

哺育期間中の体重については、両世代共に生後 7~21 日に 125ppm 以上の群で用量に依存した低下がみられ、21 日目の 125ppm 群 F1 児をのぞき、統計学的有意に認められた。生後 4 および 7 日目には 50ppm 群 F2 児の体重にも有意な低下がみられたが、同様の低下が F1 児ではみられないこと、4 日目 (9.3g) については背景データの範囲 (9.2~11.3g) 内であり、7 日目 (14.7g) についても背景データの範囲 (14.8~17.8g) を極わずかに下廻っているにすぎないことから、この 50ppm 群 F2 児の低体重*については検体投与に関連した所見とは考えられなかった。

[申請者註: 本試験の追加試験 (毒性資料 No. 原体-30-2) を本試験と同条件で実施し、50ppm での F1 および F2 児に対する体重への影響を確認したところ、出生時および哺育期間中に全く影響がみられなかったことから、本試験でみられた 50ppm 群における F2 児の体重の統計学的に有意な低値は検体に起因したものではないとする判断を担保できるものであった。]

F1 児および F2 児の哺育期間後の剖検で検体投与の影響と考えられる肉眼的異常所見は観察されなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

投与群		雄	雌
親動物	400ppm	・ 体重増加抑制 (F1 のみ)	・ 後肢伸展 (哺育期) ・ 体重増加抑制 (妊娠/哺育期) ・ 摂餌量減少 (哺育期)
	125ppm	・ 体重増加抑制 (F1 のみ)	毒性所見なし
	50ppm	毒性所見なし	
児動物	400ppm	・ 出生時体重減少 (F2 のみ) ・ 体重増加抑制 ・ 振せん (一過性)	
	125ppm	・ 体重増加抑制 ・ 振せん (一過性)	
	50ppm	毒性所見なし	

以上、シフルトリンのラットを用いた飼料混入投与による 2 世代繁殖試験 (初産児で継代) において、親動物への毒性影響としては雄では 125ppm 以上で体重増加抑制 (F1 世代のみ)、雌では 400ppm で妊娠中に体重増加抑制、哺育期に後肢伸展症状、体重増加抑制および摂餌量の減少を認めた。繁殖指標としての受胎率、妊娠率、さらに妊娠期間等のパラメーターについては 400ppm でも投与の影響はみられなかった。児動物への影響としては 125ppm 以上で一過性の振せんを散見、また体重増加抑制が観察された。

本試験において、親動物に対する無毒性量は P 世代で雄 400ppm (28.8mg/kg/日)、雌 125ppm (9.3mg/kg/日、妊娠期間)、F1 世代で雄 50ppm (3.3mg/kg/日)、雌 125ppm (10.2mg/kg/日、妊娠期間)であった。また児動物における無毒性量はどの世代も 50ppm (P 世代; 雄 3.4mg/kg/day, 雌 3.9mg/kg/日, F1 世代; 雄 3.3mg/kg/day, 雌 3.8mg/kg/日)であった。

繁殖性に対する影響は認められなかった。

表2 母動物への影響

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2				検 定 方 法
投与量 (ppm)		0	50	125	400	0	50	125	400	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	①
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
死亡 (検体に起因したもの) [数値は死亡または切迫殺動物数]										①
	雄	0	0	0	0	0 ²⁾	0	0	0	
	雌	0	0	0 ¹⁾	0	0	0	0	0	
一般症状観察 (雌のみ・検体に起因した所見) [数値は発症動物数]										②
	後肢伸展	哺育期	0	0	0	↑15	0	0	0	
体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]										②
生育7週	雄	-				-		↓94	↓93	
	雌	-				-				
妊娠20日	雌	-			↓93	-			(94)	
哺育4日	雌	-			↓88	-			↓90	
	7日	雌	-		↓89	-			↓91	
	14日	雌	-		↓86	-			↓89	
	21日	雌	-		↓93	-			↓90	
体重増加量 [数値は対照に対する相対値 (%)]										
	妊娠0-20日	雌	-			↓87	-			
摂餌量 [数値は対照に対する相対値 (%)]										
	哺育0-4日	雌	-			↓78	-			↓78
	4-7日	雌	-			↓86	-			↓83
	7-14日	雌	-			↓83	-			↓79
	14-21日	雌	-				-			↓89
精巣 / 卵巣重量 [数値は対照に対する相対値 (%)]										
最終体重	雄	-				-		↓94	↓92	
	雌	-				(96)	-			↓92
実重量	雄	-				-				↓90
	雌	-				↓89	-			
肉眼的病理検査: 特記すべき所見を認めず。										①
病理組織学的検査										
所見/検査動物数		30	30	30	30	30	30	30	30	
前立腺: 炎症(リンパ球)		雄	22	25	19	↓11	22	19	19	22

検定方法: ①Fisherの直接確率計算法 ↓↑: p<0.05

②Dunnett検定 ↓↑: p<0.05、↓▲: p<0.01

1) 投与には関連しない死亡2例あり (1例は口蓋に潰瘍を生じ交配前に切迫殺、1例は呼吸性肺炎にて哺育期間中に死亡)

2) 投与には関連しない死亡1例あり (生育期間中に死亡)

(): 統計学的有意ではなかったが参考として記載

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3 繁殖成績

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				検 定 方 法
投与量 (ppm)		0	50	125	400	0	50	125	400	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
交配雌数		30	30	29	30	30	30	30	30	
受精雌数		30	30	29	30	30	30	30	30	
不妊雌数		0	2	3	1	5	3	3	4	
着床確認雌数		30	28	26	29	25	27	27	26	
生存児分娩雌数		30	27	26	29	25	27	27	25	
死亡雌数		0	0	1 ¹⁾	0	0	0	0	0	
全吸収胚雌数		0	1	0	0	0	0	0	1	
交尾率 (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	①
受胎率 (%)		100	93	90	97	83	90	90	87	
妊娠率 (%)		100	96	100	100	100	100	100	96	
発情回数		3.5	3.1	3.2	3.4	3.1	3.4	3.4	3.0	②
発情周期 (日)		4.2	↑ 5.1	4.5	4.3	5.5	4.5	4.6	4.8	
交尾までの日数		2	3	3	2	2	3	3	3	
妊娠期間 (日)		22.0	21.9	22.0	22.0	22.3	22.0	22.1	22.0	
着床数 (a)		13.2	12.8	13.0	12.3	12.8	13.8	13.1	11.5	
着床数 (b)		13.2	13.2	13.0	12.3	12.8	13.8	13.1	12.0	
出産率 ^{\$1} (%)		95.8	89.3	94.7	89.0	92.0	90.7	92.1	88.3	
生存児出産率 ^{\$2} (%)		99.2	99.1	99.1	97.5	99.6	99.4	98.5	99.1	

\$1: 出産率 = (出産児数/着床数) × 100

\$2: 生存児出産率 = (生存出産児数/出産児数) × 100、但し難産動物は含まず。

(a): 全吸収胚動物を含む、(b): 全吸収胚動物を含まず。

検定方法: ①Fisher の直接確率計算法

②Dunnett 検定 ↓↑ : p < 0.05

1) 肺炎にて哺育期間中に死亡

表 4 児動物への影響

世代	親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				検 定
	0	50	125	400	0	50	125	400	
投与量 (ppm)	0	50	125	400	0	50	125	400	
対象母動物数	30	27	26	29	25	27	27	25	
同腹児数	12.8	12.3	12.5	11.1	11.8	12.6	12.2	11.0	②
生存児数 (腹当り)	12.7	12.2	12.4	11.0	11.8	12.6	12.0	10.8	
出生児総数	383	333	325	322	296	341	330	274	
死産児総数	3	3	3	1	0	2	5	3	
出生時の性比 (雄%)	49.9	48.3	48.3	48.3	51.5	49.3	48.8	51.8	②
出生時体重 (g)	6.6	6.6	6.4	6.6	6.7	↓6.4	6.4	↓6.3	
4日体重 (調整後)	10.0	10.3	9.7	↓9.2	10.3	↓9.3	9.5	↓8.2	
7日体重	16.2	16.4	↓15.0	↓13.7	16.1	↓14.7	↓14.4	↓12.0	
14日体重	31.4	31.5	↓29.5	↓25.2	30.3	28.8	↓25.8	↓23.0	
21日体重	49.0	50.1	46.1	↓39.4	45.4	42.8	↓39.0	↓33.6	
4日生存率 (腹当り)	99.3	98.3	96.2	95.7	98.3	96.6	98.4	95.9	
哺育率 (腹当り)	98.8	99.1	100	97.8	100	95.4	93.5	99	
一般症状観察 [数値は症状を示した児動物を有する母動物数]									①
振せん (哺育期)	0	0	↑4	▲15	0	0	▲19	▲9	
肉眼的病理検査 : 特記すべき所見認めず。									

①Fisher の直接確率計算法 ↑ : p<0.05、▲ : p<0.01 (一般症状観察については申請者実施)

②Dunnett 検定 ↓ : p<0.05、▼ : p<0.01

図 1-1. P 親の体重、交配前期間

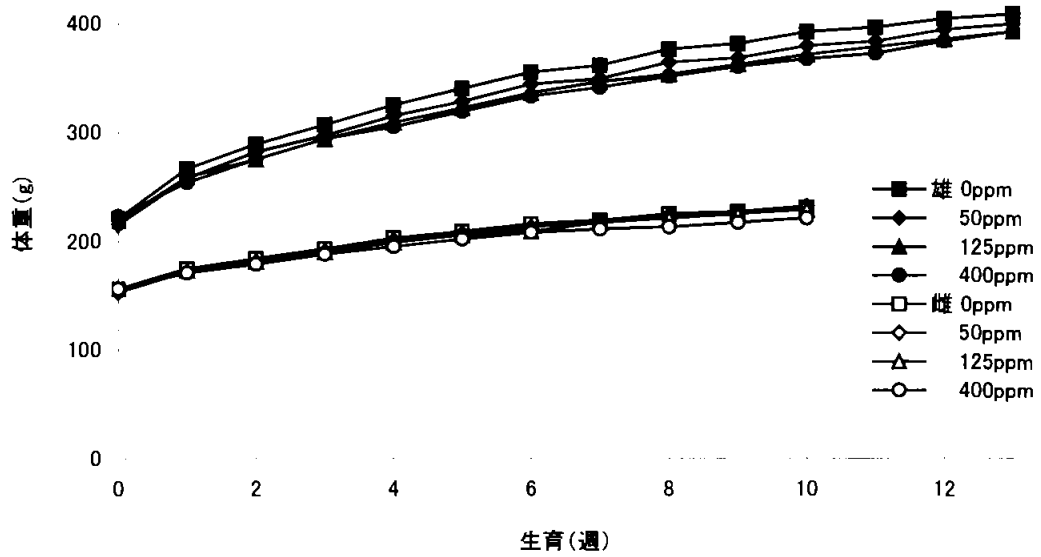


図 1-2. P 母動物の体重、妊娠期

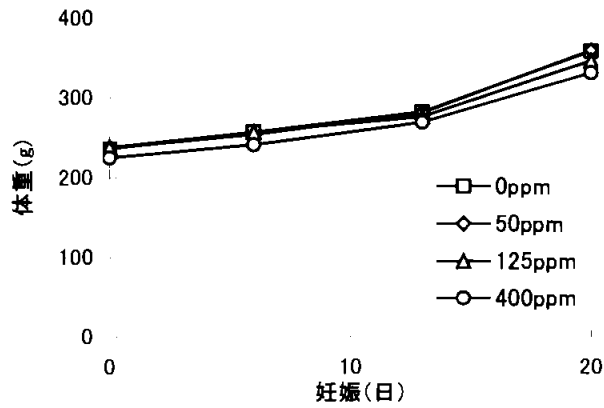


図 1-3. P 母動物の体重、哺育期

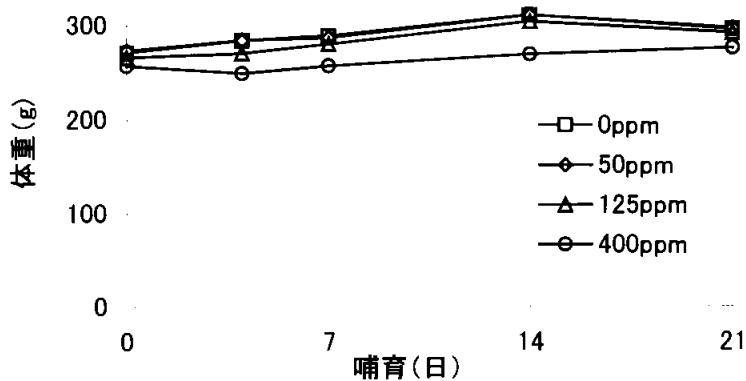


図 1-4. F1 親の体重、交配前期間

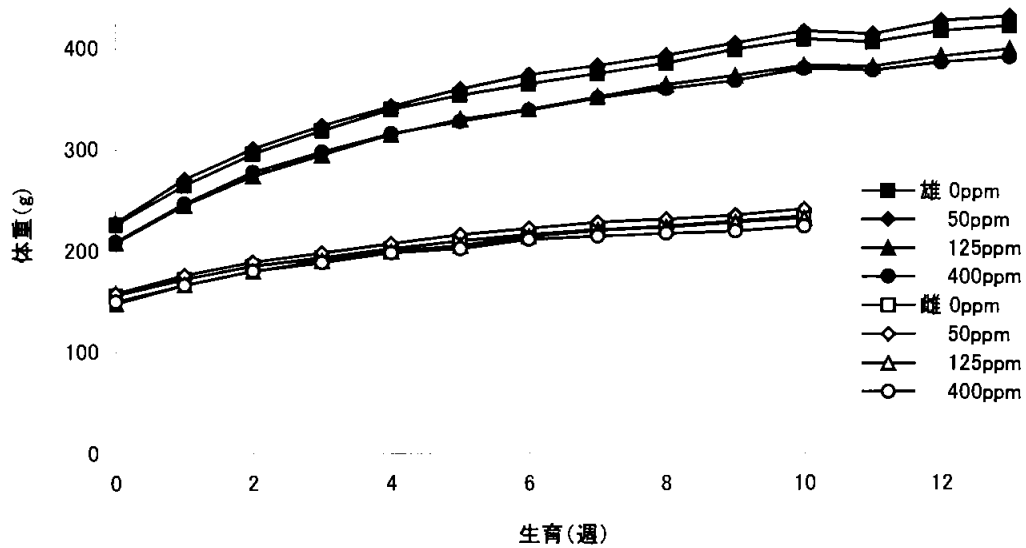


図 1-5. F1 母動物の体重、妊娠期

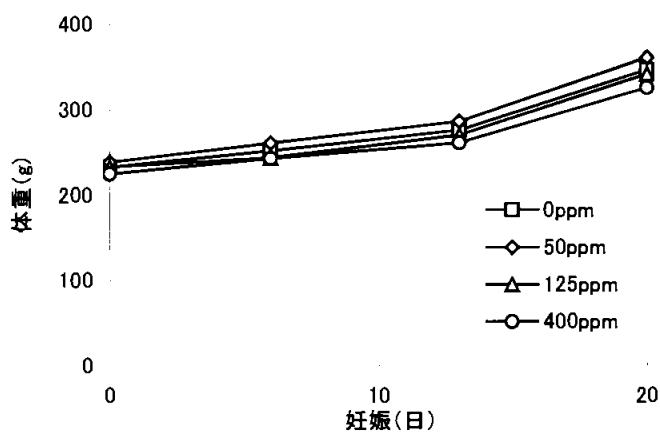


図 1-6. F1 母動物の体重、哺育期

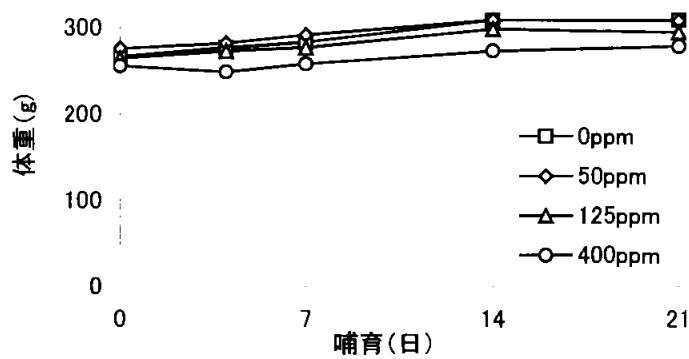


図 2-1. F1 児雄の体重

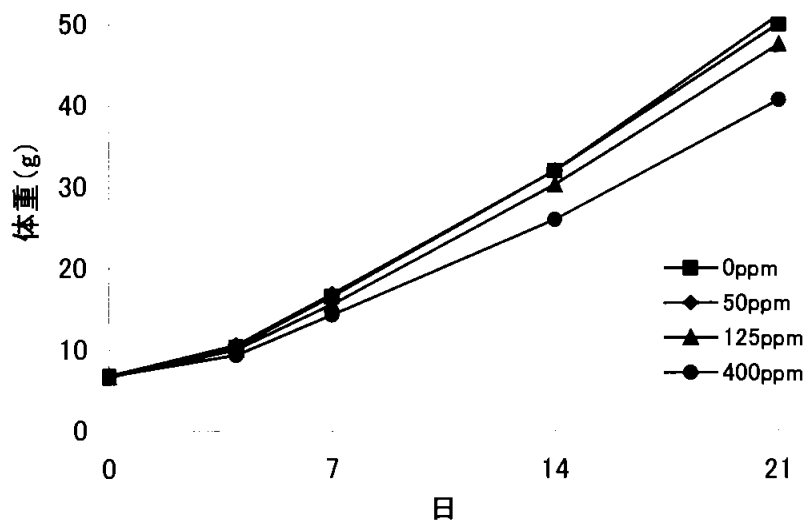


図 2-2. F1 児雌の体重

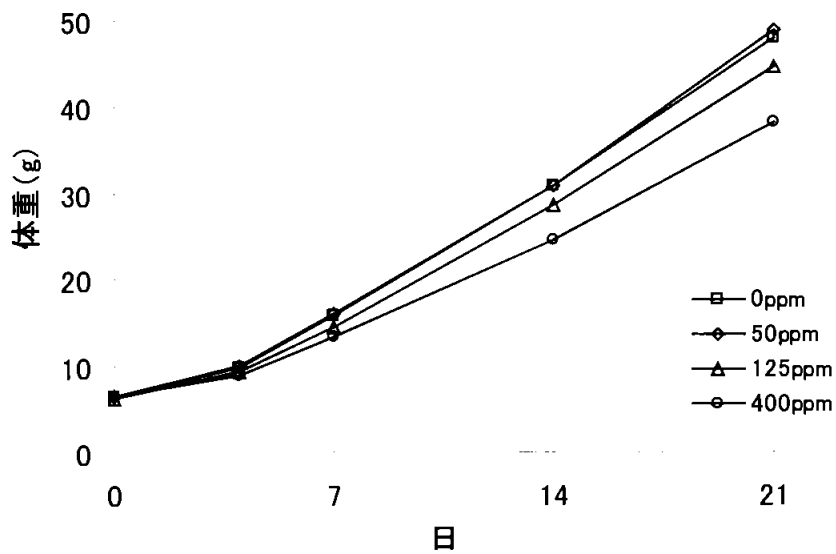


図 3-1. F2 児雄の体重

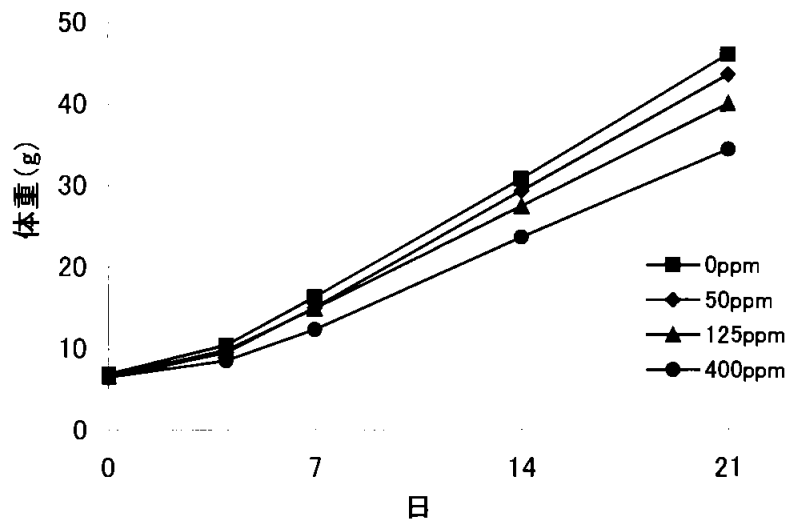
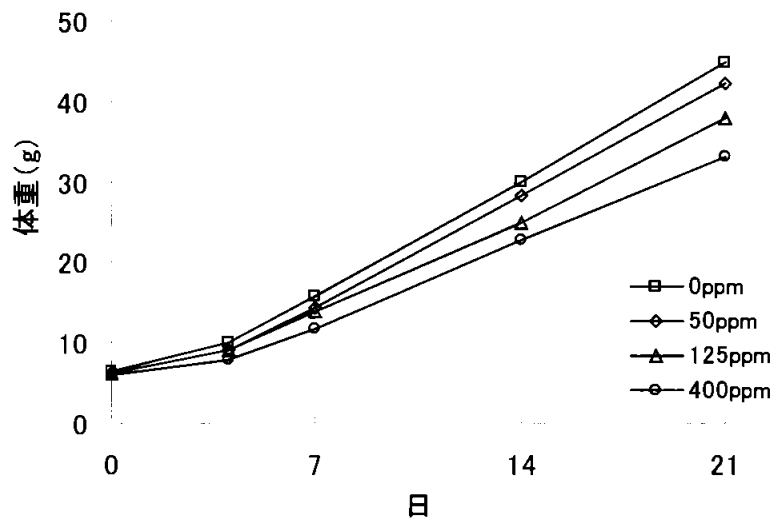


図 3-2. F2 児雌の体重



ラットを用いた繁殖毒性試験（2：追加試験）－ 2世代、初産児で継代 －

毒性資料 No. 原体-30-2

試験機関：

報告書作成年：1997年 [GLP 対応]

試験目的：先のラットを用いた繁殖試験(毒性資料 No. 原体-30-1)において、生後 4 及び 7 日目に低用量の 50ppm 群の F2 児の体重が対照群に比べ統計学的有意に低値を示した。報告書では検体投与に起因したものではないと結論づけたが、その確認のため 25 及び 50ppm を設定し、ほぼ同一の試験条件下であらためて再試験を実施した。

検体の純度：95.9% (4 回の分析平均)

供試動物：SD ラット (CD; Sprague-Dawley, SASCO)、投与開始時 7 週齢 (体重：雄 166 ~212g、雌 133~171g)、1 群雌雄各 30 匹

投与期間：P 世代：投与開始から、交配まで少なくとも 10 週、及び妊娠及び哺育期間。計少なくとも 16 週間。

F1 世代：離乳時から少なくとも 2 週、さらに交配まで 10 週、及び妊娠及び哺育期間。計少なくとも 18 週間。

[投与開始 1995 年 1 月、投与終了 1995 年 10 月]

投与方法：検体を 25 及び 50ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：試験目的にも記述したように、先の試験で生後 4 及び 7 日目に低用量の 50ppm 群の F2 児の体重が対照群に比べ統計学的有意に低値を示した。そこで確認のための本追加試験ではその 50ppm とさらに低用量の 25ppm の 2 濃度を設定した。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

交配及び妊娠の確認：雌の発情を膣スメアで確認し、雌雄を 1 対 1 で同居させ、膣栓または膣スメア中の精子により交尾を確認した。

妊娠の確認は分娩の有無または子宮内の着床痕の有無によって行った。

交尾が確認された日を妊娠 0 日とし、分娩が認められた日を哺育 0 日または生後 0 日とした。

調整及び選抜：F1 児及び F2 児の出生 4 日に 1 腹当り 8 匹 (可能な限り雄 4 匹、雌 4 匹) に淘汰、調整した。また、F1 児については哺育期間終了時に F1 世代の親動物として 1 腹当り 2 匹 (可能な限り雄 1 匹、雌 1 匹) を選抜した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

一般状態及び死亡率：投与期間を通じ全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

体重及び摂餌量：すべてのP及びF1親を対象として、雄について体重は毎週、摂餌量は交配期間を除き毎週測定した。雌について交配前は体重、摂餌量共に毎週、妊娠期間および哺乳期間の体重は妊娠0、6、13及び20日、哺育4、7、14及び21日に、摂餌量について、妊娠期間は毎週、哺育1週目は週2回、哺育2及び3週は週1回測定した。

また、F1、F2児の体重は生後0、4、7、14及び21日に測定した。

発情周期：P、F1の各群10匹の雌について、交配前3週間にわたり発情周期を観察した

繁殖性に関する指標：交配、妊娠、分娩、哺育、及び離乳時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

交尾率 = (交尾雌数 / 同居雌数) × 100

受胎率 = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率 = (生存児分娩雌数 / 着床確認雌数) × 100

交尾までの日数、妊娠期間、着床数(1腹当り)、出産児総数、出産児数(1腹当り)、生存児数(1腹当り)、死産児総数

出産率^s = (出産児数 / 着床数) × 100

生存児出産率^s = (生存児数 / 出産児数) × 100

4日生存率^s = (生後4日淘汰前生存児数 / 生存児数) × 100

哺育率^s = (生後21日の生存児数 / 生後4日淘汰後の生存児数) × 100

^s: 各腹の平均

剖検及び臓器重量：すべてのP及びF1親について、雄は最後の交配後、雌は離乳後に屠殺し、肉眼的病理検査を行った。また精巣または卵巣重量を記録した。雌については着床を確認するために子宮を精査した。

また、出生後死亡あるいは出生4日目に調整のため間引きされたF1、F2児、継代に選抜されなかった離乳後のF1児及びすべての離乳後のF2児について肉眼的病理検査を行なった。

病理組織学的検査：すべてのP及びF1親を対象として、下記の組織について病理標本作製し、すべての組織について鏡検を行なった。

子宮頸部、精巣上部、卵巣、前立腺、精巣、精囊／凝固腺、子宮、膈、下垂体、脳、脊髄、坐骨神経、肉眼的異常部位

表 1、交配・調整・選抜及び観察・検査項目

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (10 週)		雌雄の体重、摂餌量は週 1 回記録。交配前 3 週間、発情周期を検査
	交配 (21 日以内)	雌雄 1 対 1 で交配 交配は膣栓または精子で確認	交配状況の観察 雄については最終の交配後、死後検査 (剖検、精巣重量、病理組織学的検査)
	妊娠		母動物の体重は妊娠 0、6、13 及び 20 日 摂餌量は毎日記録
	出産		出産状況の観察 (同腹児数、出生児数、死産児数及び性比)
P/F1	哺育 (21 日)	哺育 4 日に各同腹児数を 8 匹に調整 (可能な場合は雌雄各 4 匹)	母動物の体重は哺育 0、4、7、14 及び 21 日、摂餌量は週 1 回記録 児動物の体重は生後 0、4、7、14 及び 21 日、摂餌量は週 1 回記録 (哺育 1 週は 2 回)
	離乳	継代用に各群雌雄各 30 匹を無作為に選抜	すべての P 雌を屠殺し、肉眼的病理検査 (着床数確認)、卵巣重量の測定及び病理組織学的検査 残りの F1 児を屠殺し、肉眼的病理検査
F1	生育 (10 週)		6~8 週齢時から親動物として観察を開始 (P 世代に準ずる)
	交配 (21 日以内)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠		(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
F1/F2	哺育 (21 日)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	離乳		(P 世代に準ずる) 離乳後、F2 児を屠殺し、肉眼的病理検査

結 果：概要を表 2～4 に示した。体重推移は図 1～3 に示した。

1. P 及び F1 親動物の一般毒性 (表 2)

両世代共に、投与に起因した死亡あるいは切迫屠殺はみられなかった。また雌雄共に投与に起因した中毒症状も試験期間を通じてみられなかった。

体重の推移を図 1-1～6 及び表 2 に示した。

生育期間、妊娠期間、哺育期間共に検体投与に起因した体重増加抑制はみられなかった。

摂餌量について、生育期間、妊娠期間、哺育期間ともに全群に差異はみられなかった。

摂餌量と体重から算出した交配前期間、妊娠期間及び哺育期間中の検体摂餌量を次表に示した。

検体摂取量 (mg/kg/日)

		P 世代		F1 世代	
投与量 (ppm)		25	50	25	50
雄	交配前期間	1.91	3.77	1.88	3.79
雌	交配前期間	2.10	4.14	2.16	4.25
	妊娠期間	1.97	3.70	2.07	4.00
	哺育期間	4.15	8.08	4.63	9.18

数値はいずれも各期間の平均検体摂取量 (申請者算出)

本試験の 50ppm 群における検体摂取量は、前回の試験における同用量群における摂取量と両世代、各期間においてほぼ同じであることが確認された。

精巣及び卵巣重量の測定で卵巣重量について変動はみられなかった。F1 世代の 50ppm 群雄では精巣の実重量及び対体重比の統計学的に有意な減少がみられた。しかし萎縮を示す 1 例を除いての統計処理では実重量で統計学的有意だったものの対体重比では有意な差はみられなかった。また P 世代では全く変動がみられなかったこと、前回の試験ではさらに高用量投与でも精巣重量への影響がみられなかったことから、この F1 世代 50ppm 群の精巣重量の統計学的有意な減少については検体投与には関連しない偶発的な変動と考えられた。

肉眼的病理検査では特記すべき所見は認められなかった。病理組織学的検査においては、前立腺の鉍質沈着を P 世代の 25ppm 群、F1 世代の 50ppm 群で所見頻度の統計学的有意な増加を観察したが、前回の試験ではさらに高用量投与と同様の所見の増加がみられなかったことから、検体投与には関連しない偶発的なものと考えられた。その他の組織においては両世代共に検体投与に

関連したと思われる特記すべき所見は認められなかった。

2. P 及び F1 親動物の繁殖成績 (表 3)

両世代共に交尾率、受胎率、妊娠率、発情回数、及び交尾までの日数や妊娠期間に検体投与によると思われる変動はみられなかった。また出産率や生存児出産率についても影響はみられなかった。わずかに P 世代の 25 及び 50ppm 群で発情回数の減少が統計学的有意に認められたが、用量に依存した変動ではなく、前回の試験でさらに高用量投与で発情回数の減少がみられなかったことから、検体投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

3. F1 及び F2 児動物への影響 (表 4)

同腹児数と生存児数、死産児数及び性比に検体投与に関連した変化はみられなかった。さらに出生 4 日後の生存率と哺育率 (21 日生存率) においても検体投与による影響はみられなかった。

哺育期間の一般症状観察では両世代共に特記すべき症状や行動の変化は観察されなかった。

児動物の体重推移を表 2 及び図 2、3 に示した。

検体投与による児動物の体重への影響はみられなかった。

さらに F1 児及び F2 児の哺育期間後の剖検で検体投与の影響と考えられる肉眼的異常所見は観察されなかった。

以上、シフルトリンのラットを用いた飼料混入投与による 2 世代繁殖試験 (初産児で継代) の追加試験において、高用量の 50ppm (P 世代; 雄 3.77mg/kg/日, 雌 4.14mg/kg/日, F1 世代; 雄 3.79mg/kg/日, 雌 4.25mg/kg/日) でも親動物、繁殖能、児動物に対して検体の影響はみられなかった。従って、前回の試験でみられた 50ppm 群における F2 児の統計学的に有意な低体重は検体投与に起因したものではないと考えられた。

表2 母動物への影響

世代	親:P 児:F1			親:F1 児:F2			検 定 方 法
投与量 (ppm)	0	25	50	0	25	50	
動物数	雄	30	30	30	30	30	①
	雌	30	30	30	30	30	
死亡 (検体に起因したもの) [数値は死亡または切迫殺動物数]							①
	雄	0	0	0 ¹⁾	0	0	
	雌	0	0 ²⁾	0 ²⁾	0	0 ³⁾	
一般症状観察: 特記すべき所見を認めず。							②
体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]							
生育期間中、有意な変動を認めず							
妊娠 20 日	雌	-	↑105		-		
哺育 7 日	雌	-	↑104		-		
体重増加量 [数値は対照に対する相対値 (%)]							
妊娠 0- 20 日	雌	-	↑113		-		
摂餌量 生育期間、妊娠及び哺育期間中特記すべき変動を認めず							
精巣 / 卵巣重量 [数値は対照に対する相対値 (%)]							
精巣実重量	雄	-			-	↓92	
対体重比	雄	-			-	↓94 [§]	
肉眼的病理検査: 特記すべき所見を認めず。							①
病理組織学的検査: 特記すべき所見を認めず。							
所見/検査動物数		30	30	30	30	30	
前立腺: 鉍質沈着	雄	6	↑13	11	5	6	↑12

検定方法: ①Fisher の直接確率計算法 ↓↑: p<0.05

②Dunnett 検定 ↓↑: p<0.05

- 1) 投与には関連しない死亡 1 例あり (生育 56 日、鼻部損傷)
 - 2) 投与には関連しない死亡 2 例あり (両例共、難産)
 - 3) 投与には関連しない死亡 1 例あり (生育 42 日、原因特定できず)
- §: 萎縮を示す 1 例を除いた場合、統計学的有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3 繁殖成績

世代		親 : P 児 : F1			親 : F1 児 : F2			検 定 方 法
投与量 (ppm)		0	25	50	0	25	50	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	
交配雌数		30	30	30	30	30	29	
受精雌数		30	30	30	30	30	29	
不妊雌数		3	1	0	2	1	1	
着床確認雌数		27	29	30	28	29	28	
生存児分娩雌数		27	28	29	28	29	27	
死亡雌数		0	1 [#]	1 ^{##}	0	0	0	
全吸収胚雌数		0	1 [#]	1 ^{##}	0	0	1	
交尾率 (%)		100	100	100	100	100	97	①
受胎率 (%)		90	97	100	93	97	97	
妊娠率 (%)		100	97	97	100	100	97	
発情回数		4	↓3	↓3	3	3	3	②
発情周期 (日)		4.3	4.4	4.7	4.6	5.4	4.8	
交尾までの日数		3	3	3	3	3	2	
妊娠期間 (日)		22.1	22.2	22.4	22.3	22.4	22.4	
着床数 (a)		12.7	13.7	13.8	13.0	12.4	12.6	
着床数 (b)		12.7	13.8	13.7	13.0	12.4	13.1	
出産率 ^{\$1} (%)		86.9	87.7	91.5	88.2	89.4	90.4	
生存児出産率 ^{\$2} (%)		98.7	98.0	98.4	99.1	98.5	97.3	

\$1: 出産率 = (出産児数/着床数) × 100

\$2: 生存児出産率 = (生存出産児数/出産児数) × 100、但し難産動物は含まず。

(a): 全吸収胚動物を含む、(b): 全吸収胚動物を含まず。

検定方法: ①Fisherの直接確率計算法

②Dunnett検定 ↓↑: p<0.05

#, ##: 難産にて死亡 (各々死亡雌と全吸収胚雌は同一個体)

表 4 児動物への影響

世代	親 : P 児 : F1			親 : F1 児 : F2			検 定
	0	25	50	0	25	50	
投与量 (ppm)	0	25	50	0	25	50	
対象母動物数	27	28	29	28	29	27	
同腹児数	11.0	12.5	13.0	11.4	11.3	12.3	②
生存児数 (腹当り)	11	12	13	11	11	12	
出生児総数	297	351	377	319	327	333	
死産児総数	4	8	6	3	5	9	
出生時の性比 (雄%)	53.9	51.3	50.7	46.1	46.5	48.9	②
出生時体重 (g)	6.8	6.7	6.6	6.6	6.9	6.9	
4日体重(調整後)	10.2	10.1	10.0	9.8	10.6	10.3	
7日体重	15.5	15.8	15.7	15.3	16.4	16.0	
14日体重	29.2	30.9	30.8	29.4	30.6	30.6	
21日体重	47.9	48.1	49.7	48.4	49.2	50.3	
4日生存率 (腹当り)	98.8	98.9	97.4	95.0	94.4	98.4	
哺育率 (腹当り)	99.5	98.7	99.1	100.0	99.6	100.0	
一般症状観察 :	特記すべき症状認めず。						①
肉眼的病理検査 :	特記すべき所見認めず。						

①Fisher の直接確率計算法

②Dunnett 検定

図 1-1. P 親の体重、交配前期間

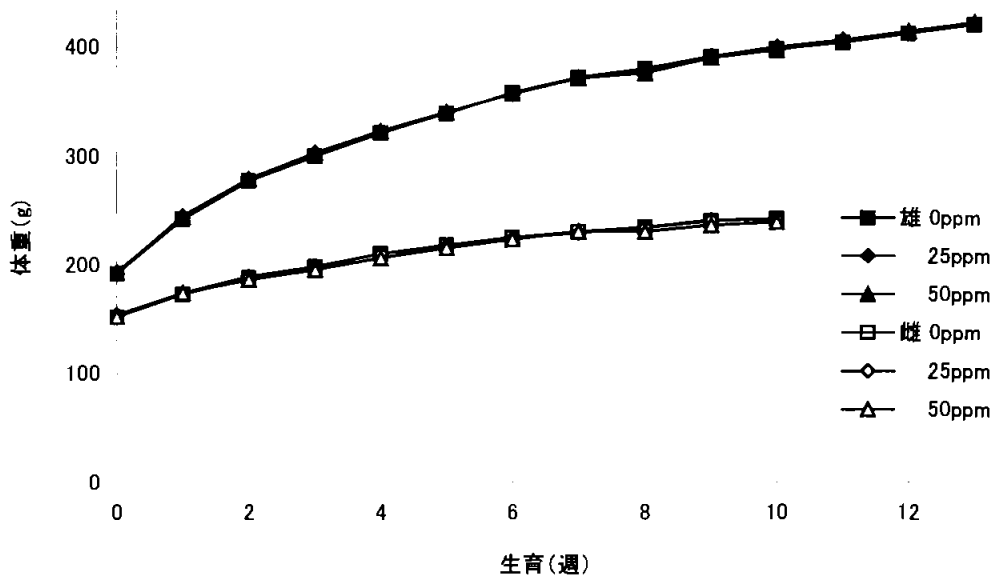


図 1-2. P 母動物の体重、妊娠期

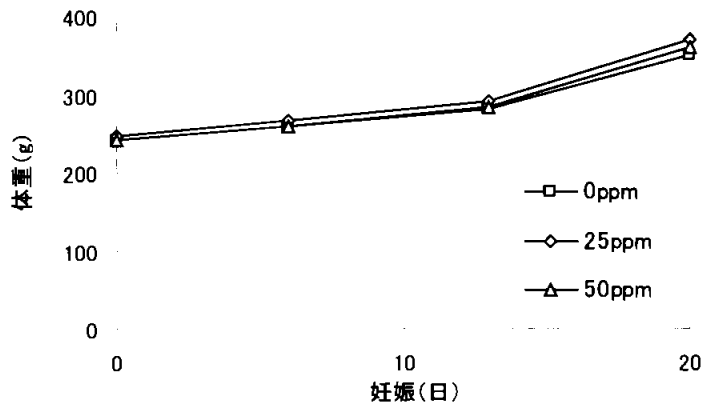


図 1-3. P 母動物の体重、哺育期

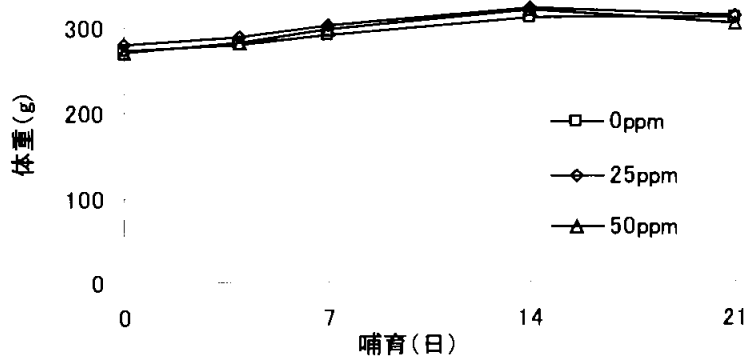


図 1-4. F1 親の体重、交配前期間

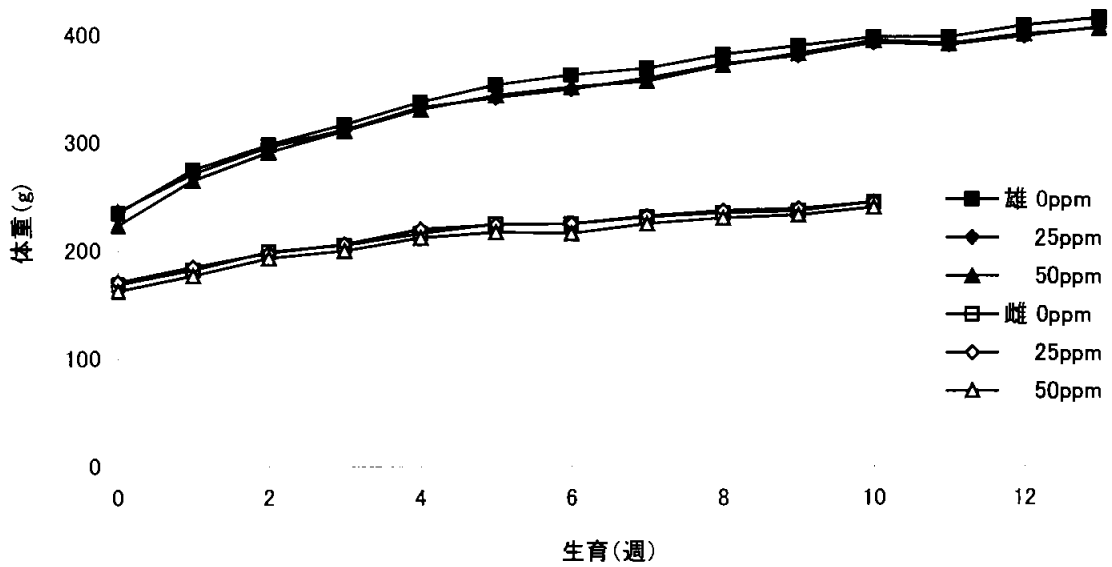


図 1-5. F1 母動物の体重、妊娠期

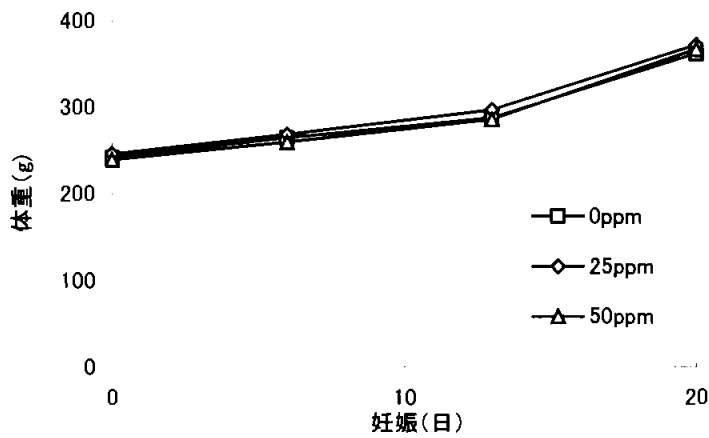
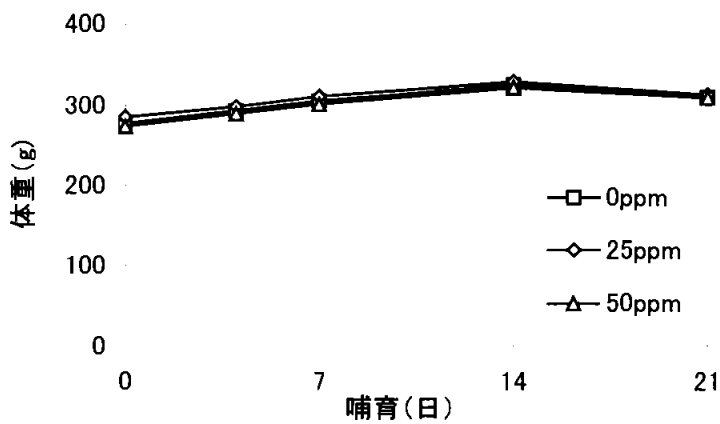


図 1-6. F1 母動物の体重、哺育期



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 2-1. F1 児雄の体重

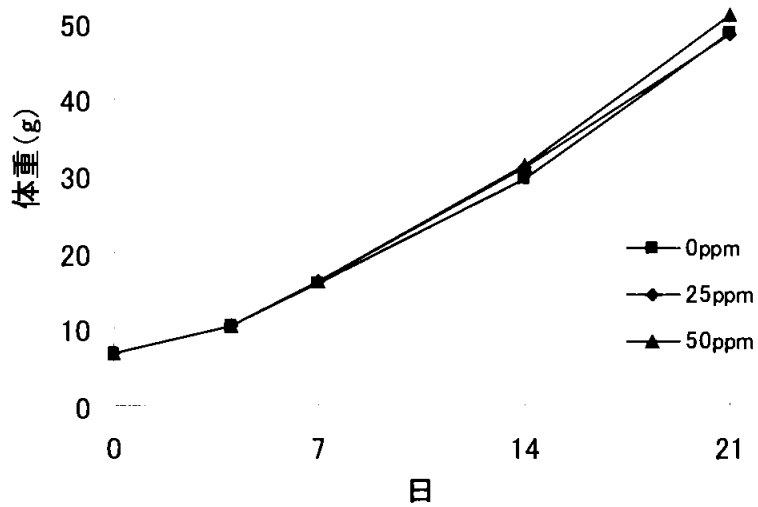


図 2-2. F1 児雌の体重

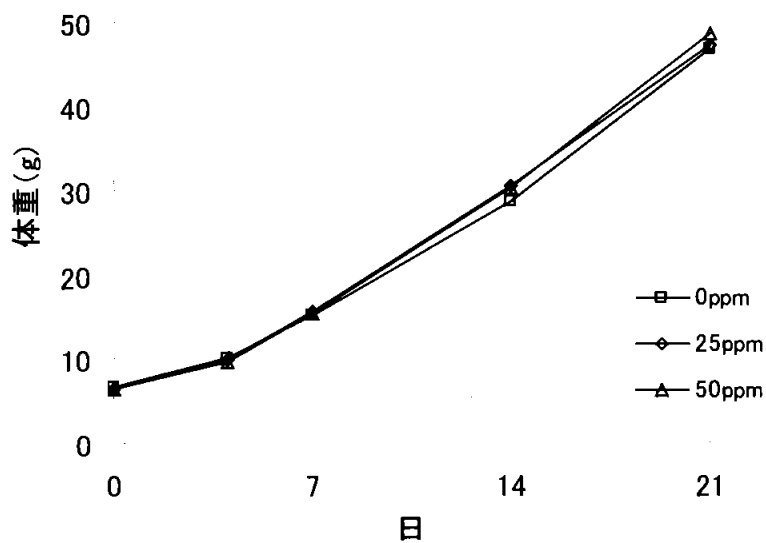


図 3-1. F2 児雄の体重

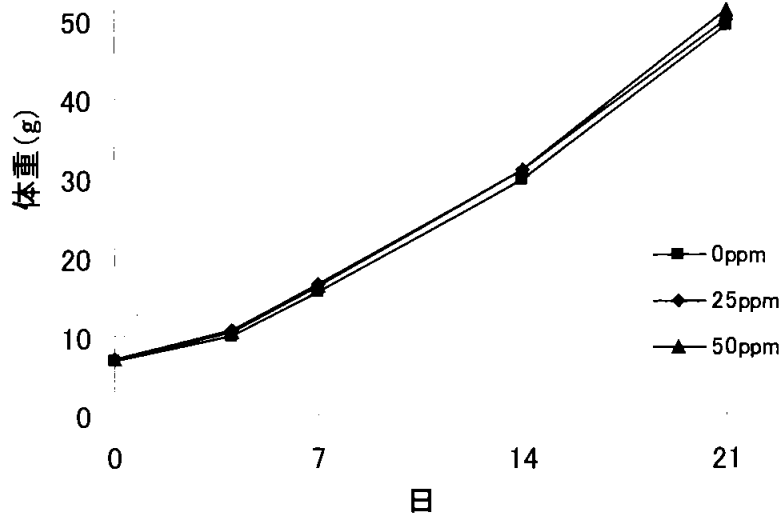
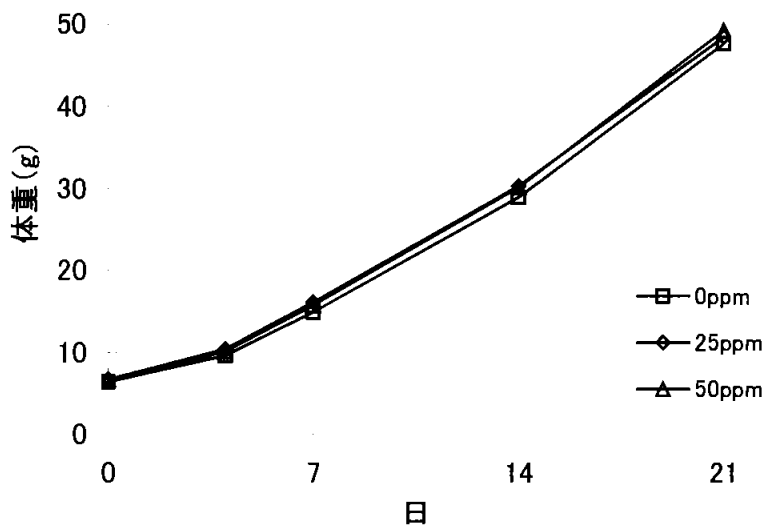


図 3-2. F2 児雌の体重



ラットに対する催奇形性試験（1）

毒性資料 No. 原体-31

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：85%

供試動物：FB30 雌ラット、2.5～3.5ヶ月齢、交配時体重：181～247g、1群25匹、雄は試験施設にあるコロニーのラットを用いた。

投与期間：妊娠6～15日の10日間 [1979年10月～11月]

投与方法：検体をポリエチレングリコール #400 (PEG 400)に溶解し、0、3、10および30mg/kgの用量で妊娠6日から15日までの10日間、毎日1回経口投与した（投与容量5mL/kg）。対照群（0mg/kg/日）にはPEG 400を同様に投与した。膣栓または膣スミア中に精子が認められた日を妊娠0日とした。

観察・検査項目：

母動物：一般状態および生死を毎日観察し、妊娠0、6、15および20日に体重を測定し投与期間および妊娠期間中の体重増加量を算出した。

妊娠20日に屠殺し帝王切開した。そして着床数、着床後死胚（胎児吸収）数、生存および死亡胎児数を記録した。

受胎率(%) = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率(%) = (担生存胎児雌数 / 着床確認雌数) × 100

生存胎児：性別および体重、胎盤重量を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児の約1/3の胎児について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果：表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

1. 母動物への影響

母動物の一般症状として、10 および 30mg/kg 群で各 6 匹に投与開始後 2 週目から時々足を高く上げる歩行が見られた。更に 30mg/kg 群では運動失調と運動性の低下も時折みられ、いずれも検体投与に起因したものと考えられた。

投与期間および妊娠期間中の体重増加量については検体の影響は観察されなかった。

受胎率や妊娠率に対照群と各投与群との間に差は認められなかった。また着床数、着床後死胚数、生存胎児数に投与の影響はみられなかった。

2. 胎児への影響

生存胎児の性比および体重、胎盤重量に対しては検体投与による影響はみられなかった。また発育遅延胎児数の増加も認められなかった。10 および 30mg/kg 群では胎児重量の統計学的有意な増加がみられたが、用量に依存した変動ではないこと、また毒性学的意義が低いことから検体投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

外表検査、内臓検査および骨格検査においては検体投与に関連したと思われる異常所見はみられず、異常胎児数の増加はみられなかった。また骨格変異を有する胎児数の増加も認められなかった。なお 3 および 10mg/kg 群では統計学的有意に奇形を有する胎児数の低下がみられたが、これは対照群で異常胎児数の増加がみられたことによるものであった。

以上、シフルトリンのラットへの経口投与による催奇形性試験において、母動物への影響として、10mg/kg/日以上で歩行異常が認められた。一方、胎児への影響は 30mg/kg/日でも観察されなかった。従って、本試験における無毒性量は母動物に対しては 3mg/kg/日、胎児では 30mg/kg/日と考えられた。またラットに対する催奇形性作用は認められなかった。

申請者注) 10mg/kg は、別に実施された催奇形性試験の試験結果(毒性資料 No. 32)を考えると母動物に対する毒性作用としては限界用量と考えられた。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	3	10	30		
母動物	1群あたりの動物数	25	25	25	25		
	一般症状						
		歩行異常	0	0	6	6	
		運動失調/運動性低下	0	0	0	6	
	死亡率：試験期間を通じて死亡例は認められなかった。						
	体重：投与および妊娠期間中の体重増加量に有意な変動は認められなかった。						
	繁殖成績						
		着床確認雌数	25	23	25	24	
		担生存胎児雌数	25	23	25	22	
		全吸収胚動物数	0	0	0	2	
		受胎率 (%)	100	92	100	96	
		妊娠率 (%)	100	100	100	92	
	着床所見						
		対象動物数	25	23	25	22(a)	24(b)
		着床数	12.1	12.2	11.3	12.3	11.5
		着床後死胚数	1.0	0.8	1.0	0.9	1.0
	生存胎児数	11.1	11.4	10.3	11.4	10.5	
	合計生存胎児数	277	261	257	251		

計量値：Mann-Whitny U 検定

計数値：カイ二乗法または Fisher 直接確率計算法

(a)：全吸収胚動物を含まない(申請者算出)。

(b)：全吸収胚動物を含む。

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	3	10	30
対象となる母動物数		25	23	25	22
胎児	性比 (雄の割合、%)	52	47	53	51
	体重 (腹毎の平均体重の平均、g)				
	雌雄合計	4.09	4.26	▲4.39	↑4.29
	発育遅延胎児数 [#] (<3g)	0.16	0.09	0.00	0.05
	胎盤重量 (腹毎の平均体重の平均、g)				
	雌雄合計	0.60	0.60	0.63	0.61
	外表検査				
	検査動物数	277	261	257	251
	異常胎児数	0	1	0	1
	重度重複奇形 ¹⁾		1		
	全身水腫				1
	内臓検査				
	検査動物数	85	81	80	76
	異常胎児数	9(3)	0	1	0
	終脳低形成	8(2)			
	水頭症 + 無眼症	1			
	停留睾丸			1	
	骨格検査				
検査動物数	192	180	177	175	
異常胎児数	1	0	0	1	
波状肋骨	1				
重複異常 ²⁾				1	
担骨格変異胎児数 [#]	3.76	3.22	2.40	3.32	
担奇形胎児数 [#]	0.40	↓0.04	↓0.04	0.09	

計量値：Mann-Whitny U 検定、 ↓↑ : p<0.05、 ↓▲ : p<0.01

計数値：カイ二乗検定または Fisher 直接確率計算法、 ↓↑ : p<0.05

1) 頭蓋脊椎裂、間接拘縮、曲尾、腹部破裂等

2) 四肢長管骨形成異常、合指等

() : 担異常胎児腹数

: 各腹平均

ラットに対する催奇形性試験 (2)

毒性資料 No. 原体-32

試験機関：

報告書作成年：1983年 [GLP 対応]

検体の純度：93.4%

供試動物：Wistar ラット [KFM-Han. SPF]、12～13 週齢、交配時体重 181～230g、
1 群 雌 25 匹

投与期間：妊娠 6～15 日の 10 日間 [1983 年 9～10 月]

投与方法：検体を 1%クレモホア水溶液に懸濁させ、0、1、3 および 10mg/kg の投与量
で妊娠 6 日から 15 日まで毎日 1 回、強制単回経口投与した（投与容量：
10mL/kg）。対照群には 1%クレモホア水溶液を同量投与した。交配は 1：1 で
行い、膣栓または膣スメア中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠：0、1、3 および 10mg/kg を 1 群各 5 匹の妊娠雌ラットに強制経口投与し
た予備試験の結果、3mg/kg 以上の群で軽度の呼吸抑制がみられ、10mg/kg 群では摂
餌量低下および増体重抑制がみられた。ゆえに本試験の用量は、予備試験と同じく
0、1、3 および 10mg/kg に設定した。

観察・検査項目：

母動物：一般状態および生死を毎日 2 回観察した。摂餌量は妊娠 6、11、16 および
21 日に測定し、体重は妊娠 0 日から 21 日まで毎日測定した。妊娠 21 日に全
ての母動物を屠殺して帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数および死亡・
吸収胎児数を検査した。

受胎率(%) = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率(%) = (担生存胎児雌数 / 着床確認雌数) × 100

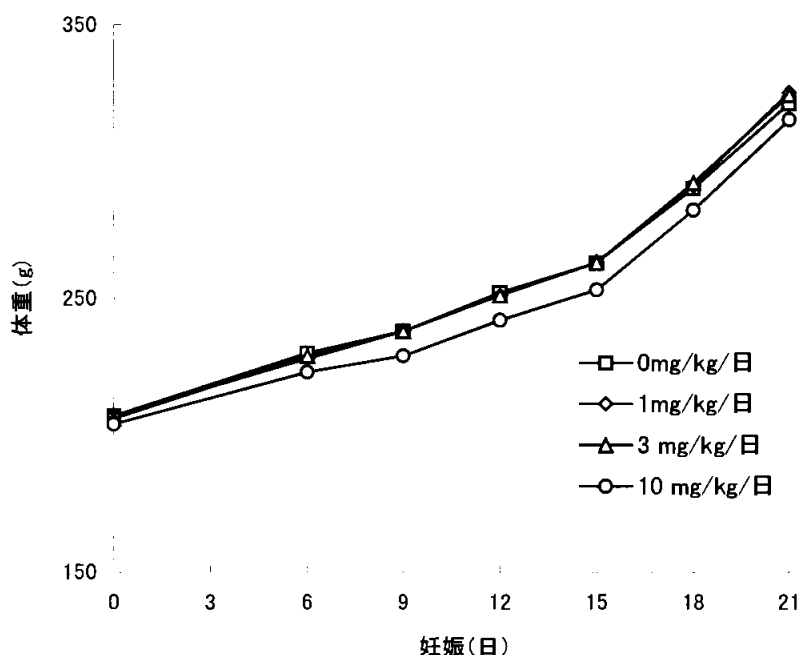
生存胎児：性別および体重を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児の約 1/3
の胎児について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格標本を
作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果：表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

1. 母動物への影響

試験期間中を通じて検体投与に起因したと思われる一般症状および死亡は認められなかった。

次図に試験期間中の対照群および検体投与群の平均体重の推移を示した。



体重に対照群といずれの検体投与群との間に差は認められなかった。なお、10mg/kg 群の妊娠 15 日目の体重に統計学的に有意な低値を示したが、その差はわずかであり、また補正体重増加量が対照群に比べ低値を示したが、これは母動物ごとの胎児数が高値だったことによるものと考えられ、特に検体投与に関連した影響とは考えられなかった。

摂餌量では 10mg/kg 群で投与開始日を含む 6 日間摂餌量減少が観察された。

剖検では投与に関連した所見はいずれの群にも認められなかった。

繁殖成績において受胎率、妊娠率に検体投与の明らかな影響はみられなかった。3 mg/kg 群で流産動物 1 例、10 mg/kg 群で全吸収胚動物 1 例を観察したが、検体投与には関連しない偶発的な所見と考えられた。

着床前および着床後死胚率には検体投与の影響はみられなかった。さらに生存児数にも変動はみられなかった。

2. 胎児への影響

胎児の重量および性比に投与による影響はみられなかった。外表検査では異常胎児は観察されなかった。

内臓検査では腹腔内あるいは腎盂に凝固血をもつ胎児を散見したが用量との関連がなく、頻度も極めて低いことから投与との関連性はないものと考えられた。

骨格検査では波状肋骨や胸骨核の欠損等の骨格異常を有する胎児が対照群を含む各投与群（3 mg/kg 群を除く）で散見されたが、これについても用量に依存した出現頻度の増加がみられないことから、検体投与に関連しない偶発的な変化と考えられた。

また統計学的有意な頻度の変動をみた骨格変異所見を表2に示したが、用量に依存した出現頻度の増加を示す所見は認められなかった。むしろ高用量群では四肢および頸椎の未骨化の頻度が減少傾向を示したが、毒性影響とは捉えられなかった。

以上、10 mg/kg で母動物の摂餌量の減少(投与日から6日間)がみられたが、体重に影響を及ぼす程度のものではなかった。胎児に対しては特記すべき所見は観察されなかった。ゆえに本試験における無毒性量は母動物、胎児ともに10 mg/kg/日であった。また催奇形性作用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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	1	3	10
母動物	1群あたりの動物数	25	25	25	25
	一般症状:	特記すべき所見なし。			
	死亡数	0	0	0	0
	体重				
	妊娠 15 日	—			↓96
	妊娠 6 日/7 日 (%)	101	101	100	101
	補正体重増加量 [数値は対照に対する相対値 (%)]				
	妊娠 6 - 21 日	—			↓67
	補正体重増加量 [妊娠 6 日体重に対する増加率 (%)]				
	妊娠 6 - 21 日	10.9	11.3	9.7	↓7.7
	摂餌量 [数値は対照に対する相対値 (%)]				
	妊娠 6 - 11 日	—			↓87
	妊娠 11 - 16 日	—			↓92
	妊娠 16 - 21 日	—			↓92
	肉眼的病理検査:	特記すべき所見なし			
	繁殖成績				
	受精雌数	25	25	25	25
	着床確認雌数	25	25	22	24
	担生存胎児雌数	25	25	21	23
	流産動物数	0	0	1	0
全吸収胚動物数	0	0	0	1 [#]	
受胎率 (%)	100	100	88	96	
妊娠率 (%)	100	100	95	96	
着床所見					
黄体数	12.6	12.7	13.1	12.7	
着床数	11.0	11.0	11.5	12.0	
着床前死胚数	1.6	1.6	1.7	0.7	
着床前死胚率 (%)	12.4	12.9	12.7	5.5	
生存児数	10.2	10.7	11.0	11.7	
着床後死胚数	0.8	0.4	0.5	0.2	
着床後死胚率 (%)	7.2	3.3	4.6	1.8	

計量値: Dunnett 多重検定 (申請者実施) ↓: p<0.05、↓: p<0.01

計数値: カイ二乗法 (性比)、Fisher 直接確率計算法 (申請者実施)

#: 着床データなし

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	1	3	10
対象となる母動物数		25	25	21	23
胎児	合計生存胎児数	256	267	230	270
	合計死亡胎児数	0	0	0	0
性比 (雄の割合、%)		50	51	50	48
体重 [腹毎実測平均、g]					
(両性)		4.9	5.0	5.0	4.9
外表検査					
検査動物数		256	267	230	270
異常胎児数		0	0	0	0
内臓検査					
検査動物数		84	87	78	88
異常胎児数		1	1	0	2 (2)
腹腔内凝固血		1			1
腎盂内凝固血			1		1
骨格検査					
検査動物数		172	180	152	182
異常胎児数		3 (3)	4 (2)	0	3 (2)
波状肋骨		1			
胸骨核二分		1	1		1
胸骨核欠損		2 (2)	3 (2)		3 (2)
骨格変異 (以下いずれも未骨化所見)					
左前肢：第 2 末節骨		38	32	29	↓22
第 4 末節骨		30	24	22	↓14
第 5 基節骨		72	69	51	↓59
右前肢：第 5 末節骨		99	87	81	↓84
左後肢：第 1 末節骨		48	40	30	↓31
第 1 中足骨		0	↑16	↑9	↑10
第 2 基節骨		99	91	↓62	↓86
第 3 基節骨		69	58	↓35	↓49
第 5 末節骨		21	16	12	↓9
右後肢：第 1 末節骨		33	27	20	↓18
第 1 中足骨		0	↑14	0	↑10
第 2 基節骨		100	91	↓62	97
第 5 基節骨		140	↓131	114	137
第 5 末節骨		20	11	8	↓7
第 3 頸椎骨		10	5	4	↓3

計量値：Dunnett 検定 (申請者実施)

計数値：カイ二乗検定 (性比のみ)、Fisher 直接確率計算法 (申請者実施)

↓↑：p<0.05、↓↑：p<0.01

()：担異常胎児腹数 (但し、骨格変異所見の腹単位の情報は報告書に記載されていない。)

ウサギに対する催奇形性試験（１）

毒性資料 No. 原体-33

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：95.0%

供試動物：Himalayan 雌ウサギ(CHBB:HM)、1群 15匹

投与期間：妊娠6～18日の13日間 [1982年4月～5月]

投与方法：検体を0.5%クレモホア EL 水溶液で懸濁し0（対照）、5、15 および 45mg/kg の投与量で妊娠6日から18日まで毎日1回、強制単回経口投与した（投与容量：5mL/kg）。対照群には0.5%クレモホア EL 水溶液を同様に投与した。交尾が認められた日を妊娠0日とした。

観察・検査項目：

母動物：一般状態および生死を毎日2回観察した。妊娠0、6、18 および 29日に体重を計測し、投与期間および妊娠期間の体重増加量を求めた。妊娠29日に全ての母動物を屠殺し、剖検および子宮を精査した。帝王切開後、着床数、生存胎児数および死亡胎児数、着床後死胚数を計測、記録した。

受胎率(%) = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率(%) = (担生存胎児雌数 / 着床確認雌数) × 100

生存胎児：各胎児の体重および胎盤重量を測定した。外表異常の有無を観察、剖検し内臓の異常を観察、記録した。併せて性別を判定した。

胎児の頭部を切断して固定後、Wilson法に従って切片を作成し、頭部の内部構造を観察した。頭部を除く体幹部について骨格標本を作成し骨格異常の有無を検査した。

結果：表1に母動物、表2に胎児に対する検査の概要を示した。

1. 母動物への影響

試験期間を通じて死亡はみられなかった。また投与に起因したと思われる外徴や行動の変化は観察されなかった。

投与期間および妊娠期間の体重増加量について対照群と各投与群との間に明らかな差はみられず、体重に対する検体投与の影響はないと考えられた。

肉眼的病理検査で投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。

45mg/kg 群では15例中流産動物を2例、全吸収胚動物を1例認めた。これに伴い統計学的に有意ではなかったものの妊娠率の低下傾向がみられ、検体投

与による影響を否定できなかった。

着床所見では 15mg/kg 群で着床数の増加と着床後死胚数の増加を統計学的有意に認めた。しかし用量に依存した変動ではなくこの所見は投与には関連しない変動と判断した。

2. 胎児への影響

生存胎児の性比および胎児体重、胎盤重量については投与による影響はみられなかった。

外表検査および内臓検査においては異常胎児を認めなかった。生育遅延の指標となる矮小児は 5mg/kg 群で 2 腹各 2 例の計 4 例に認めたが、用量に依存した増加はみられず、偶発的な所見と考えられる。

骨格検査では関節拘縮を示す胎児を各投与群で散見したが、用量に依存した増加はみられないこと、また本系統ではしばしば観察される所見であることから、検体投与には関連しない所見と考えられた。15mg/kg 群では 4 例の胎児に尾椎の非対称/癒着を観察したが、4 例が同腹児であること、また 45mg/kg 群では本所見を 1 例も認めず、用量に依存した出現頻度の増加がみられなかったことから、これも投与には関連しない所見と考えられた。

以上、シフルトリンのウサギ経口投与による催奇形性試験において、45 mg/kg で症状や体重への影響はみられなかったものの、流産動物 2 例、全吸収胚動物 1 例を観察した。しかし胎児への影響は認められなかった。従って、本試験での無毒性量は母動物に対しては 15 mg/kg/日、胎児では 45 mg/kg/日であり、ウサギに対する催奇形性作用はないと考えられた。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)	0	5	15	45	
1群あたりの動物数	15	15	15	15	
死亡動物数	0	0	0	0	
一般症状:	検体投与に関連した所見を認めず。				
体重増加量 (g、妊娠動物のみ)					
投与期間 (6 - 18日)	78.7	57.7	109.6	81.4	
妊娠期間 (0 - 29日)	315.0	258.0	340.8	334.1	
肉眼的病理検査:	投与に関連した所見を認めず。				
繁殖成績					
交尾雌数	15	15	15	15	
着床確認雌数	15	15	13	14	
担生存胎児雌数	15	15	13	11	
流産動物数	0	0	0	2	
全吸収胚動物数	0	0	0	1	
受胎率 (%)	100	100	87	93	
妊娠率 (%)	100	100	100	79	
着床所見					
対象動物数	15	15	13	11 (a)	12 (b)
着床数	7.3	6.3	↑8.5	7.1	6.8
生存胎児数	6.7	5.6	7.1	6.4	5.8
着床後死胚数	0.6	0.7	↑1.4	0.7	0.9

(a) : 全吸収胚動物を含まない(申請者算出)。

(b) : 全吸収胚動物を含む。

(計量値) : Mann-Whitney U検定、↓↑ : p<0.05

(計数値) : カイ2乗検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)	0	5	15	45
対象となる母動物数	15	15	13	11
性比 (雄の割合、%)	49	47	54	56
胎児体重および胎盤重量 (実測平均、g)				
体重	37.4	37.0	38.8	40.3
胎盤	4.3	4.3	4.2	4.6
外表検査				
検査動物数	100	84	92	70
異常動物数	0	0	0	0
矮小児 (25g 未満)	1	4 (2)	0	0
内臓検査				
検査動物数	100	84	92	70
異常動物数	0	0	0	0
骨格検査				
検査動物数	100	84	92	70
異常動物数	0	2	↑6	3
関節拘縮	0	2 (1)	2 (2)	3 (1)
尾椎非対称/癒着	0	0	4 (1)	0

(計量値) : Mann-Whitney U 検定

(計数値) : Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)、↓↑ : $p < 0.05$

() : 担異常胎児腹数

ウサギに対する催奇形性試験 (2)

毒性資料 No. 原体-34

試験機関 :

報告書作成年 : 1992 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 96.1% (2 回分析の平均)

供試動物 : Chinchilla 雌ウサギ (CHBB:CH)、16~27 週 (妊娠 0 日体重 : 3.19~4.63kg)、
1 群 16 匹

投与期間 : 妊娠 6~18 日の 13 日間 [1992 年 2 月~3 月]

投与方法 : 検体をコーン油に溶解し 0、20、60 および 180mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 18 日まで毎日 1 回、強制単回経口投与した (投与容量 : 2mL/kg)。対照群にはコーン油を同様に投与した。交尾が認められた日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠 : 投与量の設定には 2 報の予備試験結果に基づいた。最初の予備試験では 0、50、75 および 100mg/kg を 1 群各 5 匹の妊娠雌ウサギに強制経口投与した結果、100mg/kg 群の 1 例で全吸収胚動物がみられた以外には変化はみられず、検体投与の影響が明白ではなかった。そこで追加の予備試験を 1 群各 5 匹の妊娠雌ウサギを用いて 0、150 および 200mg/kg の用量で実施した。その結果、全ての投与群で、投与に起因した摂餌量低下および増体重抑制がみられ、200mg/kg 群では着床後死胚が増加した。これらの結果から、本試験での用量を 0、20、60 および 180mg/kg に設定した。

観察・検査項目 :

母動物 : 一般状態および生死を毎日 2 回観察した。摂餌量は妊娠 6、11、15、19、24 および 28 日に測定し、体重は妊娠 0 日から 28 日まで毎日測定した。妊娠 28 日に全ての母動物を屠殺し、剖検および子宮を精査した。帝王切開後、黄体数、着床数、生存胎児数および死亡胎児数、着床後死胚数を計測、記録した。

受胎率 (%) = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率 (%) = (担生存胎児雌数 / 着床確認雌数) × 100

生存胎児 : 各胎児の体重を測定し、外表異常の有無を観察、剖検し内臓の異常を観察、記録した。併せて性別を判定した。

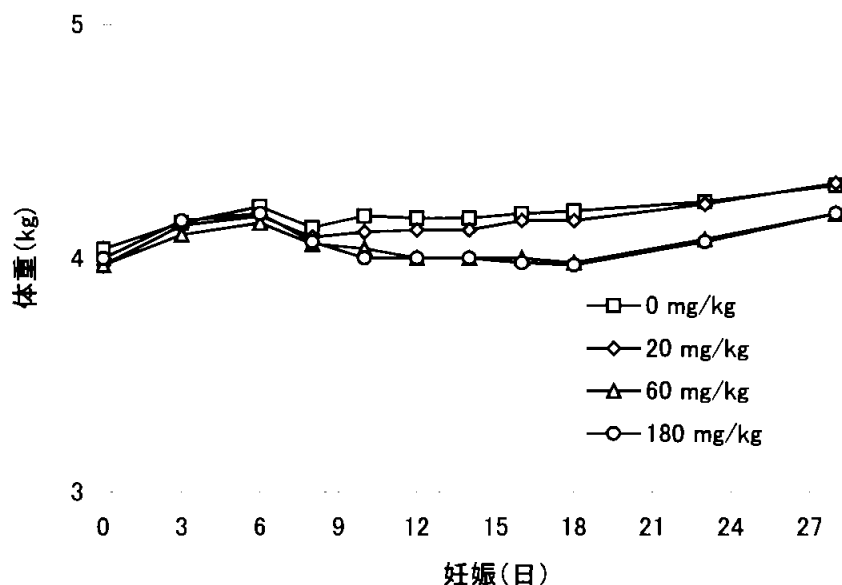
皮膚を除去後、頭部の化骨の程度を観察した。約半数の胎児の頭部を切断して固定後、Wilson 法に従って切片を作成し、頭部の内部構造を観察した。これらの胎児の頭部を除く体躯部、および残りの半数の胎児全身について骨格標本を作成し骨格異常の有無を検査した。

結 果：表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

1. 母動物への影響

試験期間を通じて死亡例はみられなかった。また投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

試験期間中の体重の推移を次図に示した。



体重は図および表1にみられるように、60mg/kg以上の群は対照群に比べ統計学的有意ではなかったものの低値で推移した(両群共に最大5%減、なお、単回投与影響は認めず。)。投与終了時からは回復する傾向がみられたものの試験終了時まで対照群に比べ低値を示した。また投与期間中(妊娠6~19日)の体重増加量では60および180mg/kg群共に統計学的有意に減少した。

摂餌量も60mg/kg以上の群では統計学的有意に用量に依存して低下し、60mg/kg群では妊娠6~11日に対照群の73%、180mg/kg群では52%まで低下した。これらの群では投与終了以降、反対に統計学的に有意に摂餌量が増加し(60mg/kg群で133%、180mg/kg群で147%)、投与期間中の低下に対する代償反応と考えられた。

20mg/kg群の体重および摂餌量は対照群とほぼ同様で検体投与の影響を受けなかった。

剖検では投与に関連した所見はいずれの群にも認められなかった。

子宮内の着床所見では吸収胚の増加による着床後死亡率が60mg/kg以上の群で用量に依存して統計学的有意差を伴って増加した。着床前死胚数が20mg/kg群のみに統計学的有意な増加がみられたが、用量との関連がなく

検体投与には関連しない偶発的な変化と考えられた。

黄体数、着床数、生存および死亡胎児数については、いずれの投与群も対照群との間に明らかな差は認められなかった。

2. 胎児への影響

性比については20mg/kg群で統計学的有意に雄%の増加がみられた。しかし、用量に依存した増加はみられず、本所見は投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

胎児重量では胎児単位でみた場合、20および180mg/kg群で統計学的有意な増加が観察された。しかし用量に依存した変動ではないこと、腹単位でみた場合には統計学的有意な増加がみられなかったことから、この所見についても偶発的なものと考えられた。

外表検査では異常を有する胎児が対照群を含む全群で散見されたが、用量との関連がなく、また投与群で一貫してみられる所見も認められないことから、投与との関連性はないものと考えられた。

内臓検査では180 mg/kg群の1例に異常がみられたのみであり、検体投与の影響はみられなかった。さらにWilson法に従った頭部の検査でも異常はみられなかった。

骨格検査では骨格異常を有する胎児が対照群を含む全群で散見されたが、これについても用量との関連がなく、また投与群で一貫してみられる所見も認められないことから、偶発的な変化と考えられた。

上記の外表、内臓および骨格の異常を有する胎児数の頻度についても用量に依存した増加は認められず、検体投与の影響は認められなかった。

骨格変異に関して、統計学的有意な出現頻度の増減を示した所見を表2(続き)に示した。表に示したように主に四肢の指骨の不完全骨化あるいは未骨化の減少傾向がとくに180 mg/kg群において統計学的有意に認められた。しかし本所見の毒性学的意義は低く、検体投与による毒性影響とは捉えられなかった。

以上の結果から、60 mg/kg 以上で母動物の体重増加抑制および摂餌量の減少、着床後死胚の増加がみられた。しかし胎児に対しては 180 mg/kg でも影響を受けなかった。ゆえに本試験での無毒性量は母動物で 20 mg/kg/日、胎児で 180 mg/kg であった。また検体のウサギに対する催奇形性作用はないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)	0	20	60	180	
1群あたりの動物数	16	16	16	16	
死亡動物数	0	0	0	0	
一般症状：	検体投与に関連した所見を認めず。				
体重 (kg、妊娠動物のみ)					
妊娠 6 日	4.22	4.18	4.15	4.19	
妊娠 7 日	4.14	4.11	4.07	4.10	
妊娠 12 日	4.16	4.12	4.00	4.00	
妊娠 19 日	4.18	4.14	3.96	3.96	
妊娠 24 日	4.26	4.26	4.12	4.09	
妊娠 28 日	4.31	4.32	4.19	4.19	
体重増加量 (g、妊娠動物のみ)					
投与期間 (6 - 19 日)	-40	-34	↓-189	↓-233	
妊娠期間 (6 - 29 日)	87	143	42	-6	
補正体重増加率(%) [§]	(-9.9)	(-7.3)	(-9.8)	(-10.9)	
摂餌量 [数値は対照に対する相対値 (%)]					
妊娠 6-11 日	—		↓73	↓52	
妊娠 11-15 日	—			↓56	
妊娠 24-28 日	—		↑133	↑147	
肉眼的病理検査：	投与に関連した所見を認めず。				
繁殖成績					
交尾雌数	16	16	16	16	
着床確認雌数	16	13	16	16	
担生存胎児雌数	16	13	16	15	
流産動物数	0	0	0	0	
全吸収胚動物数	0	0	0	1	
受胎率 (%)	100	81	100	100	
妊娠率 (%)	100	100	100	94	
着床所見					
対象動物数	16	13	16	15 (a)	16 (b)
黄体数	12.6	10.8	12.1	12.6	12.4
着床数	12.1	9.8	11.4	12.4	12.2
着床前死胚数	0.5	1.0	0.7	0.2	0.2
着床前死胚率 (%)	4.0	↑9.2	5.7	1.6	2.0
着床後死胚数	1.3	1.1	2.3	3.5	3.9
生存胎児数	10.8	8.8	9.2	8.9	8.3
死亡胎児数	0	0	0	0	0
着床後死胚数	1.3	1.1	2.3	3.5	3.9
着床後死胚率 (%)	10.9	10.9	↑19.7	↑25.3	↑25.6

§ : 補正体重増加率 = ((妊娠 29 日体重 - 妊娠 6 日体重 - 子宮重量) / 妊娠 6 日体重) × 100

(a) : 全吸収胚動物を含まない。

(b) : 全吸収胚動物を含む。

(計量値) : Dunnett 検定、↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01

(計数値) : Fisher 直接確率計算法、↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)	0	20	60	180
対象となる母動物数	16	13	16	15
対象となる胎児数	172	114	147	133
性比 (雄の割合、%)	50	↑62	54	54
胎児体重 (実測平均、g)				
腹単位	29.2	32.4	30.3	30.9
胎児単位	28.8	▲31.1	29.6	↑30.4
外表検査				
検査動物数	172	114	147	133
異常動物数	4 (4)	1	3 (3)	3 (3)
矮小児 (19g 未満)	2 (2)	0	3 (3)	3 (3)
重複異常	2 ^{a)} (2)	0	0	0
臍帯ヘルニア	0	1	0	0
内臓検査				
検査動物数	172	114	147	133
異常動物数	0	0	0	1
半横隔膜 (左欠損)	0	0	0	1
[頭部] 検査動物数	87	55	75	65
異常動物数	0	0	0	0
骨格検査				
検査動物数 [#]	172/85	114/59	147/72	133/68
異常動物数	3 (3)	3 (3)	4 (2)	5 (4)
胸骨:全未骨・癒着	1	0	1	2 (2)
胸・腰椎体/弓: 癒着・欠損・二分	1	2 (2)	0	2 (2)
肋骨:癒着・ 分枝・欠損	0	2 (2)	2 (2)	3 (2)
頭蓋:形成不全	1	0	0	0
椎骨・肋骨重複異常	0	1	0	0
鼻骨:不完全骨化	0	0	1	0
尾椎異常	0	0	0	1
外表・内臓・骨格異常を有する動物数	6 (6)	3 (3)	6 (4)	8 (6)

a) 臍帯ヘルニア、関節拘縮、眼開口(右) 1例

唇顎口蓋裂、頭蓋二分、眼開口(左) 1例

#: 検査動物数/頭部骨格検査動物数

(計量値): Mann-Whitney U 検定

(計数値): Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)、↑: p<0.05、▲: p<0.01

(): 担異常胎児腹数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2. (続き) 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)	0	20	60	180
対象となる母動物数	16	13	16	15
対象となる胎児数	172	114	147	133
骨格検査				
検査動物数 [#]	172/85	114/59	147/72	133/68
[骨格変異] いずれも不完全骨化または未骨化 (第 13 肋骨を除く)				
第 5 胸骨核	139 (16)	↓75 (13)	116 (16)	100 (15)
第 13 肋骨 : 痕跡(右)	6 (5)	↓0 (↓0)	5 (4)	4 (4)
左前肢/第 1 基節骨	87 (15)	↑77 (12)	↑92 (16)	68 (15)
右前肢/第 4 基節骨	1	2 (1)	↑6 (4)	↑6 (4)
右前肢/第 4 中節骨	171 (16)	114 (13)	147 (16)	↓127 (15)
左後肢/第 1 中節骨	67 (14)	44 (11)	45 (14)	↓34 (12)
左後肢/第 2 中節骨	67 (14)	44 (11)	45 (14)	↓33 (12)
左後肢/第 3 中節骨	87 (15)	56 (11)	60 (15)	↓48 (14)
右後肢/第 1 中節骨	69 (15)	45 (11)	46 (14)	↓34 (12)
右後肢/第 2 中節骨	69 (15)	45 (11)	46 (14)	↓32 (12)
右後肢/第 3 中節骨	86 (15)	59 (12)	64 (15)	↓51 (14)

#: 検査動物数/頭部骨格検査動物数

(計数值) : Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)、↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01

() : 担異常胎児腹数

(13) 変異原性

細菌を用いた変異原性試験 (Rec Assay および Ames 試験)

毒性資料 No. 原体-35

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体の純度：95%

(1) Rec Assay (DNA 修復試験)

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、この両株の -80°C 保存株を融解後、小型ピペットを用いて B-II 寒天培地上に出発点が接触しないようにストリークした。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) で希釈した (最高濃度：500mg/mL、10mg/ディスク相当)。直径 10mm の濾紙 (ディスク) に 0.02mL を添加し、ストリークの開始点を覆うように置き、 37°C で一夜培養後、阻止帯の長さを測定した。そして両株での阻止長の差が 2mm 以上の場合を陽性と判定した。なお陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてマイトマイシン C を用いた。

結果：

表 1 Rec Assay 成績

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)	0	0	0	0
検体	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
	5000	0	0	0
	10000	0	0	0
カナマイシン (陰性対照)	10 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$	5	5	0
マイトマイシン C (陽性対照)	0.1 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$	7	0	7

表に示したように、検体処理で両株に全く生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では組換修復機構保持株に比し修復機構欠損株に著明な生育阻止帯を生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上、シフルトリンの Rec assay において DNA 損傷性は陰性と考えられた。

(2) Ames 試験 (復帰突然変異試験)

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の 5 株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100) およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli*) の 1 株 (WP2 her(uvrA)) を用い、Aroclor 1254 で酵素誘導したラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下でプレート法による復帰変異試験を行った。検体は溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製し、処理容量は 0.1mL/プレートとした。予備試験において 50000 μ g/プレートで結晶析出がみられたため、最高濃度は 25000 μ g/プレートとし、本試験は 10~25000 μ g/プレートの 8 用量で実施した。試験は 2 連制とし 1 回行った。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数し、溶媒対照に比し 2 倍以上の用量相関性のある復帰変異コロニー数の増加が認められた場合に変異原性を有すると判定した。再試験は実施しなかった。

結 果 :

次表に示したように、各菌株において S9-mix の有無にかかわらず用量相関性を伴った復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

陽性対照として用いた AF-2、ENNG (N-エチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン)、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また、2-アミノアントラセンは S9-Mix を加えることにより活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

以上の結果より、シフルトリンの復帰突然変異性は S9-mix の有無にかかわらず陰性と考えられた。

表2 Ames 試験成績

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9- mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)	0		14	3	122	7	17	33
			20	5	104	3	8	30
検体	10	-	12	5	106	3	30	43
			7	11	122	5	11	39
	50		18	12	106	4	20	28
			16	4	112	9	28	40
	100		12	5	110	8	20	31
			8	8	89	9	7	37
	500		15	4	156	8	19	26
			17	11	107	9	17	30
	1000		16	6	123	3	24	40
			17	7	108	3	17	29
	5000		14	8	104	6	15	40
			17	6	101	7	13	28
	10000		19	7	110	6	20	30
			17	5	114	6	15	28
25000	18	12	126	6	16	29		
	13	7	129	1	14	41		
溶媒対照 (DMSO)	0		18	10	85	8	28	36
			12	12	143	6	32	32
検体	10	+	15	5	96	4	45	35
			17	7	105	9	40	38
	50		15	11	115	6	36	35
			12	5	137	7	29	40
	100		21	9	125	14	35	35
			13	6	98	11	35	47
	500		10	3	109	5	37	26
			27	4	121	5	40	31
	1000		12	4	124	3	33	26
			10	10	123	3	42	29
	5000		19	5	81	4	34	18
			17	6	83	5	36	31
	10000		16	14	90	3	21	29
			13	7	96	4	39	36
25000	12	5	112	7	33	28		
	16	9	92	10	35	32		
陽性対照		-	a	b	c	d	e	f
			336	139	416	>2000	352	654
			345	174	362	>2000	315	610
陽性対照 2-amino- Anthracene (2-AA)		-	i	h	g	h	g	g
			14	7	119	11	17	30
	+	14	10	134	8	23	42	
		1964	224	400	93	216	418	
			1812	239	436	113	277	302

2 連で実施、培養時間は 48 時間とした。

- a) $0.04 \mu\text{g}/$ プレート AF-2 b) $5 \mu\text{g}/$ プレート ENNG
 c) $0.01 \mu\text{g}/$ プレート AF-2 d) $80 \mu\text{g}/$ プレート 9-aminoacridine
 e) $2 \mu\text{g}/$ プレート 2-nitrofluorene f) $0.1 \mu\text{g}/$ プレート AF-2
 g) $0.5 \mu\text{g}/$ プレート 2-AA h) $2 \mu\text{g}/$ プレート 2-AA i) $40 \mu\text{g}/$ プレート 2-AA

哺乳動物細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (HPRT 前進突然変異試験)

毒性資料 No. 原体-36

試験機関：

報告書作成年：1985年 [GLP 対応]

検体の純度：94.7%

試験方法：チャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S9-mix) の存在下および非存在下で、HPRT 遺伝子座の前進性遺伝子突然変異試験を行った。検体はアセトンに溶解して 3~10 μ L/mL の濃度で試験を実施した。検体処理時間は5時間とし、検体処理後、洗浄しさらに 18~24 時間培養した。変異原性の評価のため細胞を播種して 7~9 日間培養し、その後 6-チオグアニン (TG) を含む選択培地に再播種、さらに 7~10 日間培養後に突然変異コロニーを計数した。各用量 5 枚のプレートを用いた。併せて 6-チオグアニンを含まない培地に細胞を播種し同様の処理後にコロニー形成率を求めた。

細胞毒性の評価は検体処理、洗浄しさらに 18~24 時間培養後、さらに細胞を播種して 7~9 日間培養後に溶媒対照に対するコロニー形成率を求め、これを指標とした。

結果の評価は用量相関性のある突然変異誘発頻度の増加がみられた場合を陽性とした。また、何れの場合も無処理、溶媒対照ならびに陽性対照 (エチルメタンスルホネート (-S9) およびベンツ(a)ピレン (+S9)) を同時に試験した。

なお、薬物代謝活性化系 (S9-mix) 非存在下の試験の結果、用量に依存した増加ではないが突然変異誘発頻度の増加を示す濃度区があったことから、同じ濃度で確認試験を行った。

用量設定根拠：細胞毒性をみるため 0.001~10 μ L/mL の範囲で 9 段階の濃度区を設定しコロニー形成を調べた。その結果、最高濃度の 10 μ L/mL でも明らかなコロニー形成阻害がみられなかったことから、上記のごとく本試験の濃度範囲を設定した。

結果：本試験の結果を表 1 に、また確認試験の結果を表 2 に示した。

表 1 に示したように、S9-mix の存在の有無に係わらず、突然変異誘発頻度の明らかな増加は観察されなかった。無処理および溶媒対照区の変異誘発頻度の背景範囲は 20×10^{-6} 以下であり、検体のいずれの濃度区もそれを上回るものではなかった。ただ、S9-mix 非存在下の結果で、用量に依存していないが突然変異誘発頻度の増加を示す濃度区がみられたことから、同じ濃度範囲で確認試験が行われた。その結果、表 2 に示すように各濃度区で突然変異誘発

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

頻度の明らかな増加は全く観察されず、先の試験結果は偶発的なものと考えられた。

陽性対照では突然変異誘発頻度の明らかな増加が認められ試験系の感受性が確認された。

以上の結果より、シフルトリンは、哺乳動物細胞を用いての代謝活性化を含む HPRT 前進突然変異試験で、遺伝子突然変異誘発性を有さないと考えられた。

表 1. 前進突然変異試験成績

薬 剤	濃度 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	S9-Mix の有無	TG 処理前 コロニー 形成率 [#] (%)	TG 処理後 コロニー 形成率(%)	平均突然変異 誘発頻度 ($\times 10^{-6}$)
無処理		-	89	108	3.7
溶媒対照 (アセトン)	0		100	100	3.9
検 体	3		108	105	11.3
	5		93	124	3.2
	7		82	91	1.4
	9		94	103	6.4
	10	88	79	18.3	
陽性対照 (EMS)	0.2		29	99	297.3
無処理		+	84	100	11.5
溶媒対照 (アセトン)	0		100	100	<1.9
検 体	3		95	106	9.1
	5		100	87	2.2
	7		94	96	10.0
	9		106	77	<2.5
	10	95	—	—	
陽性対照 (B(a)P)	4 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		51	63	331.9

#: TG 処理前コロニー形成率：細胞毒性の指標
コロニー形成率はいずれも溶媒対照に対する割合。

EMS：エチルメタンサルホネート

B(a)P：ベンツ(a)ピレン

表 2. 前進突然変異試験成績 (確認試験)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	S9-Mix の有無	TG 処理前 コロニー 形成率 [#] (%)	TG 処理後 コロニー 形成率(%)	平均突然変異 誘発頻度 ($\times 10^{-6}$)
無処理		—	112	133	1.5
溶媒対照 (アセトン)	0		100	100	18.6
検 体	3		79	104	5.7
	5		88	99	5.9
	7		84	103	10.5
	9		113	99	5.0
	10		94	94	2.1
陽性対照 (EMS)	0.2	22	75	500.0	

相対的生存率、相対的コロニー形成率はいずれも溶媒対照に対する割合。

EMS: エチルメタンサルホネート

B(a)P: ベンツ(a)ピレン

培養細胞における *in vitro* 染色体異常試験 (1)

毒性資料 No. 原体-37

試験機関:

報告書作成年: 1986年 [GLP 対応]

検体の純度: 93.7%

試験方法: チャイニーズハムスター肺由来の培養細胞を用い、染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下で検索した。検体に最も適した溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を選択した。試験濃度は S9-mix の非存在下、存在下共に 14.3~1432 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (3.3×10^{-5} ~ 3.3×10^{-3} M 相当) の範囲で5濃度とした。そして S9-mix の非存在下では検体を 24 および 48 時間処理し染色体標本を作製した。S9-mix の存在下では検体を 6 時間処理、新しい培地に交換し、検体処理開始から 18 および 24 時間培養後に染色体標本を作製した。また、何れの場合も無処理、溶媒対照ならびに陽性対照 (マイトマイシン C (-S9) およびベンツ (a) ピレン (+S9)) を同時に試験した。すべて各濃度あたり 2 系列で培養した。1 用量あたり 200 個の分裂中期像を観察した (但し陽性対照は 100 個)。そして用量相関性のある 10%以上の染色体異常率の増加が認められた場合、陽性と判定した。また細胞 1000 個に占める中期分裂像の出現頻度を算出し分裂指数とした。

用量設定根拠: 細胞毒性をみるために増殖抑制試験を行い、その結果に基づいて上記の試験濃度を設定した。S9-mix の非存在下 48 時間処理では 1432 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (3.3mM 相当) で約 50%の増殖抑制がみられたが、434 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (1 mM 相当) 以下では明らかな増殖抑制は観察されなかった。また S9-mix の存在下では 6 時間処理で 1432 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (3.3mM 相当) で増殖抑制は観察されなかったものの細かい油滴状物質が生じた。以上より、本試験では S9-mix の非存在下、存在下共に 14.3、43.4、143.2、434 および 1432 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 5 濃度を設定した。

結果: S9-mix の非存在下における結果を表 1、存在下での結果を表 2 に示した。

本試験条件においては S9-mix 存在の有無に係らず検体投与による染色体構造の異常率の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C およびベンツ (a) ピレンでは顕著な染色体構造異常率の増加が見られた。

以上、シフルトリンは代謝活性化を含む本試験条件下でチャイニーズハムスター肺由来由来培養細胞における染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (2)

毒性資料 No. 原体-38

試験機関：

報告書作成年：1988年 [GLP 対応]

検体の純度：95.3% (2回の分析平均)

試験方法：ヒトのリンパ球を用い、染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (Aroclor 1254 で誘導したラット S9-mix) の存在下および非存在下で検索した。検体の溶媒はジメチルスルホキシド (DMSO) とした。

S9-mix 非存在下では検体処理開始から 24 時間培養後に染色体標本を作製した。S9-mix 存在下では検体を 2.5 時間処理し、検体処理後新しい培地に交換して、検体処理開始から 24 時間培養後に染色体標本を作製した。初回の試験濃度は S9-mix の非存在下、存在下共に 500、1000 および 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度とした。溶媒対照ならびに陽性対照 (MMC: マイトマイシン C (-S9) および CPA: シクロホスファミド (+S9)) を同時に試験した。

標本作製前 3 時間にはコルヒチン処理を行った。すべて各濃度あたり 2 系列で培養した。1 濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察した。そして構造異常を有する細胞の出現頻度が用量相関的に増加した場合、変異原性陽性と判定した。

なお、初回の試験でやや曖昧な結果が得られたことから、その結果に基づきあらたな濃度を設定し、さらに 2 回の試験を実施した。

濃度設定根拠：100-10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で予備試験を行った結果、S9 の有無に係わらず 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上分裂指数の減少がみられた。また 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で結晶析出を確認した。ゆえに上記のごとく本試験の濃度を 500、1000 および 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 3 濃度とした。

結 果：試験結果を表 1 に示した。

S9-mix 非存在下 24 時間処理では各濃度で染色体の構造異常率が統計学的有意に増加した。また、S9-mix 存在下 2.5 時間処理でも 500 および 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でギャップを含まない染色体の構造異常の統計学的有意な増加がみられた。しかし、S9-mix 非存在下、存在下共に明らかな濃度相関性はみられず、また増加の程度も比較的低いものであった。

そこで、2 回にわたり追加の確認試験を実施した結果、表 2 および 3 に示したように、S9-mix の有無に係わらず検体処理による染色体の構造異常率の増加は認められなかった。わずかに 3 回目の試験 (2 回目の確認試験) の S9-mix 非存在下、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で統計学的有意な増加がみられたが、その増加の程度は低く、また濃度に依存した増加がみられなかったことから、偶発的な変動と

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

考えられた。

一方、陽性対照として用いた MMC (-S9) および CPA (+S9) は構造的染色体異常の明らかな増加を誘発した。

以上の結果から、シフルトリンは代謝活性化を含む本試験条件下でのヒトのリンパ球に対して、染色体異常誘発性を有さないものと考えられた。

表 1 染色体異常試験結果 (1 回目)

薬 劑	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (h)	標本 作製 時間 (h)	S9- mix の 有無	分裂 指数 (%) [#]	観察 細胞 数	構造異常分類					異常出現頻度 (%)				
							ギ ャ ッ プ	切 断	断 片	欠 失	交 換	構造			数的	
												ギ ャ ッ プ (+)	ギ ャ ッ プ (-)	交 換 の み		多 核 細胞
溶媒 対照	0 (DMSO)	24	24	-	100	200	5	2	1	1		4.0	2.0	0.0	0.0	
検体	500				43**	200	14	5	2				8.5*	3.5	0.0	0.0
	1000				33**	200	23	7	4		1		14.0**	6.0*	0.5	0.0
	5000				17**	100	11	9	1				11.0*	7.0*	0.0	0.3
陽性 対照 (MMC)	0.15				55**	200	54	57	3		18	41.5**	30.5**	9.0**	0.0	
溶媒 対照	0 (DMSO)	2.5	24	+	100	200	13	3				7.5	1.0	0.0	0.5	
検体	500				48**	200	13	7	4				9.5	5.0*	0.0	0.5
	1000				35**	200	7	9	2				8.0	4.5*	0.0	0.0
	5000				67**	200	13	3	1				8.5	2.0	0.0	0.3
陽性 対照 (CPA)	15				57**	200	46	57	7		4	34.0**	24.5**	2.0	0.0	

MMC : マイトマイシン C, CPA : シクロホスファミド

分裂指数 (%) # : 溶媒対照に対する%

カイ 2 乗検定 : * : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

表 2 染色体異常試験結果 (2 回目)

薬 劑	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (h)	標本 作製 時間 (h)	S9- mix の 有無	分裂 指数 (%) [#]	観察 細胞 数	構造異常分類					異常出現頻度 (%)			
							ギ ャ ッ プ	切 断	断 片	欠 失	交 換	構造			数的
												ギ ャ ッ プ (+)	ギ ャ ッ プ (-)	交 換 の み	
溶媒 対照	0 (DMSO)	24	24	-	100	200	5	2				3.5	1.0	0.0	0.3
検体	500				56**	200	11	4	2			7.0	3.0	0.0	0.3
	1000				64**	200	8	4	1			4.5	1.0	0.0	0.0
	2000				41**	200	7	1	3			5.5	2.0	0.0	0.5
陽性 対照 (MMC)	0.15				91	200	89	38	3	1	6	42.5**	23.5**	3.0*	0.0
溶媒 対照	0 (DMSO)	2.5	24	+	100	200	11	3				6.0	1.0	0.0	0.3
検体	500				57**	200	13		1			7.0	0.5	0.0	0.3
	1000				42**	200	7	1	1			4.0	0.5	0.0	0.3
	2000				51**	200	15	1				8.0	1.0	0.0	0.0
陽性 対照 (MMC)	15				84*	200	59	46	4	1	8	34.0**	22.5**	4.5**	0.5

MMC : マイトマイシン C, CPA : シクロホスファミド

分裂指数 (%) # : 溶媒対照に対する%

カイ 2 乗検定 : * : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

表3 染色体異常試験結果 (3回目)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (h)	標本 作製 時間 (h)	S9- mix の 有無	分裂 指数 (%) [#]	観察 細胞 数	構造異常分類					異常出現頻度 (%)			
							ギ ャ ッ プ	切 断	断 片	欠 失	交 換	構造			数的
												ギ ャ ッ プ (+)	ギ ャ ッ プ (-)	交 換 の み	
溶媒 対照	0 (DMSO)	24	24	-	100	200	5	2				3.0	1.0	0.0	0.0
検体	1000				36**	200	12	4	2			7.5*	3.0	0.0	0.0
	2000				37**	200	13	1	2			6.0	1.5	0.0	0.0
	4000				37**	200	5	5				5.0	2.5	0.0	0.0
陽性 対照 (MMC)	0.15				52**	200	122	63	9		17	52.0**	33.0**	8.5**	0.0
溶媒 対照	0 (DMSO)	2.5	24	+	100	200	7	2				4.0	1.0	0.0	0.0
検体	1000				29**	200	13	2	1			7.0	1.5	0.0	0.5
	2000				56**	200	12	4	1	1		6.5	3.0	0.0	0.0
	4000				64**	200	10	4			1	7.0	2.5	0.5	0.0
陽性 対照 (MMC)	15				30**	200	73	58	11		11	43.0**	28.5**	6.0**	0.3

MMC : マイトマイシン C, CPA : シクロホスファミド

分裂指数 (%) # : 溶媒対照に対する%

カイ2乗検定 : * : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

培養細胞に対する *in vitro* 姉妹染色分体交換試験

毒性資料 No. 原体-39

試験機関：

報告書作成年：1985年 [GLP 対応]

検体の純度：94.7%

試験方法：チャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞を用い、姉妹染色分体交換 (SCE) を指標とした染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下で検索した。検体に最も適した溶媒としてアセトンを選択した。試験濃度は S9-mix の非存在下において 3~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で 4 濃度、S9-mix の存在下で 125~1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で 4 濃度とした。

各濃度につき 2 連で行い、検体の暴露時間は S9-mix の非存在下では 26~32 時間、存在下では 2 時間とし、2-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU：最終濃度 0.01mM) とコルセミド (0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) で処理後、分裂中期細胞を回収し、標本作製して鏡検した。SCE の観察は各培養あたり 25 の中期分裂細胞 (2 回目分裂：M2)、各濃度 50 細胞について行い、併せて 100 個の中期分裂細胞について分裂回数の比率も調べた。そして溶媒対照の SCE の 2 倍の SCE がみられ、明らかに用量相関ある増加がみられた場合、陽性と判定した。

何れの場合も無処理、溶媒対照ならびに陽性対照 (トリエチレンメラミン (-S9) およびシクロホスファミド (+S9)) を同時に試験した。検体と同様にすべて各濃度あたり 2 連で培養した。

用量設定の根拠：細胞毒性をみるための予備試験を 0.1~1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度範囲で行った。その結果、S9-mix の非存在下では 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で明らかな生長抑制がみられた。一方 S9-mix の存在下では 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でも明らかな生長抑制は観察されなかったが、結晶析出を観察した。以上の結果から上記のごとく本試験の濃度を設定した。

結果：試験結果を表 1 に示した。

S9-mix の非存在下条件において 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では明らかに細胞毒性が生じ、第 2 期分裂像がみられなかった。また 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でも明らかな細胞分裂周期の遅延がみられた。しかし、各濃度区で明らかな SCE の増加は観察されなかった。一方、S9-mix の存在下条件においては 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で SCE の増加が統計学的に有意に認められた。しかしその変動は小さく、また 2 連のうち 1 連では溶媒対照区よりも低値であったことから、この変動は検体処理には関連しない偶発的なものと考えられた。

陽性対照 ((-S9) トリエチレンメラミン (TEM) および (+S9) シクロホスファミド (CP)) では明らかな SCE の増加がみられた。

以上、シフルトリンはチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞に対する *in vitro* 姉妹染色分体交換試験において S9-mix の有無に係わらず陰性と考えられた。

表 1. *in vitro* 姉妹染色分体交換試験結果

薬剤	濃度 µg/mL	S9- mix	検査 細胞数	細胞分裂周期 (%)			SCE/ 染色体	SCE 平均値±SD
				M1	M2	M3		
無処理			25	12	88	0	0.61	12.20±3.66
			25	4	96	0	0.67	
対照 (アセトン)	0		25	4	96	0	0.67	12.54±3.45
			25	10	90	0	0.65	
検体	3	-	25	36	64	0	0.70	13.44±3.14
			25	12	88	0	0.71	
	5		25	8	92	0	0.56	11.72±3.09
			25	10	90	0	0.68	
	10		25	18	82	0	0.68	12.56±3.28
			25	14	86	0	0.65	
	20		25	72	28	0	0.59	10.73±3.20
			25	86	14	0	0.55	
陽性 対照	TEM 0.025	25	14	86	0	2.56	48.62±7.99**	
		25	4	96	0	2.55		
薬剤	濃度 µg/mL	S9- mix	検査 細胞数	細胞分裂周期 (%)			SCE/ 染色 体	SCE 平均値±SD
				M1	M2	M3		
無処理			25	14	86	0	0.63	12.17±3.31
			25	8	92	0	0.65	
対照 (アセトン)	0		25	0	100	0	0.79	13.84±4.28
			25	4	96	0	0.67	
検体	125	+	25	10	90	0	0.69	14.04±4.25
			25	6	94	0	0.78	
	250		25	0	100	0	0.70	13.58±3.50
			25	16	84	0	0.73	
	500		25	2	98	0	0.78	15.13±4.21
			25	8	92	0	0.79	
	1000		25	8	92	0	0.78	15.84±4.74*
			25	12	88	0	0.88	
陽性 対照	CP 2.5	25	18	82	0	2.46	45.70±7.54**	
		25	12	88	0	2.36		

** : P. < 0.01 (Dunnett 検定あるいは Student t-test)

TEM: トリエチレンメラミン、CP: シクロホスファミド

培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

毒性資料 No. 原体-40

試験機関：

報告書作成年：1985 年 [GLP 対応]

検体の純度：94.7%

試験方法：無処理の雄の Sprague-Dawley 系ラットを麻酔下にてコラゲナーゼ液等で生体位灌流し、肝を摘出してから Williams E (WME) 培地を用いて単離した。さらに WME 培地で 90~120 分培養し単層細胞を得た。その後リン酸緩衝液で未接着の細胞を除去してから、所定の検体液（溶媒としてアセトンを使用）とともに 10 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ の ^3H -チミジンを含む培養液で 18~20 時間培養した。その後、1%クエン酸ナトリウムでの核の膨化処理に続いて、酢酸と純エタノール混液 (1:3) での細胞の固定を行い、水洗後に風乾。Kodak D-19 で現像後、ヘマトキシリンエオシン染色し標本作製した。各濃度あたり 3 枚のスライド標本作製し、各スライド標本につき 25 細胞を観察（各濃度あたり計 75 細胞）した。 ^3H -チミジンの取り込みを反映する細胞中の粒子を Artek コロニーカウンターで計測し、正味核粒子数（核粒子数-細胞質内粒子数）と修復期細胞（正味核粒子数を 5 以上もつ細胞）の割合を求めた。そして、正味核粒子数が対照より 5 以上の場合、有意な増加とみなし、濃度相関を示し少なくとも 1 濃度で有意であれば、陽性と判定した。また、用量相関性がなくても 1 濃度で有意であれば、陽性の可能性ありと判定した。

細胞毒性の確認は、 ^3H -チミジンを含まない培養液で同様に 18~20 時間培養後トリパンブルーを用い生存細胞数の計測し、溶媒対照群の生存細胞数に対する検体処理群の生存細胞数から、相対的生存率を求めた。

また陽性対照物質としては肝初代培養細胞それ自身が高い内因性の代謝能を有していることからジメチルベンズアントラセン (DMBA) を用い、その溶媒にはジメチルスルホキシド (DMSO) を使用した。

用量設定根拠：特定の肝初代培養細胞を用いることから用量設定試験として別には行われず、本試験でまず 0.07~2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で 10 濃度を設け、18~20 時間処理し、生存率をみる予備試験を行った。その結果、667 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で結晶析出をみたが、2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でも 50%以上の相対生存率を示したことから、最高濃度を 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ として本試験を実施した。

結果：試験の結果を次表に示した。

表1 *in vitro* 不定期 DNA 合成試験成績

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	正味核内 粒子数	核内に5粒 子以上有す る細胞 (%)	相対 生存率 (%)
無処理	—	0.5	1.3	91
溶媒# 対照	0 (アセトン)	0.7	0.0	100
溶媒## 対照	0 (DMSO)	0.4	0.0	100
検体	17	0.4	0.0	72
	50	0.0	0.0	51
	167	-0.1	0.0	55
	500	0.0	0.0	45
	1667	-0.1	0.0	57
	5000	-0.3	0.0	96
陽性 対照 (DMBA)	3	25.3	100	44
	10	27.2	100	24

#：検体の溶媒

##：陽性対照物質の溶媒

表にみられるように正味核内粒子数において検体処理による有意な増加は認められなかった。また、核内粒子を5以上有する細胞（修復期細胞）の増加も認められなかった。

一方、陽性対照区では明らかな正味核粒子数と修復期細胞の明らかな増加がみられた。

以上の結果より、シフルトリンは、ラット肝臓の初代培養細胞における不定期 DNA 合成を指標とした DNA 損傷を示さないと考えられた。

マウスを用いた小核試験

毒性資料 No. 原体-41

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体の純度：83.6%

供試動物：NMRI マウス (NMRI/ORIG Kisslegg)、8~12 週齢 (投与時体重 26~37 g)、
1 群雌雄各 5 匹 (2 検体投与群、溶媒および陽性対照群)

試験方法：検体をポリエチレングリコール #400 (PEG 400) に溶解し、7.5 および 15mg/kg の用量で 2 回経口投与した (投与容量：5mL/kg)。投与間隔は 24 時間とした。溶媒対照群は媒体である PEG 400 を同様に投与した。陽性対照群は脱イオン水で調製したトレニモンを 0.125mg/kg の用量で 24 時間間隔の 2 回腹腔内投与した (投与容量：10mL/kg)。

最終投与 6 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骨髓塗沫標本を作製した。各標本について 1000 個の多染性赤血球 (PCE) および正染性赤血球 (NCE) 中の、小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) および正染性赤血球 (MNCE) を計数した。また、造血機能への影響をみるために 1000 個の多染性赤血球 (PCE) に対する正染性赤血球 (NCE) の割合を求めた。そして小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) の明らかな増加がみられた場合、染色体異常誘発性が陽性と判定した。

用量設定根拠：本試験に先立ち用量設定試験が行われた。1 群 5 匹のマウスに検体の 15, 30 および 50mg/kg を 24 時間間隔で 2 回経口投与したところ、15 mg/kg でわずかに症状がみられたが耐過した。ゆえに、本試験の検体の上記のごとく設定した。

結果：検体の 15 mg/kg の 2 回投与によっても検体投与に関連した中毒症状および死亡は認められなかった。なお 15 mg/kg 群で雌 1 例の死亡が確認されたが、死因は特定できなかった。

骨髓標本の観察結果を次表に示した。なお雌雄の差は認められなかったので両性を合わせて評価した。

表 1. 小核試験の標本観察結果

薬剤	投与量 ((mg/kg)×2)	性	標本作 製時間 (h)	観察細 胞数 (合計)	1000 PCE に 対する NCE	1000 PCE に対 する MNPCE	1000 NCE に対 する MNCE
溶媒対照	0	雌雄 各 5 匹	6	10000	1439.6	2.2	1.3
検体	7.5	雌雄 各 5 匹	6	10000	1086.7	1.8	1.3
	15	雄 5 匹 雌 4 匹	6	9000	1103.7	1.8	0.8
陽性対照 (トレニモン)	0.125	雌雄 各 5 匹	6	10000	1366.7	26.6**	1.5

PCE：多染性赤血球， NCE：正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

MNCE：小核を有する正染性赤血球

統計処理：Wilcoxon 順位和検定 **: P<0.01

突然変異誘発性の評価に意味のある小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) について、2×7.5 mg/kg 群、2×15 mg/kg 群では共に 1.8/1000 であり、2.2/1000 の対照群に比較し増加は認められなかった。しかし、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の明らかな増加 (26.6/1000) を確認した。

造血機能の指標としての多染性赤血球と正染性赤血球の比率について溶媒対照群と検体投与群との間に明らかな差はみられなかった。陽性対照のトレニモンについても明らかな差はみられず、赤血球産生の抑制を示唆する所見は観察されなかった。

以上、シフルトリンは、本試験条件下において、マウスの骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

[申請者註：本試験では雌雄合計で評価がなされていたので、雌雄別に再評価した。その結果、表 2 に示したように、合計で評価した場合とほぼ同様な結果が得られた。すなわち、雌雄共に各検体投与群において小核を有する多染性赤血球の頻度の増加は認められなかった。また陽性物質では雌雄共に明らかな小核の増加がみられた。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2 マウスの小核試験における標本観察結果（最終投与 6 時間後）

群	投与量 (mg/kg) x2	動物数	1000 PCE に対する NCE (平均±SD)	1000 NCE に対 する MNNCE (平均±SD)	1000 PCE に対す る MNPCE (平均±SD)
雄					
溶媒対照	0	5	1552±742	1.6± 0.9	2.4± 1.5
検体	7.5	5	1302±618	1.8± 1.6	1.0± 0.7
	15	5	1313±418	0.7± 0.7	1.4± 1.5
陽性対照 (トレモン)	0.125	5	1212±712	1.7± 1.2	31.4± 15.1**
雌					
溶媒対照	0	5	1327±616	1.1± 1.2	2.0± 1.6
検体	7.5	5	871±284	0.8± 1.0	2.6± 1.1
	15	4	842± 96	0.9± 1.2	2.3± 1.0
陽性対照 (トレモン)	0.125	5	1522±878	1.3± 1.0	21.8± 8.3**

PCE：多染性赤血球， NCE：正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

MNNCE：小核を有する正染性赤血球

**： p<0.01 (Wilcoxon 順位和検定、申請者実施)

マウスを用いた優性致死試験

毒性資料 No. 原体-42

試験機関：

報告書作成年：1981年

検体の純度：83.6%

供試動物：NMRI マウス (NMRI/ORIG Kisslegg)、8～12 週齢 (投与時体重：雄 33～39g、雌 28～33g)、1 群雄 50 匹、雌 600 匹 (12 交配×50 匹)、2 回目の試験では雌 150 匹/群 (3 交配×50 匹) を使用。

試験方法：優性致死試験は精巣細胞の分化過程で突然変異が生じた精子との受精により生じる死胚の増加を指標として変異原性を検出する *in vivo* 試験である。検体 30 mg/kg を雄マウスに単回経口投与した。対照群は溶媒であるポリエチレングリコール #400 を同様に投与した (投与容量：10 mL/kg)。そして投与後 4 日間、雌と 1:1 で同居させ、続いて別の雌と 4 日間同居を繰り返し、計 12 回にわたり 48 日間の交配期間を設けた。雌については各同居期間 2 日目から 14 日後 (同居開始日から 16 日後) に屠殺、子宮を摘出し、黄体数、着床数、生存胚数、死胚数を計数した。

なお、本試験の結果で死胚数に第 1 交配期と第 2 交配期で検体投与群に死胚数の統計学的有意な増加が認められたので、これを精査するために 2 回目の試験を実施した。この試験では 30 および 60 mg/kg の 2 投与群を設け、交配を 4 日毎に 3 回行った。

用量設定根拠：予備試験において、1 群雄 5 匹のマウスに 検体の 30、50 および 100mg/kg を単回経口投与し観察した。その結果、30mg/kg で症状が観察されなかったことからこの用量を投与量とした。

結 果：検体投与に関連したと思われる症状および死亡は観察されなかった。

投与後の 12 回にわたる各交配における受胎率、1 腹当りの黄体数、着床数、着床前死胚数、生存胚数および着床後死胚数を表 1 に示した。

その結果、受胎率、1 腹当りの黄体数、着床数、着床前死胚数、生存胚数において対照群と投与群との間に有意な差は認められなかった。しかし着床後死胚数の増加が第 1 交配期と第 2 交配期に統計学的有意に認められた。しかし、第 1 交配期と第 2 交配期でみられた着床後死胚数の増加については各々 4 匹、2 匹のマウスにおける死胚数増加に起因しており、投与群全体で増加している傾向はみられなかった。以上より投与群にみられた第 1 交配期と第 2 交配期における着床後死胚数の増加については検体投与の影響ではなく偶発

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

的な変動と考えられた。しかしながら、完全に否定できないことから、2回目の試験を実施した。

2回目の試験では30および60mg/kgの2投与群を設けた。投与後の3回にわたる各交配における受胎率、1腹当りの黄体数、着床数、着床前死胚数、生存胚数および着床後死胚数を表2に示した。

その結果、受胎率、1腹当りの黄体数、着床数、着床前死胚数、生存胚数において対照群と投与群との間に有意な差は認められなかった。着床後死胚数については30mg/kg群の第2交配期のみ統計学的有意な増加がみられた。しかし、60mg/kg群では死胚数の増加はみられず、用量に依存した変動がみられないことから、検体投与との関連はないと考えられた。

従って、初回の試験で観察された第1交配期と第2交配期でみられた着床後死胚数の増加については再現性がみられず、検体投与による影響ではないと判断した。

以上の結果から、シフルトリンはマウスへの優性致死作用はみられず、本試験において突然変異誘発性は陰性と考えられた。

表 1. 優性致死試験結果

交配期	受胎率 [#] (%)		黄体数/1腹		着床数/1腹	
	対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群
1	86.0	74.0	10.8	10.8	10.3	10.1
2	75.5	68.0	11.1	10.6	10.5	10.2
3	53.1	52.0	10.4	10.5	10.2	10.3
4	62.0	56.0	10.9	10.6	10.6	10.0
5	70.0	58.0	10.7	11.3	10.2	11.0
6	64.0	61.2	10.8	11.2	10.5	11.0
7	72.0	66.0	11.1	10.8	11.0	10.1
8	74.0	72.0	10.6	10.6	10.4	10.3
9	82.0	86.0	11.2	11.2	10.5	10.9
10	86.0	74.0	10.5	10.9	10.3	10.4
11	70.0	74.0	11.2	11.2	11.1	11.0
12	67.3	76.0	11.3	11.3	11.2	11.0
1-12	71.9 (429/597) [#]	68.1 (408/599) [#]	10.9	10.9	10.6	10.5

: (受胎雌数/ 交配雌数) × 100

(続き)

交配期	着床前死胚数 /1腹		生存胚数 /1腹		着床後死胚数 /1腹	
	対照群	投与群	対照群	投与群	対照群	投与群
1	0.53	0.62	9.7	8.5	0.56	▲1.68
2	0.59	0.32	10.4	9.3	0.19	↑0.91
3	0.19	0.19	9.8	9.9	0.35	0.38
4	0.29	0.64	10.3	9.3	0.35	0.64
5	0.43	0.28	9.4	10.3	0.83	0.69
6	0.31	0.27	10.2	10.7	0.38	0.27
7	0.11	0.70	10.4	9.5	0.58	0.67
8	0.24	0.31	9.9	9.8	0.43	0.56
9	0.68	0.28	10.1	10.3	0.44	0.60
10	0.14	0.51	9.8	9.8	0.58	0.59
11	0.09	0.22	10.5	10.2	0.69	0.84
12	0.12	0.34	10.6	10.7	0.58	0.34
1-12	0.32	0.39	10.1	9.9	0.50	0.69

↓ ↑ : p < 0.05、▼ ▲ : p < 0.01 (分散分析 + 多重比較)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2. 優性致死試験結果 (2 回目)

交配期	受胎率 ^a (%)			黄体数/1 腹			着床数/1 腹		
	mg/kg			mg/kg			mg/kg		
	0	30	60	0	30	60	0	30	60
1	76.0	66.0	70.0	12.9	12.5	13.2	12.4	11.8	12.4
2	68.0	70.0	78.0	12.4	12.5	11.8	11.6	11.4	11.2
3	82.0	80.0	90.0	12.6	12.6	12.8	11.9	11.7	12.2
1-3	75.3 (113/150) ^b	72.0 (108/150) ^b	79.3 (119/150) ^b	12.6	12.5	12.6	12.0	11.6	11.9

: (受胎雌数/ 交配雌数) × 100

(続き)

交配期	着床前死胚数 /1 腹			生存胚数 /1 腹			着床後死胚数 /1 腹		
	mg/kg			mg/kg			mg/kg		
	0	30	60	0	30	60	0	30	60
1	0.45	0.70	0.86	11.7	11.2	11.9	0.74	0.61	0.54
2	0.76	1.06	0.64	10.9	10.0	10.7	0.76	↑ 1.40	0.56
3	0.71	0.85	0.62	11.2	11.2	11.4	0.66	0.57	0.71
1-3	0.64	0.87	0.70	11.3	10.8	11.3	0.72	0.85	0.61

↓ ↑ : p < 0.05 (分散分析 + 多重比較)

(14) 生体機能に及ぼす影響
一般薬理試験

毒性資料 No. 原体-43
試験機関：

報告書作成年：1984年

検体の純度：95%

試験動物：ウサギ（日本白色在来種）、ラット（Wistar系）、マウス（ddY系）、
モルモット（Hartley系）

試験期間：1983年7月～1984年4月

試験方法：

検体をソルポール EX10%を含むメチルセロソルブ溶解し、20%の原液を調製した。そして用時に蒸留水で希釈した。

投与方法は原則として耳静脈としたが、ラットとマウスは腹腔内投与とした。投与容量はラットとマウスでは 0.1mL/10g、ウサギでは 0.25～0.75mL/kg とした。

ウサギを用いた大部分の試験では、30～60分間隔で前回投与の約3倍量の漸増投与方法を用いた。

1) マウスの行動に対する作用

方法 0、1.5、5、15、50mg/kg の投与量を各群雌雄3匹のマウスに腹腔内投与した。検体投与後 Irwin 法に従って行動を観察した。

結果 50mg/kg 群で中枢抑制的な反応として、運動性の低下、運動失調、筋緊張低下が認められた。また挙尾や痙攣などの中枢興奮作用も軽度ながら散見され、6匹全例が30分以内に死亡した。15mg/kg 群で軽度の運動性の低下や筋緊張低下が認められたが、5mg/kg では異常は認められなかった。

2) ウサギの急性脳波に対する作用（漸増投与）

方法 0、0.5、1.5、5mg/kg を雄2匹と雌1匹のウサギの耳静脈内に投与した。ガラミンで不動化したウサギの前頭部、頭頂部、後頭部に皮質電極を、扁桃核と海馬に深部双極を装置し、急性脳波を記録した。

結果 1.5mg/kg 以下の投与で、同量の生理食塩水の投与でも出現した大徐波の一時的または持続的な消失がみられた。5mg/kg で投与直後からてんかん波と痙攣波が周率的に出現し、60分以上続いた。

3) ウサギの体温に対する作用

方法 日本抗生物質医薬品基準に記載された方法に準拠した。検体の 0.5、1.5mg/kg を各群 3 匹の雄のウサギの耳静脈内に投与した。

結果 1.5mg/kg 群で投与後 30~60 分に体温の軽度な上昇(+0.8°C)がみられたが、90~120 分後には回復した。0.5mg/kg 群では体温の変動は認められなかった。

4) ウサギの呼吸、血圧、心拍数に対する作用 (漸増投与)

方法 ウレタン麻酔 (1.5g/kg、皮下投与) 下のウサギの血圧 (後大動脈) を高圧用トランスジューサーで、呼吸をサーミスタ型センサで、心拍数を心電図 R 波タコグラフでピックアップし、ポリグラフに記録した。0.015、0.05、0.15、0.5、1.5、5、15mg/kg を雄 2 匹と雌 1 匹のウサギの耳静脈内に投与した。

結果 5mg/kg までの量では、呼吸に影響は認められなかったが、15mg/kg で著明に呼吸が亢進し、60 分以上持続した。

血圧、心拍数には 5mg/kg 以下の投与で同容量の溶媒の投与と同様な一過性の下降がみられた。15mg/kg の投与では血圧と心拍数は持続的に低下し、1 例が死亡、他の 2 例は回復した。

5) ウサギの瞳孔に対する作用

方法 0.5、1.5mg/kg を各群雄 3 匹のウサギの耳静脈内に投与した。ウサギは頸部保定器に保定し、左右の眼にほぼ同量の光があたるように設置し、瞳孔径をノギスで計測した。

結果 いずれの投与動物共、瞳孔径には有意な変動は認められなかった。

6) ウサギの前脛骨筋収縮 (漸増投与)

方法 ウレタン麻酔下のウサギの左右前脛骨筋収縮をストレンゲージでピックアップし、ポリグラフに記録した。そして脛骨筋に直接刺激を、他方の尺骨神経に間接刺激を与えた。刺激条件は、0.1Hz、0.1m 秒 (直接) または 1m 秒 (間接) 間、矩形波の超極大刺激電圧とした。支配神経は大腿部で切断した。0.05、0.15、0.5、1.5、5、15mg/kg を雌 3 例のウサギの耳静脈内に投与した。雄 3 例は、5mg/kg 投与直前にガラミン 6mg/kg を投与して神経筋接合部を遮断した。

結果 雌 3 例には 0.5mg/kg まで作用はみられなかったが、1.5mg/kg 以上で用量依存性の収縮増大がみられ、15mg/kg では著明であった。

ガラミン処理を全処理した雄 3 例では直接刺激に対する筋収縮は 5mg/kg によって著明に増大した。

7) ウサギの生体位腸管 (漸増投与)

方法 ウレタン麻酔下のウサギの回腸運動をバルーン法によって低圧トランス

ジューサでピックアップし、ポリグラフに記録した。0.015、0.05、0.15、0.5、1.5、5、15mg/kg を雄3匹のウサギの耳静脈内に投与した。

結果 0.15mg/kg 以上の投与によって一過性の腸管運動の抑制が認められた。15mg/kg では運動の亢進が認められた。

8) ウサギの生体位子宮運動 (漸増投与)

方法 ウレタン麻酔下の経産ウサギの子宮にバルーンを挿入し、圧変化を低圧用トランスジューサでピックアップし、ポリグラフに記録した。0.5、1.5、5、15mg/kg を雌3匹のウサギの耳静脈内に投与した。

結果 15mg/kg によって子宮運動の亢進や抑制が認められたが、5mg/kg 以下では影響は認められなかった。

9) ラットの尿排泄

方法 各群雄5匹のラットを18時間絶食、絶水し、0、0.5、1.5、5mg/kg を腹腔内投与した。検体の腹腔内投与直前に生理食塩水 15mL/kg を経口負荷した。検体投与直後から3時間の尿を集め、尿量、 Na^+ 、 K^+ 、浸透圧を定量的に、pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血を試験紙で半定量的に測定した。

結果 0.5mg/kg 群の K^+ 量に有意な増加が認められたが、用量に依存していなかった。その他の項目にも検体に起因する変化は認められなかった。

10) モルモットの摘出回腸

方法 成熟雄モルモットから摘出した回腸をタイロード液中に懸吊し、その収縮を等張性収縮用トランスジューサでピックアップし、ポリグラフに記録した。用いた収縮薬の濃度はアセチルコリン 10^{-7} g/mL 及びヒスタミン 2×10^{-8} g/mL、ニコチン 2×10^{-6} g/mL とした。検体 (10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 10^{-4} g/mL) と収縮薬の投与間隔は4分とした。

結果 3種の収縮薬による収縮に対し、 10^{-5} g/mL 以上で用量依存的に収縮の抑制を示した。しかし 10^{-4} g/mL でも完全には抑制しなかった。

11) モルモットの摘出輸精管

方法 成熟雄モルモットから摘出した輸精管をタイロード液中に懸吊し、エピネフリン 10^{-5} g/mL 及びアセチルコリン 10^{-6} g/mL に対する収縮を等張性収縮用トランスジューサでピックアップし、ポリグラフに記録した。検体の濃度は 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 10^{-4} 、 3×10^{-4} 、 10^{-3} g/mL とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果 アセチルコリン 10^{-6} g/mL による収縮に対して検体の 3×10^{-5} g/mL 以上で、エピネフリン 10^{-5} g/mL による収縮に対しては、検体の 10^{-4} g/mL 以上で用量相関性に収縮の抑制を示した。

12) ウサギの溶血

方法 ウサギ血液から赤血球を分離して生理食塩水中に浮遊させ、検体の 10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 10^{-4} 、 3×10^{-4} 、 10^{-3} 、 3×10^{-3} g/mL を加えて、 30°C 恒温槽中に 2 時間放置し、遠沈上清の色を肉眼的に判定した。なお、各検体濃度に含まれる各溶媒対照を設定した。

結果 用いた溶媒は溶血作用が強く、むしろ検体の溶解によって、その溶血作用が弱まった。

13) ウサギの血液凝固

方法 ウサギ血液を心穿刺によって採取し、検体 (10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 10^{-4} 、 3×10^{-4} 、 10^{-3} 、 3×10^{-3} g/mL) を入れた試験管に分注し、傾斜法によって凝固時間を測定した。

結果 3 例中 2 例で 3×10^{-4} g/mL 以上の濃度で凝固時間の短縮が認められたが、他の 1 例では 3×10^{-3} g/mL までの濃度で影響しなかった。

次表に各試験結果を要約したように、比較的致死量に近い量*で、生体に強い作用を示すが、その 1/10 量では明らかな影響を示さなかった。薬理作用としては、摘出臓器で抗アセチルコリン作用、抗ニコチン作用、抗エピネフリン作用がみられたが、いずれも生体内における毒性学的意義は低いと考えられた。

*致死量 ラットおよびマウス;約 50mg/kg(腹腔内投与),
ウサギ約 15mg/kg(静脈内投与)

シフルトリンの一般薬理作用の要約

試験項目 (試験動物)	投与経路	投与量 (mg/kg)	動物数	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	行動 (マウス)	腹腔内	0, 1.5, 5, 15, 50	♂3♀3 /群	5	15	50mg/kg で運動性の低下、運動失調、筋緊張低下、挙尾や痙攣。全例が30分以内に死亡。15mg/kg で軽度の運動性の低下や筋緊張低下
	脳波 (ウサギ)	静脈内# (麻酔下)	0, 0.5, 1.5, 5	♂2♀1	1.5	5	5mg/kg で投与直後からてんかん波と痙攣波が周期的に出現。
	体温 (ウサギ)	静脈内	0, 0.5, 1.5	♂3/群	0.5	1.5	1.5mg/kg で投与30~60分に体温の軽度上昇。
呼吸循環系	呼吸、血圧 心拍 (ウサギ)	静脈内# (麻酔下)	0, 0.015, 0.05, 0.15, 0.5, 1.5, 5, 15	♂2♀1	5	15	15mg/kg で著明に呼吸が亢進。血圧と心拍数は持続的に低下し、1例が死亡。
末梢神経系	瞳孔径 (ウサギ)	静脈内	0, 0.5, 1.5	♂3/群	1.5	—	検体投与の影響なし。
	骨格筋 (ウサギ)	静脈内# (麻酔下)	0, 0.05, 0.15, 0.5, 1.5, 5, 15	♂3♀3	0.5	1.5	1.5mg/kg 以上で用量依存性の収縮増大。5mg/kg 以上では著明。
	腸管 (ウサギ)	静脈内# (麻酔下)	0, 0.015, 0.05, 0.15, 0.5, 1.5, 5, 15	♂3	0.05	0.15	0.15mg/kg 以上で一過性の腸管運動の抑制。15mg/kg では運動亢進。
	子宮 (ウサギ)	静脈内# (麻酔下)	0, 0.5, 1.5, 5, 15	♀3	5	15	15mg/kg で子宮運動の亢進や抑制
腎機能	尿排泄 (ラット)	腹腔内	0, 0.5, 1.5, 5	♂5/群	5	—	検体投与の影響なし。
摘出臓器	回腸 (モルモット)	<i>In vitro</i> (タイロト液)	$10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 3 \times 10^{-5}, 10^{-4}$ (g/mL)		10^{-6} (g/mL)	10^{-5} (g/mL)	アセチルコリン、ニコチン、ヒスタミン収縮に対し 10^{-5} g/mL 以上で抑制。
	輸精管 (モルモット)	<i>In vitro</i> (タイロト液)	$10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 3 \times 10^{-5}, 10^{-4}, 3 \times 10^{-1}, 10^{-3}$ (g/mL)		10^{-5} (g/mL)	3×10^{-5} (g/mL)	アセチルコリン収縮に対し 3×10^{-5} g/mL 以上で、エピネフリン収縮に対し 10^{-4} g/mL 以上で用量相関性に収縮の抑制
血液系	溶血 (ウサギ)	<i>In vitro</i> (生理食塩水)	$10^{-5}, 3 \times 10^{-5}, 10^{-4}, 3 \times 10^{-1}, 10^{-3}, 3 \times 10^{-3}$ (g/mL)		3×10^{-3} (g/mL)	—	検体投与の影響なし。
	抗凝固 (ウサギ)	<i>In vitro</i> (生理食塩水)	$10^{-5}, 3 \times 10^{-5}, 10^{-4}, 3 \times 10^{-1}, 10^{-3}, 3 \times 10^{-3}$ (g/mL)		10^{-4} (g/mL)	3×10^{-4} (g/mL)	3×10^{-4} g/mL 以上で凝固時間の短縮

#: 漸増投与

(16) その他

救命

毒性資料 No. 原体-44

試験機関：

報告書作成年：1984年

試験目的：検体のラットおよびマウスを用いた急性毒性試験において経口 LD₅₀ 値が 100～500mg/kg と比較的強い急性毒性がみられた。主な中毒症状として流涎や四肢の不随意動作、痙攣等がみられたことから、抗コリン作用薬のアトロピンと抗痙攣薬のメトカルバモルを救命剤として用い、単独および併用処理による救命試験を実施した。本試験では、実用性を考慮し原体の代わりに液剤を用いた。

検 体：バイスロイド液剤（シフルトリン 5%含有）

試験動物：ICR 雄マウス、Sprague-Dawley 雄ラット 1群 10匹

試験期間：1983年11月～1984年2月

試験方法：

バイスロイド液剤を蒸留水で希釈しマウス用として 15%液、ラット用 50%液を調製した。投与経路は経口とし、投与容量を変えて所定投与量を投与した。

救命剤として用いた硫酸アトロピンについては生理食塩水を加え、マウス用として 1%水溶液、ラット用として 2.5%水溶液を調製した。またメトカルバモルについては市販のロバキシ注を用い、マウス用として生理食塩水の 5 倍希釈液を、ラット用には原液を用いた。

ラットとマウスとも①無処理群、②アトロピン処理群（マウスには検体投与後 20 分と 2 時間に各 50 mg/kg、ラットには検体投与後 30 分、3 時間、24 時間に各 25 mg/kg）、③メトカルバモル処理群（マウスには検体投与後 20 分、2 時間に各 100 mg/kg、ラットには検体投与後 1、3、24 時間に各 50 mg/kg）、④併用処理群（①と②との組合せ）を設け、各処理群ともバイスロイド液剤の LD₅₀ を求めるために各 4～6 群を設けた。

アトロピンおよびメトカルバモルの投与経路はいずれも腹腔内とした。観察期間は検体投与後 7 日間とした。この間、死亡状況、中毒症状を経時的に記録した。また LD₅₀ の算出はプロビット法に従った。

結 果：

1) マウス

表1 マウスにおける救命試験結果

処理群		①無処理	②アトロピン 処理	③メトカルバモ ル処理	④併用処理
救命剤処理		—	20分 2時間 後	20分 2時間 後	20分 2時間 後
シフルトリン		350 (0)	500 (10)	500 (0)	700 (0)
投与量 (死亡率)		500 (20)	700 (40)	700 (30)	1000 (20)
mg/kg (%)		700 (60)	1000 (60)	1000 (50)	1400 (70)
		1000 (90)	1400 (90)	1400 (80)	2000 (90)
		1400 (100)			
発現 時間	流涎	5分～10分	5分～20分	5分～10分	5分～10分
	不随意動作	30分～1時間	30分～1時間	30分～1時間	1～2時間
死亡 時間	開始	1～2時間	1～3時間	2時間	1～3時間
	終了	6時間	3～6時間	6～24時間	6～24時間
LD ₅₀ (mg/kg)		660	840	970	1280
95%信頼限界		560～770	650～1070	810～1260	1090～1510

①無処理群

無処理群では LD₅₀ 値は 660mg/kg であり、検体の投与後に主な中毒症状として流涎と四肢の異常な不随意動作が観察された。動物の死亡は大多数で2～3時間後にみられた。

②アトロピン処理群

アトロピン（抗コリン作用薬）処理群では LD₅₀ 値は 840mg/kg であり、流涎は、アトロピン処理で完全に消失したが、四肢の異常な不随意動作は一時的な軽減のみでほぼ対照群と同等であった。アトロピンの抗コリン作用により、症状の軽減とわずかな救命効果がみられた。

③メトカルバモル処理群

メトカルバモル（筋弛緩作用薬）処理群では LD₅₀ 値は 970mg/kg であり、四肢の異常な不随意動作や痙攣はメトカルバモル処理後に一時的ではあるが効果的に抑制されたが、その後は対照群と同等となった。メトカルバモル投与により筋弛緩作用のために不随意動作症状の軽減とわずかな救命効果がみられた。

④併用処理群

アトロピンとメトカルバモルの併用処理群では LD₅₀ 値は 1280mg/kg であり、中毒症状の流涎と不随意動作症状、痙攣の軽減が認められた。従って、これらの併用投与では明らかな救命効果が期待された。

2) ラット

表2 ラットにおける救命試験結果

処理群		①無処理	②アトロピン 処理	③メトカル バモル処理	④併用処理
救命剤処理		—	30分 3、24時間	1、3、24時 間	②と③の 組合せ
投与量 (死亡率) mg/kg (%)		1000 (0)	1400 (10)	1400 (0)	1400 (0)
		1400 (10)	2000 (30)	2000 (20)	2000 (10)
		2000 (40)	2800 (50)	2800 (50)	2800 (50)
		2800 (90)	4000 (80)	4000 (80)	4000 (60)
		4000 (100)	5600 (100)	5600 (100)	5600 (100)
発現 時間	流涎	10分～15分	10分～15分	5分～10分	10分
	不随意動作	1～2時間	1～2時間	2～6時間	1～3時間
死亡 時間	開始	2時間～2日	3～24時間	3～24時間	4～24時間
	終了	24時間～3日	2日	2～3日	2～3日
LD ₅₀ (mg/kg)		2100	2600	2800	3100
95%信頼限界		1900～2300	2100～3200	2400～3300	2600～3700

①無処理群

無処理群では LD₅₀ 値は 2100mg/kg であり、検体の投与後に主な中毒症状として流涎と四肢の異常な不随意動作が観察された。動物の死亡は大多数で数時間後から投与翌日にみられた。

②アトロピン処理群

アトロピン処理群では LD₅₀ 値は 2600mg/kg であり、流涎は、アトロピン処理で完全に消失したが、四肢の不随意動作に対しては一時的な軽減のみでほぼ対照群と同等であった。アトロピン投与により抗コリン作働性を介して、症状の軽減とわずかな救命効果がみられた。

③メトカルバモル処理群

メトカルバモル処理群では、LD₅₀ 値は 2800mg/kg であり、四肢の異常な不随意動作はメトカルバモル処理後に一時的ではあるが効果的に抑制されたが、その後は対照群と同等となった。メトカルバモル投与により筋弛緩作用のために不随意動作症状の軽減と救命効果がみられた。

④併用処理群

アトロピンとメトカルバモルの併用処理群では LD₅₀ 値は 3100mg/kg であり、中毒症状の流涎と不随意動作症状の軽減が認められた。従って、これらの併用投与では救命効果が認められた。

以上の結果から、シフルトリンの急性中毒には、アトロピンとメトカルバモルが有効で、併用投与がさらに効果的であることが示唆された。

ラットに対する急性毒性試験－体温への影響

毒性資料 No. 原体-45

試験機関：

報告書作成年：1991年 [GLP 対応]

試験目的：検体の単回経口投与によるラットの体温に対する影響を調べた。

検体の純度：95.3%

供試動物：Wistar 雄ラット、7～8週齢（投与時体重：163～185g）、1群5匹

観察期間：14日間

投与方法：検体の所定量を秤量後にポリエチレングリコール#400 (PEG 400) で溶解して調製した。投与量は0、125、250 および 500mg/kg とし強制経口投与した（投与容量：5mL/kg）。

観察・検査項目：投与後14日間にわたり、投与日は頻回、それ以降は毎日死亡および中毒症状の有無および程度等を観察した。直腸温はすべての動物を対象に投与後5、15、30分、1、2、2.5、3、3.5、5、5.5、6、6.5、7および24時間に測定した。また体重はすべての動物を対象に投与前、投与後3、7および14日に測定した。肉眼的病理検査は死亡例についてはその発見時に、生存例については観察終了時に全生存動物について行った。

結 果：

表1 ラットに対する急性経口毒性

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄： 0, 125, 250, 500
LD ₅₀ (mg/kg)	雄： > 500
死亡開始および終了時間	雄：投与後2日（1例のみ）
症状発現開始および終了時間	雄：投与後15分開始、投与後5日終了
最小致死用量 (mg/kg)	雄： 500
死亡例の認められなかった最高用量 (mg/kg)	雄： 250

1) LD₅₀

500 mg/kg 群の5例中1例に死亡がみられたのみであり、LD₅₀は500mg/kg以上と推定された。

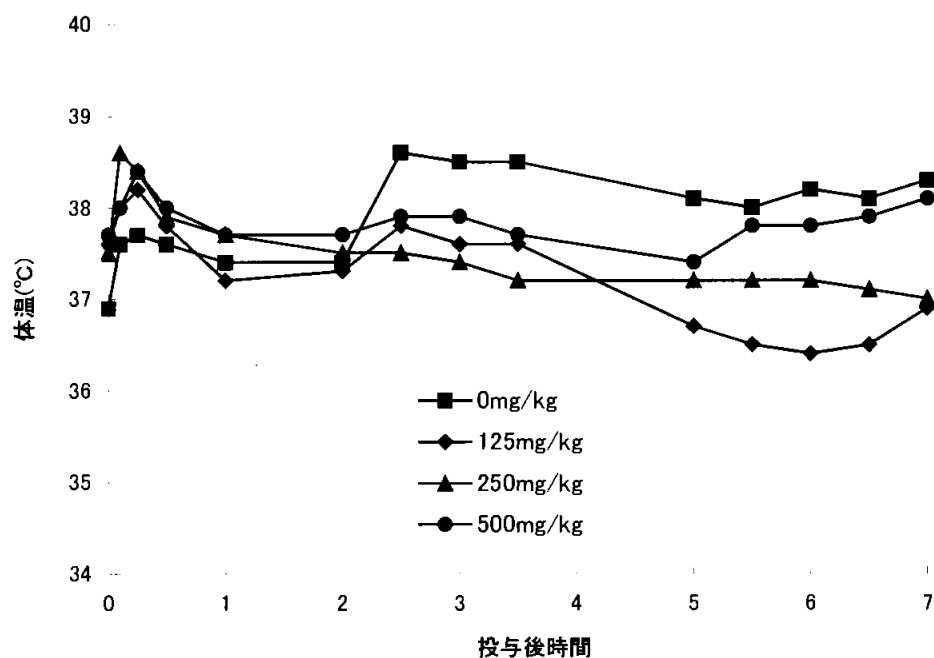
2) 中毒症状

主な症状として、足をひろげての歩行、負荷呼吸、ふるえ、時として流涎、不調な動作、立毛、ころがり動作を観察した。また対照群（0mg/kg）を含

む全群で下痢を散見した。しかしこの下痢については溶媒として用いた PEG 400 によるものと考えられた。週 1 回測定した体重への影響はみられなかった。

3) 体温変化

経口投与後 7 時間までの平均体温の推移を次図に示した。



投与 2.5 時間以降、各投与群で一過性の体温増加傾向がみられたものの、用量に依存した変動はみられず、また対照群と各投与群間に統計学的有意な差がみられなかったことから、検体投与による体温への影響はないと考えられた。

4) 肉眼的病理検査

500mg/kg 群で投与後 2 日に死亡した 1 例に対する剖検では肝臓と肺の暗色化、脾臓の退色化を観察した。生存ラットに対する投与後 14 日の剖検では検体に関連した肉眼的異常所見は観察されなかった。

以上、シフルトリンはラットへの致死量に近い急性経口投与によっても体温への影響は観察されなかった。

ラット5ヶ月反復投与試験 — 主に神経組織に対する形態学的影響

毒性資料 No. 原体-46

試験機関：

報告書作成年：1982年

試験目的：バイエル社で実施されたラット3ヶ月混餌投与毒性試験（毒性資料 No. 原体-15）では、脳以外の神経組織に対して病理組織学的検査が行われていなかった。そこで脳以外の神経組織への影響をみる目的で、5ヶ月反復投与試験を同施設内で実施した。

検体の純度：83.3%

供試動物：Wistar ラット（TNO/W 74）、投与開始時体重：雄 145～155g、雌 150～160g）、
1群雌雄各 15匹

投与期間：5ヶ月 [1980年1～6月]

投与方法：検体の 60mg/kg を5ヶ月間にわたり毎日強制経口投与した（投与容量：5.0mL/kg）。ただし症状の程度に応じて用量を30～80mg/kgの範囲で投与し、投与期間を通じての平均の投与量は約60mg/kgであった（以下60mg/kgと表記）。溶媒にはポリエチレングリコール#400（PEG 400）を用い、対照群にはPEG 400のみを同様に投与した。

試験方法：投与期間中、毎日動物を観察し、体重を毎週測定した。5ヶ月にわたる投与後、全生存動物を屠殺、肉眼的病理検査を行い、肝臓、腎臓および脳の重量を測定した。また雌雄各群5匹を対象に肝臓を摘出し、薬物代謝酵素活性（N-デメチラーゼ、O-デメチラーゼ、チトクロームP450）を測定した。さらにこれら3臓器に加えて副腎、脊髄および坐骨神経について雌雄各群5匹を対象に常法により組織標本作製し、病理組織学的検査を実施した。

結果：

1) 一般観察

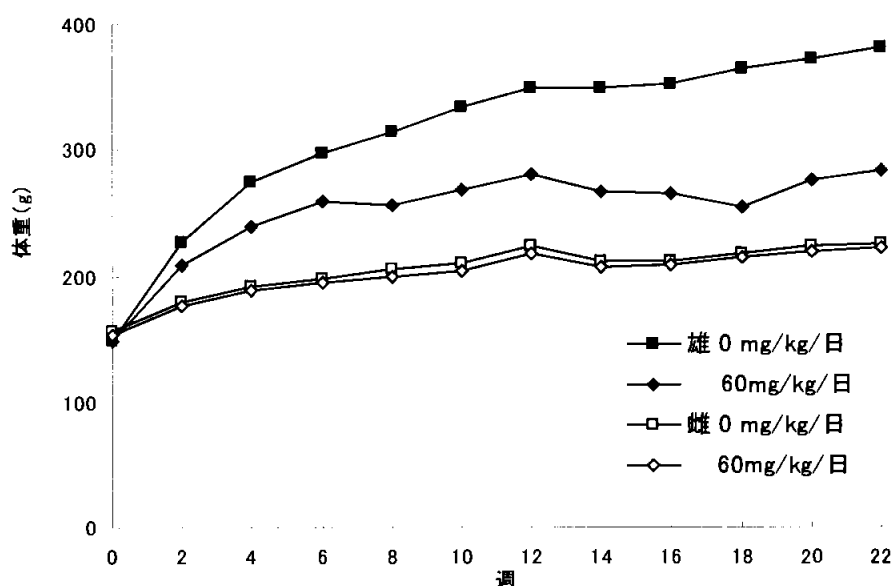
各投与の2～4時間に投与群動物で探索および身づくろい行動を観察し、時として振せんを認めた。さらに不調和な歩行や体躯のストレッチ動作、流涎を示す個体の増加をみた。投与13週からは挙尾を散見した。しかし四肢の麻痺症状は観察されなかった。

死亡は対照群で雌雄各2例、投与群では雄8例(53%)と雌2例に認め、雄で検体投与によると思われる死亡率の増加がみられた。

2) 体重

投与期間中の体重の推移を次図に示した。

図に示すごとく雄の投与群では投与期間を通じて明らかな体重増加抑制を示した。一方、雌では対照群と投与群との間に明らかな差はみられなかった。



3) 肝臓薬物代謝酵素活性

雌雄各群 5 匹を対象に肝臓薬物代謝酵素活性 (N-デメチラーゼ、O-デメチラーゼ、チトクローム P450) を測定したが、雌雄共に対照群および投与群との間に明らかな差は認められなかった。

4) 肉眼的病理検査および臓器重量

投与期間中に死亡した動物および 5 ヶ月投与後の生存動物に対する剖検の結果、検体投与に関連した肉眼的異常所見は全く認められなかった。また、脳、肝臓および腎臓の重量についても雄の投与群で対照群に比し低い体重に起因した実重量の減少傾向はみられたものの、検体の直接的なこれら臓器重量への影響は観察されなかった。

5) 病理組織学的検査

雌雄各群 5 匹を対象に病理組織学的検査を実施した結果、検体投与に関連したと思われる所見は認められなかった。とくに脳、脊髄および坐骨神経における観察において異常所見は全く観察されなかった。

以上、検体のラットに対する 5 ヶ月反復経口投与 (平均 60mg/kg/日) により、投与期間中に明らかな症状がみられ、とくに雄では死亡率の増加と体重増加抑制がみられたが、脳、脊髄および坐骨神経において病理組織学的な形態変化は観察されなかった。

ラット 14 日反復投与 (+3 ヶ月回復) 試験 (1)

— 神経組織に対する形態学的影響 —

毒性資料 No. 原体-47

試験機関：

報告書作成年：1983 年

試験目的：検体のラットを用いた 4 週間投与試験（毒性資料 No. 原体-12）において臨床症状を示した少数例の坐骨神経に単一線維の軸索変性が認められた。そこでこの形態学的変化を精査すると共にその回復をみる目的で本試験を行った。

検体の純度：95%

供試動物：Sprague-Dawley 雄ラット (CRJ:CD)、7 週齢（投与開始時体重：雄 195～228g）、投与群 50 匹および対照群 25 匹（投与後経時的に屠殺）

投与期間：14 日間 [1982 年 8 月]

観察期間：3 ヶ月間

投与方法：検体の 40 もしくは 80mg/kg* を 14 日間にわたり強制経口投与した（投与容量：2.5 あるいは 5.0 mL/kg）。溶媒にはポリエチレングリコール#400 (PEG 400) を用い、対照群には PEG 400 のみを同様に投与した。

*80mg/kg で投与を開始したが、投与期間中、症状が強くあらわれたため、投与 6～11 日および 13 日目は 40mg/kg に用量を下げた。

用量設定の根拠：予備試験の結果から軽い症状のみられた 80mg/kg を設定した。しかし上記に記載のとおり、症状に応じて 40mg/kg に用量を下げた。

観 察：投与および観察期間中、毎日動物を観察し、投与期間の毎日と投与後、翌日（1 日目）、5 日、2 週、1 ヶ月、2 ヶ月および 3 ヶ月目に体重を測定した。そして 14 日間投与後、翌日（1 日目）、5 日、1 ヶ月、2 ヶ月および 3 ヶ月目に、投与群 10 匹および対照群 5 匹を病理組織学的検査のために順次屠殺した。うち投与群 2 匹および対照群 1 匹は電顕検索用として供した（投与 2 ヶ月目を除く）。

光顕検索用動物には 10% 中性緩衝ホルマリン液を用いて灌流固定し、脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、大腿神経、大腿筋、腓腹筋を摘出し標本作製し検索を行った。また電顕検索用動物には 2% グルタルアルデヒド溶液で灌流固定し、大脳皮質、小脳虫部皮質、頸髄前索、側索、胸髄前索、腰髄側索、坐骨神経、大腿神経、腓腹筋について通常の HE 染色および特殊染色による標本作製して検索した。

結 果：

1) 一般症状

一般症状観察の結果を次表に示した。

表 1 一般症状 (投与群)

検査時期	検査動物数	発症動物数		
		歩行異常#	流涎	紅涙
投与期間 (14日間)	50	50 (100)	47 (94)	27 (54)
最終投与後	1日	28 (56)	0	0
	5日	1 (2.5)	0	0
	1ヵ月	0	0	0
	2ヵ月	0	0	0
	3ヵ月	0	0	0

() : 検査動物数に対する発症動物数の%

: 弛緩性麻痺様状態および後肢の動作の緩徐のような軽度の歩行異常

投与期間中、投与群全例に軽度な歩行異常がみられたが、最終投与後の翌日には28例、1ヵ月後にはこの症状は完全に消失した。また、投与期間中に流涎を大多数のラットに、紅涙を約半数のラットに認めたが、最終投与後の翌日には、これらの症状は全く観察されなかった。

体重は投与期間中に増加抑制がみられたが、最終投与後は速やかに回復し、投与後1ヵ月以降は対照群とほぼ同等となった。

2) 病理組織学的検査

i) 光顕検索

大脳、小脳、脊髄 (頸、胸、腰部)、大腿神経、大腿筋、腓腹筋については各検査時共、投与群動物に形態学的異常所見は認められなかった。しかし坐骨神経については表2に示すように形態変化が観察された。

表 2 坐骨神経所見 (投与群)

観察期間	検査例数	所見例数#	(%)
1日	8	6	(75.0)
5日	8	3	(37.5)
1ヵ月	8	3	(37.5)
2ヵ月	9	2	(22.2)
3ヵ月	8	0	(0)

: 坐骨神経の軸索と膨化と髄鞘の髓落を伴った単一神経線維の変性

最終投与後1日の検査では、8例中6例の坐骨神経に単一線維の軸索変性がみられ、2ヵ月の検査でもなお9例中2例に同様な所見がみられた。しかし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3 ヶ月の検査ではこの所見は観察されなかった。これら軸索の変性はいずれも軽微なものであった。

ii) 電顕検索

投与後 2 ヶ月を除いた各屠殺時期に大脳皮質、小脳虫部皮質、頸髄前索と側索、胸髄前索、腰髄側索、大腿神経、坐骨神経、腓腹筋について電顕的検索した結果、5 日後の検体投与群 1 例の大腿神経の一部と 1 日、5 日、1 ヶ月後に屠殺した投与動物の坐骨神経に、神経細管の拡張を伴った増生とミトコンドリアの変性が認められた。しかし、3 ヶ月後に屠殺した動物の坐骨神経にはこれらの変化は認められなかった。

以上、検体 40 もしくは 80mg/kg の 14 日反復経口投与により、一般症状として歩行異常、光顕的に坐骨神経の単一線維の軸索変性、電顕的に神経細管の拡張を伴った増生が関連性をもって認められた。しかし、これらは最終投与後 3 ヶ月の観察期間中に消失したことから、機能的にも形態的にも可逆性の変化と考えられた。

ラット 14 日間反復投与試験 (2)

— 主に神経組織に対する形態学的影響 —

毒性資料 No. 原体-48

試験機関：

報告書作成年：1983 年

試験目的：検体のラットを用いた 5 ヶ月反復投与毒性試験（毒性資料 No. 原体-46）では神経組織の異常所見はみられなかった。そこで灌流固定と特殊染色を導入し、14 日間反復投与したラットの神経組織について病理組織学的検索を実施した。

検体の純度：96.5%

供試動物：Wistar ラット (Bor:WISW(SPF-Cpb))、投与開始時体重：雄 135～147 g、雌 139～146g)、1 群雌雄各 5 匹

投与期間：14 日間 [1983 年 3 月]

投与方法：検体の 60mg/kg を雌雄ラットに対して 14 日間にわたり強制経口投与した（投与容量：5.0mL/kg）。また、雄については 50mg/kg 群を別に設け 14 日間にわたり強制経口投与した。溶媒にはポリエチレングリコール#400 (PEG 400) を用い、対照群には PEG 400 のみを同様に投与した。なお、初回投与日は試験 0 日とした。

試験方法：投与期間中、毎日動物を観察し、体重を毎日測定した。14 日間の投与後、全生存動物を屠殺し 10%中性緩衝ホルマリン液を用いて灌流固定した。そして剖検時に、脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経および大腿部筋肉を摘出し 10%中性緩衝ホルマリン液で再固定後、通常のヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本に加えて、ルクソール青（ミエリン）及び銀（軸索）染色による標本作製し検索を行った。投与期間中に死亡した動物については臓器摘出後 10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、上記と同様の染色標本作製し検索を行った。

結 果：

1) 一般観察

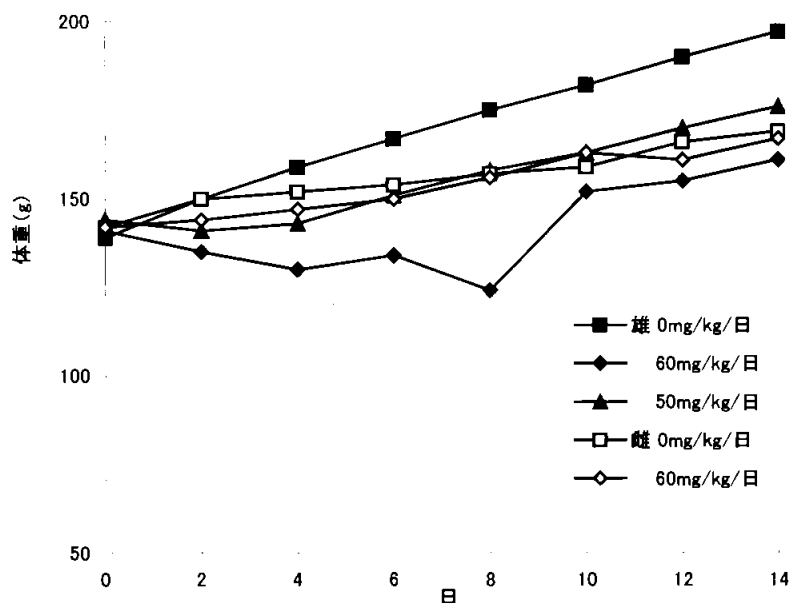
雌雄 60 mg/kg 群および雄 50 mg/kg 群では投与開始翌日から一般行動の低下、不調和な歩行、流涎を観察した。また雄の 60 mg/kg 群では発声を認めた。

雌雄共に対照群ではこれらの変化は認められなかった。

死亡は雄の 60 mg/kg 群で投与 6～9 日目にかけて 5 例中 4 例に認めた。その他の群では投与期間中死亡は観察されなかった。

2) 体重

投与期間中の体重の推移を次図に示した。



(雄 60mg/kg 群では 10 日目以降、1 例のみ)

図に示すごとく雄の 2 投与群では投与期間を通じて明らかな体重増加抑制を示した。一方、雌では対照群と投与群との間に明らかな差はみられなかった。

3) 肉眼的病理検査および臓器重量

投与期間中に死亡した動物および 14 日間投与後の生存動物に対する剖検の結果、検体投与に関連した肉眼的異常所見は全く認められなかった。

4) 病理組織学的検査

雌雄各群 5 匹を対象に脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経および大腿部筋肉に対する病理組織学的検査を実施した結果、検体投与に関連したと思われる所見は認められなかった。わずかに死亡した雄の 60mg/kg 群 4 例で脳に小出血斑を認めたが、これは循環不全による血管壁の壊死の結果で生じたものと考えられ、検体投与による直接の影響ではないと判断した。

以上、検体のラットに対する 14 日間反復経口投与（60mg/kg/日）により、投与期間中に明らかな症状がみられ、とくに雄では死亡率の増加と体重増加抑制がみられたが、脳、脊髄、坐骨神経および大腿部筋肉において病理組織学的な変化は観察されなかった。

ラット 4 週間反復投与による免疫毒性

毒性資料 No. 原体-49

試験機関：

報告書作成年：2003 年 [GLP 対応]

試験目的：検体を 4 週間にわたりラットに混餌投与し、プラーク形成細胞試験を行い免疫毒性の有無を調べた。

検体の純度：97.9%

供試動物：Wistar ラット (HsdCpb:WU)、約 5~6 週齢 (投与開始時体重：雄 117~144 g、雌 118~143 g)、1 群雌雄各 8 匹

投与期間：4 週間 [2000 年 4~5 月]

投与方法：検体をピーナッツ油で溶解、0, 100, 300 および 1000ppm の濃度になるよう飼料に混入し、4 週間にわたって摂食させた。

用量設定の根拠：報告書には記載されていないが過去の試験結果から設定された。

4 週間投与試験 (毒性資料 No. 原体-12、0-100-300-1000ppm/NOAEL 100ppm)

3 ヶ月投与試験 (毒性資料 No. 原体-15、0-30-100-300ppm/NOAEL 300ppm)

3 ヶ月投与試験 (毒性資料 No. 原体-16、0-100-300-1000ppm/NOAEL 雄 100ppm, 雌 300ppm)

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率：すべての動物について中毒症状や行動の変化を毎日観察した。

表 1. 一般症状

性別	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
所見\検査動物数	8	8	8	7#	8	8	8	8
不調和な歩行	0	0	0	↑7	0	0	0	↑8
立毛	0	0	0	↑5	0	0	0	2
足をひろげての歩行	0	0	0	↑4	0	0	0	1

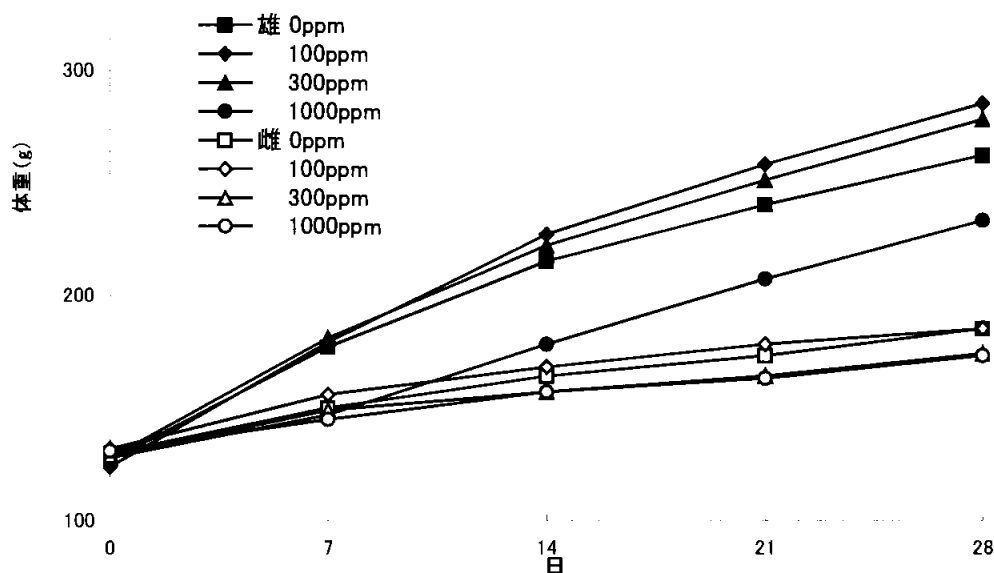
↓↑：p<0.05、↓↑：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

#：投与開始 2 日に死亡

表に示したように、1000ppm 群では雌雄全例に不調和な歩行を観察した。また立毛を雄 5 例、雌 2 例に、足をひろげての歩行を雄 4 例、雌 1 例に観察した。投与開始 2 日に雄 1000ppm 群の 1 例が死亡した (原因の特定できず)。

体重：投与開始前およびその後毎週すべての生存動物の体重を測定した。

図 1. 体重



雄の 1000ppm 群で投与 1 週間後から統計学的に有意な体重増加抑制が認められ(1 週後、2 週後；17%の低下，3 週後；14%の低下)、投与最終時においては統計学的に有意な差は認められなくなったが、対照群に比し雄で 11%の低下であった。雌の 1000ppm と雌雄の 100 および 300ppm 群では投与の明らかな影響はみられなかった。

摂餌量および飲水量：試験期間を通じて毎週、摂餌量と飲水量を測定した。摂餌量のみ投与 1 日後に誤って測定した。

表 2. 摂餌量および飲水量(有意差の認められた測定日)

摂餌量						
性	雄			雌		
投与量(ppm)	100	300	1000	100	300	1000
1 日後	↓68	↓50	↓32		↓76	↓50
8 日後			↓71			↓69
15 日後			↓79		↓83	↓72
21 日後			↓76			↓72
飲水量						
8 日後			↓67			↓83
15 日後			↓70			↓80
21 日後			↓71			↓79
28 日後						↓79

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

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定)

摂餌量および飲水量共、1000ppm 群では雌雄共に摂餌量および飲水量の明らかな減少がみられた。投与1日後に雄では全投与群、雌では300ppm 群以上の投与群で摂餌量の減少がみられたが、これは毒性というよりむしろ、忌避作用によるものと考えられた。更に雄300ppm 群では投与15日後に統計学的に有意な減少がみられたが、体重増加に影響がみられていないことからこの変化も毒性影響とは捉えられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	9.6	24.9	75.5
	雌	9.0	27.1	72.4

脾臓重量：試験終了の剖検時に脾臓重量を測定した。また最終体重から対体重比を算出した。

その結果、雌雄共に1000ppm 群においても脾臓の実重量および対体重比に統計学的有意な変動は観察されなかった。

免疫学的検査：4週投与後のすべての生存動物を対象に脾臓を用いたプラーク形成細胞試験(PFCA)を行った。PFCAを実施できるように、剖検の5日前に羊赤血球(SRBC)を動物の静脈に注射して免疫性を付与した。動物はCO₂吸入により屠殺した後、剖検して脾臓を摘出した。金属製ふるいを用いて脾臓を粉碎し、単細胞懸濁液を得た。その後の分析のために、各懸濁液の細胞数を1mLあたり 1×10^7 個に調製した。これらの懸濁液を用いてSRBC特異的B細胞の活性化を検出した。各動物について、適量のモルモット補体を用いてインキュベーションしたガラススライド2検体における、SRBC特異的IgMプラークを測定した。羊赤血球に対する抗体産生への影響は、脾臓細胞数、脾臓細胞 10^6 個当たりのプラーク形成細胞(PFC)数から評価した。

その結果を表4に示した。

表 4. 脾臓細胞数およびプラーク形成細胞数

	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
細胞数 ($\times 10^6$ /脾臓)	289.7	361.6	310.9	325.5	259.2	240.6	247.1	252.5
プラーク形成細胞数 (10^6 細胞当たり)	1381	1313	1471	1199	1226	1326	1593	1306

統計学的有意差なし (Wilcoxon 検定)

脾臓細胞数およびブラーク形成細胞数に統計学的に有意な差は認められず、投与の影響はみられなかった。

以上、シフルトリンのラットに対する 4 週間飼料混入投与による免疫毒性試験において、1000ppm でも羊赤血球に対する抗体産生への影響はみられず、本検体の免疫毒性作用は示唆されなかった。したがってブラーク形成の観点からの無影響量は 1000ppm (雄 75.5mg/kg/日, 雌 72.4mg/kg/日) であった。一般毒性の評価においては、1000ppm の雌雄で症状がみられ、雄では体重増加抑制を示した。したがって、一般毒性としての無毒性量は 300ppm (雄 24.9mg/kg/日, 雌 27.1mg/kg/日) であった。

[申請者註：本試験報告書では、雄 100ppm 群で投与翌日に摂餌量(g/日)の著しい減少がみられたことから、一般毒性における NOEL は 100ppm 以下と評価した。しかし投与 1 日における摂餌量の著しい減少は一過性であり検体に対する忌避によるものと判断し、毒性影響とは捉えなかった。また雄の 15 日後にみられた摂餌量の減少も低体重増加に影響が認められていないことから、有害作用とはとらえず、一般毒性としての無毒性量は 300ppm と考えられた。]