

2)ラットにおける催奇形性試験

(資料 No.T-22)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1995年

検体の純度 : %

試験動物 :SD 系妊娠ラット(10~11 週齢)、1群雌 22 匹、体重 221~270 g

試験期間 :器官形成期の10 日間(1995年3月13日~1995年4月9日)

投与方法 :検体を0.5%メチルセルロース(MC)に懸濁し、0、100、300 および1000 mg/kg/日の用量で、妊娠6日から15 日までの10 日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与液は投与日の体重に基づき毎日調製した。膣栓または膣スミアで精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

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観察した。体重を妊娠 0、3、6~16、18 および20 日に測定し、摂餌量および摂水量を0~2、3~5、6~8、9~11、12~15、16~17および18~19日に測定した。妊娠20日に致死させて卵巣を含む子宮を摘出して重量を測定し、黄体数、着床痕数、生存胎児数および吸収胚数(初期および後期吸収胚数)を調べた後、剖検した。

以下の指標を算出した。

妊娠率(%) = 妊娠雌動物数 / 交尾雌動物数 × 100

着床率(%) = 着床数 / 黄体数 × 100

生存胎児率(%) = 生存胎児数 / 着床数 × 100

着床前胚損失率(%) = (黄体数 - 着床数) / 黄体数 × 100

着床後胚損失率(%) = (着床数 - 生存胎児数) / 着床数 × 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

胎児動物 ;各胎児の性別を調べ、体重および胎盤重量を測定した。全ての胎児について外表異常を調べ、各同腹児の約1/2の胎児については内臓異常を観察した後、骨格標本を作製し、アリザリンレッド染色して骨格検査を行った。残りの胎児はブアン固定後、フリーハンド連続切片法により内臓検査を行った。

統計学的検定;一元配置分散分析法/t-検定、Nested分散分析法/weighted t-検定、Mann-Whitney U 検定、 χ^2 検定、Fisherの確率検定

結果 : 結果の概要を次表に示す。

<親動物>

一般状態および死亡;一般状態に検体投与による影響はみられなかった。

1000 mg/kg/日群の1例を妊娠12日に切迫屠殺した。剖検所見は、胸腔内に少量の透明液体の貯留および胸腔内壁に青白い物質の付着を伴う全肺葉のうっ血であり、投与時の事故と考えられた。

体重 ;体重および体重増加量に検体投与に関連した影響はなかった。

摂餌量 ;検体投与に関連した影響はなかった。

摂水量 ;検体投与に関連した影響はなかった。

試験終了時の観察;すべての雌が妊娠し、妊娠子宮重量、黄体数、着床痕数、吸収胚数および生存胎児数、ならびに着床前胚損失率および着床後胚損失率は対照群と同等であった。

<胎児動物>

体重 ;検体投与に関連した影響はなかった。

胎盤重量 ;対照群と比較して100 mg/kg/日群では有意に高値(0.59±0.02 g)で、背景データ(0.48~0.56 g、平均0.51 g)範囲の上限を超えた。しかし、300 および1000 mg/kg/日群では対照群と同等であり、検体投与に関連したものではないと考えられた。

外表異常 ;観察された所見は通常認められる種類および頻度であり、検体投与との関連性はみられなかった。

骨格異常 ;骨化の程度および形態的異常に投与群間で若干差がみられたが、通常認められる種類および頻度であり、検体投与に関連したものとは考えられなかった。

内臓異常 ;全投与群において出血性心膜液、腎乳頭の短縮、一側性および両側性尿管の頻度が背景データの範囲を超えたが、対照群と同程度の発生頻度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

以上の結果より、投与限度量である本剤の1000 mg/kg/日を妊娠ラットの器官形成期に投与した場合、親動物および胎児動物に影響はみられなかったことから無影響量(NOEL)は1000 mg/kg/日と判断された。また、催奇形性を示さないと判断された。

〔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日本農薬株式会社にある。

結果の概要

投与量(mg/kg/日)		0	100	300	1000	
1群当りの動物数		22	22	22	22	
親 動物	一般状態					
	死亡率	0	0	0	1	
	体重増加量(g) ¹⁾					
	摂餌量(g/匹/日) ²⁾					
	摂水量(g/匹/日) ²⁾					
	剖検所見					
	妊娠数(%)					
	着床所見 (一腹当たり)	検査動物数				
		妊娠子宮重量(g)				
		黄体数				
		着床数(%)				
		生存胎児数	雄			
			雌			
			合計(%)			
吸収胚数		初期吸収胚数				
		後期吸収胚数				
		合計(%)				
着床前胚損失率						
着床後胚損失率						

¹⁾: 妊娠6日から20日まで

²⁾: 妊娠6日から19日まで

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	
胎 児 動 物	体 重 (g)	雄				
		雌				
		雌雄				
	性 比 (雄/雌)					
	胎 盤 重 量 (g)					
	外 表 異 常 (%)	検 査 胎 児 数				
		矮小胎児 (R)				
		単眼症				
		小眼球症				
		浮腫				
		両側性前肢湾曲				
		一側性後肢回転異常				
	内 臓 異 常 (%)	肉 眼 的 観 察	検 査 胎 児 数			
			一側性水尿管(V)			
			両側性水尿管(V)			
			一側性腎盂拡張(R)			
			両側性腎盂拡張(R)			
		連 続 切 片 法	検 査 胎 児 数			
			出血性心膜液			
			腎乳頭の短縮(V)			
			一側性水尿管(V)			
			両側性水尿管(V)			
			巨眼球症			
			気管あるいは気管 支内に血様液貯留			
			限局性腹腔出血			
			肝の過剰葉 (V)			
	膀胱腔拡張					
骨 格 異 常 (%)	検 査 胎 児 数					
	舌骨の骨化不全 (R)					
	舌骨の未骨化 (V)					
	2分胸骨分節					
	13/14 肋骨 (V)					
	14/14 肋骨 (V)					
	頸肋骨 (V)					
	波状肋骨 (V)					
	胸椎の骨化不全 (R)					
	恥骨の未骨化 (V)					

***: p < 0.001 [Nested 分散分析および weighted t- 検定]

R : 発育遅延、V: 変異

3)ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No.T-23)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 : %

試験動物 : ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ(約 19~27 週齢)、1群 15 匹
体重 2.58 ~3.39 kg

試験期間 : 妊娠期間29日間(1995年8月7日~1995年9月8日)

投与方法 : 検体は0.5% メチルセルローズに懸濁し、0、20、60および150 mg/kg/日の用量で、
妊娠後6日から19日までの14日間、毎日1回経口投与した。
交尾確認日を妊娠 0 日とした。

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観察した。体重は毎日測定し、摂餌量および摂水量は、
妊娠1~5、6~12、13~19、20~23および24~28日の期間に測定した。妊娠29日
に親動物を屠殺し、子宮重量、黄体数、着床痕数、生存胎児数、死亡胎児数およ
び吸収胚数を調べ、剖検した。

胎児動物 : 性別、体重、胎盤、外表異常および内臓異常を調べた。各同腹児群の1/3 の胎
児頭部はブアン固定しフリーハンドによる連続切片検査を行った。頭部を切断し
た動物の胴部と残りの2/3の胎児は骨格標本をアリザリン染色により作製し、検
査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

着床率 (%) = 着床数 / 黄体数 × 100

生存胎児率 (%) = 生存胎児数 / 着床数 × 100

着床後死亡率 (%) = 着床後死亡数 / 着床数 × 100

着床前胚損失率 (%) = (黄体数 - 着床数) / 黄体数 × 100

着床後胚損失率 (%) = (着床数 - 生存胎児数) / 着床数 × 100

統計学的検定;一元配置分散分析法 / t-検定、Mann-Whitney U 検定、 χ^2 検定、

Fisherの確率検定

結果 : 結果の概要を次表に示す。

<親動物>

一般状態および死亡; 20 mg/kg/日群の一般状態は試験期間を通して対照群と同等であった。

150 mg/kg/日群では5匹が妊娠16日から24日の間に死亡した(2匹は切迫屠殺し、3匹は人道上の理由で屠殺した)。これらの動物では体重減少に関連した摂餌量および排糞量の減少がみられた。剖検では胃腸管に様々な程度の障害がみられた。5匹全てが妊娠していたが生存胎児が認められたのは3匹であった。同群では他に3匹の流産がみられた。これらの動物では流産前に摂餌量および排糞量の減少、剖検で胃腸管の障害がみられた。60 mg/kg/日では1匹が死亡し、1匹を切迫屠殺(妊娠18日)、1匹を人道上の理由で屠殺した(妊娠17日)。これらの動物では、摂餌量および排糞量の減少、胃腸管の障害がみられ、3匹ともに妊娠していたが生存胎児が認められたのは2匹であった。

試験終了時の剖検では、対照群で全胎児を損失している個体が1匹観察された。この動物は妊娠後期に摂餌量および排糞量の減少、胃腸管の障害がみられた。対照群の流産は偶発的なものと考えられた。

投与期間終了後の観察では異常はみられなかった。

体重 ; 150 mg/kg/日群では投与期間中の体重増加量が対照群と比較してわずかに低値であったが、有意差はみられなかった。妊娠期間の全体的な体重増加量も対照群と比較して低値であった。

20および60 mg/kg/日群の全体的な体重増加量は対照群と同等であったが、60 mg/kg/日群では投与期間中にわずかな体重減少または体重増加量の低値がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

摂餌量 ; 早期死亡動物を除いて、対照群と同等であった。

飲水量 ; 投与群の飲水量は、一般に対照群と比較して増加したが統計学的に有意ではなかった。

肉眼的病理検査; 妊娠29日の剖検では投与によると思われる異常はみられなかった。

150 mg/kg/日群の妊娠子宮重量は対照群と比較して低値であり、同腹児数が少ないことを反映していた。

子宮検査 ; 150 mg/kg/日群の黄体数、着床痕数、生存胎児数、着床前胚損失率は、対照群と比較してわずかに低値であったが、統計学的に有意ではなかった。着床後胚損失率が対照群よりも高値(27.1%)で、背景データ(3.7~14.8%、平均 9.6%)の上限値を逸脱したが統計学的に有意ではなかった。同群の早期吸収胚数は対照群と比較して高値(1.7±1.3)であり、背景データ(0.2~0.9、平均 0.5)から外れていたが、1匹に早期吸収胚数が増加したためと考えられた。

<胎児動物>

体重および胎盤重量; 胎児体重および胎盤重量に投与による影響はみられなかった。

肉眼的病理検査; 剖検時の胎児の肉眼的検査では、投与に関連した所見はみられなかった。

連続切片検査; 胎児頭部の検査では投与による影響はみられなかった。

150 mg/kg/日群で切歯無萌出の発現頻度が明らかに増加したが、本群では胎児数が少なかったことによるものと考えられた。

骨格検査 ; 骨化の程度および形態的異常の発現頻度にわずかな群間差がみられたが、本系統のウサギに以前からみられる種類および頻度であり、投与との関連性はみられなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの無影響量(NOEL)は、親動物で20 mg/kg/日および胎児動物で150 mg/kg/日と判断された。

また、催奇形性を示さないと判断された。

[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日本農薬株式会社にある。

結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		0	20	60	150	
1群当りの動物数		15	15	15	15	
親動物	死亡動物数	0	0	3	5	
	不妊動物数					
	妊娠動物数					
	流産動物数					
	胎児死亡動物数					
	胎児生存動物数					
	一般状態 発現率 ¹⁾ (%)	摂餌量の減少				
		排糞量の減少				
	体重増加量 (g) ²⁾					
	摂餌量 (g/匹/日) ²⁾					
	摂水量 (g/匹/日) ²⁾					
	剖検所見					
	動物	着床所見 (一腹当たり)	検査動物数			
			子宮重量 (g)			
			黄体数			
着床痕数 (%)						
生存胎児数			雄			
			雌			
			雄雌 (%)			
吸収胚数			初期吸収胚数			
			後期吸収胚数			
			計 (%)			
着床前胚損失率						
着床後胚損失率						

¹⁾: 不妊動物を除外、妊娠7日以前を除く総動物日数に対する割合

²⁾: 妊娠6~28日目まで

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投 与 量 (mg/kg/日)		0	20	60	150	
胎 児 動 物	体 重 (g)	雄				
		雌				
		雌雄				
	性 比 (雄/雌)					
	胎 盤 重 量 (g)					
	剖 検 所 見 (%)	検 査 胎 児 数				
		矮 小 胎 児 (R)				
		全羊膜囊の緑色/褐色変色				
		胆嚢の出血				
		胆嚢の重複 (M)				
		一側性腎盂拡張 (R)				
	連 続 切 片 法 (%)	検 査 胎 児 数				
		切歯無萌出 (V or R)				
		下部切歯萌出 (V or R)				
		上部切歯萌出 (V or R)				
一側性鑿状網膜(V or M)						
両側性鑿状網膜(V or M)						
蝸牛内出血						
骨 格 異 常 (%)	検 査 胎 児 数					
	小泉門拡大 (V or R)					
	底舌骨の骨化不全(R)					
	第1頸椎椎対骨化不全(R)					
	検 査 胎 児 数					
第1胸骨分節の骨化不全(R)						
第2胸骨分節の骨化不全(R)						
胸骨分節の癒合(V)						
13 肋骨の短小 (R)						
浮遊 13 肋骨 (V)						
痕跡状過剰肋骨(V)						
胸部椎骨骨化不全(R)						
胸部椎骨の分割または非対称(V)						
四肢長骨頭の未骨化(R)						
四肢長骨骨頭の未骨化(R)						
中手/指骨の骨化不全(R)						
中手/指骨の未骨化(R)						

M:奇形、V:変異、R:発達遅延

(13)変異原性

1)遺伝子突然変異性

i)細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-24)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1994年

検体の純度 : %

方 法 :ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA* 株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は156.3~5000 μg /プレートの範囲で6用量とした。試験は3反復とし、2回行った。

結 果 :結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS-9 mix の有無にかかわらず、最高用量(5000 μg /プレート)でも、いずれの菌株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2-NF、2-AA、9-AA、B[a]P、ENNG および SAは、すべての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、検体は代謝活性化系の存在、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

1回目試験

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix 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		
			WP2 <i>uv</i> A	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対 照(DMSO)	—	—						
検 体	1563	—						
	312.5	—						
	625	—						
	1250	—						
	2500	—						
	5000	—						
対 照(DMSO)	—	+						
検 体	1563	+						
	312.5	+						
	625	+						
	1250	+						
	2500	+						
	5000	+						
陽 性 対 照	2-NF	1 or 2	—					
	SA	0.5	—					
	9-AA	80	—					
	ENNG	2 or 3	—					
	B[a]P	5	+					
	2-AA	2	+					
		10	+					

2-NF : 2-nitrofluorene、SA : sodium azide、9-AA : 9-aminoacridine、

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、B[a]P : benzo[a]pyrene、

2-AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2回目試験

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mix 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		
			WP2 _{ur} A	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対 照(DMSO)	—	—						
検 体	1563	—						
	312.5	—						
	625	—						
	1250	—						
	2500	—						
	5000	—						
対 照(DMSO)	—	+						
検 体	1563	+						
	312.5	+						
	625	+						
	1250	+						
	2500	+						
	5000	+						
陽 性 対 照	2-NF	1 or 2	—					
	SA	0.5	—					
	9-AA	80	—					
	ENNG	2 or 3	—					
	B[a]P	5	+					
	2-AA	2	+					
		10	+					

2-NF : 2-nitrofluorene、SA : sodium azide、9-AA : 9-aminoacridine、

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、B[a]P : benzo[a]pyrene、

2-AA : 2-aminoanthracene

ii) 培養細胞を用いた突然変異試験

(資料 No.T-25)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年: 1994年

検体の純度 : %

方 法 : L5178Y TK⁺/−マウスリンパ腫細胞を用いて、ラット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、Clive およびSpector の方法を用いて変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解した。

1回目の試験濃度は10~80 μ g/ml(S-9mix 非存在下)および20~160 μ g/ml(S-9mix 存在下)、ならびに2回目は20~100 μ g/ml(S-9 mix 非存在下)および40~200 μ g/ml(S-9mix 存在下) の範囲で5用量とした。処理後、検体を含まない非選択培地に細胞を再懸濁し、3日後、細胞を選択又は非選択培地で培養した。非選択培地での細胞の生存率を調べ、trifluorothymidine(TFT) を含む選択培地について突然変異体を計数した(生存細胞 10⁵ 個当たり)。試験は2反復で2回実施した。

結 果 : 結果を次表に示した。

検体は S-9mix 非存在下で、最高用量(100 μ g/ml) まで突然変異細胞数を増加させなかった。S-9mix 存在下では、1回目の試験では突然変異細胞数を増加させなかった。しかし、2回目の試験で用量に依存した突然変異細胞数の増加がみられた。一方、陽性対照として用いたEMS およびDMBAは明らかな突然変異細胞数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の非存在下では突然変異誘発性がないと判断されるが、代謝活性化系の存在下では弱い陽性が認められた(1回目は陰性、2回目は弱い陽性)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1回目試験

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix の 有無	突然変異細胞数/ 生存細胞数 10^5	総増殖率 (%)
対 照(DMSO)	—	—		
検 体	10	—		
	20	—		
	40	—		
	60	—		
	80	—		
陽 性 対 照 (EMS)	500	—		
対 照(DMSO)	—	+		
検 体	20	+		
	40	+		
	80	+		
	120	+		
	160	+		
陽 性 対 照 (DMBA)	5	+		

EMS: ethylmethanesulphonate、

DMBA: 7,12-dimethylbenzanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2回目試験

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix の 有無	突然変異細胞数/ 生存細胞数 10^5	総増殖率 (%)
対 照(DMSO)	—	—		
検 体	20	—		
	40	—		
	60	—		
	80	—		
	100	—		
陽 性 対 照 (EMS)	500	—		
対 照(DMSO)	—	+		
検 体	40	+		
	80	+		
	120	+		
	160	+		
	200	+		
陽 性 対 照 (DMBA)	5	+		

EMS : ethylmethanesulphonate、

DMBA : 7,12-dimethylbenzanthracene

iii) 培養細胞を用いた突然変異試験

(資料 No.T-25-1)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年: 1998 年

検体純度: %

方 法: L5178Y/TK⁺/3.7.2C マウスリンパ腫細胞を用いて、ラット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変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して培地に添加した。

試験濃度は 10~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (S-9mix 非存在下) および 150~350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (S-9mix 存在下) の範囲で 5 用量とした。37°C で 4 時間にわたる検体処理後、細胞を洗浄し、維持用培地に懸濁して培養した。検体処理後 24、48 および 72 時間後に細胞増殖について検討した。その後、トリフルオロチミジン(TFT)を含む選択培地に懸濁し、マルチウェルプレート上で 12 日間培養した。培養終了後、TFT 耐性コロニーにより突然変異原性を検討した(生存細胞 10^6 個当り)。試験は 2 反復で 2 回実施した。

結 果: 結果を次表に示した。

検体は S-9mix 非存在下で最高用量(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)まで、S-9mix 存在下で最高用量(350 $\mu\text{g}/\text{mL}$)まで突然変異誘発率を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたメタンサルホン酸メチル(MMS)およびシクロホスファミド(CPA)では明らかな突然変異誘発率の増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下では検体は代謝活性化系の非存在、存在下に関わらず突然変異原性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix の 有無	1回目試験		2回目試験	
			突然変異細胞数/ 生存細胞数 (10^6)	総増殖率 (%) ^{a)}	突然変異細胞数/ 生存細胞数 (10^6)	総増殖率 (%) ^{a)}
対 照 (DMSO)	—	—				
検 体	10	—				
	20	—				
	30	—				
	40	—				
	50	—				
陽性対照 (MMS)	10	—				
対 照 (DMSO)	—	+				
検 体	150	+				
	200	+				
	250	+				
	300	+				
	350	+				
陽性対照 (CPA)	2	+				

MMS:メタンスルホン酸メチル

CPA :シクロホスファミド

a) :2 反復の平均値を申請者が算出した

2) 染色体異常誘発性

i) ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No.T-26)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年: 1994年

検体の純度 : %

方 法 : 健康な男性から採取した抹消血を48 時間培養して得たヒトリンパ球を用いて、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下で、染色体異常誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解した。

本試験の濃度を650~2600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で3用量とした。観察は1用量あたり200 個の分裂中期像について行った。試験は2反復で2回行った。

結 果 : 結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS-9 mix の有無にかかわらず、最高濃度の2600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ においても、染色体異常を有する細胞の出現率を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたCBC および CP は染色体異常を有する細胞の出現率に有意な増加みられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在下、非存在下にかかわらず本試験条件下では染色体異常誘発性を有しないと判断された。

1回目試験

薬剤	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	処理時間	S-9 Mx の有無	染色体異常を有する細胞数								異常を有する細胞数(%)		判定
				染色分体型				染色体型				ギャップを含む	ギャップを除外	
				ギャップ	切断	断片	交換	ギャップ	切断	断片	交換			
対照 (DMSO)	—	19	—											/
検体	650		—											—
	1300		—											—
	2600		—											—
陽性対照 (CBC)	2		—											+
対照 (DMSO)	—	43	—											/
検体	650		—											—
	1300		—											—
	2600		—											—
陽性対照 (CBC)	2		—											+
対照 (DMSO)	—	3	+											/
検体	650		+											—
	1300		+											—
	2600		+											—
陽性対照 (CP)	6		+											+
対照 (DMSO)	—	3	+											/
検体	650		+											—
	1300		+											—
	2600		+											—
陽性対照 (CP)	6		+											+

CBC: chlorambucil、CP: cyclophosphamide

***: $p < 0.001$ [Fisher の直接確率法]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2回目試験

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処理時間	S-9 Mix の有無	染色体異常を有する細胞数								異常を有する細胞数(%)		判定
				染色分体型				染色体型				ギャップを含む	ギャップを除外	
				ギャップ	切断	断片	交換	ギャップ	切断	断片	交換			
対照 (DMSO)	—	19	—											/
検体	650		—											—
	1300		—											—
	2600		—											—
陽性対照 (CBC)	2		—											+
対照 (DMSO)	—	3	+											/
検体	650		+											—
	1300		+											—
	2600		+											—
陽性対照 (CP)	6		+											+

CBC: chlorambucil、CP: cyclophosphamide

***: $p < 0.001$ [Fisher の直接確率法]

3)小核誘発性

1)マウスを用いた小核試験

(資料 No.T-27)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1994年

検体の純度 : %

試験動物 : CD-1 系マウス、1群雌雄各5あるいは15 匹、入荷時4~5週齢

方法 : 検体をコーンオイルに懸濁し、1250、2500 および5000 mg/kg の用量で1回経口投与した。別に0、2500 および5000 mg/kg の用量で24時間間隔で2回経口投与した群も設けた。投与後 24時間に屠殺し(1回投与の0 および5000 mg/kg 群は投与後48および72 時間にも屠殺)、大腿骨から骨髓を採取し、骨髓塗末標本を作成した。1動物当たり2000個の赤血球を計数し、1000個の多染性赤血球当たりの小核を有する赤血球数を算出した。陽性対照群はCBC を10% エタノール水溶液に懸濁して30 mg/kg の用量で1回経口投与し、投与後24 時間に屠殺した。

投与量の設定根拠 :

結果 : 結果を次表に示した。

検体を5000 mg/kg で1回投与後48 時間に屠殺した群で、小核を有する多染性赤血球の頻度に有意な増加が観察された。

この増加は下記の理由で生物学的に有意ではないと考える。

1)5000mg/kg 投与後48 時間の個体別データの範囲は0.0 ~ 3.9 であり、溶媒対照の背景データの範囲(0.0 ~ 5.7)に入る。

2)同群の投与後24 および72 時間に屠殺したマウスで、増加はみられない。

3)5000 mg/kg を2回投与した24 時間後では、増加はみられない。

他の投与群では投与回数および投与後時間にかかわらず小核を有する多染性赤血球

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたCBC は小核を有する多染性赤血球を有意に増加させた。

以上の結果より、検体は本試験条件下においてマウスの骨髄細胞に対して小核誘発性がないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1回 投与群

薬 剤	投 与 量 (mg/kg)	投与後 時 間 (hr)	性 別	小核細胞数／赤血球 1000 個		多染性赤血球 ／成熟赤血球
				多染性赤血球中	成熟赤血球中	
溶媒対照 (コーンオイル)	0	24	雄			
			雌			
		48	雄			
			雌			
		72	雄			
			雌			
検 体	1250	24	雄			
			雌			
	2500	24	雄			
			雌			
	5000	24	雄			
			雌			
		48	雄			
			雌			
		72	雄			
			雌			
陽性対照 (CBC)	30	24	雄			
			雌			

CBC : chlorambucil

*:p <0.05、**:p <0.01 [Mann-Whitneyの U 検定]

有意差検定は雌雄毎に実施し、有意差が認められなければ雌雄の合計で行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2回投与群

薬 剤	投与量 (mg/kg)	投与後 時 間 (hr)	性 別	小核細胞数／赤血球 1000 個		多染性赤血球 ／成熟赤血球
				多染性赤血球中	成熟赤血球中	
溶媒対照 (コーンオイル)	0	24	雄			
			雌			
検 体	2500	24	雄			
			雌			
	5000	24	雄			
			雌			
陽性対照 (CBC)	30	24	雄			
			雌			

CBC : chlorambucil、

** : p < 0.01 [Mann-Whitneyの U 検定]

有意差検定は雌雄毎に実施し、有意差が認められなければ雌雄の合計で行った。

4) DNA 損傷誘発性

i) 細菌を用いた DNA修復試験

(資料 No.T-28)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1994年

検体の純度 : %

方法 : 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)および欠損株(M-45)を用いて、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下でDNA損傷誘発性の有無を検討した。

検体は DMSOに溶解した。

本試験の濃度は343.75~5500 μg /ディスクの範囲で5用量とした。試験は3反復で行った。

結果 : 結果は次表に示した。

検体は S-9mix の有無にかかわらず、最高濃度の5500 μg /ディスクにおいても、両菌株で生育阻止帯を示さなかった。

一方、陰性対照の kanamycin は両菌株で同程度の生育阻止帯を示し、陽性対照の mitomycin C(S-9mix の非存在下)および 2-AA(S-9mixの存在下)ではいずれも両菌株で明らかな生育阻止帯の差を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在、非存在下にかかわらず本試験条件下においてDNA損傷誘発性がないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬 剤	S-9mix の有無	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	阻 止 帯 の 径(mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)	—	—			
検 体	—	343.75			
		687.5			
		1375			
		2750			
		5500			
陰性対照 (kanamycin)	—	0.1			
		0.2			
陽性対照 (mitomycin C)	—	0.005			
		0.01			
溶媒対照 (DMSO)	+	—			
検 体	+	343.75			
		687.5			
		1357			
		2750			
		5500			
陽性対照 (2-AA)	+	5			
		20			

2-AA: 2-aminoanthracene

ii)ラット肝細胞を用いた *in vivo* UDS 試験

(資料 No.T-28-1)

試験機関:

[GLP 準拠]

報告書作成年:1998 年

検体純度: %

試験動物:SD 系ラット、1 群雄 4 匹(陽性対照は雄 2 匹)、6 週齢

方 法 :検体を 1%メチルセルロース(MC)に懸濁して、600 あるいは 2000 mg/kg の投与量でラットに 1 回経口投与した。動物は投与後 2 あるいは 14 時間に二酸化炭素暴露により屠殺した。露出した肝を還流液、次いでコラゲナーゼ溶液で還流した後摘出した。摘出した肝をコラゲナーゼ処理して単離した肝細胞を培養後、カバーグラスに付着させ、³H-チミジン、次いで非標識チミジンを含む培地で培養した。細胞を固定後、感光乳剤を処理して得られたオートラジオグラム(動物 1 匹当り 3 枚のスライドグラス)により細胞核内および細胞質内のグレイン数を、スライドグラス当り 50 個(動物 1 匹当り計 150 個)の細胞について顕微鏡下で計数した。陽性対照群はスライドグラス当り 25 個(1 匹当り 75 個)の細胞を観察した。

投与量設定根拠:

結 果 :結果を次表に示した。

検体投与群では、投与後 2 および 14 時間ともに核グレイン数、細胞質グレイン数およびネットグレイン数(核グレイン数-細胞質グレイン数)の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたジメチルニトロソアミン(DMN)および 2-アセチルアミノフルオレン(2AAF)は核グレイン数およびネットグレイン数を有意に増加させた。

以上の結果より、検体は *in vivo* での本試験条件下において、ラット肝細胞に対して UDS 誘発性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

薬物	投与量 (mg/kg)	投与後時間	グレイン数				ネットグレイン数							
			細胞核(A)		細胞質(B)		(A-B)							
			個体平均	群平均	個体平均	群平均	個体平均	群平均						
溶媒対照 (1%MC)	—	2												
検体	600													
	2000													
陽性対照 (DMN)	4													
溶媒対照 (1%MC)	—	14												
検体	600													
	2000													
陽性対照 (2AAF)	50													

DMN:ジメチルニトロソアミン

2AAF:2-アセチルアミノフルオレン

** :p<0.01 [Student の t 検定]

(14) 生体機能影響

1) ピラフルフェンエチルにおける薬理試験

(資料 No.T-29)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年: 1996年

検体の純度 : %

1) マウスにおける一般状態

試験動物 : ICR 系マウス、6週齢、体重; 雄 27.3 ~ 35.6g 雌 21.6 ~ 26.2g、
1群雌雄各3匹

方法 : 検体を1% Tween 80水溶液に懸濁させ、0、78.1、313、1250 および5000 mg/kgの用量で腹腔内に投与した。一般症状は投与前、投与後30分、1、3、6時間に、翌日以降は1日1回、4日目まで Irwin の方法により観察した。

結果 : 雌雄マウスに1250 mg/kg 以上の用量を投与すると、用量に依存して警戒性の低下、位置視覚の低下、受動態の発現、自発運動の低下、反応性の低下、触覚反応の低下、腹遣い、よろめき歩調、立ち直り反射の低下、四肢筋緊張の低下、握力の低下、躯体筋緊張の低下、腹筋緊張の低下、角膜反射の低下、同側屈筋反射の低下、眼裂の減少、排尿、体温降下、チアノーゼ、呼吸数の減少が認められた。これらの症状は投与後30分以降に発現し、雌雄マウスとも1250 mg/kg 以上の用量で全例が投与後1日以内に死亡した。313 mg/kg以下の用量では、雌雄マウスとも検体投与によると思われる症状は認められなかった。

2) ウサギにおける一般状態

試験動物 : 日本白色種ウサギ、9~10週齢、体重; 雄 1.97 ~ 2.43 kg、1群雄3匹

方法 : 検体を1% Tween 80水溶液に懸濁させ、0、313、1250 および 5000 mg/kgの用量で経口投与した。一般状態は投与前、投与後30分、1、3、6時間目に、翌日以降は1日1回、7日目まで多元観察した。急性毒性症状と呼吸・循環機能変化を関連づけて考察するために、一般状態は呼吸・循環機能検査と同一のウサギで観察した。

結果 : 5000 mg/kg群で投与後2日以降に、自発運動の低下、四肢筋緊張の低下、腹筋緊張の低下、腹遣い、四肢伸展の発現、跳び反射の低下、呼吸数の減少が認められ、投与後3日以内に全例が死亡した。1250 mg/kg群では極軽微な自発運動の低下、四肢伸展の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

発現が認められ、1例が5日目に死亡した。313 mg/kg群には検体投与によると思われる異常症状は認められなかった。

3)ウサギの呼吸・循環器系に対する作用

試験動物 :一般状態を観察した同一のウサギを使用した。すなわち、3匹/群の雄ウサギに0、313、1250、5000 mg/kgの用量で検体を経口投与した。

方法 :投与前日に麻酔下で頸動脈にカニューレ装着手術を行った。
無麻酔下でポリグラフを用いて、投与前、投与後30分、1、3、6時間および1日目に呼吸、血圧および心拍数を測定するとともに、呼吸および心電図波形パターンを記録した。

結果 :5000 mg/kg群で、投与後3時間以降に呼吸数および血圧の低下傾向がみられ、これは投与後1日では明確であった。心拍数には明確な変化はみられなかった。1250 mg/kg群の1例と5000 mg/kg群の1例では心拍数の低下傾向、心電図のTP時間に延長傾向が認められた。一方、313 mg/kg群では検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果より、本剤は無麻酔動物の生体機能に対して、1250 mg/kg 以上の投与量でマウスおよびウサギに中枢神経系、ならびにウサギに呼吸・循環器系への影響が認められた。無影響量はマウス(腹腔内投与)およびウサギ(経口投与)とも、313 mg/kg と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

「マウスおよびウサギにおける生体機能への影響に関する試験」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 一般状態 [Irwin 法] (マウス)	腹腔内 (1%Tween80)	0 78.1 313 1250 5000	♂ 3 ♀ 3	♂♀1250	♂♀ 313	認知力の低下、運動性の低下、姿勢の異常、運動失調、筋緊張の低下、反射の低下、自律神経系の異常、死亡
中枢神経系 一般状態 [多元観察] (ウサギ)	経口 (1%Tween80)	0 313	♂ 3	♂ 1250	♂ 313	行動の異常、体性神経系の異常、自律神経系の異常、死亡
中枢神経系 呼吸・循環器 [ポリグラフ] (ウサギ)		1250 5000				呼吸数の低下、血圧の低下、心拍数低下傾向、心電図のTP時間の延長傾向

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(15)その他

1)ラットにおける飼料混入投与による肝障害性の検討

(資料 No.T-17-1)

試験機関:

報告書作成年:

試験目的 :ピラフルフェンエチル投与による毒性発現の標的臓器を明らかにする目的で実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、本剤の雄性ラットを用いた飼料混入投与による14日間経口投与毒性試験における影響として、50000 ppm群で体重が減少した。また、赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値が減少し、網状赤血球数、GOT、GPTおよびビリルビンが増加した。10000 ppm群ではヘモグロビン量およびヘマトクリット値が減少し、ビリルビンが増加した。病理組織学的にはクッパー細胞、尿細管上皮細胞および赤脾髄のヘモジデリン沈着および脾での髓外造血が認められた。したがって、本剤の毒性発現の主たる標的臓器は血液系および肝と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2)ラットにおける肝脂質過酸化、 β 酸化能、カタラーゼ活性および8-OH-dG生成に及ぼす影響

(資料 No.T-17-2)

試験機関:

報告書作成年:

試験目的 :ピラフルフェンエチルの肝障害性を明らかにするために実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果から、本剤の雄ラットを用いた飼料混入投与による7日間経口投与毒性試験における影響として、肝の細胞障害性を指示する脂質過酸化が誘発され、細胞障害に起因すると考えられる酸化的DNA障害が認められた。したがって、ラットにピラフルフェンエチルを高濃度で投与すると肝障害を惹起することが推察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) マウス肝における薬物代謝酵素活性

(資料 No.T-19)

試験期間:

報告書作成年:

試験目的: ピラフルフェンエチルをマウスに混餌投与すると肝肥大が誘発されることから、肝薬物代謝酵素に対する影響を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果より、ピラフルフェンエチルの単回投与および28日間混餌投与でP-450濃度は低下傾向にあり、その結果と考えられる薬物代謝酵素活性の有意な低下が認められた。*In vitro* 試験においても EROD および AMND に低下傾向がみられた。したがって、マウス発がん性試験で観察された肝肥大は、肝薬物代謝酵素活性の誘導によるものではなく、肝細胞壊死、それに続く肝細胞増殖活性の上昇によるものと考えられた。

4)肝における PCNA 免疫染色

(資料 No.T-20)

試験機関:

報告書作成年:

試験目的:マウスにおける発がん性試験(資料 No.T-18)で得られた肝組織標本について proliferating cell nuclear antigen(PCNA)に対する免疫組織染色し、肝細胞の増殖に及ぼすピラフルフェンエチル投与の影響を検索した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果より、マウスにおける発がん性試験(資料 No.T-18)の動物の肝では、投与が長期化するにつれて肝細胞の変性・壊死性変化が強くなるとともに、肝細胞の増殖活性が上昇することが明らかになった。200 ppm 群雌雄では本活性が対照群と同等であったことから、200 ppm(雄: 20.99mg/kg/日、雌: 19.58mg/kg/日)を肝細胞増殖活性における無影響量(NOEL)と判断した。

〔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日本農業株式会社にある。

5) マウスにおける飼料混入投与による肝障害性の検討

(資料 No.T-20-1)

試験機関:

報告書作成年:

試験目的: 本剤のマウスを用いた発がん性試験の用量設定試験で肝障害性が示唆された。
肝障害性を調べるために、本剤を飼料に混入してマウスに4週間投与し、次いで2週間の回復期間を設けた試験を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果より、雄性マウスを用いた本剤の飼料混入投与による4週間経口投与毒性試験における影響として、10000 ppm 群では多くの死亡がみられた。3000 および 5000 ppm 群では肝の小葉明瞭化、肝体重比、GOT および GPT の増加が認められた。病理組織学的には肝細胞において、壊死、肥大、細胞質の透明化、細胞分裂像および緑褐色色素の沈着がみられた。したがって、本剤はマウス肝に壊死を惹起し、それに対する代償としての再生(肝細胞分裂)を誘導していると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) 臓器・組織中ポルフィリン濃度に対する影響

(資料 No.T-20-2)

試験機関:

報告書作成年:

試験目的: 本剤は植物細胞内のクロロフィル合成系を阻害し、植物を枯死に至らしめる。動物におけるヘム合成過程はクロロフィル合成系と共通であるため、本剤を投与した動物においてヘム合成阻害によるポルフィリンの蓄積が予想されたことから、以下の試験を実施し臓器・組織中ポルフィリン濃度を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

以上の結果より、ピラフルフェンエチルの投与によって動物の臓器・組織中ポルフィリン濃度が増加した。本試験条件下ではラットにおいて 400ppm 付近が無作用濃度と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

7) マウスにおける肝過酸化脂質、 β 酸化能、カタラーゼ活性および 8-OH-dG 生成に及ぼす影響

(資料 No.T-20-3)

試験機関:

報告書作成年:

試験目的: マウス肝において細胞障害性の指標である肝脂質過酸化に対する影響を調べ、脂肪酸 β 酸化能、カタラーゼ活性および 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG) 濃度も調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上の結果より、本剤を雄性マウスに7日間混餌投与すると、5000 および/または 10000ppm 群で肝の細胞障害性を指示する脂質過酸化が誘発され、細胞障害に起因すると考えられる酸化的 DNA 障害がみられた。5000 ppm は肝障害性が認められた投与量でもあった(資料 No.T-20-1)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

8) ラットを用いた反復経口投与による肝細胞ミトコンドリアの呼吸機能および形態に及ぼす影響

(資料 No.T-20-4)

試験機関:

報告書作成年:

背景と目的 : ピラフルフェンエチル原体の2年間ラット慢性毒性・発がん性試験(資料T-17)において肝ミトコンドリアの空胞の発現が電子顕微鏡観察で明らかになっており、2000 ppm以上の用量で空胞の頻度が対照群に比べて増加傾向にある。今回の試験では、ラットに検体を混餌投与して惹起させた空胞について、ミトコンドリア内膜との関連性の形態学的検索ならびにミトコンドリアの主な機能である呼吸能への影響を検索した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

以上、ピラフルフェンエチルの反復投与によりラット肝ミトコンドリアに生じた空胞は、クリステ間腔が拡張したものであることが明らかとなった。空胞の発生頻度の増加は400ppm以上で認められたが、毒性学的に意義ある呼吸機能の低下は10000ppmでのみ認められ、これらの発現する投与量は乖離していることが分かった。

2. 原体混在物および代謝物の毒性

(1) 急性経口毒性

1) (原体混在物 ①)のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-30)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1997年

検体の純度 :

(純度 %)

試験動物 :SD系ラット、6週齢、体重;雄 146 ~166 g 雌 109 ~125 g

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単回強制経口投与した。投与前17時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 :中毒症状および生死を14日間毎日観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	300、1000、3000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および終了時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	投与後 3 時間から発現 投与後 2 日に消失
無影響量(mg/kg)	300
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

自発運動の低下、黄褐色の尿および眼周囲の赤色分泌物がみられた。雌は生殖器周囲の被毛汚染がみられた。これらの症状は投与後2日にはすべて消失した。

2) (原体混在物 ⑥)のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-31)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1997年

検体の純度 :

(純度 %)

試験動物 :SD系ラット、6週齢、体重;雄 150 ~170 g 雌 108 ~127 g

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単回強制経口投与した。投与前17時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 :中毒症状および生死を14日間毎日観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	300、1000、3000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および終了時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	投与後 3 時間から発現 投与後 2 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

自発運動の低下、下痢、軟便、肛門/生殖器周囲の被毛汚染および黄褐色尿がみられた。これらの症状はすべて投与後2日に消失した。

3) (原体混在物 ⑧)のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-32)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1997年

検体の純度 :

(純度 %)

試験動物 :SD系ラット、6週齢、体重;雄 151 ~165 g 雌 113 ~134 g

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単回強制経口投与した。投与前17時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 :中毒症状および生死を14日間毎日観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	300、1000、3000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および終了時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 1 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

自発運動の低下、下痢、軟便および肛門周囲の被毛汚染がみられた。これらの症状はすべて投与後1日には消失した。

4) (原体混在物 ⑨)のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-33)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1997年

検体の純度 :

(純度 %)

試験動物 :SD系ラット、6週齢、体重;雄 147 ~173 g 雌 115 ~127 g

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単回強制経口投与した。投与前17時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 :中毒症状および生死を14日間毎日観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	300、1000、3000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および終了時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	投与後 3 時間から発現 投与後 1 日に消失
無影響量(mg/kg)	300
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

自発運動の低下、黄褐色尿および下痢がみられた。これらの症状は投与後1日にすべて消失した。

5) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-34)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1997年

検体の純度 :

(純度 %)

試験動物 :SD系ラット、6週齢、体重;雄 148 ~163 g 雌 115 ~131 g
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単回強制経口投与した。投与前17時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 :中毒症状および生死を14日間毎日観察した。途中死亡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)	1000、3000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 1000~3000 雌 約 3000
死亡開始および終了時間	投与後 1 日から死亡開始 投与後 7 日に終了
症状発現および消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 11 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	1000

流涎、自発運動の低下、被毛汚染、眼周囲の赤色分泌物、削瘦、脱水症状等がみられた。これらの症状は投与後11日にはすべて消失した。死亡例の剖検所見では、胸腺の赤色点状斑、肝の黄色化または黄白色化、胃の出血斑、腸管内容物の黒色化または黄色化、回腸の出血斑、精囊萎縮等がみられた。生存例では、雄5000mg/kgで肝の黄色化または黄白色化がみられた。

6) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-35)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1997年

検体の純度 :

(純度 %)

試験動物 :SD系ラット、6週齢、体重;雄 147 ~158 g 雌 119 ~134 g

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単回強制経口投与した。投与前17時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 :中毒症状および生死を14日間毎日観察した。途中死亡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)	1000、3000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および終了時間	投与後 1 日から死亡開始 投与後 1 日に終了
症状発現および消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 9 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

自発運動の低下、流涎、軟便、脱毛および眼周囲および肛門/生殖器周囲に被毛汚染等がみられた。これらの症状は投与後9日にすべて消失した。

3000mg/kg群雄1例の死亡例の剖検では、回腸の軽度出血および精嚢萎縮が観察された。

7) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-36)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1997年

検体の純度 :

(純度 %)

試験動物 :SD系ラット、6週齢、体重;雄 150 ~161 g 雌 118 ~132 g
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単回強制経口投与した。投与前17時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 :中毒症状および生死を14日間毎日観察した。途中死亡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)	1000、3000、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 5000 雌 3000~5000
死亡開始および終了時間	投与後 2 日から死亡開始 投与後 3 日に終了
症状発現および消失時間	投与後 3 時間から発現 投与後 8 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雄 5000 雌 1000

自発運動の低下、歩行異常、流涎、肛門/生殖器周囲の被毛汚染、眼周囲の赤色分泌物、横臥、伏臥、流涙、削瘦、脱水症状等がみられた。これらの症状は雄で投与後3日、雌で投与後8日にすべて消失した。雌の死亡例の剖検で、肝小葉の明瞭化、胸腺の萎縮および胸腺の赤色化または赤色斑がみられた。

(2) 遺伝子突然変異性

1) (原体混在物 ①)の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-37)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :

(純度 %)

方法 :ヒステジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は312.5~5000 μ g/プレート

の範囲で5 用量とした。試験は3反復とした。

結果 :結果を次表に示した。

検体はS-9 mix の有無にかかわらず、最高用量(5000 μ g/プレート)まで、いずれの菌株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2-AA、9-AA、AF-2 およびSAは、すべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有さないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩 基 対 置 換 型			フレームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98
対 照 (DMSO)	—	—					
検 体	312.5	—					
	625 ¹⁾	—					
	1250 ¹⁾	—					
	2500 ¹⁾	—					
	5000 ¹⁾	—					
対 照 (DMSO)	—	+					
検 体	312.5	+					
	625	+					
	1250	+					
	2500	+					
	5000 ¹⁾	+					
陽 性 対 照	SA	0.5	—				
	9-AA	80	—				
	AF-2	0.01	—				
		0.1	—				
	2-AA	0.5	+				
		1	+				
		2	+				
		10	+				

¹⁾: 沈殿の析出

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) (原体混在物 ⑥) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-38)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :

(純度 %)

方法 :ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試

験濃度はS-9 mixの非存在下の場合は15.6~500 μ g/プレートの範囲、S-9 mixの存在下の場合は156.3~5000 μ g/プレートの範囲で6用量とした。試験は3反復とした。

結果 :結果を次表に示した。

検体はS-9 mixの有無にかかわらず、最高用量まで、いずれの菌株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2-AA、9-AA、AF-2 および SAIは、すべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在下、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩 基 対 置 換 型			フ レ ー ム シ フ ト 型		
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98	
対 照 (DMSO)	—	—						
検 体	15.6	—						
	31.3	—						
	62.5	—						
	125	—						
	250	—						
	500	—						
対 照 (DMSO)	—	+						
検 体	156.3	+						
	312.5	+						
	625	+						
	1250	+						
	2500	+						
	5000	+						
陽 性 対 照	SA	0.5	—					
	9-AA	80	—					
	AF-2	0.01	—					
		0.1	—					
	2-AA	0.5	+					
		1	+					
		2	+					
		10	+					

¹⁾: 菌の生育阻害

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) (原体混在物 ⑧) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-39)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :

(純度 %)

方法 :ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は312.5~5000 μ g/プレート

の範囲で5用量とした。試験は3反復とした。

結果 :結果を次表に示した。

検体はS-9 mix の有無にかかわらず、最高用量まで、いずれの菌株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2-AA、9-AA、AF-2 および SAIは、すべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩 基 対 置 換 型			フレームシフト型		
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98	
対 照 (DMSO)	—	—						
検 体	312.5	—						
	625	—						
	1250 ¹⁾	—						
	2500 ¹⁾	—						
	5000 ¹⁾	—						
対 照 (DMSO)	—	+						
検 体	312.5	+						
	625	+						
	1250	+						
	2500	+						
	5000 ¹⁾	+						
陽 性 対 照	SA	0.5	—					
	9-AA	80	—					
	AF-2	0.01	—					
		0.1	—					
	2-AA	0.5	+					
		1	+					
		2	+					
		10	+					

¹⁾: 沈殿の析出

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) (原体混在物 ⑨) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-40)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :

(純度 %)

方 法 :ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA 98、TA 100、
TA 1535、TA 1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli*
(WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下お
よび非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は312.5 ~5000 μg /プレー

トの範囲で5用量とした。試験は3反復で実施した。

結 果 :結果を次表に示した。

検体はS-9 mix の有無にかかわらず、最高用量まで、いずれの菌株においても復帰
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2-AA、9-AA、AF-2
および SAは、すべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘
発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬 剤	濃 度 (μg /プレート)	S-9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩 基 対 置 換 型			フ レームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98
対 照 (DMSO)	—	—					
検 体	312.5	—					
	625	—					
	1250 ¹⁾	—					
	2500 ¹⁾	—					
	5000 ¹⁾	—					
対 照 (DMSO)	—	+					
検 体	312.5	+					
	625	+					
	1250	+					
	2500 ¹⁾	+					
	5000 ¹⁾	+					
陽 性 対 照	SA	0.5	—				
	9-AA	80	—				
	AF-2	0.01	—				
		0.1	—				
	2-AA	0.5	+				
		1	+				
		2	+				
		10	+				

¹⁾: 沈殿の析出

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-41)

試験機関

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :

(純度 %)

方法 :ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

試験濃度は312.5~5000 μ g/

プレートの範囲で5用量とした。試験は3反復で実施した。

結果 :結果を次表に示した。

検体はS-9 mix の有無にかかわらず、最高用量まで、いずれの菌株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2-AA、9-AA、AF-2、2-NFおよび SAIは、すべての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、検体は代謝活性化系の存在、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩 基 対 置 換 型			フ レームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98
対 照 (DMSO)	—	—					
検 体	312.5	—					
	625	—					
	1250	—					
	2500	—					
	5000	—					
対 照 (DMSO)	—	+					
検 体	312.5	+					
	625	+					
	1250	+					
	2500	+					
	5000	+					
陽 性 対 照	SA	0.5	—				
	9-AA	80	—				
	AF-2	0.01	—				
		0.05	—				
	2-NF	1.0	—				
	2-AA	0.5	+				
		1.0	+				
		2.0	+				
10		+					

¹⁾: 菌の生育阻害

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-NF: 2-nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-42)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :

(純度 %)

方法 :ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

312.5 μ g /プレートを最高用量として5用量を設定した。S-9 mix非存在下のサルモネラ菌株では

9.77 μ g /プレートを加えた6用量とした。本試験では、再現性確認のため3反復で2回試験した。

結果 :結果を次表に示した。

検体はS-9 mixの有無にかかわらず、最高用量まで、いずれの菌株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2-AA、9-AA、AF-2、2-NF およびSAIは、すべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1回目試験

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩 基 対 置 換 型			フレームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98
対 照 (DMSO)	—	—					
検 体	9.77	—					
	19.53	—					
	39.06	—					
	78.13	—					
	156.25	—					
	312.5	—					
対 照 (DMSO)	—	+					
検 体	19.53	+					
	39.06	+					
	78.13	+					
	156.25	+					
	312.5	+					
陽 性 対 照	SA	0.5	—				
	9-AA	80	—				
	AF-2	0.01	—				
		0.05	—				
	2-NF	1.0	—				
	2-AA	0.5	+				
		1.0	+				
		2.0	+				
10		+					

1): 菌の生育阻害

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、2-AA: 2-aminoanthracene

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-NF: 2-nitrofluorene、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2回目試験

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩 基 対 置 換 型			フレームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98
対 照 (DMSO)	—	—					
検 体	9.77	—					
	19.53	—					
	39.06	—					
	78.13	—					
	156.25	—					
	312.5	—					
対 照 (DMSO)	—	+					
検 体	19.53	+					
	39.06	+					
	78.13	+					
	156.25	+					
	312.5	+					
陽 性 対 照	SA	0.5	—				
	9-AA	80	—				
	AF-2	0.01	—				
		0.05	—				
	2-NF	1.0	—				
	2-AA	0.5	+				
		1.0	+				
		2.0	+				
10		+					

1): 菌の生育阻害

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、2-AA: aminoanthracene

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-NF: nitrofluorene、

7) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 No.T-43)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :

(純度 %)

方 法 :ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*株)を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は DMSO に溶解した。

TA 1535およびTA 1537株のS-9 mix非存在下では78.13~4.885 μ g/プレート、TA 100株のS-9 mix非存在下、TA 1535およびTA 1537株のS-9 mix存在下では312.5~19.53 μ g/プレート、TA 98株のS-9 mix非存在下では1250~78.13 μ g/プレートとした。その他の菌株では5000~312.5 μ g/プレートとした。

サルモネラ菌株(TA 100、TA 1535、TA 1537)については、2回目の試験を実施した。ただし、TA 100はS-9 mixの非存在下のみとした。

結 果 :結果を次表に示した。

検体はS-9 mixの有無にかかわらず、最高用量まで、いずれの菌株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2-AA、9-AA、AF-2、2-NFおよびSAは、すべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在、非存在にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有さないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1回目試験

薬 剤	濃 度 (μg /プレート)	S-9 mix 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	
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98
対 照 (DMSO)	—	—					
検 体	4.88	—					
	9.77	—					
	19.53	—					
	39.06	—					
	78.13	—					
	156.25	—					
	312.5 ¹⁾	—					
	625 ¹⁾	—					
	1250 ¹⁾	—					
	2500 ¹⁾	—					
5000 ¹⁾	—						
陽 性 対 照	SA	0.5	—				
	9-AA	80	—				
	AF-2	0.01	—				
		0.05	—				
	2-NF	1.0	—				

¹⁾: 沈澱の析出、²⁾: 菌の生育阻害

SA: sodium azide、9-AA: 9-aminoacridine、

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、2-NF: 2-nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1回目試験—続き

薬 剤	濃 度 (μg /プレート)	S-9 mix 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		
			WP2 <i>uvrA</i>	TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98	
対 照 (DMSO)	—	+						
検 体	19.53	+						
	39.06	+						
	78.13	+						
	156.25	+						
	312.5	+						
	625 ¹⁾	+						
	1250 ¹⁾	+						
	2500 ¹⁾	+						
陽 性 対 照	2-AA	0.5						
		1.0						
		2.0						
		10						

¹⁾:沈澱の析出、²⁾:菌の生育阻害

2-AA: aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2回目試験

薬 剤	濃 度 (μg /プレート)	S-9 mix 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	
			TA 1535	TA 100	TA 1537	
対 照 (DMSO)	—	—				
検 体	4.88	—				
	9.77	—				
	19.53	—				
	39.06	—				
	78.13	—				
	156.25	—				
	312.5 ¹⁾					
対 照 (DMSO)	—	+				
検 体	19.53	+				
	39.06	+				
	78.13	+				
	156.25	+				
	312.5	+				
陽 性 対 照	SA	0.5	—			
	9-AA	80	—			
	AF-2	0.05	—			
	2-AA	1.0	+			
		2.0	+			

¹⁾:沈澱の析出、²⁾:菌の生育阻害

SA:sodium azide、9-AA:9-aminoacridine、2-AA:2-aminoanthracene、
AF-2:2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

3. 製 剤

1) ピラフルフェンエチル水和剤

i) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-5)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年: 1996年

検体の純度 : 2%フロアブル剤

試験動物 : SD系ラット、試験開始時6週齢、体重; 雄181~190g 雌132~143g
1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方 法 : 検体を蒸留水で希釈して単回強制経口投与した。投与前18時間および投与後3時間絶食した。

観察項目 : 中毒症状および死亡を毎日観察し、試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経 口
投 与 量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および消失時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	投与後6時間から発現 投与後1日に消失
無影響量(mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

雄2例に肛門周囲の被毛汚染、および雌雄に軟便が投与後6時間に観察され、1日後に消失した。剖検所見で雌1例に右側胸腺の赤色斑が認められたが、正常動物でもみられる所見であり、検体投与の影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ii) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-6)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年: 1996年

検体の純度 : 2%フロアブル剤

試験動物 : ICR 系マウス、試験開始時6週齢、体重; 雄32.6~36.8 g 雌27.4~28.6 g、
1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を蒸留水で希釈して単回強制経口投与した。投与前3時間および投与後1時間
絶食した。

観察項目 : 中毒症状および死亡を毎日観察し、試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的
病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および消失時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	症状はみられなかった
無影響量(mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

症状および剖検所見に異常はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

iii)ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.T-7)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :2%フロアブル剤

試験動物 :SD系ラット、試験開始時雄7週齢、雌12週齢、体重;雄263~279 g 雌245~256 g、
1群雌雄各5匹

試験期間 :14日間観察

方法 :検体をピペットで分取してガーゼに塗布し、刈毛した背部皮膚に24時間貼付した。

観察項目 :一般状態および生死を14日間毎日観察した。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)	> 2000
死亡開始および消失時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	投与当日から発現 投与後14日に消失
無影響量(mg/kg)	雄 2000、雌 < 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	2000

雌2例に投与当日から投与後7日に軽微な体重低下が観察された。雌全例の皮膚に発赤等が観察されたが、検体を適用しない部位にも認められたことから、剃毛による影響と考えられた。剖検所見に異常はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

iv)ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No.T-68)

試験省略

試験省略理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

v)ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料 No.T-9)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :2%フロアブル剤

試験動物 :日本白色種ウサギ、試験開始時約12週齢、体重2.12~2.41 kg、
非洗眼群雄6匹、洗眼群雄3匹

試験期間 :3日間観察

方法 :検体の0.1 mlを左眼瞼結膜嚢内に適用し、3匹は2~3分後に洗眼した。6匹については洗眼しなかった。右眼を対照とした。

観察項目 :投与後1時間、1、2および3日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。

結果 :

項目			最高 評点	投与後時間			
				1時間	1日	2日	3日
非洗眼群 (6匹平均)	角膜 混濁	程度	80	0	0	0	0
		面積		0	0	0	0
	虹彩		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	20	0.7	0	0	0
		浮腫		0	0	0	0
		分泌物		0	0	0	0
合計*			110	0.7	0	0	0
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	80	0	0	0	0
		面積		0	0	0	0
	虹彩		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	20	1.3	0	0	0
		浮腫		0	0	0	0
		分泌物		0	0	0	0
合計*			110	1.3	0	0	0

*: Draize法による評価点 (最高110点)

極弱い結膜の発赤が非洗眼群および洗眼群の各2例に1時間後の観察で認められたが、1日後にはいずれも消失した。

以上の結果から、2%フロアブル剤はウサギの結膜に対して、ごく弱い発赤を誘発するものの、刺激性なしと評価された。洗眼効果は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

vi)ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 No.T-11)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1996年

検体の純度 :2%フロアブル剤

試験動物 :日本白色種ウサギ、試験開始時約12週齢、体重2.15~2.60 kg、雄6匹

試験期間 :3日間観察

方法 :刈毛した動物の背部に正常皮膚、擦過皮膚をそれぞれ2カ所(1ヶ所:約2.5cm四方)

設定して適用部位とした。0.5mlの検体を各適用部位に4時間閉塞貼付した。対照区には蒸留水を適用した。適用後、皮膚に残った検体は蒸留水を用いて拭き取った。

観察項目 :貼付除去後1時間、1、2および3日に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。

結果 :

項目		最高 評点	投与後時間			
			1時間	1日	2日	3日
正常皮膚	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0
擦過皮膚	紅斑・痂皮	4	0	0.3	0.2	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0.3	0.2	0

正常皮膚に異常はみられなかった。擦過皮膚では1日後および2日後にそれぞれ1匹および2匹に極弱い紅斑・痂皮が認められたが、3日後には消失した。

以上の結果から、2%フロアブル剤はウサギの皮膚に対して、刺激性なし*と判断された。

*申請者注:擦過皮膚では軽度の刺激性を認めたが、通常の試験系である正常皮膚では刺激性を認めなかったため、刺激性なしと判断した。

vii) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 No.T-13)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年: 1996年

検体の純度 : 2%フロアブル剤

試験動物 : Dunkin-Hartley系モルモット、6~8週齢、体重 362~461 g、

検体群は1群雌雄各10匹、溶媒対照群および陽性対照群は1群雌雄各5匹。

試験期間 : 感作21日間、惹起1日間、観察2日間。

方 法 : Magnusson-KligmanのMaximization法

投与量設定根拠;

感 作 ; 背部を刈毛し、Freunds complete adjuvant (FCA)、50% 検体水溶液および50% 検体水溶液+FCA 混合液を0.1ml皮内注射した。7日目に同部位を刈毛して10%ラウリル硫酸ナトリウム含有ワセリンを塗布した。8日目に100%検体原液の0.6mlを48時間閉塞貼付した。一方、陽性対照群には、30%Hexyl cinamic aldehyde (HCA)プロピレングリコール(PG)溶液を同様に適用した。

惹 起 ; 側腹部を刈毛し、最終感作の22日目に右側腹部の2カ所に30%検体水溶液および100%検体の0.03 mlを24時間閉塞貼付し、左側腹部に純水を適用した。陽性対照群には30%および50%HCA PG溶液を同様に適用した。

観察項目 : 惹起後1および2日に適用部位の紅斑および浮腫等の有無を肉眼的に観察した。

結 果 : 各観察時間において、皮膚反応が認められた動物数およびその評点を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

群		感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率 (%)
					1日				2日				1日	2日		
					皮膚反応評点											
				0	1	2	3	0	1	2	3					
検体	対照群	溶媒	30%検体	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
			100%検体	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
			溶媒	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
	感作群	50%検体	30%検体	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
			100%検体	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
			溶媒	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照	対照群	溶媒	30%HCA	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	
			50%HCA	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	
			溶媒	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	
	感作群	30%HCA	30%HCA	10	5	5	0	0	3	5	0	2	0.5	1.1	7	70
			50%HCA	10	3	7	0	0	3	5	0	2	0.7	1.1	7	70
			溶媒	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0

$$\text{感作陽性率 (\%)} = \text{感作陽性動物数} / \text{供試動物数}$$

検体処理群で皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照群では明瞭な皮膚反応が見られた。

以上の結果から、2%フロアブル剤はモルモットの皮膚に対して、感作性を示さないと判断された。

2)ピラフルフェンエチル乳剤

i) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-44)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1998年

検体の純度 :0.4%乳剤

試験動物 :CD(SD)系ラット、試験開始時5週齢、体重;雄 136.1~148.9g 雌 108.5~123.5g
1群雌雄各5匹

試験期間 :14日間観察

方法 :検体を注射用水に懸濁させ、一晚絶食させたラットに単回強制経口投与した。

観察項目 :中毒症状および死亡を毎日観察した。体重は投与前(投与0日)、投与1、2、3、7および14日後に測定した。試験終了時の全生存動物について剖検し、器官および組織の肉眼的病理検査を行った。試験は『農薬の登録申請に係る毒性試験成績の取扱いについて(59農蚕第4200号、農林水産省1985年)』に準じて実施した。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	0、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄; >5000 雌; >5000
死亡開始および消失時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	投与後15分から発現 投与後2日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000

雌雄ともに死亡は認められなかった。体重推移において、雌雄ともに有意な増加抑制が認められた。一般状態では流涎、水溶性下痢、肛門周囲の汚れおよび歩行異常が観察された。剖検所見では、異常は認められなかった。

結論: 検体のラットにおける経口LD₅₀は雌雄ともに5000mg/kg以上であった。

ii)ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.T-45)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:1998年

検体の純度 :0.4%乳剤

試験動物 :CD(SD)系ラット、試験開始時7週齢、体重;雄 288.2~302.2 g、雌 182.2~196.4 g、
1群雌雄各5匹

試験期間 :14日間観察

方法 :検体をリント布(4 x 5cm)に載せ、刈毛したラットの背部皮膚に閉塞貼付し、包帯固定した。24時間後リント布を除去し、適用部位を注射用水で洗浄し、残存する検体を除去した。

観察項目 :中毒症状および死亡を毎日観察した。体重は投与後1、2、3、7および14日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。試験は『農薬の登録申請に係る毒性試験成績の取扱いについて(59農蚕第4200号、農林水産省1985年)』に準じて実施した。

結果 :

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄; > 2000 雌; > 2000
死亡開始および消失時間	死亡例はみられなかった
症状発現および消失時間	症状発現例はみられなかった
無影響量(mg/kg)	雄、雌 > 2000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	2000

雌雄ともに死亡例は認められず、体重推移において雄で有意な減少が認められた。一般状態および剖検所見に異常は認められなかった。

結論:検体のラットにおける経皮LD₅₀は、雌雄とも 2000mg/kg以上であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

iii)ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料No. T-69)

試験省略

試験省略理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

iv) ウサギにおける眼一次刺激性試験(原液)

(資料 No.T-46)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年: 1998年

検体の純度 : 0.4%乳剤

試験動物 : 日本白色種ウサギ、試験開始時9~10週齢、体重 雄; 1.80~2.19 kg、
非洗眼群6匹、洗眼群3匹

試験期間 : 21日間観察

方法 : 検体の0.1 mlを右眼の下眼瞼結膜嚢内に適用し、両眼瞼を約1秒間穏やかに合わせ
保持した。洗眼群では適用後3分に生理的食塩水で洗浄した。左眼を対照とした。

観察項目 : 角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を、適用1、24、48、72時間後、4、7、10、14および
21日後に観察した。試験は『農薬の登録申請に係る毒性試験成績の取扱いについて
(59農蚕第4200号、農林水産省1985年)』に準じて実施した。刺激性の分類はKay
and Calandra法に従った。

結果 :

項目			最高 評点	投与後時間									
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4日	7日	10日	14日	21日	
非洗眼群 (6匹平均)	角膜 混濁	程度	80	0	1.00	1.00	1.00	1.33	1.33	1.00	0.50	0.33	
		面積		—	3.67	3.83	3.83	3.83	3.00	1.83	1.00	0.67	
	虹彩		10	1.00	0.33	0.17	0.33	0.67	0.50	0	0	0	
	結膜	発赤	20	2.00	2.17	2.00	2.17	2.17	1.83	1.00	0.67	0.33	
		浮腫		2.17	1.33	1.00	1.00	1.00	1.00	0.50	0.33	0	
		分泌物		2.50	1.17	1.00	1.00	0.67	0.67	0.17	0	0	
合計*			110	18.33	29.33	28.00	29.17	36.83	34.50	19.17	9.50	4.00	
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	80	0	1.00	1.00	1.00	1.33	1.33	0.67	0	0	
		面積		—	4.00	4.00	4.00	4.00	3.33	3.33	—	—	
	虹彩		10	1.00	0.33	0.33	0.33	0.67	0.67	0	0	0	
	結膜	発赤	20	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00	0.67	
		浮腫		2.33	2.00	1.00	1.33	1.00	1.00	0.33	0	0	
		分泌物		2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0	0	0	
合計*			110	17.67	31.67	29.67	30.33	38.00	34.67	6.00	2.00	1.33	

*: Draize法による評価点 (最高110点)

非洗眼群では適用1時間後に、全例で虹彩の炎症(評点1)、結膜の発赤(評点2)、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結膜の浮腫(評点2または3)および分泌物(評点2または3)が認められた。24時間後には角膜の混濁(程度:評点1、面積:評点2または3)が認められた。これらの症状は、平均評点において4日後をピークに回復傾向を示したが、21日後においても2例に角膜の混濁(程度:評点1、面積:評点2)および結膜の発赤(評点1)が観察された。最大平均評点は36.83であった。

洗眼群では、適用1時間後に全例で虹彩の炎症(評点1)、結膜の発赤(評点2)、結膜の浮腫(程度2または3)および分泌物(評点2)が認められた。24時間後には角膜の混濁(程度:評点1、面積:評点4)が認められた。これらの症状は、平均評点において4日後をピークに回復傾向を示したが、21日後においても2例に結膜の発赤(評点1)が観察された。最大平均評点は38.00であった。

結論:検体はウサギの眼粘膜に対して、強度の刺激性を示した。また、洗眼効果は認められなかった。

v)ウサギにおける眼一次刺激性試験(50倍希釈液)

(資料 No.T-47)

試験機関:

[GLP準拠]

報告書作成年:2000年

検体の純度 :0.4%乳剤

試験動物 :日本白色種ウサギ、試験開始時9~10週齢、体重 雄;1.94~2.15 kg、
非洗眼群、洗眼群ともに3匹

試験期間 :72時間観察

方法 :注射用水で50倍に希釈した検体の0.1 mlを右眼の下眼瞼結膜嚢内に適用し、両眼瞼を約1秒間穏やかに合わせ保持した。洗眼群では適用後30秒後に注射用水で洗浄した。左眼を対照とした。

観察項目 :角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を、投与後1、24、48および72時間に観察した。試験は『OECDガイドライン「急性眼刺激性/腐食性試験(405)」(1987年2月24日)』に準拠し、刺激性の分類はKay and Calandra法に従った。

結果 :

項目			最高 評点	投与後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	80	0	0	0	0
		面積		—	—	—	—
	虹彩		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	20	1.00	1.00	0.67	0
		浮腫		0.67	0	0	0
		分泌物		1.00	0	0	0
合計*			110	5.33	2.00	1.33	0
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	80	0	0	0	0
		面積		—	—	—	—
	虹彩		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	20	0.67	0	0	0
		浮腫		0	0	0	0
		分泌物		0.67	0	0	0
合計*			110	2.67	0	0	0

*: Draize法による評価点 (最高110点)

非洗眼群では適用1時間後に、全例で結膜の発赤、2例で結膜の浮腫および全例で分泌物(いずれも評点1)が認められた。これらの症状は72時間後までに全て消失した。最大平均評点は5.33であった。

洗眼群では適用1時間後に2例で結膜の発赤および分泌物(いずれも評点1)が認められた。これらの症状は24時間後までに消失した。最大平均評点は2.67であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結論: 検体のウサギの眼粘膜に対する刺激性は軽度であると判断された。また、洗眼効果が認められた。