

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。

(10) 繁殖毒性および催奇形性

ラットを用いた繁殖試験

(資料 22)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度: %

試験動物: SD(CD)系ラット 1 群雌雄各 30 匹

投与開始時 8~10 週令

投与期間: P 世代; 投与開始から F_{1b} 児離乳時までの 27 週間

F₁ 世代; 離乳時から F_{2b} 児離乳時までの 23 週間

F₂ 世代; 離乳後から 10 週間

(1983 年 12 月 19 日~1985 年 3 月 15 日)

投与方法: 検体を 0、7.5、75 及び 750ppm 含有した飼料を自由に摂食させた。

投与量設定根拠:

方法及び試験項目: 概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率; 全動物の全検査期間に、一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認; 交配は雌雄を 1:1 で同居させ、翌日膣栓及び精子により交尾を確認した。

交尾成立を確認した日を妊娠日 0 日とした。

妊娠の確認は、出産及び流産をもって行った。

繁殖性に関する指標; 交配、妊娠及び授乳時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率(\%)} \text{ (雄)} = \frac{\text{雌と交尾した雄動物数}}{\text{雌と同居した雄動物数}} \times 100$$

$$\text{交尾率(\%)} \text{ (雌)} = \frac{\text{雄と交尾した雌動物数}}{\text{雄と同居した雌動物数}} \times 100$$

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

$$\begin{array}{l} \text{妊娠率(\%)} = \frac{\text{雌を妊娠させた雄動物数}}{\text{雌と交尾した雄動物数}} \times 100 \\ \text{(雄)} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \text{妊娠率(\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{雌と交尾した雌動物数}} \times 100 \\ \text{(雌)} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100 \end{array}$$

臓器重量；剖検時に副腎、脳、精巣上部、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、前立腺、精嚢、脾臓、精巣、甲状腺及び子宮の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

病理組織学的検査；上記の重量測定臓器の他、骨髄、盲腸、十二指腸、眼、回腸、リンパ節、乳腺、食道、脾、胃、胸腺、膀胱及び全ての肉眼的異常部位について病理標本作製し、検鏡した。

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。

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P ₁	生育(13週)	雌雄 1 : 1 で交配、交尾は陰栓と精子で確認	体重、摂餌量、飲水量を毎週測定
	第1回交配(3週)		交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠 0、6、13、20 日後体重を測定
	出産 : F _{1a}		出産状況の観察
F ₁	哺育(3週)	出産後 4 日目に、各同腹児数を雌雄各 4 匹に調整	新生児数、性別、外表異常及び同腹生存児体重測定
	離乳	出産後 21 日目に児動物屠殺	母動物の出産後 1、4、7、14 及び 21 日目に体重測定
	第2回交配(3週)	(P ₁ 世代に準ずる)	出産後 1、4、7、14 及び 21 日目に生存児数、児体重測定。生存児の発育状況検査
	妊娠(3週)	(P ₁ 世代に準ずる)	選抜児動物と途中死亡児動物の肉眼検査
P ₂	出産 : F _{1b}	(P ₁ 世代に準ずる)	(")
	哺育(3週)	(")	(")
	離乳	継代用の各群雌雄 30 匹ずつ選抜 親動物と残りの児動物屠殺	選抜されなかった児動物の肉眼検査
	生育(10週)	(P ₁ 世代に準ずる)	親動物の臓器重量測定及び肉眼的、病理組織学的検査 (P ₁ 世代に準ずる)
F ₂	第1回交配(3週)	(P ₁ 世代に準ずる)	(")
	妊娠(3週)	(")	(")
	出産 : F _{2a}	(")	(")
	哺育(3週)	(")	(")
P ₃	離乳	(")	(")
	第2回交配(3週)	(")	(")
	妊娠(3週)	(")	(")
	出産 : F _{2b}	(")	(")
F ₂	哺育(3週)	(")	(")
	離乳	継代用の各群雌雄 10 匹ずつ選抜 親動物と残りの児動物屠殺	(")
P ₃	生育(10週)		体重、摂餌量、飲水量を毎週測定 離乳後 10 週に屠殺し、臓器重量及び肉眼的、病理組織学的検査

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：

世代		親：P ₁				兄：F ₁				
投与量(ppm)		対照群		7.5		75		750		
動物数		雄		雌		雄		雌		
一般状態		雄		雌		雄		雌		
死亡率		雄		雌		雄		雌		
(e) 体重 (g)	生育期	雄		雌		雄		雌		
		雄		雌		雄		雌		
	妊娠(雌)	a		b		a		b		
		雄		雌		雄		雌		
	授乳(雌)	a		b		a		b		
		雄		雌		雄		雌		
摂餌量		雄		雌		対照群とほぼ同等				
飲水量		雄		雌		対照群とほぼ同等				
臓器重量		雄		雌		腎臓実・比重量増 脾臓実・比重量増 腎臓比重量増 脾臓実・比重量増				
肉眼的病理検査		雄		雌						
病理組織学的検査		雄		雌		脾のヘンチリン 沈着増加 腎石灰沈着増加				
交尾率	a	雄		雌		雄		雌		
		雄		雌		雄		雌		
	b	雄		雌		雄		雌		
		雄		雌		雄		雌		
妊娠率	a	雄		雌		雄		雌		
		雄		雌		雄		雌		
	b	雄		雌		雄		雌		
		雄		雌		雄		雌		
出産率	a		b		a		b			
	雄		雌		雄		雌			
妊娠期間		a		b		別表参照				
児動物	新生児数	a		b		a		b		
		雄		雌		雄		雌		
	一般状態及び外表異常		a		b					
	性比 (雄を1として)	a		b		a		b		
		雄		雌		雄		雌		
	同腹生存児体重(g) (左；出産1日後 右；出産21日目)	a		b		a		b		
		雄		雌		雄		雌		
	4日目生存率	a		b		a		b		
		雄		雌		雄		雌		
	離乳時生存率	a		b		a		b		
		雄		雌		雄		雌		
	肉眼的病理検査		a		b					

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 (Student's T test または Mann-Whitney U-test)

空欄は薬物投与に起因する変化なし

(注) 生育期：雄；投与後27週時。雌；投与後13週時の体重値。妊娠期：妊娠20日目の体重値。
授乳期：授乳21日目の体重値

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。

世代		親: P ₂				兄: F ₂				
投与量(ppm)		対照群		7.5		75		750		
動物数		雄	30	30	30	30	30	30	30	
		雌	30	30	30	30	30	30	30	
一般状態		雄雌								
死亡率		雄	1/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	
		雌	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	1/30	1/30	
(母) 体重 (g)	生育期	雄	670	701	702	647				
		雌	278	289	276	262*				
	妊娠(雌)	a	409	425	409	379***				
		b	458	466	463	419***				
授乳(雌)	a	335	341	337	319					
	b	363	379	372	349					
摂餌量		雄	—				対照群とほぼ同等			
		雌					対照群とほぼ同等			
飲水量		雄	—				対照群とほぼ同等			
		雌					対照群よりやや増加			
臓器重量		雄					腎臓実・比重量増			
		雌					腎臓実・比重量増			
肉眼的病理検査		雄雌								
病理組織学的検査		雄					肝病変増加			
		雌					脾のヘモグロビン量増加			
交尾率	a	雄	97	90	100	97				
		雌	100	100	97	97				
	b	雄	100	90	97	97				
		雌	100	97	100	100				
妊娠率	a	雄	83	62	97	77				
		雌	87	69	93	77				
	b	雄	93	72	93	86				
		雌	93	76	97	90				
出産率	a	100	100	100	96					
	b	100	100	100	96					
妊娠期間		a	別表参照							
		b								
児動物	新生児数	a	11.3	12.1	11.5	11.4				
		b	13.2	11.6	12.1	11.6				
	一般状態及び外表異常		a							
			b							
	性比 (雄を1として)	a	1.20	0.91	0.91	1.18				
		b	0.94	0.94	1.05	0.87				
	同腹生存児体重(g) (左: 出産1日後 右: 出産21日後)	a	6.4	51.3	6.1	51.1	6.5	51.9	6.1	50.0
		b	6.1	52.4	6.5	55.5	6.5	55.0	6.6	52.3
	4日目生存率	a	95	89	95	91				
		b	96	93	96	96				
離乳時生存率	a	100	97	91	100					
	b	100	97	97	98					
肉眼的病理検査		a								
		b								

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 (Student's T test または Mann-Whitney U-test)

空欄は薬物投与に起因する変化なし

(注) 生育期: 雄; 投与後 24 週時, 雌; 投与後 10 週時の体重値, 妊娠(雌): 妊娠 20 日目の体重値, 授乳(雌): 授乳 21 日目の体重値

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。

世代		親: P ₃				
投与量(ppm)		対照群	7.5	75	750	
動物数	雄	10	10	10	10	
	雌	10	10	10	10	
親動物	一般状態	雄雌	死亡例なし			
	死亡率	雄雌	死亡例なし			
	体重 ⁽¹⁾ (g)	雄	496	516	505	476
		雌	286	277	272	265
	摂餌量	雄雌	対照群とほぼ同等			
	飲水量	雄雌	—	対照群とほぼ同等	対照群より増加	
		雄雌	—	対照群とほぼ同等	対照群より増加	
	臓器重量	雄		脾臓重量減	腎臓実・比重量増 脾臓重量減	腎臓比重量増
		雌			腎重量増加	副腎の対体重比増加 腎重量増加
	肉眼的病理検査	雄雌				
病理組織学的検査	雄雌	脾のヘモジデリン量増加				
	雄雌	脾のヘモジデリン量増加				

(注) 雌雄とも投与後 10 週時体重値

空欄は薬物投与に起因する変化なし

妊娠期間

世代	児動物	投与量 (ppm)	雌 動物数	妊娠期間(日数)						
				22	22 1/2	23	23 1/2	24	24 1/2	25
P ₁	F _{1a}	対照群	23	0	6	13	4	0	0	0
		7.5	24	1	4	16	3	0	0	0
		75	27	1	5	17	4	0	0	0
		750*	25	0	0	18	5	2	0	0
	F _{1b}	対照群	24	0	9	13	2	0	0	0
		7.5*	28	1	5	12	9	0	1	0
P ₂	F _{2a}	対照群	26	4	6	16	0	0	0	0
		7.5	20	5	7	7	1	0	0	0
		75	28	3	12	11	2	0	0	0
		750**	23	0	3	12	6	0	1	1
	F _{2b}	対照群	28	4	21	3	0	0	0	0
		7.5	22	2	13	5	0	2	0	0
	75	28	3	19	6	0	0	0	0	
	750***	25	0	6	19	0	0	0	0	

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 (Mann-Whitney U-test)

検体摂取量 (mg/kg/日)

性	雄			雌		
	用量(ppm)	7.5	75	750	7.5	75
P ₁	0.43	4.22	42.8	0.53	5.43	52.6
P ₂	0.67	6.65	69.5	0.75	7.30	77.1
P ₃	0.77	7.09	71.3	0.81	8.00	89.4
平均	0.62	5.99	61.2	0.70	6.91	73.0

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

- 一般毒性； P₁： 750ppm 投与群雌で、生育期間中体重増加が抑制された。
75ppm 以上投与群の腎及び 750ppm 投与群の脾重量が増加した。
75ppm 以上投与群雌で腎石灰沈着が増加し、750ppm 投与群雌では脾のヘモジデリン沈着が増加した。
- F_{1a}、F_{1b}：750ppm 投与群で F_{1b}の新生児数が減少し、出産 1 日目の新生児体重が軽度増加した。出産 21 日目の新生児体重に差は見られなかった。
- P₂： 750ppm 投与群雌で、F_{2b}妊娠中わずかな体重増加抑制がみられた。
75ppm 以上投与群の腎及び 750ppm 投与群の脾重量が増加した。
750ppm 投与群雄で肝の変化(小葉中心性肝細胞グリコーゲン減少、胆管過形成、局在性肝細胞壊死)が増加するとともに、同群雄及び 75ppm 以上投与群雌では脾のヘモジデリン沈着が増加した。
- F_{2a}、F_{2b}：薬物による影響はなかった。
- P₃： 75ppm 以上投与群で腎重量が増加し、750ppm 投与群雌では副腎の対体重比が増加した。75 および 7.5ppm 群雄で対照群に比べ脾臓重量が統計学的に有意に減少したが、最高用量では同様の傾向は認められず病理組織学的検査においも関連する異常は認められなかったため投与の影響とはみなさなかった。
75ppm 以上投与群雄と 750ppm 投与群雌で脾のヘモジデリン量が増加した。

一般毒性結果概要；

投与レベル (ppm)	試験結果要旨		
	P ₁	P ₂	P ₃
7.5	薬物に起因する変化なし		
75	腎重量↑ 腎石灰沈着↑(雌)	腎重量↑ 脾のヘモジデリン沈着↑(雌)	腎重量↑ 脾のヘモジデリン沈着↑(雄)
750	75ppm 群でみられた所見に加え、下記の変化あり		
	体重増加抑制(雌) 脾のヘモジデリン沈着↑(雌)	体重増加抑制(雌) 脾重量↑ 肝病変及び脾のヘモジデリン沈着↑(雄)	副腎対体重比↑(雌) 脾のヘモジデリン量↑(雌)

繁殖毒性 P₁、P₂とも 750ppm 投与群で妊娠期間が軽度延長される傾向がみられた。
P₁の F_{1b}妊娠時に 7.5ppm 群において妊娠期間の統計学的に有意な延長が認められたが、用量との関連性が認められず F_{1b}妊娠時以外では同様の傾向がみられなかったため偶発的变化と考えられた。

以上より、本試験におけるクロメプロップの一般毒性に関する無毒性量は雌雄とも 7.5ppm (雄 0.62 mg/kg/日、雌 0.70 mg/kg/日)、繁殖性に関する無毒性量は 75ppm (雄 5.99 mg/kg/日、雌 6.91 mg/kg/日)であると判断する。

ラットにおける催奇形性試験

(資料 23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1986 年

検体の純度： %

試験動物： SD(CD)系ラット(体重 187~223g) 1群 20匹

試験期間： 飼育期間 20 日間(1985 年 3 月 19 日~4 月 14 日)

方法： 検体をコーンオイルに懸濁させ 4、16 及び 64 mg/kg の投与レベルで、妊娠後 6 日目から 15 日目までの 10 日間、胃管を用い毎日 1 回経口投与した。

塗抹標本に精子が存在していたか又は膣栓が見つかった日を妊娠 0 日とした。

なお、対照群にはコーンオイルを同様に投与した。

投与量設定根拠：

試験項目：

母体； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、3、6~16(毎日)、18 及び 20 日に体重を測定するとともに、摂餌量及び飲水量を 2~4 日おきに記録した。

妊娠 20 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数及び死亡胎児数を検査するとともに、剖検により肉眼的検査を行った。

生存胎児；性別、体重及び外形異常の検査を行った。

全同腹児の約半数について剖検を行い、内臓を摘出した後、骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。残りの胎児については固定後、フリーハンド連続切片法により内臓異常の有無を検査した。

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

試験結果

投与群(mg/kg/日)		対照群	4	16	64	
1群当り動物数		20	20	20	20	
親動物	一般状態				1匹が投与終了時に昏眼と立毛を呈す	
	死亡率	死亡例なし				
	体重変化(g) ^(注1)	76	75	70*	61***	
	摂餌量	—	対照群とほぼ同等		妊娠6~15日の間有意に減少	
	飲水量	—	対照群よりやや増加		対照群より有意に増加	
	肉眼的検査				子宮角内の出血動物増加	
	妊娠% (数)	100 (20)	100 (20)	100 (20)	95 (19)	
	着床所見	黄体数	15.8	16.5	16.1	16.4
		着床数	14.7	15.4	15.1	15.3
		生存胎子数(%)	13.5 (91.8)	14.8 (96.1)	14.5 (96.0)	14.3 (93.5)
吸収胎数(%)		1.2 (8.2)	0.6 (3.9)	0.6 (4.0)	1.0 (6.5)	
胎盤重量(g)		0.51	0.51	0.50	0.53	
児動物	体重(g)	雄	3.39	3.29	3.31	3.23*
		雌	3.22	3.10	3.19	3.03*
	性別(雄%)	48.1	49.3	51.0	53.1	
	外形異常(%)	0/270 (0)	2/296 (0.7) 鎖肛、尾形成不全	1/290 (0.3) 鎖肛	3/271 (1.1) 脳ヘルニア 1 ドーム頭 1 鎖肛 1	
	骨格異常 ^(注2)	化骨遅延(%)	21/138 (15.2)	31/154 (20.1)	25/150 (16.7)	34/141(24.1)
		化骨亢進(%)	14/138 (10.1)	11/154 (7.1)	12/150 (8.0)	9/141(6.4)
		変異 (%)	21/138 (15.2)	18/154 (11.7)	21/150 (14.0)	29/141(20.6)
		奇形 (%)	0/138 (0)	1/154 (0.6) 第1尾椎無形成	1/150 (0.7) 第4腰椎無形成	1/141(0.7) 左肩甲骨矮小
	内臓異常	変異 (%)	77/132 (58.3)	72/142 (50.7)	76/140 (54.3)	65/130 (50.0)
		奇形 (%)	2/132 (1.5) 横隔膜ヘルニア 1 部分的内臓逆位・心室中隔欠損 1	2/142 (1.4) 心室中隔欠損 1 脊柱無形成・尿痕跡・無肛門 1	4/140 (2.9) 逆行性食道右鎖骨下動脈 1 心室中隔欠損 1 小横隔膜ヘルニア 2	2/130 (1.5) 重度脳ヘルニア 1 短尾 1

*P<0.05 ***P<0.001 (体重変化: Student's T test, 胎児体重: 分散分析および重み付け t 検定)

空欄は薬物投与に起因する変化なし

(注1) 妊娠 6~16 日の体重増加量

(注2) 化骨遅延及び変異のうち対照群に比べて増加傾向がみられたものを別表に示した。

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

別表

分類	所見	投与群 (mg/kg/日)				背景データ (範囲)
		対照群	4	16	64	
化 骨 遅 延	後頭骨(上部)	6.5 %	11.0 %	12.7 %	12.8 %	0 - 29.2 %
	頭頂骨(間部)	11.6	16.2	15.3	20.6	7.1 - 50.5
	舌骨	0.7	6.5	4.0	4.3	1.0 - 25.0
	仙椎弓及び又は腰椎弓	0.7	2.6	1.3	2.8	0 - 6.2
	中手骨/中足骨	2.2	3.9	2.0	3.5	0 - 9.3
	恥骨	4.3	13.0	9.3	9.9	0 - 18.6
変 異	舌骨欠損	7.2	3.9	9.3	15.6	0.7 - 18.3
	肩甲骨(内側縁)欠損	7.2	4.5	4.0	11.3	0 - 8.1

親動物への影響

64 mg/kg/日投与群では投与期間中、体重増加が抑制されたほか、摂餌量が減少し飲水量が増加した。体重増加抑制は 16mg/kg/日投与群でも認められた。16 および 4mg/kg/日投与群では投与期間中時折対照群に比較して飲水量が増加したが投与量または投与との明らかな関連はなかった。

妊娠 20 日の最終屠殺において 64mg/kg/日投与群では片側または両側の子宮角内に出血がやや高い頻度で認められた。

胎児動物への影響

64 mg/kg/日投与群で胎児重量がわずかに低かった。

生存率、性別及び異常(外形、内臓、骨格)とも対照群と差はなく、検体投与によると考えられる変化はなかった。

以上よりクロメプロップをラットに投与した場合、64 mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。本試験条件下における無毒性量は母動物に対しては 4 mg/kg/日、胎児に対しては 16 mg/kg/日であると判断する。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料 24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1986 年

検体の純度： %

試験動物： ニュージーランドホワイト系妊娠ウサギ(体重 3.5~4.4kg)

1 群 20 匹^(注)

試験期間： 飼育期間 29 日間(1985 年 6 月 24 日~10 月 10 日)

方法： 検体をコーンオイルに懸濁させ 12、60 及び 300 mg/kg の投与レベルで、妊娠後 6 日目から 19 日目までの 14 日間、胃管を用い毎日 1 回経口投与した。

受精日を妊娠 0 日とした。

なお、対照群にはコーンオイルを同様に投与した。

投与量設定根拠：

試験項目：

母体； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、8、10、12、14、16、18、20、24 及び 28 日目に体重を測定した。

摂餌量及び飲水量を 4~7 日おきに記録した。

妊娠 29 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数及び死亡胎児数を検査するとともに、剖検により肉眼的検査を行った。

生存胎児；性別、体重及び外形異常の検査を行った。

全胎児について内臓異常の有無を検査するとともに、内臓を摘出した胎児は骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。

(注) 最初 14 匹、後に 6 匹追加

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オエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果

投与群(mg/kg/日)		対照群	12	60	300	
1群当り動物数		22 ^(注1)	20	20	20	
親動物	一般状態					
	死亡率	5/21	1/20	2/20	2/20	
	体重変化(kg) ^(注2)	0.27	0.31	0.35	0.33	
	摂餌量	—	対照群とほぼ同等			
	飲水量	—	対照群とほぼ同等			
	肉眼的検査					
	妊娠%(数)	100 (16)	94.7 (18)	94.4 (17)	94.4 (17)	
	^(注3) 着床	黄体数	10.9	11.6	11.6	12.3
		着床数	8.1	9.8	8.8	9.5
	所見	生存胎子数(%)	7.3 (90.1)	8.7 (88.8)	7.4 (84.1)	8.2 (86.3)
吸収胚数(%)		0.8 (9.9)	1.1 (11.2)	1.4 (15.9)	1.3 (13.7)	
胎盤重量(g)		6.1	5.6	5.5	5.5	
児動物	体重(g)	40.5	39.4	39.7	36.7	
	性別(雄%)	50.7	54.0	52.4	53.4	
	外形異常(%)	0/117 (0)	0/148 (0)	1/126 (0.8) 膈ヘルニア	3/115 (2.6) 二分脊椎1 (注4) 無頭蓋症1 (注5) 膈ヘルニア1	
	骨格異常	化骨遅延(%)	14/117 (12.0)	10/148 (6.8)	14/126 (11.1)	14/115(12.2)
		化骨亢進(%)	0/117 (0)	1/148 (0.7)	2/126 (1.6)	1/115(0.9)
		変異 (%)	23/117 (19.6)	28/148 (18.9)	29/126 (23.0)	16/115(13.9)
		奇形 (%)	0/117 (0)	0/148 (0)	0/126 (0)	3/126(2.4) 頸椎異常1 二分脊椎1 (注4) 無頭蓋症1 (注5)
	内臓異常	変異 (%)	55/117 (47.0)	53/148 (35.8)	32/126 (25.4)	52/115 (45.2)
		奇形 (%)	0/117 (0)	1/148 (0.7) 肺中葉無形成1	0/126 (0)	2/115 (1.7) 大動脈肥大1 (注4) 無名動脈欠損1 (注5)

空欄は薬物投与に起因する変化なし

(注1) 内1匹は事故死により試験より除外

(注2) 妊娠6~28日の体重増加量

(注3) 試験終了時迄生存し、着床の形跡が認められた動物を対象

(但し、胎盤重量は生存児を産んだ動物のみ対象)

(注4)、(注5) 同一胎児

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。

親動物への影響

試験期間中、対照群を含め 10 匹が死亡したが、死因はいずれも検体によるものでなく、妊娠 29 日の剖検でも検体によると考えられる変化はなかった。また、60 mg/kg/日投与群(2 匹)と 300mg/kg/H 投与群(1 匹)で全同腹児の吸収がみられたが、同群の他動物には異常がみられなかったことから検体によるものとは考えられない。

胎児動物への影響

300 mg/kg/日投与群で胎児重量が減少した。胎児重量に対照群との間に統計学的有意差は認められなかったものの、下表に示すように本群において、32g 以下の矮小児の発生率が有意に増加したことから投与の影響と考えられた。

表：32g 以下の胎児の発生率

	対照群	12	60	300	背景データ (範囲)
発生率(%)	17.9	17.6	15.9	38.3	13.42 (0.0~30.4)
(同腹児数)	(8)	(9)	(8)	(8)	

300 mg/kg/日投与群では 2 匹の異常例 (二分脊椎、無頭蓋症)が観察されたが単発的であり、従来、当研究所の対照群でも認められているところから検体によるものとは考えられなかった。その他、剖検時の所見と骨格検査でも検体によると思われる異常は認められなかった。

以上より、クロメプロップをウサギに投与した場合、300 mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。本試験における無毒性量は母動物に対しては 300 mg/kg/日、胎児に対して 60 mg/kg/日であると判断する。

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

(11) 変異原性

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1986 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*、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2uvrA 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		—	24 (25,23)	26 (28,24)	134 (153,133)	16 (18,13)	19 (15,22)	30 (31,29)
検体	206	—	20 (17,23)	27 (26,28)	141 (154,127)	19 (20,17)	15 (16,14)	21 (18,23)
	413	—	26 (30,22)	24 (22,25)	128 (116,140)	15 (7,22)	17 (18,15)	26 (30,22)
	825	—	20 (23,17)	31 (29,32)	142 (141,143)	12 (13,11)	13 (9,17)	29 (29,29)
	1,650	—	22 (18,26)	26 (26,25)	128 (135,120)	11 (10,12)	15 (16,13)	18 (13,23)
	3,300		18 (14,21)	28 (28,28)	133 (140,125)	11 (11,11)	18 (13,22)	20 (23,17)
	6,600	—	24 (23,24)	22 (26,18)	149 (152,145)	6 (8,4)	15 (10,20)	29 (27,30)
陽性 対照	備考欄	—	114 ^{a)} (101,126)	611 ^{b)} (560,662)	802 ^{c)} (782,821)	667 ^{d)} (569,764)	689 ^{e)} (672,705)	606 ^{b)} (602,610)

(注) 上段数字は 2 回測定した平均値

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。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)			19 (23,15)	19 (17,20)	126 (125,126)	17 (14,20)	22 (15,28)	43 (40,46)
検体	206	+	23 (20,26)	12 (11,12)	140 (139,140)	20 (20,20)	13 (10,10)	34 (37,31)
	413	+	13 (13,12)	13 (12,13)	128 (113,143)	14 (15,12)	18 (19,16)	45 (47,43)
	825	+	19 (19,19)	14 (15,13)	129 (150,128)	13 (15,11)	18 (16,19)	32 (28,35)
	1,650	+	14 (17,11)	14 (8,19)	131 (122,140)	8 (9,7)	12 (11,13)	36 (35,37)
	3,300	+	16 (14,17)	12 (13,10)	129 (144,114)	8 (8,7)	11 (13,8)	32 (29,34)
	6,600	+	13 (14,12)	19 (15,23)	148 (134,162)	11 (9,13)	10 (10,10)	23 (19,26)
陽性 対照	備考欄	+	1100 ^d (1147,1052)	309 ^e (328,290)	525 ^{b)} (588,461)	279 ^e (290,267)	494 ^{b)} (484,503)	530 ^{b)} (558,501)

(注) 上段数字は2回測定した平均値

- a) 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド: AF-2
- b) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2
- c) 5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン: ENNG
- d) 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-アミノアクリジン: ACR
- e) 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-ニトロフルオレン: 2-NF
- f) 40 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-アミノアントラセン: 2-AA
- g) 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA
- h) 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA

検体投与群は代謝活性化法を含め、最高濃度である 6,600 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、ACR、2-NF、2-AA ではすべての検定菌株で、明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化法を含む本試験条件下で、遺伝子突然変異を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利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。

チャイニーズ・ハムスターの肺腺維芽細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験 (資料 26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1986 年

検体の純度： %

方法： チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺腺維芽細胞を用いた。

各濃度で 200 個の分裂中期像を観察した。染色体の異常をギャップ (gap)、切断 (bre)、交換 (exc)、環状形成 (rin)、細片化 (fra) 及びその他 (oth) に分類し計測した。構造異常を有する細胞の出現頻度は 5% 未満を陰性 (-)、5~10% を疑陽性 (+)、10% 以上を陽性 (+) とした。また、数的異常については倍数性細胞の出現数を計測し、その評価は構造異常に準じた。

結果：

代謝非活性化

薬物	濃度 µg/ml	適用後 時間	異常を有する細胞数							倍数性 細胞(%)	評価	
			gap	brc	exc	rin	fra	oth	%			
溶媒対照 (DMSO)		24	2	0	0	0	0	0	0	1.0	0.0	-
		48	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	-
検体	41.3	24	1	1	0	0	0	0	1	1.5	1.5	-
		48	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0	-
	82.5	24	0	0	0	0	0	0	0	0.0	2.5	-
		48	0	0	0	0	0	0	0	0.0	2.5	-
	165.0	24	0	1	1	0	0	0	1	1.5	4.0	-
		48	0	0	0	1	0	0	0	0.5	5.0	+
	330.0	24	1	1	0	0	0	0	0	1.0	5.0	+
		48	1	1	0	0	0	0	0	1.0	8.0	+
陽性対照 (MNNG ¹⁾)	2	48	12	35	43	4	0	15	39.0	7.5	+	

1) N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

代謝活性化

薬物	濃度 μg/ml	適用後 時間	異常を有する細胞数							倍数性 細胞(%)	評価	
			gap	bre	exc	rin	fra	oth	%			
溶媒対照 (DMSO)		6	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.5	—
検体	41.3	6	1	0	0	1	0	0	0	1.0	1.0	—
	82.5	6	1	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5	—
	165.0	6	2	0	1	0	0	0	0	1.5	1.0	—
	330.0	6	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.5	—
陽性対照 (B(a)P ²)	30	6	17	56	117	6	0	4	67.5	0.5	+	

2) 1,2-ベンゾピレン

検体投与群における染色体異常の発現頻度は構造的異常については溶媒対照と同程度であったが、倍数性細胞については代謝非活性化法で高濃度において僅かな上昇がみられ疑陽性であった。

一方、陽性対照として用いた MNNG、B(a)P では顕著な染色体構造異常の増加がみられた。

以上の結果から、検体はチャイニーズ・ハムスター肺腺維芽細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験において、極めて低頻度ではあるが倍数性細胞を誘発するものと判断された。

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

細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1985 年

検体の純度： %

方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、代謝活性化(S-9 Mix)及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

被験物質を溶解させるため DMSO を用いた。

結果：

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (ug/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
非活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	206	0.0	0.0	0.0
		413	0.0	0.0	0.0
		825	0.0	0.0	0.0
		1.650	0.0	0.0	0.0
		3.300	0.0	0.0	0.0
陰性対照 (カナマイシン)	0.3	6.3	6.5	<0.0	
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.02	14.5	0.8	13.7	
活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	103	0.0	0.0	0.0
		206	0.0	0.0	0.0
		413	0.0	0.0	0.0
		825	0.0	0.0	0.0
		1.650	0.0	0.0	0.0
陽性対照 (Trp-P-1)	20	10.5	1.8	8.7	

(注) 数字は 3 回測定した平均値

検体投与群では代謝活性化法を含め、溶解限度である 3,300µg/disk においても両株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシン C および Trp-P-1 では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断された。

マウスを用いた in vivo 小核試験

(資料 28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1989 年

検体の純度： %

方法： 4~5 週齢の CD-1 系マウス、雌雄各 5 匹/群/屠殺時期を用いた。4 日間の馴化後、MY-15 を 1% methyl cellulose 溶液として強制経口投与した。陽性対照としては、chlorambucil (30 mg/kg) を用いた。

骨髄赤血球は、薬剤投与 24 時間後屠殺し採取した。最高投与量群については更に 48、72 時間後に採血した。

採血した骨髄細胞は、遠心分離後、スライドに塗抹し、Schmid 染色法により染色した。判定の方法は、多染性赤血球 1,000 個当りの小核化細胞の発現頻度を用い、Mann-Whitney 法による統計処理を行った。

観察結果： 光学顕微鏡を用い、赤血球中の小核の存在と赤血球の分類を行った。各動物毎に 1,000 個の細胞を計測した。

試験結果： 本検体の骨髄に対する毒性は認められなかった。また投与 24、48 及び 72 時間後の赤血球中の小核発現頻度は対照群と投与群で同様であった (下表)。

以上より、この骨髄細胞を用いた in vivo 試験で、クロメプロップには染色体損傷又は誘発する作用は無いと結論された。

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

小核試験結果

投与群(mg/kg)	24 hr			48 hr		72 hr		24 hr
	0	120	600	3,000	0	3,000	0	陽性対照* (chlorambucil)
多染色性赤血球 (観察数)	5,041	5,278	5,095	5,199	5,437	5,080	5,216	5,171
小核数 (多染色性赤血球当りの)	4	10	4	5	12	5	6	431
	10	3	5	8	3	6	5	317
小核出現頻度	0.8±1.3	1.9±0.6	0.8±0.4	0.9±0.6	2.2±1.6	1.0±1.4	1.2±1.6	83.0±24.4
	1.9±1.0	0.6±0.9	1.0±0.6	1.6±1.5	0.6±0.9	1.2±1.2	0.9±1.1	62.5±15.9
赤血球 (観察数)	5,259	5,312	5,656	5,238	5,498	5,238	5,741	5,593
	5,120	5,671	5,350	5,351	5,448	5,207	5,355	7,583
小核数 (赤血球当りの)	5	2	2	2	7	3	5	9
	1	4	3	1	6	6	3	14
小核出現頻度	1.0±0.1	0.4±0.5	0.4±0.5	0.4±0.9	1.2±1.3	0.6±0.9	0.6±1.4	1.7±1.3
	0.2±0.4	0.7±1.0	0.6±0.9	0.2±0.4	1.2±0.8	1.2±1.6	0.6±0.9	1.8±1.1
多染色性赤血球 赤血球	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9
	1.0	0.9	1.0	0.9	0.9	1.0	1.0	0.7

上段：雄、下段：雌

小核出現頻度：1,000細胞当りの平均数±SD

(12) 生体機能影響

クロメプロップの一般薬理に関する試験

(資料 32)

試験期間:

報告書作成年: 1986年

検体の純度: %

方法: 検体は 0.5%カルボキシメチルセルロースに懸濁し所定の濃度に調整して動物に、胃ゾンデを用いて強制経口投与した(但し、呼吸・循環器系の試験は静注投与した)。

(1) 中枢神経系に対する作用

① マウスの一般症状に及ぼす影響

供試動物: ICR系マウス、5~7週齢、1群雄10匹

方法: 検体および対照溶媒を、投与前18時間絶食させたマウスに投与し、投与前、投与後1、3、6及び24時間目に観察した。

投与量は0、50、500、5,000mg/kgとした。

観察項目: 一般症状の観察はIrwinの多次元観察法に従った。

結果: 行動的プロフィール、神経的プロフィールおよび自律神経的プロフィールとも投薬群と対照群との間に差が認められなかったことより、クロメプロップ投与によるマウス一般症状に及ぼす影響は無いと判断された。

② ラットの自発運動に及ぼす影響

供試動物: SD系ラット、5~7週齢、1群雄5匹

方法: 検体および対照溶媒を、投与前18時間絶食させたラットに投与し、投与前、投与後1、3、6および24時間目に観察した。

投与量は0、50、500、5,000mg/kgとした。

観察項目: 観察はオープンフィールドを用い、ラットの行動数(移動区画数、排糞個数、排尿回数、立ち上がり回数、身繕い動作)を測定した。

結果: ラットの行動数は、投薬群と対照群との間に差が認められなかったことより、クロメプロップ投与による自発運動に及ぼす影響は無いと判断された。

③ マウスの筋弛緩作用に及ぼす影響

供試動物: ICR系マウス、5~7週齢、1群雄10匹

方法: 検体および対照溶媒を、投与前18時間絶食させたマウスに投与し、投与前、投与後1、3、6および24時間目に観察した。試験方法は傾斜角度を50°にした傾斜板(傾斜板法)およびrotarod(回転棒法)

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

を用いて行った。

投与量は 0、50、500、5,000mg/kg とした。

観察項目： 観察は傾斜板法ではマウスを傾斜板上に置き、1分以内に滑落する動物数を、回転棒法では回転棒に乗せ落下するまでの時間を測定した。

結果： 傾斜板法および回転棒法とも投薬群と対照群との間に差が認められなかったことより、クロメプロップ投与による筋弛緩作用(運動協調障害)は無いと判断された。

(2) 自律神経系に対する作用

① モルモットの摘出回腸に及ぼす影響

供試動物： Hartley 系モルモット、4週齢、雄3匹

方法： モルモットより摘出した回腸を用い、マグヌス法(26℃、タイロッド液、通気)にて懸垂し標本の張力変化を検索した。薬物濃度は0.01、0.1mg/mlとし、対照物質はブラジキニンを用いた。

測定項目： 標本の張力変化を等張性トランスデューサーを用いて記録した。

結果： モルモット摘出回腸の運動に対するクロメプロップの影響は、0.1mg/mlの濃度までは認められなかった。

また、抗ブラジキニン様作用も特に認められなかった。

② ラットの小腸輸送能に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、5~7週齢、1群雄10匹

方法： 検体および対照溶媒をラットに投与後、3時間後に炭素末乳剤を経口投与で30分後に動物を屠殺開腹し、胃から盲腸までを摘出した。投与量は0、50、500、3,000mg/kgとした。

測定項目： 摘出小腸の幽門部から炭素末移行部先端までの小腸の長さを測定し、下式に従って炭素末の移行率(%)を算出した。

$$\text{炭素末移行率(\%)} = \frac{\text{幽門部からの炭素末移動距離}}{\text{幽門部から回盲弁までの距離}} \times 100$$

結果： 炭素末移行率に投薬群と対照群との間で差は認められなかったことより、クロメプロップ投与による小腸輸送能への影響はないと判断された。

(3) 呼吸・循環系に対する作用

① ウサギの血圧、血液、心拍数、心電図および呼吸に及ぼす影響

供試動物： NZW種ウサギ、3ヶ月齢、雄3匹

方法： ペンタバルビタール麻酔ウサギの側の股静脈にカニューレを挿入し薬剤を注入した。血圧は総頸動脈に動脈カニューレを挿入し高圧トランスデューサーを用い、血流は頸動脈を露出させドップラー血流計を用い測定した。

呼吸は咽頭鏡により気管カニューレを挿入し気管トランスデューサーにより測定した。

心電図は標準肢誘導 (I, II, III) および増高単極肢誘導 (aV_R, aV_L, aV_F) により測定し、心拍数は心電図第 II 肢誘導より求めた。

薬物は生理食塩液およびウサギ血清にブレンダーを用いて均一に分散させ、先記のカニューレより注入した。

薬物濃

度は 0.01、0.1、1.0 mg/ml を設定した。対照薬物としてエピネフリン、アセチルコリンを用いた。

測定項目： 血圧 (収縮期圧、拡張期圧)、心拍数、呼吸数・・・薬物投与 1、5、10、30 分後測定

心電図、血液 (頸動脈血液)・・・薬物投与 1、2、10、30 分後測定

結果： 血圧、心拍数、呼吸数、心電図、血液において薬物最高濃度迄、何等変化は認められなかった。更に抗コリンやアドレナリン作用は認められなかった。

(4) その他の器官に対する作用

① 血液凝固に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、5~7週齢、1群雄5匹

方法： 検体および対照溶媒を投与前 18 時間絶食させたラットに投与し、3 時間後に股静脈より採血し、マイクロ・コアグロメーター (液体粘度変化による空気圧測定法) により凝固時間を測定した。

投与量は 0、50、500、5,000 mg/kg とした。

測定項目： 全血凝固時間 (CT)

結果： CT に投薬群と対照群との間で何等差は認められなかったことより、クロメプロップ投与による血液凝固に及ぼす影響は無いと判断された。

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

② 溶血に及ぼす影響

供試動物： NZW 種ウサギ、3ヶ月齢、雄1匹

方 法： ウサギよりヘパリン採血した血液を遠心分離し、得られた赤血球を生理食塩水に浮遊させ、赤血球浮遊液を作製した。薬物を生理食塩水に溶解した薬物溶液をこれに添加し、インキュベーション後遠心分離して得られた上清を用い、下記の測定を行った。

薬物濃度は $(9.3 \times 10^{-6} \text{M})$ とし、対照液として 0.1%サポニン溶液および蒸留水を用いた。

測定項目： 上清の吸光度を波長 540nm で測定し、蒸留水を用いた時の値を 100%溶血として、検体溶液の溶血%を算出した。

結 果： 対照溶液の溶血率はいずれも 100%であるのに対し、生理食塩水および薬物溶液の溶血率は約 2%であった。従って、クロメプロップに溶血性は無いと判断された。

③ ラットの尿に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、5~7週齢、1群雄5匹

方 法： 18時間絶食させたラットを代謝ケージに収容し、蒸留水 25ml/kg を経口投与し1時間後に再び同量の蒸留水を投与すると同時に薬物を投与する。投与後5時間までの蓄尿を用い下記の尿検査を行った。投与量は 0、50、500、5,000 mg/kg とした。

検査項目： 尿量、pH (試験紙法)、蛋白 (試験紙法)、比重 (屈折計法)、Na (炎光法)、K (炎光法)、Cl (電量滴定法)

結 果： 上記検査項目に、投薬群と対照群との間に何等差は認められなかったことより、クロメプロップ投与による尿に及ぼす影響は無いと判断された。

(5) 試験結果のまとめ

クロメプロップの生体機能に及ぼす影響を、中枢神経系、自律神経系、呼吸・循環系およびその他の器官に対する各種試験により検討したが、上記の如く、クロメプロップはすべての試験項目に於いて、全く作用が認められなかった。

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。

クロメプロップの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経作用 一般症状 [Irwin 法]	マウス	経口 (0.5%カルボキ シメチルセルロース)	0、50、500、 5,000	雄 10	>5,000	5,000	症状は認められなかった。 投与の影響は認められなかった。
自発運動量	ラット			雄 5			
筋弛緩作用 [傾斜版、 回転棒法]	マウス			雄 10			
自発神経系に及ぼす影響 摘出回腸	モルモット	—	0.01、 0.1mg/mL	雄 3	>0.1 mg/mL	0.1mg/mL	検体の影響は認められなかった。
小腸輸送	ラット	経口 (0.5%カルボキ シメチルセルロース)	0、50、500、 3,000	雄 10	>3,000	3,000	投与の影響は認められなかった。
呼吸・循環系に及ぼす影響 血圧、血液、心拍数、 心電図、呼吸	ウサギ	静注 (生理食塩水 +ウサギ血清)	0.1、 1.0mg/L	雄 3	>1.0mg/L	1.0mg/L	投与の影響は認められなかった。
その他器官に対する作用 血液凝固影響 (全血凝固時間)	ラット	経口 (0.5%カルボキ シメチルセルロース)	0、50、500、 5,000	雄 5	>5,000	5,000	投与の影響は認められなかった。
溶血影響	ウサギ 血液	—	$9.3 \times 10^{-8}M$	雄 1	> $9.3 \times 10^{-8}M$	$9.3 \times 10^{-8}M$	検体の影響は認められなかった。
尿に及ぼす影響 [尿量、pH、蛋白、 比重、Na、K、Cl]	ラット	経口 (0.5%カルボキ シメチルセルロース)	0、50、500、 5,000	雄 5	>5,000	5,000	投与の影響は認められなかった。

2. 原体混在物および代謝物

(代謝分解物記号) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 11)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度: %

試験動物: ウィスター系ラット(6週令) 1群雌雄各 10匹

試験期間: 14日間観察

方法: 検体をカルボキシメチルセルロース溶液に懸濁させて投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。また、解剖時に認められた癒着臓器等について病理組織学的検査を追加実施した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 347、417、500、600、720、864 雌 289、347、417、500、600、720
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 594 (523~674) 雌 444 (380~518)
死亡開始時間及び 終了時間	投与後 8 時間以内~7 日
症状発現及び 消失時期	投与後 1 時間~9 日 (但し、600mg/kg 投与群の雄 1 匹は投与 14 日後迄症状が持続した。)
毒性兆候の認められなかった 最高投与量	雄 347 雌 <289
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 347 雌 289

投与後 1 時間より、雌雄とも音および接触に対する反射消失、自発運動減少、横臥、体温低下、流涎、眼瞼下垂/閉鎖、立毛、下痢及び貧血、さらに雄では背位が観察されて死亡例が発生した。

解剖所見として、死亡動物では雌雄とも腸間の癒着および少量の腹水、雄では小腸と腹壁の癒着、肝と小腸の癒着および精囊萎縮がみられた。

試験終了時の生存動物の剖検では、雌雄とも腸間膜リンパ節の肥大、パイエル板の肥大がみられ、さらに、雄では死亡動物と同様の

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

所見がみられた。

解剖時に認められた癒着臓器等の組織学的検査において、異常所見として胃に前胃粘膜上皮の角化亢進及び棘細胞増生（雄）、びらん、細胞浸潤及び炎症（雌）、小腸にびらん、潰瘍（雌）、大腸に潰瘍（雌）、腹膜に腹膜炎（雌）が認められた。

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。

(代謝分解物記号) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 29)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1986 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*、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2uvrA 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

結 果 :

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		—	27 (26,28)	36 (34,37)	156 (157,154)	6 (7,5)	14 (11,17)	22 (22,21)
検体	375	—	26 (30,21)	45 (39,50)	143 (150,136)	7 (7,6)	16 (14,18)	25 (25,25)
	750	—	27 (26,27)	38 (41,35)	141 (144,138)	8 (6,9)	14 (12,16)	25 (28,21)
	1,500	—	24 (27,20)	27 (28,26)	155 (149,161)	5 (5,5)	18 (17,18)	21 (19,23)
	3,000	—	23 (22,24)	29 (34,23)	136 (125,147)	3 (4,1)	8 (9,7)	18 (19,17)
	6,000	—	19* (18,19)	8* (8,8)	76* (73,79)	1* (0,1)	5* (7,3)	12* (11,12)
	12,000	—	18* (20,16)	5* (9,1)	29* (26,31)	0* (0,0)	0* (0,0)	7* (7,7)
陽性 対照	備考欄		166 ^{a)} (162,169)	189 ^{c)} (167,210)	513 ^{a)} (553,473)	524 ^{d)} (503,545)	419 ^{e)} (428,409)	446 ^{b)} (468,423)

(注) 上段数字は 2 回測定した平均値

*抗菌性発現

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。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		+	28 (31,25)	19 (16,22)	151 (163,139)	17 (13,20)	35 (32,38)	52 (45,59)
検体	375	+	29 (32,26)	12 (14,9)	143 (157,128)	14 (14,13)	32 (30,33)	33 (32,34)
	750	+	25 (25,25)	15 (15,15)	144 (135,152)	9 (7,10)	27 (25,28)	37 (38,36)
	1,500	+	24 (24,24)	16 (15,17)	112 (116,108)	8 (8,7)	28 (26,29)	26 (30,22)
	3,000	+	26 (30,22)	9* (13,4)	129 (143,114)	8* (6,9)	20* (19,21)	26* (22,30)
	6,000	+	18* (16,20)	6* (4,7)	78* (89,66)	4* (1,7)	15* (14,15)	16* (14,17)
	12,000	+	17* (16,18)	1* (2,0)	37* (34,40)	1* (0,2)	4* (1,6)	13* (18,7)
陽性 対照	備考欄	+	810 ^d (820,799)	164 ^e (152,176)	538 ^{h)} (551,524)	170 ^e (163,176)	564 ^{b)} (543,584)	528 ^{h)} (546,510)

(注) 上段数字は2回測定した平均値

*抗菌性発現

- a) 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド: AF-2
- b) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2
- c) 5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン: ENNG
- d) 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-アミノアクリジン: ACR
- e) 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-ニトロフルオレン: 2-NF
- f) 40 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-アミノアントラセン: 2-AA
- g) 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA
- h) 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA

検体投与群は代謝活性化法を含め、最高濃度である12,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたAF-2、ENNG、ACR、2-NF、2-AAではすべての検定菌株で、明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化法を含む本試験条件下で、遺伝子突然変異を誘発しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利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。

(代謝分解物記号) のチャイニーズハムスターの肺腺維芽細胞を用いた
in vitro 染色体異常試験 (資料 30)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体の純度: %

方法: チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺腺維芽細胞を用いた。

各濃度で 200 個の分裂中期像を観察した。染色体の異常をギャップ(gap)、切断(bre)、交換(exc)、環状形成(rin)、細片化(fra)及びその他(oth)に分類し計測した。構造異常を有する細胞の出現頻度は 5%未満を陰性(-)、5~10%を疑陽性(±)、10%以上を陽性(+)とした。また、数的異常については倍数性細胞の出現数を計測し、その評価は構造異常に準じた。

結果:

代謝非活性化

薬物	濃度 µg/ml	適用後 時間	異常を有する細胞数							倍数性 細胞(%)	評価	
			gap	bre	exc	rin	fra	oth	%			
溶媒対照 (DMSO)		24	1	0	0	0	0	0	0	0.5	0.0	-
		48	1	1	1	0	0	0	0	1.5	1.0	-
検体	25	24	1	0	1	0	0	1	1.5	2.5	-	
		48	1	1	1	0	0	0	1.5	0.5	-	
	50	24	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	-	
		48	0	0	0	0	0	0	0.0	1.5	-	
	100	24	3	1	0	0	0	0	2.0	0.0	-	
		48	1	0	1	1	0	0	1.5	0.5	-	
	200	24	1	0	0	1	0	0	1.0	0.5	-	
		48	1	1	0	0	0	0	1.0	0.0	-	
陽性対照 (MNG ¹⁾)	2	48	14	52	74	12	1	14	55.0	7.5	+	

1) N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

代謝活性化

薬物	濃度 μg/ml	適用後 時間	異常を有する細胞数							倍数性 細胞(%)	評価	
			gap	bre	exc	rin	fra	oth	%			
溶媒対照 (DMSO)		6	0	0	0	0	0	0	1	0.5	0.0	—
検体	150	6	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.5	—
	300	6	3	1	4	0	0	0	1	4.0	0.5	—
	600	6	1	3	6	0	0	0	0	4.0	1.5	—
	1,200	6	4	7	19	2	0	2	2	13.0	1.0	+
陽性対照 (B(a)P ²⁾)	30	6	7	21	55	2	0	1	36.0	1.5	+	

2) 1,2-ベンゾピレン

検体投与群における染色体異常は代謝非活性化法においては数的異常、構造異常とも溶媒対照と同程度であったが、代謝活性化法では 300 μg/ml より構造異常につき若干の増加が認められ、1,200 μg/ml では出現頻度は 13% と有意な上昇を示した。
一方、陽性対照として用いた MNNG、B(a)P では顕著な染色体構造異常の増加がみられた。

以上の結果から、検体はチャイニーズ・ハムスター肺腺維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において、低頻度ではあるが染色体構造異常を誘起するものと判断された。

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

(代謝分解物記号) の DNA 損傷誘発性

(資料 31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1986 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)と欠損株(M-45)を用い、代謝活性化(S-9 Mix)及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体を溶解させるため DMSO を用いた。

結 果：

代謝活性化 の有無	薬物	濃度 µg/disk	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
非活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	219	0.0	0.0	0.0
		438	6.8	0.0	6.8
		875	20.3	14.0	6.3
		1,750	24.8	19.5	5.3
		3,500	26.8	22.5	4.3
	陰性対照 (カナマイシン)	0.3	7.0	6.3	0.7
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.02	7.2	0.0	7.2	
活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	109	0.0	0.0	0.0
		219	5.0	1.8	3.2
		438	10.8	7.3	3.5
		875	17.7	14.5	3.2
		1,750	19.8	20.2	<0.0
陽性対照 (Trp-P-1)	20	7.2	1.0	6.2	

(注) 数字は 3 回測定した平均値

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。

検体投与群では代謝非活性化で 438、活性化では 219 $\mu\text{g}/\text{disk}$ より M-45 株に対する生育阻止効果が発現した。また、生育阻止帯差は前者で 4mm 以上となり陽性と判定され、後者では 3.2~3.5mm となって疑陽性と判定された。

一方、陽性対照のマイトマイシン C および Trp-P-1 では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、検体は DNA 損傷を誘発するものと判断された。

のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 33)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1987 年

検体の純度： %

試験動物： ウィスター系ラット(6週齢) 1群雌雄各5匹
(体重 雌 101~110g、雄 122~138g)

試験期間： 14日間観察

方法： 検体をカルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁させて投与前18時間絶食させた動物に投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。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：

検体	
投与量 (mg/kg)	5,000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共に >5,000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	症状発現なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5,000

死亡例はなく、LD₅₀は雌雄とも5,000mg/kg以上であった。

中毒症状も観察されず、試験終了時の生存動物の剖検でも内部諸臓器に特記すべき変化は認められなかった。

の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 35)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1987 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*、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2uvrA 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		—	17 (16,17)	18 (17,18)	145 (147,142)	4 (2,6)	16 (18,14)
検体	109	—	28 (32,24)	12 (10,13)	153 (147,159)	7 (5,8)	20 (23,16)
	219	—	22 (20,23)	16 (13,18)	153 (155,150)	9 (12,5)	23 (19,26)
	438	—	25 (32,18)	10 (7,13)	144 (146,141)	7 (10,3)	15 (15,15)
	875	—	22 (21,22)	15 (14,16)	153 (156,150)	4 (6,1)	20 (21,19)
	1,750	—	19 (22,16)	16 (17,14)	154 (154,153)	3 (1,4)	19 (18,19)
	3,500	—	19 (15,23)	13 (16,9)	137 (130,144)	5 (4,6)	18 (14,21)
陽性 対照	備考欄	—	204 ^{a)} (209,198)	190 ^{c)} (199,180)	409 ^{e)} (403,415)	252 ^{d)} (295,209)	249 ^{b)} (227,270)

(注) 上段数字は 2 回測定した平均値

- a) 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド : AF-2
 b) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2
 c) 5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトログアニジン : ENNG
 d) 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-アミノアクリジン : ACR

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オエルクロップサイエンス株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		+	31 (35,26)	15 (13,17)	151 (149,153)	11 (10,12)	37 (34,39)
検体	109	+	23 (27,18)	10 (14,6)	174 (179,168)	11 (14,7)	34 (35,33)
	219	+	24 (28,20)	6 (9,3)	178 (179,176)	13 (11,14)	38 (39,36)
	438	+	26 (25,27)	8 (7,9)	172 (176,167)	12 (11,12)	32 (31,33)
	875	+	25 (23,27)	10 (11,8)	158 (158,158)	19 (15,22)	31 (35,26)
	1,750	+	28 (29,26)	10 (10,9)	158 (149,167)	10 (12,8)	33 (33,33)
	3,500	+	28 (26,29)	14 (13,14)	142 (144,140)	10 (10,9)	24 (25,22)
陽性 対照	備考欄	+	663 ^{a)} (625,700)	129 ^{d)} (120,138)	667 ^{b)} (660,673)	113 ^{c)} (96,130)	325 ^{a)} (326,324)

(注) 上段数字は2回測定した平均値

- a) 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-アミノアントラセン : 2-AA
- b) 1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA
- c) 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA
- d) 20 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA

検体投与群は代謝活性化法を含め、最高濃度である 3,500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、ACR 及び 2-AA ではすべての検定菌株で、明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化法を含む本試験条件下で、遺伝子突然変異を誘発しないものと判断された。

の細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 36)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 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)と欠損株(M-45)を用い、代謝活性化(S-9 Mix)及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。
被験物質を溶解させるため DMSO を用いた。

結果:

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (ug/disk)	阻止帯の径(mm)		差(mm)
			M-45	H-17	
非活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	109	0.0	0.0	0.0
		219	0.0	0.0	0.0
		438	0.0	0.0	0.0
		875	0.0	0.0	0.0
		1,750	0.0	0.0	0.0
	陰性対照 (カナマイシン)	0.3	9.5	9.2	0.3
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.02	11.0	0.0	11.0	
活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	54.7	0.0	0.0	0.0
		109	0.0	0.0	0.0
		219	0.0	0.0	0.0
		438	0.0	0.0	0.0
		875	0.0	0.0	0.0
陽性対照 (Trp-P-1)	20	5.8	0.0	5.8	

(注) 数字は3回測定した平均値

検体投与群では代謝活性化法を含め、溶解限度である 1,750µg/disk(非活性化法)、875µg/disk(活性化法)においても両株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシン C および Trp-P-1 では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利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。

のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 34)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1987 年

検体の純度： %、 %

試験動物： ウィスター系ラット(6週齢) 1群雌雄各5匹
(体重 雌 101~110g、雄 122~138g)

試験期間： 14日間観察

方法： 検体をカルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁させて投与前18時間絶食させた動物に投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。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：

検体	
投与量 (mg/kg)	5,000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共に >5,000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	症状発現なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5,000

死亡例はなく、LD₅₀は雌雄とも5,000mg/kg以上であった。

中毒症状も観察されず、試験終了時の生存動物の剖検でも内部諸臓器に特記すべき変化は認められなかった。

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

の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 37)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1987 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*、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2uvrA 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

結果：

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		—	23 (25,20)	17 (17,16)	103 (102,104)	4 (5,3)	16 (15,17)
検体	139	—	32 (28,36)	18 (12,24)	123 (136,109)	3 (1,4)	11 (9,12)
	278	—	21 (23,19)	13 (12,14)	115 (114,115)	4 (3,5)	14 (10,17)
	556	—	28 (34,22)	15 (17,13)	139 (122,155)	6 (8,3)	16 (16,15)
	1,113	—	25 (26,24)	11 (13,8)	138 (133,143)	5 (7,2)	12 (12,12)
	2,225	—	24 (26,21)	12 (13,11)	146 (141,150)	6 (5,7)	13 (14,12)
	4,450	—	25 (21,28)	10 (8,12)	113 (121,104)	8 (8,8)	19 (20,18)
陽性 対照	備考欄	—	105 ^{a)} (114,96)	215 ^{c)} (221,208)	417 ^{a)} (391,443)	63 ^{d)} (71,54)	134 ^{b)} (153,114)

(注) 上段数字は2回測定した平均値

- a) 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド：AF-2
 b) 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ AF-2
 c) 5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトログアニジン：ENNG
 d) 80 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 9-アミノアクリジン：ACR

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。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 _{uvrA}	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		+	26 (22,30)	9 (13,5)	147 (144,149)	9 (11,7)	28 (22,34)
検体	139	+	25 (22,28)	5 (3,7)	140 (142,137)	10 (7,13)	23 (19,26)
	278	+	23 (24,22)	10 (11,8)	138 (132,144)	6 (4,7)	25 (36,13)
	556	+	20 (22,18)	11 (13,8)	147 (148,145)	16 (16,16)	22 (20,23)
	1,113	+	27 (24,29)	9 (7,10)	133 (136,130)	9 (9,9)	23 (24,22)
	2,225	+	30 (31,29)	9 (11,7)	136 (149,122)	11 (10,12)	30 (33,27)
	4,450	+	29 (21,36)	10 (8,12)	142 (131,153)	15 (14,15)	30 (28,32)
陽性 対照	備考欄	+	582 ^{a)} (593,571)	232 ^{c)} (221,243)	797 ^{a)} (809,784)	142 ^{d)} (137,147)	429 ^{b)} (403,455)

(注) 上段数字は2回測定した平均値

- a) 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-アミノアントラセン; 2-AA
- b) 1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA
- c) 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA
- d) 20 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA

検体投与群は代謝活性化法を含め、最高濃度である 4,450 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、ACR 及び 2-AA ではすべての検定菌株で、明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化法を含む本試験条件下で、遺伝子突然変異を誘発しないものと判断された。

の細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 38)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1987 年

検体の純度： %

方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、代謝活性化(S-9 Mix)及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

被験物質を溶解させるため DMSO を用いた。

結果：

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (ug/disk)	阻止帯の径(mm)		差(mm)
			M-45	H-17	
非活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	139	0.0	0.0	0.0
		278	0.0	0.0	0.0
		556	0.0	0.0	0.0
		1,113	0.0	0.0	0.0
		2,225	0.0	0.0	0.0
陰性対照 (カナマイシン)	0.3	9.5	9.2	0.3	
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.02	10.2	0.0	10.2	
活性化	対照 (DMSO)		0.0	0.0	0.0
	検体	69.5	0.0	0.0	0.0
		139	0.0	0.0	0.0
		278	0.0	0.0	0.0
		556	0.0	0.0	0.0
		1,113	0.0	0.0	0.0
陽性対照 (Trp-P-1)	20	5.5	0.0	5.5	

(注) 数字は 3 回測定した平均値

検体投与群では代謝活性化法を含め、溶解限度である 2,225µg/disk(非活性化法)、1,113µg/disk(活性化法)においても両株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシン C および Trp-P-1 では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利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. 製剤

用心棒フロアブルのラットを用いた急性経口毒性試験 (資料 製剤-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 2005 年

有効成分の含有量： オキサジアゾン 6.7%

クロメプロップ 6.7%

試験動物： SD 系ラット、1 群雌各 3 匹

試験開始時； 雌 8 週齢 (181~193g)

試験期間： 14 日間観察

試験方法：

検体調製： 検体に蒸留水を加えて混和させ 200mg/ml の懸濁液とした。

投与方法： 投与前日の夕方より絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 100g あたり 1 mL とした。

一般症状の観察及び体重の測定； 観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。

剖検； 観察終了時に全生存動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌：2000
LD50 (mg/kg)	雌：>2000mg/kg
死亡開始時間及び終了時間	雌：-
症状発現時間及び消失時間	雌：-
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：-
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：2000

一般症状及び体重；本検体による中毒症状は初回、第 2 回目いずれの投与群においても認められなかった。死亡例も認められなかった。検体に起因すると考えられる体重増加抑制は認められなかった。

剖検； 試験終了時に剖検した結果、肉眼的異常所見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。

用心棒フロアブルのラットを用いた急性経皮毒性試験
試験機関：

(資料 製剤-2)

[GLP 対応]

報告書作成年： 2005 年

有効成分の含有量： オキサジアゾン 6.7%
クロメプロップ 6.7%

試験動物： SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹
試験開始時 8 週齢 (雄 273~288g、雌 184~195g)

試験期間： 14 日間

試験方法：

検体調製； 検体に蒸留水を加えて 500mg/ml の懸濁液とした。

投与方法； 投与の約 24 時間前に塗布部位の背中中央を約 4×5cm の広さ
で剪毛したラットに経皮投与を実施した。その後は動物が検体
を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとス
ポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重
100g 当たり 0.4mL とした。

適用時間は 24 時間とし、その間動物を個別に収容した。適用
時間終了後、検体を微温湯で洗浄して取り除いた。

一般症状の観察及び体重の測定；観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻
繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。
体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。

剖検； 観察終了時に全生存動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後
剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄： >2000 雌： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： — 雌： —
症状発現時間及び 消失時間	雄： — 雌： —
最大無作用量 (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)	雄： 2000 雌： 2000

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。

一般症状及び体重；本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

剖検； 観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見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。

用心棒フロアブルのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (資料 製剤-3)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2004年

- 有効成分の含有量: オキサジアゾン 6.7%
クロメプロップ 6.7%
- 試験動物: 日本白色種雌ウサギ, 1群3匹
試験開始時; 18週齢(2.89~3.06kg)
- 試験期間: 3日間観察
- 試験方法: 投与1日前に動物の背部を刈毛した。刈毛した背部を2つの部分にわけ、検体適用部位(左側)には検体0.5mlを均一に塗布した2.5×2.5cmのリント布をのせ、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。右側は無処理部位とし、リント布を貼布し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露後はリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿で適用部位を清拭した。
- 観察項目: 皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑、痂皮および浮腫について行い、皮膚の反応の評価法(Draize法)に従って採点し記録した。
また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。
- 【評価】 刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後1、24、48及び72時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を4で割り、個別別の値を求め、更に供試したウサギの3匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0より大きく2未満	軽度刺激物
2以上5未満	中等度刺激物
5以上	強度刺激物

結果:

[一般観察] 全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重

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。

にも著変は見られなかった。

[刺激性] 表にみられる様に、検体除去1、24、48 および72 時間後の観察において、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。従って皮膚一次刺激性指数は0であった。なお、無処置部位には皮膚反応はみられなかった。

刺激性 (3 匹の平均)

項目		最高 評点	Draize による評価点 (平均値)			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
検 体	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			
無 処 埋	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			

以上のことから、検体はウサギの皮膚に対し「無刺激物」と評価された。

用心棒フロアブルのウサギを用いた眼一次刺激性試験
試験機関：

(資料 製剤-4)

[G L P 対応]

報告書作成年： 2004 年

- 有効成分の含有量： オキサジアゾン 6.7%
クロメプロップ 6.7%
- 試験動物： 日本白色種雌ウサギ、非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹
試験開始時； 15 週齢(2.57~2.78kg)
- 試験期間： 3 日間観察
- 試験方法： 6 匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体 0.1ml をそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの 3 匹の動物を、検体投与 30 秒後に 100ml の注射用水で洗眼して洗眼群とし、残りの 3 匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。
- 観察項目： 検眼は、投与 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、Draize 法に従って採点した。また適用後 24 時間には 2%フルオレセインナトリウム水溶液を 1 滴点眼し、速やかに注射用水で洗眼した後、角膜の損傷により生じる染色斑の有無を観察した。
- また、一般症状の観察を適用後 6 時間までは毎時、その後は 1 日 1 回、検眼時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。
- 結果：
- 一般観察； 全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。
- 刺激性； 検体適用後の眼の反応の結果を表 1～表 2 に示した。
- 非洗眼群では、結膜発赤および分泌物が全例、結膜浮腫が 2/3 例に認められたが、投与 48 時間後までに全て消失した。眼のその他の変化として、閉眼が投与直後に 2/3 例で観察された。各観察時期における平均合計評点の最大値 (MMTS) は投与 1 時間後の 6.0 であり、「極軽度の刺激性あり」に分類された。
- 洗眼群においては、結膜発赤および結膜浮腫が全例、分泌物が 1/3 例に認められたが、投与 24 時間後までに全て消失した。眼のその他の変化は、何れの動物にも観察されなかった。

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

MMTS は投与1時間後の 4.7 であり、非洗眼群とくらべて僅かであるが低値を示し、また刺激性消失までの時間が短縮した。

表 1. 眼一次刺激性試験成績

項 目			最高	投 与 後 時 間			
			評点	1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 (3 匹の 平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0.8	0	0
		浮 腫	4	0.3	0	0	0
		分泌物	3	1.3	0	0	0
	MTS#		110	6.0	0.7	0	0
洗眼群 (3 匹の 平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	1	0	0	0
		分泌物	3	0.3	0	0	0
	MTS#		110	4.7	0	0	0

#: Draize 法による評価点 (最高 110 点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

以上のことから、検体はウサギの眼に対し「極軽度の刺激性」があるものと評価された。

また、僅かではあるが洗眼の効果が認められた。

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。

用心棒フロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法) (資料 製剤-5)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2004年

有効成分の含有量: オキサジアゾン 6.7%
クロメプロップ 6.7%

試験動物: ハートレー系雌モルモット、1群 20匹 (非感作群は1群 10匹)、
試験開始時体重; 297~372g(6週齢)

試験期間: 約5週間

試験方法: Buehler法により行った。
試験濃度設定の理由;

試験試料の調製; 検体を所定濃度に注射用水で用時希釈した。無感作群には注射用水を感作用試料として用いた。

感作及び惹起処置; 感作開始前日左側胸部を刈毛した。感作試料 0.2mLを6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。最終感作の13日後に全動物の右側胸部を毛刈りした。その翌日(最終感作14日後)、惹起試料 0.2mLを6時間貼付した。各貼付処理終了時には注射用水で投与部位を清拭した。

観察項目; 紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後24及び48時間に紅斑および浮腫について行い、以下の評価表(Magnusson & Kiligmanの基準)に従って判定した。

皮膚反応の評価法

肉眼的変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日(0日)、感作終了日(14日)、惹起日(28日)及び観察終了日(30日)に全動物について行った。

評価; 皮膚反応の程度を個体別に点数化し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出すると共に陽性率を求め、感作群と無感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

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：

一般観察： 全例共一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも若変は認められなかった。

感作性： 表に示した様に、検体 50%で惹起したとき、皮膚反応は全く認められず、陽性率は 0%であった。

各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率 (%)
				貼付除去後 24 時間				貼付除去後 48 時間				24 時間	48 時間		
				皮膚反応評点											
				0	1	2	3	0	1	2	3				
感作	50	50	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
非感作	0	50	10	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

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

4. 参考

ラットにおける急性皮下投与毒性試験

(資料 3)

試験機関:

報告書作成年: 1982年

検体の純度: %

試験動物: フィッシャー系ラット(7週齢、雄 120~138g、雌 88~112g)
1群雌雄各 10匹

試験期間: 14日間観察

方法: 検体をコーン油に懸濁させて単回皮下投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	皮下
投与量 (mg/kg)	1,000、3,000、5,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共に >5,000
死亡開始時間及び 終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	症状発現なし
最大無作用量(mg/kg)	雌雄 5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雌雄 5,000

中毒症状の発現及び死亡例もなかった。

試験終了時の生存動物の剖検では、いずれの投与経路とも異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利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。

マウスにおける急性皮下投与毒性試験

(資料 6)

試験機関：

報告書作成年： 1982年

検体の純度： %

試験動物： BDF₁系マウス(7週令、雄 21~23g、雌 16~18g)

1群雌雄各 10匹

方法： 検体をコーン油に懸濁させて単回皮下投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	皮下
投与量 (mg/kg)	1,000、3,000、5,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共に >5,000
死亡開始時間及び 終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時期	症状発現なし
最大無作用量(mg/kg)	雌雄 5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雌雄 5,000

中毒症状の発現及び死亡例もなかった。

試験終了時の生存動物の剖検では、いずれの投与経路とも異常は認められなかった。