

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。

## 催奇形性試験

### ラットを用いた催奇形性試験

(毒性資料No.原体-22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物：Charles River Crl:CD(SD)BR 妊娠雌ラット、1群当たり 30 匹

交配時の体重 220～282g、12 週齢以上

投与期間：器官形成期 10 日間(妊娠 6 日～15 日;1993 年 8 月 1 日～10 日)

投与方法：

0.5%カルボキシメチルセルロース及び 0.4% Tween 80 NF の水溶液に検体を懸濁し、動物に 10mL/kg の容量で 0、5、25 及び 125mg/kg の投与量を、妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。

なお、膣垢に精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

投与用量設定の根拠；

## 観察・検査項目：

### 1. 母動物

全ての動物について妊娠0日から20日まで毎日一般症状を観察した。体重を妊娠0日、そして妊娠6～16日は毎日、更に妊娠20日目に測定した。妊娠1、6、7、12、16及び20日目の摂餌量を測定した。

妊娠20日目に二酸化炭素吸入により全ての母動物を屠殺し剖検した。卵巣をとりだし、妊娠黄体数を計測し記録した。全母動物について肝臓及び甲状腺の重量を測定し、更に0及び125mg/kg群については肝臓及び甲状腺の病理組織学的検査も実施した。

子宮重量を測定し、また以下の着床所見を記録した。

受胎率，妊娠率，黄体数，着床痕数，同腹児数，生存胎児及び死亡胎児数，雄胎児の割合，胎盤重量，吸収胚数，着床前死胚率，着床後死胚率

受胎率： $(\text{妊娠雌数}/\text{交尾動物数}) \times 100$ ，  
妊娠率： $(\text{生存胎児のいる雌数}/\text{妊娠動物数}) \times 100$ ，  
着床前死胚率： $[(\text{黄体数}-\text{着床数})/\text{黄体数}] \times 100$ ，  
着床後死胚率： $[(\text{着床数}-\text{生存胎児数})/\text{着床数}] \times 100$ ，

### 2. 胎児

性別、体重、外表異常の観察を行った。各腹約半数の個体はBouin液に固定し、切開して内部器官の検査を実施した。残りの半数は70%エタノールに固定した後、内臓を取り出し改良アリザリンレッドS法による骨格検査に供した。

結果：概要を表1及び表2に示す。

### 1. 母動物

試験期間中、母動物の死亡は認められず、何れの投与群においても投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。また、受胎率は90%以上であり、妊娠率は全ての群で100%であり、全吸収胚あるいは流産した母動物は認められなかった。

125mg/kg群において、体重は妊娠8日から11日まで対照群に比べ統計学的有意に低値を示した。また投与期間中(妊娠6～16日)及び妊娠期間中(妊娠0～20日)の体重増加量、並びに補正体重増加量(妊娠期間中の体重増加量－子宮重量)が対照群に比べ統計学的有意に減少した。一方、5mg/kg群の妊娠6から9日の体重が対照群に比しわずかにではあるが統計学的に有意な高値を示した。しかし、これは、妊娠0日目の体重が対照群よりわずかに高かったことに起因するものであり、これらの5mg/kg群での増加は偶発的な変動と考えられた。

摂餌量については、125mg/kg群において、増体重低下に呼応して妊娠7及び12日目に対照群に比し統計学的に有意な減少がみられた。25mg/kg以下の用量では摂餌量に投与の影響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。

臓器重量では、125mg/kg 群において、肝臓重量の対体重比に統計学的な有意差を伴った増加がみられた。しかしその変動はわずかであり、また対照群に比べ低体重であること及び対応する病理組織学的所見が認められなかったことから、この増加の生物学的意義は低いと考えられた。甲状腺については臓器重量への影響は認められなかった。

## 2. 着床所見

いずれの投与群においても検体投与による着床所見への影響は認められなかった。

## 3. 生存胎児

胎児の性比に投与の影響は認められなかった。

125mg/kg 群において、胎児体重が統計学的な有意差を伴って減少した。25mg/kg 以下の用量では胎児体重に投与の影響は認められなかった。

### 外表検査；

いずれの群においても奇形の発生は認められなかった。

検体投与に起因すると考えられる外表の異常は認められなかった。

### 内臓検査；

腎臓欠損／尿管欠損、網膜皺壁、大動脈弁副弁、動脈管狭窄の奇形がみられたが、いずれの発生率も低く、統計学的有意差は認められず、用量相関性も認められなかったことから偶発的な発生であると考えられた。

検体投与に起因すると考えられる内臓の異常は認められなかった。

### 骨格検査；

奇形として、腰椎弓及び椎心の欠損(対照群)、頭蓋骨の癒合及び異常／肋骨の異常及び大きな 14 肋骨／胸椎弓の欠損及び異常／胸椎心の異常及び不整列／腰椎弓及び腰椎心の異常及び不整列(125mg/kg 群)、頭蓋骨異常回転(125mg/kg 群)がみられたが、それぞれ別々の 1 例にみられたのみであり、偶発的なものと考えられた。

125mg/kg 群で、頭蓋泉門拡張及び過剰肋骨(いずれも変異)の発生頻度が有意に増加した。更に、同群では有意な化骨遅延が認められ、母体毒性による胎児の発育遅延により、胎児体重の減少及び化骨遅延が生じたものと考えられた。

25mg/kg 群では後肢中手骨の不完全骨化の発生胎児数が有意に増加したが、腹数では有意差は認められず、偶発的変動と考えられた。その他に骨格の異常は認められなかった。

5mg/kg 群では検体投与に起因すると考えられる骨格の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。

以上の結果から、125mg/kg 群では母動物に対し摂餌量の低下、体重の増加抑制がみられ、胎児に対しては胎児体重の低下、骨格変異及び化骨遅延の発生頻度の増加が認められた。着床所見及び奇形の発生頻度に投与の影響は認められなかった。

従って、本試験における無毒性量は、母動物、胎児とも 25mg/kg であった。また、最高投与量の 125mg/kg でも胎児に対して催奇形性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は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

用量 (mg/kg)		0	5	25	125
交尾雌数		30	30	30	30
受胎率 (%)		93.3	96.7	93.3	90.0
妊娠率		100	100	100	100
妊娠雌数		28	29	28	27
不妊雌数		2	1	2	3
死亡雌数		0	0	0	0
全吸収胚雌数		0	0	0	0
流産雌数		0	0	0	0
一般状態					
体重増加量 (g)	妊娠 6-16 日	54.2	55.2	53.0	40.2**
	妊娠 0-20 日	135.5	140.1	136.0	118.5**
補正体重増加量 (g) <sup>a</sup>		56.2	60.0	55.6	42.9**
摂餌量 (g)	妊娠 7 日	21.6	22.9	20.6	12.9**
	妊娠 12 日	24.9	25.3	24.8	22.6*
最終体重 (妊娠 20 日目) (g)		383.5	393.5	388.2	374.0
肝臓重量 (対体重比) (対照群に対する割合 (%))		100	102	102	108**
剖検所見					
病理組織学的検査					
着床所見	検査母動物数	28	29	28	27
	黄体数	15.7	15.7	15.9	15.1
	着床痕数	15.0	15.4	15.0	14.9
	生存胎児数	13.8	14.0	13.9	13.8
	死亡胎児数	0	0	0	0.04
	吸収胚数	1.2	1.5	1.1	1.0
	着床前死胚率 (%) <sup>b</sup>	5.5	4.1	7.8	5.3
	着床後死胚率 (%) <sup>c</sup>	8.1	9.8	6.9	7.1
	胎盤重量 (g)	0.55	0.54	0.57	0.55

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

空欄 : 異常所見なし

着床所見 ; 腹単位

受胎率 : (妊娠雌数 / 交尾動物数) × 100,

妊娠率 : (生存胎児を有する雌数 / 妊娠動物数) × 100,

着床前死胚率 : [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] × 100,

着床後死胚率 : [(着床数 - 生存胎児数) / 着床数] × 100,

表 2 胎児動物

用量 (mg/kg)		0	5	25	125
胎児性比(雄%)		50.0	50.0	50.0	45.5
胎児体重(g)	雄	3.6	3.7	3.7	3.4**
	雌	3.4	3.5	3.6	3.2**
	雌雄合計	3.5	3.6	3.6	3.3**
外表検査	検査胎児(腹)数	387(28)	405(29)	390(28)	372(27)
	奇形の発生なし				
内臓検査	検査胎児(腹)数	188(28)	195(29)	186(28)	180(27)
	腎臓欠損/尿管欠損	奇形 0 [0.0]	0 [0.0]	1 [0.5]	0 [0.0]
	網膜皺壁	奇形 1 [0.5]	0 [0.0]	4 (2) [2.2]	1 [0.6]
	大動脈弁副弁	奇形 0 [0.0]	0 [0.0]	1 [0.5]	0 [0.0]
	動脈管狭窄	奇形 0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [0.6]
骨格検査	検査胎児(腹)数	199(28)	210(29)	198(27)	185(26)
	腰椎弓及び腰椎心の欠損	奇形 1 [0.5]	0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]
	頭蓋骨の癒合及び異常/ 肋骨の異常及び大きな 14 肋骨/ 胸椎弓の欠損及び異常/胸椎心の異 常及び不整列/腰椎弓及び腰椎心 の異常及び不整列	奇形 0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [0.5]
	頭蓋骨異常回転	奇形 0 [0.0]	0 [0.0]	0 [0.0]	1 [0.5]
	頭蓋泉門拡張	変異 76 (24) [38.2]	63 (24) [30.0]	58 (22) [29.3]	104** (24) [56.2]
	過剰肋骨	変異 2 (1) [1.0]	4 (2) [1.9]	3 (2) [1.5]	17** (11) [9.2]
	頭蓋骨不完全骨化	化骨遅延 139 (28) [69.8]	127 (28) [60.5]	111 (26) [56.1 <sup>‡</sup> ]	146 (26) [78.9]
	胸椎心不完全骨化	化骨遅延 146 (28) [73.4]	149 (29) [71.0]	143 (26) [72.2]	157 <sup>‡</sup> (26) [84.9]
	尾椎弓未骨化	化骨遅延 3 (3) [1.5]	9 (5) [4.3]	9 (7) [4.5]	25** (12) [13.5]
	胸骨第 1 分節不完全骨化	化骨遅延 11 (8) [5.5]	21 (10) [10.0]	20 (9) [10.1]	48** (18) [25.9]
	胸骨第 2 分節未骨化	化骨遅延 0 (0) [0.0]	3 (3) [1.4]	4 (2) [2.0]	9** (5) [4.9]
	胸骨第 2 分節不完全骨化	化骨遅延 54 (25) [27.1]	76 (22) [36.2]	68 (23) [34.3]	118** (24) [63.8]
	胸骨第 3 分節不完全骨化	化骨遅延 3 (2) [1.5]	9 (6) [4.3]	7 (5) [3.5]	30** (15) [16.2]
	前肢中手骨不完全骨化	化骨遅延 5 (4) [2.5]	6 (6) [2.9]	11 (7) [5.6]	17 <sup>‡</sup> (11) [9.2]
	後肢中手骨未骨化	化骨遅延 19 (4) [9.5]	29 (10) [13.8]	21 (6) [10.6]	35 <sup>‡</sup> (11) [18.9]
	後肢中手骨不完全骨化	化骨遅延 21 (10) [10.6]	31 (12) [14.8]	45** (11) [22.7]	51** (16) [27.6]

( ): 影響を受けた腹数, [ ] : 胎児単位での発生率 (%)

\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)、<sup>‡</sup> : p<0.05、<sup>††</sup> : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

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。

## ウサギを用いた催奇形性試験

(毒性資料No.原体-23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物：New Zealand White ウサギ、1群当たり20匹  
人工授精時の体重2.91～4.22kg、30週齢以上

投与期間：器官形成期13日間(妊娠6日～18日：①1993年9月19日～10月1日、  
②1993年11月22日～12月4日)

投与方法：

0.5%カルボキシメチルセルロース及び0.4% Tween 80 NFの水溶液に検体を懸濁し、動物に5mL/kgの容量で投与した。第1回目の試験では0、5、25及び125mg/kgの投与量を、妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回経口投与したが、125mg/kg群で明確な母動物毒性がみられなかったため、第2回目の試験を0、200mg/kgの投与量で同様の方法により追加実施した。人工授精日を妊娠0日とした。

投与用量設定の根拠；

## 観察・検査項目：

### 1. 母動物

毎日2回一般症状を観察した。体重を妊娠6～19日目に毎日、更に妊娠0、21及び29日目に測定した。妊娠1、6、7、12、15、19、23及び29日目の摂餌量を測定した。

妊娠29日目に全ての母動物を屠殺、剖検し病理組織学的検査を行った。肝臓及び甲状腺について重量を測定した。

妊娠子宮重量を測定し、以下の着床所見を記録した。

受胎率、妊娠率、黄体数、着床痕数、吸収胚数、生存胎児及び死亡胎児数、胎盤重量、着床前死胚率、着床後死胚率

受胎率： $(\text{妊娠雌数}/\text{交尾動物数}) \times 100$ 、

妊娠率： $(\text{生存胎児のいる雌数}/\text{妊娠動物数}) \times 100$ 、

着床前死胚率： $[(\text{黄体数}-\text{着床数})/\text{黄体数}] \times 100$ 、

着床後死胚率： $[(\text{着床数}-\text{生存胎児数})/\text{着床数}] \times 100$ 、

### 2. 胎児

全ての個体について体重、外表異常の観察を行った。内臓を検査し性別を確認した後、70%エタノールに固定し改良アリザリンレッドS法による骨格検査に供した。

結果：概要を表1及び表2に示す。

### 1. 母動物

受胎率、妊娠率ともに検体投与の影響は認められなかった。

試験期間中、25、125及び200mg/kg群で各群1匹ずつ死亡もしくは途中屠殺したが、いずれも検体投与の影響ではなく偶発的なものと考えられた(25mg/kg；妊娠27日目に流産し、切迫屠殺、125mg/kg；肛門性器部に分泌物/潰瘍のため屠殺、200mg/kg、非妊娠、誤投与)。軟便の頻度増加が125及び200mg/kg群でみられ、200mg/kg群では有意差が認められた。25mg/kg以下の群では一般状態に投与の影響は認められなかった。

125及び200mg/kg群で投与期間中(妊娠6～19日)における体重増加量が対照群に比し減少し、200mg/kg群では統計学的有意差を伴った。両群でみられた減少はいずれも検体投与に起因した変化と考えられた。25mg/kg以下の群では体重に関して投与の影響は認められなかった。

摂餌量に関して統計学的有意差が散見されたがきわめて軽度であり、また200mg/kgでの統計学的有意差は対照群に比べ軽度の増加に認められたことから、いずれも偶発的なものであり投与の影響とは考えられなかった。

投与群の臓器重量に対照群と比較して有意な差は認められず、検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査において投与の影響は認められなかったが、病理組織学的検査において



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。

125mg/kg 以上で肝臓に肝細胞の泡沫様空胞化、肝細胞肥大、及び滑面小胞体の増加が示唆されるくもりガラス様細胞質を示す頻度の増加が統計学的有意差を伴って認められた。

## 2. 着床所見

いずれの投与群においても、統計学的もしくは毒性学的に意義のある着床所見への影響は認められなかった。

## 3. 胎児動物

胎児の性比に投与の影響は認められなかった。

200mg/kg 群において、胎児体重が有意差を伴って減少した。125mg/kg 以下の用量では胎児体重に投与の影響は認められなかった。

外表検査及び内臓検査；

外表奇形は認められなかった。内臓においては、肺葉欠損、副腎位置異常(大静脈右)及び腎臓欠損等の奇形がみられたが、いずれも統計学的及び毒性学的に意義のある所見とは考えられなかった。

骨格検査；

頭蓋縫合癒合、尾椎心不整列、肋骨癒合、胸骨分節癒合、肋骨の異常／二分裂の奇形などがみられたが、いずれも統計学的及び毒性学的に意義のある所見とは考えられなかった。

125mg/kg 以上の群で骨格変異(過剰肋骨、過剰腰椎弓、腰椎椎心過剰)の増加が認められ投与の影響と考えられた。200mg/kg 群では胎児体重の低下に伴い、頭蓋泉門拡張(変異)及び化骨遅延の増加が認められた。5mg/kg 群で胸骨第5分節の未骨化の有意な増加が認められたが、25mg/kg 以上の群では増加が認められていないため、偶発的な発生と考えられた。

25mg/kg 以下の用量では骨格に対する影響は認められなかった。

担内臓奇形胎児数、担骨格奇形胎児数、担内臓及び骨格奇形胎児数に、胎児ごと及び母動物ごと共に、対照群に比べ統計学的に有意な増加はいずれの検体投与群でも認められなかった。

以上の結果から、125mg/kg 以上で母動物に対し軟便の頻度増加、妊娠期間中の増体重抑制、肝臓で肝細胞肥大、くもりガラス様細胞質、肝細胞空胞化を示す動物数の増加がみられた。胎児に対しては 125mg/kg 以上で骨格変異の発生頻度の増加、200mg/kg 群で胎児体重の低下

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。

に伴う化骨遅延の発生頻度の増加が認められた。着床所見及び奇形の発生頻度に投与の影響は認められなかった。

従って、本試験における無毒性量 (NOAEL) は、母動物、児動物ともに 25mg/kg\* と考えられた。また、最高投与量の 200mg/kg でも胎児に対して催奇形性はないものと判断される。

\*申請者注)

表1 母動物

用量 (mg/kg)	第1回目試験				第2回目試験		
	0	5	25	125	0	200	
交尾雌数	20	20	20	20	20	20	
受胎率(%)	75	85	85	75	90	70	
妊娠率(%)	93.3	100	100	100	100	100	
妊娠雌数	15	17	17	15	18	14	
不妊娠雌数	5	3	3	5	2	6	
生存胎児を有する雌数	14	17	16	14	18	14	
死亡又は屠殺雌数	0	0	1 <sup>§1</sup>	1 <sup>§2</sup>	0	1 <sup>§3</sup>	
総吸収胚雌数	1	0	0	0	0	0	
流産雌数	0	0	1 <sup>§1</sup>	0	0	0	
一般状態	軟便	0	3	1	6	2	15 <sup>##</sup>
体重増加量 (kg)	妊娠 6-19 日	0.15	0.15	0.18	0.09	0.12	0.00 <sup>**</sup>
	妊娠 0-29 日	0.35	0.32	0.36	0.30	0.41	0.34
補正体重増加量 (kg) <sup>a</sup>		-0.11	-0.09	-0.05	-0.05	0.05	0.00
体重 (kg)	妊娠 12 日	3.70	3.64	3.65	3.66	3.66	3.50 <sup>*</sup>
	妊娠 13 日	3.77	3.72	3.72	3.70	3.72	3.55 <sup>*</sup>
	妊娠 29 日	3.99	3.86	3.94	3.95	3.88	3.78
摂餌量 (g)	妊娠 6 日	130.0	130.0	129.1 <sup>**</sup>	129.4	129.8	129.6
	妊娠 12 日	130.0	130.0	129.7	129.5 <sup>**</sup>	129.2	129.6
	妊娠 15 日	124.1	130.0	129.4	120.4	129.4	130.0 <sup>*</sup>
	妊娠 23 日	129.1	127.8	129.7	129.8	129.2	129.9 <sup>*</sup>
肝臓重量(肝臓、甲状腺)							
肉眼的病理検査							
病理組織学的検査							
肝細胞空胞化(泡沫様)	1	0	2	12 <sup>##</sup>	1	11 <sup>##</sup>	
肝細胞肥大	3	2	6	12 <sup>##</sup>	5	19 <sup>##</sup>	
くもりガラス様細胞質	1	0	4	8 <sup>##</sup>	2	11 <sup>##</sup>	
着床所見	検査母動物数	15	17	16	14	18	14
	平均黄体数	7.6	7.2	6.1	6.9	7.2	6.9
	平均着床痕数	7.7	6.6	6.5	5.7	5.9	5.6
	平均胎児数	6.3	6.5	6.3	5.5	5.3	5.3
	生存胎児数	6.3	6.2	6.1	5.3	5.2	5.1
	死亡胎児数	0	0.29	0.19	0.21	0.17	0.14
	平均吸収胚数	1.4	0.1	0.2	0.2	0.6	0.4
	平均着床前損失率(%) <sup>b</sup>	9.2	14.4	11.0	16.4	20.7	22.0
	平均着床後損失率(%) <sup>c</sup>	16.7	6.6	4.3	8.1	13.5	9.2
	平均胎盤重量 (g)	6.0 <sup>k</sup>	6.0	6.0	6.0	6.0	6.1

<sup>a</sup>(妊娠0日体重)-(最終体重-子宮重量)

\*: p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test), ## : p<0.01 (Fisherの直接確率検定)

空欄 : 異常なし,

着床所見 ; 腹単位

& : 総吸収胚雌動物を除く。

§1 : 同動物(妊娠27日目に流産)

§2 : 肛門性器部の分泌物/潰瘍のため人道的理由により屠殺

§3 : 妊娠せず 誤投与により死亡

受胎率 : (妊娠雌数/交尾動物数) × 100,

妊娠率 : (生存胎児を有する雌数/妊娠動物数) × 100,

着床前死胚率 : [(黄体数-着床数)/黄体数] × 100,

着床後死胚率 : [(着床数-生存胎児数)/着床数] × 100,

表 2-1 胎児動物

用量 (mg/kg)		第 1 回目試験				第 2 回目試験		
		0	5	25	125	0	200	
胎児性比(雄%)		42.9	57.1	47.2	50.0	41.4	46.4	
胎児体重(g)	雄	47.5	46.0	48.4	45.6	49.9	45.1**	
	雌	47.0	44.7	48.8	45.4	48.7	43.8**	
	雌雄合計	47.6	45.9	49.0	46.1	49.1	44.2**	
検査胎児(腹)数		95 (14)	106 (17)	98 (16)	74 (14)	93 (18)	72 (14)	
外表検査								
内臓検査	検査胎児(腹)数	95 (14)	106 (17)	98 (16)	74 (14)	93 (18)	72 (14)	
	肺葉欠損	奇形	3 (2) [3.2]	1 (1) [0.9]	0 (0) [0.0]	1 (1) [1.4]	2 (2) [2.2]	2 (2) [2.8]
	副腎位置異常：大静脈右	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]	0[0.0]	0[0.0]
	腎臓欠損	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]
	心臓回転異常	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.1]	0[0.0]
	血管回転異常	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.1]	0[0.0]
骨格検査	検査胎児(腹)数	95 (14)	106 (17)	98 (16)	74 (14)	92 (18)	72 (14)	
	頭蓋縫合癒合	奇形	0[0.0]	1[0.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]
	肋骨位置異常	奇形	0[0.0]	2 (1) [1.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]
	肋骨癒合	奇形	1[1.1]	2 (2) [1.9]	0[0.0]	1[1.4]	0[0.0]	1[1.4]
	肋骨の異常／二分裂	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]	1[1.1]	0[0.0]
	肋間軟骨欠損	奇形	0[0.0]	1[0.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]
	頸椎弓癒合	奇形	0[0.0]	1[0.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]
	頸椎弓不整列	奇形	0[0.0]	2 (2) [1.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]
	頸椎椎心不整列	奇形	0[0.0]	2 (2) [1.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]
	頸椎椎心癒合	奇形	0[0.0]	1[0.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]
	頸椎椎心欠損	奇形	0[0.0]	1[0.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]
	胸椎弓癒合	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]	0[0.0]	1[1.4]
	胸椎弓欠損	奇形	0[0.0]	1[0.9]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]
	胸椎弓不整列	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]	0[0.0]	0[0.0]
	腰椎弓欠損	奇形	0[0.0]	0[0.0]	0[0.0]	1[1.4]	0[0.0]	0[0.0]
	尾椎椎心不整列	奇形	1[1.1]	2 (2) [1.9]	0[0.0]	1[1.4]	0[0.0]	0[0.0]
	胸骨分節癒合	奇形	0[0.0]	4 (3) [3.8]	2 (2) [2.0]	0[0.0]	3 (3) [3.3]	0[0.0]
頭蓋泉門拡張	変異	18 (9) [18.9]	15 (8) [14.2]	20 (9) [20.4]	21 (7) [28.4]	22 (13) [23.9]	40** (11) [55.6]	

a : 外表検査、内臓検査、骨格検査で認められた多重奇形

( ) : 影響を受けた腹数(腹数では統計学的な有意差なし)

[ ] : 病変胎児発生率 (%)

\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

‡ : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

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 2-2 胎児動物(つづき)

用量 (mg/kg)			第 1 回目試験				第 2 回目試験	
			0	5	25	125	0	200
骨格検査	過剰肋骨	変異	56 (14) [58.9]	65 (17) [61.3]	59 (16) [60.2]	62 <sup>**</sup> (13) [83.8]	59 (14) [64.1]	69 <sup>**</sup> (14) [95.8]
	過剰腰椎弓	変異	10 (4) [10.5]	23 (7) [21.7]	16 (6) [16.3]	33 <sup>**</sup> (12) [44.6]	26 (9) [28.3]	34 <sup>†</sup> (12) [47.2]
	腰椎椎心過剰	変異	10 (4) [10.5]	23 (7) [21.7]	16 (6) [16.3]	33 <sup>**</sup> (12) [44.6]	26 (9) [28.3]	34 <sup>†</sup> (12) [47.2]
	頭蓋骨不完全化骨	化骨 遅延	18 (9) [18.9]	16 (8) [15.1]	20 (9) [20.4]	21 (7) [28.4]	22 (13) [23.9]	40 <sup>**</sup> (11) [55.6]
	胸骨;第 5 分節未化骨	化骨 遅延	2 (2) [2.1]	12 <sup>‡</sup> (6) [11.3]	3 (3) [3.1]	2 (2) [2.7]	7 (5) [7.6]	0[0.0]
	胸骨;第 5 分節不完全化骨	化骨 遅延	69 (14) [72.6]	69 (17) [65.1]	65 (14) [66.3]	52 (14) [70.3]	67 (17) [72.8]	39 <sup>†</sup> (13) [54.2]

a : 外表検査、内臓検査、骨格検査で認められた多重奇形

( ) : 影響を受けた腹数(腹数では統計学的な有意差なし)

[ ] : 病変胎児発生率 (%)

\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

† : p<0.05、‡ : p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

(13) 変異原性  
細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.原体-24-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験方法：ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* の4つのヒスチジン要求性 LT2 変異株 TA 1535、TA 100、TA 1537 及び TA 98 を用いて、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。試験は2回実施し、1回目はプレートインコーポレーション法、2回目はプレインキュベーション法(プレインキュベーション 37°C、20 分間)を用いた。検体を DMSO に溶解し、16、50、158、500、1581 及び 5000µg/plate の用量で試験した。各試験、各用量、各菌株毎に4つのプレートで実施した。陽性対照として、S9 mix 非存在下ではアジ化ナトリウム (NA-azide) 10µg/plate (TA1535 用)、ニトロフラントイン (NF) 0.2µg/plate (TA100 用)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NPDA) 10µg/plate (TA1537 用)、同 0.5µg/plate (TA98 用)、S9 mix 存在下では何れの菌株に対しても 2-アミノアントラセン (2-AA) 3µg/plate を用いた。

用量設定根拠；

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：

結果を下表に示した。

供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

表 結果

試験区	濃度 (µg/plate)	S9 mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数								
			1回目試験				2回目試験				
			プレートインコーポレーション法				プレインキュベーション法				
			塩基置換型		フレームシフト型		塩基置換型		フレームシフト型		
TA1535	TA100	TA1537	TA98	TA1535	TA100	TA1537	TA98				
対照 (DMSO)			9	92	9	39	15	103	8	22	
検体	16	-	9	83	10	30	11	105	9	26	
	50		9	100	8	34	14	108	9	17	
	158		8	92	10	28	14	123	9	24	
	500		10	83	8	33	10	90	10	19	
	1581		10	84	9	29	7	82	6	21	
	5000		5	80	8	33	5	83	4	20	
NA-azide	10			725				898			
NF	0.2				278				545		
4-NPDA	10					136				154	
	0.5				101		199				136
対照 (DMSO)		+	14	106	10	45	13	116	9	25	
検体	16		10	107	14	51	11	125	7	29	
	50		9	125	12	44	12	122	8	32	
	158		13	101	10	44	12	140	10	31	
	500		12	104	10	44	12	134	11	30	
	1581		11	82	10	37	10	113	11	26	
	5000		9	94	9	45	9	114	10	22	
2-AA	3		129	1605	264	1248	219	1982	576	937	

NA-azide : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

2-AA : 2-アミノアントラセン

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さ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。

## 細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.原体-24-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

検体の純度：

試験系：細菌（ネズミチフス菌〈TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102〉）

試験方法：

ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) の5株を用い、ラットの肝臓調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下、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。設定用量は、本試験の1回目の試験(プレートインコーポレーション法)で3、10、33、100、333、1000、2500、5000 $\mu$ g/plateの8用量で試験をした。2回目の試験(プレインキュベーション法)では、10、33、100、333、1000、2500、5000 $\mu$ g/plateの7用量で実施した。試験は2回行い(初回；プレートインコーポレーション法、第二回目；プレインキュベーション法)、それぞれの試験は3反復とした。陽性対照としてアジ化ナトリウム( $\text{NaN}_3$ )、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(4-NOPD)、メチルメタンサルホネート(MMS)、2-アミノアントラセン(2-AA)を用いた。

用量設定根拠；



試験結果：

結果を下表に示した。

供試した何れの用量においても、代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

表 1. 1回目試験(プレート インコーポレーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	—	—	199	13	414	45	9
対照 (DMSO)	—	—	203	16	380	42	8
検体	3	—	222	14	373	46	8
	10	—	184	14	384	38	7
	33	—	197	13	353	46	7
	100	—	196	11	334	41	8
	333	—	194	11	345	46	6
	1000	—	199 <sup>p</sup>	15 <sup>p</sup>	355 <sup>p</sup>	35 <sup>p</sup>	8
	2500	—	198 <sup>p</sup>	6 <sup>p</sup>	300 <sup>p</sup>	38 <sup>p</sup>	8 <sup>p</sup>
5000	—	203 <sup>p</sup>	8 <sup>p</sup>	318 <sup>p</sup>	40 <sup>p</sup>	4 <sup>p</sup>	
無処理	—	+	206	14	490	42	11 <sup>p</sup>
対照 (DMSO)	—	+	199	20	475	41	13
検体	3	+	197	20	488	45	14
	10	+	197	18	405	45	12
	33	+	193	16	495	44	10
	100	+	207	16	497	43	13
	333	+	188	13	429	48	11
	1000	+	173 <sup>p</sup>	12 <sup>p</sup>	420 <sup>p</sup>	48 <sup>p</sup>	9 <sup>p</sup>
	2500	+	176 <sup>p</sup>	12 <sup>p</sup>	451 <sup>p</sup>	37 <sup>p</sup>	6 <sup>p</sup>
5000	+	129 <sup>p</sup>	12 <sup>p</sup>	221 <sup>p</sup>	45 <sup>p</sup>	6 <sup>p</sup>	
陽性対照	NaN <sub>3</sub>	10	—	1632	1675		
	4-NOPD	10	—			306	
	4-NOPD	50	—				71
	MMS	3.0	—			3021	
	2-AA	2.5	+	2793	379		1773
	2-AA	10.0	+			1592	

<sup>p</sup> : 検体析出

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

MMS : メチルメタンサルホネート

4-NOPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

2-AA : 2-アミノアントラセン

表 2. 2 回目試験(プレインキュベーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	—	—	157	13	357	31	8
対照(DMSO)	—	—	119	12	327	21	9
検体	10	—	117	9	281	23	13
	33	—	111	13	279	18	8
	100	—	122	13	324	23	10
	333	—	122	15	302	23	10
	1000	—	117 <sup>p</sup>	9 <sup>p</sup>	229 <sup>p</sup>	24 <sup>p</sup>	11 <sup>p</sup>
	2500	—	86 <sup>p</sup>	8 <sup>p</sup>	210 <sup>p</sup>	24 <sup>p</sup>	9 <sup>p</sup>
	5000	—	65 <sup>p</sup>	6 <sup>p</sup>	135 <sup>p</sup>	14 <sup>p</sup>	8 <sup>p</sup>
無処理	—	+	264	16	513	37	14
対照(DMSO)	—	+	111	18	419	34	11
検体	10	+	107	15	351	37	12
	33	+	116	17	317	34	12
	100	+	139	17	335	27	9
	333	+	139	17	338	30	10
	1000	+	99 <sup>p</sup>	15 <sup>p</sup>	170 <sup>p</sup>	37 <sup>p</sup>	12 <sup>p</sup>
	2500	+	93 <sup>p</sup>	19 <sup>p</sup>	169 <sup>p</sup>	30 <sup>p</sup>	10 <sup>p</sup>
	5000*	+	62 <sup>p</sup>	10 <sup>p</sup>	77 <sup>p</sup>	12 <sup>p</sup>	5 <sup>p</sup>
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	10	—	1739	1639		
	4-NOPD	10	—			371	
	4-NOPD	50	—				77
	MMS	3.0	—		1718		
	2-AA	2.5	+	1737	347		1742
	2-AA	10.0	+			2434	

<sup>p</sup> : 検体析出

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

MMS : メチルメタンサルホネート

4-NOPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

2-AA : 2-アミノアントラセン

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

### チャイニーズハムスター由来肺細胞 (V79) を用いた HGPRT 前進突然変異試験

(毒性資料No.原体-25)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年： 1994 年

検体の純度：

試験方法：  $4 \times 10^6$  個の V79 細胞を培養液中に接種して 16~24 時間培養した。接着後、DMSO に溶解した検体を 7.8~500 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の最終濃度となるよう添加した培養液に移し、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下でそれぞれ 5 時間暴露した。暴露終了後、単層の細胞を PBS で洗浄しトリプシン処理した…①。①から、シャーレ 3 枚にそれぞれ 200 個の細胞を接種し、7 日間培養後コロニー数を計数して、暴露直後の細胞毒性を判定した (暴露直後の細胞生存率)。また、フラスコに①から  $1.5 \times 10^6$  個の細胞を接種し、細胞増殖と誘発変異株の発現のために 7 日間培養した (発現期間)…②。変異株選抜のため、6-チオグアニン (6-TG) を 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$  含有し、ヒポキサンチン無含有の培地を入れた 8 つのシャーレに②からそれぞれ  $3 \times 10^5$  個の細胞を接種し、6~7 日間培養しコロニー数を計数した (6-TG 耐性コロニー数)。更に、3 つのシャーレに②の細胞 200 個をそれぞれ接種し、6~7 日間培養後コロニー数を計数した (コロニー形成能測定用)。同様の条件で無処理対照、溶媒対照及び陽性対照を設けた。各暴露濃度毎に 2 反復で行った。また、各条件について、評価基準を満たした試験が 2 回得られるまで実施した。以下のパラメータを計算した。

絶対細胞増殖数 = 4 日間培養終了時細胞数  $\times$  7 日間培養終了時細胞数

コロニー形成能 (CE) (%)

= (発現期間終了後のシャーレ当たり平均コロニー数 / 200)  $\times$  100

変異の頻度 (細胞  $10^6$  当たりの 6-TG 耐性コロニー数)

= 総変異コロニー数  $\times 10^6$  / (評価したプレート数  $\times 3 \times 10^5 \times \text{CE}$ )

用量設定根拠；

## 試験結果：

結果を次表に示す。

### S9-Mix 非存在下

全部で4試験実施したが、そのうち2試験は対照群での変異コロニーの出現頻度が高いか、コロニー形成能が低かったため有効な試験とは判断されなかった。従ってこれらの試験結果は評価に用いず、有効と認められた2試験について以下に述べる。

本試験の溶媒対照におけるコロニー形成能は106.1%及び95.9%であり、コロニー形成能は良好であった。

変異コロニーの出現頻度は、陰性対照及び溶媒対照ではいずれも正常な範囲内であり、陽性対照のメタンスルホン酸エチルでは、いずれの試験においても顕著な増加を示した。

2試験ともに、検体処理群では用量の増加に伴い、細胞増殖速度及びコロニー形成能にわずかな低下が認められ、2回目の試験では500 $\mu$ g/mLで検体の細胞毒性のため、全ての細胞が死滅した。また2回目試験の125 $\mu$ g/mLの1反復で変異コロニーの出現頻度が溶媒対照に比べて顕著に増加したが、残りの1反復及び1回目試験では増加は認められなかった。また、対照群に比べ検体処理群のいずれの群においても、統計学的な有意差は認められなかった。従って、検体処理による変異コロニー出現頻度に生物学的及び統計学的に有意で再現性のある増加はないと考えられた。

### S9-Mix 存在下

全部で3試験実施したが、そのうち1試験は対照群での変異コロニーの出現頻度が高かったため有効な試験とは判断されなかった。従ってこの試験結果は評価に用いず、有効と認められた2試験について以下に述べる。

本試験の溶媒対照におけるコロニー形成能は102.5%及び78.6%であり、コロニー形成能は良好であった。

変異コロニーの出現頻度は、陰性対照及び溶媒対照ではいずれも正常な範囲内であり、陽性対照のジメチルベンズアントラセンでは、いずれの試験においても顕著な増加を示した。

検体処理群において実質的な細胞毒性は認められなかった。

7.8及び125 $\mu$ g/mL処理群で変異コロニーの出現頻度に統計学的に有意な増加が認められた。しかし、これらの濃度における変異の頻度は並行して実施している陰性対照(0.4~9.0/10<sup>6</sup>)及び溶媒対照(0.4~6.7/10<sup>6</sup>)で認められる頻度の範囲を超えていないこと、用量に依存した増加ではないこと、及び本試験施設の変異原性陽性の判断基準に該当しないことから、これらの統計学的有意差は生物学的に意義のあるものとは考えられなかった。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で変異原性を有しないものと判断された。

表 結果

	薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	暴露直後の 細胞生存率 <sup>a</sup>	発現期間中の 細胞増殖速度 <sup>a</sup>	コロニー 形成能 (%)	変異 コロニー数	変異の 頻度 (/ $10^6$ )
1 回目試験	陰性対照	0	-	114.3	124.7	97.1	5.0	2.2
	溶媒対照	0		100.0	100.0	106.1	4.5	2.1
	陽性対照 EMS	900		35.0	29.9	77.9	918.5	509.5*
	検体	7.8		120.0	208.3	75.1	4.5	2.6
		15.6		100.5	133.0	94.3	10.5	4.6
		31.3		60.4	143.3	89.0	5.0	2.4
		62.5		44.9	126.0	88.0	8.5	4.1
		125		68.5	150.8	85.3	3.0	1.5
250	4.3	39.7	81.9	4.0	2.2			
2 回目試験	陰性対照	0	-	104.1	119.3	100.1	12.5	5.2
	溶媒対照	0		100.0	100.0	95.9	9.5	4.2
	陽性対照 EMS	900		64.3	62.3	69.1	1208.0	729.9*
	検体	7.8		99.6	170.5	78.2	4.5	2.6
		15.6		104.3	166.2	75.6	8.0	4.5
		31.3		105.6	146.2	92.9	6.0	2.7
		62.5		93.9	181.9	71.7	5.5	3.4
		125		79.7	184.1	52.9	18.0	13.7
250	4.3	74.8	52.9	4.0	3.3			
500	0.0	N	N	N	N	N		
1 回目試験	陰性対照	0	+	97.6	121.1	93.3	5.0	2.4
	溶媒対照	0		100.0	100.0	102.5	14.5	5.9
	陽性対照 DMBA	20		70.2	72.0	75.6	181.0	100.2*
	検体	7.8		116.0	84.8	108.3	23.5	9.0*
		15.6		112.9	100.6	94.4	8.5	3.7
		31.3		87.6	115.5	88.4	10.0	5.0
		62.5		78.0	127.2	81.2	9.0	4.5
		125		80.9	105.7	90.4	17.0	8.1
180	65.6	91.6	86.6	5.5	2.7			
250	48.2	94.8	83.9	13.0	6.6*			
2 回目試験	陰性対照	0	+	95.6	141.3	85.0	3.5	1.8
	溶媒対照	0		100.0	100.0	78.6	9.5	5.3
	陽性対照 DMBA	20		51.8	82.8	59.0	106.0	74.9*
	検体	15.6		100.8	172.9	59.0	11.0	8.2
		31.3		102.5	162.1	43.3	5.0	4.9
		62.5		108.6	146.3	67.4	6.5	3.9
		125		68.3	163.5	64.3	5.5	3.6
		180		80.6	124.6	76.0	8.5	4.6
250	77.5	116.1	50.9	10.0	8.1*			
500	45.3	74.2	51.0	11.5	9.2			

表中の数字は2反復の平均

a: 溶媒対照群に対する割合 (%)

N: 細胞毒性のため増殖せず

EMS: メタンサルホン酸エチル

DMBA: ジメチルベンズアントラセン

\*:  $P < 0.05$  (Weighted ANOVA and regression results)

## ラット肝初代培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(毒性資料No.原体-26)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年： 1992 年

検体の純度：

試験方法：ラットの初代肝培養細胞を用い、*in vitro* 系の変異原性試験を実施した。

通常、*in vitro* 系の変異原性試験では S9 mix を代表とする外因的な代謝活性化系が検体及びその代謝物の変異原性を検定するのに必須である。これに対して、初代肝培養細胞ではそれ自身が高い内因性の代謝能を有している点が特徴となっており、本試験で使用されている陽性対照物質の 2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF)は、代謝を受けて実際に変異原性を示すことが知られているものである。

### 1. 供試液の調製

検体及び陽性対照の 2-AAF は DMSO に溶解した。

### 2. 肝細胞の単離

無処理の雄の SD 系ラットをネンブター麻酔下でコラゲナーゼ液等で生体位灌流し、肝臓を摘出してから肝細胞を単離した。

### 3. 肝細胞毒性と用量設定

単離した肝細胞は、L-グルタミン、硫酸ゲンタマイシン、不活化牛胎児血清を添加した Williams E 培養液で培養した。

まず、単層細胞を得るために、ペトリ皿に  $7.5 \times 10^5$  個の肝細胞を加え、90~150 分間 5%炭酸ガス下の加湿された空气中で 37°C で培養した。その後 PBS (りん酸緩衝液) での洗浄により未接着の細胞を除去した後、所定の検体液を添加して 20~24 時間培養した。生存細胞の検査は、トリパンブルー色素排除法で行った。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、相対生存率を求めた。

細胞毒性を確認するための予備試験 (3.9~500 µg/mL、23 時間培養) の結果、生存率は検体濃度の増加に伴って減少し、125 µg/mL 以上で 0%であった。この結果に基づいて、本試験では 2.5~80 µg/mL の 7 段階を設定した。

### 4. UDS 検査用標本の作製と観察

肝細胞毒性試験と同様に単層細胞を得てから、所定の検体液とともに 10 µCi/mL の <sup>3</sup>H-チミジンを含む培養液で 18~24 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) で細胞の固定を行い、水洗後に風乾した。

オートラジオグラフィ処理のために、スライドガラスを NTB-2 写真用乳剤で処理し、暗箱中において -20°C で 4~10 日間の保持後に定着固定した。更に、スラ

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。

イドガラスをヘマトキシリンエオシンで染色した。

各濃度あたり 3 枚のスライドガラスを作製し、各スライドガラスあたり 50 細胞（各濃度あたり 150 細胞）を観察し、<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みを反映する核及び細胞質中の粒子を、顕微鏡に接続した TV カラーモニターを用いて計測した。

#### 5. 観察結果の計算

正味核粒子数 = スライドガラスあたりの正味核粒子数の平均値

細胞質粒子数 = スライドガラスあたりの細胞質粒子数 (1 細胞あたり 3 ヶ所) の平均値

5 個以上の粒子を有する核 (%) =  $\frac{5 \text{ 個以上の正味粒子数を有する細胞数}}{\text{検査細胞数 (150 細胞)} \times 100}$

生存率 (%) = 溶媒対照区と比較した生存細胞数

#### 6. 試験の評価

主に以下の項目が満たされる場合に試験が有効であると判断した。

- ① 溶媒対照区の生存細胞数が 70% 以上であること。ただし、50~70% でも使用は可能である。
- ② 溶媒対照区の正味核粒子数が -8~+1 個の範囲にあり、修復期の細胞が 10% を越えないこと。
- ③ 陽性対照物質の 2-AAF (0.25 µg/mL) において、正味核粒子数を 5 以上有する細胞の割合が 70~100% であって、正味核粒子数が 7~20 個の範囲にあること。

また、5 個以上の正味核粒子数を有する細胞の割合が 20% 以上のときに、検体は陽性と判断した。

#### 試験結果：

溶媒対照群での初代肝培養細胞の生存率は 76.3% であった。

本試験で得られた、正味核粒子数、細胞質粒子数、5 個以上の粒子を有する核 (修復中の細胞) の要約を次の表に示した。

60 及び 80 µg/mL の検体濃度ではきわめて細胞毒性が強く (生存率はそれぞれ 11.4 及び 6.4%)、UDS を評価できなかった。2.5~40 µg/mL の 5 濃度区で良好な生存率の幅 (42.2~99.9%) が得られたため、これらを核標識の分析に用いた。一方、陽性対照物質 2-AAF は、本試験において中程度の細胞毒性を示した。

溶媒対照群における正味核粒子数及び修復中の細胞の割合は、通常の陰性対照群の範囲内であった。検体処理群において、正味核粒子数及び修復中の細胞の割合について有意な増加は認められなかった。一方陽性対照群では、正味核粒子数及び修復中の細胞の割合が顕著に増加し、不定期 DNA 合成が示唆された。

表 試験結果

試験群	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	正味核粒子数	細胞質粒子数	修復中の細胞 の割合 (%)	生存率 (%)
溶媒対照	0	-1.49	3.93	0	100.0
検体	2.5	-0.97	2.58	0	99.9
	5	-1.33	3.58	0	76.8
	10 <sup>#</sup>	-0.17	0.99	0	64.5
	20	-0.34	5.07	0.7	64.6
	40 <sup>#</sup>	-0.56	2.06	0	42.2
	60	評価不能			11.4
	80	評価不能			6.4
陽性対照 2-AAF	0.25	9.32	3.75	88.0*	71.2

2-AAF : 2-アセチルアミノフルオレン

# : スライドガラス 2 枚で評価

\* :  $p < 0.05$  ( $\chi^2$  検定)

以上の結果より、検体はラット肝臓の初代培養細胞における UDS を指標とした DNA 損傷性を有さないものと判断される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は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卵巣細胞(CHO)を用いた in vitro 染色体異常試験

(毒性資料No.原体-27)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年： 1995 年

検体の純度 : %

試験方法 : チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)を用い、薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下及び非存在下における染色体異常誘発性を検定した。

検体はエタノールに溶解して用いた。

1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について観察し、2 連で実施した。

用量設定根拠；


試験結果：

1) 有糸分裂指数

S9-Mix 非存在下

検体を最高濃度の 200 $\mu$ g/mL で曝露した培養における有糸分裂指数は顕著に低下し、回収時間 8、24 及び 30 時間でそれぞれ溶媒対照群に対し 9.7%、62.2%、66.4%であった。

陽性対照であるマイトマイシンCは、有糸分裂指数を低下させなかった。

S9-Mix 存在下

検体を最高濃度の 200 $\mu$ g/mL で曝露した培養における有糸分裂指数は、回収時間 8 時間では顕著に低下し(溶媒対照群に対し 38.7%)、回収時間 30 時間では中程度に低下した(同 78.8%)が、回収時間 24 時間では影響は認められなかった。

陽性対照であるシクロホスファミドは、有糸分裂指数を低下させなかった。

2) 染色体異常

染色体異常の結果を次表に示した。

S9-Mix 非存在下

8 時間、24 時間または 30 時間の培養後において、異常がみられる分裂中期像の数に関して、生物学的に意味があり、かつ統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照であるマイトマイシンCによる処理では、異常がみられる分裂中期像の数に関して明瞭かつ統計学的に有意な増加が認められ、本試験系の感度が十分であることが証明された。

S9-Mix 存在下

8 時間、24 時間または 30 時間の培養後において、異常がみられる分裂中期像の数に関して、生物学的に意味があり、かつ統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照であるシクロホスファミドによる処理では、異常がみられる分裂中期像の数に関して明瞭かつ統計学的に有意な増加が認められ、本試験系の感度が十分であることが証明された。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下でのチャイニーズハムスター卵巣細胞に対して、染色体異常誘発性を有しないものと判断された。

表 結果

試験区	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	処理 時間	回収 時間	観察 細胞 数	ギャップ		異常の分類									構造異常細胞(%)		
						染色分体型			染色体型			その他			ギャップ		交換		
						g	ig	b	f	d	ib	if	id	ex	ma	cd		含む	除外
溶媒対照	0	-	4	8	200	1	0	1	0	0	2	0	1	0	0	0	2.5	2.0	0.0
検体	200					0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.5
溶媒対照	0	+	4	8	200	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0	
検体	200					4	0	1	0	0	1	1	2	0	1	0	4.0	3.0	0.0
溶媒対照	0	-	4	24	200	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.5	0.5	0.0	
無処理	0					0	0	1	0	0	2	2	1	0	0	0	3.0	3.0	0.0
検体	8					1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1.5	1.0	0.0
	40					0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.5	0.5	0.0
	200					0	0	1	0	0	1	2	2	1	0	0	2.5	2.5	0.5
MMC	2					3	0	26	6	0	20	12	16	51	21	0	49.5**	49.5**	28.5**
溶媒対照	0	+	4	24	200	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1.5	1.5	0.0
無処理	0					0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1.5	1.5	0.0
検体	8					0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0.5	0.5	0.0
	40					0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1.0	1.0	0.0
	200					0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2.0	2.0	0.0
CP	10					2	0	10	2	1	9	4	5	12	1	0	19.0**	18.5**	5.5**
溶媒対照	0	-	4	30	200	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0	
検体	200					0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1.0	1.0	0.0	
溶媒対照	0	+	4	30	200	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1.0	1.0	0.0	
検体	200					0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1.0	1.0	0.0

\*\*: $p < 0.01$  (Fisher の正確確率検定)

g : 染色分体型ギャップ

f : 染色分体型断片

if : 染色体型断片

ma : 重複異常

MMC : マイトマイシン C

ig : 染色体型ギャップ

d : 染色分体型欠失

id : 染色体型欠失

cd : 染色体破損

CP : シクロホスファミド

b : 染色分体型切断

ib : 染色体型切断

ex : 交換

## マウスを用いた小核試験

(毒性資料No.原体-28)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年： 1993 年

検体の純度 :

試験系 : NMRI 系 (SPF Han) マウス、1 群雌雄各 5 匹

試験開始時約 8~12 週齢、体重 28~42 g

試験方法 : 検体をコーンオイルに懸濁させ、250mg/kg の用量でマウスに 1 回、腹腔内投与した。陽性対照としてシクロホスファミドを脱イオン水に溶解し 20mg/kg の用量で 1 回腹腔内投与した。また、陰性対照群にはコーンオイルを 1 回腹腔内投与した。投与容量は検体投与群及び陰性対照群では 5mL/kg、陽性対照群では 10mL/kg とした。検体投与群は投与 16、24 及び 48 時間後に屠殺し、大腿骨骨髓標本を作製した。陰性対照群及び陽性対照群は投与 24 時間後に動物を屠殺し大腿骨骨髓標本を作製した。動物毎に 1000 の多染性赤血球を観察し、多染性赤血球に対する正染性赤血球数の割合、小核を含む多染性赤血球及び正染性赤血球の頻度を計数した。

用量設定根拠 ;

試験結果：

検体投与群では毒性症状が認められ、2/40 例が死亡した。陰性及び陽性対照群では死亡は認められなかった。

検体投与による多染性赤血球と正染性赤血球の比の変化は認められなかった。また、小核を有する多染性及び正染性赤血球の頻度に検体投与の影響はみられなかった。

陽性対照のシクロホスファミド投与では、小核を有する多染性赤血球が統計学的有意に増加した。多染性赤血球と正染性赤血球の比の変化は認められなかった。

表 正染性赤血球数及び小核を有する赤血球数 (平均±SD)

試験群	用量 (mg/kg)	標本作製 時間	評価した 多染性 赤血球数	正染性赤血球数	小核を有する 正染性赤血球	小核を有する 多染性赤血球
				多染性赤血球 1000 個当たり	正染性赤血球 1000 個当たり	多染性赤血球 2000 個当たり
陰性対照(溶媒)	0	24	10000	1155±315	1.4±1.1	1.5 ±1.0
検体	250	16		1069±304	1.1±0.9	1.2 ±0.9
		24		1172±429	1.6±1.3	1.8 ±1.5
		48		1219±266	1.9±0.9	1.9 ±2.0
陽性対照 (CP)	20	24	915±334	1.7±1.5	16.2**±7.1	

CP：シクロホスファミド

\*\*：p<0.01 (non-parametric Wilcoxon Ranking test)

以上の結果より、検体は本試験条件下において多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は有しないものと判断された。

(14) 生体機能への影響

薬理試験

(毒性資料No.原体-29)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2009年

検体純度：

用量設定根拠：

一般症状及び行動に及ぼす影響

供試動物：Crlj:CD1(ICR)系 SPF マウス 1群雌雄各4匹

供試時週齢及び体重：5週齢，体重；雄25.2～32.0g、雌21.8～26.1g

試験方法：検体を2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、0(対照群)、25.6、64.0、160、400及び1000mg/kgの用量で3～5時間絶食したマウスに強制経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。検体投与前、検体投与後30、60、120、240、360分及び24時間にIrwinの多次元観察法に従い一般症状及び行動を観察した。尚、投与後24時間ではいずれの群にも一般症状及び行動観察に変化が見られなかったことから、以降の観察は行わなかった。

結果：64.0mg/kg以下では雌雄ともに一般状態及び行動への影響は見られなかった。表に示すように、160mg/kg及び400mg/kgの用量で観察された症状は、正向反射など反射機能の抑制、自発運動の低下ならびに体姿勢の変化であった。雌雄共に、投与後24時間に異常は観察されなかった。

1000mg/kg群の雄では受動性の低下、いらだちの低下、自発運動の低下、疼痛反応の低下、体姿勢の変化、正向反射の低下、耳介反射の消失がみられ、4例中1例の死亡が認められた。雌では雄でみられた所見に加え、異常歩行、握力の低下、散瞳、流涎が認められ、4例中3例が死亡した。1000mg/kg群でみられた症状は、雌雄ともに致死用量であり全身状態の悪化による影響が関連しているものと考えられた。

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。

以上のことからマウスの一般状態及び行動に対する無作用量は雌雄ともに 64.0mg/kg と考えられた。

表 マウスの一般症状及び行動に及ぼす影響試験で認められた症状

性	雄						雌						
	用量 (mg/kg)	0	25.6	64.0	160	400	1000	0	25.6	64.0	160	400	1000
検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
死亡*	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
正向反射の低下	0	0	0	1	3	4	0	0	0	1	4	3	
体姿勢の変化	0	0	0	0	3	4	0	0	0	1	1	3	
耳介反射の消失	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2	
握力の低下	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
散瞳	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
流涎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
異常歩行	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
受動性の低下	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	2	
自発運動の低下	0	0	0	0	3	3	0	0	0	1	2	3	
いらだちの低下	0	0	0	0	3	4	0	0	0	0	0	1	
疼痛反応の低下	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	1	

\*死亡状況；雄 1 例；360 分～24 時間の間に死亡，雌 3 例；60 分～360 分の間に死亡

#### 中枢神経系に及ぼす影響

##### 抗痙攣作用

供試動物：Cr1j:CD1(ICR)系 SPF マウス 1 群雌各 6 匹

5 週齢、体重；雌 22.5～26.5g

試験方法：検体を 2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、0(対照群)、25.6、64.0、160、400 及び 800mg/kg の用量で 3～4 時間絶食したマウスに強制経口投与した。投与容量は 10mL/kg とした。投与 30 分後に両角膜より電撃痙攣装置を用いて 100V、50mA の電流を 0.2 秒間通電した。電撃刺激後に発現する強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣、間代性痙攣及び死亡発現の有無を観察した。

結果： いずれの検体投与群においても強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣、間代性痙攣及び死亡発現例数に明確な影響はみられなかった。  
従って、検体のマウスの抗痙攣作用に対する無作用量は 800mg/kg と考えられた。

呼吸・循環器系に及ぼす影響

麻酔ウサギの呼吸、血圧、心拍数、心電図、総頸動脈血流量に対する作用

供試動物：New Zealand White 系雌ウサギ

1 群各 3 匹 (ただし 400mg/kg 及び 800mg/kg については各 1 匹\*)

13~16 週齢、体重 2.78~3.26kg

\*: 心拍数及び呼吸数に著明な影響がみられたため。

試験方法：非絶食下でウサギにペントバルビタールナトリウム 25mg/kg を左耳静脈内投与し麻酔し、背部を固定した。検体を 2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、十二指腸内に挿入したカテーテルより 25.6、64.0、160、400 及び 800mg/kg の用量で投与した。投与容量は 5mL/kg とした。検体投与前、検体投与後 10、30、60、90 及び 120、180、240 分後に呼吸、血圧、心拍数、総頸動脈血流量及び心電図を測定した。

結果：160mg/kg の用量では心拍数及び呼吸数の増加が認められた。400 及び 800mg/kg の用量では心拍数及び呼吸数の増加は更に著明なものであった。尚、25.6 及び 64.0 mg の用量で対照群に比べ拡張期血圧に統計学的に有意な高値がみられた。しかし、用量との関連性はみられず、また、平均血圧ならびに収縮期血圧への影響もみられなかったことから偶発的な事象と考えられた。また、心電図に影響は認められなかった。従って、呼吸・循環器系に対する無作用量は 64.0mg/kg であった。

平均心拍数(拍動/分)

mg/kg	投与前	投与後						
		10分	30分	60分	90分	120分	180分	240分
0	227	222	218	217	219	219	214	220
25.6	238	237	231	232	227	229	227	226
64.0	235	238	240	239	244	242	247	255
160	250	250	253	263*	273*	282*	299*	307*
400 <sup>#</sup>	270	278	279	289	289	306	322	341
800 <sup>#</sup>	301	303	321	339	335	339	349	356

# : 動物数 1 例, \* : p<0.05 (Dunnett' s test)

平均呼吸数(回数/分)

mg/kg	投与前	投与後						
		10分	30分	60分	90分	120分	180分	240分
0	15	16	14	11	14	13	11	13
25.6	17	17	17	19	15	16	15	20
64.0	15	18	17	16	16	12	14	14
160	17	20	18	19	21	21*	25*	24
400 <sup>#</sup>	23	30	30	32	31	32	44	65
800 <sup>#</sup>	35	42	43	48	57	62	76	103

# : 動物数 1 例, \* : p<0.05 (Dunnett' s test)



平均拡張期血圧 (mmHg)

mg/kg	投与前	投与後						
		10分	30分	60分	90分	120分	180分	240分
0	73	70	67	64	70	70	68	65
25.6	78	78	78	77*	75	74	72	74
64.0	78	73	75	77*	74	75	72	68
160	75	71	73	74	72	71	74	70
400 <sup>‡</sup>	80	76	79	73	76	73	74	66
800 <sup>‡</sup>	72	70	66	75	83	75	82	79

# : 動物数 1 例, \* : p<0.05 (Dunnett' s test)

水及び電解質代謝に及ぼす影響

供試動物 : Cr1:CD(SD)系 SPF 雌ラット 1 群雌各 6 匹

8 週齢、体重 188~212g

試験方法 : 検体を 2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、0(対照群)、25.6、64.0、160、400 及び 800mg/kg の用量で一夜絶食したラットに強制経口投与した。投与容量は 10mL/kg とした。その後直ちに 37°C に加温した生理食塩水を 25mL/kg の割合で経口的に負荷し、6 時間後に採尿し、尿量、pH、尿中の Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> ならびに Cl<sup>-</sup> を測定した。

結果 : 次表に示したとおり、64.0~400mg/kg 群で尿量の有意な減少が認められた。160 及び 400mg/kg 群ではクロール排泄量の減少が統計学的有意差を伴って認められた。160mg/kg でナトリウム排泄量の減少が認められたが、用量に関連した変化ではなかったことから偶発的のものと考えられた。検体の雌ラットの尿及び電解質排泄に対する無作用量は 25.6mg/kg と考えられた。尚、800mg/kg は全例が 6 時間以内に死亡したため、今回の評価に用いなかった。尚、尿量ならびに Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> ならびに Cl<sup>-</sup> については体重 100g 当たりの総排泄量で表した。

表 ラットの尿及び電解質排泄に及ぼす影響試験で有意差の認められた項目

用量 (mg/kg)	0	25.6	64.0	160	400
尿量 (mL/6hr/100g)	2.84	2.09	1.93*	0.98**	1.10**
Na <sup>+</sup> (mEq/6hr/100g)	0.262	0.231	0.254	0.132**	0.183
Cl <sup>-</sup> (mEq/6hr/100g)	0.272	0.230	0.233	0.112**	0.085**

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Dunnett' s test)

以上のことから、本検体はマウスの一般症状及び行動、ウサギの呼吸及び循環器系並びにラットの腎機能に作用を示し、マウスの抗痙攣作用を指標とした中枢神経系には影響を示さなかった。

無作用量は、マウスの経口投与で 64.0mg/kg、ラットの経口投与で 25.6mg/kg、麻酔ウサギ

の十二指腸内投与で 64.0mg/kg と考えられた。

表 生体機能への影響に関する試験の総括表

項目	供試動物	1群 当り 動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢 神経系	一般症状 及び 行動	マウス	♂♀4	経口	♂♀ 0, 25.6, 64.0, 160, 400, 1000	♂♀ 64.0	♂♀ 160	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 正向反射など反射機能の抑制</li> <li>・ 自発運動能の低下</li> <li>・ 体姿勢の変化</li> <li>・ 握力の低下</li> <li>・ 異常歩行</li> <li>・ いらだちの低下</li> <li>・ 受動性の低下</li> <li>・ 疼痛反応の低下など</li> </ul>
	抗痙攣	マウス	♀6	経口	0, 25.6, 64.0, 160, 400, 800	800	—	影響なし
呼吸 循環器 系	呼吸数	ウサギ	♀	十二 指腸 内	0, 25.6, 64.0, 160, 400, 800	64.0	160	・ 呼吸数増加
	心拍数					64.0	160	・ 心拍数増加
	血圧・ 心電図					800	—	影響なし
腎 機能	尿及び 電解質 排泄	ラット	♀6	経口	0, 25.6, 64.0, 160, 400, 800	25.6	64.0	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 尿量減少</li> <li>・ Na<sup>+</sup>排泄量減少</li> <li>・ Cl<sup>-</sup>排泄量減少</li> </ul>

(15) その他

ラットにおける発達神経毒性試験

(毒性資料No.原体-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度：

試験動物：Sprague Dawley 系 (Cr1:CD\*BR VAF/Plus\*) ラット、雌 1 群 25 匹)

交配開始時体重；220～253g

投与期間：妊娠 6 日～哺育 11 日あるいは妊娠 24 日 [出産しなかった雌の場合]

(1998 年 7 月～1998 年 8 月)

投与方法：

妊娠雌親動物に検体を 0 (対照群)、20、100 及び 500ppm の濃度で混入した飼料を妊娠 6 日から児動物の哺育 11 日まで投与した。尚、出産しなかった雌の場合は妊娠 6 日から妊娠 24 日まで投与した。

交配及び妊娠 0 日

馴化後、雌雄を 1:1 で交尾が確認されるまで毎日同居させた。交尾の確認は膣垢塗抹で精子を認めるか、膣栓を認めることによって行った。交尾を確認した日を妊娠 0 日とした。また、出生日を哺育 1 日 (生後 1 日) とした。

投与用量設定の根拠；

試験項目及び結果：

1. 母動物

母動物は哺育 22 日に屠殺した。

1-1. 臨床観察

生死の確認は試験期間を通じて少なくとも 1 日 2 回行った。一般的な臨床観察は、投与前期間から妊娠 0 日の間は少なくとも週 1 回行った。投与期間中および投与終了後の期間中は自律神経機能障害、体位の異常、運動異常、行動パターンの異常、外観の異常について毎日観察した。

死亡例は認められなかった。また検体投与に関連すると考えられる臨床症状は妊娠期間、哺育期間を通じて認められなかった。

1-2. 体重

投与前期間は週 1 回、妊娠 0 日、投与期間(妊娠 6 日から哺育 11 日)および投与後期間は毎日そして屠殺日に体重を測定した。

体重、増体重について統計学的処理した結果を表 1 に示す。

表 1. 妊娠期間における体重及び体重増加量

投与用量	20ppm	100ppm	500ppm
体重			
妊娠 8 日		↓ 96	↓ 93
妊娠 9 日		↓ 96	↓ 96
妊娠 10 日			↓ 95
妊娠 11 日			↓ 96
妊娠 12 日			↓ 96
妊娠 13-21 日			
体重増加量			
妊娠 6-9 日		↓ 47	↓ 37
妊娠 9-12 日		↑ 193	
妊娠 12-15 日			
妊娠 15-18 日			
妊娠 18-21 日	↓ 81		↓ 80
妊娠 6-21 日			↓ 86
妊娠 0-21 日			

哺育期間

投与用量	20ppm	100ppm	500ppm
体重			
哺育 8 日			↓ 96
哺育 9 日			↓ 95
体重増加量			
哺育 7-12 日			↑ 173
哺育 1-22 日			

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの  
 ▲↓:P<0.01, ↑↓P<0.05(Dunnett's test/Dunn's test)

#### [妊娠期間]

500ppm 群において、妊娠 8 日から 12 日の体重は対照群に比べ統計学的に有意な低値(93%~96%)を示した。一方、妊娠 13 日から 21 日までは対照群との間に体重の差はみられなかった。増体重の観点からみると、妊娠 6 日から 21 日、妊娠 6 日から 9 日、そして妊娠 18 日から 21 日の増体重は、それぞれ対照群の増体重の 86%、37%そして 80%であり、統計学的に有意であった。

100ppm 群では妊娠 8 日と 9 日の体重は対照群に比べ統計学的に有意な低値(両日共に 96%)を示した。しかし、その後は対照群との間に差は認められなかった。増体重では、妊娠 6 日から 9 日までの増体重は統計学的に有意に抑制された(対照群の 47%)。しかし、妊娠 9 日から 12 日までの増体重は対照群の 193%と、統計学的有意に増加した。これらのことから、100ppm 群以上で認められた一時的な体重変動は、投与開始初期における検体を含む餌に対する忌避効果\*によるものと考えられた。

20ppm では妊娠期間中の体重は対照群と比べ同等であった。しかし、妊娠期間 18 日から 21 日間の増体重に統計学的に有意な減少がみられた(対照群の 81%)。なお、この減少は一時的であり、用量に依存していないことから、検体投与に関連したものとは考えられなかった。

\*申請者注

#### [哺育期間]

500ppm において、哺育 8 日及び 9 日の体重は対照群に比べ統計学的に低値を示した(8 日 ; 96%, 9 日 ; 95%)。しかし哺育 7 日から 12 日の期間の増体重は、対照群に比べ統計学的に有意に増加した(対照群の 173%)。哺育期間においては、このような体重の変動はよくみられるものであり、一時的であることから、検体の投与とは考えられなかった。

#### 1-3. 摂餌量及び検体摂取量

妊娠 0 日と投与期間および投与後期間は毎日摂餌量を測定した。

対照群と比べ有意差の認められた摂餌量を表 2 に示す。

表 2. 摂餌量 (対照群に比べ統計学的に有意差の認められた摂餌量)

投与用量 (ppm)	20		100		500	
	①	②	①	②	①	②
妊娠期間中						
6～9日			↓85	↓84	↓75	↓72
9～12日					↓88	↓84
12～15日					↑115	↑112
15～18日						
6～21日						
0～21日						
哺育期間中						
4～7日						
7～12日	↓92	↓92	↓92	↓90		↓92
1～12日						
1～22日						

①g/kg 体重/日, ②g/動物/日, ↓;P<0.05, ↑↓;P<0.01(Dunnett's test/Dunn's test)  
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

表にみられるように、動物 1 例当りの 1 日摂餌量 (g/動物/日) 及び体重当りの 1 日摂餌量 (mg/kg 体重/日) は検体投与開始時 (妊娠 6-9 日) に 100ppm 及び 500ppm 群で対照群に比べ統計学的に有意に減少した。更に 500ppm 群では妊娠 9 から 12 日にも対照群に比べ統計学的に有意な減少がみられた。しかし、妊娠 12-15 日には統計学的に有意な飼料摂取量の増加がみられた。これらの一時的な対照群との差異は、検体を含む餌に対する忌避効果と考えられた。

また哺育期間中では、哺育 7 日から 12 日の期間において、投与群全群で動物当りの 1 日摂餌量の統計学的に有意な減少が認められ、一方、体重当りの 1 日摂餌量は、20ppm と 100ppm で統計学的に有意な減少がみられたが、最高用量群である 500ppm では統計学的な有意差は認められなかった。これらの一時的な変動は、明確な用量に関連した影響はみられず、また投与全期間 (妊娠 6 日から 21 日間及び哺育 1 日から 11 日間) でみるとにおいて統計学的に有意な差は認められなかったことから、検体の影響とは考えられなかった。

雌親動物における検体の体重当りの 1 日平均摂取量は以下通りであった。

表3. 検体摂取量 (mg/kg体重/日)

投与用量 (ppm)	20	100	500
妊娠期間 (6日～21日)	1.7	8.3	40.8
哺育期間 (1日～12日)	3.0	15.4	76.7

#### 1-4. 自然分娩時の成績

分娩時の成績を以下の表 4 に示す。

表 4. 分娩時の成績(母動物)

投与用量(ppm)	0	20	100	500
交配雌動物数	25	25	25	25
妊娠雌動物数	25	25	25	↓22
出産した雌動物数	24 <sup>f</sup>	25	25	22
妊娠期間	22.7	22.6	22.8	22.9
着床数	16.3	15.0	15.0	16.4
出産率(%)	96	100	100	100
死産児を有する母動物数	7	↓3	↓2	↓0
生存児を有さない母動物数	0	0	0	0

#出産しなかったとした 1 例は、妊娠 25 日目において、着床部位が 12 個あり、子宮内で生存 5 胎児及び死亡 5 胎児が確認された。この母動物のデータは平均着床数、平均妊娠期間の算出、死産児を有する母動物数、生存児を有さない母動物数に含まれていない。

↑↓;P<0.01, (Dunnett's test/Dunn's test)

$$\text{出産率 (\%)} = \frac{\text{生存児を有する雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

自然分娩時の成績において、妊娠期間、着床数、出産率、死亡児を有する動物数、生存児を有さない母動物数について、500ppm 群を含む全ての群で対照群との差は認められなかった。尚、妊娠雌動物の減少が 500ppm で統計学的に有意に認められたが、交配時、検体は投与されていないこと、また非妊娠動物の数は実施試験施設の背景データ範囲内にあることから検体投与の関連性はなく、自然発生性のもと考えられた。また死産児を有する母動物数が 20ppm 以上で統計学的に有意に減少したが、増加した場合が毒性作用と考えられることから、毒性学的に意味のないものと考えられた。

#### 1-5. 同腹児の成績

分娩時から離乳時まで、以下の項目について調べた。

総産児数、一腹毎の産児数、総生存産児数、一腹毎の総生存産児数、死産児数、一腹毎の死産児数、生死不明産児数、一腹生存児数(出生時から哺育 22 日まで 1 日 1 回)、一腹毎の体重

分娩時から離乳時までの成績を以下の表 5 に示す。

表 5. 同腹児の成績

投与用量 (ppm)	0	20	100	500
出産した雌動物数	24	24	25	22
一腹毎の産児数	15.6	14.1	14.0	15.1
総産児数	375	338	350	332
一腹毎の生存産児数	15.2	13.9	13.9	15.0
生存産児数(率)	365 (97.3%)	334 (↑98.8%)	348 (↑99.4%)	331 (↑99.7%)
一腹毎の死産児数	0.4	0.1	0.1	↓0
死産児数(率)	10 (2.7%)	3 (↓0.9%)	2 (↓0.6%)	0 (↓0.0%)
生死不明産児数	0	1	0	1
体重 (g)/一腹				
生後 1 日	6.3	6.2	6.4	6.1
生後 5 日 (調整前)	8.8	8.8	9.0	8.4
生後 5 日 (調整後)	9.0	8.9	9.1	8.4
一腹毎の生存児数				
生後 5 日 (調整前)	14.8	13.5	13.3	14.5
生後 5 日 (調整後)	10.0	9.6	9.8	10.0
生後 8 日	10.0	9.6	↓9.4	10.0
生後 12 日	9.9	9.5	9.4	10.0
生後 14 日	7.8	7.9	7.9	7.8
生後 18 日	7.5	7.9	7.7	7.7
生後 22 日	7.5	7.9	7.7	7.7

↑ ↓; P<0.05,   ↑↓; P<0.01 (Dunnett's test/Dunn's test)

総産児数に対する生存産児数の割合の増加及び死産児数の割合の減少がそれぞれ統計学的な有意差を伴って 20ppm 以上認められたが、死産児数の減少は毒性を示す指標とは考えられないことから、検体投与による毒性作用とは考えられなかった。同腹生存児の体重では、出生時、生後 5 日において、対照群といずれの検体投与群の間に統計学的に有意な差は認められなかった。また生後 8 日目に同腹生存児数の統計学的に有意な低下が 100ppm で認められたが、500ppm では変動は見られなかったことから、偶発的な変化と考えられた。以上のことから、腹毎の試験成績には対照群と最高用量群を含む全ての検体投与群との間に差は認められなかった。

#### 1-6. 母動物(産後 22 日)の剖検

検体投与に起因したと考えられる所見は認められなかった。



## 2. 児動物

児動物は観察項目によって以下のとおり 5 グループに分けた。(各グループ雌雄 80 匹)

グループ	屠殺日	検査項目
①	生後 12 日	臨床観察, 体重, 発育の指標, 肝重量, 固定後の甲状腺/上皮小体重量及び脳重量, T3 及び T4 の血中濃度, 神経病理組織学的検査
②	生後 73 日-77 日	臨床観察, 摂餌量, 体重, 発育の指標, 性成熟の指標, 受動回避能, 水迷路試験,
③	生後 74 日-78 日	臨床観察, 摂餌量, 体重, 発育の指標, 性成熟の指標, 運動量, 聴覚性驚愕反応
④	生後 83 日	臨床観察, 摂餌量, 体重, 発育の指標, 性成熟の指標, 固定後の脳重量, 神経病理組織学的検査
⑤	生後 22 日	臨床観察, 体重, 発育の指標, 肝重量, 固定後の甲状腺/上皮小体重量, T3 及び T4 の血中濃度

### 2-1. 性比, 生存率, 哺育率 (全児動物)

性比, 5 日生存率, 哺育率について調べた結果を表 6 に示す。

表 6. 性比, 5 日生存率, 哺育率

投与用量 (ppm)	0	20	100	500
5 日生存率 (%)	97.5	96.7	95.5	96.7
哺育率 (%)	62.5	65.8	67.2	70.0
性比;雄の割合 (出生時)	49.5	45.8	50.3	47.9

↑ ↓; P<0.05, ▲ ▼; P<0.01 (Dunn's test)

$$5 \text{ 日生存率 } (\%) = \frac{5 \text{ 日目の調整前の生存児数}}{\text{出生時生存児数}} \times 100$$

$$\text{哺育率 } (\%) = \frac{22 \text{ 日目の離乳時における生存児数}}{5 \text{ 日目の調整後の生存児数}} \times 100$$

性比, 5 日生存率, 哺育率に検体投与の影響は認められなかった。

### 2-2. 臨床観察 (全児動物)

生死について, 離乳前期間, 離乳後期間を通じて毎日少なくとも 2 回観察した。哺育期間は毎日, 離乳後期間は毎週 1 回, 臨床観察の結果を記録した。

特に, グループ④では離乳後, 毎週, 自律神経機能障害の有無, 異常姿勢, 運動ないしは行動パターン, 外観異常について調べた。グループ②と③では体重測定時あるいは行動試験のためケージから動物を出すときに, 外観異常を調べた。

投与用量に関連した増加を伴う検体投与に関連したと考えられる臨床症状は認められなかった。

### 2-3. 体重（全児動物）

出生時、生後 5、8、12、14、18、22 日そして離乳後は 1 週間毎に体重を測定した。また屠殺時にも体重を測定した。

500ppm 群の雌雄で生後 5 日から 72 日（最終週体重）までの平均体重は対照群に比べ低値を示し（生後 5 日；雄 92%，雌 91%，生後 72 日；雄 95%，雌 95%）、統計学的に有意であった。それぞれ前測定時との体重差においては、生後 37 日まで対照群に比べ統計学的に有意な低値がみられた。また生後 5 日から 72 日までの増体重は、対照群に比べ統計学的に有意な低値を示した（雌雄；95%）。しかし、生後 23 日から 72 日までの増体重には雌雄ともに、対照群との間に差は認められなかった。

100ppm 群の雌雄では、生後 5 日、8 日の体重に対照群との差は認められなかったが、雄では、生後 12 日から 72 日まで、雌では生後 12 日から 51 日まで統計学的に有意な低値を示した（生後 5 日；雄 101%，雌 100%，生後 12 日；雌雄 91%，生後 51 日；94%，雌 96%，生後 72 日；雄 96%，雌 97%）。それぞれ前測定時からの増体重においては、雄では生後 37 日まで、雌では生後 14 日まで対照群に比べ統計学的に有意な低値が認められた。また、生後 5 日から 72 日までの増体重では、対照群に比べ雄では統計学的に有意な低値（96%）を示したが、雌では統計学的な有意差は認められなかった。生後 23 日から 72 日までの増体重には雌雄共に、対照群との間に差は認められなかった。

20ppm 群の雄では生後 5 日から 12 日まで、雌では 5 日から 8 日まで平均体重は対照群と同等であった。しかし雄では生後 14 日から 30 日（生後 5 日；99%，生後 14 日；87%，生後 30 日；93%）まで、雌では生後 12 日から 30 日（生後 5 日；99%，生後 12 日；94%，生後 30 日；94%）まで体重は対照群に比べ統計学的に有意な低値を示した。それぞれ前測定時からの増体重においては、雌雄共に生後 14 日まで対照群に比べ、統計学的に有意な低値を示したが、その後は統計学的な有意差は認められなかった。また、雌雄ともに、生後 5 日から 72 日まで（雄；98%，雌；101%）及び生後 23 日から 72 日まで（雄；100%，雌；103%）の増体重では、対照群に比べ統計学的な有意差は認められなかった。

申請者注



#### 2-4. 摂餌量（全児動物）

生後 1、5、8、12、14、18、22 日及び離乳期間は週 1 回、そして試験終了時に測定した。

雄では 500ppm 及び 100ppm 群では、生後 23 日から 72 日までにおける動物当りの 1 日摂餌量は統計学的有意に低下(対照群の 96%)した。しかし、この低下は同期間の体重が対照群に比べ低値であったためであり、体重当りの 1 日摂餌量は、同期間において、500ppm では統計学的に有意に増加し(対照群の 104%)、100ppm では統計学的に有意な差は認められなかった(対照群の 102%)。20ppm 群では、動物あたりの 1 日摂餌量は、生後 23 日から 30 日に統計学的に有意な低下(対照群の 93%)がみられ、体重あたりの 1 日摂餌量では逆に生後 37 日から 44 日に統計学的に有意な増加(対照群の 103%)がみられた。しかし、生後 23 日から 72 日までの期間において、動物当り及び体重当りの 1 日摂餌量に対照群との差は認められなかった。これらのことから、500ppm 群も含め、検体投与によるものとは考えられなかった。

雌では、生後 23 日から 72 日間における動物当りの 1 日摂餌量及び体重あたりの 1 日摂餌量に、全投与量群ともに対照群との差は認められなかった。尚、数期間において、統計学的に有意な差を伴って、動物当りの一日摂餌量の低下、体重あたりの 1 日

摂餌量の増加がみられたが、一時的であり、またその差も軽度であることから検体投与との関連性はないものと考えられた。

### 2-3. 発育の指標(反射及び身体的な成長) (全児動物)

以下の項目について調べた。

正向反射	; 生後 1 日以降(グループ①~⑤)
耳介の開展	; 生後 2 日以降(グループ①~⑤)
開眼	; 生後 12 日以降(グループ②~⑤)
聴覚性驚愕反応	; 生後 13 日以降(グループ②~⑤)、
縮瞳	; 生後 21 日 1 回(グループ②~⑤)

開眼と聴覚驚愕反応について、以下のとおり統計学的な有意差が認められた。

表 9. 開眼 (累積割合%)

投与用量	0ppm	20ppm	100ppm	500ppm
生後 12 日	0.6	0	0	0
13 日	9.0	2.5	2.0	3.9
14 日	34.4	20.1	↓11.6	↓7.5
15 日	85.4	↓51.8	↓61.1	↓38.8
16 日	98.1	90.6	89.5	81.3
17 日	100	99.4	99.4	97.2
18 日	100	100	100	99.3
19 日	100	100	100	100
# (日)	14.8	15.3	↑15.4	↑15.6

↑↓;P<0.05, ▲▼;P<0.01(analysis of variance)

# ; 少なくとも 50%の児動物が開眼した日

表 10. 聴覚性驚愕反応 (累積割合%)

投与用量	0ppm	20ppm	100ppm	500ppm
生後 13 日	66.7	67.6	49.9	↓45.0
14 日	89.6	77.6	78.4	78.4
15 日	92.5	96.2	86.8	75.5
16 日	94.0	96.9	94.4	95.9
17 日	100	98.1	98.8	95.8
18 日	100	100	100	97.8
19 日	100	100	100	97.8
20 日	100	100	100	100
# (日)	13.3	13.4	13.4	14.0

↑↓;P<0.05, ▲▼;P<0.01(analysis of variance)

# ; 少なくとも 50%の児動物が聴覚性驚愕反応を示した日

50%の動物が開眼した日について対照群に比べ 100ppm 及び 500ppm 群で統計学的に有意な遅延がみられた。これに関連して、生後 14 日及び 15 日において、開眼した児動物の割合に統計学的に有意な減少がみられた。また、20ppm においても生後 14 日に開眼した児動物の割合に統計学的に有意な減少がみられたが、50%の動物が開眼した日では、対照群と比べ有意な遅延はみられなかったこと、また 15 日において 100ppm では 20ppm に比べ開眼を示した児動物の割合に増加がみられていることから、20ppm での一時的な影響は検体投与によるもので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。

聴覚性驚愕反応については、対照群に比べ、反応を示す動物数の有意な減少が500ppm群で、生後13日のみにみられた。しかし、50%の動物がこの反応を示した日に対照群に比べて有意な遅延はみられず、14日以降、統計学的に有意な差が認められなかったことから、検体の投与による影響とは考えられなかった。

その他の項目（正向反射、耳介の開展、縮瞳）については、いずれも検体投与群と対照群の間に差は認められなかった。

#### 2-4. 性成熟の指標(グループ②～④)

包皮分離(生後39日から観察)、腔開口(生後28日から観察)の認められた日齢を観察した。

腔開口達成日及び包皮分離達成日を表11に示した。

表11. 平均達成日

用量	0ppm	20ppm	100ppm	500ppm
包皮分離日	47.2	47.7	↑48.4	↑48.4
腔開口日	32.0	31.5	32.4	32.5

↑: P<0.05 (Dunnett's test/Dunn's test)

腔開口達成日については、500ppmまで対照群と比べ統計学的に有意な差は認められなかった。一方、包皮分離達成日については、100ppm以上の群で統計学的有意に遅延した。

#### 2-5. 受動回避能(グループ②)

各腹雌雄1例の児動物(各群雌雄19～20匹)を用い、四肢への電気ショックに対する受動回避能について、その学習能と短時間記憶能力及び長時間記憶能力を生後23-25日及びその1週間後に測定した。

その結果、これらの能力獲得において検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

#### 2-6. 水迷路試験(グループ②)

各腹雌雄1例の児動物(各群雌雄17～20匹)を用い、について水迷路を用いた水泳能力、学習能力及び記憶能力を生後59～63日及びその一週間後に測定した。

その結果、これらの能力獲得において対照群と用量群との間に差は認められなかった。

#### 2-7. 自発運動量(グループ③)

各腹雌雄1例の児動物(各群雌雄19～20匹)について自発運動量を生後14、18、22及び60日に自動測定器で測定した。

その結果、全ての投与群で対照群に比べ僅かな有意差が散発的に認められたが、投与に関連したものとは考えられなかった。

#### 2-8. 聴覚性驚愕反応(グループ③)

自動聴覚測定装置を用い、各腹雌雄1例の児動物(各群雌雄18～20匹)を用いて

120dBA の音に対する反応及び慣れを生後 23、61 日に測定した。

その結果、生後 23 日には 20ppm 雄群で、生後 61 日には 100ppm 雌群で統計学的に有意な反応の増加がみられたが、用量に関連せず、また単発であるため、偶発的な変化と考えた。従って、児動物の聴覚性驚愕反応に対照群と各用量群の差は認められなかった。

2-9. 最終屠殺時の剖検(全児動物)

検体投与に起因したと考えられる所見は認められなかった。

2-10. 臓器重量(グループ①, ④, ⑤)

グループ①

生後 12 日に児動物各群雌雄それぞれ 19~20 例について体重を測定後屠殺した。肝臓は固定前に、脳及び甲状腺/上皮小体については、10%緩衝ホルマリンで固定後それぞれ重量を測定した。

グループ④

生後 83 日に体重を測定後屠殺した。児動物のうち、各群雌雄 6 例を無作為に選択し、in situ で灌流固定した。この 6 例の脳について 10%緩衝ホルマリンで固定後重量を測定した。

グループ⑤

生後 22 日に体重を測定後屠殺した。肝臓は固定前に、甲状腺/上皮小体については、10%緩衝ホルマリンで固定後それぞれ重量を測定した。

表 12 に統計学的に有意差がみられた所見について示す。

表 12. 臓器重量 - グループ①(生後 12 日)

		雄			雌		
用量	(ppm)	20	100	500	20	100	500
体重			(92)	↓83			(88)
脳	実重量						
	対体重比			↑115			↑110
肝	実重量		↓85	↓78			
	対体重比						
	対脳重量比						
甲状腺	実重量						
	対体重比						
	対脳重量比						

↑;P<0.05, ↓;P<0.01(Dunnett's test/Dunn's test), ( )は統計学的有意差なし。  
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

#### グループ①

生後 12 日において、500ppm 雄群で最終体重に統計学的に有意な低下がみられた。

同群雌雄で脳の対体重比に統計学的に有意な増加がみられたが、実重量の増加を伴わず、これは低体重に起因したものと考えられた。肝臓についても、実重量の低下が 100ppm 及び 500ppm の雄群でみられたが、これも低体重に起因した変化と考えられ、脳及び肝臓でみられた差は検体の影響とは考えられなかった。甲状腺においては実重量、対体重比共に統計学的に有意な差は認められなかった。また、肝臓及び甲状腺において、対脳重量比に検体投与群と対照群との差は雌雄ともに認められなかった。

#### グループ④

生後 83 日において、検体投与群のいずれにおいても、脳実重量、対体重比は対照群と同等であり、統計学的に有意な差は認められなかった。

#### グループ⑤

生後 22 日において、検体投与群のいずれにおいても、脳実重量、対体重比は対照群と同等であり、統計学的に有意な差は認められなかった。

### 2-11. 脳の形態計測及び神経病理組織学的検査

#### 2-11-1. グループ①の脳の形態計測及び病理組織学的検査(生後 12 日)

全投与群について脳の重量を測定後、10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。対照群と高用量群の雌雄各 6 匹から採取した脳を対象に、切り出し・整形や標本作製する前に、大脳及び小脳の長軸の長さを計測した。その後、脳を 8 切片にした。接眼マイクロメータ及び鏡頭により形態計測および神経病理組織学的検査を実施した。

接眼マイクロメータ及び鏡頭による形態計測を実施した部位は以下のとおりであった。

大脳皮質(前頭葉)の厚さ、大脳皮質(頭頂葉)の厚さ、被殻/尾状核幅(線条体の厚さ)、脳梁の厚さ、海馬回の厚さ、小脳高、小脳の外胚芽層の厚さ

脳重量及び脳の形態計測において、雌雄ともに対照群と高用量群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。また、投与に関連した鏡頭所見も認められなかった。

#### 2-11-2. グループ④の脳の形態計測及び病理組織学的検査(生後 83 日)

グループ①と同様に脳の重量を測定後、10%中性緩衝ホルマリン液に固定し、高用量群と対照群の雌雄各 6 匹の脳について、切り出し・整形や標本作製する前に、大脳及び小脳の長軸の長さを計測した。その後、脳を 8 切片にした。接眼マイクロメータ及び鏡頭により形態計測および神経病理組織学的検査を実施した。接眼マイクロメータ及び鏡頭による形態計測を実施した部位は以下のとおりであった。

大脳皮質(前頭葉)の厚さ、大脳皮質(頭頂葉)の厚さ、被殻/尾状核幅(線条体の厚

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。

さ)、脳梁の厚さ、海馬回の厚さ、小脳高、小脳の外胚芽層の厚さ

脳を検査した同じ動物について、下記の組織について神経病理組織学的検査を実施した。

脳、脊髄、ガッセル神経節、脊髄神経根と付随の後根神経節、後肢の末梢神経  
最高用量群で脳の形態計測の一部に統計学的な有意差が認められたため、中間用量についても、雌雄各6例について脳の形態計測を行った。

形態計測の結果、有意差の認められた部分は表13の通りであった。

表13. 脳の形態計測

性別	雌			
	0	20	100	500
投与量(ppm)				
被殻/尾状核幅(対角)( $\mu$ )	3204	/	↓2868(90)	↓2900(91)
被殻/尾状核幅(横断)( $\mu$ )	2832	/	↓2688(95)	↓2590(91)

↓:  $p < 0.05$  ↓↓:  $P < 0.01$ , (single-factor analysis of variance)

表中の( )内の数値は、対照群の値を100とした場合の値を示した。 /: 計測せず。

脳の形態計測において、対照群に比べ統計学的に有意な低値が認められたのは、100ppm及び500ppmの雌群における被殻/尾状核幅の減少であったが、このような減少は雄ではみられなかった。また、この減少に用量に依存した証拠はみられなかったことから、対照群の値が偶発的に高値を示したものと推測された。病理組織学的検査においても脳に異常はみられなかったことから、線条体の発育に検体投与に関連した影響はみられなかったものと考えられた。

その他、中枢神経系及び末梢神経系に対する神経病理学的検査の結果、いずれのラットにおいても投与に関連した所見はみられなかった。

#### 2-12. 甲状腺ホルモンの測定[グループ①(生後12日), グループ⑤(生後22日)]

計画屠殺日に下大静脈から採血し、血清中のトリヨードサイロニン(T<sub>3</sub>)及びサイロキシン(T<sub>4</sub>)を測定した。

生後12日及び22日において500ppm群まで雌雄ともに血清中のT<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>濃度に検体の影響は認められなかった。

#### 2-13. 病理組織学的検査[グループ①(生後12日), グループ⑤(生後22日)]

計画屠殺日に肝臓、上皮小体を伴う甲状腺及び肉眼的病変部を10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬した。

両グループともに、いずれの群においても検体に関連したと考えられる病理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。

以上の結果から、100ppm以上の母動物で、妊娠期間に餌の忌避作用と考えられる摂餌量の一時的な低下とそれに伴う明らかな増体重抑制が認められた。従って、母動物に対するNOELは20ppmであった。

児動物に対しては、100ppm以上で増体重抑制、開眼日及び包皮分離日の遅れが認められた。従ってF1児に対するNOELは20ppmであった。

以上のことから本検体を混餌濃度20ppm(妊娠期間:1.7mg/kg/日, 哺育期間:3.0mg/kg/日)を母動物に妊娠及び哺乳期間中投与した場合、児動物に何ら異常は認められなかった。

また児動物に発育の遅延を示唆する所見は100ppm以上で認められたが、500ppmまで児動物に何ら特異的な神経行動的影響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。

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。



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。




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。



---


---


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。





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。


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。



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。


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。



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。



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。



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。

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。

(毒性資料 No. 原体-32)

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。







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。


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。


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. 代謝物

### (1) 急性毒性

動物・土壌代謝物：代謝物[0]のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物-1)

試験機関：Miles Inc. [米国]

[GLP 対応]

報告書作成年：1993 年

検体の純度：

試験動物： SD 系ラット (Sas:CD(SD)BR)、1 群雌雄各 5 匹

試験開始時；雄 約 8 週齢 (182~197g)

雌 約 10 週齢 (170~187g)

試験期間： 1 日間観察

#### 【試験方法】

##### 検体調製

検体を所定量秤量し、脱イオン水を用いて調製した。

##### 投与方法

投与前一晚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 2mL とした。

##### 一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は投与後 10 分以内に全例死亡したため、観察期間は死亡するまでの 10 分間であり、その間注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、死亡発見時に行った。

##### 剖検

観察終了時に、全死亡例について剖検した。

##### LD50 値に対する評価

算出できなかった。

## 【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：1650* 雌：600*
LD50 (mg/kg)	雄：<1650 雌：<600
死亡開始時間及び 終了時間	雄：投与後 10 分以内 雌：投与後 10 分以内
症状発現時間及び 消失時間	雄：－ 雌：投与後 10 分以内
最大無作用量 (mg/kg)	雄：－ 雌：－
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：－ 雌：－

\*：フルフェナセットの LD50 値

### 一般症状の観察及び体重の測定

投与後 10 分以内に全例が死亡し、死亡までに時間がきわめて早かったため、中毒症状が確認できたのは、雌 1 例のみであった。その雌 1 例は振せんを示した。

投与前体重と死亡体重に差は認められなかった。

### 剖検

死亡動物全例で、腺胃部の粘膜の白色化がみられた。さらに雄の 1 例ではその白色部位が十二指腸まで広がっていた。

本代謝物の急性経口毒性はフルフェナセットの急性経口毒性より強い毒性を示した。

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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

植物・土壌代謝物：代謝物[X]のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体の純度：

試験動物： ウィスター系ラット (HsdCpb:CD(WU)、1 群雌雄各 5 匹

試験開始時；雄 約 6 週齢(162~188g)

雌 約 8 週齢(166~171g)

試験期間： 14 日間観察

#### 【試験方法】

##### 検体調製

被験物質を所定量秤量し、2% Cremophor EL を含む脱イオン水を用いて調製した。

##### 投与方法

投与前約 17 時間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 1mL 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、全生存動物をジエチルエーテル麻酔下で屠殺後、剖検した。

##### LD<sub>50</sub> 値に対する評価

算出できなかった。

## 【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：500, 2000 雌：500, 2000
LD50 (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：投与後4時間から1日* 雌：投与後4時間から1日*
最大無作用量 (mg/kg)	雄：500 雌：500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000

\*投与後5時間まで確認された。

### 一般症状の観察及び体重の測定

死亡例は認められなかった。

2000mg/kg 雌雄では下痢が認められ、肛門部が湿っていた。これらの症状は、投与後4時間から5時間まで認められた。500mg/kg では雌雄ともに何ら症状は認められなかった。

体重および増体重に検体投与による影響は認められなかった。

### 剖検

2000mg/kg 群の雄1例において精巣の大きさが小さかった。その他の動物には何ら異常は認められなかった。

本代謝物の急性経口毒性はフルフェナセットの急性経口毒性より弱い毒性を示した。



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

(2) 変異原性

動物・土壌代謝物：代謝物[0]の細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.代謝物-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011年

検体の純度：

試験系：細菌（ネズミチフス菌〈TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102〉）

試験方法：

ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) の5株を用い、ラットの肝臓調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下、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。設定用量は、本試験の1回目の試験(プレートインコーポレーション法)、2回目の試験(プレインキュベーション法)共に、3、10、33、100、333、1000、2500、5000µg/plateの8用量で試験をした。それぞれの試験は3反復とした。陽性対照としてアジ化ナトリウム(NA-azide)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(4-NOPD)、メチルメタンサルホネート(MMS)、2-アミノアントラセン(2-AA)を用いた。

用量設定根拠；

試験結果：

結果を下表に示した。

供試した何れの用量においても、代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

表 1. 1回目試験(プレート インコーポレーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	—	—	117	14 <sup>BM</sup>	389	25	12
対照(DMSO)	—	—	126	12 <sup>BM</sup>	399	29	12
検体	3	—	117	11 <sup>BM</sup>	362	27	12
	10	—	119	11 <sup>BM</sup>	400	29	15
	33	—	116	12 <sup>BM</sup>	374	27	14
	100	—	121	12 <sup>BM</sup>	365	26	13
	333	—	136	11 <sup>BM</sup>	308	27	15
	1000	—	120	9 <sup>BM</sup>	97	29	14
	2500	—	92	8 <sup>BM</sup>	9	31	11
5000	—	76	6 <sup>BM</sup>	2	13 <sup>UM</sup>	5	
無処理	—	+	140	19 <sup>BM</sup>	502	42	16
対照(DMSO)	—	+	138	18 <sup>BM</sup>	522	37	18
検体	3	+	116	17 <sup>BM</sup>	492	41	14
	10	+	141	16 <sup>BM</sup>	510	41	18
	33	+	140	17 <sup>BM</sup>	492	34	16
	100	+	138	18 <sup>BM</sup>	407	43	19
	333	+	131	16 <sup>BM</sup>	353	35	14
	1000	+	129	13 <sup>BM</sup>	144	32	16
	2500	+	120	11 <sup>BM</sup>	15	36	15
5000	+	84	9 <sup>BM</sup>	5	23	6	
陽性対照	NA-azide	10	—	1743	1822		
	4-NOPD	10	—			286	
	4-NOPD	50	—				76
	MMS	3.0	—			4674	
	2-AA	2.5	+	2400	300		2112
	2-AA	10.0	+			2944	

<sup>B</sup>：細菌の広範囲な生長，<sup>M</sup>：生菌数を手動で測定，<sup>U</sup>：気泡

NA-azide：アジ化ナトリウム

MMS：メチルメタンサルホネート

4-NOPD：4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

2-AA：2-アミノアントラセン

表 2. 2 回目試験(プレインキュベーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	—	—	137	14	296	23	12
対照(DMSO)	—	—	107	17	337	33	11
検体	3	—	98	16	297	27	11
	10	—	111	15	326	27	10
	33	—	116	13	309	31	13
	100	—	110	17	294	30	13
	333	—	84	14	231	28	11
	1000	—	91	12	94	23	14
	2500	—	86	11	29 <sup>R</sup>	22	10
	5000	—	31 <sup>R</sup>	3	2 <sup>R</sup>	1 <sup>MR</sup>	2 <sup>R</sup>
無処理	—	+	151	21	363	41	15
対照(DMSO)	—	+	115	19	346	39	21
検体	3	+	111	20	298	44	21
	10	+	107	20	347	35	22
	33	+	116	20	341	37	23
	100	+	106	17	331	36	21
	333	+	125	19	215	39	22
	1000	+	120	19	108	25	16
	2500	+	70	14	36 <sup>R</sup>	18	14
	5000	+	49	7	1 <sup>MR</sup>	16	5
陽性 対照	NA-azide	10	—	1591	1425		
	4-NOPD	10	—			349	
	4-NOPD	50	—				89
	MMS	3.0	—			2290	
	2-AA	2.5	+	977	208		924
	2-AA	10.0	+			1257	

<sup>R</sup>: 背景細菌叢の生長抑制, <sup>M</sup>: 生菌数を手動で測定

NA-azide: アジ化ナトリウム

MMS: メチルメタンサルホネート

4-NOPD: 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

2-AA: 2-アミノアントラセン

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さ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。

植物・土壌代謝物：代謝物[W]の細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.代謝物-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009年

検体の純度：

試験方法：ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* の5つのヒスチジン要求性 LT2 変異株 TA 1535、TA 100、TA 1537、TA 98 及び TA102 を用いて、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。

試験は2回実施し、1回目はプレートインコーポレーション法、2回目はプレインキュベーション法(プレインキュベーション 37°C、20分間)を用いた。検体を DMSO に溶解し、16、50、158、500、1581 及び 5000µg/plate の用量で試験した。各試験、各用量、各菌株毎に3つのプレートで実施した。

陽性対照として、S9 mix 非存在下ではアジ化ナトリウム (NA-azide) 10 及び 20µg/plate (TA1535 用)、ニトロフラントイン (NF) 0.2 及び 0.4µg/plate (TA100 用)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NPDA) 10 及び 20µg/plate (TA1537 用)、同 0.5 及び 1µg/plate (TA98 用)、マイトマイシン C (MMC) 0.2 及び 0.4µg/plate (TA102 のプレートインコーポレーション法用)、クメンヒドロペルオキシド (Cumene) 50 及び 75µg/plate (TA102 のプレインキュベーション法用)、S9 mix 存在下では何れの菌株に対しても 2-アミノアントラセン (2-AA) 3 及び 6µg/plate を用いた。

用量設定根拠；

試験結果：結果を表1及び表2に示した。

供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

表1 結果(プレートインコーポレーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	9	106	191	6	17
検体	16		7	101	204	5	19
	50		8	115	207	7	21
	158		8	93	200	6	19
	500		9	109	193	7	19
	1581		7	108	202	6	21
	5000		8	118	229	2	22
NA-azide	10		877				
	20		1085				
NF	0.2			302			
	0.4			541			
MMC	0.2				705		
	0.4				896		
4-NPDA	10					32	
	20					54	
	0.5						63
	1						92
対照 (DMSO)		+	9	177	254	10	30
検体	16		10	170	248	8	29
	50		10	150	279	8	35
	158		9	176	289	9	31
	500		9	167	247	9	30
	1581		9	187	245	6	30
	5000		8	150	236	8	30
2-AA	3		135	2270	601	283	1527
	6		103	1598	1112	80	1748

NA-azide : アジ化ナトリウム  
 NF : ニトロフラントイン  
 MMC : マイトマイシンC  
 4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン  
 2-AA : 2-アミノアントラセン

表 2 結果(プレインキュベーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
対照 (DMSO)			9	99	149	6	21	
検体	16	-	10	112	164	6	17	
	50		8	123	159	7	21	
	158		9	118	182	7	17	
	500		9	101	158	6	18	
	1581		8	112	176	5	19	
	5000		10	103	180	5	21	
NA-azide	10			761				
	20			884				
NF	0.2				428			
	0.4				775			
Cumene	50					335		
	75					335		
4-NPDA	10						34	
	20						77	
	0.5						71	
	1						100	
対照 (DMSO)		+	10	141	244	11	30	
検体	16		10	125	264	9	27	
	50		8	135	247	10	31	
	158		12	145	254	9	26	
	500		9	120	238	9	31	
	1581		10	144	221	8	28	
	5000		10	123	224	8	31	
2-AA	3		100	2254	488	275	1534	
	6		62	2023	801	196	2180	

NA-azide : アジ化ナトリウム  
 NF : ニトロフラントイン  
 Cumene : クメンヒドロペルオキシド  
 4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン  
 2-AA : 2-アミノアントラセン

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

変異原性

植物・土壌代謝物：代謝物[W]のチャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた HGPRT 前進突然変異試験

(毒性資料No.代謝物-5)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年： 2010 年

検体の純度：

試験方法：  $1.5 \times 10^6$  個 (変異株測定用) 及び 500 個 (コロニー形成能測定用) のトリプシン処理した V79 細胞を培養液中に接種した。24 時間培養後、DMSO に溶解した検体を 150~2400 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の最終濃度となるよう添加した培養液に移し、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下でそれぞれ 5 時間暴露した。暴露終了後、細胞を洗浄し、細胞増殖と誘発変異株の発現のために 7 日間培養した (発現期間)。

変異株測定用の培養液について、発現期間終了後の細胞を 6-チオグアニン (6-TG) を含む培地を入れた 5 つのシャーレにそれぞれ  $3 \sim 5 \times 10^5$  個ずつ接種し、約 8 日間培養後コロニー数を計数した (6-TG 耐性コロニー数)。

コロニー形成能測定用の培養液については、暴露終了後及び発現期間終了後の細胞を、検体を含まない培地でそれぞれ約 7 日間培養し、コロニー数を計数した。

同様の条件で溶媒対照及び陽性対照を設けた。各暴露濃度毎に 2 反復で行った。また、各条件について、試験は 2 回実施した。

以下のパラメータを計算した。

コロニー形成能 (CE) (%)

$$= (\text{暴露終了後もしくは発現期間終了後のシャーレ当たり平均コロニー数} / \text{接種細胞数}) \times 100$$

変異の頻度 (細胞  $10^6$  当たりの 6-TG 耐性コロニー数)

$$= \text{フラスコあたりの平均変異コロニー数} \times 10^6 / \text{生存細胞数}$$

変異誘導係数 = 変異の頻度 / 溶媒対照群における変異の頻度

用量設定根拠；

試験結果：

結果を次表に示す。

1回目試験のS9 mix存在下での溶媒対照群における変異コロニーの出現頻度が32.2及び34.6/10<sup>6</sup>細胞で背景対照データ(0.8~31.3/10<sup>6</sup>細胞)をわずかに超えたが、2回目試験では通常の範囲内であったため、意味のある増加とは考えられなかった。また、1回目試験のS9 mix非存在下の1反復でも変異コロニーの出現頻度が34.5/10<sup>6</sup>細胞で背景対照データをわずかに上回ったが、残りの1反復は通常の範囲内であった。

陽性対照のメタンサルホン酸エチル(S9 mix非存在下)及びジメチルベンズアントラセン(S9 mix存在下)では、変異コロニーの出現頻度の顕著な増加を示し、試験系の感受性ならびに使用したS9 mixの活性が確認された。

検体処理群において意義のある細胞毒性は認められなかった。

変異コロニーの出現頻度は何れの検体投与群においても溶媒の背景対照データ範囲内であり、検体投与による変異コロニーの増加は認められなかった。また、変異コロニーの発現頻度に用量相関性は認められなかった(直線回帰分析、 $p < 0.05$ )。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で変異原性を有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。

表 結果

	薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	反復培養-1				反復培養-2			
				コロニー形成能(%) <sup>a</sup>		変異 誘導 係数	コロニー数 ( $/10^6$ )	コロニー形成能(%) <sup>a</sup>		変異 誘導 係数	コロニー数 ( $/10^6$ )
				暴露 終了時	発現期間 終了時			暴露 終了時	発現期間 終了時		
1 回目 試験	溶媒対照	0	-	100.0	100.0	14.7	1.0	100.0	100.0	34.5	1.0
	陽性対照 EMS	150		109.8	60.3	96.7	6.6	85.9	74.9	187.7	5.4
	検体	150		87.5	培養続行せず <sup>b</sup>		96.6	培養続行せず <sup>b</sup>			
		300		106.1	98.4	6.9	0.5	94.8	83.1	15.0	0.4
		600		123.5	99.6	11.3	0.8	97.2	77.8	12.4	0.4
		1200		108.8	79.0	7.8	0.5	106.0	77.4	16.8	0.5
		1800		63.3	78.0	16.1	1.1	91.5	71.3	23.8	0.7
		2400		10.6	59.2	24.2	1.6	82.5	75.6	18.4	0.5
2 回目 試験	溶媒対照	0	-	100.0	100.0	17.6	1.0	100.0	100.0	18.5	1.0
	陽性対照 EMS	150		70.9	82.4	108.5	6.2	74.2	96.3	96.9	5.2
	検体	150		82.3	培養続行せず <sup>b</sup>		98.9	培養続行せず <sup>b</sup>			
		300		77.9	90.5	21.1	1.2	93.8	86.0	8.1	0.4
		600		88.1	78.2	18.7	1.1	99.0	87.9	8.3	0.4
		1200		76.9	71.6	5.7	0.3	99.0	85.2	12.3	0.7
		1800		35.7	77.4	26.5	1.5	39.0	97.4	16.4	0.9
		2400		3.1	81.1	22.5	1.3	12.0	86.8	11.4	0.6
1 回目 試験	溶媒対照	0	+	100.0	100.0	32.2	1.0	100.0	100.0	34.6	1.0
	陽性対照 DMBA	1.1		63.2	71.1	1103.2	34.2	47.5	74.0	1265.3	36.6
	検体	150		94.9	培養続行せず <sup>b</sup>		91.6	培養続行せず <sup>b</sup>			
		300		106.1	83.7	21.1	0.7	86.1	105.5	21.7	0.6
		600		102.0	86.2	20.6	0.6	87.0	107.1	20.5	0.6
		1200		96.5	126.1	19.4	0.6	84.1	103.0	13.3	0.4
		1800		97.8	107.2	16.4	0.5	82.9	102.5	17.5	0.5
		2400		99.7	110.3	14.8	0.5	74.8	74.1	14.8	0.4
2 回目 試験	溶媒対照	0	+	100.0	100.0	13.2	1.0	100.0	100.0	15.1	1.0
	陽性対照 DMBA	1.1		28.1	54.0	1104.7	83.9	52.3	70.8	617.5	41.0
	検体	150		68.0	培養続行せず <sup>b</sup>		89.9	培養続行せず <sup>b</sup>			
		300		68.8	78.4	15.3	1.2	87.8	89.6	12.1	0.8
		600		75.3	83.1	17.6	1.3	89.7	98.7	6.3	0.4
		1200		85.1	70.0	11.9	0.9	86.7	64.2	24.0	1.6
		1800		83.0	95.0	15.5	1.2	89.1	67.9	10.9	0.7
		2400		75.0	92.9	7.5	0.6	92.2	72.2	15.5	1.0

a : 溶媒対照群に対する割合(%)

b : 変異原性の評価は 300~2400 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 5 濃度で可能であったため、培養を続行しなかった

EMS : メタンサルホン酸エチル

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

## 変異原性

植物・土壌代謝物：代謝物[W]のチャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた  
in vitro 染色体異常試験

(毒性資料No.代謝物-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体の純度：

試験方法：チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用い、薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下及び非存在下における染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について観察し、2 連で実施した。

用量設定根拠；

## 試験結果：

### 1) 細胞生存率

#### S9-Mix 非存在下

溶媒対照区に比べて、全ての検体処理区で細胞生存率の低下は認められなかった。

#### S9-Mix 存在下

溶媒対照区に比べて、全ての検体処理区で細胞生存率の低下は認められなかった。

### 2) 有糸分裂指数

#### S9-Mix 非存在下

4 時間処理区ではいずれも有糸分裂指数の低下は認められなかったが、18 時間処理区  
の 2400µg/mL で低下がみられた。

#### S9-Mix 存在下

溶媒対照区に比べて、全ての検体処理区で有糸分裂指数の低下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。

これらの結果から、本試験の以下の濃度について染色体異常の評価を行った。

S9 mix	処理時間	回収時間	評価に用いた 検体濃度(μg/mL)
±	4	18	600
			1200
			2400
±	4	30	2400
-	18	18	600
			1200
			2400

### 3) 染色体異常

染色体異常の結果を次表に示した。

代謝活性化の有無に関わらず、検体の何れの処理群においても異常を有する分裂中期細胞数に統計学的、生物学的に有意な変化は認められなかった。

一方、陽性対照であるマイトマイシン C 及びシクロホスファミドは異常を有する分裂中期細胞数の明瞭かつ統計学的に有意な増加を誘発し、試験系の感受性ならびに使用した S9 mix の活性が確認された。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下でのチャイニーズハムスター由来 V79 細胞に対して、染色体異常誘発性を有しないものと判断された。

表 結果

試験区	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	処 理 時 間	回 収 時 間	観 察 細 胞 数	ギャップ		異常の分類										構造異常 細胞(%)		倍 数 性 細 胞
						g	ig	染色分体型			染色体型			その他				ギャップ		
								b	f	d	ib	if	id	ex	maE	ma	cd	含む	除外	
溶媒対照	0	-	4	18	200	0	0	2	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3.5	3.5	19
検体	600					1	0	2	0	0	0	1	3	0	0	0	0	3.0	2.5	16
	1200					0	0	1	0	0	1	0	5	0	0	0	0	3.5	3.5	24
	2400					0	0	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3.0	3.0	24
MMC	0.1					2	1	35	5	0	21	3	3	35	0	0	0	38.5	37.0**	12
溶媒対照	0	+	4	18	200	2	0	0	1	0	1	1	7	0	0	0	5.0	4.0	23	
検体	600					1	0	2	0	0	1	0	4	1	0	0	0	4.0	3.5	25
	1200					1	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3.0	2.5	21
	2400					2	0	0	0	0	0	1	5	1	0	0	0	4.0	3.5	23
CP	2					10	5	73	8	1	81	8	4	83	17	0	0	75.5	75.0**	19
溶媒対照	0	-	4	30	200	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	1.5	1.5	9		
検体	2400					0	0	0	0	0	0	3	1	0	1	0	2.5	2.5	23	
溶媒対照	0	+	4	30	200	1	0	2	0	0	0	3	0	1	0	3.5	3.0	14		
検体	2400					1	0	1	1	1	2	1	2	0	0	0	4.5	4.0	16	
溶媒対照	0	-	18	18	200	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	2.0	2.0	11		
検体	600					0	0	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	3.0	3.0	17
	1200					0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	13
	2400					0	0	1	0	0	1	0	3	2	0	0	0	3.5	3.5	10
MMC	0.03					3	0	31	0	0	25	4	5	40	0	0	0	39.0	39.0**	15

\*\*: $p < 0.01$  (Fisherの正確確率検定)

g: 染色分体型ギャップ

f: 染色分体型断片

if: 染色体型断片

maE: 交換を含む重複異常

MMC: マイトマイシンC

ig: 染色体型ギャップ

d: 染色分体型欠失

id: 染色体型欠失

ma: 重複異常

CP: シクロホスファミド

b: 染色分体型切断

ib: 染色体型切断

ex: 交換

cd: 染色体破損

変異原性

植物・土壌代謝物：代謝物[X]Na塩の細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.代謝物-7)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年： 2000年

検体の純度：

試験方法：ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* の5つのヒスチジン要求性 LT2 変異株 TA 1535、TA 100、TA 1537、TA 98 及び TA102 を用いて、薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。

試験は2回実施し、1回目はプレートインコーポレーション法、2回目はプレインキュベーション法(プレインキュベーション 37°C、20分間)を用いた。検体を脱イオン水に溶解し、16、50、158、500、1581 及び 5000µg/plate の用量で試験した。各試験、各用量、菌株毎に3つのプレートで実施した。陽性対照として、S9mix 非存在下ではアジ化ナトリウム (NA-azide) 10µg/plate (TA1535 用)、ニトロフラントイン(NF) 0.2µg/plate (TA100 用)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン(4-NPDA) 10µg/plate (TA1537 用)、同 0.5µg/plate (TA98 用)、クメンヒドロペルオキシド(Cumene) 50µg/plate (TA102)、2-アミノアントラセン(2-AA) 3µg/plate を用いた。これらの陽性対照物質は DMSO に溶解した。

用量設定根拠；

試験結果： 結果を表1及び表2に示した。

供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

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

表1 結果(プレートインコーポレーション法)

薬物	濃度 ( $\mu$ g/plate)	S9 mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	6	91	168	7	19
検体	16		4	97	166	5	24
	50		5	104	195	5	26
	158		5	95	188	5	27
	500		6	110	188	2	21
	1581		6	101	180	6	22
	5000		6	101	180	6	24
NA-azide	10		677				
NF	0.2			206			
4-NPDA	10					96	
	0.5						121
Cumene	50				315		
対照 (DMSO)			+	6	151	254	7
検体	16	6		153	267	8	24
	50	11		151	257	9	25
	158	9		153	232	6	18
	500	7		159	254	9	26
	1581	6		143	245	6	18
	5000	6		144	229	8	28
2-AA	3	164		1165	350	124	1128

NA-azide : アジ化ナトリウム  
 NF : ニトロフラントイン  
 Cumene : クメンヒドロペルオキシド  
 4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン  
 2-AA : 2-アミノアントラセン

クメンヒドロペルオキシド (Cumene)

表2 結果(プレインキュベーション法)

薬物	濃度 ( $\mu$ g/plate)	S9 mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	9	105	228	7	15
検体	16		7	117	220	8	11
	50		7	93	231	6	10
	158		7	116	229	6	16
	500		9	124	225	7	16
	1581		8	128	216	7	15
	5000		7	125	216	7	12
NA-azide	10		603				
NF	0.2			347			
4-NPDA	10					124	
	0.5						141
Cumene	50				554		
対照 (DMSO)			+	10	151	250	7
検体	16	10		145	299	7	26
	50	7		152	299	9	25
	158	10		148	294	6	22
	500	8		172	226	8	19
	1581	9		159	252	9	24
	5000	8		144	265	9	21
2-AA	3	120		1366	332	235	1204

NA-azide : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

Cumene : クメンヒドロペルオキシド

2-AA : 2-アミノアントラセン

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

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。

変異原性

植物・土壌代謝物：代謝物[X]Na 塩のチャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた HGPRT 前進突然変異試験

(毒性資料No.代謝物-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検体の純度：

試験方法：1.5×10<sup>6</sup> 個(変異株測定用)及び 500 個(コロニー形成能測定用)のトリプシン処理した V79 細胞を培養液中に接種した。24 時間培養後、脱イオン水に溶解した検体を 50.5 ~ 807.5µg/mL(-S9mix) もしくは 101.0 ~ 3230.0(+S9mix)の最終濃度となるよう添加した培養液に移し、薬物代謝酵素系(S9mix)の存在下及び非存在下でそれぞれ 5 時間暴露した。暴露終了後、細胞を洗浄し、細胞増殖と誘発変異株の発現のために 7 日間培養した(発現期間)。

変異株測定用の培養液について、発現期間終了後の細胞を 6-チオグアニン(6-TG)を含む培地を入れた 5 つのシャーレにそれぞれ 3~5×10<sup>5</sup> 個ずつ接種し、約 8 日間培養後コロニー数を計数した(6-TG 耐性コロニー数)。

コロニー形成能測定用の培養液については、暴露終了後及び発現期間終了後の細胞を、検体を含まない培地でそれぞれ約 7 日間培養し、コロニー数を計数した。

同様の条件で溶媒対照及び陽性対照を設けた。各暴露濃度毎に 2 反復で行った。また、各条件について、試験は 2 回実施した。

以下のパラメータを計算した。

コロニー形成能(CE)(%)

$$= (\text{暴露終了後もしくは発現期間終了後のシャーレ当たり平均コロニー数} / \text{接種細胞数}) \times 100$$

変異の頻度(細胞 10<sup>6</sup> 当たりの 6-TG 耐性コロニー数)

$$= \text{フラスコあたりの平均変異コロニー数} \times 10^6 / \text{生存細胞数}$$

変異誘導係数 = 変異の頻度 / 溶媒対照群における変異の頻度

用量設定根拠；



#### 試験結果：

結果を次表に示す。

溶媒対照群における変異コロニーの出現頻度は、いずれの試験においても溶媒の背景データ範囲内であった。

陽性対照のメタンスルホン酸エチル(S9mix 非存在下)及びジメチルベンズアントラセン(S9mix 存在下)では、変異コロニーの出現頻度の顕著な増加を示し、試験系の感受性ならびに使用した S9 mix の活性が確認された。

S9mix 非存在下の 604.8 $\mu$ g/mL 以上(1 回目試験)及び 807.5 $\mu$ g/mL(2 回目試験)で暴露終了時のコロニー形成能が溶媒対照に対して 2 反復ともに 50%以下となり、細胞毒性が認められた。S9mix 存在下の検体投与群では意義のある細胞毒性は認められなかった。

S9mix 非存在下の 1 回目試験の 403.8 及び 807.5 $\mu$ g/mL のそれぞれ 1 反復で、変異コロニーの出現頻度が溶媒の背景対照データを上回った。しかし、両濃度とも残りの 1 反復及び 2 回目試験の 2 反復はいずれも背景データ範囲内であること、更に統計学的に有意な用量相関性が認められない(直線回帰分析、 $p>0.05$ )ことから、これらの背景データを上回る変異コロニー数の増加は意義が低く、変動によるものと考えられた。

直線回帰分析により、2 回目の試験の反復培養-2 の S9mix 存在下の試験においてのみ、変異コロニーの有意な用量相関性の増加が認められた(傾向検定； $p<0.05$ )。しかし、この培養での変異コロニーの発現頻度はいずれも溶媒の背景対照データ範囲内であったことから、この増加傾向の意義は低く、変動によるものと考えられた。

従って、S9mix の非存在下、存在下いずれにおいても、検体投与群で変異コロニーの意義のある増加は認められなかったと考えられた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で変異原性を有しないものと判断された。

表 結果

	薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	反復培養-1				反復培養-2			
				コニー形成能(%) <sup>a</sup>		変異 コニー数 ( $/10^6$ )	変異 誘導 係数	コニー形成能(%) <sup>a</sup>		変異 コニー数 ( $/10^6$ )	変異 誘導 係数
				暴露 終了時	発現期間 終了時			暴露 終了時	発現期間 終了時		
1 回目 試験	溶媒対照	0	-	100.0	100.0	18.9	1.0	100.0	100.0	16.0	1.0
	陽性対照 EMS	150.0		66.7	83.8	109.9	5.8	63.0	37.4	608.2	38.1
	検体	50.5		93.0	培養続行せず <sup>b</sup>		90.8	培養続行せず <sup>b</sup>			
		101.0		96.6	57.2	10.0	0.5	94.5	101.3	29.1	1.8
		201.9		96.1	55.9	27.2	1.4	97.1	112.4	9.5	0.6
		403.8		78.9	39.6	35.6	1.9	89.0	128.4	12.0	0.7
		604.8		33.7	53.1	13.2	0.7	36.0	120.0	13.7	0.9
		807.5		25.5	41.8	45.3	2.4	14.7	124.8	9.5	0.6
2 回目 試験	溶媒対照	0	-	100.0	100.0	16.7	1.0	100.0	100.0	14.2	1.0
	陽性対照 EMS	150.0		70.8	89.0	171.1	10.3	61.5	81.9	139.6	9.8
	検体	50.5		91.5	培養続行せず <sup>b</sup>		91.7	培養続行せず <sup>b</sup>			
		101.0		84.5	78.6	17.8	1.1	93.1	105.2	14.2	1.0
		201.9		80.4	76.4	18.7	1.1	90.2	98.5	9.4	0.7
		403.8		70.3	102.1	14.4	0.9	93.7	100.1	17.0	1.2
		604.8		28.9	76.1	11.6	0.7	52.4	99.6	8.0	0.6
		807.5		18.8	87.9	7.5	0.5	21.5	103.6	20.6	1.5
1 回目 試験	溶媒対照	0	+	100.0	100.0	12.7	1.0	100.0	100.0	19.4	1.0
	陽性対照 DMBA	1.1		45.3	65.9	1082.2	85.3	55.2	74.5	660.9	34.1
	検体	101.0		100.9	培養続行せず <sup>c</sup>		94.3	培養続行せず <sup>c</sup>			
		201.9		100.4	85.7	24.6	1.9	96.4	106.4	18.7	1.0
		403.8		101.2	95.1	15.8	1.2	85.7	105.5	17.5	0.9
		807.5		102.2	95.9	23.7	1.9	88.3	109.5	9.2	0.5
		1615.0		99.1	91.3	7.0	0.5	95.0	99.3	6.0	0.3
		3230.0		78.3	94.6	10.4	0.8	55.5	93.4	12.1	0.6
2 回目 試験	溶媒対照	0	+	100.0	100.0	14.1	1.0	100.0	100.0	9.4	1.0
	陽性対照 DMBA	1.1		60.8	48.7	1399.1	99.1	41.7	66.6	875.5	92.7
	検体	101.0		103.5	培養続行せず <sup>c</sup>		105.0	培養続行せず <sup>c</sup>			
		201.9		98.8	87.7	18.3	1.3	104.2	91.3	10.3	1.1
		403.8		102.8	80.7	11.5	0.8	96.8	80.7	12.9	1.4
		807.5		99.9	119.8	10.4	0.7	97.6	92.7	11.7	1.2
		1615.0		94.0	119.2	10.7	0.8	96.3	92.7	13.7	1.4
		3230.0		70.4	120.1	19.9	1.4	65.7	92.8	20.0	2.1

a : 溶媒対照群に対する割合 (%)

b : 変異原性の評価は 101.0~807.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 5 濃度で可能であったため、培養を続行しなかった。

c : 変異原性の評価は 201.9~3230.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 5 濃度で可能であったため、培養を続行しなかった。

EMS : メタンサルホン酸エチル

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

### 3. 製剤

#### (1) 急性毒性

##### ラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体 : フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤  
組成 : フルフェナセット ; 33.6%(w/w)  
ジフルフェニカン ; 16.8%(w/w)  
界面活性剤、水等

試験動物 : Wistar (HsdCpb:WU) 系ラット

試験開始時 ; 8-9 週齢 雄 ; 210~224g, 雌 ; 154~163g

1 群雌雄各 3 匹

試験期間 : 14 日間

試験方法 : OECD ガイドライン 423 等級法

投与方法 : 検体を脱塩水に混和し経口投与した。投与前約 17±1 時間絶食した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前に測定し、その後は週に 1 回測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 : 500 雌 ; 500, 2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雄 : > 500 雌 : > 500 < 2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄 : - (死亡例なし) 雌 : 投与後 2 時間開始, 5 時間終了
症状発現時間及び 消失時間	雄 : 投与後 45 分開始, 4 日消失 雌 : 投与後 1 時間開始, 5 日消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 : 500 雌 : 500

投与後 1 日 ; 投与日

500mg/kg 群では雌雄ともに、非協調性歩行、努力呼吸が認められた。さらに雄では運動性の低下、雌では高足歩行がみられた。雌の 2000mg/kg では運動性および反応性の低下、非協調性歩行、痙攣、異常姿勢、努力呼吸などがみられ、全例が死亡した。体重については雌雄共に影響はみられなかった。

剖検所見では、雌雄ともに検体に関連すると考えられる変化は認められなかった。

## ラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体 : フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤  
組成 : フルフェナセット ; 33.6%(w/w)  
ジフルフェニカン ; 16.8%(w/w)  
界面活性剤、水等

試験動物 : Wistar (HsdCpb:WU) 系ラット、1 群雌雄各 5 匹

試験開始時 ; 雄 9 週齢 (233~258g)

雌 12 週齢 (207~224g)

試験期間 : 14 日間

投与方法 : 検体をそのまま剪毛した背部 (6.0 x 5.0 cm = 30.0 cm<sup>2</sup>) に 24 時間塗布した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前に測定し、その後は週に 1 回測定した。試験終了時に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	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 : 4000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雄 : >4000 雌 : >4000
死亡開始時間及び 終了時間	雄 : - (死亡例なし) 雌 : - (死亡例なし)
症状発現時間及び 消失時間	雄 : 投与後 2 日開始, 3 日消失 雌 : 投与後 2 日開始, 3 日消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 : 4000 雌 : 4000

投与後 1 日 ; 投与日, \*2 日 ; 投与翌日

2 日目 (投与翌日) に雄 2 例と雌 2 例にみられた症状は非協調性歩行であった。この影響はおそらく閉塞貼付によるものと考えられた。投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。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。

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。

## ラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

検体：フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤  
組成：フルフェナセット；33.6%(w/w)  
ジフルフェニカン；8.4%(w/w)  
界面活性剤、水等

### 試験成績の提出除外

本剤についての吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)③のイの規定により提出除外にあてはまる。

### [除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬である。

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

## (2) 皮膚及び眼に対する刺激性

### ウサギの皮膚に対する一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2001年

検体 : フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤  
組成 : フルフェナセット ; 33.6%(w/w)  
ジフルフェニカン ; 16.8%(w/w)  
界面活性剤、水等

供試動物 : ヒマラヤン系雄ウサギ, 1群3匹  
試験開始時 ; 2.4~2.7kg, 月齢 ; 約4.5ヶ月

観察期間 : 3日間

試験方法 :

投与1日前に動物の背部を刈毛した。投与部位には、検体0.5mLを試験部位(約6cm<sup>2</sup>)に塗布し、ガーゼパッチで覆い、半閉塞性貼付することに皮膚に接触させた。暴露時間は4時間とした。周囲の処理しない皮膚を対照とした。

観察項目 :

暴露終了後60分、24時間、48時間、72時間に塗布部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draizeの判定基準に従って採点した。

皮膚以外にみられた変化についても観察し、また体重測定は、検体投与直前に行った。

結果 :

投与後1時間、24時間、48時間及び72時間の観察において、検体に起因する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。

動物 番号	項目	最高 評点 <sup>1)</sup>	暴露後時間			
			60分	24時間	48時間	72時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0

1) 判定基準の最高評点

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判定した。