

⑫繁殖毒性試験

(1)ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. 毒 A12)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1992 年

検体純度 :

供試動物 : CD(SD)BR VAF/Plus(Sprague-Dawley)系ラット(1 群雌雄各 32 匹)

投与開始時 6 週齢 雄 181~258 g、雌 118~175 g

投与期間 : 1989 年 12 月 15 日~1990 年 9 月 28 日

F0 世代; 投与開始(6 週齢)から F1 児離乳までの約 19 週間

F1 世代; F1 離乳時(6 週齢)から F2 児離乳までの約 21 週間

投与方法 : 検体を 0、50、150、300 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。なお対照群には検体を混合しない基礎飼料を摂取させた。

検体混合飼料は分析し、14 日間の安定性を確認した。

投与量設定根拠;

観察・検査項目 :

方法および概要を次頁の表 1 にまとめた。

一般状態および生死; 全動物について全検査期間にわたり、一般状態および生死を観察した。

体重、摂餌量および摂水量; 各世代の全動物の体重を毎週(雌は妊娠 0、7、14、17、20 日、哺育 0、7、14、21 日)、摂餌量を毎週測定した。摂水量は生育期間の開始後 2 週間および終了前 2 週間に毎日測定した。

交配および妊娠の確認; 20 日間の交配期間は雄と雌を 1 対 1 で同居させ、毎日膈内精子または膈栓の有無により交尾を確認し、この日を妊娠 0 日とした。妊娠の確認は出産で行なった。

追加検討; 300 ppm で F0 世代にみられた不妊と投与の関連性を確認するために、追加の対照動物と再交配させ、受精能の障害と投与の関連性を確認した。

表1 試験概要

世代	期間	作業手順	試験項目
F0	生育(10週)		体重、摂餌量、摂水量を測定 検体摂取量、摂餌効率の算出
	交配(20日)	雌雄1対1で交配 交尾は膣垢・膣栓で確認 (妊娠 0日)	交配状況の観察 体重を週1回測定 交尾率の算出
	妊娠(3週)		妊娠0、7、14、17、20日目体重を測定 妊娠率の算出
	出産		出産状況の観察 妊娠期間、生存/死亡産児の計数
	追加試験	300ppm群F0の不妊の原因 不妊雌雄各16匹と追加無投与 動物との交配	F0世代に準じる。新生児は生後4日 に屠殺し性別、肉眼的病理検査。 生児屠殺後、雌全群の子宮の着床 検査、雌雄の生殖器の病理組織検査
	哺育(3週)	出産後4日目に各群同腹 児数を雌雄各4匹に調整 (不可能の場合には雌雄 計8匹)	出産後0、4、8、12、21日目の生存児数 及び体重測定。0、7、14、21日目の 親動物の体重測定。 性比の算出(出産後0、4、21日目) 各腹雌雄各1匹について臓器重量の 測定(臓器は固定して保存)
F1	離乳		産児数調整後の過剰新生児及び死亡 新生児について外表及び内臓検査 全親動物の肉眼的病理検査と臓器重 量測定(副腎、脳、心臓、腎臓、 肝臓、肺、卵巣、前立腺、精巣、胸 腺)及び病理組織学検査(肝臓、腎 臓、生殖器等)
	生育(12週)		
	交配(20日)	(F0世代に準じる)	(F0世代に準じる)
	妊娠(3週)		
	出産		
	哺育(3週)	(F1世代に準じる)	(F1世代に準じる)
F2	離乳		F2児屠殺、肉眼的病理検査

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

一腹当たりの測定値

$$\text{胚死亡率} = (\text{着床痕総数} - \text{出生児数}) / \text{着床痕総数} \times 100$$

$$\text{出生児死亡率} = (\text{出生児総数} - \text{生存出生児数}) / \text{出生児総数} \times 100$$

(出生直後)

$$\text{出生児死亡率} = (\text{出生児総数} - \text{出生4日目生存児数}) / \text{出生時新生児総数} \\ (\text{出生4日目}) \times 100$$

$$\text{出生児死亡率} = (\text{匹数調整後生存児数} - \text{検査時の生存児数}) / \text{生存児数} \\ (\text{匹数調整時}) \times 100$$

$$\text{出生雄児率} = \text{出生雄児総数} / \text{出生児総数} \times 100$$

群別測定値

$$\text{交尾成立期間} = \text{同居から交尾までの日数}$$

$$\text{交尾率} = \text{交尾動物数} / \text{交配動物数} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \text{妊娠雌数} / \text{交尾雌数} \times 100$$

$$\text{出産率} = \text{生存児を出産雌数} / \text{妊娠雌数} \times 100$$

$$\text{出生率} = \text{出生時生存児総数} / \text{着床痕総数} \times 100$$

$$\text{生存率} = \text{生存児数} (\text{出生4日目}) / \text{生存児数} (\text{出生時}) \times 100$$

(出生4日目)

$$\text{生存率} = \text{生存児数} (\text{離乳時}) / \text{生存児数} (\text{匹数調整時}) \times 100$$

(離乳時)

臓器重量測定；F0及びF1世代の全親動物(追加試験動物は除く)及び各群の同腹児の雄各1匹について副腎・脳・心臓・腎臓・肝臓・肺・卵巣・前立腺(親のみ、精のう・凝固腺を含む)・精巣(精巣上体を含む)・胸腺の重量を測定した。

病理組織学的検査；F0及びF1世代の全親動物(追加試験用無投与動物は除く)は肉眼的病理検査を行い、それらの親動物及びそれらから生まれたうちの雌雄各1匹について、副腎・腎臓・肝臓・卵巣・下垂体・前立腺・精囊・精巣・精巣上体・子宮・腔について病理組織学的検査を行った。なお、下垂体・前立腺・精のう・子宮・腔については、F0世代では、50、150 ppm 群、F1世代では50 ppm 群での検査は行なわなかった。

結果 : 概要[1]から[4]に示す。

[親世代の死亡/症状]

F0 世代: 雌雄とも全ての投与群で死亡あるいは瀕死の動物はみられなかった。
また、投与に起因する症状も観察されなかった。

F1 世代: 雄について、全ての投与群で死亡あるいは瀕死の動物はみられず、投与に起因する症状も観察されなかった。

雌について、対照群の1例は顔面に腫瘤が認められたため、授乳期(21週目)に、150 ppm 群の1例は体調不良、雑音を伴う呼吸、立毛、体重減少のため24週目に屠殺した。剖検ではこれらの症状の原因は認められなかったが、投与に起因する変化ではない。

[親世代の体重]

F0 世代: 雌雄ともに全ての投与群で、交配前期間には体重増加に殆ど影響はなかった。雌の300 ppm 群では妊娠および哺育期間中に体重増加抑制がみられた。50 および 150 ppm 群の妊娠および哺育期間の体重増加パターンは対照群と同等であった。

F1 世代: 雌雄ともに全ての投与群(50 および 150 ppm 群)の体重に投与による影響はみられなかった。

300 ppm の妊娠期間の体重増加抑制は、一腹児数の減少による変化と考えられる。

[摂餌量]

F0 世代: 雄の全ての投与群にて交配前期間の摂餌量に影響はみられなかった。雌の300 ppm 群では8週にのみ有意な減少がみられた。50 および 150 ppm 群には、投与による影響はみられなかった。

F1 世代: 雌雄ともに全ての投与群(50 および 150 ppm 群)の摂餌量に投与による影響はみられなかった。

[繁殖成績]

F0 世代: 300 ppm 群の受精率、妊娠率に投与による影響がみられた。300 ppm 群の雌雄ペアのうち児を出産したのは、対照群 97%に対してわずか 50%であった。同群では着床数の低下とその結果による一腹児数の減少等がみられ、F1 世代の選抜はできなかった。不妊雌雄各 16 匹を検体が投与されていない雌雄と交配して確認試験を実施した。その結果、不妊の原因は雄の精巣上体・輸精管等にみられた精子肉芽腫に起因するものと考えられた。50 および 150 ppm 群では、繁殖能に投与による影響はなかった。

F1 世代: 150 ppm で雌の半数は同居開始から4日以内に交尾が確認されたが、交尾成立までの時間におよぐ延長(統計学的な有意差はなし)がみられた。しかし、交尾率、妊娠率、妊娠期間、出産率、生存新生児数、死産児数、性比等に投与による影響はみられなかった。50 ppm 群では、繁殖能に投与による影響はなかった。

300 ppm を投与した場合、雄動物の性的行動(交尾)には影響しないが、受精

能を著しく阻害することが判明した。

[児動物への影響]

F1 児： 300 ppm 群では、着床数の減少に伴う出生児数および哺育期間中の生存児数の有意な低下が認められた。しかし、新生児生存率や離乳率には、投与による影響はみられなかった。

300 ppm 群で一腹の生存児体重に対して、出生時、出生 4 日（調整前）、出生 12 日および出生 21 日に対照群と比較して有意な低下が認められた。これは、生存児数の減少を反映した変化である。

50 および 150 ppm 群には、300 ppm 群で観察された変化は認められなかった。

F2 児： 生存新生児数、新生児生存率、離乳率および体重変化に投与による影響はみられなかった。

身体発育分化（臆開口、包皮開裂）にも影響は認められなかった。

F1 新生児の減少は着床数の減少に伴う変化であった。被験物質を投与していない雄と後に交配した雌では着床数に投与による明らかに影響は認められなかった。離乳までの生存率には投与による影響がみられないことから、生存児数の低下は被験物質の雄親動物へ影響であり、次世代胎児への特異的な影響ではないと考えられる。

[病理所見]

F0 世代： 第 1 回交配で妊娠が成立した 300 ppm 群の雌雄の肉眼的病理検査には、投与に関連した変化はみられなかった。第 1 回交配で妊娠が成立しなかった 300 ppm 群の雄の肉眼的病理検査には、精巣上体、輸精管等の黄色腫脹が観察された。50 および 150 ppm 群には、投与に関連した肉眼的病理変化はみられなかった。

F1 離乳児には、投与による肉眼的病理変化は認められなかった。

解剖時の臓器重量測定では、雌の 300 ppm 群の腎臓の体重補正值に対照群と比較して有意な増加が認められた。300 ppm 群のその他の重量測定臓器には変化はみられなかった。50 および 150 ppm 群に投与による影響はみられなかった。

組織学的検査では、精子肉芽腫が第 1 回交配で妊娠が成立した 300 ppm 群の雄に 2/16 例、第 1 回交配で妊娠が成立しなかった 300 ppm 群の雄に 11/16 例観察された。また、第 1 回交配で妊娠が成立しなかった 300 ppm 群の雌に黄体の消失が 2/16 例観察された。50 および 150 ppm 群には、投与に関連した病理組織学的変化はみられなかった。

F1 世代： 50 および 150 ppm 群には、投与に関連した肉眼的病理変化はみられなかった。

F2 離乳児には、投与による肉眼的病理変化は認められなかった。

解剖時の臓器重量測定では投与による影響はみられなかった。

組織学的検査では精子肉芽腫が 50 ppm で 1/28 例、150 ppm 群で 2/28 例観察された。精子肉芽腫が同群 F0 でみられなかったこと、対照群での発生率

(F0で1/32、F1で0/28)が低いことを考慮すると、F1における肉芽腫発生は50 ppm群では偶発所見、150 ppm群では軽度増加と考えられた。

以上の結果から、2世代にわたって検体を飼料中に混入して投与した場合、300 ppm群においてはF0世代の雄に精子肉芽腫が認められ、繁殖成績への顕著な影響からF1世代の選択を行わなかった。雌には第1回交配で妊娠が成立しなかった雌の300 ppm群の雌に黄体の消失が認められ、この変化は他の群には観察されなかったことから、投与に関連する変化と示唆される。150 ppm群では、F1世代に交尾成立までの経過時間にわずかな遅延がみられた。50 ppm群には、投与による影響は観察されなかった。

親動物の繁殖性以外および児動物に対する無毒性量(NOEL)は150 ppm(F0世代:雄 10.6 mg/kg/day、雌 12.1 mg/kg/day、F1世代:雄 12.3 mg/kg/day、雌 13.4 mg/kg/day)、繁殖性に対する無毒性量(NOEL)は50 ppm(F0世代:雄 3.6 mg/kg/day、雌 4.0 mg/kg/day、F1世代:雄 4.2 mg/kg/day、雌 4.6 mg/kg/day)であると判断される。

結果の概要[1]

世代		親 : F0		児 : F1		親 : F1		児 : F2	
投与量 (ppm)		0	50	150	300	0	50	150	
動物数	雄	32	32	32	32	28	28	28	
	雌	32	32	32	32	28	28	28	
親 動 物	一般状態	検体投与に起因する以上は認められなかった							
	死亡数(%)	雄	0	0	0	0	0	0	0
		雌	0	0	0	0	1 (3.6)	0	1 (3.6)
	体重 生育期間	雄							
		雌 5 週						↑104	↑103
	妊娠期間	雌 14 日				93			
		17 日				92			
		20 日				90			
	哺育期間	雌 7 日				95			
		雌 14 日				93			
		雌 21 日				94			
	体重増加量 妊娠期間	雌 14 日				81			
		雌 17 日				79			
		雌 20 日				76			
	摂餌量 生育期間	雄							
雌 8 週					↓93				
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0	3.6	10.6	21.5	0	4.2	12.3	
	雌 生育期間	0	4.0	12.1	24.0	0	4.6	13.4	

空欄は変化なしを示す

体重・摂餌量は、共分散分析および Williams の検定 ↑↓: P<0.05

体重・体重増加量・摂餌量は対照群に対する比率(%)を示した。矢印のない値は有意差なし

結果の概要[2]

世代		親：F0		児：F1		親：F1		児：F2	
投与量 (ppm)		0	50	150	300	0	50	150	
動物数	雄	32	32	32	32	28	28	28	
	雌	32	32	32	32	28	28	28	
親	臓器重量								
	腎臓 ⁽¹⁾ 雄 重量								
	体重補正								
	雌 重量								
	体重補正				↑↑116				
肉眼的病理検査	尾の汚れ 雄	0/32	0/32	0/32	0/16	0/28	0/28	0/28	
	雌	0/32	0/32	0/31	8/16	4/27	5/28	0/27	
病理組織学的検査	精子肉芽腫 雄	1/32	0/32	0/32	2/16	0/28	1/28	2/28	
	繁殖能力								
動物	交尾成立期間 (日)	3.0	3.5	3.0	4.0	2.0	3.0	4.0	
	交尾率(%)	雄	100	100	100	94	96	100	96
		雌	100	100	100	94	96	100	96
	受精率(%) 雄	97	94	94	50	100	96	93	
	妊娠率(%) 雌	97	94	94	50	96	96	89	
	出産率(%) 雌	100	100	97	100	100	100	96	
	出生率(%) 雌	91.1	96.0	91.9	93.7	91.5	92.2	89.1	
	妊娠期間 (日)	22.0	21.8	21.8	22.2	21.8	21.9	21.7	

空白は所見なしを示す

臓器重量は対照群に対する比率(%)を示した。⁽¹⁾両側合計の結果を示す

統計処理は、共分散分析および Williams の検定↑↑: P<0.01

F0 世代の 300ppm 群の 16 組の不妊雌雄の検査結果は概要4に示した

結果の概要[3]

世代		親 : F0		児 : F1		親 : F1		児 : F2
投与量 (ppm)		0	50	150	300	0	50	150
児 動 物	検査動物数 (腹数)	31	30	29	16	25	27	24
	平均着床数	12.3	13.2	13.1	↓↓8.5	14.5	14.5	14.5
	出生時の平均児数	11.5	12.6	12.0	↓↓8.0	13.4	13.7	13.3
	出生時性比 雄(%)	52.4	53.9	49.1	50.7	48.0	47.4	53.9
	平均生存児数							
	出生時	11.3	12.5	11.9	↓↓7.9	13.2	13.4	12.9
	4日(調整前)	11.1	12.4	11.7	↓↓7.8	13.0	13.2	12.9
	4日(調整後)	7.6	7.8	7.9	↓6.6	8.0	8.0	8.0
	8日	7.6	7.8	7.8	↓6.6	8.0	8.0	8.0
	12日	7.6	7.8	7.8	↓6.6	8.0	7.9	8.0
	21日	7.5	7.8	7.8	↓6.6	8.0	7.9	8.0
	一腹生存児体重 (g)							
	出生時	67.7	74.8	71.8	↓↓49.2	76.5	77.8	76.5
	4日(調整前)	105.4	115.1	112.4	↓↓77.9	120.6	122.4	120.9
	4日(調整後)							
	8日							
	12日	208.2	218.1	218.3	↓175.2	218.8	214.4	219.9
	21日	398.9	422.0	417.6	↓339.4	421.9	421.3	422.5
	新生児生存率 (%)	91.1	96.0	91.9	93.7	91.5	92.2	89.1
	離乳率 (%)	99.2	100	98.3	100	99.5	99.1	100
臍開口 (日)	-	-	-		32.1	31.9	32.3	
包皮開裂 (日)	-	-	-		43.3	43.9	42.3	

空白は所見なし、-は実施していないことを示す

Kruskal-Wallis の H 検定後 Shirley の検定 ↓: P<0.05、↓↓: P<0.01

Fisher の直接確率検定 ↓: P<0.05

結果の概要[4]:

追加試験 (F0世代 300ppm 群の不妊の原因確認のための試験)

支配組合せ		無投与 雄 × 無投与 雌	F0 300ppm 雄 × 無投与 雌	無投与 雄 × F0 300ppm 雌
動物数		16×16	16×16	16×16
交尾率(%)		100	81	100
妊娠率(%)		94	6	88
着床数		14.1	14.0	12.0
胚死率(%)		5.0	21.4	9.5
出生時	一腹出産児総数	13.4	11.0	11.2
	一腹生存出生児数	13.0	10.0	11.0
	死亡児率(%)	2.9	9.1	2.1
	一腹児重量(g)	75.4	64.6	65.4
	平均児重量(g)	6.0	6.5	6.0
4日目調整前	一腹生存児数	12.6	10.0	10.8
	死亡児率(%)	5.5	9.1	4.1
	一腹児重量(g)	109.8	103.4	96.2
	平均児重量(g)	9.2	10.3	9.2
妊娠期間(日)		22.0	22.0	22.0
出生率(%)		100	100	100
雄児率出産時(%)		48.9	54.5	48.4
4日目		48.9	50.0	47.0
肉眼的病理検査		—	黄色腫脹・精巢上体(5/15) 輸精管(8/15) 凝固腺(1/15) 前立腺(1/15) 精巢小型化(3/15) 上記所見を有する動物数(10/15)	異常なし
病理組織学的検査		—	精子肉芽腫(11/16)	黄体 消失(2/16)

備考

- F0の300 ppm投与群で不妊の動物(雄16匹+雌16匹)を追加の対照動物と再交配(この間300ppmの混餌を投与)させた。
- 対照群としては検体を投与していない雌雄の16組を設けた。
- F1世代は出生4日目に屠殺した。

⑬催奇形性試験

(1)ラットにおける催奇形性試験

(資料 No. 毒 A13)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1992 年

検体純度 :

供試動物 : Cri:CD(SD) BR VAF/Plus 系 妊娠ラット(8~10 週齢)、1 群 25 匹

試験期間 : 器官形成(妊娠 6~15 日)期間 10 日間投与
(動物試験:1989 年 1 月 23 日~1989 年 2 月 7 日)

投与方法 : 検体をコーン油に混合し、0、10、30 および 100 mg/kg/day の投与量で、妊娠後 6 日から 15 日目までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。

使用した投与懸濁液は濃度分析を行ない、保存安定性についても問題がないことを確認した。

妊娠 0 日目; 膣垢の塗抹標本に精子が検出された日または膣栓を確認した日と定義した。

投与量設定根拠;

観察・検査項目

親動物 ; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠 2 または 3 日目、妊娠 4、6、8、10、12、14、16、18 および 20 日目に体重を測定した。摂餌量および飲水量は妊娠 2-3、4-5、6-7、8-9、10-11、12-13、14-15、16-17 および 18-19 日目に測定した。

妊娠 20 日目に帝王切開し、黄体数、生存仔の数および分布、死亡胚および死亡胎仔の数および分布を検査した。

生存胎児 ; すべての胎児について性別判定、体重測定、外表観察を行なった。また、各腹の胎児の約 1/2 を内臓観察に、残りを肉眼検査後、骨格観察に用いた。

結果

親動物 ; 一般状態では 100 mg/kg/day 群の 24 匹中 23 匹に流涎が認められた。また、同群の 1 匹に投与過失によるあえぎ呼吸等の症状がみられたため、妊娠 14 日目に屠殺した。その他の投与群に死亡を含めた症状の発現は認められなかった。

体重について、100 mg/kg/day 群で投与期間中に体重増加抑制がみられた。30 mg/kg/day 群では妊娠 8-14 日目の体重増加に僅かな抑制が認められたが、10 mg/kg/day 群に影響は認められなかった。

摂餌量について、100 mg/kg/day 群で投与期間を通じて摂餌量が僅かに減少した。30 および 10 mg/kg/day 群に影響は認められなかった。

飲水量について、100 mg/kg/day 群で妊娠 8-11 日目に僅かに増加したが、その後同様の影響はなかった。30 および 10 mg/kg/day 群に影響は認められなかった。

黄体数、着床数、胚および胎児の死亡数、死亡率および生存胎児数に投与による影響はみられなかった。有意差は認められなかったが 100 mg/kg/day 群の胎児重量は対照群と比べ低値であった。

生存胎児 ;

最高 100 mg/kg/day の用量まで投与したが、奇形、内臓および骨格の異常、骨格変異の発生頻度の上昇および種類に対する影響を示唆する所見は認められなかった。100 mg/kg 投与量の骨格異常を持つ胎児数に有意な減少が認められた、これは同群の頭蓋中心骨化減少および脊椎骨化減少の胎児数が少数であったことに由来する。

以上の結果より、検体を妊娠ラットに投与したとき、母獣に対して 30 mg/kg/day で僅かな体重増加抑制が認められたことから、親動物における無毒性量 (NOAEL) は 10 mg/kg/day であった。胎児に対しては 100 mg/kg/day で胎児重量の僅かな減少が認められたことから胎児への無毒性量 (NOAEL) は 30 mg/kg/day であり、最高用量の 100 mg/kg/day でも胎児動物に催奇形性を及ぼさないと判断される。

投与量(mg/kg/day)		0	10	30	100	
1群当りの動物数		25	25	25	25	
親動物	一般状態					
	流涎	0	0	0	23	
	死亡数	0	0	0	1 投与過失	
	妊娠数(%) ⁽¹⁾	24 (96.0)	24 (96.0)	22 (88.0)	21 (87.5)	
	体重 (g)	2日	196.4	196.9	197.8	197.3
		3日	209.4	207.0	207.1	211.1
		4日	210.4	210.0	211.5	211.6
		6日	224.0	222.8	224.8	226.5
		8日	235.8	234.9	236.5	234.5
		10日	251.3	250.3	250.0	245.5
		12日	266.7	265.8	263.2	↓255.2
		14日	282.2	278.9	278.1	↓↓265.5
		16日	301.7	297.8	297.9	↓↓278.6
		18日	333.4	330.0	327.4	↓↓308.9
	20日	364.8	360.7	359.7	↓339.2	
	摂餌量 (g)	2-3日	21	21	22	21
		6-7日	24	24	24	↓21
		8-9日	25	25	26	↓23
		10-11日	26	26	25	↓↓22
		12-13日	27	26	27	↓24
14-15日		28	28	28	↓↓22	
18-19日		30	30	30	29	
飲水量 (g)	2-3日	29.4	29.0	28.9	29.5	
	6-7日	30.6	30.7	31.3	30.8	
	8-9日	31.0	32.4	31.6	↑35.0	
	10-11日	34.2	34.2	33.8	36.3	
	14-15日	41.6	41.1	40.2	42.7	
	18-19日	46.2	44.5	43.0	47.2	
着床所見	検査動物数	24	24	22	21	
	黄体数/母体	14.0	13.8	13.6	13.4	
	着床数/母体	13.4	12.6	12.1	11.7	
	生存胎児数/母体	12.6	12.0	11.8	11.4	
	吸収胚数/母体	0.8	0.6	0.4	0.3	
	平均着床前死亡率(%)	4.1	7.9	11.4	12.9	
	平均着床後死亡率(%)	12.6	12.0	11.8	11.4	

死亡数、妊娠数は Fisher の直接確率検定法

体重、摂餌量および摂水量は、Dunnett's または Sheffe の方法

↑↓: P<0.05、↓: P<0.01、↓↓: P<0.001

着床所見は William's -test

⁽¹⁾ 投与過失で死亡した母体は妊娠していたが、妊娠数の集計には含めなかった

投与量(mg/kg/day)		0	10	30	100	
胎 児 動 物 内 臓 異 常	平均胎児重量(g)	3.18	3.21	3.17	3.08	
	性比(雄の%)	46.8	49.8	50.9	48.0	
	検査数	302	289	259	239	
	奇形胎児数	4 (1.5)	4 (1.3)	2 (0.8)	1 (1.0)	
	検査数	147	140	127	121	
	外表/内臓異常を持つ胎児数	12 (8.1)	9 (6.2)	14 (11.1)	11 (9.7)	
	検査数	151	145	130	117	
	骨格異常を持つ胎児数	47 (30.6)	41 (26.6)	35 (26.4)	↓12 (8.8)	
	外表異常	検査胎児数	147	140	127	121
	[変異]					
	眼窩軽度膨脹		1		1	
	検査胎児数	302	289	259	239	
	[奇形]					
	小眼症	1	1			
	食道後部大動脈弓		1			
	房室間弁異常			1		
	心室間中隔欠損	1		1		
	後大静脈重複	1				
	横隔膜ヘルニア	1	1			
	検査胎児数	147	140	127	121	
	[変異]					
	脳室内出血	1	1	1		
	硬膜下軽度出血	1	1			
側脳室の膨脹軽度昂進			1	1		
無名動脈欠損	1	1		1		
無名動脈の頸動脈左側癒着	1					
後大静脈部分重複		1				
脊髓硬膜下中等度出血			1			
右側余剰静脈			1			
肝中葉軽度突出を伴う		1	2	1		
横隔膜薄化		1	1	2		
腹腔内出血			1	2		
肝葉内出血			1			
肝臓の異常分葉	1		2	2		
腎盂/輸尿管膨脹昂進	6	1	4	2		
精巣位置異常	1	1		1		

括弧内の数値は母体当りの平均(%)を、空欄は正常あるいは該当動物なしを示す
 体重、性比、異常は、William's -test ↓: P<0.01

奇形は、Fisher の直接確率検定法

投与量(mg/kg/day)		0	10	30	100	
胎 児 動 物	骨 格 異 常	検査胎児数	302	289	259	239
		[奇形]				
		頭蓋髄膜瘤		1		
		短顎症				1
		切歯欠損				1
		短脊柱(無尾症を含む)			1	
		短肢/短指				1
		肋骨歪曲/化骨異常	1			1
		検査胎児数	151	145	130	117
		[異常]				
		頭蓋中心骨化減少	10	11	8	0
		脊椎骨化減少/異常		3	4	5
		頸肋骨	6	1	0	0
		胸椎中心不化骨化			1	
		脊柱骨骨化減少			1	
		短肋骨	7	3	1	3
		肋骨欠損	1	1		
		胸椎中心異常形成	1	4		1
		二分胸椎中心	2		2	
		半胸椎中心			1	
		腰肋骨	1	1	1	
		脊椎骨化骨化減少	33	28	28	1
		恥骨非骨化/骨化減少	11	8	3	4
		骨盤帯骨化減少	2	1		
		仙椎前椎骨1本欠損	2		2	
		尾椎断裂	1			
		中足指節不化骨化/ 骨化減少	2		1	
		中足骨不化骨化		2		4
曲尾			1			
全体的な骨化遅延		1				

空欄は正常あるいは該当動物なしを示す

異常は、William's-test

奇形は、Fisherの直接確率検定法

⑬催奇形性試験

(2) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. 毒 A14)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1992 年

検体純度 :

供試動物 : ニュージーランド ホワイト ウサギ(約 6 ヶ月齢)、1 群 16 匹

試験期間 : 器官形成(妊娠 6~18 日)期間 13 日間投与
(1989 年 2 月 13 日~1989 年 3 月 15 日)

投与方法 : 検体をコーン油に混合し 0、3、10 および 30 mg/kg/day の投与量で、妊娠 6 日目から 18 日目までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。

使用した投与懸濁液は濃度分析を行ない、保存安定性についても問題ないことを確認した。

妊娠 0 日目 ; 交配日を妊娠 0 日目と定義した。

投与量設定の根拠 ;

観察・検査項目

親動物 ; 一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 1、6、8、10、14、19、23 および 29 日目に体重を測定した。摂餌量は妊娠 1-5、6-7、8-9、10-13、14-18、19-22 および 23-28 日目に測定した。

妊娠 29 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、胎児の生存・死亡および吸収胎児数を記録した。

生存胎児 ; すべての胎児について性別判定、体重測定、外表観察、骨格および内臓観察を行なった。

結果

親動物;

30 mg/kg/day 群で 6 匹の雌が投与期間後期または投与期間後に著しい体重減少、摂餌量の低下、糞の排泄の異常または糞の減少/無排泄および冷耳を示したため屠殺された。10 mg/kg/day 群の 1 匹の雌は明らかな流産と嗜眠、ふらつき、体重の低下を示したため、19 日に屠殺された。

生存動物では、30 mg/kg/day 群の多くの動物に食欲不振の症状(拒食および糞排泄の減少/無排泄)と冷耳が観察された。3 および 10 mg/kg/day 群にこれらの影響はみられなかった。30 mg/kg/day 群では 2 匹に流産が認められ、投与に起因するものと考えられた。

剖検所見では投与に関連のある影響は認められなかった。

30 mg/kg/day 群では摂餌量が妊娠 8 日から投与期間中、更に妊娠 22 日まで減少した。妊娠 23 日から摂餌量は増加した。10 mg/kg/day 群では妊娠 14 日から 18 日まで僅かに摂餌量が減少したが、実質的に対照群と同程度であった。

30 mg/kg/day 群では妊娠 4 日まで、14-19 日および 19-23 日にかけて僅かな体重減少が認められた。3 および 10 mg/kg/day 群では体重に影響は認められなかった。

黄体数、着床数、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量および吸収数においては投与による影響はみられなかった。

生存胎児；

30 mg/kg/day 群では有意差は認められなかったが、奇形胎児の発生率(3/36)が対照よりも高く、また投与群中の奇形胎児は全て 1 同腹児に発生した。3 および 10 mg/kg/day 群では奇形胎児の発生は投与によって影響されなかった。

30 mg/kg/day 群では骨格異常を持つ胎児の平均同腹児百分率、および全数(10/33)が対照群より有意に高かった。3 および 10 mg/kg/day では観察された異常のタイプおよび発生数に影響はないと考えられた。

30 mg/kg/day 群で骨格異常胎児の増加、総奇形胎児発生率の増加傾向がみられたが、母獣に対して毒性がみられる際にのみ発生することから、子宮内胎児の発育に対して本検体が選択的に影響を及ぼしたのではないと考えられる。

化骨進行度に投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、検体を妊娠ウサギに投与した時の親動物における無毒性量(NOEL)は

3 mg/kg/day であった。胎児への無毒性量(NOEL)は 10 mg/kg/day であり、催奇形性はないと判断される。

投与量(mg/kg/day)		0	3	10	30	
1群当りの動物数		16	16	16	16	
一般症状 ⁽¹⁾						
拒食	1-5日	11/15	6/14	10/14	1/5	
	6日以降	3/15	2/14	3/14	3/5	
糞排泄の減少 ／無排泄	1-5日	12/15	6/14	10/14	1/5	
	6日以降	3/15	2/14	3/14	3/5	
冷耳	投与前	3/15	2/14	1/14	5/5	
	投与後	7/15	7/14	9/14	5/5	
流産		1/16	1/16	0/15	2/10	
死亡数				1	↓6	
生存胎児を持った母数		15	14	14	5	
親動物	体重 (g)	1日	3702	3716	3790	3788
		6日	3786	3777	3768	3838
		8日	3749	3738	3783	3798
		10日	3754	3753	3793	3782
		14日	3850	3857	3894	3888
		19日	3895	3915	3949	3860
		23日	3986	3993	4028	3878
		29日	4169	4151	4245	4152
動物	摂餌量 (g)	1-5日	138	144	149	166
		6-7日	130	141	144	138
		8-9日	134	145	143	112
		10-13日	126	144	131	110
		14-18日	137	147	130	82
		19-22日	138	154	152	109
		23-28日	141	140	149	175
着床所見	妊娠動物数	15	14	14	5	
	黄体数/母体	11.0	11.1	10.9	10.0	
	着床数/母体	9.5	8.9	9.4	8.2	
	生存胎児数/母体	8.3	7.5	8.5	7.2	
	吸収胚数/母体	1.2	1.4	0.9	1.0	
	平均着床前死亡率(%)	14.8	19.0	11.5	17.7	
	平均着床後死亡率(%)	13.4	16.2	10.2	14.4	

(1) 数値は症状がみられた動物数／生存胎児を有する動物数を示す
空欄は正常あるいは該当する動物なしを示す

死亡率；Fisherの直接確立検定法 ↓：P<0.05

体重、摂餌量は、Dunnett's または Sheffe の方法
着床所見は William's -test

投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	30	
平均胎児重量 (g)		44.3	44.6	43.4	42.3	
性比 (雄の%)		51.3	53.6	50.1	69.6	
奇形	有所見胎児数/検査総胎児数	6/124	4/105	2/119	3/36	
	有所見腹数/検査総胎児数	4/15	4/14	2/14	1/5	
	腹毎所見発生率の平均値 (%)	4.3	7.0	1.7	12.0	
異常	外表・内臓	有所見胎児数/検査総胎児数	5/118	10/101	2/117	1/33
		有所見腹数/検査総胎児数	5/15	7/14	2/14	1/5
		腹毎所見発生率の平均値 (%)	4.5	9.9	1.9	1.8
	骨格	有所見胎児数/検査総胎児数	9/118	10/101	10/117	10/33
		有所見腹数/検査総胎児数	6/15	7/14	7/14	5/5
		腹毎所見発生率の平均値 (%)	8.4	10.2	8.1	↑45.5
胎児動物奇形	検査胎児数	124	105	119	36	
	顎間骨・上顎切歯癒着	1 (0.8)				
	複合奇形 [耳頭症・側弯・心及び肢奇形・骨化遅延]	1 (0.8)				
	右鎖骨下動脈の食道後位	1 (0.8)	1 (1.0)	1 (0.8)		
	付加 右鎖骨下動脈の食道後位		1 (1.0)			
	上行大動脈狭窄・気管拡張			1 (0.8)		
	脊柱未成熟・肋骨癒合・腎癒合・移動・肋骨奇形		1 (1.0)			
	腰椎 2 分		1 (1.0)			
	腰椎 2 分・後肢回旋異常				1 (2.8)	
	腰椎 2 分・側弯・血管異常・後肢回旋異常・骨化遅延				1 (2.8)	
	無尾症				1 (2.8)	
	前肢屈曲	2 (1.6)				
	前肢少指	2 (1.6)				
異常	検査胎児数	118	101	117	33	
	眼水晶体混濁	1 (0.8)				
	虹彩出血	1 (0.8)	2 (2.0)			
	大動脈からの動脈分岐変異	2 (1.7)	5 (5.0)	1 (0.9)		
	肝葉の奇形	1 (0.8)	2 (2.0)		1 (3.0)	
	胆嚢分岐		1 (1.0)			
性腺異常			1 (0.9)			

括弧内の数値は観察胎児数に対する(%)を、空欄は正常あるいは該当動物なしを示す
 体重、性比、異常の腹毎所見発生率平均値は、Williams のノンパラメトリック法 ↑: P<0.01
 奇形は、Fisher の直接確率検定法

結果(続き)

投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	30
異常	検査胎児数	118	101	117	33
	縫合骨	1 (0.8)	2 (2.0)	3 (2.6)	1 (3.0)
	頭蓋中心結合	3 (2.5)	1 (1.0)	3 (2.6)	↑5 (15.2)
	頭頂骨不斉骨化		1 (1.0)	1 (0.9)	
	頸肋骨	4 (3.4)	1 (1.0)	1 (0.9)	1 (3.0)
	頸椎弓骨化減少			2 (1.7)	
	頸椎中心骨化減少			1 (0.9)	
	半脊椎		1 (1.0)		
	胸骨癒合/結合	3 (2.5)	3 (3.0)		1 (3.0)
	肋骨欠如		1 (1.0)		
	肋骨短小化				1 (3.0)
	肋骨分岐	2 (1.6)			1 (3.0)
	肋骨不斉骨化		2 (2.0)		
	軽度脊椎側弯		1 (1.0)		
	不斉肋軟骨	1 (0.8)	1 (1.0)		1 (3.0)
胸腰椎不足/過多				2 (6.1)	

Fisher の直接確率検定法 ↑: P<0.05

括弧内の数値は観察胎児数に対する(%)を、空欄は正常あるいは該当動物なしを示す

⑭変異原性試験

(1)細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No. 毒 A15)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 5 菌株 (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* 1 菌株 (WP2 *uvrA*-) を用い、フェノバルビタールおよび 5, 6-ベンゾフラボンで誘導したラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いた試験で復帰突然変異誘発性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、検体は DMSO に溶解した。

すなわち、本試験の用量段階は抗菌性の観察された濃度を基準に最高濃度を設定し、以下公比 2 で 5~6 用量に陰性対照を加えた計 6~7 用量とした。抗菌性の観察されなかった菌株については、5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とし、以下公比 2 で 4 用量に陰性対照を加えた計 5 用量とした。陽性対照としては、AF-2¹、NaN₃²、2-NF³、9-AA⁴、2-AA⁵、B[a]P⁶ および MMC⁷ を用いた。NaN₃ および MMC は蒸留水、その他は DMSO に溶解した。

判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性および再現性が認められる場合を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示す。S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、2-NF、9-AA、2-AA、B[a]P および MMC 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、本試験条件下で復帰突然変異誘発性を示さないと判断される。

¹ AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
² NaN₃ : アジ化ナトリウム
³ 2-NF : 2-ニトロフルオレン
⁴ 9-AA : 9-アミノアクリジン
⁵ 2-AA : 2-アミノアントラセン
⁶ B[a]P : ベンツピレン
⁷ MMC : マイトマイシン C

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある
〈原体~~＝~~変異原〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある
〈原体—変異原〉

復帰突然変異試験結果 1 回目 (表中の数値は 2 反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mix の有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA102	TA1535	WP2uvrA ⁻	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	80	173	6	13	19	6
検体	2	-	90	165			19	6
	4	-	82	168			19	4
	8	-	60	160			17	7
	16	-	53*	31*			10	2*
	31	-	49*	4*			9*	0*
	63	-	34*	0*			8*	0*
	313	-			3	7		
	625	-			4	6		
	1250	-			5	3		
	2500	-			6	4		
5000	-			3	2			
対照(DMSO)	-	+	89	169	11	21	29	10
検体	2	+						6
	4	+						7
	8	+						5
	16	+	81	152			28	7
	31	+	74	146			29	5
	63	+	74	143			22	4
	125	+	67	122			27	3
	250	+	11*	42*			7*	
	313	+			4	11		
	500	+	2*	12*			5*	
	625	+			5	5		
	1250	+			5	9		
	2500	+			6	6		
5000	+			6	3			
陽性 対照	AF-2	0.01	-	352				
			-			64		
	MMC	0.5	-		976			
	NaN ₃	0.5	-			68		
	2-NF	1.0	-				170	
	9-AA	80.0	-					870
	B[a]P	5.0	+	1045				
			+		633			
+						451		
+							82	
2-AA	2.0	+			335			
	20.0	+				633		

数値の右の*は、菌の生育阻害が認められたことを示す。

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

MMC : マイトマイシン C

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある
 <原体変異原>

NaN₃ : アジ化ナトリウム
 2-NF : 2-ニトロフルオレン
 9-AA : 9-アミノアクリジン
 B[a]P : ベンツピレン
 2-AA : 2-アミノアントラセン

復帰突然変異試験結果 2 回目 (表中の数値は 2 反復の平均値)

薬物	濃度 (µg/プレート)	S9-Mix の有無	復帰変異コロニー数 / プレート		
			塩基対置換型		フレーム シフト型
			TA100	TA102	TA1537
対照(DMSO)	-	-	86	131	3
検体	1	-	81	139	3
	2	-	78	126	2
	4	-	76	104	3
	8	-	78	111	4
	16	-	57*	17*	1*
陽性 対照	AF-2	0.01	-	331	
	MMC	0.5	-		626
	9-AA	80.0	-		761

数値の右の*は、菌の生育阻害が認められたことを示す。

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
 MMC : マイトマイシン C
 9-AA : 9-アミノアクリジン

⑭変異原性試験

(2) CHO 培養細胞を用いた染色体異常試験

(資料 No. 毒 A16)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年

検体純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター卵巣由来の細胞株 (CHO 細胞) を用い、非代謝活性化法および代謝活性化法によって検体の染色体異常誘発性を検定した。

用量設定根拠;

判定基準 ; 各用量 200 個の中期分裂像を観察し、染色体の異常を染色分体及び同位染色分体のギャップと切断、染色分体交換、二動原体染色体、無動原体染色体断片、環状染色体及び複合再配列に分類し計測した。ただし、無処理及び溶媒対照は、400 個の分裂中期像を観察した。

非代謝活性化法; 非代謝活性化法では、20 時間の連続処理を行い、3 用量全てについて染色体の観察を行った。

代謝活性化法; 代謝活性化法では、2 時間の暴露期間後に 18 時間の回復期間を設け、3 用量全てについて染色体の観察を行った。

陽性対照として、マイトマイシン C (MMC) およびシクロホスファミド (CPA) を滅菌蒸留水に溶解して用いた。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示す。ギャップを含めた染色体異常発生頻度の中用量で溶媒対照に比較して有意な増加が見られたが、無処理対照との比較では有意差はなかった。このほかにも代謝活性化の有無に係わらず、検体投与による CHO 細胞に対する染色体異常の誘発はみられなかった。また、陽性対照として用いた MMC および CPA では、溶媒対照と比較して、著しい染色体異常の誘発が認められた。

以上の結果より、検体は、本試験条下で染色体異常誘発性を示さないと判断される。

染色体異常試験の結果 (非代謝活性化法)

処理時間	投与量 (μg/mL)	観察細胞数	染色体異常の細胞数							染色体異常出現頻度(%)		
			BWF	I	R	SM	A	GT	CHR	-g	+g	
20	無処理	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	エタノール	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	4	201	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	20	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	40	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	MMC*1 (0.4)	200	13	24	3	11	18	2	1	***	***	17.0

*1: マイトマイシン C は, Fisher's test ***: P<0.001

BWF: 断片保有染色体切断, I: 相互転座, R: 環状染色体, SM: シングルマイニュート、

A: 無動原体染色体断片, GT: 10 個以上異常のあるもの, CHR: 染色分体ギャップ

-g: ギャップのみを持つ細胞を除いた染色体異常出現頻度

+g: ギャップのみを持つ細胞を含めた染色体異常出現頻度

染色体異常試験の結果 (代謝活性化法)

処理時間	投与量 (μg/mL)	観察細胞数	染色体異常の細胞数								染色体異常出現頻度(%)		
			IBF	BWF	BF	I	SM	A	GT	CHR	-g	+g	
2-18	無処理	400	0	4	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	
	エタノール	400	0	0	0	1	0	0	0	0	0.25	0.25	
	4	200	0	4	0	0	0	0	0	2	1.0	2.0*	
	20	200	0	2	0	1	0	0	0	2	1.5	2.5*	
	40	200	0	1	0	0	0	0	0	1	0.5	1.0	
	CPA*1 (25)	200	1	14	1	16	4	6	1	4	***	***	12.5

*1: シクロホスファミドは, Fisher's test *: P<0.05 ***: P<0.001

BWF: 断片保有染色体切断, I: 相互転座, R: 環状染色体, SM: シングルマイニュート、

A: 無動原体染色体断片, GT: 10 個以上異常のあるもの, CHR: 染色分体ギャップ

-g: ギャップのみを持つ細胞を除いた染色体異常出現頻度

+g: ギャップのみを持つ細胞を含めた染色体異常出現頻度

処理時間には, 処理時間-回復時間を示す。

⑭変異原性試験

(3)細菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay)

(資料 No. 毒 A17)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

検体純度 :

試験方法 : *B. subtilis*の組換修復機構の野生株 (H17, Rec⁺) および欠損株 (M45, Rec⁻)
を用い、代謝活性化および非代謝活性化の条件下において、DNA損傷作用
があるか否かを検定した。

本
試験では、代謝活性化系では 20 µg/ディスク、非代謝活性化系では 40 µg/デ
ィスクを最高用量に以下公比 2 で 7 用量を設定した。陰性対照としてKM (カ
ナマイシン) およびSM (ストレプトマイシン)、陽性対照としてMMC (マイトマイ
シンC) および 2-AA (2-アミノアントラセン) を用いた。

判定基準 : H17 株および M45 株に対する生育阻止帯の直径差が 5 mm 以上である場合
を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示す。代謝活性化の有無に係わらず両株に生育阻止
帯を示したが、いずれの濃度においても、5 mm 以上の阻止帯差は観察され
なかった。一方、溶媒対照では、両株に生育阻止帯を示さなかった。
また、陰性対照として用いた KM および SM では、両株に生育阻止帯を示した
が、いずれの濃度においても、5 mm 以上の阻止帯差は観察されなかった。陽
性対照として用いた MMC および 2-AA では、M45 株に明らかな生育阻止帯
を示した。

以上の結果より、検体は、本試験条件下で DNA 損傷誘発性を示さないと判断される。

DNA修復試験(本試験)結果

(表中の数値は2回測定の平均値)

薬物	濃度 (μg /ディスク)	-S9			+S9		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)	0	0	0	0	0	0	0
検体	0.3				0	0	0
	0.6	0	0	0	0	0	0
	1.3	0	0	0	0	0	0
	2.5	0	0	0	0	0	0
	5.0	0	0	0	0.9	0.8	0.1
	10.0	0.8	0.3	0.5 ^{*1}	1.1	1.1	0
	20.0	1.3	1.3	0	1.6	1.4	0.2
	40.0	2.9	2.7	0.2			
陰性 対照	KM	10	12.1	11.5	0.6		
	SM	20				9.4	9.0
陽性 対照	MMC	0.01	7.0	0	7.0		
	2-AA	100				4.8	0

KM : カナマイシン、SM : ストレプトマイシン
 MMC : マイトマイシン C、2-AA : 2-アミノアントラセン

⑭変異原性試験

(4) マウスを用いた小核試験

(資料 No. 毒 A18)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

検体純度 :

供試動物 : ICR 系 (Crj:CD-1) マウス、6～7 週齢、体重:雄 29.9～33.9 g、
雌 22.6～25.4 g、1 群各 5 匹

試験方法 : 検体をコーン油に懸濁して 0、500、1000 および 2000 mg/kg の用量を容量
10 mL/kg で強制経口投与した。なお、陽性対照には、生理食塩水に溶解
したマイトマイシン C (MMC) を用い、2 mg/kg の用量を容量 10 mL/kg で単
回腹腔内投与した。

投与の 24 時間後に動物を屠殺して、各動物の右大腿骨から骨髓を採取し
た。骨髓をスライドグラス上にメタノールで固定後、ギムザ液で染色し、標本
を作製した。

動物当り 1 枚の標本について、2000 個の多染性赤血球 (PCE) を観察し、
小核を有する多染性赤血球数 (MNPCE) を計数した。また、細胞毒性を
調べるために、1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血
球の割合を算出した。

用量設定根拠:

判定基準 : MNPCE の出現頻度が陰性対照と比較して用量依存性を伴う明らかな増加
を示した場合、または、再現性のある単独な用量で明らかな増加を示した
場合に陽性とした。

試験結果：骨髄標本の観察結果を下表に示す。

採取時間	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MNPCE(%) (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE)(%) (平均値±SD)
24 時間	陰性対照 (コーン油)	-	雄	5	0.17±0.04	48.22±3.24
			雌	5	0.15±0.04	47.50±4.05
	検体	500	雄	5	0.18±0.03	46.70±3.34
			雌	5	0.17±0.03	50.38±2.53
		1000	雄	5	0.16±0.04	47.46±2.88
			雌	5	0.17±0.04	49.02±4.13
		2000	雄	5	0.13±0.04	46.36±2.06
			雌	5	0.16±0.04	49.52±2.71
	陽性対照 (MMC ^{*1})	2	雄	5	2.98±0.54**	44.08±2.37
			雌	5	3.17±0.37**	47.96±2.81

*1: マイトマイシン C、**: P<0.01 (Wilcoxon の順位和検定)

MNPCE: 多染性赤血球 2000 個中の小核を有する多染性赤血球の割合

PCE/(PCE+NCE): 全赤血球に対する多染性赤血球の割合

PCE: 多染性赤血球、NCE: 正染性赤血球

すべての検体投与群において、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった。また、多染性赤血球の全赤血球に対する割合に有意な減少は認められなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシン C は小核を有する多染性赤血球の出現頻度に陰性対照群と比較して明らかな増加が認められた。

結論：以上の結果から、本試験条件下において、検体は、骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

⑮生体機能への影響に関する試験

ベルコートにおける薬理試験

(資料 No. 毒 A19)

試験機関:

報告書作成年:1992年

検体純度 :

検体のメタノール溶液中の成分組成は

純度の表示はこの組成から水

とメタノールを除いたものである。

1) 中枢神経系に対する作用

①マウスの一般症状

供試動物 : Crl:CD-1(ICR)系マウス、5～6週齢、体重:雄 26.00～34.61 g、
雌 23.65～25.68 g、1群雄雌各5匹

方 法 : メタノールを除去した検体を100、200、400、800 および1600 mg/kg の5用量
で腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(1.6 mL/kg)
に投与した。一般症状はIrwinの多元観察法に従って評価した。

結 果 : 200 mg/kg 以上の投与群で症状が発現し、警戒性、位置視覚、反応性、自発
運動および痛覚反応の低下、振戦、運動失調、筋緊張状態の低下、異常姿
勢、反射の抑制、眼裂狭小、立毛、体温下降および呼吸数の低下など主として
抑制性の反応がみられた。死亡は200 mg/kg 投与群からみられ、用量の増
加とともに死亡数は増加した。

②ウサギの一般症状

供試動物 : 日本白色ウサギ、13～19週齢、体重:雄 2.35～3.25 kg、1群雄3匹

方 法 : メタノールを除去した検体を25、50、100 および200 mg/kg の4用量で耳静脈
内投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様
(0.2 mL/kg)に投与した。一般症状は多元的に観察した。

結 果 : 50 mg/kg 以上の投与群で症状が発現し、自律運動、接近反応、刺激反応、
筋緊張、角膜反射、跳び反応および体温の低下、運動失調、縮瞳、眼裂狭小
および皮膚の白色化など主として抑制性の反応がみられた。
50 mg/kg 投与群で1例、100 mg/kg 以上の投与群で全例死亡した。

③ウサギの脳波に対する作用

供試動物 : 日本白色ウサギ、14～17週齢以上、体重:雄 2.80～3.30 kg、
1群雄3匹

方 法 : 麻酔下(ペントバルビタール)で気管にカニューレを装着後、人工呼吸下でガ
ラミンを投与し、脳定位置固定装置で固定し、脳波導出用の電極を頭蓋骨に
装着した。皮質脳波の場合は前頭部、頭頂部、後頭部に挿入した電極を使用
し、深部脳波は同芯円電極又は中継同芯円電極を使用し、Sawyerらの脳地
図に従って扁桃核、海馬及び中脳網様体に挿入した。記録にはポリグラフを
用いた。メタノールを除去したものを検体とし、500 mg/kg 投与約1時間後に
1000 mg/kg を皮下に投与し、脳波を調べた。

結 果 : 皮質脳波および深部脳波において、いずれにも変化は認められなかった。

④マウスの自発運動量に対する作用

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)系マウス、5～6週齢、体重:雄26.00～34.61g、1群雄10匹

方 法 : 検体投与前及び投与後30分から4時間までプラスチックケージに5匹ずつ入れ、自発運動量測定装置を用いて各5分間隔の運動量の測定を行った。メタノールを除去した検体を200、400、800および1600mg/kgの4用量で腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(1.6mL/kg)に投与した。

結 果 : 自発運動量に変化は認められなかった。

⑤マウスの最大電撃痙攣に対する作用

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)系マウス、5～6週齢、体重:雄26.00～34.61g、1群雄10匹

方 法 : メタノールを除去した検体を200、400、800および1600mg/kgの4用量で腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(1.6mL/kg)に投与した。検体投与後4時間に電撃痙攣装置を用いて角膜電極を介して電撃(25mA、0.2sec)を加え、強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣及び間代性痙攣の持続時間を測定した。

結 果 : 最大電撃痙攣において、検体投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

⑥マウスの筋弛緩作用

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)系マウス、5～6週齢、体重:雄26.00～34.61g、1群雄10匹

方 法 : メタノールを除去した検体を200、400、800および1600mg/kgの4用量で腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(1.6mL/kg)に投与した。予め回転棒に60秒以上乗ったマウスを使用した。検体投与後30分から4時間までマウスを回転棒(10回/分、直径30mm)に乗せ、制限時間内に落下の有無及び落下時間を測定した。

結 果 : 筋弛緩作用において、検体投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

⑦ウサギの体温に対する作用

供試動物 : 日本白色ウサギ、13～19週齢、体重:雄2.35～3.25kg、1群雄3匹

方 法 : 1時間間隔で3回体温を測定し、2回目と3回目の体温差が0.1℃以内でかつ39.8℃以下の雄ウサギを使用した。メタノールを除去した検体を50、100および200mg/kgの3用量で耳静脈内投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(0.2mL/kg)に投与した。投与後0.5、1、2および3時間に体温を測定し、耳の毛細血管の収縮・拡張についても観察した。

結 果 : 体温において、検体投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

2) 呼吸・循環器系に対する作用

①ウサギの呼吸・循環器系に対する作用

- 供試動物 : 日本白色ウサギ、13~19 週齢、体重:雄 2.35~3.25 kg、雄 3 匹
- 方 法 : メタノールを除去した検体 100 mg/kg を投与約 1 時間後に 200 mg/kg を耳静脈内投与した。麻酔下(ウレタン)で背位保定し、呼吸、血流量、血圧、心拍数及び心電図を観察記録した。
- 結 果 : 200 mg/kg 投与群で呼吸振幅の増加、血流量の軽度の増加がみられた。また、投与直後に一過性の血圧上昇がみられた。

②ラットの血圧に対する作用

- 供試動物 : Crj:CD(SD)系ラット、5~8 週齢、体重:雄 100~341 g、1 群雄 6 匹
- 方 法 : メタノールを除去した検体を 1000、3000 および 5000 mg/kg の 3 用量で強制経口投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(5 mL/kg)に投与した。検体投与前、投与後 30 分、1、2、4、6、12、24 および 48 時間の血圧を測定・記録した。
- 結 果 : 3000 mg/kg 以上の投与群で有意な血圧の低下が認められたが、各投与群とも投与後 48 時間には回復した。

3) 自律神経系に対する作用

①ウサギの瞳孔に対する作用

- 供試動物 : 日本白色ウサギ、13~19 週齢、体重:雄 2.35~3.25 kg、1 群雄 3 匹
- 方 法 : 40 W 白熱電球から約 1.5 m 離して両眼が均等の光量を受けるように保定器で固定し、投与前に 30 分間隔で 2 回ずつ瞳孔径を測定し、メタノールを除去した検体を 50、100 および 200 mg/kg の 3 用量で耳静脈内に投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(0.2 mL/kg)に投与した。投与後 5、15、30 および 60 分に瞳孔径を 1 回測定した。
- 結 果 : 200 mg/kg 投与群で投与後 5、15、60 分に有意な瞳孔の縮小が認められた。

②ウサギの生体位子宮運動に対する作用

- 供試動物 : 日本白色ウサギ(経産)、13~19 週齢、体重:雌 3.85~4.55 kg、雌 3 匹
- 方 法 : 麻酔下(ウレタン)で背位保定し、下腹部を開き子宮を露出させ、片側の子宮角の先端より水を満たした小型バルーンを子宮内に挿入し、圧測定用トランスデューサーに接続し、メタノールを除去した検体 100 mg/kg を投与約 1 時間後に 200 mg/kg を耳静脈内に投与して子宮自発運動を子宮内圧の変化として記録した。
- 結 果 : 生体位子宮運動において、検体投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

③モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物 : イングリッシュハートレー系モルモット、6週齢以上、体重:雄 420~470 g、雄 3匹

方 法 : 麻醉下(エーテル)に回腸を摘出し、約 1 cmに切断し、50 mLのタイロッド液を満たしたマグヌス管に懸垂した。収縮はアイソニックトランスデューサーを介して記録した。検体はDMSOに溶解し、最終濃度が 10^{-7} ~ 10^{-4} g/mLとなるようにタイロッド液に 0.2 mL添加した。また検体単独適用のほかに、検体を前処理した回腸のヒスタミン(2×10^{-7} g/mL)及びアセチルコリン(8×10^{-7} g/mL)による収縮に対する影響も調べた。

結 果 : 検体の単独適用では変化は認められなかったが、検体 10^{-5} g/mL以上の前処理によって、アセチルコリン及びヒスタミンによる収縮を抑制した。

④ラットの摘出輸精管に対する作用

供試動物 : Crj:CD(SD)系ラット、6~9週齢以上、体重:雄 230~270 g、雄 3匹

方 法 : 麻醉下(エーテル)に輸精管を摘出し、50 mLのタイロッド液を満たしたマグヌス管に懸垂した。収縮はアイソニックトランスデューサーを介して記録した。検体はDMSOに溶解し、最終濃度が 10^{-4} ~ 10^{-3} g/mLとなるようにタイロッド液に 0.2 mL添加した。また検体単独適用のほかに検体を前処理した輸精管のエピネフリン(10^{-6} g/mL)による収縮に対する影響も調べた。

結 果 : 検体の単独適用では変化は認められず、検体の前処理によるエピネフリンによる収縮に対しても影響を及ぼさなかった。

4) 消化器に対する作用

①ラットの小腸輸送能に対する作用

供試動物 : Crj:CD(SD)系ラット、5~8週齢、体重:雄 100~341 g、1群雄 6匹

方 法 : 一夜絶食したラットにメタノールを除去した検体を投与し、30分後に炭末・アラビアゴムの各 10%懸濁液を体重 100 gあたり 1 mLで強制経口投与した。その30分後にクロロホルムで麻醉死させ、開腹して幽門部から炭末先端までの長さを測定し、小腸全体の長さに対する比率を求めた。400、800、1600 および 3200 mg/kgの4用量で腹腔内に投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様(3.2 mL/kg)に投与した。

結 果 : 小腸輸送能の有意な低下が用量依存的に認められた。

5) 骨格筋に及ぼす作用

①ウサギの前脛骨筋収縮に対する作用

供試動物 : 日本白色ウサギ、13~19週齢、体重:雄 2.35~3.25 kg、雄 3匹

方 法 : 麻醉下(ウレタン)で背位保定し、大腿部外側後部の皮膚を縦に切開し、大腿骨中央部付近の腓骨神経及び脛骨神経を露出した。この脛骨神経及び坐骨神経を切断し、腓骨神経には双極電極を設置し刺激を加えた。前脛骨筋上の皮膚を切開し、前脛骨筋の腱と血管を痛めないように上部まで分離し腱に糸を付けて、この糸をストレインケージに繋ぎ、負荷は 10 g程度とした。電気刺激

の条件は、間接刺激で 0.1 Hz、0.1 msec.以下の矩形波、直接刺激で 0.1 Hz、1 msec.以上の矩形波とした。刺激装置を使用し 1 V 以下の刺激を加え、次第に刺激を強くし反応が最大になるようにした。メタノールを除去した検体 100 mg/kg 投与約 1 時間後に 200 mg/kg を耳静脈内に投与した。

結 果 : 前脛骨筋収縮において、検体投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

6) 血液に対する作用

① 溶血性試験

供試動物 : 日本白色ウサギ、13～19 週齢、体重:雄 2.35～3.25 kg、雄 1 匹

方 法 : 心臓採血した血液を遠心分離後、赤血球を生理食塩水で 3 回洗浄し、10 倍量の生理食塩水に浮遊させ赤血球浮遊液を調製した。検体は最終濃度が $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/mL となるように少量の DMSO 及び生理食塩水に懸濁したもの 9.5 mL と赤血球浮遊液 0.5 mL を混和して 2 時間 38°C に保った後、遠心分離 (2000 rpm、15 分) した上清を肉眼的に観察して判定した。

結 果 : 1×10^{-6} g/mL では溶血性はみられず、 1×10^{-5} g/mL で微弱、 5×10^{-5} g/mL で中等度、 1×10^{-4} g/mL 以上で強度の溶血性を認めた。

② 血液凝固に対する作用

供試動物 : 日本白色ウサギ、13～19 週齢、体重:雄 2.35～3.25 kg、1 群雄 3 匹

方 法 : メタノールを除去した検体を 50、100 および 200 mg/kg の 3 用量で耳静脈内に投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様 (0.2 mL/kg) に投与した。検体投与前及び投与後 10、30 および 60 分に耳静脈から採血した血液を試験管に採り、約 37°C の温浴で 30 秒ごとに試験管を傾斜させて、血液が完全に凝固するまでの時間を測定した。

結 果 : 血液凝固能に変化はみられなかった。

7) 泌尿器に対する作用

① ラットの腎臓に対する作用

供試動物 : Crj:CD(SD)系ラット、5～8 週齢、体重:雄 100～341 g、1 群雄 6 匹

方 法 : メタノールを除去した検体を 800、1600 および 3200 mg/kg の 3 用量で腹腔内に投与した。対照群には生理食塩水を最高投与群と同様 (3.2 mL/kg) に投与した。検体投与後 4 時間に PSP 液 18 mg/kg を静脈内に投与し、その 15 分後に麻酔下で腹部大動脈から採血した。遠心分離後、分光光度計で 560 nm の吸光度から血漿中の PSP 濃度を求めた。

結 果 : 腎臓の PSP 排泄能に変化はみられなかった。

② ラットの尿及び電解質代謝に対する作用

供試動物 : Crj:CD(SD)系ラット、5～8 週齢、体重:雄 100～341 g、1 群雄 6 匹

方 法 : 試験開始前 18 時間絶食、3 時間絶水し、メタノールを除去した検体を 400、

800、1600 および 3200 mg/kg の 4 用量で腹腔内に投与し、投与後直ちに生理食塩水 20 mL/kg を強制経口投与した。対照群には生理食塩水を最高投与量と同等の割合 (3.2 mL/kg) で投与した。その直後から採尿ケージに入れ 4 時間の蓄尿を測定した。試験紙により潜血、ケトン体、糖、蛋白、pH、ウロビリノーゲン、ビリルビンおよび亜硝酸塩について、また、電解質自動測定装置で Na^+ 、 K^+ および Cl^- を測定した。

結 果 : 各投与量とも尿量の有意な減少がみられ、 K^+ 濃度に用量依存的な増加がみられた。

以上の結果を総括表に要約する。

一般症状観察ではマウス・ウサギいずれでも抑制性的な変化がみられ、一部に自律神経症状も認められた。ウサギの脳波、マウスの自発運動量、マウスの筋弛緩及びウサギの体温への影響はみられなかった。ウサギの前脛骨筋収縮に対しても影響はみられなかった。また、マウスの最大電撃痙攣試験では持続時間の変化がみられたが用量による一定の傾向はなかった。ウサギの瞳孔に対して縮瞳作用がみられ、ラットの小腸輸送能の低下、モルモットの摘出回腸に対してアセチルコリンまたはヒスタミンによる収縮の抑制が認められ、本検体が自律神経系に対して抑制性的な作用を有するものと考えられる。しかし、ラットの摘出輸精管の収縮には影響はみられなかった。ウサギの呼吸・循環器に対しては呼吸振幅の増加及び軽度の血流量の増加が認められたが、その作用は弱いと考えられる。また、血圧低下作用も認められた。

ウサギの血液凝固能には影響はみられなかったが、溶血性試験では 1×10^{-5} g/mL 以上で溶血がみられ、 1×10^{-4} g/mL では強度であった。この溶血作用は検体の酸部分のアルキルベンゼンスルホン酸基の界面活性作用に起因するものと考えられる。ラットの尿量に有意な低下がみられたが、PSP 排泄能に変化はみられず、腎機能に影響はないと考えられる。尿中 K^+ イオン濃度の増加は検体の非経口投与による溶血の結果によるものと推定される。

生体の機能に及ぼす影響試験の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 一般症状 [Irwin 法] (マウス)	腹腔内 (原液)	0	雄 5 雌 5	200	100	警戒性、位置視覚、反応性、自発運動および痛覚反応の低下、振戦、運動失調、筋緊張状態の低下、異常姿勢、反射の抑制、眼裂狭小、立毛、体温下降、呼吸数の低下、死亡 (≥200 mg/kg)
		100				
		200				
		400				
		800 1600				
中枢神経系 一般症状 (ウサギ)	耳静脈内 (原液)	0	雄 3	50	25	自律運動、接近反応、刺激反応、筋緊張、角膜反射、跳び反応および体温の低下、運動失調、縮瞳、眼裂狭小、皮膚の白色化、死亡 (≥50 mg/kg)
		25				
		50				
		100				
		200				
中枢神経系 脳波 (ウサギ)	皮下 [麻醉下] (原液) [累計]	500	雄 3	>1000	1000	影響なし
		1000				
中枢神経系 自発運動量 (マウス)	腹腔内 (原液)	0	雄 10	>1600	1600	影響なし
		200				
		400				
		800				
		1600				
中枢神経系 最大電撃 痙攣 (マウス)	腹腔内 (原液)	0	雄 10	>1600	1600	検体によると思われる変化は認められなかった。
		200				
		400				
		800				
		1600				
中枢神経系 筋弛緩作用 (マウス)	腹腔内 (原液)	0	雄 10	>1600	1600	影響なし
		200				
		400				
		800				
		1600				
中枢神経系 体温 (ウサギ)	耳静脈内 (原液)	0	雄 3	>200	200	影響なし
		50				
		100				
		200				
呼吸・ 循環器系 呼吸・循環器 (ウサギ)	耳静脈内 [麻醉下] (原液) [累計]	100	雄 3	200	100	呼吸振幅の増加、血流量の軽度の増加、投与直後に一過性の血圧上昇 (200 mg/kg)
		200				
		[累計]				
呼吸・ 循環器系 血圧 (ラット)	強制経口 (原液)	0	雄 6	3000	1000	血圧低下 (≥3000 mg/kg)
		1000				
		3000				
		5000				

生体の機能に及ぼす影響試験の総括表 つづき

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
自律神経系 瞳孔 (ウサギ)	耳静脈内 (原液)	0 50 100 200	雄 3	200	100	縮瞳、死亡 1 例 (200 mg/kg)
自律神経系 生体位 子宮運動 (ウサギ)	耳静脈内 [麻醉下] (原液) [累計]	100 200	雌 3	>200	200	影響なし
自律神経系 摘出回腸 (モルモット)	マグス法 (DMSO)	1×10^{-7} 1×10^{-4} (g/mL)	雄 3	$>1 \times 10^{-4}$ (g/mL)	1×10^{-4} (g/mL)	単独:影響なし 前処理:アセチルコリン、ヒスタミン による収縮を抑制
自律神経系 摘出輸精管 (ラット)	マグス法 (DMSO)	1×10^{-4} 1×10^{-3} (g/mL)	雄 3	$>1 \times 10^{-3}$ (g/mL)	1×10^{-3} (g/mL)	影響なし
消化器系 小腸輸送能 (ラット)	腹腔内 (原液)	0 400 800 1600 3200	雄 6	400	<400	用量依存的に低下
骨格筋系 前脛骨 筋収縮 (ウサギ)	耳静脈内 [麻醉下] (原液) [累計]	100 200	雄 3	>200	200	影響なし
血液 溶血性 (ウサギ)	赤血球 浮遊液に 添加 (DMSO)	1×10^{-6} 1×10^{-3} (g/mL)	雄 1	1×10^{-5} (g/mL)	1×10^{-6} (g/mL)	溶血 ($\geq 1 \times 10^{-5}$ g/mL)
血液 凝固性 (ウサギ)	耳静脈内 (原液)	0 50 100 200	雄 3	>200	200	影響なし
泌尿器系 腎臓 PSP 排泄物 (ラット)	腹腔内 (原液)	0 800 1600 3200	雄 6	>3200	3200	変化なし
泌尿器系 尿・尿電解質 (ラット)	腹腔内 (原液)	0 400 800 1600 3200	雄 6	400	<400	尿量減少、用量依存的に K ⁺ 増加

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

<原体機序検討>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

<原体-機序検討>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

<原体-機序検討>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体-機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体一機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体—機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体－機序検討〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈原体中混在物・代謝物〉

2. 原体中混在物及び代謝物

本項目に係る試験成績はない。

3. 製剤を用いた試験成績

① 急性経口毒性(ベルクート水和剤)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 毒 C1)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 40%水和剤
 組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 40 %
 界面活性剤 11 %
 鉍物質微粉等 49 %

試験動物 : CD(SD)系ラット、4～6 週齢(投与時)

体重:雄 109～140 g、雌 95～121 g、一群雌雄各 10 匹

試験期間 : 21 日間観察

投与方法 : 検体は蒸留水で懸濁調製し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与前
 一晚および投与後 4 時間は絶食した。

観察項目 : 一般状態および生死を 21 日間観察した。体重は全生存動物について投与
 当日(投与 1 日目)および投与 8、15 および 22 日目に測定した。死亡動物は
 発見時に、生存動物は観察期間終了時に解剖し、肉眼的病理検査を行なっ
 た。また、異常部位の代表的なものについて病理組織学的検査を行った。

結 果 :

投与方法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雌雄とも 1000, 1600, 2500, 3200, 4000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄:2100 (1800～2600) 雌:2600 (2200～3100)
死亡開始および終了時間	投与 5 日目に開始し、 投与 22 日目に終了
症状発現および消失時間	投与 30 分後に発現し、 試験終了時まで消失せず
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 1000

中毒症状として、立毛、流涎、猫背姿勢、歩行失調(よろめき歩行)、嗜眠、呼吸数減少、眼瞼下垂、四肢の蒼白、腹部膨満が認められた。

体重の増加抑制あるいは減少が、投与 8 日目には 1000 mg/kg のほとんどの動物に、
 投与 15 日目には 1600 および 2500 mg/kg の全動物、投与後 22 日目には 2500 およ
 び 3200 mg/kg の雌各 1 匹に見られた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 ベルクート水和剤－急毒・刺激・感作性 〉

剖検では、屠殺動物に脾臓の萎縮、腎臓の蒼白化、胃の障害が見られたが、1000 mg/kg 群の大部分と 1600 および 2500 mg/kg 群の約半数には異常はなかった。

病理組織学的検査では、脾臓の白脾随または赤脾随の萎縮、腎臓の皮質尿細管の拡張・好塩基性化、間質性単核細胞の浸潤、炎症／線維化およびボーマン囊の拡張が見られた。また、胃では潰瘍、角化症を伴う限局性棘細胞症および非腺胃部上皮下の炎症または浮腫が認められた。

(2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 毒 C2)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

- 検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 40%水和剤
 組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 40%
 界面活性剤 11%
 鉍物質微粉等 49%
- 試験動物 : HAM/ICR 系 CD-1 マウス、4～6 週齢(投与時)
 体重:雄 20～28 g、雌 16～25 g、一群雌雄各 10 匹
- 試験期間 : 21 日間観察
- 投与方法 : 検体は蒸留水で懸濁調製し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与前
 一晚および投与後 4 時間は絶食した。
- 観察項目 : 一般状態および生死を 21 日間観察した。体重は全生存動物について投与
 当日(投与 1 日目)および投与 8、15 および 22 日目に測定した。死亡動物は
 発見時に、生存動物は観察期間終了時に解剖し、肉眼的病理検査を行なっ
 た。また、異常部位の代表的なものについて病理組織学的検査を行った。
- 結 果 :

投与方法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雌雄とも 4000, 4470, 5000, 5590, 6400
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄とも 5000 mg/kg 以上
死亡開始および終了時間	投与 3 日目に開始し、 投与 12 日目に終了
症状発現および消失時間	投与後まもなく発現し、 投与 18 日目に消失
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	4000

中毒症状として、立毛、異常姿勢(猫背姿勢)、四肢の蒼白、歩行失調(よろめき歩行)、
 昏睡、呼吸数の減少、眼瞼下垂、腹部膨張が見られた。

体重の増加抑制あるいは減少が、投与 8 日目には 4470 および 5590 mg/kg 群の生存
 動物の 1/3 および 6400 mg/kg 群の雌の 1 例、投与 15 日目には 4000、5590 および 6400
 mg/kg の雄 1 例、4000、4470、5000、5590 mg/kg の雌で 1～4 例、投与 22 日目には
 4000 の雌雄各 2 匹に見られた。

② 急性経皮毒性(ベルクート水和剤)

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 毒 C3)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 40%水和剤

組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 40%

界面活性剤 11%

鉱物質微粉等 49%

試験動物 : CD(SD)系ラット、7～10 週齢(投与時)

体重:雄 200～222 g、雌 200～236 g、一群雌雄各 10 匹

試験期間 : 21 日間観察

投与方法 : 検体に蒸留水を加えてペースト状にし、刈毛した背部に 24 時間閉塞塗布した。暴露終了後、検体を温水で洗浄除去した。

観察項目 : 一般状態および生死を 21 日間観察した。体重は全生存動物について投与当日(投与 1 日目)および投与 8、15 および 22 日目に測定した。観察期間終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行なった。

結 果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	症状発現なし
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状は見られなかった。体重については雌の一部に増加抑制が見られた。剖検所見では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

③ 急性吸入毒性(ベルクート水和剤)

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No. 毒 C4)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 40%水和剤
 組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 40 %
 界面活性剤 11 %
 鉱物質微粉等 49 %

試験動物 : Wistar 系ラット、6～8 週齢(入荷時)
 体重:雌雄 約 200g、一群雌雄各 5 匹

試験期間 : 21 日間観察

暴露方法 : Wright 型発生装置を用いてダストを発生させ、4時間全身暴露した。暴露濃度は 0.146、0.521 および 1.660 mg/L とし、同時に空気のみをの対照群を設けた。

実際濃度(mg/L)	0.146	0.521	1.660
粒子径 (μm)			
> 5.5	24.3%	24.3%	25.6%
3.5～5.5	11.9	13.1	15.7
2.0～3.5	23.9	25.3	24.6
0.3～2.0	17.7	18.1	18.0
0.3 >	22.1	19.2	16.1
呼吸可能な粒子(<5.5 μm)の割合(%)	75.7	75.7	74.4
チャンバー容積(L)	120		
チャンバー内通気量(L/分)	25		
暴露条件	4 時間全身暴露		

観察項目 : チャンバー内の実際濃度は、アンダーセンサンプラーのガラスフィルターで捕集した粒子の重量分析により求めた。暴露開始から暴露終了後、対照群、0.146 および 1.660 mg/L は 14 日間、0.5212 mg/L は 21 日間、一般状態および生死を観察し、体重、摂餌量、摂水量を測定した。試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行ない、肺重量を測定した。

結 果 :

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	雌雄ともに 0.146, 0.521, 1.660
LC ₅₀ (mg/L)	雄 0.62 雌 0.76
死亡開始および終了時間	雄 暴露後 1 日目～8 日目 雌 暴露後 1 日目～6 日目
症状発現および消失時間	暴露時に発現 暴露後 21 日目まで消失せず
死亡例が認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雄 0.146 雌 0.521

中毒症状として、雌雄いずれにも、顎および鼻周囲の被毛の濡れ、呼吸促迫、呼吸亢進および嗜眠が観察された。暴露後生存したラットには、観察期間の大半、ラ音および呼吸亢進などの気道に対する影響が認められた。

肉眼的病理検査では、死亡したラットに肺鬱血、胃腸管腔内の気体充満が認められたが、生存したラットにおいては、暴露に関連した異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、死亡したラットで肺胞の鬱血や出血、肺胞浮腫、限局性細気管支上皮の糜爛が見られた。また、肺重量の増加がみられた。生存ラットでは、少数例に限局性細気管支潰瘍、細気管支胚細胞の顕著な増加、細気管支上皮過形成が認められた。

④ 皮膚一次刺激性(ベルクート水和剤)

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 毒 C5)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 40%水和剤

組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 40%

界面活性剤 11%

鉱物質微粉等 49%

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、雄

体重: 2.4 ~ 2.9 kg、一群6匹

試験期間 : 7日間観察

投与方法 : 刈毛した動物の背中に検体 0.5 g を塗布し、蒸留水 0.5 mL で湿した 2.5 cm 四方のガーゼで被覆し、弾性接着包帯で 4 時間固定した。その後は皮膚に残った検体は水洗して除去した。

観察項目 : 塗布終了1日目(30分後)および翌日から塗布7日目まで毎日、塗布部位の刺激性変化(紅班、痂皮、浮腫)を判定した。

結 果 : 観察した刺激性変化の結果は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投与後の時間						
		30分	2日	3日	4日	5日	6日	7日
紅班	4	1.00	0.83	0.17	0.33	0.33	0.17	0.00
浮腫	4	0.50	0.17	0.00	0.17	0.17	0.00	0.00
合計	8	1.50	1.00	0.17	0.50	0.50	0.17	0.00

注)表の数値は6匹の平均値である。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を有するものと判断される。

⑤ 眼一次刺激性(ベルクート水和剤)

ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No. 毒 C6)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 40%水和剤
 組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 40%
 界面活性剤 11%
 鉍物質微粉等 49%

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、雄
 体重: 2.3 ~ 3.4 kg、非洗眼群一群6匹、洗眼群一群3匹

試験期間 : 7日間観察

投与方法 : 検体 0.1 g を片眼の結膜嚢内に投与し、眼瞼を閉じて1秒間閉鎖して保持した。洗眼群の3匹は投与2分後に水道水で30秒間洗眼した。

観察項目 : 投与後1、24、48、72時間、および4から7日後まで、農林水産省59農蚕第4200号「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」に従って評点した。

結 果 : 観察した刺激性変化の結果は以下の表のとおりである。

非洗眼群

動物	項目	最高 評点	投与後の時間							
			1時間	1日	2日	3日	4日	7日	14日	
1	角膜混濁・程度	4	0	0	0	0	0	0	-	
	虹彩	2	0	0	0	0	1	0	-	
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	0	-
		浮腫	4	1	1	1	0	0	0	-
2	角膜混濁・程度	4	0	1	2	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	1	0	1	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0
3	角膜混濁・程度	4	0	0	0	0	2	2	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	1	0
		浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0
4	角膜混濁・程度	4	0	0	0	0	0	0	-	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	-	
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0	-
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0	-
5	角膜混濁・程度	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	1	2	2	1	2	1	0	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 ベルクート水和剤－急毒・刺激・感作性 〉

動物	項目	最高 評点	投与後の時間							
			1時間	1日	2日	3日	4日	7日	14日	
6	浮腫	4	1	1	1	0	1	0	0	
	角膜混濁・程度	4	0	0	1	0	0	0	-	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	-	
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	0	-
		浮腫	4	1	1	1	0	1	0	-
	合計	264	24	37	46	16	42	16	0	
平均	44	4.0	6.2	7.7	2.7	7.0	2.7	0.0		

合計は、角膜混濁×程度×5+虹彩×5+(発赤+浮腫)×2により求めた。

洗眼群

群	項目	最高 評点	投与後の時間						
			1時間	1日	2日	3日	4日	7日	
洗 浄 群	角膜混濁・程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	1.0	1.3	1.3	1.0	1.0	0.0
		浮腫	4	2.0	1.0	0.7	0.3	0.0	0.0
	平均	44	18.0	13.8	12.0	7.8	6.0	0.0	

表中の数値は3匹の平均値

非洗眼群では、一過性の角膜混濁(3匹)、一過性の虹彩炎(2匹)、軽微な腫脹を伴う結膜の瀰漫性深紅色変化(5匹)が認められた。その他一過性の軽度結膜炎が見られた。投与14日後までにはすべて回復した。

洗眼群では、角膜・虹彩の刺激変化はいずれの動物にも認められなかった。結膜の瀰漫性深紅色変化(2匹)が見られ、眼瞼の一部の外反が認められる程度の結膜浮腫が1時間目のみに見られた。投与7日後までにはすべて回復した。

以上の結果から、検体はウサギの眼粘膜に対して刺激性を有するものの、2分後の洗浄で刺激性は低下した。

⑥ 皮膚感作性(ベルクート水和剤)

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 毒 C7)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1987 年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 40%水和剤
組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 40 %
界面活性剤 11 %
鉍物質微粉等 49 %

試験動物 : Hartley/Dunkin 系モルモット、1 群 20 匹
体重約 435 g (感作開始時)

試験期間 : 惹起後 72 時間観察

投与方法 : [Maximization 法]

投与量設定根拠:

感 作 : 各動物の背部を剪毛し中心線を挟んで左右対称に、検体群の動物には、Freund の Complete Adjuvant (FCA) と灌注用水の等量混合液、検体の 1% 水溶液、検体の 2% 水溶液と FCA と灌注用水の等量混合液の 1 対 1 混合液、を 0.1 ml ずつ皮内注射した。陽性対照群の動物には、ホルムアルデヒドの 0.1% 灌注用水希釈液、を 0.1 ml 皮内注射した。皮内注射の 7 日後、各動物の皮内注射部位の毛を剪毛し、検体群の動物では検体の 70% 蒸留水懸濁液を、陽性対照群の動物ではホルムアルデヒドの 10% 蒸留水溶液を染込ませた 2×4 cm の濾紙を 48 時間貼付した。

惹 起 : 感作暴露の 14 日後に各動物の左脇腹上部を剪毛し、検体群の動物には検体の 10% および 30% 懸濁液を、陽性対照群の動物の左背側部には 1% および 5% ホルムアルデヒド水溶液を、2×2 cm の濾紙に 0.2 mL 染込ませて 24 時間貼付した。

観察項目 : 惹起暴露終了後 24、48 および 72 時間目に惹起部位の紅斑および浮腫の有無を肉眼的に観察し、評点の基準に従って評点し、惹起パッチテスト反応評価のための基準に従って集計した。

評点の基準

紅斑および痂皮形成

紅斑なし	0
軽度の紅斑	1
明瞭な紅斑	2
中等度の紅斑	3
重度の紅斑(bett 様紅斑)から軽度の痂皮形成(深部まで)	4

浮腫形成

浮腫なし	0
軽度の浮腫	1
明瞭な浮腫(浮腫領域は膨隆により明瞭).....	2
中等度の浮腫(膨隆の程度は約 1 mm).....	3
重度の浮腫(膨隆の程度は 1 mm 以上で適用領域外に及ぶ) 4	

惹起パッチテスト反応評価のための基準

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

結 果 : 各観察時間における感作性変化が認められた動物数を次表に示す。

表1 検体による感作群の皮膚反応－個体別評点

動物皮膚 番号	皮膚 反応	評 点						判 定 陽性+陰性-	動物皮膚 番号	皮膚 反応	評 点						判 定 陽性+陰性-
		24時間後観察		48時間後観察		72時間後観察					24時間後観察		48時間後観察		72時間後観察		
		A	B	A	B	A	B				A	B	A	B	A	B	
1	紅斑	1	1	1	1	1	1	+	11	紅斑	1	1 ^L	1 ^L	0	0	0	-
	浮腫	1	0	1	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
2	紅斑	0	0	0	0	0	0	-	12	紅斑	0	0	0	0	0	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
3	紅斑	1 ^L	1 ^L	1 ^L	1 ^L	1 ^L	0	-	13	紅斑	1 ^L	1	1	2	1	1	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	1	0	1	0	0	
4	紅斑	0	0	0	0	0	0	-	14	紅斑	0	0	0	0	0	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
5	紅斑	1 ^L	0	0	0	0	0	-	15	紅斑	0	0	0	0	0	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
6	紅斑	0	0	0	0	0	0	-	16	紅斑	0	0	0	0	0	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
7	紅斑	0	0	0	0	0	0	-	17	紅斑	0	0	0	0	0	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
8	紅斑	0	0	0	0	0	0	-	18	紅斑	0	0	0	0	0	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
9	紅斑	0	0	0	0	0	0	-	19	紅斑	1 ^L	1	1 ^L	1	1 ^L	1 ^L	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	1	0	0	0	0	
10	紅斑	0	0	0	0	0	0	-	20	紅斑	0	0	0	0	0	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	

A: 前部投与部位－30% (w/w) 水希釈検体による誘発処置

B: 後部投与部位－10%(w/w)水希釈検体による誘発処置

L: 極めて狭い部分のみに発現した反応

表2 検体を含まない試料で感作した（陰性対照）群の皮膚反応－個体別評点

動物 番号	皮膚 反応	評 点						判 定	動物 番号	皮膚 反応	評 点						判 定
		24時間後観察		48時間後観察		72時間後観察					24時間後観察		48時間後観察		72時間後観察		
		A	B	A	B	A	B				A	B	A	B	A	B	
1	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	11	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
2	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	12	紅斑	1	0	1	0	1 ^L	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
3	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	13	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
4	紅斑	1 ^L	1 ^L	1 ^L	1 ^L	1 ^L	0	*	14	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
5	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	15	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
6	紅斑	0	1 ^L	0	0	0	0	*	16	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
7	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	17	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
8	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	18	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
9	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	19	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
10	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	20	紅斑	0	0	0	0	0	0	*
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	

A: 前部投与部位－30% (w/w) 水希釈検体による誘発処置

B: 後部投与部位－10%(w/w)水希釈検体による誘発処置

^L: 極めて狭い部分のみに発現した反応

*: 報告書では陰性/陽性の判定はされていない。

表3 陽性対照試験

対 照								陽 性 対 照									
動物 番号	皮膚 反応	評 点						判 定	動物 番号	皮膚 反応	評 点						判 定
		24時間後観察		48時間後観察		72時間後観察					24時間後観察		48時間後観察		72時間後観察		
		A	B	A	B	A	B				A	B	A	B	A	B	
1	紅斑	1	0	1	0	1	0	*	1	紅斑	2	0	2	0	1	0	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	1	0	1	0	1	0	
2	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	2	紅斑	2	2	2 ^E	2	2 ^E	1	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	2	1	2	1	2	1	
3	紅斑	1 ^L	0	0	0	0	0	*	3	紅斑	2	0	2	0	2	1 ^L	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	1	0	1	0	1	0	
4	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	4	紅斑	2	1	2	1	2 ^E	1	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	1	0	2	0	2	0	
5	紅斑	1	1 ^L	1 ^L	1 ^L	0	0	*	5	紅斑	2	1	2 ^E	1	2	1 ^L	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	1	0	1	0	1	0	
6	紅斑	1 ^L	0	1 ^L	0	1 ^L	0	*	6	紅斑	1 ^L	0	1 ^L	0	1 ^L	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
7	紅斑	1 ^L	0	1 ^L	0	1 ^L	0	*	7	紅斑	2	1	2 ^D	1 ^L	2 ^D	1 ^L	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	1	0	2	0	2	0	
8	紅斑	0	0	0	0	0	0	*	8	紅斑	2	1	2	1	1	1	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	1	0	1	0	1	0	
9	紅斑	1 ^L	0	1 ^L	0	1 ^L	0	*	9	紅斑	1	1 ^L	1	1 ^L	1	0	-
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	0	0	0	0	0	0	
10	紅斑	1	0	1 ^L	0	1 ^L	0	*	10	紅斑	2	1	2	1	2	1	+
	浮腫	0	0	0	0	0	0			浮腫	2	0	2	0	1	0	

A: 前部投与部位-30%(w/w)水希釈検体による誘発処置

B: 後部投与部位-10%(w/w)水希釈検体による誘発処置

L: 極めて狭い部分のみに発現した反応

D: 表皮の乾燥及び落屑を伴う

E: 表皮の肥厚、乾燥及び落屑を伴う

*: 報告書では陰性/陽性の判定はされていない。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 ベルクート水和剤－急毒・刺激・感作性 〉

申請者の考察:

① 急性経口毒性(ベルコートフロアブルー)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 毒 C8)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1995 年

- 検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 30%液剤
 組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 30.0 %
 水、界面活性剤等 70.0 %
- 試験動物 : Crj:CD(SD)系ラット、7 週齢(投与時)
 体重:雄 222~247 g、雌 162~174 g、一群雌雄各 5 匹
- 試験期間 : 14 日間観察
- 投与方法 : 検体は生理食塩水で調製し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与前 16 時間は絶食した。
- 観察項目 : 一般状態および生死を 14 日間観察した。体重は全生存動物について投与直前および投与後 1、2、3、7、10、14 日目に測定した。死亡動物は死亡時に、生存動物は観察期間終了時に解剖し、肉眼的病理検査を行なった。
- 結 果 :

投与方法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雌雄とも 2500, 5000, 10000, 20000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 7071 (4815~10384) 雌: 4665 (3345~6507)
死亡開始および終了時間	投与後 2 日目に開始し、 投与後 8 日目に終了
症状発現および消失時間	投与直後に発現し、 試験終了時まで消失せず
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2500

中毒症状として、下痢、肛門周囲の被毛の汚れ、流涎、口鼻および尿道口周囲の被毛の汚れ、自発運動低下、呼吸数減少、紅涙、体温低下が認められた。体重の増加抑制が 5000 mg/kg 以上の投与量で認められた。剖検では、死亡動物に胃内に投与液の貯留、小腸および盲腸の水分貯留による拡張、胸腺、脾臓および腸管膜リンパ節の萎縮、腺胃に暗赤色点が見られた。生存動物には胸腺、脾臓および腸管膜リンパ節の萎縮が見られた。

(2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 毒 C9)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1995 年

- 検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 30%液剤
 組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 30.0 %
 水、界面活性剤等 70.0 %
- 試験動物 : Crl:CD-1(ICR)系マウス、7 週齢(投与時)
 体重:雄 30.0~33.6 g、雌 21.0~25.0 g、一群雌雄各 5 匹
- 試験期間 : 14 日間観察
- 投与方法 : 検体は生理食塩水で調製し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与前 16 時間は絶食した。
- 観察項目 : 一般状態および生死を 14 日間観察した。体重は全生存動物について投与直前および投与後 1、2、3、7、10、14 日目に測定した。死亡動物は死亡時に、生存動物は観察期間終了時に解剖し、肉眼的病理検査を行なった。
- 結 果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2500, 5000, 10000, 20000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄とも 8123 (5286~12482)
死亡開始および終了時間	投与後 1 日目に開始し、 投与後 6 日目に終了
症状発現および消失時間	投与後 30 分に発現し、 投与後 6 日目に終了
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2500

中毒症状として、各投与動物に下痢、肛門周囲の被毛の汚れが、死亡動物では死亡前 3 日間に自発運動低下、粗毛、体温低下、肛門周囲の被毛の汚れが見られた。体重は雄では 10000 mg/kg 以下で一時的な増加抑制あるいは減少の後、増加に転じたが、20000 mg/kg では減少の一途を辿った。雌では 5000 mg/kg 以下では一時的な増加抑制あるいは減少の後、増加に転じたが、10000 mg/kg 以上では減少の一途を辿った。剖検では、死亡動物に胃内に投与液の貯留、小腸および盲腸の水分貯留による拡張、胸腺の萎縮、腺胃に暗赤色点が見られた。また、小腸や大腸内には内容物が見られなかった。生存動物には異常は見られなかった。

② 急性経皮毒性(ベルコートフロアブルー)

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 毒 C10)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1995 年

- 検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 30%液剤
組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 30.0 %
水、界面活性剤等 70.0 %
- 試験動物 : CRj:CD(SD)系ラット、7 週齢(投与時)
体重:雄 264~276 g、雌 178~196 g、一群雌雄各 5 匹
- 試験期間 : 14 日間観察
- 投与方法 : 検体を刈毛した背部に塗布し、ガーゼで覆った上から粘着テープで固定し、24 時間閉塞塗布した。
- 観察項目 : 一般状態および生死を 14 日間観察した。体重は全動物について投与直前および投与後 1、2、3、7、10、14 日目に測定した。試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行なった。

結 果 :

投与方法	経 皮
投 与 量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	症状発現なし
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状は見られなかった。体重にはサージカルテープでの固定に起因するストレスによると考えられる変化の他には投与による影響は見られなかった。剖検所見では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

③ 急性吸入毒性(ベルクートフロアブルー)

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No. 毒 C11)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1996 年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 30%液剤

組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 30.0 %

水、界面活性剤等 70.0 %

試験動物 : CD(SD)系ラット、5 週齢(投与時)

体重:雄 171~188 g、雌 142~159 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

暴露方法 : 二流体ネブライザーを用いてミストを発生させ、ミスト発生限界である 1.0 mg/L を設定濃度として4時間全身暴露した。チャンバー内のミストをカスケードインパクターを用いて分級捕集し、高速液体クロマトグラフィーで分析して実際濃度を求めた。

設定濃度(mg/L)	1.0
実際濃度(mg/L)	0.9
粒子径分布(%) ¹⁾	
≥ 9.0 (μm)	21.5
9.0~5.8	29.2
5.8~4.7	8.4
4.7~3.3	24.8
3.3~2.1	12.5
2.1~1.1	3.1
1.1~0.7	0.5
0.7~0.4	0
0.4 ≥	0
空気力学的質量中位径(μm)	5.7
呼吸可能な粒子(<9.0 μm)の割合(%)	78.5
チャンバー容積(L)	510
チャンバー内通気量(L/分)	105
暴露条件	ミスト4時間全身

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 ベルクートフロアブルー 急毒・刺激・感作性 〉

観察項目 : 一般状態および生死を、暴露開始から暴露終了後 2 時間までは 1 時間ごとに、その後は 1 日 1 回 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 3、7 および 14 日に測定した。試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	雌雄ともに 0.9
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄ともに > 0.9
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	暴露中に発現し 暴露後 1 時間目に消失
死亡例が認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄ともに 0.9

中毒症状として、暴露中から暴露終了後 1 日目まで雌雄に関係なく軽微な流涎および鼻汁が見られた。体重は暴露後 3 日目に減少する動物が見られたが、7 日目には全例回復した。剖検所見では、異常は見られなかった。

④ 皮膚一次刺激性(ベルクートフロアブルー)

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 毒 C12)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1995 年

- 検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 30%液剤
組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 30.0 %
水、界面活性剤等 70.0 %
- 試験動物 : 日本白色種ウサギ、雌 14 週齢(投与時)
体重: 2.42 ~ 2.78 kg、一群 6 匹
- 試験期間 : 3 日間観察
- 投与方法 : 動物の背中を刈毛し、2.5 cm 四方のリント布に検体 0.5 mL を浸み込ませて貼付し、油紙で被覆して固定した。貼付時間は 4 時間とし、その後は皮膚に残った検体は注射用水で湿らせた脱脂綿により除去した。
- 観察項目 : 塗布終了後 1 時間、24 時間、48 時間、72 時間後に塗布部位の刺激性変化(紅班、痂皮、浮腫)を判定し農林水産省 59 農蚕第 4200 号「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」に従って評点した。
- 結 果 : 観察した刺激性変化の結果は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投与後の時間			
		1時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅班	4	0.0	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.0	0.0	0.0	0.0

注)表の数値は6匹の平均値である。

試験終了時までいずれの動物にも皮膚反応が認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して刺激性を有さないものと判断される。

⑤ 眼一次刺激性(ベルコートフロアブルー)

ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No. 毒 C13)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1995 年

- 検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 30%液剤
 組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 30.0 %
 水、界面活性剤等 70.0 %
- 試験動物 : 日本白色種ウサギ、雌 14 週齢(投与時)
 体重: 2.74 ~ 3.00 kg、非洗眼群一群 6 匹、洗眼群一群 3 匹
- 試験期間 : 7 日間観察
- 投与方法 : 検体 0.1 mL を片眼の結膜嚢内に投与し、眼瞼を閉じて 1 秒間閉鎖して保持した。洗眼群の 3 匹は投与 2~3 分後から微温水 200mL で 1 分間洗眼した。
- 観察項目 : 投与後 1、24、48、72 時間、および 4 から 7 日後まで、農林水産省 59 農蚕第 4200 号「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」に従って評価した。
- 結 果 : 観察した刺激性変化の結果は以下の表のとおりである。

非洗眼群

動物	項 目		最高 評点	投与後の時間							
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	7 日
1	角膜混濁	程度	4	0	1	1	1	1	0	0	0
		面積	4	0	1	1	1	1	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	1	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0	0	0	0	0
2	角膜混濁	程度	4	1	1	1	0	0	0	0	0
		面積	4	1	1	1	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	1	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0	0	0	0	0
3	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0	0	0	0	0

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 ベルクートフロアブルー急毒・刺激・感作性 〉

動物	項目	最高 評点	投与後の時間								
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	7 日	
4	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0	0	0	0
5	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0	0	0	0	0
6	角膜混濁	程度	4	1	1	1	0	0	0	0	0
		面積	4	1	1	1	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0	0	0	0	0
合計		660	56	39	27	13	13	6	2	0	
平均		110	9.33	6.50	4.50	2.17	2.17	1.00	0.33	0.00	

洗眼群

群	項目	最高 評点	投与後の時間								
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	7 日	
洗 淨 群	角膜混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合計		110	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

表中の数値は3匹の平均値

非洗眼群では投与後1日目から角膜混濁、虹彩の充血、結膜の発赤と浮腫および分泌物が見られ、投与後7日目で消失した。洗眼群では反応は見られなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性を有するものと考えられる。

⑥ 皮膚感作性(ベルクートフロアブルー)

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 毒 C14)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1995 年

検 体 : イミノクタジンアルベシル酸塩 30%液剤
組成: イミノクタジンアルベシル酸塩 30.0 %
水、界面活性剤等 70.0 %

試験動物 : ハートレー系モルモット、雌 7 週齢(感作開始時)
体重 287~342 g(感作開始時)
検体群:20 匹/群、陽性対照群:10 匹/群

試験期間 : 惹起後 48 時間観察

投与方法 : [Maximization 法]

投与量設定根拠;

感 作 : 各動物の投与部位を剪毛し、検体群の動物には、Freund の Complete Adjuvant(FCA)と注射用水の等量混合液、検体の 2%水溶液、検体の 4%水溶液と FCA の 1 対 1 混合液を 0.1 ml ずつ皮内注射し、陽性対照群の動物には、FCA と注射用水の等量混合液、DNCB の 0.1%オリーブ油溶液、DNCB の 0.2% FCA 溶液と注射用水の等量混合液を 0.1 ml ずつ皮内注射した。皮内注射の 7 日後、各動物の皮内注射部位周囲の毛を剪毛し、検体群の動物では検体の原液を、陽性対照群の動物では DNCB の 1%オリーブ油溶液を直径 2.5 cm のパッチに塗布して貼付した。

惹 起 : 経皮感作の 14 日後に各動物の投与部位を剪毛し、検体群の動物の左背側部に検体の 25%液を、陽性対照群の動物の左背側部には 0.01% DNCB を直径 2.5 cm のパッチに塗布して 24 時間貼付した。

観察項目 : 皮内感作日から惹起暴露終了後の皮膚観察終了日まで、動物の一般状態を毎日観察した。体重は皮内感作日、経皮感作日、惹起 3 日後に測定した。皮膚反応は貼付除去後 24 および 48 時間目に行い、Magnusson & Kligman の方法で下記の基準に従って評点し、以下に従って分類した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 ベルクートフロアブルー急毒・刺激・感作性 〉

皮膚反応率(%)	等級	分類
0.....	0.....	なし
1 ~ 8.....	1.....	弱い
9 ~ 28.....	II.....	軽度
29 ~ 64.....	III.....	中等度
65 ~ 80.....	IV.....	強い
81 ~ 100.....	V.....	激しい

結果 : 各観察時間における感作性変化が認められた動物数を以下に示す。

群				供試動物数	反応動物数										陽性率 (%)
					24 時間後					48 時間後					
					皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	
皮内感作	経皮感作	惹起		0	1	2	3	0		1	2	3			
検体	2%検体*4	検体原液	25 %検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0
	—	—	25 %検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0
陽性対照	0.1% DNCB	1.0 % DNCB	0.01% DNCB	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100
	—	—	0.01% DNCB	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	10/10	0

惹起終了後、検体群には皮膚反応は見られなかった。一方、陽性対照群では高い陽性動物数であった。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 スミチオンベルコート粉剤DL-急毒・刺激・感作性 〉

① 急性経口毒性(スミチオンベルコート粉剤DL)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 毒 C1)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

検 体 : MEP・イミノクタジンアルベシル酸塩粉剤

組成: MEP 3.0 %

イミノクタジンアルベシル酸塩 2.0 %

鉱物質微粉等 95.0 %

試験動物 : SD 系ラット、5~7 週齢

開始時体重:雄 82~95 g、雌 84~100 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

投与方法 : 検体は蒸留水で 50 %(w/v)に調製し、一晩絶食させたラットに 1 回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与第8および 15 日に測定した。試験終了時にすべての生存動物を屠殺・剖検した。

結 果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄とも > 5000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	投与 7 分後に発現し、雄は 10 日、雌は 8 日に消失
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

投与による一般状態の変化として、立毛、円背位、よろめき歩行、嗜眠、四肢の蒼白化、つま先歩行、被毛粗剛および眼色の暗調化がすべてのラットで認められた。さらに、呼吸異常、部分的眼瞼閉鎖、流涎、排便の異常、流涙、接触に対する過敏、行動の活発化、削瘦、眼球突出および振戦のすべてが一匹または複数のラットで認められた。投与に関係するその他の症状は認められず、これらの症状は投与第 10 日に完全に回復した。

すべての動物は試験期間を通して正常な体重増加量を示した。

投与第 15 日に屠殺した動物の肉眼的検査において異常は認められなかった。

(2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 毒 C2)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

検 体 : MEP・イミノクタジンアルベシル酸塩粉剤

組成: MEP 3.0 %
イミノクタジンアルベシル酸塩 2.0 %
鉍物質微粉等 95.0 %

試験動物 : ICR 系マウス、5~7 週齢(投与時)

体重:雄 20~25 g、雌 17~21 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

投与方法 : 検体は蒸留水で 50 %(w/v)に調製し、一晚絶食させたマウスに 1 回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与第 8 および 15 日に測定した。試験終了時にすべての生存動物を屠殺・剖検した。

結 果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄とも > 5000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	投与 5 分後に発現し、雄では投与 4 日、雌では 5 日に消失した。
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

投与による一般状態の変化として、立毛、円背位、歩行異常、嗜眠、四肢の蒼白化、眼色の暗調化がすべてのマウスで認められた。これらの症状は投与第 5 日に全例で回復した。

2 匹の雄マウスで投与第 15 日に体重増加が認められなかった。その他のすべてのマウスでは試験期間を通じて順調に体重は増加した。

投与第 15 日の試験終了時に屠殺した動物では肉眼的異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

(スミチオンベルコート粉剤DL-急毒・刺激・感作性)

② 急性経皮毒性(スミチオンベルコート粉剤DL)

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 毒 C3)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

検 体 : MEP・イミノクタジンアルベシル酸塩粉剤

組成: MEP 3.0 %

イミノクタジンアルベシル酸塩 2.0 %

鉱物質微粉等 95.0 %

試験動物 : SD 系ラット、8~11 週齢

体重:雄 253~266 g、雌 217~230 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

投与方法 : ラットの背部の皮膚の全体表面積の約 10%に相当する部分を除毛し、翌日
検体を蒸留水で調製し、50 mm×50 mm の範囲に均一に塗布した。その上
をガーゼおよび無刺激性の包帯で覆い、検体と皮膚を 24 時間接触させた。
その後残存する検体を除去した。

観察項目 : 一般状態および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与第 8 おおび
15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物を屠殺・解剖した。

結 果 :

投与方法	経 皮
投 与 量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	症状発現なし
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

観察期間を通じ、雌雄とも死亡および臨床症状は観察されなかった。雌雄各 1 匹の適用部位に極軽度な紅斑(評点 1)が認められたが試験第 3 日には完全に回復した。浮腫は認められなかった。

すべてのラットは試験期間を通して正常な体重増加を示した。

剖検において肉眼的異常は認められなかった。

③ 皮膚一次刺激性(スミチオンベルコート粉剤DL)

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No. 毒 C5)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

検 体 : MEP・イミノクタジンアルベシル酸塩粉剤

組成: MEP 3.0 %

イミノクタジンアルベシル酸塩 2.0 %

鉍物質微粉等 95.0 %

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、10 週齢

体重: 2.1 ~ 3.1 kg、一群 6 匹

試験期間 : 72 時間観察

投与方法 : 6 匹のウサギの背部から腹側部にかけての約 10 cm×10 cm を適用 24 時間前に除毛した。検体 0.5 g を適用し、2.5 cm×2.5 cm のガーゼパッチで覆った。検体と皮膚を 4 時間接触させた。その後残存する被験物質を温湯で除去した。

観察項目 : 塗布終了後 60 分、2、3 および 4 日に皮膚の変化(紅斑および浮腫)を観察した。

刺激性変化は 59 農蚕第 4200 号 昭和 60 年 1 月 28 日における「毒性試験に関する試験成績を作成するに当たっての指針」「皮膚一次刺激性試験」の「別表 皮膚刺激の評価」にしたがって採点した。

結 果 : 観察した刺激性変化の結果は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投与後の時間			
		60 分	2 日	3 日	4 日
紅斑	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の数値は 6 匹の平均値

本検体の暴露による皮膚への刺激性は観察されなかった。

本検体は、ウサギの皮膚に対する刺激性を持たないものと判断される。

⑤ 眼一次刺激性(スミチオンベルコート粉剤DL)

ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No. 毒 C6)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

- 検 体 : MEP・イミノクタジンアルベシル酸塩粉剤
- | | | |
|-----|----------------|--------|
| 組成: | MEP | 3.0 % |
| | イミノクタジンアルベシル酸塩 | 2.0 % |
| | 鉍物質微粉等 | 95.0 % |
- 試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、12 週齢
- 体重: 2.3 ~ 3.2 kg、非洗眼群 一群 6 匹、洗眼群 一群 3 匹
- 試験期間 : 72 時間観察
- 投与方法 : 検体 0.1 g を 6 匹のウサギの片眼に投与し、他眼は無処置対照とした。洗眼群(3 匹)を設け、投与 2 分後に蒸留水で 30 秒間洗眼した。
- 観察項目 : 検体投与後 1、24、48、72 時間、および 7 日後に、角膜、虹彩および結膜の変化を観察した。刺激性変化は 59 農蚕第 4200 号 昭和 60 年 1 月 28 日における「毒性に関する試験成績を作成するに当たっての指針」「眼一次刺激性試験」の「別表 眼の反応の評価」に従って評点した。
- 結 果 : 観察した刺激性変化の結果は次のページの表に示した。
- 検体の一回点眼により、非洗眼群のウサギの目に明瞭な結膜の刺激から中等度の刺激が認められた。反応はこれらの動物では、点眼後第 3、4、7 日までに消失した。
- 5 匹のウサギで点眼後 72 時間まで眼刺激性が残ったことから、さらに 3 匹のウサギで処理 2 分後に水による洗眼を実施した。明瞭な結膜への刺激がこれらのウサギに認められた。反応は処理後 4 または 7 日で回復した。
- 洗眼効果は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 スミチオンペルコート粉剤DL-急毒・刺激・感作性 〉

非洗眼群

動物	項目		最高 評点	投与後の時間					
				1時間	1日	2日	3日	4日	7日
1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	-
		範囲	4	0	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	-
	結膜	発赤	3	2	2	3	1	0	-
		浮腫	4	2	1	1	0	0	-
2	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	-
		範囲	4	0	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	-
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	0	-
		浮腫	4	1	0	0	0	0	-
3	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	1	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
4	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	-	-
		範囲	4	0	0	0	0	-	-
	虹彩		2	0	0	0	0	-	-
	結膜	発赤	3	2	2	1	0	-	-
		浮腫	4	0	0	0	0	-	-
5	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	-
		範囲	4	0	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	-
	結膜	発赤	3	2	2	1	1	0	-
		浮腫	4	1	0	0	0	0	-
6	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	-
		範囲	4	0	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	-
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	0	-
		浮腫	4	0	0	0	0	0	-
合計			660	34	26	24	12	0	-
平均			110	5.7	4.3	4.0	2.0	0.0	-

合計は、角膜混濁×程度×5+虹彩×5+(発赤+浮腫)×2により求めた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 スミチオンベルクート粉剤DL-急毒・刺激・感作性 〉

洗眼群

動物	項目		最高 評点	投与後の時間					
				1時間	1日	2日	3日	4日	7日
7	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	-
		範囲	4	0	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0	-
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	0	-
		浮腫	4	0	0	0	0	0	-
8	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	1	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
9	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	1	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合計			330	12	12	12	6	0	-
平均			110	2.0	2.0	2.0	1.0	0.0	-

合計は、角膜混濁×程度×5+虹彩×5+(発赤+浮腫)×2により求めた。

⑤ 皮膚感作性(スミチオンベルコート粉剤DL)

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 毒 C7)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

検 体 : MEP・イミノクタジンアルベシル酸塩粉剤
組成: MEP 3.0 %
イミノクタジンアルベシル酸塩 2.0 %
鉍物質微粉等 95.0 %

試験動物 : Hartley/Dunkin 系モルモット、4~7 週齢
1 群 20 匹、体重約 410~515 g (感作開始時)

試験期間 : 惹起後 48 時間観察

投与方法 : [Maximization 法]

投与量設定根拠;

以上の結果より、本試験には以下の濃度を設定した。

感作皮内注射: 2.5 %(w/v)アレンビコールD溶液

感作局所施用: 70 %(w/v)アレンビコールD溶液

惹起局所施用: 70 および 35 %(w/v)アレンビコールD溶液

感 作 : 肩部の背部を 40 mm×60 mm の範囲に除毛し、その部位に以下のように調製した注射液を 3 対、各 0.1 ml を皮内注射した。

1) 等量の注射用蒸留水で希釈した Freund's complete adjuvant (FCA)

2) 検体の 2.5 %(w/v)アレンビコールD溶液

3) FCA と等量のアレンビコールDで調製した検体の 2.5 %(w/v)溶液

陽性対照としては同様に以下の注射液を用いた。

1) 等量の注射用蒸留水で希釈した FCA

2) hexyl cinnamic aldehyde (HCA)の 10 %アレンビコールD溶液

3) FCA と等量のアレンビコールDで調製した HCA の 10 %溶液

感作局所施用は、皮内注射 6 日後に注射部位を再度除毛後、剃毛し、10 %ラウリル硫酸ナトリウム含有ワセリンで 24 時間前処理し、検体の 70 %アレンビ

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

〈 スミチオンベルコート粉剤DL-急毒・刺激・感作性 〉

コールD溶液を約 0.4 ml 染込ませた 20 mm×40mm の濾紙を 48 時間閉鎖塗布した。

陽性対照には前処理をせず、10 % HCA 水溶液を同様に適用した。

惹起：感作局所施用 2 週間後に、モルモットの側腹部を除毛後、剃毛し、除毛部前部には検体の 70%(w/v)アレンビコールD溶液、後部には 35%(w/v)アレンビコールD溶液を染込ませた 20 mm×20mm の濾紙のパッチを 24 時間閉鎖塗布した。

陽性対照として、HCA 原液および 50 %溶液を同様に適用した。

観察項目：惹起暴露終了後 24 および 48 時間目に惹起部位の紅斑および浮腫の有無を肉眼的に観察した。

結果：各観察時間における感作性変化が認められた動物数を次頁の表に示した。惹起暴露のパッチ除去後 24 および 48 時間の観察において、試験群 20 匹の動物には皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、本検体は皮膚感作性を有さないと判断される。

群	感作 1 ^{b)} 感作 2 ^{c)} 惹起			供試動物数	皮膚反応の種類	感作反応動物数										平均 ^{a)} 評価点		感作性陽性率 (%)			
						24 時間後					48 時間後					24 時間	48 時間				
						皮膚反応評点					皮膚反応評点										
						0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計				
検体	2.5%	70%	70%	20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0	0	
					浮腫	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0		
			35%	20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0		
					浮腫	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0		
	溶媒	溶媒	70%	20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0		0
					浮腫	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0		
			35%	20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0		
					浮腫	20	0	0	0	0	0/20	0	0	0	0	0	0/20	0	0		
陽性対照	10%	10%	100%	10	紅斑	2	2	6	0	0	8/10	2	4	4	0	0	8/10	1.4	1.2	90	
					浮腫	2	7	1	0	0	8/10	2	5	3	0	0	8/10	0.9	1.1		
			50%	10	紅斑	3	1	6	0	0	7/10	2	3	5	0	0	8/19	1.3	1.3		
					浮腫	3	5	2	0	0	7/10	2	8	0	0	0	8/10	0.9	0.8		
	溶媒	溶媒	100%	10	紅斑	9	1	0	0	0	1/10	0	0	0	0	0	0/10	0.1	0	10	
					浮腫	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0/10	0	0		
			50%	10	紅斑	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0/10	0	0		
					浮腫	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0/10	0	0		

a): Σ (各観察時の各評点の動物数×評点)／総評価動物数、b): 皮内注射、c): 局所塗布