

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(繁殖)

(12) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

1) ラットを用いた繁殖試験

資料 No. : 1-14

試験機関: (財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年: 1993 年

検体の純度: % (LotNo. ), % (LotNo. )

供試動物: CD(SD)系 SPF ラット 1 群♂♀各 24 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間: P 世代; 投与開始から F<sub>1</sub> 児離乳時までの 18 週間

(1992 年 1 月 16 日 ~ 1992 年 5 月 19 日)

F<sub>1</sub> 世代; 離乳時から F<sub>2</sub> 児離乳時までの 18 週間

(1992 年 5 月 14 日 ~ 1992 年 9 月 22 日)

(一部の早動物では交配に要した期間によって 19 週間)

投与方法: 検体 0、50、1000 及び 10000ppm を含有した飼料を自由に摂食させた。

検体を混入した飼料は 5 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠:

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(繁殖)

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は雄の発情を採取した膈垢のギムザ染色により確かめ、雌雄1対1で同居させ、翌朝、膈栓及び精子の有無により交尾を確認し、その日を妊娠0日とした。妊娠の確認は、分娩の有無及び剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べることにやって行った。

繁殖性に関する指標；交尾、妊娠及び出産時期の観察に基づき次の指標を求めた。

性周期；各群の雌動物から膈垢を採取し、ギムザ染色を施して顕微鏡で観察

交尾率 (%) = (交尾を認めた動物数/交配に用いた動物数) × 100

妊娠率 (%) = (妊娠雌数/交尾を認めた雌数) × 100

出産率 (%) = (正常出産雌数/妊娠雌数) × 100

妊娠期間；交尾を認めた日から分娩完了（哺育0日）までの日数

着床数；剖検時の子宮内着床痕数

精巣上体の精子の数及び形態；精子数は精巣上体尾当りの数及び精巣上体1g当りの数、精子の形態は正常形態精子の百分率

病理組織学的検査；哺育児の離乳後に屠殺した親動物のうち、対照群と10000ppm群の各世代の全親動物、また、50及び1000ppm群の交尾及び妊娠不成立の雌雄の組の動物について、卵巣、子宮、膈または精巣、精巣上体、精のう、前立腺と下垂体について検査した。剖検の結果、肉眼的に異常が認められた臓器または組織についても検査を行った。

(繁殖)

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
P	生育 (10週)	♂♀1対1で交配。交尾は 膣栓及び膣垢内の精子の 有無で確認(妊娠0日)	一般状態を毎日観察 体重、摂餌量を週1回測定
	交配 (1-3週)		♂では体重及び摂餌量を隔週ご とに、♀では妊娠0、7、14及び 20日に測定
	妊娠 (3週)		
	出産	出産状況の観察、新生児の外表面 観察、新生児数、死産児数、性別、 同腹生存児体重測定	
	哺育 (3週)	出産後4日目各同腹児数を ♂♀各4匹に調整(不可能 な場合、♂♀計8匹)	母動物の出産後0、7、14及び21 日及び剖検日に体重を、0、7、14 及び21日に摂餌量を測定  新生児について、哺育0、4、7、 14及び21日に体重を、哺育0、4、 21日に生存率を測定。なお哺育4 日目屠殺時に剖検、異常の検査
F <sub>1</sub>	離乳	継代用の各群♂♀各24匹 を選抜	親動物の対照群と最高投与群、妊 娠不成立の♂♀組の動物の低用量 群と中間用量群について病理組織 学的検査 継代用以外の児動物を屠殺、肉眼 的病理検査
	生育 (10週)	} (P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	交配 (1-3週)		(P世代に準ずる)
	妊娠 (3週)		試験期間中死亡した動物の剖検
	出産		(P世代に準ずる)
	哺育 (3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
F <sub>2</sub>	離乳		離乳後、F <sub>2</sub> 親動物及びF <sub>2</sub> 離乳 動物の全てを屠殺、剖検

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

結果:

(繁殖)

世代		親:P		児:P <sub>1</sub>		親:F <sub>1</sub>		児:F <sub>2</sub>	
投与群 (ppm)		対照	50	1000	10000	対照	50	1000	10000
動物数	♂	24	24	24	24	24	24	24	24
	♀	24	24	24	24	24	24	24	24
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
死亡数 (匹)	♂	0	1 途中屠殺	0	0	0	0	1 途中屠殺	0
	♀	0	0	0	0	0	0	0	1
体重変化	♂	—	—	—	—	—	—	—	—
	♀	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量	♂	—	—	—	—	—	—	—	—
	♀	—	—	—	—	—	—	—	—
					増加抑制				
					哺育14-21日に有意な低値				哺育後期低下傾向
検体採取量 <sup>(1)</sup> (mg/kg/day)	♂	0	3.569	71.21	715.9	0	4.137	85.47	858.1
	♀	0	4.071	84.47	821.2	0	4.813	98.56	985.7
肉眼的病理検査		—	—	—	—	—	—	—	—
臓器重量	♂	—	下垂体	下垂体	下垂体	—	—	—	—
	♀	—	(a)	(b)	(a)	—	—	—	—
					肝臓 (c)				肝臓、腎臓 (d) 肝臓 (c)
病理組織学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
性周期		—	—	—	—	—	—	—	—
交尾率 (%)	♂	100	100	100	100	100	100	95.7	100
	♀	100	100	100	100	100	100	95.8	100
妊娠率 (%)		100	100	100	100	95.8	95.8	91.3	87.5
出産率 (%)		100	100	95.8	100	100	100	100	95.0
妊娠期間 (日)		22.3	22.3	22.2	22.3	22.2	22.3	22.2	22.2
精子数	♂	179	189	193	216	176	186	196	198
	尾当り	±43	±32	±22	±50	±19	±37	±32	±42
精巣上体	1g当り	569	556	556	672	591	642	726	689
	±	±112	±110	±57	±125	±89	±107	±113	±103
正常形態精子 (%)		93.1 ±4.6	95.3 ±1.9	94.6 ±4.0	93.8 ±2.9	94.3 ±6.4	93.8 ±4.4	94.4 ±2.6	96.0 ±2.1

— ; 検体の影響認められず

\* ; P ≤ 0.05

(a) ; 下垂体の絶対重量に有意な低値

(b) ; 下垂体の絶対重量と相対重量に有意な低値

(c) ; 肝臓の絶対重量と相対重量に有意な高値

(d) ; 肝臓の相対重量及び腎臓の絶対重量と相対重量に有意な高値

(1) ; 検体採取量については生育期間の平均値を申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(繁殖)

世代	親:P				親:F <sub>1</sub>					
	対照	50	1000	10000	対照	50	1000	10000		
投与群 (ppm)	対照	50	1000	10000	対照	50	1000	10000		
動物 児	着床数	14.8 ±2.2	15.5 ±2.7	14.9 ±3.1	15.7 ±2.1	14.7 ±2.5	15.3 ±2.1	15.5 ±1.5	15.2 ±3.6	
	平均産児数	13.5 ±2.1	14.0 ±3.4	14.6 ±1.8	14.5 ±2.0	13.3 ±2.8	14.5 ±2.3	13.9 ±1.5	15.1 ±1.4	
	死産児数	1	8*	8*	6	10	12	11	7	
	新生児数	323	336	336	347	306	333	292	286	
	外表異常	0	1	0	1	2	0	2	0	
	性比 (♂/♀)	1.228	0.942	0.965	1.000	0.949	1.056	0.934	1.058	
	同腹生存児 体重	—	—	—	♂/増加 抑制傾向 ♀/増加 抑制	—	—	—	♂♀/ 増加抑制 傾向	
	各群平均体 重 (g)	0日目♂	6.9 ±0.5	6.9 ±0.6	6.8 ±0.4	6.6 ±0.5	6.9 ±0.4	6.9 ±0.5	6.8 ±0.4	6.9 ±0.5
			♀	6.5 ±0.5	6.4 ±0.5	6.3 ±0.3	6.2 ±0.5	6.5 ±0.6	6.5 ±0.4	6.5 ±0.3
		21日目♂	61.1 ±4.2	60.7 ±4.4	68.4 ±4.2	54.1** ±4.1	62.4 ±4.6	59.5 ±5.4	60.3 ±5.6	56.2** ±4.4
			♀	58.1 ±3.5	57.4 ±4.2	55.6 ±4.2	51.1** ±3.8	57.9 ±4.9	56.3 ±5.3	57.1 ±4.4
	4日目 生存率 (%)	98.2	98.4	99.3	96.7	96.5	99.4	97.8	99.1	
	離乳時 生存率 (%)	99.5	99.5	100.0	99.5	99.5	100.0	99.4	99.3	
	肉眼的 病理検査	—	—	—	—	—	—	—	—	
病理組織学 的検査	—	—	—	—	—	—	—	—		

— ; 検体の影響認められず

\* ; P ≤ 0.05

\*\* ; P ≤ 0.01

(2) ; 哺育21日目の生存率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(繁殖)

(前頁表脚注の続き)

検定方法：

親動物の体重、飼料摂取量、着床数、精巣上体の精子数、平均産児数、臓器重量、  
哺育児体重；

Bartlett の検定 → 

┌	一元配置分散分析法 → Dunnett 法または Scheffé 法
	(等分散の場合)
└	Kruskal-Wallis の検定 → Dunnett 型または Scheffé 型
	(不等分散の場合)      順位和検定法

親動物の臨床所見の出現頻度、交尾率、妊娠率、出産率、剖検所見の出現頻度、病理組織  
学的所見の出現頻度、児の性比、臨床所見の出現頻度、剖検所見の出現頻度；

Fisher の直接確率計算法

母動物の妊娠期間、精巣上体の正常形態精子の出現頻度および哺育児の生存率；

Mann-Whitney の *U* 検定

体重については、10000ppm 群 P の雌動物で増加抑制が認められたが、P の雄及び F<sub>1</sub> 雄親動物では異常は認められなかった。また、10000ppm 群で F<sub>2</sub> の雌雄哺育児の離乳時に増加抑制が認められたが、これは P 及び F<sub>1</sub> 雌親動物の哺育期間後期における飼料摂取量の低下に関連しており、検体投与の影響と考えられた。

臓器重量においては、P 雄動物の下垂体の絶対重量に全投与群で、相対重量には 1000ppm 群で有意な低値がみられた。しかし、これら絶対重量と相対重量のいずれにも用量相関性がみられないこと（直線回帰分析）、F<sub>1</sub> 雄親動物ならびに P 及び F<sub>1</sub> 雌親動物では各投与群と対照群の間で有意な差はみられていないこと、さらに病理組織学的にも変化が認められていないことから、この変化は今回の投与群の絶対重量（13.3～13.5 mg）が当研究所における背景対照データ（12.0～14.9 mg）の範囲内にあるのに対し、対照群の値（15.6 mg）がその上限を上回っていたことによる、検体投与とは関連のない偶発的なものと考えられた。10000ppm 群の F<sub>1</sub> 雄親動物における肝臓の相対重量及び腎臓の絶対重量と相対重量に有意な高値が認められ、P 及び F<sub>1</sub> 雌親動物における肝臓の絶対重量と相対重量にも有意な高値が認められた。これらは検体投与の影響によるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(繁殖)

病理組織学的検査においては、いずれの組織についても検体投与による変化は認められなかった。

P及びF<sub>1</sub>親動物の繁殖能力では、精巢上体1g当りの精子数において、1000ppm群のF<sub>1</sub>雄親動物で偶発的にみられた有意な高値を除いては、いずれの指標にも検体投与の影響は認められなかった。

F<sub>1</sub>の児動物の死産児数で50及び1000ppm群にみられた有意な高値は偶発的なものと考えられた。

以上の結果から、2世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、10000ppm群においてPの雌及びF<sub>2</sub>の児動物で体重の増加抑制、F<sub>1</sub>雄親動物で肝臓の絶対重量及び腎臓の絶対重量と相対重量の増加、P及びF<sub>1</sub>雌親動物で肝臓の絶対重量と相対重量の増加が認められたが、繁殖能に対しては何ら影響が認められなかった。

したがって、親動物及び児動物に対する無影響量は1000ppm (P; 雄 71.21mg/kg/day、雌 84.47mg/kg/day、F<sub>1</sub>; 雄 85.47mg/kg/day、雌 98.56mg/kg/day)、最小中毒量10000ppm (P; 雄 715.9mg/kg/day、雌 821.2mg/kg/day、F<sub>1</sub>; 雄 858.1mg/kg/day、雌 985.7mg/kg/day)であり、10000ppmでも繁殖性に及ぼす影響はないと判断された。

#### 【申請者注】

##### 1. 無毒性量について

上記の結果から、ラット繁殖試験における親動物及び児動物に対する無毒性量は1000ppm (P; 雄 71.21mg/kg/day、雌 84.47mg/kg/day、F<sub>1</sub>; 雄 85.47mg/kg/day、雌 98.56mg/kg/day)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科研製薬株式会社にある。

(備奇/ラット)

## 2) ラットを用いた備奇形性試験

資料No. : 1-15

試験機関 : 勸業残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1992 年

検体の純度 : %

供試動物 : CD (SD) 系妊娠 SPF ラット (13 週齢)、1 群 24 匹

投与期間 : 妊娠期間 20 日間 (1991 年 11 月 19 日～1991 年 12 月 12 日)

投与方法 : 検体をメチルセルロースの 0.5% 水溶液に懸濁し、0、40、200 及び 1000mg/kg/day の投与レベルで妊娠 6 日目から 15 日目までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には担体のみを同様に投与した。

投与量設定根拠 ;

妊娠 0 日の定義 ; スメア法で雌の膣垢像を観察し、発情前期の雌を夕刻に雄と 1 対 1 で一晩同居させ、翌朝膣栓及び膣垢中の精子の有無により交尾を判定し、その日を妊娠 0 日とした。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(備奇/ラット)

**観察・検査項目：**

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0 日、6 日から 15 日までの毎日及び妊娠 20 日に体重を測定した。

妊娠 20 日目に帝王切開を行い、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、胎児及び胚の死亡  
吸収数及び生存胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の有無を観察した。

各同腹児群の半数の胎児について骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(催奇/ラット)

結果:

投与群 (mg/kg/day)		対照	40	200	1000
1群当り動物数 (匹)		24	24	24	24
親動物	一般状態	—	—	—	—
	死亡数 (匹)	0	0	0	0
	体重変化	—	—	—	—
	飼料摂取量	—	—	—	—
	妊娠数 (匹)	23	23	23	24
動物	着床検査動物数 (匹)	23	23	23	24
	着床所見	—	—	—	—
	黄体数	16.4±1.6	16.3±2.1	16.6±1.8	17.3±2.1
	着床数	16.0±1.4	15.5±1.7	16.1±1.6	16.2±1.7
	生存胎児数	13.7±2.1	13.7±3.3	15.1±1.8	15.3±2.0
	吸収胚率 (%)	8.5	12.1	6.4	5.7
胎児	体重 (mg)				
		♂ 3455±224 ♀ 3352±196	♂ 3589±236 ♀ 3366±341	♂ 3559±208 ♀ 3352±193	♂ 3557±205 ♀ 3398±224
胎児	胎盤重量 (mg)	508±48	527±45	507±49	493±32
	性比 (♂/♀)	1.052	1.059	0.856	0.978
胎児	外表異常	検査動物数	316	315	347
	奇形				
胎児	a)	0	1※	0	0
	小眼球症	0	0	1	2
胎児	下顎部浮腫	0	0	1	0
	膈疝ヘルニア	0	0	0	1
胎児	b)	0	0	0	1※※
	骨格異常	検査動物数	164	163	178
胎児	変異				
	胸椎椎体の化骨核分離	2	4	1	5
胎児	胸骨分節の分離または非対称	0	2	1	0
	第13肋骨の短縮	0	2	4	3
胎児	第14肋骨	0	1	0	0
	腰肋	0	1	2	3
胎児	波状肋骨	0	2	0	2
	腰椎の仙椎化	2	0	0	0
胎児	仙椎前椎骨数 25	1	2	2	0
	仙椎前椎骨数 27	0	1	0	0
胎児	奇形				
	頸椎椎弓の癒合	0	0	1	0
胎児	上腕骨三角筋粗面の欠損	0	1※	0	0
	脛骨の重複と肥厚	0	1※	0	0
胎児	過剰中足骨および過剰指骨	0	1※	0	0
	内臓異常	検査動物数	162	152	169
胎児	変異				
	胸腺の頸部残留	13	9	16	6*
胎児	腎盂または尿管の拡張	4	5	2	0*
	左側臍動脈	3	2	1	3
胎児	奇形				
	横隔膜ヘルニア	1	0	2	0
胎児	卵巣の位置異常	0	0	0	1※※

— ; 検体の影響認められず

※及び※※ ; 同一胎児

a) 口蓋裂を伴う舌癒着・前肢及び後肢における軸前性多指症

b) 肛門閉鎖及び体幹の短縮を伴う無尾

\* ; P<0.05.

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(催奇/ラット)

(前頁表脚注の続き)

検定方法：

親動物の体重、補正体重、体重増加量、飼料摂取量、黄体数、着床数、  
生存胎児数、胎児体重、胎盤重量；

Bartlett の検定 →   
┌ 一元配置分散分析法 → Dunnett法またはScheffe法  
├ (等分散の場合)  
└ Kruskal-Wallis の検定 → Dunnett型または Scheffe型  
    (不等分散の場合)      順位和検定法

親動物の一般状態、奇形または変異を認めた胎児の出現頻度、生存胎児の性比；

Fisher の直接確率計算法

胎児死亡率；Mann-Whitney の U検定

親動物の一般状態、体重、体重増加量、飼料摂取量、帝王切開時における妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び剖検所見には検体投与によると考えられる異常は認められなかった。

胎児においては、生存胎児数、胎児死亡率、胎児体重、胎盤重量及び性比に、検体投与によると考えられる異常は認められなかった。内臓異常として胸腺の頸部残留および腎盂または尿管の拡張の出現頻度が 1000mg/kg 群で対照群の値に比べ有意に低かったが、1000mg/kg 群および対照群の値はいずれも当研究所の背景データ<sup>※</sup>の範囲内であり、これらの変化は偶発的なものと考えられた。その他に各群で認められた外表異常、骨格異常、内臓異常についてはいずれも偶発的なものとみられ、検体投与の影響はないと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した場合の親動物及び胎児における無影響量は 1000mg/kg/day であった。また、最高投与量の 1000mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(催奇/ラット)

【申請者注】

1. 内臓異常の背景データについて

胎児において 1000mg/kg 群で有意差がみられた胸腺の頸部残留及び腎盂または尿管の拡張について、「背景データ」を確認したところ、1985年～1990年に実施された8試験中の各所見の出現頻度は以下のとおりであった。

	範囲 (%)	平均 (%)
胸腺の頸部残留	1.89～14.05	7.40
腎盂または尿管の拡張	0.00～3.25	1.56

2. 無毒性量について

上記の結果から、本剤を妊娠ラットに投与した場合の親動物及び胎児に対する無毒性量は 1000mg/kg/day と判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(催奇/ウサギ)

3) ウサギを用いた催奇形性試験

資料No. : 1-16

試験機関 : 駒沢宿農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1993 年

検体の純度 : %

供試動物 : 日本白色種妊娠 SPF ウサギ (18 週齢) 1 群 18 匹

投与期間 : 妊娠期間 27 日間 (1992 年 7 月 27 日 ~ 1992 年 8 月 29 日)

投与方法 : 検体をメチルセルロースの 0.5% 水溶液に懸濁し、0、100、300 及び 1000mg/kg/day の投与レベルで妊娠 6 日目から 18 日目までの 13 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には、担体のみを同様に投与した。

投与量設定根拠 :

妊娠 0 日の定論 ; 交配は人工授精法によって行い、交配の翌日を妊娠 0 日とした。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(備奇/ウサギ)

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日少なくとも1回観察し、さらに検体投与期間中は投与前後にも2回観察した。死亡個体や流産または早産のみられた個体については剖検を行った。

体重の測定を妊娠0日、6～18日までの毎日と24及び27日に行った。妊娠27日に帝王切開を行い、黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡吸収胚数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の有無を観察した。また、内臓異常の検査を行い、検査終了後胸腔及び腹腔内の臓器を摘出し、骨格異常を検査した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(備奇/ウサギ)

結果:

投与群 (mg/kg/day)		対照	100	300	1000	
1群当り動物数 (匹)		18	18	18	18	
親動物	一般状態	—	—	—	肛門周囲被毛汚染増加	
	流産	0	2	2	7**	
	早産	0	0	1	1	
	死亡数 (匹)	0	0	1	2	
	体重変化	—	—	増加抑制傾向	増加抑制傾向	
	飼料摂取量	—	—	抑制傾向	抑制	
	妊娠数 (匹)	18	18	17	17	
	生存母動物数 (匹)	18	16	13	7	
	着床	検査親動物数 (匹)	18	16	13	7
	着床所見	黄体数	11.4±1.7	11.1±2.2	11.1±2.3	12.1±3.0
胎動物	着床所見	9.7±1.9	9.5±2.3	9.1±2.2	8.6±4.0	
	生存胎児数 (匹)	8.7±1.8	7.9±2.6	7.8±1.6	8.0±3.6	
	吸収胚率 (%)	10.3	17.3	12.0	5.1	
	体重 (g)	♂ 36.4±4.1	39.1±6.9	36.5±5.6	37.3±4.1	
		♀ 36.4±4.9	38.6±6.7	35.4±5.1	40.6±10.4	
	胎盤重量 (mg)	4978±432	5261±801	4791±636	6216±1852	
	性比 (♂/♀)	1.137	0.969	1.125	1.154	
	検査動物数	156	126	102	56	
	外表異常					
	胎児	無頭症	1※	0	0	0
	前肢の軸前性欠指症	1※	0	0	0	
	骨格異常					
	変異					
	頸肋	2	0	1	0	
	腰肋	34	39	23	3**	
	胸骨の非対称	1	0	1	0	
	胸骨の分離	1	1	0	0	
	仙椎前椎骨数 27	1	2	0	0	
	13肋骨を伴う仙椎前椎骨数 27	15	2**	4	2	
	奇形					
	頭骨の欠損	1※	0	0	0	
	脊椎側湾	1※	0	0	0	
	a)	1※	0	0	0	
	頸椎の椎体分離	1※※	0	0	0	
	頸椎の椎弓欠損	1※※	0	0	0	
	b)	1※※	0	0	0	
	頸椎の椎弓分離	1※※	1	1	0	
	頭頂骨の分離	1	0	0	0	
	頸椎数 6個	0	0	1	0	
	頸椎椎体の片側骨化	0	0	1	0	
	鎖骨の結節形成	0	0	1	0	
	胸骨の癒合	0	0	2	0	
	内臓異常					
	変異					
	胸腺の頸部残留	8	15*	7	2	
	奇形					
	臍の欠損	1※	0	0	0	
	停留精巣	1	2	0	0	

— ; 検体の影響認められず

※及び※※ : 同一胎児

a) 前肢の第1指における中手骨と指骨の欠損

b) 胸骨の分離及び右側第2肋骨欠損の合併症

\* ; P<0.05    \*\* ; P<0.01

(前頁表脚注の続き)

検定方法:

親動物の体重、補正体重、体重増加量、飼料摂取量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児体重、胎盤重量;

Bartlett の検定 → 

┌	一元配置分散分析法 → Dunnett法またはScheffe法
	(等分散の場合)
└	Kruskal-Wallisの検定 → Dunnett型またはScheffe型の (不等分散の場合) 順位和検定法

親動物の一般状態、奇形または変異を認めた胎児の出現頻度、生存胎児の性比;  
Fisher の直接確率計算法

胎児死亡率; Mann-Whitney の U検定

親動物において、100 mg/kg 群では検体投与によるとみられる異常は認められなかった。この投与群では流産が 2 例観察されたが、1) 今回の試験に用いた系統のウサギではしばしば流産がみられ、用量設定試験においても対照群の母動物 5 例中 1 例に流産が観察されていること、2) 今回の試験においても 100mg/kg 群における本所見の出現頻度に対照群の値との間で統計学的に有意な差は認められないこと及び 3) 剖検においてもこの系統のウサギでしばしばみられる胃内毛球が観察されたものの、その他の異常は何もみられなかったことから、検体投与との関連はないものと考えられた。死亡例は 300mg/kg 群で 1 例、1000mg/kg 群では 2 例認められ、また、流産または早産の出現頻度は、300mg/kg 群でやや高く、1000mg/kg 群では対照群に比べ有意に高かった。これらの投与群では、剖検においてガスまたは内容物による大腸膨満の出現がみられ、また、体重、体重増加量及び飼料摂取量に低い値が認められ、これらは検体投与に起因する変化と考えられた。

帝王切開時における卵巣、子宮の検査及び胎盤を含む生存胎児の検査では、いずれの指標についても検体投与によると考えられる異常は認められなかった。

生存胎児においては外表異常、骨格異常、内臓異常が各群にみられたが、検体の投与量との間に一定の関係は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(催奇/ウサギ)

以上の結果から、本剤をウサギに投与した場合の親動物における無影響量は100mg/kg/dayであり、300mg/kg/day以上の用量は一部の個体に流産や死亡を引き起こす用量と考えられた。胎児における無影響量は1000mg/kg/dayであり、催奇形性も有しないと判断された。

**【申請者注】**

**1. 無毒性量について**

上記の結果から、本剤をウサギに投与した場合の親動物における無毒性量は100mg/kg/day、胎児における無毒性量は1000mg/kg/day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科研製薬株式会社にある。

(変異/Ames)

### (13) 変異原性

#### 1) ペントキサゾンの微生物を用いた復帰変異原性試験

資料No. : 1-17

試験機関 : 科研製薬㈱

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : %

方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、プレート法にて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、156~5000  $\mu$ g/プレート の範囲の 6 用量で実施した。試験は 2 枚のプレートで実施した。

用量設定根拠:

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

S-9Mix の有無にかかわらず、すべての濃度において、いずれの試験菌株の復帰変異コロニー数とも溶媒対照とほぼ同じかそれ以下であった。

一方、陽性対照として用いた ENNG、2-NP、9-AA、B(a)P、2-AA では、すべての試験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、本剤は復帰変異誘発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科研製薬株式会社にある。

(変異/Ames)

(表中の数値は2つのプレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu$ g/plate)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate										
			塩基置換型			フレームシフト型							
			WP2 uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537						
溶媒対照 (DMSO)			19	79	16	15	7						
検体	156	-	17	87	13	11	1						
	313		24	89	6	16	6						
	625		21 <sup>#</sup>	102 <sup>#</sup>	15 <sup>#</sup>	14 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>						
	1250		13 <sup>#</sup>	109 <sup>#</sup>	10 <sup>#</sup>	10 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>						
	2500		21 <sup>#</sup>	108 <sup>#</sup>	10 <sup>#</sup>	16 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>						
5000	22 <sup>#</sup>	91 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	15 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>								
溶媒対照 (DMSO)			30	109	17	23	8						
検体	156	+	39	107	14	22	7						
	313		33	115	15	25	7						
	625		33	116	10	18	9						
	1250		37 <sup>#</sup>	107 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	25 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>						
	2500		25 <sup>#</sup>	84 <sup>#</sup>	10 <sup>#</sup>	16 <sup>#</sup>	9 <sup>#</sup>						
5000	18 <sup>#</sup>	89 <sup>#</sup>	11 <sup>#</sup>	16 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>								
陽性 対照	ENNG		392	214	111								
								2-NF	1			209	
	B(a)P		5		1179		278	90					
	2-AA		2 10	+	282		326						

注) DMSO : ジメチルスルホキシド

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

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

# : 結晶析出

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(変異/染色)

2) ベントキサゾンの CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

資料№ : I-18

試験機関 : 科研製薬㈱

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1994 年

検体の純度 : %

試験方法 : 継代培養したチャイニーズハムスターの肺線維芽細胞 (CHL 細胞) を用い、直接法及び代謝活性化法によって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。

観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について行い、試験は同じ条件の 2 系列で実施した。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

直接法では 24 時間処理、48 時間処理ともにいずれの濃度においても構造異常及び倍数体の増加は認められなかった。代謝活性化法では S-9 Mix 存在下の 50 及び 100  $\mu$ g/mL 処理で染色分体型の交換がそれぞれ 21.5、21.0% の頻度で認められ、100  $\mu$ g/mL 処理で倍数体細胞の軽度増加 (5%) が認められたが、S-9 Mix 非存在下では異常の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた CP 及び MMC 処理では染色体構造異常の著しい増加が認められた。

以上の結果から、本剤の CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験では代謝活性化法においてのみ変異原性が陽性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(変異/染色)

染色体異常試験結果 (直接法)

薬物	濃度 μg/mL	処理時間	観察細胞数	S-9 Mixの有無	染色体異常を有する細胞数						倍數体數				
					染色体型		断片化	細胞化	合計		判定	細胞数	判定		
					ギョウツプ <sup>1)</sup>	交換			切斷	交換				+g <sup>2)</sup>	-g <sup>2)</sup>
無処理	-	24	200	-	0	0	0	0	0	1 (0.5)	0	-	1 (0.5)	-	
		48			0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
溶媒対照 (DMSO)	-	24	200	-	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)	-	
		48			0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)
核体	25	24	200	-	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)	-	
		48			0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	2 (1.0)
	50	24	200	-	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)	-
		48			0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)
100	24	200	-	1 (0.5)	1 (0.5)	0	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-	3 (1.5)	-	
	48			0	1 (0.5)	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	-	3 (1.5)	-
陰性対照 (生理食塩水)	-	24	200	-	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)	-	
		48			0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
陽性対照 (MMC)	0.1	24	200	-	32 (16.0)	142 (71.0)	0	0	0	0	154 (77.0)	154 (77.0)	-	1 (0.5)	-
		48			2 (1.0)	179 (89.5)	6 (3.0)	6 (3.0)	0	0	191 (95.5)	191 (95.5)	0	0	-

判定基準  
5%未満 : 陰性 (-)  
5%以上10%未満 : 疑陽性 (±)  
10%以上 : 陽性 (+)

DMSO : ジメチルスルホキシド  
MMC : マイタジシンC

- 1) 染色体型と染色体型を含む
- 2) 構造異常を持つ細胞總數
- 3) ギョウツプのみを持つ細胞を除いた總數

( ) 内の数字は出現頻度、%  
検定法:  $\chi^2$ 検定

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

染色体異常試験結果 (代謝活性化法)

薬物	濃度 μg/mL	処理 時間	親細胞 数	S-9 Mix の有無	染色体異常を有する細胞数						倍數体數							
					染色体型		染色体型		断片化	細粉化	合計		判定	細胞數	判定			
					交換	切断	交換	切断			+g <sup>2</sup>	-g <sup>2</sup>						
無処理	-	24*	200	+	0	0	0	0	0	0	0	1 (0.5)	-	1 (0.5)	-			
				-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	
溶媒対照 (DMSO)	-	24*	200	+	1 (0.5)	1 (0.5)	0	0	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	-	1 (0.5)	-		
				-	0	2 (1.0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-
				+	0	3 (1.5)	0	0	0	0	0	0	0	3 (1.5)	3 (1.5)	-	3 (1.5)	-
				-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)
検体	50	24*	200	+	1 (0.5)	43 (21.5)	0	0	0	0	0	43 (21.5)	43 (21.5)	+	3 (1.5)	-		
				-	0	1 (0.5)	0	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	-	2 (1.0)	-	
				+	1 (0.5)	42 (21.0)	0	0	0	0	0	0	43 (21.5)	43 (21.5)	+	10 (5.0)	±	
				-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-
陰性対照 (生理食塩 水)	-	24*	200	+	0	1 (0.5)	0	0	0	0	1 (0.5)	2 (1.0)	-	0	-			
				-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (0.5)	-	
				+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-
				-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-
陽性対照 (CP)	10	24*	200	+	2 (1.0)	5 (2.5)	71 (35.5)	0	0	0	0	72 (36.0)	72 (36.0)	+	2 (1.0)	-		
				-	1 (0.5)	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	-	0	-				
				+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	
				-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-

( ) 内の数字は出現頻度、%  
 検定法：χ<sup>2</sup>-検定  
 \* : 6時間-1検体処理時間  
 18時間-1検体処理後の細胞回復時間

判定基準  
 5%未満 : 陰性 (-)  
 5%以上10%未満 : 疑陽性 (±)  
 10%以上 : 陽性 (+)

DMSO : ジメチルスルホキシド  
 CP : シクロホスファミド

1) 染色体型と染色体型を含む  
 2) 構造異常を持つ細胞總數  
 3) ギャップのみを持つ細胞を除いた總數

(誘異/染色)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(変異/Rec)

3) ペントキサゾンの細菌を用いた DNA 修復試験

資料№ : 1-19

試験機関 : 科研製薬㈱

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体純度 : %

試験方法 : 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復能保持株 (H-17, *rec*<sup>+</sup>) 及び欠損株 (M-45, *rec*<sup>-</sup>) を用い、基本ストリーク法及び生残菌法での代謝活性化及び非活性化により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

基本ストリーク法では、すべての濃度においていずれの試験菌株に対しても生育阻害は認められなかった。一方、陽性対照の MMC 処理では、M-45 のみが、陰性対照の KC 処理では H-17 及び M-45 ともに生育が阻害されていた。

生残菌法では、S-9 Mix の有無にかかわらず、すべての濃度においていずれの試験菌株に対しても生存コロニー数の減少は認められなかった。一方、陽性対照の MMC 処理及び 2-AA 処理では M-45 の生存コロニー数の減少が、また、陰性対照の KC 処理では H-17 及び M-45 ともに生存コロニー数の減少が認められた。

以上の結果より、本剤は DNA 損傷の誘発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わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(変異/Rec)

基本ストリーク法試験結果

(表中の数値は2つのプレートの平均値)

薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{site}$ )	S-9 Mix の有無	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)	
			H-17	M-45		
溶媒対照 (DMSO)		-	0	0	0	
検 体	625		-	0	0	0
	1250					
	2500					
	5000					
	10000					
陰性対照 (KC)	2.5	-	1.8	2.3	0.5	
陽性対照 (MMC)	0.05		0	3.3	3.3	

DMSO : ジメチルスルホキシド

K C : カナマイシン

MMC : マイトマイシン C

生残菌法試験結果

(表中の数値は2つのプレートの平均値)

薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	コロニー数/plate		
			H-17	M-45	
溶媒対照 (DMSO)		-	525	693	
検 体	1250		-	506	723
	2500			467	666
	5000			602	736
	10000			488	722
	20000			523	727
陰性対照 (KC)	5		-	442	491
陽性対照 (MMC)	0.1			595	422
溶媒対照 (DMSO)			+	504	716
検 体	1250			+	566
	2500	540			727
	5000	502			736
	10000	515			836
	20000	544			755
陽性対照 (2-AA)	100	+	553	368	

DMSO : ジメチルスルホキシド

K C : カナマイシン

MMC : マイトマイシン C

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(変異/小核)

4) ペントキサゾンのマウスを用いた小核試験 (腹腔内投与)

資料No. : 1-20

試験機関 : 科研製薬㈱

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1992 年

検体純度 : %

供試験物 : CD-1 系 SPF マウス (8 週齢、体重 ♂30~37g)  
一群 5 匹

試験期間 : 1992 年 3 月 13 日 ~ 1992 年 5 月 29 日

試験方法 : 検体をオリーブオイルに懸濁し、1250、2500、5000 mg/kg を腹腔内に 1 回投与した。  
投与 24 時間後にマウスを屠殺し、骨髄塗抹標本を作製した。多染性赤血球 (PCE) 1000 個を観察し、小核を有する細胞 (MNPCB) の出現数を調べ、全赤血球中の多染性赤血球の割合を算出した。

陽性対照物質として MMC を生理食塩水に溶解して用いた。溶媒対照は検体の懸濁に用いたオリーブオイルとした。

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科研製薬株式会社にある。

(変異/小核)

結果： 結果を以下の表に示した。

溶媒対照のオリーブオイル投与群の MNPCB の出現頻度は  $0.06 \pm 0.09\%$  で、検体はいずれの投与群においても溶媒対照群との差はなく、 $0.08 \pm 0.04\%$  から  $0.20 \pm 0.07\%$  の出現頻度であり、PCB の割合は、 $39.0 \pm 1.4\%$  から  $40.0 \pm 6.8\%$  の範囲で溶媒対照群とほぼ同等であった。

一方、陽性対照群では MNPCB の出現頻度は明らかに増加しており、試験が適切に実施されていることが確認された。

観察結果

薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数 (匹)	死亡数 (匹)	MNPCB 平均値±標準偏差 (%)	PCB 平均値±標準偏差 (%)
溶媒対照 (オリーブ)		5	0	$0.06 \pm 0.09$	$46.4 \pm 5.5$
検体	1250			$0.18 \pm 0.15$	$40.0 \pm 6.8$
	2500			$0.08 \pm 0.04$	$39.3 \pm 2.3$
	5000			$0.20 \pm 0.07$	$39.0 \pm 1.4$
陽性対照 (MMC)	1			$1.34 \pm 0.58$	$51.0 \pm 6.0$

MNPCB：小核を有する細胞

PCB：多染性赤血球

MMC：マイトマイシン C

結論： 以上の結果から、本剤のマウスを用いた腹腔内投与による小核試験における変異原性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(変異/小核)

5) ペントキサゾンのマウスを用いた小核試験 (経口投与)

資料No. : 1-21

試験機関 : 科研製薬株

報告書作成年 : 1992年

検体純度 : %

試験動物 : CD-1系 SPF マウス (8週齢、体重  $\phi$ 33~37g)

1群6匹

試験期間 : 1992年5月11日~1992年6月23日

試験方法 : 検体をコーンオイルに懸濁し、1250、2500及び5000mg/kgを1回経口投与した。投与24時間後にマウスを屠殺し骨髄塗抹標本を作製した。多染性赤血球 (PCE) 1000個中の小核を有する細胞 (MNPCE) の数及び全赤血球1000個中の多染性赤血球の割合を算出した。

陽性対照物質としてMMCを生理食塩水に溶解して用いた。溶媒対照は、検体の懸濁に用いたコーンオイルとした。

用量設定根拠 :

結果 : 結果を次頁の表に示した。

1250mg/kg群で1例、2500mg/kg群で2例、及び5000mg/kg群で1例が死亡した。これらの動物には、鎮静、ふるえ等の毒性症状が認められた。

MNPCEの出現頻度及びPCEの割合ともに溶媒対照との差は認められなかった。

一方、陽性対照群ではMNPCEの出現頻度は明らかに増加した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(変異/小核)

観察結果

薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数 (匹)	死亡数 (匹)	MNPCE 平均値±標準偏差 (%)	PCE 平均値±標準偏差 (%)
溶媒対照 (コーンオイル)		6	0	0.17 ± 0.163	40.0 ± 7.26
検体	1250	5	1	0.12 ± 0.084	43.8 ± 4.93
	2500	4	2	0.03 ± 0.050	43.4 ± 9.61
	5000	5	1	0.16 ± 0.114	43.9 ± 5.03
陽性対照 (MMC)	1	6	0	3.00 ± 0.352	39.0 ± 5.68

MNPCE：小核を有する細胞

PCE：多染性赤血球

MMC：マイトマイシンC

結論： 以上の結果から、本剤のマウスを用いた経口投与による小核試験における変異原性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(薬理)

#### (14) ペントキサゾンの生体機能に及ぼす影響

##### ペントキサゾンの薬理試験

資料No : 1-22

試験機関 : 残留農薬研究所

報告書作成年 : 1995年

検体純度 : %

#### 1) マウスの中樞神経系に対する作用

##### ① マウスにおける一般状態

供試動物 : ICR系SPFマウス

7週齢、体重 ; ♂30.9~37.8g、♀23.7~28.5g、1群♂♀各5匹

投与方法 : 1%Tween80水溶液に懸濁した検体を0、19.5、78.1、313、1250及び5000mg/kg相当腹腔内に投与し、Irwinの方法により一般症状を観察した。

結果 : 1250mg/kg以上の投与群では、雌雄ともに運動性の低下、筋緊張の低下及び自律神経系の異常が認められ、雌のみに認知力の低下、運動失調及び反射の低下が認められた。これらの異常症状は投与後30分以降に発現し、5000mg/kg群の雌は全例、雄は5例中2例が投与1~4日後に死亡した。7日目まで生存した個体にみられた異常症状は、投与4日後には完全に消失した。雌雄とも313mg/kg以下の投与群には、検体投与による異常は認められなかった。

#### 2) ウサギの中樞神経系に対する作用

##### ① ウサギにおける一般状態

供試動物 : 日本白色種SPFウサギ

♂、10週齢、体重 ; 2.18~2.46kg、1群3匹

投与方法 : 1%Tween80水溶液に懸濁した検体を0、19.5、78.1、313、1250及び5000mg/kg相当経口内に投与し、一般症状を観察した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(薬理)

結 果： 各投与群とも検体投与による異常症状は認められなかった。

## ② ウサギの体温に対する作用

供試動物： 日本白色種 SPF ウサギ

♂、10週齢、体重；2.18~2.46kg、1群3匹

試験方法： ①の一般症状観察時にウサギを頸部保定器に保定し、肛門内70mmに挿入したサーミスター型温度計を用いて直腸温を測定した。

結 果： 各投与群とも検体投与による体温変化は認められなかった。

## 3) ウサギ(無麻酔)の呼吸、循環器系に対する作用

供試動物： 日本白色種 SPF ウサギ

♂、10週齢、体重；2.05~2.41kg、1群3匹

投与方法： 1%Tween80水溶液に懸濁した検体を0、19.5、78.1、313、1250及び5000mg/kg相当経口投与し、血圧、心電図、心拍数及び呼吸を測定した。無麻酔下で呼吸、血圧を測定するために必要なカニューレ装着手術は検体投与前日に行った。血圧は股動脈に挿入したカニューレより高圧トランスデューサー、心拍数及び呼吸数はデジタルカウンター、呼吸量はサーミスター型呼吸センサーを用いてそれぞれ測定し、心電図とともにポリグラフを用いて記録した。

結 果： 1250mg/kg群の1例が投与6時間後から1日後の間に死亡したが、死亡発現に用量依存性がないこと、症状観察では5000mg/kgまでの投与群で異常症状及び死亡は全く観察されていないことから、本剤の投与に起因する可能性は極めて少ないと考えられた。

各投与群とも呼吸、血圧、心電図及び心拍数に検体投与による明らかな変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(薬理)

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

1. 中枢神経系

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
一般症状 [Irwin法] (マウス)	腹腔内 (1%Tween80 水溶液)	0、 19.5、 78.1、 313、 1250、 5000	♂♀ 各5	1250	313	1250mg/kg以上：認知力及び運動性の低下、運動失調、筋緊張の低下、反射の低下、自律神経系の異常 5000mg/kg：投与後4日以内に♂2例及び♀5例死亡
一般症状 (ウサギ)	経口 (1%Tween80 水溶液)	0、 19.5、 78.1、 313、 1250、 5000	♂3	—	5000	作用なし
体温変化 (ウサギ)				—	5000	作用なし

2. 呼吸、循環器系

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
血圧 (ウサギ)	経口 (1%Tween80 水溶液)	0、 19.5、 78.1、 313、 1250、 5000	♂3	—	5000	作用なし
心電図 (ウサギ)				—	5000	作用なし
心拍数 (ウサギ)				—	5000	作用なし
呼吸 (ウサギ)				—	50000	作用なし

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(解毒)

#### (15) 解毒及び治療

ペントキサゾン原体ならびに製剤はいずれも急性毒性は小さく、一般薬理試験でも特異的な薬理作用を示さないことから、特別の解毒法は必要ないと考えられる。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

(16) その他

1. ラット膀胱粘膜上皮に及ぼす影響の検索

実施理由： ラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験(資料 No. 1-11)において最終検査時(投与104週時)に最高投与群である5000ppm群の雌にびまん性の膀胱粘膜上皮過形成が投与26週時から有意に増加し、さらに膀胱移行上皮乳頭腫が11/80例(投与78週時1例、104週時8例、100週以降の途中死亡例3例;約14%)に発生した。しかし、同群の雄では、投与104週時にびまん性及び限局性の膀胱粘膜上皮過形成が有意に増加したものの移行上皮乳頭腫は認められなかった。また、1000ppm以下の雌雄ラット、マウス発がん性試験(資料 No. 1-12)及びイヌの慢性毒性試験(資料 No. 1-13)においても膀胱粘膜上皮の変化は認められなかった。

ラット慢性毒性・発がん性試験の最高投与群に認められた膀胱粘膜上皮の増殖性変化の性格及び発生機序を明確にする目的で次頁以降の3つの追加試験を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

- 1) ラット、マウス及びイヌの慢性毒性/発がん性試験の最終屠殺動物における膀胱粘膜上皮細胞の増殖活性の検索  
-膀胱粘膜上皮のPCNA免疫染色追加試験-

資 料 № : 1-23

試 験 機 関 : 財残留農薬研究所

報告書作成年 : 1996年

試験目的 : 同研究所ですでに実施済みのラットにおける24カ月間経口慢性毒性・発がん性試験(資料1-11)、マウスにおける18カ月間経口発がん性試験(資料1-12)及びイヌにおける12カ月間慢性経口毒性試験(資料1-13)の最終定期解剖動物の膀胱組織標本にProliferating cell nuclear antigen (PCNA) に対する免疫組織染色を施し、膀胱粘膜上皮細胞増殖性に及ぼす検体投与の影響を検索した。

試験方法 : 上記各試験において最終剖検に供された動物の膀胱組織標本に抗PCNA抗体を用いてABC (Avidin biotin peroxidase complex) 法による免疫染色を施した。免疫組織染色の陽性対照として各検査対象動物の十二指腸標本を用いた。PCNA陽性細胞の定量は膀胱粘膜上皮細胞の約1000個の核を数え、その中に占めるPCNA標識核数を求めてPCNA標識率を算定した。検査はまず対照群と高用量群について行い、雌雄それぞれについて、高用量群で投与の影響が認められた場合、高用量群以下の用量群についても順次検査するものとした。

結 果 : ラット24カ月 ; 0、1000及び5000ppm群の雌雄各16例ずつについて検査を実施した。

検査の結果を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

単位：%

性別	♂			♀		
	0	1000	5000	0	1000	5000
投与群 (ppm)	0	1000	5000	0	1000	5000
検査動物数	16	16	16	16	16	16
平均	0.28	0.47	0.57*	0.36	0.32	1.05*
S.D.	0.23	0.46	0.43	0.20	0.15	1.20

F検定 — Studentのt検定 (等分散の場合)  
 — Aspin-Welchのt検定 (不等分散の場合)

\*: P<0.05

5000ppm群では各個体のPCNA標識率にばらつきが認められたが、平均標識率は雌雄ともに対照群と比較して有意に高く、雄で対照群の2.0倍、雌で2.9倍を示した。1000ppm群の雄では一部の個体にやや高い標識率がみられたが、平均標識率は雌雄ともに対照群との間で統計学的に有意な差は認められなかった。

マウス 18カ月； 0、2000ppm群の雌雄各8例について検査を実施した。  
 検査の結果を以下の表に示す。

単位：%

性別	♂		♀	
	0	2000	0	2000
投与群 (ppm)	0	2000	0	2000
検査動物数	8	8	8	8
平均	1.11	1.81	0.39	0.33
S.D.	0.55	2.39	0.63	0.31

F検定 — Studentのt検定 (等分散の場合)  
 — Aspin-Welchのt検定 (不等分散の場合)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

各個体の PCNA 標識率にばらつきがみられた。特に 2000ppm 群の雄において 8 例中 2 例が高い値を示したが、平均標識率は雌雄ともに対照群との間で大差なく、統計学的に有意な差も認められなかった。

イヌ 12 カ月 ; 0、5000ppm 群の雌雄各 4 例について検査を実施した。

検査の結果を以下の表に示す。

単位 : %

性別	♂		♀	
	0	5000	0	5000
投与群 (ppm)	0	5000	0	5000
検査動物数	4	4	4	4
平均	0.94	0.80	0.72	0.37
S.D.	0.85	0.29	0.56	0.34

F 検定 ——— Student の t 検定 (等分散の場合)  
Aspin-Welch の t 検定 (不等分散の場合)

各個体の PCNA 標識率にばらつきが認められ、対照群の雌雄各 1 例が他の動物と比較して軽度が高い値を示したため、5000ppm 群の平均値は雌雄とも対照群の値を下回った。

以上のように、ラットの 5000ppm 群の雌雄において膀胱粘膜上皮細胞に PCNA 標識率の上昇が観察され、その傾向は雄よりも雌において顕著であった。一方、マウスの 2000ppm 群では雌雄ともに対照群との間に明らかな平均標識率の差はみられず、イヌの 5000ppm 群では雌雄ともに平均標識率が対照群の値より低かった。これらの結果は、ラット、マウス及びイヌの長期毒性試験において、5000ppm を投与した雌雄のラットにのみ組織学的検査で膀胱粘膜上皮の増殖性病変が観察されたことと一致し、同病変と粘膜上皮細胞の増殖活性亢進との関連が明らかとなった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

2) ラットの膀胱粘膜上皮の初期変化の検索  
—ラットにおける2週間混餌投与試験—

資 料 No: I-24

試 験 機 関 : 残留農薬研究所

報告書作成年: 1996年

試験目的: 検体をラットに2週間にわたって混餌投与し、投与初期における膀胱粘膜上皮の変化を経時的に検討した。

検体の純度: %

供試動物: Fischer系SPFラット(F344/DuCrj)、6週齢、1群♂♀各20匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体を0、1000及び5000ppmの濃度で飼料に混入し、14日間にわたって摂食させた。  
検体を混入した飼料は投与開始前に1回調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目: 検体投与第1、3、7及び14日に1群あたり雌雄各5匹を剖検し、膀胱を採取した。採取した膀胱については、ヘマトキシリン・エオジン(H&E)染色標本による組織学的検査及び5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)染色標本による粘膜上皮細胞の細胞増殖性の評価を行った。なお、雌の投与第3日の検査については評価可能なBrdU染色標本が少なかったため、参考としてProliferating cell nuclear antigen(PCNA)染色標本による細胞増殖性の評価を行った。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

結果：膀胱の組織学的検査；認められた所見を以下の表に示す。

検査時期	性別	♂			♀		
	投与群 (ppm)	0	1000	5000	0	1000	5000
7日	所見/検査動物数	5	5	5	5	5	5
	粘膜上皮単純性過形成	0	0	0	0	0	2
14日	所見/検査動物数	5	5	5	5	5	5
	粘膜上皮単純性過形成	0	0	0	0	0	2
	単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	1

Fisher の直接確率計算法

5000ppm 群の雌において、投与第7及び14日に各5例中2例で軽度な粘膜上皮の単純性過形成が認められた。5000ppm 群の雄及び1000ppm 群の雌雄では、いずれの検査時期においても変化は認められなかった。

膀胱粘膜上皮の細胞増殖性；BrdU 標識率を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

単位：%

検査時期	性別	♂			♀		
	投与群 (ppm)	0	1000	5000	0	1000	5000
1日	検査動物数	4	4	5	4	5	4
	平均	0.43	0.27	0.12	0.43	0.53	0.17
	S.D.	0.22	0.17	0.11	0.25	0.33	0.14
3日	検査動物数	4	4	4	5	5	5
	平均	0.30	0.22	0.33	1.66#	1.72#	2.00#
	S.D.	0.16	0.13	0.10	1.34	1.19	1.27
7日	検査動物数	3	5	5	4	5	5
	平均	0.78	0.44	1.22	0.65	0.54	1.91
	S.D.	0.36	0.40	0.88	0.13	0.29	2.26
14日	検査動物数	4	5	4	5	5	3
	平均	0.42	0.34	0.20	0.39	0.53	0.93
	S.D.	0.20	0.27	0.14	0.15	0.44	0.76

—元配置分散分析法→ Dunnett 法または Scheffé 法  
 Bartlett の検定 — (等分散の場合)  
 — Kruskal-Wallis の検定→ Dunnett 型または Scheffé 型  
 (不等分散の場合) 順位和検定法

# : PCNA 標識率による表示

(評価可能な BrdU 染色標本が少なかったため)

膀胱粘膜上皮細胞の BrdU (または PCNA) 標識率は個体ごとにばらつきが認められ、いずれの投与時期においても対照群と投与群の間で統計学的に有意な差はみられなかった。しかし、5000ppm 群の雌においては投与第7及び14日に BrdU 標識率の上昇傾向がみられ平均標識率は対照群の2~3倍を示した。5000ppm 群の雄及び1000ppm 群の雌雄ではいずれの検査時期においても BrdU (または PCNA) 標識率に変動は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

以上の結果から、本剤を 5000ppm の濃度で混餌投与したラットの雌においては、膀胱粘膜上皮の単純性過形成が短時間で誘発されることが明らかとなった。また、膀胱粘膜上皮細胞の BrdU 標識率は単純性過形成の発生と同一時期に上昇傾向を示しており、膀胱粘膜上皮の過形成は増殖活性の亢進を伴うことが示唆された。一方、5000ppm 群の雄及び 1000ppm 群の雌雄の膀胱粘膜上皮には組織学的変化ならびに増殖活性の亢進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科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

3) ラットの膀胱粘膜上皮細胞の増殖活性及び尿性状と変異原性の経時的変化

—ラットの膀胱粘膜上皮に及ぼす影響の検索—

資 料 No: 1-25

試 験 機 関 : 残留農薬研究所

報告書作成年: 1996年

試験目的: 検体をラットに8週間にわたって混餌投与し、膀胱粘膜上皮に及ぼす影響の経時的変化を、膀胱の病理組織学的検査、尿検査及び尿の細菌を用いた復帰変異試験により検討した。

検体の純度: %

供試動物: Fischer系SPFラット(F344/DuCrj)、  
1群♂♀各20匹、開始時5~6週齢

観察期間: 8週間

投与方法: 検体を0及び5000ppmの濃度で飼料に混入し、8週間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に1回及び投与期間中に1回調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

尿検査: 投与第4及び8週時の各群雄雌それぞれ4匹の剖検に供する動物より採取した新鮮尿についてpH、光学顕微鏡による尿中結晶物の観察及び比重(8週時のみ)を検査した。さらに、尿検査と同一個体から採取した蓄尿について電解質(ナトリウム及びカリウム)濃度を測定した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

単位：対照群に対する変動率 (%)

検査時期 (週)	性別	♂		♀	
	投与群 (ppm)	0	5000	0	5000
	検査動物数	4	4	4	4
8	尿比重		99 ↓		

Mann-Whitney の U 検定 ↑ ↓ : P < 0.05

投与第 8 週時の投与群の雄の尿比重において対照群より有意に低い値が認められた。ラットの慢性毒性・発がん性試験においては試験中期以降に尿量の増加に伴い尿比重の低下が認められ、膀胱の増殖性病変との関連が考えられたが、本試験では膀胱粘膜の単純性過形成のみられた雌では尿比重の低下は認められず、増殖性病変との関連性は不明であった。尿中結晶物としてはシュウ酸カルシウム結晶とリン酸アンモニウムマグネシウム結晶が観察されたが、その出現頻度及び程度には対照群と投与群の間で差はなかった。また、pH 及び電解質濃度には有意差は認められなかった。

尿量測定；投与第 2、3、4、6 及び 8 週時に、各群雄雄それぞれ 4 匹の同一個体から採取した蓄尿について尿量を測定した。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

膀胱の病理組織学的検査；第 2、3、4、6 及び 8 週間投与終了後に、各群雄雄それぞれ 4 匹を剖検し、採取した膀胱の病理組織学的検査を行った。

認められた所見を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

検査時期	性別	♂		♀	
	投与群 (ppm)	0	5000	0	5000
2週	所見/検査動物数	4	4	4	4
	粘膜上皮単純性過形成	0	0	0	1
	単核細胞浸潤	0	0	0	2
3週	所見/検査動物数	4	4	4	4
	粘膜上皮単純性過形成	0	0	0	2
	単核細胞浸潤	0	0	0	1
4週	所見/検査動物数	4	4	4	4
	粘膜上皮単純性過形成	0	0	0	3
	単核細胞浸潤	0	0	0	1
6週	所見/検査動物数	4	4	4	4
	粘膜上皮単純性過形成	0	0	0	4↑
	単核細胞浸潤	0	0	0	2
8週	所見/検査動物数	4	4	4	4
	粘膜上皮単純性過形成	0	0	0	3

Fisher の直接確率計算法 ↓↑ : P<0.05

投与群の雌において、膀胱粘膜上皮の単純性過形成が2週間投与終了後に4例中1例、その後検査時期ごとに1例ずつ増加し、6週間投与終了後には4例全例に、8週間投与終了後にも3例に認められた。また、粘膜下組織の単核細胞浸潤が投与2~6週間後の各検査時期に1または2例ずつみられた。雄においてはいずれの検査時期においても変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

膀胱粘膜上皮の細胞増殖活性 (BrdU 標識率) ; 病理組織学的検査において採取した膀胱について 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 染色標本を作成し、膀胱粘膜上皮の BrdU 標識率を算出することにより細胞増殖活性を評価した。

BrdU 標識率を以下の表に示す。

単位 : %

検査時期	性別	♂		♀	
	投与群 (ppm)	0	5000	0	5000
2週	検査動物数	4	4	4	4
	平均	0.40	0.58	0.33	0.93
	S.D.	0.27	0.38	0.19	0.53
3週	検査動物数	4	4	4	4
	平均	0.30	0.23	0.35	0.80
	S.D.	0.22	0.19	0.13	0.71
4週	検査動物数	3	4	4	4
	平均	0.60	0.90	0.25	1.45
	S.D.	0.61	0.61	0.10	1.42
6週	検査動物数	4	4	4	4
	平均	0.28	0.33	0.50	1.60
	S.D.	0.15	0.15	0.41	1.57
8週	検査動物数	4	4	4	4
	平均	0.48	0.35	0.48	0.58
	S.D.	0.22	0.19	0.26	0.33

Mann-Whitny の U 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科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

膀胱粘膜上皮細胞の BrdU 標識率には個体ごとにばらつきが認められ、統計学的に有意な差はみられなかったものの、投与群の雌においては上昇傾向を示し、6 週間投与終了後に最高となった。雄においては BrdU 標識率の変動に一定の傾向はみられなかった。

復帰変異試験 ; *Salmonella typhimurium* TA98、TA100 及び TA1535 株を用いて、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在及び非存在下で、尿量測定時に採取した尿の復帰変異試験を行った。試験は同じ条件の 2 枚のプレートで実施した。

結果は次頁の表に示した。

S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても対照群 (検体 0ppm) と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められず、また、いずれの処理群においても菌株に対する生育阻害は認められなかった。

以上の結果から、本剤の投与によって認められた膀胱粘膜上皮の増殖性病変は、細胞の増殖活性の亢進と関連のあることが確認された。しかし、膀胱粘膜上皮の増殖性病変の要因といわれている尿 pH 及び電解質の増加、あるいは尿中結晶成分の異常による尿結石形成等の尿性状の変化や尿の変異原性については、本試験の結果何ら異常は認められず、本剤の投与により生じた膀胱粘膜上皮の増殖性病変は、これらの要因により誘発された変化ではないと結論された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

S-9 Mixの有無	検査時期	処理群 (ppm)		復帰変異コロニー数/plate (平均または平均±S.D.)			
				塩基置換型		フレームシフト型	
				TA 100	TA 1535	TA 98	
2週	ラット	♂	対照 (滅菌水)	111	7	18	
			0	145.8 ± 11.6	11.8 ± 2.5	28.0 ± 5.5	
		5000	144.5 ± 5.1	13.8 ± 2.6	34.0 ± 4.1		
		♀	0	157.3 ± 6.7	11.0 ± 2.4	31.5 ± 5.7	
			5000	147.3 ± 9.3	12.5 ± 1.9	25.3 ± 4.2	
		尿陽性対照	AF-2	0.01 <sup>a</sup>	681		
			0.1 <sup>a</sup>			659	
	NaN <sub>3</sub>		0.5 <sup>a</sup>		470		
	3週	ラット	♂	対照 (滅菌水)	132	9	28
				0	162.5 ± 9.9	13.8 ± 1.7	35.3 ± 4.6
			5000	153.5 ± 19.7	14.5 ± 2.4	34.8 ± 6.8	
			♀	0	160.3 ± 16.2	13.8 ± 0.5	36.0 ± 3.2
5000				158.3 ± 18.2	18.0 ± 1.7	36.0 ± 5.2	
尿陽性対照			AF-2	0.01 <sup>a</sup>	694		
			0.1 <sup>a</sup>			723	
		NaN <sub>3</sub>	0.5 <sup>a</sup>		504		
4週		ラット	♂	対照 (滅菌水)	117	8	18
				0	176.3 ± 15.4	16.3 ± 2.4	32.8 ± 2.8
			5000	173.5 ± 10.5	14.3 ± 2.9	28.3 ± 4.8	
			♀	0	176.3 ± 9.0 <sup>b</sup>	13.0 ± 1.4	31.7 ± 1.2
	5000			157.0 ± 11.5	13.3 ± 3.1	31.7 ± 2.5	
	尿陽性対照		AF-2	0.01 <sup>a</sup>	693		
			0.1 <sup>a</sup>			661	
		NaN <sub>3</sub>	0.5 <sup>a</sup>		555		
	6週	ラット	♂	対照 (滅菌水)	121	8	20
				0	133.0 ± 6.5	11.8 ± 1.3	29.0 ± 3.4
			5000	127.0 ± 10.6	12.3 ± 1.7	24.3 ± 3.0	
			♀	0	157.3 ± 7.7	13.8 ± 2.1	26.0 ± 4.7
5000				143.3 ± 4.0	10.7 ± 3.1	22.3 ± 3.1	
尿陽性対照			AF-2	0.01 <sup>a</sup>	610		
			0.1 <sup>a</sup>			643	
		NaN <sub>3</sub>	0.5 <sup>a</sup>		566		
8週		ラット	♂	対照 (滅菌水)	115	11	17
				0	163.0 ± 12.1	9.8 ± 1.0	25.5 ± 4.4
			5000	156.3 ± 7.1	10.8 ± 2.8	26.5 ± 4.1	
			♀	0	151.3 ± 13.8	11.5 ± 2.4	24.5 ± 0.6
	5000			153.3 ± 13.5	10.0 ± 0.8	25.8 ± 1.9	
	尿陽性対照		AF-2	0.01 <sup>a</sup>	588		
			0.1 <sup>a</sup>			597	
		NaN <sub>3</sub>	0.5 <sup>a</sup>		566		

a: 単位;  $\mu\text{g}/\text{plate}$

b: 検査動物数; 3 (無印は4)

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

NaN<sub>3</sub>: T<sub>2</sub>化学トリウム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

S-9 Mixの有無	検査時期	処理群 (ppm)		復帰変異コロニー数/plate (平均または平均±S.D.)			
				塩基置換型		フレームシフト型	
				TA 100	TA 1535	TA 98	
+	2週	対照 (滅菌水)		94	5	31	
		ラット	♂	0	158.8 ± 9.7	13.3 ± 2.5	42.6 ± 5.0
				5000	246.3 ± 21.7	20.5 ± 2.1	35.5 ± 9.6
			♀	0	182.5 ± 16.9	11.0 ± 2.8	30.0 ± 1.4
				5000	210.8 ± 20.5	17.0 ± 2.4	41.8 ± 7.9
		尿陽性対照	2-AA	0.5 <sup>a</sup>			300
				1	475		
				2		240	
		3週	対照 (滅菌水)		96	9	39
	ラット		♂	0	170.8 ± 14.8	15.5 ± 2.4	46.3 ± 6.4
				5000	188.5 ± 5.3	19.0 ± 4.5	48.3 ± 5.0
			♀	0	159.8 ± 16.9	13.0 ± 1.8	46.8 ± 3.7
				5000	225.0 ± 26.9	22.7 ± 1.5	54.0 ± 4.6
	尿陽性対照		2-AA	0.5 <sup>a</sup>			291
				1	536		
				2		244	
	4週		対照 (滅菌水)		113	8	30
		ラット	♂	0	181.0 ± 39.1	15.0 ± 3.9	47.0 ± 8.1
				5000	209.5 ± 5.9	21.3 ± 5.0	53.3 ± 2.8
			♀	0	172.3 ± 9.6 <sup>b</sup>	16.3 ± 5.1	47.3 ± 5.1
				5000	209.3 ± 13.0	20.0 ± 1.7	53.3 ± 7.5
		尿陽性対照	2-AA	0.5 <sup>a</sup>			296
1				589			
2					232		
6週		対照 (滅菌水)		106	10	36	
	ラット	♂	0	160.3 ± 15.3	13.5 ± 1.3	41.0 ± 7.9	
			5000	170.3 ± 12.7	16.5 ± 1.3	44.8 ± 6.2	
		♀	0	156.8 ± 17.7	14.8 ± 2.8	45.5 ± 5.4	
			5000	176.3 ± 11.0	17.3 ± 0.6	48.0 ± 2.6	
	尿陽性対照	2-AA	0.5 <sup>a</sup>			275	
			1	446			
			2		208		
	8週	対照 (滅菌水)		110	10	28	
ラット		♂	0	171.5 ± 7.3	14.5 ± 1.3	39.0 ± 2.8	
			5000	175.3 ± 8.3	15.5 ± 3.1	44.0 ± 7.0	
		♀	0	180.8 ± 13.9	14.8 ± 2.1	39.8 ± 8.4	
			5000	186.8 ± 14.0	16.0 ± 3.5	41.3 ± 4.8	
尿陽性対照		2-AA	0.5 <sup>a</sup>			237	
			1	482			
			2		211		

a: 単位;  $\mu\text{g}/\text{plate}$

b: 検査動物数; 3 (無印は4)

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(長期/追加)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(コメント/小核/追加)

2) 2回反復投与によるラット膀胱コメットアッセイおよび小核試験

資 料 №: 1-25

試 験 機 関 : 残留農薬研究所

報告書作成年: 2008年

検体純度: %

供試動物: Fischer系 (F344/DuCr1Cr1j) SPFラット 一群雌5匹

投与時週齢: 7週齢、投与時体重: 106~117g (平均 111g)

試験方法: 0.5%メチルセルロース (MC) に懸濁させた検体を 0 (陰性対照群)、1000 及び 2000 mg/kg の用量で 1日1回、24時間間隔で2回強制経口投与し、最終投与3時間後に膀胱標本を、24時間後に膀胱標本及び骨髄標本を作製した。膀胱標本を用いてコメットアッセイ及び Neutral diffusion assay を、骨髄標本を用いて小核試験を実施した。膀胱については病理組織学的検査及び PCNA を指標にした細胞増殖活性検査も実施した。なお陽性対照群として、コメットアッセイでは N-メチル-N-ニトロソウレア (MNU) 35mg/kg/体重を1回、小核試験ではマイトマイシン C (MMC) 1.0mg/kg/体重を1回、腹腔内投与した。

コメットアッセイ: 膀胱組織より細胞浮遊液を調製し、低融点アガロースと混和してスライド標本を作製した。pH13にて電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色した。動物あたり100個のコメット像を画像解析し、% Tail DNA、Tail length 及び Olive tail moment の3種パラメーターについて計測した。また同時に、泳動操作を除いた Neutral diffusion assay を行った。

小核試験: 左側大腿骨より骨髄を採取し、塗抹標本を作製した。メタノールで固定後アクリジンオレンジで染色し、動物あたり多染性赤血球を2000個観察して小核出現頻度を求め、多染性赤血球と正染性赤血球を合計1000個観察して多染性赤血球の割合を求めた。

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科研製薬株式会社にある。

(コメント/小核/追加)

結果:

死亡率、一般状態、病理組織学的検査及び細胞増殖活性検査;

投与開始から解剖時まで死亡例及び異常な症状は認められなかった。

膀胱の組織病理学的検査で異常は認められなかった。

膀胱粘膜上皮細胞の増殖活性に、統計学的に有意な増加は認められなかった。

コメントアッセイ; 結果を以下の表に示す。

両投与量群のいずれの時間においても、DNA損傷を示す3つのパラメーター(% Tail DNA、Tail length、Olive tail moment)に、溶媒対照群と比べて有意な増加は認められなかった。また、Neutral diffusion assayにおいて細胞傷害性は認められなかった。

一方、MNUを投与した陽性対照群は明らかな陽性反応を示した。

採取時間 (時間)	薬物	投与量 (mg/mL)	投与回数	観察動物数	% Tail DNA <sup>a) b)</sup>	Tail length <sup>a) b)</sup>	Olive tail moment <sup>a) b)</sup>	Diffusion cells <sup>c)</sup> (%)
					平均値±SD	平均値±SD	平均値±SD	
3	陰性対照 (MC)	0.5%	2	5	3.77±0.30	9.35±0.71	0.69±0.09	11.0
	検体	1000			4.75±0.67	10.66±1.01	0.93±0.21	8.0
		2000			4.41±0.80	9.99±1.01	0.83±0.19	8.6
	陽性対照 (MNU)	35	1	34.50±3.82***	39.00±3.47***	7.37±1.17***	15.0	
24	陰性対照 (MC)	0.5%	2	5	4.27±0.79	10.19±1.03	0.83±0.17	9.0
	検体	1000			4.77±0.47	11.16±1.13	0.96±0.12	7.8
		2000			4.61±0.64	10.52±1.10	0.92±0.16	6.0

MC:メチルセルロース、MNU: N-メチル N-ニトロソウレア

a): 一元配置分散分析後、Dunnettの多重検定を実施

b): 陰性対照群と陽性対照群間でStudentまたはAspir-Welchのt検定を実施(3時間試料のみ)

c): カイ二乗検定

陰性対照群に対する有意差: \*\*\*, p<0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(コメント/小核/追加)

小核試験；結果を以下の表に示す。

小核出現頻度に有意な増加は認められなかった。多染性赤血球の割合も溶媒対照群に対して減少は認められなかった。

一方、MMCを投与した群の平均小核出現頻度は明らかに増加した。

採取時間 (時間)	薬物	投与量 (mg/mL)	投与回数	観察 動物数	MNPCB/PCE (%)		PCB/(PCB+NCE) (%)	
					平均値±SD	S <sup>MC</sup>	平均値±SD	S <sup>N</sup>
24	陰性対照 (MC)	0.5%	2	5	0.18±0.13	-	41.9±13.6	-
	検体	1000			0.21±0.04	N.S.	45.6±7.9	N.S.
		2000			0.28±0.13	N.S.	46.8±11.7	N.S.
	陽性対照 (MMC)	1.0	1		1.42±0.24	***	38.7±6.5	N.S.

MC:メチルセルロース、MMC:マイトマイシンC

MNPCB:小核を有する多染性赤血球数、PCB:多染性赤血球数、NCE:正染性赤血球数

S<sup>MC</sup>: Kastenbaum-Bowman の数表を用いた統計解析およびカイ二乗検定

S<sup>N</sup>: Wilcoxon の順位和検定

N.S.:陰性対照群に対し p>0.05 で有意差なし

陰性対照群に対する有意差: \*\*\*, p≤0.001

以上の結果より、2回反復強制経口投与による本実験条件下において、ベントキサゾンの雌 F344 ラット膀胱における DNA 損傷性および骨髄小核誘発性 (*in vivo* 染色体異常誘発性) は陰性であると結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(コメント/小核/追加)

### 3) 4週間反復投与によるラット膀胱コメットアッセイおよび小核試験

資 料 No: 1-27

試 験 機 関 : 残留農薬研究所

報告書作成年: 2008年

検体純度: %

供試動物: Fischer系 (F344/DuCr1Cr1j) SPF ラット 一群雌 5匹

投与開始時週齢: 7週齢、投与開始時体重: 110~110g (平均 115g)

試験方法: 検体を 2000 及び 5000ppm の用量で 4 週間混餌投与した。陰性対照群 (0ppm 群) には基礎飼料のみを与えた。投与期間中、一般状態の観察、体重の測定を行ない、摂餌量を測定して検体摂取量を求めた。

コメットアッセイ: 投与開始から 4 週間後に膀胱標本を作製し、コメットアッセイ及び Neutral diffusion assay を実施した。膀胱組織より細胞浮遊液を調製し、低融点アガロースと混和してスライド標本を作製した。pH>13 にて電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色した。動物あたり 100 個のコメット像を画像解析し、% Tail DNA、Tail length 及び Olive tail moment の 3 種パラメーターについて計測した。また同時に、泳動操作を除いた Neutral diffusion assay を行った。膀胱については病理組織学的検査及び PCNA を指標にした細胞増殖活性検査も実施した。陽性対照群として、N-メチル N-ニトロソウレア (MNNU) 35 mg/kg/体重を 1 回腹腔内投与し、投与 3 時間後に膀胱標本を作製した。

小核試験: 投与開始から 4 週間後に左側大腿骨より骨髓を採取し、塗抹標本を作製した。メタノールで固定後アクリジンオレンジで染色し、動物あたり多染性赤血球を 2000 個観察して小核出現頻度を求め、多染性赤血球と正染性赤血球を合計 1000 個観察して多染性赤血球の割合を求めた。陽性対照群としてマイトマイシン C (MMC) 1.0 mg/kg 体重を 1 回腹腔内投与し、投与 24 時間後に骨髓標本を作製した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は研製薬株式会社にある。

(コメント/小核/追加)

用量設定根拠:

結果:

検体採取量; 2000ppm 群及び 5000ppm 群の総平均検体採取量はそれぞれ、149mg/kg/日及び 361 mg/kg/日であった。

死亡率、一般状態、体重、摂取量;

投与開始から解剖時まで死亡例及び異常な症状は認められなかった。

群平均体重及び各週の群平均摂取量に、陰性対照群と比較して有意な差は認められなかった。

病理組織学的検査; 検体投与による影響の認められた項目を下表に示す。

投与群		0ppm	2000ppm	5000ppm	MNU35
臓器	検査動物数	5	5	5	5
	所見				
膀胱	上皮過形成	0	0	5*	0
	単核細胞浸潤	0	3	5*	0

MNU: N-メチル-N-ニトロソウレア 35 mg/kg 群

\* Fisher の直接確率計算法; 陰性対照群に対する有意差: \*,  $p \leq 0.05$

2000ppm 群では 3 例に軽度の単核細胞浸潤が認められ、5000ppm 群では全動物の膀胱に軽度の単核細胞浸潤と粘膜上皮過形成が認められた。

細胞増殖活性検査; 結果を下表に示す。

薬物	投与量 (ppm)	観察動物数	PCNA LI <sup>2,3</sup> (%)	
			平均値	SD
陰性対照	0	5	1.7	0.4
検体	2000		2.9	0.8
	5000		4.0	2.1
陽性対照 (MNU)	35mg/kg		2.4	1.4

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は研製薬株式会社にある。

(コメント/小核/追加)

MNU: *N*-メチル-*N*-ニトロソウレア LI: 標識率

a): 一元配置分散分析後 Dunnett の多重検定を実施又は Kruskal-Wallis の分散分析後 Dunnett 型多重比較検定を実施。

b): 陰性対照群と陽性対照群間で Student または Aspin-Welch の *t* 検定を実施

膀胱粘膜上皮細胞の増殖活性に、統計学的に有意ではないが用量に相関した増加傾向が認められた。従って、5000 ppm 群における過形成の発生は細胞増殖亢進が関与しているものと推測された。

コメントアッセイ; 結果を以下に示す。

投与群のいずれの膀胱においても DNA 損傷を示す3つのパラメーター(% Tail DNA, Tail length, Olive tail moment)に、陰性対照群と比べて有意な増加は認められず、過形成が生じている状態の膀胱に対しても検体の DNA 損傷作用は全く認められなかった。また、Diffusion cell の出現頻度にも有意な増加は認められず、細胞傷害性はなかった。一方、MNU を投与した陽性対照群は明らかな陽性反応を示した。

薬物	投与量 (ppm)	観察動物数	% Tail DNA <sup>a) b)</sup>	Tail length <sup>a) b)</sup>	Olive tail moment <sup>a) b)</sup>	Diffusion Cells <sup>c)</sup> (%)
			平均値±SD	平均値±SD	平均値±SD	
陰性対照	0	5	4.85±0.48	11.04±0.83	0.93±0.11	10.0
検体	2000		4.83±0.91	11.14±2.00	0.92±0.21	10.4
	5000		5.78±1.45	11.92±2.19	1.16±0.37	10.6
陽性対照 (MNU)	35 mg/kg		33.97±10.23**	39.66±7.02***	7.41±2.69**	14.2

MNU: *N*-メチル-*N*-ニトロソウレア

a): 一元配置分散分析後、Dunnett の多重検定を実施

b): 陰性対照群と陽性対照群間で Student または Aspin-Welch の *t* 検定を実施

c): カイ二乗検定

陰性対照群に対する有意差: \*\*,  $p \leq 0.01$ ; \*\*\*,  $p \leq 0.001$

上記病理組織学的検査、細胞増殖活性検査及びコメントアッセイの結果を比較検討したところ、これらの結果には何ら関連性は見られなかった。従って、検体投与による細胞増殖亢進の兆候や

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

膀胱粘膜上皮過形成に対して、DNA 損傷は関与しないことが強く示唆された。

(コメント/小核/追加)

小核試験；結果を以下に示す。

小核出現頻度に有意な増加は認められなかった。多染性赤血球の割合も溶媒対照群に対して減少は認められなかった。

一方、MMC を投与した群の平均小核出現頻度は明らかに増加した。

薬物	投与量 (ppm)	観察 動物数	MNPCE/PCE (%)		PCE/(PCE+NCE) (%)	
			平均値±SD	S <sup>K</sup>	平均値±SD	S <sup>F</sup>
陰性対照	0	5	0.17±0.08	-	38.1±8.1	-
検体	2000		0.19±0.12	N.S.	43.2±10.9	N.S.
	5000		0.21±0.11	N.S.	39.3±6.2	N.S.
陽性対照	1.0		1.25±0.39	***	33.2±11.6	N.S.

MMC: マイトマイシン C

MNPCE: 小核を有する多染性赤血球数、PCE: 多染性赤血球数、NCE: 正染性赤血球数

S<sup>K</sup>: Kastenbaum-Bowman の数表を用いた統計解析およびカイ二乗検定

S<sup>F</sup>: Wilcoxon の順位和検定

N.S.: 陰性対照群に対し p>0.05 で有意差なし

陰性対照群に対する有意差: \*\*\*, p<0.001

以上の結果より、4 週間反復投与による本実験条件下において、ペントキサゾンの雌 F344 ラット膀胱における DNA 損傷性および骨髄小核誘発性 (*in vivo* 染色体異常誘発性) は陰性であると結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

## 2. 代謝分解物の毒性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(代謝物/ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(8.6%SC/亀口)

### 3. 製剤

#### (1) ペントキサゾンフロアブル

##### 1) ラットにおける急性経口毒性試験

資料№ : 3-1  
試験機関 : 関東畜農業研究所  
[GLP 対応]  
報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 8.6%水和剤 (フロアブル)

[組成] ペントキサゾン 8.6%  
水、界面活性剤等 91.4%

供試動物 : SD系 SPF ラット

6週齢、体重 ; ♂167~183g、♀131~137g、1群♂♀各5匹

観察期間 : 14日間観察

投与方法 : 5000mg/kg相当の検体4.76mL/kgを希釈せず1回経口投与した。投与約16時間前から投与3時間後まで絶食させた。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死を14日間観察し、検体投与直前、投与7及び14日後に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

### 結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂、♀ : >5000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	特異的変化なし
無影響量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000

中毒症状は認められず、一般状態、体重変化及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(8.6%SC/経口)

2) マウスにおける急性経口毒性試験

資料No. : 3-2  
試験機関 : 財残留農薬研究所  
[GLP 対応]  
報告書作成年 : 1995年

検体の純度 : 8.6%水和剤 (フロアブル)  
[組成] ペントキサゾン 8.6%  
水、界面活性剤等 91.4%

供試動物 : ICR 系 SPF マウス  
6週齢、体重 ; ♂26.3~30.5g、♀23.5~25.6g、1群♂♀各5匹

観察期間 : 14日間観察

投与方法 : 5000mg/kg 相当の検体 4.76mL/kg を希釈せず 1回経口投与した。投与約2時間前から投与約3時間後まで絶食させた。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死を14日間観察し、検体投与直前、投与7及び14日後に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂、♀ : >5000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	特異的変化なし
無影響量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000

中毒症状は認められず、一般状態、体重変化及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(8.6%SC/急皮)

### 3) ラットにおける急性経皮毒性試験

資料No. : 3-3  
試験機関 : 残留農薬研究所  
[GLP 対応]  
報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 8.6%水和剤 (フロアブル)  
[組成] ペントキサゾン 8.6%  
水、界面活性剤等 91.4%

供試動物 : SD系 SPF ラット  
7 週齢、体重 ; ♂258~296g、♀188~213g、1 群♂♀各 5 匹

観察期間 : 14 日間観察

投与方法 : 2000mg/kg 相当の検体 1.90mL/kg を希釈せず、サージカルテープ上にのせたろ紙に  
滴下し、投与前日に刈毛した背部皮膚 (4cm×5cm) に 24 時間閉塞貼付した。貼付終了  
後、残存した検体を微温湯で除去した。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察し、検体投与直前、投与 7 及び 14 日後に体  
重を測定した。試験終了時の全生存動物について投与部位を含む組織の肉眼的病理検  
査を行った。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(8. 6%SC/急皮)

結 果：

投 与 方 法	経 皮
投与量 (mg/kg)	♂、♀：0、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂、♀：>2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	特異的变化なし
無影響量 (mg/kg)	♂、♀：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂、♀：2000

中毒症状は認められず、一般状態、体重変化及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に刺激性変化及びその他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科研製薬株式会社にある。

(8.6%SC/皮刺)

#### 4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

資料No. : 3-4

試験機関 : 飼残留農業研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 8.6%水和剤 (フロアブル)

【組成】 ペントキサゾン 8.6%

水、界面活性剤等 91.4%

供試動物 : New Zealand White 種 SPF ウサギ

♀、11 週齢、体重 ; 2.24~2.50kg、1 群 6 匹

観察期間 : 72 時間観察

投与方法 : 検体 0.5mL を希釈せず、投与前日に剪毛、剃毛した背部皮膚 (2.54cm 四方) 2 区画のうち 1 区画に 4 時間閉塞貼付し、残りの 1 区画は陰性対照区画として脱イオン水を投与した。貼付終了後残存した検体を脱イオン水で除去した。

観察項目 : 検体除去 1、24、48 及び 72 時間後に刺激性変化 (紅斑・痂皮及び浮腫) の有無を観察し、Draize 法及び 59 農薬第 4200 号に従って採点、評価した。また、投与開始前と観察終了時に体重を測定した。

結果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりであった。

項目	最高 評点	投 与 後 時 間			
		1	24	48	72
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(8.6%SC/皮刺)

皮膚刺激性変化は検体投与区画、陰性対照区画ともに認められなかった。また、投与前と比べてわずかな体重減少が1例で認められたが、試験成績に影響を及ぼすものではないと判断した。

以上の結果から、ベントキサゾン 8.6%水和剤（フロアブル）はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(8.6%SC/眼刺)

5) ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

資料No. : 3-5

試験機関 : 財団法人農薬研究所  
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 8.6%水和剤 (フロアブル)

[組成] ペントキサゾン 8.6%

水、界面活性剤等 91.4%

供試動物 : New Zealand White 種 SPF ウサギ

♀、11 週齢、体重 ; 2.24~2.42kg、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間 : 72 時間観察

投与方法 : 検体 0.1mL を希釈せず左眼に投与し、右眼は無処置対照とした。3 匹は投与 2~3 分後に微温湯で洗眼し、6 匹については洗眼しなかった。

観察項目 : 投与 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点后、Kay&Calandra 及び Guillot らの方法に従って評価した。また、投与開始前と観察終了時に体重を測定した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。

項 目			最高 評点	投与後時間			
				1	24	48	72
非洗眼群 (6匹平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1.0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計			110	2.0	0	0
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1.0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計			110	2.0	0	0

スコアー算出法：

(1)角膜 (最高評点 80) →混濁 (最高評点 4) ×面積 (最高評点 4) ×5

(2)虹彩 (最高評点 10) →刺激性変化 (最高評点 2) ×5

(3)結膜 (最高評点 20) → [発赤 (最高評点 3) +浮腫 (最高評点 4)  
+分泌物 (最高評点 3)] ×2

トータルスコアー (最高評点 110) =(1)+(2)+(3)

角膜及び虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに認められなかった。結膜の刺激性変化は洗眼群、非洗眼群ともに投与 1 時間後に一部の血管が明らかに充血する程度の発赤が認められたが、これらの変化は投与 24 時間後に消失した。

体重変化に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、ペントキサゾン 8.6%水和剤 (フロアブル) はウサギの眼粘膜に対して刺激性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は研製製薬株式会社にある。

(8.6%SC/感作)

## 6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

資料No : 3-6  
試験機関 : 圃残留農薬研究所  
[GLP 対応]  
報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 8.6%水和剤 (フロアブル)

[組成] ペントキサゾン	8.6%
水、界面活性剤等	91.4%

供試動物 : Hartley 系 SPP モルモット

♀、6 週齢、体重 ; 321~413g、検体処理群各 20 匹、陽性対照群各 10 匹

観察期間 : 惹起終了後 48 時間観察

試験操作 : Buehler 法

投与量設定根拠 :

感 作 ; 検体 0.4mL をガーゼ (約 2cm 四方) に滴下し、投与前日に剪毛、剃毛した背側部に 7 日おきに計 3 回それぞれ 6 時間閉塞貼付した。陽性対照群には 1% 2, 4-ジニトロクロロベンゼン (以下、DNCB) 溶液 0.4mL を用いて同様に感作を行った。

惹 起 ; 最終感作 14 日後、感作時と同様に検体 0.4mL を 6 時間閉塞貼付した。陽性対照群には 0.1% DNCB 溶液 0.4mL を用いて同様に惹起を行った。

観察項目 : 惹起終了 24 及び 48 時間後に貼付部位の紅斑及び浮腫の程度を肉眼的に観察し、次頁に示す基準に従い採点した。また、初回感作日及び惹起終了 48 時間後の観察終了後に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(8.6%SC/感作)

### 皮膚反応の評価

肉眼的に変化なし	0
非常に軽度の紅斑 (通常散在性)	0.5
軽度の紅斑 (通常びまん性)	1
中等度の紅斑	2
重度の紅斑 (浮腫の有無を問わない)	3

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を以下の表に示した。

群			供試動物数	感作反応動物数										感作陽性率 (%)			
				24 時間					48 時間								
				皮膚反応評点					計	皮膚反応評点					計		
感作	惹起	0	0.5	1	2	3	0	0.5		1	2	3					
検体	検体	検体	20	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0
	—		20	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0
陽性対照	1%DNCB	0.1% DNCB	10	0	0	0	7	3	10/10	0	0	2	3	5	10/10	100	
	80% エタノール		10	6	4	0	0	0	4/10	7	3	0	0	0	3/10	0	

感作陽性率 (%) = 感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

感作陽性動物：検体処理群及び陽性物質処理群の皮膚反応の評価において評点1以上を示したものを。

検体処理群において、感作陽性率は0%で、対照群の動物にも皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照のDNCB処理群では明瞭な皮膚反応が認められた。

体重変化に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、ペントキサゾン8.6%水和剤（フロアブル）の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%/急口)

(2) ペントキサゾン1キロ粒剤

1) ラットにおける急性経口毒性試験

資料No : 3-7  
試験機関 : 關ボソリサーチセンター  
(GLP 対応)  
報告書作成年 : 1996年

検体の純度 : 1.5% 1キロ粒剤  
[組成] ペントキサゾン 1.5%  
          植物質微粉等 98.5%

供試動物 : SD系 SPF ラット  
6週齢、体重 ; ♂170~185g、♀145~159g、1群♂♀各5匹

観察期間 : 14日間観察

投与方法 : 粉碎して、注射用水にて懸濁調製した検体 20mL/kg (5000mg/kg 相当) を1回経口投与した。投与前約16時間は絶食させた。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死を14日間観察し、検体投与直前、投与1、2、3、7、10及び14日後に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂、♀ : >5000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	特異的变化なし
無影響量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000

中毒症状は認められず、一般状態、体重変化及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%G/急口)

2) マウスにおける急性経口毒性試験

資料No : 3-8

試験機関 : ㈱ボゾリサーチセンター  
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 1.5% 1キロ粒剤

[組成] ペントキサゾン 1.5%  
載物質微粉等 98.5%

供試動物 : ICR 系 SPF マウス

6 週齢、体重 : ♂26.7~28.7g、♀20.1~22.1g、1 群♂♀各 5 匹

観察期間 : 14 日間観察

投与方法 : 粉碎して、注射用水にて懸濁調製した検体 20ml/kg (5000mg/kg 相当) を 1 回経口投与した。投与前約 16 時間は絶食させた。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察し、検体投与直前、投与 1、2、3、7、10 及び 14 日後に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂、♀ : >5000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	特異的变化なし
無影響量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂、♀ : 5000

中毒症状は認められず、一般状態、体重変化及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%G/急皮)

### 3) ラットにおける急性経皮毒性試験

資料No : 3-9

試験機関 : 關ポンリサーチセンター  
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 1.5% 1キロ粒剤

[組成] ベントキサゾン 1.5%  
賦物質微粉等 98.5%

供試動物 : SD系 SPFラット

7週齢、体重 ; ♂251~259g、♀170~195g、1群♂♀各5匹

観察期間 : 14日間観察

投与方法 : 粉碎した2000mg/kg相当の検体をポリエチレンフィルムで裏打ちしたガーゼにのせ、局方注射用水で湿らせ、投与前日に刈毛した背部皮膚(4cm×5cm)に24時間閉塞貼付した。貼付終了後、残存した検体を注射用水で湿らせたガーゼで除去した。

観察・検査項目 : 一般状態及び生死を14日間観察し、検体投与直前、投与1、2、3、7、10及び14日後に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について投与部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%/急皮)

結 果：

投 与 方 法	経 皮
投与量 (mg/kg)	♂、♀：0、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂、♀：>2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	特異的変化なし
無影響量 (mg/kg)	♂、♀：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂、♀：2000

中毒症状は認められず、一般状態、体重変化及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に刺激性変化及びその他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科研製薬株式会社にある。

(1.5%/皮刺)

4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

資料No. : 3-10

試験機関 : 例ボノリサーチセンター  
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 1.5%粒剤 (1キログラム)

[組成]ペントキサゾン 1.5%

鉱物質微粉等 98.5%

供試動物 : 日本白色種ウサギ

♀、16週齢、体重 ; 2.72~3.09kg、1群6匹

観察期間 : 72時間観察

投与方法 : 粉砕した検体 0.5g をリント布 (2.5cm 四方) に塗布し注射用水 0.5ml で溼らせ、投与前日に刈毛、剃毛した背部皮膚 2 区画のうち 1 区画に 4 時間閉塞貼付した。残りの 1 区画は陰性対照区画とした。貼付終了後、残存した検体を注射用水で溼らせた脱脂綿で除去した。

観察項目 : 検体除去 1、24、48 及び 72 時間後に刺激性変化 (紅斑・痂皮及び浮腫) の有無を観察し、Draize 法及び 69 農産第 4200 号に従って採点、評価した。あわせて一般状態を観察した。

結果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりであった。

項目	最高 評点	投 与 後 時 間			
		1	24	48	72
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%G/皮刺)

皮膚刺激性変化は検体投与区画、陰性対照区画ともに認められなかった。一般状態に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、ペントキサゾン 1.5%粒剤（1キロ粒剤）はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%G/眼剤)

5) ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

資料No. : 3-11

試験機関 : 爾ボゾリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1985 年

検体の純度 : 1.5%粒剤 (1キログラム)

[組成] ベントキサゾン 1.5%

賦物質微粉等 98.5%

供試動物 : 日本白色種ウサギ

♀、15 週齢、体重 ; 2.67~3.08kg、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間 : 4 日間観察

投与方法 : 検体を粉碎し、その 0.1g を左眼に投与し、右眼は無処置対照とした。3 匹は投与 2~3 分後に微温湯で洗眼し、6 匹については洗眼しなかった。

観察項目 : 投与 1、24、48、72 時間後及び 4 日後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点后、Kay&Calandra の方法に従って評価した。あわせて一般状態を観察した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は研製製薬株式会社にある。

(1.5%G/眼劑)

項 目			最高 評点	投 与 後 時 間				
				1	24	48	72	96
非洗眼群 (6匹平均)	角膜	程 度	4	0	0.3	0	0	0
	混濁	面 積	4	0	0.3	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	1.8	1.3	0.8	0.2	0
		浮 腫	4	1.3	0.5	0	0	0
		分泌物	3	2.0	0	0	0	0
	合 計			110	10.3	5.3	1.7	0.3
洗眼群 (3匹平均)	角膜	程 度	4	0	0.3	0	0	0
	混濁	面 積	4	0	0.3	0	0	0
	虹 彩		2	2	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	1.7	1.7	0.7	0	0
		浮 腫	4	1.0	0.3	0	0	0
		分泌物	3	2.0	0	0	0	0
	合 計			110	9.3	5.7	1.3	0

スコアー算出法：

(1)角膜 (最高評点 80) → 混濁 (最高評点 4) × 面積 (最高評点 4) × 5

(2)虹彩 (最高評点 10) → 刺激性変化 (最高評点 2) × 5

(3)結膜 (最高評点 20) → [発赤 (最高評点 3) + 浮腫 (最高評点 4)  
+ 分泌物 (最高評点 3)] × 2

トータルスコアー (最高評点 110) = (1) + (2) + (3)

非洗眼群では、結膜の発赤 (評点 1 または 2)、浮腫 (評点 1 または 2) 及び眼脂分泌 (評点 2) のほか、一部の動物に角膜混濁 (混濁度：評点 1、広さ：評点 1) が認められたが、投与 4 日後までに反応は全て消失した。その他の変化としては、全例に投与直後から 3~6 時間後まで閉眼が観察された。

一方、洗眼群では、非洗眼群と同様の反応がみられたがその程度は弱く、投与 72 時間後までに反応は全て消失したことから、洗眼効果を示すものと考えられた。その他の変化としては、全例に投与直後または 5 分後から 30 分後の間に閉眼が観察された。

一般状態に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、ペントキサゾン 1.5%粒劑 (1 キロ粒劑) はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性を有すると判断された。なお、洗眼によりその程度は軽減するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%/感作)

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

資料No. : 3-12

試験機関 : 關ボゾリサーチセンター  
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 : 1.5%粒剤 (1キロ粒剤)

[組成]ペントキサゾン 1.5%

賦物質微粉等 98.5%

供試動物 : Hartley系モルモット

♀、6週齢、体重 ; 274~324g、検体処理群各 20匹、陽性対照群各 10匹

観察期間 : 惹起終了後 48 時間観察

試験操作 : Buehler 法

投与量設定根拠 ;

感 作 ; 検体の 25%懸濁液 0.2mL をパッチ (直径 2.5cm) に塗布し、投与前に刈毛、剃毛した左側胸部に 7 日おきに計 3 回それぞれ 6 時間閉塞貼付した。陽性対照群には 1%DNCEB 溶液 0.2mL を用いて同様に感作を行った。

惹 起 ; 最終感作 14 日後、右側胸部に感作時と同様に検体の 25%懸濁液 0.2mL を 6 時間閉塞貼付した。陽性対照群には 0.25%DNCEB 溶液 0.2mL を用いて同様に惹起を行った。

観察項目 : 惹起終了 24 及び 48 時間後に貼付部位の紅斑及び浮腫の程度を肉眼的に観察し、次頁に示す基準に従い採点した。あわせて 1 日 1 回一般状態の観察を行った。また、初回感作日、最終感作日、惹起日及び惹起終了 48 時間後に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬株式会社にある。

(1.5%G/感作)

皮膚反応の評価

①紅斑及び痂皮形成

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑からわずかな痂皮の形成 (深部損傷) まで	4

②浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫	1
軽度浮腫	2
中等度浮腫	3
高度浮腫	4

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を以下の表に示した。

群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数								感作陽性率 (%)						
				皮膚反応	24 時間					48 時間								
					皮膚反応評点 0 1 2 3 4					計	皮膚反応評点 0 1 2 3 4					計		
検体	25% 検体	25% 検体	20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	0
				浮腫	20	0	0	0	0	0/20	浮腫	20	0	0	0	0	0/20	
	注射用水		20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	
				浮腫	20	0	0	0	0	0/20	浮腫	20	0	0	0	0	0/20	
陽性対照	1% DNCE	0.25% DNCE	10	紅斑	0	10	0	0	0	10/10	紅斑	0	10	0	0	0	10/10	100
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	浮腫	10	0	0	0	0	0/10	
	オリーブ油		10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	浮腫	10	0	0	0	0	0/10	

感作陽性率 (%) = 感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

感作陽性動物：皮膚反応の評価において評点 1 以上を示したもの。

検体処理群において、感作陽性率 0% で、対照群の動物にも皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照の DNCE 処理群では明瞭な皮膚反応が認められた。一般状態及び体重変化に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、ペントキサゾン 1.5% 粒剤 (1 キロ粒剤) の皮膚感作性は陰性であると判断された。