

⑭反復経口投与毒性及び発がん性

(資料No.16-1)

イヌを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体純度 :

試験動物 : ビーグル犬 1群雌雄各4頭, 開始時5~6カ月令
(体重 雄: 6.3~7.9kg, 雌: 6.9~8.8kg)

試験期間 : 12カ月間 (1992年11月25日~1993年12月24日)

投与方法 : 検体と基礎飼料を混合して, 0, 50/60, 100/120 及び300/360ppmの濃度
で1年間にわたって混餌投与した。なお, 給餌量は1日1頭あたり300gとし
たが, 投与13週時に体重が増加しすぎたため, 14週時より250gに変更した。
検体を混入した飼料は, 投与開始前1回, その後4週間に1回調製した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

いずれの群においても死亡はなかった。対照群及び300/360ppm群の同腹の雄
2例に間欠性の癲癇性発作が, また試験開始初期に対照群の雌1例に自発運
動の低下と血様の粘液便が観察された。これらの症状は, 対照群にもみられ
たことから, 投与に関連しないものと考えられた。その他, 種々の症状がみ
られたが, ビーグル犬にしばしばみられるもので, 検体投与の影響ではない
と考えられた。

体重変化; 投与開始から13週間は週1回, 16週時, その後は4週間に1回全動物の体
重を測定した。

50/60ppm群で投与36週以降に統計学的に有意な低体重が散見されたが, 用量
相関性のないため, 偶発的変動であり, 検体投与の影響ではないと考えられ
た。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

摂餌量；1頭当り，1日300g（投与14週時より250g）の餌を与え，残しがあればその分をさし引いて摂餌量を求めて群ごとに毎週1回算出した。

いずれの投与群の雌雄においても検体投与の影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は1日1頭あたり以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		50/60	100/120	300/360
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.44	2.68	8.46
	雌	1.33	2.72	8.22

血液学的検査；投与開始前，投与後13，26及び52週時に全動物を対象として，橈側皮静脈より採血して，ヘマトクリット値，血色素量，赤血球数，平均赤血球容積，平均赤血球血色素量，平均赤血球血色素濃度，血小板数，白血球数，白血球百分率を測定した。

以下に統計学的有意差のみられた項目を示す。

投与26週時に好酸球数の有意な低下が，すべての投与群の雄に，赤血球数の有意な増加が300/360ppm群の雌に認められた。しかし，ともに一過性の偶発的変動であり，検体投与に関連するものではないと考えられた。

血液生化学的検査；投与開始前，投与後26週及び52週時に，上記の血液学的検査における同一の動物の血漿を用いて，アルカリフォスファターゼ，GOT，GPT， γ -GTP，クレアチンフォスフォキナーゼ，クレアチニン，尿素窒素，総蛋白，アルブミン，グロブリン，A/G比，血糖，総コレステロール，トリグリセライド，総ビリルビン，カルシウム，リン，ナトリウム，カリウム，塩素を測定した。

以下に統計学的有意差のみられた項目を示す。

26週時に300/360ppm群の雄において、GOTが統計学的に有意に増加した。また、投与26及び52週時に統計学的有意差は認められなかったものの、同群でGPTが増加傾向を示した。これは、イヌ亜急性毒性試験でも観察された肝障害を示唆するもので、検体投与の影響と解釈した。その他、統計学的有意差が散見されたが、より高用量群では認められないもの、投与期間に関連していないものなどで、検体投与関連性ではないと考えられた。

尿検査；血液学的検査と同一の時期に、全動物を対象にして、外観、容積、比重、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣を検査した。
いずれの投与群にも異常は認められなかった。

眼検査；投与前、投与後26及び52週時に全動物を対象として検査した。
50/60ppm群の雄1例に、眼底出血がみられたが、その他には異常はみられなかったため、偶発的変化と考えられた。

臓器重量；52週間投与終了時、全動物を対象として、剖検後、脳、下垂体、甲状腺、心、脾、肝、腎、脾、副腎、精巣、卵巣の重量を測定し、対体重比も算出した。

以下に統計学的有意差のみられた項目を示す。

300/360ppm群の雌で、甲状腺重量及び対体重比が増加したが、この変化に対応した病理組織学的所見は観察されなかった。また、先に実施した亜急性毒性試験では同様の変化は認められなかったことから検体投与の影響ではないと考えられた。

その他、統計学的有意差が散見されたが、用量相関性はなく、検体投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時に、全動物を対象として剖検を行った。

検体投与の影響と考えられる所見はなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として以下の臓器、組織について病理標本を作成し鏡検を行った。

脳、脊髄、末梢神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、口蓋扁桃、脾、骨、骨髄、リンパ節、心、大動脈、唾液腺、舌、口腔粘膜、咽頭、食道、胃、肝、胆のう、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、気管、肺、腎、膀胱、精巢、精巢上体、前立腺、陰茎、卵巣、卵管、子宮、膣、眼、涙腺、骨格筋、皮膚、乳腺（雌のみ）、肉眼的異常部位。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以下に認められた病理組織学的所見を示す。

表 病理組織学的所見

300/360ppm群の雌雄において、脾臓の白脾髄、口蓋扁桃、腸間膜リンパ節に、同群雄では回腸、盲腸、結腸あるいは直腸のリンパ組織に、同群の雌では、頸部リンパ節に、空胞細胞の集簇が観察された。さらに同群の雄では上皮小体の腺細胞空胞化も認められた。これらの組織学的所見は、先に実施した亜急性毒性試験の300ppm以上の投与群の動物においても観察されており、検体の影響と考えた。また、300/360ppm群で、雄では精巣上体に、雌では大脳髄膜に動脈炎がみられたが、ともに限局した病巣であった。両病変が最高用量群の雌雄に観察されたことから、これらの変化についても検体投与の可能性が示唆されたが、イヌの動脈炎、とくにビーグル犬については、その誘発因子や発生機序は未だ十分に解明されていない。90日間反復投与試験の項でも述べたが、ビーグル犬には自然発生性の動脈炎が生じることが知られており、自然発生性病変が本剤投与により増悪化され、発現したものと解釈された。100ppm以下の群では、検体投与に関連した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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以上より、本剤の12ヵ月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、300/360ppm群の雄において、GOT、GPTの増加が、同群雌雄で種々の組織で空胞細胞の集簇、細胞空胞化が認められたことより、無毒性量及び無影響量は雌雄とも100ppm（雄2.68mg/kg/日、雌2.72mg/kg/日）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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑭反復経口投与毒性及び発がん性

(資料No.16-2)

イヌを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験神経毒性検査成績

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体純度：

試験動物： ビーグル犬 1群雌雄各4頭，開始時5～6カ月令
(体重 雄：6.3～7.9 kg, 雌 6.9～8.8 kg)

試験期間： 12カ月間(1992年11月25日～1993年12月24日)

投与方法： 検体と基礎飼料を混合して，0，50/60，100/120，及び300/360ppmの濃度で1年間にわたって混餌投与した。なお，給餌量は1日1頭あたり300gとしたが，投与13週時に体重が増加しすぎたため，14週時より250gに変更した。検体を混入した飼料は，投与開始前1回，その後4週間に1回調整した。

神経毒性検査：神経毒性検査は(財)残留農薬研究所で実施された1年間慢性毒性試験の一部として，投与期間末期の1993年11月30日に実施された。神経毒性検査以外の試験成績は資料No. 16を参照のこと。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結果： 全ての FOB 検査に投与に関連した影響を認めなかった。
なお、イヌの慢性毒性試験（資料 No.16）における一般状態の項で癲癇様発作が記載された同腹仔の雄 2 例の内、高投与群の 1 例は本検査時にも同様の発作が発現したため検査を中止した。他の 1 例（対照群）に発作は見られず本検査の各項目に異常はなかった。これらの雄 2 例で観察された癲癇様発作はビーグル犬で報告されている遺伝性素因によるものと考えられる¹⁻³⁾。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以上の結果、本剤を 300/360 ppm (雄 8.46mg/kg/日、雌 8.22mg/kg/日) の飼料中濃度で約 1 年間イヌに投与しても、神経毒性項目 (FOB 検査) に異常をもたらさないと結論する。

参考文献

1. Bielfelt, SW, Redman, HC, and McClellan, RD (1971): Sire and sex-related differences in rates of epileptiform seizures in a purebred-beagle dog colony. *Am J Vet Res*, 32; 2039-2048.
2. Hegreberg, GA and Padgett, GA (1976): Inherited progressive epilepsy of the dog with comparisons to Lafora's disease of man. *Fed Proc*, 35(5); 1202-1205.
3. Holliday TA (1985): Epilepsy in animals. In Frey H.-H. and Janz D. *Handbk. Exptl Pharmacol*, 74; 55-76.

⑮繁殖毒性

ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料No.17)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1994年

検体の純度 :

試験動物 : SD系ラット, 1群雌雄各30匹, 投与開始時約6週齢
体重 雄: 177-180g, 雌: 155-157g

投与期間 : P₁ 世代; 投与開始からF_{1a}及びF_{1b}児離乳時までの29週間,
P₂ 世代; 離乳時からF₂ 児離乳時までの21週間。
(1994年7月2日~1994年12月20日)

投与方法 : 検体を0, 3, 10および100 mg/kg/日の用量になるよう, 試験開始2週間は
試験開始前の体重と摂餌量から計算して飼料中の検体濃度を求めた。その後
は, 所定の用量を維持するように試験中の体重と摂餌量から計算した。
検体はそのまま基礎飼料と混合した。

方法及び試験項目: 概要を表Aにまとめた。

一般状態及び死亡率; 全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

体重変化; 全親動物は試験第1週またはそれ以前から開始して10週間の交配前投与期
間中週に1回体重を測定した。雄は試験期間中週に1回体重を測定した。妊
娠が確認された雌は, 妊娠0, 7, 14, 21日と哺育 1, 4, 7, 14, 21日に体重
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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

摂餌量；全親動物は試験第1週またはそれ以前から開始して10週間の交配前投与期間中週に1回摂餌量を測定した。交配期間中は摂餌量を測定しなかった。交配期間終了後、雄は再び毎週測定し、雌は妊娠期間中は週に1回、哺育第1週は1回、2週は2回、第3週は2～3日の間隔で測定した。

交配及び妊娠の確認；同群の雌を雄と1対1で7日間同居させ、それを3回繰り返し行った。繁殖期間中、膣栓または膣スミア中に精子が確認できたものを妊娠0日とした。

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

1. 雄の交尾率 (%) = (交尾成立雄数 / 同居させた雄数) × 100
雌の交尾率 (%) = (交尾成立雌数 / 同居させた雌数) × 100
2. 雌の受胎率 (%) = (妊娠雌数 / 交尾成立雌数) × 100
雄の受胎率 (%) = (交尾した雌が妊娠した雄数 / 交尾成立雄数) × 100
3. 雌の受精率 (%) = (妊娠した雌数 / 同居させた雌数) × 100
雄の授精率 (%) = (交尾した雌が妊娠した雄数 / 同居させた雄数) × 100
4. 妊娠率 (%) = (生存児動物を出産した雌数 / 妊娠雌数) × 100
5. 妊娠期間 = 妊娠0日から出産日 (哺育0日)
6. 哺育0日の生存率 = 出産時 (哺育0日) の生産児数 / 出産児数 (哺育0日の生産児数 + 死亡児数)
7. 哺育1または4日の生存率 = 哺育1または4日の生存児数 / 哺育0日の生産児数
8. 哺育7、14または21日の生存率 = 哺育7、14または21日の生存児数 / 哺育4日の調整後の生存児数

病理学的検査；P₁及びP₂世代の全親動物とF_{1a}及びF_{1b}及びF₂世代から各群、各性について各10匹ずつを無作為に選抜し肉眼的病理検査を行った。また、全親動物の、肝、腎、心、脾、および甲状腺の湿重量を測定した。各世代の対照群と100mg/kg/日群の全親動物の子宮頸管、卵巢、卵管、子宮、膣、精巢、精巢上体、精のう、凝固腺、前立腺、下垂体、肝、腎、心、肺、腸間膜リンパ節、甲状腺、上皮小体、膀胱の病理組織学的検査を行った。その他に、対照群と100 mg/kg/日群のP₁親動物雌雄各5匹の全臓器の病理組織学的検査を行った。

表A

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
P ₁	育成(10)		体重及び摂餌量を週1回測定した。
	交配(3)	雌雄1対1で交配。交尾は膣栓または精子で確認し、その日を妊娠0日とした。	交配状況の観察。
	妊娠(3)		体重を雄は週に1回、雌は妊娠0, 7, 14, 20日に測定した。
	出産 (F _{1a})		出産状況の観察。生産児数、分娩日、性別、外表異常の観察。同腹生存児体重測定。
	哺育(3)	出産後4日に同腹児数を雄4匹雌4匹(不可能な場合は雌雄合計8匹)に調整した。	哺育1, 7, 14及び21日に母動物の体重を測定した。同じく、摂餌量を哺育第1週には1回、第2週は2回、第3週は2~3日の間隔で測定した。哺育0, 1, 4, 7, 14及び21日に生存児数を数えて体重を測定した。死亡児数も数えた。また、哺育児にみられた外表異常、一般状態の変化を記録した。死亡児と哺育4日に屠殺した児動物について肉眼的病理検査を行った。
	離乳	F _{1a} 各群から雌雄30匹ずつを継代用に選抜した。 F _{1a} 離乳後、約1週間でP ₁ を再交配し、F _{1a} と同様の手順でF _{1b} を得た。	継代用以外の児動物を屠殺し、その内各群雌雄10匹の肉眼的病理検査を行った。
	F ₁	育成(12)	} (F ₀ 世代に準ずる。)
交配(3)		(F ₀ 世代に準ずる。)	
妊娠(3)		(F ₀ 世代に準ずる。)	
出産		(F ₀ 世代に準ずる。)	
哺育(3)		(F ₀ 世代に準ずる。)	
離乳		(F ₀ 世代に準ずる。)	
F ₂			全親動物と児動物については各群雌雄10匹ずつの肉眼的病理検査を行った。親動物については臓器重量の測定と生殖器官、標的臓器の病理組織学的検査も行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結果：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 (つづき) :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 (つづき) :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 (つづき) :

試験期間中にP₁世代では、3mg/kg/日の雄が1匹、鼻骨折し、瀕死状態になったため安楽死させた。その他10mg/kg/日群では、雌1例が、また100mg/kg/日群では、雌2例が死亡（瀕死のための屠殺も含む）した。この内、10mg/kg/日群の雌は乳腺部分に裂傷がみられ、100mg/kg/日群の1例は腎不全、別の1例は難産が死因であった。またP₂世代では、対照群の雌1例（鼻骨折）、3mg/kg/日群で雄1例及び100mg/kg/日群の雄1例がリンパ肉腫のため瀕死状態となり、安楽死させた。100mg/kg/日群の雌3例が哺育期間中に死亡した。この内の1例の死因は不明、その他の2例は腎不全と大量出血であった。

3および10mg/kg/日群では、各世代とも親動物に検体投与に関連した変化は観察されなかった。10mg/kg/日群のP₂世代の雌で、心、肺の重量が増加したが、対体重比では対照群と差が認められず、病理組織学的な変化もみられないので毒性学的に有意な変化ではないと判断した。100mg/kg/日群の親世代（P₁及びP₂）では、摂餌量の軽度の減少（P₁世代のみ）、体重または体重増加量の低下、哺育期間中の膈出血の発生頻度の増加、肝、腎、心、脾及び甲状腺の重量増加がみられ、検体投与の影響と考えられた。また、100mg/kg/日群において、心で心筋線維変性が、P₁世代雄のみでみられたが、P₁世代の雌ではみられず、P₂世代では雌雄とも認められなかった。肺では、同群の各世代の雄のみで肺胞内大食細胞の集簇がみられた。また、P₁及びP₂世代同群の雌雄で脾及び腸間膜リンパ節の洞組織球症がみられ、同群雌では各世代とも、胃腔内に細胞残屑を含む腺陰窩の拡張を示す動物数が増加した。前立腺では、P₁及びP₂世代で雄の100mg/kg/日群の一部に軽微または軽度の慢性活動性炎症が観察された。また、甲状腺では、P₁及びP₂世代の100mg/kg/日群の雌雄で甲状腺濾胞上皮細胞の細胞質空胞化が認められた。その他、甲状腺では、変性や炎症性変化も認められたが、P₂世代の変化はP₁世代と比べ、程度が軽減していた。空胞化の程度の著しい甲状腺には、限局性または多発性の慢性炎症や壊死もみられた。以上の病理組織学的所見は検体投与の影響と推察された。甲状腺の形態学的な変化から機能障害の可能性が疑われたため、P₂世代の雌雄の血清中甲状腺ホルモン(T₄)濃度を測定したが、いずれの投与群においても検体投与に関連した影響は認められなかった。P₁及びP₂世代の100mg/kg/日群の雄で軽度の多巣性尿管変性の発生頻度が増加した。本病変は、この系統のラットで老齢性病変としてしばしば観察されているものである。軽度の変化を示す動物数は対照群と比べて著しく増加した訳ではなかったが、P₁及びP₂世代の100mg/kg/日群でともに同じ傾向がみられており検体投与に関連した変化であることが示唆された。また、親の繁殖性に関しては、交尾率、交尾所要日数、受胎率、受精率、妊娠率、妊娠期間に、P₁及びP₂世代とともに検体投与の影響は認められなかった。100mg/kg群のP₁、P₂世代雌に、低頻度ではあるが、分娩後の膈出血、難産、死亡などがみられ、検体投与との関連性が示唆された。一方、雄への影響を示唆するような変化は認められなかった。また、3mg/kg/日群のP_{1a}世代で雄の受胎率に統計学的に有意な低下がみられたが、これは次のような理由で見かけ上の低下であり、検体投与に関連していないと考えられた。1)本指標に対する対照群の値(100%)は当該研究所の背景データ(67.9-100%)の上限であった。2)3mg/kg/日群の値(76.

9%)は背景データの範囲内であった。3)より高用量群及び他の (P_{1b}及びP₂)世代では、同様の有意差は認められなかった。

児に対する影響については、100 mg/kg/日群のF_{1a}, F_{1b}, F₂ 世代で、生産児数の低下、哺育0日あるいは4日の生存率・リターサイズの低下あるいは低下傾向、体重の増加抑制がみられた。これらの影響は、分娩後の膣出血や難産を含む100mg/kg/日群の母動物に対する毒性から判断すると、児動物に対する影響は母体を介して生じたものと解釈した。F_{1a}世代の3及び10mg/kg/日群で哺育0日の生存率に統計学的に有意な低値がみられたが、これも、対照群の値(99.5%)が高かったこと、3及び10mg/kg/日群の値はそれぞれ95.3及び97.1%で背景データ(93.4-100%)に入っていること、及び最高用量群とその他の世代ではこの変化の再現性が認められなかったことより、検体投与の影響ではないと考えられた。

以下に100mg/kg/日群で観察された、検体投与の影響と考えられる変化を示す。

世代	項目
P1	死亡♀2例、分娩後の膣出血(♀のみ)、会陰部被毛汚染 体重減少及び体重増加量低下(♀のみ)、摂餌量低下 心、腎、肺、脾、甲状腺重量増加 肺胞内大食細胞集簇(♂のみ)、腸間膜リンパ節の洞組織球症、胃腔内腺陰窩拡張、 甲状腺濾胞上皮空胞化・変性・炎症、腎尿細管変性(♂のみ)、心筋線維変性(♂のみ)、 前立腺軽度炎症(♂のみ)
P2	死亡♀3例、分娩後の膣出血(♀のみ)、難産(♀のみ) 体重増加量低下(♀のみ) 心、腎、肺、脾、甲状腺重量増加 肺胞内大食細胞集簇(♂のみ)、腸間膜リンパ節の洞組織球症、胃腔内腺陰窩拡張、 甲状腺濾胞上皮空胞化・変性・炎症、腎尿細管変性(♂のみ)、前立腺軽度炎症 (♂のみ)
F1a	胃内のミルク欠乏、体温低下、削瘦 生産児数減少、哺育14、21日目の体重減少、哺育1、4(調整前)日のリターサイズの減少
F1b	生産児数減少、哺育14、21日目の体重減少、哺育1、4(調整前)日のリターサイズの減少
F2	胃内のミルク欠乏、体温低下、食殺、 生産児数減少、哺育1、21日目の体重減少(♂のみ)、哺育1、4(調整前)日のリターサイズの減少

以上の結果により、ラットに2世代にわたって本剤を飼料中に混合して投与した結果、親動物の100mg/kg/日で、体重減少及び体重増加量の低下、摂餌量の低下、一部の雌の分娩後の膣出血、難産及び死亡、肝、腎、心、脾及び甲状腺の重量増加がみられたこと、また、心筋線維変性、肺胞内大食細胞集簇、脾及び腸間膜リンパ節で洞組織球症、胃腺陰窩の拡張、及び甲状腺濾胞上皮細胞細胞質空胞化などがみられたことから、親動物に対する毒性ならびに繁殖毒性については、無毒性量及び無影響量は10mg/kg/日と判断した。また母動物の数例が死亡した最高用量の100mg/kg/日群では、児動物で生産児数の低下、哺育時のリターサイズの低下、体重の増加抑制などがみられたため、児動物の無毒性量及び無影響量は10mg/kg/日と判断した。

⑩催奇形性

ラットにおける催奇形性試験

(資料No.18)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1993年

検体純度 :

試験動物 : SD系妊娠ラット (10週令) 1群雌30匹

試験期間 : 試験期間 (1992年4月13日~1993年2月1日)

方法 : 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し, 0, 10, 50 及び200mg/kg/日の投与用量で, 妊娠6日から15日までの10日間毎日1回経口投与した (膈垢中に精子が認められた日または膈栓を発見した日を妊娠0日とした)。なお, 対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

試験項目 :

親動物 ; 一般状態及び生死を毎日観察し, 妊娠0, 6~16日の毎日, 19及び21日に体重を, 妊娠0日以降3~4日の間隔で摂餌量及び摂水量を測定した。妊娠21日に帝王切開し, 剖検と肝, 腎, 脾, 心, 妊娠子宮重量の測定を行なった後, 黄体数, 着床数, 生存及び死亡胎児の数と子宮内位置を記録した。

生存胎児 ; 性別, 体重を記録し, 外表異常の観察を行った。

各同腹児群の 1/2の胎児については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。

申請者注 : 本試験における「異常」、「変異」及び「奇形」の定義を以下に示す。

- ① 異常(alteration)とは、変異と奇形を含む所見である。
- ② 変異(variation)とは、生存や健康に悪影響を及ぼす可能性は少ないが正常範囲を越えた異常所見である。
- ③ 奇形(malformation)とは、個体の生存、発育ないし機能に悪影響を及ぼす可能性のある永続する異常所見で、特定の種・系統ではきわめて低頻度で発生する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 :

結 果 (つづき) :

200 mg/kg/日群で妊娠12日の群平均体重値と妊娠6～9日, 9～12日および6～16日の体重増加量が対照群と比べ, 有意に減少した。その他, 母体に影響は認められなかった。10mg/kg/日群の母動物の心重量の低値は, 検体投与によるものではなく, 最終体重がやや低かったことによるものと思われた。一方, 胎児検査では, 吸収胚数の増加や胎児体重の低下はみられず, 奇形または変異に関して, いずれの投与群においても生物学的または統計学的に意味のある変化はみられなかった。観察された奇形は全部で4例で, 対照群1例(大脳脳室拡張), 50mg/kg/日群1例(小眼球症)及び200 mg/kg/日群2例(小眼球症)であった。小眼球症は高用量の2群に認められたが, 最近実施した5試験の対照群でも同程度の頻度(0/269, 0/378, 0/364, 1/636, 2/438)で発生しており, 検体投与の影響とは考えなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したときの母体における無毒性量及び無影響量は50mg/kg/日、また最高投与量の200mg/kgでも胎児に対して致死作用や催奇形性を及ぼさないと判断される。

⑯催奇形性

ウサギにおける催奇形性試験

(資料No.19)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1994年

検体純度 :

試験動物 : ニュージーランド白色種妊娠ウサギ (約6カ月令) 1群雌20匹

試験期間 : 試験期間 (1992年8月25日～1994年1月7日)

方法 : 検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し, 0, 2.5, 10及び50mg/kg/日の投与用量で, 妊娠7日から19日までの13日間毎日1回経口投与した (交尾の観察された日を妊娠0日とした)。

なお, 対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

試験項目 :

親動物 ; 一般状態及び生死を毎日観察し, 妊娠0, 7～19日の毎日, 20及び28日に体重を, 妊娠4日～28日の間, 毎日摂餌量を測定した。妊娠28日に帝王切開し, 剖検と肝 (胆のうを含む), 腎, 妊娠子宮重量の測定を行なった後, 黄体数, 着床数, 生存及び死亡胎児の数と子宮内位置を記録した。(剖検時に, 肝, 胆のう, 腎, 胃, 甲状腺, 及び肉眼的病変部を中性リン酸緩衝ホルマリン液中に保存したが, いずれの群でも投与に関連した肉眼的病理所見は認められなかったため, 採取組織についての病理組織学的検査は行わなかった。)

生存胎児 ; 性別, 体重を記録し, 外表異常の観察を行った。

すべての胎児について内臓異常の有無を検査した後, 骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。

申請者注 : 本試験における「異常」、「変異」及び「奇形」の定義を以下に示す。

- ① 異常(alteration)とは, 変異と奇形を含む所見である。
- ② 変異(variation)とは, 生存や健康に悪影響を及ぼす可能性は少ないが正常範囲を越えた異常所見である。
- ③ 奇形(malformation)とは, 個体の生存, 発育ないし機能に悪影響を及ぼす可能性のある永続する異常所見で, 特定の種・系統ではきわめて低頻度で発生する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 (つづき) :

母動物に対する毒性は50mg/kg/日群で観察され、体重増加抑制、摂餌量の低下、糞排泄量の減少が認められた。また、50mg/kg/日群の2例は、重度の栄養失調とみられる症状をともなって剖検予定日より早く流産した。別の1例は、妊娠18日に死亡したが、子宮内の胎児は正常であった。その他、母動物に関連する変化は認められなかった。

胎児検査においては、吸収胚数の増加や胎児体重の低下はみられなかった。奇形または変異に関して、いずれの投与群においても生物学的または統計学的に意味のある変化は認められなかった。下表に本試験で認められた奇形の発生頻度及び当該試験機関における背景データを示す。

観察された奇形は、0, 2.5, 10及び50mg/kg/日群で、それぞれ14, 9, 5及び4例であった。2.5 mg/kg/日群で1例観察された過剰半月弁以外は、対照群または背景データ内の発生頻度であった。過剰半月弁の発生頻度は1例のみであり2.5 mg/kg/日以上投与群では認められなかったことより、観察された全ての奇形は、検体投与の影響ではないと考えられた。

以上、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母体における無毒性量及び無影響量は10mg/kg/日、また最高投与量の50mg/kg でも胎児に対して致死作用や催奇形性を及ぼさないと判断される。

⑰ 変異原性

1) 細菌を用いた復帰変異原性

(資料No.20)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1992年

検体の純度 :

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下および非存在下で Ames らの方法で二回独立して実施し、変異原性を検定した。検体を溶解させるため、DMSO を用いた。

陽性対照として非代謝活性化法で ENNG, 2NF, 9AmAc を用い、代謝活性化法で 2AA を用いた。

また Ausubel らの手法の変法であるレプリカ法を用いて、Ames 用アガー上に出現したコロニーが、真にヒスチジンあるいはトリプトファン要求性からの復帰変異を起こしているか否かを確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 :

試験 1. (910820AMS3162)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

試験 2. (910917AMS3162)

レプリカ試験 (910924AMS3162)

検体は、二回のAmes試験では、代謝活性化法および非代謝活性化法のいずれも用量依存性をもってサルモネラおよび大腸菌のコロニー数の増加が認められた。

また各菌株のコロニーについて行ったレプリカ・プレート法による試験では、これらコロニーの大部分のものは、栄養要求性であり、復帰変異によって生じたものではなかったことが判明した。本剤は醗酵生産物であり、分析した結果微量のヒスチジンおよびその他のアミノ酸が含有していたことが明らかになった（17種のアミノ酸で計 0.1384%，その内ヒスチジン0.0016%）。従って、コロニーの増加は試験菌株の変異によるものでなく、ヒスチジン等のアミノ酸が含有したことによって、アミノ酸要求性の菌株が変異せずにそのまま増加したものと推察された。

以上の結果から、本剤はサルモネラおよび大腸菌に対して変異原性を示さないものと判断される。

⑰ 変異原性

1) 細菌を用いた復帰変異原性

(資料No.21)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1996年

検体の純度 :

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下および非存在下で Ames らの方法で 2 回独立して試験を実施し、変異原性を検定した。以前に行った復帰変異原性試験 (資料No.20) で、サルモネラ及び大腸菌のコロニー数が検体用量依存性に増加した。検体は、醗酵生産物であり、本試験の評価を妨害する可能性のあるヒスチジンまたはトリプロファンを含むことが示唆されたため、

さらに確認試験では、TA100 の非代謝活性化で $50 \mu\text{g}/\text{プレート}$ を追加し、TA1537 の非代謝活性化では、 $50 \mu\text{g}/\text{プレート}$ を追加して $2500 \mu\text{g}/\text{プレート}$ を削除したが、その他の全ての供試菌株及び代謝活性化条件では最初と同じ濃度で試験を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

陽性対照として非代謝活性化法及び代謝活性化法で下表の物質を用いた。

	S9	陽 性 対 照	濃度/plate
TA98	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	2-nitrofluorene	1.0 μ g
TA100	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	Sodium azide	2.0 μ g
TA1535	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	Sodium azide	2.0 μ g
TA1537	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	ICR-191	2.0 μ g
WP2uvrA	+	2-aminoanthracene	25.0 μ g
	-	4-nitroquinoline-N-oxide	0.4 μ g

結 果 :
試験 1.

試験 2.

検体は二回のAmes試験で、代謝活性化法及び非代謝化法のいずれもサルモネラ菌及び大腸菌のコロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照群では明らかな復帰変異コロニーの増加が認められた。

以上の結果より、本剤はサルモネラ菌及び大腸菌に対して変異原性を示さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑰変異原性

細菌を用いたDNA修復試験

(資料No.22)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1996年

検体の純度 :

方 法 : 枯草菌 *Bacillus Subtilis*の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45)を用い, 代謝活性化及び非活性化によってDNA損傷の誘発性を検定した。
検体を溶解させるため, DMSOを用いた。

結 果 :
実験 I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

実験 II

以上の結果より、本剤はDNA損傷の誘発性がないものと判断される。

⑩変異原性

2) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞を用いた in vitro 染色体異常試験 (資料No.23)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1992年

検体の純度 :

方 法 : チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞 (CHO) に対する染色体異常誘発性について検索した。検体を溶解するため、DMSOを用いた。

薬物に4時間処理した後細胞を採取して標本を作製した。

検体および溶媒対照は各濃度につき100個、陽性対照は25個の良好な中期分裂細胞を観察し、染色体異常を分類・計数した。

染色体異常細胞頻度について、ポアソン分布に関するトレンドテストを行い、検体処理群の値が溶媒対照に比し統計学的に有意に上昇し、用量相関が認められる場合を陽性とした。

結 果 : 次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

検体では非代謝活性化法、代謝活性化法とも溶媒対照に比し染色体異常細胞頻度の上昇は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC（非代謝活性化法）およびシクロホスファミド（代謝活性化法）では、溶媒対照に比し、統計学的に有意な染色体異常細胞頻度の上昇が認められた。

以上の結果、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞において染色体異常を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

⑰ 変異原性

3) 小核試験

マウスの骨髄細胞を用いた小核試験

(資料No.24)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1992年

検体の純度 :

方法 :

検体をICRマウス雌, 雄各5匹に0 (陰性対照群), 500, 1000および2000mg/kgの濃度でアカシア液に懸濁し, 1日1回2日間経口投与した。

2回目の投与後24時間目に屠殺し, 各動物について合計1000個の多染性赤血球(PCE)および正染性赤血球(NCE)を計数し, 毒性の指標として, PCE数のNCE数に対する比を算出した。また小核保有多染性赤血球(MPCE)も計数した。また陽性対照としてシクロホスファミルドを同様に投与, 比を算出した。

確認として, 再試験を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 :

1回目

2回目

検体は、雌雄いずれにおいても多染性赤血球／正染性赤血球比（PCE/NCE）に影響を与えなかった。また小核保有多染性赤血球数（MPCE）の平均頻度は、1回目試験では検体投与群の雄において傾向性検定で有意差がみられたが、雌のみのデータあるいは雌雄のデータを一緒に検定すると、有意差は認められなかった。小核保有多染性赤血球数の平均頻度の値は、雄で0.6～2.4、雌で1.0～1.6と背景データ（雄：0.6～3.0、雌：0.4～2.8）の範囲内であった。さらに再試験を行ったが、そこでは、小保有多染性赤血球数に検体投与の影響は認められなかった。

一方、陽性対照物質であるシクロホスファミド投与群では、平均小核保有多染性赤血球数は明らかに増加し、本試験系が、染色体構造異常誘発物質を検出するのに十分な感度を有していることが示された。

以上の結果から、本剤はICRマウスの小核を誘発しないものと判断される。

⑰変異原性

ラットの肝細胞を用いた不定期DNA合成誘導試験

(資料No.25)

試験機関 リリー研究所(米国)

[GLP対応]

報告書作成年 1992年

検体の純度 : 88.0%

方 法 : ラットの初代培養肝細胞を用いた。

^3H -チミジンの取り込みによるオートラジオグラフィーにより標本を作成し、各濃度で20個の形態学的に正常な細胞核上の銀粒子数を測定して、DNAの部分修復による不定期DNA合成を検定した。

検体を溶解させるため、DMSOを用いた。

少なくとも連続する2濃度以上で、対照の3シグマ以上の銀粒子数が認められた場合、不定期DNA合成が陽性であるとした。

(変異/不定期DNA)

結 果 :

試験1では、10~1000 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲の検体の処理で細胞毒性が認められた。
試験1の5 $\mu\text{g/ml}$ 処理、および試験2での10および50 $\mu\text{g/ml}$ では、わずかに毒性の徴候が認められたが、UDS誘発は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたMNNG及び2AAF投与群では、濃度と関連した核上銀粒子数の増加がみられた。

以上の結果から、本剤におけるラット肝細胞を用いた不定期DNA合成誘導試験でのDNA損傷は陰性であると判断される。

⑱ 生体の機能への影響に関する試験

スピノサドにおける薬理試験

(資料No.26)

試験機関

報告書作成年 1996年

検体の純度 :

1) マウス及びラットの中樞神経系に対する作用

① マウス及びラットにおける一般症状

供試動物: ICR系雄マウス, 5週齢, 体重28.1~31.8g, 1群雄3匹
Wistar系雄ラット, 5週齢, 体重134~163g, 1群雄3匹

方法: 検体を0.5%トラガント水溶液に懸濁させ, 0, 150, 500, 1500及び5000mg/kgを経口投与し, 一般症状を観察した。

結果: マウスでは, 500mg/kg以下では, 異常は認められなかった。1500mg/kgで軽度の自発運動の減少, 5000mg/kgでは, それに加えて軽度の身づくろいの減少, 反応性の低下が認められた。死亡例は認められなかった。

ラットでも, 500mg/kg以下では異常は認められなかった。1500mg/kg以上の群では反応性の低下及び自発運動量の減少が認められた。死亡例は認められなかった。

② マウスにおける睡眠時間に対する作用

供試動物: ICR系雄マウス, 5週令, 体重28.9~35.1g, 1群雄8匹

方法: 検体を0.5%トラガント水溶液に懸濁させ, 0, 500, 1500, 5000mg/kgを経口投与し, 4時間後にヘキソバルビタール80mg/kgを腹腔内投与し, 正向反射消失から正向反射回復までの時間を睡眠時間として測定した。

結果: 500mg/kg以下では異常は認められなかった。1500mg/kg以上の群では統計学的有意差はなかったが, 睡眠時間の延長傾向を示した。

③ マウスにおける痙攣誘発作用

供試動物: ICR系雄マウス, 5週令, 体重27.5~34.8g, 1群雄10匹

方法: 検体を0.5%トラガント水溶液に懸濁させ, 0, 500, 1500, 5000mg/kgを経口投与し, 4時間後に電気痙攣装置を用いて電気刺激を与え, 痙攣ならびに昏睡の発現の有無を観察した。陽性対照群にはペンチレンテトラゾール40mg/kgを用いた。

結 果： 5000mg/kg では10例中1例に強直性屈曲・伸展及び間代性痙攣，昏睡を誘発したが，その他の用量では誘発しなかった。したがって検体には明らかな痙攣作用がないものと考えられた。一方，陽性対照群では，10例中8例に強直性屈曲・伸展痙攣が，その8例中4例に間代性痙攣及び昏睡が発現し，残りの4例が死亡して有意な痙攣誘発作用が認められた。

④ ラットにおける正常体温に対する作用

供試動物： Wistar系雄ラット，5週令，体重 136～157g，1群雄6匹

方 法： 検体を 0.5%トラガント水溶液に懸濁させ，0，500，1500，5000 mg/kg を経口投与し，直腸温を測定した。

結 果： 1500mg/kg 以下では体温に対して影響を及ぼさなかった。5000mg/kgでは，投与2～5日後に体温を有意に低下させたが，7日後には回復した。

⑤ ラットにおける自然脳波に対する作用

供試動物： Wistar系雄ラット，9～10週令，体重 334～407g，1群雄3匹

方 法： ペントバルビタール麻酔下のラットを固定し，脳を手術し電極をはめこみ1週間以上の回復期間をおき，無麻酔下で検体懸濁液0，500，1500，5000mg/kg を経口投与した。

結 果： いずれの投与群でも皮質脳波，海馬脳波とも睡眠波と覚醒波を交互に繰り返す波形パターンに影響を及ぼさなかった。皮質脳波の周波数解析の結果，1500mg/kg 以下の群では total powerは投与前と比較して投与後に変化はなかったが，5000mg/kg 群では total powerの低下が認められた。本群では一般症状では異常は認められなかった。

2) ラットの循環器系に対する作用

供試動物： Wistar系雄ラット， 7週令， 体重 255～287g， 1群雄6匹

方 法： 検体を0.5%トラガント水溶液に懸濁させ， 0， 500， 1500 及び
5000mg/kg を経口投与し， 血圧及び心拍数を測定した。

結 果： 500mg/kg以下の群では血圧および心拍数に対して有意な作用を示さ
なかった。1500mg/kg 以上の群では血圧が有意に低下した。5000mg
/kg 群では心拍数が有意に低下した。

3) ラットにおける自律神経系に対する作用

供試動物： Wistar系雄ラット，5週令，体重138～155g，1群雄6匹

方 法： 検体を0.5%トラガント水溶液に懸濁させ，0，500，1500及び5000mg/kgを経口投与し，実体顕微鏡より瞳孔径を測定した。

結 果： 1500mg/kg以下では，変化はなかったが，5000mg/kgでは，有意な散瞳作用が認められた。

4) 消化器系に対する作用

供試動物： ICR系雄マウス，5週令，体重23.2～27.7g，1群雄8匹

方 法： 検体を0.5%トラガント水溶液に懸濁させ，0，500，1500，5000mg/kgを経口投与し，その後4時間時に5%アラビアゴム水溶液に懸濁させた5%活性炭末液を0.2ml/匹経口投与し，その30分後に屠殺し胃腸管を摘出した。十二指腸起始部から炭末到達先進部の移行率(%)を腸管輸送能として測定した。

結 果： いずれの投与群においても腸管輸送能に影響は認められなかった。

5) 骨格筋に対する作用

① 懸垂動作試験

供試動物： ICR系雄マウス，5週令，体重27.3～32.9g，1群雄8匹

方 法： 検体を0.5%トラガント水溶液に懸濁させ，0，500，1500，5000mg/kgを経口投与し，水平に張り渡した針金にマウスの前肢をかけさせ，5秒以内に後肢を針金にかけられるかどうかを測定した。

結 果： いずれの投与群においても筋弛緩作用に影響は認められなかった。

6) ラットにおける血液に対する作用

① ラットにおける血液凝固に対する作用

供試動物： Wistar系雄ラット， 5週令， 体重 137～153g， 1群雄6匹

方 法： 検体を 0.5%トラガント水溶液に懸濁させ， 0， 500， 1500， 5000 mg/ kgを経口投与し， その3日後に後大静脈から採血してその血漿を得， プロトロンビン時間 (PT) 及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。

結 果： 500 及び5000mg/ kgではPT及びAPTTに対して作用を示さなかったが， 1500mg/ kgではPTが有意に延長した。

7) まとめ

以上の結果より， 本剤は無麻酔動物の生体機能に対して， 1500mg/kg 以上で自発運動の減少， 睡眠時間の延長， 体温低下など抑制的な作用を示した。5000mg/kg 群では1例が死亡した。

無作用量は500mg/kg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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

(15) その他

①マウスを用いた

免疫毒性試験

(資料 No. 66)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

検体純度:

供試動物: Cr1:CD(ICR)マウス、1群雌各10匹

投与開始時 約7週齢、体重 21.6~26.9 g

投与期間:

投与方法: 検体を飼料中に0、50、250及び900ppmになるように混合し、28日間をわたり随時摂食させた。飼料調製は、1週毎に調製した。別にシクロフォスファミド (CP, 20 mg/kg 体重) を24~28日に腹腔内投与する陽性対照群を設けた。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間中、すべての動物は生存しており、臨床症状も正常範囲であった。

体重変化; 投与開始4日前、投与後1、4、8、11、15、18、22、25、29日に全動物の体重を測定した。体重増加量は1-4、1-8、1-11、1-15、1-18、1-22、1-25及び1-29日の単位で算出した。

なお、陽性対照群は投与後1、8、15、22、29日に全動物の体重を測定した。試験期間を通じて900ppm投与群では、対照群に比して平均体重が2.4-6.5%減少したが、統計学的に有意ではなかった (Dunnett 検定、 $p < 0.05$)。体重増加量も24.3-250%の範囲で減少した。

対照群に比して50及び250ppm投与群の体重及び体重増加量に有意差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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

摂餌量；陽性対照群を除く全動物の摂餌量を最初の1週間は週2回、その後は週1回、測定した。

対照群に比してすべての投与群に検体投与に関連した有意差は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の時間加重平均による検体摂取量は以下のとおりであった。

血液学的検査；試験 日目に全動物を対象として血液を採取し、以下の項目の測定を行い、白血球の形態を観察した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数、白血球百分率（単球、リンパ球、好中球、好酸球、巨大リンパ球）、血小板数、網赤血球百分率、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度、

検体投与に関連した測定項目（測定値）を背景対照値とともに下表に示す。

900ppm 投与群では、投与に関連した統計学的に有意なヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下並びに平均赤血球容積の減少が認められた。

さらに、同群で好中球及び単球の高値並びにリンパ球の低値も認められた。

剖検及び臓器重量；試験 日目に全動物を剖検し、肝臓、脾臓、胸線の臓器重量を測定して、体重比も算出した。

検体投与に関連した測定項目（測定値）を背景対照値とともに下表に示す。

900ppm 投与群では、投与に関連した肝臓の絶対重量及び対体重比の増加がみられ、対照群に比してそれぞれ 20.2 及び 24%増加した。

一方、陽性対照群では対照群に比して胸腺の絶対重量及び対体重比がそれぞれ 31.5 及び 32.1%増加した。

免疫毒性；

以上の結果から、900ppm 投与群において血液学的検査項目及び肝臓重量に統計学的に有意な作用が認められたことから、一般毒性に関する無影響量(NOEL)は 250ppm(雌 40.6mg/kg/日)と判断された。また、検体には免疫毒性を有する証拠は示されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

2. 代謝物

① 急性経口毒性

のマウスを用いた急性経口毒性試験
(資料No. 27)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1996年

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス（開始時約8週令）（体重 雄27.2～34.3g, 雌21.8～25.4g）
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5% メトセル水溶液に懸濁して投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	500, 2000, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂ } ♀ } 3161
死亡開始時間及び終了時間	投与1日目に開始 投与8日目に終了
症状発現及び消失時間	投与5時間で発現 投与14日目に消失
最大無作用量 (mg/kg)	♂ 500 ♀ 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂ } ♀ } 2000

臨床症状は、死亡例で会陰部の汚れ、活動低下が、生存例では2000mg/kgの雄1例で流涙及び活動低下が認められた。

解剖所見は、死亡例全例（5000mg/kg群）で、肝の退色病巣が、また同群雄で3例、雌で3例に、体脂肪の減少が認められた。

① 急性経口毒性

のマウスを用いた急性経口毒性試験
(資料No. 28)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1996年

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス（開始時約8週令）（体重 雄30.0～34.2g, 雌25.7～30.2g）
1群雌雄各5匹（5000mg/kg 群の雌のみ11例）

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%のメトセル水溶液に懸濁して投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	500, 2000, 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂ >5000 ♀
死亡開始時間及び終了時間	投与後1時間に開始 投与2日目に終了
症状発現及び消失時間	投与2時間で発現 投与2日目に消失
最大無作用量 (mg/kg)	♂ } 2000 ♀ }
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂ } 500 ♀ }

5000mg/kg 群の雄で 1/5例、雌で6/11例の動物が投与後1時間以内または2日までに死亡した。2000mg/kg の雄で2/5例、雌で 1/5例が投与後2日までに死亡した。これら死亡例10例を剖検し、9/10例に誤投与に特有な肺の肉眼的所見（うっ血、暗色化）及び血胸がみられることより、これら9例は誤投与により死亡したものと解釈された。

被験物質の25%懸濁液は非常に濃厚で急速に凝固したため、この物理学的性質が誤投与を頻発した原因と考えられた。唯一、5000mg/kg 群の雌1例が、2日目に死亡したが、消化管摂取物減少が認められたのみで死因は不明であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

検体投与によると考えられる臨床症状の変化は認められた。

解剖所見は、肝の退色病巣、胃の腺粘膜の肥厚が生存例に認められた。

本試験における死亡例のほとんどは検体の誤投与によるものであり、雌の1例が死因不明であった。以上を考慮すると検体のLD₅₀は雌雄ともに5000 mg/kg 以上と判断された。

② 遺伝子突然変異原性

細菌を用いた復帰変異原性

(資料No.29)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1996年

検体の純度 :

方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌WP2uvrAを用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下および非存在下でAmesらの方法で2回独立して実施し、変異原性を検定した。検体を溶解させるため、DM S0を用いた。

陽性対照として非代謝活性化法及び代謝活性化法で下表の物質を用いた。

	S9	陽性対照	濃度/plate
TA98	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	2-nitrofluorene	1.0 μ g
TA100	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	Sodium azide	2.0 μ g
TA1535	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	Sodium azide	2.0 μ g
TA1537	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	ICR-191	2.0 μ g
WP2uvrA	+	2-aminoanthracene	25.0 μ g
	-	4-nitroquinoline-N-oxide	0.4 μ g

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 :
試験 1.

試験 2

試験 2 の試験濃度は、試験 1 において、サルモネラ菌の非代謝活性化法で細胞毒性が認められたため、1～100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ に変更した。

検体は二回のAmes試験で、代謝活性化法及び非代謝法のいずれもサルモネラ及び大腸菌のコロニー数の増加は認められなかった。

非代謝活性化法において、細胞毒性が認められたため、試験結果を確認するために試験 3 を0.100～100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度で行ったが、試験 1 及び 2 と同様の結果が認められた。

② 遺伝子突然変異原性

細菌を用いた復帰変異原性

(資料No.30)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1996年

検体の純度 :

方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 WP2 *uvrA* を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下および非存在下で Ames らの方法で 2 回独立して実施し、変異原性を検定した。検体を溶解させるため、DM SO を用いた。

陽性対照として非代謝活性化法及び代謝活性化法で下表の物質を用いた。

	S9	陽性対照	濃度/plate
TA98	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	2-nitrofluorene	1.0 μ g
TA100	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	Sodium azide	2.0 μ g
TA1535	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	Sodium azide	2.0 μ g
TA1537	+	2-aminoanthracene	2.5 μ g
	-	ICR-191	2.0 μ g
WP2uvrA	+	2-aminoanthracene	25.0 μ g
	-	4-nitroquinoline-N-oxide	0.4 μ g

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

結 果 :
試験 1

試験 2

検体は二回のAmes試験で、代謝活性化法及び非代謝活性化法のいずれもサルモネラ及び大腸菌のコロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体は、変異原性を示さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

3. 製剤

①急性経口毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 1)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1994年

検体の純度：

試験動物 : F344系ラット (開始時約10週令) (体重 雄 213.3~223.6g, 雌 134.6~148.0g) 1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を蒸留水で懸濁して投与した。動物は投与前一晚絶食し、胃ゾンデで単回強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	5000 以上
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	投与後6時間から発現 投与後7日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

臨床症状は、流涙、流涎、血様鼻漏、血涙、会陰部の尿・糞による汚れがみられた。剖検所見に異常は認められなかった。

①急性経口毒性

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 2)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体の純度：

試験動物 : CD-1系マウス (開始時約6週令) 1群雌雄各5匹 (体重 雄24.0~27.0, 雌20.0~23.5g)

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を蒸留水で懸濁して投与した。動物は投与前日の17時より絶食し、胃ゾンデで単回強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時、全動物について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 ₅₀ (mg/kg)	5000 以上
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	症状は認められなかった
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

臨床症状、剖検所見ともに異常は認められなかった。

①急性経口毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 3)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体の純度：

試験動物：SD系ラット（開始時約 5-8週令）1群雌雄各5匹（体重 雄 139-158g，
雌 132-145g）

試験期間：14日間観察

方法：検体を蒸留水で懸濁して投与した。動物は一晚絶食し，胃ゾンデで単回強制
経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時，全動物について肉眼的
病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	5000 以上
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	症状は認められなかった
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂♀ 5000

臨床症状，剖検所見ともに異常は認められなかった。

①急性経口毒性

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 4)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体の純度：

試験動物 : ICR系マウス(開始時約6~8週令) 1群雌雄各5匹(体重 雄 20~21g, 雌 20~22g)

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を蒸留水で懸濁して投与した。動物は投与前3~4時間絶食し、胃ゾンデで単回強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	5000 以上
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	症状は認められなかった
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂ 5000 ♀ —

雌で1例、一般症状には異常が認められず13日目に死亡しているのが、また2日目には共食いによる死亡例がみられたが、ともに偶発的であり、検体投与には関連のないものと考えられた。雄では死亡例は認められなかった。

臨床症状は、全例で異常は認められなかった。

解剖所見では、死亡例で、出血肺、肝・腎の暗色化および胃粘膜の上皮剥離が認められたが、生存例で異常所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

①急性経口毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 5)

試験機関

報告書作成年 GLP対応
2002年 2002年

検体の純度：

試験動物： Fischer 344系ラット（開始時約9週令） 1群雌雄各5匹
（体重 雄 205～216g, 雌 136～150g）

試験期間： 14日間観察

方法： 試験前夜、動物を絶食させ、検体を脱イオン水で75%混合液として、単回強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。
試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂♀ 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀ > 5000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現及び消失時間	投与当日から投与14日後まで
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂ 5000

死亡例はなかった。

全例に軟便が、雌雄動物に糞便による被毛汚染、雄動物に粗毛が認められた。

試験期間中、すべての動物で体重増加が認められた。

剖検時に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ダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

②急性経皮毒性

ウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 6)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1994年

検体の純度：

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ (開始時約3カ月令) (体重 2.39~2.57g)
1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を蒸留水で湿らせたガーゼにのせて、刈毛した動物の胴部10×14cmの範囲に24時間塗布した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時、全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	2000 以上
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	症状は認められなかった
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

臨床症状、剖検所見ともに異常は認められなかった。

全動物適用部位に、ガーゼ除去後、紅斑がみられたが、投与後7日には全て回復した。

②急性経皮毒性

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 7)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体の純度：

試験動物 : SD系ラット (開始時10~14週令) 1群雌雄各5匹 (体重 雄 217~231g,
雌 207~219g)

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を蒸留水で湿らせ、刈毛した動物の背部に24時間塗布した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間毎日観察した。試験終了時、全動物について肉
眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経皮
投与量	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	2000 以上
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現及び消失時間	症状は認められなかった
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

臨床症状、剖検所見ともに異常は認められなかった。

②急性経皮毒性

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 8)

試験機関

報告書作成年 GLP対応
2002年

検体の純度：

試験動物： Fischer 344系ラット（開始時約9週令） 1群雌雄各5匹
（体重 雄 196～214g, 雌 136～143g）

試験期間： 14日間観察

方法： 投与前日に動物の背部を刈毛し、検体を脱イオン水 0.31mL を用いてペースト状にして 5000mg/kg の用量で 24時間単回経皮投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14日間毎日観察した。

試験終了時、全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♂♀5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀ > 5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与当日より投与後 14日まで
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀ > 5000

ケージ側の観察では、雄動物 1例で軟便が、雌雄動物で顔周囲に暗色物質および肩の腫脹が認められた。また、手にとって観察を行ったところ、涙の増加および瞳孔径の増加が認められた。投与部位の変化は雄動物で紅斑、浮腫、皮膚の蒼白化等が観察された。

試験期間中、雄 1例に投与後 7日で軽度の体重減少が観察された以外、すべての動物で体重増加が認められた。

剖検時に異常は認められなかった。

④ 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚一次刺激性

(資料No.9)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1994年

検体の純度：

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ (3カ月令)

体重 2.27~2.75kg, 1群雄3匹, 雌3匹

試験期間 : 72時間観察

方法 : 検体を 0.5ml, 刈毛した動物の背部に4時間塗布した。

観察項目 : 検体適用後30分, 24, 48および72時間後に塗布部位を観察した。

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る。なお, 表1Aによった。(報告書15頁)

変 化	塗 布 後 (時 間)			
	30分	24	48	72
紅斑および痂皮形成	0.0	0.0	0.0	0.0
浮腫の形成	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	0.0	0.0	0.0	0.0

注) 表の点数は6匹の平均値である。

適用後30分以内に4/6例で紅斑がみられたが, 48時間後には回復した。

以上より, 本剤は軽度の皮膚刺激性をもつものと思われる。

④ 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料No. 10)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体の純度：

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ (12~16週令)

体重 2.42~2.65kg, 1群雄4匹, 雌2匹

試験期間：72時間観察

方法：検体を0.5g蒸留水で湿らせて刈毛した動物の背部に4時間塗布した。

試験項目：検体適用後1, 24, 48及び72時間に塗布部位を観察した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。なお、判定は Draize 法によった。

変 化	塗布後 (時間)			
	1	24	48	72
紅斑, 痂皮	1.0	1.0	0.2	0.0
浮腫	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	1.0	1.0	0.2	0.0

注) 表の点数は6匹の平均値である。

適用後1時間の観察では、全例に紅斑がみられたが、72時間の観察では、これらの変化は消失した。

以上の結果より、本剤は軽度の皮膚刺激性を有するものと思われる。

④ 皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料No.11)

試験機関

GLP対応

報告書作成年 2002年

検体の純度：

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ（開始時約13週令）

雄3匹（体重2.8～3.1 kg）

試験期間： 72時間観察

方法： 検体0.5gを0.15mLの脱イオン水で湿らせ、1インチ×1インチのガーゼパッチに貼付し、剪毛した動物の皮膚の試験部位に4時間、閉塞貼付した。

観察項目： 検体暴露終了後、1、24、48および72時間に塗布部位を観察した。

結果： 4時間暴露後観察された刺激性変化の採点は以下の表の通りである。
なお、判定は Draize 法によった。

変化	最高 評点	4時間暴露後観察時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑	4.0	0.3	0.0	0.0	0.0
浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8.0	0.3	0.0	0.0	0.0

注) 表の点数は3匹の平均値である。

試験期間を通して、塗布1時間後に軽微な紅斑がみられた以外に皮膚刺激性反応は認められなかった。

以上より、本剤の皮膚刺激性はないものと思われる。

⑤ 眼刺激性

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料No. 12)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1994年

検体の純度：

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ (3~4カ月令)

体重 2.37~2.73kg, 1群雄3匹, 雌3匹

試験期間 : 72時間観察

方法 : 検体を 0.1ml, 動物の結膜のう内に適用した。

試験項目 : 検体適用後1, 24, 48 及び 72時間に, 角膜, 虹彩, 結膜の刺激性変化を観察した。

結果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。なお, 判定は表1Aによった。

項目	最高点	投与後観察 (時間)			
		1	24	48	72
角膜	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	0.7	0.5	0.0	0.0
結膜浮腫	4	0.2	0.0	0.0	0.0
結膜分泌物	3	0.0	0.0	0.0	0.0

表の値は6匹の平均値である。

適用後1時間に 4/6例で結膜の軽度発赤が, 1/6 例で軽度の浮腫が認められたが, 経時的に回復し, 48時間にはすべての変化は消失した。

以上の結果より, 検体は軽微の眼刺激性を有するものと思われる。

⑤ 眼刺激性

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料No.13)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体の純度：

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ (12~16週令)

体重 2.60~3.10kg, 1群雄5匹, 雌1匹(非洗眼群), 雌3匹(洗眼群)

試験期間 : 7日間観察

方法 : 検体を 0.1g 動物の結膜囊内に適用し, 3匹は洗眼し, 他の6匹は非洗眼群とした。

観察項目 : 検体適用後, 1, 24, 48, 72時間および7日に, 角膜, 虹彩, 結膜の刺激性変化を観察した。

結果 : 観察した刺激性変化の採点は次頁の表の通りである。なお, 判定は報告書付表Ⅲ (19頁) によった。

(眼刺)

項 目			最 高 点	投 与 後 観 察				
				1 時	24 時	48 時	72 時	7 日
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜	混濁の程度 ¹⁾	4	0.0	1.0	0.8	0.3	0.0
		混濁の範囲 ²⁾	4	0.0	1.0	0.8	0.3	0.0
		1) × 2) × 5 計	80	0.0	5.0	4.2	1.7	0.0
	虹彩		³⁾ 2	1.0	1.0	0.5	0.0	0.0
		3) × 5 計	10	5.0	5.0	2.5	0.0	0.0
	結膜	発赤 ⁴⁾	3	2.0	2.0	1.7	0.8	0.0
		浮腫 ⁵⁾	4	2.0	1.7	0.8	0.7	0.0
		分泌物 ⁶⁾	3	2.5	1.3	0.2	0.0	0.0
		(4)+5)+6)) × 2 計	20	13.0	10.0	5.3	3.3	0.0
洗眼群 (3 匹平均)	角膜	混濁の程度 ¹⁾	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		混濁の範囲 ²⁾	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		1) × 2) × 5 計	80	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		³⁾ 2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
		3) × 5 計	10	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤 ⁴⁾	3	1.0	0.3	0.0	0.0	0.0
		浮腫 ⁵⁾	4	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物 ⁶⁾	3	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
		(4)+5)+6)) × 2 計	20	2.3	0.7	0.0	0.0	0.0

表の値は非洗眼群で6匹、洗眼群で3匹の平均値である。合計の値についても各動物の評点より計算して平均値を算出した。

非洗眼群では、投与後1時間で虹彩の炎症が全例に、また結膜の中等度の発赤、浮腫、分泌物が全例にみられ、投与後24時間で角膜の小域に混濁が全例に認められた。その後、これらの変化は経時的に回復し、7日目には全例が正常に回復した。

洗眼群では、投与後1時間に1/3例に炎症が、結膜の発赤と浮腫が全例に観察された。24時間には虹彩の炎症は消失し、その他の症状も7日目には全例に異常は認められなくなった。

以上の結果より、検体は一過性の眼刺激性を有するが、洗眼処置により、刺激性は緩和されるものと判断される。

⑤ 眼刺激性

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料No.14)

試験機関

GLP対応

報告書作成年

2002年

検体の純度：

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ（開始時約15週令）
雌3匹（体重3.4～3.7 kg）

試験期間： 72時間観察

方法： 検体0.1gをウサギの右眼の結膜のう内に適用した。

観察項目： 検体適用後1, 24, 48, 72時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。
なお、判定はDraize法によった。

項目	最高 評点	投与後観察					
		1時間	24時間	48時間	72時間	7日	10日
角膜の変化	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
角膜の変化の範囲	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
虹彩	2	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
結膜発赤	3	2.0	2.0	1.6	0.6	0.3	0.0
結膜浮腫	4	1.0	1.0	0.6	0.0	0.0	0.0
結膜分泌物	3	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

処置後1時間で、すべての動物の処置眼に、結膜に対する軽微から中等度の刺激性が認められ、適用後10日目に全動物で回復した。また処置後1時間に虹彩の炎症が1例でみられたが、24時間目までに回復した。すべての所見は、適用後10日後には消失した。

以上の結果より、検体は中等度の眼刺激性を有するものと判断される。

⑥ 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

資料No.15)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

検体の純度：

試験動物： ハートレー系モルモット（6週令）

体重 298～368g 検体感作および非感作群 1群雌20匹，

陽性感作および非感作群 1群雌10匹

試験期間： 24日間

方法： (Maximization Test) 感作および誘発時の被験液の濃度を決定するため、皮内投与および経皮投与の予備試験を以下のように行った。

感作：背部を刈毛し、さらに剃毛した後、以下のようにそれぞれ0.1 ml皮内投与、また 0.2ml経皮投与して感作を行なった。

試験群		被験物質 感作群	被験物質 非感作群	陽性対照 感作群	陽性対照 非感作群
皮内感作	感作部位①	E-FCA	E-FCA	E-FCA	E-FCA
	感作部位②	100%被験液	プロピレングリコール	0.1%DNCB プロピレングリコール 溶液	プロピレングリコール
	感作部位③	100%被験液 とFCAとの等 量混合乳化液	注射用蒸留水 とFCAとの等 量混合エマルジョン	FCAに溶解し た0.2%DNCB溶 液と注射用蒸 留水との等量 混合エマルジョン	注射用蒸留水 とFCAとの等 量混合エマルジョン
経皮感作	感作部位④	100%被験液 ワセリン混合 液	注射用蒸留水	1% DNCB プロピレングリコール 溶液	プロピレングリコール

E-FCA：フロイントの完全アジュバンド投与液，DNCB：2,4-ジニトロクロロベンゼン

皮内感作6日に同部位を刈毛および剃毛し、ラウリル硫酸ナトリウム10%ワセリン溶液0.5gを塗布した。上記の経皮感作を、48時間閉塞貼付することによって行った。

誘発：上記の経皮感作後14日後に全動物の左右側胴部を刈毛後、剃毛した。そこに100%被験液 0.1mlまたは 1%DNCBプロピレングリコール溶液 0.1mlを左側胴部に、またそれらの溶媒 0.1mlを右側胴部に塗布した。

観察項目：誘発24および48時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。また、一般状態は毎日観察し、体重は皮内投与時および最終観察時に全動物について測定した。なお、判定基準は、

「肉眼的に異常なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中等度の紅斑	2
強度の紅斑及び浮腫	3」

結果：一般症状は、糞なし、糞少量、下痢、などがみられたが、一過性であり、検体投与の影響とは考えられなかった。

検体感作群、検体対照群では24及び48時間目ともに陽性反応は認められなかった。陽性物質対照群も感作陽性率は0%であり、陽性物質感作群の陽性感作率は100%で、評点1ないし3の紅斑及び浮腫が認められた。

各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

以上の結果より、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

⑥ 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No.16)

試験機関

[GLP対応]

報告書作成年 1995年

試験動物： 雄 ハートレー系モルモット (6週令)

体重 306~384g 1群雄10匹 (対照群), 20匹 (検体群)

試験期間： 約5週間

方法： (Maximization 法)

投与量設定の根拠； 感作および誘発時の被験液の濃度を決定するため、予備試験を以下のように行った。

感作；背部を刈毛し、下記表の①~③の皮内感作物質を0.05mlずつ皮内投与した。皮内感作後7日目に、感作部位を除毛し、陽性対照群以外の各群に、ラウリル硫酸ナトリウム軟膏0.5gを塗布した。その後、24時間にラウリル硫酸ナトリウム軟膏を微温湯で除去し、経皮感作物質をそれぞれ0.2 ml, 0.2gを48時間塗布した。

試験群		被験物質 感作群	被験物質 非感作群	陽性対照 感作群	陽性対照 非感作群
皮 内 感 作	感作部位①	FCA	FCA	FCA	FCA
	感作部位②	0.5%被験液	注射用蒸留水	0.1%DNCB 80%エタノール 溶液	80%エタノール
	感作部位③	1%被験液と FCAとの等量 混合エマルジ ョン	注射用蒸留水と FCAとの等量 混合エマルジ ョン	FCAに溶解し た0.2%DNCB 溶液と注射用蒸 留水との等量混 合エマルジ ョン	注射用蒸留水と FCAとの等量 混合エマルジ ョン
経皮 感作	感作部位④	25%被験液	注射用蒸留水	1% DNCB 軟 骨	80%エタノール

FCA : フロイントの完全アジュバンド
DNCB : 2,4-ジニトロクロロベンゼン

誘 発 ; 最後の感作後 2 週時に、動物の右側腹部を刈毛した後、0.1mlの被験液(12.5%) および 0.1% DNCB軟膏0.1gを24時間塗布した。

観 察 項 目 : その後被験物質を除去し、24時間及び48時間後に、塗布部位の観察を行った。なお、判定基準は、

①紅斑		②浮腫	
紅斑なし	————— 0	浮腫なし	———— 0
ごく軽度の紅斑	———— 1	ごく軽度の浮腫	——— 1
明らかな紅斑	———— 2	中程度の浮腫	——— 2
中～強度の紅斑	———— 3	強度の浮腫	——— 3
強い紅斑～痂皮の形成	——— 4		

結 果 : 検体処理群ではいずれの動物でも異常はみられなかった。一方、陽性対照群では全例に紅斑や浮腫が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

以上の結果より、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断される。

⑥ 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

(資料No.17)

試験機関

GLP対応

報告書作成年

2002年

検体の純度:

試験動物: ハートレー系アルビノモルモット (7~9週令)

1群 雌雄各10匹 (試験群)、または雌雄各5匹 (対照群) ずつ。

(体重 雄: 350~418g、雌: 334~397g)

試験期間: 48時間観察

方法: Maximization法によって行った。

感 作: 試験前日に、皮膚を刈毛した後、翌日 (試験0日)、背骨の両側約2×4cmの領域に皮内注射を行った。その後、試験5日目に動物を刈毛した後ラウリル酸ナトリウムを塗布し、翌日 (試験6日) に、ラウリル酸ナトリウムを取り除き、75%検体を閉塞パッチにて経皮感作を実施した。

誘 発: 試験20日目に、前日に皮膚を刈毛した後、75%検体をパッチに吸収させ、24時間経皮暴露を行った。また、試験28日目に確認のため再度誘発を実施した。

観察項目: 誘発24並びに48時間後に適用部位の皮膚反応を肉眼的に観察した。

結 果:

皮膚評点基準:

紅斑 0 なし

1 軽度点在性

2 中等度

3 重度

浮腫 0 なし

1 軽微

2 軽度

3 中等度

4 重度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・アグロサイエンス日本株式会社にある。

すべての動物で異常な皮膚反応は認められなかった。一方、試験実施機関における陽性対照データでは、有意な陽性結果が認められた。

以上の結果により、本剤の皮膚感作性は陰性であると考えられる。