

代謝物 TZNG、TZMU、TMG、MG、MAI について SD ラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。急性経口毒性試験の結果は表 7 に示すとおりである。なお、TZNG、TMG 及び MAI の雄に関しても例数は少ないが、雌とほぼ同様の LD<sub>50</sub> 値を示唆する結果が得られている。(参照 30~34)

表 7 代謝物の急性経口毒性 (LD<sub>50</sub>) 試験結果 (mg/kg 体重)

代謝物	試験動物	雄	雌
TZNG	SD ラット		1481
TZMU		1424	1282
TMG			567
MG		550	446
MAI			758

## (2) 急性神経毒性試験① (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0, 100, 200, 400 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

400 mg/kg 体重投与群の雌雄で振戦、活動性低下、運動失調、瞳孔ピンポイント化、雌で鼻部及び口部の着色、被毛の汚れが、200 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で体温低下、雌で自発運動量減少が認められた。全投与群の雄で自発運動量減少が認められた。

本試験での神経毒性に対する無毒性量は雄で 100 mg/kg 体重未満、雌で 100 mg/kg 体重であると考えられる。(参照 35)

## (3) 急性神経毒性試験② (ラット)

Fischer ラット (一群雄 12 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0, 20, 40, 60 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

いずれの投与群でもクロチアニジン投与に関連した影響は認められなかった。

本試験の神経毒性に対する無毒性量は、雄で 60 mg/kg 体重であると考えられる。(参照 36)

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

ニュージーランド白色ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施された。眼に対し軽度の刺激性が認められたが、皮膚に対しては刺激性は認められなかった。(参照 37~38)

ハートレー系モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された。皮膚感作性は認められなかった。(参照 39)

## 10. 亜急性毒性試験

### (1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 15 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 150, 500, 3000 ppm、雄 : 0, 9.0,

27.9, 202、雌：0, 10.9, 34.0, 254 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

3000 ppm 投与群雌雄で体重増加量抑制が、雄で *N*-Demeth<sup>2</sup>増加、*O*-Demeth 増加、PROD 増加、EROD 増加、脾臓色素沈着が認められた。

本試験での無毒性量は雌雄で 500 ppm (雄：27.9 mg/kg 体重/日、雌：34.0 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 40~41)

## (2) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体：0, 325, 650, 1500, 2250 ppm、雄：0, 9.2, 19.3, 40.9, 58.2、雌：0, 9.6, 21.2, 42.1, 61.8 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

2250 ppm 投与群の雌雄で白血球数減少、リンパ球数減少、雄で体重増加量抑制、Ht 減少、分葉核好中球数減少、ALT 減少、雌で総タンパクの減少が、1500 ppm 以上投与群の雌雄で消瘦、雌でアルブミン減少、ALT 減少が認められた。

本試験での無毒性量は、雌雄で 650 ppm (雄 19.3 mg/kg 体重/日、雌：21.2 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 42)

## (3) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体：0, 150, 1000, 3000 ppm、雄：0, 9.2, 60.0, 177.0、雌：0, 10.6, 71.0, 200.1 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

3000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、飼料摂取量減少、脳比重量増加が認められた。

本試験での無毒性量は、雌雄で 1000 ppm (雄 60.0 mg/kg 体重/日、雌：71.0 mg/kg 体重/日) であると考えられる。神経毒性は認められなかった。(参照 43)

# 11. 慢性毒性試験及び発がん性試験

## (1) 12 ヶ月間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体：0, 325, 650, 1500, 2000 ppm、雄：0, 7.8, 16.6, 36.3, 46.4、雌：0, 8.5, 15.0, 40.1, 52.9 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 12 ヶ月間慢性毒性試験が実施された。

2000 ppm 投与群の雄で耳に局所的な紅斑、投与 1~2 週間時において体重減少、雌で摂餌量減少、WBC 減少、好中球数減少、赤血球減少、Ht 減少、Hb 減少、副腎比重量増加、1500 ppm 以上投与群の雌で耳に局所的な紅斑、650 ppm 以上投与群の雌雄で ALT 減少が認められた。

2000 ppm 投与群雌で認められた副腎比重量増加は、絶対重量に有意差がみられず、関連した病理組織学的変化も観察されなかったことから、投与に関連した変化とは考えなかった。また、650 ppm 以上投与群の雌雄で認められた ALT 減少は、関連した病理組織学

<sup>2</sup> 検査値の略称については別紙 3 を参照 (以下同じ)。

的变化が観察されなかったことから、投与に関連した毒性影響とは考えなかった。

本試験での無毒性量は雄で 1500 ppm (36.3 mg/kg 体重/日)、雌で 650 ppm (15.0 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 44)

(2) 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 80 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 150, 500, 1500, 3000 ppm、雄 : 0, 8.1, 27.4, 82.0, 157.0、雌 : 0, 9.7, 32.5, 97.8, 193.0 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 8 の一般所見、血液生化学的所見、非腫瘍性病変が認められた。

表 8 ラットを用いた 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた所見

3000 ppm 投与群雌雄	腺胃浮腫、肝臓好酸性細胞巣増加
3000 ppm 投与群雄	血中リン増加、腺胃出血、腎盂鉍質沈着、腎盂移行上皮過形成
3000 ppm 投与群雌	腺胃びらん
1500 ppm 以上投与群雌雄	体重増加抑制、摂餌量減少
500 ppm 以上投与群雌	卵巣間質腺過形成

腫瘍性病変では、表 9 のとおり、1500 ppm 以上投与群雌に甲状腺 C 細胞腺腫の所見数増加が認められたが、用量相関性が見られないこと、また前がん病変である C 細胞過形成の所見数に有意な増加が認められなかったことから、検体投与に起因したものとは考えなかった。発がん性は認められない。

表 9 ラットを用いた 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた腫瘍性病変

性別	雄					雌				
	0	150	500	1500	3000	0	150	500	1500	3000
投与量(ppm)	0	150	500	1500	3000	0	150	500	1500	3000
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
甲状腺 C 細胞過形成	15	8	12	14	19	19	24	19	19	15
甲状腺 C 細胞腺腫	8	13	17*	16	5	7	13	9	17*	16*
C 細胞癌	5	1	1	1	3	2	2	1	1	1
C 細胞腺腫/癌合計	13	14	18	17	8	9	15	10	18	17

Fisher-Irwin exact の検定、\* : P<0.05

本試験における無毒性量は雄で 500 ppm (27.4 mg/kg 体重/日)、雌で 150 ppm (9.7 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 45)

### (3) 78 週間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0, 100, 350, 1250, 2000/1800<sup>3</sup> ppm、雄: 0, 13.5, 47.2, 171.4, 251.9、雌: 0, 17.0, 65.1, 215.9, 281.1 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 78 週間発がん性試験が実施された。

2000/1800 ppm 投与群の雌雄で摂餌量減少、1800 ppm 投与群の雌で卵巣比重量増加、肝細胞肥大が、1250 ppm 以上投与群の雌雄で異常発声、体重増加量抑制が、雄で腎比重量減少、肝細胞肥大が認められた。

発がん性は認められない。

本試験における無毒性量は、雌雄で 350 ppm (雄: 47.2 mg/kg 体重/日、雌: 65.1 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 46)

## 12. 生殖発生毒性試験

### (1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体: 0, 150, 500, 2500 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。各群の検体摂取量は表 10 のとおり。

表 10 各投与群検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

親動物	児動物	150 ppm 投与群	500 ppm 投与群	2500 ppm 投与群
P 雄	F <sub>1</sub> 雄	9.8	31.2	163.4
P 雌	F <sub>1</sub> 雌	11.5	36.8	188.8
F <sub>1</sub> 雄	F <sub>2</sub> 雄	10.7	34.3	195.7
F <sub>1</sub> 雌	F <sub>2</sub> 雌	12.2	39.0	237.0

親動物では、2500 ppm 投与群で試験期間を通じた体重増加抑制 (P 雌雄、F<sub>1</sub> 雌雄)、副腎比重量増加 (F<sub>1</sub> 雌雄)、脳比重量増加 (P 雄、F<sub>1</sub> 雌雄)、腎重量減少 (P 雌雄、F<sub>1</sub> 雌雄)、肝比重量増加 (F<sub>1</sub> 雌)、脾重量減少 (P 雌雄、F<sub>1</sub> 雌雄)、精巣比重量増加 (F<sub>1</sub> 雄)、精巣上体比重量増加 (F<sub>1</sub> 雄)、前立腺重量減少 (F<sub>1</sub> 雄)、精囊重量減少 (F<sub>1</sub> 雄)、胸腺比重量減少 (P 雄、F<sub>1</sub> 雌雄)、精子運動性低下 (F<sub>1</sub> 雄)、精子前進性低下 (P 雄) が認められ、500 ppm 投与群では授乳期の母体重低下 (P) が見られた。

児動物では、2500 ppm 投与群で体重低下 (F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>)、膈開口遅延 (F<sub>1</sub> 雌)、脳比重量増加 (F<sub>1</sub> 雌雄、F<sub>2</sub> 雌雄)、脾比重量減少 (F<sub>1</sub> 雌、F<sub>2</sub> 雌雄) が、500 ppm 投与群で包皮分離遅延 (F<sub>1</sub> 雄)、体重低下 (F<sub>1</sub>) が認められた。

なお、精子前進性低下については、最高用量の 2500 ppm 群でのみ認められ、投与との関連は明らかでないが、精子運動性に世代間に共通した大きな変化はなく、精子細胞数、精子数、精子形態及び生殖器の病理組織学的所見に変化は見られず、繁殖能にも変化が認

<sup>3</sup> 試験開始時は 1250 ppm を最高用量と設定していたが、より高い用量が必要であると考え、当初設定していた 700 ppm 投与群を、投与 5 週時より 2000 ppm、投与 11 週より 2500 ppm、投与 35 週より雄 2000 ppm、雌 1800 ppm と変更した。検体摂取量は雄で 2000、雌で 1800 ppm の飼料投与時の値を用いて計算した。

められなかったことから、毒性学的意義は乏しいものと考えられた。児動物でみとめられた臍開口及び包皮分離の遅延は体重増加抑制に起因した変化と考えられた。

本試験の無毒性量は親動物及び児動物の雌雄で 150 ppm (P 雄 : 9.8 mg/kg 体重/日、P 雌 : 11.5 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 10.7 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 12.2 mg/kg 体重/日) であると考えられる。繁殖能に対する影響は認められない。(参照 47)

## (2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体 : 0, 10, 40, 125 mg/kg 体重/日) 投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、40 mg/kg 体重以上投与群で体重増加抑制が認められた。

胎児では、検体投与に起因した変化は認められなかった。

本試験の無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 125 mg/kg 体重/日であると考えられる。催奇形性は認められない。(参照 48)

## (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

ニュージーランド白色ウサギ (一群雌 23 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体 : 0, 10, 25, 75, 100 mg/kg 体重/日) 投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では 100mg/kg 体重投与群で体重増加抑制、流産増加、75 mg/kg 体重以上投与群で排便減少、着色尿増加が認められた。

胎児では 100 mg/kg 体重投与群の雌雄で低体重、腎臓低形成、尾椎椎体癒合、75 mg/kg 体重以上投与群で肺中葉欠損、化骨遅延の発現頻度上昇が認められた。

胎児における腎臓低形成は 1 母体に偏った発現であり、肺中葉欠損及び尾椎椎体癒合の発現率は背景データの範囲内であったことから、投与に関連した影響ではないと考えられた。

本試験の無毒性量は母動物及び胎児で 25 mg/kg 体重/日であると考えられる。催奇形性は認められない。(参照 49)

## 13. 遺伝毒性試験

クロチアニジンの細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞(V79)を用いた遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL) を用いた染色体異常試験、ラット肝初代培養細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期 DNA 合成試験、マウスを用いた小核試験が実施された。試験結果は CHL 細胞を用いた染色体異常試験以外は、全て陰性であった (表 11)。CHL 細胞を用いた染色体異常試験では、染色体異常誘発が認められたが、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及びマウスを用いた小核試験の結果が陰性であることから、クロチアニジンは生体において遺伝毒性を発現しないものと考えられる。(参照 50~54)

表 1 1 遺伝毒性試験結果概要 (原体)

試験		対象	投与量 (mg/kg 体重)	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株		陰性
	遺伝子突然変異試験 (±S9)	チャイニーズハムスター肺 由来細胞 (V79)		陰性
	染色体異常試験 (±S9)	チャイニーズハムスター肺 由来細胞 (CHL)		陽性 (±S9)
<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	不定期 DNA 合成試験	Wistar ラット雄 4~6 匹	2500, 5000 (単回強制経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス雌雄 5 匹	25, 50, 100 (単回強制経口投与)	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

TZNG、TZMU、TMG、MG、MAI の細菌を用いた復帰突然変異試験において、試験結果は全て陰性であった (表 12)。(参照 55~59)

表 1 2 遺伝毒性試験結果概要 (代謝分解物)

被験物質	試験	対象	結果
TZNG	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
TZMU	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
TMG	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
MG	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
MAI	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下