

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制、TP 減少、Glob 減少等が、300 ppm 投与群の雌に Glu 減少等がみられたことから、無毒性量は雄で 300 ppm (17.2 mg/kg 体重/日)、雌で 100 ppm (6.48 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 41)

表 23 90 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・尿 pH 低下、尿タンパク減少、尿量增加 ・リン增加、BUN 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・削瘦、感覚過敏 ・摂餌量減少、食餌効率低下 ・尿比重低下 ・ALT 増加、AST 増加、A/G 比增加、Cre 減少 ・卵巣絶対及び比重量¹増加 ・卵巣腫大
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少、食餌効率低下 ・TP 減少、Glob 減少、A/G 比增加 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・WBC 減少、Seg 減少 ・TP 減少、Alb 減少、Glob 減少 ・卵巣黄体存続（妊娠黄体様）
300 ppm 以上	300 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu 減少、BUN 増加
100 ppm		毒性所見なし

(3) 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（1 群雌雄各 12 匹）を用いた混餌（検体：0、100、300、1,000 及び 3,000 ppm；平均検体摂取量は表 24 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 24 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群	100 ppm	300 ppm	1,000 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	11.2	34.7	145
	雌	13.8	47.1	184
				493

各投与群で認められた毒性所見は表 25 に示されている。

臓器重量において 1,000 ppm 以上投与群の雌雄で肺比重量が増加したが、関連する病理組織学的变化が認められなかったことから投与による影響とは考えられなかった。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群雌雄において体重増加抑制、摂餌量

¹体重比重量のことを比重量という（以下同じ）。

増加、食餌効率低下及び削瘦/体型小型等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄 : 34.7 mg/kg 体重/日、雌 : 47.1 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 42)

表 25 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 5 匹 ・摂餌量低下 (第 1 週) ・TP 減少、BUN 増加、Glu 減少 ・脾・下垂体比重量増加 ・肝細胞萎縮 (死亡例のみ)、脾臓外造血亢進 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 3 匹 ・摂餌量低下 (第 1 週) ・肝細胞萎縮 (死亡例のみ)
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 1 匹 ・痂皮、脱毛、出血、外傷、腫脹、潰瘍 (症状及び剖検所見) ・体重增加抑制 ・摂餌量増加 (第 2 週以降)、食餌効率低下 ・AST 増加 ・削瘦/体型小型 ・肝、副腎及び腎比重量増加 ・皮膚炎 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重增加抑制 ・摂餌量増加 (第 2 週)、食餌効率低下 ・Glu 減少 ・削瘦/体型小型 ・肝比重量増加
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 5 匹) を用いたカプセル経口 (原体 : 0、8、40 及び 200 mg/kg 体重/日) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 26 に示されている。

血液生化学的検査において、Glob の減少が 40 mg/kg 体重/日以上の投与群の雄及び 200 mg/kg 体重/日投与群の雌において、用量及び投与期間との相関性を示して認められた。しかし他の検査において Glob の減少を招くと考えられる異常はなかった。これらの変化の原因として体重增加抑制による低栄養を考慮する必要があるが、その場合は通常 Alb も同様にあるいは Alb の方がより顕著に減少するはずであり、本試験で認められた Glob の減少の生物学的意義は不明であった。AST、ALT、Cre の減少については病理組織学的検査において肝障害を示唆する所見が認められず、低栄養による二次的変化と考えられた。

眼検査において、200 mg/kg 体重/日投与群雌雄の全例で投与初期に角膜の白色点が認められたが、雌では全例が投与後 1 週間以内に、雄では 2 匹が 1 週間

以内に、2匹が9週時に消失した。雄の1匹では投与期間終了時にも認められたが、剖検時にこの病変は肉眼的には観察できなかった。この1匹の病理組織学的検査では、涙腺に単核細胞浸潤が認められた。

本試験において、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で体重増加抑制が、雄で Glob 減少がみられたことから、無毒性量は雌雄とも 8 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 43）

表 26 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
200 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・嘔吐、眼脂、流涙、結膜充血、流涎 ・体重減少(投与3週まで) ・角膜に白色点 ・RBC 減少、MCV 及び MCH 増加 ・TG 減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・嘔吐、眼脂、流涙、結膜充血、流涎 ・体重減少(投与1週まで) ・角膜に白色点 ・Glob 減少、T.Chol 増加
40 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Glob 減少 	・体重増加抑制
8 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(5) 6カ月間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、1,000、3,000、10,000 及び 30,000 ppm：平均検体摂取量は表 27 参照）投与による 6 カ月間亜急性毒性試験が実施された。

表 27 6 カ月間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		1,000 ppm	3,000 ppm	10,000 ppm	30,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	26	78	277	813
	雌	19	67	245	696

一般的な臨床症状観察では、3,000 ppm 以上投与群で指を噛む、ケージ内徘徊等の自己攻撃性を示す神経様症状の他、立毛や脱毛が認められた。

体重変化及び摂餌量では、臨床症状に関連性のある変動を示し、3,000 ppm 以上投与群の雌雄で用量依存性のある体重低値あるいは増加抑制、摂餌量の低値がいずれも投与後 1 週間に顕著に認められた。これらの変化に回復性はみられたものの、投与 3 ヶ月目以降には同様の変動が認められた。

摂水量では、3,000 ppm 以上投与群で摂水量の高値がみられ、日間変動が顕著であった。

尿検査では異常は認められなかった。

血液学的検査では、1,000 ppm 以上投与群²の雄で白血球数の低値がみられ、白血球百分率では好中球の減少傾向が認められた。

血液生化学的検査では、1,000 及び 10,000 ppm 投与群の雄及び 3,000 ppm 以上投与群の雌でカリウムの低値、10,000 ppm 以上投与群の雄でナトリウムの軽度な高値が認められた。

のことから、無毒性量は雄で 1,000 ppm (26 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 1,000 ppm (19 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 101)

13. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1年間慢性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各 5 匹)を用いたカプセル経口(原体: 0、8、40 及び 200 mg/kg 体重/日)投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 28 に示されている。

眼検査において 200 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 匹及び雌 2 匹、40 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 1 匹の角膜に白色点が認められた。これらの動物のうち、200 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 匹を除く他の 4 匹の病変は、投与期間中に消失した。200 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 匹の角膜の白色点は、剖検時にも観察され、病理組織学的には角膜上皮の限局性肥厚及び限局性角膜線維化であった。

本試験において、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄に角膜白色点が、雌に体重増加抑制がみられたことから、無毒性量は雌雄とも 8 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 44)

表 28 1 年間慢性毒性試験(イヌ)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
200 mg/kg 体重/日	・体重減少及び体重増加抑制 ・角膜白色点(1 匹) ・尿比重の増加 ・RBC 減少、MCH 増加、MCHC 增加 ・Alb 減少、TG 減少	・体重減少 ・角膜白色点(2 匹)
40 mg/kg 体重/日 以上	・角膜白色点(1 匹)	・体重増加抑制 ・角膜白色点(1 匹)
8 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)

Wistar ラット [一群雌雄各 90 匹: 主群一群雌雄各 50 匹、衛星群一群雌

² 3%投与群の雄の各値は、生存例が 2 例のため平均値でのみ評価(他の項目についても同様)。

雄各 40 匹（投与 26、52 及び 78 週後に一群雌雄各 10 匹を中間と殺】を用いた混餌（原体：0、30、100、300 及び 1,000 ppm：平均検体摂取量は表 29 参照）投与による 2 年間慢性毒性／発がん性併合試験が実施された。

表 29 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	100 ppm	300 ppm	1,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.06	3.60	10.9	37.6
	雌	1.28	4.38	13.2	49.1

各投与群で認められた毒性所見は表 30 に示されている。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査において、投与群のいくつかの検査項目において、対照群との間に有意差がみられたが、いずれの変動も投与期間あるいは用量との関連性がないことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

眼検査においても検体投与に起因すると思われる異常は認められなかつた。

臓器重量において、1,000 ppm 投与群雌において、脳の絶対及び比重量の増加が認められたが、これに対応した形態学的变化または神経症状の発現はみられなかつたので、検体投与に起因するものとは考えなかつた。

剖検時、1,000 ppm 投与群の雄（主群）で精巣に結節・腫瘍の発生頻度が有意に高く、これらの病変は病理組織学的検査の結果、精巣間細胞腫であった。この腫瘍の発生頻度（11/50、22%）は、試験実施施設の本系統のラットの背景データ（9/304、3%）より明らかに高く、検体投与の影響であると考えられた（表 31 参照）。衛星群においては、78 週時に間細胞過形成の発生頻度が増加した。

300 ppm 以上投与群の雄（主群）では前立腺炎及び包皮腺炎の発生頻度が減少し、これは本剤の殺菌作用によるものと考えられた。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄に赤色眼脂、摂餌量増加等が、1,000 ppm 以上投与群の雌に削瘦、体重増加抑制、摂餌量増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 100 ppm (3.60 mg/kg 体重/日)、雌で 300 ppm (13.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。1,000 ppm 投与群の雄で精巣間細胞腫が増加した。（参照 45）

表 30 2 年間慢性毒性／発がん性併合試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・食餌効率低下 ・T.Chol 減少 ・精巣結節・腫瘍、精巣萎縮 ・肝及び腎比重量増加 ・精巣間細胞腫 ・精巣間細胞過形成(衛星群；78週間投与終了時のみ)、精細管萎縮(最終と殺のみ) 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量增加、食餌効率低下 ・TP、Glu、Glob 及び T.Chol 減少 ・卵巣絶対及び比重量増加、副腎比重量増加 ・削瘦
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・赤色眼脂 ・摂餌量増加 ・前立腺炎減少、包皮腺炎減少 	300 ppm 以下毒性所見なし
100 ppm 以下	毒性所見なし	

表 31 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)で認められた精巣間細胞腫発生数

性別		雄				
投与群 (ppm)		0	30	100	300	1,000
主群	検査動物数	15	10	15	21	10
	死亡動物	0	0	0	0	1
	検査動物数	35	40	35	29	40
	最終と殺動物	2	4	3	2	10↑
	検査動物数	50	50	50	50	50
	全動物	2	4	3	2	11↑

Fisher 直接確率法、↑ : p<0.01

(3) 18カ月間発がん性試験(マウス)

ICR マウス[一群雌雄各 70 匹：主群一群雌雄各 50 匹、衛星群一群雌雄各 20 匹(投与 52 週後に一群雌雄各 10 匹をと殺し、残りの 10 匹は処分した。)]を用いた混餌(原体：0、50、150 及び 500 ppm；平均検体摂取量は表 32 参照)投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 32 18 カ月間発がん性試験(マウス)の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	150 ppm	500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.86	15.2	59.7
	雌	5.33	15.7	57.9

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に示されている。

500 ppm 投与群の雄において皮膚病変（脱毛、びらん、痴皮、出血、創傷）の発生頻度が投与 38 週時まで有意に高かった。皮膚病変はマウスにおける 90 日間亜急性毒性試験[12. (3)]の高用量群雄において発生頻度の増加が認められており、検体投与の影響と考えられた。雌 150 ppm 以上の群においても皮膚病変や脱毛の総発生頻度が増加したが、発生時期が投与 38 週以降に発現したこと、発生時期は一時的であったこと、試験施設での背景データ内であることから、雄での皮膚病変とは異なるパターンを示した。雌での増加は対照群の頻度が低かったことによる偶発的な増加と考え、投与に関連した変化とは考えられなかった。

腫瘍性病変において、検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍はなかった。

本試験において、500 ppm 投与群の雄で皮膚病変、死亡率増加、体重増加抑制等が、150 ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制、食餌効率低下が認められたので、無毒性量は雄で 150 ppm (15.2 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (5.33 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。（参照 46）

表 33 18 カ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・皮膚病変（脱毛、びらん、痴皮、出血、創傷） ・死亡率増加 ・体重増加抑制、摂餌量増加、食餌効率低下 ・皮膚炎 	・摂餌量増加
150 ppm 以上	・150 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・食餌効率低下
50 ppm		毒性所見なし

14. 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 24 匹）を用いた混餌（原体：0、50、150 及び 500 ppm：平均検体摂取量は表 34 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 34 2 世代繁殖試験（ラット）における平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群		50 ppm	150 ppm	500 ppm
P 世代	雄	3.41	10.3	43.7
	雌	3.91	12.1	41.8

F ₁ 世代	雄	4.11	12.4	41.2
	雌	4.49	13.8	46.9

親動物及び児動物における各投与群で認められた毒性所見は、それぞれ表35に示されている。

親動物では、生存率、一般状態、病理学的検査、臓器重量に検体投与の影響は認められなかった。また、交尾率、妊娠率、出産率、妊娠期間に異常はなく、繁殖能に検体投与による影響は認められなかった。

児動物では、各世代とも産児数、一般状態、生存率及び剖検所見には検体投与の影響は認められなかった。500 ppm 投与群 F₁ 児動物において体重の増加抑制が認められた。

本試験において、親動物雄のP世代では150 ppm以上投与群、F₁世代では50 ppm以上投与群、雌のP及びF₁世代では500 ppm投与群で、児動物のF₁世代の雌雄では500 ppm投与群で体重増加抑制等が認められ、児動物のF₂世代では投与による影響が認められなかつたので、無毒性量は親動物雄のP世代で50 ppm (3.41 mg/kg 体重/日)、F₁世代で50 ppm未満、雌で150 ppm (P 雌: 12.1 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 13.8 mg/kg 体重/日)、児動物の無毒性量はF₁世代で150 ppm (雄: 10.3 mg/kg 体重/日、雌: 12.1 mg/kg 体重/日)、F₂世代で500 ppm (雄: 41.2 mg/kg 体重/日、雌: 46.9 mg/kg 体重/日)であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかつた。(参照47)

表35 2世代繁殖試験(ラット)で認められた所見

	投与群	親:P、児:F ₁		親:F ₁ 、児:F ₂	
		雄	雌	雄	雌
親動物	500 ppm		・体重増加抑制		・体重増加抑制
	150 ppm 以上	・体重増加抑制 ・摂餌量減少	150 ppm 以下 毒性所見なし		150 ppm 以下 毒性所見なし
	50 ppm 以上	50 ppm において 毒性所見なし		・体重増加抑制 ・摂餌量減少	
児動物	500 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制	500 ppm 以下 毒性所見なし	
	150 ppm 以下	毒性所見なし			

(2) 2世代繁殖試験(ラット) : 追加試験

SD ラット (一群雌雄各 24 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、15 及び 30 ppm : 平均検体摂取量は表 36 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。先に実施した繁殖試験 [14. (1)] (0、50、150 及び 500 ppm 用量で実施)において、最低用量の 50 ppm 投与群雄 F₁ にも体重増加抑制及び摂餌量減少が認められたため、無毒性量が得られなかった。そのため、本試験では無毒性量を得るために、用量を減じて試験群を設定した。

表 36 2 世代繁殖試験 (ラット) における平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群		15 ppm	30 ppm
P 世代	雄	1.07	2.18
	雌	1.19	2.44
F ₁ 世代	雄	1.25	2.52
	雌	1.41	2.82

親動物において、いずれの世代においても生存率、一般状態、体重、摂餌量、臓器重量、病理学的検査に検体投与の影響はなかった。交尾率、妊娠率、妊娠期間に異常はなく、繁殖能に関して検体投与の影響は認められなかった。

児動物において、いずれの世代においても産児数、性比、生存率、一般状態に異常は認められなかった。体重では 15 ppm 投与群 (F₁ : 雌雄) の 7 日以降及び 30 ppm 投与群 (F₁ : 雄) の 21 日以降に有意な低値が認められたが、用量相関性がないこと、F₂ 世代には観察されなかったこと、また先の試験[14. (1)]では 50 及び 150 ppm 投与群で対照群と差がなかったことから、検体投与とは関連のない偶発的な変動と考えられた。

本試験において、30 ppm 投与群の親動物及び児動物において検体投与の影響は認められなかつたので、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄に対して 30 ppm (P 雄: 2.18 mg/kg 体重/日、P 雌: 2.44 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 2.52 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 2.82 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかつた。(参照 48)

(3) 発生毒性試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体 : 0、3、30 及び 150 mg/kg 体重/日、溶媒 : 1%CMC-Na) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、150 mg/kg 体重/日投与群において自咬行動、四肢の腫脹、四肢または腹部の咬傷が見られ (8 例)、5 例が死亡した。同群においては体重増加抑制、投与期間中は摂餌量の減少が認められた。30 mg/kg 体重/日投与群においても体重増加抑制が認められた。剖検所見、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・児数、胎児体重、胎児の性比に検体投与の影響は認められ

なかつた。

胎児では、各群に奇形及び変異が散見されたが、その発生頻度及び奇形及び変異胎児をもつ腹の頻度に、対照群との差は認められなかつた。

本試験において、母動物では 30 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制、胎児では 150 mg/kg 体重/日投与群で検体投与の影響は認められなかつたので、無毒性量は母動物で 3 mg/kg 体重/日、胎児で 150 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかつた。（参照 49）

（4）発生毒性試験（ラット）②

Wistar ラット（17～19 匹/群）の妊娠 7 日～出産後 21 日に強制経口（0、125、250、500、1,000 mg/kg 体重/日）投与して発生毒性試験が実施された。各群約半数の雌を妊娠 20 日に帝王切開し、残りの半数は出産後 21 日に屠殺して母動物に及ぼす影響と胎児/哺育児に及ぼす影響を調べた。

母動物では、1,000 mg 投与群で投与開始直後に体重増加抑制と摂餌量低下が認められ、妊娠期間が有意に短縮した。分娩後は、500 mg 以上投与群で児を食殺する母ラットの頻度が上昇し、哺育率が有意に低下した。

胎児では、死亡吸収胚数や体重に検体投与の影響は認められなかつた。

哺育児では、1,000 mg 投与群において生後 1 週間までの体重に有意な低値が認められたが身体発達は対照群と同等であった。奇形や変異を有する胎児/哺育児の発生頻度に検体投与の影響は認められなかつた。

本試験の無毒性量は母動物で 250 mg/kg 体重/日、児動物で 500 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかつた。（参照 102）

（5）発生毒性試験（ウサギ）

日本白色種ウサギ（一群各雌 16 匹）の妊娠 6～18 日に強制経口（原体：0、250、500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重/日、溶媒：1% CMC）投与して発生毒性試験が実施された。

母動物ではいずれの投与群においても、一般状態、体重、摂餌量、剖検及び臓器重量に検体投与の影響は認められなかつた。また、黄体数、着床数、死亡胚・児数、生存胎仔数、胎盤重量に検体投与の影響は認められなかつた。

胎児では、胎児体重、生存胎児数、胎児の性比、奇形を有する胎児の発生頻度に検体投与の影響は認められなかつた。

本試験において、いずれの投与群においても検体投与の影響が認められなかつたので、母動物及び胎児に対する無毒性量は 2,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかつた。（参照 50）

15. 遺伝毒性試験

オキソリニック酸の細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、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、ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、マウス骨髓細胞を用いた小核試験、及びマウス骨髓細胞を用いた姉妹染色体交換試験が実施された。試験結果は表 37 に示されている。

細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 CHL を用いた染色体異常試験において陽性を示した。作用メカニズムとしては、オキソリニック酸の抗菌活性である DNA gyrase 阻害に起因していると考えられた。DNA 修復試験については、阻害を受けた DNA gyrase-DNA 複合体に対する修復能の差が野生株と修復欠損株の生育の差となって現れ、復帰変異試験については、DNA 合成阻害によって誘導される SOS 修復系を介して間接的に突然変異を誘発したと考えられる。したがって、オキソリニック酸及びその代謝物が DNA に直接作用して DNA 損傷や突然変異を誘発している可能性は低いと考えられた。一方、オキソリニック酸は哺乳動物（真核）細胞が有する DNA topoisomerase II に対しては阻害活性がないか、極めて弱いため、細菌にみられる DNA gyrase 阻害類似の機構により哺乳動物細胞に対して変異原性を示す可能性は極めて低いと考えられた。オキソリニック酸は哺乳動物細胞に対して *in vitro* で突然変異を誘発せず、*in vitro* 及び *in vivo* において DNA 損傷性も示さなかった。*in vitro* では 2.5 mM の高濃度で弱い染色体異常誘発性を示したが、充分高用量まで試験された *in vivo* の小核試験では陰性であったことから、生体で問題となるものではないと考えられた。（参照 51~58）

表 37 遺伝毒性試験概要（原体）

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (M45, H17 株)	0.05~5 µg/ディスク (+/-S9)	陽性 (+/-S9)
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <u>uvrA</u> 株)	0.05~5 µg/プレート (+/-S9)	陽性 TA102 (+/-S9)
	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 (V79)	1×10 ⁻³ ~3×10 ⁻⁵ M (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL)	0.63~2.5 mM (-S9) 1.25~5 mM (+S9)	陽性 (-S9)
	不定期 DNA 合成 (UDS) 試験	SD ラット肝細胞	3~300 µg/mL	陰性

	不定期 DNA 合成 (UDS) 試験	SD ラット肝細胞	100, 300 µg/mL	陰性
in vivo	小核試験	ddY マウス (骨髄細胞)	雄: 0, 375, 750, 1,500 mg/kg 体重 (単回腹腔内投与)	陰性
	姉妹染色体交換試験	ICR マウス (骨髄細胞)	雌雄: 0, 375, 750, 1,500 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

注) +/- S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

原体混在物イソ体、N-メチル体、脱エチル体、アミド体及び脱メチレン体について、細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。試験結果は表 38 に示されているように、全ての原体混在物は TA102 株に対して変異原性陽性を示した。原体混在物の変異原性のメカニズムはオキソリニック酸と同質の DNA gyrase 阻害に起因した間接的な作用と考えられるものであり、また、その活性はオキソリニック酸より弱かった。(参照 59~63)

表 38 遺伝毒性試験概要 (原体混在物)

被験物質	試験	対象	処理濃度 (µg/プレート)	結果
イソ体	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	20~1000	陽性 TA1535, TA102, WP2 <i>uvrA</i> 株 (+/- S9)
N-メチル体			0.2~20	陽性 TA102 株 (+/- S9)
脱エチル体			5~200	陽性 TA102 株 (+/- S9)
アミド体			100~3,000	陽性 TA102 株 (+/- S9)
脱メチレン体			100~5,000	陽性 TA102 株 (+/- S9)

注) +/- S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

16. 微生物学的影響に関する特殊試験

(1) ヒトの腸内細菌に対する 50% 最小発育阻止濃度 (MIC)

ヒトの腸内細菌 10 菌種のうち、最も感受性が高かったのは *Escherichia coli* で、MIC₅₀ 値は 0.38 (日本人患者)、0.41 及び 0.43 (健康ヒトボランティ

ア・好気性培養及び嫌気性培養) $\mu\text{g/mL}$ であった。(参照 75)

(2) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)

平成 18 年度食品安全確保総合調査・動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査(平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月実施)においてヒト臨床分離株等に対するオキソリニック酸の約 $5 \times 10^6 \text{ CFU/spot}$ における MIC が調べられている。結果は、表 39 に示されている。(参照 103)

表 39 オキソリニック酸の各菌種に対する MIC

菌名	株数	最小発育阻止濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	
		Oxolinic Acid	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>E.coli</i>	30	0.25	0.12-4
<i>Enterococcus species</i>	30	64	8->128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides species</i>	30	128	32->128
<i>Fusobacterium species</i>	20	64	32-64
<i>Bifidobacterium species</i>	30	128	64->128
<i>Eubacterium species</i>	20	128	32-128
<i>Clostridium species</i>	30	64	64-128
<i>Peptococcus species / Peptostreptococcus species</i>	30	128	16-128
<i>Prevotella species</i>	20	32	8-64
<i>Lactobacillus species</i>	30	>128	>128
<i>Propionibacterium species</i>	30	64	64-128

調査された菌種のうち、最も低い MIC₅₀ が報告されているのは *E.coli* の 0.25 $\mu\text{g/mL}$ であった。

17. その他の試験

(1) オキソリニック酸原体のラット精巣腫瘍の発現機序検討試験

オキソリニック酸原体をラットに 2 年間にわたり混餌投与したところ、最高用量である 1,000 ppm 投与群の雄で精巣間細胞腫の発生頻度が増加した。その発がん性は種特異的(ラットのみ)及び器官特異的(精巣のみ)であり、その発がん性には閾値が存在した。また、オキソリニック酸原体は哺乳動物に対しては遺伝毒性がないことから、オキソリニック酸原体によるラット精巣間細胞腫の誘発は、非遺伝性の作用機序によるものと考えられた。この精