

料を精製後、HPLC を用いて定量するものであった。

その結果、全ての作物において、オキシリニック酸の残留値は定量限界未満 (<0.01 mg/kg) であった。(参照 23)

## 8. 家畜体内残留試験

### (1) 残留試験 (散剤) (牛、豚及び鶏)

子牛、豚及び鶏を用いてオキシリニック酸 (散剤) の経口投与試験が実施され、血中及び諸臓器への移行・残留性について検討された。

投与終了後、対象動物の血清及び臓器からオキシリニック酸が定量限界 (血清 0.1 mg/L、臓器 1 mg/kg) 以下になるのに要する時間は表 13 に示されている。

牛及び豚では、最終投与 48 時間後には全ての臓器で定量限界以下となり、72 時間後には検出されなかった。鶏においては、0.05% 添加群では最終投与 24 時間後、0.1% 投与群では 48 時間後にいずれも定量限界以下になった。(参照 74~76)

表 13 最終投与後のオキシリニック酸が定量限界以下になるのに要する時間 (経口投与)

対象動物 (体重等・頭羽数)	1 回投与量 (mg/kg/日)	投与期間 (日)	定量限界以下になるのに要する時間	
			血清(時間)	臓器*(時間)
子牛 (50kg・6)	30	10	72	48
豚 (13-32kg・8) (13-32kg・8)	50	10	48	48
	20	60	48	48
鶏 (11 日齢・30) (11 日齢・30)	0.05**	28	24	24
	0.1**	28	48	48

\*: 筋肉、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、脳      \*\*: 飼料中オキシリニック酸添加率

### (2) 残留試験 (液剤) (豚及び鶏)

豚及び鶏を用いてオキシリニック酸懸濁剤 (液剤) の飲水投与試験が実施され、組織残留性について検討された。

対象動物の血清及び臓器からオキシリニック酸が検出限界未満 (鶏 0.01~0.05 mg/kg(L)、豚 0.02 mg/kg(L)) となるのに要する時間は表 14 に示されている。

鶏において、最終投与直後では各臓器で残留が認められたが、最終投与 24 時間後には大半の組織で残留は検出されず速やかに減衰した。一方、脂肪及び皮膚では、最終投与 24 時間後及び 96 時間後に検出され、全ての供試個体の濃度が検出限界未満になるのは、脂肪が 48 時間後、皮膚が 120 時間後であった。豚においては、最終投与 24 時間後には 40mg/kg 投与群では全ての臓器に残留が認められ、20mg/kg 投与群では腎臓及び肝臓のみ全例で残留が

認められた。両投与群で最終投与72時間後には全例検出限界未満となった。  
(参照 77~81)

表 14 最終投与後のオキシリニック酸が検出限界未満になるのに要する時間(飲水投与)

動物種 (月齢・頭羽数)	投与量 (mg/kg/日)	投与日数 (日)	検出限界未満になるのに要する時間	
			血清(時間)	臓器*(時間)
鶏 (3週齢・45) (27日齢・45)	10	5	24	120
	10	3	24	120
豚 (2ヶ月齢・15) (2ヶ月齢・15)	20	7	72	72
	40	7	72	72
豚 (2ヶ月齢・15) (2ヶ月齢・18)	20	7	72	72
	40	7	72	72

\*: 鶏 (肝臓、腎臓、心臓、脾臓、筋胃、空回腸、大腿筋、胸筋、脂肪、皮膚)  
豚 (肝臓、腎臓、小腸、筋肉、脂肪)

### (3) 残留試験(水産用散剤) (ハマチ、マス類、アユ、コイ及びウナギ)

ハマチ、ヤマメ、ニジマス、アユ、コイ及びウナギを用いてオキシリニック酸製剤(散剤)の混餌投与又は強制経口投与試験が実施され、組織残留性について検討された。

対象魚類の血清及び臓器からオキシリニック酸が定量限界未満に要する時間は表 15 に示されている。

オキシリニック酸が定量限界未満になるのに要する時間は投与量が多いほど長くなる傾向が認められ、魚種によりバラツキがあった。(参照 81~88)

表 15 最終投与後のオキシリニック酸が定量限界未満になるのに要する時間(水産用散剤経口投与)

魚種	尾数	投与量 (mg/kg/日)	投与方法	投与日数(日)	定量限界未満になるのに要する時間	
					血清、血漿(時間)	臓器*(時間)
ハマチ	15	10	混餌投与	1	24 (定量限界 0.2mg/L)	24 (定量限界 1 mg/kg)
	20	20		1	>24 (定量限界 0.2mg/L)	24 (定量限界 1mg/kg)
	11	30		2	48 (定量限界 0.2mg/L)	48 (定量限界 1mg/kg)
	11	60		2	48 (定量限界 0.2mg/L)	24 (定量限界 1mg/kg)
	17	30	強制経口投与	2	24 (定量限界 0.35mg/L)	24 (定量限界 1mg/kg)
	15	30	混餌投与	3	24 (定量限界 0.35mg/L)	24 (定量限界 1mg/kg)
ヤマメ	10	10	混餌投与	5	NT	120 (定量限界 1.5mg/kg)
ニジマス	50	25	混餌投与	7	NT	120 (定量限界 1.5g/kg)
アユ	40	20	混餌投与	7	NT	52 (定量限界 1mg/kg)

	40	40		7	NT	100 (定量限界 1mg/kg)
コイ	75	5	強制経口投与	1	72 (定量限界 0.2mg/L)	24 (定量限界 0.1mg/kg)
		10		1	72 (定量限界 0.2mg/L)	72 (定量限界 0.1mg/kg)
		20		1	120 (定量限界 0.2mg/L)	120 (定量限界 0.1mg/kg)
		40		1	144 (定量限界 0.2mg/L)	96 (定量限界 0.1mg/kg)
	20	10	混餌投与	7	96 (定量限界 0.1mg/L)	96 (定量限界 1mg/kg)
	20	20		7	144 (定量限界 0.1mg/L)	144 (定量限界 1mg/kg)
ウナギ	100	40	混餌投与	7	18日 (定量限界 0.1mg/L)	18日 (定量限界 1mg/kg)

\*: ハマチ (肝臓、腎臓、脾臓、筋肉) ヤマメ (肝臓、腎臓、筋肉)  
 ニジマス (肝臓、腎臓、筋肉) アユ (肝臓、腎臓、筋肉、鰓)  
 コイ (肝臓、腎臓、筋肉) ウナギ (肝臓、腎臓、脾臓、筋肉、鰓)  
 NT: Non-Tested(測定せず)

#### (4) 残留試験 (水産用薬浴剤) (アユ及びウナギ)

アユ及びウナギを用いてオキシリニック酸の液剤を加えた薬浴試験が実施され、組織残留性について検討された。

対象魚類の血清及び臓器からオキシリニック酸が定量限界未満となるのに要する日数は表 16 に示されている。

アユ、ウナギともに臓器における残留濃度は肝臓が最も高く、日数の経過とともに減衰した。アユにおいては薬浴終了 10 日後、ウナギにおいては 20 日後、全組織中濃度が定量限界未満となった。(参照 89、90)

表 16 最終投与後のオキシリニック酸が定量限界未満になるのに要する日数

魚種	尾数	薬浴用液濃度 (ppm)	薬浴時間 (時間)	定量限界未満になるのに要する時間	
				血清 (日)	臓器 (日)
アユ	96	10	6	5 日 (定量限界値 0.05mg/L)	10 日 (定量限界値 0.05mg/kg、 腎臓のみ 0.1mg/kg)
		20	6	5 日 (定量限界値 0.05mg/L)	10 日 (定量限界値 0.05mg/kg、 腎臓のみ 0.1mg/kg)
ウナギ	50	10	24	15 日 (定量限界値 0.1mg/L、 5尾プール材料では 0.05mg/L)	20 日 (定量限界値 0.05mg/kg、 腎臓及び肝臓はプール材料 として)

#### (5) 残留試験 (水産用油剤及び水剤) (アユ及びニジマス)

アユ及びニジマスを用いて、オキシリニック酸の油剤 (アユ・水温 18℃) 又は水剤 (ニジマス・水温 10 及び 18℃) の 5 日間混餌投与試験が実施され、組織残留性について検討された。

対象魚種の筋肉及び肝臓からオキシリニック酸が検出限界 (0.02mg/kg) 未満になるのに要する日数は表 17 に示されている。

ニジマスの 18℃水温群では、筋肉、肝臓ともに最終投与 21 日後、10℃水温群では 13 日後に検出限界未満になった。

アユの筋肉については最終投与 14 日後に検出限界未満となった。（参照 91）

表 17 最終投与終了後のオキシリニック酸が検出限界未満になるのに要する日数（水産用液剤経口投与）

魚種	尾数	水温 (℃)	投与量 (mg/kg 体重/日)	投与日数 (日)	検出限界未満になるのに要する日数	
					筋肉	肝臓
アユ	269	18	20 (油剤)	5	7 日	14 日
ニジマス	102	18	20 (水剤)	5	21 日	21 日
	53	10	20 (水剤)	5	13 日	13 日

#### (6) 残留試験（水産用微粒子懸濁剤（液剤））（ブリ）

ブリを用いてオキシリニック酸（液剤）の強制経口投与又は混餌投与試験が実施され、組織残留性について検討された。

ブリの血清及び臓器からオキシリニック酸が検出限界未満（血清 0.01mg/L、筋肉 0.01mg/kg、肝臓 0.02 mg/kg、腎臓 0.03 mg/kg）になるのに要する時間又は日数は表 18 に示されている。

5 日間投与試験において臓器・組織内濃度が検出限界未満になるのに要した時間は、投与量 30mg/kg 投与群で肝臓：10 日後、腎臓：16 日後、筋肉：13 日後、20mg/kg 投与群で肝臓：5 日後、腎臓：13 日後、筋肉 3 日後であった。（参照 92、93）

表 18 ブリにおける最終投与後のオキシリニック酸が検出限界未満なるのに要する時間又は日数（水産用微粒子懸濁剤経口投与）

ブリの 尾数	1 回投与量 (mg/kg/日)	投与方法	投与日数 (日)	検出限界未満になるのに要する時間	
				血清(時間又は日数)	臓器(時間又は日数)
110	30	強制経口投与	1	61 時間	>71 時間
55	30	混餌投与	5	3 日	16 日
55	20	混餌投与	5	5 日	13 日

#### (7) 乳汁移行試験（泌乳牛）

ホルスタイン種泌乳牛（2 頭）を用い、オキシリニック酸を 100 µg/kg 体重/日の用量で 28 日間連続混餌投与して、乳汁移行試験が実施された。

その結果、いずれの試料においてもオキシリニック酸は定量限界未満 (<0.01 mg/kg) であった。（参照 24）

### (8) 鶏卵移行試験 (鶏)

鶏を用い、オキシリニック酸を 0.05 (10羽) 及び 0.1% (6羽) 添加した飼料で 30日間連続混餌投与して、鶏卵移行試験が実施された。

鶏卵中の残留量は添加濃度増加に比例して増加した。最終投与後の鶏卵中の残留量は、両添加濃度において徐々に減少し、最終投与 6日後には定量限界 (0.1µg/g) 未満であるが活性のある程度になり、7日後には活性も認められなかった。(参照 94)

### 9. 一般薬理試験

マウス、ウサギ、モルモット及びラットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 19 に示されている。(参照 25)

表 19 一般薬理試験

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大 無作用量 (mg/kg 体重)	最小 作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要	
中枢神経系	一般症状 (Irwin 法)	ICR マウス	雌雄 3	0、4.9、19.5、 78.1、313、 1,250、5,000 (腹腔内)	雄：78.1 雌：19.5	雄：313 雌：78.1	雄 313 mg/kg 体重以上：雌 78.1 mg/kg 体重以上；認知 力、気分、運動性の上昇、 円背位、運動失調、緊張性 の低下、反射亢進、自律神 経系の異常 雄 313 mg/kg 体重以上：雌 1,250 mg/kg 体重以上；常 同行動(四肢・腹をなめる、 給餌器・金床をかむなど) 雌雄 1,250 mg/kg 体重以 上：死亡例
		日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、78.1、313、 1,250、5,000 (経口)	1,250	5,000	呼吸数の増加
	ヘキソ バルビ タール 睡眠	ICR マウス	雄 10	0、4.9、19.5、 78.1、313、 1,250、5,000 (腹腔内)	78.1	313	睡眠延長作用
	脳波	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、313、 1,250、5,000 (経口)	5,000	—	投与による影響なし
	体温	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、313、 1,250、5,000 (経口)	5,000	—	投与による影響なし

呼吸・循環器系	呼吸・血圧・心電図	日本白色種ウサギ	雄 3	0、313、1,250、5,000 (経口)	1,250	5,000	最高血圧の軽微な低下 (投与1時間後)
自律神経系	摘出輸精管	Hartleyモルモット	雄 4	$10^{-7}$ ~ $10^{-3}$ g/mL (in vitro)	$10^{-4}$ g/mL	$10^{-3}$ g/mL	NAの収縮反応増強
	消化管炭末輸送能	ICRマウス	雄 10	0、4.9、19.5、78.1、313、1,250、5,000 (腹腔内)	78.1	313	炭末輸送能の抑制
	摘出回腸	Hartleyモルモット	雄 4	$10^{-7}$ ~ $10^{-3}$ g/mL (in vitro)	$10^{-5}$ g/mL	$10^{-4}$ g/mL	$10^{-4}$ g/mL: 軽度の自動運動の亢進 $10^{-3}$ g/mL: 筋収縮、及びACh、His及び高カリウムイオン収縮の抑制
	横隔膜神経筋	Fischerラット	雄 4	$10^{-7}$ ~ $10^{-3}$ g/mL (in vitro)	$10^{-6}$ g/mL	$10^{-5}$ g/mL	$10^{-5}$ g/mL: 間接及び直接刺激による収縮の抑制
血液	溶血・凝固作用	日本白色種ウサギ	雄 3~4	0、313、1,250、5,000 (経口)	5,000	—	投与による影響なし

—: 最小作用量は設定できなかった。

## 10. 急性毒性試験

### (1) 急性毒性試験

オキシリニック酸のラット及びマウスを用いた急性経口、急性経皮、急性皮下、急性腹腔内及び急性吸入試験が実施された。

各試験の結果は表 20 に示されている。(参照 26~30、95)

表 20 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与経路	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口※ (試験 1)	SD ラット 雌雄各 5 匹	630	570	雌雄: 自発運動増加、自咬、歩行失調、蒼白、血涙、立毛、創傷*、痂皮/硬結*、前後肢及び胸腹部の咬傷*、消化管内血様物貯留* (本試験における死亡例は自咬による失血死であった。) 500 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で死亡例
経口※ (試験 2)	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	雌雄: 自発運動増加、血涙、尿失禁、油状排泄物、体重増加抑制、前肢及び後肢の欠損・損傷*

経口	Wistar系ラット 雌雄各6匹	>4,000	>4,000	雌雄：興奮、自己攻撃性、食欲不振、 体重減少 死亡例なし
経口	ICRマウス 雌雄各5匹	2,200	1,450	雌雄：自発運動増加、円背位、歩行失 調、自咬、創傷*、痂皮/硬結*、体重減 少、胃粘膜の出血様変化、前後肢の欠 損*、胸腹部の皮膚損傷* 800 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で 死亡例
経口	dd系マウス 雌雄各6匹	>4,000	>4,000	雌雄：食欲不振、体重減少 死亡例なし
腹腔内	Wistar系ラット 雌雄各6匹	1,123	1,414	雌雄：自己攻撃性、食欲廃絶、腸間膜 に検体付着残留、飢餓による肝臓萎縮 死亡例なし
腹腔内	dd系マウス 雌雄各6匹	2,000	≒4,000	雌雄：自発運動亢進、鎮静、食欲不振、 腸間膜に検体付着残留、脾臓の腫大 死亡例なし
皮下	Wistar系ラット 雌雄各6匹	>4,000	>4,000	雌雄：投与部位に検体残留 死亡例なし
皮下	dd系マウス 雌雄各6匹	>4,000	>4,000	雌雄：食欲不振、体重減少 死亡例なし
経皮	SDラット 雌雄各5匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
吸入	Fischerラット 雌雄各10匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		雌雄：閉眼、臭いを嗅ぐような頭部運 動、自発運動の増加、自咬、下腹部被 毛汚れ*、口及び鼻周囲・前後肢の血 様物付着*、前肢の指の赤色化・損傷*、 指の欠損* 1.57 mg/L 体重以上投与群の雄及び 1.11 mg/L 体重以上投与群の雌で死亡 例
		>2.45	>1.70	

※) 試験1において中毒症状として自咬が顕著に認められ、自咬による損傷部からの失血が死亡の原因と考えられた。そのため、試験2では自咬防止具を装着し試験を行った。その結果5,000 mg/kg用量でも死亡は認められなかった。試験2で認められた死亡例は1匹を除き、いずれも自咬防止具を脱落した動物で認められた。(1,000 mg/kg群の1匹の死亡例の死因は不明だが、検体投与との関連は疑わしいと考えた。)

\*) 自咬による症状。

ラット及びマウスではオキシソリニック酸の高用量投与により、自咬行動を含む常同行動及び自発運動の増加が認められたが、ウサギ及びイヌでは同様の症状は発現せず、種差が認められた。自咬行動を惹起させるメカニズムと

してカテコラミン神経系、特にドーパミン神経系の関与が考えられた。各種の実験から、オキシリニック酸投与によりラット脳内細胞間隙のドーパミンが上昇すること（参照 31）、シナプトゾームを用いた *in vitro* 試験系でドーパミンの再取り込みの阻害作用が認められること（参照 32）、また、オキシリニック酸投与によるラットの常同行動は、カテコラミン合成阻害剤、ドーパミン拮抗薬、カテコラミン枯渇剤処置により、消失又は拮抗されること等が知られている（参照 33）。これらのことから、ドーパミン再取り込み阻害作用等の作用により脳内のカテコラミン神経系を賦活化し、自発運動増加や常同行動を惹起させ、常同行動の一つとして自咬行動が発現した可能性が示唆されたが、詳細なメカニズムは不明である。

なお、オキシリニック酸はヒトの尿路感染症治療薬として米国、ヨーロッパ各国 11 か国以上で用いられてきた。ヒトの副作用として不眠・不安などの中枢神経系興奮作用が知られているが、自咬行動の発現の報告はない。ヒトの臨床用量（30 mg/kg 体重/日）は、各種試験の無毒性量の最小値である 2.18 mg/kg 体重/日（ラットを用いた 2 世代繁殖試験の無毒性量）の約 14 倍、及びその値から推定される ADI（0.021 mg/kg 体重/日）の約 1,400 倍であり、オキシリニック酸の暴露によりヒトで自咬行動が発現する可能性は低いと考えられた。

原体混在物であるイソ体、*N*-メチル体、脱エチル体、アミド体及び脱メチレン体のマウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 21 に示されている。（参照 34~38）

表 21 急性毒性試験結果概要（原体混在物）

投与経路	化合物	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
経口	イソ体	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	雌雄：自発運動減少
経口	<i>N</i> -メチル体	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
経口	脱エチル体	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
経口	アミド体	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
経口	脱メチレン体	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	雌：失調性歩行、円背位



## (2) 急性神経毒性試験

Wistar 系ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた単回強制経口（原体：0、6、30 及び 150 mg/kg 体重）投与による急性神経毒性試験が実施された。

死亡例は認められなかった。また、一般状態、詳細な状態の観察、剖検及び病理組織学的検査（神経組織）では検体投与の影響は認められなかった。機能検査では 30 及び 150 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で投与当日のみ自発運動量増加が認められた。また、150 mg/kg 体重投与群の雄で投与後 7 日に体重増加抑制が認められた。

本試験における無毒性量は雌雄ともに 6 mg/kg 体重であると考えられた。（参照 104）

### 1 1. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギ（雌雄）を用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。（参照 39）

Hartley モルモット（雄）を用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施された。皮膚感作性は陰性であった。（参照 40）

### 1 2. 亜急性毒性試験

#### (1) 30 日間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた強制経口（0、125、250、500、1,000 mg/kg 体重/日）投与による 30 日間亜急性毒性試験が実施された。

雌では、全投与群でクロールの高値、カリウムの低値又は低値傾向、500 mg/kg 体重/日以上投与群では総タンパクの軽度な低値及び A/G 比の高値傾向がみられた。

臓器重量では、全投与群の雌及び 250 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で副腎の絶対及び／又は比重量の高値が認められた。その他、主要臓器に有意な変動が散見されたが、いずれも体重低値又は増加抑制に起因する変化であると考えられた。

このことから、無毒性量は雌雄共に 125 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。（参照 96）

#### (2) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 12 匹）を用いた混餌（原体：0、100、300、1,000 及び 3,000 ppm：平均検体摂取量は表 22 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 22 90 日間亜急性毒性試験（ラット）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	5.68	17.2	62.2	204
	雌	6.48	19.9	77.4	264

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

尿検査において、3,000 ppm 投与群の雄に尿 pH 低下、尿タンパク減少、尿量増加、同群雌に尿比重低下が認められた。

血液生化学検査において 3,000 ppm 投与群の雄及び 300 ppm 以上の投与群の雌に BUN の増加が認められた。

病理組織学的検査において、1,000 ppm 以上の投与群雌の卵巣が生理的退縮を示さず、妊娠黄体様所見を呈していたが、これらの動物の下垂体、子宮、副腎及び乳腺に異常は認められなかった。

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

<sup>1</sup>体重比重量のことを比重量という（以下同じ）。

### (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	507
	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変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以上投与群の雌雄において体重増加抑制、摂餌量増加、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"> <li>・死亡例5匹</li> <li>・摂餌量低下（第1週）</li> <li>・TP減少、BUN増加、Glu減少</li> <li>・脾・下垂体比重量増加</li> <li>・肝細胞萎縮（死亡例のみ）、脾髄外造血亢進</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡例3匹</li> <li>・摂餌量低下（第1週）</li> <li>・肝細胞萎縮（死亡例のみ）</li> </ul>
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡例1匹</li> <li>・痂皮、脱毛、出血、外傷、腫脹、潰瘍（症状及び剖検所見）</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量増加（第2週以降）、食餌効率低下</li> <li>・AST増加</li> <li>・削瘦/体型小型</li> <li>・肝、副腎及び腎比重量増加</li> <li>・皮膚炎</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量増加（第2週）、食餌効率低下</li> <li>・Glu減少</li> <li>・削瘦/体型小型</li> <li>・肝比重量増加</li> </ul>
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。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"> <li>・ 嘔吐、眼脂、流涙、結膜充血、流涎</li> <li>・ 体重減少(投与3週まで)</li> <li>・ 角膜に白色点</li> <li>・ RBC 減少、MCV 及び MCH 増加</li> <li>・ TG 減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 嘔吐、眼脂、流涙、結膜充血、流涎</li> <li>・ 体重減少(投与1週まで)</li> <li>・ 角膜に白色点</li> <li>・ Glob 減少、T.Chol 増加</li> </ul>
40 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ Glob 減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> </ul>
8 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

#### (5) 6か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 か月間亜急性毒性試験が実施された。

表 27 6か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若しくは増加抑制、又は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 か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<sup>2</sup>の雄で WBC の減少がみられ、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。

このことから、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 97)

#### (6) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar 系ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、300 及び 1,800 ppm : 平均検体摂取量は表 28 参照) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された

表 28 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	300 ppm	1,800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.24	19.4	132
	雌	3.87	24.4	175

各投与群で認められた毒性所見は表 29 に示されている。

死亡率及び剖検においては検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、1,800 ppm 投与群の雄及び 300 ppm 以上投与群の雌で興奮性の神経症状及び行動変化が認められたので、神経毒性の無毒性量は雄で 300 ppm (19.4 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (3.87 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 105)

<sup>2</sup> 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 (本試験の他の項目についても同様)。

表 29 90 日間亜急性神経毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 自発運動量の増加</li> <li>・ 体温上昇</li> <li>・ 着地開脚幅の減少</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量の減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 尾部創傷</li> <li>・ 着地開脚幅の減少</li> <li>・ 筋緊張の低下</li> <li>・ 前肢及び後肢の握力低下</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量の減少</li> </ul>
300 ppm 以上	300 ppm 以下毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 自発運動量の増加</li> <li>・ 体温上昇</li> <li>・ 摂餌量の増加</li> </ul>
50 ppm		毒性所見なし

### 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 30 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 30 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	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重減少及び体重増加抑制</li> <li>・ 角膜白色点（1 匹）</li> <li>・ 尿比重の増加</li> <li>・ RBC 減少、MCH 増加、MCHC 増加</li> <li>・ Alb 減少、TG 減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重減少</li> <li>・ 角膜白色点（2 匹）</li> </ul>
40 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 角膜白色点（1 匹）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 角膜白色点（1 匹）</li> </ul>
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 31 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 31 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 32 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った。

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変化又は神経症状の発現はみられなかったため、検体投与に起因するものとは考えなかった。

剖検時、1,000 ppm 投与群の雄（主群）で精巣に結節・腫瘤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 33 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 以上投与群の雌に消瘦、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 32 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"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・食餌効率低下</li> <li>・T.Chol 減少</li> <li>・精巣結節・腫瘤、精巣萎縮</li> <li>・肝及び腎比重量増加</li> <li>・精巣間細胞腫</li> <li>・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)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量増加、食餌効率低下</li> <li>・TP、Glu、Glob 及び T.Chol 減少</li> <li>・卵巣絶対及び比重量増加、副腎比重量増加</li> <li>・削瘦</li> </ul>
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・赤色眼脂</li> <li>・摂餌量増加</li> <li>・前立腺炎減少、包皮腺炎減少</li> </ul>	300 ppm 以下毒性所見なし
100 ppm 以下	毒性所見なし	

表 33 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か月間発がん性試験（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 34 参照）投与による 18 か月間発がん性試験が実施された。

表 34 18 か月間発がん性試験（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 35 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、痂皮、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 35 18 か月間発がん性試験 (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"> <li>・皮膚病変 (脱毛、びらん、痂皮、出血、創傷)</li> <li>・死亡率増加</li> <li>・体重増加抑制、摂餌量増加、食餌効率低下</li> <li>・皮膚炎</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・摂餌量増加</li> </ul>
150 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・150 ppm 以下毒性所見なし</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・食餌効率低下</li> </ul>
50 ppm		<ul style="list-style-type: none"> <li>毒性所見なし</li> </ul>

#### 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 36 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

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		50 ppm	150 ppm	500 ppm
P 世代	雄	3.41	10.3	43.7
	雌	3.91	12.1	41.8
F <sub>1</sub> 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

37 に示されている。

親動物では、生存率、一般状態、病理学的検査及び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、出産率及び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 F<sub>1</sub> 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、F<sub>1</sub> 世代では 50 ppm 以上投与群、雌の P 及び F<sub>1</sub> 世代では 500 ppm 投与群で、児動物の F<sub>1</sub> 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 F<sub>2</sub> 世代では投与による影響が認められなかったため、無毒性量は親動物雄の P 世代で 50 ppm (3.41 mg/kg 体重/日)、F<sub>1</sub> 世代で 50 ppm 未満、雌で 150 ppm (P 雌 : 12.1 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 13.8 mg/kg 体重/日)、児動物の無毒性量は F<sub>1</sub> 世代で 150 ppm (雄 : 10.3 mg/kg 体重/日、雌 : 12.1 mg/kg 体重/日)、F<sub>2</sub> 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った。(参照 47)

表 37 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 <sub>1</sub>		親 : F <sub>1</sub> 、児 : F <sub>2</sub>	
		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 38 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 F<sub>1</sub> 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が設定された。

表 38 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 <sub>1</sub> 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、臓器重量及び病理学的検査に検体投与の影響はなかった。交尾率、妊娠率及び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、生存率及び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（F<sub>1</sub>：雌雄）の 7 日以降及び 30 ppm 投与群（F<sub>1</sub>：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、F<sub>2</sub> 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ったので、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄に対して本試験の最高用量 30 ppm（P 雄：2.18mg/kg 体重/日、P 雌：2.44 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄：2.52 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 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った。（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、四肢又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、胎児体重及び胎児の性比に検体投与の影響は認められなかった。

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った。

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が認められ、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

かったので、無毒性量は母動物で 3 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 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った。  
(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、1,000mg/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が調べられた。

母動物では、1,000mg 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、500mg 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った。

哺育児では、1,000mg 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った。

本試験の無毒性量は母動物で 250mg/kg 体重/日、児動物で 500mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 98)

#### (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った。また、黄体数、着床数、死亡胚・児数、生存胎児数及び胎盤重量に検体投与の影響は認められなかった。

胎児では、胎児体重、生存胎児数、胎児の性比及び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った。

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ったので、母動物及び胎児に対する無毒性量は本試験の最高用量 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った。(参照 50)

### 15. 遺伝毒性試験

オキシ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 (UDS) 試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験及びマウス骨髄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 39 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、オキシ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、復帰突然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、オキシ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、オキシ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。オキシ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 39 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> (WP2uvrA 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)	$1 \times 10^{-3} \sim 3 \times 10^{-5}$ 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)
	UDS 試験	SD ラット肝細胞	3~300 µg/mL	陰性
	UDS 試験	SD ラット肝細胞	100, 300 µg/mL	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ddY マウス (骨髓細胞)	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 (骨髓細胞)	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 40 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シ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、その活性はオキシリニック酸より弱かった。(参照 59~63)

表 40 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 ( $\mu\text{g}$ /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)
<i>N</i> -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、MIC<sub>50</sub> 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)  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。(参照 71)

### (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シリニック酸の約  $5 \times 10^6 \text{CFU}/\text{spot}$  における MIC が調べられている。結果は、表 41 に示されている。(参照 99)

表 41 オキシ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 (µg/mL)	
		Oxolinic Acid	
		MIC <sub>50</sub>	範囲
通性嫌気性菌			
<i>E.coli</i>	30	0.25	0.12-4
<i>Enterococcus</i> species	30	64	8->128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> species	30	128	32- >128
<i>Fusobacterium</i> species	20	64	32-64
<i>Bifidobacterium</i> species	30	128	64->128
<i>Eubacterium</i> species	20	128	32-128
<i>Clostridium</i> species	30	64	64-128
<i>Peptococcus</i> species / <i>Peptostreptococcus</i> species	30	128	16-128
<i>Prevotella</i> species	20	32	8-64
<i>Lactobacillus</i> species	30	>128	>128
<i>Propionibacterium</i> species	30	64	64-128

調査された菌種のうち、最も低い MIC<sub>50</sub> が報告されているのは *E.coli* の 0.25 µg/mL であった。

## 17. その他の試験

### (1) オキシリニック酸原体のラット精巣腫瘍の発現機序検討試験

オキシ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。その発がん性播種特異的 (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、オキシ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、オキシ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。この精巣間細胞腫の発現機序を検討するため、1)~3) に示す試験が実施された。

その結果、オキシリニック酸原体を投与したラットで増加した精巣間細胞腫は、本腫瘍を好発する動物種に対して、非常に高用量のオキシリニック酸原体を長期間投与したとき、精巣への直接作用ではなく、視床下部のドーパミン作動性神経系の活性化を介して LHRH 放出が促進された結果、下垂体前葉からの LH 放出を増加させ、この LH の慢性的な精巣への刺激によって生じた二次的発癌である可能性が高いと考えられた。(参照 64)

1) 雄ラットにおける血中黄体形成ホルモン (LH) 濃度に及ぼすオキシリニック酸原体投与の影響

① オキシリニック酸原体の長期混餌投与による血中 LH 濃度への影響の検討

Wistar ラット (一群雄 8 匹) を用いて混餌 (原体: 0、100、1,000 及び 3,000 ppm: 平均検体摂取量は表 42 参照) 投与により 2 年間の毒性試験が実施された。

表 42 2 年間混餌投与試験 (ラット) における平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

用量群 (ppm)		100	1,000	3,000
平均検体摂取量	雄	4.2	42.9	145

1,000 及び 3,000 ppm 投与群において体重増加抑制が認められた。摂取量に对照群との間に有意差はなかった。

投与終了時に測定した精巣及び副生殖器 (精巣上体、精囊及び前立腺腹葉) の重量は、对照群との間に有意差はなかったものの、精巣の比重量が 3,000 ppm 群で増加傾向を示した。

投与終了時の精巣間細胞腫の発生頻度は表 43 に示されている。

表 43 2 年間投与終了時精巣間細胞腫発生頻度

用量群 (ppm)	0	100	1,000	3,000
投与終了時生存数	5	7	8	6
精巣間細胞腫	2	1	3	3

投与開始後、4~5 週間に 1 回の頻度で無麻酔下で尾静脈から採血し、血清中 LH 及びテストステロン濃度をラジオイムノアッセイ法により測定した。对照群における血中 LH 及びテストステロン濃度は、加齢に伴って徐々に低下した。発がん性試験にて精巣間細胞腫の誘発が認められなかった用量群 (100 ppm) では血中 LH 濃度は对照群とほぼ同様のレベルで推移した。一方、腫瘍が誘発された用量群 (1,000 ppm) 及びその 3 倍の用量群 (3,000 ppm) では、軽度であるが对照群に比べ有意に高いレベルで推移した。对照群に対する有意性は、特に投与約 45 週から 80 週において顕著であった。血中テストステロン濃度は 1,000 及び 3,000 ppm 投与群で高い傾向を示したが、統計学的有意差はなかった。

② オキシリニック酸原体投与による血中 LH 濃度上昇の可逆性の検討

Wistar ラット (一群雄 6 匹: 投与開始時 41 週齢) に検体を混餌 (原体: 0 及び 3,000 ppm) 投与により 1 か月間投与した後、検体を含まない基礎飼料に戻し 4 週間飼育した。なお、①の試験にて、オキシリニック酸原体によ