

投与96時間後まで角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

その結果、洗浄区の3匹すべておよび非洗浄区の6匹中4匹には異常は認められなかった。非洗浄区の2匹では投与24時間後および48時間後に軽度の角膜の混濁や結膜の発赤が認められたが、すべて4日以内に回復した。

以上よりオキサジキシルは洗浄しない場合、軽度の眼刺激性を有する例を認めるが、J. H. Draizeの評価基準に従うと陰性であった。

2. ウサギにおける皮膚刺激性試験 (スイス・サンド社, 1980年)

雌雄3匹ずつのニュージーランドホワイト系ウサギの背部を剪毛し、それぞれ無傷皮膚と擦過傷皮膚の2試験区を設けた。

オキサジキシル0.5gを生理食塩水で湿潤にして、背部に直接塗布しプラスチックカバーで24時間固定した。暴露終了後、処理部位は水道水で洗浄し、紅斑、痂皮、浮腫の有無を観察した。

その結果、塗布終了直後(24時間後)の擦過傷皮膚においてのみわずかな紅斑が認められたが、72時間後までには完全に消失した。痂皮および浮腫は認められず、オキサジキシルは皮膚に対して刺激性がないものと判定した。

皮膚感作性試験

1. モルモットにおける皮膚感作性試験 (スイス・サンド社, 1984年)

1群20匹の雄モルモットを用い、Maximization法で試験した。なお、陽性対照としてDNCBを用いた。

その結果、オキサジキシル処理群では第2回感作処理後にも誘発処理後にも皮膚感作反応(紅斑、浮腫)は認められず、試験期間を通して体重増加も正常であった。

陽性対照群ではすべての動物が感作性反応を示した。

以上の結果からオキサジキシルには皮膚感作性がないと判定した。

亜急性毒性試験

1. ラットにおける13週間亜急性毒性試験 (サンド薬品株式会社, 1985年)

1群雌雄各22匹のJcl-SD系ラットにオキサジキシルを、0, 100, 300, 1000ppmの濃度で13週間混餌投与し、投与終了後さらに各群雌雄10匹ずつは回復試験区として引き続き4週間無処理飼料を与えて飼育した。

一般症状および生死を観察し、体重、飼料摂取量、飲

水量を測定し、眼科学的検査を行なった。

投与7週目および投与終了時(回復試験群では回復期間終了時)に血液学検査、臨床化学検査、尿検査を行ない、剖検後臓器重量の測定、病理組織学的検査を行なった。

試験期間中、死亡例はなく、投与に関連した臨床症状もみられなかった。血液学検査、臨床化学検査、尿検査では各群で種々のパラメータがわずかに変動したが、すべて偶発的な所見でオキサジキシル投与との関連性はなかった。剖検でも異常所見はなかった。

1000ppm群の雌で肝臓の絶対および相対重量が増加し検体投与による影響が考えられたが、病理組織学的検査ではオキサジキシルの毒性を示唆するような所見はいずれの臓器においても認められなかった。

以上よりオキサジキシルの最大無作用量は300ppm(雄23.2, 雌26.1mg/kg)と判定した。

2. ウサギにおける3週間亜急性経皮毒性試験 (ベルン大学, スイス・サンド社, 1982年)

雌雄各6匹のニュージーランドホワイト系ウサギの背部を剪毛し、再蒸留水で湿らせたオキサジキシルを1140mg/kgの割合で毎日6時間ずつ週5回、3週間にわたって反復塗布した。

試験期間中死亡例はなく、投与に関連した症状や皮膚刺激性も認められなかった。

オキサジキシル処理群では血糖値がわずかに減少し、肝重量がわずかに増加したが、ほかには所見は認められず剖検でも異常はなかった。病理組織学的検査においてもオキサジキシル投与に関連した病変は認められなかった。

以上よりオキサジキシルの最大無作用量は1140mg/kgであると判定した。

慢性毒性試験

1. イヌにおける1年間の慢性毒性試験 (ベルン大学, RCC社, スイス・サンド社, 1983年)

1群雌雄各4匹のビーグル犬にオキサジキシルを0, 25, 50, 500ppmの濃度で1年間混餌投与した。

試験期間を通して全群とも死亡例はなく、検体投与による臨床所見、眼の構造や機能に及ぼす悪影響も認められなかった。体重および飼料摂取量も対照群と同様であった。

血液学検査では25ppm群と500ppm群の雌でMCHが軽度上昇し、500ppm群雌でMCHCが減少したが偶発的な所見であった。臨床化学検査では対照群も含め各群でパラメータが単発的に変動し、また尿検査でも単発的な変動がみられたが、オキサジキシル投与に関連した

所見は認められなかった。全投与群の雌で甲状腺重量が減少したが、これは対照群の1例の値がとくに大きいためであり偶発的所見であった。剖検および病理組織学的検査においてもオキサジキシルによる影響は認められなかった。

以上よりオキサジキシルの最大無作用量は 500 ppm (雄 12.34, 雌 12.59 mg/kg) と判定した。

2. ラットにおける2年間の慢性毒性、催腫瘍性試験 (ベルン大学, スイス・サンド社, 1983年)

1群雌雄70匹ずつの Han-Wistar 系ラットに 0, 100, 250, 1000 ppm のオキサジキシルを2年間(雄106週間, 雌121週間)混餌投与した。54週目と80週目に各群雌雄5匹ずつを中間屠殺した。

一般症状として、雄では250 ppm 群で試験後半痩せたラットが増加し、雌では対照群で皮下に組織塊が高頻度で発生した。生存率は雌のほうが高く1000 ppm 群雌が最も高かった(67%)。

雌ラットでは1000 ppm 群で79週目まで体重が有意に増加し、250 ppm 群, 1000 ppm 群では試験期間を通して用量依存的に飼料摂取量が増加した。雌では1000 ppm 群で試験終了時まで有意に体重が減少しオキサジキシル投与による影響と考えられた。血液学検査, 臨床化学検査, 尿検査ではオキサジキシル投与に関連した変動は認められなかった。

1000 ppm 群雌の剖検では肝臓に多くの組織塊が認められ、肝重量も有意に増加した。1000 ppm 群雌でも顕微鏡観察により肝臓の組織塊が確認された。

病理組織学的検査では、非腫瘍性病変はすべて自然発生的、あるいは加齢による変化であり、オキサジキシル投与に関連した所見はなかった。腫瘍性病変としては肝臓の増殖性病変が認められたが肝癌はなく、また悪性腫瘍数は対照群に比べて投与群のほうが少なかった。

以上よりオキサジキシルの最大無作用量は 250 ppm (雄 10.90, 雌 14.11 mg/kg), また、発癌性はないと判定した。

3. マウスにおける慢性毒性、催腫瘍性試験 (ベルン大学, スイス・サンド社, 1983年)

1群雌雄75匹ずつの NMRI 系マウスにオキサジキシルを、0, 40, 100, 400 ppm の濃度で雄には97週間, 雌には87週間混餌投与した。51週目および79週目に各群雌雄10匹ずつのマウスを中間屠殺した。

一般症状として対照群の雄で多くの皮下組織塊が認められ、雌では40 ppm 群でバクテリアによる皮下組織塊が増加した。生存率は雄でも400 ppm 群が最も高かったが、雌では対照群が最も高かった。400 ppm 群の雄で試

験期間を通して単発的に体重増加量が減少した。飼料摂取量も100 ppm 群, 400 ppm 群で時に減少した。

血液学検査, 臨床化学検査, 尿検査では単発的に種々のパラメータの変動が認められたが、すべてオキサジキシル投与とは関連がなかった。

剖検では検体投与による影響は認められなかったが、400 ppm 群の雄で肝臓の絶対および相対重量が増加し、同群雌で相対肝重量が増加した。

病理組織学的検査では、対照群を含む全群で種々の非腫瘍性病変が認められたが、すべて自然発生的または加齢による変化であった。腫瘍性病変においてもオキサジキシル投与による影響は認められず、悪性腫瘍数は投与群のほうが減少する傾向にあった。

以上より最大無作用量は100 ppm (雄 17.98, 雌 23.58 mg/kg), また、発癌性はないと判定した。

繁殖性および催奇形性試験

1. ラットにおける3世代繁殖性および催奇形性試験 (ベルン大学, スイス・サンド社, 1984年)

0, 100, 250, 1000 ppm のオキサジキシルを飼料に混入して継続する3世代(F₀, F₁, F₂)の Han-Wistar 系ラットに連続して投与した。F₀世代として各群雌雄35匹ずつを用いた。

親動物の所見として高用量群の雌で各世代とも体重増加量が減少した。高用量群では血液学検査で白血球数増加(雌)の血糖値の増加, 尿検査でタンパク値の増加等、いくつかのパラメータに変動がみられたがすべての世代にあてはまる所見ではなく、臓器重量でも検体投与に関連した変化は認められなかった。

繁殖性の指標としては、高用量群で F₂ 世代の妊娠率が減少したが、分娩率, 生存率, 哺育率は対照群と同様であった。

また、胎仔の骨格および軟組織に及ぼす影響として腎臓, 心臓, 脳およびアリザリン染色した骨格を検査したが、催奇形性を示唆する特定の所見は認められずオキサジキシルは催奇形性を有しないと判定した。

2. ラットにおける催奇形性試験 (スイス・サンド社, 1983年)

オキサジキシルをゼラチン溶液に懸濁させ、0, 250, 500, 1000 mg/kg の濃度で妊娠した Han-Wistar 系ラットに妊娠6日目から15日目までの10日間, 毎日1回強制経口投与し、検体の催奇形性について検討した。

その結果、1000 mg/kg の投与によって親動物は体重増加量が減少し、また胎仔吸収の割合も高くなったが、すべての用量においてオキサジキシル投与に関連した生

存胎仔の外観、内臓、骨格の異常所見は認められず、オキサジキシルは催奇形性を有しないと判定した。

3. ウサギにおける催奇形性試験 (米国サンド社, 1982年)

1% CMC と 0.2% Tween 80 に懸濁させたオキサジキシルを1群15匹ずつの妊娠したニュージーランドホワイト系ウサギに0, 50, 100, 200 mg/kg 用量で妊娠7~19日目までの13日間、毎日1回強制経口投与し、検体の催奇形性について検討した。

その結果、母獣に及ぼす影響として200 mg/kg の投与により3匹が流産あるいは早産し、また一時的に体重および飼料摂取量が減少した。胎仔については、高用量の投与により生存胎仔数が減少し軽度の発育遅延が認められたが、この所見は母獣の影響によるものと思われ、またオキサジキシルに関連した奇形学的所見は認められなかった。以上よりオキサジキシルの催奇形性はないと判定した。

変異原性試験

1. Rec-assay (化学品検査協会, 1985年)

Bacillus subtilis の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、代謝活性化および非代謝活性化によってDNA損傷の誘発性を検定した。

試験濃度は10,000, 5000, 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の7濃度とし、培養後阻止帯の長さを測定した。

また、溶媒対照としてDMSO、陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてマイトマイシンCおよびTrp P-1を用いた。

その結果、代謝活性化系を用いない場合、M-45菌株では312.5 $\mu\text{g}/\text{disk}$ 、H-17菌株では2500 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の濃度から菌の成育阻害が認められ、最小阻止濃度の比、すなわちDNA傷害度は8であった。一方、代謝活性化系の存在下では傷害度は1であった。

以上よりオキサジキシルは弱いDNA損傷誘発性があるものと推定された。

2. ラットの一次肝細胞における不定期DNA合成試験 (リットン・バイオネティクス社, 1981年)

ラットの肝細胞を用いて *in vitro* で不定期DNA合成を測定することによりオキサジキシルの変異原性を検定した(Williamsの方法による)。

オキサジキシルはDMSOおよびWMEに溶解し、5010, 2505, 1525, 501.0, 250.5, 125.3, 50.1, 25.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で検定した。陽性対照として2-AAFを用いた。

その結果、オキサジキシルは溶媒対照同様ラットの一次肝細胞の核標識に明らかな変化を引き起こさなかった。

3. 復帰変異試験 (化学品検査協会, 1985年)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537, TA1538) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*) 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)の存在下および非存在下でAmesらの方法で復帰変異試験を行なった。

試験濃度は5000, 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ とし、溶媒対照としてDMSO、陽性対照としてAF-2, NaN₃, 9-AA, 2NF, 2AAを用いた。

その結果、S-9 Mixを添加しない場合、TA1537菌株において1250, 2500, 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度で復帰変異コロニー数が溶媒対照の4~5倍となり用量依存的に増加した。

以上よりオキサジキシルはS-9 Mixの非存在下でTA1537菌株に対し弱い復帰変異性を有するものと推定した。

4. サルモネラ菌を用いた復帰変異試験 (スイス・サンド社, 1979年)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* の5菌株(TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100)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)の存在下および非存在下でAmesらの方法で復帰変異試験を行なった。

オキサジキシルはアセトンに溶解し、5000, 500, 50 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (1回目)、および3000, 1000, 300 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (2回目)の濃度で試験した。陽性対照として6-aminochrysene, 2-aminofluorene, benzopyrene, 2-aminoanthraceneを用いた。

その結果、オキサジキシルは代謝活性化系の存在下および非存在下の両検定において最高濃度5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ においても復帰変異コロニー数の増加を引き起こさず、復帰変異誘発性は陰性であると推定した。

5. チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた染色体異常試験 (Hazleton Biotechnologies Co., 1985年)

チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下で染色体異常検定を行なった。

試験濃度は、代謝活性化法では250, 500, 1000, 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、非代謝活性化法では1250, 1500, 1800, 2000, 2100, 2500とした。溶媒対照としてDMSO、陽性対照

としてシクロフォスファミドおよびマイトマイシンCを用いた。

その結果、オキサジキシルは代謝活性化を含む本試験条件下で染色体異常を引き起こさず、その誘発性を有しないものと判定した。

6. マウスにおける小核試験 (リットン・バイオネテックス社, 1981年)

1群雌雄4匹ずつのCD-1系マウスに低用量(雄:29.06 mg/kg, 雌:19.53 mg/kg)あるいは高用量(雄:232.5 mg/kg, 雌:156.2 mg/kg)のオキサジキシルを24時間間隔で2回経口投与した。陰性対照は溶媒であるDMSO, 陽性対照はTEMを用いた。2回目の投与6時間後にマウスを屠殺し、骨髓塗抹標本を作製した。1000個の多染性赤血球(PCE)を観察し、そのうち小核をもつPCEの割合を計算した。

その結果、オキサジキシルは低用量も高用量も陰性対照値と同等であり、本試験条件下においてPCE中に小核の出現を誘発せず、小核の誘発性はないと判定した。

生体機能に及ぼす影響試験

オキサジキシルの生体機能に及ぼす影響について、マウス(ddY系, 雄), ラット(SD系, 雄), ウサギ(ニュージランドホワイト系, 雄)を用いた一般薬理試験を行ない評価した。(憐野村生物科学研究所, 1985年)

1. 中枢神経系に対する作用

オキサジキシルをマウスおよびラットに62.5, 250, 1000 mg/kgの濃度で強制経口投与し、マウスについては一般症状に及ぼす影響(Irwin法), 自発運動量測定, 回転棒法による筋統御系に対する作用, 酢酸writhing法による鎮痛作用, 睡眠増強作用を調べ、またラットについては体温を測定した。

その結果、筋弛緩作用、およびこれに伴う自発運動量の減少や運動失調が認められ、また酢酸writhing反応の抑制、睡眠時間の延長、体温の降下によりオキサジキシルは中枢神経系に対し抑制的に作用するものと考えられた。

2. 呼吸、循環器系に対する作用

オキサジキシルを62.5, 250, 1000 mg/kgの濃度でウサギに強制経口投与し、呼吸、血圧、心拍数を測定した。その結果、62.5および250 mg/kgの投与では影響は認められなかったが、1000 mg/kgの投与では呼吸数が減少した。この呼吸抑制は筋弛緩作用に関連があると思われる。オキサジキシルの呼吸、循環器系に対する作用は弱

いものと考えられた。

3. 自律神経系に対する作用

オキサジキシルを62.5, 250, 1000 mg/kgの濃度でマウスに強制経口投与し6時間後まで瞳孔径を測定した。その結果、62.5および250 mg/kgの投与では検体投与に関連した影響は認められなかった。1000 mg/kgの投与では6時間後まで散瞳が観察されたが、全身症状の悪化に伴うものと考えられ、オキサジキシルの自律神経系に対する作用は弱いものと判断された。

以上よりオキサジキシルの主要な薬理作用は筋弛緩作用、ならびに中枢神経系に対する抑制作用であると推察された。

要 約

オキサジキシルの安全性評価のために各種毒性試験を実施した。その結果、オキサジキシルの急性毒性は弱く普通物に相当した。眼に対しては投与後、洗浄しない場合に軽度の刺激性がみられた例を認めたが全体的評価としては陰性であった。皮膚に対する刺激性もなく、皮膚感作性も陰性であった。

ラットおよびマウスを用いた亜急性毒性、慢性毒性および催腫瘍性試験では高用量で体重増加抑制、飼料摂取量減少等オキサジキシルに関連する所見が認められ、ラットの慢性毒性試験では肝臓の増殖性病変の発生率が増加した。しかしながら発癌性は示唆されず、むしろ生存率が増加し悪性腫瘍数が減少する傾向にあった。イヌにおける慢性毒性試験では用いられた投与量においてはオキサジキシルによる影響はまったく認められなかった。

催奇形性試験ではラットおよびウサギに対する催奇形性はみられず、変異原性試験においては、S-9 Mixによる代謝活性化系の非存在下において細菌に対して弱い復帰変異原性が示唆されたものの、染色体異常試験、マウスの小核試験の結果はいずれも陰性であった。

オキサジキシルは耐性菌出現防止のため混合剤として開発を進めてきたが、昭和61年10月に農林水産省に農薬登録され現在に至っている。農薬登録保留基準は果実1.0 ppm, 野菜5.0 ppm, いも類1.0 ppmであり、とくに、ばれいしょ、たまねぎ、きゅうり等に有用な薬剤である。

問合せ

株式会社エス・ディー・エス バイオテック開発部
〒105 東京都港区東新橋2-12-7