

表 6 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
20000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 赤血球数減少、血小板数増加 遊離コレステロール、リン脂質及びアルブミン増加 肝肥大、肝黒色化及び肝細胞肥大 腎及び精巣体重比重量（以下「比重量」とする）増加 	<ul style="list-style-type: none"> アルブミン増加、ビリルビン減少 血清中総蛋白量及びカルシウム増加 肝肥大、肝黒色化及び肝細胞肥大 心絶対重量増加
5000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> Ht 及び Hb 減少 血清中総コレステロール及びγ-GTP 増加 血清中総蛋白量及びカルシウム増加 肝比重量増加 副腎比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> 血小板数、Ht 及び Hb 減少 血清中総コレステロール、血清中総遊離コレステロール、リン脂質の増加及びγ-GTP 増加 A/G 比減少 肝比重量増加 腎及び副腎絶対重量増加
200 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

本試験における無毒性量は、5000 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加、 γ -GTP の増加等が認められたため、雌雄で 200 ppm（雄：14.1 mg/kg 体重/日、雌：15.3 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 36）

(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）を用いた強制経口（原体：0, 40, 200, 1000 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主な所見は表 7 に示されている。

表 7 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> 赤血球数、血小板数、Hb、Ht、MCV、MCHC、網状赤血球率及び血清中カルシウム減少 血清中総蛋白量及びアルブミン減少、血清中 ALP、総ビリルビン及びγ-GTP 増加 貧血による結膜蒼白 肝比重量増加、肝細胞肥大及び肝クッパー細胞色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> 赤血球数、血小板数、Hb、Ht、MCV、MCHC、網状赤血球率及び血清中カルシウム減少 血清中 ALP、総ビリルビン及びγ-GTP 増加 肝細胞肥大及び肝クッパー細胞色素沈着

200 mg/kg 体重/ 日 以上	200 mg/kg 体重/日 以下、毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> 血清中総蛋白量、アルブミン、血清中アルブミン分画及び分画量減少、A/G 比減少 肝比重量増加
40 mg/kg 体重/ 日 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

40ppm 以上投与群の雌で胸腺比重量減少が認められたが、背景データの範囲内であり、胸腺の病理組織学的所見では生理的退縮像と同様であったので、投与による影響とは考えられなかった。

本試験における無毒性量は、1000 mg/kg 体重/日の雄、200 mg/kg 体重/日の雌でアルブミンの減少等が認められたので、雄で 200 mg/kg 体重/日、雌で 40 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 37)

(3) 28 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 200, 2000, 20000 ppm, 雄 : 0, 17.7, 174, 1850, 雌 : 0, 19.3, 186, 1850 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 28 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

20000ppm 投与群の雄で体重増加抑制、食餌効率の低下が認められた。

本試験における無毒性量は、20000ppm 投与群の雄で体重増加抑制が認められたことから、雄で 2000 ppm (174mg/kg 体重/日)、雌で 20000 ppm (1850 mg/kg 体重/日) であると考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照 38)

(4) 28 日間亜急性毒性試験 (マウス)

B6C3F1 マウス (一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 50, 500, 7000, 20000, 50000ppm, 雄:0, 10.7, 105, 1410, 3970, 9470, 雌:0, 12.7, 120, 1610, 4380, 10800 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 28 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主な所見は表 8 に示されている。

表 8 マウス 28 日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
50000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 摂餌量減少、体重増加抑制 MCV 及び MCH 減少 副腎比重量増加及び副腎皮質/髄質細胞肥大 胸腺比重量減少及び胸腺萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> 摂餌量減少 赤血球数、Hb、MCV、MCH、及び MCHC 減少、血小板増加 胸腺比重量減少 副腎比重量増加及び副腎皮質/髄質細胞肥大
20000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> MCH 減少 肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> Ht 減少 卵巣比重量減少

		<ul style="list-style-type: none"> 肝細胞分裂像増加、肝細胞核異型化
7000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 血小板増加 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞巣状細胞壊死及び肝細胞核異型化 前胃角化亢進 腎比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> 小葉中心性肝細胞肥大、肝比重量増加及び肝細胞空胞化 前胃角化亢進
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝細胞単細胞壊死、肝細胞巣状細胞壊死、肝細胞空胞化及び肝細胞分裂像増加 	<ul style="list-style-type: none"> 肝細胞単細胞壊死
50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

本試験における無毒性量は、500 ppm 投与群の雌雄で肝細胞単細胞壊死が認められたので、雌雄で 50 ppm (雄：10.7 mg/kg 体重/日、雌：12.7 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 39, 79)

(5) 28 日間亜急性毒性試験(ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 (原体：0, 50, 500, 7000, 20000, 50000 ppm, 雄：0, 4.5, 45.1, 621, 1870, 4920, 雌：0, 4.6, 47.8, 656, 1860, 4890 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 28 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主な所見は表 9 に示されている。

表 9 ラット 28 日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
50000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 死亡 (1 例) 体重増加抑制 血清中総コレステロール、コレステロールエステル及びリン脂質増加 甲状腺ろ胞細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> Ht 及び Hb 減少 甲状腺ろ胞細胞過形成
20000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> Hb、MCV、MCH 及び MCHC 減少 血清中遊離コレステロール増加 肝肥大、小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞単細胞壊死、肝細胞分裂像増加及び肝細胞空胞化 腎比重量増加 精巣比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> MCV 減少 総蛋白、γ-GTP、血清中遊離コレステロール増加、総コレステロール及びリン脂質増加 肝比重量増加、肝肥大、小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞単細胞壊死、肝細胞分裂像増加 腎比重量増加

7000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 血小板増加 血清中総蛋白増加 肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> 血小板増加 コレステロールエステル増加 遊離脂肪酸減少
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

本試験における無毒性量は、7000 ppm 投与群の雌雄で血小板増加等が認められたことから、雌雄で 500 ppm(雄：45.1 mg/kg 体重/日、雌：47.8 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 40, 79)

11. 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 4 匹) を用いた強制経口 (原体：0, 4, 40, 400 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。

毒性は最高用量まで見られなかった。

本試験における無毒性量は雌雄で 400 mg/kg 体重/日と考えられる。(参照 41)

(2) 慢性毒性 (18ヶ月間) /発がん性 (2年間) 併合試験 (ラット)

Fischer ラット (慢性毒性試験群：一群雌雄各 30 (26, 52, 78 週にて雌雄各 10 匹ずつ計画殺) 匹、発がん性試験群：一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体：0, 50, 200, 5000, 10000 ppm, 雄：0, 2.5, 9.9, 250, 518, 雌：0, 3.2, 12.5, 318, 649 mg/kg 体重/日に相当) 投与による慢性毒性 (18ヶ月間) /発がん性 (2年間) 併合試験が実施された。

各投与群で認められた主な所見は表 10 に示すとおり。

表 10 ラット慢性毒性/発がん性併合試験で認められた所見(腫瘍性病変以外)

投与群	雄	雌
10000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 食餌効率低下及び軟便尾部結節 Ht 及び Hb 減少 脾臓萎縮 腎リンパ球浸潤、腎硝子様円柱、腎線維化及び腎移行上皮過形成 ハーダー腺腺腔拡張 	<ul style="list-style-type: none"> 食餌効率低下及び摂餌量増加 脾臓萎縮 腎リンパ球浸潤及び好塩基性尿管
5000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 摂餌量増加 MCV 及び MCH 減少、血小板数増加 血清中総蛋白量及びγ-GTP 増加 肝比重量増加、肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、肝海綿性変性及び肝変異細胞巣 	<ul style="list-style-type: none"> 赤血球数、血小板数、Ht、Hb、MCV 及び MCH 減少 血清中カルシウム、総・遊離コレステロール、リン脂質、血清中総蛋白量及びγ-GTP 増加 肝比重量増加、肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝マクロファージ

	<ul style="list-style-type: none"> 腎及び副腎比重量増加、腎結石、慢性腎症、尿細管拡張、腎硝子滴変性 甲状腺ろ胞上皮細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> 泡沫細胞集簇 甲状腺ろ胞上皮細胞過形成 ハーダー腺腔拡張 腎及び副腎比重量増加、糸球体硬化、腎結石、腎硝子様円柱及び腎褐色色素沈着
200 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

腫瘍性病変としては、10000 ppm 投与群の雄で肝細胞腺腫、5000 ppm 以上投与群の雌で子宮腺癌の有意な増加が認められた (表 11)。

表 11 ラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験で認められた腫瘍性病変

投与量	雄					雌				
	0	50	200	5000	10000	0	50	200	5000	10000
所見/検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
肝細胞腺腫	1	2	2	2	8*	4	0	2	1	2
肝細胞腺癌	0	2	0	0	2	0	0	0	1	0
子宮腺腫	-	-	-	-	-	1	0	2	2	0
子宮腺癌	-	-	-	-	-	3	3	4	13*	12*

Fisher の直接確率検定、* : $p \leq 0.05$

検査動物数は、発がん性試験群及び慢性毒性試験群 (52 週、78 週) の合計である。

本試験における無毒性量は、5000 ppm 投与群の雌雄で肝、腎及び副腎比重量増加等が認められたので、雌雄で 200 ppm (雄 : 9.9 mg/kg 体重/日、雌 : 12.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 42, 80)

(3) 2 年間発がん性試験 (マウス)

B6C3F₁ マウス (発がん性試験群 : 一群雌雄各 50 匹、衛生群 : 一群雌雄各 20 匹 (52, 78 週にて雌雄各 10 匹ずつ計画殺) を用いた混餌 (原体 : 0, 20, 100, 2500, 5000 ppm, 雄 : 0, 2.7, 13.7, 358, 731, 雌 : 0, 3.7, 18.6, 459, 928 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

腫瘍性病変以外では、表 12 の所見が認められた。腫瘍性病変としては、5000 ppm 投与群の雄で甲状腺ろ胞細胞腺腫が、2500 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞腺腫が、雄で肝芽細胞腫、肝細胞癌の有意な増加が認められた (表 13)。

表 12 マウスを用いた発がん性試験で認められた所見 (腫瘍性病変以外)

投与群	雄	雌
5000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 死亡率増加 削瘦、立毛、蒼白及び呼吸促迫 	<ul style="list-style-type: none"> 肝細胞核大小不同性、肝マクロファージ集簇、肝炎症性細胞浸潤、

	<ul style="list-style-type: none"> 腎尿細管空胞変性減少及び腎褐色色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> 肝細胞巢状壊死及び肝細胞単細胞壊死 卵巢萎縮
2500ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 食餌効率の低下 血小板数及び骨髓巨核球増加 前胃潰瘍、前胃リンパ球浸潤及び扁平上皮過形成 肝比重量増加、肝小葉中間帯肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、肝変異細胞巢、肝血管拡張、肝細胞核大小不同性、肝多核肝細胞、肝細胞巢状壊死、肝細胞単細胞壊死、肝マクロファージ集簇、肝炎症性細胞浸潤、肝小肉芽腫、肝細胆管/胆管増生、肝髓外造血、びまん性肝細胞脂肪化減少及び多核肝細胞出現増加 甲状腺ろ胞拡張及びろ胞細胞過形成 腎鉍質沈着減少、副腎皮質限局性肥大/過形成及び副腎皮質肥大/過形成 	<ul style="list-style-type: none"> 血小板数増加 肝比重量増加、肝小葉中間帯肝細胞脂肪化、肝細胞肥大及び肝変異細胞巢 甲状腺ろ胞拡張及びろ胞細胞過形成 副腎皮質肥大/過形成 卵巢比重量減少
100ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 13 マウスを用いた発がん性試験で認められた所見（腫瘍性病変）

投与群	雄					雌				
	0	20	100	2500	5000	0	20	100	2500	5000
所見/検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
甲状腺ろ胞細胞腺腫	0	1	0	4	9*	0	0	1	2	2
肝細胞腺腫	21	9*	17	51**	64**	5	3	4	27**	29**
肝芽細胞腫	0	0	0	12**	11**	0	0	0	0	0
肝細胞癌	12	13	12	36**	43**	3	3	3	7	6

Fisher の直接確率検定、* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$

本試験における無毒性量は、2500 ppm 投与群の雄で体重増加抑制、肝細胞肥大等が認め

られたため、雌雄で 100 ppm (雄 : 13.7 mg/kg 体重/日、雌 : 18.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 43)

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 25 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 100, 1000, 10000 ppm : 平均検体摂取量は表 14 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では 10000 ppm 投与群の雌雄で肝重量の増加 (P、F₁)、肝細胞肥大 (P、F₁) が、1000 ppm 投与群の雄で肝重量の増加 (P)、肝細胞肥大 (P、F₁) が認められた。児動物では 10000 ppm 投与群の雌雄で肝重量の増加 (F₁、F₂) が認められた。

本試験における無毒性量は、親動物 (P、F₁) の 1000 ppm 投与群の雄及び 10000 ppm 投与群の雌で肝細胞肥大等が認められたので、親動物の雄で 100ppm (P : 6.9 mg/kg 体重/日、F₁ : 10.0 mg/kg 体重/日)、雌で 1000 ppm (P : 76.0 mg/kg 体重/日、F₁ : 106 mg/kg 体重/日)、児動物 (F₁、F₂) の 10000 ppm 投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、児動物の雌雄で 1000 ppm (F₁雄 : 68.5 mg/kg 体重/日、F₁雌 : 76.0 mg/kg 体重/日、F₂雄 : 99.7 mg/kg 体重/日、F₂雌 : 106 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖に対する影響は認められなかった。(参照 44)

表 14 2 世代繁殖試験における検体摂取量

投与量(ppm)		100	1000	10000	
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	親 P 雄	児 F ₁ 雄	6.90	68.5	702
	親 P 雌	児 F ₁ 雌	7.70	76.0	771
	親 F ₁ 雄	児 F ₂ 雄	10.0	99.7	1060
	親 F ₁ 雌	児 F ₂ 雌	9.90	1069	1120

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体 : 0, 10, 100, 1000 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 1000 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量増加が、100 mg/kg 体重/日以上投与群で副腎絶対重量及び比重量の増加、肝肥大が認められた。胎児動物では投与による影響は認められなかった。

本試験の無毒性量は、母動物の 100 mg/kg 体重/日投与群で副腎比重量増加等が認められたため、母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児動物で 1000 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 45)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW 白色ウサギ (一群雌 22 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体 : 0, 10, 20, 40 mg/kg 体重/日) 投与し、発生毒性試験が実施された。

母動物では、40 mg/kg 体重/日投与群で流産 (2 例)、肝肥大、肝比重量の増加が認めら

れた。1例は妊娠期間の後半に摂餌がみられず、母体の栄養状態悪化に起因したものと考えられた。胎児動物の内臓及び骨格所見には投与による影響は認められなかった。

本試験の無毒性量は、母動物の 40 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量増加等が認められたため、母動物で 20 mg/kg 体重/日、胎児動物で 40 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 46)

13. 遺伝毒性試験

ベンチアバリカルブイソプロピルの細菌を用いた復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験、マウスリンフォーマ TK 試験、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL) を用いた染色体異常試験、ヒトリンパ球を用いた単細胞ゲル電気泳動法試験 (コメット試験)、BALB/c3T3 細胞を用いた二段階形質転換試験、ラット肝細胞を用いた *in vivo* / *in vitro* 不定期 DNA 合成試験、マウス肝臓における酸化的 DNA 損傷試験、ラット肝臓・子宮における酸化的 DNA 損傷試験、マウスを用いた小核試験及びトランスジェニックマウスの肝を用いた遺伝子突然変異試験が行われた。細菌を用いた復帰突然変異試験の TA98 株において S9 mix 存在下で 500~1000 μ g/プレート の用量で対照の 3~4.8 倍の復帰変異コロニー数の増加が認められたが、その他の試験はすべて陰性であった (表 15)。

TA98 株の S9 mix 存在下で再現性のある陽性反応が認められたが、培養細胞においては DNA 損傷性や遺伝子突然変異の誘発性は見られなかったこと、*in vivo* での評価においてマウス、ラットの肝臓等における酸化的 DNA 損傷性が見られなかったこと、十分高用量まで試験されたラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及び肝を標的としたトランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異試験の *in vivo* 試験で陰性であったこと、さらに染色体異常の誘発性に関しては *in vitro*、*in vivo* ともに認められないことから生体にとって特に問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 47~58)

表 15 遺伝毒性試験概要 (原体)

試験		対象	投与量・処理濃度	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 (参照 47)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> 株	1 回目: 8~5000 μ g/プレート (+/-S9) 2 回目: 32~5000 μ g/プレート (+/-S9)	陽性 TA98 (+S9)
	不定期 DNA 合成試験 (参照 48)	ラット肝細胞	実験 1: 5~50 μ g/mL 実験 2: 15.625~500 μ g/mL	陰性
	マウスリンフォーマ TK 試験 (参照 49)	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	3.75~120 μ g/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験 (参照 50)	チャイニーズハムスタ ー肺由来細胞 (CHL)	955~3820 μ g/mL (+/-S9)	陰性

試験	対象	投与量・処理濃度	結果	
単細胞ゲル電気泳動 法試験 (参照 51)	ヒトリンパ球	62.2~173 μ g/mL (-S9) 173~800 μ g/mL (+S9)	陰性	
	BALB/c3T3 細胞	10.4~80.0 μ g/mL	陰性	
<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	不定期 DNA 合成試験 (参照 53)	Fischer ラット(肝細胞) (一群雄 4 匹)	1000, 2000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	酸化的 DNA 損傷試験 (肝臓) (参照 54)	B6C3F1 マウス (一群雌雄各 5 匹)	0, 100, 500 ppm (混餌投与) 雄 : 0, 19.4, 1031 mg/kg 体 重 雌 : 0, 26.1, 1204 mg/kg 体 重	陰性
	酸化的 DNA 損傷試験 (肝臓) (参照 55)	Fischer ラット (一群雌雄各 5 匹)	0, 200, 10000 ppm (混餌投 与) 雄 : 0, 17.4, 798 mg/kg 体重雌 : 0, 17.1, 915 mg/kg 体重	陰性
	酸化的 DNA 損傷試験 (肝臓・子宮) (参照 56)	Fischer ラット雌 10 匹	0, 200, 10000 ppm (混餌投 与) 0, 11.6, 576.4 mg/kg 体重	陰性
	小核試験 (参照 57)	ICR マウス雄 8 匹	2000 mg/kg 体重 (1 日 2 回経口投与)	陰性
	遺伝子突然変異試験 (参照 58)	トランスジェニックマ ウス (Muta TM Mouse) 雄 5 匹、肝臓	1000, 2000 mg/kg 体重 (1 日 1 回 5 日間経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下、+S9 : 代謝活性化系存在下

代謝物 M-1、M-3、M-4、M-5、M-15、混在物 S-L、I-12 の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。代謝物 M-4 及び混在物 I-12 が TA98 株において S9 mix 存在下で各々対照の 6.0 倍 (1250 μ g/プレート) 及び 7.8 倍 (320 μ g/プレート) の増加が認められ、陽性であった。その他はすべて陰性であった (表 16)。

代謝物 M-4 は土壤代謝物で、土壤中半減期が数時間という極めて短時間であること、また、混在物 I-12 は 0.5%以下の低い含有量であることを考えると、これらのものが人に健康被害をもたらすとは考え難い。(参照 59~65)

表 16 遺伝毒性試験概要（代謝物・混在物）

被験物質	試験	対象	投与量・処理濃度	結果
代謝物 M-1	復帰突然変異試験 (参照 59)	<i>S. typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA 株	156-5000 μ g/mL (-S9) 78.1-5000 μ g/mL (+S9)	陰性
代謝物 M-3	復帰突然変異試験 (参照 60)	<i>S. typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA 株	78.1-5000 μ g/mL (+/-S9)	陰性
代謝物 M-4	復帰突然変異試験 (参照 61)	<i>S. typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA 株	156-5000 μ g/mL (-S9) 78.1~5000 μ g/mL (+S9)	陽性 TA98 (+S9)
代謝物 M-5	復帰突然変異試験 (参照 62)	<i>S. typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA 株	78.1-5000 μ g/mL (+/-S9)	陰性
代謝物 M-15	復帰突然変異試験 (参照 63)	<i>S. typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA 株	156-5000 μ g/mL (+/-S9)	陰性
混在物 S-L	復帰突然変異試験 (参照 64)	<i>S. typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA 株	156-5000 μ g/mL (+/-S9)	陰性
混在物 I-12	復帰突然変異試験 (参照 65)	<i>S. typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA 株	本試験： 0.625-320 μ g/mL (-S9) 10.0-1280 μ g/mL (+S9) 追加試験： 0.625-160 μ g/mL (-S9)	陽性 TA98 (+S9)

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下、+S9：代謝活性化系存在下

14. その他の毒性試験

(1) 肝腫瘍のメカニズム試験

①ラットを用いた肝 2 段階発がんイニシエーション試験

Fischer ラット（一群雄 12 匹）を用いた単回経口（原体：2000 mg/kg 体重）投与による 10 週間の発がんイニシエーション試験（イニシエーター陽性対照物質：DEN、プロモーター：PB）が実施された。

GST-P 陽性細胞巢の数および面積が指標としたところ、投与群は陽性巢の数及び面積において溶媒投与群との反応に差がなく、DEN 投与群と比較すると統計学的に有意な低値を示した。

本試験条件下では、ベンチアバリカルブイソプロピルは肝に対する発がんイニシエーション

オン作用はないと考えられた。(参照 66)

②ラットを用いた肝 2 段階発がんプロモーション試験

Fischer ラット (一群雄 12 匹) を用いた混餌 (原体 : 10000 ppm) 投与による 8 週間発がんプロモーション試験 (イニシエーター : DEN、プロモーター陽性対照物質 : PB) が実施された。

DEN+ベンチアバリカルブイソプロピル投与群および DEN+PB 群で有糸分裂が増加し、また、GST-P 陽性細胞巢の数および面積が増加した。

本試験条件下では、ベンチアバリカルブイソプロピルは DEN をイニシエーターとした場合にプロモーション作用を示すと考えられた。(参照 67)

③マウスを用いた薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験

B6C3F1 マウス (一群雌雄各 8 匹) を用いた 1 日 1 回 7 日間強制経口 (原体 : 10, 1000 mg/kg 体重/日) 投与による薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験が実施された。

1000 mg/kg 体重投与群の雌雄で肝比重量の増加、総 P450 量の増加、P450 分子種の増加 (CYP1A2(1A1)、CYP2B1(2B2)、CYP3A2)、肝細胞肥大、雄で肝細胞壊死が認められた。BrdU 免疫組織染色の標識率は投与群と対照群で明らかな差は認められなかった。

ベンチアバリカルブイソプロピル投与によりマウスの肝臓に増加した P450 分子種は、フェノバルビタール投与による酵素誘導パターンと類似していた。また、細胞増殖活性に対する影響は極めて弱いと考えられた。(参照 68)

④ラットを用いた薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験

Fischer ラット (一群雌雄各 8 匹) を用いた 1 日 1 回 7 日間強制経口 (原体 : 10, 1000 mg/kg 体重/日) 投与による薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験が実施された。

1000mg/kg 体重投与群の雌雄で肝比重量の増加、P450 分子種の増加 CYP2B1(2B2)、CYP3A2)、雄で (CYP1A1 (1A2)、総 P450 量の増加が認められた。BrdU 免疫組織染色の標識率は投与群と対照群で有意な差は認められなかった。(参照 69)

⑤マウスを用いた肝細胞増殖活性測定

(2) ①の甲状腺腫瘍メカニズム試験 (100 または 500ppm で 14 日間混餌投与) で得られたマウスの肝臓試料を用いて PCNA 免疫組織化学検査が実施された。

PCNA 標識率に有意な差は認められなかった。(参照 70)

⑥ラット及びマウスにおける肝脂質過酸化量測定

Fischer ラット (一群雌雄各 5 匹) 及び B6C3F1 マウス (一群雌雄各 5 匹) を用いて 7 日間混餌 (ラット : 原体 : 0, 50, 10000 ppm, 雄 : 0, 3.6, 753, 雌 : 0, 3.7, 729mg/kg 体重/日に相当, マウス : 原体 : 0, 100, 5000 ppm, 雄 : 0, 19.4, 1066, 雌 : 0, 21.4, 1370mg/kg 体重/日に相当,) 投与し、過酸化脂質量を蛋白量 1mg 当たりのチオバルビツール酸価 (TBA 価) として算出することにより肝中脂質過酸化量の測定が行われた。

ラットの 10000 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加が、雄で TBA 価増加が、マウスの 5000

ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加及び TBA 価増加が認められた。

肝脂質過酸化能の程度は、マウス雄>マウス雌・ラット雄であり、酸化ストレスの程度がマウス雄で最も強度であり、マウス雌とラット雄は同程度であった。(参照 79)

⑦マウス及びラット肝臓における肝細胞増殖活性測定

マウス及びラット 4 週間反復経口投与試験 (9(4)及び 9(5))、ラット 90 日間亜急性毒性試験(9(1))並びにマウス 13 週間反復投与試験 (マウス発がん性試験 (10(3)) の予備試験) から得られた保存肝臓資料を用いて、肝臓における PCNA 標識率の測定が行われた。

マウス 4 週間では、20000 及び 50000 ppm 群で PCNA 標識率の有意な増加がみられ、高投与群における細胞増殖活性が認められた。

マウス 13 週間では、20000 ppm 群に増加傾向がみられたが、有意ではなかった。

ラット 4 週間では、50000 ppm 群に増加傾向がみられたが、有意ではなかった。

ラット 13 週間では対照群とほぼ同等であった。

以上のことより、肝細胞腫瘍が誘発されたマウスでは、高用量を投与すると肝細胞の増殖活性が増加すると考えられた。(参照 71)

(2) 甲状腺腫瘍発生メカニズム試験

①マウスの肝中 UDP-GT 活性、血清中 TSH、T3 及び T4 の測定

B6C3F1 マウス (一群雄各 6 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 100, 5000 ppm, 0, 17.0, 855, mg/kg 体重/日に相当) 投与による 7 及び 14 日間の甲状腺腫瘍メカニズム試験が実施された。

5000ppm 投与群で肝ミクロソーム中の UDP-GT 活性の増加、血清中 T4 の減少、肝比重量の増加、肝肥大、肝臓の暗色化が認められた。血清中 TSH 及び T3 には変化が認められなかった。(参照 72)

②マウス血清中 TSH 測定試験

B6C3F1 マウス (一群雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 100, 5000 ppm, 0, 15.7, 809.8, mg/kg 体重/日に相当) 投与による 16 週間の甲状腺腫瘍メカニズム試験において、5000ppm 投与群で血清中 TSH の増加が認められた。14. (2) ①の試験で肝ミクロソーム中の UDP-GT 活性の増加、血清中 T4 の減少が認められたことに加え、本試験で血清中 TSH 濃度の増加が認められたことから、ベンチアバリカルブイソプロピルによる甲状腺腫瘍の発生は、内分泌ホルモンのフィードバック調節の結果に起因することが一因であると考えられた。(参照 73)

③ラットの肝中 UDP-GT 活性、血清中 TSH、T3 及び T4 の測定

Fischer ラット (一群雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 200, 10000 ppm, 0, 13.3, 661.4, mg/kg 体重/日に相当) 投与による 14 日間の甲状腺機能亢進メカニズム試験が実施された。

10000 ppm 投与群で摂餌量の増加、肝ミクロソーム中の UDP-GT 活性の増加、血清中 T4 の減少、肝比重量の増加、肝肥大が認められた。血清中 TSH は有意ではないが増加傾向が認められ、血清中 T3 には変化は認められなかった。

ベンチアバリカルブイソプロピルはラット肝臓の UDP-GT を誘導することにより血清中 T4 を減少させ、そのフィードバック機構により甲状腺を刺激した（ろ胞上皮過形成）と考えられた。（参照 74）

（3）子宮腫瘍発生メカニズム試験

①卵巣摘出ラットを用いた子宮肥大試験

卵巣摘出 Fischer ラット（一群雌各 6 匹）を用いた 1 日 1 回 14 日間の強制経口（原体：0, 10, 100, 1000 mg/kg 体重）投与による子宮肥大試験が実施された。

子宮重量はいずれの投与群でも溶媒対照群と同程度であり、組織学検査においても萎縮した子宮組織以外に所見は観察されなかった。子宮内膜細胞の BrdU 標識率にも差は認められなかった。

本試験条件下では、ベンチアバリカルブイソプロピルの子宮肥大作用及び子宮の細胞増殖作用は認められず、エストロゲン作用を示唆する変化は認められないと考えられた。（参照 75）

②ラットの卵巣、子宮及び肝中アロマトラーゼ活性、肝のエストロゲン代謝酵素測定及び血清中ホルモン測定

Fischer ラット（一群雌各 10 匹）を用いた混餌（原体：0, 200, 10000 ppm, 0, 11.6, 576.4, mg/kg 体重/日に相当）投与による 8 週間の子宮癌発生メカニズム試験が実施された。

10000ppm 投与群で肝臓中の酵素（アロマトラーゼ、エストラジオール-2-ヒドロキシラーゼ及びエストラジオール-4-ヒドロキシラーゼ）活性の増加、肝比重量の増加、肝臓の暗色化が認められた。卵巣及び子宮中のアロマトラーゼ活性、血清中の黄体形成ホルモン、17β-エストラジオール及びプロゲステロンの濃度、17β-エストラジオール/プロゲステロン比、卵巣及び子宮の重量変化は認められなかった。（参照 56, 76～77）

Ⅲ. 総合評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「ベンチアバリカルブイソプロピル」の食品健康影響評価を実施した。

ラットを用いた動物体内運命試験が 5mg/kg 体重（低用量）及び 400mg/kg 体重（高用量）を投与して実施されており、血漿中濃度は 2.0～6.0 時間（低用量）、10.4～13.6 時間（高用量）で最高に達した。主要排泄経路は、低用量では胆汁の排泄を経由して糞中に排泄され、高用量では直接糞中に排泄されることが考えられた。組織内分布はいずれの投与群においても肝臓及び腎臓で高かったが、組織内の放射濃度は速やかに減少し、投与 168 時間後は全組織において投与量の 1%以下であった。尿中からはベンチアバリカルブイソプロピルは検出されず、主要代謝物は M-15、M-18、M-19 であった。糞中からは、低用量ではベンチアバリカルブイソプロピルのほか、主要代謝物は M-15 であり、高用量ではベンチアバリカルブイソプロピルが多くを占めた。主要代謝経路は基本骨格の水酸化及び抱合化と考えられた。

ばれいしょ、トマト、ぶどう、トマト幼苗を用いた植物体内運命試験が実施されており、ばれいしょは土壌処理では塊茎に残留が認められず、茎葉処理では約 90%がベンチアバリカルブイソプロピルであった。トマト及びぶどうでは、植物体内で代謝されず、主要残留物はベンチアバリカルブイソプロピルであった。トマト幼苗では、茎葉からの吸収は極めて少なく、根からは速やかに吸収された。

土壌中運命試験が実施されており、半減期は 3.1～21.9 日であった。主要分解物は M-1、M-3、M-4、M-5 であり、半減期はそれぞれ 4～13 日、2～7 日、0.06～0.18 日、16～29 日であった。

水中運命試験が実施されており、加水分解試験ではほとんど分解することはなかった。光分解試験では分解はわずかであり、太陽光に換算した半減期は蒸留水で 740 日、自然水で 1700 日であった。

火山灰軽埴土、造成埴土、洪積埴土を用いて、ベンチアバリカルブイソプロピル及び分解物（混在物 S-L、M-1、M-3、M-4、M-5）を分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内及び圃場）が実施されており、推定半減期は、ベンチアバリカルブイソプロピルで 3.1～41.1 日、ベンチアバリカルブイソプロピルと分解物の含量で 6.6～112 日であった。

はくさい、たまねぎ、ぶどう、きゅうり、トマト及びばれいしょを用いて、ベンチアバリカルブイソプロピル、混在物 S-L、代謝物 M-3 を分析対象化合物とした作物残留試験が実施されており、最大残留値は、最終散布後 30 日目に収穫したぶどうの 0.877mg/kg であったが、45 日目、60 日目にはそれぞれ 0.79 mg/kg、0.63 mg/kg と減衰した。混在物 S-L と代謝物 M-3 では検出限界以下か、検出されても少量であった。

各種代謝及び残留結果から、農産物の暴露評価対象物質をベンチアバリカルブイソプロピル[親化合物のみ]と設定した。

ベンチアバリカルブイソプロピルの急性経口 LD₅₀ はラット及びマウスの雌雄で >5000 mg/kg 体重、急性経皮 LD₅₀ はラットの雌雄で >2000 mg/kg 体重、急性吸入 LC₅₀ はラットの雌雄で >4.6 mg/L であった。

亜急性毒性及び慢性/発がん性試験において、ベンチアバリカルブイソプロピルの主な毒性は、ラットで肝、甲状腺及び腎臓、イヌで肝、マウスで肝及び甲状腺に認められた。

亜急性毒性試験で得られた無毒性量は、ラットで 14.1 mg/kg 体重/日、マウスで 10.7 mg/kg 体重/日、イヌで 40 mg/kg 体重/日であった。

ラットの慢性毒性/発がん性併合試験では雄で肝細胞腺腫、雌で子宮腺癌が、マウスの発がん性試験では雌雄で肝細胞腺腫、雄で甲状腺ろ胞細胞腺腫、肝芽細胞腫、肝細胞癌がそれぞれ認められた。

肝腫瘍については種々のメカニズム試験が実施されており、ベンチアバリカルブイソプロピルはラット及びマウスの肝臓に対して P450 分子種の薬物代謝酵素誘導を示した。また、肝 2 段階がん試験で本剤はイニシエーション作用は認められず、プロモーション作用が認められた。またラットおよびマウスにおける肝脂質過酸化量測定においてマウス雄で最も増加が認められた。これらのことから、本剤の肝発癌メカニズムとして、本剤の薬物代謝酵素誘導及び肝細胞傷害作用によるプロモーション作用により腫瘍の発生頻度を増加させたものと考えられた。

甲状腺腫瘍のメカニズム試験が実施されており、ベンチアバリカルブイソプロピルはラット及びマウスの肝臓の UDP-GT を誘導することで血清中 T4 を減少させ、そのフィードバック機構により甲状腺機能が亢進し、非遺伝毒性的メカニズムによってマウスで甲状腺腫瘍が、ラットで甲状腺ろ胞過形成が誘発されたと考えられた。

子宮腫瘍のメカニズム試験が実施されており、本剤は子宮肥大試験で陰性であり、また、血清のエストロゲン等のホルモンレベルに影響を及ぼさなかった。一方、肝臓のエストロゲン関連代謝酵素の測定結果から、エストロゲンより発がん性の高い 4-ヒドロキシエストラジオール生成も高いレベルにあった可能性が示唆されたので、これが子宮腺癌が増加した要因になった可能性も考えられたが、本専門調査会は子宮腺癌の発癌機構については現時点では不明であると結論した。

肝、甲状腺及び子宮腫瘍のメカニズムは上記のように考えられ、遺伝毒性試験においても生体にとって問題となる遺伝毒性はないので、これらの腫瘍は非遺伝毒性メカニズムであり、閾値が存在すると考えられた。

慢性毒性及び発がん性試験で得られた無毒性量は、マウスで 13.7 mg/kg 体重/日、ラットで 9.9 mg/kg 体重/日、イヌで 400 mg/kg 体重/日であった。

2 世代繁殖試験における無毒性量は、ラットで 6.9 mg/kg 体重/日であった。繁殖に対する影響は認められなかった。

発生毒性試験における親動物に対する無毒性量は、ラットで 10 mg/kg 体重/日、ウサギで 20 mg/kg 体重/日であった。催奇形性は認められなかった。

遺伝毒性試験は、*in vitro* 及び *in vivo* で各種試験が実施されており、細菌を用いた復帰突然変異試験の TA98 株で陽性反応が認められた他は全て陰性であった。TA98 株で S9 mix 存在下で弱い変異原性が認められたが、培養細胞においては DNA 損傷性や遺伝子突然変異の誘発性は見られなかったこと、十分高用量まで試験されたラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及び肝を標的としたトランスジェニックマウスを用いた試験で陰性であったこと、染色体異常の誘発性に関しては *in vitro*、*in vivo* とともに認められなかったことから、生体にとって特に問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。また、二段階形質転換試験は陰性であった。従って、本剤で認められるがん原性は遺伝毒性のメカニズムによって起こるものでないものと考えられた。

代謝物 M-1、M-3、M-4、M-5、M-15、混在物 S-L、I-12 では細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、代謝物 M-4 及び混在物 I-12 で T98 株において S9 mix 存在下で陽性であった他はすべて陰性であった。代謝物 M-4 は土壌代謝物で、土壌中半減期が数時間と極めて短時間であることから問題ないと考えられた。また、混在物 I-12 は 0.5%以下の低い含有量であることから問題ないと考えられた。

各試験における無毒性量及び最小毒性量は表 17 に示されている。

表 17 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 ¹
マウス	28 日間亜急性毒性試験	雄：10.7 雌：12.7	雄：105 雌：120	雌雄：肝細胞単細胞壊死等
	2 年間発がん性試験	雄：13.7 雌：18.6	雄：358 雌：459	雌雄：肝細胞肥大等
ラット	90 日間亜急性毒性試験	雄：14.1 雌：15.3	雄：353 雌：379	雌雄：肝比重量増加、 γ -GTP 増加等
	28 日間亜急性神経毒性試験	雄：174 雌：1850	雄：1850 雌：-	雄：体重増加抑制 (神経毒性は認められない)
	28 日間亜急性毒性試験	雄：45.1 雌：47.8	雄：621 雌：656	雌雄：血小板増加等
	慢性毒性 (18 ヶ月間) / 発がん性 (2 年間) 併合 試験	雄：9.9 雌：12.5	雄：250 雌：318	雌雄：肝、腎及び副腎比重量増加等
	2 世代繁殖試験	親動物 P 雄：6.9 P 雌：76.0 F ₁ 雄：10.0 F ₁ 雌：106 児動物 F ₁ 雄：68.5 F ₁ 雌：76.0 F ₂ 雄：99.7 F ₂ 雌：106	親動物 P 雄：68.5 P 雌：771 F ₁ 雄：99.7 F ₁ 雌：1120 児動物 F ₁ 雄：702 F ₁ 雌：771 F ₂ 雄：1060 F ₂ 雌：1120	親動物 P 雌雄、F ₁ 雌雄：肝細胞肥大等 児動物 F ₁ 雌雄、F ₂ 雌雄：肝重量増加 (繁殖に対する影響は認められない)
	発生毒性試験	母動物：10 胎児：1000	母動物：100 胎児：-	母動物：副腎比重量増加等 (催奇形性は認められない)
ウサギ	発生毒性試験	母動物：20 胎児：40	母動物：40 胎児：-	母動物：肝比重量増加等 (催奇形性は認められない)
イヌ	90 日間亜急性毒性試験	雄：200 雌：40	雄：1000 雌：200	雌雄：アルブミンの減少等
	1 年間慢性毒性試験	雌雄：400	雌雄：-	-

-：最小毒性量は求められていない。

食品安全委員会農薬専門調査会は、各試験の無毒性量の最小値はラットを用いた繁殖試験の 6.9 mg/kg 体重/日であったので、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.069

¹：備考に最小毒性量で認められた所見の概要を示す。

mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) とした。

ADI	0.069 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	繁殖試験
(動物種)	ラット
(期間)	2 世代
(投与方法)	混餌投与
(無毒性量)	6.9 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100