

果実全体									
ミカンの皮	0.72	0.1	0.07	0.1	0.07	0.1	0.07	0.1	0.07
その他のかんきつ	0.07	2.4	0.17	1.4	0.10	3.4	0.24	2.0	0.14
合計			7.21		1.98		3.10		4.74

注)・残留値は、予想される使用時期・使用回数のうち最大の残留を示す各試験区の平均残留値を用いた(参照 別紙 4)。

- ・「ff」：平成 10 年～12 年の国民栄養調査(参照 68～70)の結果に基づく農産物摂取量(g/人/日)
- ・「摂取量」：残留値及び農産物摂取量から求めたメトコナゾールの推定摂取量(μ g/人/日)
- ・その他の麦類からの推定摂取量は、ライ麦の摂取量及び大麦の残留値を用いて算出した。
- ・ミカン(果肉)及び夏ミカン(果肉)は全データが定量限界未満であったため摂取量の計算はしていない。
- ・その他のかんきつからの推定摂取量は、ミカン、夏ミカンを除くかんきつ(カボス、スダチを含む)の摂取量及び残留値の高かったスダチの 0.07 mg/kg を用いて算出した。

7. 一般薬理試験

マウス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 6 に示されている。(参照 23)

表 6 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	概要	
中枢神経系	一般状態	ICR マウス	雄 3 雌 3	0、128、 320、800、 2000 (経口)	128	320	警戒性、受動性及び 正向反射の低下、歩行失調等
		SD ラット	雄 5	0、128、 320、800、 2000 (経口)	128	320	正向反射の低下、 警戒性、受動性の低下、歩行失調等
体温	SD ラット	雄 5*	0、128、 320、800、 2000 (経口)	320	800	体温の低下	
ヘキソバルビタール睡眠	ICR マウス	雄 8	0、0.3、1、 3、10 (経口)	1	3	睡眠延長	
循環器系	血圧・ 心拍数	SD ラット	雄 5	0、128、 320、800、 2000 (経口)	128	320	血圧及び心拍数ともに低下

自律神経系	瞳孔径	SD ラット	雄 5*	0、128、 320、800、 2000 (経口)	320	800	瞳孔径の拡大 1例を除き 24 時間 で回復
消化器系	小腸炭末 輸送能	ICR マウス	雄 8	0、128、 320、800、 2000 (経口)	2000	—	800 mg/kg 体重以 上で炭末移行率の 低下が見られた が、有意差なし
	骨格筋握力	SD ラット	雄 5*	0、128、 320、800、 2000 (経口)	320	800	前後肢握力の低下
	腎機能	SD ラット	雄 5	0、51.2、 128、320、 800、2000 (経口)	128	320	尿 pH 上昇、尿蛋 白の増加等

- ・検体はメトコナゾール原体④を用いた。
 - ・コーンオイルに懸濁したものを単回経口投与した。
- ※一般状態試験と同じ動物を使用した。

8. 急性毒性試験

メトコナゾール(原体①)の Fischer ラット及び ICR マウスを用いた急性経口毒性試験、Fischer ラット及び NZW ウサギを用いた急性経皮毒性試験及び SD ラットを用いた急性吸入毒性試験が実施された。

結果は表 7 に示されている。急性経口 LD₅₀ はラットの雄で 727 mg/kg 体重、雌で 595 mg/kg 体重、マウスの雄で 718 mg/kg 体重、雌で 410 mg/kg 体重、経皮 LD₅₀ はラット及びウサギの雌雄で 2000 mg/kg 体重超、吸入 LC₅₀ はラットの雌雄で 5.59 mg/L 超であった。(参照 24~28)

表 7 急性毒性試験結果概要 (原体①)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	Fischer ラット 雌雄各 5 匹	727	595	粗毛及び異常姿勢 (円背位)、下痢、嚔眠、流涙、 肝臓の軟化、腫大、退色等 死亡動物で肝臓の退色、肥大、腎髄質の退色等
	ICR マウス 雌雄各 5 匹	718	410	運動失調、歩行不能、異常姿勢 (円背位)、皮膚色 蒼白化、眼珠退色、常同行動 (巡回行動) 等 死亡動物で肝臓の暗黒化、肥大、腎髄質の退色等
経皮	Fischer ラット 雌雄各 5 匹	>2000	>2000	症状及び死亡例なし
	NZW ウサギ	>2000	>2000	雄 2 例こ落屑、死亡例なし

	雌雄各 5 匹			
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		立毛、円背姿勢、両前足先のたぐれ、粗毛 雄で肺重量の減少、死亡例なし
		>5.59	>5.59	

代謝物 M1、M11、M12、M34 及び M35 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。

結果は表 8 に示されている。LD₅₀ はラットの雌雄で順に 2000 mg/kg 体重超、5000 mg/kg 体重超、2000 mg/kg 体重超、2000 mg/kg 体重超及び雌で 2000 mg/kg 体重超であった。(参照 29～33)

表 8 急性毒性試験結果概要 (代謝物)

投与経路	化合物	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
経口	M1	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2000	>2000	雌 2 例に円背位、死亡例なし
経口	M11	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	>5000	症状及び死亡例なし
経口	M12	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2000	>2000	円背位、立毛、死亡例なし
経口	M34	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2000	>2000	運動失調、色素涙、チアノーゼ、 脱水、削瘦、円背位、嗜眠、立 毛、眼瞼下垂、呼吸数減少等 死亡動物で肝臓の暗調化等
経口	M35	SD ラット 雌 3 匹	/	>2000	症状及び死亡例なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

メトコナゾール (原体①) の NZW ウサギを用いた皮膚刺激性試験及び眼刺激性試験が実施された。皮膚に対する刺激性は認められなかったが、眼に対する軽度の刺激性が認められた。(参照 34、35)

メトコナゾール (原体①) の Dunkin-Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)、メトコナゾール (原体②) の Albino 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 36、37、74)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (主群: 対照群雌雄各 20 匹、投与群雌雄各 10 匹、衛星群: 対照群・投与群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体③: 0、30、100、300、1000 及び 3000 ppm: 平均検体摂取量は表 9 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。メトコナゾールは 30、100 及び 300 ppm については飼料 1 kg あたり 5 mL のアセトンに溶解し

た後、1000 及び 3000 ppm については乾燥状態で混餌した。

表 9 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	100 ppm	300 ppm	1000 ppm	3000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.94	6.40	19.2	64.3	193
	雌	2.13	7.19	22.1	71.4	208

各投与群で認められた毒性所見を表 10 に示されている。

前胃/境界隆線部過形成/角化症増加については、メトコナゾールの粘膜刺激性によるものと考えられた。

3000 ppm 投与群で認められた、子宮壁萎縮性菲薄化はメトコナゾール投与による aromatase 活性抑制あるいは肝臓の薬物代謝酵素アイソザイム誘導による 17β-エストラジオール代謝亢進による血中 17β-エストラジオール低下によりもたらされた可能性が示唆されたが、原因については明らかにならなかった。

本試験における無毒性量は、300 ppm 以上投与群の雄で肝細胞脂肪化が、雌で脾絶対・比重量増加が認められたので、雌雄とも 100 ppm (雄:6.40 mg/kg 体重/日、雌:7.19 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 39、76)

表 10 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
3000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率減少 ・Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC、平均赤血球直径、PLT、プレートレットクリット、Cre 減少 ・ALP、AST、GGT 増加 ・限局性クッパー細胞色素沈着 ・脾髄外造血低下 ・白脾髄辺縁帯食細胞増生、白脾髄萎縮 ・APTT 短縮 ・脾比重量¹増加、精巣絶対重量減少 ・前立腺及び精囊の小型化 ・中等度の副腎皮質空胞化頻度増加 ・前胃/境界隆線部過形成/角化症増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少、食餌効率減少 ・Ht、MCV、PLT、プレートレットクリット、TG、Glu 減少 ・ALP、AST、β-Glob 増加 ・限局性クッパー細胞色素沈着 ・脾髄外造血低下 ・白脾髄辺縁帯食細胞増生、白脾髄萎縮 ・卵巣絶対重量減少 ・肝小葉像明瞭、肝腫大 ・脾臓表面粗ぞう ・子宮壁萎縮性菲薄化 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・ごく軽度の副腎皮質空胞化頻度増加 ・子宮萎縮
1000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・肝絶対・比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対・比重量増加 ・肝臓退色

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

	<ul style="list-style-type: none"> ・肝臓退色 ・PT 延長 ・ALT 増加、T.Chol、TG 減少 ・β-Glob 増加 ・肝小葉像明瞭、肝腫大、小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb、MCH、MCHC、平均赤血球直径減少、GGT 増加 ・肝細胞脂肪化
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝細胞脂肪化 	<ul style="list-style-type: none"> ・脾絶対・比重量増加
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 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 (原体①: 0、30、300 及び 2000² ppm : 平均検体摂取量は表 11 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 11 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	2000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.6	50.5	341
	雌	6.5	60.7	439

各投与群で認められた毒性所見は表 12 に示されている。

臓器重量で、雄における心臓、脳、精巣重量の比重量及び雌における心臓、卵巣の絶対重量に有意差が認められたが、これらは体重差の影響と考えられた。

300 ppm 以上投与群雄、2000 ppm 投与群雌で AST、ALT 増加が認められ、肝細胞の単細胞壊死、食細胞色素沈着を伴っていることから、肝細胞障害が加わっていると考えられた。

30 ppm 投与群の雄では、肝細胞肥大/空胞化といった組織学的変化は認められなかったが、AST 増加が認められた。

本試験において、30 ppm 以上投与群の雄で AST 増加、300 ppm 以上投与群の雌で脾絶対・比重量増加等が認められたので、無毒性量は雄で設定できず (4.6 mg/kg 体重/日未満)、雌で 30 ppm (6.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 38、74、76、78)

表 12 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
2000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・MCV、MCH 減少、ALP 増加 ・肝腫大、脾腫 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・MCV、MCH、Ht、Lym、カルシウム減少

² 最高用量として 3000 ppm を設定したが、第 1 週末に体重減少が認められたため、第 2 週より 2000 ppm に引き下げた。

	<ul style="list-style-type: none"> ・白脾髄リンパ球過形成 ・血清中塩素、無機リン増加 ・肝絶対重量、副腎、脾、精巣比重増加 ・び慢性肝細胞肥大/空胞化、肝白血球集簇 	<ul style="list-style-type: none"> ・WBC、Neu、ALP、AST、ALT及びカリウム増加 ・肝腫大、脾腫 ・白脾髄リンパ球過形成 ・卵巣絶対重量減少
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・TP、T.Chol 減少 ・肝、脳比重増加 ・ALT、AST 及び Cre 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・TP、T.Chol 減少 ・肝、脾絶対・比重増加 ・肝細胞肥大/空胞化
30 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・AST 増加 	毒性所見なし

(3) 90日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各5匹）を用いた混餌（原体①：0、60、600及び6000 ppm：平均検体摂取量は表13参照）投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

表13 90日間亜急性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		60 ppm	600 ppm	6000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.38	23.1	229
	雌	2.47	23.4	212

各投与群で認められた毒性所見は表14に示されている。

6000 ppm 投与群の雌雄で水晶体の変性（白内障）が認められたが、カニクイザルにおける90日間亜急性眼毒性試験（14.(2)参照）及びラット、マウスの各種毒性試験でも水晶体の変性（白内障）は認められないため、眼の水晶体の異常は、イヌにのみ発現した特有の症状と考えられた。また、6000 ppm 投与群雌雄でAST及びALP増加が認められたが、これは肝細胞障害によるものと考えられた。甲状腺比重増加、脾臓における血液残留は偶発的変化と考えられた。

本試験において、6000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも600ppm（雄：23.1 mg/kg 体重/日、雌：23.4 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照40、74、76、78）

表14 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
6000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・水晶体の変性（白内障） ・Hb、RBC、WBC、MCV 減少 ・PLT 増加 ・AST、ALP、GGT 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・水晶体の変性（白内障） ・Hb、RBC、MCV 減少 ・PT 延長 ・AST、ALP 増加

	<ul style="list-style-type: none"> ・ PT 延長 ・ 尿中 Bil 検出 ・ Alb、A/G 比低下 ・ 水晶体の腫脹及び膨化 ・ 肝細胞肥大及び脾臓の造血亢進 ・ 肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Alb、A/G 比の低下 ・ 水晶体の腫脹及び膨化 ・ 肝細胞肥大及び脾臓の造血亢進 ・ APTT の短縮 ・ Glu 減少 ・ 脾比重量増加
600 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 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④) : 0、50、170 及び 500 ppm : 平均検体摂取量は表 15 参照) 投与による 28 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 15 28 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	170 ppm	500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.84	15.7	47.1
	雌	5.10	17.6	49.8

500 ppm 投与群の雌雄で投与開始から第 1 週で体重増加抑制が認められた。170 ppm 以上投与群の雌雄で食餌効率のわずかな減少が認められた。全投与群で神経毒性は認められなかった。

本試験において、170 ppm 以上投与群の雌雄で食餌効率減少が認められたので、無毒量は雌雄とも 50 ppm (雄 : 4.84 mg/kg 体重/日、雌 : 5.10 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 41)

1.1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 2 年間慢性毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (主群 : 対照群雌雄各 40 匹、投与群雌雄各 20 匹、衛星群 : 対照群雌雄各 20 匹、投与群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体①) : 0、10、100、300 及び 1000 ppm : 平均検体摂取量は表 16 参照) 投与による 2 年間慢性毒性試験が実施された。メトコナゾールは飼料 1 kg あたり 5 mL のアセトンに溶解して混餌した。

表 16 2 年間慢性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	100 ppm	300 ppm	1000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.44	4.29	13.1	44.0
	雌	0.52	5.27	16.0	53.8

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄で肝比重量増加等が、雌で Alb 減少等が認

められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm (雄 : 4.29 mg/kg 体重/日、雌 : 5.27 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 43、74、76)

表 17 2年間慢性毒性試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・TG、Glu、T.Chol 減少、TP、Alb 増加 ・腎、脾比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大、脾組織球集簇増加 ・肝色素沈着(クーパー細胞性)、肺限局性リンパ球増生、変異肝細胞巢(空胞) 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・Mon 増加 ・TG 減少、GGT 増加 ・肝比重量、脾絶対・比重量増加 ・脳比重量減少 ・小葉中心性肝細胞肥大、脾組織球集簇増加 ・小葉中心性肝細胞脂肪性大空胞、肝小葉中心性肝細胞脂肪空胞
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量増加 ・肝び慢性褪色、肝肥大/斑紋様、中間帯肝細胞脂肪性大空胞 	<ul style="list-style-type: none"> ・平均血小板容積減少 ・T.Chol、TP 及び Alb 減少
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 1年間慢性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各4匹)を用いた混餌(原体①:0、30、300、1000及び3000 ppm:平均検体摂取量は表18参照)投与による1年間慢性毒性試験が実施された。

表 18 1年間慢性毒性試験(イヌ)の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	1000 ppm	3000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.1	12.1	39.0	111
	雌	1.1	10.5	36.8	114

各投与群で認められた毒性所見は表19に示されている。

本試験において、1000 ppm 以上投与群の雌雄で ALP 増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄 : 12.1 mg/kg 体重/日、雌 : 10.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 42、74)

表 19 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
3000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCH、MCHC 減少、WBC、PLT 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb、Ht 減少、PLT 増加 ・ALP、GGT 増加 ・眼球混濁、水晶体変性

	<ul style="list-style-type: none"> ・CPK 増加 ・眼球混濁、水晶体変性 ・肝クッパー細胞色素沈着、肝細胞肥大、脾造血亢進、脾色素沈着増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝クッパー細胞色素沈着、肝細胞肥大、脾造血亢進、脾色素沈着増加 ・眼の癒着、虹彩のう胞、気管扁平上皮化生
1000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 2年間発がん性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体①：0、100、300 及び 1000 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 20 2 年間発がん性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	300 ppm	1000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.61	13.8	46.5
	雌	5.51	16.6	56.2

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 21、LGL（Large granular lymphocytic：顆粒性大リンパ球）白血病の発生頻度は表 22 に示されている。

腫瘍性病変について、LGL 白血病の発生頻度が全動物数を対象とした場合、1000ppm 投与群雌にのみ有意に増加した。

しかし、雄の発生頻度に対照群との差がないこと、当該試験実施施設の背景データ（5～28%）の上限をわずかに上回るのみであること、公表文献における同系統ラットの背景データ（6～31%）の範囲内にあること、また 2 年間慢性毒性試験の 1000ppm 群雌雄における本腫瘍あるいは前腫瘍病変の発生頻度の増加が観察されなかったことから、偶発性の変化と判断した。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄で副腎皮質空胞化等が、1000 ppm 投与群の雌で脾比重量増加等が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm（4.61 mg/kg 体重/日）、雌で 300 ppm（16.6 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 45、46、74）

表 21 2 年間発がん性試験（ラット）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
1000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加量抑制、摂餌量減少 ・小赤血球症 ・肝、腎、副腎比重量増加 ・変異肝細胞巣増加（明細胞） 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加量抑制、摂餌量減少 ・小赤血球症 ・肝、脾比重量増加 ・変異肝細胞巣増加（明細胞）

	<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓組織球集簇増加 ・変異肝細胞巣増加（好酸性細胞）、小葉中心性肝細胞空胞化、肝脂肪性空胞巣 ・精巣限局性間細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓組織球集簇増加、脾腫
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎皮質空胞化 ・小葉中心性肝細胞肥大、肝クッパ一細胞色素沈着 ・腎退色 	300 ppm 以下毒性所見なし
100 ppm	毒性所見なし	

表 22 LGL 白血病の発生頻度

性別	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与群 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
発生動物数	17	22	21	14	5	8	7	15* ^P

*:Willams の多重比較法、 $p < 0.05$ 、

^P:Peto 検定、 $p < 0.01$

(4) 21 カ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (主群雌雄各 51 匹、衛星群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体①: 0、30、300 及び 1000 ppm: 平均検体摂取量は表 23 参照) 投与による 21 カ月間発がん性試験が実施された。メトコナゾールはアセトンにより溶解の後混入した。

表 23 21 カ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	1000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.2	40.3	144
	雌	5.2	52.5	178

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 24、肝細胞腫瘍の発生頻度は表 25 に示されている。

1000 ppm 投与群の雄に認められた精嚢腫大、300 ppm 投与群の雌に認められた脾臓萎縮は、軽微であるか、用量相関性を欠く変化であったため、毒性学的意義はないものと考えられた。

腫瘍性病変では、1000 ppm 投与群の雌雄で肝臓の肝細胞腺腫又は肝細胞癌の発生頻度の増加が認められた。肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度で評価した場合、1000 ppm 群の雄及び 300 ppm 以上投与群の雌で、統計学的に有意な差が認められた。

マウス発がん試験において増加した肝細胞腫瘍の発生に関しては、自然発生性の変異細胞に加え、代謝活性に伴う二次的酸化ストレスにより惹起された細胞壊死、再生を介

して出現した変異細胞に有利な環境を提供されたことにより腫瘍発生が促進されたものと解釈された。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄で WBC 増加等が、雌で肝比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 30 ppm（雄：4.2 mg/kg 体重/日、雌：5.2 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 44、74、76、78）

表 24 21 カ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
1000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・TG 減少、AST、ALT 増加 ・肝腫大、斑状化、褪色部増加、多発性腫瘍増加 ・脾萎縮、退色 ・肝卵円形細胞過形成増加、胆管増生、変異肝細胞巣 ・脾絶対重量減少、肝絶対・比重量増加 ・肝退色域増加 ・胸骨骨髓球過形成 ・大腿骨骨髓球過形成 ・肝洞内細胞数増加/単細胞壊死/色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・血漿中 TG 減少、WBC 増加 ・肝腫大、斑状化、褪色部増加、多発性腫瘍増加 ・脾萎縮、退色 ・肝卵円形細胞過形成増加、胆管増生、変異肝細胞巣 ・腎糸球体腎症、のう胞減少、膀胱白血球集簇増加 ・肺白血球集簇増加
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・T.Chol 減少、WBC 増加 ・肝細胞空胞化、肝肥大 ・脾萎縮/脾柱・間質明瞭化 ・副腎皮髄境界部色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・T.Chol 減少、AST、ALT 増加 ・肝細胞空胞化、肝肥大 ・脾萎縮/脾柱・間質明瞭化 ・副腎皮髄境界部色素沈着 ・肝比重量増加、肝洞内細胞数増加/単細胞壊死/色素沈着 ・副腎アミロイド沈着
30 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

表 25 肝細胞腫瘍の発生頻度

性別	雄				雌			
	0	30	300	1000	0	30	300	1000
投与群 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
検査動物数	62	63	63	62	62	63	63	63
肝細胞腺腫	11	17	16	35**	0	1	4*	50**
肝細胞癌	4	4	7	7	0	1	0	20**
肝細胞腫瘍 (合計)	13	17	19	38**	0	2	4*	52**

Fisher の直接確率計算法、** : p<0.001、* : p<0.05

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 24 匹）を用いた混餌（原体④：0、30、150 及び 750 ppm：平均検体摂取量は表 26 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 26 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群			30 ppm	150 ppm	750ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	1.73	8.49	43.2
		雌	2.54	12.9	63.2
	F ₁ 世代	雄	1.81	9.05	45.7
		雌	2.51	12.7	62.1

各投与群で認められた毒性所見は表 27 に示されている。

本試験において、親動物では 750 ppm 投与群の雌雄で低体重等が、児動物では F₁ 雌雄で脾比重量増加が、F₂ 雌雄で生存児体重減少等が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄とも 150ppm (P 雄：8.49mg/kg 体重/日、P 雌：12.9 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：9.05 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：12.7 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 47、78)

表 27 2 世代繁殖試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	親：P、児：F ₁		親：F ₁ 、児：F ₂		
	雄	雌	雄	雌	
親動物	750 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・肝比重量増加 ・小葉中心性肝細胞脂肪増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・肝、卵巣絶対・比重量増加 ・小葉性肝細胞肥大 ・発情周期延長、妊娠期間延長、分娩時死亡、出産率低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・脳、下垂体、腎絶対重量減少 ・精嚢比重量増加 ・小葉中心性肝細胞脂肪増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・脳、腎絶対重量減少 ・肝比重量、卵巣絶対・比重量増加 ・小葉性肝細胞肥大 ・脾うっ血増加 ・分娩時死亡、出産率低下
	150 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	750 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・脾比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・脾比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・死産児数増加、生存児体重減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・死産児数増加、生存児体重減少 ・脾比重量増加
	150 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 22 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体④ : 0、1、4、16 及び 64 mg/kg 体重/日、1%MC 水溶液に懸濁) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では 64 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少、体重増加抑制、補正体重減少、妊娠子宮重量減少、着床後胚死亡率増加、吸収胚数増加、生存胎児数減少、同腹児重量減少、低胎児体重が認められた。16 mg/kg 体重/日以上投与群で胎盤重量増加が認められた。

胎児では 64 mg/kg 投与群で、心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔、肋骨変異及び、胸骨分節不完全骨化の発生頻度の増加が認められた。

母動物の 16 mg/kg 体重/日投与群で認められた胎盤重量の増加は、対照群との比較で 5%増とわずかであり、剖検時の肉眼所見及び他の検査項目の異常が検出されなかったため、有害影響とは判断されなかった。

本試験において、64 mg/kg 体重/日投与群の母動物で生存胎児数減少等が、胎児で肋骨変異等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 16 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 48、78)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ) ①

NZW ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体⑤ : 0、5、10、20 及び 40 mg/kg 体重/日、0.5%CMC 水溶液に懸濁) 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/日投与群で体重増加抑制、Hb、Ht 及び MCV 減少、PLT 増加、血清中 ALP 増加が認められた。

胎児では 40 mg/kg 体重/日投与群で死亡・吸収胚率増加が認められた。

本試験において、40 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制等が、胎児で死亡・吸収胚率増加が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 20 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 (ウサギ、予備試験) ②

NZW ウサギ (一群雌 6 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体⑥、⑦ : 0、10、28 及び 80 mg/kg 体重/日、⑧ : 0、10、20 及び 40 mg/kg 体重/日、1%MC 水溶液に懸濁) 投与して発生毒性試験 (予備試験) が実施された。

1) 原体⑥

母動物では 80 mg/kg 体重/日投与群で体重減少、食欲不振、排糞減少が、28 mg/kg 体重/日以上投与群で耳介温度低下が観察された。

胎児では 80 mg/kg 体重/日投与群で流産増加、同腹児総体重及び平均胎児体重の低値、28 mg/kg 体重/日投与群で同腹児数減少、胚・胎児死亡が認められた。

2) 原体⑦

母動物では 80 mg/kg 体重/日投与群で体重減少、食欲不振、排糞減少が、28 mg/kg 体重/日以上投与群で耳介温度低下が観察された。

胎児では 80 mg/kg 体重/日投与群で胚吸収、流産、同腹児数減少、同腹児総体重の低値が認められた。

ると考えられた。(参照 53)

1.3. 遺伝毒性試験

メトコナゾール (原体①) 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卵巣由来細胞 (CHO) を用いた *in vitro* 染色体異常試験及びメトコナゾール (原体②) のラット肝初代培養肝細胞を用いた *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。結果は表 28 に示されている。

チャイニーズハムスターCHO 培養細胞において S9mix 存在下で弱い染色体の構造異常誘発性が認められたが、細菌を用いる復帰突然変異試験、小核試験を含め、その他の試験はすべて陰性であった。

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験での陽性結果は最高用量のみでわずかな上昇を認めたものであり、また、一段階低い用量では陰性対照との差は無くなっており、毒性学的な意義が疑われる程度のものであった。さらに、同じ指標を *in vivo* で試験するマウスを用いた小核試験においては、ガイドラインで規定されている最高用量(2000 mg/kg)まで試験がなされており、陰性の結果であった。さらに、ラットの肝臓を用い、遺伝毒性の初期過程である DNA 損傷性を検討する不定期 DNA 合成試験においても限界用量まで試験されており陰性の結果であった。以上を総合的に判断すると、生体におい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 54~57、78)

表 28 遺伝毒性試験結果概要 (原体①及び②)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
原体①	<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 <i>S.typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA/pKM101 株)	31.3~5000 µg/プレート (+/-S9)	陰性	
		染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO)	1.56~5.0 µg/プレート (-S9) 6.25~35.0 µg/プレート (+S9)	陽性 (+S9)
原体②	<i>in vivo/in vitro</i>	不定期 DNA 合成試験	SD ラット肝細胞 (一群雄 3 匹)	400、1000、2000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス骨髄細胞 (一群雌雄各 5 匹)	400、1000、2000 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

メトコナゾールの代謝物 M1、M12、M34、M35 の細菌を用いた復帰突然変異試験は、すべて陰性であった。(表 29) (参照 58~61、78)

表 29 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	処理濃度	結果
代謝物 M1	復帰突然 変異試験	<i>S.typhimurium</i> (TA100、TA98、 TA1535、TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	15~5000 µg/プレート(+/-S9)	陰性
代謝物 M12			15~5000 µg/プレート(+/-S9)	陰性
代謝物 M34			15~5000 µg/プレート(+/-S9)	陰性
代謝物 M35			156~5000 µg/プレート(+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

1.4. その他の毒性試験

(1) 急性毒性試験 (ラット・異性体間比較)

メトコナゾール(*cis* 96.9%、*trans*<0.1% (以下「*cis* (ラセミ体)」という))、メトコナゾール (*cis* 0.3%、*trans* 99.7% (以下「*trans*(ラセミ体)」という)) 及びメトコナゾール ((-)*cis* 91% (以下「(-)*cis*」という)) をそれぞれ 300、600、900 mg/kg 体重の用量でコーン油に懸濁し Fischer ラット (一群雄 3 匹) に経口投与し急性毒性試験が実施された。死亡例の認められなかった最高投与量が、*trans* (ラセミ体) で 300 mg/kg 体重、*cis* (ラセミ体) で 600 mg/kg 体重及び (-) *cis* で 900mg/kg 体重の順であったことから、3 種の被験物質の急性経口毒性は毒性の強い順に、*trans* (ラセミ体) > *cis* (ラセミ体) > *cis* (-) とランク付けされた。(参照 62)

(2) 90 日間亜急性眼毒性試験 (カニクイザル)

カニクイザル (一群雌 3 匹) を用いた経鼻胃内 (原体④ : 25mg/kg 体重/日) 投与による 90 日間亜急性眼毒性試験が実施された。

全例に被験物質投与に起因すると考えられる変化は見られなかった。(参照 63)

(3) ラットの妊娠後期における血清中ステロイドホルモン濃度及び肝薬物代謝酵素含量の測定

SD ラット (一群雌各 24 匹) に交配前 3 週間、交配期 1 週間、妊娠期 3 週間からなる 7 週間、混餌 [原体④ : 0、30、150 及び 750 ppm (0、1.82、8.89 及び 43.0 mg/kg 体重/日に相当)] 投与し、血清中ステロイドホルモン濃度及び肝薬物代謝酵素含量測定が実施された。ラットの 2 世代繁殖試験で観察された妊娠期間の延長及び分娩時死亡発現の機序を明らかにすることを目的とした。

750 ppm 投与群で、平均黄体数、平均着床数、平均生存胎児数の減少、平均胚・胎児死亡率増加、17β-エストラジオール濃度減少、及び妊娠 19/20 日における 17β-エストラジオール濃度/プロゲステロン濃度比 (E/P 比) 減少、PCNA 陽性黄体細胞頻度増加が、150 ppm 以上投与群で、肝ミクロソーム蛋白増加、CYP 増加が認められた。

CYP3A2 増加により 17β-エストラジオールが代謝を受け、濃度低下の原因の一つとなったと考えられた。また、PCNA 陽性黄体細胞頻度増加により、妊娠 19/20 日においてもプロゲステロン産生能が残されており、E/P 比上昇が抑制され、分娩の発来遅延や娩出困難が引き起こされ、妊娠期間の延長と分娩時死亡が発現したと考えられた。

本試験における無毒性量は 150 ppm(8.89 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照