

mg/kg、最終散布 14 日後で 6.04 mg/kg であった。収穫期の残留放射能は、洗浄液から 77.0%TRR、抽出液に 14.7%TRR、残渣に 8.3%TRR が検出された。

tri-¹⁴C・アミスルブロム散布区の収穫期の茎葉の残留放射能 (6.04 mg/kg) のうち 77.8%TRR (4.70 mg/kg) をアミスルブロムが占め、代謝物として B、C、D、G、H、I が 0.1~1.5%TRR 検出されたほか、未同定代謝物群が最大 3.4%TRR 検出された。

ind-¹⁴C・アミスルブロムを散布した収穫期の茎葉及び tri-¹⁴C・アミスルブロム散布区の収穫期の茎葉抽出液の水溶性画分には、それぞれ 2.3%TRR 及び 6.4%TRR の放射能が含まれ、未同定の 4~6 成分が分離された。残渣中の残留放射能をソックスレー抽出、酸あるいはアルカリ加水分解、酵素加水分解することにより大半の放射能が可溶化し、0.5~1.2%TRR が抽出できなかった。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布したばれいしょの塊茎中の残留放射能は、それぞれ 0.005~0.008 mg/kg 及び 0.013~0.022 mg/kg であった。ind-¹⁴C・アミスルブロムを散布したばれいしょの塊茎中の残留放射能は極めて低かったのでこれ以上の分析を実施しなかった。

tri-¹⁴C・アミスルブロム散布区の収穫期塊茎より 82.2%TRR が抽出されたが、60.1%TRR が水溶性画分に存在した。この画分には極性の高い 4 つの成分が分離された。茎葉に散布されたアミスルブロムのトリアゾール環部分が分解代謝されて植物成分中に取り込まれたことを示している。これらの成分は、クロマトグラム上で糖類とは異なる挙動をし、第 1 級アミンの誘導化試薬 (Fmoc) と反応せず、トリアゾールアラニンやトリアゾール酢酸に似た挙動をするが、クロマトグラム上で一致はしなかった。また、LC/MS 分析で想定代謝物と一致するピークを検出することはできなかった。非抽出成分 24.9%TRR (0.005 mg/kg) から分離したでん粉中から 3.1%TRR の放射能が検出された。非抽出成分からは、ソックスレー抽出、酸あるいはアルカリ加水分解、酵素加水分解などにより可溶化した放射性成分から有機溶媒に抽出される成分はなかった。(参照 6)

(3) トマト

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを含む 20%フロアブル製剤を水で希釈してプラスチックトンネル内のポット栽培トマト (品種: Moneymaker) に散布し、植物体内運命試験が実施された。1 回の散布量は 120 g ai/ha (散布濃度 120 ppm) で、7 日間隔で 3 回散布した。最終散布直後及び最終散布から 3 日後に果実を、7 日後 (収穫期) に果実及び葉を採取した。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布した果実の残留放射能濃度は、アミスルブロム換算で最終散布当日にそれぞれ 0.300 mg/kg 及び 0.302 mg/kg であり、7 日後にそれぞれ 0.241 mg/kg 及び 0.182 mg/kg に減少した。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布した収穫期トマト果実の残留放射能は 91.5~92.0%TRR が表面洗浄液中に、6.0~6.6%TRR が洗浄後の抽出液中に、1.4~2.5%TRR が残渣中に分布した。収穫期の果実中の残留放射能の化学形態は、親化合物が 91.3~91.9%TRR を占めた。代謝物としてスルホニル架橋を維持しているものとして B、C、D、F、G、H 及び I、スルホニル架橋が開裂した代謝物と

して L 及び M、その他未同定の 10 種類以上の代謝物が検出されたが、いずれも <0.05%TRR (<0.0005 mg/kg) ~1.1%TRR (0.003 mg/kg) であった。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布した茎葉の残留放射能濃度は、アミスルブロム換算で最終散布当日にそれぞれ 4.91 mg/kg 及び 5.04 mg/kg であった。

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを散布したトマト茎葉の残留放射能は 85.3~88.1%TRR が表面洗浄液中に、8.1~8.9%TRR が洗浄後の抽出液中に、3.8~5.8%TRR が残渣中に分布した。収穫期の果実中の残留放射能の化学形態は、アミスルブロムが 86.3~90.1%TRR を占めた。代謝物としてスルホニル架橋を維持しているものとして B、C、D、F、G、H 及び I、スルホニル架橋が開裂した代謝物として L 及び M、その他未同定の 10 種類以上の代謝物が検出されたが、いずれも <0.05%TRR (≤0.0005 mg/kg) から 1.1%TRR (0.066 mg/kg) であった。

アミスルブロムの植物における主代謝経路は、①トリアゾール環のスルホニルアミノ基の脱離、②脱臭素、③酸化/水酸化、④インドール環及びトリアゾール環のスルホニル架橋の開裂、⑤インドール環の開裂であり、多数の代謝物が生成した。(参照 7)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験

森林土壌(砂壤土：米国ノースダコタ州)を用いてアミスルブロムの好氣的土壌中運命試験を実施した。試験土壌をガラス容器に取り、土壌の水分を圃場含水量(0.33 バール)の 75%に調整した。この土壌の表面に ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを 0.5 mg/kg (乾土換算)の用量で均一に添加し、25±2°Cの暗所で 365 日間インキュベートした。

アミスルブロムの試験土壌における放射能濃度は 365 日後に 1.8%TAR に減少した。ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロム処理土壌中で分解物 D が、31 日後に最大 30.8~33.3%TAR に達し、365 日後に 10.9~14.2%TAR に減衰した。E は、273 日後に最大 4.9~5.7%TAR に達した後、365 日後にやや減衰して 4.7~5.0%TAR となった。K は 365 日後に 7.7~8.2%TAR に達した。その他、B、F、G、H、I の生成量は 5%TAR 以下であった。極性分解物及び 4 個の未同定分解物を検出したが、その生成量は 1.2%TAR 以下であった。

365 日間の累積二酸化炭素発生量は、ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムで異なり、それぞれ 3.4%TAR 及び 0.6%TAR であった。

土壌から抽出された放射能は時間の経過とともに減少し、結合性残留放射能が増加して 365 日後には ind-¹⁴C・アミスルブロムで 69.4%TAR、tri-¹⁴C・アミスルブロムで 54.8%TAR となった。

アミスルブロムの推定半減期及び 90%減衰期はそれぞれ 17 日及び 56 日であり、D のそれらはそれぞれ 34 日及び 114 日であった。

アミスルブロムの主要分解経路は、トリアゾール環上のスルホニルアミノ側鎖の開裂による D の生成であった。それに加え、脱臭素、酸化、メチル化及びインドール環の開裂等の反応の組み合わせの結果、その他の低濃度分解物が生成した。(参照 8)

(2) 土壌表面光分解試験

ind-¹⁴C・アミスルブロム又は tri-¹⁴C・アミスルブロムを使用し、砂壤土（米国ノースダコタ州）における土壌表面光分試験が実施された。土壌 5 g（乾土換算）をガラス製シャーレに入れ、土壌水分を調節し（最大容水量の 24.9%に相当）、ind-¹⁴C・アミスルブロム又は tri-¹⁴C・アミスルブロムのアセトニトリル溶液の 500 g ai/ha 相当量を均一に処理した。照射区用試料には、キセノンランプ（光強度：425 W/m²、測定波長：290～800 nm）の光を 25±2°Cで 15 日間照射した。

ind-¹⁴C・アミスルブロム又は tri-¹⁴C・アミスルブロムを添加した土壌中のアミスルブロムは、処理直後にはそれぞれ 93.9%TAR (0.505 mg/kg) 及び 93.8%TAR (0.505 mg/kg) が回収され、分解物 D は処理 15 日後に照射区で最大 21.4~30.7%TAR、暗所で 33.0~35.9%TAR に達した。その他、照射区から B、E、G、I、Q 及び数種類の未知分解物、暗所区から B、E、G、I、K 及び 2 種類の未知分解物が検出されたが、生成量はいずれも 10%TAR 未満であった。照射によって G 及び I の生成率が若干高くなった。

アミスルブロムの推定半減期は、照射区で 12.5 日、暗所区で 10.9 日であり、光照射による消失速度への影響は小さかった。

分解物 D の生成は光分解に起因しないことが示唆された。光分解経路は脱臭素、酸化/水酸化、インドール環の開裂及び両環の開裂であった。これらの代謝物の更なる分解の結果、フルボ酸、腐植酸及びヒューミン画分への結合、そして少量（15 日間の累積で 1.2~2.0%）の二酸化炭素が発生した。（参照 9）

(3) 土壌吸着試験（アミスルブロム）

アミスルブロムの土壌吸着試験が 5 種類の土壌 [砂壤土（米国）、壤土（日本）、壤質砂土（英国）、埴壤土（英国）、埴土（スペイン）] を用いて実施された。

Freundlich の吸着温等式による吸着係数は $K^{ads}=147\sim378$ 、有機炭素含量による補正吸着係数は $Koc=8160\sim44200$ であった。アミスルブロムは 5 種類全ての土壌において非移動性と判断された。（参照 10）

(4) 土壌吸着試験（土壌中分解物 D）

土壌中分解物 D の土壌吸着試験が 4 種類の土壌 [埴壤土（英国）、砂壤土（米国）、壤土（日本）、壤質砂土（英国）] を用いて実施された。

Freundlich の吸着温等式による吸着係数は $K^{ads}=25.5\sim108$ 、有機炭素含量による補正吸着係数は $Koc=821\sim11400$ であった。移動性区分は低移動性～非移動性であった。（参照 11）

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

ind-¹⁴C・アミスルブロムまたは tri-¹⁴C・アミスルブロムを pH4 (0.01M 酢酸緩衝液)、7 (0.01M ホウ酸緩衝液) 及び 9 (0.01M ホウ酸緩衝液) の緩衝液に溶解して 50 µg/L

の溶液を調製した。この溶液を 25℃の暗所で、30 日間 (pH9 においては 20 日間) にわたり加水分解試験が実施された。

30 日後の pH4 及び 7 の緩衝液、20 日後の pH9 の緩衝液におけるアミスルブロムの残存率は、ind-¹⁴C-アミスルブロムにおいてはそれぞれ 75.3、69.9 及び 5.9% TAR であり、tri-¹⁴C-アミスルブロムにおいてはそれぞれ 72.6、75.0 及び 6.9% TAR であった。アミスルブロムの推定半減期は pH4、7 及び 9 の緩衝液において、それぞれ 78.5 日、76.5 日及び 5.0 日であった。pH4 及び 7 における主要分解物は D であった。pH9 において 10%以上検出された分解物は D、L 及び Q であった。以上の結果、pH4 及び 7 ではトリアゾール環側鎖の開裂による D の生成が主要であり、pH が 7 及び 9 では D の生成に加え、インドール環とトリアゾール環の間のスルホニル結合の開裂 (L 及び Q の生成)が生じた。pH9 では L 及び Q の生成速度は D の生成速度よりも高くなり、アミスルブロムの推定半減期が pH4 及び 7 に比べると著しく短くなった。(参照 12)

(2) 水中光分解試験 (滅菌緩衝液)

ind-¹⁴C-アミスルブロム及び tri-¹⁴C-アミスルブロムを pH4 (0.01M 酢酸緩衝液) の滅菌緩衝液に溶解して 50 µg/L とし、25±2℃でキセノンランプ (光強度: 425 W/m²、測定波長: 290~800 nm) を 48 時間照射した。

滅菌緩衝液中において、アミスルブロムは光照射時間の経過とともに速やかに減少し、照射 48 時間後には検出されなかった。10% TAR 以上の主要な分解物として M、O、P、U 及び Q が検出された。M は照射 48 時間後に 52.2% TAR に増加した。O は照射 48 時間後に 19.6% TAR に増加した。P は照射 6 時間後に 21.3% TAR に増加し、48 時間後には 2.8% TAR に減少した。U は照射 6 時間後に 26.8% TAR に増加し、48 時間後には 3.7% TAR に減少した。Q は照射 48 時間後に 67.1% TAR に増加した。少量の分解物として I、J、L、S、T 及び少なくとも 6 個の未知分解物が検出された。二酸化炭素の 48 時間の累積発生量は ind-¹⁴C-アミスルブロムの場合 4.5% TAR、tri-¹⁴C-アミスルブロムの場合 0.4% TAR であった。一方、暗所ではアミスルブロムは安定であり、分解物は検出されなかった。

以上より、アミスルブロムの光分解により、脱臭素と酸化/水酸化による I の生成、転位による J の生成、2 種類の環の間の開裂による置換インドール及び置換トリアゾール系化合物の生成が認められた。L は酸化/水酸化及び二量化により P を生成したほか、インドール環が開裂して M 及び O を生成した。また、トリアゾール環上の側鎖は転位や脱離を受け、U 及び Q を経由して S と T が生成し、これらはさらに分解されて極性物質及び二酸化炭素を生成した。

以上の結果から算出したアミスルブロム、P 及び U の推定半減期はそれぞれ 6.1 時間、14.1 時間及び 14.6 時間であり、90% 減衰期はそれぞれ 20.4 時間、46.8 時間及び 48.5 時間であった。また、自然太陽光 (北緯 35°、春) 換算値による半減期はそれぞれ 26.2 時間、60.6 時間及び 62.8 時間と推定された。(参照 13)

(3) 水中光分解試験 (滅菌自然水)

ind-¹⁴C・アミスルブロム及び tri-¹⁴C・アミスルブロムを滅菌自然水（小貝川河川水）に溶解して 50 µg/L 溶液を調製した。この溶液に 25 ± 2°C でキセノンランプ（光強度：425 W/m²、測定波長：290~800 nm）の光を 48 時間照射した。

滅菌自然水中において、アミスルブロムは光照射時間の経過とともに速やかに減少し、照射 48 時間後には検出されなかった。10% TAR 以上の主要な分解物として M、Q、S 及び T が検出された。M は照射 24 時間後に 51.7% TAR に増加し、次いで 48 時間後には 44.0% TAR に減少した。Q は照射 9 時間後に 22.8% TAR に増加し、48 時間後には 13.3% TAR に減少した。S は照射 48 時間後に 50.6% TAR に増加した。T は照射 24 時間後に 15.2% TAR に増加し、48 時間後には 12.8% TAR に減少した。その他の分解物として、D、I、J、L、N、R 及び少なくとも 3 個の未知分解物が検出された。二酸化炭素の 48 時間の累積発生量は ind-¹⁴C・アミスルブロムの場合 2.9% TAR、tri-¹⁴C・アミスルブロムの場合 0.1% TAR であった。暗所下ではアミスルブロムが分解し、分解物として D、I、L、Q 及び S（いずれも 6% TAR 未満）が検出された。

アミスルブロムへの光照射により、主に 2 種類の環の間の開裂による L 及び Q が生成した。また、インドール環の脱臭素と酸化/水酸化により I が、トリアゾール環の分子内転位により J が、スルファモイル基が脱離して D が生成した。L は I-5（推定される分解物）を経由して M へ変換された。M は加水分解反応により N へ変換された。Q はスルホニル基あるいはスルファモイル基の脱離により、R、S 及び T へ変換された。最終的にはいずれの分解物も極性化合物及び二酸化炭素へ変換された。

アミスルブロム、M、Q 及び T の推定半減期は、それぞれ 4.7 時間、103 時間、52.3 時間及び 97.8 時間であり、自然太陽光（北緯 35°、春）の換算値による半減期は、それぞれ 20.2 時間、442 時間、225 時間及び 420 時間であった。（参照 14）

5. 土壌残留試験

火山灰・埴土（茨城）、沖積・埴壤土（高知）及び沖積・砂壤土（埼玉）を用いて、アミスルブロム及び分解物 D を分析対象とした土壌残留試験（容器内及び圃場試験）が実施された。

推定半減期は表 12 に示されており、アミスルブロムとして容器内では 7.3~78.0 日、圃場では 24.5~28.2 日、アミスルブロムと分解物 D の含量として容器内では 23.4~210 日、圃場では 32.6~43.8 日であった。（参照 15）

表 12 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	アミスルブロム	アミスルブロム +分解物D
容器内試験	0.27 mg/kg	火山灰・埴土	32.6 日	146 日
		沖積・埴壤土	78.0 日	210 日
	1.4 mg/kg	沖積・砂壤土	7.3 日	23.4 日
圃場試験	531 g ai/ha	火山灰・埴土	28.2 日	43.8 日

		沖積・埴壌土	24.5 日	32.6 日
--	--	--------	--------	--------

* : 容器内試験で原体、圃場試験で 17.7%フロアブル剤を使用

6. 作物残留試験

野菜及び果実等を用いて、アミスルブロムを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。分析は含水アセトニトリルで抽出した試料を精製後、UV 検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC/UV) を用いて定量するものであった。

結果は表 13 に示されている。アミスルブロムの最高値は、ぶどう (小粒種) の最終散布 21 日後における 1.21 mg/kg であった。(参照 16)

表13 作物残留試験成績

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年	試験 圃場数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)	
					アミスルブロム	
					最高値	平均値
ばれいしょ (露地) (塊茎) 2003 年	2	133- 221	4	3	<0.01	<0.01
				7	<0.01	<0.01
				14	<0.01	<0.01
だいず (露地) (乾燥子実) 2004 年	2	133- 266	3	3	0.10	0.07
				7	0.08	0.04
				14	0.03	0.02*
トマト (施設) (果実) 2003 年	2	266	4	1	0.42	0.34
				7	0.39	0.28
				14	0.22	0.17
ミニトマト (施設) (果実) 2004 年	2	266	4	1	0.67	0.50
				7	0.65	0.42
				4	0.29	0.28
きゅうり (施設) (果実) 2004 年	2	133- 266	4	1	0.22	0.18
				3	0.16	0.14*
				7	0.04	0.03
メロン (露地) (果実) 2004 年	2	375- 700	4	1	<0.01	<0.01
				3	<0.01	<0.01
				7	<0.01	<0.01
ぶどう 大粒種 (施設) (果実) 2003 年	1	177	3	14	0.36	0.29
				21	0.23	0.20
				28	0.25	0.21
				42	0.11	0.11
ぶどう 小粒種 (施設) (果実) 2004 年	1	207	3	14	0.83	0.77
				21	1.21	1.10
				28	1.14	0.91
				60	0.35	0.33

- 注) ・ 散布には25%フロアブル剤を使用した。
 ・ 一部に定量限界未満を含むデータの平均を計算する場合は定量限界値を検出したものとして計算し、*印を付した。

・全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界値の平均に<を付して記載した。

表 13 の作物残留試験の分析値を用いて、アミスルブロムを暴露評価対象化合物として農産物から摂取される推定摂取量が表 14 に示されている（別紙 3 参照）。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からアミスルブロムが最大の残留を示す使用条件で、全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定のもとに行った。

表 14 食品中より摂取されるアミスルブロムの推定摂取量

	国民平均 (体重：53.3kg)	小児（1~6歳） (体重：15.8kg)	妊婦 (体重：55.6kg)	高齢者(65歳以上) (体重：54.2kg)
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	22.2	14.9	17.5	18.0

7. 一般薬理試験

ラット及びイヌを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 15 に示されている。（参照 17）

表 15 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)	無作用量 mg/kg 体重	作用量 mg/kg 体重	結果の概要
中枢 神経系	一般状態 (Irwin 法)	ラット	雄 5	0, 200, 600, 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
呼吸・ 循環器系	呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図	イヌ	雄 3*	0, 200, 600, 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし

*：最初に 0 及び 200 mg/kg 体重投与群の検査を実施した後、1 週間以上の休薬期間を設けて、同じ動物を 600 及び 2000 mg/kg 体重投与群として使用した。

8. 急性毒性試験

アミスルブロムのラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験及び急性吸入毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 16 に示されている。（参照 18~20）

表 16 急性毒性試験概要（原体）

投与 経路	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	

経口	SD ラット 雌雄各 3 匹	>5000	>5000	死亡例及び症状なし
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	>5000	死亡例及び症状なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		雌雄：過呼吸、鼻/顎周囲の汚れ (褐色)
		>2.85	>2.85	

土壤中主要分解物 D 及び植物固有代謝物 G のラット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 17 に示されている。(参照 21、22)

表 17 急性毒性試験概要 (代謝物)

投与経路	化合物	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	観察された症状
経口	分解物 D	Wistar ラット 雌各 3 匹	雌：50~300	50 で全動物生存、300 で全動物死亡、死亡例のみ軟便、腹側部陥凹、運動失調、呼吸困難
経口	代謝物 G	Wistar ラット 雌各 6 匹	雌：>2000	1 匹に嗜眠及び円背位

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW 雄ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、皮膚刺激性は認められなかったが、軽度の眼刺激性が認められた。(参照 23、24)

Hartley 雌モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された。その結果、皮膚感作性は陰性であった。(参照 25)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体：0、2000、6300 及び 20000 ppm：平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 18 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		2000 ppm	6300 ppm	20000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	171	525	1720
	雌	187	587	1880

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

眼科学的検査において、20000 ppm 投与群の雄でゴースト血管の発生数が増加したが、ゴースト血管は血管新生の名残であり、毒性学的意義はないと判断された。

血液学的検査において雄で認められた Hb 及び MCHC の低下及び雌で認められた

WBC及びLymの増加、血液生化学的検査において雄で認められたナトリウム、塩素、カルシウムの減少、A/G比の増加、雌で認められた塩素の増加については、その変化が軽微であり、用量あるいは雌雄間で一貫性が認められなかったことから、検体投与による影響ではないと判断された。リンについては、20000 ppm 投与群雌雄の他に、2000 及び 6300 ppm 投与群の雌においても増加したが、用量相関性もないことから検体投与による影響ではないと判断された。

臓器重量測定において、6300 及び 20000 ppm 投与群の雌で、肝比重量¹が増加した。しかし、血液生化学的及び病理組織学的検査等においては肝毒性を示唆する変化が認められないため、これらの変化は検体投与による毒性影響ではないと考えられた。

本試験において、6300 ppm 以上投与群の雄及び 20000 ppm 投与群の雌で、体重増加抑制、摂餌量減少等が認められたことから、無毒性量は雄で 2000 ppm (171 mg/kg 体重/日)、雌で 6300 ppm (587 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 26)

表 19 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ PLT 増加 ・ ALP、AST、GGT、URE、リン増加、TP 低下 ・ 肝比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大、下顎リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食、腸間膜リンパ節洞血球増加/赤血球貪食 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少、食餌効率低下 ・ PLT 増加 ・ TG 低下、リン増加、URE 増加
6300 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 	6300 ppm 以下毒性所見なし
2000 ppm	毒性所見なし	

(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) を用いたカプセル経口 (原体: 0、100、300 及び 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毒性所見は表 20 に示されている。

血液生化学的検査において、投与 6 週に全投与群の雌雄で T.Bil が有意に増加した。しかし、対照群を含む全動物が背景データを超える異常な高値を示しており、RBC 及び尿中ビリルビンには影響がなかったこと、投与 13 週に同様の変化が認められなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。その他の血液生化学的検査項目及び血液学的検査項目において有意な変化が認められたが、いずれの変化も軽微であり、用量あるいは雌雄間で一貫性が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと判断された。

¹ : 体重比重量のことを比重量という (以下同じ)。

尿検査において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雌で尿量の有意な減少が投与 6 及び 13 週に認められたが、投与開始前の傾向を反映しており、検体投与の影響ではないと判断された。

本試験において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 300 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 28)

表 20 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少(投与4週まで) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少(投与4週まで) ・ ALP 増加
300 mg/kg 体重/日 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 21 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット (1 群雌雄各 10 匹) を用いた経皮 (原体 : 0、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日) 投与 (1 日 1 回 6 時間、閉塞貼付) による 21 日間亜急性経皮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 21 に示されている。

血液学的及び血液生化学的検査において、いくつかの項目で統計学的に有意な変化が認められたが、いずれの変化も軽微であり、用量あるいは雌雄間で一貫性が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと判断された。

病理組織学的検査において、300 mg/kg 体重/日投与群雌及び 1000 mg/kg 体重/日投与群雌雄の投与部位の表皮過形成の程度の増強が認められたが、検体投与方法に起因した物理的刺激による変化と考えられ、毒性学的意義はないと判断された。

本試験において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雄において体重増加抑制及び食餌効率の減少が認められ、雌では検体投与の影響は認められなかったことから、無毒性量は雄で 300 mg/kg 体重/日、雌で 1000 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 29)

表 21 ラット 21 日間亜急性経皮毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 食餌効率減少 	・ 毒性所見なし
300 mg/kg 体重/日 以下	・ 毒性所見なし	

1 1. 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）を用いたカプセル経口（原体：0、10、100、300 及び 1000 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 22 に示されている。

一般症状において、液状便が 1000 mg/kg 体重/日投与群雌雄で投与期間を通じて認められ、300 mg/kg 体重/日投与群においても断続的に認められた。しかし、本所見に関連した消化器の病理組織学的変化（炎症等）が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

体重増加量においては、雄の 100 mg/kg 体重/日以上投与群及び雌の 1000 mg/kg 体重/日投与群で投与 0～4 週、雌の 100 mg/kg 体重/日以上投与群の 0～13 週で有意な低値が認められた。

血液学的、血液生化学的検査（TP 及び Alb 以外）、尿検査において、いくつかの項目に有意な変化がみられたが、それらの変化は軽微であり、投与前と同様の傾向を示すか、用量、雌雄あるいは検査時期で一貫性が認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

臓器重量測定において、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群の雄で、副腎の比重量が有意に増加した。この変化は、300 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群では病理組織学的検査で認められた皮質細胞肥大と関連していたが、100 mg/kg 体重/日投与群では関連する病理組織学的変化は認められないため、同群における副腎比重量増加には毒性学的意義はないと判断された。

剖検において、食道の退色が 300 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群の雄で認められたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。雌雄の投与群で、胸腺の小型化が認められ、病理組織学的検査で認められた退縮/萎縮の程度と関連していた。

本試験において、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で体重増加抑制が認められたことから、無毒性量は雌雄ともに 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 30）

表 22 イヌ 1 年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少 ・ TP 低下、Alb 低下 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ TP 低下、Alb 低下
300 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 副腎比重量増加 ・ 副腎皮質細胞肥大(2 匹) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少 (1-4 週)(有意差は 1000 mg/kg 体重/日投与群のみ)
100 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制
10 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 70 匹：発がん性群一群雌雄各 50 匹、慢性毒性群一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、200（慢性毒性群のみ）、2000、10000 及び 20000 ppm：平均検体摂取量は表 23 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 23 ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群		200 ppm	2000 ppm	10000 ppm	20000 ppm
慢性毒性群 (1-52 週)	雄	11.1	112	568	1160
	雌	14.3	147	753	1500
発がん性群 (1-104 週)	雄	—	96.0	496	1000
	雌	—	129	697	1440

各投与群で認められた毒性所見は表 24 に示されている。

発がん性群において、最後の 13 週に 10000 及び 20000 ppm 投与群の雌で死亡が増加し、20000 ppm 投与群では生存率が有意に低下した。

血液学的検査では、検体投与の影響は認められなかった。

血液生化学的検査において、URE、Cre、Glu、T.Chol 及び TG に統計学的に有意な変動が認められたが、いずれの個体値も背景データの範囲内にあり、用量関連性ないし検査時期間での一貫性が認められなかったことから、検体投与の影響ではないと判断した。

尿検査において、尿量が 20000 ppm 投与群雄で投与 12 週に低下し、投与 51 週に雌の投与群で低下した。これらの変化は、軽度で用量相関性のない変化であり、実施機関の背景データの範囲内の変動であったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査の結果、前胃の扁平上皮癌が 20000 ppm 投与群雌 1 匹で、扁平上皮乳頭腫が 10000 ppm 投与群雌 1 匹及び 20000 ppm 投与群雌 2 匹で認められた(表 25 参照)。10000 及び 20000 ppm 投与群の雌では、前胃に炎症性及び過形成性変化が認められており、前胃に認められた腫瘍は、慢性炎症性変化に起因すると考えられた。

非腫瘍性病変のうち、検体投与の影響と考えられる病変が、肝臓、腎臓、前胃、盲腸、十二指腸、甲状腺及び腸間膜リンパ節に認められた。

腎臓の皮質尿細管色素沈着が慢性毒性群及び発がん性群の雌雄で認められ、この色素はシュモール反応陽性であり、リポフスチンであることが証明された。

本試験において、2000 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制、肝比重量増加及び小葉中間帯肝細胞空胞化の増加等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 200 ppm (雄: 11.1 mg/kg 体重/日、雌: 14.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。10000 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞腺腫が増加し、10000 ppm 以上投与群の雌で前胃腫瘍が低頻度ながら発生した。(参照 32)

表 24 ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた毒性所見

投与群	試験群	雄	雌
20000	両群	・腎皮質尿細管色素沈着	・小葉中心性肝細胞肥大

ppm	慢性 毒性	<ul style="list-style-type: none"> ・肝外胆管拡張 ・肝門脈周囲炎症 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝外胆管拡張
	発がん 性	<ul style="list-style-type: none"> ・肝嚢胞 ・甲状腺濾胞細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・生存率低下 ・背部脱毛 ・肝小葉像明瞭化、骨格筋萎縮 ・甲状腺濾胞細胞肥大、甲状腺嚢胞状濾胞細胞過形成 ・子宮筋層萎縮、子宮筋層線維化 ・膾上皮粘液分泌低下 ・前胃扁平上皮癌
10000 ppm 以上	両群	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・食餌効率減少 ・小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率減少 ・肝比重量増加 ・腎比重量増加
	慢性 毒性	<ul style="list-style-type: none"> ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食、肥満細胞症 (有意差は20000ppmのみ) 	<ul style="list-style-type: none"> ・GGT 増加(26週時) ・尿 pH 上昇、尿蛋白増加 ・肝内胆管過形成 ・腎皮質尿細管好塩基性化(有意差は20000ppmのみ) ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食(有意差は20000ppmのみ)、肥満細胞症
	発がん 性	<ul style="list-style-type: none"> ・腹部脱毛 ・肝絶対重量増加 ・肝嚢胞性変性 ・腎皮質尿細管色素沈着、慢性腎症 (有意差は20000 ppmのみ)、皮質尿細管好塩基性化、腎乳頭鉍質沈着、尿円柱減少 ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食(有意差は20000ppmのみ)、肥満細胞症 ・肝細胞腺腫 	<ul style="list-style-type: none"> ・削瘦、立毛、円背位、過剰咀嚼、歯牙退色 ・肝絶対重量増加 ・腸間膜リンパ節うっ血、子宮非薄化 ・小葉中心性肝細胞肥大、小葉中間帯肝細胞空胞化 ・慢性腎症、腎乳頭鉍質沈着 ・腸間膜リンパ節洞赤血球増加/赤血球貪食、肥満細胞症(有意差は10000ppmのみ)、洞組織球症 ・前胃上皮過形成/角化亢進/潰瘍/粘膜下織炎症/粘膜下織浮腫(有意差は20000ppmのみ)、漿膜炎 ・前胃扁平上皮乳頭腫 ・盲腸粘膜下織浮腫(有意差は20000ppmのみ) ・角膜炎

			・肝細胞腺腫
2000 ppm 以上	両群	・体重増加抑制 ・肝比重量増加 ・肝内胆管過形成	・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・腎皮質尿細管色素沈着(リポフスチン)
	慢性毒性	・GGT 増加 ・尿 pH 上昇 ・腎比重量増加 ・小葉中間帯肝細胞空胞化	・肝比重量増加 ・小葉中間帯肝細胞空胞化 (有意差は 10000ppm 以上)
	発がん性	・小葉中心性肝細胞肥大	・肝内胆管過形成 ・腎皮質尿細管好塩基性化(2000 ppm 群のみ)
200 ppm	慢性毒性	毒性所見なし	毒性所見なし

表 25 ラットの 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験において認められた
肝臓及び前胃腫瘍発生数

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	2000	10000	20000	0	2000	10000	20000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肝・肝細胞 腺腫	最終と殺動物	0	2	9↑	12↑	0	1	16↑	10↑
	死亡動物	0	0	1	1	0	0	8↑	18↑
	全動物	0	2	10↑	13↑	0	1	24↑	28↑
肝・肝細胞 癌	最終と殺動物	0	0	1	0	0	0	2	1
	死亡動物	0	0	0	0	0	0	0	0
	全動物	0	0	1	0	0	0	2	1
前胃・扁平 上皮乳頭腫	最終と殺動物	0	0	0	0	0	0	0	0
	死亡動物	0	0	0	0	0	0	1	2
	全動物	0	0	0	0	0	0	1	2
前胃・扁平 上皮癌	最終と殺動物	0	0	0	0	0	0	0	1
	死亡動物	0	0	0	0	0	0	0	0
	全動物	0	0	0	0	0	0	0	1

Fisher 直接確率法、↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : 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 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100、800、4000 及び 8000 ppm: 平均検体摂取量は表 26 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 26 マウス 18 カ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	800 ppm	4000 ppm	8000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	11.6	97.8	494	1040
	雌	13.5	121	594	1260

各投与群で認められた毒性所見は表 27 に示されている。

非腫瘍性病変について、盲腸では、粘膜、粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁の細胞内色素沈着が、800 ppm 以上投与群の雌雄に認められた。この色素については、ヘモジデリン、リポフスチン、胆汁色素等が疑われ特殊染色を試みたが同定できなかった。

腫瘍性病変については、800 ppm 以上投与群の雄において、肝細胞腺腫の発生数が有意に増加した (表 28 参照)。

本試験において、800 ppm 以上投与群の雌雄で、盲腸粘膜、粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁細胞内色素沈着の増加等が認められたことから、無毒性量は、雌雄とも 100 ppm (雄 : 11.6 mg/kg 体重/日、雌 : 13.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 31)

表 27 マウス 18 カ月間発がん性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
8000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率低下 ・巣状肝細胞壊死 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制
4000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・腎皮質尿細管好塩基性化(有意差は 4000 ppm のみ)
800 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・盲腸粘膜細胞内色素沈着、盲腸粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁細胞内色素沈着(有意差は 4000 及び 8000 ppm) ・肝細胞腺腫 	<ul style="list-style-type: none"> ・盲腸粘膜細胞内色素沈着(有意差は 4000 ppm のみ)、盲腸粘膜下織及び粘膜下織細静脈壁細胞内色素沈着(有意差は 4000 及び 8000 ppm) ・腎血管周囲性リンパ球細胞集簇(有意差は 8000 ppm のみ)
100 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし 	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし

表 28 マウス 18 カ月間発がん性試験で認められた肝細胞腺腫の発生数

性別	雄					
	0	100	800	4000	8000	
投与群 (ppm)						
検査動物数	50	50	50	50	50	
肝細胞腺腫	78 週最終と殺動物	7	11	12	20 [↑]	17
	死亡動物	1	1	5 [↑]	3	1
	全動物	8	12	17 [↑]	23 [↑]	18 [↑]
	腫瘍数/匹	0.22	0.34	0.50	0.80	0.60

Fisher 直接確率法、[↑][↓] : p<0.05、^{↑↓} : p<0.01

12. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 28 匹（P 世代）または 24 匹（F₁ 世代））を用いた混餌（原体：0、120、600、3000 及び 15000 ppm：平均検体摂取量は表 29 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 29 ラット 2 世代繁殖試験における平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与群		120 ppm	600 ppm	3000 ppm	15000 ppm
P 世代	雄	9.8	48.5	240	1200
	雌	10.5	53.0	261	1290
F ₁ 世代	雄	11.7	59.0	307	1690
	雌	13.0	64.6	338	1810

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 30 に示されている。

親動物において P 世代では繁殖性に関する検査項目には検体投与の影響は認められなかったが、F₁ 世代の 15000 ppm 投与群において性周期延長、交尾率低下、卵巣萎縮、卵胞数減少、子宮筋層非薄化、子宮扁平上皮化生等が観察され、15000 ppm 投与群の F₁ では妊娠雌が 2 例しか得られず、F₂ 出生児の評価は不可能となった。F₁ 雄の交配実験で繁殖性には異常がみられなかったことから、F₁ 雌に繁殖性の低下の原因があると考えられた。本試験において、3000 ppm 以上投与群の親動物雌雄において体重増加抑制及び摂餌量減少が、児動物において体重増加抑制及び胸腺の絶対及び比重量の低下等が認められたことから、親動物及び児動物雌雄の無毒性量は 600 ppm (P : 雄 48.5 mg/kg 体重/日、雌 53.0mg/kg 体重/日、F₁ : 雄 59.0 mg/kg 体重、雌 64.6mg/kg 体重/日) と判断された。(参照 33)

表 30 ラット 2 世代繁殖試験で認められた所見

投与群	親：P、児：F ₁		親：F ₁ 、児：F ₂	
	雄	雌	雄	雌