

## (2) 土壌吸着試験

4種類の国内土壌（砂丘未熟土：宮崎、黒ボク土：埼玉及び茨城、灰色低地土：栃木）を用いて土壌吸着試験が実施された。

ペンチオピラドの土壌における Freundlich の吸着係数  $K_{ads}$  は 2.56~20.5、有機炭素含有率により補正した吸着係数  $K_{oc}$  は 371~522 であった。（参照 7）

## 4. 水中運命試験

### (1) 加水分解試験

ペンチオピラドを pH 4（酢酸緩衝液）、pH 7（リン酸緩衝液）及び pH 9（ホウ酸緩衝液）の各緩衝液に 25 mg/L となるように加えた後、 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$  で 5 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

ペンチオピラドの 5 日後の加水分解は 10% 未満であり、代表的な環境条件（ $25^\circ\text{C}$ ）での半減期は 1 年以上になると推定された。ペンチオピラドは本条件下で安定と考えられた。（参照 8）

### (2) 水中光分解試験（緩衝液及び自然水）

ペンチオピラドを pH 7 の滅菌リン酸緩衝液に 2.02 mg/L となるように加えた後、 $25^\circ\text{C}$  で 15 日間キセノン光照射（測定波長：300~400 nm、光強度： $19.3 \text{ W/m}^2$ ）を行い、緩衝液中の光分解試験が実施された。また、ペンチオピラドを滅菌自然水（河川水：福岡）に 50 mg/L となるように加えた後、 $25^\circ\text{C}$  で 14 日間キセノン光照射（測定波長：300~400 nm、光強度： $38.4 \text{ W/m}^2$ ）を行い、自然水中の光分解試験も実施された。

pH 7 の緩衝液中及び自然水中のいずれにおいても、ペンチオピラドの初期濃度からの減衰は認められなかった。ペンチオピラドは緩衝液中及び自然水中で安定であり、光分解性は認められなかった。（参照 9、10）

## 5. 土壌残留試験

火山灰土・軽埴土（茨城）及び洪積土・軽埴土（愛知）を用いて、ペンチオピラド及び分解物 A-4 を分析対象化合物とした畑地状態における土壌残留試験（容器内及び圃場）が実施された。

結果は表 9 に示されている。推定半減期は、ペンチオピラドとして 6~85 日、ペンチオピラドと分解物の合計としては、6~190 日であった。（参照 11）

表 9 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	ペンチオピラド	ペンチオピラド+分解物
容器内試験	1.5 mg/kg	火山灰土・軽埴土	85 日	190 日
		洪積土・軽埴土	14 日	60 日
圃場試験	1.4 kg ai/ha	火山灰土・軽埴土	63 日	74 日
		洪積土・軽埴土	6 日	6 日

※：容器内試験で純品、圃場試験で水和剤を使用

## 6. 作物残留試験

野菜及び果実を用いて、ペンチオピラド、代謝物 A-3、A-5 及び A-11 を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。分析法は 10%含水アセトンで抽出した試料を精製後、ペンチオピラドと A-11 は高速液体クロマトグラフ (UV 検出器付き) を、A-3 はガスクロマトグラフ (質量検出器付き) を、A-5 は高速液体クロマトグラフ (質量分析器付き) を用いて定量する方法に従った。

結果は別紙 3 に示されている。ペンチオピラドの最高残留値は、もも (果皮) を除くと、300~500 g ai/ha で 3 回散布し、最終散布 14 日後に収穫したブドウ (果実) の 3.77 mg/kg であった。各代謝物の最高残留値は、もも (果皮) を除くと、A-3 では 14 日後のおうとう (果実) の 0.05 mg/kg、A-5 では 14 日後のキャベツの 0.11 mg/kg、A-11 では 21 日後のブドウ (果実) の 0.11 mg/kg であった。(参照 12)

別紙 3 の作物残留試験成績に基づき、ペンチオピラド (親化合物のみ) を暴露評価対象化合物とした農産物からの推定摂取量が表 10 に示されている (別紙 4 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ペンチオピラドが最大の残留を示す使用条件で、今回申請された全ての適用作物 (キャベツ、レタス、たまねぎ、トマト、ピーマン、ナス、きゅうり、メロン類、りんご、日本なし、西洋なし、もも、おうとう、イチゴ及びブドウ) 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下に行った。

表 10 食品中より摂取されるペンチオピラドの推定摂取量

	国民平均 (体重 : 53.3 kg)	小児 (体重 : 15.8 kg)	妊婦 (体重 : 55.6 kg)	高齢者 (65 歳以上) (体重 : 54.2 kg)
摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ )	63.7	49.3	48.1	55.7

## 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 11 に示されている。(参照 13)

表 11 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)	結果の概要
中枢 神経 系	一般状態 (Irwin 法)	マウス 雄 3 雌 3	0、200、 600、2000 (経口)	雄 : 2000 雌 : 600	雄 : - 雌 : 2000	雌の 2000 mg/kg 体重で軽度な沈静 化、歩行失調及び 体温低下感覚
	一般状態 (機能観察 総合評価法)	ラット 雄 5	0、200、 600、2000 (経口)	600	2000	2000 mg/kg 体重 で覚醒状態の軽度 低下、移動性の軽 度減少及び体温の 低下傾向

	自発運動量	ラット	雄 5	0、200、 600、2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
	電撃痙攣	マウス	雄 5	0、200、 600、2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
循環器系	血圧、心拍数	ラット	雄 5	0、200、 600、2000 (経口)	600	2000	2000 mg/kg 体重 で心拍数減少
腎機能	尿量、尿中 電解質、 尿浸透圧	ラット	雄 5	0、200、 600、2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
血液系	血液凝固、 溶血	ラット	雄 5	0、200、 600、2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし

\*：溶媒として 0.5%CMC (カルボキシメチルセルロース) 水溶液を用いた。

—：作用量が設定できない。

## 8. 急性毒性試験

ペンチオピラド原体のラットを用いた経口、経皮及び吸入投与による急性毒性試験、ならびに代謝物及び原体混在物のラットを用いた経口投与による急性毒性試験が実施されており、結果は表 12 及び 13 に示されている。

原体のラットにおける急性経口及び経皮 LD<sub>50</sub> は雌雄とも 2000 mg/kg 体重超、急性吸入 LC<sub>50</sub> は 5.67 mg/L 超であった。代謝物 A-3 及び原体混在物 Me-753 のラットにおける急性経口 LD<sub>50</sub> は 300 mg/kg 体重超、2000 mg/kg 体重以下であり、それ以外の代謝物及び原体混在物の経口 LD<sub>50</sub> は 2000 mg/kg 体重超であった。(参照 14~24)

表 12 急性毒性試験概要 (原体)

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
Wistar ラット 雌雄各 3 匹	経口	>2000	>2000	症状及び死亡例なし
Wistar ラット 雌雄各 5 匹	経皮	>2000	>2000	症状及び死亡例なし
Wistar ラット 雌雄各 5 匹	吸入	LC <sub>50</sub> (mg/L)		自発運動低下、円背位、被毛 粗剛、脱毛、体重減少 死亡例なし
		>5.67	>5.67	

表 13 急性毒性試験概要 (代謝物及び原体混在物)

代謝物及び 原体混在物	動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	観察された症状
A-3 (代謝物)	SD ラット 雌 3 匹	経口	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000	自発運動低下、振戦、間代性 痙攣、腹臥、横臥 2000 mg/kg 体重で全例死亡

A-4 (代謝物)	SD ラット 雌3匹	経口	>2000	症状及び死亡例なし
A-5 (代謝物)	SD ラット 雌3匹	経口	>2000	症状及び死亡例なし
A-11 (代謝物)	SD ラット 雌3匹	経口	>2000	症状及び死亡例なし
Me-753 (原体混在物)	SD ラット 雌3匹	経口	300< LD <sub>50</sub> ≤ 2000	自発運動低下、腹臥、横臥 2000 mg/kg 体重で全例死亡
PTU (原体混在物)	SD ラット 雌3匹	経口	>2000	自発運動低下 死亡例なし
THT (原体混在物)	SD ラット 雌3匹	経口	>2000	症状及び死亡例なし
5-753 (原体混在物)	SD ラット 雌3匹	経口	>2000	自発運動低下 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

NZW ウサギ (雌) 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。眼に対して軽度の刺激性が認められたが、皮膚に対する刺激性は認められなかった。

Hartley モルモット (雌) 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 25~27)

## 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、対照群と最高用量投与群は一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、40、100、250 及び 625 mg/kg 体重/日 : 平均検体摂取量は表 14 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。また、投与 13 週時に全動物を対象として、Irwin screen test の変法により機能観察総合検査が実施された。対照群及び最高用量投与群の一群雌雄各 10 匹については、90 日間投与後に 4 週間の回復期間を設けた。

表 14 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群(mg/kg 体重/日)		40	100	250	625
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	39.8	99.9	248	660
	雌	39.7	99.8	250	663

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。

625 mg/kg 体重/日投与群の雄では、試験期間を通して体重増加抑制がみられ、試験 91 日に 1 例が死亡した。死亡した雄には死亡発見前に非協調運動、努力性呼吸、被毛粗剛及び状態不良が認められた。

本試験において、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄に肝比重量<sup>1</sup>増加、肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 40 mg/kg 体重/日（雄：39.8 mg/kg 体重/日、雌：39.7 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 28）

表 15 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
625 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡 1 例（投与終了後）</li> <li>・軟便</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・Hb 及び MCH 減少、PT 延長</li> <li>・T.Chol、GGT 及び ALP 増加</li> <li>・肝絶対重量増加</li> <li>・脾絶対重量・対脳重比<sup>2</sup>減少</li> <li>・腎、精巣、精巣上体比重量増加</li> <li>・肝細胞(大胞性)脂肪化、肝細胞変性、クッパー細胞増殖</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・自発運動量低下</li> <li>・MCH 及び MCHC 減少</li> <li>・GGT、TG 及び ALP 増加</li> <li>・卵巣絶対・比重量増加</li> <li>・脾絶対・比重量・対脳重比減少</li> <li>・肝細胞変性、クッパー細胞増殖</li> </ul>
250 mg/kg 体重/日以上		<ul style="list-style-type: none"> <li>・Hb 減少、APTT 延長</li> <li>・T.Chol 及びリン脂質増加</li> <li>・肝絶対重量増加</li> <li>・肝細胞(大胞性)脂肪化</li> </ul>
100 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・自発運動量低下</li> <li>・MCHC 減少、APTT 延長</li> <li>・リン脂質増加</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝比重量増加</li> <li>・肝細胞肥大</li> </ul>
40 mg/kg 体重/日	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（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、30、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日：平均検体摂取量は表 16 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 16 マウス 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群 (mg/kg 体重/日)		30	100	300	1000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	29.5	100	299	997
	雌	30.7	102	306	1030

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

100 mg/kg 体重/日以上投与群において、雄の平均体重が投与期間を通じて低く、検体投与に関連する可能性が示唆されたが、統計学的有意差は認められなかったことから毒性学的意義のある影響とは考えられなかった。

<sup>1</sup> 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

<sup>2</sup> 脳重量に比した重量を対脳重比という（以下同じ）。

血液学的検査において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雄で RBC、雌で RBC 及び Hb の有意な減少がみられ、この貧血所見は検体投与に起因する変化と考えられた。

血液生化学的検査において、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で、尿素窒素の有意な増加が観察されたが、用量相関性がみられず、腎臓に尿素窒素増加の原因とみなされる組織学的変化がみられなかったことから、これは偶発所見と考えられた。1000 mg/kg 体重/日投与群の雄では、Alb 減少と Glob 増加の傾向がみられ、A/G 比が有意に低下した。この変化は用量設定試験の 300 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群で観察された血漿中蛋白の変化と類似するため、検体投与に起因する変化と考えられた。

本試験において、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄に肝比重量増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重/日（雄：100 mg/kg 体重/日、雌：102 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 29）

表 17 マウス 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"> <li>・ RBC 減少</li> <li>・ A/G 比低下</li> <li>・ 甲状腺絶対・比重量増加</li> <li>・ 甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> <li>・ び慢性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ RBC 及び Hb 減少</li> <li>・ 甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> <li>・ び慢性肝細胞肥大</li> </ul>
300 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝比重量増加</li> </ul>
100 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	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 4 匹）を用いた混餌（原体：0、300、3000 及び 30000 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 イヌ 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		300 ppm	3000 ppm	30000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	8.01	76.7	811
	雌	8.18	80.9	864

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

血液学的検査において、投与 7 週時に 30000 ppm 投与群の雌雄及び 3000 ppm 投与群の雌で APTT の短縮がみられ、検体投与に起因する変化である可能性が考えられたが、一般に APTT 短縮のもつ毒性学的意義は不明である。また、投与 7 週及び 13 週時に 30000 ppm 投与群の雌で MCHC の低下がみられたが、Ht、Hb、RBC には変化がみられず、毒性学的意義は小さいと考えられた。

血液生化学的検査において、30000 ppm 投与群の雌雄で T.Bil 及び ALP の有意な増加、

T.Chol の増加傾向、さらに雄では TG の増加傾向、雌では TG 及び GGT の有意な増加が認められた。同群では肝絶対・比重量増加及びび慢性肝細胞肥大が確認されていることから、これらの検査項目の変化は肝機能障害を反映しているものと考えられた。さらに A/G 比低下（雌では低下傾向）を伴う Alb 減少も認められた。

本試験において、30000 ppm 投与群の雌雄で肝絶対・比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 3000 ppm（雄：76.7 mg/kg 体重/日、雌：80.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 30）

表 19 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
30000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制、摂餌量減少</li> <li>・ T.Bil 及び ALP 増加</li> <li>・ Alb 減少、A/G 比低下</li> <li>・ 肝絶対・比重量増加</li> <li>・ び慢性肝細胞肥大、胆嚢炎</li> <li>・ 副腎皮質細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制、摂餌量減少</li> <li>・ T.Bil、ALP、TG 及び GGT 増加</li> <li>・ Alb 減少</li> <li>・ 肝絶対・比重量増加</li> <li>・ 甲状腺絶対・比重量増加</li> <li>・ び慢性肝細胞肥大、胆嚢炎</li> </ul>
3000 ppm 以下	毒性所見なし	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（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 30 匹）を用いた混餌（原体：0、6.25、25、100 及び 400 mg/kg 体重/日：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。表 20

ラット 1 年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

投与群(mg/kg 体重/日)		6.25	25	100	400
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.21	24.9	98.8	397
	雌	6.26	24.9	100	401

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

死亡率には検体投与による影響は認められなかった。

400 mg/kg 体重/日投与群の雄のみに、体重増加抑制及び相対摂餌量<sup>3</sup>の増加が認められた。検体投与による摂餌量への影響は認められず、この相対摂餌量の増加は体重増加量の減少を反映したものと考えられた。血液学的検査では、400 mg/kg 体重/日投与群の雌に好酸球数及び単球数の有意な増加がみられたが、WBC 及び白血球百分比への影響がなかったことから、これらの変化は毒性学的意義に乏しいと考えられた。

本試験において、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄に肝比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 25 mg/kg 体重/日（24.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 31）

表 21 ラット 1 年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

<sup>3</sup> 相対摂餌量(g/kg)={摂餌量(g)/体重(g)}×1000

投与群	雄	雌
400 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 相対摂餌量増加</li> <li>・ APTT 延長、PT 延長(26 週)</li> <li>・ PT 短縮(52 週)、Retic 減少</li> <li>・ Hb、MCV、MCH、MCHC 減少</li> <li>・ T.Chol、リン脂質、ALP 増加</li> <li>・ GGT 増加、Glu 減少</li> <li>・ 肝絶対重量増加</li> <li>・ 門脈周囲性肝細胞脂肪空胞化、腫大、単細胞壊死</li> <li>・ 甲状腺び慢性濾胞上皮肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ APTT、PT 延長</li> <li>・ MCV、MCH 減少</li> <li>・ A/G 比低下</li> <li>・ GGT 増加、Glu 減少</li> <li>・ 副腎び慢性球状帯肥大</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・ 卵巣間質細胞肥大</li> </ul>
100 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 副腎び慢性球状帯肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ HDW 増加</li> <li>・ T.Chol、リン脂質増加</li> <li>・ TP、Glob 増加</li> <li>・ 肝絶対・比重量増加</li> <li>・ 副腎皮質（束状帯）脂肪空胞化</li> <li>・ 甲状腺び慢性濾胞上皮肥大</li> </ul>
25 mg/kg 体重/日 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：0、310、2150 及び 15000 ppm：平均検体摂取量は表 22 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 22 イヌ 1 年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		310 ppm	2150 ppm	15000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.91	54.4	461
	雌	8.10	56.6	445

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

いずれの群でも死亡例は認められなかった。

15000 ppm 投与群の雌では、体重増加抑制傾向及び肝絶対・比重量の増加傾向が認められた。

本試験において、15000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制等が、2150 ppm 以上投与群の雌で ALP の増加が認められたので、無毒性量は雄で 2150 ppm (54.4 mg/kg 体重/日)、雌で 310 ppm (8.10 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 32)

表 23 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
-----	---	---



15000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・RBC、Hb、MCHC 減少</li> <li>・PLT 増加</li> <li>・ALP、GGT、T.Chol、TG 増加</li> <li>・ALT 増加 (1 例)</li> <li>・Alb 減少、Glob 増加</li> <li>・A/G 比低下</li> <li>・肝、副腎絶対・比重量増加</li> <li>・腹水 (2 例)</li> <li>・び慢性肝細胞肥大</li> <li>・副腎皮質細胞肥大</li> <li>・胆嚢粘膜上皮過形成 (3 例)</li> <li>・胆嚢炎 (1 例)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ALP、GGT 増加</li> <li>・ALT 増加 (1 例)</li> <li>・Alb 減少、Glob 増加</li> <li>・A/G 比低下</li> <li>・副腎比重量増加</li> <li>・び慢性肝細胞肥大</li> <li>・副腎皮質細胞肥大</li> <li>・胆嚢粘膜上皮過形成</li> <li>・胆嚢炎 (1 例)</li> </ul>
2150 ppm	毒性所見なし	・ALP 増加 (1 例)
310 ppm		毒性所見なし

### (3) 2 年間発がん性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、9、27、83 及び 250 mg/kg 体重/日: 平均検体摂取量は表 24 参照) 投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 24 ラット 2 年間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群 (mg/kg 体重/日)		9	27	83	250
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9.06	27.0	83.4	252
	雌	9.11	27.4	83.2	253

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 25、甲状腺濾胞細胞腺腫及び濾胞細胞癌の発生頻度は表 26 に示されている。

検体投与による死亡数の増加は認められなかった。

9 及び 250 mg/kg 体重/日投与群の雄において、慢性腎症の発生頻度が有意に増加した。慢性腎症と関連のある病変として、尿細管好塩基性化、間質性線維症、腎盂炎または糸球体硬化症が全投与群の雄に認められたが、これらすべての病変の発生頻度に有意な増加がみられたのは 250 mg/kg 体重/日投与群のみであった。

腫瘍性病変として、250 mg/kg 体重/日投与群の最終計画殺動物の雄において、甲状腺濾胞細胞腺腫の発生頻度が有意に増加した。同群の全雄動物における発生頻度 (18.4%) には有意差はみられず、前がん病変の増加も観察されなかったが、雄の Wistar ラットの背景データ (濾胞細胞腺腫: 0~14.3%、濾胞細胞癌: 0~6%) を上回っており、投与の影響と考えられた。同群の雄では肝比重量増加及び肝細胞肥大が認められ、薬物代謝酵素の誘導が示唆された。従って、250 mg/kg 体重/日投与群の雄に認められた甲状腺濾胞細胞腺腫の増加は、UDPGT が誘導され [14. (1)]、甲状腺ホルモンが低下したことに対するネガティブフィードバックによる二次的な影響と考えられた。本試験において、83 mg/kg 体重/日以上投与群の雄に門脈周囲性肝細胞脂肪変性が、雌に体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雌雄とも 27 mg/kg 体重/日 (雄: 27.0 mg/kg 体重/日、雌: 27.4

mg/kg 体重/日) であると考えられた。本検体は雄ラットにおいて 250 mg/kg 体重/日の用量で甲状腺濾胞細胞腺腫の発生頻度を増加させると考えられた。(参照 33)

表 25 ラット 2 年間発がん性試験で認められた毒性所見(非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
250 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝比重量増加</li> <li>肝小葉像明瞭、小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>慢性腎症</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝絶対・比重量増加</li> <li>副腎限局性脂肪化</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大、脂肪化</li> <li>肺間質性炎症</li> </ul>
83 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>門脈周囲性肝細胞脂肪変性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> </ul>
27 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 26 甲状腺濾胞細胞腺腫及び濾胞細胞癌の発生頻度

性別		雄					雌				
投与群 (mg/kg 体重/日)		0	9	27	83	250	0	9	27	83	250
最終 計画 殺 動物	検査動物数	37	41	37	34	34	38	35	39	43	37
	濾胞細胞腺腫	3	1	5	2	9*	3	1	2	0	0
	濾胞細胞癌	2	1	0	0	3	0	0	1	0	1
	腺腫+癌	5	2	5	2	10	3	1	3	0	1
全 動物	検査動物数	50	50	48	49	49	50	50	49	50	48
	濾胞細胞腺腫	3	1	6	2	9	3	1	2	0	0
	濾胞細胞癌	2	1	0	0	3	0	0	1	0	1
	腺腫+癌	5	2	6	2	10	3	1	3	0	1

Fisher の直接確率計算法、\* : p<0.05

#### (4) 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、20、60、200 及び 600 mg/kg 体重/日 : 平均検体摂取量は表 27 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 27 マウス 18 カ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群 (mg/kg 体重/日)		20	60	200	600
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	19.9	59.8	200	602
	雌	20.0	60.3	201	604

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 28、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度は表 29 に示されている。

検体投与による死亡数の増加は認められなかった。

腫瘍性病変として、200 mg/kg 体重/日以上投与群の雄において、肝細胞腺腫の発生頻

度が増加した。

本試験において、200 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で甲状腺濾胞上皮細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 60 mg/kg 体重/日（雄：59.8 mg/kg 体重/日、雌：60.3 mg/kg 体重/日）であると考えられた。本検体は雄マウスにおいて 200 mg/kg 体重/日以上の用量で肝臓に対する発がん性を有するものと考えられた。（参照 34）

表 28 マウス 18 カ月間発がん性試験で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
600 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 甲状腺絶対・比重量増加</li> <li>・ 甲状腺濾胞上皮細胞褐色色素沈着</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 甲状腺絶対・比重量増加</li> <li>・ 甲状腺コロイド変性、濾胞上皮細胞褐色色素沈着</li> <li>・ 肺胞内泡沫細胞集簇</li> </ul>
200 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝絶対・比重量増加</li> <li>・ 甲状腺濾胞上皮細胞肥大、コロイド変性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> </ul>
60 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 29 肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度

性別		雄					雌				
投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	60	200	600	0	20	60	200	600
最終計画殺動物	検査動物数	36	32	34	31	34	42	42	41	40	42
	肝細胞腺腫	5	8	7	11*	12*	4	2	2	4	2
	肝細胞癌	1	1	1	4	2	0	0	0	0	0
	腺腫+癌	6	9	8	13*	13*	4	2	2	4	2
全動物	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
	肝細胞腺腫	7	13	10	13	15*	4	2	2	4	2
	肝細胞癌	2	1	1	5	6	0	0	0	0	0
	腺腫+癌	9	14	11	15	19*	4	2	2	4	2

Fisher の直接確率計算法、\* :  $p \leq 0.05$

## 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 24 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、200、1000 及び 5000 ppm :

平均検体摂取量は表 30 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 30 ラット繁殖試験の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	1000 ppm	5000 ppm	
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P	雄	11.0	54.0	278
		雌	18.1	90.5	439
	F <sub>1</sub>	雄	12.8	64.2	340
		雌	19.0	95.6	480

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

親動物では、1000 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制、肝及び副腎の病理組織学的変化を伴う重量増加が認められた。5000 ppm 投与群の雌雄で性成熟（包皮分離及び膣開口）完了日齢の遅延がみられ、F<sub>1</sub> 雄の包皮分離完了の平均日齢に有意差が認められた。しかし、いずれの性においても性成熟が完了した時点での体重に差はみられず、性成熟完了日齢の遅延は、この群の投与開始時における低体重と密接に関連していることが示唆された。

児動物では、5000 ppm 投与群において哺育 0 日（出生時）の平均体重は対照群の値と同様であったが、哺育期間中の体重増加量が雌雄ともに減少し、哺育 4 日または 14 日以降の平均体重は有意に低かった。

本試験において、親動物では 1000 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制等が、児動物では 5000 ppm 投与群の雌雄に低体重が認められたので、無毒性量は親動物の雌雄で 200 ppm (P 雄 : 11.0 mg/kg 体重/日、P 雌 : 18.1 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 12.8 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 19.0 mg/kg 体重/日)、児動物の雌雄で 1000 ppm (P 雄 : 54.0 mg/kg 体重/日、P 雌 : 90.5 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 64.2 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 95.6 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 35)

表 31 ラット 2 世代繁殖試験で認められた毒性所見

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	5000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝、副腎、甲状腺絶対・比重量増加</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝絶対重量増加</li> <li>副腎及び甲状腺絶対・比重量増加</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> <li>副腎皮質細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>包皮分離日齢遅延</li> <li>肝、副腎比重量増加</li> <li>精巣、精巣上体比重量増加</li> <li>甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝、副腎絶対重量増加</li> <li>甲状腺絶対・比重量増加</li> <li>小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>甲状腺濾胞上皮細胞肥大</li> </ul>
	1000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> <li>肝比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> <li>肝、副腎比重量増加</li> <li>副腎皮質細胞肥</li> </ul>

					大
	200 ppm	毒性所見なし			
児動物	5000 ppm	・低体重(哺育4日以降)	・低体重(哺育4日以降)	・低体重(哺育14日以降)	・低体重(哺育14日以降)
	1000 ppm以下	毒性所見なし			

## (2) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 22 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体: 0、62.5、250 及び 1000 mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。

1000 mg/kg 体重/日投与群で、母動物に妊娠初期の体重増加抑制及び摂餌量の減少、妊娠子宮重量の減少が、胎児に着床後胚・胎児死亡数の増加、生存胎児数 (雌) の減少が認められた。

全ての検体投与群において軽度内臓異常を示す胎児の発生頻度が有意に高かったが、これらの頻度は背景データの範囲内あるいは近傍であり、用量相関性もみられなかったことから、検体投与に関連したものではないと考えられた。

本試験において、1000 mg/kg 体重/日投与群の母動物に体重増加抑制等が、胎児に着床後胚・胎児死亡数の増加等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 250 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 36)

## (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 24 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体: 0、25、75 及び 225 mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。

225 mg/kg 体重/日投与群で、母動物 1 例が顕著な摂餌量の減少及び体重減少を示した後、妊娠 26 日に流産したため切迫と殺された。胎児には低体重 (雌で 12.1%減、雄で 7.8%減) が認められた。

本試験において、225 mg/kg 体重/日投与群の母動物に流産等が、胎児に低体重が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 75 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 37)

## 1.3. 遺伝毒性試験

ペンチオピラド (原体) 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線維芽細胞 (CHL) を用いた *in vitro* 染色体異常試験、マウスリンフォーマ細胞を用いた遺伝子突然変異試験、マウスを用いた小核試験、ラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験が実施された。試験結果は表 32 に示されている。

CHL 細胞を用いた染色体異常試験では、代謝活性化系存在下で陽性の結果が得られた。しかし、この染色体異常は強い細胞毒性がみられる濃度 (細胞増殖抑制率が 50%以上の濃度) でのみ増加しており、マウスの小核試験及びラット肝細胞を用いた UDS 試験の結果が陰性であったことから、生体において問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。

代謝物及び原体混在物の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、試験結果はすべて陰性であった（表 33）。

表 32 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 (参照 39)	<i>B. subtilis</i> H-17、M-45 株	177~22650 µg/ディスク (-S9) 88.5~11325 µg/ディスク (+S9)	陰性
	復帰突然変異試験 (参照 38)	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株	2.34~600 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>E.coli</i> WP2uvrA 株	37.5~1200 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験 (参照 40)	チャイニーズハムスター 肺線維芽細胞 (CHL)	52.4~160 µg/mL (-S9) 81.9~250 µg/mL (+S9)	陽性
	遺伝子突然 変異試験 (参照 41)	マウスリンフォーマ細胞 L5178Y <i>tk</i> <sup>+</sup> 3.7.2C	6.18~75.0 µg/mL (-S9) 4.32~52.5 µg/mL (+S9)	陰性
<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	不定期 DNA 合成 (UDS)試験 (参照 43)	SD ラット (一群雄 3~4 匹) 肝細胞	1000、2000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験 (参照 42)	BDF <sub>1</sub> マウス (一群雄 5~6 匹) 骨髓細胞	500、1000、2000 mg/kg 体重 (24 時間間隔で 2 回経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 謝活性化系存在下及び非存在下

表 33 遺伝毒性試験概要（代謝物及び原体混在物）

代謝物及び 原体混在物	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
A-3 (代謝物)	復帰突然 変異試験 (参照 49)	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株 <i>E.coli</i> WP2uvrA 株	313~5000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
A-4 (代謝物)	復帰突然 変異試験 (参照 50)	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株 <i>E.coli</i> WP2uvrA 株	313~5000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
A-5 (代謝物)	復帰突然 変異試験 (参照 44)	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株	156~5000 µg/プレート (+/-S9)	陰性

		<i>E.coli</i> WP2uvrA 株		
A-11 (代謝物)	復帰突然 変異試験 (参照 51)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株	39~1250 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>E.coli</i> WP2uvrA 株	313~5000 µg/プレート (+/-S9)	
Me-753 (原体混在物)	復帰突然 変異試験 (参照 45)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株	10~313 µg/プレート (-S9) 39~1250 µg/プレート (+S9)	陰性
		<i>E.coli</i> WP2uvrA 株	39~1250 µg/プレート (+/-S9)	
PTU (原体混在物)	復帰突然 変異試験 (参照 46)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株	10~313 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>E.coli</i> WP2uvrA 株	313~5000 µg/プレート (+/-S9)	
THT (原体混在物)	復帰突然 変異試験 (参照 47)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株	10~313 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>E.coli</i> WP2uvrA 株	313~5000 µg/プレート (+/-S9)	
5-753 (原体混在物)	復帰突然 変異試験 (参照 48)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 株	156~5000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>E.coli</i> WP2uvrA 株		

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

#### 1 4. その他の試験

##### (1) 肝薬物代謝酵素誘導及び細胞増殖能試験

本試験は、ペンチオピラドの標的臓器は肝臓であることが推測されたため、本剤の肝薬物代謝酵素誘導能及び細胞増殖能を検討する目的で実施された。

雄の Wistar ラット (一群 18 匹) にペンチオピラド (原体) を 0、100、1000 及び 10000 ppm (平均検体摂取量 : 0、6.47、66.7 及び 632 mg/kg 体重/日) の濃度で飼料に混入し、3、7 または 14 日間にわたって混餌投与した。陽性対照として PB 1000 ppm 及び CF 3000 ppm 投与群を設け、同様の投与を行った。

10000 ppm 投与群で、肝比重量の増加、肝臓の肥大及び暗調化が認められた。肝薬物代謝酵素測定では、いずれの投与群にもペルオキシソーム酵素活性には変化はみられなかったが、10000 ppm 投与群で PROD 及び UDPGT の上昇、CYP2B1、CYP3A2 及び CYP4A1 蛋白含量の増加が認められた。1000 ppm 投与群においても、CYP2B1 及び CYP3A2 蛋白含量は増加傾向にあり、CYP4A1 蛋白含量は有意に増加した。細胞増殖活性検査では、10000 ppm 投与群の投与 7 日後における PCNA 標識率が増加した。肝細胞間連絡蛋白測定として、肝臓の凍結切片に肝細胞間のギャップ結合蛋白であるコネク

シン 32 (Cx32) の免疫染色を施し、Cx32 スポット数を計測した結果、対照群及び 10000 ppm 投与群の間に有意差は認められなかった。病理組織学的検査では、10000 ppm 投与群で投与 3、7 及び 14 日後の計画殺動物全例に小葉肝細胞肥大が観察され、滑面小胞体の増生が確認された。

以上の結果から、ペンチオピラドは PB に類似した肝薬物代謝酵素誘導剤であること、雄ラットに混餌投与した場合、投与初期において肝細胞の増殖活性を亢進することが示唆された。また、100 ppm 投与群では投与に関連した変化がみられなかったことから、ペンチオピラドの酵素誘導及び細胞増殖作用には閾値が存在することが確認された。

(参照 52)