

もに親化合物（シエノピラフェン及び B）であった。糞中の主要代謝物は、 $[ben-^{14}C]$ シエノピラフェン投与では E (20.0%TAR)、P (14.0%TAR)、 $[ben-^{14}C]$ B 投与では E (12.9%TAR) であった。糞及び尿中代謝物のプロファイルは、両検体で質的には類似しており、化合物による違いは認められなかった。

表 16 投与後 24 時間の尿及び糞中における代謝物 (%TAR)

$[ben-^{14}C]$ シエノピラフェン		$[ben-^{14}C]$ B	
尿	糞	尿	糞
E(1.8),G(0.2), F(0.1)	シエノピラフェン (24.0),E(20.0),P(14.0),O(6.9), C(6.3),G(4.8),F(3.3)	E(0.8), G(0.1)	B(65.7),E(12.9), C(3.1),P(1.1),G(1.0), O(0.3),F(0.2)

胆管カニューレーション処理したラット（雄 2 匹）を用いた胆汁、尿及び糞中排泄率及び体内残存率は表 17 に示されている。 $[ben-^{14}C]$ シエノピラフェン投与後 48 時間の胆汁中への排泄率は 49.7%TAR であり、胆汁、尿、肝臓及びカーカス中の放射能を基に計算した吸収率は 53.2%TAR であった。 $[ben-^{14}C]$ B 投与後 48 時間の胆汁中への排泄率及び吸収率はともに $[ben-^{14}C]$ シエノピラフェンに比べて低く、それぞれ 31.0%TAR 及び 32.9%TAR であった。また、主要成分は両検体とも、胆汁中では U 及び V、糞及び消化管中ではともに親化合物（シエノピラフェン及び B）であった。

表 17 投与後 48 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率及び体内残存率 (%TAR)

検体	胆汁	尿	糞	肝臓	消化管	カーカス
$[ben-^{14}C]$ シエノピラフェン	49.7	3.4	46.7	<0.1	1.7	<0.1
$[ben-^{14}C]$ B	31.0	1.9	66.5	<0.1	2.5	<0.1

以上の結果から、ラットにおけるシエノピラフェン及び B の代謝プロファイルは、吸収率の違いはあるものの、両化合物に代謝の違いは認められず、エステル結合が加水分解されて C となり、その後、水酸化反応を中心とした代謝を受けると推定された。（参照 4）

2. 植物体内運命試験

(1) みかん

$[ben-^{14}C]$ シエノピラフェンまたは $[pyr-^{14}C]$ シエノピラフェンを含む 30% フロアブル製剤を水で希釈し 150 ppm 処理液 (1,050 g ai/ha に相当) を調製し、みかん（品種：青島温州）の果実及び葉に 1 回塗布した。一部の果実及び葉試料については処理時にビニール袋で被覆保護し非処理試料とした。

処理 0、7、14 及び 28 日後 ([pyr-¹⁴C]シエノピラフェン処理は 28 日後のみ) に果実及び葉を採取した。

[ben-¹⁴C]シエノピラフェン処理当日の果実全体の残留放射能濃度は 0.289 mg/kg、表面洗浄液中に 98.4%TRR 及び果実内に 1.6%TRR の放射能が分布した。収穫期 (処理 28 日後) の果実全体の残留放射能濃度は 0.164 mg/kg に減少し、その分布は表面洗浄液に 61.3%TRR 及び果実内に 38.7%TRR であった。果実内の残留放射能は果皮部に残留し、果肉中からは放射能は検出されなかった。

[ben-¹⁴C]シエノピラフェン処理当日の葉の残留放射能濃度は 18.3 mg/kg、その分布は表面洗浄液中に 98.7%TRR、葉内に 1.3%TRR であった。処理 28 日後 (果実収穫期) の葉の残留放射能濃度は 14.9 mg/kg、その分布は表面洗浄液に 76.7%、葉内部に 23.4%TRR であった。

[ben-¹⁴C]シエノピラフェン処理当日果実中の親化合物は 98.5%TRR を占め、28 日後には 68.6%TRR に減少した。薬剤処理後 7~28 日の間に代謝物 B が最大 4.4%TRR 検出されたほか、D 及び I が合計 0.4~1.6%TRR 検出された。処理 28 日後の果実から V (E の糖抱合体) 及び W (P の糖抱合体) がそれぞれ 6.9%TRR 及び 0.2%TRR 検出された。

[ben-¹⁴C]シエノピラフェン処理葉中の親化合物及び代謝物の様相 (種類及び存在割合) は果実の場合と類似していた。

[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンを処理した果実及び葉の処理 28 日後の残留放射能濃度は 0.394 mg/kg 及び 19.1 mg/kg を示し、それぞれ 87.1%TRR 及び 90.6%TRR が表面洗浄液中から検出された。親化合物がそれぞれ約 90%TRR を占め、代謝物は B、D 及び I が合計でそれぞれ 4.0%TRR 及び 4.1%TRR 検出された。

処理時に被覆しておいた果実及び葉からは放射能は検出されなかった。

シエノピラフェンは、光分解による異性化により B が、B の環化により D が、B の分子内転位とそれに引き続く酸化開裂により I が生成した。別の経路として親化合物あるいは B のエステルの加水分解により C (非検出) を経て末端が水酸化されて E が生成し、E の抱合化により V が生成した。また、E の両環の架橋部分が開裂して P となり、P の抱合化により W が生成した。(参照 5)

(2) ナス

[ben-¹⁴C]シエノピラフェンまたは [pyr-¹⁴C]シエノピラフェンを含む 30% フロアブル製剤を水で希釈し 150 ppm 散布液を調製し、噴霧散布器を用いて人工照明付生育チャンバー内で栽培したナス (品種: Moneymaker) の植物全体に散布した。散布量は 300 g ai/ha とした。一部の果実については散布前にビニール袋で被覆保護し非処理試料とした。処理 0、7 及び 14 日後に果実及び葉を採取した。

散布当日の[ben-¹⁴C]シエノピラフェン及び[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンは果実全体からいずれも約 0.05 mg/kg が検出された。その 94%TRR 以上が表面洗浄液中に、果皮及び果肉には合わせて約 6%TRR が分布した。親化合物は 91%TRR であった。14 日後には残留放射能濃度はそれぞれ 0.065 及び 0.085 mg/kg が検出された。表面洗浄液からそれぞれ約 75%TRR 及び 48%TRR の残留放射能が検出された。[ben-¹⁴C]シエノピラフェン処理区で果皮及び果肉から 17%TRR 及び 8%TRR、[pyr-¹⁴C]シエノピラフェン処理区で 24%TRR 及び 29%TRR が検出された。

[ben-¹⁴C]シエノピラフェンまたは[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンを散布した果実の 14 日後の残留放射能のうち、親化合物がそれぞれ 76.4%TRR (0.050 mg/kg) 及び 52.1%TRR (0.044 mg/kg) を占めた。代謝物は B、C、D、I が最大 2%TRR 検出された。葉においても薬剤処理 14 日後の約 70%TRR が親化合物であった。果実と同じ代謝物が検出された。

薬剤処理 7 日及び 14 日後の果皮、果肉及び葉の抽出液の水溶性画分から約 10~20%TRR の残留放射能が検出された。これらの果皮、果肉及び葉の水溶性画分の酵素及び酸加水分解物から少量の親化合物 (1~6%TRR) のほか微量(<1.5%TRR)の代謝物 B、C 及び I が検出された。親化合物及びこれらの代謝物は抱合体として存在していたのではなく抽出成分に付着していたと考えられる。なお、これらの測定値は上記のそれぞれの分析値に加算された。

散布時に被覆しておいた果実から散布 14 日後に 0.003~0.010 mg/kg の残留放射能が検出され、本剤及びその代謝物の移行性は少なかった。

シエノピラフェンは加水分解による C の生成以外に、直接表面上の光分解によって B (異性化反応)、D (環化反応) 及び I (環化/開裂/転位等) を生成後、多数の極性代謝物に代謝されると考えられた。(参照 6)

(3) イチゴ

[ben-¹⁴C]シエノピラフェンを含む 30%フロアブル製剤を水で希釈し 150 ppm 処理液 (450 g ai/ha 相当) を調製し、温室内で栽培したイチゴ (品種: さちのか) の果実及び葉に塗布した。一部の果実については散布前にビニール袋で被覆保護し非処理試料とした。処理 0、1、7 及び 14 日後に果実を、処理 0 及び 14 日後に葉を採取した。

果実の残留放射能濃度は散布当日 2.62 mg/kg、その 97.7%TRR が表面洗浄液中に回収され、果実中に 2.3%TRR が分布した。全残留放射能のうち 98.5%TRR が親化合物であった。14 日後、果実全体から 2.84 mg/kg の残留放射能が検出された。表面洗浄液中に 93.1%TRR が、果実中に 6.9%TRR が分布した。全残留放射能のうち 95.1%TRR が親化合物で、代謝物として B、C、D、E 及び I が最大 1.7%TRR、合計約 3%TRR 検出された。

葉の残留放射能は散布当日約 80.7 mg/kg、そのほぼ全量が洗浄液中に回

収され、98.8%TRR が親化合物であった。14 日後、38.0 mg/kg の残留放射能が検出され、96.8% TRR が親化合物であった。代謝物として B、D、E 及び I が合計 2%TRR 以下検出された。

シエノピラフェンは、異性化 (B)、環化 (D)、転位とそれに続く酸化開裂 (I)、エステルの加水分解 (C) 及び *tert*-ブチル基の水酸化 (E) により代謝されると考えられた。(参照 7)

3. 土壤中運命試験

(1) 好氣的土壤中運命試験

[ben-¹⁴C]シエノピラフェンまたは[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンを軽埴土(静岡)に 1.0 mg/kg (1,050 g ai/ha)となるように添加し、25±2°Cの暗条件下で 189 日間インキュベートし、好氣的土壤中運命試験が実施された。

[ben-¹⁴C]シエノピラフェン及び[pyr-¹⁴C]シエノピラフェン処理 189 日後ではそれぞれ 40.8%TAR 及び 33.2%TAR に減少した。

[ben-¹⁴C]シエノピラフェン処理土壌では 189 日後に二酸化炭素が累積 26.0%TAR、非抽出画分が 25.3%TAR に達した。代謝物として C が 2.1%TAR、O が 3.0%TAR 検出された。[pyr-¹⁴C]シエノピラフェン処理土壌では 189 日後の累積二酸化炭素量が 12.9%TAR、抽出残渣が 19.3%TAR に達した。代謝物として S が 8.3%TAR、R が 1.3%TAR、C が 0.3%TAR 検出された。[pyr-¹⁴C]シエノピラフェン処理土壌から 4 種類の未同定代謝物が 1.8~8.6%TAR、合計約 20%TAR 検出された。

シエノピラフェンの土壌中における推定半減期は 123~154 日(平均 138 日)、90%が分解するのに要した日数は 409~511 日(平均 460 日)であった。

シエノピラフェンは、エステル加水分解により C へ変換され、C は更に O 及び R に変換され、R は一部がメチル化により S へと変換された。これらの分解物は両環ともに二酸化炭素へ無機化された。(参照 8)

(2) 土壌表面光分解試験

[ben-¹⁴C]シエノピラフェンまたは[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンをガラス製容器に入れた軽埴土(静岡)に 1.0 mg/kg (1,050 g ai/ha)となるように添加し、25±2°Cでキセノンランプ(光強度: 300 W/m²、測定波長: 300~800nm)を 10 日間にわたり照射し、土壌表面光分解試験が実施された。

処理 10 日後のシエノピラフェンの残存量は光照射区で 63.2~71.8%TAR、暗所区で 87.0~93.3%TAR であった。光照射区の分解物として B(最大 5.3% TAR)、C(1.4%TAR)、O(1.6%TAR)、R(1.0%TAR) 及び二酸化炭素(3.4% TAR)が検出された。一方、暗所区の分解物として B、C、R 及び二酸化炭素が検出されたが、いずれも 1%TAR を超えることはなかった。

シエノピラフェンの推定半減期及び 90%が分解するのに要した日数は、光照射区でそれぞれ 23.4 日及び 77.7 日、暗所区でそれぞれ 91.2 日及び 303

日であった。

シエノピラフェンは土壤表面にて光分解を受け、その一部が異性化し、Bが生成した。シエノピラフェン及びBはエステルの加水分解によりCへと変換され、Cは更にO及びRへと変換された。これらの分解物は両環ともに二酸化炭素へ無機化された。(参照9)

(3) 土壤吸着試験

4種類の土壤[壤土(埼玉県)、砂壤土(米国)、シルト質埴土(埼玉県)及び砂土(英国)]を用いて、土壤吸着試験が実施された。

Freundlichの吸着係数 K_{ads} は84.6~462、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は4,730~16,900であった。シエノピラフェンはシルト質埴土中では微移動性であったが、その他の土壤中では非移動性を示した。(参照10)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[ben-¹⁴C]シエノピラフェンまたは[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンをpH4(酢酸緩衝液)、pH7(リン酸緩衝液)及びpH9(ホウ酸緩衝液)の各緩衝液に0.05 mg/Lとなるように添加した後、暗条件下25°Cで30日間インキュベートし、加水分解試験が実施された。

30日後のpH4、7及び9の各緩衝液におけるシエノピラフェンの残存率は、[ben-¹⁴C]シエノピラフェンにおいてはそれぞれ85.4、42.0及び0.1% TARであり、[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンにおいてはそれぞれ89.7、41.8及び<0.1% TARであった。シエノピラフェンの加水分解速度はpHに依存し、推定半減期はpH4、7及び9の緩衝液において、それぞれ166日、25.7日及び0.9日でpHの上昇とともに分解速度が速くなった。全てのpHの緩衝液で10% TAR以上検出された分解物はCのみであった。Cの最大量は、pH4で10.6~11.1% TAR、pH7で53.8~56.9% TAR、pH9で98.9~101% TARであった。また、Q及びRが最大でそれぞれ6.2% TAR及び5.1% TAR(pH9、処理30日後)検出された。その他の分解物は1.6% TAR以下であった。

全てのpHの緩衝液中で、エステルの加水分解により生成したCが主要な分解物であった。Cは比較的安定であったが、徐々に分解し、二重結合の開裂に伴いQ及びRが生成した。(参照11)

(2) 水中光分解試験

[ben-¹⁴C]シエノピラフェンまたは[pyr-¹⁴C]シエノピラフェンを滅菌した蒸留水または自然水(小貝川、茨城県)にそれぞれ0.05 mg/Lとなるように加えた後、25±1°Cで10日間キセノンランプ照射(光強度:300 W/m²、測定波長:300~800nm)する、水中光分解試験が実施された。

滅菌蒸留水中においてシエノピラフェンは光照射により速やかに減衰し、照射 240 分後の残存率は 1% TAR 未満 (0.4~0.8% TAR) であった。主要分解物として、B (最大 19.6% TAR)、J (10.1% TAR)、K (24.9% TAR)、L (28.6% TAR)、M (17.5% TAR)、N (12.7% TAR) 及び F69 (J 及び K の構造異性体、14.6% TAR) が検出されたが、光照射 10 日後には全て 4% TAR 未満まで減少した。これら以外に、C、O 及び R を含む多くの分解物が検出された。一方、暗所区におけるシエノピラフェンの分解速度は光照射区と比べると緩慢であり、10 日後にシエノピラフェンは 70~90% TAR が残存し、主要分解物として C が最大 22.3% TAR 検出された。

シエノピラフェンは光照射により、滅菌自然水中において滅菌蒸留水中より速やかに減衰し、照射 1 日後の残存率は 0.1~0.6% TAR であった。主要分解物として B (17.9% TAR) 及び F24 (未同定分解物、22.3% TAR) が検出されたが、光照射 10 日後にはそれぞれ 0.1% TAR 未満及び 19.0% TAR に減少した。これら以外に C、J、K、L、M、N、O、R 及び F69 を含む多くの分解物が検出された。一方、暗所区では 10 日後にシエノピラフェンは 2% TAR 以下に減衰し、主要分解物として C が最大 95.0% TAR 検出された。

シエノピラフェンの緩衝液における実験条件下での推定半減期及び 90% が分解するのに要した日数は、0.02 日 (24.4 分) 及び 0.06 日 (80.9 分) であり、春季東京 (北緯 35°) の太陽光下で換算した推定半減期は 0.05 日 (74.0 分) であった。また、自然水における実験条件下での推定半減期及び 90% が分解するのに要した日数は、0.02 日 (31.8 分) 及び 0.07 日 (105.8 分) であり、春季東京 (北緯 35°) の太陽光下で換算した推定半減期は 0.07 日 (96.5 分) であった。

シエノピラフェンは光により異性化し B へ変換された後、次の異なる二通りの光環化反応を受けた。一つは J、K 及び F69 への変換後、L へ変換される経路で、もう一つは N への変換後、M へ変換される経路であった。上記環化物以外にシエノピラフェンのエステルの加水分解により C が生成し、これは O 及び R へと変換された。生成した光分解物の消失は速く、最終的には極性化合物及び二酸化炭素へ変換された。(参照 12)

5. 土壌残留試験

沖積・埴壌土 (高知) 及び火山灰・軽埴土 (熊本) を用い、シエノピラフェン及び分解物 C を分析対象化合物とした土壌残留試験 (圃場及び容器内) が実施された。結果は表 18 に示されており、推定半減期は、シエノピラフェンとして 2~5 日、シエノピラフェンと分解物 C の含量として 2~8 日であった。(参照 13)

表 18 土壌残留試験成績 (推定半減期)

試験		濃度 ¹⁾	土壌	推定半減期	
				シエノピラフェン	シエノピラフェン+分解物 C
圃場試験	畑地状態	300 g ai/ha	沖積・埴壤土	5 日	5 日
			火山灰・軽埴土	2~4 日	2~4 日
容器内試験	畑地条件	1.0 mg/kg	沖積・埴壤土	3 日	8 日
			火山灰・軽埴土	5 日	5 日

1) 圃場試験で 30%フロアブル剤、容器内試験で純品を使用

6. 作物残留試験

果物、野菜及び茶を用いて、シエノピラフェン、代謝物 B、C、D 及び E を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

結果は別紙 3 に示されており、シエノピラフェンの最高値は、最終散布 7 日後に収穫した茶 (荒茶) の 50.5 mg/kg であったが、散布 21 日後には 0.2 mg/kg に減少した。代謝物の最高値は、散布 7 日後に収穫した茶 (荒茶) における C の 5.33 mg/kg であったが、散布 21 日後には 0.18 mg/kg に減少した。(参照 14)

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、シエノピラフェンを暴露評価対象化合物として食品中から摂取される推定摂取量が表 19 に示されている (別紙 4)。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からシエノピラフェンが最大の残留を示す使用条件で、申請された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 19 食品中より摂取されるシエノピラフェンの推定摂取量

	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 (µg/人/日)	205	156	224	231

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 20 に示されている。(参照 15)

表 20 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)	SD ラット	雄 5	0、200、 600、2,000 (経口)	2,000	—	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	ビーグ ル犬	雄 3	0、200、 600、2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響なし

8. 急性毒性試験

シエノピラフェンの SD 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 21 に示されている。(参照 16~18)

表 21 急性毒性試験結果概要 (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 3 匹	—	>5,000	雌：立毛
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		雌雄：分泌物 (色素涙、赤色鼻汁)、被 毛の濡れ及び汚れ (白色)
		>5.01	>5.01	

代謝物 B、C、D、E 及び I の SD ラットまたは ICR マウス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 22 に示されている。(参照 19~23)

表 22 急性毒性試験結果概要 (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	B	SD ラット 雌 6 匹	>2,500	症状なし

経口	C	SD ラット 雌 6 匹	約 2,000	2,000 mg/kg 体重投与群で 3/6 匹死亡、円背位、嗜眠、運動失調、呼吸数減少、呼吸困難、立毛、四肢蒼白及び下痢
経口	D	SD ラット 雌 6 匹	>2,500	症状なし
経口	E	SD ラット 雌 6 匹	>2,500	症状なし
経口	I*	ICR マウス 雌 5 匹	>300	症状なし

*: 本化合物は光分解物の中でも合成が極めて困難であり、マウスで急性毒性を検討したが、限界投与量 2,000 mg/kg 体重での試験を実施できるほどの検体量は確保できなかった。

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW 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 24、25)

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。その結果、皮膚感作性は陽性と判断された。(参照 26)

CBA/Ca マウス (雌) を用いた局所リンパ節による皮膚感作性試験が実施された。その結果、皮膚感作性は陽性と判断された。(参照 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) を用いた混餌 (原体: 0、500、5,000 及び 20,000 ppm: 平均検体摂取量は表 23 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 23 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		500 ppm	5,000 ppm	20,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	39.5	409	1,660
	雌	46.2	465	1,820

各投与群で認められた毒性所見は表 24 に示されている。

血液生化学的検査において、雌の全投与群で Glu が減少したが、500 ppm 投与群においては背景データを下回るものは 1 例のみであり、本群の平均値は背景データの平均値と類似していたことから、検体投与による影響とは考

えられなかった。雌の全投与群で認められたカリウムの増加も、背景データ内であったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

尿検査において、雌の全投与群で尿 pH が低下したが、5,000 及び 500 ppm 投与群では、変化は軽微であり、用量相関が認められなかったので、検体投与による影響とは考えられなかった。また、雌の 20,000 ppm 投与群で尿蛋白が減少したが、この変化と関連する病理組織学的所見が認められなかったため検体投与による影響とは考えられなかった。

臓器重量測定において、20,000 ppm 投与群で認められた雄の心比重量¹の増加及び雌の脳、卵巣及び脾絶対重量の減少は、いずれも最終体重の減少による二次的变化と考えられた。

本試験において、5,000 ppm 以上投与群の雄に肝及び甲状腺/上皮小体比重量増加、雌に体重増加抑制、肝比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm (雄：39.5 mg/kg 体重/日、雌：46.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 28)

表 24 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
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 (2 週目まで) ・ 食餌効率低下 ・ Glu 減少、リン増加 ・ 尿 pH 低下 ・ 腎比重量増加、甲状腺/上皮小体絶対重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 消瘦 ・ 摂餌量減少 ・ 食餌効率低下 ・ TG 減少、リン増加 ・ 尿 pH 低下 ・ 腎比重量増加
5,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝及び甲状腺/上皮小体比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ Glu、T.Chol、カルシウム減少 ・ 肝比重量増加 ・ 腎尿細管褐色色素 (リポフスチン) 沈着
500 ppm	毒性所見なし	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、10、100 及び 300 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。

雌雄の全投与群において、投与 1 週時に体重増加抑制が認められた (雌では有意) が、2 週時以降は対照群と同等に増加したので、この変化に毒性学的意

¹ 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

義はないと考えられた。摂餌量において、300 mg/kg 体重/日投与群の雌で、投与 2 週時まで減少傾向が認められたが、3 週時以降は対照群と同等であった。従って、13 週間の平均摂餌量はやや低値を示したが、この変化に毒性学的意義はないと考えられた。

血液学的検査及び血液生化学的検査において、統計学的有意差の見られた項目が認められたが、用量相関がないこと、投与前の傾向を反映していること、または一過性の変化であることから、検体投与の影響ではないと考えられた。

300 mg/kg 体重/日投与群雌で、胸腺の比重量が増加したが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。また、病理組織学的検査において、300 及び 100 mg/kg 体重/日投与群雄で胸腺の濾胞明瞭化が有意に増加したが、胸腺の毒性を示唆する血液学的変化は認められなかった。従って、これらの変化に毒性学的意義はないと考えられた。

本試験において、雌雄の全投与群に毒性変化は認められなかったので、無毒性量は雌雄とも 300 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 29)

(3) 21 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 6 匹) を用いた閉塞貼付 (原体: 0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、6 時間/1 回/日) 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 25 に示されている。

投与部位の皮膚の刺激性変化を観察したが、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査において、1,000 mg/kg 体重/日投与群雌雄の投与部位皮膚に、痂皮、過角化症、表皮過形成等が認められたが、これらの変化は対照群にも認められたことから、投与方法に起因した変化であり、検体による毒性影響とは考えられなかった。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄に体重増加抑制及び食餌効率減少が認められ、雌では検体投与による影響は認められなかったので、無毒性量は雄で 300 mg/kg 体重/日、雌で 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 30)

表 25 21 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 mg/kg 体重/日	・ 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) を用いたゼラチンカプセル経口 (原体: 0、2、20、200 及び 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。

各投与群で認められた毒性所見は表 26 に示されている。

血液生化学的検査において、400 及び 200 mg/kg 体重/日投与群の雄で Glu の増加及び T.Chol の減少、400 mg/kg 体重/日投与群の雌で尿素の減少が認められたが、これらに対応する病理組織学的変化また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ではないと考えられた。

尿検査において、尿比重の増加が 400 mg/kg 体重/日投与群雌雄で、尿蛋白の減少が 400 mg/kg 体重/日投与群雌雄及び 200 mg/kg 体重/日投与群雌で、尿 pH の上昇が 400 mg/kg 体重/日投与群雌で認められたが、腎毒性を示唆する病理組織学的所見が認められなかったことから、検体または代謝物の排泄に対する腎臓の適応性応答と考えられた。

臓器重量測定において、400 mg/kg 体重/日投与群で雄の心臓及び雌の甲状腺、400 及び 200 mg/kg 体重/日投与群で雌の腎臓の比重量が増加したが、関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的意義のない変化であると考えられた。400 及び 200 mg/kg 体重/日投与群の雌で下垂体絶対重量が増加したが、比重量に変化はなかったため、生物学的変動と考えられた。

剖検所見及び病理組織学的所見に検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、400 mg/kg 体重/日投与群の雄では検体投与の影響が認められず、雌では体重増加抑制、摂餌量減少等が認められたので、無毒性量は雄で 400 mg/kg 体重/日、雌で 200mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 31)

表 26 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
400 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ Ht、Hb、RBC 減少
200 mg/kg 体重/日 以下		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: 発がん性群雌雄各 50 匹、慢性毒性群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、100 (慢性毒性群のみ)、2,000、10,000 (発がん性群のみ) 及び 20,000ppm: 平均検体摂取量は表 27 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 27 2 年間慢性毒性／発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量（mg/kg 体重/日）

投与量		20 ppm	100 ppm	2,000 ppm	10,000 ppm	20,000 ppm
慢性毒性群 (1-52 週)	雄	1.0	5.1	104	—	1,050
	雌	1.3	6.9	140	—	1,390
発がん性群 (1-104 週)	雄	0.92	—	91	460	967
	雌	1.2	—	124	641	1,540

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

各投与群で認められた毒性所見は表 28 に示されている。

血液学的検査において、20,000 及び 2,000 ppm 投与群雌では投与 13 週時に APTT が短縮し、投与 26 週時にも 100 ppm 以上の投与群雄で同様の変化が認められたが、雌雄で一貫性がないこと及び投与 52 週時に同様の変化が認められなかったことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。その他に認められた、Hb、MCH、MCHC、WBC、Neu、Lym 等の変化も、用量との関連が認められず、雌雄及び検査時期で一貫性が認められないことから、いずれも検体投与の影響ではないと考えられた。

血液生化学的検査において、TG が投与 52 週時に雌の全投与群で有意に低い値を示したが、投与 26 週時では認められず、また、いずれの動物の個体別値にも異常が認められなかったので、投与に起因するものとは考えられず、対照群の雌 2 匹で個体別値が高値を示したことが一因と考えられた。カルシウムに関しては、投与 26 週時に 20,000 ppm 投与群雌で、投与 52 週時に 20,000 ppm 投与群雌雄及び 2,000 ppm 投与群雌に認められた低値以外にも、投与 26 及び 52 週時に有意な低値が認められたが、上記群では背景データの範囲を外れる低値が認められたのに対し、その他の群ではいずれも範囲内の軽微な変動であったので、毒性学的意義のない変化と考えられた。

尿検査において、尿蛋白の減少が 2,000 ppm 以上の投与群の雄（投与 25 及び 51 週時）及び 100 ppm 以上の投与群の雌（投与 25 及び 51 週時）で認められたが、これらの変化に関連すると思われる病理組織学的所見が腎臓に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。

腫瘍性病変について、10,000 ppm 以上の投与群雌において、子宮内膜腺癌の発生頻度が増加し、背景データ (0~8.3%) の範囲を超えていた (表 29)。これらの群では子宮内膜腺腫が各 2 例認められ、子宮内膜腺腫及び腺癌の発生頻度の合計が、10,000 ppm 以上の投与群で有意に高かった。また前腫瘍性病変と考えられる子宮内膜過形成の発生頻度が 10,000 ppm 以上の投与群で有意に増加した。

上記の腫瘍以外に、20,000 ppm 投与群雄において甲状腺の C 細胞腺腫の

発生頻度が有意に増加したが、背景データ（4.0~13.6%）の範囲内であり、また、10,000 ppm 投与群雌では子宮内膜間質ポリープが有意に増加したが、用量相関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。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雄に TG 減少、腎及び肝比重量増加等、雌に T.Chol 減少、甲状腺濾胞上皮細胞過形成等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：5.1 mg/kg 体重/日、雌：6.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 32）

表 28 2年間慢性毒性／発がん性併合試験（ラット）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

試験群	投与群	雄	雌
慢性毒性群	20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・T.Chol、カルシウム、TP、Alb 減少 ・尿 pH 低下 ・び慢性肝細胞肥大 ・腎皮質尿細管褐色色素沈着 ・甲状腺濾胞上皮細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・尿 pH、尿比重 ・腎比重量増加、肝比重量増加、甲状腺絶対重量増加 ・子宮嚢胞 ・び慢性肝細胞肥大 ・小葉中心性肝細胞肥大(2匹) ・腎皮質尿細管褐色色素沈着 ・子宮腺腔拡張
	2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・TG 減少 ・腎及び肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・PT 延長 ・T.Chol、カルシウム減少 ・甲状腺比重量増加 ・甲状腺濾胞上皮細胞過形成
	100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし
発がん性群	20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率低下 ・腎暗調化、子宮腔内液貯留、子宮腺癌腹腔内転移巣、 ・膣及び子宮頸部粘液細胞層減少
	10,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・腎絶対及び比重量増加 ・腎皮質尿細管褐色色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・腎、肝及び甲状腺比重量増加、子宮絶対及び比重量増加 ・子宮腫瘤増加 ・子宮内膜過形成 ・眼球網膜萎縮 ・腎皮質尿細管褐色色素沈着

2,000 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし
-----------------	--------	--------

表 29 子宮内膜過形成、腺腫及び腺癌の発生頻度

投与群 (ppm)	0	20	2,000	10,000	20,000
検査動物数	50	50	50	50	50
子宮内膜過形成	3	6	6	12 ↑	16 ↑
子宮内膜腺腫	0	0	0	2	2
子宮内膜腺癌	1	1	4	5	16 ↑*
子宮内膜腺腫及 び腺癌の合計	1	1	4	7 ↑*	18 ↑*

Fisher 直接確率法 ; ↑ : p<0.05、↑↑ : p<0.01、Peto 検定 ; ↑* : 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、80、800、4,000 及び 8,000 ppm : 平均検体摂取量は表 30 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 30 18 カ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		80 ppm	800 ppm	4,000 ppm	8,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9.3	92.5	465	938
	雌	11.9	110	581	1,230

各投与群とも検体投与に起因する死亡率の増加を示さなかった。

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

血液塗抹検査 (0 及び 8,000 ppm 投与群のみ実施) において、8,000 ppm 投与群雌雄で投与 52 週時に認められた Neu 比の減少及び Lym 比の増加は、78 週時には同様の変化が認められず、また、同群雄で認められた Eos 比率の増加は、雌では認められなかったため、いずれも偶発的変化と考えられた。

臓器重量測定において、8,000 ppm 投与群の雌で腎比重量の増加が認められたが、絶対重量の増加はなく、腎重量の変化に関連すると思われる病理組織学的所見が腎臓に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。

検体投与に関連して増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験において、4,000 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制、肝絶対及び比重量増加等、8,000 ppm 投与群の雌で肝絶対及び比重量増加等が認められたため、無毒性量は雄で 800 ppm (92.5 mg/kg 体重/日)、雌で 4,000 ppm (581 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

表 31 18 カ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
8,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率減少 ・腎絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・肝門脈周囲性炎症/壊死 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・脾髄外造血
4,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制(投与 1 週) ・肝絶対及び比重量増加 ・腸間膜リンパ節うっ血 ・唾液腺線条部上皮過形成 	4,000 ppm 以下毒性所見なし
800 ppm 以下	毒性所見なし	

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(P)/24(F₁)匹）を用いた混餌（原体：0、60、300、1,500 及び 7,500 ppm：平均検体摂取量は表 32 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 32 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量（mg/kg 体重/日）

投与群		60 ppm	300 ppm	1,500 ppm	7,500 ppm
P 世代	雄	4.9	24.2	122	620
	雌	5.4	27.4	138	697
F ₁ 世代	雄	5.8	28.4	147	—
	雌	6.2	30.9	155	—

—：算出せず。

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 33 に示されている。

親動物では、7,500 ppm 投与群で交尾までの日数が長い雌が多かった。剖検及び病理組織学的所見に検体投与の影響は認められなかった。

1,500 ppm 以下の投与群においては、いずれの世代においても、臨床症状、体重、摂餌量、繁殖能、剖検及び病理組織学的所見に検体投与の影響は認められなかった。

7,500 ppm 投与群の P 世代では、F₁ 動物の離乳後成長障害、重篤な臨床

症状及び体重増加量の著明な減少が認められたため、F₁ 動物を途中殺した。そのため、7,500 ppm 投与群の F₁ 世代以降の評価はできなかった。

1,500 ppm 以下の投与群では、F₁ 及び F₂ 動物とも、その成長及び発育に検体投与の影響は認められなかった。1,500 ppm 投与群 F₁ 雌において、胸腺の比重量が対照群と比較して低値であったが、F₂ 世代で同様の所見が再現されなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

本試験において、親動物では 7,500 ppm 投与群の雄で体重増加抑制 (P)、摂餌量減少 (P) 等が、1,500 ppm 投与群の雌で副腎の絶対及び比重量増加 (P) が認められ、児動物では 7,500 ppm 投与群で同腹児数減少 (F₁)、体重増加抑制 (F₁) 等が認められたことから、無毒性量は親動物の P 世代雄及び F₁ 世代雌雄で 1,500 ppm (P 雄 : 122 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 147 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 155 mg/kg 体重/日)、P 世代雌で 300 ppm (27.4 mg/kg 体重/日)、児動物で 1,500 ppm (P 雄 : 122 mg/kg 体重/日、P 雌 : 138 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 147 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 155 mg/kg 体重/日) と考えられた。(参照 34)

表 33 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	7,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・食餌効率減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・脱毛 ・妊娠期間短縮 ・着床数減少 ・卵巣絶対及び比重量減少 		
	1,500 ppm 以上	1,500 ppm 以下毒性所見なし	副腎絶対及び比重量増加	1,500 ppm 以下毒性所見なし	1,500 ppm 以下毒性所見なし
	300 ppm 以下		毒性所見なし		
児動物	7,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・同腹児数減少 ・出生時低体重 ・体重増加抑制 ・包皮分離遅延 	<ul style="list-style-type: none"> ・同腹児数減少 ・出生時低体重 ・体重増加抑制 		
	1,500 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