

日、埴壤土では 14 日であり、両土壤での主要分解物は B であった。B は埴壤土では 60 日後及び 92 日後で最大値 0.114 mg/kg 及び 0.122 mg/kg を示した後、減少した。また、N は 60 日後から生成し、120 日後で 0.011~0.014 mg/kg であった。さらに F は、120 日後に 0.006~0.007 mg/kg が生成した。

カフェンストロールの主要分解経路は、脱ジエチルカルバモイル化による B の生成、それに続くトリアゾール環 1 位のメチル化による N の生成またはベンゼン環 4 位のメチル基の酸化による F の生成であり、B、F 及び N は土壤に吸着し土壤結合性残留物となった後、土壤微生物によりさらに分解されて最終的には CO₂ 等になると考えられた。(参照 16)

(2) 好氣的土壤中運命試験 (畑条件試験)

[tri5-¹⁴C]カフェンストロールを火山灰・砂壤土 (栃木) に乾土あたり 2 mg/kg となるように添加し、30℃の条件下で 7~154 日間インキュベートし、畑条件下における好氣的土壤中運命試験が実施された。

カフェンストロールの好氣的畑地土壤における推定半減期は 22 日であった。主要分解物は B であり、30 日後に最大値 18.7%TAR (0.363 mg/kg) を示した後、減少した。F は 30 日後に最大値 0.4%TAR (0.008 mg/kg) が生成した以外はいずれの時点でも 0.4%TAR 以下であった。土壤結合性残留物画分は経時的に増加し、154 日後に 66.2%TAR となった。土壤結合性残留物画分の腐植分析を行ったところ、フミン、フルボ酸、腐植酸の順に放射能が分布した。また、フルボ酸画分中から B 及び F が検出された。

畑条件下でのカフェンストロールの主要分解経路は湛水条件とほぼ同じで、脱ジエチルカルバモイル化による B の生成、それに続くベンゼン環 4 位のメチル基の酸化による F の生成であり、B、F は土壤に吸着して土壤結合性残留物となり、土壤微生物によりさらに分解され最終的には CO₂ 等になると推定された。(参照 17)

(3) 土壤分解補完試験 (滅菌条件、嫌氣的条件、好氣的振とう条件)

[tri5-¹⁴C]カフェンストロールを湛水状態にした滅菌埴壤土 (静岡) に乾土あたり 0.8 mg/kg となるように添加し、25℃で 1 年間暗所下インキュベートし、滅菌条件における土壤分解補完試験が実施された。カフェンストロールは 1 年後でも 80%TAR 存在し、B は 1 年後に 2.6%TAR 生成したが、F 及び N は検出されなかった。

[tri5-¹⁴C]カフェンストロールを湛水状態の埴壤土 (静岡) に乾土あたり 0.38 mg/kg となるように添加し、CO₂ を充填したデシケーター内で 210 日間暗所下インキュベートし、嫌氣的条件における土壤分解補完試験が実施された。カフェンストロールの推定半減期は 40 日であった。主要分解物の B は、90 日後で最大値 0.131 mg/kg を示した後、減少する傾向を示した。E

は 90 日後から生成が見られ、210 日後に 0.011 mg/kg 検出された。F は 150 日後に 0.004 mg/kg 生成した。

また、[tri5-¹⁴C]カフェンストロールまたは[ben-¹⁴C]カフェンストロールを湛水状態の埴壤土（静岡）に乾土あたり 0.38 または 0.33 mg/kg となるように添加し、30℃の好氣的条件下で 7 日間暗所で振とうさせながらインキュベートし、好氣的振とう条件における土壌分解補完試験が実施された。好氣的振とう条件でのカフェンストロールの推定半減期は、好氣的湛水条件での土壌分解試験とほぼ同じ 12~13 日であった。分解物は B、F 及び N であった。好氣的振とう条件での推定分解経路は、好氣的湛水条件での土壌分解経路と同様な経路であると考えられた。

[ben-¹⁴C]分解物 B を湛水状態の埴壤土（静岡）に 0.33 mg/kg となるように添加し、30℃の暗所で 120 日間インキュベートし、カフェンストロールの分解経路を確認する試験が実施された。120 日後の土壌非抽出画分から、55%TAR の放射能が検出された。分解物 N は試験開始 30 日後から、分解物 F は試験開始 92 日後から検出され、120 日後には F が 5%TAR 及び 7.5%TAR 検出され、分解物 B は 31%TAR が検出された。分解物 B は N を経て F を形成すると考えられた。

湛水状態の栃木及び静岡の土壌に [tri5-¹⁴C]カフェンストロールまたは [ben-¹⁴C]カフェンストロールをそれぞれ 0.38 mg/kg または 0.33 mg/kg となるように添加後、25℃の暗所で 1 年間インキュベートし、カフェンストロールが土壌中で CO₂ にまで分解することを確認する試験が実施された。1 年間の累積 CO₂ 発生量は、栃木土壌では 1.0%TAR~2.9%TAR、静岡土壌では 4.3%TAR であった。（参照 16）

（4）土壌吸着試験

5 種類の国内土壌（シルト質埴土：宮城、軽埴土：新潟、埴壤土：静岡、壤土：岡山及び砂壤土：青森）を用いて、土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 10~236、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 350~7,690 であった。（参照 18、73）

4. 水中運命試験

（1）加水分解試験

非標識カフェンストロールを用い、pH 3、7 及び 9 の各緩衝液（Clark-Lubs 緩衝液）に 1 mg/L となるように添加し、暗所、20℃で加水分解試験が実施された。

pH 7、20℃ではほとんど分解が見られなかったため、30℃及び 40℃の実験値から推定半減期を外挿した結果、679 日であった。pH 9 では推定半減期は 70.8 時間であった。pH 3、50℃で予備試験を実施した結果、添加 5 日後

に93%が残存し、酸性条件下では安定であった。

また、[ben-¹⁴C]カフェンストロールまたは[tri3-¹⁴C]カフェンストロールを用い、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) に 1.25 mg/L となるように添加し、暗所、25°C で加水分解試験が実施された。

推定半減期は、pH 7 では 124 日、pH 9 では 2.84 日であった。いずれの緩衝液においても、主要分解物 B が同定され、その量は、30 日間インキュベーション後の pH 7 緩衝液中に平均 13.4% TAR、pH 9 緩衝液では 7 日間インキュベーション後には 81.5% TAR であった。B は試験期間中にそれ以上の分解は見られなかった。(参照 19、20)

(2) 水中光分解試験 (自然水、蒸留水)

非標識カフェンストロールを自然水 (河川水: 岩手県 北上川、東京都 荒川、岐阜県 長良川) 及び滅菌蒸留水に 0.1 mg/L となるように添加し、蛍光ケミカルランプ (光強度: 試験開始時 6.5~6.9 W/m²、試験終了時 3.7~4.1 W/m²、波長: 300~400 nm) を用いた水中光分解試験が実施された。

推定半減期は自然水では 10.7~19.1 日、滅菌蒸留水では 17.1 日 (東京、春の太陽光換算で各々 7.3~13.0 日、11.6 日) であった。分解物として B が検出された。

[ben-¹⁴C]カフェンストロールまたは[tri3-¹⁴C]カフェンストロールを自然水 (河川水: 英国、pH 8.2) 及び滅菌蒸留水にそれぞれ 1.25 mg/L となるように添加し、約 25°C で 36 時間キセノン光照射 (波長範囲 300~400 nm、平均光強度は自然水で 56.0 W/m²、蒸留水で 55.3 W/m²) する水中光分解試験が実施された。

推定半減期は自然水で 24.5 時間、滅菌蒸留水で 18.2 時間 (東京、春の太陽光換算で各々 7.36 日、5.17 日) であった。

[ben-¹⁴C]カフェンストロールは光照射により揮発性成分 (主として CO₂) が、蒸留水及び自然水中で 36 時間後に 6.5% TAR 及び 1.4% TAR 生成した。36 時間後、親化合物は 24~25% TAR が残存し、B を含む多数の分解物が同定された。いずれも、10% TAR を超える分解物は見られなかった。

[tri3-¹⁴C]カフェンストロールは、36 時間後の蒸留水中で 20% TAR、自然水中で 60% TAR が残存した。[ben-¹⁴C]カフェンストロールを用いて実施された試験と比べて分解物数が少数であった。主たる分解物は極性成分及び PT5 (極性化合物) であり、極性成分は自然水中で最大 41.4% TAR に達し、その後減衰した。PT5 は蒸留水中及び自然水中で、66.3% TAR 及び 20.4% TAR 同定された。その他 B 及びヒドロキシル化された B を含むトリメチルフェニルスルホントリアゾール構造を有する少量分解物が多数検出された。(参照 21、22)

5. 土壤残留試験

(1) 水田（湛水）条件

火山灰・壤土（栃木）及び沖積・壤土（岡山）を用いて、カフェンストロール、分解物 B 及び N を分析対象化合物とした土壤残留試験（容器内及び圃場）が実施された。推定半減期は表 4 に示されている。（参照 23）

表 4 土壤残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壤	カフェンストロール	カフェンストロール+分解物 (B、N)
容器内試験	0.3 mg/kg	火山灰・壤土	13.9 日	86.0 日
		沖積・壤土	8.9 日	82.4 日
圃場試験	300 g ai/ha	火山灰・壤土	7 日以内	115 日
		沖積・壤土	7 日以内	3.2 日

※圃場試験で粒剤、容器内試験で純品を使用

(2) 畑地条件

カフェンストロール及び分解物 B を分析対象化合物とし、火山灰・砂壤土（栃木）及び洪積・砂壤土（福岡）を用いた土壤残留試験（圃場）と火山灰・壤土（福島）、火山灰・軽埴土（静岡）及び洪積・砂壤土（福岡）を用いた土壤残留試験（容器内）が実施された。推定半減期は表 5 に示されている。（参照 24）

表 5 土壤残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壤	カフェンストロール	カフェンストロール+B
圃場試験	2,000 g ai/ha	火山灰・砂壤土	11 日	9.4 日
		洪積・砂壤土	4 日	3.7 日
容器内試験	2.0 mg/kg	火山灰・壤土	11 日	24.3 日
		火山灰・軽埴土	15 日	48.2 日
		洪積・砂壤土	18 日	140 日

※圃場試験で水和剤、容器内試験で純品を使用

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻を用いて、カフェンストロール、代謝物 B、D 及び G 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、全て定量限界未満であった。（参照 25~27）

(2) 魚介類における最大推定残留値

カフェンストロール及び代謝物 B の公共用水域における予測濃度である水産動植物被害予測濃度（水産 PEC）及び生物濃縮係数（BCF）を基に、魚介類の最大推定残留値が算出された。

カフェンストロール及び代謝物 B の水産 PEC は 0.18 ppb、BCF は 148（試験魚介類：シジミ）、魚介類における最大推定残留値は 0.13 mg/kg であった。

上記の魚介類における最大推定残留値に基づき算出した、カフェンストロール及び代謝物 B を暴露評価対象化合物とした際に食品中から摂取される推定摂取量が表 6 に示されている。なお、本推定摂取量の算定は、魚介類への残留が上記の最大推定残留値を示し、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 6 食品中より摂取されるカフェンストロール及び代謝物 B の推定摂取量

作物等名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重：53.3 kg)		小児（1~6 歳） (体重：15.8 kg)		妊婦 (体重：55.6 kg)		高齢者(65 歳以上) (体重：54.2 kg)	
		ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量
魚介類	0.13	94.1	12.2	42.8	5.56	94.1	12.2	94.1	12.2
合計			12.2		5.56		12.2		12.2

- ・残留値は最大推定残留値を用いた。
- ・玄米のデータは全て定量限界未満であったため、摂取量の計算に含めていない。
- ・「ff」：平成 10 年～12 年の国民栄養調査（参照 70~72）の結果に基づく摂取量（g/人/日）
- ・妊婦及び高齢者の魚介類の ff は国民平均の ff を用いた。
- ・「摂取量」：残留値から求めたカフェンストロール及び代謝物 B の推定摂取量（μg/人/日）

7. 一般薬理試験

マウス及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 7 に示されている。（参照 28）

表 7 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)	ICR マウス	雌雄 3	0、78.1、313、 1,250、5,000 (腹腔内)	313	1,250	運動性低下、運動失調、筋緊張低下、反射低下等の非特異的な抑制性の変化 1,250 mg/kg 体重以上で全例死亡

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	
一般状態	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、313、1,250、 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし	
	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、313、1,250、 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし	
	ICR マウス	雄 10	0、19.5、78.1、 313、1,250、 5,000 (腹腔内)	19.5	78.1	睡眠時間の延長	
呼吸・ 循環器系	呼吸、血圧、 心電図、心拍 数	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0、1,250、 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
消化器系	小腸 炭末輸送能	ICR マウス	雄 10	0、19.5、78.1、 313、1,250、 5,000 (腹腔内)	313	1,250	輸送能の抑制

*：検体は全て 1%Tween80 水溶液に溶解して用いられた。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

カフェンストロール、各種代謝物及び各種原体混在物を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 8 及び 9 に示されている。(参照 29~32、34~39)

表 8 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与 経路	動物種 (溶媒)	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		症状
		雄	雌	
経口	Fischer ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
経口	ICR マウス 一群雌雄各 5 匹 (0.5% Tween80 水溶液)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
経皮	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (蒸留水)	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 一群雌雄各 6 匹	LC ₅₀ (mg/L)		暴露終了時に雌雄とも軽度な流涎
		>1.97	>1.97	

				死亡例なし
--	--	--	--	-------

表9 急性毒性試験結果概要（代謝物及び原体混在物）

検体	投与経路	動物種 (溶媒)	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		症状
			雄	雌	
代謝物 B	経口	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	1,220	928	自発運動量の減少、歩行失調、腹臥位、呼吸異常、眼瞼下垂、流涙等 死亡例あり
代謝物 G	経口	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
代謝物 N	経口	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
原体混在物 1	経口	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	1,400	1,169	自発運動量の減少、歩行失調、振戦、チアノーゼ、腹臥位、呼吸異常、流涙等 死亡例あり
原体混在物 2	経口	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
原体混在物 3	経口	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし

(2) 急性遅発性神経毒性試験

ニワトリ (Sterling Ranger 交雑種、一群雌 6~12 羽) を用いた経口 (0、5,000 mg/kg 体重、21 日間隔で 2 回) 投与による急性遅発性神経毒性試験が実施された。

各投与後わずかな体重減少が見られたが、全観察期間を通して急性遅発性神経毒性は認められなかった。(参照 33)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

日本白色種ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験及び眼一次刺激性試験が実

施された。皮膚に対する刺激性は認められず、眼に対して可逆性の極軽度の刺激性が認められた。(参照 40、41)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法及び Maximization 法) が実施されており、ともに皮膚感作性は認められなかった。(参照 42、43)

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 (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、200 及び 800 ppm : 平均検体摂取量は表 10 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 10 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	200 ppm	800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.8	11.4	45.8
	雌	3.2	13.0	52.0

各投与群で認められた毒性所見は表 11 に示されている。

本試験において、800 ppm 投与群雄で体重増加抑制及び摂餌量減少等、50 ppm 以上投与群雌で体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雄で 200 ppm (11.4 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm 未満であると考えられた。(参照 44)

表 11 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) で認められた所見

投与群	雄	雌
800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ T.Chol、PL、FFA 及び TP 減少 ・ GPT 及び A/G 比上昇 ・ 空腸粘膜の乳白色化 ・ 空腸絨毛上皮細胞脂肪滴増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少 ・ 空腸粘膜の乳白色化 ・ 空腸絨毛上皮細胞脂肪滴増加
200 ppm 以上	200 ppm 以下毒性所見なし	
50 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 	

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 24 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、20、200 及び 2,000 ppm : 平均検体摂取量は表 12 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 12 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	200 ppm	2,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.8	27.6	285
	雌	3.2	32.9	312

本試験において、2,000 ppm 投与群雌雄で赤血球 ChE 活性低下、200 ppm 以上投与群雌で Ht 及び RBC 減少、T.Chol 増加が認められたので、無毒性量は雄で 200 ppm (27.6 mg/kg 体重/日)、雌で 20 ppm (3.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 45)

(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）を用いたカプセル経口（原体：0、10、30、90 及び 270 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 13 に示されている。

本試験において、10 mg/kg 体重/日以上投与群雄で赤血球 ChE 活性低下、30 mg/kg 体重/日以上投与群雌で胆管上皮細胞脂肪滴増加等が認められたので、無毒性量は雄で 10 mg/kg 体重/日未満、雌で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 46)

表 13 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）で認められた所見

投与群	雄	雌
270 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> 尿比重上昇 CPK 活性低下 肝細胞好酸化 	<ul style="list-style-type: none"> 振戦 肺気管支起始部褐色/暗赤色 肝細胞好酸化
90 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> 後肢の運動失調 体重増加抑制 食餌効率低下 尿潜血反応陽性 肺気管支起始部褐色/暗赤色 肺炎症性細胞浸潤 肺胞マクロファージ増加 神経線維の変性（延髄、胸・腰髄、腰髄背根、坐骨神経、腓骨神経） 	<ul style="list-style-type: none"> 後肢の運動失調 食餌効率低下 赤血球 ChE 活性低下 神経線維の変性（延髄、胸・腰髄、腰髄背根、坐骨神経、腓骨神経）
30 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> Hb、Ht 及び RBC 減少 α_2-Glob 分画の増加 胆管上皮細胞脂肪滴増加 	<ul style="list-style-type: none"> Hb、Ht 及び RBC 減少 胆管上皮細胞脂肪滴増加 肺炎症性細胞浸潤 肺胞マクロファージ増加
10 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> 赤血球 ChE 活性低下 	毒性所見なし

日以上		
-----	--	--

(4) 90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、12.5、100及び800ppm:平均検体摂取量は表14参照)投与による90日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表14 90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		12.5 ppm	100 ppm	800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/ 日)	雄	0.86	6.76	54.7
	雌	0.99	7.74	61.9

本試験において、800ppm投与群雌雄で食餌効率の軽度な低下が認められたので、無毒性量は雌雄とも100ppm(雄:6.76mg/kg体重/日、雌:7.74mg/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47)

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、0.1、0.3、10及び30mg/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15に示されている。

本試験において、30mg/kg体重/日投与群雄で肝小葉間胆管上皮脂肪滴増加、10mg/kg体重/日以上投与群雌でHb、Ht及びRBCの減少が認められたので、無毒性量は雄で10mg/kg体重/日、雌で0.3mg/kg体重/日であると考えられた。(参照48)

表15 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
30 mg/kg 体重/日	・肝小葉間胆管上皮脂肪滴増加	・肝小葉間胆管上皮脂肪滴増加
10 mg/kg 体重/日 以上	・10 mg/kg 体重/日以下毒性所見なし	・Hb、Ht 及び RBC 減少
0.3 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)

Fischerラット(一群雌雄各60匹、中間と殺群雌雄各10匹)を用いた混

餌（原体：0、12.5、400 及び 800 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/発がん性併合試験が実施された。

表 16 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

投与群		12.5 ppm	400 ppm	800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.44	14.3	28.6
	雌	0.53	17.7	36.0

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、400 ppm 以上投与群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 12.5 ppm（雄：0.44 mg/kg 体重/日、雌：0.53 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 49）

表 17 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

投与群	雄	雌
800 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少 ・ T.Chol 減少 ・ PL 減少 ・ 肝絶対及び比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量減少 ・ 食餌効率低下
400 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 赤血球 ChE 活性低下 ・ 副腎、脾絶対及び比重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 赤血球 ChE 活性低下
12.5 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 18 ヶ月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 72 匹）を用いた混餌（原体：0、10、100 及び 1,000 ppm：平均検体摂取量は表 18 参照）投与による 18 ヶ月間発がん性試験が実施された。

表 18 18 ヶ月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	100 ppm	1,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.09	11.1	108
	雌	0.99	10.0	107

本試験において、1,000 ppm 投与群雌雄で赤血球 ChE 活性低下が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：11.1 mg/kg 体重/日、雌：10.0 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 50）

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 30 匹）を用いた混餌（原体：0、50、1,000 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 19 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 19 2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	1,000 ppm	5,000 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	2.25	46.8	253
		雌	2.61	53.4	289
	F ₁ 世代	雄	3.20	65.8	355
		雌	3.48	73.2	389

各投与群で認められた毒性所見は表 20 に示されている。

親動物では、5,000 ppm 投与群雌雄で体重増加抑制等、雌で妊娠期間短縮等、1,000 ppm 以上投与群雌雄で空腸絨毛上皮空胞化等が認められた。また、5,000 ppm 投与群 F₁ 雄で肛門生殖突起間距離短縮等、1,000 ppm 以上投与群 F₁ 雌で生殖結節・膣口間距離短縮等が認められた。

児動物では、5,000 ppm 投与群で出産生存時数減少等、F₂ では 1 母体の児動物を除いて生後 3 日までに他の母体の児動物の死亡が認められた。1,000 ppm 以上投与群で児動物の体重増加抑制等が認められた。

本試験において、親動物及び児動物に対する無毒性量は、雌雄とも 50 ppm（P 雄：2.25 mg/kg 体重/日、P 雌：2.61 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：3.20 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 3.48 mg/kg 体重/日）、繁殖能については 1,000 ppm（P 雄：46.8 mg/kg 体重/日、P 雌：53.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：65.8 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：73.2 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 51）

表 20 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	5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・妊娠期間短縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・肛門生殖突起間距離短縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・尿道下裂 ・妊娠期間短縮 ・出産児数減少

	1,000 ppm 以上	・空腸粘膜乳白色化 ・空腸絨毛上皮空胞化	・空腸粘膜乳白色化 ・空腸絨毛上皮空胞化	・空腸粘膜乳白色化 ・空腸絨毛上皮空胞化	・生殖結節・膣口間距離短縮 ・空腸粘膜乳白色化 ・空腸絨毛上皮空胞化
	50 ppm	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	5,000 ppm	・出産生存児数減少 ・生後4日以降の体重増加抑制	・出産生存児数減少 ・生後4日以降の体重増加抑制	・出産生存児数減少 ・4日生存率低下 ・出生時体重低下	・出産生存児数減少 ・4日生存率低下 ・出生時体重低下
	1,000 ppm 以上	・離乳前の体重増加抑制	・離乳前の体重増加抑制	・生後4日以降の体重増加抑制 ・4日生存率低下	・生後4日以降の体重増加抑制 ・4日生存率低下
	50 ppm	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 24 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体 : 0、40、200 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%CMC) 投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 200 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制がみられたが、胎児では検体投与に関連した毒性所見は認められなかったため、無毒性量は母動物で 40 mg/kg 体重/日、胎児で 1,000 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 52)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ (一群雌 16 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体 : 0、20、100 及び 500 mg/kg 体重/日 溶媒 : 0.5%CMC) 投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 500 mg/kg 体重/日投与群で流産 (妊娠 20、23 日に各 1 例)、死亡 (妊娠 24 日 : 1 例) 及び体重増加抑制が認められたが、胎児では検体投与に関連した影響は認められなかったことから、無毒性量は母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で 500 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 53)

1.3. 遺伝毒性試験

カフェンストロールの細菌を用いた 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由来線維芽細胞株 (CHL) を用いた染色体異常試験、マウスを用いた小核試験が実施された。結果は表 21 に示されており、全て陰性であった。カフェンストロールに遺伝毒性はないと考えられた。

また、カフェンストロールの代謝物 B、G、N 及び原体混在物 1、2、3 について、細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。結果は表 22 に示されている。いずれの試験においても結果は陰性であった。(参照 54~63)

表 21 遺伝毒性試験結果概要 (原体)

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株)	0~2,000 µg/disc (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA 株)	0~2,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター 肺由来線維芽細胞株(CHL)	0~25 µg/mL (+/-S9)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (一群雄 7 匹)	0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重 (単回腹腔内投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

表 22 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物及び原体混在物)

試験	被験物質	対象	処理濃度・投与量	結果
復帰突然変異試験	代謝物 B	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	0~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	代謝物 G			陰性
	代謝物 N			陰性
	原体混在物 1	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	0~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	原体混在物 2			陰性
	原体混在物 3			陰性

1.4. その他の毒性試験

(1) 28 日間亜急性毒性試験 -ChE 活性検討- (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 6 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、12.5、50 及び 200 ppm : 平均検体摂取量は表 23 参照) 投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 23 28 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		12.5 ppm	50 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/ 日)	雄	0.91	4.1	15.4
	雌	0.96	4.3	16.2