

(mg/kg 体重/日)	雌	2.3	4.5	10.1
--------------	---	-----	-----	------

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

血液生化学的検査において、120 及び 240 ppm 投与群の雄で Cre の高値が見られたが、背景データの範囲内であることから検体投与の影響ではないと判断された。

本試験において、240 ppm 投与群の雌雄に体重増加抑制、摂餌量減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 120 ppm(雄：4.0 mg/kg 体重/日、雌：4.5 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 40)

表 31 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
240 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 流涎(1 匹)</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少(投与開始後 1 及び 2 週)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少(投与開始後 1 及び 2 週)</li> </ul>
120 ppm 以下	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)

SD ラット(一群雌雄各 65 匹：最終と殺群雌雄各 55 匹、中間と殺群雌雄各 10 匹)を用いた混餌(原体：0、60、300 及び 600 ppm：平均検体摂取量は表 32 参照)投与による 2 年間の慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 32 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

投与群		60 ppm	300 ppm	600 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.9	15.0	30.8
	雌	3.6	18.6	37.0

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 33 に示されている。

血液生化学的検査において、300 及び 600 ppm 投与群の雌では TP 及びリンが増加し、600 ppm 投与群の雌ではカルシウム及び塩素が増加したが、いずれも軽度な変化であること、一過性の変化であること、背景データの範囲内であることから、検体投与の影響ではないと判断された。

腫瘍性病変については、その発生頻度に検体投与に関連した影響は認められなかった。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制、肝比重量増加及び肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 60 ppm(雄：2.9 mg/kg 体重/日、雌：3.6 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 41)

表 33 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	雄	雌
600 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ RBC、Hb 及び Ht 減少、Retic 比及び Retic 増加</li> <li>・ Glob 増加、A/G 減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ RBC 及び Ht 減少、Retic 比増加</li> </ul>
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ BUN 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>・ 体重増加抑制</li> <li>・ T.Chol 及び Glob 増加、A/G 比減少</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 肝細胞肥大</li> </ul>
60 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

### (3) 18 カ月間発がん性試験(マウス)

ICR マウス(一群雌雄各 65 匹：最終と殺群雌雄各 55 匹、中間と殺群雌雄各 10 匹)を用いた混餌(原体：0、20、120 及び 240 ppm：平均検体摂取量は表 34 参照)投与による 18 カ月間の発がん性試験が実施された。

表 34 マウス 18 カ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	120 ppm	240 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.8	16.6	34.5
	雌	3.7	21.9	44.5

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 35 に示されている。

臓器重量測定において、240 ppm 投与群の雄において、脳、肺及び副腎の比重量が増加し、腎絶対及び比重量が減少したが、いずれも同群の低体重に起因する変化であり、検体投与の影響ではないと考えられた。また、120 ppm 以下の投与群の雌雄に見られた臓器重量の変動は用量相関性がなく、検体投与の影響ではないと考えられた。

いくつかの腫瘍性病変の発生頻度に、対照群と投与群間で統計学的有意差が認められたが、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、120 ppm 以上投与群の雌雄に摂餌量減少及び神経系組織の空胞化等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 20 ppm(雄：2.8 mg/kg 体重/日、雌：3.7 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 42)

表 35 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
240 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 皮膚炎</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 脊髄(頸部及び腰部)空胞化</li> </ul>

	・視神経空胞化	
120 ppm 以上	・摂餌量減少 ・脳、脊髄(頸部、胸部及び腰部)空胞化	・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・脳、視神経、脊髄(胸部)空胞化
20 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

本試験において認められた神経病変の全動物における発生匹数は表 36 に示されている。中枢神経系の変化は、脳(脳梁、壁板、海馬及び小脳)の白質の空胞形成であり、中間及び最終と殺動物(瀕死期・死亡動物及び 80 週計画殺動物)の雌雄の 120 及び 240 ppm 投与群に認められた。最終と殺動物では、脊髄(頸部、胸部及び腰部)白質及び視神経にも空胞化が認められた。

表 36 マウス 18 カ月間発がん性試験で認められた神経病変(匹数)

	臓器	所見	雄				雌			
			0	20	120	240	0	20	120	240
全動物	脳	(検査動物数)	55	55	55	55	55	55	55	55
		空胞化	3	3	14 <sup>a</sup>	43 <sup>b</sup>	9	5	25 <sup>a</sup>	52 <sup>b</sup>
	視神経	(検査動物数)	53	54	52	55	55	55	52	54
		空胞化	0	0	0	12 <sup>b</sup>	0	0	1	14 <sup>b</sup>
	脊髄(頸部)	(検査動物数)	55	55	55	55	55	55	55	55
		空胞化	0	0	2	20 <sup>b</sup>	1	0	0	23 <sup>b</sup>
	脊髄(胸部)	(検査動物数)	55	55	55	54	55	55	55	55
		空胞化	0	1	2	17 <sup>b</sup>	2	0	1	16 <sup>b</sup>
	脊髄(腰部)	(検査動物数)	55	55	55	55	55	55	55	55
		空胞化	0	0	2	11 <sup>b</sup>	0	0	0	3

<sup>a</sup> : p<0.01、<sup>b</sup> : p<0.001 (Fisher 直接確率法)

#### (4) 1 年間慢性神経毒性試験(ラット)

SD ラット(一群雌雄各 15~25 匹)を用いた混餌(原体 : 0、60、300 及び 600 ppm : 平均検体摂取量は表 37 参照)投与による 1 年間慢性神経毒性試験が実施された。なお、投与後 13 週時の中間と殺対象動物として各群雌雄 5 匹、投与後 52 週時の最終と殺対象動物として 0 及び 600 ppm 投与群は雌雄各 10 匹、60 及び 300 ppm 投与群は雌雄各 5 匹、52 週間投与後 16 週間回復期間後最終と殺動物として 0、300 及び 600 ppm 投与群は雌雄各 10 匹、60 ppm 投与群は雌雄各 5 匹を割り当てた。

表 37 ラット 1 年間慢性神経毒性試験の平均検体摂取量

投与群		60 ppm	300 ppm	600 ppm
平均検体摂取量	雄	2.6	13.6	28.2

(mg/kg 体重/日)	雌	3.4	18.0	37.4
--------------	---	-----	------	------

各投与群で認められた毒性所見は表 38 に示されている。

投与期間中 300 ppm 投与群以上で認められた体重増加抑制、体重当りの摂餌量増加は回復期間には認められず、体重も回復傾向が見られた。病理組織学的検査において、投与後 52 週時のと殺雄動物の神経系組織に髄鞘の腫脹及び空胞状変化等の神経病変が観察された。そこで 16 週間の回復期間終了後に雄の対照群と 600 ppm 投与群について、病理組織学的検査を実施した。その結果、投与後 52 週時のと殺雄動物に見られた神経病変は、回復期間後の 600 ppm 投与群の雄では、全く見られないか、対照群と同様の発生頻度及び程度であった。このことから、52 週間投与で惹起された神経病変は可逆性の変化であると考えられた。また、投与及び回復期間における機能検査による検査や自発運動量には検体の影響は見られず、神経病変は神経機能に影響を及ぼさないものと考えられた。なお、神経組織所見として記述した髄鞘の腫脹、髄鞘の空胞状変化、空胞化は同質の病変である。用語の定義は以下の通りである。

髄鞘の腫脹	髄鞘における空胞形成により、髄鞘が腫脹した状態。脊髄神経根、末梢神経等に用いられた。
髄鞘の空胞状変化	脳・脊髄の白質において、髄鞘の腫脹がより広範かつ重篤な場合に用いられた。
空胞化	病変の存在部位が神経網のように髄鞘形成が未発達な部分における空胞形成について用いられた。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制、食餌効率低下、小脳及び脊髄に髄鞘の腫脹等、雌で体重増加抑制及び食餌効率低下等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 60 ppm(雄：2.6 mg/kg 体重/日、雌：3.4 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 43)

表 38 ラット 1 年間慢性神経毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
600 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 淡蒼球、海馬采、錐体、視床髓条、前交連、外包、内包、脳梁、大脳脚、嗅球、嗅索、視神経/視交叉、脊髄頸部：髄鞘の空胞状変化</li> <li>・ 海馬、脳弓：空胞化</li> <li>・ 坐骨神経：髄鞘の腫脹</li> </ul>	
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ (体重当り)摂餌量増加、食餌効率低下</li> <li>・ 小脳白質：髄鞘の空胞化</li> <li>・ 脊髄神経根：髄鞘の腫脹</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ (体重当り)摂餌量増加、食餌効率低下</li> </ul>

60 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
--------	--------	--------

### 13. 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、60、300 及び 600 ppm：平均検体摂取量は表 39 参照)投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 39 ラット 2 世代繁殖試験の平均検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与群		60 ppm	300 ppm	600 ppm
P 世代	雄	4.5	22.2	44.0
	雌	5.0	24.5	48.3
F <sub>1</sub> 世代	雄	4.4	22.5	44.6
	雌	5.1	25.6	50.7

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 40 に示されている。

親動物において、F<sub>1</sub> 世代の交配前期間の第 21 週から第 27 週にかけて、60 ppm 投与群を含む全投与群の雌で低体重を示した。60 ppm 投与群における低体重の原因が、体重測定日での各群における動物日齢のバラツキによる差であるか検討した。その結果、各投与群での生後日齢のバラツキはほぼ同等であり、生後日齢に基づき体重を評価しても、60 ppm を含め全投与群で有意な低体重が見られた。F<sub>1</sub> 世代用動物は生後 28 日に無作為に選抜されたが、その際、雌では体重の重い個体が対照群に選抜されてしまったことが有意な低体重を示した原因であり、検体投与の影響ではないと考えられた。

親動物の繁殖能に関する検査項目(発情周期、交配率、受胎率及び妊娠率等)に関して投与の影響は認められなかった。

児動物では、F<sub>1</sub> 児動物の毛生について、300 及び 600 ppm 投与群で遅延が見られた。F<sub>1</sub> 児動物の膈開口についても 600 ppm 投与群で遅延が見られた。これらの遅延はその程度が軽微であるものの、600 ppm 投与群の児動物では体重の低値も見られており、軽度の発育遅延に伴う変化であると考えられた。その他の生後形態分化のいずれの指標にも検体投与の影響はなかった。

本試験において、親動物では 300 ppm 以上投与群の雌雄で低体重等、児動物では 300 ppm 投与群の雌雄で低体重が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物とも 60 ppm(P 雄：4.5 mg/kg 体重/日、P 雌：5.0 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄：雄 4.4 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌：5.1 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 44)

表 40 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 <sub>1</sub>		親：F <sub>1</sub> 、児：F <sub>2</sub>	
	雄	雌	雄	雌

親動物	600 ppm		毒性所見なし	・ 低体重及び体重増加抑制	・ 体重増加抑制
	300 ppm 以上	・ 低体重及び体重増加抑制		300 ppm 以下毒性所見なし	・ 低体重
	60 ppm	毒性所見なし			毒性所見なし
兒動物	600 ppm		・ 膈開口遅延	・ 生後 4 日生存率低下	・ 生後 4 日生存率低下
	300 ppm 以上	・ 低体重 ・ 被毛発現遅延	・ 低体重 ・ 被毛発現遅延	・ 低体重	・ 低体重
	60 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) 2 世代繁殖試験(ラット): 検討試験

SD ラット(一群雌雄 30 匹)を用いて混餌(原体: 0、30 及び 60 ppm: 平均検体摂取量は表 41 参照)投与による繁殖試験の検討試験が実施された。本試験は、投与濃度 0、60、300 及び 600 ppm で混餌投与して実施した 2 世代繁殖試験において認められた 60 ppm 投与群 F<sub>1</sub> 世代雌の交配前投与期間中の低体重の原因が、検体投与に起因するか否かを確認する目的で行われた。

試験期間は、F<sub>1</sub> 世代の離乳時から 11 週間とした(交配前期間終了時に実験を終了)。

表 41 ラット 2 世代繁殖試験(検討試験)の平均検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与群		30 ppm	60 ppm
P 世代	雄	1.84	3.60
	雌	2.09	4.15
F <sub>1</sub> 世代	雄	2.22	4.57
	雌	2.52	5.32

P 世代では雌について 60 ppm 投与群で交配前期間の後期に軽度の体重増加抑制が見られた。しかし、同群の雄には影響がなく、F<sub>1</sub> 世代は雌雄ともに変化が見られず、一貫性に欠けていた。さらに、同じ SD ラットの 2 世代繁殖毒性試験[13.(1)]、ラットの 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[11.(2)]及びラットの 1 年間慢性神経毒性試験[11.(4)]では、60 ppm 投与群で体重への影響を含め何らかの影響も認められなかった。従って、本試験で見られた 60 ppm 投与群の P 世代雌の体重増加抑制は毒性学的に意味の乏しい変化であると考えられた。

60 ppm 投与群で妊娠 14 日に有意な低体重が見られ、分娩 7 日の体重増加量に有意な高値が見られた。しかし、妊娠 14 日の低体重については同時期の体重増加量には有意差がないことから、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。分娩 7 日の体重増加量の高値は一過性であること、低値ではなく高値であることから毒性学的に意味のない変化であると判断した。摂餌量に一過性の低値が散見されたが、偶発性変化と考えられた。

繁殖能の検査において、交尾率、受胎率、妊娠期間、着床数、出産率、出生率及び離乳率のいずれにも検体投与に起因する変化は認められなかった。

F<sub>1</sub> 世代では、交配前期間の摂餌量に一過性の低値が散見されたが、偶発性変化と考えられた。出生児数、生存児数、性比、生存率、外表、一般状態、体重、生後形態分化及び剖検所見のいずれにも検体投与に起因する変化は認められなかった。30 ppm 投与群の雄の上切歯萌出が有意に早く発現したが、同様の変化が 60 ppm 投与群には認められなかったことから、偶発性の変化と考えられた。

本試験において、本剤を 60 ppm で投与しても F<sub>1</sub> 親の成長に影響を与えないことが確認されたので、無毒性量は雌雄とも 60 ppm (P 雄 : 3.60 mg/kg 体重/日、P 雌 : 4.15 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 4.57 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 5.32 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 45)

### (3) 発生毒性試験(ラット)

SD ラット(一群雌 25 匹)の妊娠 6~15 日に強制経口(原体 : 0、25、75 及び 225 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。

225 mg/kg 体重/日投与群の母動物に体重減少が見られ、75 mg/kg 体重/日投与群では有意差はないものの体重増加抑制が見られた。摂餌量及び摂水量の減少が 225 及び 75 mg/kg 体重/日投与群で見られ、検体投与の影響と判断された。

妊娠子宮重量、黄体数、着床数、子宮内死亡率、胚・胎児死亡数、生存胎児数、胎児の性比及び胎児重量に検体投与の影響は認められなかった。

胎児の外表検査において、二重体、全身浮腫、臍帯ヘルニア及び糸状尾が散見されたが、発生頻度はいずれも低く、対照群との間に有意差がなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。外表、内臓または骨格異常を有する胎児の出現頻度は各群で同程度であった。225 mg/kg 体重/日投与群において、胸椎及び肋骨の骨化数の増加とそれに伴う腰椎骨化数減少が認められた。しかし、胸椎数および肋骨数の増加と腰椎数の減少は胸椎の腰椎化によるものではなく、骨格変異である過剰肋骨の出現率が背景データの範囲内ではあるものの、やや上昇したことに伴う二次的な変動であると考えられた。従って、胸椎、肋骨及び腰椎の骨化数にみられた変化は毒性学的な意義はないと判断された。

以上の結果から、75 mg/kg 体重/日群において、母動物の体重増加抑制、摂餌量及び摂水量が減少し、胎児には検体投与の影響が認められなかったことから無毒性量は、母動物で 25 mg/kg 体重/日、胎児で 225 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 46)

### (4) 発生毒性試験(ウサギ)

NZW ウサギ(対照群雌 19 匹、投与群一群雌 20 匹)の妊娠 7~19 日に強制経口(原体 : 0、5、15 及び 30 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。

母動物において、いずれの群においても死亡及び流産・早産は見られず、一般状態の変化もなかった。30 及び 15 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が見

られた。着床に関する検査項目(黄体数、着床数、着床数、生存胎仔数、早期吸収胚数及び後期吸収胚数)に有意差は認められなかった。また、生存胎児数、胎児の性比、胎児体重及び奇形・変異を有する胎児の発生頻度等に検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、15 mg/kg 体重/日群の母動物で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められ、胎児には投与の影響は認められなかったことから、無毒性量は母動物で 5 mg/kg 体重/日、胎児で 30 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 47)

### 1 3. 遺伝毒性試験

クロルフェナピルの細菌を用いた 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由来 CHO 細胞を用いた HGPRT 突然変異試験、チャイニーズハムスター由来 CHL 細胞を用いた染色体異常試験、F344 ラット由来培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、ICR マウスを用いた小核試験が実施された。試験結果は全て陰性であり、クロルフェナピルに遺伝毒性はないものと考えられた(表 42)。(参照 48~53)

表 42 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 (参照 48)	<i>B. subtilis</i> (H-17、M-45 株)	0.0156~1.5 µg/7 <sup>°</sup> イスク(+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験 (参照 49)	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>E. coli</i> (WP2 <sup>uvrA</sup> 株)	0.5~50 µg/7 <sup>°</sup> レット(+/-S9)	陰性
	HGPRT 突然変異 試験(参照 50)	チャイニーズハムスター由来 CHO 細胞	2.5~250 µg/mL(-S9) 5~500 µg/mL(+S9)	陰性
	染色体異常試験(参 照 51)	チャイニーズハムスター由来 CHL 細胞	1.8~225 µg/mL(-S9) 3.5~14.1 µg/mL(+S9)	陰性
	不定期 DNA 合成 試験(参照 52)	F344 ラット由来培養肝 細胞	0.05~0.3 µg/mL	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験(参照 53)	ICR マウス (一群雌雄各 5 匹) 骨髓細胞	雄 : 7.5、15、30 mg/kg 体重 雌 : 5.0、10、20 mg/kg 体重 (経口投与)	陰性

注)+/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下。

代謝物 F、D 及び G を用いた復帰突然変異試験が実施されており、いずれの試験結果も陰性であった(表 43)。(参照 54~56、65)



表 43 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
F	復帰突然変異試験 (参照 54)	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	0.05~250 µg/7° レート(+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験 (参照 65)	<i>S. typhimurium</i> (TA100 株)	0.156~20.0 µg/7° レート (+/-S9)	陰性
D	復帰突然変異試験 (参照 55)	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	5~1000 µg/7° レート(+/-S9)	陰性
G	復帰突然変異試験 (参照 56)	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	50~5000 µg/7° レート(+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下。

#### 14. その他の試験-神経毒性試験(回復性)(マウス)

雄の ICR マウスを用いた経口(原体 : 0 及び 500 ppm)投与による 16 または 19 週間の神経毒性試験が実施され、神経病変の回復性が検討された。

試験は 2 回に分けて実施された。

実験 1 : 検体を 4 または 6 週間投与し、神経病変を惹起させ(この時、病理組織学的検査及び電顕観察実施)、その後投与 7 週間後より休薬させ、4、6、8 及び 12 週後に経時的にと殺、病理組織学的検査及び電顕観察を実施した。

実験 2 : 検体を 4 週間投与後、12 週間休薬し、屠殺、病理組織学的検査及び電顕観察を実施した。

検体投与群で投与 1 週間以内に計 5 匹が死亡した。その後の投与期間及び回復期間では、検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化及び死亡はなかった。体重の推移は実験 1 及び 2 と同様の傾向を示し、検体投与群の体重は対照群の体重より低く推移した。回復期では体重増加の程度は対照群と同等であった。

病理組織学的検査において、検体を 4 ないし 6 週間投与した動物の脳白質及び視神経に中等度ないし高度の空胞化が見られた。これらの病変部では脱髄、軸索及び神経細胞体の変性は認められなかった。休薬後の回復期間における経時的検査では、同病変はその発生頻度、程度ともに漸減し、12 週間休薬後には 1/8 匹の脳白質に軽度の空胞

化が見られたのみであった。この大脳白質及び視神経の空胞化は、電顕観察ではミエリン鞘の Intra-period line の解離による空隙形成であり、髄鞘及び軸索に変性はなかった。検体を4ないし7週間投与した後、12週間休薬した動物には電顕観察では同病変は見られなかった。

以上の結果から、本試験において、500 ppm 投与群に体重増加抑制と神経病変が見られた。しかし、12週間の回復期間において、病理組織学的に同病変が回復することが示された。また、電顕観察でも病変部の髄鞘ないし軸索には影響がないことが示された。検体投与及び休薬期間において、神経症状の発現はなく、神経病変は神経機能に影響を与えないものと考えられた。(参照 57)

本試験において認められた神経病変の程度別発生頻度は表 44 に示されている。検体を4ないし6週間投与した動物の大脳白質及び視神経に中等度ないし重度の空胞化が見られた。休薬後の回復期間における経時的検査では、同病変はその発生頻度、程度ともに漸減し、12週間休薬後には 1/8 匹の大脳白質に軽度の空胞化が見られたのみであった。

表 44 マウス神経毒性(回復性)試験で認められた神経病変

臓器	所見	程度	対照群	500 ppm 群 : 休薬期間(週)				
				0	4	6	8	12
大脳		(検査動物数)	4	13	5	5	5	8
	著変なし(正常)		4	0	0	0	2	7
	白質空胞化	(合計)	0	13	5	5	3	1
		軽度	0	0	2	3	3	1
		中等度	0	7	3	2	0	0
		重度	0	6	0	0	0	0
視神経		(検査動物数)	4	13	5	4	4	8
	著変なし(正常)		4	0	0	1	2	8
	空胞化	(合計)	0	13	5	3	2	0
		軽度	0	5	4	3	2	0
		中等度	0	8	1	0	0	0
		重度	0	0	0	0	0	0

### III. 総合評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「クロルフェナピル」の食品健康影響評価を実施した。

ラットを用いた動物代謝試験において、投与後の血中濃度は 8~12 時間で最高濃度に達し、その後、43~58 時間の消失半減期で減少した。尿及び糞排泄試験において未変化体は尿中では検出されず、糞中では低用量群(2 mg/kg 体重)で 17~23%TAR、高用量群(20 mg/kg 体重)で 33~35%TAR 検出された。また、胆汁排泄試験では、未変化体は胆汁中では検出されず、糞中では 90%TAR 以上を占めることから、消化管内で代謝・分解されないことがわかった。

吸収されたクロルフェナピルの大部分が胆汁中に排泄され、腸肝循環を受け一部は尿中に、大部分は糞中に排泄された。投与 168 時間後までの尿及び糞中排泄率は 90% 以上であり、排泄は速やかであった。雌雄間では、尿中排泄が雌より雄で約 1.5 倍多かった。反復投与により血漿中濃度よりも高濃度に分布する組織は、脂肪及び肝臓であった。主要代謝物の種類及び生成割合は、雌雄間及び低、高用量間の差が殆どなかった。主要代謝物は K であり、遊離体が 5.1~6.5%、種々の抱合体が 10.4~18.2% 生成し、主に胆汁経由で糞中に排泄された。ラットにおける主な代謝経路は、まず、N-エトキシメチルの脱離が起こり、そののちピロール環 4 位のブロム基の脱離、水酸化及びカルボニル化、そのカルボニル化合物のピロール環 5 位の水酸化、カルボキシル化及びそれらの抱合化であった。また、ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は見られなかった。

ひめりんご、なす及びキャベツを用いた植物体内運命試験において、検体処理後の推定半減期は処理果実で 14~100 日、処理葉で 3~60 日であった。根への吸収量は水耕法(なす)では 3 日後に 70%TAR を示したが、根から上部への移行性は 0.4%TAR であり、葉への移行は認められなかった。土壌処理法(キャベツ)では 28 日後において根に 1.3%TAR の吸収があり、茎葉部への移行は 0.2%TAR であった。塗布法における放射能の吸着/吸収(表面残留性放射エネルギーを除いた残りの放射エネルギー)は処理果実で、ひめりんごが 13~24%TAR、なすが 2~12%TAR、ひめりんご及びなすの処理葉で約 10%TAR であった。植物体内中に吸収されたクロルフェナピルは代謝を受け難く、総代謝物量はひめりんごの果実で 0.5%TAR(56 日後)、なすの果実で 0.1%TAR(28 日後)、キャベツの結球で 0.2%TAR(28 日後)であった。ひめりんご及びなすの果実における主要代謝物は F であったが、その他は 0.3%TAR 以下であった。処理した葉面での主要代謝物は、ひめりんごでは F 及び K、なすでは F、キャベツでは F、K 及び D であった。しかし、いずれの代謝物とも 0.3%TAR 以下(TRR の 0.5% 以下、残留濃度として 0.005 mg/kg 以下)であった。

土壌中運命試験を実施し、好氣的条件下の畑地土壌におけるクロルフェナピルの推定半減期は 230~260 日であった。嫌氣的及び滅菌条件下では分解が極端に遅いことから、好氣的な微生物により分解されることが判明した。主要分解物はピロール環 4 位が脱ブロム化された D であり、365 日後に約 27.3%TAR となった。次いで、D のピロール環 3 位のシアノ基の加水分解反応によりアミド化された E であった。土壌残留試験の容器内試験ではクロルフェナピルの推定半減期は 23~92 日、クロルフェナピルと D の含量として 114 日であった。また、圃場試験ではクロルフェナピルの推定半減期は 35~48 日で、D は検出されなかった。

クロルフェナピルの水中光分解運命試験から算出された推定半減期(太陽光換算)は、

pH 5、7 及び 9 の緩衝液中で、それぞれ 12.6 日、18.1 日及び 11.6 日、自然水中で 12.3 日であった。いずれの条件においても主たる分解物はクロルフェナピルの異性体 O であった。加水分解試験では顕著な分解は認められなかった。

ラットの急性経口 LD<sub>50</sub> は雄で 461 mg/kg 体重、雌で 304 mg/kg 体重、吸入 LC<sub>50</sub> は雄で 0.83 mg/L、雌で 2.7 mg/L 超であった。マウスの急性経口 LD<sub>50</sub> は雄で 45 mg/kg 体重、雌で 78 mg/kg 体重であった。ウサギの急性経皮 LD<sub>50</sub> は雌雄で 2000 mg/kg 体重超であった。

代謝物 F の急性経口 LD<sub>50</sub> はラットの雄で 27.0 mg/kg 体重、雌で 29.4 mg/kg 体重、代謝物 D の急性経口 LD<sub>50</sub> はラットの雌雄で 5000 mg/kg 体重超、代謝物 G の急性経口 LD<sub>50</sub> はラットの雄で 5000 mg/kg 体重超、雌で 2500 mg/kg 体重、代謝物 K の急性経口 LD<sub>50</sub> はラットの雄で 776 mg/kg 体重、雌で 1370 mg/kg 体重であった。

ラットを用いた急性神経毒性試験で得られた無毒性量は雌雄とも 45 mg/kg 体重であった。

ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験では、皮膚刺激性は認められなかったが、軽度から中等度の眼刺激性が認められた。また、モルモットを用いた皮膚感作性試験では全て陰性であった。

クロルフェナピル投与の影響は主に神経及び肝臓等に認められた。神経病変は光学顕微鏡学的には中枢及び末梢神経の髄鞘の腫脹、髄鞘の空胞状変化、空胞化として、電顕的にはミエリン鞘の Intra-period line の解離による空隙形成として観察された。軸索には異常は観察されず神経症状も認められなかった。また、これらの神経病変は回復性を示した。

亜急性毒性試験で得られた無毒性量は、ラット 10.9 mg/kg 体重/日、マウスで 7.1 mg/kg 体重/日、イヌで 3.9 mg/kg 体重/日であった。

亜急性経皮毒性試験で得られた無毒性量は、ウサギで 100 mg/kg 体重であった。

慢性毒性試験で得られた無毒性量は、イヌで 4.0 mg/kg 体重/日、ラットで 2.9 mg/kg 体重/日であった。

発がん性試験で得られた無毒性量は、ラットで 2.9 mg/kg 体重/日、マウスで 2.8 mg/kg 体重/日であった。発がん性は認められなかった。

1 年間慢性神経毒性試験で得られた無毒性量は、ラットで 2.6 mg/kg 体重/日であった。

2 世代繁殖試験で得られた無毒性量は、ラットの親動物で 4.4 mg/kg 体重/日、児動物で 4.4 mg/kg 体重/日であった。繁殖能に対する影響は認められなかった。

発生毒性試験で得られた無毒性量は、ラットの母動物で 25 mg/kg 体重/日、胎児で 225 mg/kg 体重/日、ウサギの母動物で 5 mg/kg 体重/日、胎児で 30 mg/kg 体重/日であった。催奇形性は認められなかった。

遺伝毒性試験として、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由来 CHO 細胞を用いた HGPRT 突然変異試験、チャイニーズハムスター由来 CHL 細胞を用いた染色体異常試験、F344 ラット由来培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及び ICR マウスを用いた小核試験が実施された。試験結果は全て陰性であったことから、遺伝毒性はないものと考えられた。

代謝物 F、D 及び G の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、いずれの試験

結果も陰性であった。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をクロルフェナピル(親化合物のみ)と設定した。

各試験における無毒性量及び最小毒性量は表 45 に示されている。

表 45 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 <sup>2</sup>
ラット	90 日間 亜急性 毒性 試験	雄：10.9 雌：26.1	雄：22.0 雌：51.8	雄：肝比重量増加 雌：肝絶対及び比重量増加等
	2 年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験	雄：2.9 雌：3.6	雄：15.0 雌：18.6	雌雄：肝比重量増加等 (発がん性は認められない)
	1 年間 慢性神経 毒性試験	雄：2.6 雌：3.4	雄：13.6 雌：18.0	雄：小脳及び脊髄に髄鞘の腫脹等 雌：体重増加抑制等
	2 世代 繁殖 毒性 試験	親・児動物 P 雄：4.5 P 雌：5.0 F <sub>1</sub> 雄：4.4 F <sub>1</sub> 雌：5.1	親・児動物 P 雄：22.2 P 雌：24.5 F <sub>1</sub> 雄：22.5 F <sub>1</sub> 雌：25.6	親動物：低体重等 児動物：低体重 (繁殖能に対する影響は認められない)
	発生毒性 試験	母動物：25 胎児：75	母動物：75 胎児：225	母動物：体重増加抑制等 児動物：毒性所見なし (催奇形性は認められない)
マウス	90 日間 亜急性 毒性 試験	雄：7.1 雌：19.3	雄：14.8 雌：40.0	雌雄：肝細胞肥大等
	18 カ月間 発がん性 試験	雄：2.8 雌：3.7	雄：16.6 雌：21.9	雌雄：神経系組織の空胞化等 (発がん性は認められない)
イヌ	90 日間 亜急性 毒性 試験	雄：3.9 雌：4.5	雄：4.4 雌：5.8	雌雄：体重増加抑制等

<sup>2</sup> : 備考に最小毒性量で認められた所見の概要を示す。

動物種	試験	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 <sup>2</sup>
	1年間 慢性毒性 試験	雄：4.0 雌：4.5	雄：8.7 雌：10.1	雌雄：体重増加抑制等
ウサギ	28日間 亜急性 経皮 毒性試験	雌雄：100	雌雄：400	雌雄：T.Chol 増加等
	発生毒性 試験	母動物：5 胎児：30	母動物：15 胎児：-	母動物：体重増加抑制等 (催奇形性は認められない)

食品安全委員会は、各試験の無毒性量の最小値がラットを用いた 1 年間慢性神経毒性試験の 2.6 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.026 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

ADI	0.026 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性神経毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	1 年間
(投与方法)	混餌投与
(無毒性量)	2.6 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100