

の後酸化的に分解して、[4]、[20]及び[24]を生成する経路、ならびにインダン環 2位のエチル基がプロピル基の1位へ転位し、さらにエポキシ環がアルデヒドに変換 ([26]、[25]及び[27]の生成) される経路であると考えられた。(参照 17、18)

(3) 水中光分解試験 (精製水及び田面水)

[chl-¹⁴C]インダノファン、[ind-¹⁴C]インダノファンまたは非標識インダノファンを精製水及び田面水に 150 g ai/ha の施用量で処理し、温室内自然光下 (昼: 25°C、夜: 20°C) で 14 日間照射する光分解試験が実施された。

精製水及び田面水において、インダノファンは 14 日後に 69.8~73.4% TAR に減少した。主要分解物として[2]が 14 日後に 5.4~6.6% TAR 生成したが、暗所対照においてもほぼ同等の[2]が生成したことから、加水分解の関与が考えられた。他に[19]が 14 日後に 8.8~11.4% TAR、[2]への中間体と推定される[11]が 14 日後に 0.9~1.9% TAR が生成したことから、光分解における主要分解経路はエポキシ環の開裂であると考えられた。

推定半減期は、精製水で 30 日、田面水で 31~36 日であった。(参照 19)

5. 土壌残留試験

火山灰・軽埴土 (茨城)、洪積・埴壤土 (大阪) 及び洪積・砂壤土 (福岡) を用いて、インダノファン及び分解物 ([2]及び[4]等) を分析対象化合物とした土壌残留試験 (容器内及び圃場) が実施された。

結果は表 12 に示されている。推定半減期は、インダノファンとしては 1~17 日、インダノファンと分解物との合計では 1~350 日であった。(参照 20)

表 12 土壌残留試験成績 (推定半減期)

試験		濃度*	土壌	インダノファン	インダノファン+分解物
容器内試験	水田状態	0.15 mg/kg	火山灰・軽埴土	7 日	11 日
			洪積・埴壤土	3 日	5 日
	畑地状態	3 mg/kg	火山灰・軽埴土	7 日	185 日
			洪積・砂壤土	5 日	350 日
圃場試験	水田状態	150 g ai/ha	火山灰・軽埴土	3 日	5 日
			洪積・埴壤土	1 日	1 日
	畑地状態	3,000 g ai/ha	火山灰・軽埴土	17 日	45 日
			洪積・砂壤土	1 日	1 日

※容器内試験で純品、圃場試験で粒剤及び水和剤を使用

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻を用いて、インダノファン、代謝物[2]及び[8]を分析対象化合物とした作物

残留試験が実施された。

結果は表 13 に示されている。インダノファン及び代謝物いずれも定量限界未満であった。(参照 21~32)

表 13 作物残留試験成績

作物名 (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)					
					インダノファン		[2]		[8]	
					最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
稲 (玄米) 1995年度	2	150	2	93-101	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
稲 (稲わら) 1995年度	2	150	2	93-101	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04

注) ・使用方法は全て、粒剤を用いた水面施用とした。

・全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界の平均に<を付して記載した。

(2) 魚介類における最大推定残留値

インダノファン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を推定した。

インダノファンの水産 PEC は 0.061 ppb、BCF は 108 (試験魚種: コイ)、魚介類における最大推定残留値は 0.033 ppm であった。(参照 81)

上記の作物残留試験の分析値及び魚介類における最大推定残留値を用いて、インダノファンを暴露評価対象化合物とした際に食品中より摂取される推定摂取量が表 14 に示されている。なお、本推定摂取量の算定は、登録に基づく使用方法から、インダノファンが最大の残留を示す使用条件で水稻に使用され、かつ、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 14 食品中より摂取されるインダノファンの推定摂取量

作物名	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	0.033	94.1	3.1	42.8	1.4	94.1	3.1	94.1	3.1
合計			3.1		1.4		3.1		3.1

・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 85~87) 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」: 残留値から求めたインダノファンの推定摂取量 (µg/人/日)

7. 一般薬理試験

マウス、ラット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 15 に示されている。(参照 33)

表 15 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	一般症状 (Irwin 法)	ICR マウス	雄 3	0、10、30、 100、300 (経口)	10	30	触反応・反応性の亢進、挙尾、 痙攣、不穏、自発運動能低下、 散瞳、立毛、下痢等 300 mg/kg 体重で 3 例死亡
	ヘキソ パルピタール 睡眠	ICR マウス	雄 8	0、10、30、100 (経口)	100	—	投与による影響なし
	痙攣誘発 作用	ICR マウス	雄 10	0、10、30、100 (経口)	30	100	痙攣誘発作用 100 mg/kg 体重で 1 例死亡
	体温	Wistar ラット	雄 6	0、10、30、100 (経口)	30	100	体温上昇 100 mg/kg 体重で 1 例死亡
	自発脳波	Wistar ラット	雄 3	0、10、30、100 (経口)	30	100	低振幅高頻度速波の発現
呼吸循環器系	呼吸 血圧 心拍数 心電図	日本白色種 ウサギ	雄 4	0、60、200、600 (経口)	600	—	投与による影響なし
自律神経系	瞳孔径	Wistar ラット	雄 6	0、10、30、100 (経口)	100	—	投与による影響なし
消化器系	腸管炭末 輸送能	ICR マウス	雄 8	0、10、30、100 (経口)	100	—	輸送能への影響なし 100 mg/kg 体重で 3 例死亡
骨格筋	懸垂動作	ICR マウス	雄 8	0、10、30、100 (経口)	100	—	投与による影響なし
血液系	血液凝固	日本白色種 ウサギ	雄 6	0、200、600 (経口)	600	—	投与による影響なし

* : 1%MC (メチルセルロース) 水溶液に懸濁。

— : 作用量は設定できなかった。

8. 急性毒性試験

インダノファンのSDラットを用いた急性経口、急性経皮及び急性吸入毒性試験、ICRマウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。

結果は表16に示されている。急性経口LD₅₀はラットの雄で631 mg/kg体重、雌で460 mg/kg体重、マウスの雄で509 mg/kg体重、雌で508 mg/kg体重、急性経皮LD₅₀はラットの雌雄で2,000 mg/kg体重超、急性吸入LC₅₀はラットの雌雄で1.57 mg/L超であった。(参照34~37)

表16 急性毒性試験結果概要(原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SDラット 雌雄各5匹	631	460	易刺激性、自発運動亢進、立毛、流涎、強直性痙攣、振戦、頻呼吸、異常発声 雄670 mg/kg体重、雌260 mg/kg体重以上で死亡例
経口	ICRマウス 雌雄各5匹	509	508	立毛、円背位、よろめき歩行、嗜眠、緩徐呼吸、眼瞼一部閉鎖、四肢蒼白、間代性痙攣及び腹部膨満 雄640 mg/kg体重、雌400 mg/kg体重以上で死亡例
経皮	SDラット 雌雄各5匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
吸入	SDラット 雌雄各5匹	LC ₅₀ (mg/L)		暴露中に鼻汁、流涙、流涎、不整呼吸及び自発運動低下 雄は死亡例なし、雌は1.57 mg/Lで死亡例
		>1.57	>1.57	

インダノファンの代謝物を用いたSDラットにおける急性経口毒性試験が実施された。

結果は表17に示されている。ラットにおける急性経口LD₅₀は、[2]では雄で72 mg/kg体重、雌で51 mg/kg体重、[4]では雄で300 mg/kg体重超、[7]では雄で160 mg/kg体重、雌で212 mg/kg体重、[8]では雄で126 mg/kg体重、雌で78 mg/kg体重であった。(参照38~41)

表17 急性毒性試験結果概要(代謝物)

検体	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg体重)		観察された症状
			雄	雌	
代謝物 [2]	経口	SDラット 雌雄各5匹	72	51	立毛、円背位、軟便または液状便、粗毛、よろめき歩行、四肢蒼白、嗜眠、頻呼吸、緩徐呼吸、強直性及び間代性痙攣、振戦 雌雄ともに64 mg/kg体重以上で死亡例
代謝物	経口	SDラット	>300		症状及び死亡例なし

[4]		雄 5 匹			
代謝物 [7]	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	160	212	貧血様症状、自発運動低下、呼吸不整、後肢を主とする内出血及び腫脹、歩行異常、側臥位、腹臥位、うずくまり、流涙、体温低下、血尿、鼻出血、紅涙及び麻痺性歩行、一部で眼球の膨大または眼球内の出血
代謝物 [8]	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	126	78	振戦、間代性強直性痙攣、挙尾、歩行異常、呼吸不整、紅涙、下腹部の汚れ及び側臥位

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。眼に対して軽度の刺激性が認められたが、皮膚刺激性は認められなかった。(参照 42、43)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法及び Buehler 法) が実施された。Maximization 法では皮膚感作性が陽性であったが、Buehler 法では陰性であった。(参照 44、45)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、60 及び 200 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 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①の平均検体摂取量

投与量		20 ppm	60 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.57	4.83	15.9
	雌	1.74	5.23	17.2

死亡例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 19 に示されている。

本試験において、60 ppm 以上投与群の雌雄で APTT 延長が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 20 ppm (雄: 1.57 mg/kg 体重/日、雌: 1.74 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 46)

表 19 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
200 ppm	・ PT 延長	・ PT 延長 ・ ALT、T.Chol 及び PL 増加 ・ 副腎、脾、卵巣比重量減少
60 ppm 以上	・ APTT 延長	・ APTT 延長
20 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 90日間亜急性毒性試験（ラット）②[4週間の回復試験]

Fischer ラット（一群雌雄各 30～34 匹）を用いた混餌（原体：0、20、60 及び 200 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。なお、投与後 4 週間の回復期間を設けた。

表 20 90日間亜急性毒性試験（ラット）②の平均検体摂取量

投与量		20 ppm	60 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.18	3.64	11.9
	雌	1.28	3.91	12.7

死亡例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 21 に示されている。

本試験において、200 ppm 投与群の雌雄で APTT 延長等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 60 ppm（雄：3.64 mg/kg 体重/日、雌：3.91 mg/kg 体重/日）であると考えられた。なお、4 週間の回復期間における回復性は良好であった。（参照 47）

表 21 90日間亜急性毒性試験（ラット）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ APTT 延長 ・ T.Chol 及び PL 増加 ・ 尿沈渣中の赤血球及び白血球の出現 	<ul style="list-style-type: none"> ・ PT 及び APTT の延長 ・ T.Chol 及び PL 増加 ・ 前眼房内の出血（1 例）
60 ppm 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（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、20、100 及び 600 ppm、雌ではさらに 3,000 ppm を設定：平均検体摂取量は表 22 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 22 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	100 ppm	600 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.28	11.3	68.1	/
	雌	2.55	13.6	76.7	

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

3,000 ppm 投与群の雌で 14 例が死亡（切迫と殺を含む）し、検体投与に起因すると考えられた。他に 100 ppm 投与群の雌 1 例が死亡したが、一般状態の変化及び出血性の変化が認められず、また 600 ppm 投与群では死亡が見られなかつた。

ったことから、100 ppm 投与群での死亡は検体投与との関連はないと考えられた。
 本試験において、600 ppm 投与群の雌雄で肝比重量増加及び肝細胞肥大等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 ppm (雄: 11.3 mg/kg 体重/日、雌: 13.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 48)

表 23 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm		<ul style="list-style-type: none"> ・ 死亡及び切迫と殺 (14 例) * ・ 貧血及び臍からの出血* ・ PT 及び APTT 延長 (死亡例ではより顕著) ・ 副腎絶対・比重量¹増加 ・ 心囊、肺、卵巣、脳、胸腔及び腹腔等の多臓器の出血* ・ 心外膜炎、心筋変性及び線維化* ・ リンパ節濾胞及び胸腺の萎縮* ・ 膵腺房細胞のチモーゲン顆粒減少* ・ 胃のびらん及び粘膜下水腫* ・ 小葉中心性肝細胞壊死または脂肪化* ・ 腎尿細管壊死* ・ 副腎皮髄質境界部の単細胞壊死* ・ 造血亢進 (骨髄、脾及び肝) ・ 肺内動脈周囲炎 ・ 副腎束状帯の肥厚
600 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ PT 及び APTT 延長 ・ 肝比重量増加 ・ 肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Alb 減少 ・ 肝絶対・比重量増加 ・ 肝細胞肥大
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

* : 死亡例のみの所見

(4) 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、250、750 及び 1,500 ppm: 平均検体摂取量は表 24 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 24 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		250 ppm	750 ppm	1500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.28	22.1	44.9
	雌	7.58	24.3	47.1

死亡例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 25 に示されている。

飼料の嘔吐が全投与群に散見されたが、発現状況に検体投与との関連性は認め

¹ 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

られなかった。

本試験において、750 ppm 以上投与群の雌雄で肝比重量増加及び小葉中心性肝細胞肥大等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 250 ppm (雄:7.28 mg/kg 体重/日、雌:7.58 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 49)

表 25 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> PT 及び APTT 延長 ALP 増加 Alb 減少 	<ul style="list-style-type: none"> PT 及び APTT 延長 副腎皮質 (球状帯) の脂肪化
750 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝絶対・比重量増加 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ALP 増加 肝比重量増加 小葉中心性肝細胞肥大
250 ppm	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 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、150、500 及び 1,500 ppm: 平均検体摂取量は表 26 参照) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 26 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		150 ppm	500 ppm	1,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.70	12.3	35.9
	雌	4.16	13.5	38.7

各投与群で認められた毒性所見は表 27 に示されている。

投与 2 週時に、1,500 ppm 投与群の雄 1 例が何ら一般状態の変化を示すことなく胸腔内出血により死亡したが、検体投与との関連は明確ではなかった。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 150 ppm (雄: 3.70 mg/kg 体重/日、雌: 4.16 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 50)

表 27 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
1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> PT 延長 ALP 増加 肝比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> PT 及び APTT 延長 ALP 増加
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝絶対重量増加 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> 小葉中心性肝細胞肥大
150 ppm	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)

Fischer ラット (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、10、60 及び 200 ppm : 平均検体摂取量は表 28 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 28 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		10 ppm	60 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.356	2.13	7.17
	雌	0.432	2.60	8.74

検体投与による死亡率への影響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 29 に示されている。

死亡・切迫と殺動物において、皮下、筋肉内あるいは胸腔内への大量出血が 60 ppm 投与群の雄 1 例、200 ppm 投与群の雌 4 例に認められた。また、これらの動物では消化管における出血を示唆する腸管のタール様内容物も認められた。腸管のタール様内容物は 60 ppm 投与群の雌でも 1 例に見られた。これらは、検体投与による血液凝固阻害に起因する変化と考えられた。

腫瘍性病変については、検体投与に関連した発生頻度の増加は認められなかった。

本試験において、60 ppm 以上投与群の雌雄で出血に関連した病理所見 (腸管のタール様内容物等) が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 10 ppm (雄 : 0.356 mg/kg 体重/日、雌 : 0.432 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 51)

表 29 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
200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 眼球突出及び前眼房部拡張 ・ PT 及び APTT 延長 ・ 脾絶対・比重量低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 眼球突出及び前眼房部拡張 ・ PT 及び APTT 延長 ・ 体重増加抑制、摂餌量低下 ・ ALT 増加 ・ 皮下、筋肉内あるいは胸腔内への大量出血
60 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 腸管のタール様内容物 ・ 皮下、筋肉内あるいは胸腔内への大量出血 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 腸管のタール様内容物
10 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 55 匹) を用いた混餌 (原体 : 雄 0、20、100 及び 200 ppm、雌 0、20、200 及び 600 ppm : 平均検体摂取量は表 30 参照) 投与による 18 ヶ月間発がん性試験が実施された。

表 30 18ヶ月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	100 ppm	200 ppm	600 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.95	14.4	35.2	/
	雌	1.94	/	19.2	

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

検体投与に関連した腫瘍発生頻度の増加あるいは腫瘍発生の早期化は見られなかったが、重複腫瘍保有動物数が 200 ppm 投与群の雄で有意に多かった（対照群 0/50、200 ppm 投与群 5/50）。これは肝の血管腫、精巣上体の組織球肉腫、ハーダー腺の腺腫及び胸腔内軟部組織の組織球肉腫の見られた個体に、肺あるいは肝の腫瘍が同時に発生していたことによるものであり、自然発生腫瘍の重複発生と考えられ、試験実施施設の背景データ（1/50～8/50）内の発現頻度でもあることから、検体投与の影響ではないと考えられた。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雄及び 600 ppm 投与群の雌で全身性の出血傾向を伴う死亡及び切迫と殺動物の増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 20 ppm（1.95 mg/kg 体重/日）、雌で 200 ppm（19.2 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 52）

表 31 18ヶ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
600 ppm	/	<ul style="list-style-type: none"> ・ 死亡率増加 ・ 全身性の出血傾向を伴う死亡及び切迫と殺動物の増加 ・ APTT 延長 ・ 脾絶対・比重量低下 ・ 消化管の異常内容物（暗褐色～黒色調） ・ 腺胃びらん
200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 死亡率増加 ・ 消化管の異常内容物（暗褐色～黒色調） ・ 腺胃びらん、胃腺拡張 ・ 心及び精巣の出血 ・ 脾の赤芽球系細胞造血亢進 ・ 小葉中心性肝細胞肥大及び壊死 	200 ppm 以下毒性所見なし
100 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 全身性の出血傾向を伴う死亡及び切迫と殺動物の増加 ・ PT 及び APTT の延長 ・ 脾絶対・比重量低下 	
20 ppm	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）

SD ラット（一群雌雄各 32 匹）を用いた混餌（原体：0、10、30 及び 100 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（交配前）

投与群		10 ppm	30 ppm	100 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.7	2.1	7.2
		雌	0.8	2.6	8.3
	F ₁ 世代	雄	0.9	2.7	9.1
		雌	0.9	2.9	9.7

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に示されている。

親動物では、P 世代に検体投与による影響は認められなかったが、F₁ 世代の 100 ppm 投与群において、雌雄各 1 例が眼出血を伴って死亡した。

児動物では、100 ppm 投与群の F₂ 児動物で驚愕反射及び自由落下反射の平均達成日に遅延が認められたが、100 ppm 投与群の F₂ 児動物では低体重を伴っていることから、これらは軽度な発育遅延を反映した変化であり毒性学的意義は乏しいと考えられた。

本試験において、親動物では 100 ppm 投与群で眼出血を伴う死亡、児動物では 100 ppm 投与群で出血に関連した剖検所見及び低体重等が認められたことから、無毒性量は親動物及び児動物で 30 ppm（P 雄：2.1 mg/kg 体重/日、P 雌：2.6 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：2.7 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：2.9 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 53）

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	100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし	・眼出血（死亡例） ・無黄体
	30 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	100 ppm	・出血、挫傷及び蒼白等の出血に関連した剖検所見とこれらに関連した眼異常		・全同腹児死亡増加 ・死亡率増加 ・低体重 ・出血、挫傷及び蒼白等の出血に関連した剖検所見とこれらに関連した眼異常
	30 ppm 以下	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、3、10 及び 20 mg/kg 体重/日、溶媒 : MC) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物において、20 mg/kg 体重/日投与群の 4 例で妊娠 13~15 日に膣からの出血が認められ、検体投与による影響と考えられた。この所見は妊娠 16 日以降には消失し、帝王切開時の剖検でも子宮内に出血は認められなかった。その他、体重、摂餌量、子宮内所見のいずれにおいても異常は認められなかった。

胎児については、自然発生的にみられる種々の内臓及び骨格異常が散見されたのみで、これらの発生率には対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。

本試験において、母動物では 20 mg/kg 体重/日投与群で膣出血が認められ、胎児ではいずれの投与群においても毒性所見が認められなかったことから、無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 20 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 54、55)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 16 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体 : 0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg 体重/日、溶媒 : MC) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、20 mg/kg 体重/日投与群で 1 例が死亡し、2 例が切迫と殺された。切迫と殺動物では、生存時に膣からの出血徴候に加えて円背位、座込み姿勢、呼吸異常及び立毛が観察され、剖検において広範な内出血が認められた。同群では、生存例においても膣出血が認められた。

胎児では、胎児体重、妊娠子宮重量、性比のいずれにおいても、検体投与による影響は認められなかった。骨格検査においては、腰肋の発生率が 20 mg/kg 体重/日投与群で高い傾向 (62.3%) が示され、試験機関の背景データ (41.7~57.1%) を僅かに上回っていたが、対照群 (37.1%) との間に統計学的有意差を示さず、また用量相関性もなかったことから、自然発生の範囲内と考えられた。その他、各群に種々の外表、内臓及び骨格異常が観察されたが、いずれも対照群との間に統計学的有意差はなく、検体投与との関連性は認められなかった。

本試験において、母動物では 20 mg/kg 体重/日投与群で膣出血及び死亡が認められ、胎児ではいずれの投与群においても毒性所見が認められなかったことから、無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 20 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 56)

1.3. 遺伝毒性試験

インダノファンの細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL 細胞) を用いた染色体異常試験及びマウスの骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。

結果は表 34 に示されており、全て陰性であった。インダノファンに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 57~60)

表 34 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	<i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株)	0~55,000 µg/disc (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA 株)	313~5,000 µg/ plate (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター 肺由来培養細胞株(CHL)	31.3~125 µg/mL (+S9、24 時間) 15.6~62.5 µg/mL (-S9、24 時間) 3.9~31.3 µg/mL (-S9、48 時間)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス骨髄細胞 (一群雄 5 匹)	0、25、50、100 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物の細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL 及び CHL/IU) を用いた染色体異常試験、マウスの骨髄細胞を用いた小核試験及びラットの肝細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験が実施された。

結果は表 35 に示されている。[4]、[7]及び[8]についての試験結果は全て陰性であり、遺伝毒性はないものと考えられた。

[2]及び[5]については、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞(CHL)を用いた染色体異常試験において陽性の結果が得られた。しかし、マウス骨髄細胞を用いた小核試験では[2]及び[5]ともに陰性、さらに[5]については、UDS 試験の結果も陰性であったことから、[2]及び[5]についても生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられた。(参照 61~70)

表 35 遺伝毒性試験概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
代謝物 [2]	復帰突然変異 試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	39.1~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	染色体異常 試験	チャイニーズハムスター 肺由来培養細胞株 (CHL/IU)	31.3~250 µg/mL (-S9、24 時間) 15.6~125 µg/mL (-S9、48 時間) 37.5~300 µg/mL (-S9、24 時間) 37.5~400 µg/mL (+S9、24 時間)	陽性
	小核試験 (<i>in vivo</i>)	ICR マウス骨髄細胞 (一群雄 6 匹)	0、12.5、25、50 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性
代謝物 [4]	復帰突然変異 試験	<i>S. typhimurium</i> (TA94、TA98、 TA100、TA2637 株)	50~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
代謝物	復帰突然変異	<i>S. typhimurium</i>	313~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性

	試験	(TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)		
[5]	染色体異常 試験	チャイニーズハムスター 肺由来培養細胞株(CHL)	12.5~100 µg/mL (-S9、24 及び 48 時間) 25~125 µg/mL (-S9、24 時間) 25~150 µg/mL (+S9、24 時間)	陽性
	小核試験 (<i>in vivo</i>)	ICR マウス骨髄細胞 (一群雄 6 匹)	0、15.6、31.3、62.5 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性
	不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (<i>in vivo</i>)	Fischer ラット肝細胞 (一群雄 3 匹)	0、62.5、250 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
代謝物 [7]	復帰突然変異 試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	39.1~5,000 µg/plate (-S9) 39.1~2,500 µg/plate (+S9)	陰性
代謝物 [8]	復帰突然変異 試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	39.1~2,500 µg/plate (+/-S9)	陰性

14. その他の試験

(1) ラットの糞におけるインダノファンの光学異性体比の確認

インダノファンの光学異性体間における吸収の差を比較する目的で、ラットにおける動物体内運命試験[1.(1)]で得られた[ind-¹⁴C]インダノファン高用量 (50 mg/kg 体重) 投与群雌の投与後 48 時間の糞における[ind-¹⁴C]インダノファンの光学異性体比について検討した。

その結果、消化管吸収を受けずに直接糞中に排泄されたインダノファンは、被験物質として投与した[ind-¹⁴C]インダノファンと同様、光学異性体比 50 : 50 のラセミ体であった。

インダノファンの光学異性体間に吸収の差はないものと考えられた。(参照 71)

(2) ラットにおける植物中主要代謝物[8]の確認試験

植物における主要代謝物である[8]の動物体内での有無を確認する目的で、ラットにおける動物体内運命試験[1.(1)]で得られた、[ind-¹⁴C]インダノファン高用量 (50 mg/kg 体重) 投与群雌の投与後 48 時間の糞及び胆汁、投与 4 時間後の肝を液々分配、TLC 分取・精製及び HPLC-RLG を用いて検討された。

その結果、胆汁中に[8]が検出され、動物においても植物と同様な代謝物の生成が確認された。糞及び肝については、試料の残量が少なかったため[8]の確認に至らなかったが、胆汁中で存在が確認されたことから、生成部位である肝及び最終排泄経路である糞中にも検出される可能性が示唆された。(参照 72)

(3) ラットにおける胎盤透過性及び乳汁・乳児移行性試験

ラットを用いた 2 世代繁殖試験[12.(1)]で児動物にも出血性の変化が認められ

たことから、児動物への影響を確認する目的で、SD ラット（胎盤透過性試験：妊娠 19 日の雌 3 匹、乳汁・乳児移行性試験：分娩 13 日後の母動物 8 匹）に、[ind-¹⁴C] インダノファンを 20 mg/kg 体重で単回経口投与し、胎盤透過性（投与 24 時間後まで測定）及び乳汁・乳児移行性試験（投与 48 時間後まで測定）が実施された。

投与 1 時間後において、母動物では消化管内容物、肝臓等の他、種々の組織に放射能の分布が認められたが、胎児への分布はわずかであり、羊水への分布は認められなかった。投与 4 時間後では、胎児への移行はより明瞭となり、全身に母動物の筋組織と同程度の放射能分布が認められた。胎盤や胎膜にも分布が認められたが、羊水には認められなかった。投与 24 時間後では、母動物では放射能濃度が顕著に低下したが、胎児の濃度は低下せず、脳を除く全身に、母動物の血液と同程度の放射能が分布した。

母動物の血漿中濃度は投与 8 時間後に C_{max} (6.99 $\mu\text{g/mL}$) を示したのち減衰した。乳汁中濃度も同様の傾向で推移し、8 時間後に C_{max} (10.3 $\mu\text{g/mL}$) に達したのち減衰した。

乳児の主要組織における残留放射能濃度は表 36 に示されている。

乳児の組織内放射能濃度は、いずれの測定時点においても消化管（内容物を含む）が最も高く、次いで肝、血液、腎で高かった。消化管の放射能濃度は投与 8 時間後、その他の組織では 24 時間後に C_{max} を示した。投与 24 時間後の組織内濃度は、肝、血漿、腎等が比較的高かったが、その濃度は母動物における最高血漿中濃度の 7~14% に相当する低い値であった。各組織ともその後の減衰は緩やかであり、48 時間後においても顕著な濃度低下は認められなかった。乳児への分布率の合計は、最も高い値を示した 48 時間後においても母動物への投与量の 0.2% 程度にとどまった。

表 36 乳児の主要組織における残留放射能濃度 ($\mu\text{g/g}$)

投与 8 時間後	消化管(3.40)、肝(0.80)、血漿(0.40)、腎(0.38)、全血(0.28)
投与 24 時間後	消化管(2.21)、肝(0.97)、血漿(0.77)、全血(0.54)、腎(0.51)
投与 48 時間後	消化管(2.11)、肝(0.88)、血漿(0.69)、全血(0.53)、腎(0.44)

※消化管は内容物を含む

投与後 8 時間の乳汁中における主要代謝物は、[2]、低極性の未同定代謝物である M-68 及び M-6 であった。一方、母動物の血漿中では [2] 及び未同定の M-6 であった。投与後 8~48 時間の乳児血漿には未同定の M-6、M-39 及び M-51 が認められ、M-51 は母動物の血漿中、ラット単回投与試験 [1.(1)] の糞、血漿及び肝臓中に、M-39 はラット単回投与試験の尿、糞、胆汁、血漿及び肝臓中に検出されたものであった。

以上より、インダノファンあるいはその代謝物は血液—胎盤関門を透過し、胎児に移行した。また、分娩後の母動物に投与した場合には乳汁中に分泌され、乳汁を介して哺育中の乳児にも移行した。移行量はわずかであり、乳児中の代謝物の濃度が顕著に高まることはないことが示されたが、これらの移行成分等が繁殖