

II. 安全性に係る試験の概要

農薬抄録（2007年）を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。（参照8）

各種運命試験（II-1~4）は、カルプロパミドのフェニル環の炭素を¹⁴Cで均一に標識したもの（¹⁴C-カルプロパミド）を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合カルプロパミドに換算した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙1及び2に示した。

1. 動物体内運命試験

(1) 薬物動態

SDラット（一群雌雄各4~5匹）に¹⁴C-カルプロパミドを低用量または高用量（1または20 mg/kg体重）で単回経口投与し、また低用量で反復経口投与（非標識体を1日1回14日間投与後、15日目に標識体を単回投与）して、薬物動態試験が実施された。

血漿中放射能濃度推移は表1に示されている。

各パラメーターには雌雄間、投与方法の違いによる変動が認められた。また $T_{1/2}$ は α 相（分布相）で3.96~6.58時間、 β 相（消失相）で30.1~74.5時間であったことから、放射能は体内に速やかに分布した後、体外へ排泄されることが示された。

（参照8）

表1 血漿中放射能濃度推移

	1 mg/kg 単回経口		20 mg/kg 単回経口		1 mg/kg 反復経口	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T_{max} (時間)	5.68	4.23	5.71	5.29	8.68	2.99
C_{max} (μ g/g)	0.30	0.086	0.32	0.063	0.26	0.097
$T_{1/2}(\alpha)$ (時間)	4.02	6.58	3.96	6.39	5.70	5.35
$T_{1/2}(\beta)$ (時間)	57.2	54.2	30.1	74.5	57.5	49.4

(2) 排泄

SDラット（一群雌雄各4~5匹）に¹⁴C-カルプロパミドを低用量または高用量（1または20 mg/kg体重）で単回経口投与し、また、低用量で反復経口投与して、排泄試験が実施された。

各投与群の投与後24時間の尿及び糞中の排泄は雄で総投与放射能(TAR)の59.3~81.2%、雌で33.7~55.2%と雌の排泄が低かったが、投与後48時間で排泄は雄で84.4~99.3%TAR、雌で80.0~92.1%TARとなり、大部分の放射能が排泄された。投与放射能は主に糞中に排泄されたが、投与後48時間の糞中への排泄率（全体の排泄率中、糞中への排泄が占める割合）は雄で88.8~90.7%、雌で75.8~83.2%で

あり、投与後 72 時間の排泄率においても雌雄とも排泄率の比（糞：尿）はほぼ一定であり、雄で約 9：1、雌で約 8：2 であった。

また、胆管カニューレを挿入した SD ラット（一群雄各 4 匹）に ^{14}C -カルプロパミドを 1 mg/kg 体重で十二指腸内に投与し、胆汁排泄試験が実施された。

投与後 24 時間の排泄は 92.8%TAR であり、胆汁中に 69.3%TAR、糞中に 19.1%TAR、尿中に 4.34%TAR が排泄された。（参照 8）

（3）体内分布

SD ラット（一群雄各 15 匹）に ^{14}C -カルプロパミドを低用量（1 mg/kg 体重）で単回経口投与し、体内分布試験が実施された。

いずれの臓器・組織においても投与 8 時間後の放射能濃度が最も高く、その後、時間の経過とともに減少した。投与 8 時間後の放射能濃度は、肝臓で 1.23 $\mu\text{g/g}$ （5.2%TAR）、腎脂肪で 0.76 $\mu\text{g/g}$ （3.8%TAR）、皮膚で 0.06 $\mu\text{g/g}$ （1.4%TAR）、血漿で 0.35 $\mu\text{g/g}$ （1.1%TAR）であった。

また排泄試験[1.(2)]において、各試験終了時（投与 72 時間後）に組織中残留放射能を測定したが、肝で 0.21～0.50%TAR、筋肉で 0.05～0.16%TAR、皮膚で 0.03～0.12%TAR の放射能が検出された他はいずれの組織中も 0.1%TAR 未満であった。多くの臓器・組織において雌より雄で残留放射能が高い傾向が認められた。（参照 8）

（4）代謝物同定・定量

排泄試験[1.(2)]の経口投与試験における尿糞中及び胆汁排泄試験における尿、糞及び胆汁中の代謝物同定・定量試験が実施された。

経口投与試験での糞中には親化合物が雄で 6.9～11.7%TAR、雌で 4.7～9.0%TAR 存在した。糞中に認められた代謝物は II が雄で 15.1～17.1%TAR（遊離体と抱合体の合計、以下同様）、雌で 24.8～32.1%TAR、III が雄で 6.9～10.7%TAR、雌で 5.8～7.4%TAR 存在した他、IV、V 及び VI が検出された。また、III-E 及び 5 種類の未同定化合物が雌雄とも認められた。胆汁排泄試験での糞中には親化合物が 18.0%TAR 存在した他、代謝物 II、III 及び IV（いずれも 2.0%TAR 未満）が検出された。

経口投与試験での尿中に親化合物は認められなかった。尿中に認められた代謝物は、遊離体と抱合体を合計すると、雄では V（2.4～3.4%TAR）、雌では II、III 及び V（1.9～5.3%TAR）が主であった。胆汁排泄試験での尿中には親化合物は存在せず、代謝物 II、III、IV、V 及び VI（いずれも 0.5%TAR 以下）が存在した。

胆汁中に存在した親化合物は 0.1%TAR であった。主要な代謝物は II（28.6%TAR）、III（18.6%TAR）で、ほとんどが抱合体として存在した。また、代謝物 IV、V、VI 及び III-E が 0.7～3.9%TAR 認められた。

体内分布試験[1.(3)]における肝、腎及び血漿中の代謝物の同定・定量試験が実施された。

肝、腎、血漿ともVが最も多く認められた他、肝、腎ではII及びIIIが比較的多く認められた。

主要代謝経路は、カルプロパミドのフェニル環の3位の水酸化によるフェノール体（代謝物II）の生成及びシクロプロパン環のメチル基の水酸化によるアルコール体（代謝物III）、ジオール体（代謝物IV）の生成、さらに酸化によるカルボン酸体（代謝物V）、フェノール・カルボン酸体（代謝物VI）の生成と考えられた。またII、III及びIVは硫酸抱合またはグルクロン酸抱合を受けた。

糞中及び尿中の各代謝物の存在量に雌雄で差が認められたが、雌雄とも同じ代謝物が存在しており、代謝パターンに顕著な性差はないものと考えられた。

糞中及び胆汁中のジアステレオマーの存在比は、親化合物及び代謝物IIではジアステレオマーA：Bがほぼ1：1であり、投与前と同様であった。代謝物IIIのジアステレオマーA及びBの比率には差が認められ、ジアステレオマーAが多く存在した。
(参照8)

2. 植物体内運命試験

(1) 水稻（水耕液処理、塗布処理）

¹⁴C-カルプロパミドを4～5葉期の水稻（品種：クサブエ）に水耕液処理（非標識体と混合し、6.66 mg/L添加）及び葉面塗布（5.5 µg/葉）し、水稻における植物体内運命試験が実施された。

処理後の水稻試料中放射能分布は表2に示されている。

表2 水稻試料中放射能分布 (%TAR)

	水耕液処理			葉面塗布			
	地上部	根部	水耕液	地上部 ¹⁾	地上部 ²⁾	根部	水耕液
1日後	12.5	15.8	70.0	91.7	<0.1	<0.1	—
中間期 ³⁾	37.1	35.8	24.9	67.2	<0.1	<0.1	—
終了時 ⁴⁾	35.7	34.6	27.1	78.0	0.3	<0.1	—

注 ー：検出限界未満

1)処理部位（塗布した葉）

2)処理部位以外（塗布した葉以外の地上部）

3)水耕液処理では処理8日後、葉面塗布では塗布7日後

4)水耕液処理では処理14日後、葉面塗布では塗布10日後

水耕処理区の植物地上部に認められた主な残留成分は親化合物であり、処理1日後に植物地上部の総残留放射能（TRR）の87.3%、処理14日後には62.3%TRRとなった。代謝物はそれぞれ処理14日後に最大値を示したが、代謝物IIIが6.7%TRR、II、III-E及びVが0.8～1.7%TRRであった。葉面塗布区では塗布処理後の植物地

上部（処理部位）に認められた放射能のうち、90.7～95.1%TRRがアセトン表面洗浄液に回収され、その大部分は親化合物であった。処理部位の抽出液中の化合物は親化合物が3.4～5.5%TRRであり、代謝物としてⅡ、Ⅲ、Ⅲ-E及びⅤが認められたが、その生成量はいずれも1%TRR未満であった。（参照8）

（2）水稲（箱処理）

¹⁴C-カルプロパミドを0.4及び1.6 kg ai/haで植穴処理した後、水稲（品種：コシヒカリ）を栽培し、植物体内運命試験が実施された。青刈り稲（処理67日後）及び収穫期（処理115日後）地上部の水稲試料中放射能分布は表3に示されている。

表3 水稲試料中放射能分布

処理量 (採取時期)	0.4 kg ai/ha (処理67日後)	0.4 kg ai/ha (処理115日後)				1.6 kg ai/ha (処理115日後)			
	採取部位	稲わら	玄米	籾殻	枝梗	稲わら	玄米	籾殻	枝梗
放射能分布 ¹⁾	7.36	7.44	0.05	0.11	0.05	4.67	0.02	0.06	0.03
	0.556	1.63	0.012	0.124	0.454	4.66	0.028	0.322	1.094

注)上段：%TAR、下段：mg/kg

0.4 kg ai/ha 処理区で植物地上部と根部、土壌中の放射能を測定したところ、地上部、根部、土壌中の放射能はそれぞれ6.54、1.78及び89.0%TARであった。

青刈り稲（0.4 kg ai/ha 処理区）及び収穫期の稲わら中（0.4及び1.6 kg ai/ha 処理区）で最も多かった化合物は親化合物であった（0.333～2.33 mg/kg、51.7～62.7%TRR）。また代謝物Ⅲ、Ⅲ-E、Ⅲ-GI、Ⅱ及びⅤが検出されたが、いずれも6%TRR未満であった。

玄米中（0.4及び1.6 kg ai/ha 処理区）には親化合物が0.0068～0.0167 mg/kg（56.2～58.9%TRR）存在した。代謝物は稲わら及び青刈り稲と同様、代謝物Ⅲ、Ⅲ-E、Ⅲ-GI、Ⅱ及びⅤが検出されたが、Ⅲ、Ⅲ-E及びⅢ-GIの合計が0.0013 mg/kg（4.5～5.7%TRR）、Ⅱ及びⅤはいずれも0.0002～0.0004 mg/kg（2.0%TRR以下）であった。1.6 kg ai/ha 処理区の玄米を白米と糠に分離したところ、放射能残留量の比は白米：糠で約4：6であった。

水稲において、カルプロパミドは代謝物Ⅱ、代謝物Ⅲ及び代謝物Ⅴに代謝され、さらに代謝物Ⅲはグルコース抱合体及び脂肪酸エステル体へと変換された。また代謝物Ⅱの抱合体も推定された。

1.6 kg ai/ha 処理区の玄米及び稲わらにおける親化合物のジアステレオマーA：Bの比率はほぼ1：1であり、処理前とほぼ同様であった。稲わらにおける代謝物Ⅲ及びⅢ-EのジアステレオマーA：Bもほぼ1：1であったが、Ⅲ-GIではA：Bが約76：24であった。（参照8）

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

¹⁴C-カルプロパミドを沖積・砂壤土（富山）及び火山灰・軽埴土（栃木）に乾土あたり 0.4 mg/kg の濃度で処理し、28℃の暗条件で 32 週間インキュベートする好氣的湛水条件下における土壌中運命試験が実施された。

田面水中の放射能は両土壌とも処理直後に 86.8～95.3% TAR であったが、処理 2 週間後には 3.6～7.9% TAR と減少した。土壌中の放射能は処理 2 週間後には 88.4～94.6% TAR となり、処理 32 週間後でも 61.4～77.2% TAR であった。処理 32 週間後には両土壌で 12.1～25.4% TAR が CO₂ に無機化された。両土壌試験区の田面水中及び土壌中で同定された主な化合物は親化合物であり、土壌中では処理 32 週間後で 35.8～52.7% TAR 存在した。

また分解物 V が検出されたが、最大値は水中及び土壌中でそれぞれ 1.4 及び 2.8% TAR であった。カルプロパミドの土壌中推定半減期は沖積・砂壤土で 120 日、火山灰・軽埴土で 222 日と算出された。

CO₂ が発生することから、土壌中でカルプロパミドは分解物 II 等の中間分解物を経てフェニル環が開裂すると推定されたが、中間分解物は検出されなかった。また分解物 III を経て分解物 V が生成する分解経路が推定された。（参照 8）

(2) 好氣的土壌中運命試験（畑地土壌）

¹⁴C-カルプロパミドを沖積・軽埴土（高知）及び火山灰・軽埴土（茨城）に乾土あたり 0.58 mg/kg の濃度で処理し、また火山灰・軽埴土（茨城）に乾土あたり 0.50 mg/kg の濃度で処理し、28℃の暗条件下で最長 14 週間インキュベートする畑地条件下における好氣的土壌中運命試験が実施された。

0.58 mg/kg 処理区では処理 6 週間後に両土壌で CO₂ が 1.0～1.5% TAR 生成した。両土壌中に親化合物が 80.9～84.5% TAR 認められたが、その他の成分は同定されなかった。両土壌中とも推定半減期は算出されなかった。

0.50 mg/kg 処理区では CO₂ が処理 6 週間及び 14 週間後でそれぞれ 0.7 及び 0.8% TAR 生成した。土壌中親化合物は 6 週後の 87.6% TAR から 14 週後の 74.9% TAR まで減少した。推定半減期は約 240 日と算出された。（参照 8）

(3) 土壌吸着試験

4 種類の国内土壌（軽埴土：宮城、石川及び茨城、砂壤土：宮崎）を用いた土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 8.95～42.9、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 574～1,410 であった。（参照 8）

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

¹⁴C-カルプロパミドを pH 4 (クエン酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に 1 mg/L の用量で添加し、50±0.1°C の暗所における加水分解試験が実施された。

試験期間中 (5 日間) のカルプロパミドの濃度の変化はいずれの pH でも試験開始時の±0.02 mg/L 以内であった。試験溶液中に分解物は認められず、親化合物は試験期間中安定であった。いずれの pH においても推定半減期は 1 年超と計算された。(参照 8)

(2) 水中光分解試験 (純水及び自然水)

¹⁴C-カルプロパミドを純水 (pH 6.7、滅菌) 及び自然水 (pH 7.6、鬼怒川河川水、非滅菌) に 1 mg/L の用量で添加し、25±1°C でキセノンランプ光 (光強度: 36~38 W/m²、測定波長 310~400 nm) を 15 日間照射し、水中光分解試験が実施された。

純水中では、カルプロパミドは試験終了時に 96.4% TAR 存在し、推定半減期は 150 日以上と計算された。これは、東京における春の太陽光下での推定半減期に換算すると 1 年超となった。試験期間中 0.5% TAR 以上存在する分解物は検出されなかった。

自然水中では、カルプロパミドは試験終了時に 76.6% TAR 存在した。分解物として、分解物 VII、VIII 及び CO₂ が最大値で 2.0~5.1% TAR 認められた他、4 種類の未同定成分が確認された。カルプロパミドの自然水中での光分解による推定半減期は 42 日と計算された。これは、東京における春の太陽光下での推定半減期に換算すると 203 日であった。

主要分解経路は、カルプロパミドのフェニル環が開裂し、アラニン体 (分解物 VII) 及びギ酸 (分解物 VIII) を経て CO₂ にまで分解される経路と推定された。(参照 8)

(3) 水中光分解試験 (自然水、水田水及びフミン酸水溶液)

¹⁴C-カルプロパミドを自然水 (鬼怒川及び田川河川水、非滅菌)、水田水 (栃木県農業試験場水田、非滅菌) 及びフミン酸水溶液 (濃度 10、50 及び 100 ppm) に 0.4 mg/L の用量で添加し、25±1°C でキセノンランプ光 (光強度: 42~43 W/m²、測定波長; 310~400 nm) を 12 日間あるいは 7 日間照射し、水中光分解試験が実施された。

自然水及び水田水中では、カルプロパミドは試験終了時 (照射 12 日後) に 71.1~86.5% TAR 存在し、推定半減期は自然水中で 21.7~25.4 日、水田水中で 44.3 日と計算された。東京における春の太陽光下での推定半減期に換算すると自然水中で 117~137 日、水田水中で 239 日となった。CO₂ が 0.1~0.3% TAR 認められたが、その他の分解物は認められなかった。

フミン酸水溶液中では、カルプロパミドはフミン酸の濃度が高いほど早く分解した。試験終了時（照射7日後）に、フミン酸濃度10、50及び100 ppm水溶液中の親化合物はそれぞれ90.5、75.2及び64.2% TARであり、推定半減期はそれぞれ80.4日、20.0日及び12.0日と計算された。東京における春の太陽光下での推定半減期に換算するとそれぞれ1年超、111日、66.3日となった。（参照8）

5. 土壌残留試験

火山灰・壤土（栃木）及び沖積・砂壤土（富山）を用いて、カルプロパミド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。

推定半減期は表4に示されている。（参照8）

表4 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	カルプロパミド
圃場試験	400 ^G g ai/ha + 200 ^{DL} g ai/ha×2	火山灰・壤土	60日
		沖積・砂壤土	99日
容器内試験	0.4 mg/kg	火山灰・壤土	180日
		沖積・砂壤土	210日

※圃場試験ではG:粒剤、DL:粉剤 DL、容器内試験では原体を使用

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

カルプロパミド、代謝物Ⅲ（遊離体と抱合体の合計）、Ⅲ-E及びⅤ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に示されている。カルプロパミドの最高値は稲わらを除くと最終散布21日後に収穫した稲（玄米）の0.456 mg/kgであった。（参照8）

(2) 魚介類における最大推定残留値

カルプロパミド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。

カルプロパミドの水産 PEC は 1.7 ppb、BCF は 64、魚介類における最大推定残留値は 0.544 ppm であった。（参照 13）

7. 後作物残留試験

カルプロパミドを3.2 g ai/箱で1回、200 g ai/haで2回散布した水稻圃場での小麦、ほうれんそう等の後作物残留試験が実施された。結果は別紙4に示されている。いず

れの作物においてもカルプロパミドの残留値は定量限界未満 (<0.005 mg/kg) であった。(参照 8)

8. 乳汁移行試験

泌乳牛を用い、カルプロパミド (40 mg/頭/日) を 7 日間連続投与し、カルプロパミドを分析対象化合物とした乳汁移行試験が実施された。また一部の試料については代謝物Ⅲも分析した。

投与開始日から最終投与 7 日後まで、搾乳した試料中カルプロパミド及び代謝物Ⅲは全て定量限界未満 (<0.01 mg/kg) であった。(参照 8)

9. 一般薬理試験

マウス、ウサギ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 5 に示されている (参照 8)

表 5 一般薬理試験概要

試験の種類		動物種	動物数 /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	雄 3 雌 3	0, 500, 1,500, 5,000 (経口)	1,500	5,000	洗顔行動、反応性の低下、体姿勢の異常、振戦、よろめき歩行等
	一般状態 (Irwin 法)	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 500, 1,500, 5,000 (経口)	1,500	5,000	行動性の抑制、刺激反応の低下等
	体温	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 500, 1,500, 5,000 (経口)	500	1,500	一過性の軽度な体温低下
自律神経系 (瞳孔径)		日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 500, 1,500, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
体性神経系	腓腹筋収縮	SD ラット	雄 3	0, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
	筋弛緩 (傾斜板法)	SD ラット	雄 5	0, 500, 1,500, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
呼吸・循環器	呼吸数・心拍数 (無麻酔)	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 500, 1,500, 5,000 (経口)	1,500	5,000	呼吸数及び心拍数の一過性の増加
	呼吸・ 血圧・心拍 数 (麻酔)	日本 白色種 ウサギ	雄 3	0, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし

系	心電図	日本 白色種 ウサギ	雄3	0,5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
消化器系	生体位腸管	日本 白色種 ウサギ	雄3	0,5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
	炭末輸送能	SD ラット	雄5	0,500,1,500, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
腎機能		SD ラット	雄5	0,500,1,500, 5,000 (経口)	1,500	5,000	pHの上昇と低下、 Na ⁺ の増加
血液機能	溶血性	SD ラット	雄5	0,500,1,500, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
	血液凝固時間	SD ラット	雄5	0,500,1,500, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし

—：作用量は設定できなかった。

※：検体は全て5%クレモホア EL 水溶液に懸濁して用いられた。

10. 急性毒性試験

カルプロパミド及び代謝物Ⅲのラット及びマウスを用いた急性毒性試験が実施された。各試験の結果は表6及び表7に示されている。(参照8)

表6 急性毒性試験結果概要

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)	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	ICR マウス (雌雄各5匹)	>5,000	>5,000	歩行異常、振戦、後弓反張、歩行不能、死亡、剖検例で胃粘膜赤褐色染
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)		症状及び死亡例なし
		>5.06	>5.06	

表7 急性毒性試験結果概要 (代謝物Ⅲ)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	ICR マウス (雌雄各5匹)	>5,000	>5,000	鎮静、歩行異常、閉眼、呼吸異常、ふるえ、死亡、剖検例で肝臓の肥大、退色及び小葉

				構造の明瞭化
--	--	--	--	--------

1.1. 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試験性及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、カルプロパミドは眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。（参照 8）

DHPW モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施された。その結果、皮膚感作性は認められなかった。（参照 8）

1.2. 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、400、2,000 及び 10,000 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

体重、一般状態、摂餌量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査で検体投与の影響は認められなかった。10,000 ppm 投与群雌雄で TG の低下、肝細胞細胞質の均一な好酸性化が、10,000 ppm 投与群雌で肝絶対及び比重量¹の増加が認められた。2,000 ppm 以上投与群雌雄で GGT、TP 及び Alb の増加が認められ、また同群雄で肝絶対及び比重量の増加が認められた。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雄及び 10,000 ppm 投与群の雌において GGT 等の変化を伴う肝重量の増加が認められたので、無毒性量は雄で 400 ppm（28.3 mg/kg 体重/日）、雌で 2,000 ppm（174 mg/kg 体重/日）と考えられた。（参照 8）

(2) 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F1 マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、400、2,000 及び 10,000 ppm）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 8 に示されている。

本試験において、2,000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制等が、雌で肝絶対及び比重量の増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 400 ppm（雄：108 mg/kg 体重/日、雌：157 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 8）

表 8 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
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ AST、ALT、T.Chol、TP 増加 ・ 肝絶対重量増加 ・ 多核肝細胞増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制、摂餌量増加、飲水量減少 ・ AST、ALT、T.Chol、TP 増加 ・ 腎絶対及び比重量減少

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量増加 ・肝比重量増加 ・腎絶対及び比重量減少 ・肝色調異常 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・肝クッパー細胞色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・多核肝細胞増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝色調異常 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・肝クッパー細胞色素沈着
400 ppm	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) ①

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、100、700 及び 5,000 ppm) 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 9 に示されている。

5,000 ppm 投与群雄 1 例、雌 2 例は削瘦など一般状態が悪化したため切迫と殺した。この個体を除くと 5,000 ppm 投与群の体重は対照群と差が見られなかった。肝及び腎でプロトポルフィリンIXを測定したところ、700 ppm 以上投与群雌雄で肝にプロトポルフィリンIXの蓄積が認められたが、腎では切迫と殺例にのみ蓄積が認められた。

本試験において、700 ppm 以上投与群雌雄で ALT の増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm (雄 : 3.23 mg/kg 体重/日、雌 : 3.55 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 8)

表 9 90日間亜急性毒性試験 (イヌ) ①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (切迫と殺 1 例) ・削瘦 ・AST、T.Bil 増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・胸腺退縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (切迫と殺 2 例) ・削瘦 ・AST、T.Bil 増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・胸腺退縮
700 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALT、ALP、GLDH 増加 ・肝プロトポルフィリンIX蓄積 ・肝絶対及び比重量増加傾向 ・肝単細胞壊死、染色性変化、プロトポルフィリン様色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・ALT、ALP、GLDH 増加 ・肝プロトポルフィリンIX蓄積 ・肝絶対及び比重量増加傾向 ・肝単細胞壊死、染色性変化、プロトポルフィリン様色素沈着
100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ) ②

ビーグル犬(一群雌雄各4匹)を用いた混餌(原体:0、100、500、5,000及び20,000 ppm)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10に示されている。

5,000 ppm以上投与群雌雄でGlu、Alb、TP、T3及びT4の減少が散見されたが、これらは摂餌量減少の結果生じた低栄養に伴う二次的な影響と考えられた。

肝臓における酵素を測定したところ、500 ppm以上投与群雌雄でP-450、N-Demeth、O-Demethに有意な増加あるいは減少が散見されたが、用量相関性は認められなかった。これは、肝臓の酵素誘導は起こっているものの5,000 ppm以上投与群では栄養不良のため活性が上昇していないものと推測された。

本試験において、500 ppm以上投与群雌雄で小葉中心性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも100 ppm(雄:3.55 mg/kg体重/日、雌:3.51 mg/kg体重/日)であると考えられた。(参照8)

表10 90日間亜急性毒性試験 (イヌ) ②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡(1例死亡、2例切迫と殺) ・削瘦、被毛粗剛、四肢冷感 ・体重減少 ・Ca減少 ・胆汁酸増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・削瘦、被毛粗剛、四肢冷感 ・体重減少 ・RBC、Hb減少、MCV増加、 ・T.Chol、ALT増加
5,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・PLT増加、低色素性RBC増加 ・ALT、AST、TG、T.Bil増加 ・O-Demeth減少 ・肝比重量増加 ・胆のう内黒色胆汁及び粒状物 ・肝暗黒色萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・PLT増加、MCHC減少 ・APTT減少 ・Ca減少 ・肝比重量増加 ・胆のう内黒色胆汁及び粒状物 ・肝暗黒色萎縮 ・肝細胞壊死 ・脾ヘモジデリン沈着
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・血色素濃度分布幅増加 ・APTT減少 ・N-Demeth増加(500 ppmのみ) ・小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞質空胞化、肝細胞好酸性顆粒状細胞質 	<ul style="list-style-type: none"> ・血色素濃度分布幅増加 ・低色素性RBC増加 ・TG増加 ・チトクロームP450増加 ・O-Demeth減少(500 ppmのみ) ・小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞

	<ul style="list-style-type: none"> ・肝細胞及びクッパー細胞色素沈着 (プロトポルフィリンIX) ・肝細胞壊死 ・脾ヘモジデリン沈着 	<ul style="list-style-type: none"> 質空胞化、肝細胞好酸性顆粒状細胞質 ・肝細胞及びクッパー細胞色素沈着 (プロトポルフィリンIX)
100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(5) 90日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、500、2,500 及び 15,000 ppm) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

15,000 ppm 投与群雌雄で摂餌量増加が、同群雌で体重増加抑制が認められ、2,500 ppm 以上投与群雄で体重増加抑制が認められた。

本試験における無毒性量は、雄で 500 ppm (34.8 mg/kg 体重/日)、雌で 2,500 ppm (221 mg/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 8)

1.3. 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) ①

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、200 及び 600² ppm) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

600 ppm 投与群雄で ALT の増加が、同群雌で剖検時に胆のう粘膜黒色化が認められ、200 ppm 以上投与群雌で肝比重量増加が認められた。

本試験における無毒性量は、雄で 200 ppm (5.90 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (1.43 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 8)

(2) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) ②

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、1,000 及び 3,000 ppm) 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 11 に示されている。

ALT、AST、GGT、N-Demeth、プロトポルフィリンIXの増加は必ずしも統計学的に有意ではなかったが、投与に起因した変化と考えられた。

1,000 ppm 以上投与群雌雄で T3 及び T4 の減少が認められたが、28 日間亜急性毒性試験[16. (2)]の結果より、検体投与の直接的な影響ではなく、肝機能異常などの一般状態の悪化によるものと考えられた。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群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 1,000 ppm 未満と考えられた。(参照 8)

² 試験開始後 4 週間は 800 ppm の濃度で混餌投与し、5 週目から 600 ppm に変更した。

表 11 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
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制傾向 ・Hb、Ht 減少 ・Alb 減少 ・脾赤色化 	<ul style="list-style-type: none"> ・AST、[GGT、T.Bil]、ChE 増加 ・Alb 減少 ・TG 増加 ・胆管過形成
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・PLT 増加、RBC 減少 ・血色素濃度分布幅増加 ・[ALT、AST]、ALP、[GGT、T.Bil]、ChE 増加 ・[N-Demeth、プロトポルフィリンIX]増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝退色、胆のう暗色化、 ・小葉中心性肝細胞肥大（一部に細胞質好酸性封入体を伴う）、クッパー細胞集合、肝単細胞壊死、褐色色素（プロトポルフィリンIX）沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・PLT 増加 ・血色素濃度分布幅増加 ・[ALT]、ALP 増加 ・N-Demeth（3000ppm 有意差なし） ・プロトポルフィリンIX 増加（1000ppm 有意差なし） ・肝比重量増加 ・肝退色、膺部リンパ節の萎縮 ・小葉中心性肝細胞肥大（一部に細胞質好酸性封入体を伴う）、クッパー細胞集合、肝単細胞壊死、褐色色素（プロトポルフィリンIX）沈着 ・膺部リンパ節褐色色素沈着

[]は有意差のない項目

（3）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 50 匹、中間と殺群：一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、400、2,000 及び 10,000 ppm）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。

各投与群で認められた毒性所見は表 12 に示されている。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍性病変は認められなかった。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群雌雄で肝比重量増加及び均質性肝細胞好酸性化等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 400 ppm（雄：24.7 mg/kg 体重/日、雌：34.0 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 8）

表 12 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
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡率上昇 ・体重増加抑制、摂餌量増加 ・RBC減少、MCV、MCHC増加 ・GGT増加 ・T3、T4減少、T4結合能増加 ・UDPGT増加 ・肝臓色調変化・門脈周囲肝細胞好酸性化、肝細胞褐色色素沈着、肝細胞脂肪化 ・腎尿細管リポフスチン沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、摂餌量増加 ・GGT増加 ・T3、T4減少、T4結合能増加 ・Alb比減少、α_1-Glob比増加 ・EH、UDGPT増加 ・肝臓色調変化、 ・肝絶対重量増加 ・門脈周囲肝細胞好酸性化、門脈周囲多形性肝細胞、肝細胞褐色色素沈着
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・一般状態の悪化、消瘦 ・EH、GST増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・均質性肝細胞好酸性化 ・甲状腺ろ胞内鉍質沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・TP増加 ・GST増加、 ・肝比重量増加 ・均質性肝細胞好酸性化、肝細胞脂肪化、胆管のう胞、胆管過形成 ・甲状腺ろ胞内鉍質沈着
400 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 2年間発がん性試験（マウス）①

B6C3F1 マウス（一群雌雄各 50 匹、中間と殺群：一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、400、1,600 及び 6,400 ppm）投与による 2 年間発がん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。

死亡率に対照群と投与群で差は認められなかった。

1,600 ppm 投与群雌雄で認められた小葉中心性肝細胞肥大等の肝の組織病理学的変化は、中間と殺群に認められたものであり、最終と殺群では認められなかった。最終と殺群で 1,600 ppm 投与群雄で多核肝細胞が認められ、統計学的有意差はなかったが、検体投与に起因した変化と考えられた。

400 ppm 投与群雌に認められた肝絶対及び比重量増加は、組織学的には変化が認められなかったが、ラットなど他の動物種と同様、検体投与に起因した変化と考えられた。

検体投与に起因した腫瘍の増加及び発生時期の早期化は認められなかった

本試験において、1,600 ppm 以上投与群雄で ALT の増加等が、400 ppm 以上投与群雌で肝絶対及び比重量増加が認められたので、無毒性量は雄で 400 ppm (98.8 mg/kg 体重/日)、雌で 400 ppm 未満であると考えられた。発がん性は認められな