

達した。(参照 8)

以上のことから、ブプロフェジンは、土壤中においてフェニル環の水酸化及びチアジアジン環の酸化、チアジアジン環の開裂等の分解を受けて、緩やかであるが経時的に減衰し、特に好氣的湛水条件下では二酸化炭素の生成が顕著であり、無機化されると考えられた。

(3) 土壤吸着試験

4 種類の国内土壤（軽埴土：北海道、軽埴土：新潟及び茨城、砂壤土：鹿児島）を用いて、土壤吸着試験が実施された。

鹿児島土壤を除く 3 種類の土壤では土壤吸着性が強く、高次試験の実施は不可能であった。鹿児島土壤における Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 39.1 であり、有機炭素含有率により補正した 25°C での吸着係数 K_{oc} は 2,230 であった。(参照 8)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

^{14}C -ブプロフェジンを pH 5（酢酸緩衝液）、pH 7（リン酸緩衝液）及び pH 9（ホウ酸緩衝液）の各緩衝液に 0.32 mg/L の用量で添加し、25±1°C の暗所で 30 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

pH 5、pH 7 及び pH 9 における推定半減期は、それぞれ 51 日、378 日及び 396 日であった。ブプロフェジンは pH 5 の酸性条件下で加水分解されやすく、主要分解物として O（チオビウレット体）が 30 日後に最大で 19% TAR 検出された。その他に O がさらに分解を受けたと考えられる F 及び G が同定されたが、いずれも 10% TAR 未満であった。中性及びアルカリ性条件下では、30 日後でも親化合物が 90% TAR 以上検出され、ブプロフェジンは安定であると考えられた。(参照 8)

(2) 水中光分解試験（自然水：フミン酸溶液）

^{14}C -ブプロフェジンを自然水（pH 7 のリン酸緩衝液にフミン酸ナトリウムを溶解して調製したフミン酸溶液）に 0.193 mg/L の用量で添加し、25±2°C で 6 日間キセノン光照射（光強度：528 W/m²、波長：300～800 nm）して水中光分解試験が実施された。

ブプロフェジンは、照射 6 日後（太陽光換算で 32.0 日）には 74.7% TAR に減衰し、自然水中での推定半減期は 13.7 日（東京春の太陽光換算値：73 日）であった。主要分解物として N（フェニルホルムアミド）が生成され、6 日後に最大で 4.9% TAR 検出された。その他の分解物として E、F、J、M（脱イソプロピル体）及び 5 種類の未同定分解物が検出されたが、いずれも微量であった。暗条件下ではいずれの分解物も生成されなかった。(参照 8)

(3) 水中光分解試験（蒸留水）

¹⁴C-ブプロフェジンを蒸留水に 0.1 mg/L の用量で添加し、自然太陽光下で 30 日間照射して水中光分解試験が実施された。

ブプロフェジンは、照射 30 日後には 55%TAR に減衰し、太陽光下の蒸留水中での推定半減期は 33 日であった。主要分解物として N が生成され、30 日後に最大で 9.7%TAR 検出された。暗条件下でも分解物 N が検出されたが、太陽光照射で生成が促進された。その他の分解物として B、E、F、G、I（フェニルウレア）、J、M 及び O が微量検出された。（参照 8）

(4) 水中光分解試験（自然水：池水）

非標識ブプロフェジンを pH 7.3 の自然水（池水：大阪）に 0.202 mg/L の用量で添加し、25±3°C で 7 日間キセノン光照射（光強度：15.9～22.1 W/m²、波長：280～500 nm）して水中光分解試験が実施された。

ブプロフェジンは、照射 7 日後には 70.4%TAR に減衰し、池水における推定半減期は 14 日であった。暗条件下では分解はみられなかった。（参照 8）

5. 土壌残留試験

沖積・埴壤土（和歌山、愛媛）、火山灰・埴壤土（茨城、神奈川）、火山灰・壤土（栃木）、洪積・埴壤土（愛媛）及び火山灰・埴土（茨城）を用いて、ブプロフェジンを分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内及び圃場試験）が実施された。推定半減期は表 6 に示されている。（参照 8）

表 6 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験		濃度	土壌	ブプロフェジン
容器内試験	湛水状態	1.6 mg/kg ^a	沖積・埴壤土	102 日
			火山灰・埴土	180 日
			沖積・埴壤土	86 日
			火山灰・壤土	69 日
	畑状態	2.5 mg/kg ^a	洪積・埴壤土	25 日
			火山灰・埴壤土	90 日
圃場試験	湛水状態	1,600 g ai/ha ^b	沖積・埴壤土	127 日
			火山灰・埴壤土	162 日
		1,600 g ai/ha ^c	沖積・埴壤土	38 日
			火山灰・壤土	19 日
	畑状態	2,500 g ai/ha ^d	洪積・埴壤土	99 日
			火山灰・埴壤土	71 日

a：純品、b：4%粒剤、c：50%水和剤、d：25%水和剤

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

ブプロフェジン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。ブプロフェジンの最大残留値は、最終散布 7 日後に収穫した茶（荒茶）の 73.6 mg/kg であった。（参照 8）

(2) 魚介類における最大推定残留値

ブプロフェジ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が算出された。

ブプロフェジンの水産 PEC は 0.22 µg/L、BCF（試験魚種：ブルーギル）は 476、魚介類における最大推定残留値は 0.524 mg/kg であった。（参照 16）

7. 後作物残留試験

ブプロフェジンの 2%粒剤を 800 g ai/ha の用量で 4 回湛水散布した後、2%粉剤 DL を 800 g ai/ha の用量で 2 回散布した水稻圃場でのだいこん（根、葉部）及び小麦（玄麦）の後作物残留試験が実施された。結果は表 7 に示されている。いずれの作物においても、ブプロフェジンの残留値は定量限界未満（<0.01 mg/kg）であった。（参照 8）

表 7 後作物残留試験成績

前作			作物名（分析部位） 実施年度	試験圃場数	PHI（日）	残留値（mg/kg）	
作物名 実施年度	使用量 （g ai/ha）	回数 （回）				最高値	平均値
水稻 2005 年度	800×4 ^a 800×2 ^b	6	だいこん（根部） 2005 年度	1	191	<0.01	<0.01
		6	だいこん（葉部） 2005 年度	1	191	<0.01	<0.01
		6	小麦（玄麦） 2005 年度	1	244	<0.01	<0.01

a：2%粒剤（4 回湛水散布）、b：2%粉剤 DL（2 回散布）

8. 乳汁移行試験

ホルスタイン種の泌乳牛（一群 2 頭）に、ブプロフェジンを 0、400 及び 4,000 mg/頭/日の用量（稲わら残留量から推定される摂取量の 6～60 倍量に相当）で 28 日間連続経口投与し、乳汁移行試験が実施された。

400 mg/頭/日投与群では、試験期間を通してブプロフェジンの残留値は定量限界未満（<0.01 mg/kg）であった。4,000 mg/頭/日投与群では、投与 21 日に最大で 0.04 mg/kg のブプロフェジンが乳汁中に検出されたが、最終投与 3 日後には定量

限界未満 (<0.01 mg/kg) となった。(参照 8)

9. 一般薬理試験

プロフェジンのラット、マウス、ウサギ及びモルモットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 8 に示されている。(参照 8)

表 8 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	dd マウス	雄 5	0, 100, 300, 1,000, 3,000 (経口)	300	1,000	1,000 mg/kg 体重以上で自発運動低下、尿量、糞量増加傾向、3,000 mg/kg 体重で握力減少傾向
	ヘキソバルビタール睡眠時間	dd マウス	雄 5	0, 300, 1,000 (経口)	—	300	1~2 時間後に睡眠時間延長
				0, 3, 10, 30, 100, 300 (経口)	30	100	2 時間後に 100 mg/kg 体重以上で睡眠時間延長
				0, 10, 30, 100, 300, 1,000 (経口)	100	300	48 時間後に 300 mg/kg 体重以上で睡眠時間短縮
体温	dd マウス	雄 5	0, 300, 1,000, 3,000 (経口)	300	1,000	1,000 mg/kg 体重以上で 2~3 時間後に 1.5°C 下降	
呼吸・循環器系	呼吸、血圧	日本白色種ウサギ	雄 3	0, 1, 3, 10, 30 (静脈内)	10	30	30 mg/kg 体重で呼吸抑制及び血圧低下
消化器系	小腸炭末輸送能	dd マウス	雄 5	0, 600, 1,000 (経口)	1,000	—	影響なし
				0, 100, 300, 1,000, 3,000 (経口)	3,000	—	
	摘出回腸 (自動運動)	Hartley モルモット	雄	10^{-5} , 10^{-4} g/mL (in vitro)	—	10^{-4} g/mL	自動運動亢進、筋緊張上昇
	摘出回腸 (対収縮薬反応)	Hartley モルモット	雄	10^{-5} , 10^{-4} g/mL (in vitro)	—	10^{-4} g/mL	ACh 及びニコチンによる最大収縮を僅かに抑制、ニコチンによる収縮の増加傾向
胃液分泌	SD ラット	雄 4~5	0, 3, 10, 30 (静脈内)	30	—	影響なし	
腎機能	尿量	SD ラット	雄 5	0, 100, 300, 1,000 (経口)	300	1,000	1,000 mg/kg 体重で尿量低下

ー：作用量または無作用量が設定できない。

10. 急性毒性試験

ブプロフェジンのラット、マウス、ハムスター及びウサギを用いた急性毒性試験、代謝物 B 及び原体混在物 (IBTU) のラットを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 9 に示されている。(参照 8、9、14)

表 9 急性毒性試験概要

	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
原体	経口	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	2,200	2,360	自発運動低下、流涙、軟便 死亡動物に十二指腸潰瘍 (一部穿孔性潰瘍) 生存動物に十二指腸(穿孔 部位)と肝癒着
		SD ラット 雌雄各 10 匹	1,640	2,020	自発運動低下、流涎、流涙、 尿失禁、下痢、被毛汚染 死亡動物に十二指腸潰瘍 (一部穿孔性潰瘍)
		ICR マウス 雌雄各 10 匹	>10,000	>10,000	症状及び死亡例なし (生存動物の雄 1 例に 十二指腸潰瘍)
		ゴールデンハムスタ ー 雄 10 匹	>10,000		症状及び死亡例なし
		日本白色種ウサギ 雄 2 匹	>5,000		症状及び死亡例なし
	経皮 ¹⁾	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	皮下	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	>10,000	>10,000	症状及び死亡例なし
		ICR マウス 雌雄各 10 匹	>10,000	>10,000	症状及び死亡例なし
	腹腔内	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	>10,000	>10,000	症状及び死亡例なし (生存動物に肝腫大、 脾腫、肺点状出血)
		ICR マウス 雌雄各 10 匹	>10,000	>10,000	症状及び死亡例なし (生存動物の雌雄に 肝腫大)
	吸入 ²⁾	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	LC ₅₀ (mg/L)		肺に散在性暗赤色斑 雌 1 例死亡
			>4.57	>4.57	
B	経口	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発運動低下、下痢 死亡例なし
	経皮	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
IBTU	経口	SD ラット	268	154	自発運動低下、流涎、流涙、

		雌雄各 10 匹			尿失禁、下腹部被毛汚染 死亡動物に十二指腸潰瘍 (一部穿孔性潰瘍)、消化 管内出血
--	--	----------	--	--	--

注) 溶媒として¹⁾は蒸留水を、²⁾はホワイトカーボンを、それ以外はオリーブ油を用いた。

1 1. 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、NZW ウサギ及び Hartley モルモットを用いた眼一次刺激性試験、NZW ウサギ及び Hartley モルモットを用いた皮膚一次刺激性試験が実施された。NZW ウサギの眼及び Hartley モルモットの皮膚に対して軽度の刺激性が認められた以外は、眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) 及び CBA マウスを用いた皮膚感作性試験 (局所リンパ節法) が実施されており、いずれの試験結果も陰性であった。(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)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、40、200、1,000 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 10 に示されている。

1,000 ppm 投与群の雌では、投与期間を通じて体重増加抑制傾向がみられ、この変化は検体投与の影響と考えられた。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雄に Glu 減少が、1,000 ppm 以上投与群の雌に肝比重量¹⁾増加等が認められたので、無毒性量は雄で 40 ppm (3.4 mg/kg 体重/日)、雌で 200 ppm (16.3 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 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制、摂餌量減少 ・ Ht、Hb、RBC 減少 ・ APTT 延長 ・ TG 減少 ・ T.Chol、PL 増加 ・ カルシウム、無機リン、TP 増加 ・ Alb、α1-及びβ-Glob 増加 ・ 肝絶対・比重量、甲状腺絶対重量増加 ・ 脾絶対・比重量減少 ・ 肝腫大 ・ 小葉中心部及び中間帯肝細胞肥大 ・ 下垂体前葉好塩基細胞の空胞化 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ Ht 減少 ・ APTT 延長 ・ Glu、TG 減少 ・ T.Chol、PL 増加 ・ カルシウム、TP 増加 ・ Alb、α2-、α3-及びβ-Glob 増加 ・ 肝絶対重量、甲状腺絶対・比重量増加 ・ 脾絶対・比重量減少 ・ 甲状腺腫大 ・ 小葉中心部及び中間帯肝細胞肥大 ・ 肝細胞核、核小体肥大

¹⁾ 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺比重量増加 ・甲状腺腫大 ・肝細胞核、核小体大型化 ・甲状腺濾胞上皮細胞の増生、丈の増加 ・下垂体前葉好塩基細胞の増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝細胞巣状壊死 ・摂餌量減少 ・α1-及びβ-Glob 増加 ・肝比重量増加 ・甲状腺濾胞上皮細胞の増生、丈の増加
200 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu 減少 	200 ppm 以下
40 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、2、10、50 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。

各投与群で認められた主な所見は表 11 に示されている。

本試験において、50 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄に肝絶対・比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。

(参照 8、9、10、14)

表 11 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
300 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・鎮静、軽度歩行失調、軽度腹部膨満 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・ALT 増加 ・腎絶対・比重量増加 ・好酸性変異肝細胞巣 	<ul style="list-style-type: none"> ・鎮静、軽度歩行失調、軽度腹部膨満 ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・PT 延長、 ・ALP、ALT 増加 ・腎、甲状腺比重量増加
50 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加 ・肝、甲状腺絶対・比重量増加 ・肝細胞細胞質の均質化 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対・比重量増加 ・肝細胞細胞質の均質化 ・好酸性変異肝細胞巣
10 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 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、50、500 及び 5,000 ppm) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

5,000 ppm 投与群の雌雄に体重増加抑制、雄に摂餌量の減少が認められた。500 ppm 投与群の雄においても体重増加抑制傾向がみられ、検体投与の影響と考えられた。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雄に体重増加抑制が、5,000 ppm 投与群の雌に体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雄で 50 ppm (3.5 mg/kg 体重/日)、雌で 500 ppm (42.8 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)

(4) 24 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット (主群: 一群雌雄各 5 匹、2 週間回復群: 対照群及び最高用量群雌雄各 5 匹) を用いた経皮 (原体: 0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、6 時間/日) 投与による 24 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群において、試験部位の皮膚にわずかな病理組織学的変化 (雄: 皮膚の有棘細胞離開及び角化亢進、雌: 軽度炎症性反応) が認められたが、いずれも有意な毒性学的影響を示すものではないと考えられたので、無毒性量は雌雄とも 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 8)

1.3. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 2 年間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 6 匹) を用いたカプセル経口 (原体: 0、2、20 及び 200 mg/kg 体重/日) 投与による 2 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 12 に示されている。

本試験において、20 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で ALP 増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 2 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 8、9、10、14)

表 12 2 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
200 mg/kg 体重/日	・甲状腺比重量増加	・体重増加抑制 ・ALT 増加 ・T ₄ 減少 ・甲状腺比重量増加 ・小葉周辺性肝細胞肥大
20 mg/kg 体重/日以上	・ALP 増加 ・小葉周辺性肝細胞肥大 ・胆管増生	・ALP 増加 ・肝絶対・比重量増加 ・胆管増生
2 mg/kg 体重/日	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 55 匹) を用いた混餌 (原体: 0、5、20、200 及び 2,000 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 13 に示されている。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雌雄に甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大及び増生が認められたので、無毒性量は雌雄とも 20 ppm (雄: 0.90 mg/kg 体重/日、雌: 1.12 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、9、10、14)

表 13 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
2,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝、甲状腺腫大 ・肝絶対・比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・C細胞増生 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝絶対・比重量増加 ・甲状腺絶対・比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・C細胞増生
200 ppm 以上	・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大及び増生	・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大及び増生
20 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）における肝臓及び甲状腺の病理組織学的再検査

ラット 2年間慢性毒性/発がん性併合試験[13. (2)]において認められた肝臓及び甲状腺の病変について再評価するために、米国 EPA の安全性評価法に準じて病理組織標本の再検査が実施された。

肥大性、過形成性及び腫瘍性病変の発生頻度は表 14 に示されている。

肝臓では、2,000 ppm 投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大及び、雄でび慢性肝細胞肥大の発生頻度が有意に増加した。腫瘍性病変の有意な増加はみられず、用量傾向及び時間傾向も認められなかった。

甲状腺では、200 ppm 以上投与群の雄及び 2,000 ppm 投与群の雌で、ろ胞上皮細胞肥大、2,000 ppm 投与群の雌雄で C 細胞過形成の発生頻度が有意に増加した。発がん性は認められなかった。(参照 8)

表 14 肝臓及び甲状腺における肥大性、過形成性及び腫瘍性病変の発生頻度

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	5	20	200	2,000	0	5	20	200	2,000
肝臓	検査動物数	39	37	39	40	40	39	39	40	40	39
	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	11*	0	0	0	0	14*
	び慢性肝細胞肥大	2	2	3	2	7*	5	1	3	4	6
	肝細胞腫	1	1	3	0	4	0	0	0	0	3
	肝細胞癌	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	腫瘍+癌	2	1	3	0	5	0	0	0	0	3
甲状腺	検査動物数	36	35	38	39	39	37	36	40	33	39
	ろ胞上皮細胞肥大	6	11	12	19*	25*	3	2	0	1	20*
	ろ胞上皮細胞過形成	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	ろ胞上皮細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	ろ胞上皮細胞癌	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
	腫瘍+癌	0	0	0	1	1	1	0	0	0	2
	C細胞過形成	22	22	28	25	33*	22	20	24	23	32*
	C細胞腫	3	2	2	1	0	2	1	0	1	0
	C細胞癌	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0
	腫瘍+癌	3	2	3	2	2	2	1	0	1	0

* : カイ二乗検定、 $p < 0.05$

(4) 2年間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 80 匹）を用いた混餌（原体：0、20、200、2,000 及び 5,000 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（非腫瘍性病変）は表 15 に、肝腫瘍及び肺腫瘍の発生頻度は表 16 に示されている。

5,000 ppm 投与群の雌で肝細胞腺腫の発生頻度が有意に増加したが、肝細胞腺腫と肝細胞癌の合計発生頻度には有意差は認められなかった。また、5,000 及び 200 ppm 投与群の雄では、肺腫瘍（腺腫+腺癌）の総発生頻度が有意に増加したが、用量相関性は認められず、背景データの範囲（17/80~35/80）内にあったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雄及び 2,000 ppm 以上投与群の雌で肝絶対・比重量増加等が認められたので、無毒性量は雄で 20 ppm（1.82 mg/kg 体重/日）、雌で 200 ppm（17.9 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 15 2 年間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 尿比重低下 PLT、Lym 増加 肝混濁、暗調化、結節、腫瘍 び慢性肝細胞肥大 変異肝細胞巣 	<ul style="list-style-type: none"> RBC、Hb、Ht 減少 PLT、Lym 増加 肝混濁、暗調化 び慢性肝細胞肥大
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制 尿比重低下 肝絶対・比重量増加 小葉中心性肝細胞肥大 変異肝細胞巣
200 ppm 以上	肝絶対・比重量増加	200 ppm 以下 毒性所見なし
20 ppm	毒性所見なし	

表 16 肝腫瘍及び肺腫瘍の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	20	200	2,000	5,000	0	20	200	2,000	5,000
投与群 (ppm)	0	20	200	2,000	5,000	0	20	200	2,000	5,000
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
肝細胞腺腫	13	12	16	11	17	2	2	1	7	8*
肝細胞癌	14	11	11	18	15	3	2	0	4	4
腺腫+癌	27	23	27	29	32	5	4	1	11	12
肺腺腫	14	18	23	16	21	17	10	11	14	11
肺腺癌	3	8	6	7	9	5	7	7	6	8
腺腫+腺癌	17	26	29*	23	30*	22	17	18	20	19

* : Fisher の直接確率計算法、 $p < 0.05$

1.4. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）①

Wistar-Imamichi ラット（一群雌雄各 30 匹）を用いた混餌（原体：0、10、100 及び 1,000 ppm）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では、1,000 ppm 投与群の P 及び F₁ 世代の雌雄に体重増加抑制が、100 ppm 以上投与群の F₁ 世代の第 2 産次で生存産児数の減少が認められた。児動物では、10 及び 1,000 ppm 投与群の F_{1a} 児動物で哺育 4 日生存率の低下、10 ppm 以上投与群の両世代で哺育期の体重増加抑制が認められた。

本試験において、親動物では 100 ppm 以上投与群で生存産児数の減少が認められ、児動物では 10 ppm 以上投与群で体重増加抑制が認められたので、無毒性量は親動物の雌雄で 10 ppm（P 雄：0.7 mg/kg 体重/日、P 雌：0.9 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：0.6 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：0.8 mg/kg 体重/日）であると考えられ、児動物では無毒性量は設定できなかった。しかし、同用量で実施された 2 世代繁殖試験②[14. (2)]の試験成績を考慮すると、100 ppm 以上投与群の生存産児数の減少、10 及び 100 ppm 投与群の児動物における体重増加抑制は偶発的な要因によるものと推察された。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 8）

(2) 2世代繁殖試験（ラット）②

Wistar-Imamichi ラット（一群雌雄各 26 匹）を用いた混餌（原体：0、10、100 及び 1,000 ppm）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。本試験は、前述の 2 世代繁殖試験①[14. (1)]において児動物に対する無毒性量が設定できなかったため、児動物への影響を確認する目的で行われた。

親動物では、1,000 ppm 投与群の P 雄で肝絶対・比重量増加が認められた。いずれの投与群においても、生存産児数の減少は認められなかった。児動物では、1,000 ppm 投与群の F₂ 児動物で哺育 7 日以降における体重増加抑制が認められたが、10 及び 100 ppm 投与群の児動物に体重増加抑制は認められなかった。

2 世代繁殖試験①[14. (1)]と、同用量で実施された本試験の結果を総合すると、ラットの 2 世代繁殖試験における無毒性量は、親動物の雄で 100 ppm（P 雄：6.46 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：7.42 mg/kg 体重/日）、雌で 1,000 ppm（P 雌：93.1 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：99.6 mg/kg 体重/日）、児動物で 100 ppm（P 雄：6.46 mg/kg 体重/日、P 雌：9.21 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：7.42 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：10.2 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 8）

(3) 発生毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌 22 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、50、200 及び 800 mg/kg 体重/日、溶媒：2%アラビアゴム水溶液）投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、800 mg/kg 体重/日投与群で一般状態の変化（軟便、生殖・泌尿器官周囲の被毛汚染、嗜眠、円背位、削瘦、立毛、眼瞼半閉）、摂餌量の減少、摂水量の増加、体重増加抑制、着床後初期の死亡胚数の増加が認められた。同群では妊娠 12 日に 1 匹が切迫と殺された。200 mg/kg 体重/日投与群では摂水量の増加が認められた。

胎児では、800 mg/kg 体重/日投与群で低体重、矮小児及び皮下浮腫の発生頻度の増加が認められ、頭頂間骨、胸骨分節、胸椎、尾椎及び中手骨の骨化遅延が増加した。200 mg/kg 体重/日投与群では頭頂間骨の骨化遅延が増加した。

本試験において、200 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物に摂水量の増加が、胎児に骨化遅延が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 50 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 8）

（4）発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 17 匹）の妊娠 6～19 日に強制経口（原体：0、10、50 及び 250 mg/kg 体重/日、溶媒：2%アラビアゴム水溶液）投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、250 mg/kg 体重/日投与群の母動物に摂餌量の減少傾向及び体重減少（投与開始時から 4 日目まで）が認められ、胎児には検体投与に起因すると思われる影響は認められなかったため、無毒性量は母動物で 50 mg/kg 体重/日、胎児で 250 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 8、9、10、14）

15. 遺伝毒性試験

ブプロフェジン原体の細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成（UDS）試験、ヒトリンパ球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。また、ブプロフェジンの代謝物（B）及び原体混在物（IBTU）の細菌を用いた復帰突然変異試験も実施された。

試験結果は表 17 に示されている通り全て陰性であった（参照 8、9、10、14）。

この他に、ブプロフェジンのシリアンハムスター胚培養細胞を用いた試験（処理濃度：12.5～100 μ M）が実施されており、高濃度で細胞の形態変化と動原体を有する小核が有意に誘導され、細胞傷害性が認められたが、DNA 損傷性はみられなかった（参照 15）。

以上のように、*in vitro* の 1 試験において高濃度で細胞傷害性が認められたが、*in vivo* 小核試験を含むその他の試験結果はすべて陰性であったことから、ブプロフェジンに遺伝毒性はないものと考えられた。

表 17 遺伝毒性試験概要

試験		対象	処理濃度・投与量	結果	
原体	<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H-17、M-45 株)	20～5,000 µg/ディスク	陰性
		復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株)	10～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
			<i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)		
			<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株)	1.6～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ⁺ 3.7.2c 株)	13.3～42.2 µg/mL (-S9) 17.8～100 µg/mL (+S9)	陰性
		UDS 試験	Alpk ラット 肝初代培養細胞	10 ⁻⁸ ～10 ⁻⁵ M	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	10～100 µg/mL (+/-S9)	陰性	
	<i>in vivo</i>	小核試験	BDF ₁ マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 6～8 匹)	単回投与: 6,400～10,000 mg/kg 体重 反復投与: 10,000 mg/kg 体重 (24 時間間隔で 4 回経口投与)	陰性
B	<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株)	5～5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
IBTU			<i>E. coli</i> (WP2 <i>hcr</i> 株)	5～10,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

16. その他の試験

(1) 十二指腸潰瘍形成性試験

ラット及びマウスを用いた急性経口毒性試験[Ⅱ. 10]において十二指腸に潰瘍性病変が観察されたため、本試験はこの病変を確認する目的で実施された。Fischer ラット(一群雌雄各 10 匹)に、ブプロフェジンを 0、613、1,040、1,750、2,960 または 5,000 mg/kg 体重の用量で単回経口投与し、4 日後にと殺して十二指腸の病理学的検査が行われた。

肉眼的検査では、5,000 mg/kg 投与群の雌雄各 4 例、2,960 mg/kg 体重投与群の雌雄各 3 例に十二指腸上部に限局して穿孔巣が認められ、これらの動物では同部位に白色ないし赤色斑または充血がみられた。1,750 mg/kg 体重投与群では雄 1 例に十二指腸上部に赤色斑がみられた。病理組織学的検査では、5,000 mg/kg 体重の雌雄全例に表在性から穿孔性に至る種々の程度の潰瘍性病変が認められ、このうち雌雄各 4 例に認められた穿孔性潰瘍は投与 2 日後までの死亡例であった。2,960 mg/kg 体重投与群でも雄 5 例、雌 4 例で同様の病変が認められ、穿孔性潰瘍は雌雄各 3 例の死亡例にみられた。1,750 mg/kg 体重投与群では雄 1 例に深在性潰瘍がみられた。潰瘍性病変の組織学的特徴は、炎症性細胞を伴わない粘膜

細胞の壊死性変化で消化性潰瘍と判定された。無作用量は雄で 1,040 mg/kg 体重、雌で 1,750 mg/kg 体重と考えられた。(参照 8、9、14)

(2) 甲状腺に及ぼす影響に関する試験

ブプロフェジンの経口投与により、ラットの 90 日間亜急性毒性試験[12. (1)] 及び 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[13. (2)]において、甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大及び増生が認められたため、本試験は本剤の甲状腺に対する影響を調べる目的で実施された。

①ラットの血清中 T_3 及び T_4 に及ぼす影響

雄の SD ラットにブプロフェジンを 500 mg/kg 体重/日の用量で 1、2、4 または 7 日間強制経口投与した結果、血清中 T_3 濃度は 4 回投与で、 T_4 濃度は 2 回以上の投与で低下した。

雄の SD ラットにブプロフェジンを 100、300、500 または 1,000 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間連続強制経口投与した結果、 T_3 及び T_4 濃度は 100 mg/kg 体重/日以上の投与群で用量に依存して低下した。

雄の SD ラットにブプロフェジンを 1,000 及び 5,000 ppm の用量で 1、3 または 6 カ月間混餌投与した結果、 T_3 濃度は、5,000 ppm 投与群では 1 カ月で対照群の 70% に低下したが、3 及び 6 カ月では対照群の濃度に回復した。 T_4 濃度は 1、3、6 カ月でそれぞれ対照群の 30、50、90% であり、投与期間の延長に伴い回復傾向がみられた。(参照 8、9、14)

②ラットの甲状腺重量及び過酸化酵素活性に対する影響

雄の SD ラットにブプロフェジンを 500 mg/kg 体重/日、または甲状腺過酸化酵素活性阻害剤であるプロピルチオウラシル (PTU) を 30 mg/kg 体重/日の用量で 15、30 または 60 日間連続強制経口投与し、最終投与 24 時間後にと殺して、甲状腺重量、血清中 T_4 濃度及び甲状腺過酸化酵素活性が測定された。

ブプロフェジン及び PTU のいずれの投与群においても、甲状腺絶対・比重量の増加、血清中 T_4 濃度の低下及び甲状腺過酸化酵素活性の上昇が認められたが、ブプロフェジン投与による変化の程度は PTU 投与より軽度であった。下垂体の病理組織学的検査では、ブプロフェジン及び PTU 投与群で前葉細胞に空胞化がみられ、その程度及び頻度は同様であった。(参照 8、9、14)

③ラットの甲状腺過酸化酵素活性に対する阻害作用 (*in vitro*)

ブプロフェジンまたは抗甲状腺薬である PTU 及びシアン化カリウム (KCN) を甲状腺過酸化酵素の反応液に添加し、甲状腺過酸化酵素活性に対する直接的影響が調べられた。

PTU 及び KCN 添加では、明らかな阻害作用がみられたが、ブプロフェジン添

加では、水溶解度以上の濃度である $7.2 \times 10^{-5} \text{ M}$ でも影響はみられなかった。(参照 8、9、14)

④多種の動物種における血清中 PBI (蛋白質結合性ヨード) 濃度に対する影響

雄の SD ラットにブプロフェジンを 100、300、500 または 1,000 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間連続強制経口投与した結果、血清中 T_4 濃度及び PBI 濃度ともに用量に依存して低下した。

雄の ddY マウス、ゴールデンハムスター、Hartley モルモットに、ブプロフェジンを 300 及び 500 mg/kg 体重/日の用量で 1、2、4 または 7 日間経口投与した結果、マウス、ハムスターでは影響はみられず、モルモットでは 1~2 回の投与で血清中 PBI 濃度は僅かに低下したが、4 回以上の投与では影響はみられなかった。

雄の ddY マウスにブプロフェジンを 100、300、500 または 1,000 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間連続強制経口投与した結果、血清中 PBI 濃度に影響はみられなかった。

雄の日本白色種ウサギにブプロフェジンを 300 または 1,000 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間連続強制経口投与した結果、血清中 PBI 濃度は 1,000 mg/kg 体重/日投与群では投与期間中低下した。300 mg/kg 体重/日投与群では投与 4 日まで低下したが、7 日には回復傾向がみられた。(参照 8、9、14)

以上のように、ブプロフェジンを強制経口投与したラットでは、甲状腺ホルモン濃度の低下、甲状腺重量の増加、甲状腺過酸化酵素の上昇がみられ、下垂体前葉細胞空胞化の発生頻度が増加した。これらの変化は、抗甲状腺薬である PTU 投与でも認められたが、ブプロフェジン投与による変化の程度は PTU 投与による場合より明らかに軽度であり、回復が速やかであった。一方、ラット及びマウスではブプロフェジン投与により肝細胞に肥大性反応が生じていることから、肝の薬物代謝酵素誘導が示唆され、血中の甲状腺ホルモンが低下している事実から、肝臓における T_4 から T_3 への変換が増加している可能性が高いと考えられた。肝臓における T_4 から T_3 への代謝亢進により血中の甲状腺ホルモンが低下し、負のフィードバックによって下垂体からの TSH の分泌が増加することにより甲状腺が刺激され、甲状腺肥大が惹起されることが示唆された。本剤の甲状腺に対する影響は、PTU のように甲状腺に直接作用するものではなく、肝臓に対する作用の二次的影響と考えられた。