

滅菌土壌では試験途中で滅菌が破れ、エトキサゾールは 35~37 日の半減期で分解した。しかし、二酸化炭素の発生量は処理 90 日後で最大 2.9% TAR と非滅菌土壌に比べて顕著に低かった。(参照 6)

(2) ガラス表面光分解試験

[phe-¹⁴C]エトキサゾールまたは[oxa-¹⁴C]エトキサゾールを、3.1~3.5 µg/cm²の用量でガラス表面に処理し、10月の自然太陽光(光強度:10.0 W/m²、測定波長:290~400 nm)下に48時間置いた後、以降は24時間あたり明期15時間、暗期9時間の作物栽培室内で人工光(光強度:3.4 W/m²、測定波長:290~400 nm)に40日間間欠暴露して、ガラス表面光分解試験が実施された。

ガラス表面上の固体状態のエトキサゾールは、自然太陽光処理開始48時間後では74.9~77.5% TARに、その後の人工光間欠照射40日後では1.3~1.6% TARにまで減少した。光が関与した分解物の中には揮発性の未知物質(42日間で約60% TAR)も含まれていた。照射区の非揮発性の主要分解物はR3であり、最大で15.2~19.9% TAR(人工光照射24日後)となった後減少した。他にR11とR13が微量検出された。

エトキサゾールはガラス表面でまずR13に酸化され、次いで光酸化によってR3に光分解され、更にR11に分解されると考えられた。(参照 6)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[phe-¹⁴C]エトキサゾールをpH 1.2(0.1M 希塩酸)、pH 5.0(0.1M 酢酸緩衝液)、pH 7.0(0.1M リン酸塩緩衝液)及びpH 9.0(0.1M ホウ酸緩衝液)の各水溶液に0.037 mg/Lの用量で添加し、pH 1.2の希塩酸は37°C、pH 5.0の緩衝液は20°C、pH 7.0及び9.0の緩衝液は20°C、25°C、50°C、60°C及び70°Cの暗所で最長192時間インキュベートして加水分解試験が実施された。

推定半減期は表7に示されている。エトキサゾールはpH 1.2で加水分解を受けやすく、また、20°Cで中性(pH 7.0)及び弱アルカリ性(pH 9.0)条件下では安定であったが、弱酸性(pH 5.0)条件下では比較的加水分解され易かった。主要分解物は、中性及び弱アルカリ性条件下ではR4、弱酸性条件下ではR7であった。(参照 6)

表7 加水分解推定半減期

温度(°C)	pH 1.2	pH 5.0	pH 7.0	pH 9.0
37	0.73 時間	—	—	—
20	—	9.6 日	161 日 (147 日)	165 日 (217 日)
25	—	—	(88 日)	(124 日)
50	—	—	8.0 日	9.5 日
60	—	—	3.2 日	3.9 日

70	-	-	1.5 日	1.6 日
----	---	---	-------	-------

- : データなし、() : 計算値

(2) 水中光分解試験①

[phe-¹⁴C]エトキサゾールまたは[oxa-¹⁴C]エトキサゾールを、pH 9 の滅菌ホウ酸緩衝液及び自然水（河川水：英国）に 0.005 mg/L の用量で添加し、20°C でキセノン-アーク光を最長 30 日間照射（光強度：261 W/m²、測定波長：290~800 nm）して、水中光分解試験が実施された。

水中におけるエトキサゾールは直接的な光分解により速やかに分解され、北緯 35 度における太陽光換算の推定半減期は、河川水で 28.6~59.7 日、緩衝液で 15.9~17.4 日であった。主要分解物として DFB、R3、R11、R12、R15 が同定された。エトキサゾールはまず、直接的な光分解による酸化（水酸化）反応によりオキサゾリン環が開裂した R3 となり、次いで加水分解反応により極性の高いカルボン酸（R11、R12）及びベンズアミド（DFB、R15）に分解すると考えられた。（参照 6）

(3) 水中光分解試験②

非標識エトキサゾールを pH 7.0 の滅菌リン酸緩衝液及び滅菌自然水（河川水：長野）に 0.005 mg/L の用量で添加し、28°C でキセノン-ショートアーク光を最長 41 日間照射（光強度：145 W/m²、測定波長：290~800 nm）して、水中光分解試験が実施された。

エトキサゾールは pH 7 の滅菌緩衝液中での直接的な光分解に対して安定であり、推定半減期は 94.5 日（太陽光換算半減期：169 日）であった。河川水中では、環境水中の光増感成分による光増感効果を受け分解が促進され、推定半減期は 66.3 日（太陽光換算半減期：119 日）であった。（参照 6）

5. 土壌残留試験

火山灰・砂壤土（群馬）及び洪積・埴壤土（和歌山）を用いて、エトキサゾール、分解物 R3、R7、R8 及び R13 を分析対象化合物とした土壌残留試験が実施された。推定半減期は表 8 に示されている。（参照 6）

表 8 土壌残留試験成績

試験	濃度 ¹⁾	土壌	推定半減期	
			エトキサゾール	エトキサゾール +R3+R7+R8+R13
圃場試験	500 g ai/ha	火山灰・砂壤土	5.6 日	36.5 日
		洪積・埴壤土	4.4 日	19.5 日
容器内試験	0.6 mg/kg	火山灰・砂壤土	25.8 日	54.2 日
		洪積・埴壤土	6.7 日	27.9 日

1) 容器内試験では原体、圃場試験では 10%フロアブル剤を使用。

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

エトキサゾール、R3 及び R7 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。

エトキサゾール、R3 及び R7 の最高値は、いずれも最終散布 8 日後に収穫したホップ（乾花）で認められ、それぞれ 6.68、0.25 及び 2.19 mg/kg であった。（参照 6）

(2) 家畜残留試験（牛）

指定された用法の最大用量を指定された用法に準じて牛体に単回投与し、4、24 時間後にそれぞれ血液を採取し、血漿中のエトキサゾールを測定したところ、エトキサゾールは検出されなかった。また、投与 7 日後に滴下部位の皮膚を拭き取った脱脂綿からは、0.43～1.00mg が検出されたことから、投与された薬剤のほとんどは牛体の腹側部及び下部に移動したと推測された。さらに同様の用法・用量で牛体に単回投与した時の、1、3、7 日目の血漿、及び 7 日目の投与部直下の筋肉、脂肪、対照としての大腿筋の筋肉、腎周囲の脂肪が採取されているが、いずれからもエトキサゾールは検出されなかった。

また、ホルスタイン種を用いたエトキサゾール含有製剤の滴下投与（10mL/100kg 体重、20mL/100kg 体重）によるエトキサゾールの組織中への残留確認試験において、いずれの投与群においても、投与後経時的（12、24、36、48 時間後）に採取した血漿及び乳汁中に被験物質は検出されなかった。

これらのことから、経皮投与されたエトキサゾールは牛体中には残留しないと考えられた。（参照 1、2、3）

7. 一般薬理試験

エトキサゾールの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 9 に示されている。（参照 6）

表 9 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、19.5、78.1、 313、1,250、5,000 (腹腔内)	19.5	78.1	軽度抑制性症状
	一般状態	日本白色種 ウサギ	雄 5	0、5,000 (経口)	5,000	—	影響なし

	ヘキソバルピタール睡眠	ICR マウス	雄 10	0, 19.5, 78.1, 313, 1,250, 5,000 (腹腔内)	78.1	313	1,250 mg/kg 体重で 投与 1 時間後に睡眠時間の有意な延長、投与 2,3 日後に有意な短縮、投与 7 日後に回復、313 mg/kg 体重以上で投与 1 時間後に有意な延長、投与 3 日後に有意な短縮
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 3	0, 5,000 (経口)	5,000	—	影響なし
消化器	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)	19.5	78.1	78.1 mg/kg 体重以上で炭末輸送能抑制
血液	Hb、PT、APTT	ICR マウス	雄 5	0, 313, 1,250, 5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし
	肝薬物代謝酵素活性	ICR マウス	雄 5	0, 1,250 (腹腔内)	—	1,250	投与 3 日後に体重減少、肝重量に変化なし、投与 1 時間後にヘキソバルピタール酸化酵素活性減少傾向、3 日後に増加、アニリン水酸化酵素活性減少

* : 溶媒として 1% Tween 80 水溶液を用いた。

— : 作用量または無作用量が設定できない。

8. 急性毒性試験

エトキサゾールのラット及びマウスを用いた経口投与による急性毒性試験、マウスを用いた経皮投与による急性毒性試験、ラットを用いた経皮及び吸入投与による急性毒性試験、原体混在物 (2,5-YI) 及び代謝物 (R3、R7、R8、R10、R11 及び R14) のラットを用いた経口投与による急性毒性試験が実施された。結果は表 10 に示されている。(参照 4、6、10、11、12)

表 10 急性毒性試験概要

被験物質	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	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛、円背位、異常歩行、嗜眠、呼吸数減少、体重増加抑制、死亡例なし

	経口	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛、円背位、異常歩行 死亡例なし
	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	Fischer ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		鼻吻部周囲に赤色付着物 死亡例なし
			>1.09	>1.09	
経皮	ICR 系マウス	>2,000	>2,000	体重減少 死亡例なし	
2,5-YI	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛、喘鳴、流涎、円背位、 異常歩行、四肢退色、呼吸 数減少、軟便、脱毛、鼻部 及び口吻周辺部の赤色また は褐色汚れ、嗜眠、尿量増 加、落ち着きの無さ、死亡 例なし
R3	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛、円背位 死亡例なし
R7	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛、異常歩行、四肢退色、 落ち着きの無さ、呼吸量増 加、喘ぎ、排便障害、眼球 突出、脱毛、鼻部及び口吻 部の赤色及び褐色汚れ、嗜 眠、尿量増加、過敏、体重 増加抑制、死亡例なし
R8	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	943	791	自発運動低下、流涎、振戦、 立毛、呼吸緩徐、散瞳、外 陰部及び腹部被毛汚れ、歩 行困難、痙攣、口周囲被毛 汚れ、 625 mg/kg 体重以上の雄、 391 mg/kg 体重以上の雌で 死亡例あり
R10	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
R11	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	3,450	3,020	自発運動低下、異常歩行、 振戦、うずくまり姿勢、昏 睡、呼吸緩徐、 3,570 mg/kg 体重以上の雌 雄で死亡例あり
R14	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。

眼刺激性試験において、適用 1 時間後に軽度の結膜発赤、浮腫及び分泌物が認められたが、1 日後には消失し、ウサギの眼粘膜に対して刺激性はないものと考えられた。皮膚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) が実施され、結果は陰性であった。(参照 6、10、11)

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 12 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、100、300、1,000 及び 3,000 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 11 に示されている。

3,000 ppm 投与群では、雌においても AST、T.Chol、CPK の増加傾向が認められ、投与に関連した変化と考えられた。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄に肝絶対及び比重量¹⁾ 増加が、1,000 ppm 以上投与群の雌に肝比重量増加等が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm (6.12 mg/kg 体重/日)、雌で 300 ppm (20.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 6、12)

表 11 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
3,000 ppm	・ AST、GGT、T.Chol、CPK、 カリウム増加 ・ 肝腫大	・ GGT 増加 ・ 肝絶対重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大
1,000 ppm 以上	・ Ht、Hb 減少 ・ 小葉中心性肝細胞肥大	・ 肝比重量増加 ・ 肝腫大
300 ppm 以上	・ 肝絶対及び比重量増加	300 ppm 以下毒性所見なし
100 ppm	毒性所見なし	

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②

最大耐量を求めるために、SD ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、5,000 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 12 に示されている。本試験は最小用量にも毒性が認められたため、無毒性量は雌雄とも求められなかった。(参照 11、12)

表 12 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
10,000 ppm	・ 切歯伸長 ・ Hb 減少、PLT 増加 ・ T.Chol、CPK 増加	・ 切歯伸長 ・ Hb 減少

¹⁾ 体重比重量を比重量という (以下同じ)。

5,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht 減少 ・ TP、Glob 増加 ・ 肝絶対・比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht 減少、PLT 増加 ・ Glob 増加 ・ 肝絶対・比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大
-----------------	--	--

(3) 90日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 12 匹）を用いた混餌（原体：0、100、400、1,600 及び 6,400 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 13 に示されている。

本試験において、1,600 ppm 以上投与群の雄及び 6,400 ppm 投与群の雌に肝絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雄で 400 ppm（55.1 mg/kg 体重/日）、雌で 1,600 ppm（251 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 6、10、12）

表 13 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
6,400 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 増加 ・ 小葉周辺性肝細胞壊死 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 増加 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 肝腫大 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 ・ 小葉周辺性肝細胞壊死
1,600 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	1,600 ppm 以下 毒性所見なし
400 ppm 以下	毒性所見なし	

(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、200、2,000 及び 10,000 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 14 に示されている。

10,000 ppm 投与群では、雄 1 匹に近傍リンパ節での炎症性細胞反応を伴った中等度の犬腸炎が認められた。この変化は、血液学的検査で Ht、Hb 及び RBC の減少と分葉核好中球数の増加及び臨床観察で認められた粘液便と対応しており、検体投与に関連したものと考えられた。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雌雄に肝絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 200 ppm（雄：5.33 mg/kg 体重/日、雌：5.42 mg/kg 体重/日）と考えられた。（参照 6、8、11、12）

表 14 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
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 粘液便 ・ ALP 増加、Alb 減少 [・ ALT、AST 増加] 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 増加、Alb 減少 ・ Glob 増加、A/G 比低下 ・ TG 増加

	<ul style="list-style-type: none"> ・前立腺比重量減少 [・大腸炎] [・前立腺腺上皮萎縮] 	
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> [・粘液便] [・ALP 増加] ・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 [・前立腺腺上皮萎縮] 	<ul style="list-style-type: none"> [・ALP 増加] ・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大
200 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

[]有意差が認められない所見

(5) 28 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた経皮 (原体 : 0、30、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、6 時間/日) 投与による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄に、肝比重量の軽度の増加 (6%) が認められたが、組織学的病変は認められなかった。

本試験において、いずれの投与群にも毒性所見は認められなかったため、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 12)

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、200、1,000 及び 5,000 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 15 に示されている。

組織学的検査では、5,000 ppm 投与群の雄 1 匹に前立腺の腺上皮萎縮が認められた。この変化は 90 日間亜急性毒性試験 [10. (4)] でも観察されていることから、検体投与に関連する変化と考えられた。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雌雄に肝絶対及び比重量増加等が認められたため、無毒性量は雌雄とも 200 ppm (雄 : 4.62 mg/kg 体重/日、雌 : 4.79 mg/kg 体重/日) と考えられた。(参照 6、8、11、12)

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
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・粘液便 ・Hb、RBC 減少 ・ALP、TG 増加 ・肝腫大 [・前立腺腺上皮萎縮] 	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb、[RBC]減少 ・ALP、TG 増加 ・肝腫大
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> [・ALP 増加] ・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] ・肝絶対・比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大

200 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
---------	--------	--------

[]有意差が認められない所見

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ①

SD ラット (主群: 一群雌雄各 50 匹、衛星群: 一群雌雄各 35 匹) を用いた混餌 (原体: 0、4、16 及び 64 mg/kg 体重/日) 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 (非腫瘍性病変) は表 16 に、精巣間細胞腫、膵臓のラ氏島細胞腺腫及びラ氏島細胞癌の発生頻度は表 17 に示されている。

16 及び 64 mg/kg 体重/日投与群の雄で、最終と殺動物における精細管萎縮の発生頻度が有意に増加し、64 mg/kg 体重/日投与群では全動物における発生頻度にも有意な増加がみられた。しかし、両投与群におけるこの病変の発生頻度 (22~36%) は背景データの範囲内 (10~40%) にあったのに対して、対照群では 8% しか認められなかったため、今回観察された有意差は対照群における低い発生頻度に起因しており、偶発的に生じたものであると考えられた。

腫瘍性病変として、全投与群の雄において精巣間細胞腫の発生頻度の増加が認められた。しかし、各投与群に認められた同腫瘍の組織像及び発生時期は自然発生のもとの差がなく、両側性に同腫瘍を発生した動物の数も各群で差がなかった。また、間細胞腫の発生増加に伴う間細胞過形成の増加も観察されなかった。精巣間細胞腫は、SD ラットにおいて通常 1~10% 前後の範囲で発生する。各投与群における発生頻度はやや高い傾向にあったが、むしろ対照群における発生頻度 (1/80) が著しく低い値であったことから、投与群のこの発生頻度は特に異常ではないと判断された。従って、観察された有意差は対照群における低い発生頻度によって偶発的に生じたものであると考えられた。

64 mg/kg 体重/日投与群の雌では、最終と殺動物において膵臓のラ氏島細胞腺腫の発生頻度が有意に増加した。しかし、腺腫と癌の合計では対照群との間に有意差はみられず、ラ氏島細胞過形成の増加も認められなかったことから、このラ氏島細胞腺腫のみの増加には毒性学的意義はないと考えられた。

本試験において、16 mg/kg 体重/日以上投与群の雄に肝絶対・比重量増加等が、64 mg/kg 体重/日投与群の雌に LDH の増加が認められたので、無毒性量は雄で 4.01 mg/kg 体重/日、雌で 16.1 mg/kg 体重/日と考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 6、8、12)

表 16 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ①で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
64 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ Hb 減少 ・ T.Bil 増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ LDH 増加
16 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ T.Chol 増加 	16 mg/kg 体重/日以下

	・肝絶対・比重量増加 ・肝腫大	毒性所見なし
4 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	

表 17 精巣間細胞腫、膵臓のラ氏島細胞腺腫及びラ氏島細胞癌の発生頻度

性別		雄				雌			
投与群 (mg/kg 体重/日)		0	4	16	64	0	4	16	64
最終 と 殺 動物	検査動物数	31	25	23	28	20	24	19	23
	精巣間細胞腫	1	5	5*	8**				
	膵臓のラ氏島細胞腺腫	5	2	0	6	0	1	0	5*
	膵臓のラ氏島細胞癌	0	0	0	0	1	0	0	0
	ラ氏島細胞腺腫 +ラ氏島細胞癌	5	2	0	6	1	1	0	5
全 動物	検査動物数	80	80	80	78(79) ¹⁾	80	80	80	80
	精巣間細胞腫	1	10**	10**	11**				
	膵臓のラ氏島細胞腺腫	5	2	1	6	1	1	0	5
	膵臓のラ氏島細胞癌	0	0	0	0	2	1	1	0
	ラ氏島細胞腺腫 +ラ氏島細胞癌	5	2	1	6	3	2	1	5

Fisher の直接確率計算法、* : p<0.05、** : p<0.01

¹⁾ : 検査動物数は、精巣で 78、膵臓で 79 であった。

(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ②

最大耐量を求めるために、SD ラット (主群 : 一群雌雄各 50 匹、衛星群 : 一群雌雄各 15 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、5,000 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 18 に示されている。

10,000 ppm 投与群では、雄においても試験期間を通じて体重増加抑制傾向が認められた。本試験では、前述の試験[11. (2)]において認められた精巣間細胞腫の発生頻度の増加はみられなかった。

本試験において、5,000 ppm 以上の投与群の雌雄に肝絶対及び比重量増加、切歯エナメル形成異常等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 50 ppm (雄 : 1.83 mg/kg 体重/日、雌 : 2.07 mg/kg 体重/日) と考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 8、11、12)

表 18 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) ②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10,000 ppm	・体重増加抑制 ・Ht、Hb 減少 ・小葉中心性肝細胞肥大	・生存率低下 ・摂餌量減少 ・体重増加抑制 ・MCV 減少 ・TP、T.Chol 増加 ・小葉中心性肝細胞肥大

5,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ MCV 減少 ・ TP、GGT 増加 ・ 肝絶対・比重量増加 ・ 甲状腺比重量増加 ・ 頭頂部骨組織肥厚 ・ 切歯白色化、伸長、剥離、エナメル形成異常 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht、Hb 減少 ・ GGT 増加 ・ 肝絶対・比重量増加 ・ 頭頂部骨組織肥厚 ・ 切歯白色化、伸長、剥離、エナメル形成異常
50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 18 カ月間発がん性試験 (マウス) ①

ICR マウス (主群: 一群雌雄各 52 匹、12 カ月中間解剖用衛星群: 一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、15、60 及び 240 mg/kg 体重/日) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

240 mg/kg 体重/日投与群で、雄に体重増加抑制及び小葉中心性肝細胞脂肪化が、雌に体重増加抑制傾向及び肝比重量増加が認められた。同群雄では CPK が 18 カ月時に有意に増加したが、CPK の上昇をもたらすような心筋または骨格筋などの筋肉における崩壊性変化や高度の消耗性疾患が認められないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。また、検体投与に関連する腫瘍性病変の増加はみられなかった。

本試験において、240 mg/kg 体重/日投与群で雄に小葉中心性肝細胞脂肪化等、雌に肝比重量増加が認められたので、無毒性量は雄で 60.1 mg/kg 体重/日、雌で 60.5 mg/kg 体重/日と考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 6、8、12)

(5) 18 カ月間発がん性試験 (マウス) ②

最大耐量を求めるために、ICR マウス (主群: 一群雌雄各 50 匹、衛星群: 一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、2,250 及び 4,500 ppm) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

本試験において、4,500 ppm 投与群で雄に小葉中心性肝細胞脂肪化が、雌に肝比重量増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 2,250 ppm (雄: 242 mg/kg 体重/日、雌: 243 mg/kg 体重/日) と考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 8、11、12)

1 2. 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 24 匹) を用いた混餌 (原体: 0、80、400 及び 2,000 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では、2,000 ppm 投与群で P 及び F₁ 世代の雄に肝比重量の増加が認められた。肝臓に病理組織学的変化は認められなかったが、ラット 90 日間垂

急性毒性試験[11. (1)]では、1,000 ppm 以上の用量で小葉中心性肝細胞肥大が認められており、本試験の用量設定試験においても 300 ppm 以上の用量で肝重量増加が、3,000 ppm の用量で肝腫大がみられたことから、雄の肝比重量増加は検体投与によるものと考えられた。2,000 ppm 投与群では、P 世代の雌に副腎の比重量及び対脳重量比増加が認められたが、副腎の病理組織学的検査で検体投与による変化はみられなかったことから、この重量増加は毒性学的に意味のあるものとは考えられなかった。

児動物では、2,000 ppm 投与群で F₁ 児動物に哺育 4 日の生存率低下が、F₁ 及び F₂ 児動物に哺育期間後半の低体重が認められた。

本試験において、2,000 ppm 投与群で親動物の雄に肝比重量増加が、児動物に生存率低下等が認められたので、無毒性量は親動物の雄で 400 ppm (P 雄 : 28.2 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 31.7 mg/kg 体重/日)、雌で 2,000 ppm (P 雌 : 159 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 172 mg/kg 体重/日)、児動物で 400 ppm (P 雄 : 28.2 mg/kg 体重/日、P 雌 : 33.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 31.7 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 35.6 mg/kg 体重/日) 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 6)

(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 : 1%CMC 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、1,000 mg/kg 体重/日投与群の母動物に摂餌量減少 (投与期間中) が認められたが、胎児にはいずれの投与群でも投与の影響は認められなかったので、無毒性量は母動物で 200 mg/kg 体重/日、胎児で 1,000 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 6、8、12)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ (一群雌 18 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体 : 0、40、200 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒 : 1%CMC 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制 (妊娠 24 日以降) 及び摂餌量の減少 (妊娠 6~8 日及び 22~24 日) が認められ、2 例に肝腫大が認められた。同群では母動物 1 匹が妊娠 15 日に死亡したが、この死亡が検体投与に関連したものであるか否かは不明である。

胎児では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で、13 肋骨を伴う仙椎前椎骨数 27 の出現頻度が増加した。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群で母動物に体重増加抑制等が、胎児に骨格変異の出現頻度の増加が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 200 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照

6、8、11、12)

1.3. 遺伝毒性試験

エトキサゾール(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 (MLA)、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞を用いた染色体異常試験、ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及びマウスを用いた小核試験が実施された。

試験結果は表 19 に示されている。MLA では、代謝活性化系存在下で陽性の結果が得られたが、DNA 修復試験、細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験ですべて陰性であり、また *in vivo* におけるマウス小核試験で陰性であった。従って、MLA で認められた陽性結果を支持するものはないことから、エトキサゾールには生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 6、8、11、12)

表 19 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)	50~2,000 µg/ディスク (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA102 TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 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 ^{+/+})	1~100 µg/mL (+/-S9)	+S9 で陽性
	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 (CHL)	15.6~125 µg/mL (24 時間処理、-S9) 12.5~100 µg/mL (48 時間処理、-S9) 22.5~180 µg/mL (6-18 時間、6-24 時間 処理、+S9)	陰性
<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	不定期 DNA 合成試験	SD ラット (肝細胞)	2,500、5,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	1,250~5,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

原体混在物 (2,5-YI) 及び代謝物 (R3、R7、R8、R10、R11、R14) について、細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。

試験結果は表 20 に示されている。代謝物 R8 において、純度 95.6% の検体では、TA100 株のみが代謝活性化系存在下で陽性を示したが、純度 100% の検

体では陰性であった。それ以外の試験結果はすべて陰性であった。(参照 6)

表 20 遺伝毒性試験概要 (原体混在物及び代謝物)

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
2,5-YI	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
R3	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
R7	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	78.1~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA98 株)	39.1~5,000 µg/プレート (+/-S9)	
		<i>S. typhimurium</i> (TA100 株)	4.88~5,000 µg/プレート (+/-S9)	
R8 ¹⁾	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	20~1,250 µg/プレート (+/-S9)	+S9 で TA100 株 のみ陽性
R8 ²⁾	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	78~1,250 µg/プレート (+/-S9)	陰性
R10	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
R11	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
R14	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 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

1) : 純度 95.6%、2) : 純度 100%