

表 29 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
1,000 mg/kg 体重/日	・ PLT 増加 ・ Cre、Ure、Chol 減少	
600 mg/kg 体重/日 以上	・ 体重増加抑制 ・ RBC 増加、MCH、MCV 減少 ・ Alb、TP 増加	・ RBC 増加、MCH、MCV 減少 ・ カリウム減少
100 mg/kg 体重/日	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、2.5、100 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 30 参照) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 30 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		2.5 ppm	100 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.20	8.25	403
	雌	0.23	9.29	467

100 ppm 投与群の雄 1 例が、一般状態が悪化したために切迫と殺されたが、検体投与に関連した死亡または切迫と殺例はなかった。

5,000 ppm 投与群の雌及び 100 ppm 以上投与群の雄で角膜混濁 (不透明~完全混濁) 及び角膜血管新生が、100 ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制、摂餌量及び食餌効率減少が認められた。

FOB、自発運動量、神経病理学的検査において、検体投与の影響は認められなかった。5,000 ppm 投与群の雌で、脳絶対重量の減少が認められたが、体重増加抑制に起因した変化と考えられた。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雄で角膜混濁が、雌で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 2.5 ppm (雄 : 0.2 mg/kg 体重/日、雌 : 0.23 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 51)

## 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) を用いたカプセル経口 (原体 : 0、10、100 及び 600 mg/kg 体重/日) 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 31 に示されている。

600 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例は、痙攣、体温低下、徐脈、急激な体重減少等

を示したため、切迫と殺された。この個体は Neu の増加を伴う WBC 増加、Lym 及び Eos 減少、RBC、Hb 及び Ht 増加、角膜混濁等を示した。

血漿中チロシン濃度を測定したところ、全投与群の雌雄でチロシン濃度の用量相関性の増加が認められた。600 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で認められた角膜炎及び 100 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で認められた肝、腎及び甲状腺重量増加は、血漿中チロシン濃度の増加に起因したものと考えられたが、臓器重量の増加は、投与に関連した病理所見が認められないことから、毒性所見とは考えられなかった。

尿中の遊離あるいは抱合フェノール類を分析したところ、検体の投与量と相関性は認められなかったものの、全投与群の雌雄で対照群に比べ尿中の遊離フェノール類が増加した。

一般症状観察、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において、指間嚢胞、皮膚炎/毛包炎等の皮膚の変化が認められたが、これらの変化は、本剤の投与によって血漿中チロシン濃度が上昇し、チロシン分解物が尿中に排泄されることで尿中に増加した遊離フェノール類が、動物の皮膚に接触し、長期間皮膚が刺激された結果生じたものと考えられた。

また、一般症状観察において、被毛への着色、尿及び糞の着色が認められたが、これはチロシン分解物が排泄されたことに起因したものであり、毒性所見とは考えられなかった。

100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌あるいは雄で、ALT 及び無機リンの増加が認められたが、一過性であり、関連する病理組織学的所見が認められなかったため、毒性所見とは考えられなかった。

本試験において、600 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で MCH 及び MCV の減少等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 52)

(眼病変に係る補足試験に関しては、[14. (8)]を参照)

表 31 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
600 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水晶体混濁</li> <li>・MCH、MCV 減少</li> <li>・Ure、Chol、Cre、T.Bil 減少</li> <li>・角膜混濁</li> <li>・角膜炎</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・切迫と殺(1例)</li> <li>・水晶体混濁</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・RBC 増加、MCH、MCV 減少</li> <li>・T.Bil 減少</li> <li>・角膜炎</li> </ul>
100 mg/kg 体重/日 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）

Wistar ラット（一群雌雄各 64 匹）を用いた混餌（原体：0、7.5、100 及び 2,500 ppm：平均検体摂取量は表 32 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 32 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		7.5 ppm	100 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.48	6.48	160
	雌	0.57	7.68	190

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に、甲状腺ろ胞細胞腺腫の発生頻度は表 34 に示されている。

雄では、各投与群で生存率が 25～31%に低下したため、92～98 週で試験を終了した。しかし、生存率について、対照群と統計学的な有意差は認められなかった。雌は 104 週間投与を継続し、生存率に検体投与の影響は認められなかった。

100 ppm 以上投与群の雌及び 7.5 ppm 以上投与群の雄で被毛の尿着色が、また 2,500 ppm 投与群の雌雄で受け皿の敷き紙に黄色あるいは紫色の着色が認められたが、これらは検体投与によってチロシン代謝物であるフェノール類が排泄されたことに起因するもので、毒性所見とは考えられなかった。

尿検査において、100 ppm 投与群の雌雄で尿中ケトン体の増加が認められたが、検体投与によって尿中にチロシンの代謝物 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸 (4-HPPA) が排泄されたことに関連した変化と考えられた。

2,500 ppm 投与群の雌で、甲状腺ろ胞細胞腺腫の発生頻度が有意に増加した。発生率は 6.5%であり、背景データ (0～4%) をわずかに上回った。これは、本剤投与により血漿チロシン濃度が増加し、甲状腺ろ胞細胞が持続的に刺激されたことが主たる原因と考えられた。

本試験において、7.5 ppm 以上投与群の雄及び 100 ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は、雄で 7.5 ppm (0.48 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 7.5 ppm (0.57 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 53)

表 33 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（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ ALP 減少</li> <li>・ 尿量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ 角膜混濁（不透明～完全混濁）、角膜血管新生</li> <li>・ T.Bil 増加</li> <li>・ 尿 pH 低下</li> <li>・ 肝蒼白化</li> <li>・ 肺炎</li> <li>・ 随意筋の退行性筋変性</li> </ul>
100 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 食餌効率減少</li> <li>・ PLT 減少</li> <li>・ 尿比重増加、尿 pH 低下</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 眼球混濁</li> <li>・ 体重増加抑制、食餌効率減少</li> <li>・ MCH、MCV 増加、PLT 減少</li> <li>・ 腎蒼白化</li> <li>・ 角膜炎</li> <li>・ 腎間質単核細胞浸潤</li> <li>・ 甲状腺ろ胞性嚢胞（過形成を伴う）</li> <li>・ 坐骨神経脱髄</li> </ul>
7.5 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 眼球混濁</li> <li>・ 角膜混濁（不透明～完全混濁）、角膜血管新生</li> <li>・ TP、Alb 減少</li> <li>・ 腎淡明化</li> <li>・ 腎表面粗造及び腎嚢胞</li> <li>・ 副腎淡明化</li> <li>・ 肝淡明化</li> <li>・ 角膜炎</li> <li>・ 肝細胞脂肪空胞化</li> <li>・ 慢性糸球体腎症</li> <li>・ 甲状腺ろ胞性嚢胞（過形成を伴う）</li> <li>・ 坐骨神経脱髄</li> </ul>	7.5 ppm 毒性所見なし

表 34 甲状腺ろ胞細胞腺腫の発生頻度

性別	雄				雌			
	検査動物数	64	64	64	64	64	64	64
投与群 (ppm)	0	7.5	100	2,500	0	7.5	100	2,500
甲状腺ろ胞細胞腺腫	0	1	3	1	0	1	1	4*

Fisher の直接確率計算法 \* : p<0.05

### (3) 1 年間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、10、50、350 及び 7,000 ppm : 平均検体摂取量は表 35 参照) 投与による 1 年間発がん性試験が実施された。

表 35 1 年間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	50 ppm	350 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.5	7.8	56.2	1,110
	雌	2.1	10.3	72.4	1,490

検体投与に関連した死亡例はなかった。7,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、食餌効率減少、肝補正及び比重量増加が、同群の雌で腎補正及び比重量増加、胆嚢上皮の好酸性変化が認められた。

尿中ケトン体は、雌雄とも用量相関性に増加が認められたが、これはチロシン代謝物の 4-HPPA が尿中に排泄されたことに関連した影響であり、毒性所見とは考えられなかった。

検体投与に関連して発生頻度の増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験において、7,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は、雌雄とも 350 ppm (雄 : 56.2 mg/kg 体重/日、雌 : 72.4 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 54)

### (4) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 55 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、10、350 及び 3,500/7,000 ppm<sup>4</sup> : 平均検体摂取量は表 36 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 36 18 カ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	350 ppm	3,500/7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.4	49.7	898
	雌	1.8	63.5	1,100

<sup>4</sup> 試験開始後 7 週間までは 3,500 ppm で投与、その後 7,000 ppm として試験終了時まで投与。

各投与群で認められた毒性所見は表 37 に示されている。

生存率に検体投与の影響は認められなかった。

350 ppm 投与群の雄で肝絶対、補正及び比重量増加が、同群の雌で腎絶対、補正及び比重量増加が認められたが、同群の雌雄で関連する病理所見が認められなかったため、350 ppm 投与群の雌雄における肝及び腎重量変化は、毒性所見とは考えられなかった。

検体投与に関連して発生頻度が増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験において、3,500/7,000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制等が、350 ppm 以上投与群の雌で胆嚢上皮の好酸性変化が認められたので、無毒性量は雄で 350 ppm (49.7 mg/kg 体重/日)、雌で 10 ppm (1.8 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 55)

表 37 18 カ月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,500/7,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制、食餌効率減少</li> <li>・ 唾液腺萎縮</li> <li>・ 肝絶対、補正及び比重量増加</li> <li>・ 脾臓リンパ球増生</li> <li>・ 包皮腺炎症</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝及び腎絶対、補正及び比重量増加</li> </ul>
350 ppm 以上	350 ppm 以下毒性所見なし	・ 胆嚢上皮の好酸性変化
10 ppm		毒性所見なし

## 12. 生殖発生毒性試験

### (1) 3 世代繁殖試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 26 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、2.5、10、100 及び 2,500 ppm : 平均検体摂取量は表 38 参照) 投与による 3 世代繁殖試験が実施された。

表 38 3 世代繁殖試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		2.5 ppm	10 ppm	100 ppm	2,500 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.3	1.1	11.6	278
		雌	0.3	1.2	12.4	307
	F <sub>1</sub> 世代	雄	0.3	1.1	11.7	297
		雌	0.3	1.2	12.3	316

注) F<sub>2</sub> 世代は、離乳後 14 週間検体投与後、各投与群を、そのまま投与を継続した群 (継続群) と、投与を中止して対照飼料を与えた群 (回復群) の二群に分けた。

親動物及び児動物における各投与群 (継続群) で認められた毒性所見は、それぞれ

れ表 39 に示されている。

また、児動物の血漿中チロシン濃度を測定したところ、全投与群で高チロシン血症が認められた。全体的に、雌より雄でチロシン濃度が高値であった。回復群では、F<sub>2</sub>及びF<sub>3</sub>児動物のいずれも対照群と同等の値に回復した。

本試験において、親動物では、10 ppm 以上投与群の雄で腎絶対、補正及び比重量増加等が、雌で摂餌量減少が、児動物では、10 ppm 以上投与群で腎盂拡張等が認められたので、無毒性量は、親動物の雌雄とも 2.5 ppm (P 雄 : 0.3 mg/kg 体重/日、P 雌 : 0.3 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 0.3 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 0.3 mg/kg 体重/日)、児動物の雌雄で 2.5 ppm (F<sub>1</sub> 雄 : 0.3 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 0.3 mg/kg 体重/日、F<sub>2</sub> 雄 : 0.3 mg/kg 体重/日、F<sub>2</sub> 雌 : 0.3 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 56)

(児動物生存率の低下とチロシンの関連に関しては、[14. (9)]を参照)

表 39 3 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 <sub>1</sub>		親 : F <sub>1</sub> 、児 : F <sub>2</sub>		親 : F <sub>2</sub> 、児 : F <sub>3</sub>	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
親動物	2,500 ppm	・体重増加抑制	・眼球混濁 ・腎補正重量増加	・水腎症	・腎盂拡張	・腎盂拡張 ・水腎症	・摂餌量減少 (哺育期間中) ・水腎症
	100 ppm 以上	・眼球混濁 ・角膜混濁 ・角膜血管新生 ・角膜炎 (血管新生を伴う)	・体重増加抑制、摂餌量及び食餌効率減少 ・角膜混濁、角膜血管新生 ・角膜炎 (血管新生を伴う)	・眼球混濁 ・体重増加抑制、摂餌量及び食餌効率減少 ・角膜混濁 ・角膜血管新生	・眼球混濁 ・体重増加抑制 ・角膜混濁 ・角膜血管新生 ・角膜炎 (血管新生を伴う) ・水腎症	・眼球混濁 ・体重増加抑制 ・角膜混濁 ・角膜血管新生	・眼球混濁 ・角膜混濁 ・角膜血管新生
	10 ppm 以上	・腎絶対、補正及び比重量増加	10 ppm 以下 毒性所見なし	・腎盂拡張 ・腎絶対、補正及び比重量増加 ・角膜炎 (血管新生を伴う)	摂餌量減少 (哺育期間中)	・食餌効率減少 ・腎絶対、補正及び比重量増加	10 ppm 以下 毒性所見なし
	2.5 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	
児動物	2,500 ppm	・眼瞼閉鎖 ・眼脂発現 ・生後 22 日生存率低下		・出生時及び生後 22 日生存率低下 ・腎絶対、補正及び比重量増加 (雌雄) ・水腎症 (雌雄)		・出生時及び生後 22 日生存率低下 ・水腎症 (雄)	

100 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・眼球混濁</li> <li>・腎盂拡張（雌）</li> <li>・角膜炎（血管新生を伴う、雌雄）</li> <li>・水腎症（雌雄）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・眼球混濁、眼脂発現</li> <li>・腎盂拡張（雌）</li> <li>・角膜炎（血管新生を伴う、雌雄）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・眼球混濁</li> <li>・水腎症（雌）</li> </ul>
10 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・腎盂拡張（雄）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・生存児数減少</li> <li>・腎盂拡張（雄）</li> </ul>	10 ppm 以下毒性所見なし
2.5 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし	

注) ・児動物の所見は、雌雄が区別できるものは雌雄を示した

・F<sub>2</sub>親動物及びF<sub>3</sub>児動物の所見は、いずれも継続群の所見を示した

## (2) 2世代繁殖試験（マウス）

Alpl:AP<sub>r</sub>CD-1 マウス（一群雌雄各 26 匹）を用いた混餌（原体：0、10、50、350、1,500 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 40 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 40 2 世代繁殖試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	50 ppm	350 ppm	1,500 ppm	7,000 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	2.1	10.2	71.4	312	1,470
		雌	2.4	12.0	84.4	372	1,630
	F <sub>1</sub> 世代	雄	2.1	10.0	71.3	302	1,440
		雌	2.4	11.4	80.5	354	1,670

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 41 に示されている。

また、児動物の血漿チロシン濃度を測定した。血漿中チロシン濃度は用量相関性に増加し、投与によりチロシン血症が誘起されたことが示唆された。

全投与群の児動物で眼脂が認められ、7,000 ppm 投与群において眼脂の観察された腹の頻度が有意に増加した。

本試験において、親動物では、1,500 ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制等が、児動物では 1,500 ppm 以上投与群で低体重等が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄で 350 ppm（P 雄：71.4 mg/kg 体重/日、P 雌：84.4 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄：71.3 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌：80.5 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 57）



表 41 2 世代繁殖試験（マウス）で認められた毒性所見

	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	7,000 ppm	・眼球混濁 ・眼球白内障性変化	・体重増加抑制	・眼球混濁 ・体重増加抑制、 摂餌量減少 ・眼球白内障性変化	・眼球混濁 ・眼球白内障性変化
	1,500 ppm 以上	・体重増加抑制	・摂餌量減少	1,500ppm 以下 毒性所見なし	・体重増加抑制、 摂餌量減少
	350 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし		毒性所見なし
児動物	7,000 ppm	・包皮分離遅延 ・眼球白内障性変化		・包皮分離遅延	
	1,500 ppm 以上	・低体重		・低体重 ・眼球混濁 ・眼球白内障性変化	
	350 ppm 以下	毒性所見なし		毒性所見なし	

### (3) 発生毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌 24 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：脱イオン水）投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、全投与群において摂餌量の低下及び体重増加抑制が認められた。また、尿による被毛の着色及び糞の着色（ピンク色あるいは紫色）も認められたが、これは検体投与により、チロシン分解産物である 4-HPPA 等が尿中に排泄されたことに起因した変化と考えられ、毒性所見と考えられなかった。

胎児では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で低体重が認められた。全投与群において、頸椎体未骨化、歯突起未骨化などの骨化遅延及び短小過剰肋骨の発生が増加し、骨格異常あるいは骨格変異を有する胎児の発生頻度が上昇し、手足骨格の骨化進行度が低下した。しかし、検体投与に起因する奇形は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児で 100 mg/kg 体重/日未満と考えられた。（参照 58）

### (4) 発生毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌 23～26 匹）の妊娠 4～17 日に、強制経口（原体：0、10、60、150 及び 600 mg/kg 体重/日、溶媒：水）投与して、発生毒性試験が実施された。本試験における対照群（0 mg/kg 体重/日投与群）は、マウス胎児の骨格発達におけるばらつきの程度を検討する目的で二群が設定された。

母動物では、検体投与の影響は認められなかった。

胎児では、600 mg/kg 体重/日投与群で、頸椎体未骨化、歯突起未骨化、胸骨分節不完全裂等の骨化遅延が認められたが、検体投与に起因する奇形は認められなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で本試験の最高用量 600 mg/kg 体重/日、胎児で 150 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 59）

#### (5) 発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 15～20 匹）の妊娠 8～20 日に強制経口（原体：0、100、250 及び 500 mg/kg 体重/日、溶媒：脱イオン水）投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、250 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で体重減少及び一般状態の悪化が認められたので、切迫と殺した。500 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制が認められた。

500 mg/kg 体重/日投与群の 2 例、250 mg/kg 体重/日投与群の 2 例、100 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で流産が認められたが、100 mg/kg 体重/日投与群の発生率は背景データの範囲内にあり、追加試験[14. (10)]では、500 mg/kg 体重/日単独投与では流産の発生を再現できなかったことから、検体投与による毒性影響と考えられなかった。

胎児では、外表、内臓及び骨格に検体投与に起因した奇形は認められず、内臓異常あるいは変異の増加も認められなかった。骨格については、検体投与に起因する異常の増加は認められなかったが、250 mg/kg 体重/日以上投与群において、骨格変異の認められた胎児の発生率が増加した。認められた変化のうち、椎骨数過剰及び完全過剰肋骨の発生率増加は、腹単位での解析及び背景データとの比較から検体投与による影響と考えられた。これらの他に、歯突起不完全骨化等の骨化遅延が全投与群で認められ、これらの骨格変異あるいは骨化遅延は、検体投与による血中チロシン濃度の上昇との関連性が示唆されている（[14. (10)]参照）。

本試験における無毒性量は、母動物で 250 mg/kg 体重/日、胎児で 100 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。（参照 60）

#### 1.3. 遺伝毒性試験

メソトリオンの細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験、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、ラットを用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験が実施された。結果は表 42 に示されている。試験結果はすべて陰性であったので、メソトリオンに遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 61～65）

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
in vitro	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2P、WP2uvrA 株)	100～5,000 µg/7 <sup>o</sup> レト (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK <sup>+</sup> )	125～1,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	250～2,000 µg/mL (+/-S9)	陰性
in vivo	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	500 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
	UDS 試験	Wistar ラット (肝細胞) (一群雄 3 匹)	2,000 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

メソトリオンの代謝物Ⅱ及びⅢの細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。結果は表 43 に示されており、いずれも陰性であったので、代謝物Ⅱ及びⅢに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 66、67)

表 43 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物Ⅱ及びⅢ)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
代謝物Ⅱ	復帰突然 変異試験	<i>S.typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2、WP2uvrA 株)	100～5,000 µg/7 <sup>o</sup> レト (+/-S9)	陰性
代謝物Ⅲ				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

##### (1) 90 日間亜急性毒性及び回復試験 (ラット)

ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験[10. (1) 及び(2)]で認められた、肝及び腎の重量増加について回復性を検討するため、Wistar ラット (一群雄 8 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、5、100 及び 2,500 ppm : 平均検体摂取量は表 44 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性及び回復試験が実施された。

2,500 ppm 投与群には、それぞれ 4 群を設け、投与終了後、回復期間をそれぞれ 1、2、4、及び 9 週間とした。5.0 及び 100 ppm 投与群にはそれぞれ 3 群を設け、

回復期間をそれぞれ2、6及び9週間とした。

表 44 90 日間亜急性毒性及び回復試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群	5 ppm	100 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	0.37	7.52	192

検体投与に関連した死亡はなく、2,500 ppm 投与群で体重増加抑制、摂餌量及び食餌効率の減少、100 ppm 以上投与群で眼球混濁及び角膜混濁、全投与群で肝及び腎重量（絶対、補正及び比重量）増加が認められたが、明確な用量相関性は認められなかった。

回復期間中には、眼への影響は回復し、体重、肝及び腎重量の変化には軽減が認められた。

血漿中チロシン濃度については、投与前約 130  $\mu$ M であったが、投与後 14 週で用量相関的に 10~20 倍に増加した。回復 4 週間で対照値の範囲に戻ったが、回復速度は 2,500 ppm 群では他の群より遅かった。肝臓 4-HPPDase 活性は対照で約 0.8~1.0  $\mu$ L/分/mg 蛋白であったが、本剤投与により用量相関的に著しく減少し 100 ppm 群以上で対照の 4%程度のレベルとなった。回復性がみられたが、回復 9 週でなお対照の約 70%のレベルであった。チロシンアミノトランスフェラーゼ (TAT) 活性は、対照で約 2  $\mu$ L/分/mg 蛋白であったが、投与により約 2 倍程度に増加し、回復期間に対照群と同等の値に戻った。（参照 68）

## (2) 90 日間亜急性毒性試験（体重等の変化の用量相関性：ラット）

ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験[10. (1) 及び(2)]で認められた、体重の変化、肝及び腎の重量増加について用量相関性を検討するため、Wistar ラット（一群雄 12 匹）を用いた混餌（原体：0、10、20、50 及び 125 ppm：平均検体摂取量は表 45 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 45 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群	10 ppm	20 ppm	50 ppm	125 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	0.9	1.7	4.3	10.7

125 ppm 投与群で、体重増加抑制、摂餌量減少、食餌効率減少が認められた。眼球混濁は全投与群で認められた。

本試験において、全投与群で肝及び腎絶対、補正及び比重量の増加が認められたが、明確な用量相関性は認められなかった。

90 日間亜急性毒性及び回復試験[14. (1)]及び血中チロシン濃度測定[14. (3)]より、肝臓及び腎臓の重量増加は血漿中チロシン濃度と相関が認められたが、投与量が一定量（雄：7.5 ppm）を超えると反応が横ばい状態となった。肝臓及び腎臓の病理組織学的所見では、毒性を示唆する所見はなく、肝臓では血漿中の高濃度アミノ酸処理により誘発された機能亢進性の肥大を反映していると考えられた。したがって、肝臓及び腎臓で認められた重量増加は、投与の影響ではあるが、毒性所見とは考えられなかった。（参照 69）

### (3) 血中チロシン濃度測定：90 日間亜急性用量反応試験（ラット）①

メソトリオン投与で誘発される血中チロシン濃度の上昇と、眼、体重及び臓器重量の変化の相関関係を検討するため、Wistar ラット（一群雄 16 匹）を用いた混餌（原体：0、0.5、1、3、4、5、7.5、10 及び 100 ppm：平均検体摂取量は表 46 参照）投与による 90 日間亜急性用量反応試験が実施された。

表 46 90 日間亜急性用量反応試験（雄ラット）の平均検体摂取量

投与群	0.5 ppm	1 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm	7.5 ppm	10 ppm	100 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	0.04	0.09	0.27	0.35	0.44	0.67	0.89	8.96

本試験の結果、100 ppm 投与群で体重減少、体重増加抑制及び摂餌量の減少、7.5 ppm 以上投与群で角膜混濁、5 ppm 以上投与群で腎補正重量増加が、4 ppm 以上投与群で肝補正重量増加が認められた。

血中チロシン濃度は、対照群約 110  $\mu$ M に対し、0.5 ppm 以上投与群で有意に増加し、100 ppm 群では約 30 倍に達し、投与終了時までそのレベルを維持した。4-HPPDase 活性は対照で約 0.3  $\mu$ L/分/mg 蛋白であったが、投与群では 0.5 ppm 以上で用量相関的に抑制され、100 ppm 群では対照比 3% に低下した。TAT 活性は対照約 1.7 nmol/分/mg 蛋白に対し 3 ppm 以上投与群で約 1.5 倍のレベルでプラトーに達した。また、高用量群ほど、尿中に排泄されるフェノール濃度が増加し、抱合型フェノールが低くなった。（参照 70）

### (4) 血中チロシン濃度測定：90 日間亜急性用量反応試験（ラット）②

メソトリオン投与で誘発される血中チロシン濃度と眼、体重及び臓器重量の変化との相関性を検討するため、Wistar ラット（一群雌 12 匹）を用いた混餌（原体：0、1、5、10、50、100、1,000 及び 2,500 ppm：平均検体摂取量は表 47 参照）投与による 90 日間亜急性用量反応試験が実施された。

表 47 90 日間亜急性用量反応試験（雌ラット）の平均検体摂取量

投与群	1 ppm	5 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm	1,000 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	0.09	0.48	0.95	4.82	9.54	94.8	237

本試験の結果、2,500 ppm 投与群で摂餌量減少、1,000 ppm 以上投与群で角膜混濁、50 ppm 以上投与群で肝実重量及び補正重量増加が認められた。

血中チロシン濃度は対照群約 120  $\mu$ M に対し、5 ppm 以上投与群で有意に増加し、100 ppm 群では約 10 倍、2,500 ppm 群では約 15 倍に達し、その後 14 週までそのレベルを維持した。4-HPPDase 活性は対照で約 1.4  $\mu$ L/分/mg 蛋白であったが、1 ppm 以上の投与群では用量相関的に抑制され、1,000 ppm 以上投与群では、対照比 1% に低下した。TAT 活性は対照約 1.7 nmol/分/mg 蛋白に対し 5 ppm 以上投与群で約 2 倍のレベルでプラトーに達した。また、高用量群ほど、尿中に排泄されるフェノール濃度が増加し、抱合型フェノールが低くなった。（参照 71）

(5) 血中チロシン濃度：90 日間亜急性用量反応試験（マウス）

メソトリオン投与で誘発される血中チロシン濃度と眼、体重及び臓器重量の変化との用量相関関係を検討するため、ICR マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、1、10、50、100、350、1,000、3,500 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 48 参照）投与による 90 日間亜急性用量反応試験が実施された。

表 48 90 日間亜急性用量反応試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		1 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm	350 ppm	1,000 ppm	3,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.16	1.69	8.49	18.0	58.5	179	600	1,220
	雌	0.19	1.94	10.8	20.5	72.7	215	715	1,440

本試験の結果、7,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、雌で食餌効率減少が認められた。

血中チロシン濃度は対照約 170  $\mu$ M に対し 1 ppm 群以上で用量相関的に有意に増加し 100 ppm 以上投与群で約 800  $\mu$ M のレベルでプラトーに達し、投与終了時までそのレベルを維持した。4-HPPDase 活性は、対照群で約 0.2  $\mu$ L/分/mg 蛋白であったが、1 ppm 以上投与群では用量相関的に抑制され、7,000 ppm 投与群では対照比 9% に低下した。TAT 活性は、対照群で約 10  $\mu$ L/分/mg 蛋白に対し、100 ppm 以上投与群で約 1.2~1.5 倍のレベルに、有意に増加した。また、高用量群ほど、尿中に排泄されるフェノール濃度が増加し、抱合型フェノールの比率が低くなった。（参照 72）

#### (6) 眼毒性病変の発現及び回復性の検討 (ラット)

メソトリオン投与により誘発される眼病変の、投与中止による回復性を明らかにするため、Wistar ラット (対照群: 雄 16 匹、投与群: 雄 40 匹) に 90 日間混餌 (原体: 0、2,500 ppm) 投与して、眼毒性病変の発現及び回復性が検討された。

投与群で認められた角膜混濁については、病理組織学的には角膜上皮損傷、角膜炎、虹彩前癒着であった。8 週間の回復期間をおくと角膜炎は消失したが眼科検査で癒痕化した血管新生が認められた個体では、角膜に血管残存が認められた。(参照 73)

#### (7) チロシン添加の低蛋白飼料投与による眼毒性病変の形態等の検討 (ラット)

L-チロシン投与によりラットで誘発される眼病変の発現を経時的に検討するため、Wistar ラット (一群雄 8 匹) に 21 日間混餌 (L-チロシン: 0、0.5、1.0、2.5 及び 5.0%) 投与して、眼毒性病変の形態及び病理組織学的な検討がなされた。

本試験において 2.5% 以上の L-チロシン添加低蛋白飼料投与により投与後 3~4 日で高頻度に角膜病変 (眼科検査では混濁、病理検査では角膜炎) が誘発されることが確認された。(参照 74)

#### (8) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験補足試験 (ラット)

検体の低用量、長期投与時の眼に対する慢性毒性を検討するために、2 年間慢性毒性/発がん性併合試験時に、Wistar ラット (一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体: 1 及び 2.5 ppm: 平均検体摂取量は表 49 参照) 投与による 2 年間の補足試験が実施された。

表 49 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験補足試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		1 ppm	2.5 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.06	0.16
	雌	0.08	0.19

全投与群の雄で、体重増加抑制、副腎淡明化、腎表面粗造及び腎嚢胞、肝淡明化が認められたが、眼以外の病理組織学的検査を実施していないことから、投与との関連性は不明である。雌では検体投与の影響は認められなかった。また、全投与群雌雄で、眼に対する検体投与の影響は認められなかった。(参照 53)

#### (9) 1 世代繁殖試験 (ラット)

3 世代繁殖試験 [12. (1)] における児動物生存率の低下とチロシンの関連を調べるため、Wistar ラット (一群雌 20 匹) の妊娠確認日から分娩 5 日後まで (約 4 週間)、メソトリオン (原体: 0、2,500 ppm) 及びチロシン (0、0.5、1 及び 2%、w/w)