

大部分は $^{14}\text{CO}_2$ (15.5%TAR) であり、その後培養終了時 (360 日) まで 12.1~15.4%TAR の水準で認められた。培養期間が 50 日間であったドイツ土壤では、揮発性放射能は培養終了時点でそれぞれ最高値 12.2%TAR (砂壤土) ~19.4%TAR (シルト土) を示し、その大部分は $^{14}\text{CO}_2$ であった。また、培養開始直後から急速な土壤結合型残留が認められ、培養開始後 1~3 日にかけて土壤結合型残留の最高値 (21.0~35.2%TAR) が認められた。

各供試土壤を通じて、主要分解物は M1 及び M5 であった。なお米国土壤と比較して、ドイツ土壤では M18 及び M19 の生成量が多かった。

好氣的土壤におけるスピロテトラマトの主要分解経路は、炭酸エチルエステル結合の加水分解による M1 の生成、M1 のベンジル炭素の酸化による M5 の生成、M5 の加水分解的な開環による M11 の生成、最終的には CO_2 までの分解が推察された。他には、M1 が *O*-脱メチル化された M2 の生成、M2 の酸化による M17 の生成が推察された。また、M1 の酸化的二量化により M18 及び M19 が生成された。これらはさらに分解され、土壤結合型残留及び CO_2 へ至ると推察された。(参照 15)

(2) 好氣的土壤中運命試験 (屋外試験)

[aza-3- ^{14}C]スピロテトラマトを 2 種類の海外土壤 [砂壤土 (米国) 及びシルト質壤土 (ドイツ)] に 288 g ai/ha となるように散布し、開放条件かつ降雨の影響がない栽培エリア (ガラス屋根下) で 127 日間インキュベートする好氣的土壤中運命試験が実施された。

米国及びドイツ土壤において、親化合物は処理 1 日後にそれぞれ 72.2 及び 53.6%TAR 検出され、127 日後にそれぞれ 1%TAR のみが残存した。親化合物の推定半減期は米国土壤で 1.2 日、ドイツ土壤で 2.9 日であり、速やかに分解された。屋外の好氣的土壤におけるスピロテトラマトの主要分解経路は、親化合物の急速な加水分解による M1 の生成、M1 のベンジル炭素の酸化による M5 の生成であった。M1 及び M5 の最高生成量は、砂壤土では 7.8 及び 25.3%TAR、シルト質壤土では、5.9 及び 23.6%TAR であった。M5 は加水分解による環開裂を受け、M11 及び M20 へと分解された。M20 は分子開裂により M21 に分解され、最終的には CO_2 まで分解されると考えられた。また、M1 の副分解経路として、M2 の生成が推察され、M2 は M17 または想定分解物 M6 を経て M23 へ分解されると推察された。他の副分解経路として、M1 は、二量体化による M18 及び M19 の生成が推察され、これらの二量体は開裂後に再度 M1 の分解経路に入ると推察された。(参照 16)

(3) 好氣的-嫌氣的土壤中運命試験

[aza-3- ^{14}C]スピロテトラマトを砂壤土 (ドイツ) に 0.77 mg ai/kg とな

るように添加し、20℃、暗所、好氣的条件下で4.8時間インキュベートした。その後、酸素除去脱イオン水130 mLで湛水して水深3 cmとし、窒素ガスで15分間充填して嫌氣的条件に誘導した。嫌氣的条件で20℃、暗所で180日間インキュベートする好氣的・嫌氣的土壤中運命試験が実施された。

本試験系におけるスピロテトラマトの推定半減期は、0.06日(1.4時間)であった。

好氣的条件下では、試験開始4.8時間後に親化合物が85%TARに減少した。嫌氣的条件下の試験開始0.6日(14.4時間)後で9.4%TAR、6日後に1.4%TAR、180日後に検出限界未満に減少した。親化合物はほとんどが土壌相に存在した。主要分解物として、M1が180日後の水相に43%TAR、土壌相に11.7%TAR分布した。その他、M5が1日後の試験系全体で19.3%TAR生成し、180日後に7.7%TARに減少した。また、M8、M11、M18及びM19が土壌相及び水相のいずれからも検出されたが、全試験系を通して8%TAR未満であった。 $^{14}\text{CO}_2$ は、全試験系を通して0.2%TAR認められた。土壌への結合型残留放射能は、嫌氣的条件に誘導後0.6日で最大17.5%TARに達したが、180日後には7.9%TARに減少した。(参照17)

(4) 土壌表面光分解試験

[aza-3- ^{14}C]スピロテトラマトまたは[aza-5- ^{14}C]スピロテトラマトを2種類の海外土壌[砂壤土(米国)、壤土(ドイツ)]にそれぞれ1.9 mg ai/kgとなるように添加し、 $20\pm 1^\circ\text{C}$ で7日間キセノンランプ光([aza-3- ^{14}C]スピロテトラマト処理群 光強度:1,120 W/m²、測定波長:300~800 nm、[aza-5- ^{14}C]スピロテトラマト処理群 光強度:1,130 W/m²、測定波長:300~800 nm)を連続照射する土壌表面光分解試験が実施された。

親化合物の分解は、光照射区よりも暗所対照区でより速やかであった。親化合物の残留は、7日後に光照射区で31~37%TAR、暗所対照区で7~9%TAR認められた。また主要分解物としてM1及びM5が認められ、M5は暗所対照区の7日後に33~34%TAR、光照射区では12~17%TAR認められた。M1は、暗所対照区の7日後に13~14%TAR認められたが、光照射区では7日後に4~5%TARと微量であった。これは、生成されたM1が、M5、M20、M21、M28等へ光分解されることが要因であると推察された。スピロテトラマトの光照射下での推定半減期は2.4~5.0日であった。また、暗所対照区でもスピロテトラマトの分解が認められ、推定半減期は0.6~1.2日であった。暗所対照区での分解が速やかであった理由として、光照射による土壌微生物活性の抑制が推察された。

光照射下において、10%TAR以上認められた分解物はM1、M5及びM28

であった。その他に M19、M20 及び M21 が認められたが、その生成量は 10%TAR 未満であった。(参照 18)

(5) M1 を用いた好氣的土壤中運命試験

[aza-3-¹⁴C]M1 または [aza-5-¹⁴C]M1 を砂壤土(米国)に 0.13 mg ai/kg、砂壤土、シルト質壤土及びシルト土(ドイツ)に 0.31 mg ai/kg となるように添加し、20±1°C、暗所で 119 日間インキュベートする好氣的土壤中運命試験が実施された。

M1 は好氣的条件下において二相性の分解を示した。処理後 1 日以内の第一相で 80%TAR 以上が分解し、さらに試験終了時(119 日)までの第二相では 6.0%TAR が分解した。推定半減期は 0.02~0.2 日(0.48~4.8 時間)であった。

経時的な ¹⁴CO₂ の増加が試験終了時まで認められ、¹⁴CO₂ 以外の揮発性有機物質の発生は認められなかった。また、土壌からの抽出放射能は徐々に低下し、試験終了時には 25%TAR 未満となった。土壌結合型残留は、シルト質壤土を除く全土壌において処理 1 日後に最高値となり、試験終了時まで同水準の数値で推移した。シルト質壤土の土壌結合型残留は、処理 32 日後に最高値となり、以降は他の土壌と同様に、試験終了時まで同水準の数値で推移した。

M1 の推定半減期は 2.0~22.0 日(平均 8.2 日)であり、いずれの土壌においても 10%TAR 以上認められた主要分解物は M5 であり、他に M2、M11、M18、M19 及び M23 が認められたが、その生成量はいずれも 10%TAR 未満であった。

好氣的土壌における M1 の主要分解経路は、ベンジル炭素の酸化による M5 の生成であると推察された。M5 は加水分解による環開裂により M11 となり、最終的に結合型残留物及び CO₂ にまで分解されると推察された。また、M5 から想定分解物である M6 を経て M23 となり、結合型残留物となる反応も推察された。他には、脱メチル化による M2 の生成の後、CO₂ までの分解、もしくは M1 の酸化的二量化による M18 及び M19 の生成が推察された。これらの二量体は開裂後に再度 M1 の分解経路に入ると推察された。(参照 19)

(6) M28 を用いた好氣的土壤中運命試験

[met-¹⁴C]M28 を 3 種類の海外土壌 [シルト質壤土及び壤土(ドイツ)、壤質砂土(米国)] に 0.13 mg ai/kg となるように添加し、20±1°C、暗所で 14 日間インキュベートする好氣的土壤中運命試験が実施された。

好氣的土壌において M28 は急速に分解した。¹⁴CO₂ をのぞいて 5%TAR 以上生成した分解物は認められなかった。主要分解物は ¹⁴CO₂ であり、そ

の生成量は 66.3~75.8%TAR であった。また、土壤結合型残留物は最大で約 20%TAR 認められた。(参照 20)

(7) 土壤吸脱着試験

[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを用いて、5種類の海外土壤[壤質砂土、砂壤土及びシルト質壤土(ドイツ)、砂壤土(米国)、壤土(カナダ)]における土壤吸脱着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 3.70~4.80、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 159~435 であった。また、Freundlich の脱着係数 K_{des} は 14.2~40.7、有機炭素含有率により補正した脱着係数 K_{desoc} は 610~3,620 であった。吸着係数と比較して脱着係数が高く、土壤に吸着されたスピロテトラマトは溶脱しにくいと推察された。(参照 21)

(8) M1 を用いた土壤吸着試験

[aza-3-¹⁴C]M1 を用いて、5種類の海外土壤[2種類のシルト質壤土及び砂壤土(ドイツ)、砂壤土(米国)、壤土(カナダ)]における土壤吸着試験が実施された。48時間の平衡化時間においても吸着平衡に到達せず、急速な分解によるM5の生成が認められた。その結果、物質収支の経時的な低下が生じ、現行のガイドラインに従った吸着係数の算出は不可能であった。(参照 22)

(9) M5 を用いた土壤吸脱着試験

[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを用いて、5種類の海外土壤[2種類のシルト質壤土及び砂壤土(ドイツ)、砂壤土(米国)、埴壤土(カナダ)]における土壤吸脱着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 0.52~2.21、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 41.0~99.1 であった。また、Freundlich の脱着係数 K_{des} は 0.67~2.84、有機炭素含有率により補正した脱着係数 K_{desoc} は 61.2~167 であった。(参照 23)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトまたは[aza-5-¹⁴C]スピロテトラマトを pH 4 (酢酸ナトリウム緩衝液)、pH 7 (トリス緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液にそれぞれ 1 mg/L となるように添加し、25℃、暗所条件下で pH 4 及び 7 は 29~31 日間、pH 9 は 30 時間インキュベートする加水分解試験が実施された。

スピロテトラマトの推定半減期は pH 4 で 32.5 日、pH 7 で 8.6 日及び

pH 9 で 7.6 時間であった。本試験条件下において、スピロテトラマトの加水分解により M1 の生成が認められた。(参照 24)

(2) 水中光分解試験 (緩衝液)

[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトまたは[aza-5-¹⁴C]スピロテトラマトを滅菌緩衝液 (酢酸緩衝液: pH 5) に 1 mg/L の濃度で添加し、25±1°C で 7 日間キセノンランプ光 (光強度: 989.5 W/m²、測定波長: 300~800 nm) を連続照射する水中光分解試験が実施された。

スピロテトラマトの推定半減期は 2.7 日、東京における春の太陽光下に換算すると 27.0 日であった。光照射区では、親化合物の他に、10% TAR 以上生成した光分解物として、M24、M25、M26 及び M27 が同定された。また暗所対照区では親化合物及び M1 が認められた。(参照 25)

(3) 水中光分解試験 (自然水)

[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトまたは[aza-5-¹⁴C]スピロテトラマトを滅菌自然水 (河川水、ドイツ、pH 7.93) に 1 mg/L の濃度で添加し、25±1°C で 10 日間キセノンランプ光 (光強度: 700 W/m²、測定波長: 300~800 nm) を連続照射する水中光分解試験が実施された。

10% TAR 以上生成した主要分解物として M1、M28 及び M29 が認められた。スピロテトラマトの推定半減期は 0.19 日 (4.56 時間)、東京における春の太陽光下に換算すると 1.35 日であった。(参照 26)

(4) M1 を用いた加水分解試験

[aza-3-¹⁴C]M1 または[aza-5-¹⁴C]M1 を pH 4 (酢酸ナトリウム緩衝液)、pH 7 (トリス緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液にそれぞれ 1 mg/L となるように添加し、25°C、暗所条件下で 31 日間インキュベートする加水分解試験が実施された。

M1 は加水分解に安定であり、各緩衝液における推定半減期は 1 年以上と推察された。(参照 27)

(5) M1 を用いた水中光分解試験 (緩衝液)

非標識 M1 を滅菌緩衝液 (リン酸緩衝液: pH 7) に 5.03 mg/L の濃度で添加し、25±1°C で 500 分間水銀ランプ (測定波長: 295~400 nm) を連続照射する水中光分解試験が実施された。

M1 の推定半減期は 26.8~39.9 時間であった。(参照 28)

5. 土壌残留試験

土壌残留試験については、参照にした資料に記載がなかった。

6. 作物残留試験

あぶらな科葉菜類（ブロッコリー、カリフラワー、キャベツ及びからしな）、うり科野菜類（きゅうり、メロン及びスカッシュ）、うり科を除く果実野菜類（トマト、ピーマン及びとうがらし類）、非あぶらな科葉菜類（レタス、リーフレタス、セロリ及びほうれんそう）、ばれいしょ、かんきつ類（オレンジ、レモン及びグレープフルーツ）、仁果類（りんご及びなし）、核果類（おうとう、もも及びすもも）、ぶどう、ナッツ類（アーモンド及びペカン）、ホップ、わた、たまねぎ、かんきつ類（オレンジ及びマンダリン）及びマンゴーを用いて、スピロテトラマト、代謝物 M1、M5、M7 及び M1 グルコシドを分析対象化合物とした作物残留試験が、米国、カナダ及びオーストラリアにおいて実施された。

結果は別紙 3 に示されている。

スピロテトラマト及び代謝物の合計の最高値は、処理 7 日後に収穫したホップの 5.82 mg/kg であった。（参照 29、70）

7. 乳汁移行試験

乳牛（1 群 3 頭）にスピロテトラマトを 29 日間カプセル経口（0、3、9 及び 30 mg/kg 体重/日）投与し、乳汁移行試験が実施された。乳試料は、投与開始前日、投与開始日及び投与開始 1、3、5、7、10、17、21、24、26 及び 28 日後の各日朝夕に 2 回搾乳し、同一日の試料を混合して分析試料とした。また、26 日後の乳汁試料を乳脂肪と乳清に分離し、それぞれ分析試料とした。

搾乳した試料中スピロテトラマトは、すべて定量限界未満（5 µg/mL 未満）であった。スピロテトラマトは、乳汁へ移行することはないと考えられた。（参照 30）

8. 一般薬理試験

ラット及びマウスを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 18 に示されている。(参照 31)

表 18 一般薬理試験

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 mg/kg 体重 (投与経路)	最大 無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
中枢 神経系	一般状態 (Irwin 法)	Wistar ラット	雄 5 0, 80, 400 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響 なし
	自発運動 量	ICR マウス	雄 6 0, 80, 400 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響 なし
	痙攣誘発 作用	ICR マウス	雄 6 0, 80, 400 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響 なし
	体温	Wistar ラット	雄 5 0, 80, 400 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響 なし
自律 神経系	瞳孔系	Wistar ラット	雄 5 0, 80, 400 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響 なし
循環 器系	血圧・ 心拍数・	Wistar ラット	雄 5 0, 80, 400 2,000 (経口)	2,000	—	投与による影響 なし
腎 機能	尿量・尿中 電解質・尿 浸透圧	Wistar ラット	雄 5 0, 80, 400 2,000 (経口)	400	2,000	2,000 mg/kg 体重投与群で 尿浸透圧の増 加

注) 検体は、0.4%Tween80 添加 0.5%MC 溶液に懸濁して用いた。
—: 最小作用量は設定できなかった。

9. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

スピロテトラマト原体のラットを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 19 に示されている。(参照 32)

表 19 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	Wistar ラット 雌 5 匹	/		>2,000	症状及び死亡例なし
経皮	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000		鼻部の赤色汚れ、生殖器付近の湿気及び黄色汚れ 死亡例なし
吸入	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)			体重増加抑制 (一過性) 粗毛、立毛、緩徐呼吸、努力性呼吸、鼻汁、喘鳴、運動性低下、反射への影響 死亡例なし
		>4.18	>4.18		

スピロテトラマトの代謝物 M5、M6、M7 及び M8 のラットを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 20 に示されている。(参照 33~36)

表 20 急性毒性試験結果概要 (代謝物)

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		
M5	経口	Wistar ラット 雌 3 匹	/		>2,000	症状及び死亡例なし
M6	経口	Wistar ラット 雌 3 匹	/		>2,000	症状及び死亡例なし
M7	経口	Wistar ラット 雌 3 匹	/		>2,000	症状及び死亡例なし
M8	経口	Wistar ラット 雌 3 匹	/		>2,000	症状及び死亡例なし

(2) 急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた強制経口 (原体: 0、50、100、200、500 及び 2,000 mg/kg 体重、溶媒: 0.4% Tween80 添加 0.5% MC 溶液) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

投与に関連した死亡例は認められなかった。一般状態の変化として、500 mg/kg 体重以上投与群の雄で肛門周囲の汚れが、200 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で尿着色が認められた。

2,000 mg/kg 体重投与群の雌及び 500 mg/kg 体重以上投与群の雄で運動能低下が、2,000 mg/kg 体重投与群の雌及び 200 mg/kg 体重以上投与群の雄で移動運動能低下が認められた。

脳重量及び神経病理組織学的検査に関して、検体投与の影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は、雌雄とも 100 mg/kg 体重であると考えられ

た。神経毒性は認められなかった。(参照 37)

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

ヒマラヤン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。その結果、眼に対する刺激性が観察された。皮膚刺激性は認められなかった。(参照 38、39)

DH モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施され、結果は陽性であった。(参照 40)

11. 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、150、600、2,500 及び 10,000 ppm : 平均検体摂取量は表 21 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、対照群及び 10,000 ppm 投与群は、別に一群ずつを設け、90 日間検体投与後、4 週間の回復期間をおいた。

表 21 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		150 ppm	600 ppm	2,500 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/ 日)	雄	8.9	35.9	148	616
	雌	11.4	46.1	188	752

各投与群で認められた毒性所見は表 22 に示されている。

本試験において、10,000 ppm 投与群の雌雄で肺泡マクロファージ集簇等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 2,500 ppm (雄 : 148 mg/kg 体重/日、雌 : 188 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 41)

表 22 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
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 精巣絶対重量減少 ・ 精巣上体異常精子 ・ 精巣上体精子減少 ・ 精細管変性及び上皮脱落 ・ 肺泡マクロファージ集簇 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肺泡マクロファージ集簇
2,500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 15 匹) を用いた混餌 (原体: 0、70、350、1,700 及び 7,000 ppm: 平均検体摂取量は表 23 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 23 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		70 ppm	350 ppm	1,700 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	12.8	59.6	300	1,300
	雌	16.0	72.4	389	1,520

本試験において、投与に関連した毒性所見が認められなかったことから、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 7,000 ppm (雄: 1,300 mg/kg 体重/日、雌: 1,520 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 42)

(3) 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、150、300、1,200 及び 4,000/2,500 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		150 ppm	300 ppm	1,200 ppm	4,000/ 2,500 ppm*
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	5	9	33	81
	雌	6	10	32	72

*: 最高用量群は、4,000 ppm で開始したが、重度の体重減少が認められたため、投与開始 2 週間後から 2,500 ppm とした。

4,000 ppm で投与を開始した群の雌雄で、体重減少及び摂餌量減少が認められたため、投与量を 2,500 ppm に変更したところ、雄では体重増加及び摂餌量が回復したが、雌では回復が認められず、2,500 ppm 投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。

2,500 ppm 投与群の雌雄で T_3 減少、1,200 ppm 以上投与群の雌雄で T_4 の減少が認められたが、甲状腺重量増加及び甲状腺の病理組織学的変化は認められなかったことから、 T_3 及び T_4 の変化は毒性影響ではないと考えられた。

本試験において、雄で投与に関連した毒性所見が認められず、2,500 ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制及び摂餌量減少ならびに RBC、Hb 及び Ht 減少が認められたことから、無毒性量は雄で本試験の最高用量 2,500 ppm (81 mg/kg 体重/日)、雌で 1,200 ppm (32 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 43)

(4) 21日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 10 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、5 日/週）投与による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

本試験において、投与に関連した毒性所見が認められなかったことから、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 44）

1.2. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1年間慢性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0、250、3,500、7,500 及び 12,000 ppm：平均検体摂取量は表 25 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 25 1 年間慢性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		250 ppm	3,500 ppm	7,500/12,000 ppm*
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	13.2	189	414
	雌	18.0	255	890

*：最高用量群は、雄に 7,500 ppm、雌に 12,000 ppm を投与した。

各投与群で認められた毒性所見は表 26 に示されている。

本試験において、3,500 ppm 以上投与群の雄及び 12,000 ppm 投与群の雌で肺泡マクロファージ集簇等が認められたことから、無毒性量は雄で 250 ppm（13.2 mg/kg 体重/日）、雌で 3,500 ppm（255 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 45）

表 26 1 年間慢性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
7,500/12,000 ppm	・肝絶対及び比重量 ³ 増加	・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加 ・生殖器周辺及び尾の汚れ ・肺に退色域 ・肺泡マクロファージ集簇
3,500 ppm 以上 250 ppm	・肺泡マクロファージ集簇 毒性所見なし	3,500 ppm 以下毒性所見なし

(2) 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、600、1,800

³ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

ppm：平均検体摂取量は表 27 参照) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 27 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	600 ppm	1,800 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6	20	55
	雌	5	19	48

甲状腺への影響として、600 ppm 以上投与群の雌雄で T_4 が減少し、1,800 ppm 投与群の雄で T_3 が減少したが、いずれも TSH に変動が無く、甲状腺重量ならびに病理組織学的変化等への影響が認められなかったことから、毒性所見とは判断されなかった。

本試験において、1,800 ppm 投与群の雄で甲状腺ろ胞径の縮小が認められ、同群の雌では投与に関連した毒性所見が認められなかったことから、無毒性量は雄で 600 ppm (20 mg/kg 体重/日)、雌で本試験の最高用量 1,800 ppm (48 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 46)

(3) 2 年間発がん性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 55 匹) を用いた混餌 (原体: 0、250、3,500、7,500 及び 12,000 ppm: 平均検体摂取量は表 28 参照) 投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 28 2 年間発がん性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		250 ppm	3,500 ppm	7,500/12,000 ppm*
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	12.5	169	373
	雌	16.8	229	823

*: 最高用量群は、雄に 7,500 ppm、雌に 12,000 ppm を投与した。

各投与群で認められた毒性所見は表 29 に示されている。

本試験において、3,500 ppm 以上投与群の雌雄で腎絶対及び比重量減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 250 ppm (雄: 12.5 mg/kg 体重/日、雌: 16.8 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 47)

表 29 2年間発がん性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
7,500/12,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・生殖器及び尾の汚れ ・後肢に鱗屑 ・肺絶対及び比重量増加 ・肺泡マクロファージ集簇/ 間質性肺炎 ・精細管変性及び精巣上体に 脱落精細胞/細胞残屑 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・生殖器及び尾の汚れ ・後肢に鱗屑 ・肺絶対及び比重量増加 ・肺泡マクロファージ集簇/ 間質性肺炎 ・肝に胆管線維化/過形成の増加
3,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・腎絶対及び比重量減少 ・尿細管拡張 	<ul style="list-style-type: none"> ・腎絶対及び比重量減少 ・尿細管拡張
250 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）

ICR マウス（一群雌雄各 55 匹）を用いた混餌（原体：0、70、1,700 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 30 参照）投与による 18カ月間発がん性試験が実施された。

表 30 18カ月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		70 ppm	1,700 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	10.9	263	1,020
	雌	13.7	331	1,320

本試験において、投与に関連した毒性所見が認められなかったことから、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 7,000 ppm（雄：1,020 mg/kg 体重/日、雌：1,320 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 48）

1.3. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 30 匹）を用いた混餌（原体：0、250、1,000、及び 6,000 ppm：平均検体摂取量は表 31 参照）投与による 2世代繁殖試験が実施された。

表 31 2世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群			250 ppm	1,000 ppm	6,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	17.2	70.7	419
		雌	20.0	82.5	485
	F ₁ 世代	雄	19.3	79.5	487
		雌	21.7	90.3	540

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表 32 に示されている。

F₁ 世代親動物で、6,000 ppm 投与群の雄に異常精子の増加が認められた。これは、異常精子が著しく増加した雄 1 例によるものと考えられた。この雄と交配した雌は妊娠しなかった。この 1 例を除くと、この群における異常精子の発生頻度は対照群とほぼ同等であり、また、繁殖能に対する影響も認められなかった。したがって、F₁ 世代親動物の 6,000 ppm 投与群で認められた異常精子数の増加は、検体投与との関連性は否定できないものの、軽微な影響であると考えられた。

本試験において、親動物及び児動物で、6,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたことから、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄とも 1,000 ppm (P 雄 : 70.7mg/kg 体重/日、P 雌 : 82.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 79.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 90.3 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 49)

表 32 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	6,000 ppm	・体重増加抑制、 摂餌量減少	・摂餌量減少	・体重増加抑制、 摂餌量減少 ・腎髄質多中心性 尿細管拡張 ・異常精子増加	・体重増加抑制、 摂餌量減少 ・腎髄質多中心性 尿細管拡張
	1,000 ppm 以下	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	6,000 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制	・体重増加抑制	・体重増加抑制
	1,000 ppm 以下	毒性所見なし	・毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 発生毒性試験 (ラット) ①

Wistar ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体 : 0、20、140 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%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/日投与群において体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。

胎児では、胎盤重量の減少、低体重、骨化遅延 (指節骨、胸骨分節、椎骨及び頭蓋骨) 及び骨格変異 (波状肋骨、第 14 肋骨の増加等) が認められた。また、1,000 mg/kg 体重/日投与群で奇形 (口蓋裂 1 例、小眼球 1 例、心房中隔欠損 1 例、前肢骨の形成不全 4 例、第一仙椎骨の腰椎化 3 例

等)の総発生数(合計12例)が対照群(小眼球1例、心房中隔欠損1例、前肢骨の形成不全1例等、合計7例)に比べて増加したが、統計学的な有意差はなく、群単位の発生率(対照群2.83%、1,000 mg/kg体重/日投与群4.44%)及び母体単位の発生率(対照群20.0%、1,000 mg/kg体重/日投与群40.9%)は背景データの範囲内(群単位の発生率6.9%、母体単位の発生率40.0%)であった。また、認められた所見は自然発生的に見られる非特異的なものであったことから、検体が特異的な奇形を誘発することを示すものではないと考えられた。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児で140 mg/kg体重/日であると考えられた。(参照50)

(3) 発生毒性試験(ラット)②

Wistarラット(一群雌25匹)の妊娠6~19日に強制経口(原体:0、10、35及び140 mg/kg体重/日、溶媒:0.5%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、検体投与の影響は認められなかった。

胎児では、35 mg/kg体重/日投与群で小眼球症の発生増加、35 mg/kg体重/日以上投与群で甲状腺の一葉の欠損等、奇形の増加が認められたが、ラットを用いた前述の試験[13.(2)]も併せて考えると用量相関性が認められず、また、小眼球症については背景データの範囲内[小眼球症の発生増加:胎児単位(35 mg/kg体重投与群:1.8%、背景データ:~1.8%)、母動物単位(35 mg/kg体重投与群:22%、背景データ:~20%)]にあることから、検体投与の影響とは考えられなかった。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児で本試験の最高用量140 mg/kg体重/日であると考えられた。(参照51)

(4) 発生毒性試験(ウサギ)

ヒマラヤンウサギ(一群雌22匹)の妊娠6~28日に強制経口(原体:0、10、40及び160 mg/kg体重/日、溶媒:0.5%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、160 mg/kg体重/日投与群の1例が死亡、5例が瀕死状態のため切迫と殺され、2例が流産した。死亡、切迫と殺あるいは流産した個体では、糞量の減少、下痢または軟便、飲水量の減少、尿量の変化、赤色排泄物、耳介の冷感及び脱毛、体重及び摂餌量の減少が認められた。160 mg/kg体重/日投与群の死亡動物では、盲腸内のガス状または液体状の貯留物、胆嚢の斑点、肝臓の淡明化が認められた。

胎児では、160 mg/kg体重/日投与群で肝小葉の明瞭化が認められた。

本試験において、母動物では160 mg/kg体重/日投与群で流産等、胎児

では 160 mg/kg 体重/日投与群で肝小葉の明瞭化が認められたことから、無毒性量は母動物及び胎児とも 40 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 52)

1.4. 遺伝毒性試験

スピロテトラマト原体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V79細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験及びHGPRT遺伝子突然変異試験、ラットを用いた *in vivo* 不定期DNA合成(UDS)試験、マウスを用いた小核試験及び *in vivo* 染色体異常試験が実施された。結果は表33に示されている。*in vitro* 染色体異常試験の弱陽性の結果には再現性が認められず、スピロテトラマトに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 53~60)

表 33 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
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験①	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537株)	16~5,000 µg/7 [°] レト (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験②	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537株)	16~5,000 µg/7 [°] レト (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験①	チャイニーズハムスター V79細胞	①10~50 µg/mL (-S9) 20~80 µg/mL (+S9) ②12~48 µg/mL (-S9)	弱陽性
	染色体異常試験② (再試験)	チャイニーズハムスター V79細胞	70 µg/mL (-S9) 120 µg/mL (+S9)	陰性
	HGPRT 遺伝子突然 変異試験	チャイニーズハムスター V79細胞	①2.5~80 µg/mL (-S9) ②20~70 µg/mL (-S9) ③20~140 µg/mL (+S9) ③92~140 µg/mL (+S9)	陰性
<i>in vivo</i>	UDS試験	Wistarラット(肝細胞) (一群雄4匹)	1,000、2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性
	小核試験	NMRIマウス(骨髄細胞) (一群雄5匹)	125、250、500 mg/kg 体重 (2回腹腔内投与)	陰性
	染色体異常 試験	NMRIマウス(骨髄細胞) (一群雄5匹)	125、250、500 mg/kg 体重 (2回腹腔内投与)	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下

スピロテトラマトの代謝物 M5、M6、M7 及び M8 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 34 に示されており、いずれも陰性であったので、これらに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 61~64)

表 34 遺伝毒性試験結果概要（代謝物）

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
代謝物 M5	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102 TA1535、TA1537 株)	16~5,000 µg/7 ^レ ト (+/-S9)	陰性
代謝物 M6				陰性
代謝物 M7				陰性
代謝物 M8				陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

15. その他の試験

(1) 雄ラットを用いた連続経口投与による繁殖毒性の評価

Wistar ラット（一群雄 8 匹）にスピロテトラマトを、3、10、21 及び 41 日間強制経口（原体：0 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%MC 水溶液）投与して、繁殖毒性の評価が実施された。各投与期間終了後、順次全動物をと殺し、前立腺、精巣及び精巣上体の重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。また、精巣上体から精子を採取し、精子数の計測及び形態観察を実施した。

本試験において、一般状態の変化として体重増加抑制が認められた。精子検査では、21 及び最終日に異常精子の増加が認められ、最終日には精子数の減少も認められた。また、最終日には精巣及び精巣上体の絶対及び比重量減少が認められた。病理組織学的検査では、21 及び最終日に精巣に円形精子細胞変性、伸長精子細胞変性/消失、精巣上体に内腔異常細胞の増加が認められた。最終日にはさらに精巣にセルトリ細胞の空胞化、精巣上体に精子数減少が認められた。（参照 65）

(2) 雄ラットを用いた代謝物 M1 の連続経口投与による繁殖毒性の評価

Wistar ラット（一群雄 5 匹）に代謝物 M1 を 21 日間強制経口（原体：0 及び 800 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%MC 水溶液）投与して、繁殖毒性の評価が実施された。

試料として、投与期間終了後、肝臓、精巣及び精巣上体の重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。また、精巣上体から精子を採取し、精子数の計測及び形態観察を実施した。

本試験において、一般状態の変化として体重増加抑制が認められた。病理組織学的検査では、精巣に伸張精子細胞変性ととも脱落した精細胞、精巣上体では、精巣での変化と関連して脱落した精細胞が認められた。また、精子検査では、形態的に異常な精子の発生率が増加した。（参照 66）

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「スピロテトラマト」の食品健康影響評価を実施した。

ラットにおける動物体内運命試験の結果、スピロテトラマトは約 90%TAR が尿中から排泄された。体内では腎臓、肝臓等で比較的高い分布が認められた。畜産動物（ヤギ及びニワトリ）を用いた動物体内運命試験の結果、ラットに類似した傾向が認められた。

りんご、レタス、ばれいしょ及びわたにおける植物体内運命試験の結果、スピロテトラマトの残留性は低く、可食部への移行性は低いと考えられた。植物体内でスピロテトラマトは広範に代謝され、りんごでは M7、レタスでは M1 及び M1 グルコシド、ばれいしょでは M1、わたでは M1 及び M5 が 10%TRR 以上認められた。また、スピロテトラマトを分析対象化合物としたブロッコリー、カリフラワー、キャベツ、からしな等における作物残留試験が実施されており、スピロテトラマト及び代謝物の合計の最高値は、処理 8 日後に収穫したホップの 5.49 mg/kg であった。

各種毒性試験結果から、スピロテトラマト投与による影響は主に肝臓、腎臓、肺及び精巣に認められた。神経毒性、発がん性、繁殖能に対する影響及び遺伝毒性は認められなかった。発生毒性試験において、ラットでは骨格変異が認められたが、奇形の増加は認められなかった。ウサギでは、奇形または変異の発生は認められなかった。これらのことから、スピロテトラマトに催奇形性はないと考えられた。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をスピロテトラマト（親化合物）、代謝物 M1、M5、M7 及び M1 グルコシドと設定した。

各試験における無毒性量等は表 35 に示されている。