

しよ、キャベツ、レタス、非結球レタス、トマト、ミニトマト、ピーマン、なす、きゅうり、いちご、かんきつ、りんご、なす、もも、ネクタリン、ぶどう、かき及び茶)に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定のもとに行った。

表 16 食品中から摂取されるピリフルキナゾン及び代謝物 B の推定摂取量

	国民平均 (体重:53.3 kg)	小児 (1~6 歳) (体重:15.8 kg)	妊婦 (体重:55.6 kg)	高齢者 (65 歳以上) (体重:54.2 kg)
摂取量 (µg/人/日)	91	46	92	92

7. 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 17 に示されている。(参照 14)

表 17 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与方法)	最大 無作用量 (mg/kg 体重)	最小 作用量 (mg/kg 体重)	概要
中枢神経系	一般状態 (FOB)	Fischer ラット	0.5、50、500 (経口)	5	50	50 mg/kg 体重以上投与群で立毛、移動性低下、筋緊張度低下 500 mg/kg 体重投与群で姿勢異常、呼吸異常、動物の取り出し及び扱いが容易、眼瞼下垂、流涙、流涎、体温低下、歩行失調、爪先立ち歩行または歩行不能、覚醒状態低下、反射・反応性低下または消失、握力低下、散瞳、尿失禁及び血色不良 500 mg/kg 体重投与群で 2 例死亡
						自発運動量
	ヘキサフルオロ誘発睡眠	ICR マウス		雌 8	5	50
循環器系	血圧、心拍数	Fischer ラット	雌 5	50	500	心拍数及び収縮期血圧低下
腎機能	尿量、尿中電解質排泄量、浸透圧	Fischer ラット	雌 5	500	—	影響なし

注) 検体はすべて 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して用いられた。 — : 最小作用量が設定できない。

8. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験

ピリフルキナゾン（原体）を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 18 に示されている。（参照 15～17）

表 18 急性毒性試験結果概要（原体）

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	Fischer ラット 雌 3 匹	/		瀕死、伏臥、横臥、うずくまり姿勢、自発運動低下、自発運動消失、歩行異常、呼吸数低下、体温低下、立毛、流涙、尿失禁、被毛汚染 300 mg/kg 体重以上で死亡例
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)		平伏位、腹・横臥位、円背位、低体温、立毛、血様流涙、眼周囲の赤色の汚れ、眼瞼下垂、眼の暗調化、努力呼吸、緩徐呼吸、削瘦、嗜眠、蒼白、協調運動失調、間代性痙攣、褐色または黄色の被毛汚染 1.2 mg/L 以上で死亡例
		1.2~1.4	1.2~1.4	

代謝物 K 及び原体混在物 AQW 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 18、19）

表 19 急性毒性試験結果概要（代謝物及び原体混在物）

被験物質	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	観察された症状
			雌	
K	経口	SD ラット 雌 3 匹	>2,000	症状及び死亡例なし
AQW	経口	SD ラット 雌 3 匹	300~ 2,000	よろめき歩行、腹臥、横臥、呼吸数減少、体重減少 (2,000 mg/kg 体重投与群) 2,000 mg/kg 体重で死亡例

(2) 急性神経毒性試験

SD ラット（一群雌雄各 5 または 10 匹）を用いた単回強制経口（原体：0、30、100、300、500 mg/kg 体重、溶媒：CMC-Na 水溶液）投与による急性神経毒性試

験が実施された。

300 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で切迫と殺例が発生した。これらの死亡発現用量では、機能観察総合評価 (FOB) による検査で顕著な変化、自発運動量低下、体重及び摂餌量減少が認められた。これらの変化は切迫と殺が認められなかった 100 mg/kg 体重以下の投与群では観察されなかった。

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 20)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

日本白色種ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。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 (Maximization 法) を用いた皮膚感作性試験が実施された結果、軽度の皮膚感作性が認められた。(参照 21~23)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、100、500 及び 2,500 ppm : 平均検体摂取量は表 20 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 20 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	100 ppm	500 ppm	2,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.89	5.74	29.3	155
	雌	3.21	6.44	33.0	159

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雄で網状赤血球増加、雌で T.Chol 増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm (雄 : 5.74 mg/kg 体重/日、雌 : 6.44 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 24)

(甲状腺の重量増加及びろ胞上皮細胞肥大の発生機序に関しては[14. (2)]を、生殖器系に認められた毒性変化の発生機序に関しては[14. (4)]を参照)

表 21 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
2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・両側性赤色眼脂 ・自発運動量増加 ・体重増加抑制、摂餌量低下 ・Ht、Hb、MCV、MCH、MCHC、WBC 及び Lym 減少 ・ALP、AST 及び GGT 増加、T.Chol、TG、カルシウム、ナトリウム及びクロール減少 ・尿蛋白増加 ・下垂体、甲状腺、副腎、心及び脾絶対及び比重量¹増加 ・腎絶対重量及び肺比重量増加 ・精巢上体絶対及び比重量減少 ・肝小葉像明瞭化、甲状腺肥大 ・小葉中心性肝細胞肥大、小葉周辺性肝細胞脂肪化及び胆管過形成 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大及びろ胞数増加 ・尿細管好塩基性化 ・膵単細胞性外分泌細胞壊死及び外分泌細胞チモーゲン顆粒減少 ・下垂体前葉好塩基性細胞肥大 ・副腎皮質束状帯細胞肥大 ・脾髄外造血亢進 ・精細管萎縮、精巢上体管腔内変性細胞増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・両側性赤色眼脂 ・自発運動量減少、前肢握力低値 ・体重増加抑制、摂餌量低下 ・Ht、Hb、RBC、MCH 及び MCHC 減少 ・網状赤血球数増加 ・AST、ALT、GGT 及び T.Bil 増加、TP、Alb、カルシウム、ナトリウム及びクロール減少 ・尿蛋白、Bil 及び尿量増加 ・甲状腺、心及び腎絶対及び比重量増加 ・肺及び脾比重量増加 ・下垂体、副腎、胸腺、卵巣及び子宮絶対及び比重量減少 ・甲状腺肥大 ・小葉中心性肝細胞肥大、単細胞性肝細胞壊死、小葉周辺性肝細胞脂肪化及び胆管過形成 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大及びろ胞数増加 ・尿細管好塩基性化及び糸球体メサンギウム肥厚 ・膵単細胞性外分泌細胞壊死 ・下垂体前葉好塩基性細胞肥大 ・副腎皮質束状帯細胞肥大 ・眼球網膜萎縮 ・脾うっ血、充血及び髄外造血亢進 ・卵巣及び子宮萎縮、膣粘液貯留上皮細胞増加
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・網状赤血球数増加 ・肝絶対及び比重量、腎比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・T.Chol 増加 ・肝絶対及び比重量増加
100 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

(2) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、60、750 及び 1,500 ppm : 平均検体摂取量は表 22 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 22 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		60 ppm	750 ppm	1,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.58	102	206
	雌	9.13	119	202

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

本試験において、750 ppm 以上投与群の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 60 ppm (雄: 7.58 mg/kg 体重/日、雌: 9.13 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 25)

(生殖器系に認められた毒性変化の発生機序に関しては[14. (4)]を参照)

表 23 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
1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht、Hb、RBC 及び Eos 減少、網状赤血球数増加 ・ ALP、GGT 及び T.Bil 増加、Glu 減少 ・ 脾及び副腎絶対及び比重量増加 ・ 限局性肝細胞壊死及び細胞浸潤 ・ 副腎び慢性皮質空胞化及び被膜下細胞過形成 ・ 脾うっ血及び髓外造血亢進 ・ 精巣間細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 摂餌量低下 ・ RBC 減少 ・ AST、ALT、GGT、T.Bil 及び無機リン増加、Glu 及び TG 減少 ・ 甲状腺及び脾絶対及び比重量増加 ・ 限局性肝細胞壊死及び細胞浸潤 ・ 卵巣萎縮
750 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ WBC 及び Lym 減少 ・ AST 及び ALT 増加、TP、Alb、Glob 及びカルシウム減少 ・ 肝及び甲状腺絶対及び比重量増加、精巣上体絶対及び比重量減少 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Ht 及び Hb 減少 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 ・ 甲状腺ろ胞上皮細胞肥大
60 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)

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、5及び30 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24に示されている。

本試験において、5 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26)

表24 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
30 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ALT 増加、Alb、A/G 比及びカルシウム減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・び慢性肝細胞肥大 [・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大、前立腺萎縮] 	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 及び ALT 増加、Alb 及び A/G 比減少 ・肝絶対及び比重量増加 [・甲状腺絶対及び比重量増加傾向] ・び慢性肝細胞肥大
5 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加 	[・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大]
2 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

[]: 有意差が認められなかった所見

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、1.5、5及び15 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26に示されている。

本試験において、1.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で鼻腔嗅部単核細胞浸潤等が認められたので、無毒性量は雌雄とも1.5 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。(参照28)

(鼻腔病変の発生機序に関しては[14. (3)]を参照)

表26 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
15 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加 ・甲状腺及び肝臓比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加 ・小葉中心性肝細胞肥大
5 mg/kg 体重/日		
1.5 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・鼻腔嗅部単核細胞浸潤 	<ul style="list-style-type: none"> ・鼻腔嗅部単核細胞浸潤

(2) 1年間慢性毒性試験及び6カ月間回復試験（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、0.15、0.5及び5 mg/kg 体重/日）投与による1年間慢性毒性試験及び6カ月間回復試験が実施された。なお、本試験はイヌを用いた1年間慢性毒性試験[11. (1)]で認められた鼻腔病変の再現性を確認するとともに、その変化の免疫学的意義[14. (3)]を検討するために実施された。

5 mg/kg 体重/日投与群の雄で軽度（2例）、雌で中等度（1例）の鼻腔嗅部単核細胞浸潤が認められた。この変化は、6カ月間の休薬期間を設けることにより、いずれの個体においても同様の鼻腔病変は観察されなかったことから、本病変が可逆性である可能性が高いことが示唆された。

本試験において、5 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で鼻腔嗅部単核細胞浸潤が認められたので、無毒性量は雌雄とも0.5 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照54）（鼻腔病変の発生機序に関しては[14. (3)]を参照）

(3) 1年間慢性毒性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各20匹）を用いた混餌（原体：0、100、350及び1,300 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		100 ppm	350 ppm	1,300 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.08	14.4	56.5
	雌	4.97	18.0	65.6

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、350 ppm 以上投与群の雄でMCV及びMCH減少等が、雌で腎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100 ppm（雄：4.08 mg/kg 体重/日、雌：4.97 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照27）

（甲状腺の重量増加及びろ胞上皮細胞肥大の発生機序に関しては[14. (2)]を、生殖器系に認められた毒性変化の発生機序に関しては[14. (4)]を参照）

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
1,300 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・Ht 及び Hb 減少、網状赤血球数増加 ・T.Chol 及びクロール減少 ・尿量及び尿中蛋白質増加 ・心絶対及び比重量増加 ・肝、腎及び副腎絶対重量増加 ・脳絶対重量減少、精巣上体比重量減少 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・精細管萎縮、間細胞過形成、精巣上体管腔内変性細胞増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・立ち上がり姿勢増加 ・前肢及び後肢握力低下 ・食餌効率低下 ・MCV、MCH 減少、網状赤血球数増加 ・GGT 増加、TG 及びカルシウム減少 ・甲状腺、肝絶対及び比重量増加、心絶対重量増加、脾比重量増加、 ・子宮絶対及び比重量減少、脳絶対重量減少 ・小葉周辺性肝細胞脂肪化、単細胞性肝細胞壊死、小葉中心性肝細胞肥大及び胆管過形成 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・脾臓間質增生 ・副腎皮質束状帯細胞肥大 ・眼球網膜萎縮
350 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・MCV 及び MCH 減少、骨髓有核細胞数増加 ・TG 減少 ・肝及び腎比重量増加 ・水腫性変化を伴う下垂体前葉好塩基性細胞増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・クロール減少 ・腎絶対及び比重量増加、心比重量増加
100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 2年間発がん性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0、100、350 及び 1,300 ppm：平均検体摂取量は表 27 参照）投与による 2 年間発がん性試験が実施された。

表 27 2年間発がん性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	350 ppm	1,300 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.53	12.5	48.5
	雌	4.51	16.4	60.2

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 28 に、精巣間細胞腫の発生頻度は表 29 に示されている。

腫瘍性病変として、350 ppm 以上投与群の雄において、精巣間細胞腫の増加（350 ppm：49/50、1,300 ppm：47/49）が認められた。

本試験において、350 ppm 以上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 100 ppm (雄 : 3.53 mg/kg 体重/日、雌 : 4.51 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 29)

(生殖器系に認められた毒性変化の発生機序に関しては[14. (4)]を参照)

表 28 2年間発がん性試験(ラット)で認められた毒性所見(非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
1,300 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 眼球混濁 ・ Lym 減少 ・ 腎絶対及び比重量増加、肝絶対重量増加、心及び副腎比重量増加 ・ 眼球白濁、精巣上体軟化 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 ・ 慢性腎症 ・ 甲状腺小型ろ胞増加及びろ胞上皮細胞肥大 ・ 副腎束状帯及び網状帯細胞肥大 ・ 網膜萎縮 ・ 下腿筋横紋筋線維萎縮 ・ 鼻腔鼻炎 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 眼球混濁 ・ 肝、腎、心及び甲状腺比重量増加 ・ 眼球白濁、子宮腔拡張 ・ 小葉中心性肝細胞肥大及びび慢性肝細胞脂肪化 ・ 慢性腎症 ・ 甲状腺小型小胞増加及び小胞上皮細胞肥大 ・ 副腎束状帯及び網状帯細胞肥大 ・ 白内障 ・ 膝外分泌細胞空胞化、脂肪浸潤、限局性外分泌細胞萎縮及び変異細胞巢 ・ 卵巣及び乳腺萎縮 ・ 子宮角内膜腺過形成、子宮頸部腺腔拡張
350 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制、摂餌量減少 ・ 肝及び腎比重量増加、精巣上体絶対及び比重量減少 ・ 精巣腫瘍 ・ 白内障 ・ 精巣、精巣上体、凝固腺及び前立腺萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制、摂餌量減少 ・ 胆管過形成 ・ 尿細管好塩基性化 ・ 網膜萎縮 ・ 膝チモーゲン顆粒減少 ・ 子宮角内膜腺腔拡張
100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

表 29 精巣における腫瘍性病変の発生頻度

投与群 (ppm)	0	100	350	1,300
検査動物数	50	50	50	49
精巣間細胞腫	41	38	49*	47**

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

(5) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 52 匹) を用いた混餌 (原体:0、60、250 及び 1,000 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		60 ppm	250 ppm	1,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.25	27.1	122
	雌	5.82	25.0	120

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 31 に、精巣間細胞腫の発生頻度は表 32 に示されている。

腫瘍性病変として、1,000 ppm 投与群の雄において、精巣間細胞腫の増加 (12/52) が認められた。

本試験において、250 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制等、雌で子宮角内膜過形成が認められたので、無毒性量は雌雄とも 60 ppm (雄:6.25 mg/kg 体重/日、雌:5.82 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 30)

(生殖器系に認められた毒性変化の発生機序に関しては[14. (4)]を参照)

表 31 18 カ月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
1,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・腹部膨満、被毛湿潤 ・肝比重量増加、精巣上体絶対重量減少 ・精巣斑/点及び腫瘤 ・腹部及び外陰部被毛汚染 ・腎盂拡張 ・小葉中心性肝細胞肥大、単細胞性肝細胞壊死及び限局性肝細胞壊死 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・鼻腔呼吸上皮細胞質内好酸性小体及び嗅上皮細胞質内好酸性小体増加 ・精巣間細胞過形成及び精細管萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・被毛脱毛、触毛脱毛 ・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加、甲状腺及び腎比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大及び単細胞性肝細胞壊死 ・甲状腺ろ胞上皮細胞肥大 ・鼻腔呼吸上皮細胞質内好酸性小体増加 ・膝び慢性外分泌細胞萎縮 ・乳腺腺上皮過形成
250 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・触毛脱毛 ・体重増加抑制 ・副腎被膜下細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・子宮角内膜過形成
60 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

表 32 精巣における腫瘍性病変の発生頻度

投与群 (ppm)	0	60	250	1,000
検査動物数	51	52	52	52
精巣間細胞腫	0	0	0	12*

Fisher の直接確率計算法、* : P<0.01

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、30、150 及び 750 ppm : 平均検体摂取量は表 33 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 33 2 世代繁殖試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	150 ppm	750 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	1.79	8.94	45.5
		雌	2.72	13.8	67.2
	F ₁ 世代	雄	1.94	9.66	48.8
		雌	2.77	14.1	69.0

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 34 に示されている。

本試験において、一般毒性に関して、親動物では、750 ppm 投与群の P 雌雄で小葉中心性肝細胞肥大等、150 ppm 以上投与群の F₁ 雌で甲状腺絶対及び比重量増加等が、児動物では、750 ppm 投与群の F₁ 児動物及び 150 ppm 以上投与群の F₂ 児動物で低体重等が認められたので、無毒性量は、親動物の雄で 150 ppm (P 雄 : 8.94 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 9.66 mg/kg 体重/日)、雌で 30 ppm (P 雌 : 2.72 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 2.77 mg/kg 体重/日)、児動物で 30 ppm (P 雄 : 1.79 mg/kg 体重/日、P 雌 : 2.72 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 1.94 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 2.77 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

繁殖能に関して、親動物では、750 ppm 投与群の雄で包皮分離遅延及び正常形態精子出現率低下が、雌で妊娠期間延長が認められたので、無毒性量は、雌雄とも 150 ppm (P 雄 : 8.94 mg/kg 体重/日、P 雌 : 13.8 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 9.66 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 14.1 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 31)

(生殖器系に認められた毒性変化の発生機序に関しては[14. (4) 及び(5)]を参照)

表 34 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	750 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・正常形態精子出現率低下 ・精巣絶対及び比重量増加 ・肝及び腎及び甲状腺比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡（2例） ・体重増加抑制、低体重及び摂餌量減少 ・妊娠期間延長 ・肝及び甲状腺絶対及び比重量増加 ・腎及び下垂体比重量増加 ・肝暗調化 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・甲状腺小胞上皮細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡（2例） ・包皮分離遅延 ・正常形態精子出現率低下 ・副腎及び精巣比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡（1例） ・体重増加抑制、低体重及び摂餌量減少 ・妊娠期間延長 ・肝及び子宮絶対及び比重量増加、副腎比重量増加 ・腎盂拡張 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・甲状腺小胞上皮細胞肥大
	150 ppm 以上	150 ppm 以下 毒性所見なし	150 ppm 以下 毒性所見なし	150 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・腎*及び甲状腺絶対及び比重量増加
	30 ppm				毒性所見なし
児動物	750 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・乳頭残遺及び尿道下裂 ・産児数低下 ・低体重 ・肛門生殖突起間距離減少 ・脳、胸腺及び脾絶対重量減少 		<ul style="list-style-type: none"> ・乳頭残遺 ・産児数低下 ・肛門生殖突起間距離減少 ・脳及び胸腺絶対重量減少 	
	150 ppm 以上	150 ppm 以下 毒性所見なし		<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 	
	30 ppm			毒性所見なし	

*：腎絶対重量増加は 150 ppm 投与群のみの所見

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体: 0、5、10 及び 50 mg/kg 体重/日、1% CMC 水溶液に懸濁) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、50 mg/kg 体重/日投与群で、低体重、体重増加抑制、摂餌量減少及び妊娠子宮重量低値が認められた。

胎児では、50 mg/kg 体重/日投与群で、胎児体重及び胎盤重量の低値、腰仙移行椎高値が認められ、10 mg/kg 体重/日以上投与群で、雄胎児の肛門生殖突起間距離の有意な短縮が認められた他、過剰肋骨から成る骨格変異の出現頻度の出現率の高値が認められた。

本試験における無毒性量は、母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 5 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 32)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~27 日に強制経口 (原体: 0、5、10 及び 20 mg/kg 体重/日、1% CMC 水溶液に懸濁) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物及び胎児で投与の影響は認められなかった。

ただし、用量設定試験において、100 mg/kg 体重/日投与群の母動物で、体重及び摂餌量の著しい減少ならびに死亡及び流産が、50 mg/kg 体重/日投与群で、体重及び摂餌量減少ならびに流産が、20 mg/kg 体重/日で、妊娠 21 日以降の体重増加抑制が認められた。したがって、生存胎児が十分得られることが予想される 20 mg/kg 体重/日が、最高用量として選択された。

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 20 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 33)

1.3. 遺伝毒性試験

ピリフルキナゾン (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卵巣 (CHO) 由来培養細胞を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験が実施された。結果は表 35 に示されており、*in vivo* 試験では、細菌を用いた復帰変異試験ではいずれの菌株も陰性であったが、CHO 細胞を用いた染色体異常試験で陽性を示した。しかし、この陽性は染色体構造異常ではなく、数的異常の誘発によるものであった。また、*in vivo* 小核試験でも陰性であった。これらを総合して考えると、ピリフルキナゾン (原体) の DNA への影響は考えにくく、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 34~36)

表 35 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>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2P <i>uvrA</i> 株)	15.4~1,250 µg/プレート (+/-S9) ¹⁾	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 由来培養細胞	① 20~80 µg/mL (-S9) 100~115 µg/mL (+S9) (6 時間処理) ② 9.8~80 µg/mL (-S9) (22 及び 44 時間処理) : 20~80 µg/mL (-S9)	陽性 ²⁾
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雌雄 5 匹)	0、125、250、500 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

¹⁾ 代謝活性化系存在下及び非存在下でいずれの菌株を用いた場合も 417 µg/プレート以上で析出。TA1537 株では 417 µg/プレート以上、他の菌株では 2,150 µg/プレートで生育阻害が認められた。

²⁾ 染色体構造異常は示さないが、数的異常の誘発が認められた。

原体混在物 (BR、AQW、RFPDQ、AQR、RFPAQ、AQA 及び QUA) 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 36 に示されているとおりすべて陰性であった。(参照 37~43)

表 36 遺伝毒性試験概要 (原体混在物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
BR	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2P <i>uvrA</i> 株)	9.77~1,250 µg/プレート (+/-S9) ¹⁾	陰性
AQW			39.1~5,000 µg/プレート (+/-S9) ²⁾	陰性
RFPDQ			78.1~1,250 µg/プレート (+/-S9) ³⁾	陰性
AQR			1.22~1,250 µg/プレート (-S9) ⁴⁾	陰性
RFPAQ			2.44~5,000 µg/プレート (+/-S9) ⁵⁾	陰性
AQA			2.44~1,250 µg/プレート (+/-S9) ⁶⁾	陰性
QUA			9.77~5,000 µg/プレート (+/-S9) ⁷⁾	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

¹⁾ 菌株によっては、+/-S9 の 313 µg/プレート以上で生育阻害が観察されるものがあった。

²⁾ 菌株によっては、+/-S9 の 625 µg/プレート以上で生育阻害を示すものがあった。さらに 1,250 µg/プレートで結晶析出も観察された。

³⁾ +/-S9 の 625 µg/プレートで結晶析出が観察された。

⁴⁾ 菌株によっては、-S9 の 78.1 µg/プレート以上で、+S9 の 313 µg/プレート以上で生育阻害を示すものがあった。

⁵⁾ 菌株によっては、-S9 の 78.1 µg/プレート以上で、+S9 の 313 µg/プレート以上で生育阻害を示すものがあった。さらに、-S9 の 313 µg/プレート以上で、+S9 の 2,500 µg/プレートで結晶析出が観察された。

⁶⁾ 菌株によっては、-S9 の 625 µg/プレート以上で、+S9 の 78.1 µg/プレート以上で生育阻害を示すものがあった。さらに、1,250 µg/プレートで結晶析出も観察された。

⁷⁾ 菌株によっては、-S9 の 1,250 µg/プレートで、+S9 の 156 µg/プレート以上で生育阻害を示した。さらに、-S9 の 1,250 µg/プレートで結晶析出も観察された。

1.4. その他の試験

(1) 肝薬物代謝能への影響に関する試験

ピリフルキナゾンによるマウスを用いたヘキソバルビタール誘発睡眠時間への影響試験[7.]の結果、睡眠時間延長が認められたことから、ピリフルキナゾン及び代謝物Bの肝薬物代謝酵素に対する影響及びヘキソバルビタール代謝への影響が検討された。

ピリフルキナゾン及び代謝物BはEROD活性を阻害し、さらにマウスのヘキソバルビタール誘発睡眠時間への影響試験に準じた投与条件で、マウス肝におけるヘキソバルビタール代謝を低下させた。以上の結果から、睡眠時間延長作用は、肝薬物代謝酵素阻害に基づいたものであることが示唆された。(参照 44)

(2) ラットの甲状腺系ホルモン及び肝 UDPGT に対する検討

ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験[10. (1)]及び 1 年間慢性毒性試験[11. (3)]において甲状腺の重量増加及びろ胞上皮細胞肥大が認められた。その原因を検討するため、血清中甲状腺ホルモン濃度、それに影響を及ぼす要因である血清 TSH 濃度及び肝 UDPGT 活性に対するピリフルキナゾンの影響について、Fischer ラット (一群雄各 5 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、100、350 及び 1,300 ppm : 平均検体摂取量は表 37 参照) 投与により試験が実施された。

表 37 甲状腺系ホルモン及び肝 UDPGT に対する検討試験の平均検体摂取量

投与群	100 ppm	350 ppm	1,300 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	9.22	31.87	116.48

各投与群で認められた毒性所見は表 38 に示されている。

甲状腺に対するホルモン刺激及び甲状腺ホルモンの代謝亢進が示唆された。したがって、ピリフルキナゾンの甲状腺に対する一連の影響は、肝の UDPGT 誘導に伴う甲状腺ホルモンの代謝亢進とそれに伴うフィードバック機構の働きで、甲状腺が刺激されたことによると考えられた。(参照 45)

表 38 甲状腺系ホルモン及び肝 UDPGT に対する検討試験で認められた関連所見

投与群	雄
1,300 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝及び甲状腺比重量増加、[肝及び甲状腺絶対重量増加傾向] [・ 小葉中心性肝細胞肥大及び甲状腺小胞上皮細胞肥大] ・ UDPGT 活性上昇 ・ T₃減少 (投与 7 日後)、T₄増加 [・ TSH 増加傾向 (投与 14 日後、対照群対比 153%)]
350 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ T₃増加 (投与 14 日後)
100 ppm	毒性所見なし

[]: 有意差が認められなかった所見

(3) イヌ末梢血及びリンパ節を用いた免疫学的試験

イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験[11. (1)]ならびに 1 年間慢性毒性試験及び 6 カ月間回復試験[11. (2)]において鼻腔病変が認められたため、その発現機序を解明するために免疫学的試験が実施された。

末梢血リンパ球サブセット解析、血漿免疫グロブリン検査及びリンパ節のリンパ球サブセット解析のいずれにおいても、ピリフルキナゾンの免疫学的影響は認められなかった。(参照 55)

(4) 生殖器に観察された毒性変化に対する発生機序に関する試験

① アンドロゲン受容体 (AR) に対する影響 (レポーター遺伝子アッセイ)

ラット及びマウス雄の生殖器系に認められた毒性変化が抗アンドロゲン作用により生じた可能性が考えられたので、ピリフルキナゾン及び主要代謝物 (B、C、O 及び V) (被験物質濃度: 0.03~100 µM) についてジヒドロテストステロンの存在または非存在下でレポーター遺伝子アッセイにより AR に対する影響の有無が検討された。

ピリフルキナゾンと代謝物 B は 10~100 µM で用量相関的にジヒドロテストステ

ロン誘発性のレポーター遺伝活性を抑制し、高濃度で AR とジヒドロテストステロンの結合を拮抗的に抑制することが明らかになった。他の代謝物は高濃度において軽度のアゴニスト活性を示した。(参照 46)

② Hershberger 試験による抗アンドロゲン作用の検討

ラット及びマウス雄の生殖器系に認められた毒性変化が抗アンドロゲン作用により生じた可能性が考えられたので、精巣を摘出した SD ラット (一群雄各 6 匹) にプロピオン酸テストステロンまたはジヒドロテストステロンを外因性に与えながら被験物質 (0、50、100 及び 200 mg/kg 体重/日、溶媒: コーン油) を強制経口投与する Hershberger 試験が実施された。対照薬として 5 α -還元酵素阻害物質のフィナステリドと AR のアンタゴニストであるフルタミドを被験物質の代わりに用いた。

ピリフルキナゾン 100 mg/kg 体重/日以上投与群では、去勢ラットのプロピオン酸テストステロンまたはジヒドロテストステロンによる副生殖器の重量増加作用を、20~80%の回復に留めた。この回復抑制作用はプロピオン酸テストステロンによる方がジヒドロテストステロンによる場合より大きかった。フィナステリドはプロピオン酸テストステロンによる回復作用を 40~90%に留めたが、ジヒドロテストステロンの回復作用について、低濃度では全く示さず、高濃度でかえって増強した。フルタミドはプロピオン酸テストステロンの回復作用は阻害したが、ジヒドロテストステロンの回復作用は部分的にしか阻害しなかった。これらの結果からピリフルキナゾンは AR とテストステロンの阻害を通じて作用し、一部テストステロンからジヒドロテストステロンに 5 α -還元酵素による変換過程にも影響すると考えられた。

ピリフルキナゾンのラット 2 世代繁殖試験[12. (1)]で認められた包皮分離遅延、肛門生殖突起間距離減少等、ラット及びマウスの各種毒性試験[10. (1)~(2)、11. (3)~(5)]で精巣に認められた精細管萎縮、間細胞過形成及び間細胞腫の増加等の毒性変化は、AR を介する抗アンドロゲン作用によるものと考えられた。また、2 世代繁殖試験で認められた尿道下裂は 5 α -還元酵素阻害剤により生じることが知られていることから、本剤には同酵素の阻害作用もあると考えられた。(参照 47)

(5 α -還元酵素に対する阻害作用に関しては[14. (6)]を参照)

③ 5 α -還元酵素活性に対する阻害作用に関する試験

Hershberger 試験による抗アンドロゲン作用の検討[14. (5)]において 5 α -還元酵素活性に対する阻害作用が示唆されたことから、ピリフルキナゾン及び主要代謝物 (B、C、O 及び V) (被験物質濃度: 10 及び 100 μ M) について、前立腺ミクロソーム中の 5 α -還元酵素活性に対する阻害作用が *in vitro* で検討された。

ピリフルキナゾンには明らかな 5 α -還元酵素阻害作用は認められなかったが、代謝物 B は非拮抗的に 5 α -還元酵素を阻害 (IC₅₀ = 5.7 μ M) することが明らかとなった。標的臓器または組織中で、5 α -還元酵素の阻害に働き得る蛋白非結合型の代謝物 B の濃度は不明であるが、5 α -還元酵素阻害が何らかの関与をする可能性が示唆

された。(参照 56)

④ AR 結合試験

ピリフルキナゾン及び主要代謝物 (B、C、O 及び V) が AR に対するアンドロゲンの結合に対し、影響を与える可能性を検討するために、AR 結合試験が実施された。

ピリフルキナゾン及び代謝物 B が高濃度 (30 μ M 以上) でアンドロゲンの結合を部分的に阻害することが明らかとなった。しかし、その作用は極めて弱く、生体内において影響する可能性は低いと考えられた。(参照 57)

⑤ AR への影響 (Hershberger 試験系) に関する検討

ピリフルキナゾンの抗アンドロゲン作用の機序として、AR の発現量に対する影響を検討するため、ピリフルキナゾンの抗アンドロゲン作用が確認されている Hershberger 試験条件下で、前立腺における AR 蛋白に対する本剤投与の影響が検討された。

試験は精巣摘出 7 日後の SD ラット (一群雄各 4 匹) にプロピオン酸テストステロン (0.4 mg/kg 体重/日) を投与しながら、ピリフルキナゾン (200 mg/kg 体重/日)、対照薬としてフルタミド及びフィナステリド (いずれも 5 mg/kg 体重/日) を強制経口投与して実施された。

各検査項目で有意な変化が認められた結果は表 39 に示されている。

表 39 各検査項目で有意な変化が認められた結果

被験物質	ピリフルキナゾン	フルタミド	フィナステリド*
投与量 (mg/kg 体重/日)	200	5	5
臓器重量	前立腺 (腹葉)	↓*	↓*
	精囊凝固腺	↓*	↓*
	LABC**	↓*	影響なし
AR 蛋白量	↓*	↓*	低下傾向

* : $p \leq 0.01$ (Dunnett の多重比較法) ** : 肛門挙筋+球海綿体筋

以上の結果から、ピリフルキナゾンは Hershberger 試験条件下において、AR 量を減少させることが明らかとなり、これがピリフルキナゾンの抗アンドロゲン作用機序の一つであると考えられた。(参照 58)

⑥ ラット前立腺 AR への影響に関する検討

ピリフルキナゾンの抗アンドロゲン作用機構解析を目的として、AR の発現量に対する影響を検討するため、ラット前立腺における AR 蛋白発現ならびに AR をコードする RNA (ARmRNA) 量に対するピリフルキナゾン投与の影響について検討