

表 50 90 日間亜急性毒性試験（ラット、ラセミ体）②の毒性所見

投与群	雄	雌
9,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・AST、LDH、尿酸減少</li> <li>・腎絶対重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・RBC、Hb、Ht 減少</li> <li>・TG 減少、BUN 増加</li> <li>・腎絶対重量増加</li> </ul>
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・Hb 減少</li> <li>・ALT、ALP、TG 減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・MCHC 減少、PT 短縮</li> <li>・T.Chol 増加</li> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・腎比重量増加</li> </ul>
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・MCH、MCHC 減少</li> <li>・カルシウム減少</li> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・腎比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・尿酸減少</li> </ul>
300 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 90 日間亜急性毒性試験（ラット、S-メトラクロール）①

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、30、300、3,000 及び 10,000 ppm：平均検体摂取量は表 51 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 投与群では、回復群（一群雌雄各 5 匹）を設定し、投与後に 28 日間の回復期間を置いた。

表 51 90 日間亜急性毒性試験（ラット、S-メトラクロール）①の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	3,000 ppm	10,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.9	18.5	188	625
	雌	2.3	24.0	238	764

死亡例はなかった。各投与群で認められた毒性所見は表 52 に示されている。回復期間終了時に、10,000 ppm 投与群の雌で腎比重量増加が認められた以外、表 54 に示されている所見は、回復期間終了時には対照群と同程度であった。

本試験において、3,000 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 300 ppm（雄：18.5 mg/kg 体重/日、雌：24.0 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 78）

表 52 90 日間亜急性毒性試験（ラット、S-メトラクロール）①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・MCH 減少</li> <li>・BUN、Cre、GGT 増加、T.Bil 減少</li> <li>・肝細胞質内好酸性封入体</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・WBC 減少</li> <li>・GGT 増加</li> </ul>
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制、摂餌量減少</li> <li>・MCV 減少</li> <li>・TP 増加、A/G 比減少</li> <li>・腎絶対及び比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制、摂餌量減少</li> <li>・MCH、MCV 減少</li> <li>・TP 増加、A/G 比、T.Bil 減少</li> <li>・肝及び腎比重量増加</li> </ul>
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 90 日間亜急性毒性試験（ラット、S-メトラクロール）②

SD ラット（一群雌雄各 10 匹、対照群のみ雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、30、300 及び 3,000 ppm：平均検体摂取量は表 53 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 53 90 日間亜急性毒性試験（ラット、S-メトラクロール）②の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.90	20.4	208
	雌	2.13	23.9	236

各投与群で認められた毒性所見は表 54 に示されている。

対照群の雌 1 例に、運動失調、眼球蒼白、円背位及び自発運動低下が認められたため、切迫と殺した。この個体は、病理組織学的検査において悪性リンパ腫が認められた。

本試験において、3,000 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 300 ppm（雄：20.4 mg/kg 体重/日、雌：23.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 79）

表 54 90 日間亜急性毒性試験（ラット、S-メトラクロール）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・TP、Glob 増加、A/G 比減少</li> <li>・尿中白血球数増加</li> <li>・肝、腎及び脾比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制、飲水量増加</li> <li>・T.Bil 減少</li> <li>・肝比重量増加</li> </ul>
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(5) 90 日間亜急性毒性試験（イヌ、S-メトラクロール）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた混餌（原体：0、300、500、1,000 及び

2,000<sup>3</sup> ppm：平均検体摂取量は表 55 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 55 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) (ラセミ体) の平均検体摂取量

投与群		300 ppm	500 ppm	1,000 ppm	2,000 ppm/ 700 mg
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	9.0	15.1	31.1	62.0
	雌	10.0	17.2	31.5	74.0

各投与群で認められた毒性所見は表 56 に示されている。死亡例はなかった。

本試験において、1,000 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 500 ppm (雄：15.1 mg/kg 体重/日、雌：17.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 80)

表 56 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ、S-メトラクロール) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2,000 ppm/700 mg	・体重減少 ・流涎、嘔吐 (カプセル投与時)	・体重減少、摂餌量減少 ・流涎、嘔吐 (カプセル投与時)
1,000 ppm 以上	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・糞便量の減少、無排便	・体重増加抑制 ・糞便量の減少、無排便
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

#### (6) 6 カ月間亜急性毒性試験 (イヌ、ラセミ体)

ビーグル犬 (一群雌雄各 6 匹) を用いた混餌 (原体：0、100、300 及び 1,000 ppm：平均検体摂取量は表 57 参照) 投与による 6 カ月間亜急性毒性試験が実施された。また、対照群及び 1,000 ppm では、別に回復群 (一群雌雄各 2 匹) を設け、4 週間の回復期間を置いた。

表 57 6 カ月間亜急性毒性試験 (イヌ、ラセミ体) の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	300 ppm	1,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.92	9.71	29.6
	雌	2.97	8.77	29.4

1,000 ppm 投与群の雌雄で、体重増加抑制、摂餌量減少及び ALP 増加が認められた。回復群では、回復期間終了時に対照群と投与群で、体重及び摂餌量に差は認められなかった。

<sup>3</sup> 最高用量群は、最初 2,000 ppm で混餌投与したが、摂餌量が著しく減少し、体重減少が認められたため、投与開始 2 週間後より、700 mg/個体/日でカプセル経口投与した。

本試験において、1,000 ppm 投与群の雌雄に体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄：9.71 mg/kg 体重/日、雌：8.77 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 81)

(7) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット、ラセミ体及び S-メトラクロール)

<参考データ>

SD ラット (一群雌雄各 8 匹、対照群のみ雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (メトラクロールまたは S-メトラクロール原体：0、30、300、3,000 及び 5,000 ppm：平均検体摂取量は表 58 参照) 投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 58 28 日間亜急性毒性試験 (ラット、ラセミ体及び S-メトラクロール) の平均検体摂取量

投与群		30 ppm (284 ppm) *	300 ppm (91 ppm) *	3,000 ppm	5,000 ppm
メトラクロール 平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	(25.4)	(8.04)	265	447
	雌	(25.5)	(8.94)	264	433
S-メトラクロール 平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.65	24.5	242	426
	雌	2.73	26.4	257	435

注) \*: メトラクロールの 30 及び 300 ppm 投与群については、試料中の検体濃度が設定濃度と大きく食い違っていたため、分析した実際の検体濃度及びそこから計算された平均検体摂取量を参考値として ( ) 内に示した。

各投与群で認められた毒性所見は表 59 に示されている。

S-メトラクロール 5,000 ppm 投与群の雄 1 例が採血時に死亡した。

メトラクロール及び S-メトラクロール投与群で、各用量群で類似の症状が認められており、毒性は同等であると考えられた。

本試験において、メトラクロール及び S-メトラクロールとも、3,000 ppm 以上投与群の雌雄で T.Chol 増加、小葉中心性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量はメトラクロール及び S-メトラクロールで、雌雄とも 300 ppm (メトラクロール (参考値)：雄：25.4 mg/kg 体重、雌：25.5 mg/kg 体重、S-メトラクロール：雄：24.5 mg/kg 体重/日、雌：26.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 82)

表 59 28 日間亜急性毒性試験（ラット、ラセミ体及び S-メトラクロール）で認められた毒性所見

投与群	メトラクロール		S-メトラクロール	
	雄	雌	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Alb 増加</li> <li>・ 肝絶対及び比重量増加、腎絶対重量増加</li> <li>・ 腎尿細管上皮硝子滴沈着</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Alb 増加、T.Bil 減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 腎比重量増加</li> </ul>	
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ GGT、T.Chol、TP、Glob 増加、A/G 比、T.Bil 減少</li> <li>・ 腎比重量増加</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ T.Chol、TP、Glob 増加、A/G 比減少</li> <li>・ 肝絶対及び比重量増加</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ GGT、T.Chol、TP、Glob 増加、A/G 比、T.Bil 減少</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ T.Chol、TP、Alb、Glob 増加、A/G 比、T.Bil 減少</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>
300 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

### 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、ラセミ体）

ビーグル犬（一群雌雄各 8 匹）を用いた混餌（原体：0、100、300 及び 1,000 ppm：平均検体摂取量は表 60 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。対照群及び 1,000 ppm 投与群では、別に回復群（一群雌雄各 2 匹）を設け、4 週間の回復期間を置いた。

表 60 1 年間慢性毒性試験（イヌ、ラセミ体）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	300 ppm	1,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.5	9.7	32.7
	雌	3.6	9.7	33.0

死亡例は認められなかった。1,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少が、同群の雌で ALP 増加が認められた。

本試験において、1,000 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 300 ppm（雄：9.7 mg/kg 体重/日、雌：9.7 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 83）

#### (2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット、ラセミ体）

SD ラット（一群雌雄各 60 匹、対照群及び 3,000 ppm 投与群は雌雄各 70 匹）を用いた混餌（原体：0、30、300 及び 3,000 ppm：平均検体摂取量は表 61 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 61 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット、ラセミ体）の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.35	13.7	141
	雌	1.69	18.5	180

各投与群で認められた毒性所見は表 62 に、肝腫瘍の発生頻度については表 63 に示されている。死亡率に検体投与の影響は認められなかった。

腫瘍性病変として、3,000 ppm 投与群の雌で、肝細胞腺腫が対照群に比べ統計学的に有意に増加し、このうち肝変異細胞巣及び肝腫瘍性病変については再評価が行われ、再評価においてもほぼ同様の結果が得られた。肝細胞腺腫の発生頻度（10%）は、試験実施施設の背景データ（雌：0~12%、平均 1.5%）の範囲内であったが、変異肝細胞巣が有意に増加しており、弱い発がん性があると考えられた。

また、鼻腔組織について、追加試験として病理組織学的検査が実施されたが、鼻腔組織に検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、3,000 ppm 以上投与群の雌雄で変異肝細胞巣増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 300 ppm（雄：13.7 mg/kg 体重/日、雌：18.5 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 84、85）

表 62 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット、ラセミ体）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	・肝比重量増加 ・変異肝細胞巣（総数）増加	・体重増加抑制、摂餌量減少 ・変異肝細胞巣（総数、好酸性細胞）増加
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 63 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット、ラセミ体）で認められた肝増殖性病変発生頻度（再評価結果）

性別	雄				雌			
	0	30	300	3,000	0	30	300	3,000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
投与群 (ppm)	0	30	300	3,000	0	30	300	3,000
変異肝細胞巣（総数）	18	21	20	24*	11	16	20	23*
肝細胞腺腫	1	1	0	4	0	1	2	6*
肝細胞癌	2	1	3	3	0	0	0	1
肝細胞腺腫+癌	3	2	3	7	0	1	2	7*

Fisher の直接確率計算法 \* : p<0.05

(3) 18 カ月間発がん性試験 (マウス、ラセミ体)

ICR マウス (一群雌雄各 68 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、300、1,000 及び 3,000 ppm : 平均検体摂取量は表 64 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 64 18 カ月間発がん性試験 (マウス、ラセミ体) の平均検体摂取量

投与群		300 ppm	1,000 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	50.8	175	556
	雌	68.1	233	712

死亡率に検体投与の影響は認められなかった。3,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制が認められた。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、3,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm (雄 : 175 mg/kg 体重/日、雌 : 233 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 86)

1 2. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット、ラセミ体)

SD ラット (一群雄 15 匹、雌 30 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、30、300 及び 1,000 ppm : 平均検体摂取量は表 65 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 65 2 世代繁殖試験 (ラット) (ラセミ体) の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	1,000 ppm	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	2.23	23.5	75.8
		雌	2.63	26.0	85.7
	F <sub>1</sub> 世代	雄	2.34	23.7	76.6
		雌	2.58	25.7	84.5

各投与群で認められた毒性所見は表 66 に示されている。

親動物の F<sub>1</sub> 世代雌動物で、1,000 ppm 投与群の 1 例、300 ppm 投与群の 2 例が死亡、対照群の 1 例が瀕死状態で切迫と殺された。

本試験において、親動物では 1,000 ppm 投与群の雌雄で摂餌量減少等が、児動物では 1,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物のは雌雄とも 300 ppm (P 雄 : 23.5 mg/kg 体重/日、P 雌 : 26.0 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 23.7 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 25.7 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 87)

表 66 2 世代繁殖試験（ラット、ラセミ体）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	1,000 ppm	1,000 ppm 以下 毒性所見なし	1,000 ppm 以下 毒性所見なし	・甲状腺比重量増加	・摂餌量減少
	300 ppm 以下			毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	1,000 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制	1,000 ppm 以下 毒性所見なし	・体重増加抑制
	300 ppm 以下	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、ラセミ体）①

SD ラット（一群雌各 21～24 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、30、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%MC）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 4 例が死亡、また、流涙、腹部被毛汚れ、強直性あるいは間代性痙攣が認められ、300 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制、摂餌量減少及び唾液分泌亢進が認められた。

胎児では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で低体重、坐骨の骨化遅延等が認められた。

本試験における無毒性量は、母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で 300 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 88）

(3) 発生毒性試験（ラット、ラセミ体）②

SD ラット（一群雌各 24 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、60、180 及び 360 mg/kg 体重/日、溶媒：2%CMC）投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、360 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量減少が認められた。

胎児では、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、母動物で 180 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 360 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 89）

(4) 発生毒性試験（ラット、S-メトラクロール）

SD 由来交雑系ラット（一群雌各 21～23 匹）の妊娠 6～15 日に強制経口（原体：0、5、50、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%CMC）投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、500 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。全投与群で、検体投与後に不快症状（頭部を床敷に押し当てる）が認められたが、この行動は妊娠 7～15 日に観察され、検体投与終了後の妊娠 16 日には観察されなかった。

胎児では、検体投与に関連した外表及び内臓奇形の発生は認められなかった。骨

格変異として、1,000 mg/kg 体重/日投与群で亜鈴型頸椎体発生頻度の増加が認められたが、発生率（胎児発生率 4.7%、腹発生率 27.3%）は背景データ（胎児発生率 0.6~4.7%、腹発生率 4.2~47.8%）の範囲内であったことから、検体投与の影響による変化とは考えられなかった。

本試験における無毒性量は、母動物で 50 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 1,000 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 90）

#### (5) 発生毒性試験（ウサギ、ラセミ体）

NZW ウサギ（一群雌 13~14 匹）の妊娠 6~18 日に強制経口（原体：0、36、120 及び 360 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%ヒドロキシメチルセルロース）投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、360 mg/kg 体重/日投与群で臍出血、体重増加抑制及び摂餌量減少が、120 mg/kg 体重/日以上投与群で縮腫が認められた。

胎児では、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、母動物で 36 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 360 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 91）

#### (6) 発生毒性試験（ウサギ、S-メトラクロール）

NZW ウサギ（一群雌 16 匹）の妊娠 7~19 日に強制経口（原体：0、20、100 及び 500 mg/kg 体重/日、溶媒：3%コーンスターチ添加 0.5%Tween80 溶液）投与して、発生毒性試験が実施された。

母動物では、500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例が死亡したが、この個体は体重及び摂餌量減少が認められた。500 mg/kg 体重/日投与群では、体重減少及び摂餌量の顕著な減少が認められ、100 mg/kg 体重/日以上投与群で糞便量の減少、無排泄及び軟便が認められた。

胎児では、500 mg/kg 体重/日投与群で肢の異常湾曲、口蓋裂、水頭症等の奇形が認められた。これらの所見は、ほとんどが著しく体重の減少した母動物 1 例の胎児に限定して認められたことから、自然発生性の変化と考えられたが、母動物への検体投与の影響に起因する二次的変化の可能性も考えられた。

本試験における無毒性量は、母動物で 20 mg/kg 体重/日、胎児で 100 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 92）

### 1.3. 遺伝毒性試験

#### (1) 遺伝毒性試験（ラセミ体）

メトラクロ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、チャイニーズハムスター肺由来（CHL）細胞及びチャイニーズハムスター卵巣由来（CHO）細胞を用いた染色体異常試験、

ラットを用いた *in vitro/in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験、チャイニーズハムスターを用いた核異常試験、ラットを用いた優性致死試験が実施された。

結果は表 67 に示されている。チャイニーズハムスター肺由来 (CHL) 細胞を用いた染色体異常試験において陽性の結果が得られたが、*in vivo* の試験を含め、その他の試験ではすべて陰性であったことから、メトラクロ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 93~108)

表 67 遺伝毒性試験概要 (ラセミ体)

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> (H-17、M-45 株)	50~5,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (+/-S9)	陰性
		<i>B. subtilis</i> (H-17、M-45 株)	150~10,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (-S9)	陰性
		<i>B. subtilis</i> (H-17、M-45 株)	500~25,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (-S9)	陰性
		ラット肝細胞	0.28~34.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$	陰性
		ヒト線維芽細胞	0.140~17.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	陰性
	復帰突然 変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537 株)	50~5,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (+/-S9)	陰性
		<i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)		
		<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538 株)	10~10,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (+S9) 1~1,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (-S9)	陰性
		<i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	10~10,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA1538 株)	100~5,000 $\mu\text{g}/\text{テ}$ 辺 (+/-S9)	陰性
		<i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)		
	遺伝子突然 変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y/TK <sup>+</sup> )	①10.6~212 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 11.7~235 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) ②62.6~313 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9)	陰性
	染色体異常 試験	チャイニーズハムスター 肺由来 (CHL) 細胞	①42.6~170 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+/-S9) (6 時間処理) ②42.6~170 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) (24 時間処理) ③10.6~42.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) (48 時間処理)	陽性 <sup>1)</sup>

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
		チャイニーズハムスター 卵巣由来 (CHO) 細胞	①62.5~250 µg/mL (-S9) 31.2~125 µg/mL (+S9) (3 時間処理) ②15.6~62.5 µg/mL (-S9) (24 時間処理)	陰性
<i>in vitro</i> <i>/in vivo</i>	UDS 試験 <sup>2)</sup>	SD ラット (肝細胞) (一群雌雄各 3 匹)	雄: 3, 30, 300, 450 mg/kg 体重 雌: 3, 30, 300, 500 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性
	UDS 試験	SD ラット (肝細胞) (一群雌雄各 3~5 匹)	雄: 500, 1,250, 2,500, 4,000 mg/kg 体重 雌: 500, 1,000, 1,500 mg/kg 体重	陰性
<i>in vivo</i>	核異常試験	チャイニーズハムスター (骨髓細胞) (一群雌雄各 3 匹)	1,250, 2,500, 5,000 mg/kg 体重/日 (1 日 1 回、2 日間強制経口投与)	陰性
	優性致死 試験	NMRI マウス (一群雄 20 匹、雌 40 匹/ 週)	100, 300 mg/kg 体重 (雄のみ単回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下

1) 6 時間処理で陰性、24 及び 48 時間処理で陽性

2) 並行して行われた RDS 試験では、雌の 500 mg/kg 体重のみ S 期細胞増殖促進

## (2) 遺伝毒性試験 (S-メトラクロール)

S-メトラクロールの細菌を用いた復帰突然変異試験、*in vitro* UDS 試験及び RDS 試験、マウスを用いた小核試験が実施された。

結果は表 68 に示されている。また、S-メトラクロールについては *in vitro* 染色体異常試験のデータが提出されていないが、ラセミ体であるメトラクロールのデータがある (表 69)。それによると CHL 細胞を用いた染色体異常試験において陽性の結果が得られたが、*in vivo* 小核試験で陰性であったこと、復帰突然変異試験および *in vitro* UDS 試験でも陰性であったことから S-メトラクロールに生体にとって問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 109~111)

表 68 遺伝毒性試験概要 (S-メトラクロール)

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>S. typhimurium</i> (TA100, TA102, TA1535, TA1537 株)	①313~5,000 µg/プレート (+/-S9) ②78.1~1,250 µg/プレート (+/-S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> (TA98 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	313~5,000 µg/プレート (+/-S9)	
<i>in vitro</i> <i>/in vivo</i>	UDS 試験 <sup>1)</sup>	SD ラット (肝細胞) (一群雌雄各 3 匹)	500, 1,500 mg/kg 体重 (単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	Tif-MAGF マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	①2,000 mg/kg 体重 (16, 48 時間処理) ②500, 1,000, 2,000 mg/kg 体重 (24 時間処理)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

1) 並行して行われた RDS 試験では、雄のみ 5,000 mg/kg 体重でも 1 例実施。  
結果は、投与後 38 時間雌雄及び投与後 15 時間雌で細胞増殖促進。

### (3) 遺伝毒性試験 (代謝物)

分解物 B' について、細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、マウスを用いた小核試験が実施された。

結果は、表 69 に示されている。細菌を用いた復帰突然変異試験において、*S. typhimurium* TA100 株でのみ、弱陽性の結果が得られたが、他の菌株では陰性であり、また、他の試験ではすべて陰性の結果が得られた。原体を用いた試験でも生体にとって問題となるような遺伝毒性は認められなかったことから、代謝物 B' に、生体にとって問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 112~114)

表 69 遺伝毒性試験概要 (代謝物)

被験物質	試験	対象	投与量・処理濃度	結果
B'	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> (H-17, M-45 株)	150~10,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	<i>in vitro</i> 復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) <i>E. coli</i> (WP2uvrA 株)	10~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性 (TA100 株のみ陽性)
	<i>in vivo</i> 小核試験	Slc:ddY マウス (骨髄細胞) (一群雄 6 匹)	250, 500, 1,000 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

#### 14. その他の試験

##### (1) 肝細胞増殖能等の検討（ラット、ラセミ体及びS-メトクロール）

メトクロールを投与した、ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験[11. (2)]では雌ラットにおいて肝細胞腺腫の増加が認められ、ラットを用いたUDS及びRDS試験[13. (1)]では、RDS試験において、メトクロールが肝細胞増殖作用を有することが示唆された。また、S-メトクロールを投与した、ラットを用いた90日間亜急性毒性試験①[10. (3)]でも、肝細胞への影響が認められた。

これらのことから、メトクロール及びS-メトクロールの肝細胞増殖能、電子顕微鏡検査、肝酵素誘導能への影響を検討するために、SDラット（一群雌雄各3～5匹）に、メトクロールまたはS-メトクロールを28日間混餌（メトクロール原体：0、3,000及び5,000 ppm、S-メトクロール原体：30、300、3,000及び5,000 ppm：平均検体摂取量は表70参照）投与する試験が実施された。なお、メトクロール及びS-メトクロールとも、5,000 ppm投与群のみ回復群（一群雌雄5匹）を設け、28日の回復期間を置いた。

表70 肝細胞増殖能等の検討（ラット、ラセミ体及びS-メトクロール）の平均検体摂取量

投与群		メトクロール		S-メトクロール			
		3,000 ppm	5,000 ppm	30 ppm	300 ppm	3,000 ppm	5,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	265	447	2.65	24.5	242	426
	雌	264	433	2.73	26.4	257	435

肝臓を用いて、増殖細胞核抗原(PCNA)免疫組織化学的染色を実施したところ、メトクロール及びS-メトクロールいずれも、全投与群の雌雄で、PCNA陽性指数の増加は認められず、メトクロール及びS-メトクロールはいずれも、肝細胞の複製DNA合成を誘導しないと考えられた。

肝臓の電子顕微鏡検査において、メトクロール5,000 ppm投与群の雌雄で滑面小胞体の中等度増生が、S-メトクロール5,000 ppm投与群の雌で滑面小胞体の中等度あるいは明瞭な増生が、同群の雄で滑面小胞体の中等度の増生が認められた。S-メトクロール5,000 ppm投与群の雌1例では、粒状グリコーゲンの消失が認められた。

メトクロール及びS-メトクロールとも、3,000 ppm以上投与群の雌雄で肝ミクロソームチトクロームP450アイソザイム(CYP)濃度増加、7-エトキシレゾルフィン-O-デエチラーゼ(EROD)、7-ペントキシレゾルフィン-O-デペンチラーゼ(PROD)及びUDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ(UDPGT)の誘導が認められ、同群の雌ではペルオキシソーム脂肪酸β-酸化の低下が認められた。

また、メトクロール及びS-メトクロールとも、5,000 ppm投与群の雌で

CYP4A1 の軽度な減少が認められた。

電子顕微鏡検査及び肝酵素等の変化は、回復期間後には対照群と同程度の値であった。

以上より、メトクロール及びS-メトクロールは、ラット雌雄に対して可逆的に肝酵素を誘導すると考えられた。また、S-メトクロールでは、300 ppm 以下投与群において検体投与の影響が認められなかった。(参照 115)

## (2) 肝細胞増殖、アポトーシス及び肝酵素誘導の検討 (ラット、ラセミ体)

メトクロールの肝細胞増殖能及びアポトーシスを経時的に検討するために、SD ラット (一群雌 15 匹) に、メトクロールを 60 日間混餌 (原体:0 及び 3,000 ppm、平均検体摂取量は 235 mg/kg 体重/日) 投与する試験が実施された。

死亡率、体重、摂餌量、血液生化学的検査、肉眼的病理検査、臓器重量において、検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査において、投与群で肝グリコーゲン消失が増加した。

肝のプロモデオキシウリジン (BrdU) 免疫組織化学的染色を実施したところ、投与群で BrdU 標識率が減少したが、この変化の意義は不明確であった。

TUNEL 法を用いて肝細胞アポトーシスを解析したところ、アポトーシス数に検体投与の影響は認められなかった。

肝酵素については、投与群において、投与開始 14 日後から 7-ベンジルオキシレゾルフィン-O-デベンジラーゼ、PROD、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) が、投与開始 60 日後にはそれに加えて 7-メトキシレゾルフィン-O-デメチラーゼ、EROD、UDPGT、エポキシヒドラーゼが増加した。また、投与開始 14 日後から、テストステロンの水酸化率増加が認められた。

CYP では、CYP2B、CYP3A 及び CYP1A2 の誘導が認められた。(参照 116)

## (3) *in vivo* RDS 試験 (ラット肝、ラセミ体)

メトクロールの肝細胞増殖能を検討するために、SD ラット (一群雌雄各 5 匹) に、メトクロールを単回強制経口投与 (原体:0、150、500 及び 1,000 mg/kg 体重、溶媒:コーン油) する複製 DNA 合成 (RDS) 試験が実施された。陽性対照として、ジメチルニトロソアミン (DMN:15 mg/kg 体重) を投与した。

検体投与群では、臨床症状は認められず、体重に検体投与の影響は認められなかった。1,000 mg/kg 体重投与群の雌雄で肝絶対重量の増加が、500 mg/kg 体重投与群の雄で有糸分裂亢進が、150 及び 500 mg/kg 体重投与群の雄で肝グリコーゲン減少が認められた。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 500 mg/kg 体重/日以上投与群の雄において、BrdU 標識率の増加が認められた。

DMN 投与群では、雄で体重増加抑制が認められ、雌雄で小葉中心性肝細胞壊死、肝慢性炎症、ペリオーシス、有糸分裂亢進、グリコーゲン減少が認められた。また

雌雄とも、BrdU 標識率の顕著な増加が認められた。

以上より、メトラクロールは雄で 500 mg/kg 体重以上、雌で 1,000 mg/kg 体重以上で肝細胞における RDS 誘導を示し、ラットの肝細胞における細胞増殖能は陽性であると考えられた。(参照 117)

[14. (2)]の結果より、3,000 ppm 投与群の雌では、肝細胞増殖作用が認められず、アポトーシスへの影響も認められなかったが、肝臓の薬物代謝酵素誘導は認められ、[14. (1)]の電子顕微鏡による観察結果が裏付けられた。[14. (3)]の結果から非常に高い用量での単回経口投与では、BrdU 標識率の増加が認められた。したがって、肝細胞増殖への影響は、非常に高い用量での投与の結果であり、3,000 ppm における発がんメカニズムが肝細胞増殖作用に関連するという明らかな結果は得られなかった。

### Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「メトラクロール」の食品健康影響評価を実施した。

<sup>14</sup>C で標識したメトラクロールのラットを用いた動物体内運命試験の結果、ラットに経口投与されたメトラクロール（ラセミ体、*S*体）は、投与後 168 時間で糞尿中に 94.2~98.8% TAR 排泄された。メトラクロール高用量及び *S*体は、糞中排泄が尿中排泄より多く、メトラクロール低用量では尿中排泄が糞中より多かった。糞中排泄の大部分は、胆汁中排泄によるものであった。主要組織中の残留放射能濃度は、投与 8 時間後では胃、腸管、肝臓、腎臓等で高かったが、投与 72 時間後には全血あるいは血球で最も高い値であった。血球結合試験の結果、メトラクロールはラットの血球とは強い結合性を示したが、ヒトの血球とは強い結合はないことが示された。ラットにおけるメトラクロールの主要代謝物は、C、D、AN1、AN2、AN7、AN8、AN9 及び AB9' であった。*S*体の代謝物分析においても、多くの代謝画分がメトラクロールの代謝画分と共通しており、*S*体もメトラクロールと同様の経路で代謝されると考えられた。

<sup>14</sup>C で標識したメトラクロールのとうもろこし、レタス、ばれいしょ及びだいずを用いた植物体内運命試験において、植物体に吸収された放射能の、可食部への移行は少ないと考えられた。主要代謝物は K、L、M、N 及び O であった。植物体内では、グルタチオン抱合またはクロロアセチル側鎖の酸化を第一段階とする代謝経路で代謝されると考えられた。とうもろこしを用いたメトラクロール及び *S*体の比較代謝試験より、メトラクロール及び *S*体の代謝経路は同様であると考えられた。

メトラクロール、代謝物の加水分解物である T 及び U を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。メトラクロールの最大値は、最終散布 116 日後に採取したにんじん（根部）の 0.01 mg/kg であった。作物中の T 及び U の残留値は、いずれも定量限界未満であった。

各種毒性試験結果から、メトラクロール投与による影響は主に肝臓に認められた。繁殖能に対する影響、催奇形性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。ラセミ体及び *S*-メトラクロールの試験の比較から、両者の動態及び代謝は同等であり、毒性プロファイル及び毒性の程度もほぼ同等であると考えられた。

発がん性試験において、ラットの雌で肝細胞腺腫の増加が認められたが、発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をメトラクロール（親化合物のみ）と設定した。

各試験における無毒性量及び最小毒性量は表 71 に示されている。

表 71 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 <sup>1)</sup>
ラット	90 日間亜急性 毒性試験① (ラセミ体)	雄：20.2 雌：23.4	雄：210 雌：259	雄：TP 及び Glob 増加、A/G 比減少等 雌：体重増加抑制等
	90 日間亜急性 毒性試験② (ラセミ体)	雄：20.2 雌：17.8	雄：65.7 雌：57.1	雄：肝絶対及び比重量増加 等 雌：体重増加抑制等
	90 日間亜急性 毒性試験① (S-メトラクロール)	雄：18.5 雌：24.0	雄：188 雌：238	雌雄：体重増加抑制等
	90 日間亜急性 毒性試験② (S-メトラクロール)	雄：20.4 雌：23.9	雄：208 雌：236	雌雄：体重増加抑制等
	2 年間慢性 毒性/発がん性 併合試験 (ラセミ体)	雄：13.7 雌：18.5	雄：141 雌：180	雌雄：変異肝細胞巣増加  (雌で肝細胞腺腫発生増加)
	2 世代繁殖試験 (ラセミ体)	親動物及び 児動物 P 雄：23.5 P 雌：26.0 F <sub>1</sub> 雄：23.7 F <sub>1</sub> 雌：25.7	親動物及び 児動物 P 雄：75.8 P 雌：85.7 F <sub>1</sub> 雄：76.6 F <sub>1</sub> 雌：84.5	親動物 雌雄：摂餌量減少等 児動物 雌雄：体重増加抑制等  (繁殖能に対する影響は認 められない)
	発生毒性試験① (ラセミ体)	母動物：100 胎児：300	母動物：300 胎児：1,000	母動物：体重増加抑制等 胎児：低体重等  (催奇形性は認められない)
	発生毒性試験② (ラセミ体)	母動物：180 胎児：360	母動物：360 胎児：-	母動物：摂餌量減少 胎児：毒性所見なし  (催奇形性は認められない)
	発生毒性試験 (S-メトラクロール)	母動物：50 胎児：1,000	母動物：500 胎児：-	母動物：体重増加抑制及び 摂餌量減少 胎児：毒性所見なし (催奇形性は認められない)
マウス	18 カ月間 発がん性試験 (ラセミ体)	雄：175 雌：233	雄：556 雌：712	雌雄：体重増加抑制  (発がん性は認められない)