

ルフェヌロンの推定半減期は、施用濃度の差にかかわらず、土壌水分 60% の 20°C で約 2 週間、10°C または土壌水分 30% の条件下で約 1 カ月であった。

分解物 B 及び分解物 C が一過性の分解物として検出され、 $^{14}\text{CO}_2$  の発生が認められたことからルフェヌロンは最終的に無機化されることが示された。

(参照 13)

### (3) 各種施用方法による分解速度

[dif- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを微砂質壤土 (スイス、Les Barges) に乾土あたり 0.1 mg/kg となるように添加後、20°C の好氣的条件下でインキュベートし、土壌中運命試験が実施された。なお、添加方法として、土壌混和施用、土壌表面施用及び土壌表面施用 14 日後に土壌混和する 3 パターンを設けた。

ルフェヌロンの推定半減期は、土壌に直接混和した場合は 9.1 日であり、速やかに分解したが、土壌表面施用においては 32.5 日と分解が遅かった。しかし、土壌表面施用後に土壌混和した結果、推定半減期は 13.8 日となり、分解が促進された。このことより、土壌微生物が分解促進に寄与していると考えられた。(参照 14)

### (4) 土壌吸着試験

4 種類の国内土壌 [埴壤土 (北海道)、微砂質埴壤土 (茨城)、砂質埴壤土 (愛知) 及び軽埴土 (和歌山)] を用いて土壌吸脱着試験が実施された。

本試験では検体標準溶液の濃度が極めて低く、かつ、16 時間振盪後の検体の大部分が土壌に存在していたため、土壌吸着係数が求められなかった。(参照 15)

### (5) 土壌中移行性試験

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを 4 種類の土壌 [壤質砂土 (Collmbey)、微砂質壤土 (Les Evouettes)、微砂質壤土 (Vetroz)、砂土 (Lakeland)] に添加し、土壌カラムリーチング試験が実施された。

ルフェヌロンは 4 種類の土壌に対してわずか 2~8 cm の深さしか浸透しなかった。また、モニユロンを基準とした RMF (相対的移動指数) 値は平均で 0.28 未満であり、ルフェヌロンは土壌中でほとんど移動しない物質に分類された。(参照 16)

### (6) 土壌カラムリーチング試験 (200 mm 人工降雨)

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンまたは[dif- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンをスイスの 2 土壌 [壤質砂土 (Collmbey) 及び壤土 (Les Evouettes)] に添加後、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$  の暗条件下で 59 日間インキュベートし、200 mm の人工降雨を行う土壌カラムリーチング試験が実施された。

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンまたは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを施用した各土壌カラムからの放射能回収率は、それぞれ 93.9~99.1 及び 74.5~83.9% TAR であった。

カラム土壌を分析した結果、ルフェヌロン及び分解物 B が表層から、分解物 C が表層及び表層に隣接する土壌層で検出された。

ルフェヌロン及び分解物は土壌カラムの上層部に留まっており、いずれの土壌においても移動は認められなかった。(参照 17)

#### (7) 土壌カラムリーチング試験 (508 mm 人工降雨)

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンまたは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンをスイスの 2 土壌 [壤質砂土 (Collmbey) 及び壤土 (Les Evouettes) ] に添加し、20±2°C の暗条件下で 30 日間インキュベートし、508 mm の人工降雨を行う土壌カラムリーチング試験が実施された。

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンまたは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを施用した各土壌カラムからの放射能回収率は、それぞれ 95.6~100.4 及び 51.2~62.7% TAR であった。

カラム土壌を分析した結果、ルフェヌロン及び分解物 B が表層から、分解物 C が表層及び表層に隣接する土壌層で検出された。

ルフェヌロン及び分解物は土壌カラムの上層部に留まっており、いずれの土壌においても移動は認められなかった。(参照 18)

### 4. 水中運命試験

#### (1) 加水分解試験

pH 1 (塩酸水溶液)、pH 5 (酢酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液)、pH 9 (ホウ酸緩衝液) 及び pH 13 (水酸化ナトリウム水溶液) の各緩衝液に、[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 2.38 µg/L あるいは[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 1.98 または 1.74 µg/L となるように加えた後、25°C (pH 5、7、9 及び 13)、50°C (pH 7、9 及び 13) 及び 70°C (pH 1、5、7、9 及び 13) でインキュベートし、加水分解試験が実施された。

ルフェヌロンは、25°C の pH 5 及び 7 では 30 日間安定で分解は認められなかった。pH 9 では推定半減期が 378~646 日、pH 13 では推定半減期が 1.26~1.65 日であった。ルフェヌロンは、酸性条件下では安定であり、アルカリ性条件下で加水分解されやすい傾向が認められた。

分解物として、[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンで分解物 B 及び C が、[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンで分解物 D 及び E が検出された。(参照 19)

#### (2) 緩衝液中光分解試験 ([dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロン)

[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを pH 7 の 10 mM リン酸緩衝液に 51.4 µg/L となる

ように加えた後、 $24.9 \pm 0.4^\circ\text{C}$ でキセノンアークランプ ( $7.04 \text{ W/m}^2$ 、測定波長：300~400 nm) を 22.3 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

ルフェヌロンは光照射による分解が認められ、推定半減期は 10.3 日であり、東京春季自然太陽光換算では 9.3 日相当であると推定された。

主要分解物は分解物 E であり、試験終了時には 62.1% TAR 検出された。他に未同定物質が数種類認められた。(参照 20)

### (3) 緩衝液中光分解試験 ([dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロン)

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを pH 7 の 10 mM リン酸緩衝液に  $52.0 \mu\text{g/L}$  となるように加えた後、 $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ でキセノンアークランプ ( $7.89 \text{ W/m}^2$ 、測定波長：300~400 nm) を 28 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

ルフェヌロンは光照射による分解が認められ、推定半減期は 16 日であり、東京春季自然太陽光換算では 16.2 日相当であると推定された。

主要分解物は分解物 C であり、最大で 21.3% TAR 検出された。他に未同定物質が数種類認められた。(参照 21)

### (4) 自然水中光分解試験

[dic- $^{14}\text{C}$ ]ルフェヌロンを自然水(スイス、池水、滅菌後 pH 8.4)に  $50.0 \mu\text{g/L}$  となるように加えた後、 $25.4 \pm 0.3^\circ\text{C}$ でキセノンアークランプ ( $39.2 \text{ W/m}^2$ 、測定波長：300~400 nm) を 17 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

ルフェヌロンは光照射による分解が認められ、推定半減期は 4.5 日であり、東京春季自然太陽光換算では 22.7 日相当であると推定された。

放射能の大部分が  $^{14}\text{CO}_2$  として認められた(最大 23.6% TAR)。また、分解物として分解物 B が認められた他、多くの未同定物質が検出された。

ルフェヌロンは多くの物質に分解して、浮遊粒子や溶解した有機物に結合するか、 $\text{CO}_2$  になると考えられ、親化合物及びその分解物は水中には長く存在しないと考えられた。(参照 22)

## 5. 土壌残留試験

火山灰土・軽埴土(茨城)及び沖積鈹質土・植壤土(高知)を用いて、ルフェヌロン、分解物 B 及び C を分析対象化合物とした土壌残留試験(容器内及び圃場)が実施された。推定半減期は表 9 に示されている。(参照 23)

表 9 土壤残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壤	ルフェヌロン+ B+C
容器内試験	0.1 mg/kg	火山灰土・軽埴土	70 日
		沖積鈹質土・埴壤土	273 日
圃場試験	50 g ai/ha ×3 回	火山灰土・軽埴土	15 日
		沖積鈹質土・埴壤土	13 日

※容器内試験で純品、圃場試験で 5.0%乳剤を使用

## 6. 作物残留試験

### (1) 作物残留試験

野菜、果実、豆類及び茶を用いて、ルフェヌロンを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

その結果は別紙 3①に示されている。また、今回インポートトレランス申請されているとうがらしについては別紙 3②に示されている。国内で栽培される農産物におけるルフェヌロンの最高値は茶（荒茶）の最終散布 7 日後における 4.70 mg/kg であった。（参照 26、27、59）

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、ルフェヌロンを暴露評価対象化合物とした際に、食品中から摂取される推定摂取量が別紙 4 及び表 10 に示されている。

なお、本推定摂取量の算定は、想定される使用方法からルフェヌロンが最大の残留を示す使用条件で、今回申請されたがいず、えだまめ、レタス及びきゅうりを含むすべての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表 10 食品中から摂取されるルフェヌロンの推定摂取量

	国民平均 (体重：53.3kg)	小児（1～6 歳） (体重：15.8kg)	妊婦 (体重：55.6kg)	高齢者（65 歳以上） (体重：54.2kg)
摂取量 (µg/人/日)	193	123	176	205

## (2) 後作物残留試験

### ① 施設

[dif-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 150 g ai/ha の割合で混合した土壌 [埴壤土 (スイス)] 1 kg を、バケツに入れた土壌の表層に広げ、処理 2 カ月後にレタスを移植、あるいは春小麦、とうもろこし及びにんじんを播種し、輪作における残留試験 (施設) が行われた。試料として、所定期間ごとに土壌 (地表下 0~5、5~10、10~20 及び 20~30 cm) 及び各作物を採取した。

各作物で検出された放射能は、にんじん (処理 126 日後、根部) で 0.023 mg/kg、春小麦 (処理 161 日後、わら) で 0.023 mg/kg 及びレタス (処理 126 日後) で 0.047 mg/kg であった以外はすべて 0.01 mg/kg 以下であった。

残留放射能は地表層 (0~5 cm) に 89%以上が存在し、土壌層の 5~10 cm の層に存在したものはレタスの試験で 10%TRR が検出されたのを例外としてほぼ 1%TRR 以下であり、大部分が地表層に留まっていた。

ルフェヌロンの土壌における推定半減期は約 140 日と考えられた。(参照 24)

### ② 圃場

[dic-<sup>14</sup>C]ルフェヌロンを 150 g ai/ha の割合で裸地に散布し、散布 76 日後にレタスを移植、126 日後に冬小麦、306 日後にてんさいまたは 331 日後にとうもろこしを播種し、輪作における残留試験 (圃場) が行われた。試料として、所定期間毎に土壌 (地表下 0~5、5~10、10~20 及び 20~30 cm) 及び各作物を採取した。

各作物で検出された放射能は、成熟期においては冬小麦のわらで 0.004 mg/kg 及びとうもろこしの茎で 0.003 mg/kg だった以外はすべて 0.001 mg/kg 以下であった。

地表層 (0~5 cm) の残留放射能は、散布 1 時間後には 0.279 mg/kg であったが散布 15 日後には 0.208 mg/kg、散布 519 日後には 0.134 mg/kg まで低下した。ルフェヌロンの推定半減期は 154 日と推定された。また、分解物として分解物 B 及び C が認められた。

1 年後、放射能の大部分は土壌表面から 0~20 cm の土壌層において認められ、20~30 cm の深さの土壌層における残留は、常に 0.006 mg/kg 以下であった。よって、ルフェヌロン及びその分解物の移動性が小さいことが考えられた。(参照 25)

## 7. 一般薬理試験

マウス、ウサギ、ラット及びモルモットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 11 に示されている。(参照 28)

表 11 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)	結果の概要
中枢神経系	一般状態	ddY マウス	雄 3 雌 3 50、250、 500、1,250 (腹腔内)	—	50	全投与群で認知力、運動性及び筋緊張の抑制。1,250 mg/kg 体重投与群で認知力の抑制、異常歩調。いずれの所見も 360～1,440 分で回復。
		日本白色種 ウサギ	雄 3 0、10、 50、100 (静脈内)	100	—	対照群、投与群ともに投与時にわずかな興奮を示したが、時間経過とともに鎮静し、顕著な症状はみられなかった。
	運動協調性	ddY マウス	雄 10 雌 10 0、50、250、 500、1,250 (腹腔内)	500	1,250	1,250 mg/kg 体重投与群でロータロッド法 <sup>*</sup> により落下した例が認められた。
	体温	日本白色種 ウサギ	雄 3 0、10、 50、100 (静脈内)	100	—	投与による影響なし。
呼吸循環器系	血圧・ 心拍数・ 呼吸数	日本白色種 ウサギ	雄 3 0、10、25、 50、100 (静脈内)	100	—	血圧の低下する例と上昇する例あり。60 分後、それぞれの血圧を持続。心拍数は 10 mg/kg 体重投与群の 1 例で増加。呼吸数は対照群、投与群ともに 30 分まで増減があったが、それ以降はそれぞれの呼吸数を維持。

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)	結果の概要	
自律 神経 系	生体位 子宮運動	日本白色種 ウサギ	雌 3	0、10、 50、100 (静脈内)	—	10	生体位子宮収縮率が減少する傾向。収縮回数、収縮率とも用量依存性はなかった。
	瞳孔	日本白色種 ウサギ	雄 3	0、10、 50、100 (静脈内)	—	10	散瞳を認めたが、用量依存性は示さなかった。
	摘出腸管	モルモット	雄 6	$3.3 \times 10^4$ g/mL	$3.3 \times 10^4$ g/mL	—	AChの収縮は低濃度の ACh に対し弱い抑制、高濃度は抑制なし。His の収縮に対しては抑制作用なし。
	摘出輸精管	モルモット	雄 6	$3.3 \times 10^4$ g/mL	$3.3 \times 10^4$ g/mL	—	投与による影響なし。
消化 器 系	小腸 輸送能	ddY マウス	雄 3 雌 3	0、50、250、 500、1,250 (経口)	—	50	雌雄とも抑制と亢進の作用を示したが、用量依存性は示さなかった。
腎 臓	尿排泄	Wister ラット	雄 3 雌 3	0、50、250、 500、1,250 (経口)	50	250	雄の 500 mg/kg 体重以上投与群で潜血反応が疑陽性。雌の 250、500 mg/kg 体重投与群で pH が酸性。Na <sup>+</sup> 及び K <sup>+</sup> は、雄 1,250 mg/kg 体重投与群で減少し、雌の 250 mg/kg 体重投与群では K <sup>+</sup> の増加、500 mg/kg 体重投与群では Na <sup>+</sup> 及び K <sup>+</sup> が増加。

※:5回転/分で回転する棒から落下する個体数を調べる方法。

— : 最小作用量または最小無作用量が設定できなかった。

## 8. 急性毒性試験

ルフェヌロンのラット及びマウスを用いた急性毒性試験が実施された。各試験の結果は表 12 に示されている。(参照 29~34)

表 12 急性毒性試験概要

投与経路	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	粗毛、呼吸困難、円背位及び 眼球突出
	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	立毛、円背位及び呼吸困難
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	粗毛、呼吸困難、異常姿勢及び 自発運動低下
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		立毛、円背位及び呼吸困難
		>2.35	>2.35	

注) すべて一用量による試験である。

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギ (雄) を用いた眼刺激性試験及び NZW ウサギ (雌) を用いた皮膚刺激性試験が実施された。

ルフェヌロン原体には、軽度の眼刺激性及び皮膚刺激性が認められたが、いずれの反応も投与 48 及び 24 時間後までに消失し、EEC 分類では非刺激性物質であった。

Pirbright White 系モルモット (雌雄) を用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施され、ルフェヌロン原体に中程度の感作性が認められた。(参照 35~37)

## 10. 亜急性毒性試験

### (1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹、対照群及び 15,000 ppm 投与群は一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体: 0、25、150、1,500 及び 15,000 ppm: 平均検体摂取量は表 13 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。対照群及び 15,000 ppm 投与群の雌雄各 10 匹は、90 日間投与後 1 カ月間の



回復試験に供した。

表 13 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		25 ppm	150 ppm	1,500 ppm	15,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.60	9.68	101	998
	雌	1.70	10.2	103	1,050

15,000 ppm 投与群の雌 1 例が回復試験期間中に死亡した。150 ppm 投与群の雌雄各 1 例の死亡は、採血中の事故によるものであった。本試験で認められた痙攣発生率を表 14 に示す。

表 14 90 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた痙攣発生率

投与量 (ppm)	雄		雌	
	痙攣発生数/動物数	発生率(%)	痙攣発生数/動物数	発生率(%)
0	0/20	0	0/20	0
25	0/10	0	0/10	0
150	0/10	0	0/10	0
1,500	0/10	0	1/10	10
15,000	9/20	45	8/20	40

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。

15,000 ppm 投与群の雌で認められた WBC の増加は、正常範囲の上限であったため、投与による影響とは考えられなかった。

雌の全群で Cre の上昇が認められたが、対照群の値が低値であったこと、腎機能関連項目に一貫した変化が認められないことから、投与の影響とは考えられなかった。

25 及び 1,500 ppm 投与群の雄で精巣の絶対及び脳比重量<sup>2</sup>低下がみられたが、用量相関性はみられず、測定値も背景データの範囲内であり、関連する組織学的所見も観察されなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

検体の脂肪中濃度は、投与量に依存した増加を示し、1,500 ppm 投与群で定常状態（脂肪中濃度 3,000～4,000 mg/kg）に達した。また、1 カ月間の回復期間で脂肪中濃度は 60%以下に減少した。性差は認められなかった。

本試験において、1,500 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、無毒性量は雌雄で 150 ppm（雄:9.68 mg/kg 体重/日、雌:10.2 mg/kg

<sup>2</sup> 体重比重量のことを比重量という（以下、同じ）。

体重/日) であると考えられた。(参照 38)

表 15 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
15,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・強直性/間代性痙攣</li> <li>・T.Chol 増加</li> <li>・肝比重量、副腎絶対及び比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡(1 例)</li> <li>・強直性/間代性痙攣</li> <li>・血中ナトリウム及びクロール減少、TP 減少</li> <li>・ALT、ALP 上昇</li> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> </ul>
1,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・強直性/間代性痙攣(1 例)</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・Ht 増加、PT 延長</li> <li>・Alb 減少、A/G 比減少</li> <li>・無機リン増加</li> <li>・副腎絶対及び比重量増加</li> </ul>
150 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 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹、対照群及び 50,000 ppm 投与群は一群雌雄各 6 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、200、3,000 及び 50,000 ppm : 平均検体摂取量は表 16 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。対照群及び 50,000 ppm 投与群の雌雄各 2 匹は、90 日間投与後 1 カ月間の回復試験に供した。

表 16 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	3,000 ppm	50,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.8	122	2,020
	雌	7.9	123	1,930

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

50,000 ppm 投与群の雄で RBC 及び Ht の減少がみられたが、正常範囲内かその下限に近く、ヘモグロビン濃度と関連がなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

3,000 ppm 以上投与群の雄にみられた PLT の増加は、異常な高値を示した 1 例以外は、いずれも正常値の範囲内であったことから、投与の影響とは考

えられなかった。

3,000 ppm 以上投与群の雌で投与 6 週時に分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の低下がみられたが、13 週時にはこれらの変化は認められず、総白血球数に影響がなかったことから、投与による影響とは考えられなかった。

3,000 ppm 投与群の雌では 6 週時に 1 例、13 週時に 3 例、50,000 ppm 投与群の雌では 13 週時に 1 例で背景データを超えての ALP 上昇が認められた。200 ppm 投与群の雌でも ALP 上昇が認められたが背景データの範囲内であったため、投与の影響とは考えなかった。

50,000 ppm 投与群の雄で尿量の増加及び尿比重の低下が認められたが、投与前の個体別データと比較して差は認められなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

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、無毒性量は雌雄で 200 ppm (雄：7.8 mg/kg 体重/日、雌：7.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 39)

表 17 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
3,000 ppm 以上	・ T.Chol 増加、無機リン減少 ・ 肝絶対及び比重量増加	・ T.Chol 増加、ALP 上昇 ・ 血中カリウム、無機リン減少 ・ 肝絶対及び比重量増加
200 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

### (3) 4 カ月間亜急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雄 10 匹、対照群及び 500 ppm 投与群は一群雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体：0、5、25、100 及び 500 ppm：平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 4 カ月間亜急性神経毒性試験が実施された。対照群及び 500 ppm 投与群の雌雄各 10 匹は、4 カ月間投与後 2 カ月間の回復試験に供した。

表 18 4 カ月間亜急性神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群	5 ppm	25 ppm	100 ppm	500 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	0.26	1.22	5.43	27.0

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

500 ppm 投与群では、1 例にハンドリングに対する過反応 (13 週) と攣縮 (18 週) が、他の 1 例に強直性/間代性痙攣 (16 週) がみられたが、発現回

数は両動物とも1回であった。

500 ppm 投与群で強直性/間代性痙攣がみられ、ペンチレンテトラゾール誘発性全身性痙攣が助長されたが、回復期間中には痙攣の発現は認められず、ペンチレンテトラゾール誘発性全身性痙攣も軽減したことから、ルフェヌロンの痙攣誘発性作用は回復性であると考えられた。神経機能検査、自発運動量及び認識能力への障害を示唆する変化は認められず、神経系組織の病理学的検査の結果、末梢神経系、中枢神経系及び骨格筋への影響は認められなかった。

脂肪中検体濃度は、5、25、100 及び 500 ppm 投与群でそれぞれ 16、150、660 及び 2,600 mg/kg であり、血中濃度はそれぞれ、0.1、0.6、2.6 及び 17 mg/L であった。2 カ月の回復期間終了時の 500 ppm 投与群の脂肪中及び血中検体濃度は、それぞれ 1,600 mg/kg 及び 4.3 mg/L であり、本剤は脂肪に蓄積され、徐々に消失すると考えられた。

本試験において、500 ppm 投与群で強直性/間代性痙攣がみられ、ペンチレンテトラゾール誘発性全身性痙攣の助長が認められたので、神経毒性に対する無毒性量は雄で 100 ppm (5.43 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 40)

表 19 4 カ月間亜急性神経毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄
500 ppm	・ 過反応、攣縮(1 例)、強直性/間代性痙攣(1 例) (一般状態/ペンチレンテトラゾール増強反応)
100 ppm 以下	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) ①

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100、2,000 及び 50,000 ppm: 平均検体摂取量は表 20 参照) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 20 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) ①の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	2,000 ppm	50,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.97	65.4	1,880
	雌	3.64	78.3	1,980

2,000 ppm 投与群の動物のうち全身性痙攣が認められた雄 1 例が第 33 週に死亡し、雌雄各 1 例が第 37 週に切迫と殺された。

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

50,000 ppm 投与群の雌にみられた MCH 及び MCV の増加は、関連する赤血球項目に変動がみられないことから、投与に関連したものとは考えられなかった。

2,000 ppm 以上投与群の雄及び 50,000 ppm 投与群の雌に認められたカルシウムの減少は、用量相関性が見られない変化であったため、検体投与に関連したものとは考えられなかった。

34、37 及び 52 週に血液を採取し、検体濃度を測定したところ、34 週の濃度は、37 及び 52 週の検体濃度とあまり差がなく、34 週ですでにプラトーに達していたことが示された。また、2,000 ppm 投与群と 50,000 ppm 投与群では、血中、脂肪中及び脳中の検体濃度がほぼ同じであったことから、2,000 ppm で飽和に達すると考えられた。性差は認められなかった。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雄で甲状腺ろ胞拡張等が、2,000 ppm 以上投与群の雌で肝細胞肥大、甲状腺ろ胞拡張、副腎皮質過形成等が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm (3.97 mg/kg 体重/日) 未満、雌で 100 ppm (3.64 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 41)

表 21 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) ①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
50,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ PL 増加、ALP 上昇</li> <li>・ 副腎絶対重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 嘔吐</li> <li>・ PLT 増加</li> <li>・ T.Chol、PL 増加</li> </ul>
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 振戦、痙攣、流涎、自発運動低下、不規則性歩行</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ PLT 増加</li> <li>・ T.Chol 増加</li> <li>・ 副腎比重量増加</li> <li>・ 副腎腫大 (2,000 ppm のみ)</li> <li>・ 肺部分的退色</li> <li>・ 肝細胞肥大</li> <li>・ 副腎皮質過形成</li> <li>・ 肺組織球浸潤</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 振戦、痙攣、流涎、自発運動低下、不規則性歩行</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 副腎絶対及び比重量増加</li> <li>・ 肝及び甲状腺比重量増加</li> <li>・ 副腎腫大 (2,000 ppm のみ)</li> <li>・ 肺部分的退色</li> <li>・ 肝細胞肥大</li> <li>・ 甲状腺ろ胞拡張</li> <li>・ 副腎皮質過形成</li> <li>・ 肺組織球浸潤</li> </ul>
100 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝及び甲状腺比重量増加</li> <li>・ 甲状腺ろ胞拡張</li> </ul>	100 ppm 毒性所見なし

## (2) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) ②

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体: 0、10、50、250 及び 1,000 ppm: 平均検体摂取量は表 22 参照) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 22 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) ②の平均検体摂取量

投与群		10 ppm	50 ppm	250 ppm	1,000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.31	1.42	7.02	29.8
	雌	0.33	1.55	7.72	31.8

1,000 ppm 投与群の動物のうち全身性痙攣が認められた雌 1 例が第 31 週に死亡、雌 1 例及び雄 2 例をそれぞれ第 28、48 及び 49 週に切迫と殺した。これらの動物では、痙攣、振戦、失調性歩行、自発的運動低下、攻撃性、神経過敏、呼吸障害、嘔吐、流涎等が認められた。

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

10、50 及び 250 ppm 投与群の雄に RBC 減少、Hb 及び Ht 減少等が認められたが、明確な用量相関性がないこと、継続した変化ではないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

10、50 及び 250 ppm 投与群の雄に腎比重量増加がみられたが、用量相関性がみられなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

250 ppm 以上投与群の雄で心に多発性動脈炎がみられたが、実験用ビーグル犬に自然発生することが知られている所見であることから、投与による影響とは考えられなかった。

250 ppm 以上投与群の雄の唾液腺に組織球浸潤がみられたが、大部分が片側性で軽度であったことから、投与による影響とは考えられなかった。

検体の 52 週後の血中濃度は、26 週後の値と同等かやや高く、26 週までにほぼ定常状態に達したと考えられた。脂肪中濃度の対血中比は、約 100~150 であった。脳中濃度の対血中比は 10 及び 50 ppm 投与群においては約 1 であったが、高投与量群ほど高く、1,000 ppm 投与群では約 5 であった。性差は認められなかった。

本試験において、250 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄で 50 ppm (雄: 1.42 mg/kg 体重/日、雌: 1.55 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 42)

表 23 1年間慢性毒性試験（イヌ）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・痙攣、振戦、失調性歩行、自発運動低下、攻撃性、神経過敏、呼吸障害、嘔吐、流涎</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・PLT 増加</li> <li>・T.Chol 増加、ALP、GGT 上昇</li> <li>・無機リン及び T<sub>4</sub> 低下</li> <li>・肝及び副腎比重量増加</li> <li>・肝及び副腎腫大</li> <li>・クッパー細胞の色素沈着</li> <li>・副腎皮質過形成</li> <li>・パイエル板の細胞低形成</li> <li>・腸間膜リンパ節の細胞低形成</li> <li>・肺胞の泡沫細胞集簇</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・痙攣、振戦、失調性歩行、自発運動低下、攻撃性、神経過敏、呼吸障害、嘔吐、流涎</li> <li>・体重増加抑制、低体重</li> <li>・PLT 増加</li> <li>・T.Chol、Glu 増加、ALP 上昇</li> <li>・副腎比重量増加、胸腺重量低下</li> <li>・肝及び副腎腫大</li> <li>・副腎皮質過形成</li> <li>・パイエル板の細胞低形成</li> <li>・腸間膜リンパ節の細胞低形成</li> <li>・肺胞の泡沫細胞集簇</li> <li>・胸腺萎縮</li> </ul>
250 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・低体重</li> <li>・肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・肝細胞肥大</li> </ul>
50 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 80 匹）を用いた混餌（原体：0、5、50、500 及び 1,500 ppm：平均検体摂取量は表 24 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 24 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		5 ppm	50 ppm	500 ppm	1,500 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.192	1.93	20.4	108
	雌	0.229	2.34	24.8	114

1,500 ppm 投与群の雌雄で痙攣症状が認められ、投与後 14 週時にこの群の全動物をと殺した。その他の投与群の試験終了時の生存率は表 25 に示すように対照群と同等であった。

表 25 試験終了時の生存率

投与量 (ppm)	雄		雌	
	生存数/動物数	生存率(%)	生存数/動物数	生存率(%)
0	35/70	50	36/70	51
5	32/70	46	40/70	57
50	40/70	57	41/70	59
500	41/70	59	43/70	61
1,500	0/70	—	0/70	—

注) 動物数は、中間と殺群 (投与 1 年) 各 10 匹を除く。

各投与群で認められた毒性所見は表 26 に、痙攣の初観察時期及び発現動物数が表 27 に示されている。

500 ppm 以上投与群の雌雄で痙攣の認められた動物では咬傷が高頻度に認められたが、攻撃性または自虐行為の発現は認められなかった。

50 ppm 投与群の雄で認められた眼瞼腫脹、500 ppm 投与群の雌雄で認められた眼の滲出物を伴う発赤及び腫脹は、いずれも数週間以内に消失し、片側かつ一過性であったことから、外部刺激によるものと考えられた。触診による腫瘤の発生頻度には投与の影響が認められなかった。

計画的に行った眼科学的検査において、5 及び 500 ppm 投与群の雌で瞳孔反射喪失を伴った眼の混濁が認められたが、毎日実施する一般状態の観察ではこれらの所見の発生頻度に差が認められなかったため、投与による影響とは考えられなかった。

1,500 ppm 投与群の雌雄に胸腺の斑が高頻度で認められ、これらの半数の動物では病理組織学的検査で胸腺に変化は認められなかったが、残りの動物では新鮮な出血巣が認められ、痙攣に関連した二次的变化と考えられた。

500 ppm 投与群の雄で精囊の生理的变化 (分泌活性の低下) の発生頻度が高かったが、発生時期が試験後期であったことから、加齢による変化と考えられた。

500 ppm 投与群の雌雄及び 1,500 ppm 投与群の雄で認められた皮膚の潰瘍性及び炎症性病変は、大部分が痙攣を示した動物の咬傷による尾部皮膚の痂皮形成と関連があったことから、直接投与の影響とは考えなかった。

500 ppm 投与群の雄では、精巣における間質細胞腫 (5/80 例) 及び大脳髄膜における顆粒細胞腫 (3/80 例) の発生頻度に増加傾向がみられたが、背景データの範囲内にあるため、偶発的变化と考えられた。その他、投与によるものと考えられる腫瘍性病変は認められなかった。

本試験において、500 ppm 以上投与群の雌雄で全身性の強直性/間代性痙攣等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 50 ppm (雄: 1.93 mg/kg 体重/



日、雌：2.34 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 43）

表 26 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

投与群	雄	雌
1,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ PLT 増加</li> <li>・ 斑状胸腺</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ WBC 増加</li> <li>・ Alb 減少、カリウム及び無機リン増加</li> <li>・ 斑状胸腺</li> </ul>
500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 全身性の強直性/間代性痙攣</li> <li>・ 尾の創傷（咬傷）、皮膚痂皮形成</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 斑状肺</li> <li>・ 肺胞泡沫細胞集簇</li> <li>・ 前胃部の潰瘍、炎症性水腫、炎症性細胞浸潤及び慢性炎症</li> <li>・ 盲腸及び結腸の出血性、壊死性、潰瘍性または炎症性の限局性病変</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 全身性の強直性/間代性痙攣</li> <li>・ 尾の創傷（咬傷）、皮膚痂皮形成、陰分泌物</li> <li>・ 飲水量増加</li> <li>・ 斑状肺</li> <li>・ 皮膚痂皮形成</li> <li>・ 肺胞泡沫細胞集簇</li> <li>・ 右心室拡張</li> <li>・ 前胃部の潰瘍、炎症性水腫、炎症性細胞浸潤及び慢性炎症</li> <li>・ 肝細胞小葉周辺部脂肪変性</li> <li>・ 盲腸及び結腸の出血性、壊死性、潰瘍性または炎症性の限局性病変</li> <li>・ 膀胱の慢性炎症</li> <li>・ 腎盂慢性炎症及び腎炎</li> </ul>
50 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 27 慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）で痙攣が初めてみられた時期及び発現動物数

投与量 (ppm)		0			5			50			500			1,500 <sup>1)</sup>			
痙攣発現回数		1	2-4	>5	1	2-4	>5	1	2-4	>5	1	2-4	>5	1	2-4	>5	
雄	発現時期	0-14 週								1	1	4	1	20	23	3	
		15-52 週		5	1			1		1	1	7	17	15			
		53-104 週		1					1		1	2					
		0-104 週		6	1			1	1	1	3	10	21	16	20	23	3
		合計		7			1		5		47		46				
	1 匹あたりの平均痙攣発現回数		3.7			7		3.8		4.1 <sup>2)</sup>		2.1					
雌	発現時期	0-14 週									1	6	4	18	35	4	
		15-52 週			2	1	1	2			3	13	22	6			
		53-104 週					1	1	1			4	2				
		0-104 週			2	1	2	3	1		3	18	30	10	18	35	4
		合計		2		6		4		58		57					
	1 匹あたりの平均痙攣発現回数		5.5		4.7 <sup>3)</sup>		6		3.1		2.5						

- 1) : 試験 14 週に全例と殺した。  
 2) : 最多個体は 14 回 (1 例)。  
 3) : 最多個体は 11 回 (1 例)。

(4) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

MAG/NIH マウス (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (原体 : 2、20、200 及び 400 ppm : 平均検体摂取量は表 28 参照) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

表 28 18 カ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		2 ppm	20 ppm	200 ppm	400 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.222	2.25	22.6	62.9
	雌	0.217	2.12	22.0	61.2

400 ppm 投与群では、投与 9 週時に雄 5 匹、雌 29 匹が死亡したため、残りの生存動物は 9 及び 10 週時にと殺された。各投与群で認められた毒性所見は表 29 に、痙攣の初観察時期及び発現動物数は表 30 に示されている。

78 週時の検査で、200 ppm 投与群の雌雄各 1 例に WBC 増加がみられ、リンパ性白血病と診断されたが、本系統のマウスではリンパ性白血病は自然発生することが知られており、投与による影響とは考えられなかった。

200 ppm 投与群の雌雄の脾臓にヘモジデリン沈着がみられたが、最終と殺時の動物には有意差は認められず、血液学的検査でも退行性変性の増加を示す所見もみられなかったことから、投与による影響とは考えられなかった。

200 ppm 投与群の雌で腎のリンパ球及び組織球浸潤及び甲状腺の慢性壊死性炎症がみられたが、発生数も少なく投与による影響とは考えられなかった。

20 ppm 投与群の雄で肺腺腫の増加がみられたが、腺癌については、対照群と投与群との間に差は認められず、肺胞の上皮過形成も認められなかった。また、雌では肺腫瘍の発生頻度または発生時期に差はみられなかった。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雌雄で全身性の強直性/間代性痙攣等が認められたので、無毒性量は雌雄ともに 20 ppm（雄：2.25 mg/kg 体重/日、雌：2.12 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 44）

表 29 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
400 ppm		<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> </ul>
200 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 全身性の強直性/間代性痙攣</li> <li>・ 肺結節</li> <li>・ 肝細胞脂肪変性</li> <li>・ 前立腺炎症性病変、慢性炎症、腺組織の嚢胞状拡張</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 全身性の強直性/間代性痙攣</li> <li>・ 副腎比重量増加</li> <li>・ 肝細胞脂肪変性、門脈周囲/小葉中心部のび慢性壊死</li> </ul>
20 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 30 18 カ月間発がん性試験（マウス）で痙攣が初めてみられた時期及び発現動物数

投与量 (ppm)		0			2			20			200			400 <sup>1)</sup>			
痙攣発現回数		1	2-3	>4	1	2-3	>4	1	2-3	>4	1	2-3	>4	1	2-3	>4	
雄	発現時期	0-10 週												6	7		
		11-52 週									4	6	1				
		53-78 週	3		1	4	2		2	5		6	13	10			
		0-78 週	3		1	4	2		2	5		10	19	11	6	7	
		合計	4			6			7			40			13		
	1 匹あたりの平均痙攣発現回数	2			1.5			1.9			3.3 <sup>2)</sup>			1.7			
雌	発現時期	0-10 週									1			2	4		
		11-52 週				1						2					
		53-78 週				3	1		1			10	6				
		0-78 週				4	1		1			13	6		2	4	
		合計	0			5			1			19			6		
	1 匹あたりの平均痙攣発現回数	0			1.4			1.0			1.4			1.8			

1) : 試験 9 及び 10 週に全例と殺した。

2) : 最多個体は 9 回 (1 例)。

## 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 30 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、5、25、100 及び 250 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			5 ppm	25 ppm	100 ppm	250 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.4	1.8	7.1	18.0
		雌	0.5	2.4	10.0	24.6
	F <sub>1</sub> 世代	雄	0.4	1.9	7.8	19.6
		雌	0.5	2.5	10.2	24.2

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 32 に示されている。

P 世代及び F<sub>1</sub> 世代の 250 ppm 投与群の交尾率及び着床数は対照群と比べやや低値を示したが、いずれも統計学的な有意差はみられず、背景データの

範囲内にあることから、投与による影響とは考えられなかった。

P世代の親動物には検体投与に関連した毒性所見は認められなかった。

親動物において 250 ppm 投与群の雌雄に臓器重量の変化等が認められたので、無毒性量は 100 ppm (P 雄 : 7.1 mg/kg 体重/日、P 雌 : 10.0 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 7.8 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 10.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。また、児動物では 100 ppm 以上投与群の雌雄に立ち直り反射の遅延が認められたので、無毒性量は 25 ppm (P 雄 : 1.9 mg/kg 体重/日、P 雌 : 2.4 mg/kg 体重/日、F<sub>2</sub> 雄 : 1.9 mg/kg 体重/日、F<sub>2</sub> 雌 : 2.5 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 45)

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 <sub>1</sub>		親 : F <sub>1</sub> 、児 : F <sub>2</sub>	
		雄	雌	雄	雌
親動物	250 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加</li> <li>・ 心、肝、脾、腎及び精巣絶対重量増加</li> <li>・ 脳比重量低下</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加</li> <li>・ 心、脾及び副腎絶対重量増加</li> <li>・ 脳及び腎比重量低下</li> </ul>
	100 ppm 以下			100 ppm 以下毒性所見なし	100 ppm 以下毒性所見なし
児動物	250 ppm	・ 立ち直り反射遅延			
	100 ppm 以上	100 ppm 以下毒性所見なし		・ 立ち直り反射遅延	
	25 ppm 以下			毒性所見なし	

## (2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体 : 0、100、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒 : コーンスターチ) 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、摂餌量減少及び平均生存胎児数の減少がみられた。100 mg/kg 体重/日投与群で平均着床数及び平均生存胎児数の減少が認められたが、平均黄体数が減少したためと考えられた。吸収胚数の増加も認められなかった。また、100 mg/kg 体重/日投与群でみられたこれらの変化は背景データの範囲内にあり、生物学的に有意ではないと考えた。

胎児では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で、胸骨分節不完全化骨及び胸骨分