

ノバルロンに係る食品健康影響評価に関する審議結果について（案）

平成 15 年 10 月 29 日付け厚生労働省発食安第 1029001 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会委員長に意見を求められたノバルロンに係る食品健康影響評価について、農薬専門調査会において審議を行った結果は下記のとおりである。

なお、各種試験結果概要及び評価結果をまとめた評価書（案）を添付する。

記

ノバルロンの一日摂取許容量を 0.011mg/kg 体重/日と設定する。

(案)

農薬評価書

ノバルロン

2003年11月

食品安全委員会農薬専門調査会

<検討の経緯及び予定>

2001年11月28日 農薬登録申請

2003年10月29日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請

2003年11月6日 食品安全委員会（要請事項説明）

2003年11月12日 農薬専門調査会

2003年11月20日 食品安全委員会（報告）

2003年11月20日より12月17日 国民からの意見聴取

年 月 日 食品安全委員会（決定）

<食品安全委員会委員>

寺田雅昭（委員長）

寺尾允男（委員長代理）

小泉直子

坂本元子

中村靖彦

本間清一

見上 彪

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員>

鈴木勝士（座長）

廣瀬雅雄（座長代理）

石井康雄

江馬 眞

太田敏博

小澤正吾

高木篤也

武田明治

津田洋幸

出川雅邦

林 眞

平塚 明

吉田 緑

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺虫剤

2. 有効成分の一般名

和名：ノバルロン

英名：novaluron (ISO名)

3. 化学名

IUPAC

和名：(RS)-1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

英名：(RS)-1-[3-chloro-4-(1,1,2-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy)phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea

CAS(No.116714-46-6)

和名：N-[[[3-クロロ-4-[1,1,2-トリフルオロ-2-(トリフルオロメトキシ)エトキシ]フェニル]アミノ]カルボニル]-2,6-ジフルオロベンゾアミド

英名：N-[[[3-chloro-4-[1,1,2-trifluoro-2-(trifluoromethoxy)ethoxy]phenyl]aminocarbonyl]-2,6-difluorobenzamide

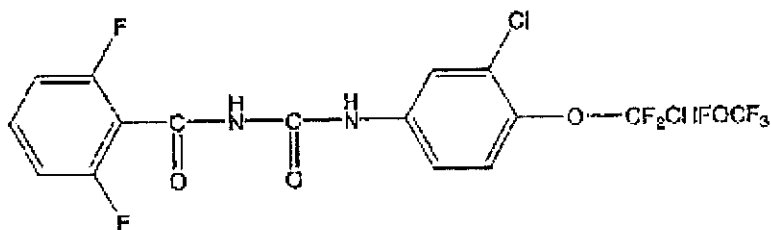
4. 分子式

$C_{17}H_9ClF_8N_2O_4$

5. 分子量

492.7

6. 構造式



7. 開発の経緯

本剤はジフルベンゾイルウレア系の殺虫剤であり、鱗翅目 (Lepidoptera)、甲虫目 (Coleoptera)、半翅目 (Hemiptera) 及び双翅目 (Diptera) に属する様々な昆虫の幼虫に対し防除効果を発揮する。

諸外国では南アフリカ、アルゼンチン、オーストラリア等で食用農作物に登録がなされており、2001年9月に米国において花卉類に対する害虫防除として登録が認可されている。

本剤は2001年11月に(株)エス・ディー・エス バイオテック(以下「申請者」とする。)より農薬取締法による登録申請がなされている。(参照1)

II. 試験結果概要

1. 動物体内運命試験

本剤のクロロフェニル環部分を ^{14}C で標識したもの（本剤 A ラベル体）及びジフルオロフェニル環を ^{14}C で標識したもの（本剤 B ラベル体）を用いて試験を行った。（他の代謝試験も同様）

本剤 A ラベル体を 2mg/kg 体重（低用量）又は 1000mg/kg 体重（高用量）、B ラベル体を 2mg/kg 体重をそれぞれ単回、また A ラベル体低用量を反復強制経口投与し、本剤の SD ラット（雌雄）を用いた動物体内運命試験を行った。

投与後の血漿中濃度が最高濃度（ C_{max} ）に達したのは、A ラベル体単回投与では 5～8 時間後に 0.03～0.04 $\mu\text{g eq/g}$ （低用量）、2～5 時間後に 1.86～3.01 $\mu\text{g eq/g}$ （高用量）、反復投与では 2～8 時間後に 0.04～0.05 $\mu\text{g eq/g}$ 、B ラベル体の低用量単回投与では 8 時間後に 0.04～0.05 $\mu\text{g eq/g}$ であった。その後、単回投与での放射能活性では 96 時間以降ではすべて検出されず、反復投与では雄ですべての時間（168 時間まで）、雌で 120 時間まで検出された。

組織濃度は脂肪中で最も高く、ついで肝、腎、脾及びリンパ節で高濃度であった。低用量と高用量での組織濃度を比較すると用量が 500 倍増加すると組織濃度は約 50～90 倍増加した。また、低用量単回投与と反復投与を比較すると、反復投与での組織中濃度は、3～5 倍高かった。低用量反復投与後の脂肪中の半減期は雄で 52 時間、雌で 56 時間であった。脂肪中の濃度が高いのは、ノバルロンが比較的代謝されにくく、その高い $\text{LogPow}(4.3)$ のため、主に未変化体が脂肪組織に分布し、そこに保持され、緩慢にしか組織外に排泄されないことに起因すると考えられた。タンパク結合量は脂肪中残留量の 1/5～1/10 程度であった。

A ラベル体の高用量投与での投与後 168 時間の尿への排泄はそれぞれ投与量の 0.6%（雌雄）、糞中排泄は、それぞれ投与量の 93.8%～95.4%（雌雄）で、体内残留率は 0.1%（雌雄）であった。B ラベル体の低用量投与での投与後 168 時間の尿への排泄は、17.5%～19.9%（雌雄）、糞への排泄は 168 時間で投与量の 76.0%～79.3%（雌雄）で、168 時間後の体内残留率は、0.7%～0.9%（雌雄）であった。主要排泄経路は糞中であると考えられた。また、投与量の 20%が吸収された。B ラベル体は A ラベル体と比較して尿への排泄量が多く、排泄速度も速かった。これは親化合物開裂後のジフルオロフェニル部位とクロロフェニル部位との代謝運命の差によるものと推察された。

A ラベル体投与後の尿中からは、未変化体を含む 14 放射性成分を検出し、12 成分が未同定であり、1 成分が代謝物 3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)アニリンと同定された。同代謝物は親電子活性代謝中間体であり、血液毒性に関連すると考えられる。低用量ならびに高用量投与後の尿で検出された成分は、それぞれ投与量の 1.0%以下であり、未変化体が投与量の 0.1%以下であった。低用量反復投与後の尿では、雌雄とも同じ成分が検出され、いずれの成分も投与量の 2.5%以下であり、未変化体が投与量の 0.3%以下であった。B ラベル体単回投与後の尿試料では、8 放射性成分を検出した。尿中放射能（投与量の 15.7～18.0%）のうち、主要代謝物として 2,6-ジフルオロ安息香酸（投与量の 10.6～12.0%）が同定されたが、6 成分は同定できなかった。また、糞中から

検出した主要成分は未変化体であった。A ラベル体投与後の胆汁中では、11 成分が検出され、未変化体と 3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)アニリンがそれぞれ投与量の 0.1%と 0.2%、その他の成分は投与量の 0.1%~0.2%であった。B ラベル体投与後の胆汁中では未変化体を含む 15 成分が検出されたが、その量は少なく、投与量の 0.1%以下であった。

ラットへの本剤の経口投与での主要代謝経路はクロロフェニル環とジフルオロフェニル環部位間のアミド (アロファノイル) 結合の加水分解であると考えられる。(参照 2)

2. 植物体内運命試験

(1) キャベツにおける植物体内運命試験

本剤 A ラベル体及び B ラベル体を 30~45g/ha で収穫 8 週間前及び 6 週間前もしくは収穫 5 週間前及び 2 週前の 2 回散布した後に検体としてキャベツ茎葉を採取し、本剤のキャベツにおける植物体内運命試験を行った。収穫時の放射性残留物レベル (ノバルロン換算で表す。以下同様) 0.234~0.448ppm であった。放射能の大部分はアセトニトリルにより植物体の表面から洗浄除去された。外葉及び内葉から抽出された放射性物質の比率は総残留放射能 (TRR) の 8.0~15.3%であった。全期間を通じ、その他の水溶性残留物は TRR の 1.0%以下であり、非抽出性放射性残留物のレベルは TRR の 2.8%以下であった。これらの抽出された放射性物質はほとんどすべて (95.6~99.9%) 未変化体であった。

キャベツに処理された本剤はその大部分が外葉から検出され、検出された主要放射能成分は未変化体のみであった。本剤はキャベツにおいてほとんど代謝を受けないと考えられる。(参照 3)

(2) ジャガイモにおける植物体内運命試験

本剤 A ラベル体及び B ラベル体を 91~100g/ha で収穫 43 日前及び 29 日前の 2 回散布し、検体として葉と塊茎を採取し、本剤のジャガイモにおける植物体内運命試験を行った。

放射性残留レベルは 2 回目の処理後、収穫前 10 日では減少していたが、収穫時では葉が枯れていたため増大し、5.89~9.87ppm であった。放射能の大部分はアセトニトリルにより植物体の表面から洗浄除去された。葉から抽出された放射性物質の比率は TRR の 15.5~18.7%であった。全期間を通じ、水溶性残留物は TRR の 0.6%以下であり、非抽出性放射性残留物のレベルは TRR の 1.2%以下であった。これらの抽出された放射性物質はほとんどすべて (96.4~99.6%) 未変化体であった。塊茎から検出された放射性残留物はきわめて低いレベル (<0.01ppm) だったため、塊茎では TRR の調査しか行わなかった。

ジャガイモに処理された本剤はジャガイモの葉に残留し、塊茎には顕著な放射能が検出されないことから、葉に処理された本剤は塊茎に移行しないと考えられる。本剤はジャガイモにおいてほとんど代謝を受けないと考えられる。(参照 4)

(3) りんごにおける植物体内運命試験

本剤 A ラベル体及び B ラベル体を 25g/ha で収穫 110 日前及び 90 日前の 2 回または収穫 110 日前、90 日前及び 60 日前の 3 回散布し、検体として葉と果実を採取し、本剤のりんごにおける植物体内運命試験を行った。

収穫時の果実の放射性残留物レベルは2回処理で0.02ppm、3回処理で0.03~0.04ppm、葉の放射性残留物レベルは2回処理で0.6~1.1ppm、3回処理で0.9~2.9ppmであった。アセトニトリルを用いた果実の表面洗浄液中の放射能比は47~57%であった。果実から抽出された放射性物質の比率は41~50%であり、その大部分は果皮で回収された。非抽出性放射性残留物のレベルは3~5%であった。葉の表面洗浄液中の放射能比は72~82%であった。葉から抽出された放射性物質の比率は18~26%であった。非抽出放射性残留物のレベルは3%以下であった。これらの抽出された放射性物質はほとんど未変化体であり、果実（表面洗浄液と抽出物の合計）ではTRRの88.9%以上、葉では92.6%以上検出された。他の成分は果実で1.3%（0.001ppm）及び葉で1.7%（0.024ppm）以下であった。また、顕著な放射能（>0.01ppm）は本剤を3回処理後の防護袋で覆った果実からは検出されなかった。

りんごに処理した本剤の大部分は果皮から検出され、残留した放射能成分は未変化体のみであることから、本剤はりんごにおいてほとんど代謝を受けないと考えられる。また、防護袋で覆った果実の試験結果より移行はしないものと考えられる。（参照5）

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌代謝試験（分解経路）

本剤 A ラベル体及び B ラベル体を 0.13ppm の用量で砂壤土（Arrow）に添加し、181 日間インキュベーションし、本剤の土壌中運命試験を行った。

その結果、抽出放射能は時間とともに減少し、181 日後では A ラベル体及び B ラベル体の添加試料でそれぞれ 64.0%及び 61.7%に減少した。A ラベル体に関しては、土壌中残留物は 14 日以降で 10%以上であり、一部残留試料について分画した結果は土壌中残留物の 65%がフミン画分、6%がフルボ酸画分、その他はフミン酸画分であった。B ラベル体を処理した試料の土壌結合残留物はすべての採取時点で 10%未満であった。A ラベル体の主要代謝物は 1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]ウレアと同定され、この代謝物は 7 日後に最大の 18.1%となり、120 日後では 4.9%となった。他の代謝物は 3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)アニリン であり、14 日後から試験中に約 5%認められた。B ラベル体の主要代謝物は $^{14}\text{CO}_2$ であり、最大で 26.5%を示した。揮発性放射能の生成は A ラベル体処理区では顕著でなく、4.3%（120 日）が最大であった。B ラベル体では、揮発性放射能として CO_2 が時間とともに増加し、処理後 59 日以降は約 20%でほぼ一定となり、181 日で 26.5%（累積）であった。他の同定代謝物は 2,6-ジフルオロ安息香酸であったが、その量はわずかであり、さらに 6 種類の未同定代謝物が 3.6%以下で検出された。土壌中の本剤の半減期及び 90%分解期間はそれぞれ 9.9 日及び試験期間（181 日）以上であった。主要代謝物である 1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]ウレアの半減期及び 90%分解期間はそれぞれ 23.7 日及び試験期間（181 日）以上であった。（参照 6）

(2) 好氣的土壌代謝試験

本剤 A ラベル体を 0.13ppm の用量で粘土、砂壤土、シルト質埴壤土の各土壌に添加し 120 日間インキュベーション（20℃、粘土は 10℃も実施）し、本剤の土壌中運命試験を行

った。粘土、砂壤土、シルト質埴壤土の各土壌での本剤の半減期はそれぞれ 12 (20℃) 及び 20 (10℃)、10、5 日であり、主要代謝物である 1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]ウレアの半減期はそれぞれ 50 (20℃) 及び 110 (10℃)、46、64 日であった。(参照 7)

(3) 土壌吸着試験

砂丘未熟土(砂土)、灰色低地土(軽埴土)、淡色黒ボク土(壤土)、灰色低地土(軽埴土)を用いて実施しようとしたが、ノバルロンの水溶解度が小さいため、予備試験において、すべての土壌試験系水層からノバルロンを検出・測定することができず、土壌吸着係数は求めることができなかった。(参照 8)

4. 水中加水分解運命試験

本剤の A ラベル体及び B ラベル体を pH 5.0 (0.01M 酢酸ナトリウム緩衝液)、pH 7.0 (0.01M リン酸ナトリウム緩衝液)、pH 9.0 (0.01M ホウ酸ナトリウム緩衝液)の各緩衝液に 1.5 µg/L の濃度になるように加え、25、50、70℃において 30 日間インキュベーションし、本剤の水中加水分解試験を行った。水溶液中における本剤の消失率は擬 1 次反応に従うと仮定して半減期を算出したところ、pH 9.0 における推定半減期は、25、50、70℃の各温度において、それぞれ 101、1.2、0.09 日であった。25℃で pH5.0 及び 7.0 の試験水溶液では変化が認められなかった。

pH 9.0 の試験液中から、2,6-ジフルオロ安息香酸、2,6-ジフルオロベンズアミド、1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]ウレア、3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)アニリンが同定された。(参照 9)

5. 水中光分解試験

(1) 水中光分解試験(蒸留水、自然水)

蒸留水(オートクレーブ滅菌)または自然水(除菌ろ過)に、本剤を 1.99 µg/L の濃度になるように処理し、25.0~25.5℃で 7 日間キセノン光(280~800nm の範囲で 56.7~62.2W/m²)を照射し、本剤の水中光分解試験を行った。本剤の残存率は 7 日後に蒸留水で 56.4%、自然水で 76.5%であり、半減期はそれぞれ 7.5 及び 15.1 日と推定された。遮光区の本剤残存率は 7 日後に蒸留水では 102.4%、自然水では 93.2%と残存していたことから本剤の主な分解経路は光分解によると考えられる。(参照 10)

(2) 水中光分解試験(緩衝液)

本剤 A ラベル体及び B ラベル体を pH5.0 (酢酸ナトリウム緩衝液)の滅菌緩衝液に 1.5 µg/L の濃度になるように加え、25℃で 15 日間キセノン光(290~400nm の範囲で 42.8~49.2W/m²)を照射し本剤の水中光分解試験を行った。本剤の照射溶液中での半減期は、北緯 40° の夏期の太陽光の日数に換算して 139 日であった。この期間は照射期間の約 2 倍であった(15 日間の照射は当該太陽光線換算で 67 日に相当)。本剤の光分解生成物は両方のフェニル環を含有する生成物及びクロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のい

れかのみを含有する開裂による生成物が検出され、生成物のうちの1種は最高で処理放射エネルギーの23.6%を占めており、2,6-ジフルオロベンズアミドと同定されたが、他の生成物は少量（処理放射エネルギーの10%以下）であった。本剤は暗所対照溶液中でわずかに分解し、15日間のインキュベーション後には処理放射能の約85%を占めていた。（参照11）

（3）水中光分解試験（自然水）

本剤Aラベル体及びBラベル体をpH 8.25の滅菌自然水に約1.5 μ g/Lの濃度になるように加え、25 $^{\circ}$ Cで7日間キセノン光（300～400nmの範囲で平均39.1W/m²）を照射し、本剤の水中光分解試験を行った。本剤の照射溶液中での半減期は、東京（北緯35 $^{\circ}$ ）の春期太陽光の日数に換算して31.3日に相当した。本剤光分解生成物を分離したところ、両方のフェニル環を含有する生成物及びクロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれかのみを含有する開裂による生成物が検出され、生成物のうち1種は最高で処理放射エネルギーの19.4%を占めており、2,6-ジフルオロベンズアミドと同定されたが、他の生成物は少量であった（回収された放射能の10%以下）。本剤は暗所対照容器中でもわずかに分解し、7日間のインキュベーション後には処理放射能の約73%を占めていた。

本剤の水中光分解経路として、クロロフェニル環及びジフルオロフェニル環部位間のアミド（アロファノイル）結合の加水分解、又はクロロフェニル環及びジフルオロフェニル環の置換基を変換する経路が存在すると考えられる。（参照12）

6. 作物残留試験

トマト、なす、キャベツ及びはくさいを用いて、ノバルロンを分析対象化合物とした作物残留試験が実施されている。その結果は表1のとおりであり、最高値は、85gAI/haで3回散布し最終散布後7日目に収穫したはくさいの0.41ppmであった。試験数は多くないものの特異的に高く残留する作物は認められなかった。（参照13～14）

表1 作物残留試験成績

作物名	試験圃場数	剤型	使用量 (gAI/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値(ppm)	
						最高値	平均値
トマト（施設）	2	EC	85～137	4	1	0.32	0.21
				4	3	0.33	0.21
				4	7	0.32	0.23
なす（施設）	2	EC	78～89	4	1	0.15	0.10
				4	3	0.17	0.08
				4	7	0.07	0.04
キャベツ（露地）	2	EC	85	3	7	0.33	0.17
				3	14	0.27	0.11
				3	21	0.21	0.08

はくさい (露地)	2	EC	85	3	7	0.41	0.25
				3	14	0.36	0.20
				3	21	0.36	0.14

注) PHI: 最終使用-収穫間隔日数

AI: 有効成分量

EC: 乳剤

7. 土壌残留試験

火山灰軽植土、沖積植壤土を用いて、ノバルロン及び2種類の代謝物を分析対象化合物とした土壌残留試験 (容器内及び圃場) が実施されている。その結果は表2のとおりであり、推定半減期は、ノバルロンとして6~34日、ノバルロンと代謝物との含量として6~43日であった。(参照15)

表2 土壌残留試験成績 (推定半減期)

試験	土壌	親化合物	親化合物+代謝物
容器内試験	火山灰植壤土	6日	6日
	沖積植壤土	25日	29日
圃場試験	火山灰植壤土	34日	43日
	沖積植壤土	25日	38日

注) 代謝物 ①1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ)-2-トリフルオロメトキシエトキシ]フェニルウレア

②2,6-ジフルオロベンズアミド

8. 急性毒性試験

SDラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験及び急性吸入毒性試験が実施されている。

本剤の急性経口LD₅₀はラットの雌雄で>5000mg/kg体重、経皮LD₅₀はラットの雌雄で>2000mg/kg体重、吸入LC₅₀はラットの雌雄で>5150mg/m³であった。(参照16~18)

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

ニュージーランド白色ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験を実施したところ、眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization法) を実施したところ皮膚感作性は認められなかった。(参照19~21)

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、回復群: 一群雌雄各5匹) を用いた混餌 (原体: 0, 50, 100, 10000, 20000ppm) 投与による90日間亜急性毒性試験において、20000ppm投与群の雄で脾の絶対重量増加、雌で尿量の増加が、10000ppm以上投与群の雌雄で脾の髓外造血亢進、血色素量の低下、メトヘモグロビン濃度及び網状赤血球数の増加が、雄で赤血球数の

低下、ヘモジデリン沈着の増加が、雌で脾体重比重量（「体重比重量」は、以下「比重量」とする。）の増加、肝の髓外造血亢進及びクッパー細胞の色素沈着が、100ppm 以上投与群の雌で血色素量及びヘマトクリット値の低下が、50ppm 以上投与群の雄でビリルビン値の上昇、雌で赤血球数の低下、ヘモジデリン沈着の増加が認められた。

本試験における無毒性量は雌雄で 50ppm（雄：4.2mg/kg 体重/日、雌：4.7mg/kg 体重/日相当）未満であると考えられる。（参照 22）

(2) 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 12 匹、回復群：一群雌雄各 6 匹）を用いた混餌（原体：0, 30, 100, 1000, 10000ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験において、10000ppm 投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大が認められ、1000ppm 以上投与群の雌雄で脾比重量の増加が、雄で赤血球数及びヘマトクリット値の低下が、雌で網状赤血球数の増加が、100ppm 以上投与群の雌雄で総ビリルビン濃度の上昇が、雄でメトヘモグロビン濃度の低下、スルフヘモグロビンの高値が、雌で赤血球数及びヘマトクリット値の低下が認められた。

本試験での無毒性量は雌雄で 30ppm（雄：4.2mg/kg 体重/日、雌：4.7mg/kg 体重/日）であると考えられる。（参照 23）

(3) 90 日間亜急性毒性試験（イヌ、高用量）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹、回復群：一群雌雄各 2 匹）を用いた経口（原体：0, 100, 300, 1000mg/kg 体重）投与による 90 日間亜急性毒性試験において、1000mg/kg 体重投与群の雌で網状赤血球数、脾比重量の増加が、300mg/kg 体重以上投与群の雌雄でメトヘモグロビン濃度の上昇、平均赤血球容積の上昇、肝クッパー細胞での色素沈着が、雌で血色素量の低下、赤血球数の減少が、100mg/kg 体重以上投与群の雌雄で平均赤血球血色素濃度の減少、網状赤血球標本における Heinz 小体が、雄で網状赤血球数の増加が認められた。本試験における無毒性量は雌雄で 100mg/kg 体重/日未満であると考えられる。（参照 24）

(4) 90 日間亜急性毒性試験（イヌ、低用量）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた経口（原体：10mg/kg 体重（対照群のデータとして、同時に同じ動物室で実験したビーグル犬の 52 週間慢性毒性試験における対照群のデータを用いた））投与による 90 日間亜急性毒性試験において、雌雄で間質性肺炎、頭蓋咽頭管嚢胞、リンパ節洞内赤血球貧食（比較対象が 52 週間慢性毒性試験の動物なので週齢が異なる）が、雄で白血球数の増加、アラニンアミノトランスフェラーゼ及びグルコースの上昇が、雌で無機リン値の低下、網状赤血球数の上昇が認められた。

雌の網状赤血球数は正常範囲内（0.1～3.2%）であり、雄の白血球数の上昇は、先に実施した 1000mg/kg 体重群で白血球数に異常が認められていないことから、この変動は偶発的なものと考えられる。また、雄のアラニンアミノトランスフェラーゼ及びグルコースの上昇、雌の無機リン値の低下は投与 2 週前に測定した値においても同様な傾向を示していることから、投与に関連する変化ではないと考えられる。病理組織所見は本系統のイヌの同年齢の動物に通常認められる病変と同様であるとみられ、本剤投与に関連する所見とはみなさない。

本試験における無毒性量は雌雄で 10mg/kg 体重/日であると考えられる。(参照 25)

11. 慢性毒性試験／発がん性試験

(1) 52 週間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた経口 (原体 : 0, 10, 100, 1000mg/kg 体重) 投与による 52 週間慢性毒性試験において、1000mg/kg 体重投与群の雌雄でヘマトクリット値、赤血球数、総ビリルビンの増加、血色素量の減少及び肝褐色色素細胞凝集 (主としてクッパー細胞内へのヘモジデリン沈着) が、雄で平均赤血球容積、メトヘモグロビンの増加が、100mg/kg 体重以上投与群の雌雄で平均赤血球血色素濃度の低下、Howell-Jolly 小体、Heinz 小体及び脾洞うっ血の増加が、雄で網状赤血球数、脾比重量の増加が、10mg/kg 体重以上投与群の雌雄で胸骨及び大腿骨骨髓の造血充進が認められた。10mg/kg 体重投与群で観察された造血充進は、本剤投与が 10mg/kg 投与群の赤血球に対し軽度の影響を与えていたことを示唆するが、他の赤血球関連項目 (ヘマトクリット値等) に異常がなかったこと、脆弱な赤血球生成を示唆する脾臓、肝臓のヘモジデリン沈着 (褐色色素沈着) が増加しなかったこと、貧血の代償性反応である骨髓の明瞭な造血充進がなかったことから、10mg/kg 投与群はイヌの生理的恒常性を損なわないものと考えられる。

本試験における無毒性量は雌雄で 10mg/kg 体重/日であると考えられる。(参照 26)

(2) 慢性毒性 (52 週間) / 発がん性 (24 ヶ月間) 併合試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 72 匹 (慢性毒性試験群 ; 一群雌雄各 20 匹、発がん性試験群 ; 一群雌雄各 52 匹)) を用いた混餌 (原体 : 0, 25, 700, 20000ppm) 投与による慢性毒性 (52 週間) / 発がん性 (24 ヶ月間) 併合試験において、20000ppm 投与群の雌雄で平均赤血球血色素量の増加、Heinz 小体及び Howell-Jolly 小体が、雄で小葉中心性肝細胞肥大の増加 (52 週間慢性毒性試験群の雄の高用量のみで増加しており、同じ投与量の発がん性試験群では認められていない) 、平均赤血球容積 (MCV) の増加、血色素量及び赤血球数の低下、網状赤血球数の増加が、雌で肝クッパー細胞色素沈着の増加が、700ppm 以上投与群の雌雄でメトヘモグロビン濃度の上昇が、雄で平均赤血球血色素濃度の低下、脾ヘモジデリン沈着の増加が、雌で MCV、血小板数、網状赤血球数及び腎皮質尿細管色素沈着頻度の増加 (有意差は 20000ppm のみ) 、ヘマトクリット値、血色素量及び赤血球数の低下、脾比重量の増加及び肝髄外造血充進が認められた。腫瘍性病変については、各腫瘍発生頻度に本剤投与の影響は見られなかった。

本試験における無毒性量は雌雄で 25ppm (雄 : 1.1mg/kg 体重/日、雌 : 1.4mg/kg 体重/日) であると考えられる。発がん性は認められない。(参照 27)

(3) 18 ヶ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (主群 : 一群雌雄各 51 匹、衛星群 : 一群雌雄各 15 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 30, 450, 7000ppm) 投与による 18 ヶ月間発がん性試験において、7000ppm 投与群の雌雄で網状赤血球数及びクッパー細胞色素沈着の増加が、雌では平均赤血球血色素量、腎皮質尿細管色素沈着及び肝比重量の増加、副腎皮髄質セロイドの沈着の減少、脾臓のうっ血が、450ppm 以上投与群の雌雄では、ヘマトクリット値、血色素量及び赤血球数の減少、網状

赤血球数の増加、血液封入体（Heinz 小体、屈折小体、突出小体）、脾腫大、脾の髓外造血亢進及びヘモジデリン沈着の増加が、雄で脾臓のうっ血が、雌では脾比重量の増加及び肝の髓外造血亢進が認められた。腫瘍性病変については対照群と比べて統計学的有意差の認められたものはなかった。

本試験における無毒性量は雌雄で 30ppm（雄：3.6mg/kg 体重/日、雌：4.3mg/kg 体重/日）であると考えられる。発がん性は認められない。（参照 28）

12. 繁殖毒性試験／催奇形性試験

（1）繁殖試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 28 匹）を用いた混餌（原体：0, 1000, 4000, 12000ppm）投与による 2 世代繁殖試験において、親動物では、12000ppm 投与群の雌雄で脾ヘモジデリン沈着症が、雄で腎実重量（F₀）、肝小葉像明瞭（F₀）、脾腫大（F₀）の増加、精巣上体及び精囊比重量の減少（F₀）、小葉中心性肝細胞肥大（F₁）が、雌で子宮広間膜ヘモジデリン沈着の増加（F₀）、小葉周辺性肝細胞脂肪変性（F₁）が、4000ppm 以上投与群の雄で腎比重量の増加（F₁）が、1000ppm 以上投与群の雌雄で脾比重量の増加（F₀,F₁）が認められた。

4000ppm 以上投与群の雄（F₁）でみられた精巣上体精子数の減少傾向は、背景データの範囲内に含まれる値であり、また、精巣及び精巣上体には投与に関連した影響は見受けられず、繁殖に関する所見も対照群と同様であったことから、精巣上体精子数の減少傾向は本剤投与による影響ではないと考えられた。

児動物では 12000ppm 投与群の雌雄で生存児数の減少（F₁：哺育 14,21 日）、脾比重量の増加が、1000ppm 以上投与群の雌雄で（F₁ 雌の 1000,4000ppm 投与群を除き、）肝比重量の増加が認められた。

本試験における無毒性量は親動物及び児動物の雌雄で 1000ppm（F₀ 雄：74.2mg/kg 体重/日、F₀ 雌：90.7mg/kg 体重/日、F₁ 雄：97.8mg/kg 体重/日、F₁ 雌：106.0mg/kg 体重/日）未満であると考えられる。繁殖への影響は認められない。（参照 29）

（2）催奇形性試験（ラット）

妊娠 SD ラット（一群雌 22 匹）を用いた経口（原体：0, 250, 500, 1000mg/kg 体重）投与による催奇形性試験において、母動物では 250mg/kg 体重以上投与群で体重増加及び摂餌量の増加が認められたものの、1000mg/kg 体重においても剖検所見及び着床所見で本剤による影響はみられなかった。胎児にも本剤投与の影響はみられなかった。

本試験における無毒性量は、母動物及び胎児動物で 1000mg/kg 体重/日であると考えられる。催奇形性は認められない。（参照 30）

（3）催奇形性試験（ウサギ）

妊娠ニュージーランド白色ウサギ（一群雌 22 匹）を用いた経口（原体：0, 100, 300, 1000mg/kg 体重）投与による催奇形性試験では 1000mg/kg 体重投与群で投与終了後の母動物の体重増加抑制が、300mg/kg 体重以上投与群の胎児において第 5 胸骨分節不完全骨化発生率の増加が認められた。

試験実施者は、300mg/kg 体重以上投与群における胎児の第 5 胸骨分節不完全骨化発生

率の増加が統計学的に有意ではなく、毒性学的な意味はないと判断したが、申請者は、第5胸骨分節不完全骨化発生率の増加については、300 mg/kg 体重投与群、1000 mg/kg 体重投与群では、その背景データ範囲の上部にあり、本剤投与の影響であると判断した。

本試験における無毒性量は母動物で 300mg/kg 体重/日、胎児動物で 100mg/kg 体重/日であると考えられる。催奇形性は認められない。(参照 31)

13. 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト培養リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験が標準的な方法で行われ、試験結果は全て陰性であった(表 3)。

本剤に遺伝毒性はないものと考えられる。(参照 32~34)

表 3 遺伝毒性試験結果概要

試験		対象	投与量 (mg/kg 体重)	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 (±S-9)	TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2 <i>uvrA</i> 株	/	陰性
	染色体異常試験 (±S-9)	ヒト培養リンパ球		陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス雌雄各 5 匹	1250, 2500, 5000 (単回経口投与)	陰性

注) ±S-9 : 代謝活性系存在下及び非存在下