

(3) 水中光分解試験 (滅菌自然水)

¹⁴C-エチプロールを滅菌自然水緩衝液に濃度が約 4.4 μg/L になるように加え、25 ± 0.2°C で 765W/m² (300~800nm) の光照射下において 96 時間インキュベーションし、エチプロールの光分解試験が実施された。

試験終了時では、エチプロールが 2.0% TAR、主要分解物としては N が 1.0% TAR、P が 4.9% TAR 及び ¹⁴CO₂ が 14.7% TAR 検出された。北緯 35 度、春における自然太陽光下の半減期は、1.3 日と考えられた。

主要分解経路は、ピラゾール環とフェニル環との間の閉環 (N)、その後の水酸化 (P) であると考えられる。(参照 14)

5. 作物残留試験

水稻、りんご及び茶を用いて、エチプロール及び代謝物 B を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

その結果は表 2 のとおりであり、最高値は 200g a.i./ha で 1 回散布し、最終散布後 7 日目に収穫した茶 (荒茶) の 3.18mg/kg であったが、14 日目、21 日目には、それぞれ 2.45mg/kg、0.35mg/kg と減衰した。玄米からのエチプロール及び代謝物 B の検出値は全ての条件下で 0.05mg/kg 以下であった。(参照 15~16)

表 2 作物残留試験成績

作物名 (分析部位) 実施年度	試験 圃場数	剤型	使用量 (g a.i./ha)	回数 (回)	PHI 経過日数 (日)	残留値(mg/kg)			
						エチプロール		代謝物B	
						最高値	平均値	最高値	平均値
水稻 (玄米) 2000年度	2	P	200	1	14	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
				1	21	0.010	0.006*	0.006	0.005*
				1	28	0.009	0.006*	0.007	0.006*
				2	14	0.008	0.006*	0.005	0.005*
				2	21	0.012	0.008*	0.008	0.006*
				2	28	0.014	0.009*	0.010	0.007*
水稻 (稲わら) 2000年度	2	P	200	1	14	0.13	0.08	0.10	0.07
				1	21	0.10	0.07	0.17	0.11
				1	28	0.10	0.06*	0.18	0.11
				2	14	0.22	0.14	0.19	0.15
				2	21	0.10	0.07	0.17	0.12
				2	28	0.07	0.05	0.14	0.10
水稻 (玄米) 2002年度	2	WP	200	2	14	0.026	0.020	0.016	0.012
	1			2	19	0.03	0.028	0.016	0.013
	2			2	28	0.05	0.039	0.030	0.023
	2			2	42	0.015	0.011*	0.017	0.011*
	2			2	56	<0.01	<0.008	<0.01	<0.008

水稲 (稲わら) 2002年度	2	WP	200	2	14	0.8	0.48	0.8	0.53
	1			2	19	0.5	0.48	0.52	0.46
	2			2	28	0.80	0.55	1.10	0.74
	2			2	42	0.28	0.21	0.55	0.38
	2			2	56	0.22	0.16*	0.41	0.28
りんご (果実) 2001年度	2	WP	400	2	14	0.398	0.186	0.031	0.019
				2	21	0.145	0.074	0.020	0.015
				2	28	0.031	0.025	0.012	0.009
				2	42	0.035	0.025	0.013	0.011
茶 (荒茶) 2001年度	2	WP	200	1	7	3.18	2.21	0.88	0.59
				1	14	2.45	1.36	1.19	0.67
				1	21	0.35	0.19	0.43	0.21
				1	21	0.13	0.10	0.12	0.09
茶 (浸出液) 2001年度	2	WP	200	1	7	2.28	1.60	0.51	0.37
				1	14	1.59	0.98	0.72	0.44
				1	21	0.13	0.10	0.12	0.09

注) a.i.: 有効成分量、PHI: 最終使用-収穫間隔日数

P: 粉剤、WP: 水和剤

- ・一部に検出限界以下を含むデータの平均を計算する場合は検出限界値を検出したものとして計算し、※印を付した。
- ・全てのデータが検出限界以下の場合は検出限界値の平均に<を付して記載した。
- ・代謝物Bの分析値はエチプロールに換算して記載した。
換算係数はエチプロール/代謝物B = 3.97.2/412.2=0.96

上記の作物残留試験に基づき、エチプロール（親化合物のみ）を暴露評価対象化合物として国内で栽培される農産物から摂取される推定摂取量を表3に示した。なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からエチプロールが最大の残留を示す使用条件で、全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仮定の下に行った。

表3 食品中より摂取されるエチプロールの推定摂取量 (単位: $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)

作物名	残留値 (mg/kg)	国民平均		小児 (1~6歳)		妊婦		高齢者 (65歳以上)	
		ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量
米	0.039	185.1	7.22	97.7	3.81	139.7	5.45	188.8	7.36
りんご	0.074	35.3	2.61	36.2	2.68	30.0	2.22	35.6	1.89
茶	2.21	3.0	6.63	1.4	3.09	3.5	7.74	4.3	9.50
合計			16.5		9.6		15.4		18.8

- 注) ・残留値は、申請されている使用時期・使用回数による各試験区の平均残留値のうちエチプロールの最大値を用いた(参照表2)。
- ・「ff」: 平成10年~12年の国民栄養調査(参照17~19)の結果に基づく農産物摂取量(g/人/日)
 - ・「摂取量」: 残留値及び農産物残留量から求めたエチプロールの推定摂取量($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)

6. 乳汁への移行試験

ホルスタイン種の泌乳牛（2頭）を用い、エチプロール（4mg/頭/日）及び代謝物 B（2.8mg/頭/日）を7日間連続強制経口投与し乳汁移行試験が実施された。

投与開始1日後から最終投与5日後まで、搾乳した試料からエチプロール及び代謝物 Bは検出されなかった。（参照 20）

7. 土壌残留試験

火山灰土及び鉍質土を用いて、エチプロール及び各種分解物を対象とした土壌残留試験（容器内及び圃場）が実施された。

推定半減期は各条件で表4のとおりであり、エチプロールとしては3.9～28日と長くないものの、エチプロールと分解物 B、E、C、Dとの合計では最長254日であった。（参照 21）

表4 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	条件	濃度*	土壌	エチプロール	エチプロール+ 分解物 B,E	エチプロール +分解物B,E,C,D
容器内試験	水田	0.2mg/kg	火山灰土	3.9日	231日	—
			鉍質土	4.6日	219日	—
	畑地	0.8mg/kg	火山灰土	25日	109日	254日
			鉍質土	9.2日	82日	148日
圃場試験	水田	200g a.i./ha	火山灰土	4.2日	54日	—
			鉍質土	3.9日	5.4日	—
	畑地	700g a.i./ha	火山灰土	18日	32日	39日
			鉍質土	28日	83日	88日

※容器内試験で純品、圃場試験の水田で水和剤、畑地で粒剤を使用

8. 急性毒性試験

エチプロールの Wistar ラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験、SD ラットを用いた急性吸入毒性試験が実施された。

エチプロールを 5000mg/kg 体重又は 7080mg/kg 体重の用量で Wistar ラット（一群雌雄各 5 匹）に単回経口投与すると、5000mg/kg 体重投与群の雄で 1 匹、雌で 2 匹に死亡が認められ、中枢神経系の抑制と考えられる自発運動の低下、眼瞼下垂、円背位が認められた。7080mg/kg 体重投与群では、雄では死亡は認められず、雌で 1 匹死亡が認められたが、臨床症状は認められなかった。再度、同様の条件で 2000mg/kg 体重又は 5000mg/kg 体重の用量でラットに投与したところ、2000mg/kg 体重の雌雄で 5 匹中 1 匹が、5000mg/kg 体重の雌雄で 5 匹中 2 匹がそれぞれ死亡し、各用量群とも鎮静、筋緊張、円背位、過敏等の神経症状が認められた。これらの結果、急性経口 LD₅₀ はラットの雌雄で >7080mg/kg 体重であったが、体内吸収が飽和域に達し、用量相関が認められなかったものと考えられる。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 $>5.2\text{mg/L}$ であった。(参照 22~25)

8種類の代謝物について Wistar 及びSDラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。

代謝物 C、D 及び K の急性経口 LD_{50} はラットの雌雄でいずれも $>5000\text{mg/kg}$ 体重、代謝物 B、E、P 及び F の急性経口 LD_{50} はラットの雌雄でいずれも $>2000\text{mg/kg}$ 体重、代謝物 N の急性経口 LD_{50} はラットで $423\sim 439\text{mg/kg}$ 体重であった。(参照 26~33)

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一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施されており、眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。(参照 34~35)

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施されており、皮膚感作性は認められなかった。(参照 36)

10. 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, 5, 20, 500, 2500ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

2500ppm 投与群の雌雄で死亡 (8 例)、立毛、運動活性の変動、血小板数、トリグリセリド、血漿中カリウム、 T_3^2 の増加、MCHC の減少が、雄で立毛、運動活性の変動、低体重、摂餌量の減少、ヘマトクリット、ヘモグロビン及び総コレステロールの減少、ALT の増加、肝細胞肥大、肝細胞壊死が、雌で腎黄褐色色素沈着が、500ppm 以上投与群の雌雄で死亡 (雄 1 例、雌 3 例)、MCV、MCH 及び T_4 の減少、総タンパク、血漿中カルシウム及び TSH の増加、肝及び甲状腺体重比重量 (以下「比重量」とする) の増加、肝及び甲状腺肥大、肝及び腎暗色化、小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺濾胞上皮細胞肥大/過形成、有意差はないものの肝細胞肥大 (雄 2500ppm では有意差あり) が、雄でプロトロンビン時間の延長が、雌でヘマトクリット、ヘモグロビン、総コレステロール及び血漿中塩素の減少が認められた。

2500ppm 投与群雄で認められた 8 例は、死亡動物の剖検所見に不特定多数の臓器で出血及び重度の肝細胞壊死が認められたこと、生存動物ではプロトロンビン時間の延長が認められたことなどから、最大耐量を超える高用量による肝傷害の結果血液凝固系が障害をうけて出血傾向が生じ、全身状態が悪化することにより死亡したと考えられる。

本試験での無毒性量は雌雄で 20ppm (雄 : 1.2mg/kg 体重/日、雌 : 1.5mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 37、3)

(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) を用いた混餌 (原体 : 0, 30, 90, 200ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

200ppm 投与群の雌雄で肝グリコーゲン枯渇が、雌で死亡 (1 例)、有意差はないも

² 検査値等の略称は別紙 2 を参照 (以下同じ)

の体重増加抑制、ALP の増加が、90ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制（90ppm で有意差なし）、精巣実重量の減少、肝小葉中心性肝細胞肥大、胸腺萎縮、前立腺未成熟が、30ppm 以上投与群の雄で前立腺比重量の減少、精巣上体内の無精子が認められた。ただし、対照群を含む全投与群において精巣の未成熟及び精巣上体内の精子減少が認められた。

90ppm 投与群以上で認められた前立腺及び精巣の重量減少、精巣上体の無精子は、本試験と同月齢（約6ヶ月齢）より開始された慢性毒性試験の解剖時では認められないこと（30、90ppm 投与群）、前立腺及び精巣の重量減少は背景データの範囲内であること（200ppm 投与群の1例の前立腺を除く）から、投与による体重増加抑制又はそれに起因する性成熟遅延によるものと考えられる。

30ppm 投与群の雄で認められた前立腺比重量の減少（背景データの範囲内）及び精巣上体の無精子（1例）は病理組織学的変化が認められないこと、本試験における投与期間（開始時5~6ヶ月齢）が動物の生殖器官の成長及び成熟時期と一致することから、偶発的な軽度の性成熟遅延によるものであり毒性学的意義はないものと考えられる。

本試験での無毒性量は雌雄で30ppm（雄：1.0mg/kg 体重/日、雌：1.1mg/kg 体重/日）であると考えられる。（参照38、3）

（3）90日間亜急性神経毒性試験（ラット）

CDラット（一群雌雄各10匹）を用いた混餌（原体：0, 20, 100, 400ppm）投与による90日間亜急性神経毒性試験が実施された。

400ppm 投与群の雌雄で肝重量増加が、雌で甲状腺重量増加が、100ppm 以上投与群雄で甲状腺重量増加が認められた。最高投与群で末梢神経の軽微な軸索変性が認められたが、背景データの範囲内にあること、慢性毒性/発がん性併合試験ではこれらの病変が認められないことから、投与による影響ではないと考えられる。神経毒性は認められなかった。

本試験での無毒性量は雄で20ppm（1.4mg/kg 体重/日）、雌で100ppm（8.4mg/kg 体重/日）であると考えられる。（参照39、3）

11. 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5匹）を用いた混餌（原体：0, 9, 30, 90ppm）投与による1年間慢性毒性試験が実施されており、90ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制が認められた。

本試験での無毒性量は雌雄で30ppm（雄0.70mg/kg 体重/日、雌0.76mg/kg 体重/日）であると考えられる。（参照40）

（2）慢性毒性（52週間）/発がん性（104週間）併合試験（ラット）

Wistarラット（発がん性試験群：一群雌雄各60匹、衛星群：一群雌雄各10匹、回復群：一群雌雄各15匹）を用いた混餌（原体：0, 5, 20, 75, 250ppm）投与による慢性毒性（52週間）/発がん性（104週間）併合試験が実施された。

250ppm 投与群の雌雄でMCHCの減少、総タンパク質の増加、甲状腺比重量の増加、

甲状腺濾胞細胞肥大、有意差はないものの限局性濾胞細胞過形成及び濾胞細胞腺腫が(表 5 参照)、雄でヘモグロビン及び T₄ の減少、アルブミン及び TSH の増加、肝比重量の増加、甲状腺コロイド鉍質沈着、肝好塩基性変異細胞巢の増加、限局性好酸性細胞変化、進行性慢性腎症が、雌で MCV 及び MCH の減少、赤血球数、血小板、コレステロール及び血漿中カルシウムの増加、小葉中心性肝細胞肥大、胆管線維化、甲状腺びまん性濾胞細胞肥大、肝限局性類洞拡張、腎動脈炎/動脈周囲炎、肺胞大食細胞浸潤巢が、75ppm 以上投与群の雄で MCV の増加、プロトロンビン時間の延長、胆管線維化が、雌でプロトロンビン時間の短縮、T₄ の減少、TSH の増加、肝比重量の増加、甲状腺コロイド鉍質沈着、胆管過形成が認められた。腫瘍的病変については、対照群と比べて統計的有意差の認められたものはなかった(表 5 参照)。

本試験で認められた甲状腺限局性濾胞細胞過形成、濾胞細胞腺腫は、その他の毒性試験 14 (1) の結果から、エチプロール投与によりフェノバルビタールと同様に、β-グルクロニルトランスフェラーゼなどの肝臓薬物代謝酵素の誘導により、T₄ の胆汁中排泄が促進されることで血中濃度が減少し、その結果、視床下部-下垂体-甲状腺軸系に変化が生じ血中 TSH 濃度が増加し、甲状腺を持続的かつ過剰に刺激することで生じる間接的な原因によるものと考えられる。

発がん性試験群の 20ppm 以上の雌の死亡・途中切迫屠殺動物において、坐骨神経のミエリン変性が増加したが、最終屠殺動物及び全動物では有意差は認められなかった。この増加は、対照群の動物がやや若齢で死亡したため、同病変の発生が少なく、その結果、投与群で有意に増加したものであり、投与による影響ではないと考えられる。

本試験での無毒性量は雌雄とも 20ppm (雄 0.85mg/kg 体重/日、雌 1.17mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 41、59~61)

表 5 104 週間のエチプロール投与によるラットでの甲状腺腫瘍の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	5	20	75	250	0	5	20	75	250
投与群(ppm)	0	5	20	75	250	0	5	20	75	250
検査動物数	60	60	59	60	59	59	59	60	60	60
限局性濾胞細胞過形成	2	1	0	1	5	0	1	0	1	2
濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	4	0	0	0	0	2
濾胞細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
限局性増殖性病変合計	2	1	0	1	9	0	1	1	2	4

Fisher の直接確率検定で有意差無し

(3) 78 週間発がん性試験 (マウス)

C57BL/6 マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 10, 50, 150, 300ppm) 投与による 78 週間発がん性試験が実施された。

300ppm 投与群の雄で ALT の増加、肝比重量の増加、肝淡明性変異細胞巢、肝脂肪変性、雌で肝細胞腺腫が (表 6 参照)、150ppm 以上投与群の雌で肝比重量の増加が認め

られた。

300ppm 投与群の雌で認められた肝細胞腺腫は、その他の毒性試験 14(2)の結果から、エチプロールがフェノバルビタールと同様な作用機序によって発がんプロモーターとして作用したことが原因と考えられる。

本試験での無毒性量は雄で 150ppm (25.6mg/kg 体重/日)、雌で 50ppm (12.5mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 42、62)

表 6 78 週間のエチプロール投与によるマウスでの肝腫瘍の発生頻度

性別	雄					雌				
	0	10	50	150	300	0	10	50	150	300
投与群(ppm)	0	10	50	150	300	0	10	50	150	300
検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	50	50	50
肝細胞腺腫	5	5	4	1	1	0	2	1	2	6*
肝細胞癌	0	3	1	0	1	0	0	0	0	0

※：P<0.05 Fisher の直接確率検定

12. 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, 10, 75, 500ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では、500ppm 投与群の P 雌雄で肝及び甲状腺比重量の増加が、P 雌で体重増加抑制、副腎比重量の増加、肝細胞肥大、甲状腺濾胞細胞肥大、肝及び腎臓の暗褐色化が、F₁ 雌雄で肝、甲状腺及び下垂体比重量の減少、甲状腺濾胞細胞肥大が、F₁ 雄で肝細胞肥大が、F₁ 雌で体重増加抑制、脾実重量の増加、肝細胞肥大、肝及び腎臓の暗褐色化が認められた。また、500ppm 投与群の F₁ 雄で包皮分離、F₁ 雌で膈開口の遅延が認められた。

児動物では、500ppm 投与群の F₁ 及び F₂ 雌雄で低体重、胸腺、脾実重量、腎比重量の低下、肝及び脳比重量の増加が認められた。

繁殖能に対する影響は認められなかった。

本試験の親動物及び児動物に対する無毒性量は雌雄で 75ppm (P 世代：雄：4.77mg/kg 体重/日、雌：5.82mg/kg 体重/日、F₁ 世代：雄：6.03mg/kg 体重/日、雌：6.76mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 43、3)

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~21 日に強制経口 (原体：0, 3, 10, 30mg/kg 体重/日) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、30mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制、摂餌量減少、肝の小葉像明瞭化が、10mg/kg 体重/日以上投与群で肝重量の増加が認められた。胎児では、30mg/kg 体重/日投与群でダンベル状胸椎体、第 1 中足骨未骨化の発現頻度の上昇が認められた。

本試験における無毒性量は母動物で 3mg/kg 体重/日、胎児で 10mg/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 44)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

ニュージーランド白色ウサギ(一群雌 30 匹)の妊娠 6~28 日に強制経口(原体:0, 0.25, 0.5, 2.0, 4.0mg/kg 体重/日)投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、2.0mg/kg 体重/日以上投与群で、流産、体重増加抑制、摂餌量減少が認められた。胎児では、2.0mg/kg 体重/日以上投与群で第 1 中手骨不完全骨化/未骨化、前肢第 4,5 中節骨未骨化の発現頻度の上昇が認められた。

本試験における無毒性量は母動物及び胎児で 0.5mg/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 45)

13. 遺伝毒性試験

エチプロールの細菌を用いた復帰突然変異性試験、培養ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験、ラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期 DNA 合成試験、マウスを用いた小核試験が実施されており、全て陰性であった(表 7)。従って、エチプロールに問題となるような遺伝毒性は認められない。

マウスを用いた小核試験では、操作手順的な疑問はあるものの、全体的には十分な匹数の雌雄のマウスを用いて試験されており、試験結果を陰性と評価することに問題は無いと考えられる。(参照 46~50)

表 7 遺伝毒性試験結果概要 (原体)

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 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2 $uvrA$ 株	/	陰性
	染色体異常試験 (±S9)	ヒト培養リンパ球		陰性
<i>in vivo/ in vitro</i>	不定期 DNA 合成試験	Wistar ラット雄 3 匹	800, 2000 (単回経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	CD-1 マウス雌雄各 5 匹	500, 1000, 2000 (単回経口投与)	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

エチプロールの代謝物 B,C,D,E,F,K,N 及び P の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されており、試験結果は全て陰性であった(表 8)。

代謝物 B の試験では、S9 mix 存在下での陽性対照が全菌株について実施されていない問題点が見られたが、原体に変異原性が認められていないことを考慮すると特に問題ないものと考えられる。(参照 51~58)

表 8 遺伝毒性試験（復帰突然変異試験）結果概要（代謝物）

被験物質 (代謝物)	試験	対象	結果
B	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2 <i>uvrA</i> 株	陰性
C	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2/pKM101, WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株	陰性
D	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2/pKM101, WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株	陰性
E	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2 <i>uvrA</i> 株	陰性
F	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株	陰性
K	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2/pKM101, WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株	陰性
N	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2/pKM101, WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株	陰性
P	復帰突然変異試験 (±S9)	TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

14. その他の毒性試験

(1) ラットを用いた甲状腺腫瘍発生メカニズム試験

① 過塩素酸塩放出試験による甲状腺影響評価

Wistar ラット（一群雄各 24 匹）を用い 14 日間強制経口（原体：0, 20mg/kg 体重/日）投与した後、24 時間後に ¹²⁵I ヨウ化ナトリウムを尾静脈内に投与し、さらに過塩素酸カリウム (KClO₄) を腹腔内投与することにより、甲状腺におけるヨウ素 (¹²⁵I) の取り込みを測定する過塩素酸塩放出試験が実施された。（陽性対照薬物；PTU：200mg/kg 体重/日 強制経口投与）

エチプロール投与群では対照群に比べ甲状腺放射能濃度の増加が認められたが、甲状腺重量に差は認められなかった。過塩素酸投与後エチプロール投与群では甲状腺重量及び全血中放射能濃度に変化は認められなかったが、PTU 投与群では甲状腺放射能濃度が減少し、全血中放射能濃度が増加した。エチプロールは陽性対照の PTU と異なり、甲状腺に対して直接影響を及ぼすことはないと考えられる。（参照 59）

② T₄ の血中動態に対する影響試験

Wistar ラット（一群雄各 8 匹）を用い 14 日間強制経口（原体：0, 20mg/kg 体重/日）投与後、¹²⁵I-T₄ を尾静脈内に投与し、T₄ の血中動態に対する影響試験が実施された。（対照薬物；フェノバルビタール：80mg/kg 体重/日 腹腔内投与）

エチプロール投与群は、フェノバルビタール投与群と血中動態に類似性が認められ、対照群に比べクリアランス及び定常状態分布容積の上昇が認められたが、その影響はフェノバルビタール投与より少なかった。

エチプロールはフェノバルビタールと同様 β -グルクロニルトランスフェラーゼの誘導物質であるが、作用はフェノバルビタールよりも弱いと考えられる。(参照 60)

③T₄の胆汁排泄に対する影響試験

Wistar ラット (一群雄各 7 匹) を用い 14 日間強制経口 (原体: 0, 20mg/kg 体重/日) 投与後、¹²⁵I-T₄ を尾静脈内に投与し、T₄ の胆汁排泄に対する影響試験が実施された。(対照薬物; フェノバルビタール: 80mg/kg 体重/日 腹腔内投与)

エチプロール投与群及びフェノバルビタール投与群では、対照群と比較して肝臓重量の増加傾向、放射能の胆汁中排泄量及び速度定数の増加が、フェノバルビタール投与群では、対照群と比較して肝臓中の放射能濃度及び総量の増加が認められた。各群とも放射能の 50~60% が ¹²⁵I-T₄ の抱合体で、約 20% が遊離 ¹²⁵I 又は同定できない ¹²⁵I-T₄ 代謝物であった。

エチプロール投与により、¹²⁵I-T₄ の胆汁排泄が促進され、胆汁放射能の約 60% が抱合化した ¹²⁵I-T₄ であった。したがって、エチプロールは β -D-グルクロニルトランスフェラーゼなどの肝臓薬物代謝酵素の誘導物質であると考えられる。(参照 61)

(2) マウスを用いた肝毒性試験

C57BL/6 マウス (一群雌 15 匹、中間屠殺群: 一群雌 15 匹) を用い 28 日間混餌 (原体: 0, 100, 300, 1000ppm) 投与し、肝毒性試験が実施された。(対照薬物; フェノバルビタール: 80mg/kg 体重/日 強制経口投与)

1000ppm 投与群の中間屠殺 (8 日) 及び最終屠殺 (29 日) 群で肝臓比重量の増加、びまん性全小葉性肝細胞肥大、肝肥大及び暗色化が、中間屠殺群で飲水量の減少が、CYP 分子種の酵素活性を測定した肝臓毒性試験で EROD 活性が認められた。BrdU 免疫組織染色による肝細胞標識指数は中間屠殺群では有意に増加したが、最終屠殺群では対照群と比べ差は認められなかった。

300ppm 以上投与群で総チトクローム P450 含有量の増加、BROD 及び PROD 活性の増加が認められた。

フェノバルビタール投与群では総チトクローム P450 含有量の増加、BROD、EROD 及び PROD 活性の増加が認められ、BROD 及び PROD は顕著に誘導が認められた。

エチプロールは、フェノバルビタールと同様な薬物代謝酵素活性の誘導や投与初期に一過性の肝細胞増殖促進を示したことから、マウス発がん性試験の 300ppm 投与群雌で認められた肝細胞腺腫の増加は、エチプロールがフェノバルビタールと同様な作用機序によって発がんプロモーターとして作用した結果と考えられる。(参照 62)