

12. 遺伝毒性試験

ボスカリドの細菌を用いた復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験、チャイニーズハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験及び遺伝子突然変異試験、マウスを用いた小核試験において、試験結果は全て陰性であった(表4)。

ボスカリドには遺伝毒性はないものと考えられる。(参照 45～49)

表4 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)	TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2 <i>uvrA</i> 株	500, 1000, 2000 (24時間間隔、2回腹腔内投与)	陰性
	不定期 DNA 合成試験	ラット初代培養肝細胞		陰性
	染色体異常試験 (±S9)	チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79)		陰性
	遺伝子突然変異試験 (±S9)	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO)		陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	NMRI マウス雄 5 匹	500, 1000, 2000 (24時間間隔、2回腹腔内投与)	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 F49 の細菌を用いた復帰突然変異試験において、試験結果は陰性であった(表5)。(参照 50)

表5 遺伝毒性試験結果概要(代謝分解物)

被験物質	試験	対象	結果
代謝物 F49	復帰突然変異試験 (±S9)	TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2 <i>uvrA</i> 株	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

13. その他の毒性試験

(1) ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導試験

Wistar ラット(一群雌雄各 8 匹)を用いた 14 日間混餌(原体 : 0, 15000ppm)投与による肝薬物代謝酵素誘導試験を実施した。

15000ppm 投与群の雌雄で肝重量の増加、シトクロム P450 含量の増加、小葉中心帯肝細胞滑面小胞体の増加、雄で過酸化脂質の増加が認められた。EROD 及び PROD に投与の影響は認められなかった。

これらの結果から、ボスカリド投与によりエトキシレゾルフィン及びペントキシレゾルフィンを基質としないシトクロム P450 の誘導が認められると考えられるが、これらの変化は肝細胞の解毒反応を示すもので適応性反応と考えられる。(参照 51)

(2) ラットを用いた甲状腺ホルモン及び肝薬物代謝酵素誘導試験

Wistar ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた 28 日間混餌（原体：0, 15000ppm）投与による甲状腺ホルモン・肝薬物代謝酵素誘導試験を実施した。

15000ppm 投与群の雌雄で T3 濃度の減少、TSH 濃度の増加、肝重量の増加、第Ⅱ相薬物代謝酵素活性（pNP-GT、MUF-GT、HOBI-GT）の増加、雄で T4 濃度の減少が認められた。（参照 52）

また、Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた 28 日間混餌（原体：0, 500, 2000, 5000ppm）投与による甲状腺ホルモン・肝薬物酵素誘導試験を実施した。

5000ppm 投与群の雌で肝比重量の増加、甲状腺比重量の増加、2000ppm 以上投与群の雌雄で第Ⅰ相薬物代謝酵素活性（EROD、PROD、BROD）の増加、雄で T4 濃度の減少（有意差なし）、TSH 濃度の増加、雌で甲状腺実重量の増加、500ppm 以上投与群の雌雄で第Ⅱ相薬物代謝酵素活性（pNP-GT、MUF-GT、HOBI-GT）の増加が、雄で肝比重量の増加が認められた。（参照 53）

(3) ラットを用いた免疫毒性試験

Wistar ラット（一群雌雄各 16 匹）を用いた 4 週間混餌（原体：0, 100, 1000, 10000ppm）投与による免疫毒性試験を実施した。

胸腺・脾臓重量と細胞数、胸腺と脾臓のリンパ球サブセットの解析成績、抗ヒツジ赤血球免疫グロブリン M 抗体価などの免疫系への影響を示す指標には、いずれの投与群においても投与による影響は認められなかった。

ボスカリドには免疫系への影響はないと考えられる。（参照 54）

Ⅲ. 総合評価

別添に挙げた資料を用いて農薬「ボスカリド」の評価を実施した。

代謝試験は、ボスカリドのジフェニル環を ^{14}C で均一に標識したもの（D 標識体）及びピリジン環 3-位を ^{14}C で標識したもの（P 標識体）を用いて実施されている。

ラットを用いた動物体内運命試験を実施したところ、血漿中濃度は単回投与 8 時間後に最高値に達し、半減期は 20.2~41.7 時間であった。主な排泄経路は糞中であった。投与 168 時間後の組織内濃度は甲状腺、肝、骨髄、腎及び副腎において高濃度であった。投与 48 時間後の尿中ではボスカリドが投与量の 0.16%以下、主要代謝物としては F01、F02 及び F48 が検出された。糞中ではボスカリドが投与量の 30.5~41.0%（D 低用量群）、68.3~80.4%（D 及び P 高用量群）が検出され、主要代謝物では F01、F06、F20 及び F48 が検出された。胆汁中ではボスカリドは検出されず、主要代謝物では F02 及び F05 が検出された。主要代謝経路は、ジフェニル環の水酸化及びグルタチオン抱合、あるいはピリジン環クロロ基とグルタチオンのチオール基との置換であると考えられる。

レタス、ぶどう、いんげんまめを用いた植物体内運命試験の結果、レタス及びぶどうでは植物体内でほとんど代謝されないと考えられた。いんげんまめでは植物体内であまり代謝されないが、代謝される場合の主要代謝物はジフェニル環部分とピリジン環部分のアミド結合の開裂により生じる F47 及び F62 であった。

土壌中運命試験を実施したところ、土壌中半減期は好氣的条件下で 108 日、嫌氣的条件下で 261~345 日であった。土壌表層における光分解性は、半減期が 135 日と緩やかではあるが、光によって分解が促進すると考えられた。土壌吸着係数 K_{oc} が 670~1760 を示し、ボスカリドは比較的土壌に吸着されやすいため、土壌に落下した場合、表層に留まると考えられる。

水中加水分解及び光分解試験を実施したところ、加水分解性は認められず、pH5 の緩衝液、蒸留水、自然水中の光分解性は安定であった。一方、自然光による水/底質系試験では水相においてボスカリドは 120 日後に投与量の 22%に減少し、主要代謝物は F64 であった。

ぶどう、いちご、トマト、なす、きゅうり、たまねぎ、小豆、いんげん、りんご、なし及びおうとうを用いて、ボスカリドを分析対象化合物とした作物残留試験を実施したところ、最高値は、最終散布後 1 日目に収穫したいちごの 7.39ppm であったが、3 日目、7 日目にはそれぞれ 7.00ppm、4.46ppm と減衰した。

火山灰軽埴土、砂丘未熟砂土、洪積埴土を用いて、ボスカリドを分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内及び圃場）を実施したところ、推定半減期は容器内試験では約 160~285 日、圃場試験では約 30~110 日であった。

急性経口 LD_{50} はラット及びマウスの雌雄で $>5,000\text{mg/kg}$ 体重、経皮 LD_{50} はラットの雌雄で $>2,000\text{mg/kg}$ 体重、吸入 LC_{50} はラットの雌雄で $>6.7\text{mg/L}$ であった。代謝物 F49 の急性経口 LD_{50} はラットの雌雄で $>2000\text{mg/kg}$ 体重であった。

ラットを用いた慢性毒性試験及び発がん性試験では、肝細胞肥大や好酸性肝細胞小増殖巣など肝臓への影響が認められた。肝酵素誘導試験を実施したところ、肝の解毒系の亢進に関連すると考えられる酵素誘導が認められた。

また、ラットを用いた各種試験（亜急性、慢性、発がん性）では、甲状腺ろ胞細胞腺腫

(有意差なし)のほか、甲状腺ろ胞細胞肥大/過形成や甲状腺比重量の増加など甲状腺への影響が認められた。甲状腺への影響を検討するため甲状腺ホルモン・肝薬物代謝酵素誘導試験を実施したところ、本剤投与により肝薬物代謝酵素が誘導され、T4をグルクロン酸抱合して排出する系が亢進することにより血中 T4 濃度が減少し、次いで、下垂体-甲状腺のネガティブフィードバック機構を介して TSH 濃度が増加することが判明した。甲状腺の腫瘍性変化は、TSH 濃度が増加し続ける用量で甲状腺が慢性的に TSH に暴露されることに起因すると考えられる。また、遺伝毒性試験の結果が全て陰性であったことも考慮すると、ラットにおける甲状腺に対する発がん性の機序は非遺伝毒性のものであり、したがってボスカリドの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る。

亜急性毒性試験で得られた無毒性量は、マウスで 29mg/kg 体重/日、ラットで 34mg/kg 体重/日、イヌで 7.6mg/kg 体重/日であった。

慢性毒性及び発がん性試験で得られた無毒性量はマウスで 13mg/kg 体重/日、ラットで 4.4mg/kg 体重/日、イヌで 21.8mg/kg 体重/日であった。

2世代繁殖試験で得られた無毒性量は、ラットで 10.1mg/kg 体重/日であった。

発生毒性試験で得られた無毒性量は、ラットの母動物及び胎児で 1000mg/kg 体重/日、ウサギの母動物で 100mg/kg 体重/日、胎児で 1000mg/kg 体重/日であった。催奇形性は認められない。

遺伝毒性試験は、細菌を用いた復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験、チャイニーズハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験及び遺伝子突然変異試験、マウスを用いた小核試験を実施したところ、試験結果は全て陰性であったことから、ボスカリドには遺伝毒性はないものと考えられる。また、代謝物 F49 の細菌を用いた復帰突然変異試験を実施したところ、試験結果は陰性であった。

各試験における無毒性量は表 6 のとおりである。

表6 各試験における無毒性量

動物種	試験	無毒性量	備考
マウス	90日間亜急性毒性試験	雄：29mg/kg 体重/日 雌：42mg/kg 体重/日	
	18ヶ月間発がん性試験	雄：13 mg/kg 体重/日 雌：90 mg/kg 体重/日	発がん性は認められない
ラット	90日間亜急性毒性試験	雄：34mg/kg 体重/日 雌：40mg/kg 体重/日	
	90日間亜急性神経毒性試験	雄：1050.0 mg/kg 体重/日 雌：1272.5 mg/kg 体重/日	神経毒性は認められない
	24ヶ月間慢性毒性試験	雄：4.4 mg/kg 体重/日 雌：5.9 mg/kg 体重/日	
	24ヶ月間発がん性試験	雄：4.6mg/kg 体重/日 雌：29.7mg/kg 体重/日	
	2世代繁殖試験	親動物・児動物： F0 雄：10.1mg/kg 体重/日 F0 雌：10.7 mg/kg 体重/日 F1 雄：12.3 mg/kg 体重/日 F1 雌：12.5 mg/kg 体重/日	
	発生毒性試験	母動物：1000 mg/kg 体重/日 胎児：1000 mg/kg 体重/日	催奇形性は認められない
ウサギ	発生毒性試験	母動物：100mg/kg 体重/日 胎児：1000mg/kg 体重/日	催奇形性は認められない
イヌ	90日間亜急性毒性試験	雄：7.6mg/kg 体重/日 雌：8.1mg/kg 体重/日	
	12ヶ月間慢性毒性試験	雄：21.8mg/kg 体重/日 雌：22.1mg/kg 体重/日	

食品安全委員会農薬専門調査会は、以上の評価から以下のとおり一日摂取許容量（ADI）を設定した。

対象物質	ボスカリド本体
ADI	0.044mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	24ヶ月
(投与方法)	混餌投与
(無毒性量)	4.4mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

<別紙 1 : 代謝物/分解物略称>

略称	化学名
F01	2-クロロ-N-(4'-クロロ-5-ヒト°ロキシ-ヒ°フェニル-2-イル)ニコチンアミト°
F02	4'-クロロ-6-[[[(2-クロロ-3-ヒ°リジ°ニル)カルボ°ニル]アミノ]ヒ°フェニル-3-イル グ°リコヒ°ラノシト°ウロン酸
F05	[3-[[[(4'-クロロヒ°フェニル-2-イル)アミノ]カルボ°ニル]-2-ヒ°リジ°ニル]システイン
F06	N-(4'-クロロヒ°フェニル-2-イル)-2-スルファニルニコチンアミト°
F08	N-(4'-クロロヒ°フェニル-2-イル)ニコチンアミト°
F20	2-クロロ-N-(4'-クロロ-?-ヒト°ロキシ-?-メチルスルファニルヒ°フェニル-2-イル)ニコチンアミト°
F43	N-(4'-クロロヒ°フェニル-2-イル)-2-グルタチオニルニコチンアミト°
F46	N ⁵ -(2-[(カルボ°キシメチル)アミノ]-1-[[[(5-(4-クロロフェニル)-4-[[[(2-クロロ-3-ヒ°リジ°ニル)カルボ°ニル]アミノ]-6-ヒト°ロキシ-2,4-シクロヘキサジ°エン-1-イル)スルファニル]メチル]-2-オキソエチル)グルタミン
F47	2-クロロニコチン酸
F48	3-[[[(4'-クロロ-ヒ°フェニル-2-イル)-アミノ]カルボ°ニル]-2-ヒ°リジ°ニル-1-チオヘキソヒ°ラノシト°ウロン酸
F49	N-(4'-クロロヒ°フェニル-2-イル)-2-ヒト°ロキシニコチンアミト°
F50	2-クロロ-N-(4'-クロロヒ°フェニル-2-イル)-?-ヒト°ロキシニコチンアミト°
F62	4'-クロロフェニル-2-アミノベンゼン
F64	4'-クロロ安息香酸

注) 結合「基」の部位が特定できなかった代謝物については、その部位を化学名の中に「-?」で示した。

<別紙 2 : 検査値等略称>

略称	名称
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
BROD	ベンジルオキシレゾルフィン- <i>O</i> -デベンジラーゼ
EROD	エトキシレゾルフィン- <i>O</i> -デエチラーゼ
γ -GTP	γ -グルタミルトランスフェラーゼ
HOBIGT	4-ヒドロキシビフェニル-グルクロン酸転移酵素
Ht	ヘマトクリット
MCH	平均赤血球血色素量
MCV	平均赤血球容積
MUF-GT	4-メチルウンベリフェロン-グルクロン酸転移酵素
pNP-GT	p-ニトロフェノール-グルクロン酸転移酵素
PROD	ペントキシレゾルフィン- <i>O</i> -デペンチラーゼ
T3	トリヨードサイロニン
T4	サイロキシン
TSH	甲状腺刺激ホルモン

<参照：試験一覧表>

- 1 農薬抄録ボスカリド（殺菌剤）2004年3月10日（改訂版）：BASF アグロ株式会社、2004年、未公表
- 2 ¹⁴C-標識検体のラットにおける動態試験（GLP 対応）：BASF 毒性研究所（独）、2000年、未公表
- 3 ¹⁴C-標識検体のラットにおける生体内代謝試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、2001年、未公表
- 4 ¹⁴C-標識検体のラットにおける動態試験（GLP 対応）：BASF 毒性研究所（独）、2003年、未公表
- 5 ¹⁴C-標識検体のレタスにおける代謝試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、1999年、未公表
- 6 ¹⁴C-標識検体の果実における代謝試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、2001年、未公表
- 7 ¹⁴C-標識検体のまめにおける代謝試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、2001年、未公表
- 8 ¹⁴C-標識検体の好氣的土壌運命試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、1999年、未公表
- 9 ジフェニル環-¹⁴C-標識検体の嫌氣的土壌運命試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、2000年、未公表
- 10 ピリジン環-¹⁴C-標識検体の嫌氣的土壌運命試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、2000年、未公表
- 11 ¹⁴C-標識検体の土壌表層光分解試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、2000年、未公表
- 12 土壌吸着試験（GLP 対応）：（株）日曹分析センター小田原事業所、2002年、未公表
- 13 ¹⁴C-標識検体の加水分解運命試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、1999年、未公表
- 14 ¹⁴C-標識検体の緩衝液中光分解運命試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、1999年、未公表
- 15 ¹⁴C-標識検体の自然水中光分解運命試験（GLP 対応）：BASF 農業研究所（独）、2002年、未公表
- 16 蒸留水及び自然水中光分解試験（GLP 対応）：（株）日曹分析センター小田原事業所、2001年、未公表
- 17 ¹⁴C-標識検体の水/底質系における自然条件下での光分解運命試験（GLP 対応）：SLFA（独）、BASF 農業研究所（独）、2001年、未公表
- 18 ボスカリドの作物残留試験：（財）日本食品分析センター、2001～2002年、未公表
- 19 ボスカリドの作物残留試験：（株）日曹分析センター、2001年、未公表
- 20 国民栄養の現状－平成10年国民栄養調査結果－：健康・栄養情報研究会編、2000年
- 21 国民栄養の現状－平成11年国民栄養調査結果－：健康・栄養情報研究会編、2001年
- 22 国民栄養の現状－平成12年国民栄養調査結果－：健康・栄養情報研究会編、2002年
- 23 ボスカリドの土壌残留試験：（株）日曹分析センター、2001年、未公表
- 24 ラットにおける急性経口毒性試験：BASF 毒性研究所（独）、1998年、未公表
- 25 マウスにおける急性経口毒性試験（GLP 対応）：（財）残留農薬研究所、2000年、未公表
- 26 ラットにおける急性経皮毒性試験（GLP 対応）：BASF 毒性研究所（独）、1998年、未公表
- 27 ラットにおける粉塵ダストによる急性吸入毒性試験（GLP 対応）：BASF 毒性研究所（独）、1997年、未公表
- 28 原体混在物（代謝物 F49）のラットにおける急性経口毒性試験：BASF 毒性研究所（独）、2001年、未公表

- 29 Wistar系ラットにおける急性経口神経毒性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 30 ウサギを用いた眼刺激性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、1998年、未公表
- 31 ウサギを用いた皮膚刺激性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、1998年、未公表
- 32 モルモットを用いた皮膚感作性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、1998年、未公表
- 33 ラットを用いた3ヶ月間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 34 マウスを用いた3ヶ月間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 35 ビーグル犬における3ヶ月間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 36 ボスカリドの安全性評価資料-回答資料(平成16年2月18日)- : BASF アグロ株式会社、2004年、未公表
- 37 Wistar系ラットにおける90日間経口神経毒性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2001年、未公表
- 38 イヌを用いた飼料混入投与による慢性毒性 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 39 Wistar系ラットにおける24ヶ月間経口慢性毒性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2001年、未公表
- 40 Wistar系ラットにおける24ヶ月間経口発がん性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2001年、未公表
- 41 マウスにおける18ヶ月間経口発がん性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2001年、未公表
- 42 ラットを用いた繁殖毒性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2001年、未公表
- 43 ラットを用いた催奇形性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 44 ウサギを用いた催奇形性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 45 細菌を用いた復帰変異性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、1998年、未公表
- 46 チャイニーズハムスターV79細胞を用いた *in vitro* 染色体異常誘発性試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、1999年、未公表
- 47 マウス骨髄における小核試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、1999年、未公表
- 48 ラット初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 49 チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験 (HPRT 遺伝子突然変異試験) (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 50 原体混在物 (代謝物 F49) の細菌を用いる復帰突然変異試験 : BASF 毒性研究所 (独)、2000年、未公表
- 51 ラットにおける2週間混餌経口投与による肝酵素誘導試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、1999年、未公表
- 52 ラットにおける4週間混餌経口投与による甲状腺ホルモン及び肝薬物代謝酵素誘導試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2001年、未公表
- 53 ラットにおける4週間混餌経口投与による甲状腺ホルモン及び肝薬物代謝酵素誘導試験 (GLP 対応) : BASF 毒性研究所 (独)、2003年、未公表

54 ラットにおける4週間混餌投与免疫毒性試験 (GLP 対応) : (財) 残留農薬研究所、2003年、未公表