

・小豆といんげんの農産物摂取量はまとめて算出されているため、残留値の高いいんげんの値を用いた。

## 6. 土壌残留試験

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）が実施されている。その結果は表3のとおりであり、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。（参照23）

表3 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	土壌	濃度	推定半減期
容器内試験	火山灰軽埴土	純品	約270日
	砂丘未熟砂土	1.40mg/kg	約170日
	火山灰軽埴土	純品	約285日
	洪積埴土	2.80mg/kg	約160日
圃場試験	火山灰軽埴土	DF	約30日
	砂丘未熟砂土	1410g a.i./ha	約110日

注) DF：ドライフロアブル

## 7. 急性毒性試験

### (1) 急性毒性試験（経口/経皮/吸入：ラット・マウス）

ボスカリドのWistarラット及びICRマウスを用いた急性経口毒性試験、Wistarラットを用いた急性経皮毒性試験、Wistarラットを用いた急性吸入毒性試験を実施した。急性経口LD<sub>50</sub>はラット及びマウスの雌雄で>5,000mg/kg体重、経皮LD<sub>50</sub>はラットの雌雄で>2,000mg/kg体重、吸入LC<sub>50</sub>はラットの雌雄で>6.7mg/Lであった。（参照24～27）

代謝物F49のWistarラットを用いた急性毒性試験を実施した。急性経口LD<sub>50</sub>はラットの雌雄で>2000mg/kgであった。（参照28）

### (2) 急性神経毒性試験（ラット）

Wistarラット（一群雌雄各10匹）を用いた単回強制経口（原体：0, 500, 1000, 2000mg/kg体重）投与による急性神経毒性試験を実施した。

2000mg/kg体重投与群の雌で立毛が認められた。いずれの投与群においても本剤投与による神経毒性影響は認められなかった。

本試験での一般毒性の無毒性量は雄で2000mg/kg体重、雌で1000mg/kg体重、神経毒性の無毒性量は雌雄で2000mg/kg体重であると考えられる。（参照29）

## 8. 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を実施した。眼刺激性及び皮膚刺激性は認められなかった。（参照30～31）

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) を実施した。皮膚感作性は認められなかった。(参照 32)

## 9. 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, 100, 500, 2000, 5000, 15000ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験を実施した。

15000ppm 投与群の雄で血中トリグリセリドの減少、甲状腺体重量 (以下「比重量」とする) の増加、脾比重量の減少が、雌でプロトンビン時間の短縮、血中総蛋白、グロブリン及び総コレステロールの増加が、5000ppm 以上投与群の雌雄で肝比重量の増加、小葉中心性肝細胞肥大が、雄で血中カルシウム濃度、総蛋白及びアルブミンの増加、副腎比重量の減少が、雌で血中  $\gamma$ -GTP<sup>2</sup> の増加、甲状腺比重量の増加が、2000ppm 以上の投与群の雄で血中  $\gamma$ -GTP の増加、甲状腺ろ胞上皮細胞肥大、甲状腺びまん性過形成が認められた。

本試験での無毒性量は雌雄で 500ppm (雄 : 34mg/kg 体重/日、雌 : 40mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 33)

### (2) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス)

C57BL/6 マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 150, 1000, 4000, 8000ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験を実施した。

8000ppm 投与群の雌で血中トリグリセリドの減少が、4000ppm 以上投与群の雄で血中総蛋白、アルブミン及びグロブリンの減少、高度な肝細胞脂肪化が、雌で血中 ALT の増加が、1000ppm 以上投与群の雌雄で肝実重量 (1000ppm 投与群の雌を除く) 及び比重量の増加が認められた。

本試験での無毒性量は、雌雄で 150ppm (雄 29mg/kg 体重/日、雌 : 42mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 34)

### (3) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 5 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 250, 2500, 25000ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験を実施した。

25000ppm 投与群の雌雄で体重減少、体重増加抑制、摂餌量減少が、雄で血中 ALP、カルシウムの増加、血中塩素の減少、肝比重量の増加、腎比重量の減少が、雌で赤血球数及び血色素量の減少、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、甲状腺比重量の増加が、2500ppm 以上の投与群の雌雄で淡褐色便、軟便、血中トリグリセリドの増加が、雄で血小板数の増加が、雌で血中 ALP の増加、肝比重量の増加が認められた。

本試験での無毒性量は雌雄で 250ppm (雄 : 7.6mg/kg 体重/日、雌 : 8.1mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 35、36)

<sup>2</sup> 検査値等の略称は別紙 2 のとおり (以下同じ)

#### (4) 90日間亜急性神経毒性試験(ラット)

Wistar ラット(一群雌雄各10匹)を用いた混餌(原体:0, 150, 1500, 15000ppm)投与による90日間亜急性神経毒性試験を実施した。

いずれの投与群においても投与による神経毒性影響は認められなかった。

本試験での無毒性量は雌雄で15000ppm(雄:1050.0mg/kg体重/日、雌:1272.5mg/kg体重/日)であると考えられる。(参照37)

### 10. 慢性毒性試験及び発がん性試験

#### (1) 12ヶ月間慢性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各5匹)を用いた混餌(原体:0, 200, 800, 2000, 20000ppm)投与による12ヶ月間慢性毒性試験を実施した。

2000ppm投与群の雌雄で淡褐色軟便、血中塩素濃度の減少が、雌で血中ALP、総蛋白、グロブリン及び総コレステロールの増加、血中ALTの減少、甲状腺比重量の増加が、2000ppm以上の投与群の雌雄で血中トリグリセリドの増加、雄で血中ALPの増加、甲状腺比重量の増加が、雌で体重増加抑制、肝比重量の増加が認められた。投与に関連する病理組織学的変化は認められなかった。

本試験での無毒性量は雌雄で800ppm(雄:21.8mg/kg体重/日、雌:22.1mg/kg体重/日)であると考えられる。(参照38)

#### (2) 24ヶ月間慢性毒性試験(ラット)

Wistar ラット(一群雌雄各20匹)を用いた混餌(原体:0, 100, 500, 2500, 15000ppm(15000ppm群は17ヶ月目に試験中止・屠殺))投与による24ヶ月間慢性毒性試験を実施した。

2500ppm投与群の雌雄で、総蛋白及びグロブリンの増加、小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺びまん性ろ胞細胞肥大及び限局性ろ胞細胞過形成(有意差なし)が、雄で血中アルブミンの増加、血中総コレステロールの増加、甲状腺実重量の増加、好酸性肝細胞小増殖巣、精巣のう胞状変化が、雌でHt値、MCV及びMCHの減少、血中 $\gamma$ -GTPの増加、肝比重量の増加が、500ppm以上の投与群の雄で血中 $\gamma$ -GTPの増加、雌で血中総コレステロールの増加、プロトロンビン時間の短縮が認められた。

2500ppm投与群の雄で認められた精巣のう胞状変化については、本変化に伴い観察され得る精細管萎縮、間細胞過形成、間細胞腫の発生頻度が各用量群間で差が認められなかったことから、投与による影響ではないと考えられる。

本試験における無毒性量は雌雄で100ppm(雄:4.4mg/kg体重/日、雌:5.9mg/kg体重/日)であると考えられる。(参照39、36)

#### (3) 24ヶ月間発がん性試験(ラット)

Wistar ラット(一群雌雄各50匹)を用いた混餌(原体:0, 100, 500, 2500, 15000ppm(15000ppm群は17ヶ月目に試験中止・屠殺))投与による24ヶ月間発がん性試験を実施した。

2500ppm投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺びまん性ろ胞細胞肥大が、雄で

甲状腺限局性ろ胞細胞過形成、甲状腺比重量の増加が、雌で体重増加抑制が認められた。また、対照群に対して有意差がないものの、2500ppm 投与群の雌で甲状腺限局性ろ胞細胞過形成及びろ胞細胞腺腫が、500ppm 以上の投与群の雄で好酸性肝細胞小増殖巣、甲状腺ろ胞細胞腺腫が認められた。

2500ppm 投与群の雌では、甲状腺限局性ろ胞細胞過形成の増加に有意差が認められなかったが、甲状腺限局性ろ胞細胞過形成、ろ胞細胞腺腫及びろ胞細胞腺癌の発生数を合計した場合（50 匹中 10 例）、対照群（50 匹中 2 例）と比較して増加していると考えられる。

本試験では甲状腺ろ胞細胞腺腫や甲状腺びまん性ろ胞細胞肥大及び限局性ろ胞細胞過形成など甲状腺への影響が認められたが、13（2）の試験結果より、ボスカリド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ことにより血中 T4 濃度が減少するため、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 濃度が増加し、TSH 濃度が増加し続ける用量で甲状腺が慢性的に暴露されることが原因であると考えられる。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への発がん性の発生機序は非遺伝毒性メカニズムであり、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。

本試験における無毒性量は、雄で 100ppm（4.6mg/kg 体重/日）、雌で 500ppm（29.7mg/kg 体重/日）であると考えられる。（参照 40、36）

#### （4）18 ヶ月間発がん性試験（マウス）

C57BL/6 マウス（一群雌雄各 50 匹）を用いた混餌（原体：0, 80, 400, 2000, 8000ppm）投与による 18 ヶ月間発がん性試験を実施した。

8000ppm 投与群の雄で小葉周辺性肝細胞肥大、副腎皮質の限局性萎縮の減少が、雌で体重増加抑制、副腎比重量の増加、肝卵円形細胞増殖が、2000ppm 以上投与群の雌で肝比重量の増加、小葉周辺性肝細胞肥大が、400ppm 以上の投与群の雄で体重増加抑制、肝比重量の増加が、雌で小葉中心性肝細胞の脂肪性空胞化の増加、びまん性肝細胞の脂肪性空胞化の減少が、80ppm 以上の投与群の雄で副腎比重量の増加が認められた。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。

80ppm 以上投与群の雄及び 8000ppm 投与群の雌で認められた副腎比重量の増加については、いずれも当該試験実施機関における同一系統マウスを用いた過去 10 試験分の背景データの範囲内であったことから、投与による影響ではないと考えられる。また、400ppm 投与群の雌で認められた小葉中心性肝細胞脂肪性空胞化の増加、びまん性肝細胞脂肪性空胞化の減少は、肝臓重量の増加もなく、組織学的な肝細胞肥大も認められないことから、本変化は毒性学的に意義がないものと考えられる。

本試験における無毒性量は、雄で 80ppm（13mg/kg 体重/日）、雌で 400ppm（90mg/kg 体重/日）であるとしている。発がん性は認められない。（参照 41、36）

## 11. 生殖発生毒性試験

### （1）2 世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0, 100, 1000, 10000ppm）投与による 2 世代繁殖試験を実施した。

親動物では 10000ppm 投与群の雌雄で肝比重量の増加 (F0 雄を除く)、雄で体重増加抑制 (F1)、運動精子率の減少 (F1)、雌で着床数の減少 (F0)、着床後胚死亡率の増加 (F1) が、1000ppm 以上投与群の雌雄で脾実重量及び比重量の減少 (F0 雌を除く)、小葉中心性肝細胞肥大、雄で小葉中心性肝細胞脂肪変性 (F1) が認められた。児動物では 10000ppm 投与群の雌雄で体重減少 (F1)、出産児数の減少 (F1)、生存率の低下 (F2) が、雄で脾比重量の減少 (F2) が、雌で胸腺 (F1) 及び脾 (F2) 実重量の減少が、1000ppm 以上投与群の雌雄で体重減少 (F2) が、雄で脾実重量の減少 (F2) が、100ppm 以上投与群の雌雄で胸腺実重量 (F2 雄) 及び胸腺比重量 (F2 (100ppm 投与群のみ)) の減少が認められた。

F0 親動物で認められた着床数の減少、F1 親動物で認められた運動精子率の減少及び着床後胚死亡率の増加、F1 児動物で認められた産児数の減少については、いずれも変化は小さく、背景データの範囲内であることから、投与の影響によるものではないと考えられる。

また、1000ppm 以上投与群の親動物及び 100ppm 以上投与群の児動物で認められた脾及び胸腺重量の減少は、脾臓及び胸腺に肉眼的及び病理組織学的異常が認められなかったこと、13 (3) の免疫毒性試験において免疫系への影響が認められなかったことから、本変化は偶発的又は体重低下に基づく二次的な影響であり、投与による直接的な影響ではないと考えられる。

本試験の無毒性量は親動物及び児動物の雌雄で 100ppm (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) であると考えられる。(参照 42)

## (2) 発生毒性試験 (ラット)

妊娠 Wistar ラット (一群雌 25 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0, 100, 300, 1000mg/kg 体重/日) 投与 (妊娠 6~19 日まで 14 日間) による発生毒性試験を実施した。

母動物ではいずれの投与群においても投与による毒性影響は認められなかった。胎児では 1000mg/kg 体重投与群で胸椎体不完全骨化が、300mg/kg 体重以上の投与群で変異を有する胎児の発現率の上昇が認められたが、これらの上昇は背景データの範囲内であることから、投与の影響によるものではないと考えられる。

本試験の無毒性量は母動物及び胎児で 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 43)

## (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

妊娠ヒマヤンウサギ (一群雌 25 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0, 100, 300, 1000mg/kg 体重/日) 投与 (妊娠 7~28 日まで 22 日間) による発生毒性試験を実施した。

母動物では 1000mg/kg 体重投与群で流産/早産、体重減少、摂餌量減少が、300mg/kg 体重以上投与群で流産が認められた。胎児では 1000mg/kg 体重投与群で胸椎体不完全骨化を有する胎児に発生頻度の上昇が認められたが、この頻度は、背景データの範囲内であることから、投与の影響によるものではないと考えられる。

本試験の無毒性量は母動物で 100mg/kg 体重/日、胎児で 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 44)

## 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, WP2uvrA 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, WP2uvrA 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）