

II. 試験結果概要

クロチアニジンのニトログアニジン部分の炭素を ^{14}C で標識したもの (Nit- ^{14}C -クロチアニジン) 及びチアゾール環の 2 位の炭素を ^{14}C で標識したもの (Thi- ^{14}C -クロチアニジン) を用いて各種試験が行われた。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合クロチアニジンに換算した。

1. ラットにおける動物体内運命試験 (吸収・分布・代謝及び排泄)

Nit- ^{14}C -クロチアニジン及び Thi- ^{14}C -クロチアニジンを Wistar ラット (1 群雌雄各 3~5 匹) に 5 mg/kg 体重 (低用量) または 250 mg/kg 体重 (高用量) の用量でそれぞれ単回経口投与、単回静脈投与 (低用量群のみ)、または反復経口投与 (14 日非標識体投与後、標識体を投与: 低用量群のみ) し、クロチアニジンの動物体内運命試験が実施された。

Nit- ^{14}C -クロチアニジン及び Thi- ^{14}C -クロチアニジン投与での単回投与時の血液中放射能濃度の最高濃度が低用量単回経口投与群では投与 2 時間後に最大の 1.86~2.36 $\mu\text{g/ml}$ となり、静脈投与群では投与直後に最大となり、4.90~5.62 $\mu\text{g/ml}$ (0.25 及び 0.5 時間の結果を直線回帰して算出した値) となった。半減期は低用量単回経口投与群で 2.9~4.0 時間、低用量静脈投与群で 1.8~2.4 時間であり、標識部位間に大きな違いは見られなかった。

投与 7 日間までに、低用量単回経口投与群において、尿に総投与放射能 (TAR) の 92.0~95.8%、糞に 4.4~6.0% TAR、高用量投与群において、尿に 90.6~93.4% TAR、糞に 4.6~8.2% TAR 分布した。反復投与群では、投与後 14 日間までに、尿に 92.3~95.5% TAR、糞に 5.5~10.0% TAR 分布した。

クロチアニジンの低用量及び高用量単回経口投与群の主な組織の残留放射能は表 1 の通りであった。各組織とも経時的に減少し、投与後 7 日後、各組織における放射活性は、低用量単回経口投与群では 0.07% TAR 以下、高用量単回経口投与群では 0.06% TAR 以下であった。

表 1 主な組織の残留放射能

投与群	性	2時間後 [※]	7日後
低用量 単回	雄	胃(7.17~9.98)、腎臓(5.69~6.83)、 肝臓(3.76~3.92)、副腎(2.69~2.80)、 心臓(2.13~2.36)、肺(2.10~2.20)、 血液(1.94~1.95)	体毛(0.02~0.08)、肝臓(0.02)、血液 (0.01~0.02)、腎(0.02以下)
	雌	胃(7.96~11.2)、腎臓(5.04~5.65)、 肝臓(3.21~4.23)、副腎(1.88~2.94)、 心臓(1.86~2.60)、筋肉(1.82~2.33)、 血液(1.81~2.23)	血液(0.01)、肝臓(0.01)、体毛(0.03 以下)、腎(0.02以下)、甲状腺(0.02 以下)
投与群	性	7日後	14日後
高用量 単回	雄	肝臓(0.86~1.34)、血液(0.63~0.95)、 皮膚(0.62~0.64)、体毛(0.49~0.61)、 坐骨神経(0.53~0.55)、甲状腺(0.33 ~0.64)、腎臓(0.33~0.57)	体毛(0.48~0.58)、血液(0.36~0.53)、 肝臓(0.28~0.38)、甲状腺(0.21~ 0.25)、皮膚(0.17~0.24)、腎臓(0.17 ~0.23)、坐骨神経(0.11~0.33)
	雌	体毛(0.61~0.63)、肝臓(0.59~0.67)、 血液(0.52~0.79)、坐骨神経(0.22~ 0.62)、副腎(0.41~0.59)	

※：血中最高濃度到達時付近

注) 残留放射能濃度はクロチアニジン換算濃度(μg/g)。

低用量単回経口投与、低用量反復経口投与、高用量単回経口投与において、尿試料からは、クロチアニジンが61.4~79.6% TAR、代謝物TZNG¹が4.9~17.5% TAR、代謝物MNGが5.3~9.6% TAR、代謝物MTCAが4.9~9.8% TAR 検出され、その他の代謝物は2.9% TAR以下であった。糞中からはクロチアニジンが投与量の1.2~5.7% TAR、代謝物TMGが1.5~3.6% TAR 検出され、その他の代謝物は0.7% TAR以下であった。

クロチアニジンの主要代謝経路は、①ニトログアニジン基とチアゾリルメチル部分間の炭素-窒素結合の開裂(MNG、NTG、MG)、②ニトログアニジン基の加水分解(TZMU、TZU)、③N-メチルニトログアニジン基及びN-メチルウレア基の脱メチル化(TZNG、TZU、NTG)、④グルタチオンによるチアゾール環塩素の置換(MTCA)であると考えられる。(参照6~8)

2. 植物体内運命試験

(1) イネにおける植物体内運命試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジン及びThi-¹⁴C-クロチアニジンを用いてイネ(品種：旭4号)にお

¹ 代謝物等の略称は別紙1を参照(以下同じ)。

ける植物体内運命試験が実施された。本試験で用いた試験設計概要は表 2 のとおりである。

表 2 イネにおける植物体内運命試験設計概要

試験区分	I	II	III
処理方法	葉部塗布処理		土壌混和处理
検体	イネの幼苗（播種後 1.5 ヶ月）	イネ体（出穂直後）	イネ体（播種後 3 週間）
処理量	16%水溶液を葉部表面の中央に 2 μ g 塗布処理	16%水溶液を葉部表面の中央に 15 μ g 塗布処理	土壌に 1.5 μ g/cm ² の割合で混和、イネ体を植えたポットの土壌表面に 300 μ g の処理土壌を均一に積層
検体採取日	処理後 7、14、21、28、35 日目	処理後 48 日目	処理後 30、60、130 日目

試験区 I において、処理 35 日後に 70.1~75.5% TAR が処理葉部に残存した。試験区 II においては、48 日後に 84.8~91.0% TAR (40.5~47.3mg/kg) が処理葉部に残存し、可食部（玄米）の放射活性は 0.2% TAR (0.02 mg/kg) であった。試験区 III においては、130 日後、稲体及び土壌中からそれぞれ 5.6~6.5% TAR、88.0~91.9% TAR の残留放射能が回収され、葉部に 3.4~4.5% TAR、葉鞘部に 0.9~1.0% TAR 存在し、処理経過日数と共に増加した。可食部（玄米）への移行は 0.1~0.2% TAR (0.02 mg/kg) と僅かであった。

試験区 I では、クロチアニジンが半減期 38~39 日の速度で減少し、35 日後クロチアニジンが 51.9~53.4% TAR、主要代謝物として TZNG、TZMU、MNG、TMG、MG、TZU、NTG が検出されたがいずれも 5% TAR 以下であった。試験区 II では、処理葉、非処理葉、葉鞘、籾殻、玄米に 40~47 mg/kg、0.03 mg/kg、n.d.~0.01 mg/kg、0.05~0.07 mg/kg、0.02 mg/kg の総残留放射能(TRR)を検出した。各部での残留放射能の化学形態は、クロチアニジンが最も多く、それぞれ 81.3~82.7% TRR、40.0~49.1% TRR、41.1~42.8% TRR、38.3~47.1% TRR、10.8~11.0% TRR が検出された。処理葉、非処理葉、葉鞘、籾殻から主要代謝物として TZMU が 3.5~4.0% TRR、16.1~16.2% TRR、10.5~13.3% TRR、9.2~12.1% TRR 検出された。玄米からは MG を 12.4% TRR 検出した。主な代謝物は非処理葉及び葉鞘部で代謝物 TZMU、玄米で代謝物 MG であり、それぞれ 10.5~16.2% TAR、12.4% TAR であった。試験区 III では、玄米中の残留放射能の化学形態はクロチアニジン 12.7~15.5% TRR、TZMU 6.3~13.3% TRR、MG 7.1% TRR であった。その他の部位で検出された残留放射能は、籾殻 0.07~0.17 mg/kg、うちクロチアニジン 26.8~39.6% TRR、TZMU 14.4~17.1% TRR、葉 0.72~0.95 mg/kg、うちクロチアニジン 10.0~16.3% TRR、TZMU 15.3~15.7% TRR、TMG 13.1~13.3% TRR、MG 11.2% TRR、葉鞘 0.04~0.07 mg/kg、うちクロチアニジン 19.5~22.5% TRR、TZMU 14.4~16.9% TRR が検出された。

イネにおける主要代謝経路は、①ニトログアニジン部分からの脱メチル化(TZNG、TZU、NTG)、②ニトログアニジン部分の加水分解 (TZMU、TZU)、③ニトログアニジン部分と

チアゾリルメチル部分の炭素-窒素結合の開裂 (MNG、NTG、MG)、④ニトログアニジン部分の脱ニトロ化 (TMG、MG)、と考えられる。(参照 9)

(2) トマトにおける植物体内運命試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジン及び Thi-¹⁴C-クロチアニジンを用いてトマト (品種: パティオ及び Bonset F1) における植物体内運命試験が実施された。本試験で用いた試験設計概要は表 3 のとおりである。

表 3 トマトにおける植物体内運命試験設計概要

試験区分	I	II	III	IV
処理方法	葉部塗布処理	果実部塗布処理	散布処理	植穴処理
処理量	2.5 μ g	10 μ g	7.9 mg/株	15 mg/株
標識体	Nit- ¹⁴ C-クロチアニジン、 Thi- ¹⁴ C-クロチアニジン		Nit- ¹⁴ C-クロチアニジン	
検体採取日	処理後 7、14、21、28 日目		採取前 17、3 日 の 2 回処理	処理後 97 日後
試料	葉	果実	果実	果実

試験区 I において、処理後 28 日には 95.4~95.6% TAR が葉に残存し、その葉部内への移行量は 5.9~7.8% TAR と僅かであった。試験区 II において、処理後 28 日に果実部に 97.8~98.6% TAR が果実部に認められ、果実部内には 6.8~8.7% TAR 分布した。試験区 III において、収穫時に果実部には 0.57 mg/kg (96.8% TRR) 分布し、果実部内の TRR は 3.2% であった。試験区 IV において、処理 97 日後の果実部には 0.014 mg/kg (0.3% TAR) 分布した。

試験区 I 又は II において、クロチアニジンの半減期はそれぞれ 132~158 日であり、処理 28 日後、クロチアニジンはそれぞれ 82.2~85.7% TAR であり、主要代謝物は僅か TZMU で 1.0~3.2% TAR であった。試験区 III のトマトにおいて、収穫時にクロチアニジンは 0.55 mg/kg (96.6% TRR) 分布した。試験区 IV において、処理 97 日後果実部にはクロチアニジンが 0.009 mg/kg (66.1% TRR) であり、主要代謝物は MNG 及び TZNG であり、それぞれ 0.002 mg/kg (17.7% TRR)、0.001 mg/kg (8.4% TRR) 分布した。

トマトにおける主要代謝経路は、①ニトログアニジン部分からの脱メチル化 (TZNG、TZU、NTG)、②ニトログアニジン部分の加水分解 (TZMU、TZU)、③ニトログアニジン部分とチアゾリルメチル部分の炭素-窒素結合の開裂 (MNG、NTG、MG)、④ニトログアニジン部分の脱ニトロ化 (TMG、MG) であると考えられる。(参照 10)

(3) チャにおける植物体内運命試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジン及び Thi-¹⁴C-クロチアニジンを用いて水溶剤を調製し、クロチアニジンのチャにおける植物体内運命試験が行われた。チャ (品種: やぶきた) の葉部に、処理葉部移行試験では 3.5 μ g/葉を塗布し、処理 7、14、21、28 日後に検体を採取した。

非処理葉部移行試験では 50 $\mu\text{g}/\text{葉}$ を塗布し (Nit- ^{14}C -クロチアニジンのみ)、処理 28 日後に検体 (処理葉、その上位/下位の非処理葉、及び枝) を採取した。

処理葉部移行試験では、処理 28 日後に葉面上、葉部内にそれぞれ 88.7~90.7% TAR、5.2~8.3% TAR 分布した。非処理葉部移行試験では、処理葉部に 97.0% TAR が認められ、非処理葉部及び枝部中への分布は 0.1% TAR 以下であった。

チャの葉部でのクロチアニジンの半減期は 140 日以上であり、放射活性の大部分はクロチアニジン(88.2~90.5%TAR (12.4~13.2 mg/kg))であり、代謝物は僅か 2.4%TAR 以下 (0.33 mg/kg) であった。

チャにおける主要代謝経路は、①ニトログアニジン部分からの脱メチル化(TZNG、TZU)、②ニトログアニジン部分の加水分解 (TZMU、TZU)、③ニトログアニジン部分とチアゾリルメチル部分の炭素-窒素結合の開裂 (MNG、MG)、④ニトログアニジン部分の脱ニトロ化 (TMG、MG) であると考えられる。(参照 11)

3. 土壌中運命試験

(1) 湛水土壌運命試験

Nit- ^{14}C -クロチアニジン及び Thi- ^{14}C -クロチアニジンをそれぞれ供試土壌の乾燥重量に対して 0.225 mg/kg の用量で湛水状態の 3 種の土壌 (重埴土、砂埴土、軽埴土) に混和後、25°C の暗所で 180 日間インキュベーションし、好氣的及び嫌氣的 (軽埴土のみ) 条件下におけるクロチアニジンの湛水土壌運命試験が行われた。

クロチアニジンの半減期は、重埴土、砂埴土、軽埴土で好氣的条件下においてそれぞれ 50 日、70 日、60 日であった。嫌氣的条件下では、軽埴土で約 40 日であった。好氣的及び嫌氣的条件下のいずれの土壌でも主要分解物は TMG であり、嫌氣的条件下の軽埴土で 11.4% TAR 生成した。その他の分解物はいずれも 2.9% TAR 以下であった。180 日後の非抽出放射能は好氣的条件で 71.0~80.0%TAR、嫌氣的条件で 80.3%TAR に達した。揮発性成分は両条件下で 4.3%TAR 以下であった。滅菌土壌において、分解物は認められなかった。(参照 12)

(2) 畑地土壌運命試験

Nit- ^{14}C -クロチアニジン及び Thi- ^{14}C -クロチアニジンをそれぞれ供試土壌の乾燥重量に対して 0.5 mg/kg の用量で 3 種の土壌 (重埴土、砂埴土、軽埴土) に混和後、25°C の暗所で 180 日間インキュベーションし、好氣的及び嫌氣的 (軽埴土のみ) 条件下におけるクロチアニジンの畑地土壌運命試験が行われた。

クロチアニジンの半減期は、重埴土、砂埴土、軽埴土で好氣的条件下においてそれぞれ 190 日、210 日、200 日であった。嫌氣的条件下では、軽埴土で約 220 日であった。好氣的及び嫌氣的条件下のいずれの土壌でも主要分解物は MNG であり、好氣的条件下の軽埴土で 3.4% TAR 生成した。180 日後の非抽出放射能は好氣的条件下で 40.7~45.2%TAR、嫌氣的条件で 40.0~44.8%TAR であった。揮発性放射能は両条件下で 8.5%TAR 以下であった。(参照 12)

(3) 土壌表面光分解試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジン を 0.6 μg/cm² の用量で処理した軽埴土の薄層 (0.5 mm) に、14 日間キセノン光 (40 W/m² (測定波長: 360~480 nm)) を照射し、クロチアニジンの土壌表面光分解試験が行われた。短波長除去フィルターは用いなかった。

14 日後の主な放射性成分はクロチアニジンであり、73.0% TAR 認められた。分解物はいずれも 1.3% TAR 以下であった。対照処理 (遮光下) ではクロチアニジンは 85% TAR であった。(参照 13)

(4) 土壌吸着試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジンを用いた土壌吸着試験が 4 種類の国内土壌 (重埴土、砂壤土、軽埴土 (真壁)、軽埴土 (宮崎)) を用いて実施された。

吸着係数 $K_{ads}=1.12\sim 14.8$ 、有機炭素量補正吸着係数 $K_{ads_{oc}}=90.0\sim 250$ であった。(参照 14)

(5) 土壌移行試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジンを用いた土壌吸着試験が 3 種類の国内土壌 (重埴土、砂壤土、軽埴土) を用いて実施された。深さ 30 cm に充填した土壌カラムを作成し、Nit-¹⁴C-クロチアニジン を混和処理 (重埴土及び砂壤土: 98 μg、軽埴土: 44 μg) した土壌 20 g を均一に 1 cm に積層 (混和直後、又は混和後 (30 日間熟成)) し、カラム移行性試験を行った。

最も吸着の弱かった砂壤土におけるカラム流出液は、処理量の 7.4% (混和直後) 及び 2.5% (30 日間熟成) であり、その他は 0.1% 以下であった。熟成土壌においては、処理土壌を含む深さ 6cm までの画分に、重埴土及び軽埴土では放射能の大部分 (85.1~94.1%) が、砂壤土においても 50% 以上が認められた。(参照 14)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジン及び Thi-¹⁴C-クロチアニジン を pH4.0、5.0、7.0、9.0 緩衝液、蒸留水及び河川水に濃度が 1 μg/L となるよう溶解させ、25℃ で 1 年間又は 50℃ で 12 週間インキュベートし、クロチアニジンの加水分解試験が行われた。

クロチアニジンの半減期は、25℃ 条件下では pH9.0 緩衝液で 1.5 年、自然水中で 9 年、50℃ 条件下では pH9 緩衝液で 14 日、蒸留水中で 93 日、河川水中で 73 日と算出された。他の条件下ではクロチアニジンは安定であり、半減期を求められなかった。主要分解物は TZMU、ACT、CTNU 及び二酸化炭素であった。クロチアニジンの主要分解経路は加水分解反応による TZMU、CTNU の生成であると考えられる。(参照 15)

(2) 水中光分解試験

Nit-¹⁴C-クロチアニジン及び Thi-¹⁴C-クロチアニジン を蒸留水、自然水 (3 種類) に濃度が 1 μg/L となるよう溶解させ、25℃ でキセノン光 (18 W/m² (測定波長: 360~480 nm)) を照射し、クロチアニジンの水中光分解試験が行われた。短波長除去フィルターは用いな

かった。

クロチアニジンの推定半減期は、蒸留水で40～42分、自然水で46～58分であった。
 主要分解物はTZMU、MAI、TMG、MG及び二酸化炭素であった。(参照16)

5. 作物残留試験

水稲、大豆、ばれいしょ、かんしょ、てんさい、だいこん、キャベツ、レタス、ねぎ、トマト、ピーマン、なす、きゅうり、スイカ、メロン、みかん、夏みかん、すだち、かぼす、りんご、なし、もも、うめ、おうとう、ぶどう、かき及び茶の計27種の作物を用いて、クロチアニジ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。また27種のうち15種類の作物についてはTZNG、TZMU、MNG、TMG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。その結果は別紙2のとおりであり、クロチアニジンの最高値は、最終散布後7日目に収穫した茶（荒茶）の38.0 mg/kgであったが、14日目、21日目にはそれぞれ7.93 mg/kg、3.28 mg/kgと減衰した。TZNG、TZMU、MNG、TMGの最高値は、全て茶であり、それぞれ0.167 mg/kg、1.21 mg/kg、0.44 mg/kg、0.70 mg/kgであった。また、最終散布後42日目のぶどうでTZNG(0.105 mg/kg)、MNG(0.113 mg/kg)が検出された。茶・ぶどう以外の作物での代謝物の残留値は全て0.1 mg/kg未満であった。(参照17～18)

作物残留試験成績に基づき、クロチアニジン（親化合物のみ）を暴露評価対象物質として国内で栽培される農産物からの推定摂取量を表4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クロチアニジン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の仮定の下に行った。

表4 食品中より摂取されるクロチアニジンの推定摂取量

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 (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (μg/人/日)
水稲	0.104	185.1	19.3	97.7	10.2	139.7	14.5	188.8	19.6
大豆	0.01	56.1	0.6	33.7	0.3	45.5	0.5	58.8	0.6
ばれいしょ	0.007	36.6	0.3	21.3	0.1	39.8	0.3	27	0.2
だいこん (根)	0.010	45	0.5	18.7	0.2	28.7	0.3	58.5	0.6
だいこん (葉)	1.46	2.2	3.2	0.5	0.7	0.9	1.3	3.4	5.0
キャベツ	0.12	22.8	2.7	9.8	1.2	22.9	2.7	23.1	2.8
レタス	0.92	6.1	5.6	2.5	2.3	6.4	5.9	4.2	3.9
ねぎ	0.09	11.3	1.0	4.5	0.4	8.2	0.7	11.5	1.0
トマト	0.156	24.3	3.8	16.9	2.6	24.5	3.8	18.9	2.9

ピーマン	1.02	4.4	4.5	2.0	2.0	1.9	1.9	3.7	3.8
なす	0.307	4.0	1.2	0.9	0.3	3.3	1.0	5.7	1.7
きゅうり	0.41	16.3	6.7	8.2	3.4	10.1	4.1	16.6	6.8
スイカ	0.011	0.1	0	0.1	0	0.1	0	0.1	0
メロン類	0.023	0.4	0	0.3	0	0.1	0	0.3	0
みかん	0.121	41.6	5.0	35.4	4.3	45.8	5.5	42.6	5.2
夏みかん (果肉)	0.093	0.1	0	0.1	0	0.1	0	0.1	0
夏みかん (果皮)	1.11	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
みかん、夏 みかん以外 のかんきつ	0.297	2.4	0.7	1.4	0.4	3.4	1.0	2.2	0.7
りんご	0.089	35.3	3.1	36.2	3.2	30	2.7	35.6	3.2
なし	0.11	5.2	0.6	4.5	0.5	5.4	0.6	5.2	0.6
もも	0.097	0.5	0	0.7	0.1	4	0.4	0.1	0
うめ	1.02	1.1	1.1	0.3	0.3	1.4	1.4	1.1	1.1
おうとう	1.25	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
ぶどう	0.815	5.8	4.7	4.4	3.6	1.6	1.3	3.8	3.1
かき	0.11	31.4	3.5	8.0	0.9	21.5	2.4	49.6	5.5
茶	15.8	3.0	47.4	1.4	22.1	3.5	55.3	4.3	67.9
合計			115.7		59.3		107.8		136.4

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最大のものを
用いた(参照 別紙2)。

- ・「ff」:平成10年～12年の国民栄養調査(参照62～64)の結果に基づく農産物摂取量(g/人/日)
- ・「摂取量」:残留値及び農産物摂取量から求めたクロチアニジンの推定摂取量(μ g/人/日)
- ・かんしょ及びてんさいについては、全データが検出限界以下であったため摂取量の計算はしていない。
- ・みかん、夏みかん以外のかんきつについては、すだち及びかぼすのうち、残留値の高いすだちの値を用いた。

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、クロチアニジン(14mg/頭/日)をカプセルに入れ7日間連続経口投与し、乳汁移行試験が実施された。

投与開始1日後から最終投与後5日後まで、搾乳した試料からクロチアニジンは検出されなかった。(参照19)

7. 土壌残留試験

火山灰壤土、沖積砂質埴土、火山灰軽埴土、壤質砂土を用いて、クロチアニジンを分析

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 5 のとおりであり、クロチアニジンの推定半減期は、容器内試験では約 10～67 日、圃場試験では約 4～65 日であり、クロチアニジン及び分解物を含めた推定半減期は、容器内試験では約 45～200 日、圃場試験では約 7～65 日であった。（参照 20～25）

表 5 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	土壌	濃度	推定半減期	
			クロチアニジン	クロチアニジン+分解物
容器内試験 (水田状態)	火山灰壤土	純品	32 日	59 日
	沖積砂質埴土	0.188 mg/kg	10 日	45 日
	火山灰埴土	純品	34 日	61 日
	沖積砂質埴土	0.25 mg/kg	29 日	200 日
容器内試験 (畑地状態)	火山灰軽埴土	純品	67 日	98 日
	壤質砂土	0.50 mg/kg	53 日	68 日
圃場試験 (水田状態)	火山灰壤土	487.5 ^G	8 日	11 日
	沖積砂質埴土	g ai/ha	4 日	7 日
	火山灰埴土	850 ^G g ai/ha	16 日	34 日
	沖積砂質埴土		4 日	7 日
圃場試験 (畑地状態)	火山灰軽埴土	500 ^G +480 ^{SP}	27 日	26 日
	壤質砂土	g ai/ha	65 日	65 日

注)・分解物：水田状態では TZMU、TMG、MAI、畑地状態では MNG

・G：粒剤、SP：水溶剤

8. 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）

クロチアニジンの SD ラット及び ICR マウスを用いた急性経口毒性試験、SD ラットを用いた急性経皮毒性試験及び急性吸入毒性試験が実施された。急性毒性試験の結果は表 6 に示すとおり。（参照 26～29）

表 6 クロチアニジンの急性毒性試験結果

投与方法	試験動物	雄	雌
経口毒性 LD ₅₀ (mg/kg 体重)	SD ラット	>5000	>5000
	ICR マウス	389	465
経皮毒性 LD ₅₀ (mg/kg 体重)	SD ラット	>2000	>2000
吸入毒性 LC ₅₀ (mg/m ³)	SD ラット	>6141	>6141

代謝物 TZNG、TZMU、TMG、MG、MAI について SD ラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。急性経口毒性試験の結果は表 7 に示すとおりである。なお、TZNG、TMG 及び MAI の雄に関しても例数は少ないが、雌とほぼ同様の LD₅₀ 値を示唆する結果が得られている。(参照 30~34)

表 7 代謝物の急性経口毒性 (LD₅₀) 試験結果 (mg/kg 体重)

代謝物	試験動物	雄	雌
TZNG	SD ラット		1481
TZMU		1424	1282
TMG			567
MG		550	446
MAI			758

(2) 急性神経毒性試験① (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0, 100, 200, 400 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

400 mg/kg 体重投与群の雌雄で振戦、活動性低下、運動失調、瞳孔ピンポイント化、雌で鼻部及び口部の着色、被毛の汚れが、200 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で体温低下、雌で自発運動量減少が認められた。全投与群の雄で自発運動量減少が認められた。

本試験での神経毒性に対する無毒性量は雄で 100 mg/kg 体重未満、雌で 100 mg/kg 体重であると考えられる。(参照 35)

(3) 急性神経毒性試験② (ラット)

Fischer ラット (一群雄 12 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0, 20, 40, 60 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

いずれの投与群でもクロチアニジン投与に関連した影響は認められなかった。

本試験の神経毒性に対する無毒性量は、雄で 60 mg/kg 体重であると考えられる。(参照 36)

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た。眼に対し軽度の刺激性が認められたが、皮膚に対しては刺激性は認められなかった。(参照 37~38)

ハートレー系モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された。皮膚感作性は認められなかった。(参照 39)

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 15 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 150, 500, 3000 ppm、雄 : 0, 9.0,

27.9, 202、雌：0, 10.9, 34.0, 254 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

3000 ppm 投与群雌雄で体重増加量抑制が、雄で *N*-Demeth²増加、*O*-Demeth 増加、PROD 増加、EROD 増加、脾臓色素沈着が認められた。

本試験での無毒性量は雌雄で 500 ppm (雄：27.9 mg/kg 体重/日、雌：34.0 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 40~41)

(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, 325, 650, 1500, 2250 ppm、雄：0, 9.2, 19.3, 40.9, 58.2、雌：0, 9.6, 21.2, 42.1, 61.8 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

2250 ppm 投与群の雌雄で白血球数減少、リンパ球数減少、雄で体重増加量抑制、Ht 減少、分葉核好中球数減少、ALT 減少、雌で総タンパクの減少が、1500 ppm 以上投与群の雌雄で消瘦、雌でアルブミン減少、ALT 減少が認められた。

本試験での無毒性量は、雌雄で 650 ppm (雄 19.3 mg/kg 体重/日、雌：21.2 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 42)

(3) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体：0, 150, 1000, 3000 ppm、雄：0, 9.2, 60.0, 177.0、雌：0, 10.6, 71.0, 200.1 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

3000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、飼料摂取量減少、脳比重量増加が認められた。

本試験での無毒性量は、雌雄で 1000 ppm (雄 60.0 mg/kg 体重/日、雌：71.0 mg/kg 体重/日) であると考えられる。神経毒性は認められなかった。(参照 43)

11. 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 4 匹) を用いた混餌 (原体：0, 325, 650, 1500, 2000 ppm、雄：0, 7.8, 16.6, 36.3, 46.4、雌：0, 8.5, 15.0, 40.1, 52.9 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 12 ヶ月間慢性毒性試験が実施された。

2000 ppm 投与群の雄で耳に局所的な紅斑、投与 1~2 週間時において体重減少、雌で摂餌量減少、WBC 減少、好中球数減少、赤血球減少、Ht 減少、Hb 減少、副腎比重量増加、1500 ppm 以上投与群の雌で耳に局所的な紅斑、650 ppm 以上投与群の雌雄で ALT 減少が認められた。

2000 ppm 投与群雌で認められた副腎比重量増加は、絶対重量に有意差がみられず、関連した病理組織学的変化も観察されなかったことから、投与に関連した変化とは考えなかった。また、650 ppm 以上投与群の雌雄で認められた ALT 減少は、関連した病理組織学

² 検査値の略称については別紙 3 を参照 (以下同じ)。

的变化が観察されなかったことから、投与に関連した毒性影響とは考えなかった。

本試験での無毒性量は雄で 1500 ppm (36.3 mg/kg 体重/日)、雌で 650 ppm (15.0 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 44)

(2) 24 ヶ月間慢性毒性/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, 150, 500, 1500, 3000 ppm、雄 : 0, 8.1, 27.4, 82.0, 157.0、雌 : 0, 9.7, 32.5, 97.8, 193.0 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 8 の一般所見、血液生化学的所見、非腫瘍性病変が認められた。

表 8 ラットを用いた 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた所見

3000 ppm 投与群雌雄	腺胃浮腫、肝臓好酸性細胞巣増加
3000 ppm 投与群雄	血中リン増加、腺胃出血、腎盂鉍質沈着、腎盂移行上皮過形成
3000 ppm 投与群雌	腺胃びらん
1500 ppm 以上投与群雌雄	体重増加抑制、摂餌量減少
500 ppm 以上投与群雌	卵巣間質腺過形成

腫瘍性病変では、表 9 のとおり、1500 ppm 以上投与群雌に甲状腺 C 細胞腺腫の所見数増加が認められたが、用量相関性が見られないこと、また前がん病変である C 細胞過形成の所見数に有意な増加が認められなかったことから、検体投与に起因したものは考えなかった。発がん性は認められない。

表 9 ラットを用いた 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた腫瘍性病変

性別	雄					雌				
	0	150	500	1500	3000	0	150	500	1500	3000
投与量(ppm)	0	150	500	1500	3000	0	150	500	1500	3000
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
甲状腺 C 細胞過形成	15	8	12	14	19	19	24	19	19	15
甲状腺 C 細胞腺腫	8	13	17*	16	5	7	13	9	17*	16*
C 細胞癌	5	1	1	1	3	2	2	1	1	1
C 細胞腺腫/癌合計	13	14	18	17	8	9	15	10	18	17

Fisher-Irwin exact の検定、* : P<0.05

本試験における無毒性量は雄で 500 ppm (27.4 mg/kg 体重/日)、雌で 150 ppm (9.7 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 45)

(3) 78 週間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0, 100, 350, 1250, 2000/1800³ ppm、雄: 0, 13.5, 47.2, 171.4, 251.9、雌: 0, 17.0, 65.1, 215.9, 281.1 mg/kg 体重/日に相当) 投与による 78 週間発がん性試験が実施された。

2000/1800 ppm 投与群の雌雄で摂餌量減少、1800 ppm 投与群の雌で卵巢比重量増加、肝細胞肥大が、1250 ppm 以上投与群の雌雄で異常発声、体重増加量抑制が、雄で腎比重量減少、肝細胞肥大が認められた。

発がん性は認められない。

本試験における無毒性量は、雌雄で 350 ppm (雄: 47.2 mg/kg 体重/日、雌: 65.1 mg/kg 体重/日) であると考えられる。(参照 46)

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, 150, 500, 2500 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。各群の検体摂取量は表 10 のとおり。

表 10 各投与群検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

親動物	児動物	150 ppm 投与群	500 ppm 投与群	2500 ppm 投与群
P 雄	F ₁ 雄	9.8	31.2	163.4
P 雌	F ₁ 雌	11.5	36.8	188.8
F ₁ 雄	F ₂ 雄	10.7	34.3	195.7
F ₁ 雌	F ₂ 雌	12.2	39.0	237.0

親動物では、2500 ppm 投与群で試験期間を通じた体重増加抑制 (P 雌雄、F₁ 雌雄)、副腎比重量増加 (F₁ 雌雄)、脳比重量増加 (P 雄、F₁ 雌雄)、腎重量減少 (P 雌雄、F₁ 雌雄)、肝比重量増加 (F₁ 雌)、脾重量減少 (P 雌雄、F₁ 雌雄)、精巣比重量増加 (F₁ 雄)、精巣上体比重量増加 (F₁ 雄)、前立腺重量減少 (F₁ 雄)、精囊重量減少 (F₁ 雄)、胸腺比重量減少 (P 雄、F₁ 雌雄)、精子運動性低下 (F₁ 雄)、精子前進性低下 (P 雄) が認められ、500 ppm 投与群では授乳期の母体重低下 (P) が見られた。

児動物では、2500 ppm 投与群で体重低下 (F₁、F₂)、膈開口遅延 (F₁ 雌)、脳比重量増加 (F₁ 雌雄、F₂ 雌雄)、脾比重量減少 (F₁ 雌、F₂ 雌雄) が、500 ppm 投与群で包皮分離遅延 (F₁ 雄)、体重低下 (F₁) が認められた。

なお、精子前進性低下については、最高用量の 2500 ppm 群でのみ認められ、投与との関連は明らかでないが、精子運動性に世代間に共通した大きな変化はなく、精子細胞数、精子数、精子形態及び生殖器の病理組織学的所見に変化は見られず、繁殖能にも変化が認

³ 試験開始時は 1250 ppm を最高用量と設定していたが、より高い用量が必要であると考え、当初設定していた 700 ppm 投与群を、投与 5 週時より 2000 ppm、投与 11 週より 2500 ppm、投与 35 週より雄 2000 ppm、雌 1800 ppm と変更した。検体摂取量は雄で 2000、雌で 1800 ppm の飼料投与時の値を用いて計算した。

められなかったことから、毒性学的意義は乏しいものと考えられた。児動物でみとめられた臍開口及び包皮分離の遅延は体重増加抑制に起因した変化と考えられた。

本試験の無毒性量は親動物及び児動物の雌雄で 150 ppm (P 雄：9.8 mg/kg 体重/日、P 雌：11.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雄：10.7 mg/kg 体重/日、F₁ 雌：12.2 mg/kg 体重/日) であると考えられる。繁殖能に対する影響は認められない。(参照 47)

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体：0, 10, 40, 125 mg/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、40 mg/kg 体重以上投与群で体重増加抑制が認められた。

胎児では、検体投与に起因した変化は認められなかった。

本試験の無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 125 mg/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 48)

(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 23 匹) の妊娠 6~28 日に強制経口 (原体：0, 10, 25, 75, 100 mg/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 100mg/kg 体重投与群で体重増加抑制、流産増加、75 mg/kg 体重以上投与群で排便減少、着色尿増加が認められた。

胎児では 100 mg/kg 体重投与群の雌雄で低体重、腎臓低形成、尾椎椎体癒合、75 mg/kg 体重以上投与群で肺中葉欠損、化骨遅延の発現頻度上昇が認められた。

胎児における腎臓低形成は 1 母体に偏った発現であり、肺中葉欠損及び尾椎椎体癒合の発現率は背景データの範囲内であったことから、投与に関連した影響ではないと考えられた。

本試験の無毒性量は母動物及び胎児で 25 mg/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 49)

13. 遺伝毒性試験

クロチアニジンの細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞(V79)を用いた遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL) を用いた染色体異常試験、ラット肝初代培養細胞を用いた *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た。試験結果は CHL 細胞を用いた染色体異常試験以外は、全て陰性であった (表 11)。CHL 細胞を用いた染色体異常試験では、染色体異常誘発が認められたが、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及びマウスを用いた小核試験の結果が陰性であることから、クロチアニジンは生体において遺伝毒性を発現しないものと考えられる。(参照 50~54)

表 1 1 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)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株		陰性
	遺伝子突然変異試験 (±S9)	チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79)		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 (CHL)		陽性 (±S9)
<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	不定期 DNA 合成試験	Wistar ラット雄 4~6 匹	2500, 5000 (単回強制経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス雌雄 5 匹	25, 50, 100 (単回強制経口投与)	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

TZNG、TZMU、TMG、MG、MAI の細菌を用いた復帰突然変異試験において、試験結果は全て陰性であった (表 12)。(参照 55~59)

表 1 2 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
TZNG	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
TZMU	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
TMG	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
MG	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性
MAI	復帰突然変異試験 (±S9)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株	陰性

注) ±S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

14. 一般薬理試験

マウス、モルモット又はラットを用いた一般薬理試験が実施された。表 13 にその総括を示す。(参照 60)

表 13 一般薬理試験

試験の種類	供試生物	一群あたり供試数	投与量 (mg/kg 体重)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	概要	
中枢神経	一般状態	マウス	雄 3 匹	0, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400	25	50	50 mg/kg 体重以上投与群で自発運動低下、振戦、呼吸深大が認められた。
	睡眠時間	マウス	雄 8 匹	0, 25, 75, 225	75	225	225 mg/kg 体重投与群で、睡眠時間の延長が認められた。死亡例が 2 匹認められた。
	痙攣誘発作用 (電撃痙攣)	マウス	雄 10 匹	0, 6.25, 12.5, 25, 75, 225	12.5	25	25 mg/kg 体重以上投与群で、強直性屈曲及び強直性伸展痙攣の誘発が認められた。
	痙攣誘発作用 (pentylene tetrazol 痙攣)	マウス	雄 10 匹	0, 25, 75, 225	225	>225	作用なし
	体温 (直腸温)	ラット	雄 6 匹	0, 30, 100, 300, 1000, 3000	100	300	300 mg/kg 体重以上投与群で直腸温の低値が認められた。
循環器	収縮期血圧・心拍数	ラット	雄 4 匹	0, 100, 300, 1000, 3000	300 (血圧)、100 (心拍数)	1000 (血圧)、300 (心拍数)	血圧に関し、投与 1 時間後に収縮期血圧の低下、投与 1、6 時間後に平均血圧の低下、心拍数に関し、投与 0.5 時間後に心拍数が有意に増加した。
自律神経	Ach 惹起収縮 His 惹起収縮 BaCl ₂ 惹起収縮	モルモット 摘出回腸 標本	1 濃度 群: 4 標本	0, 1×10 ⁻⁶ , 1×10 ⁻⁵ , 1×10 ⁻⁴ mol/L	1×10 ⁻⁵ mol/L	1×10 ⁻⁴ mol/L	1×10 ⁻⁴ mol/L で、BaCl ₂ による惹起収縮を統計学的に有意に抑制した。 Ach、His による収縮反応は、全群 mol/L で認められなかった。
消化器	小腸輸送能・活性炭素末移行率	マウス	雄 8 匹	0, 25, 75, 225	25	75	75 mg/kg 体重以上投与群で小腸輸送能の抑制が認められた。
骨格筋	懸垂動作	マウス	雄 8 匹	0, 25, 75, 225	75	225	225 mg/kg 体重投与群で 3 時間後まで筋力の抑制傾向が認められた。
血液	血液凝固 PT、APTT	ラット	雄 6 匹	0, 300, 1000, 3000	3000	>3000	作用なし

- ・投与方法は全て強制経口投与した。
- ・全試験で検体はクロチアニジン原体を用いた。