

代謝、ピリジルメチルベンズアミドの加水分解と酸化による M1 及び M2 の生成と推定された。(参照 11)

(3) レタス

phe-¹⁴C・フルオピコリド及び pyr-¹⁴C・フルオピコリドを用いて、レタス(品種:Black seeded simpson)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 9 に示されている。

表 9 レタスにおける植物体内運命試験の試験設計概要

試験区分	①	②	③
標識体	phe- ¹⁴ C・フルオピコリド	pyr- ¹⁴ C・フルオピコリド	phe- ¹⁴ C・フルオピコリド
処理方法	茎葉処理		土壌処理
処理量	200 g ai/ha ×2	200 g ai/ha×2	200 g ai/ha

レタスをステンレス製の作物用タンクで栽培し、処理区①及び②は播種 41 日後に 1 回目の処理を行い、1 回目の処理 21 日後に 2 回目の処理を行った。1 回目処理直後、2 回目処理直前及び収穫期(処理 35 日後)に茎葉を採取し検体とした。処理区③は播種 41 日後に処理を行い、処理 21 日及び 35 日後に茎葉を採取し検体とした。

各採取時期におけるフルオピコリドの総残留量は両標識体で同程度であった。フルオピコリドの植物体内への浸透性は緩やかであった。各採取時期の TRR は次のとおりであった。処理区分①及び②の茎葉における TRR は、処理直後でそれぞれ 10.8 mg/kg 及び 13.4 mg/kg であった。処理区分①、②及び③の茎葉における TRR は、それぞれ処理 21 日後に 1.33、1.30 及び 0.076 mg/kg、処理 35 日後に 13.4、14.5 及び 0.175 mg/kg であり、土壌から茎葉への移行は少なかった。phe-¹⁴C 及び pyr-¹⁴C・フルオピコリドの 1 回散布直後の茎葉部の表面洗浄により 95.4~96.6%TRR が、未成熟(21 日後)試料の表面洗浄により 61.0~66.6%TRR が除去された。成熟試料(35 日)では表面洗浄により 84.0~84.6%TRR が除去された。フルオピコリドの作物体への浸透移行性及び代謝は緩やかであった。抽出残渣中の分布は散布区の成熟期試料で 1%TRR 以下、土壌処理区試料で約 4%TRR と少なかった。

処理 35 日後の主な残留成分は親化合物で、処理区分①、②及び③でそれぞれ 95.9、96.4 及び 71.7%TRR であり、M1 が処理区分①、③でそれぞれ 0.9 及び 19.8%TRR、M2 が処理区分②で 0.6%TRR、M3 が処理区分③で 2.8%TRR 検出され、処理区分①及び②では不検出であった。

フルオピコリドのレタスにおける代謝経路は、フェニル環の水酸化による M3 への代謝、ピリジルメチルベンズアミドの加水分解と酸化による M1 及び M2 の生成と推定された。(参照 12)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験

phe-¹⁴C・フルオピコリド又は pyr-¹⁴C・フルオピコリドを、砂質埴壤土(Minnesota、

米国) 及び壤質砂土 (North Carolina、米国) 50 g に 0.41 µg/g (本剤の年間最大使用量 400 g ai/ha に相当) の処理量で添加し、25 °C の暗条件下で 369 日間インキュベートし、好氣的土壤中運命試験が実施された。

推定半減期は、砂質埴壤土で phe-¹⁴C-フルオピコリドが 282 日、pyr-¹⁴C-フルオピコリドが 270 日、壤質砂土で phe-¹⁴C-フルオピコリドが 323 日、pyr-¹⁴C-フルオピコリドが 336 日であった。処理 369 日後に二酸化炭素として消失したのは 0.2% TAR 以下であった。

処理 369 日後、phe-¹⁴C-フルオピコリドからは、親化合物、M1、M4 がそれぞれ 40.4 ~ 49.3% TAR、19.3 ~ 40.2% TAR、1.6 ~ 3.1% TAR 検出された。pyr-¹⁴C-フルオピコリドからは、親化合物が 45.3 ~ 53.5% TAR、未同定分解物 C が砂質埴壤土でのみ 5.2% TAR 検出された他は M2、M4、未同定分解物 B、未同定分解物 D が検出されたが、いずれも 3.3% TAR 以下であった。

フルオピコリドの好氣的土壤中での分解経路として、水酸化による M4 の生成後、M1、M2 へと開裂する経路及び親化合物から直接、M1 及び M2 に開裂する経路が推定され、その後、最終的に二酸化炭素まで分解されると考えられた。(参照 13)

(2) 嫌氣的土壤中運命試験

phe-¹⁴C-フルオピコリド又は pyr-¹⁴C-フルオピコリドを、水深 1 cm となるように湛水した砂壤土 (Abington、英国) 50 g に 0.41 µg/g (本剤の年間最大使用量 400 g ai/ha に相当) の処理量で水相に添加し、20°C の暗条件下で 120 日間インキュベートし、嫌氣的土壤中運命試験が実施された。

推定半減期は、phe-¹⁴C-フルオピコリドが 471 日、pyr-¹⁴C-フルオピコリドが 377 日であった。揮発性物質は殆ど検出されず、二酸化炭素がわずかに (最大 0.1% TAR) 認められた。

処理当日の放射能分布は水相に 70.9 ~ 76.2% TAR が存在し、処理 16 日後には 18.3 ~ 21.1% TAR、120 日後には 11.0 ~ 14.3% TAR と減少した。土壌相には処理当日の 20% TAR 強から 16 日後以降は概ね 70 ~ 80% TAR の放射能が分布した。

水相及び土壌相中の残留放射能の化学形態はほとんどが親化合物であり、実験系全体で分解物として phe-¹⁴C-フルオピコリド処理区では M1 が 2.1% TAR、pyr-¹⁴C-フルオピコリド処理区では M2 が 8.9% TAR 生成した。

フルオピコリドの嫌氣的土壤中での分解経路として、水酸化による M4 の生成後、M1、M2 へと開裂する経路及び親化合物から直接、M1 及び M2 に開裂する経路が推定された。M1 及び M2 は嫌氣的土壌中では安定であり、ほとんど分解しないと考えられた。(参照 14)

(3) 土壌吸着試験

フルオピコリドの土壌吸着試験が 4 種類の国内土壌 (水田土壌 (岡山)、畑地土壌 (宮崎、茨城、埼玉)) を用いて実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 2.3 ~ 14.5、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 237 ~ 749 であった。(参照 15)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験（滅菌緩衝液）

phe-¹⁴C-フルオピコリドを pH 5（酢酸緩衝液）、7（リン緩衝液）及び 9（ホウ酸緩衝液）の各滅菌緩衝液に 1.07～1.13 mg/L となるように加えた後、暗条件下の 25℃で 30 日間インキュベートする加水分解試験が実施された。

フルオピコリドは水中において安定で、推定半減期は、pH 5 で 365 日、pH 7 で 330 日、pH 9 で 365 日であった。

分解物は、pH 7 において 30 日後に M1 が最大 4.0% TAR であり、その他に未同定分解物が少量(1.8% TAR)検出された。(参照 16)

(2) 水中光分解試験（滅菌緩衝液）①

phe-¹⁴C-フルオピコリドを pH 7 のリン酸緩衝液に 0.65 mg/L となるように加えた後、25±1 °C で赤外光及び 290 nm 未満の波長をカットするフィルター付のキセノンランプ（光強度：491 W/m²、測定波長：300-800 nm）を 31 日間にわたり 12 時間の明暗周期で照射し、水中光分解試験が実施された。

31 日後、親化合物は 75.6% TAR 残存し、M1 が最大 4.1% TAR、他の未同定分解物が最大 14.1% TAR（複数の成分の合計、単一成分としては 3.5% TAR 以下）検出された。また、二酸化炭素が最大 3.8% TAR、揮発性有機物質が 0.1% TAR 検出された。

フルオピコリドの水中光分解半減期は実験条件下で 32.1 日(12 時間の明暗周期で 64.2 日)、春季の東京（北緯 35 °）に換算すると 231 日であった。

フルオピコリドは M1 を経て、最終的には二酸化炭素まで分解されると考えられた。(参照 17)

(3) 水中光分解試験（滅菌緩衝液）②

pyr-¹⁴C-フルオピコリドを pH 7 のリン酸緩衝液に 0.661 mg/L になるように加えた後、25℃±1 °C で、290 nm 未満の波長をカットするフィルター付のキセノンランプ（光強度：643 W/m²、測定波長：300-800 nm）を 10 日間連続照射し、水中光分解試験が実施された。

親化合物が唯一の成分として検出され、フルオピコリドは本試験条件下で安定であった。(参照 18)

(4) 水中光分解試験（滅菌自然水）

phe-¹⁴C-フルオピコリドを pH 8.3 の滅菌自然水（河川水、英国）に 0.69 mg/L となるように加えた後、25±2℃で 290 nm 未満の波長をカットするフィルター付のキセノンランプ（316 W/m²、測定波長：290-800 nm）を 16 日間にわたり照射し、水中光分解試験が実施された。

未同定の揮発性物質が 13.5 日後に最大 0.25% TAR 認められた以外は、親化合物のみが検出された。フルオピコリドは本試験条件下で安定であった。(参照 19)

5. 土壌残留試験

火山灰・軽埴土（茨城）及び沖積・埴壤土（高知）を用いて、フルオピコリド及び M1 を分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内及び圃場試験）が実施された。

推定半減期は表 10 に示されており、フルオピコリドとしては 45～190 日、フルオピコリドと M1 の含量として 46 日～1 年超であった。（参照 20）

表 10 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度 ¹⁾	土壌	フルオピコリド	フルオピコリド+ M1
容器内試験	0.4 mg/kg	火山灰・軽埴土	190 日	>1 年
		沖積・埴壤土	140 日	>1 年
圃場試験	384 g ai/ha	火山灰・軽埴土	45 日	46 日
		沖積・埴壤土	82 日	98 日

¹⁾：容器内試験で原体、圃場試験で 48%フロアブル剤を使用

6. 作物残留試験

ばれいしょ及びぶどうを用いて、フルオピコリド、M1 及び M2 を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。分析法はアセトニトリル/水混液で抽出した試料を精製後、HPLC または LC/MS を用いて定量するものであった。

結果は表 11 に示されている。（参照 21）。

表 11 作物残留試験成績

作物名 実施年	試験 圃場数	使用量 (g ai/ha)	回 数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)					
					フルオピコリド		代謝物 M1		代謝物 M2	
					最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
ばれいしょ (露地) 塊茎 2003 年	2	13.8	3	7	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		～	3	14	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
		16.5	3	21	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
ぶどう (果実) 2003 年 (海外)	18	125	3	7	1.10	0.493	0.048	<0.01*	0.046	<0.01*
		～		12-14	0.99	0.579	0.054	<0.01*	0.031	<0.01*
		138		20-22	1.10	0.395	0.047	<0.01*	0.025	<0.01*
				28-29	0.60	0.309	0.041	<0.01*	0.038	<0.01*
ぶどう (果実) 2003 年 (海外)	16	133	3	3	1.30	0.562	0.02	<0.01*	0.03	<0.01*
		～		7	0.73	0.458	0.03	<0.01*	0.04	0.017
		147		14	0.94	0.394	0.02	<0.01*	0.04	0.022
				20-22	0.97	0.467	0.037	<0.01*	0.06	0.015

注) ・散布には 5.5%フロアブル剤を使用した。（海外の作物残留試験成績は、「フルオピコリド 4.44% を含む顆粒水和剤」または「9.45%乳剤」を使用した）

- ・一部に定量限界未満を含むデータの平均を計算する場合は、その値を 0 として計算し、*印を付した。
- ・全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界の平均に < を付して記載した。

上記の作物残留試験結果より、国内で栽培される農作物であるばれいしょにおけるフルオピコリドの残留値が定量限界未満だったため、推定摂取量は算定しなかった。

7. 後作物残留試験

きゅうり、だいこんを用いて、フルオピコリド、代謝物 M1 及び M2 を分析対象化合物とした後作物残留試験が実施された。分析法はアセトニトリル/水混合液で抽出した試料を精製後、LC/MS/MS を用いて定量するものであった。

結果は表 12 に示されている。フルオピコリド、代謝物 M1 及び M2 の残留値は全て定量限界未満であった (参照 22)。

表 12 後作物残留試験成績

前作			作物名 実施年	試験 圃場 数	PHI (日)	残留値 (mg/kg)					
作物名 実施年	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)				フルオピコリド		代謝物 M1		代謝物 M2	
						最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
ばれいしょ (露地) 塊茎 2003年	20.6	3	きゅうり (果実) 2003年	1	92	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
ばれいしょ (露地) 塊茎 2003年	20.6	3	だいこん (露地) 根部 2003年	1	132	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
ばれいしょ (露地) 塊茎 2003年	20.6	3	だいこん (露地) 葉部 2003年	1	132	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02

注) ・ 散布には5.5%フロアブル剤 (プロパモカルブ塩酸塩55.5%を含む) を使用した。

・ 全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界の平均に<を付して記載した。

8. 一般薬理試験

ラット、マウス及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 13 に示されている。(参照 23)

表 13 一般薬理試験概要

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
中枢 神経 系	一般状態 (Irwin 法)	ラット	雄 5	0、200、600、 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
	自発運動	マウス	雄 5	0、200、600、 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし

	痙攣誘発 (電撃痙攣)作用	マウス	雄 5	0、200、600、 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
	体温	ラット	雄 5	0、200、600、 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
呼吸・循環器系	呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図	ウサギ	雄 4	0、200、600、 2000 (経口)	2000	—	2000 mg/kg 体重群で 投与 180 分後に心拍 数減少、その他の項目 に影響は認められず
腎機能	尿量・ 尿中電 解質・ 尿浸透圧	ラット	雄 5	0、200、600、 2000 (経口)	200	600	600 mg/kg 以上で尿 量減少、浸透圧上昇
自律神経系	瞳孔径	ラット	雄 5	0、200、600、 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし

9. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (ラット)

フルオピコリドの 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た。

各試験の結果は表 14 に示されている。(参照 24~26)

表 14 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与経路	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	>5000	全例：立毛 雄：円背位 雌：円背位、歩行異常 (投与後 3 日目に回復)
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	>5000	症状なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		全例：被毛湿り、円背位、立毛、 呼吸数増加 数例：雑音呼吸、鼻または眼周 囲の赤褐色着色 (暴露後 14 日目に回復)
		>5.16	>5.16	

代謝物 M1 及び M2 の SD ラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 15 に示されている。(参照 27、28)

表 15 急性毒性試験結果概要(代謝物)

化合物	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	観察された症状
M1	経口	SD ラット	雄：2000 雌：500	・ 300 mg/kg 体重群雌雄に運動性低下、協調運動失調性歩行、眼瞼狭小 ・ 2000 mg/kg 体重群雌雄に体重減少、腹臥位、側臥位、運動性低下、反射性低下、反応性低下、痙攣、協調運動失調性歩行、喘ぎ呼吸、頻呼吸、色素涙、流涙/流涙増加、眼瞼閉鎖、眼瞼狭小、立毛
M2	経口	SD ラット	雄：>2000 雌：>2000	・ 500 mg/kg 体重群雌雄及び 2000 mg/kg 体重群雄で立毛

(2) 急性神経毒性試験(ラット)

SD ラット(一群雌雄各 10 匹)を用いた強制経口(原体:0、10、100 及び 2000 mg/kg 体重、1%MC 水溶液に懸濁)投与による急性神経毒性試験が実施された。

本試験において、2000 mg/kg 体重投与群の雌雄で投与 6 時間後に体温低下が認められたため、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重であると考えられた。(参照 29)

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。皮膚刺激性は認められなかったが、軽度の眼刺激性が認められた。(参照 30、31)

Hartley モルモット(雌)を用いた皮膚感作性試験(Maximization 法)が実施された。その結果、皮膚感作性は認められなかった。(参照 32)

11. 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+回復群として対照群及び高用量群雌雄各 10 匹)を用いた混餌(原体:0、100、1400 及び 20000 ppm:平均検体摂取量は表 16 参照)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 16 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	1400 ppm	20000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.4	109	1670
	雌	8.4	119	1670

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

回復期終了後では、これらの病変は認められないか、または程度及び発生数は軽減し、回復傾向がみられたが貧血関連項目などにまだ影響が認められた。

本試験において、1400 ppm 以上投与群の雄で肝及び腎比重量¹増加、小葉中心性肝細胞肥大等、雌で脾絶対及び比重量減少等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄：7.4 mg/kg 体重/日、雌：8.4 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 33）

表 17 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ Hb、Ht、MCH 及び MCHC 減少、APTT 延長 ・ TP 及び Glob 増加 ・ 脾絶対及び比重量減少 ・ 副腎皮質球状帯肥厚、大腿骨骨梁過骨化、骨髓細胞数減少、腎顆粒円柱 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ Hb、Ht、MCH 及び MCHC 減少 ・ TP、Glob、Cre 及び T.Chol 増加 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 副腎皮質球状帯肥厚、小葉中心性肝細胞肥大、骨髓細胞数減少
1400 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ Cre 及び T.Chol 増加 ・ 尿沈渣中上皮細胞増加 ・ 肝及び腎比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大、腎尿細管上皮細胞硝子滴、腎尿細管上皮細胞単細胞壊死、腎尿細管好塩基性変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・ Glob 減少、A/G 比増加 ・ 尿量増加、尿比重減少 ・ 脾絶対及び比重量減少 ・ 大腿骨骨梁過骨化
100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

（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）を用いた強制経口（原体：0、5、70 及び 1000 mg/kg 体重/日、1%MC 水溶液に懸濁）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 18 に示されている。

本試験において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝絶対及び比重量の増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 70 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 34）

表 18 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重/日	・ 肝絶対及び比重量増加	・ 肝絶対及び比重量増加
70 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

¹：体重比重量のことを比重量という（以下同じ）。

(3) 90日間亜急性神経毒性試験（ラット）

SDラット（一群雌雄各10匹）を用いた混餌（原体：0、200、1400及び10000ppm：平均検体摂取量は表19参照）投与による90日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表19 ラット90日間亜急性神経毒性試験の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	1400 ppm	10000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	15.0	107	781
	雌	18.0	126	866

各投与群で認められた毒性所見は表20に示されている。

10000ppm投与群の雌雄で体重が有意に減少し、1400ppm投与群の雌雄でも投与後8及び13週に有意に減少した。詳細な状態の観察及び機能検査を実施したところ、投与の影響は認められなかった。また、自発運動量、脳重量及び大脳半球の長さも幅にも投与の影響は認められなかった。神経病理学的検査においても、検査した神経組織に投与に関連した変化は認められなかった。

本試験において、1400ppm以上投与群の雌雄で肝絶対及び比重量増加等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも200ppm（雄：15.0mg/kg体重/日、雌：18.0mg/kg体重/日）であると考えられた。神経毒性は認められなかった。（参照35）

表20 ラット90日間亜急性神経毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 腎間質性腎炎 ・ 腎髄質顆粒状円柱 ・ 腎皮質尿管拡張 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 小葉中心性肝細胞肥大
1400 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重減少 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 ・ 腎皮質尿管硝子滴変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 肝絶対及び比重量増加
200 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

1.2. 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）を用いた強制経口（原体：0、70、300及び1000mg/kg体重/日、1%MC水溶液に懸濁）投与による1年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表21に示されている。

血液学的検査において、有意差の見られた項目が散見されたが、いずれも一過性であり用量相関性もないことから投与の影響ではないと考えられた。

1000mg/kg体重/日投与群の雄3匹、300mg/kg体重/日投与群雌雄各1匹に肝腫大、

300 mg/kg 体重/日投与群雄 1 匹に腎腫大が認められたが、これらの肉眼的変化を裏付ける病理組織学的変化は認められなかった。

本試験において、1000 mg/kg 体重/日投与群の雄で体重増加抑制及び肝比重量増加、雌で T.Chol 増加が認められたことから、無毒性量は雌雄ともに 300 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 36)

表 21 イヌ 1 年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重/日	・ 体重増加抑制 ・ 肝比重量増加	・ T.Chol 増加
300 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 90 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、200、750 及び 2500 ppm: 平均検体摂取量は表 22 参照) 投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。本試験においては、慢性毒性試験群 (一群雌雄各 20 匹、投与期間 1 年間)、発がん性試験群 (一群雌雄各 60 匹、投与期間 2 年間) 及び回復群 (一群雌雄各 10 匹、1 年間投与後 13 週間の回復期間) の 3 群を設定した。

表 22 ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量		50 ppm	200 ppm	750 ppm	2500 ppm
慢性毒性試験群 (1 年間)	雄	2.5	9.8	37.0	126
	雌	3.3	12.9	48.7	164
発がん性試験群 (2 年間)	雄	2.1	8.4	31.5	109
	雌	2.8	10.8	41.0	142

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

検体投与に関連した死亡率の増加は認められなかった。

50 ppm 投与群雌の 78 週目に好塩基球減少、APTT 増加、回復期間終了後に Lym 減少が認められたが、いずれも単発的な変化であり、投与の影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査では、雄において、52 週目以降各投与群で対照群と比べ、Glu の有意な増加が認められた。しかし、明確な用量相関性及び経時的な増加は認められず、また、脾臓、肝臓、腎臓及び副腎等の臓器に Glu の上昇と関連すると思われる病理組織学的変化も認められなかった。以上のことを総合的に考察すると、この Glu の増加は、検体投与の影響である可能性は否定できないものの、毒性学的に重要とは考えられなかった。

2500 ppm 投与群雌雄及び 750 ppm 投与群雄で 52 週目に肝臓及び腎臓の絶対または比重量の増加が認められたが、これらの変化は回復期間終了後の回復群には認めら

れず回復性が示された。

慢性毒性試験群の 750 ppm 以上投与群の雄で肝臓に小葉中心性肝細胞肥大、腎臓に尿管好塩基性細胞の増加が認められたが、回復群では投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

検体投与に関連して、発生頻度が増加した腫瘍性病変はなかった。

本試験において、750 ppm 以上投与群の雄で肝及び腎比重量増加、小葉中心性肝細胞肥大等、雌で生殖器周囲の黄色着色が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 200 ppm（雄：8.4 mg/kg 体重/日、雌：10.8 mg/kg 体重/日）であると考えられた。発がん性は認められなかった。（参照 37）

表 23 ラット 2 年間慢性毒性／発がん性併合試験で認められた毒性所見

投与群	試験群	雄	雌
2500 ppm	両群	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ Ht、Hb、MCHC、MCH、MCV 減少 ・ TP 増加、A/G 比減少、Cre 増加、T.Chol 増加 ・ 肝絶対重量増加 ・ 腎尿管硝子滴変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少 ・ Ht、Hb、MCHC、RBC、Lym 減少 ・ TP 増加、A/G 比減少 ・ 肝及び腎比重量増加
	慢性毒性試験群	<ul style="list-style-type: none"> ・ 腎髄質顆粒円柱、腎尿管硝子滴円柱 	
	発がん性試験群	<ul style="list-style-type: none"> ・ 皮膚腫瘍増加 ・ 腎臓腫大、甲状腺腫大 ・ 肝好酸性変異細胞巣 ・ 肝嚢胞変性 ・ 腎尿管円柱、腎尿管拡張、腎嚢胞 ・ 前立腺細胞萎縮 ・ 甲状腺嚢胞性濾胞細胞過形成 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝好酸性変異細胞巣 ・ 膵腺房脂肪組織置換
750 ppm 以上	両群	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝及び腎比重量増加 ・ 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 生殖器周囲の黄色着色
	慢性毒性試験群	<ul style="list-style-type: none"> ・ 腎尿管好塩基性細胞 	
	発がん性試験群	<ul style="list-style-type: none"> ・ 腎絶対重量増加 ・ 肝明細胞巣 	
200 ppm 以下	両群	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

C57BL/6 マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、400 及び 3200 ppm: 平均検体摂取量は表 24 参照) 投与による 18 カ月間の発がん性試験が実施された。なお、投与 52 週目に一群雌雄各 10 匹を中間と殺した。

表 24 マウス 18 カ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	400 ppm	3200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.9	64.5	551
	雌	11.5	91.9	772

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 25、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度は表 26 に示されている。

各投与群とも検体投与に起因する死亡率の増加を示さなかった。

腫瘍性病変については、3200 ppm 投与群の雌雄で肝細胞腺腫の発生頻度が有意に増加した。15. その他の試験 (肝薬物代謝酵素誘導試験) の結果から、肝細胞腺腫の増加は、本剤投与による肝薬物代謝酵素の誘導及び一過性の増殖活性によるものと考えられた。

本試験において、400 ppm 以上投与群の雌雄で肝絶対及び比重量の増加、肝細胞肥大が認められたため、無毒性量は雌雄とも 50 ppm (雄: 7.9 mg/kg 体重/日、雌: 11.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 38)

表 25 マウス 18 カ月間発がん性試験で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与群	雄	雌
3200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・肝好酸性変異細胞巣増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・ALP 増加 ・肝好酸性変異細胞巣増加
400 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加* ・肝細胞肥大* 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加* ・肝細胞肥大*
50 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

*: 中間と殺時 (投与 52 週間終了後) 及び投与終了時 (投与 78 週間終了後) の両検査時で増加した。

表 26 マウス 18 カ月間発がん性試験における肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度

性別	雄				雌				
	0	50	400	3200	0	50	400	3200	
投与群(ppm)									
検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50	
肝臓	肝細胞腺腫	5	0	5	11***	1	2	0	16**
	肝細胞癌	3	1	0	2	0	0	2	0

** : P<0.0005、*** : P<0.0401 (Peto 検定)

13. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験（ラット）

SD ラット（P 世代一群雌雄各 28 匹、F₁ 世代一群雌雄各 24 匹）を用いた混餌（原体：0、100、500 及び 2000 ppm：平均検体摂取量は表 27 参照）投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 27 ラット 2 世代繁殖試験の平均検体摂取量（mg/kg 体重/日）

投与群		100 ppm	500 ppm	2000 ppm
P 世代	雄	5.2	25.5	103
	雌	6.4	32.9	127
F ₁ 世代	雄	5.7	28.3	117
	雌	6.8	34.6	142

親動物及び児動物における各投与群で認められた毒性所見は、それぞれ表 28 に示されている。

発情周期、交尾率、受胎率、妊娠率、妊娠期間、出産率、精子検査等の親動物の繁殖能に関する指標及び着床数、出生児数、出生後の児数及び生存率、性比、性成熟等の児動物に関する指標に投与の影響は認められなかった。

500 ppm 投与群 P 及び F₁ 雄にみられた小葉中心性肝細胞肥大は、肝重量に変動がみられないことから、投与による毒性影響ではなく適応性反応と考えられた。また、500 ppm 投与群 P 雌の甲状腺絶対及び比重量増加、F₁ 雌の肝臓比重量増加は変化の程度がいずれも軽度であり、より高用量を用いた毒性試験で、甲状腺は 20000 ppm（ラットの 90 日間亜急性毒性試験、11.(1)）及び肝臓は 750 ppm（ラットの 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験、12.(2)）においても重量増加はみられていないこと、形態学的変化も認められていないことから、投与の影響とは考えられなかった。

本試験において、親動物では 2000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、肝及び腎に病理組織学的変化等が、児動物では 2000 ppm 投与群の雌雄で低体重、脾臓及び胸腺絶対重量減少等が認められたことから、無毒性量は親動物及び児動物の雌雄とも 500 ppm（P：雄 25.5 mg/kg 体重/日、雌 32.9 mg/kg 体重/日、F₁：雄 28.3 mg/kg 体重/日、雌 34.6 mg/kg 体重/日）であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 39）

表 28 ラット 2 世代繁殖試験で認められた毒性所見

	投与群	P 世代		F ₁ 世代	
		雄	雌	雄	雌
親への影響	2000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、低体重 ・摂餌量減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・副腎白色化 ・副腎球状帯び慢性細胞肥大 ・腎尿細管好塩基性化、尿細管硝子滴変性、髓質顆粒円柱、間質細胞浸潤、皮質癒痕、尿細管硝子滴円柱 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、低体重 ・摂餌量減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・脾絶対及び比重量減少 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・腎尿細管好塩基性化、尿細管拡張 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、低体重 ・摂餌量減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・腎尿細管好塩基性化、尿細管硝子滴変性、髓質顆粒円柱、尿細管硝子滴円柱 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制、低体重 ・摂餌量減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・小葉中心性肝細胞肥大 ・腎尿細管好塩基性化、尿細管拡張
	500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児への影響	2000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・脾絶対重量減少 ・胸腺絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・脾絶対及び比重量減少 ・胸腺絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・脾絶対重量減少 ・胸腺絶対重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・脾絶対及び比重量減少 ・胸腺絶対重量減少
	500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 23 匹) の妊娠 7~20 日に強制経口 (原体: 0、5、60 及び 700 mg/kg 体重/日、1%MC 水溶液に懸濁) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では 700 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制が認められた。

胎児では 700 mg/kg 体重/日投与群で低体重、頭臀長及び胎盤重量減少がみられた。また、骨格検査では 700 mg/kg 体重/日投与群で椎骨における異常の頻度が有意に上昇し、肋骨及び胸骨の異常及び化骨遅延の頻度が背景データに比べ高かった。胎児の外表面及び内臓所見には投与に影響はみられなかった。

本試験において、700 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重増加抑制、胎児で低体重、頭臀長減少、骨格異常の発生頻度の増加等が認められたことから、無毒性量は母動物及び胎児とも 60 mg/kg 体重/日投与群であると考えられた。

700 mg/kg 体重/日投与群の胎児で骨格異常の発生頻度が増加したことから、母体毒性量の 700 mg/kg 体重/日において催奇形性が発現すると考えられた。(参照 40)